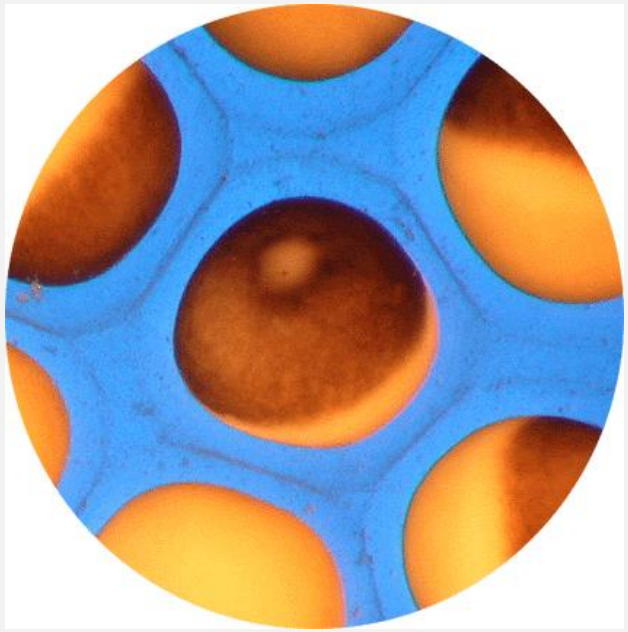
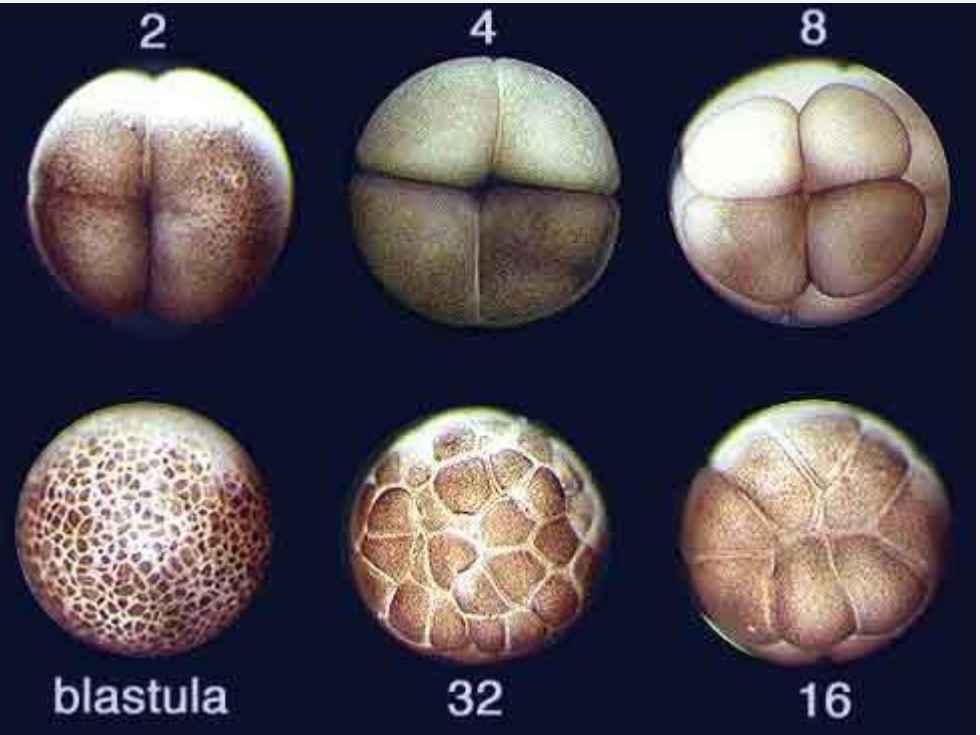
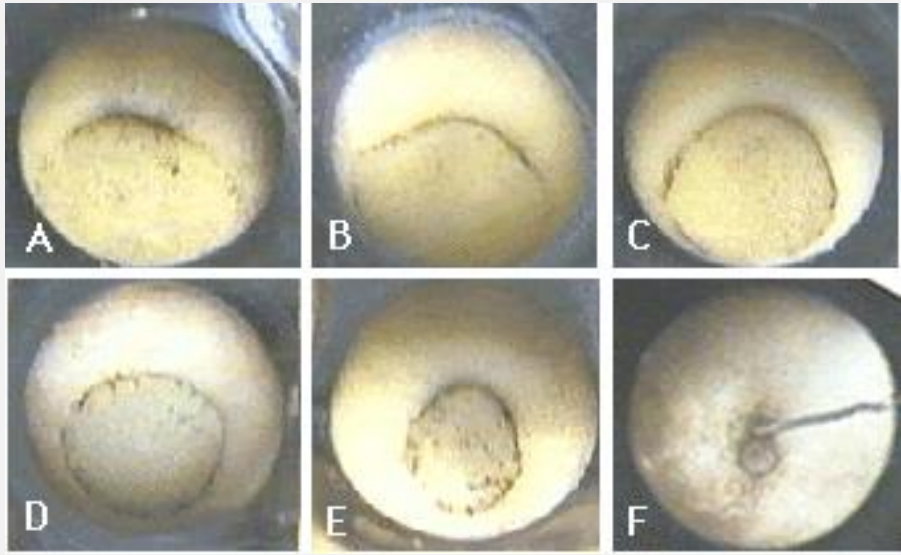
SV – H :
Mécanismes du développement : exemple du développement du membre des Tétrapodes

SV – H – 1 :
Les étapes du développement embryonnaire des Vertébrés

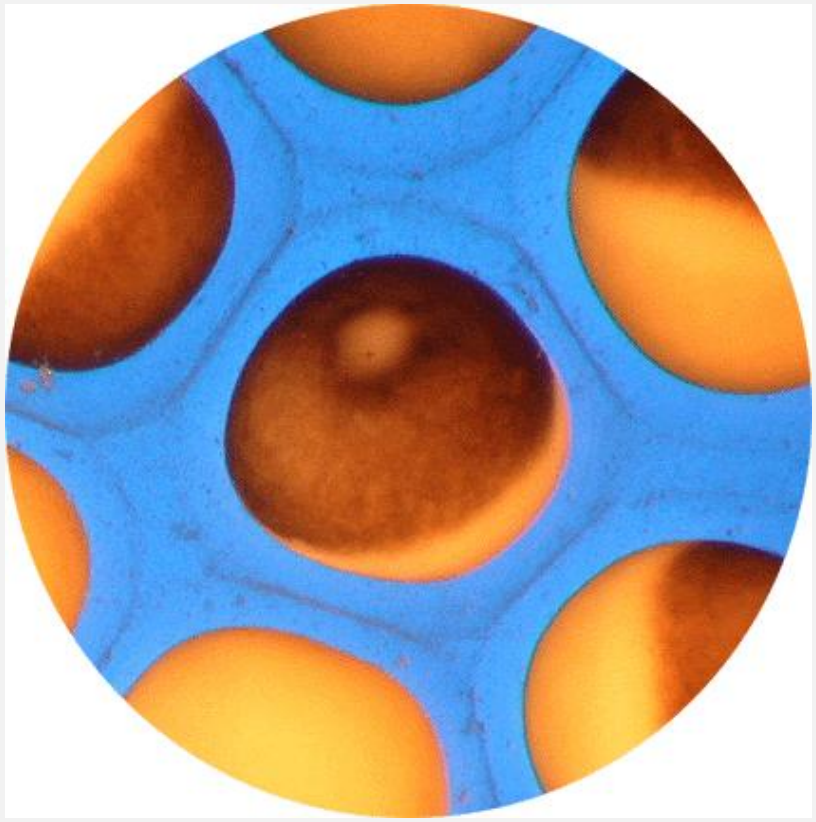






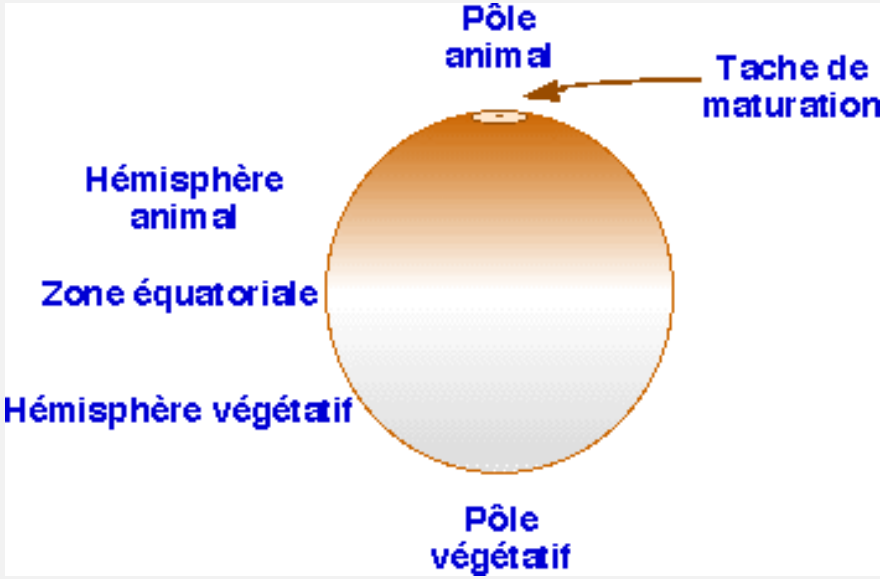
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

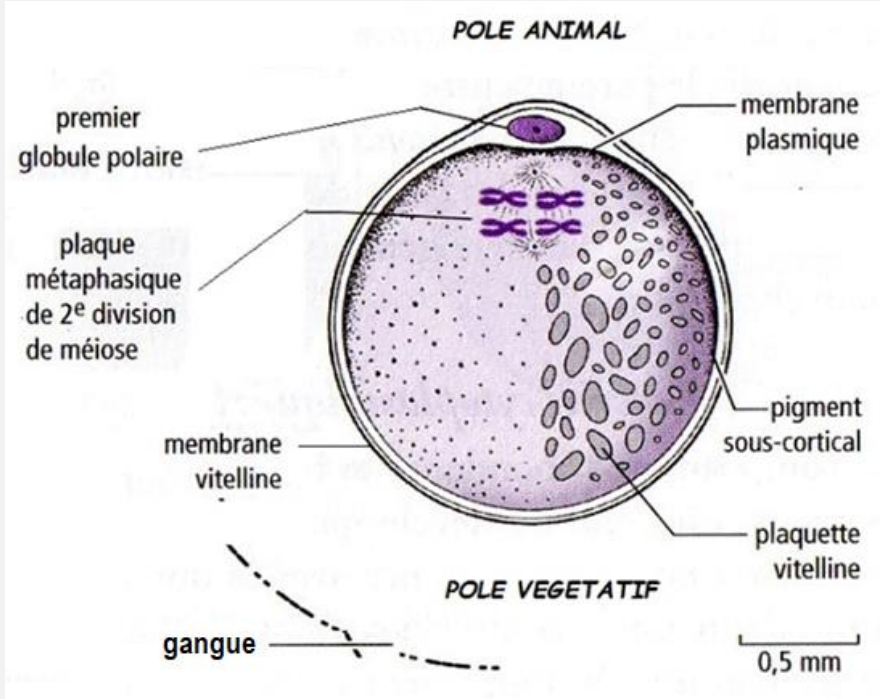
Document 1. Organisation de l'ovocyte de Xénope.



Au centre, un ovocyte secondaire de Xénope vu par le pôle animal.

Photo M. Delarue. L'OEUF DE BATRACIEN - SFRS - UPMC - CNRS I/M - 2003

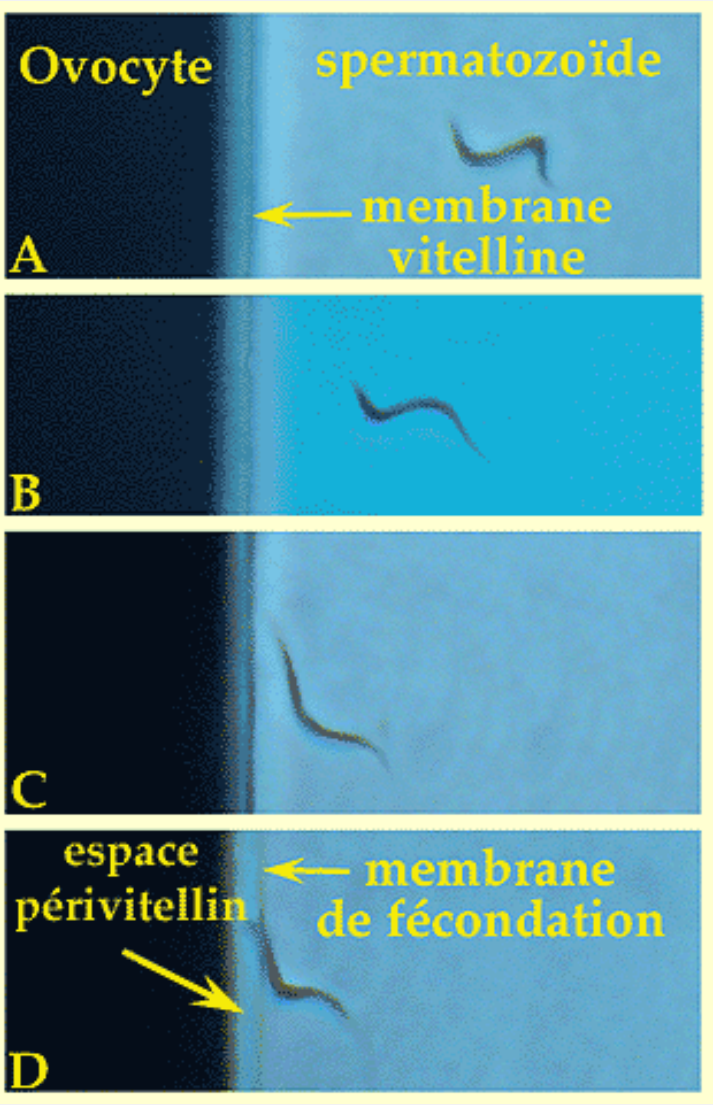


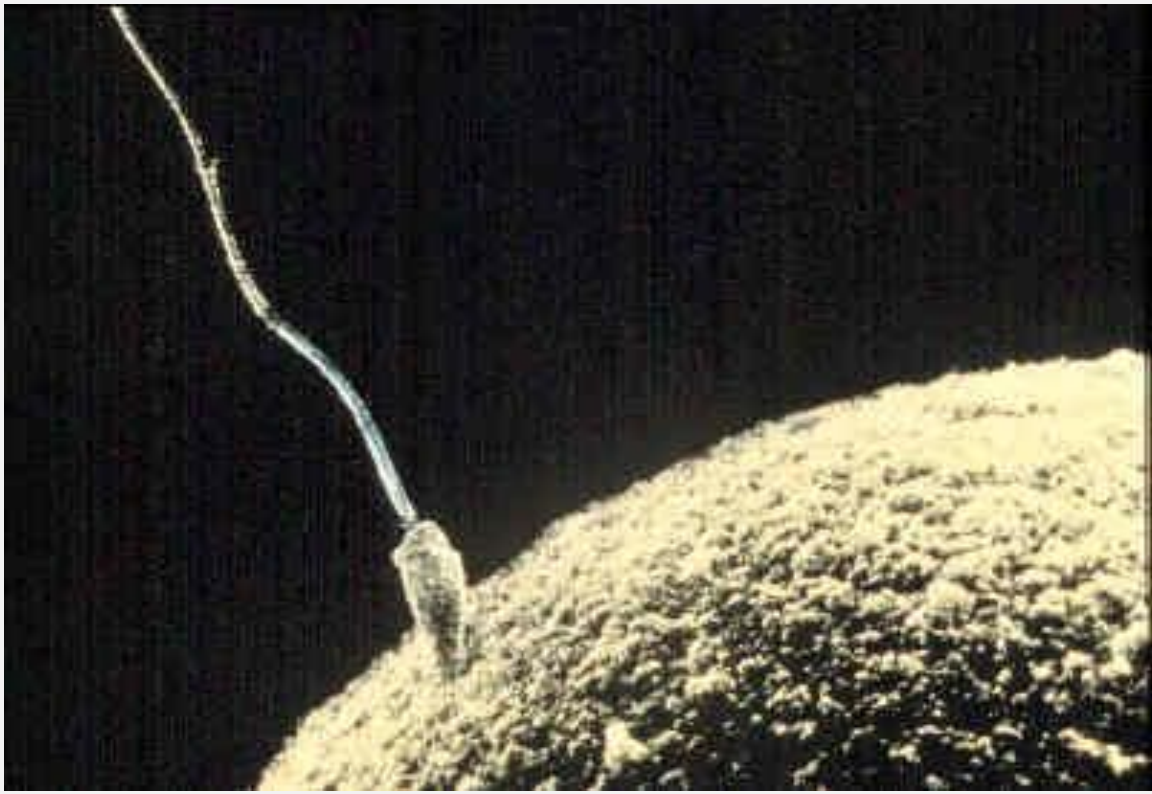


Ovocyte secondaire de Xénope en vue équatoriale (en haut) et en coupe sagittale (en bas).

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

La fécondation

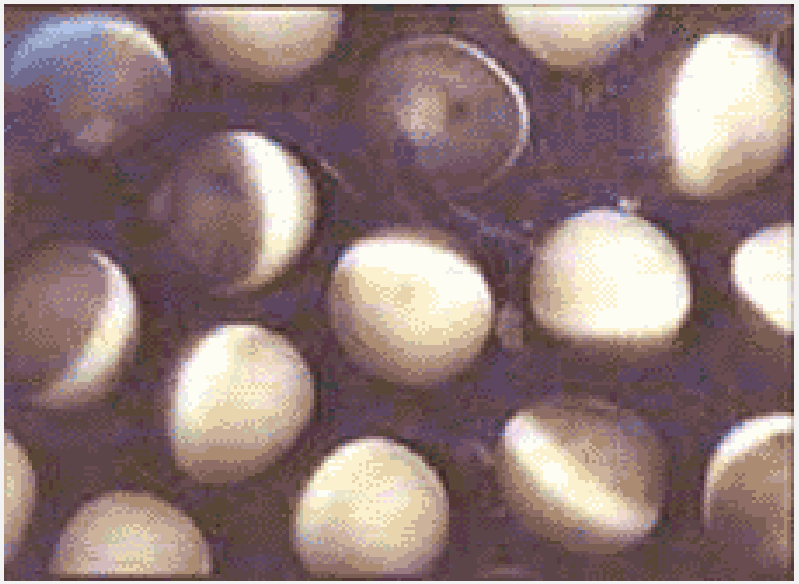




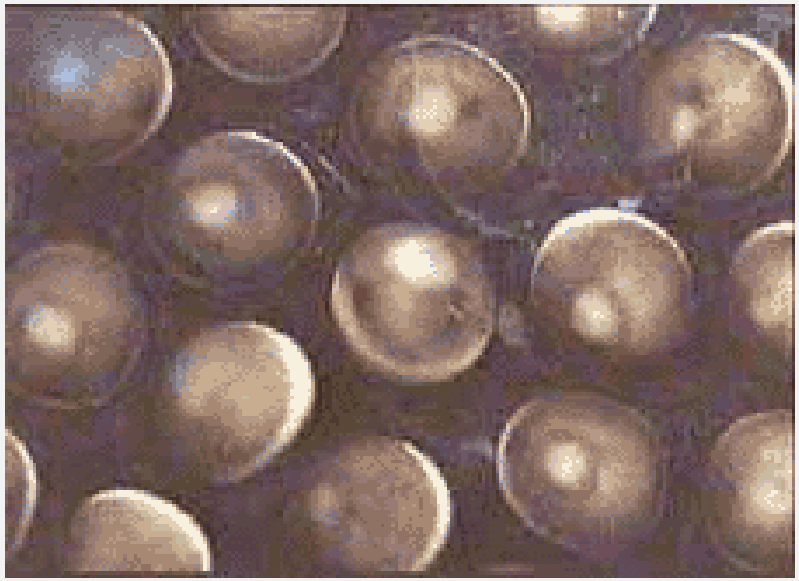
Le spermatozoïde arrive au contact de la membrane vitelline (A,B,C), puis de la membrane plasmique.

La fusion des deux gamètes provoque le soulèvement de la membrane vitelline en membrane de fécondation (D).

http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Sperm-egg.jpg#file

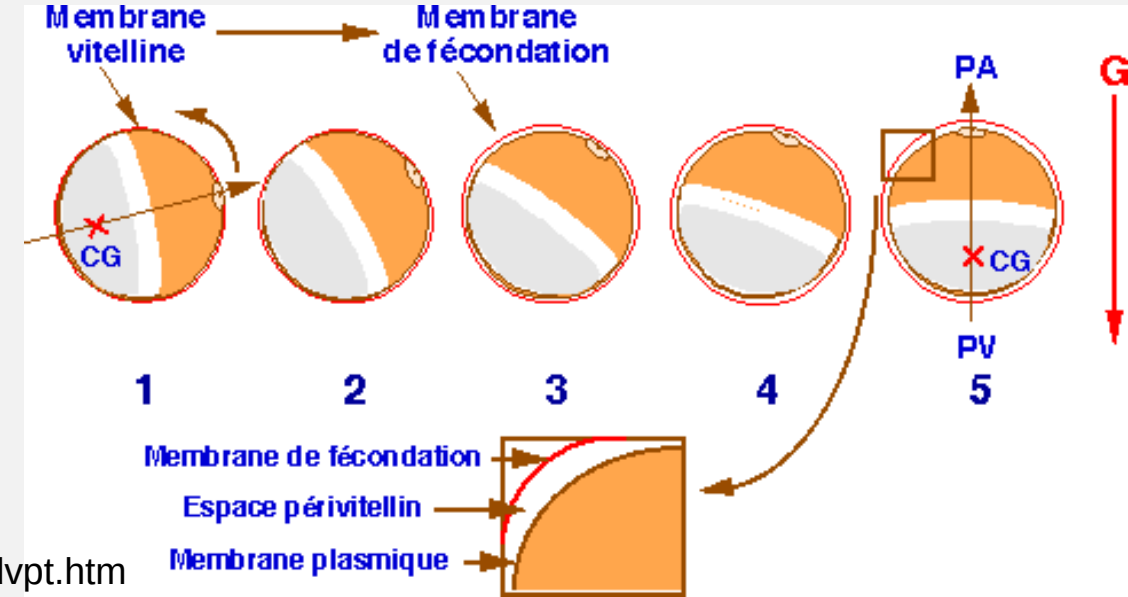


Disposition aléatoire des ovocytes avant fécondation.

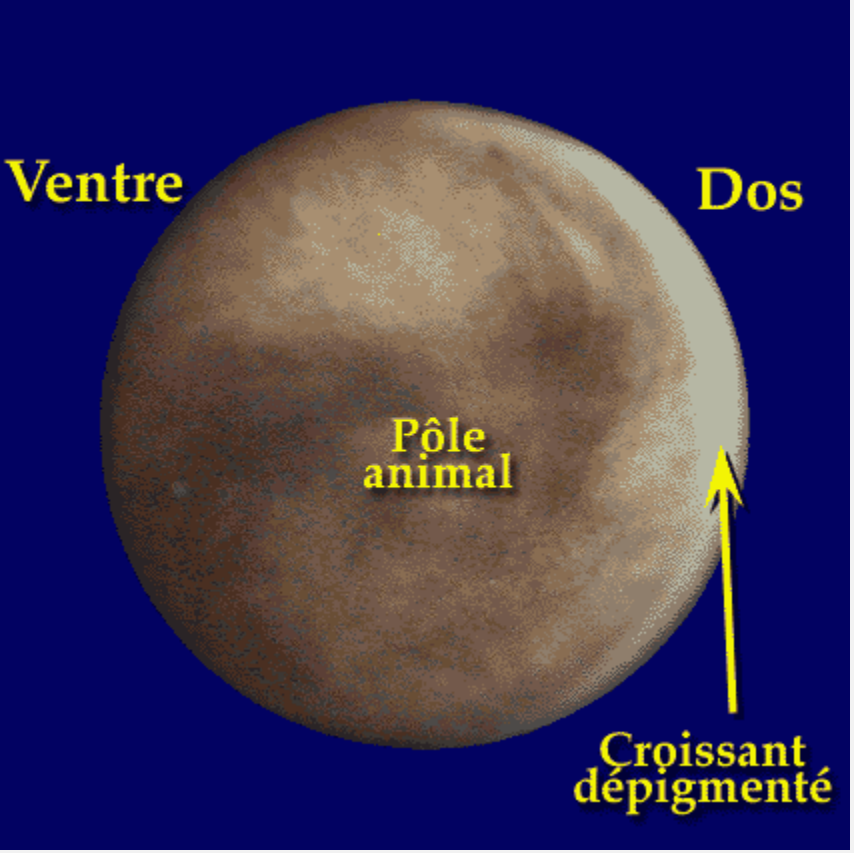


Même vue 30 min après la fécondation. La rotation d ’équilibration a eu lieu : tous les ovocytes fécondés présentent leur pôle animal vers l ’observateur.

La rotation d’équilibration



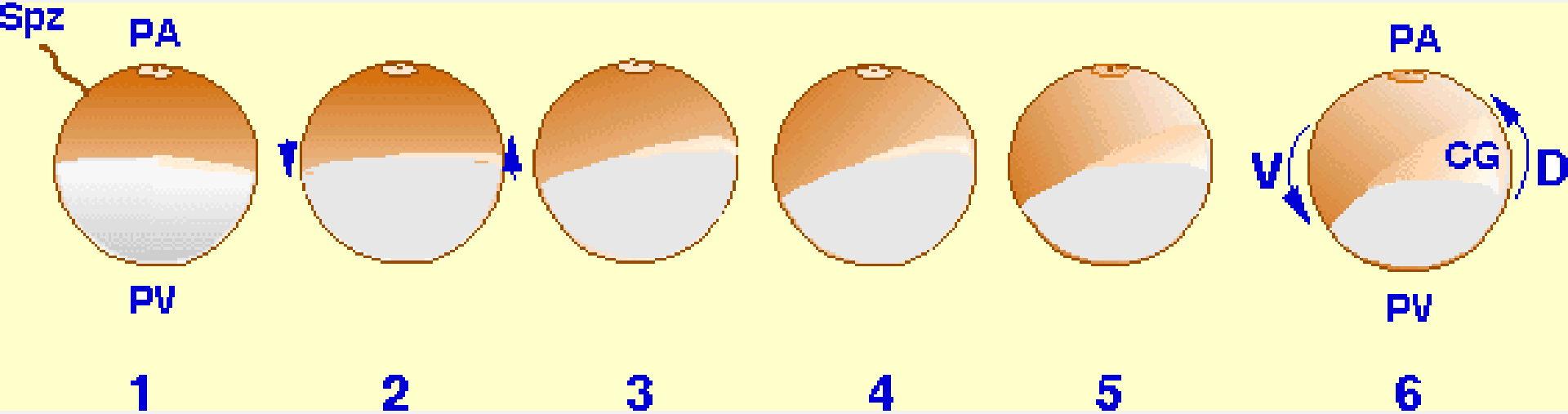
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



La région claire de la face dorsale affecte la forme d ’un croissant. Il s ’agit du croissant dépigmenté ou croissant gris.

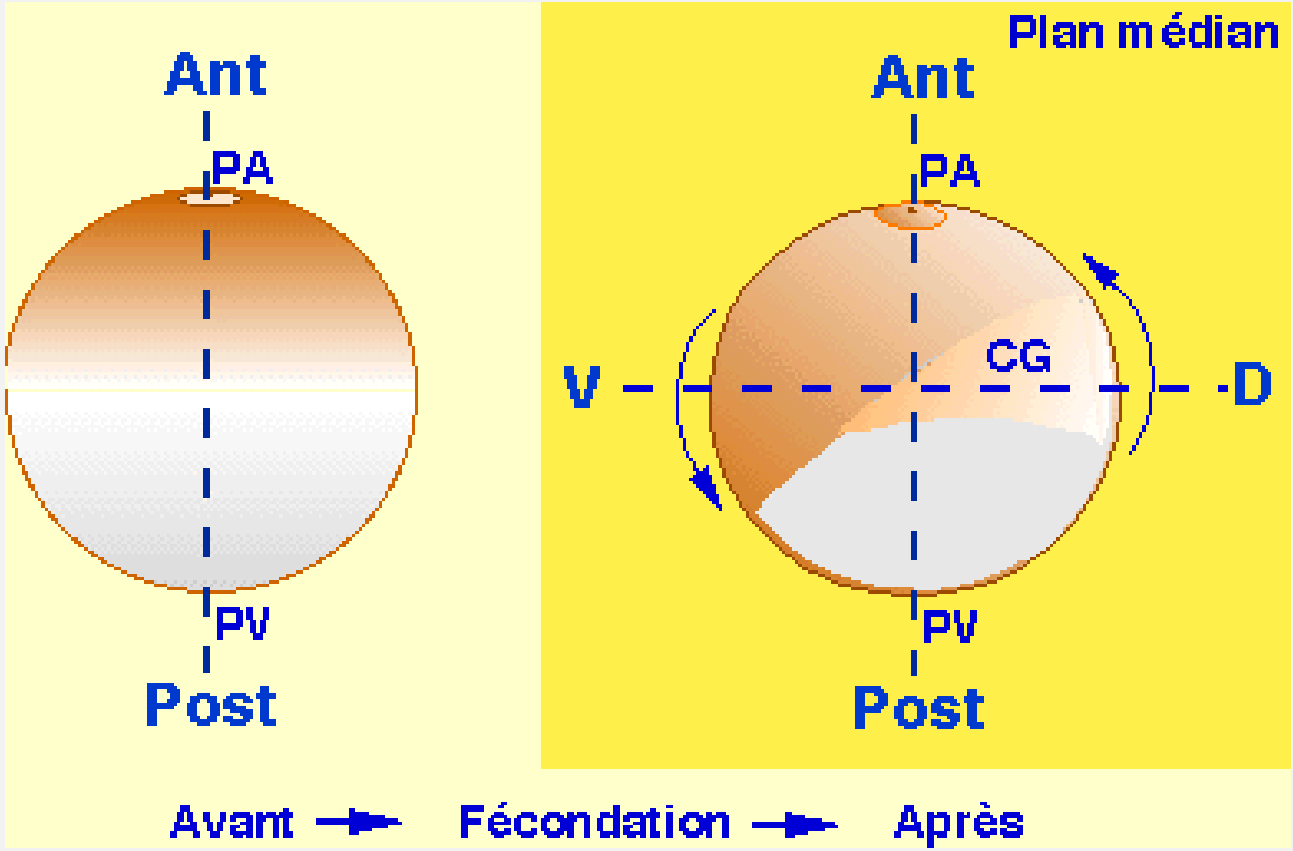
Rotation de symétrisation

La calotte pigmentaire de l ’hémisphère animal bascule vers le point d ’entrée du spermatozoïde laissant à l ’opposé de celui-ci des trainées de pigment cortical qui affectent la forme d ’un croissant (« croissant gris » CG).



https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

Acquisition des axes de polarité chez le Xénope

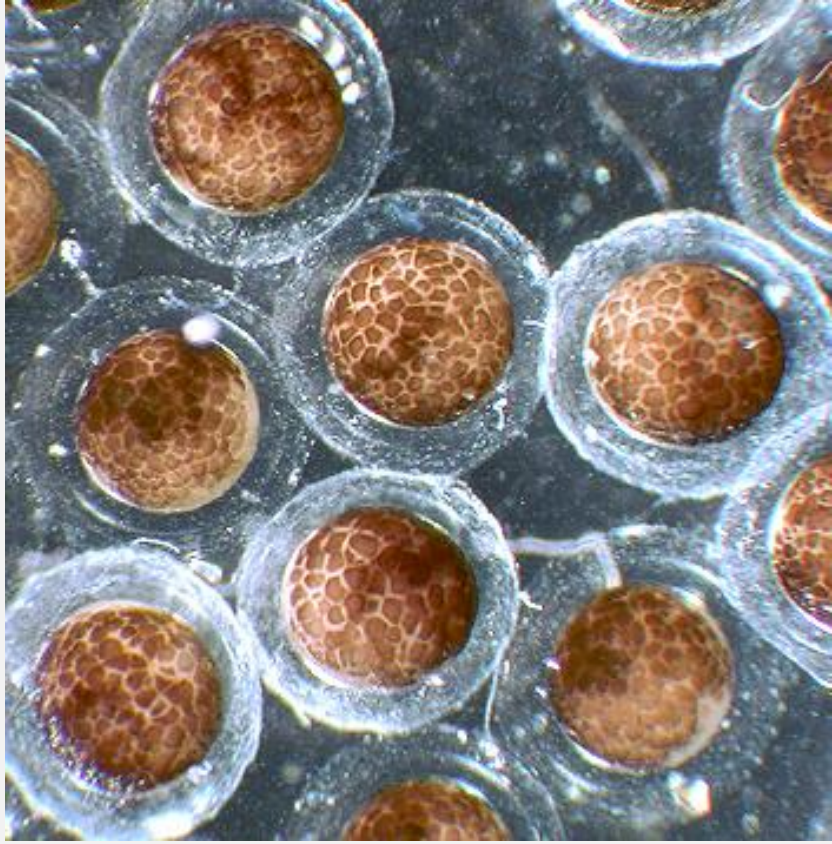


Comparaison entre l ’ovocyte avant la fécondation et l ’œuf fécondé une heure après l ’entrée du spermatozoïde.

Ant : antérieur ; D : dorsal ; Post : postérieur ; V : ventral.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

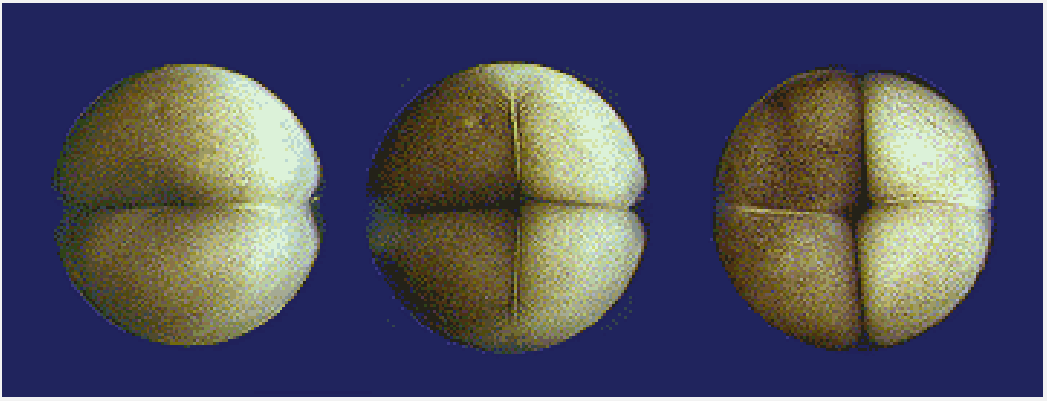
Morulas dans leur gangue.



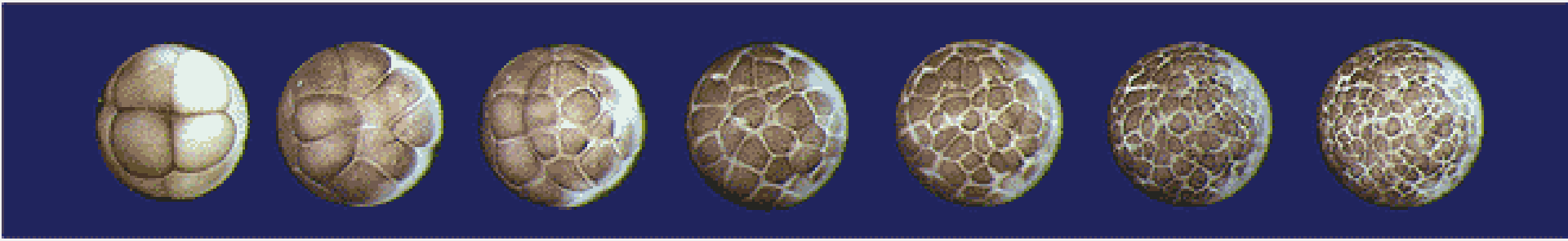
La segmentation
(document 2)

Du stades 2 à 4 cellules.

Chez ces embryons, la polarisation dorsoventrale reste nettement visible grâce à la différence de pigmentation.



https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

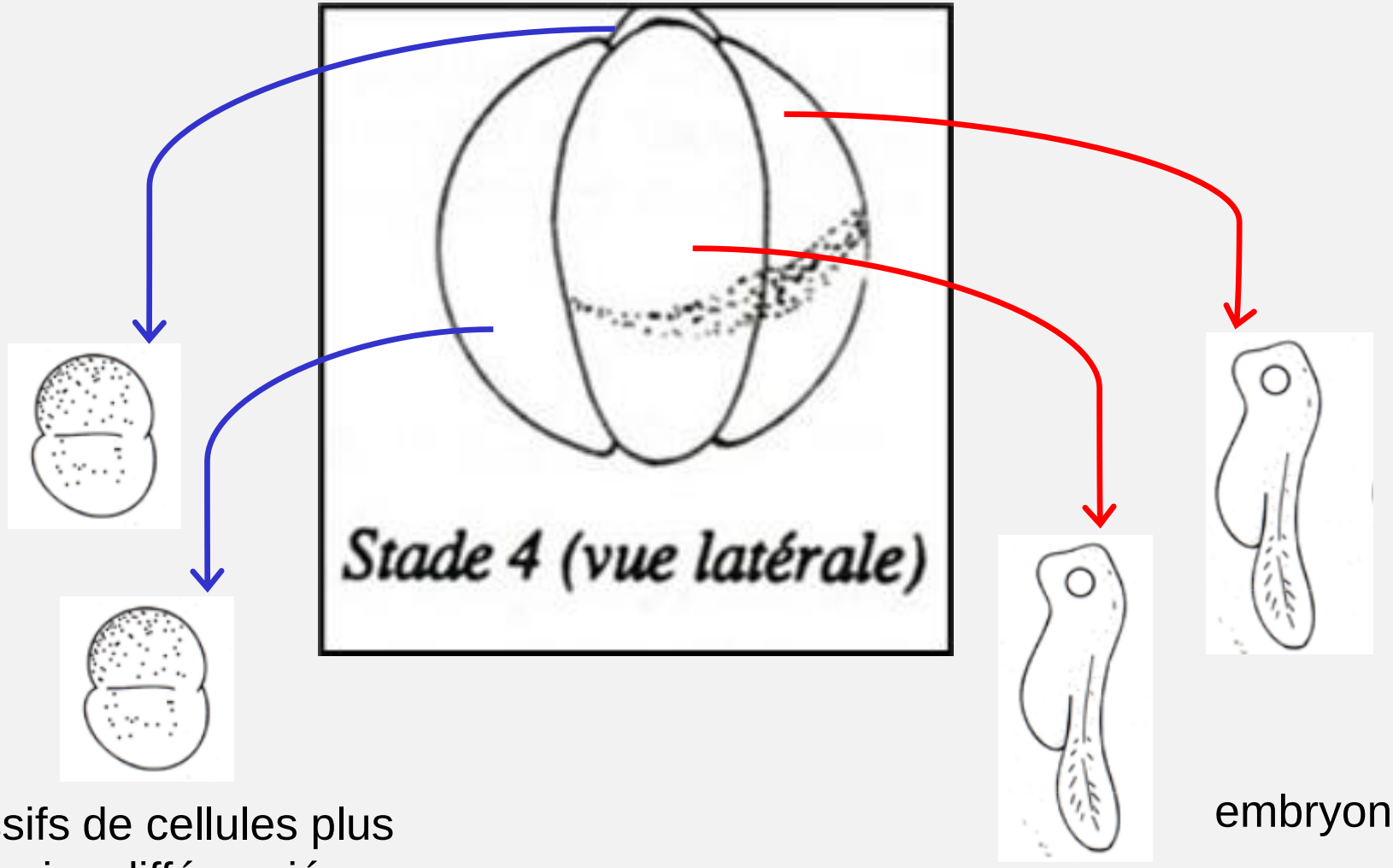


Du stade 8 à 128 cellules, la morula.

La différence de pigmentation dorsoventrale est toujours perceptible.

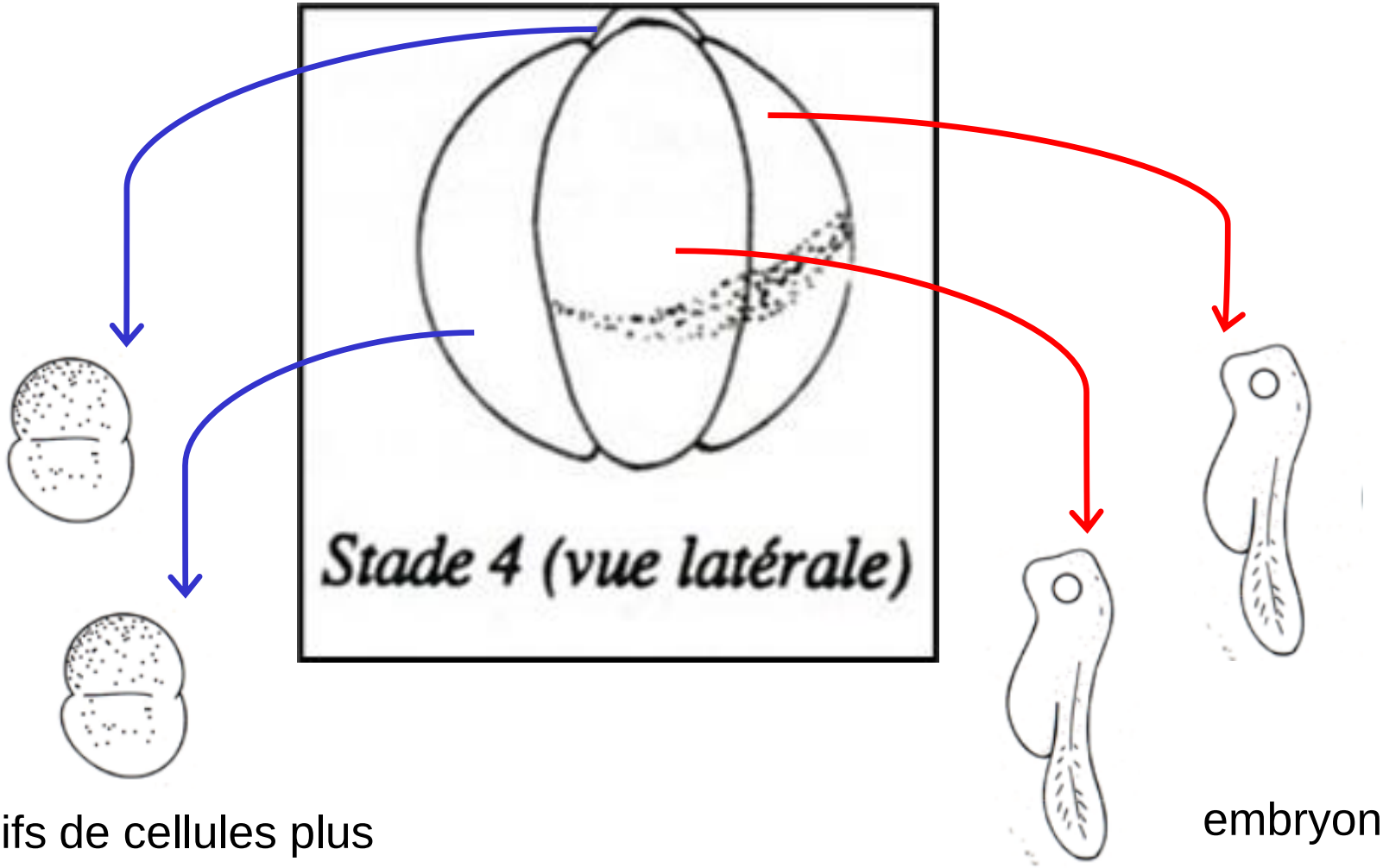
<u>Document 3.</u> Expérience de Spemann au stade 4 blastomères.

Les quatre blastomères sont séparés, cultivés en solution saline, ils poursuivent leur développement isolément :

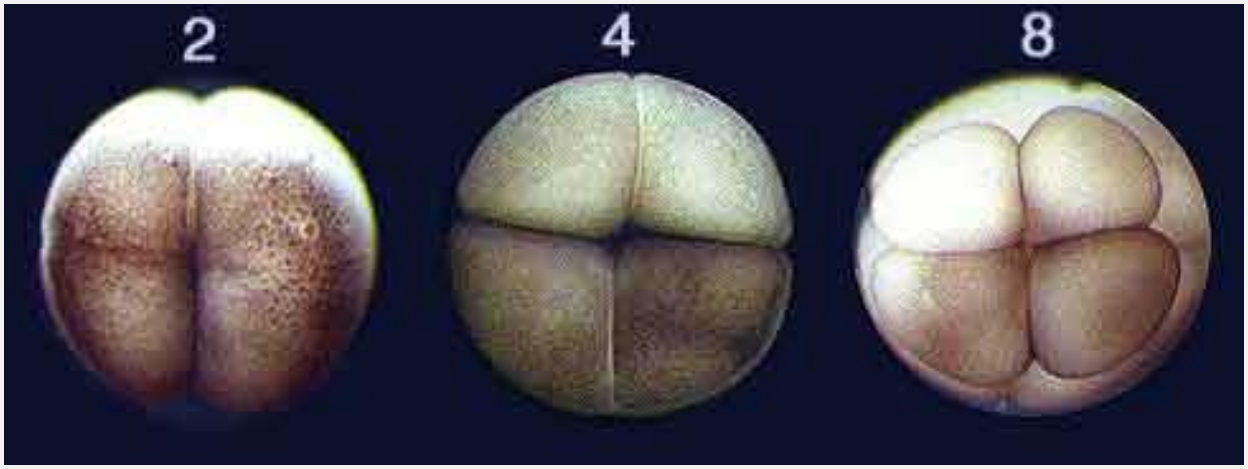


<u>Document 3.</u> Expérience de Spemann au stade 4 blastomères.

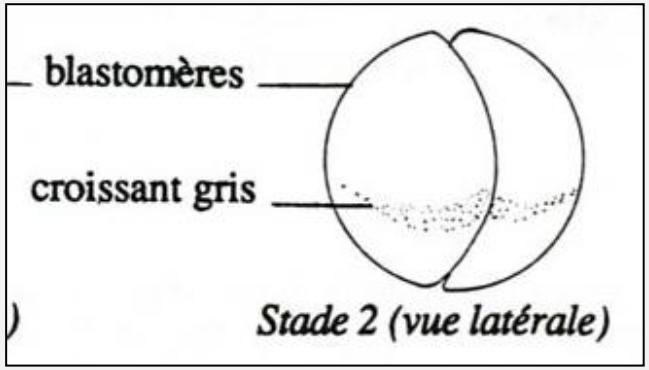
Les quatre blastomères sont séparés, cultivés en solution saline, ils poursuivent leur développement isolément :

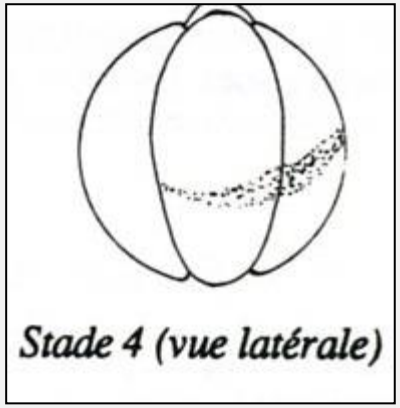


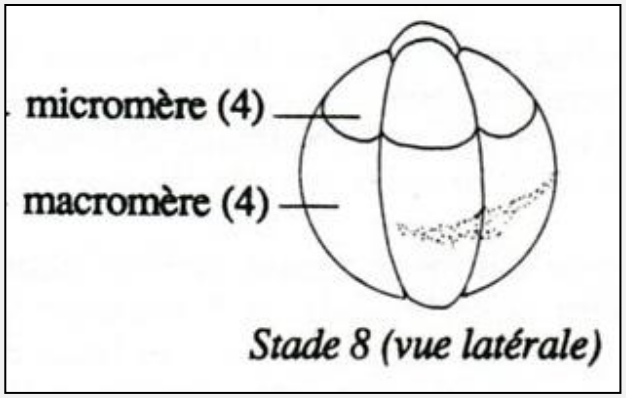
La segmentation : 3e plan de clivage sus-équatorial



Stades 2 à 8 cellules





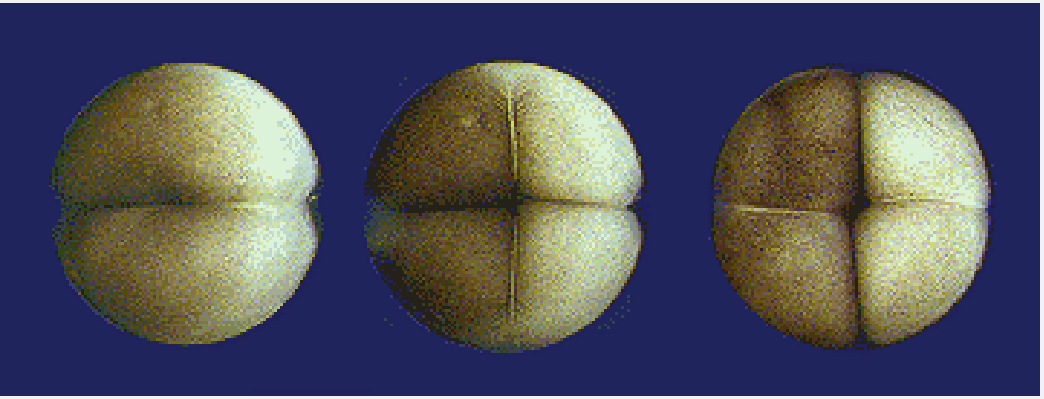


Schémas correspondants

Extraits du <u>Document 2</u>. La segmentation.

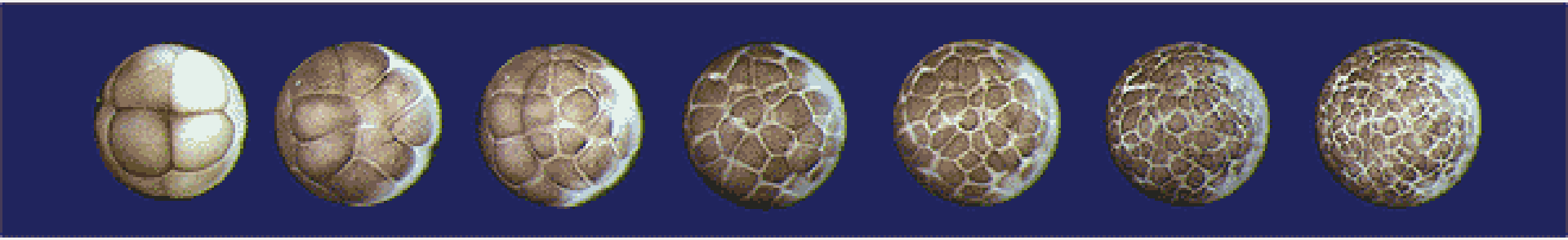
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

La segmentation



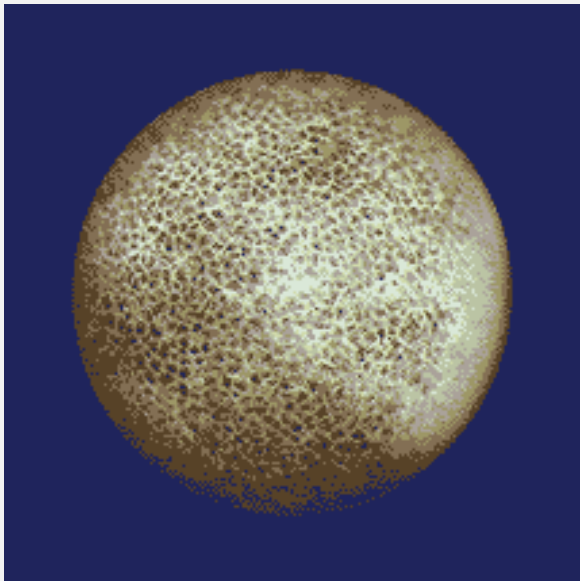
Du stades 2 à 4 cellules.

Chez ces embryons, la polarisation dorsoventrale reste nettement visible grâce à la différence de pigmentation.



Du stade 8 à 128 cellules, la morula.

La différence de pigmentation dorsoventrale est toujours perceptible.

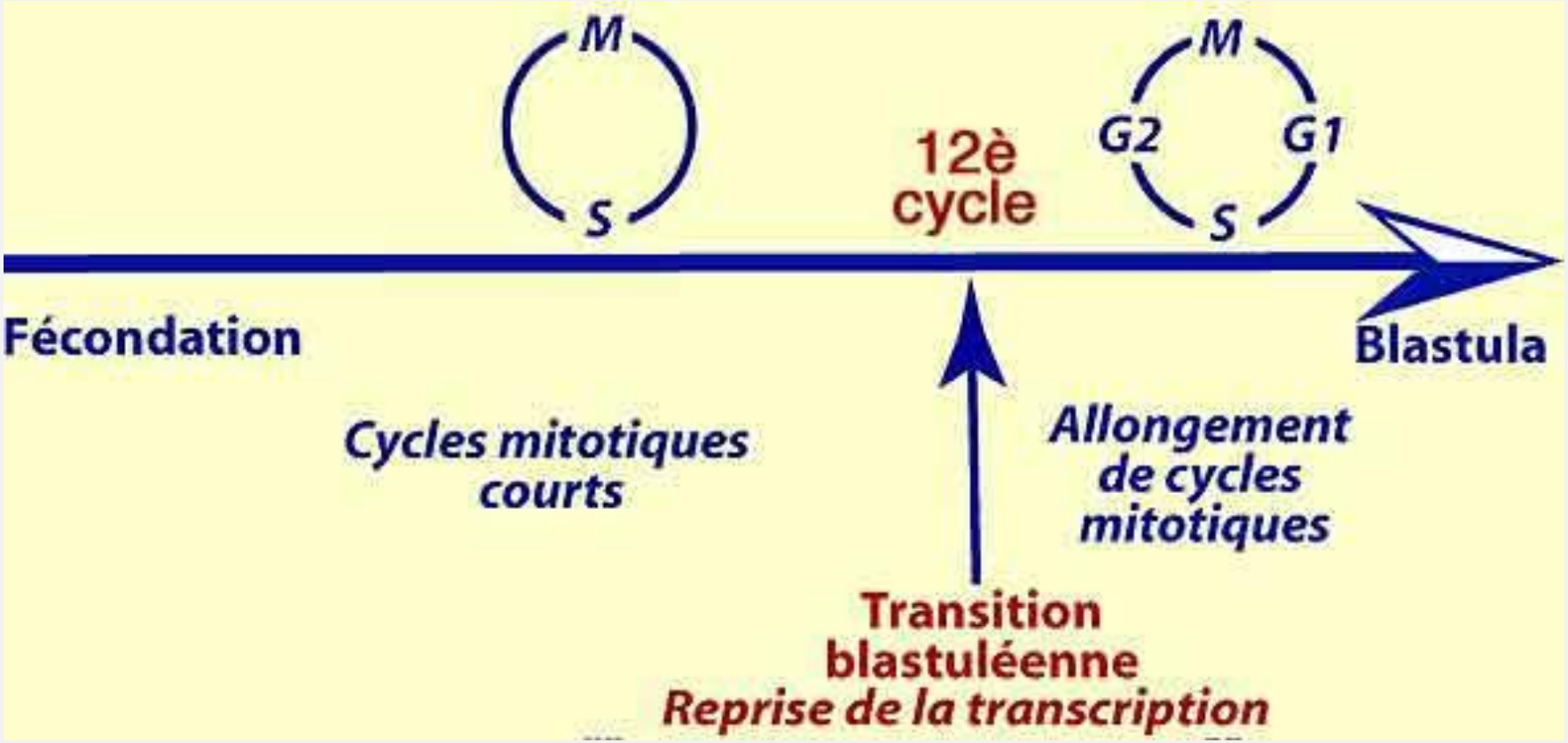


Au terme du clivage : la blastula.

Vue par le pôle animal.

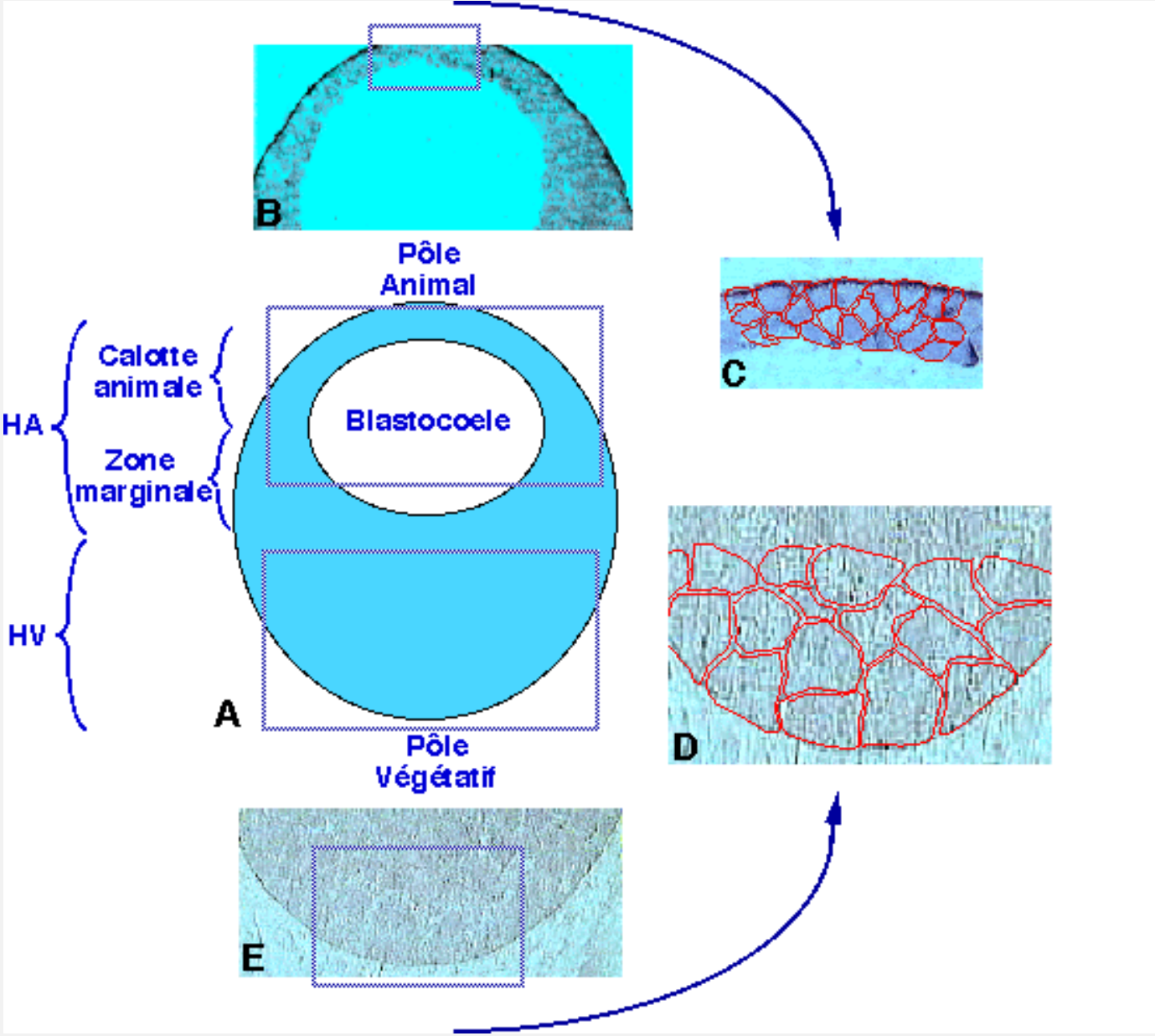
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

La transition blastuléenne



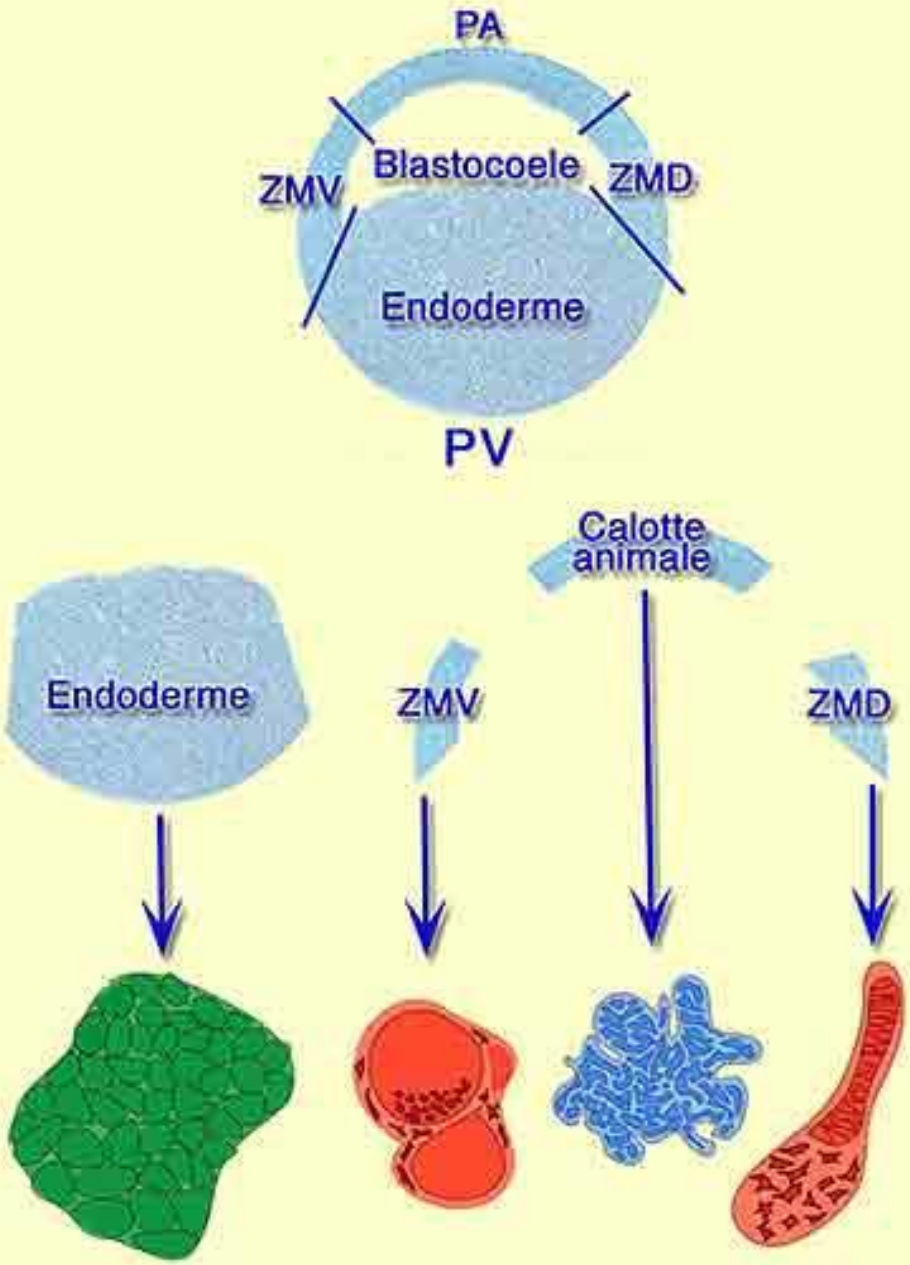
Les premières transcriptions zygotiques apparaissent

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



Blastula de Xénope et coupes histologiques réalisées dans les hémisphères animal et végétatif.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

<u>Document 4.</u> Expériences de Nieuwkoop : mise en culture d'explants de blastula isolément.

Au stade blastula, des explants sont prélevés dans les 3 régions : calotte ectodermique, zone marginale et endoderme.

Après 3 jours de culture isolée, les résultats sont les suivants :

- calotte ectodermique --> épiderme atypique

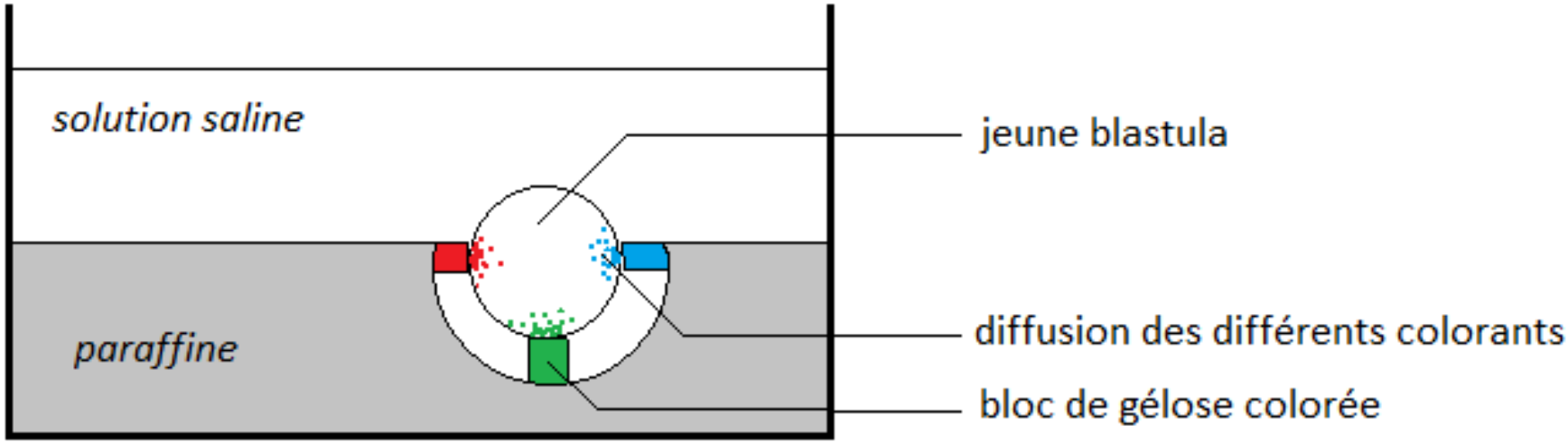
- zone marginale dorsale --> mésoderme de type dorsal (chorde, somites)

- zone marginale ventrale --> mésoderme de type ventral (vésicules rappelant le coelome entouré par les lames latérales, cellules sanguines)

- cellules endodermiques --> endoderme indifférencié

Technique des marques colorées (Vogt, 1925)

1 – Marquage des cellules par diffusion de colorants « vitaux »



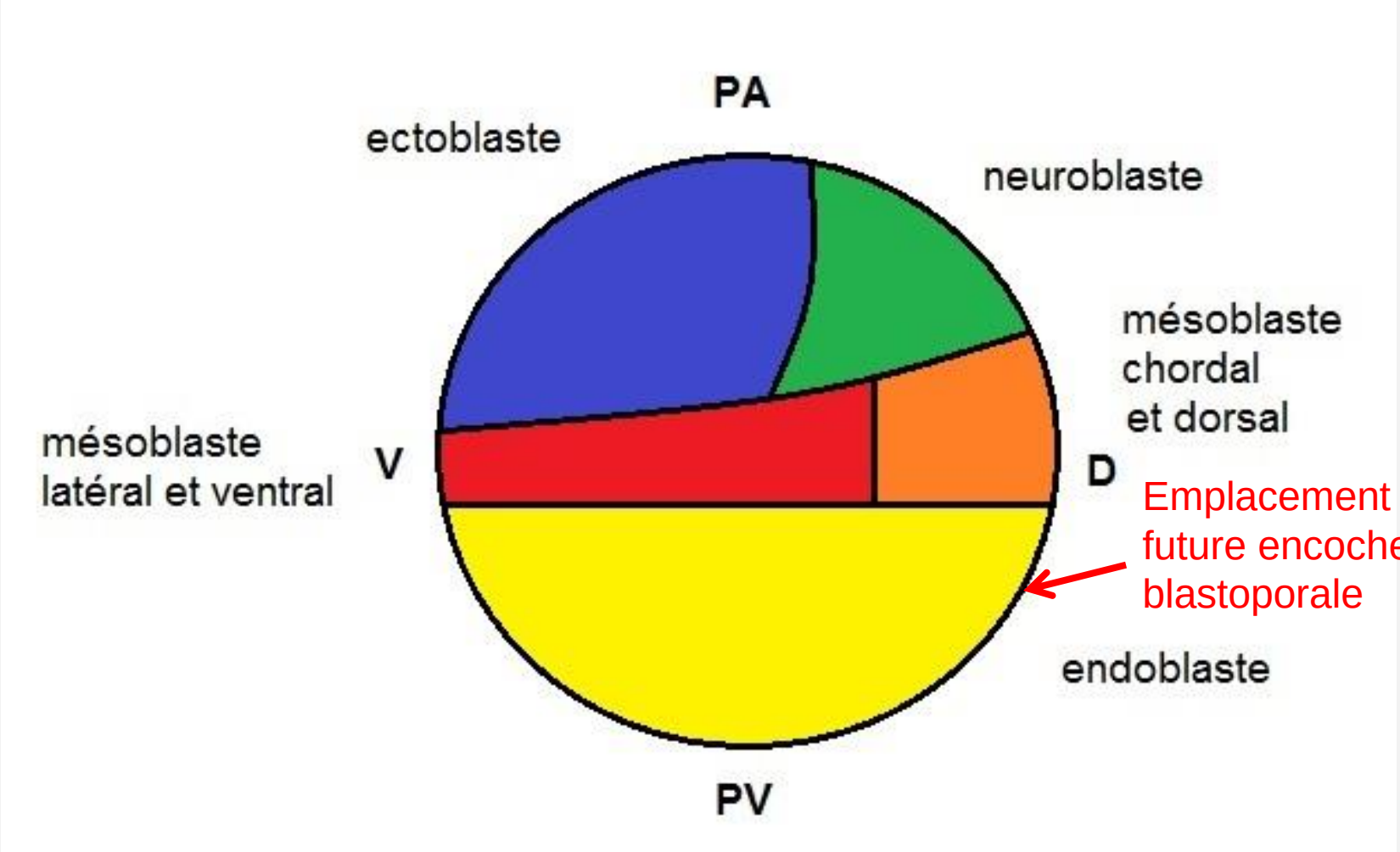
2 – Réalisation de coupes au stade gastrula et repérage du tissu embryonnaire auquel les cellules sont intégrées : endoderme, mésoderme ou ectoderme / neuroderme

3 – Synthèse des résultats : élaboration de la carte des territoires présomptifs

Suivi de la destinée des cellules par injection de dextrane et de composés fluorescents

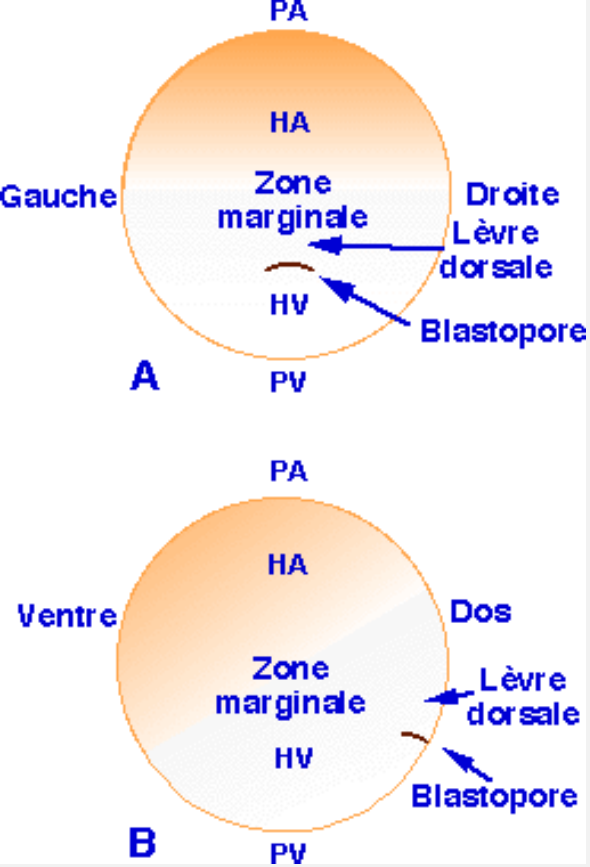
Les techniques modernes utilisent des composés fluorescents pour marquer les cellules de l'embryon.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

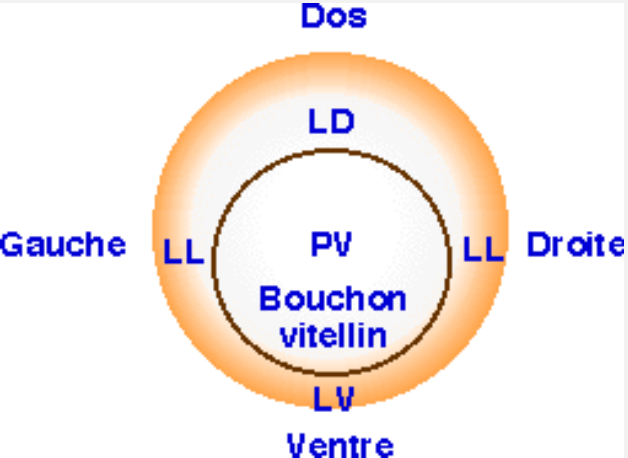


<u>Document 5</u>. Carte des territoires présomptifs de la blastula de Xénope.

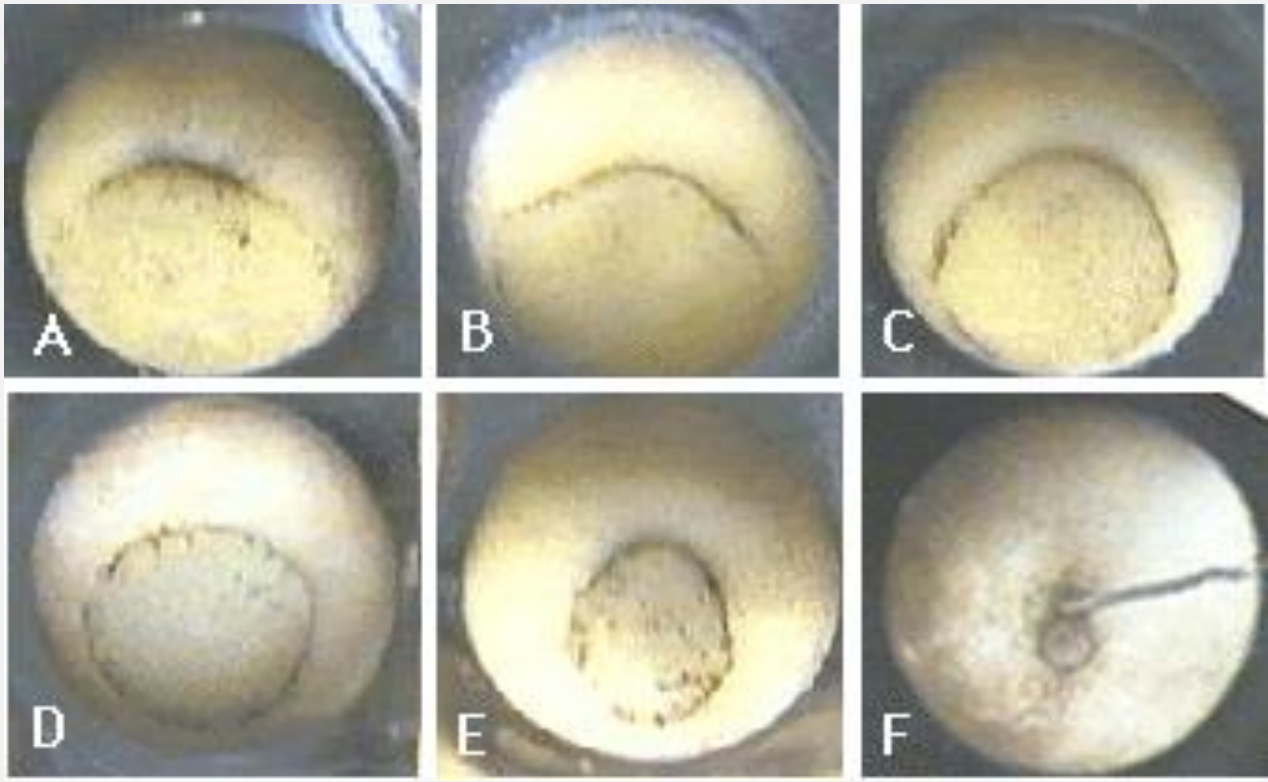
La gastrulation



Jeune gastrula en vue dorsale (A) et en vue de profil (B).



Quelques stades de la gastrulation vus par l ’hémisphère végétatif.



Gastrula au stade jeune bouchon vitellin vu par le pôle végétatif.

LD : lèvre dorsale, LL : lèvre latéral, LV : lèvre ventral, PV : pôle végétatif.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

Couleur des taches :

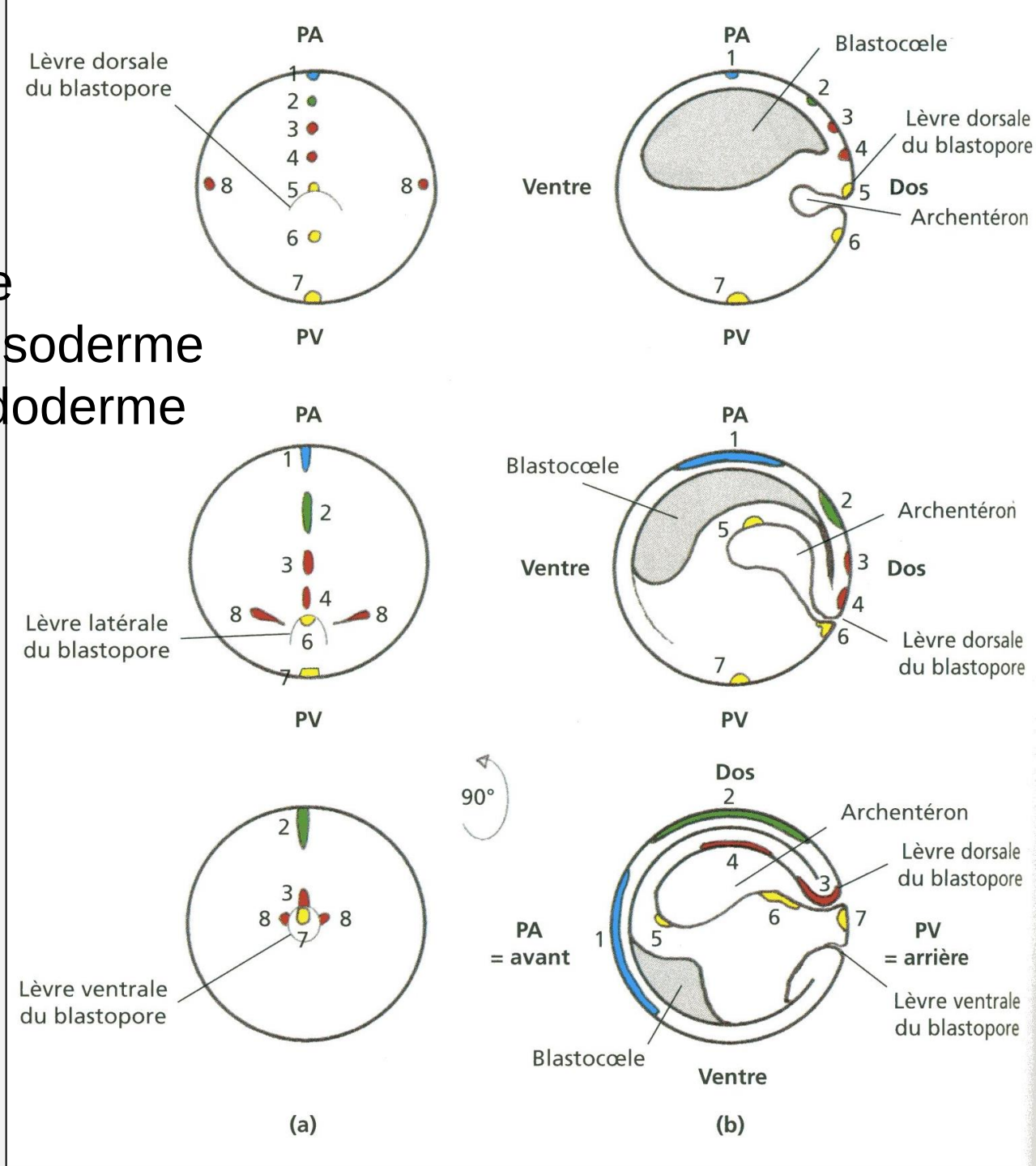
1 : bleu → épiderme

2 : vert → neuroderme

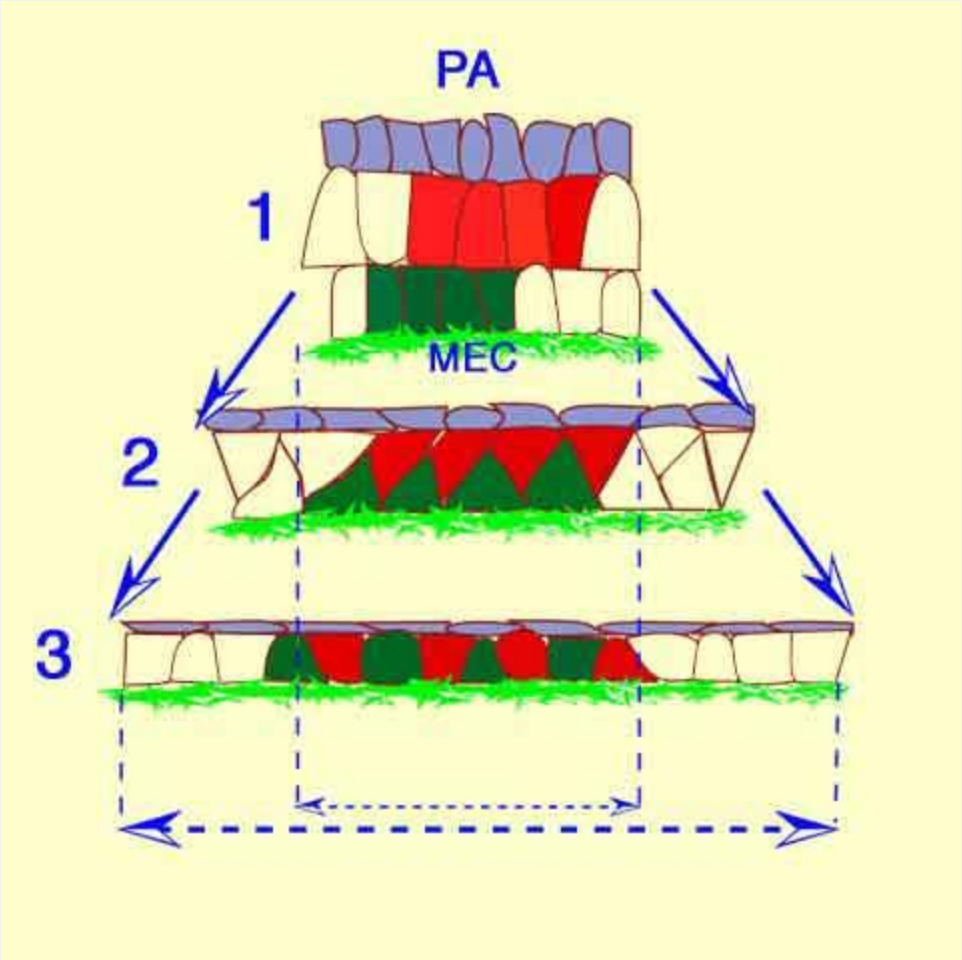
3 - 4 - 8 : rouge → mésoderme

5 - 6 - 7 : jaune → endoderme

Document 6. Suivi des mouvements gastruléens par la technique des marques colorées. Vue externe en FD et vues en CS.

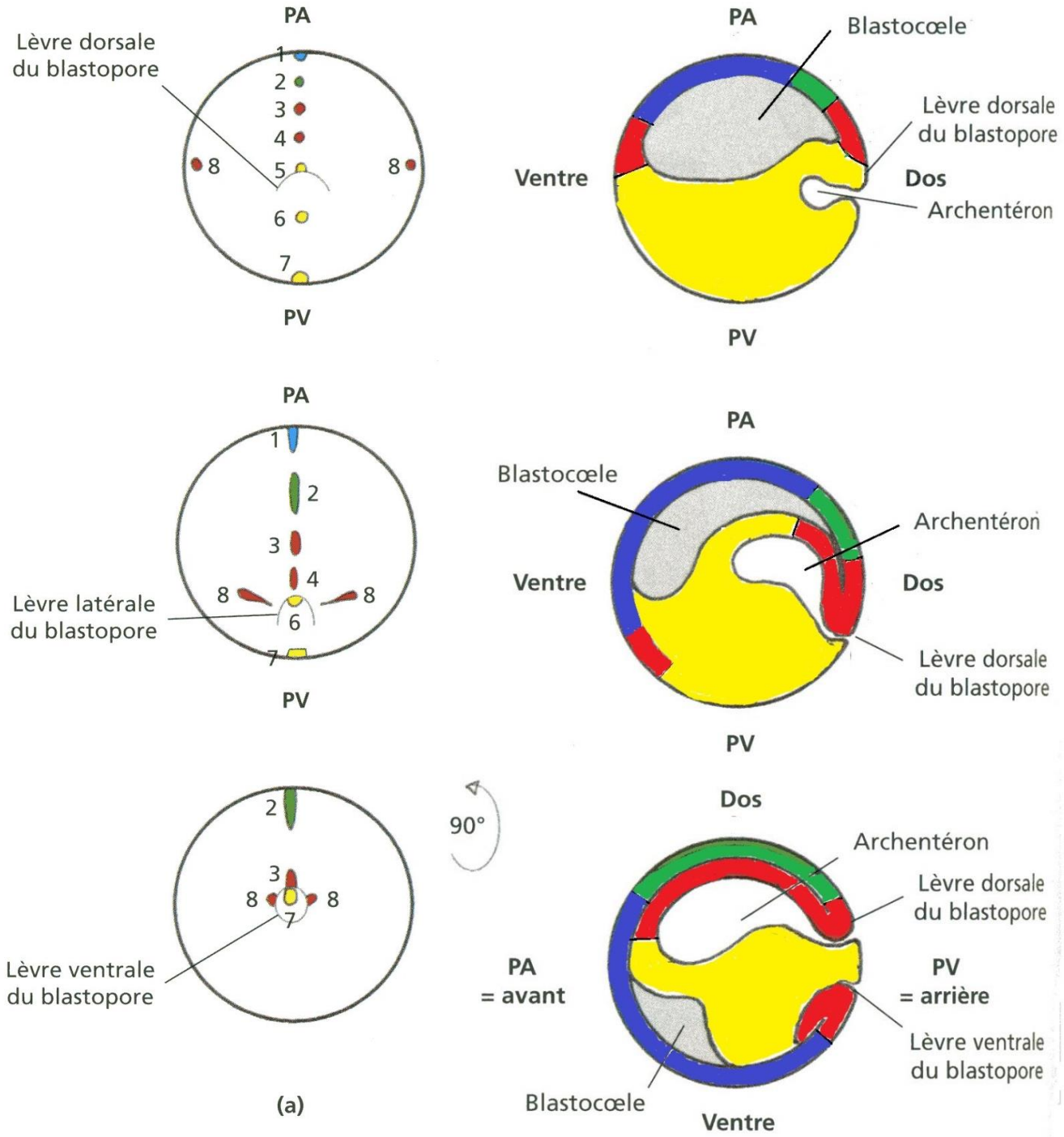


Mécanisme de l’épibolie chez le Xénope



Au début de la gastrulation, l’épithélium du pôle animal est tristratifié.
Les deux couches cellulaires profondes s’intercalent.
En revanche, la couche cellulaire externe (en bleu) ne participe pas à l’intercalation et s’aplatit à la surface de l’embryon.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



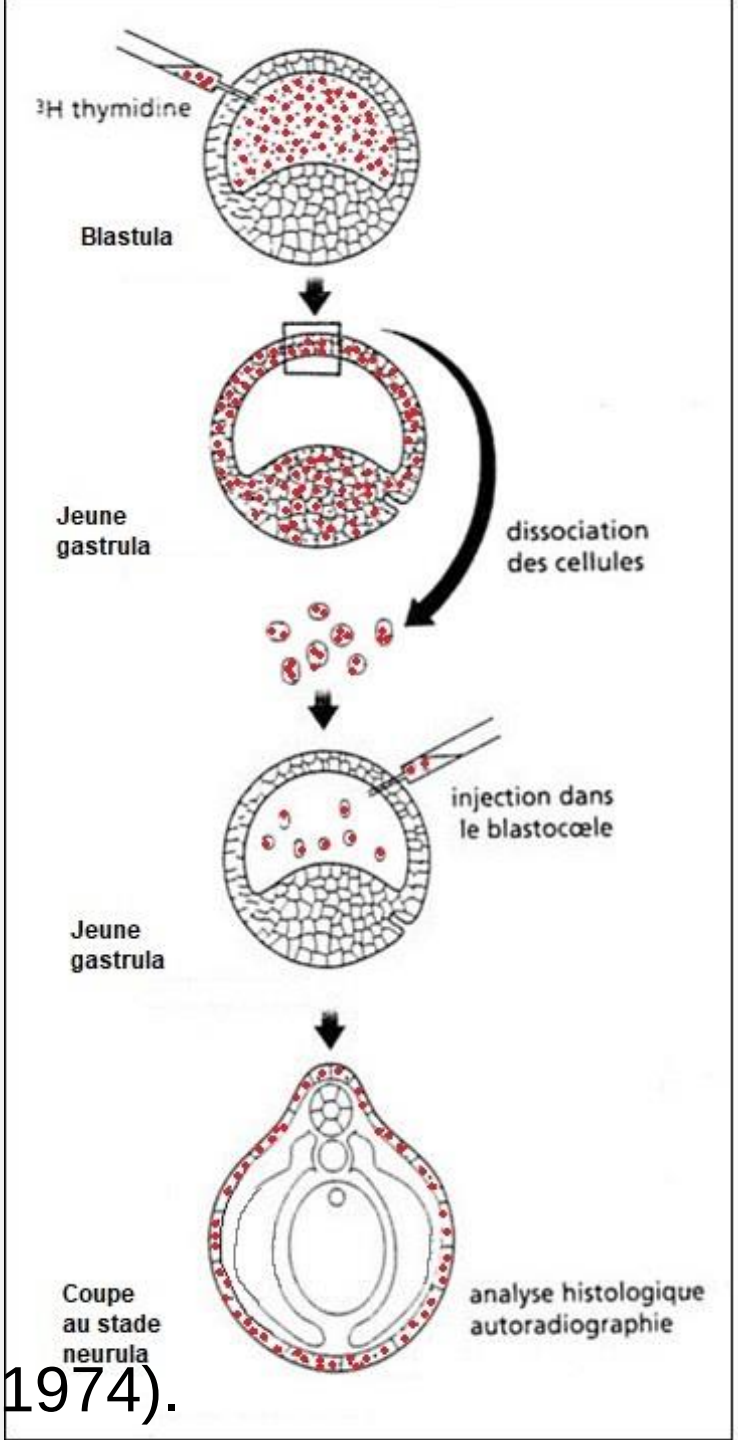
<u>Document 6.</u>
Gastrula à différents stades : CS en vue latérale gauche, mettant en évidence les mouvements affectant les territoires présomptifs.

L'injection de thymidine tritiée dans le blastocœle d'une blastula permet de marquer ses cellules.

Des micromères de la calotte animale sont ensuite prélevés,

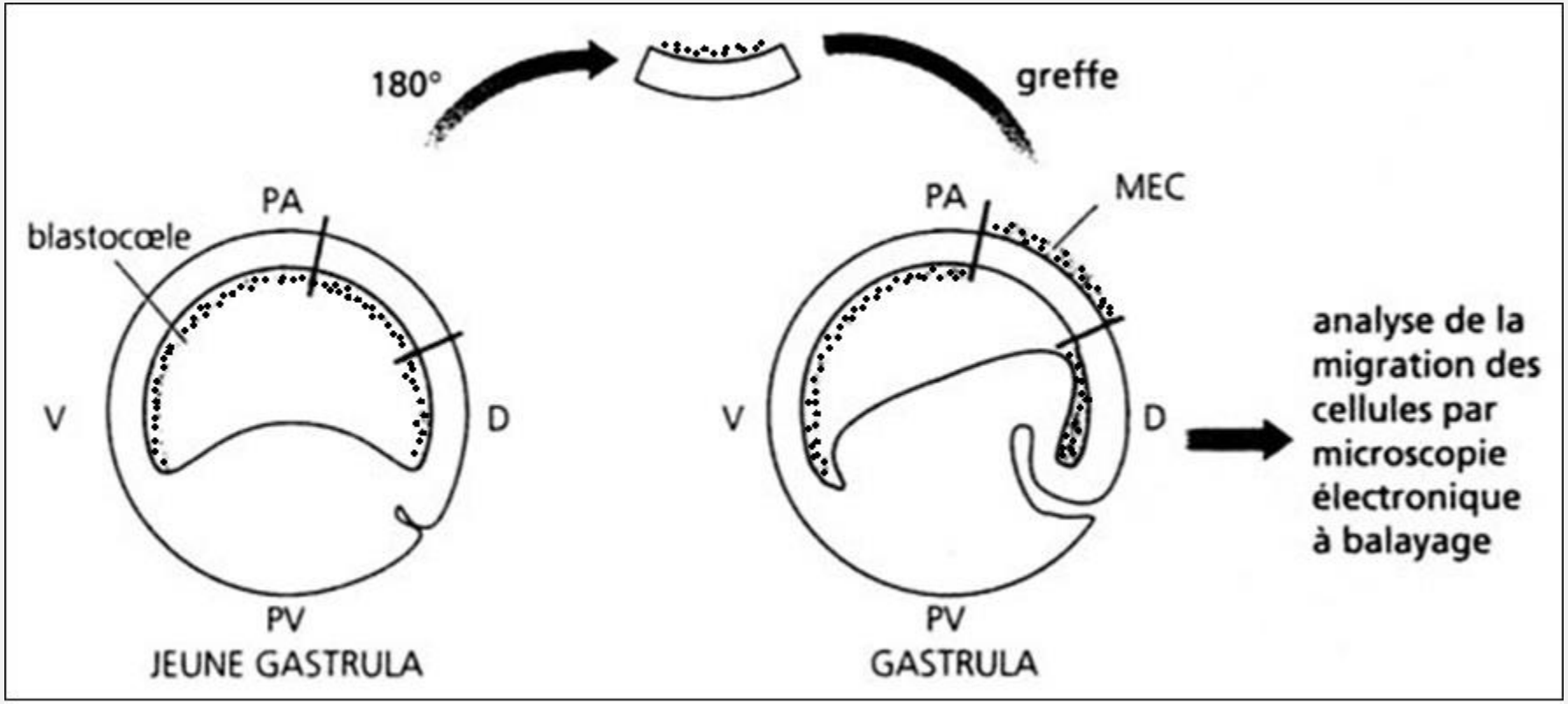
puis injectés dans blastocœle d'une jeune gastrula.

Au stade neurula, une coupe est réalisée et les cellules marquées sont repérées par autoradiographie.



<u>Document 7.</u> Expérience de Boucault (1974).

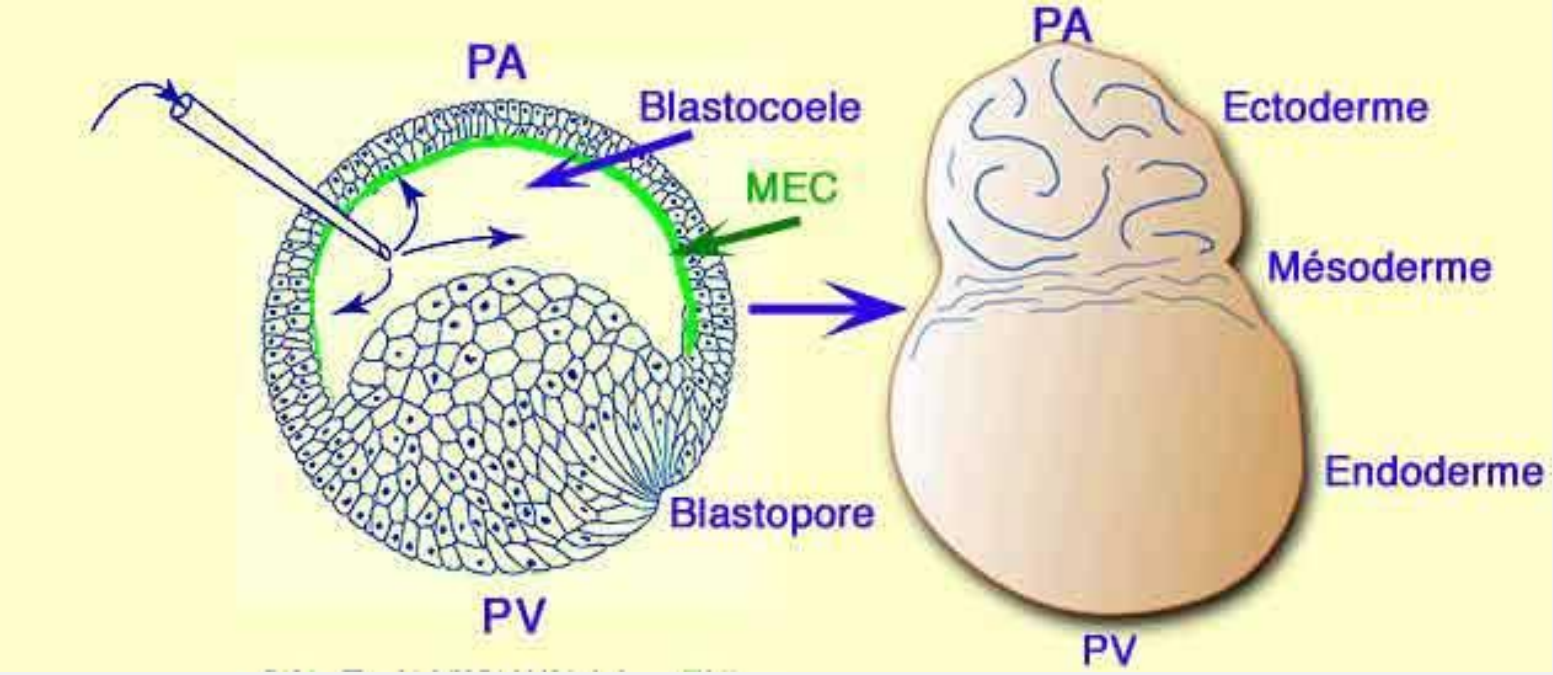
Importance de la MEC lors du processus de migration des cellules



<u>Document 8</u>. Mise en évidence du rôle de la matrice extracellulaire pendant la gastrulation.

Un fragment du toit du blastocœle prélevé chez une jeune blastula est retourné et greffé chez une jeune gastrula.

Importance de la MEC lors du processus de migration des cellules



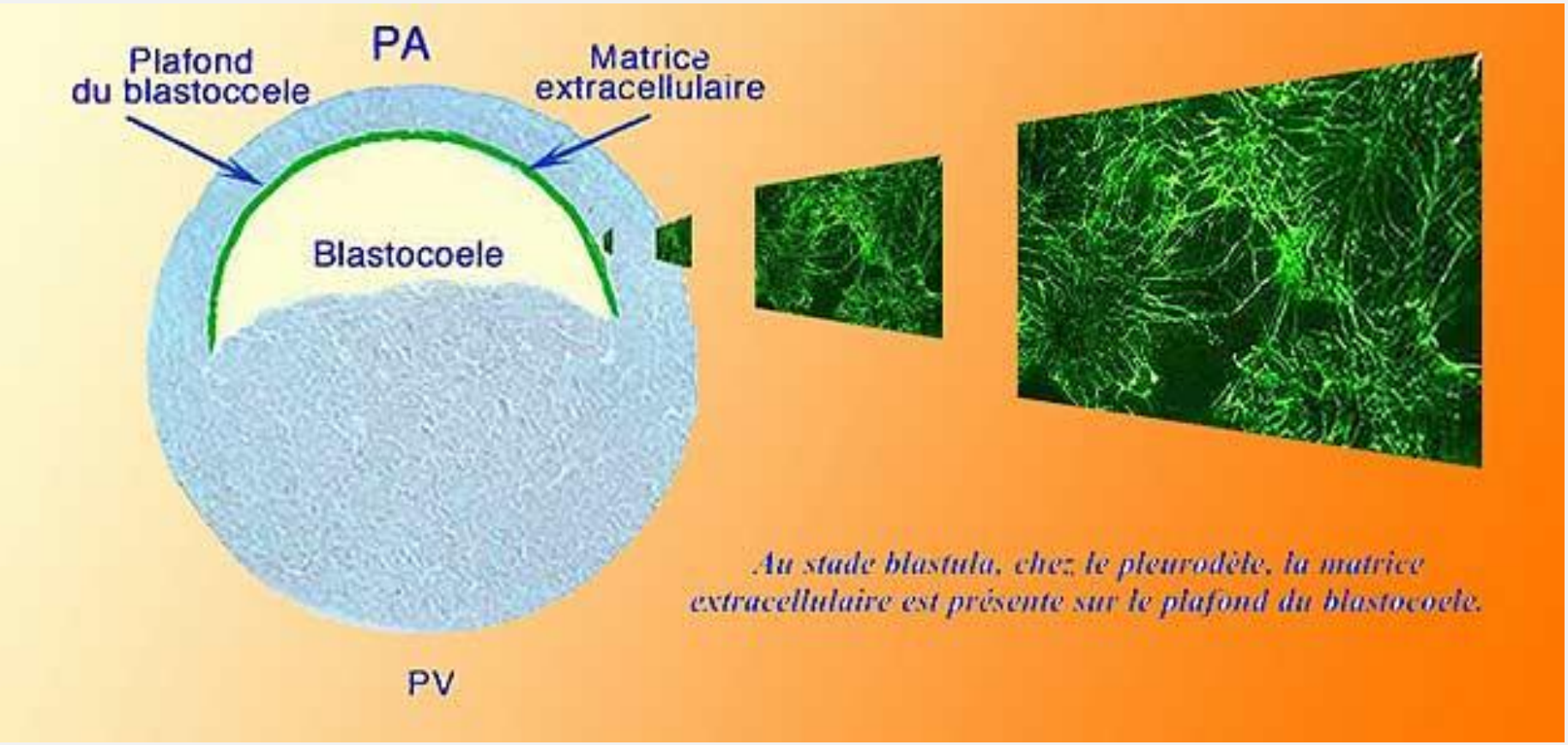
<u>Document 9</u>. Mise en évidence du rôle des fibronectines.

Des Ac anti-fibronectine sont injectés dans le blastocœle d'une jeune gastrula.
La migration cellulaire est bloquée, ce qui entraîne le blocage de l'invagination, qui entraîne à son tour le blocage de la gastrulation.

Les trois tissus fondamentaux (ectoderme, mésoderme et endoderme) restent apparents à l'observateur. On remarque cependant des plissements de l'ectoderme qui traduisent la persistance des mouvements d'épibolie.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

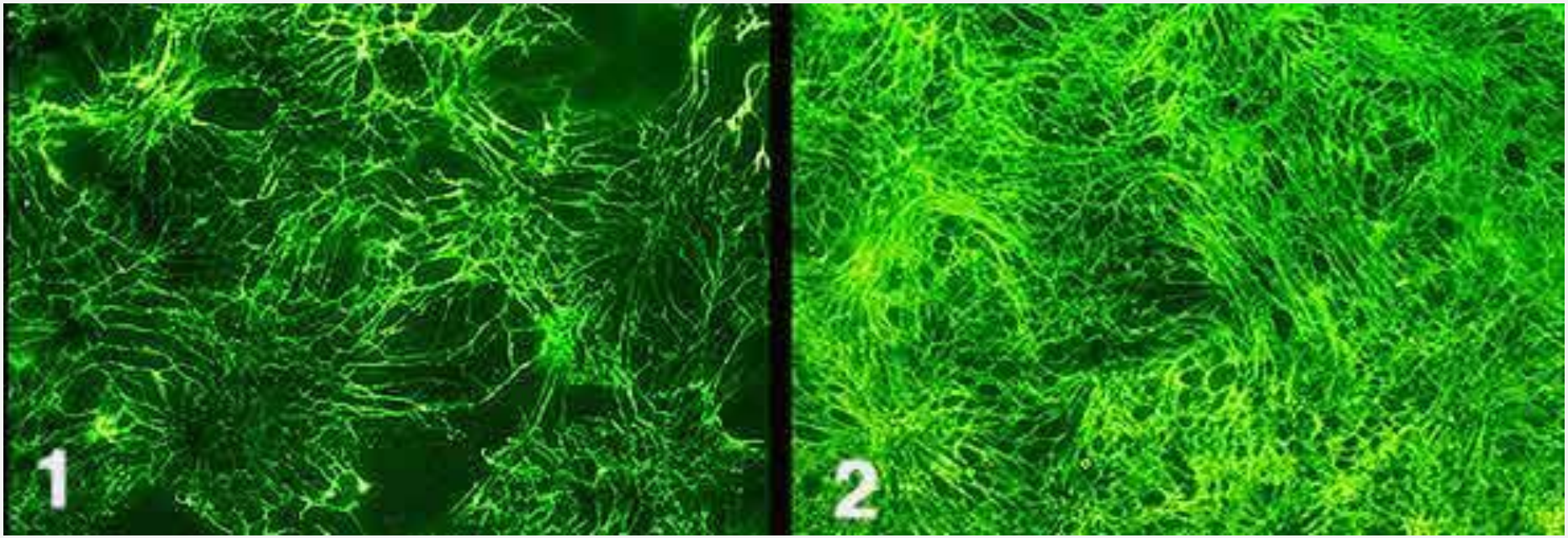
La matrice extracellulaire au cours de la gastrulation



Au stade blastula ou au tout début de la gastrulation, selon les espèces, une matrice extracellulaire riche en fibronectine et laminine est organisée sur le plafond du blastocoele.

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

La matrice extracellulaire au cours de la gastrulation

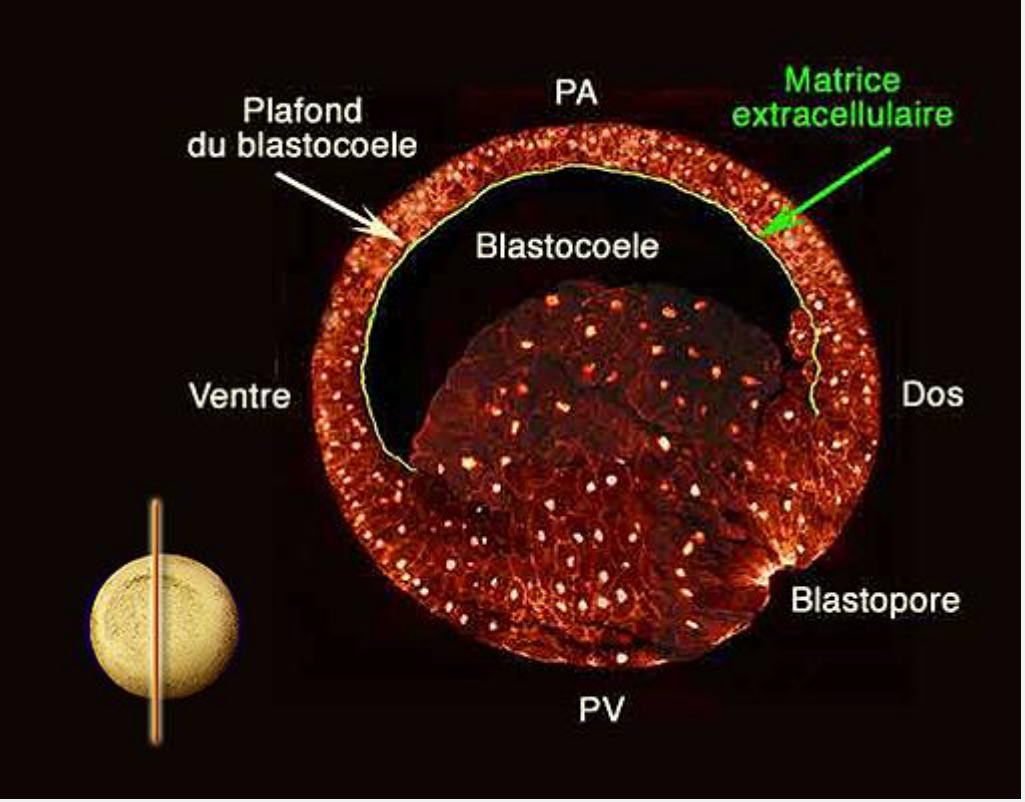


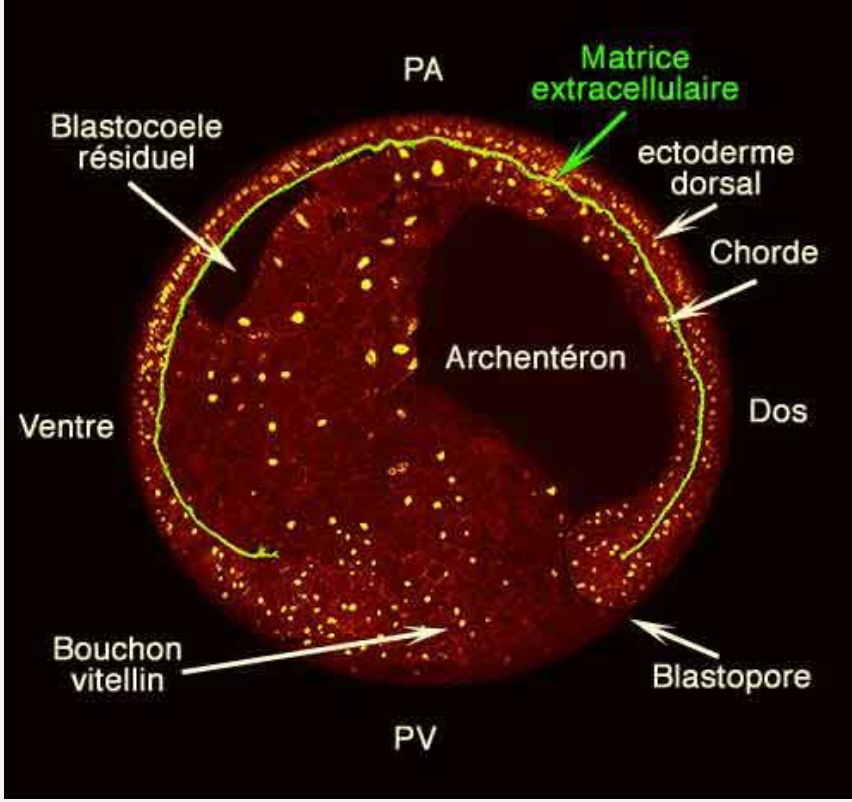
Matrice extracellulaire observée sur le plafond du blastocoele, révélée par immunofluorescence indirecte chez le pleurodèle.

Au début de la gastrulation, la MEC forme un réseau de fibrilles espacées (1).

A la fin de la gastrulation, le réseau de fibrilles s'est considérablement accru et densifié (2).

https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



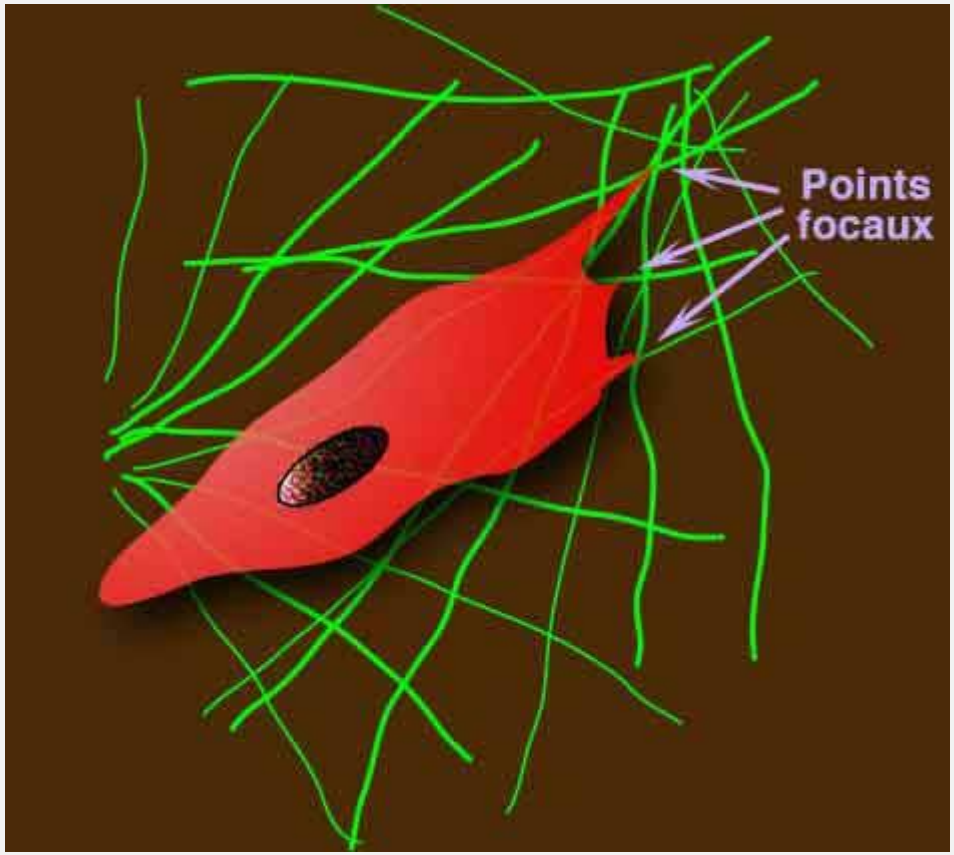


La matrice extra-cellulaire, organisée sur le plafond du blastocoele de cette jeune gastrula est rendue fluorescente par la technique d'immunofluorescence.

Au cours de la gastrulation, l'extension de la MEC reflète les mouvements d'épibolie de l'ectoderme.
La MEC se trouve « coincée » entre l'ectoderme dorsal et le mésoderme invaginé.
Ventralement, le blastocœle subsiste à l'état résiduel.
A la fin de la gastrulation, toute la MEC issue du plafond du blastocœle sera recouverte par du mésoderme aussi bien dorsalement que ventralement.

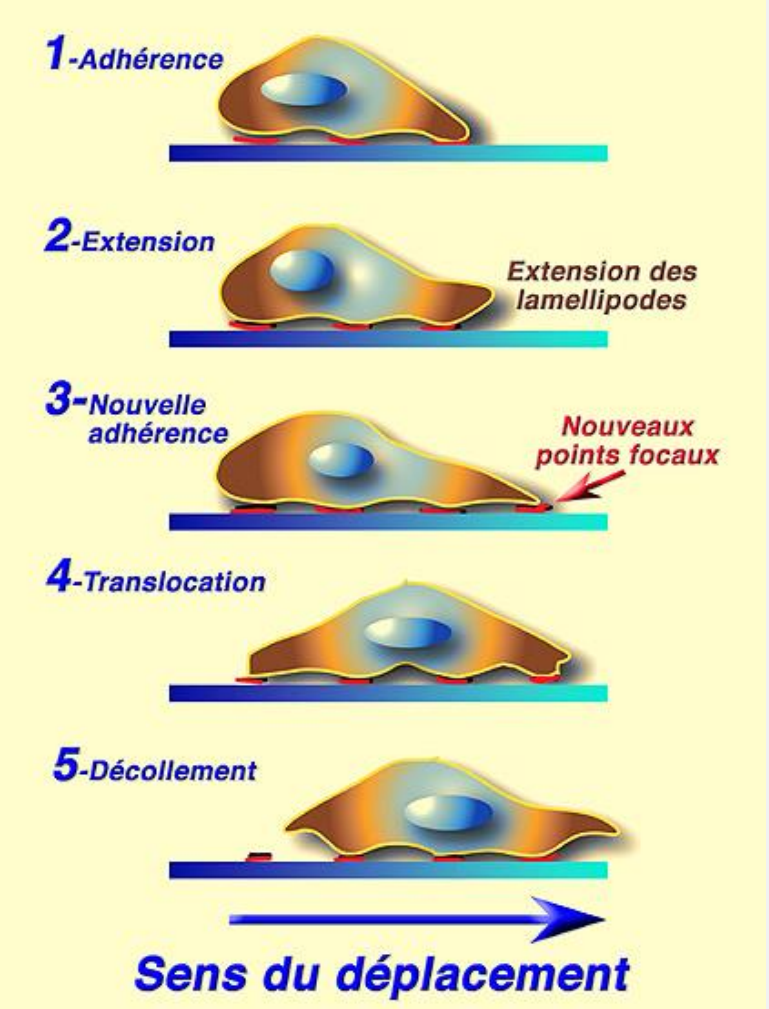
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

Migration d'une cellule mésodermique sur la MEC



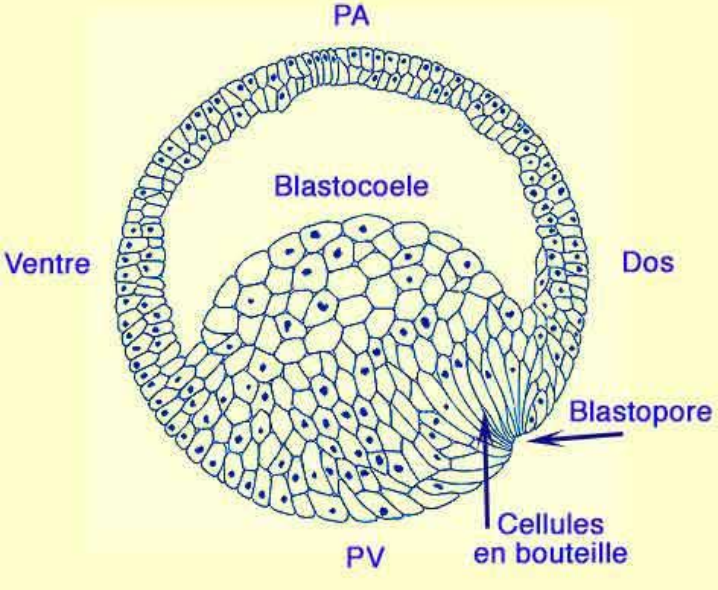
La cellule adhère grâce à des pseudopodes qui interagissent avec les fibrilles de la MEC au niveau des points focaux.

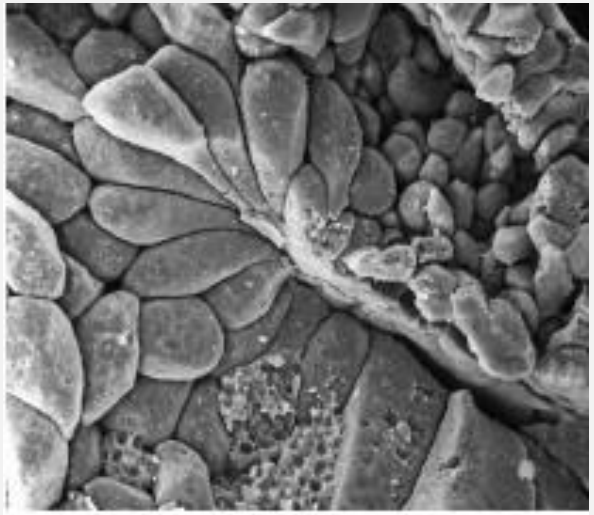
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



(1) interactions avec le substrat au niveau de points focaux (en rouge)
(2) Émission de pseudopodes exploratoires et d'expansions plus fines, les lamellipodes, qui établissent de nouveaux contacts.
(3) de nouveaux points focaux sont crées.
(4) Avancée du corps cellulaire.
(5) Déconnexion des points focaux postérieurs.

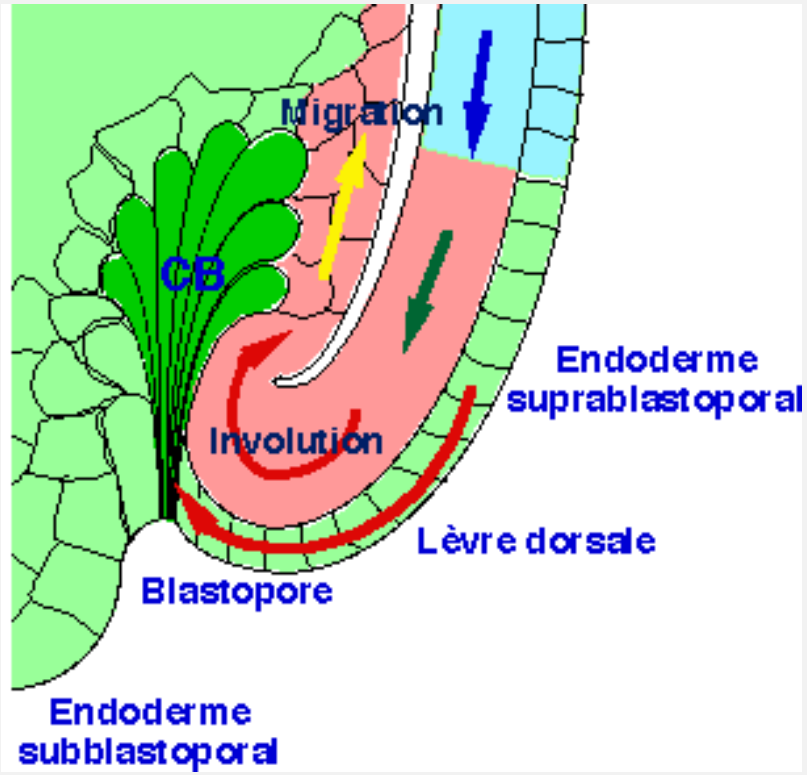
Changements de forme des cellules et mouvements d'involution lors de la gastrulation





Zone de l'encoche blastoporale, vue de détail. MEB

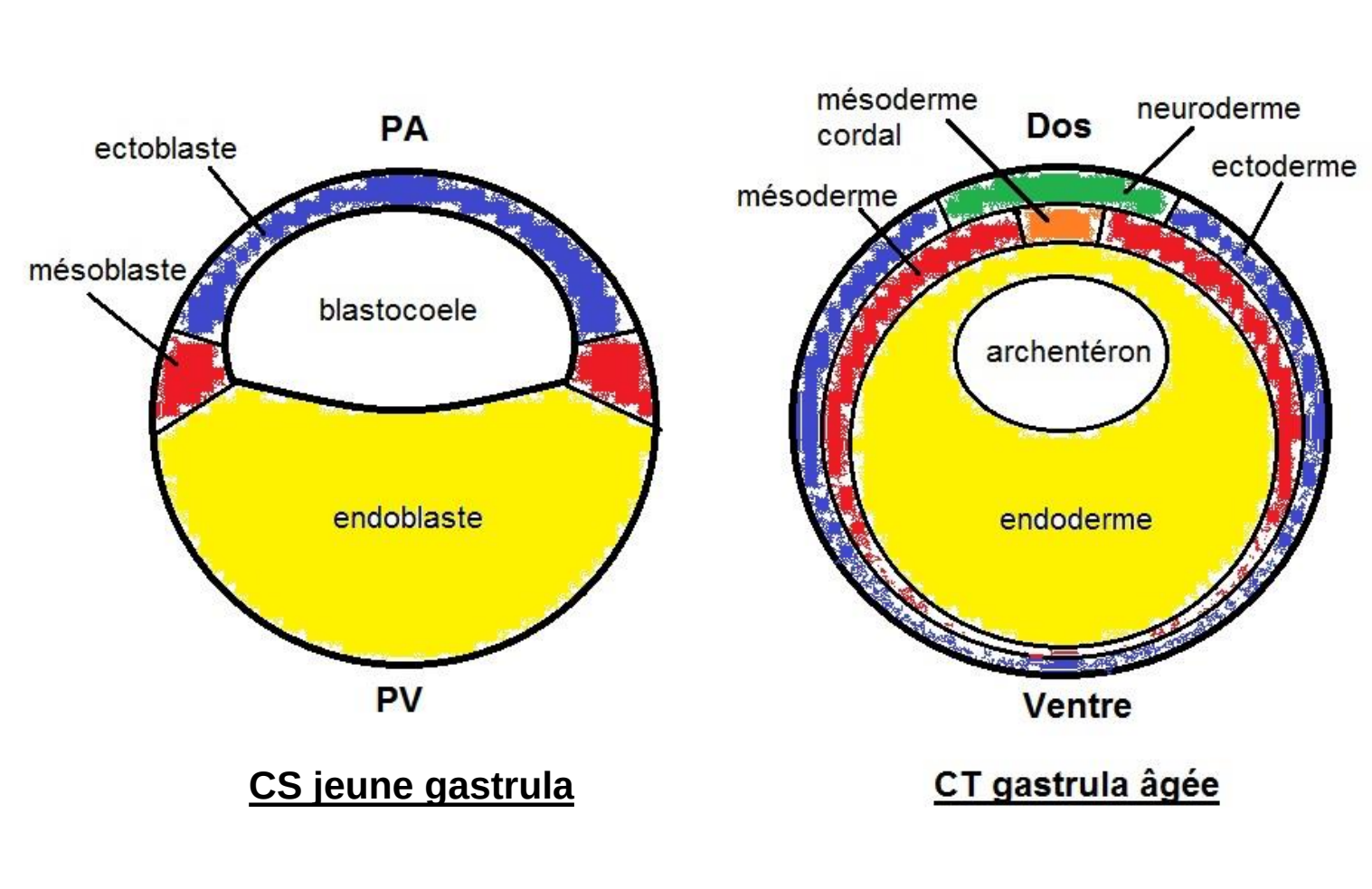
Source des images :
http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/homepage.html



<u>Document 10</u>. Cellules en bouteille et mouvements d'involution.

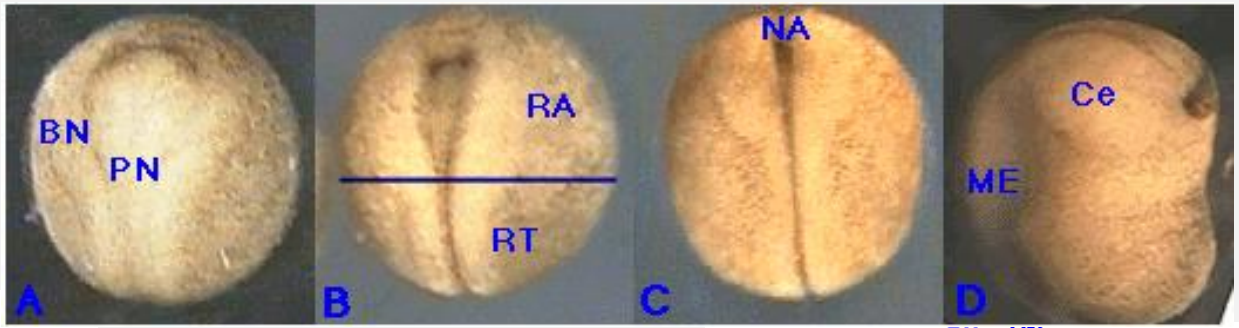
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

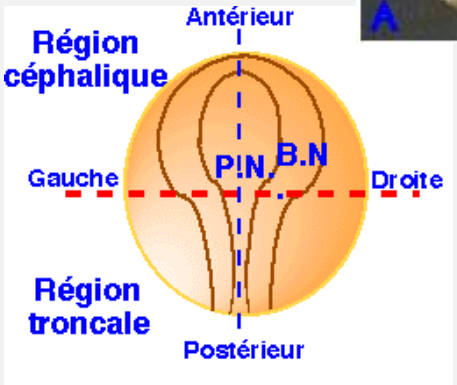
<u>Document 11.</u> Jeune gastrula en coupe sagittale et gastrula âgée en coupe transversale.

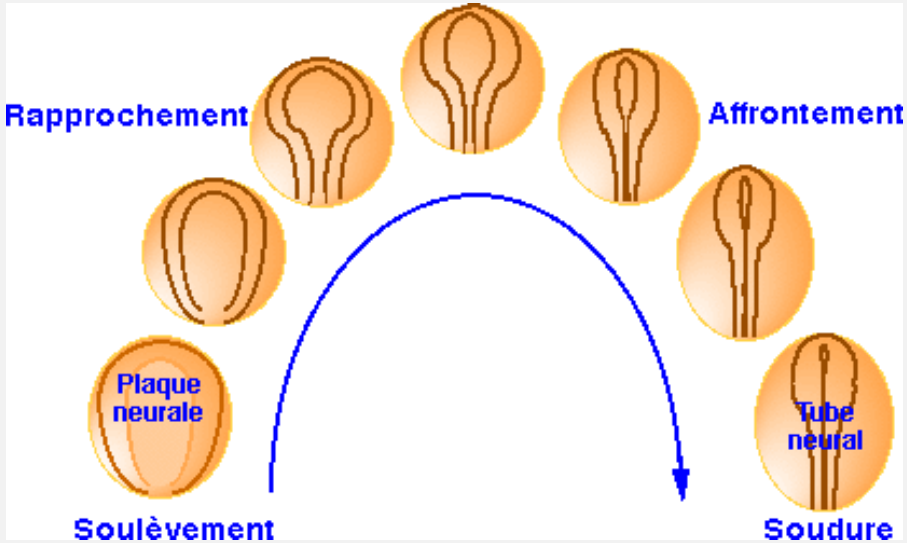


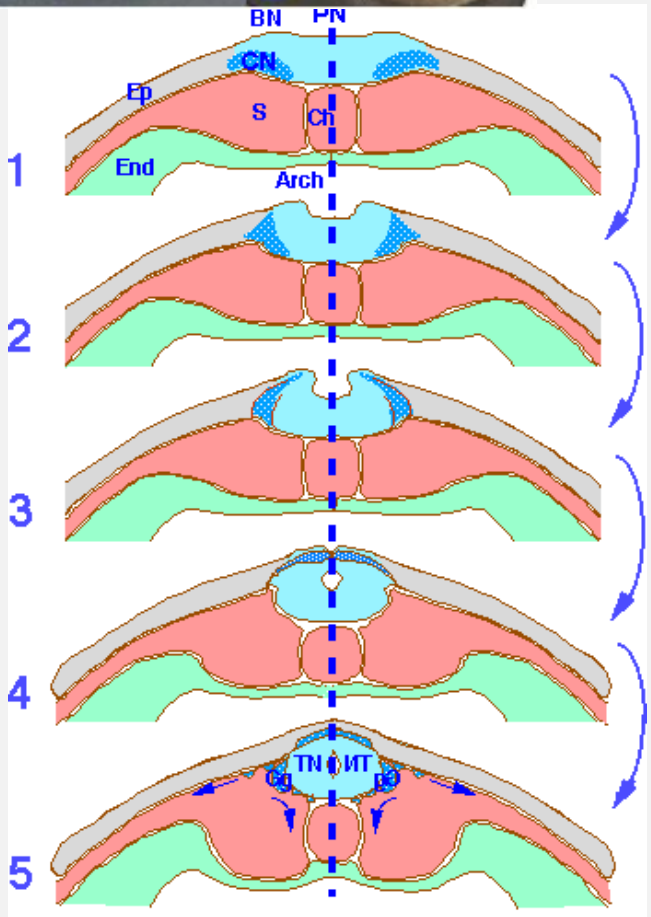
Les mouvements de la gastrulation font passer d'une disposition juxtaposée des territoires présomptifs à une disposition emboîtée des trois feuillets embryonnaires fondamentaux.

La neurulation



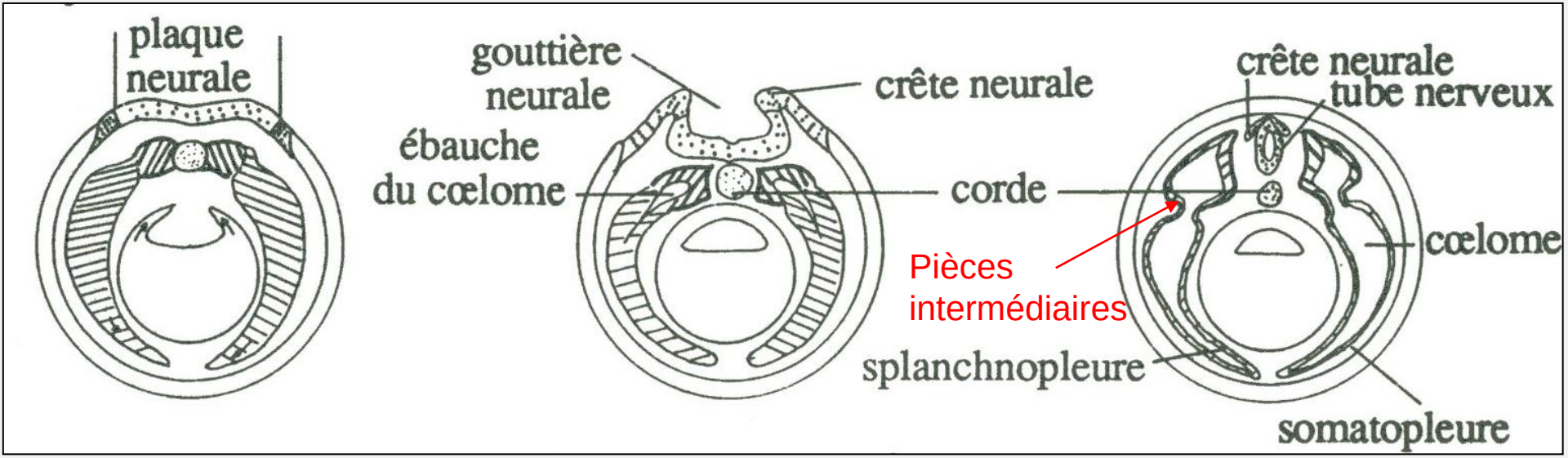






https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

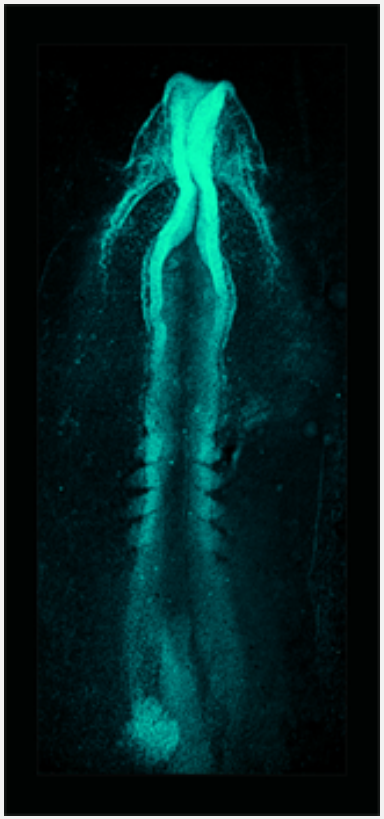
<u>Document 12.</u> Coupes transversales de neurula : début, milieu et fin de neurulation.

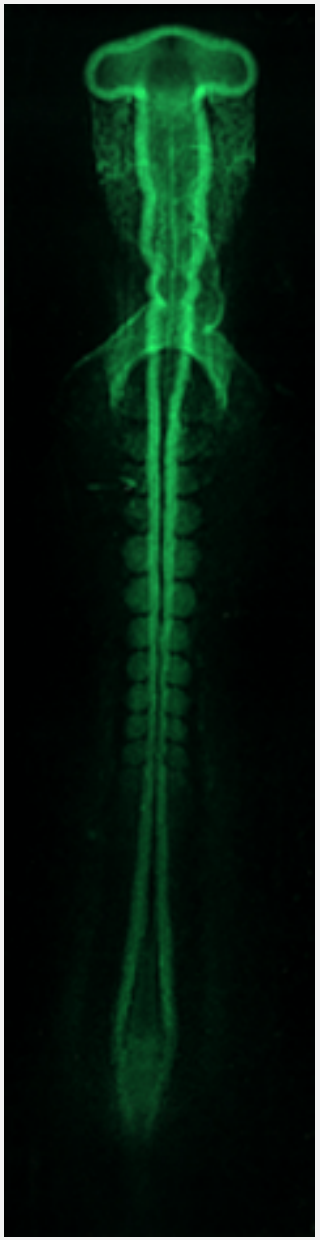


→ **Là aussi, compléter les couleurs…**

PATTIER J.-Y., « Croissance et développement des animaux », Ellipses ED., 1991

Formation des somites lors du développement de l’embryon de Poulet





A gauche : à 25-26 h, les bourrelets neuraux céphaliques sont affrontés (neurulation), le mésoderme dorsal commence à se découper en somites.

A droite : à 38 h d ’incubation, la neurulation se poursuit et on reconnaît dans la région antérieure le cerveau passant du stade 3 au stade à 5 vésicules, avec les vésicules optiques latéralement. Une dizaine de somites est formée.

La neurulation chez l’embryon de Poulet en vidéo

https://bcgdevelop.fr/la-neurulation/

Changements de forme des cellules et mouvements d'enroulement de la plaque neurale lors de la neurulation

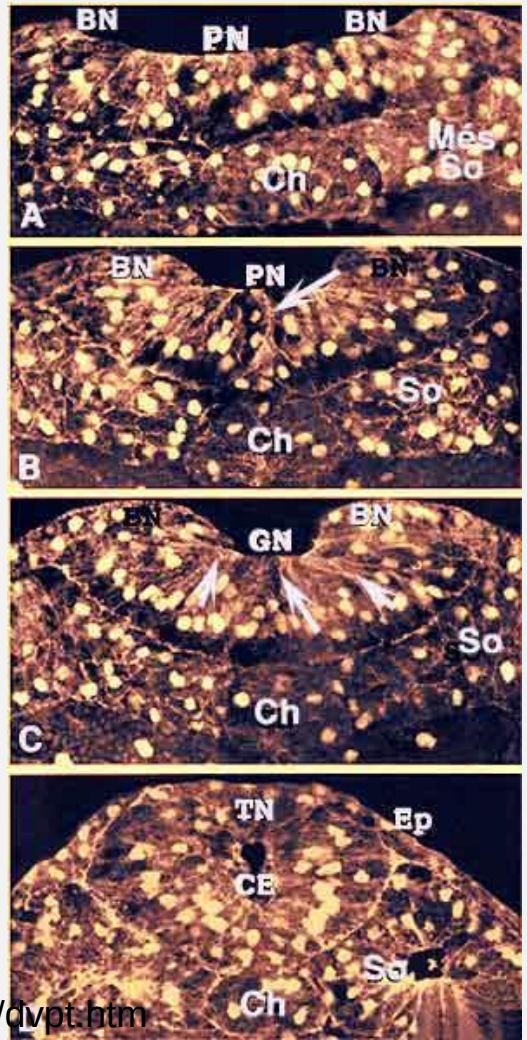
Epaississement et enroulement de la plaque neurale, vue de détail. MEB

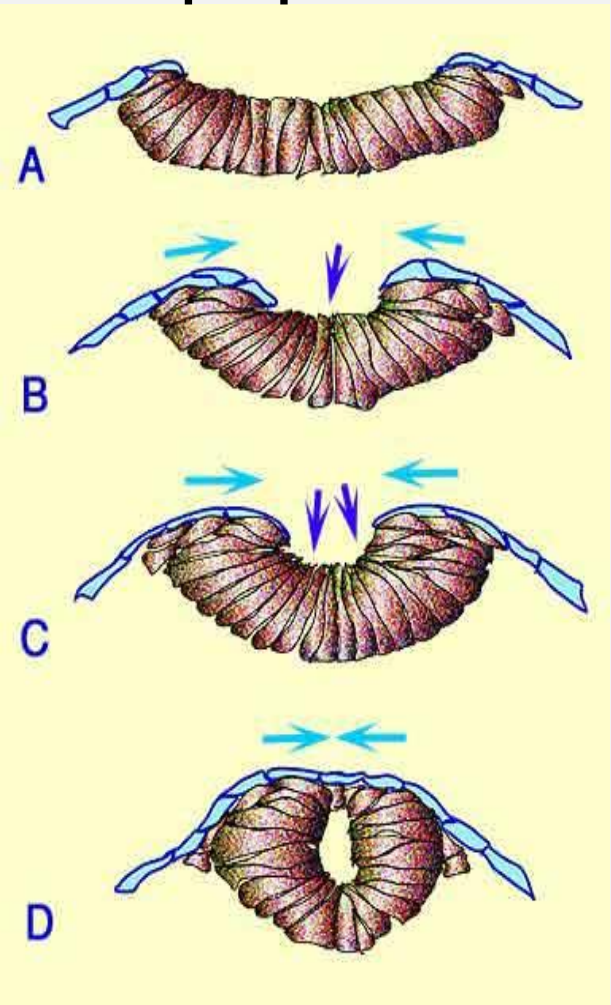
→ Au centre de la plaque neurale, des cellules montrent une constriction apicale.

→ De proche en proche, les cellules voisines effectuent la même transformation.

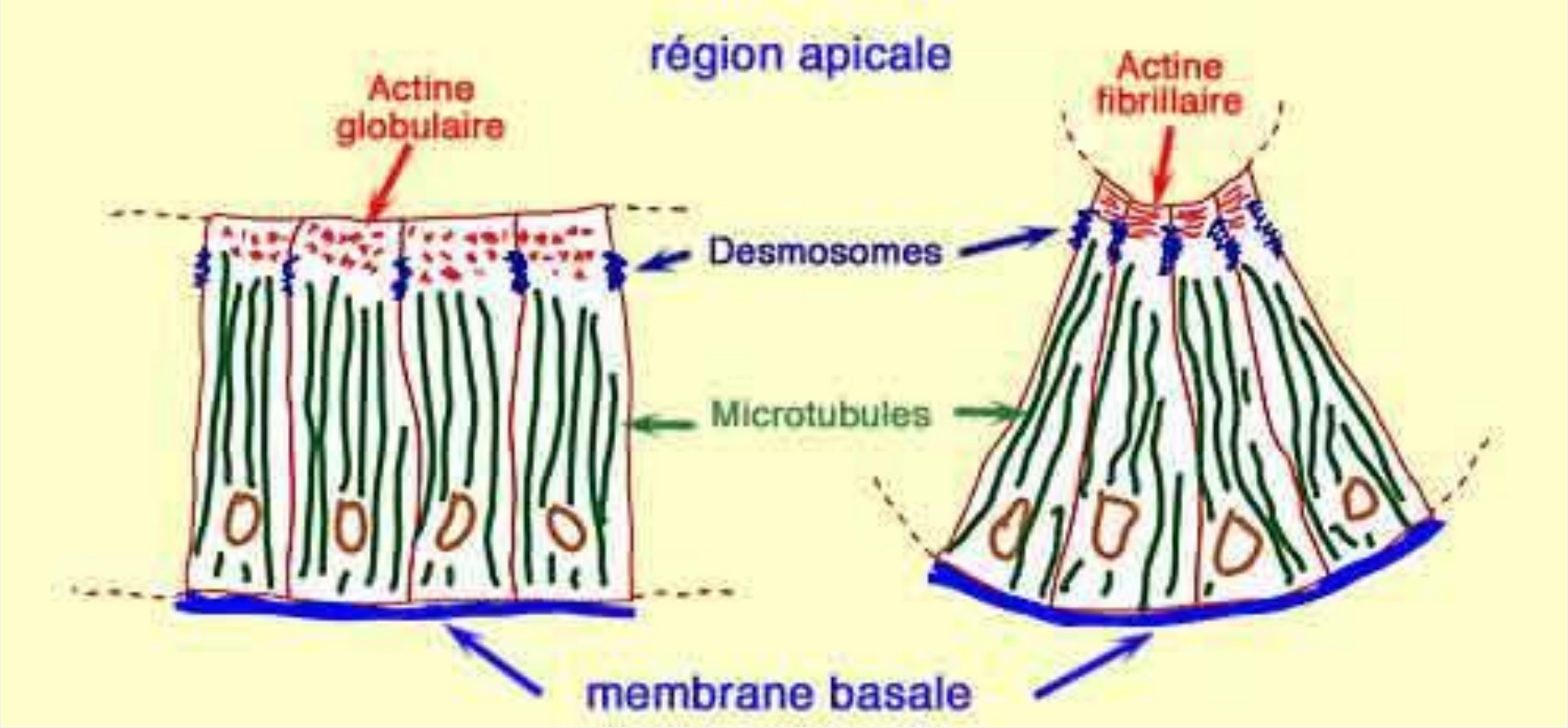
→ raccourcissement de la face externe de la plaque neurale qui génère une courbure : la gouttière neurale se forme.

<u>Document 13</u>. Quatre étapes de la neurulation montrant l'enroulement de la plaque neurale.





https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm



<u>Document 14.</u> Rôle du cytosquelette dans la neurulation.

Le changement de forme des cellules dépend du cytosquelette :

Avant les mouvements de neurulation, les cellules du neurectoderme présentent une morphologie en colonne sous-tendue par des microtubules abondants (à gauche).

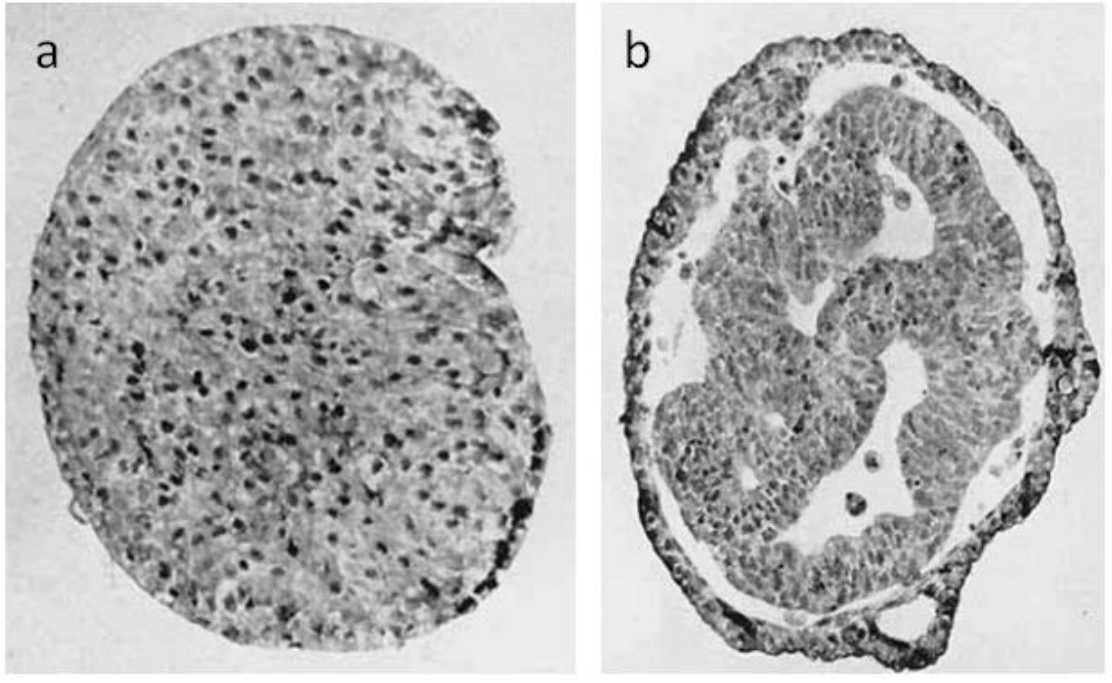
La constriction apicale de ces cellules est générée par la contraction de l'actine devenue fibrillaire (à droite).

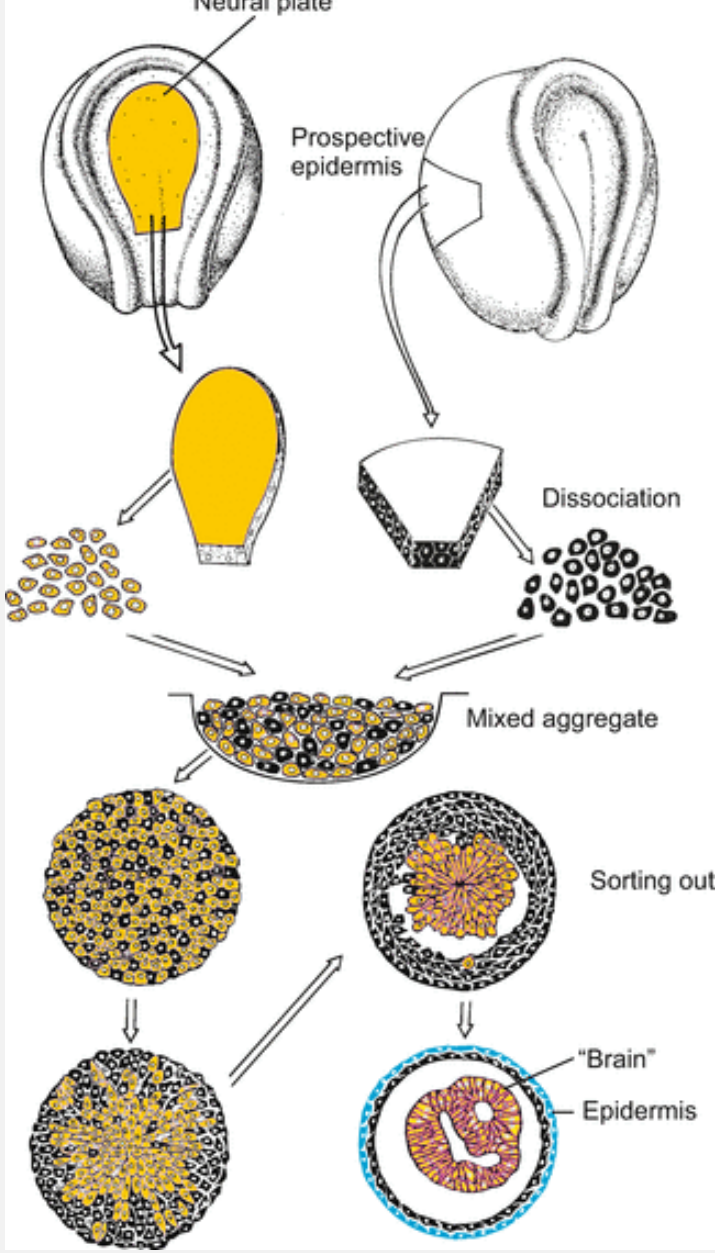
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

<u>Document 15</u>. Expérience de Holfreter (1955)

Des explants d'épiderme ventral et de neuroderme de la plaque neurale sont dissociés, les deux lots de cellules sont mélangés puis l'ensemble est mis en culture.

a. CT à J0
b. CT à J3

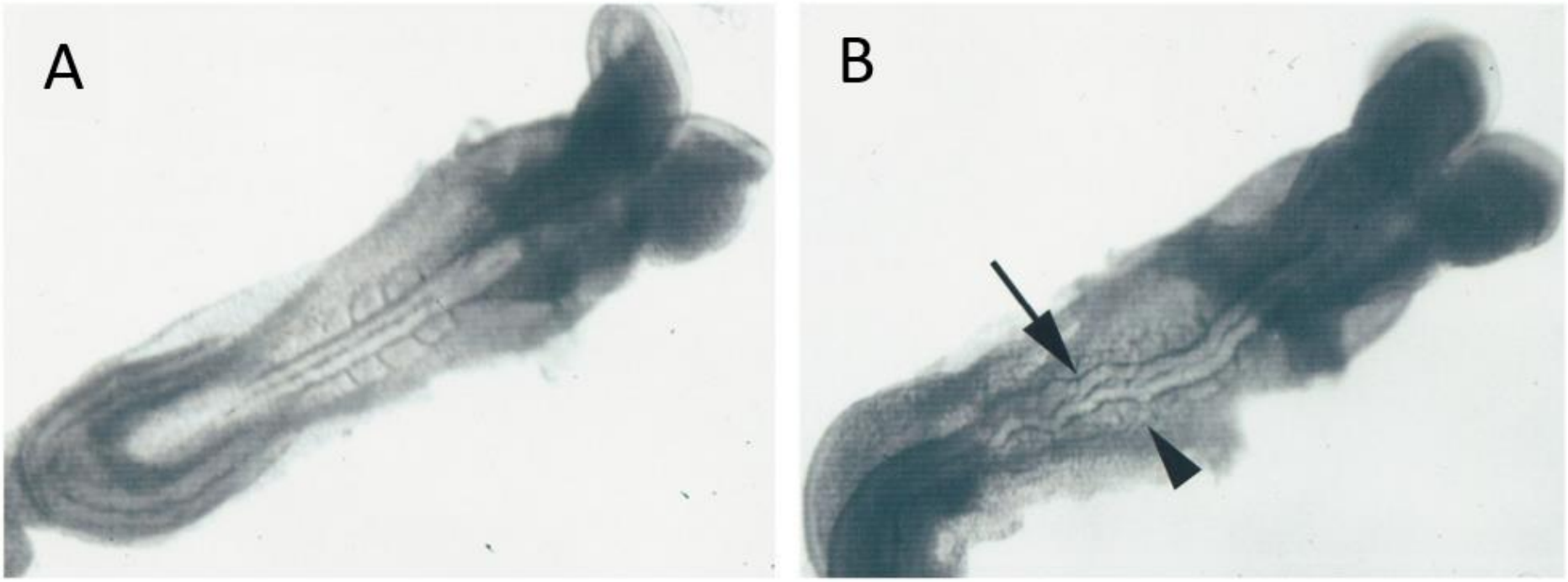




https://www.researchgate.net/figure/a-b-Experience-de-Townes-et-Holtfreter-176-a-Des-cellules-dembryon-damphibien_fig15_278642532

https://veteriankey.com/morphogenesis-shaping-by-active-cell-movement-differential-cell-adhesion-and-cell-death/

Effets de l’absence de N-cadhérine chez l’embryon de Souris



Deux embryons de souris à E8,5 sauvage (A) et *N-cad-/-* (B) en vue dorsale.

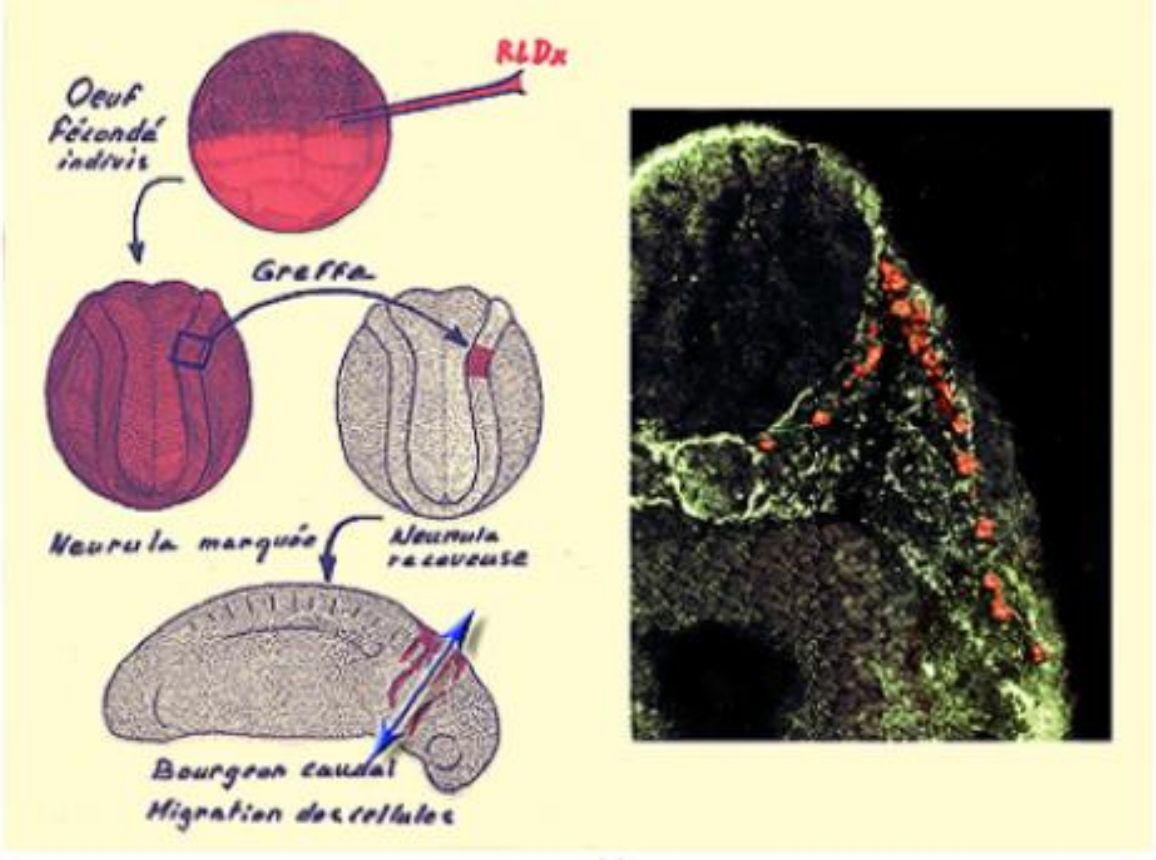
Le tube neural est déformé chez le mutant et les somites sont mal formés/

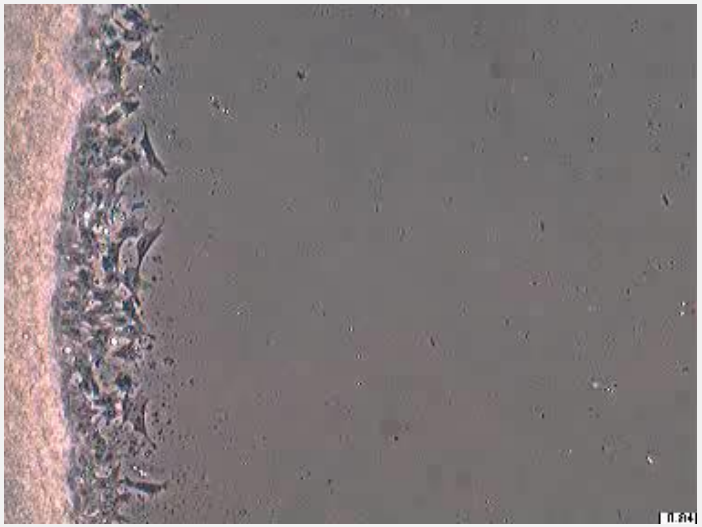
https://bcgdevelop.fr/la-neurulation/

La migration des crêtes neurales

Une greffe de bourrelet neural dont les cellules de la crête neurale ont été marquées par un traceur fluorescent est réalisée chez une jeune neurula.

Au stade bourgeon caudal, une coupe transversale est réalisée. La fibronectine de la MEC est révélée par immunofluorescence.



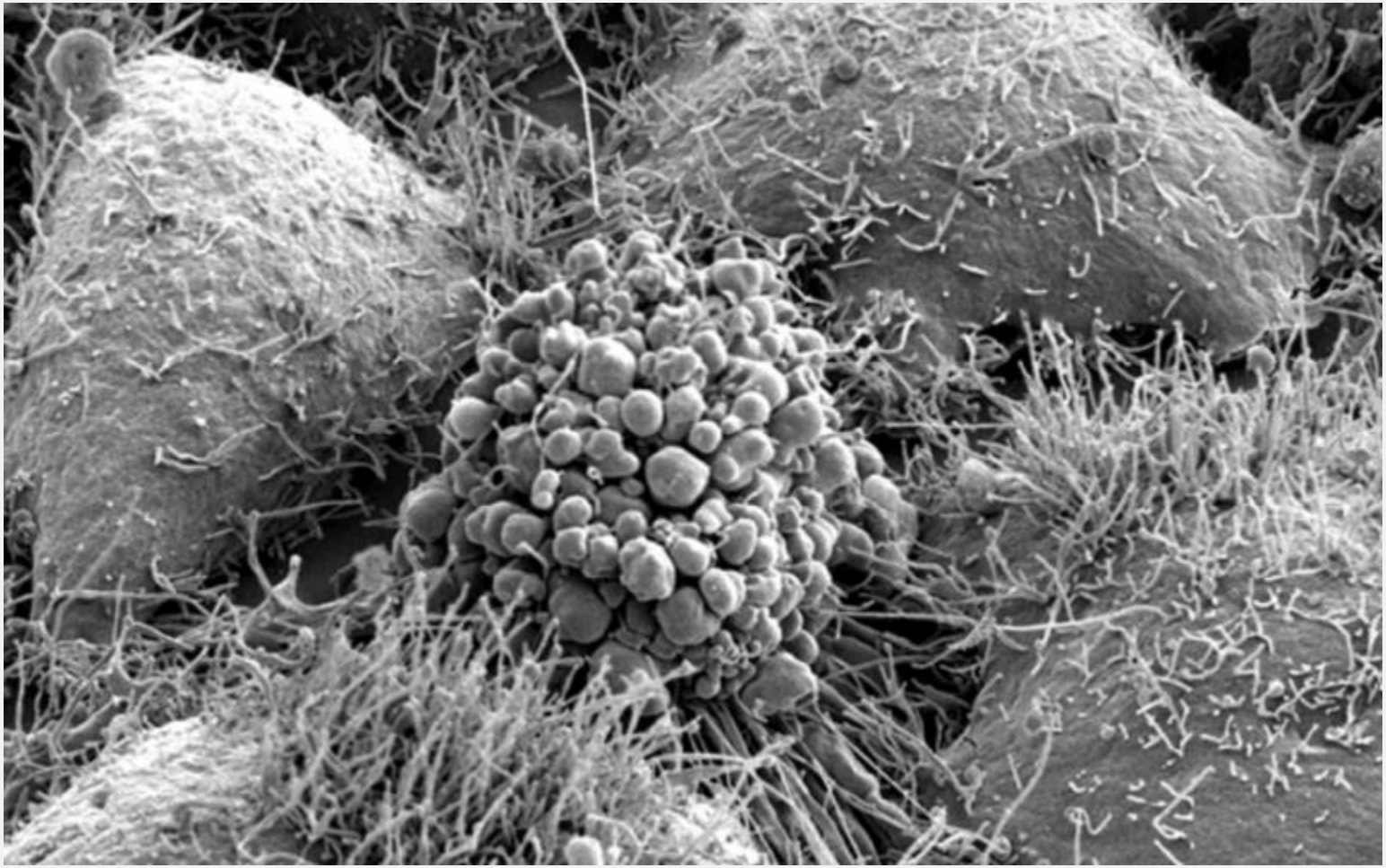


Observation de la migration des cellules à partir d'explants de crêtes mis en culture sur des boites de Petri tapissées de fibronectines.

https://ressources.unisciel.fr/biodudev/co/grain_7_4.html

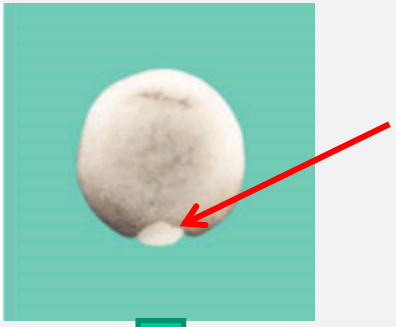
Cellule en apoptose en train de se fragmenter en corps apoptotiques

(cellules HeLa vues en microscopie électronique à balayage)

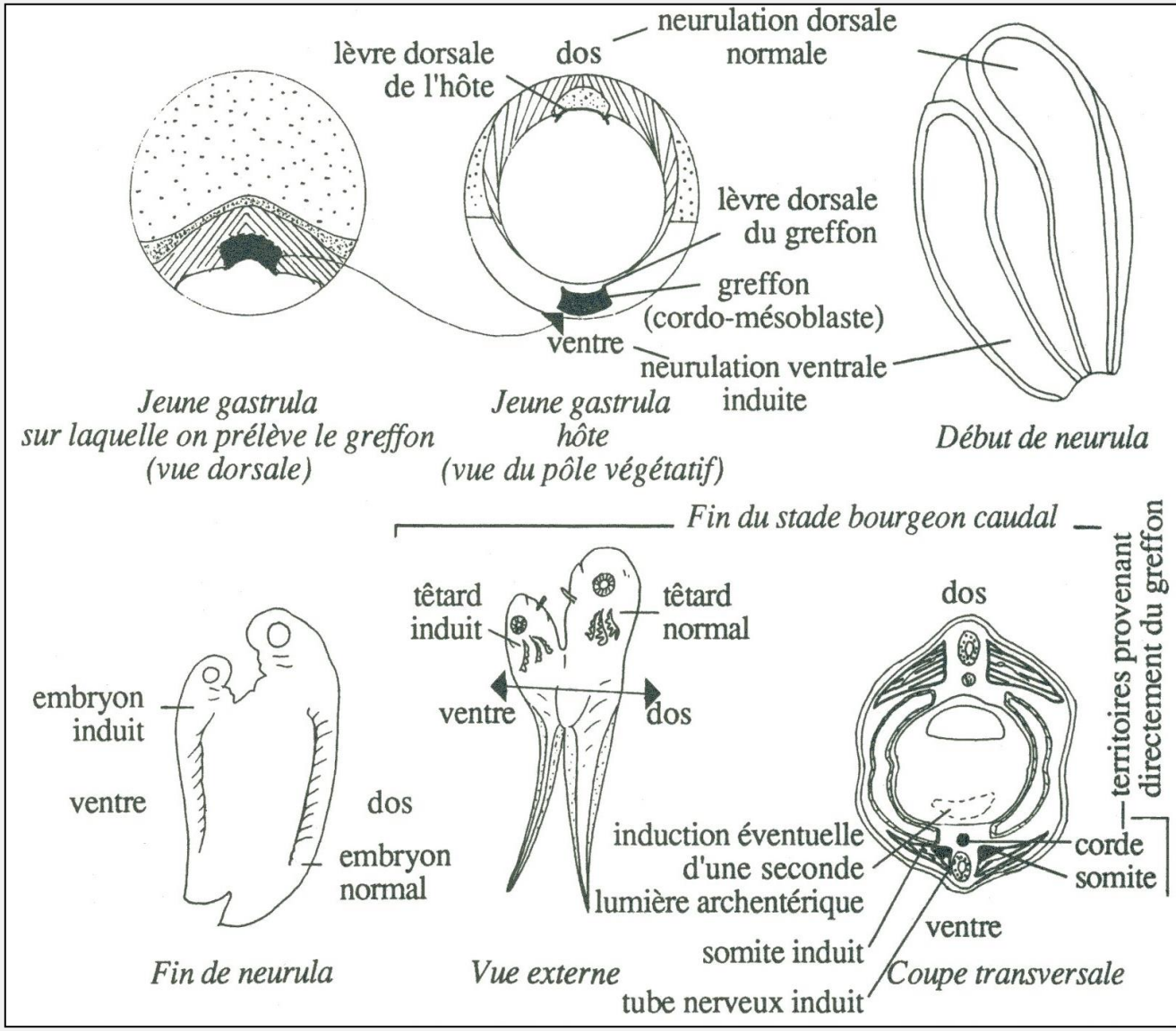


https://www.cell.com/pictureshow/cell-death in : https://bcgdevelop.fr/lapoptose/

Document 16. Expérience de Spemann et Mangold : mise en évidence d'une induction.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



Document 16. Expérience de Spemann et Mangold : mise en évidence d'une induction.

Observation de CT au stade bourgeon caudal tardif

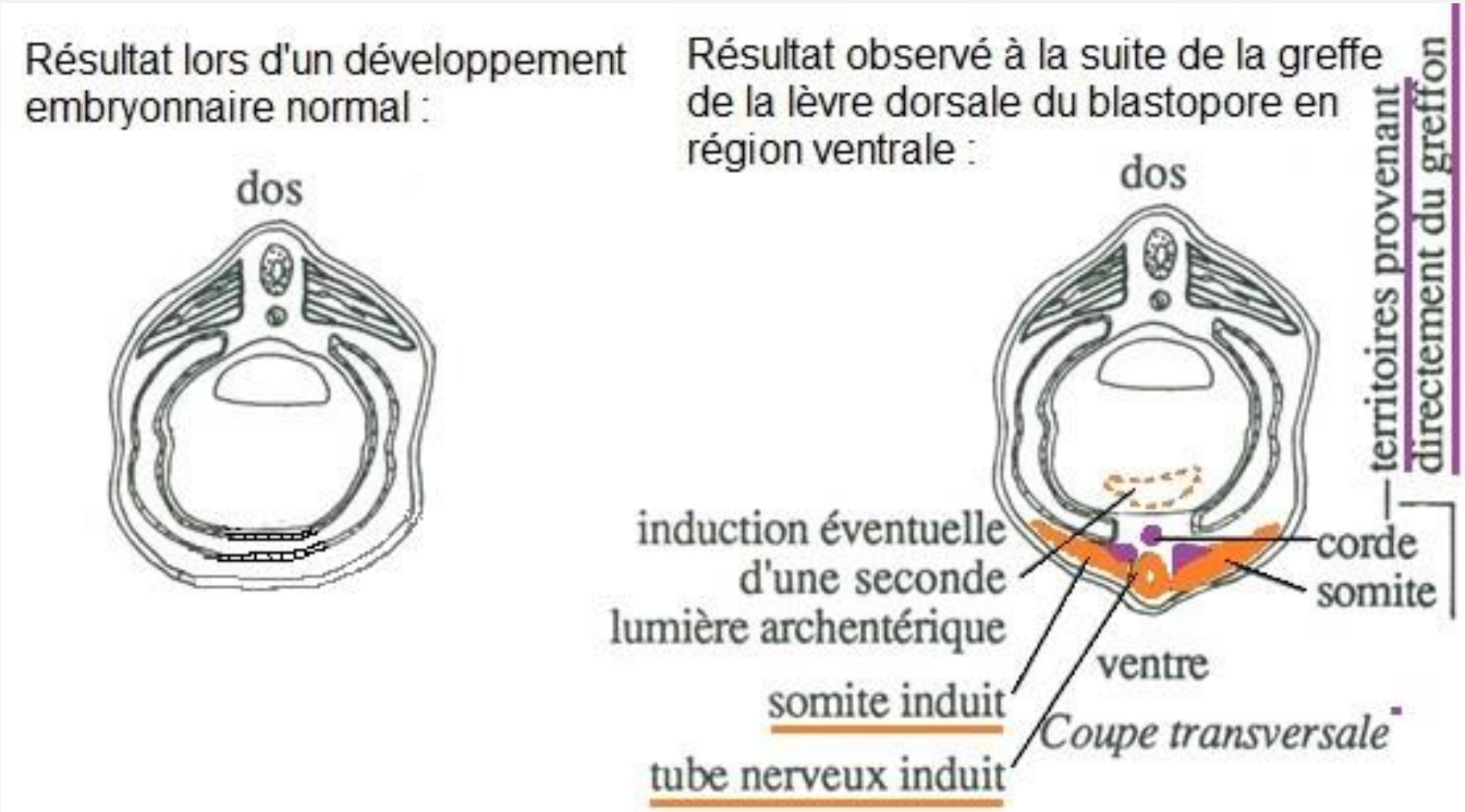


Figure 40. Stade bourgeon caudal jeune

Figure 41. Stade bourgeon caudal moyen

Figure 42. Stade bourgeon caudal âgé

Le stade bourgeon caudal : morphologie externe

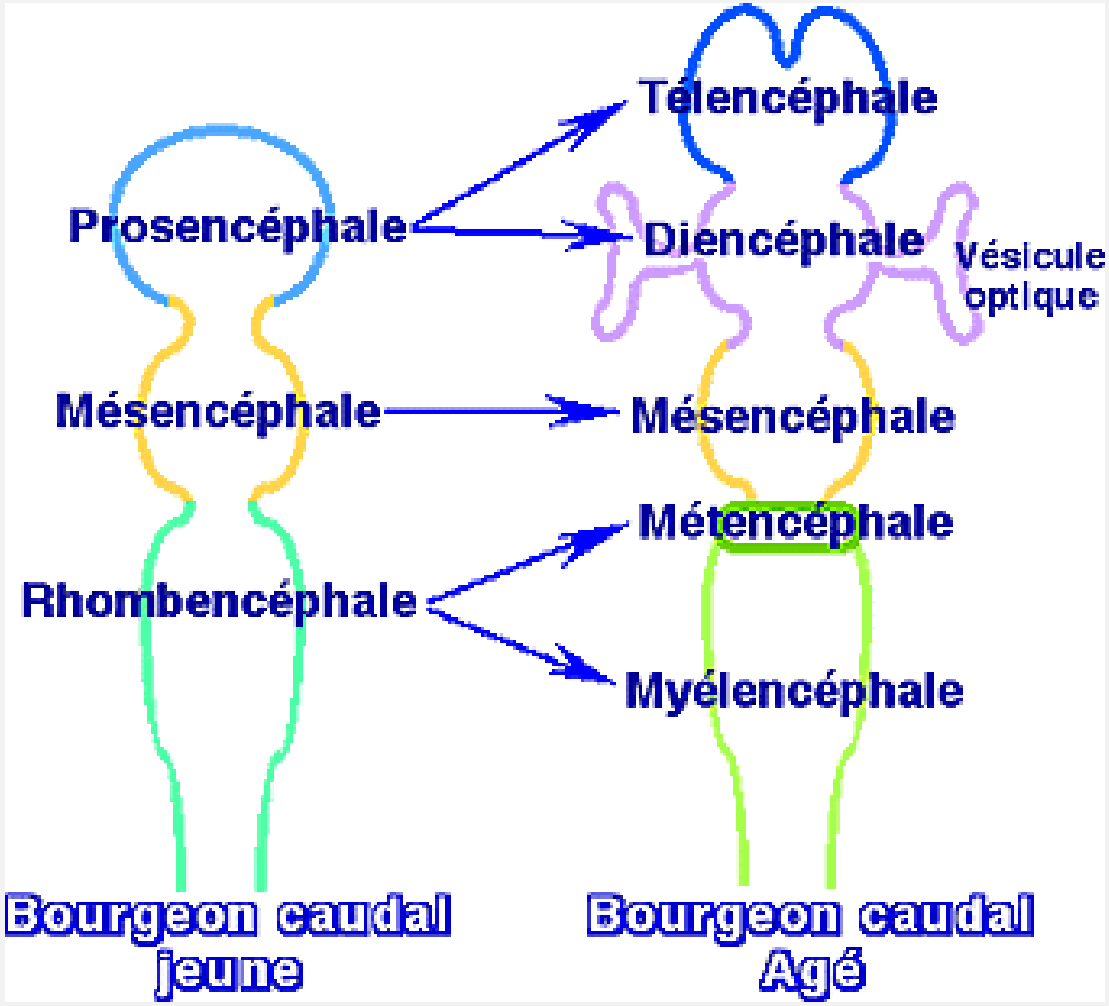
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

<u>Document 17</u>. Evolution du tube neural au cours de l'organogenèse.

olfaction

vision

audition
équilibration



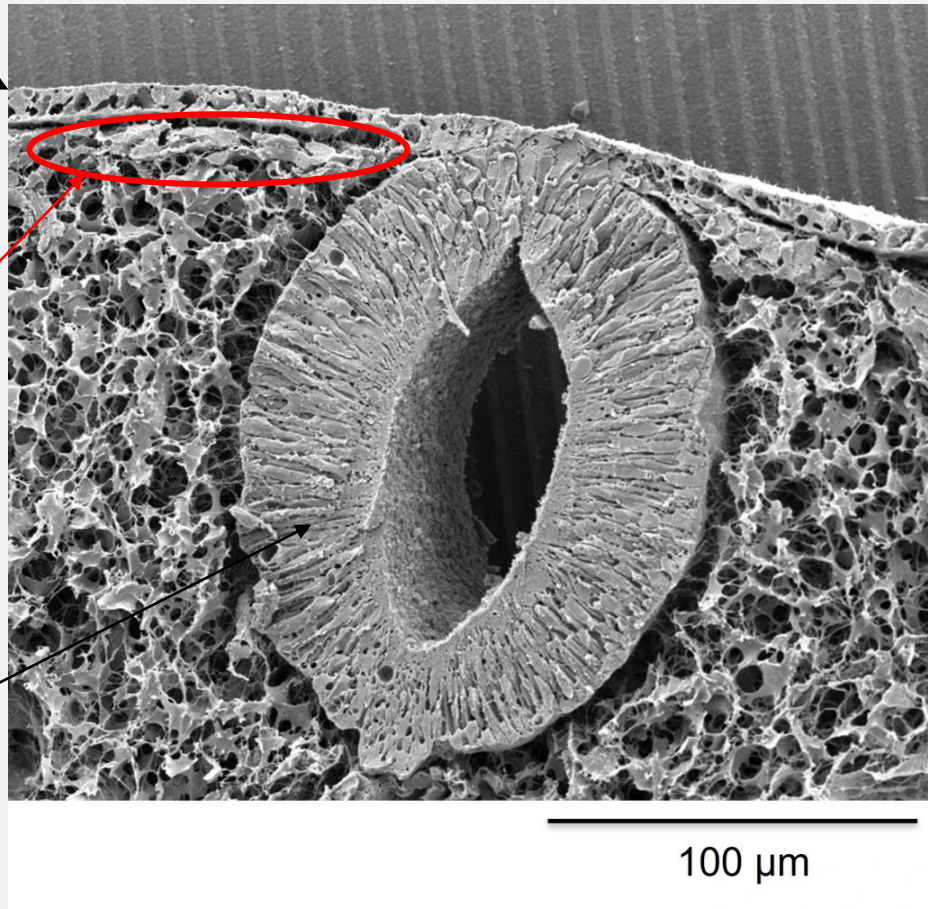
https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

Tube neural d'un embryon de Poulet en fin de neurulation

Ectoderme non neural (futur épiderme)

Cellules de crête neurale

Tube neural



https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/CoursPCEMDEUG/modeleoiseau/Gallerie%20web/pages/07-DSCN8251.htm
https://bcgdevelop.fr/les-cellules-de-cretes-neurales/

Région antérieur d’un bourgeon caudal, épiderme partiellement disséqué

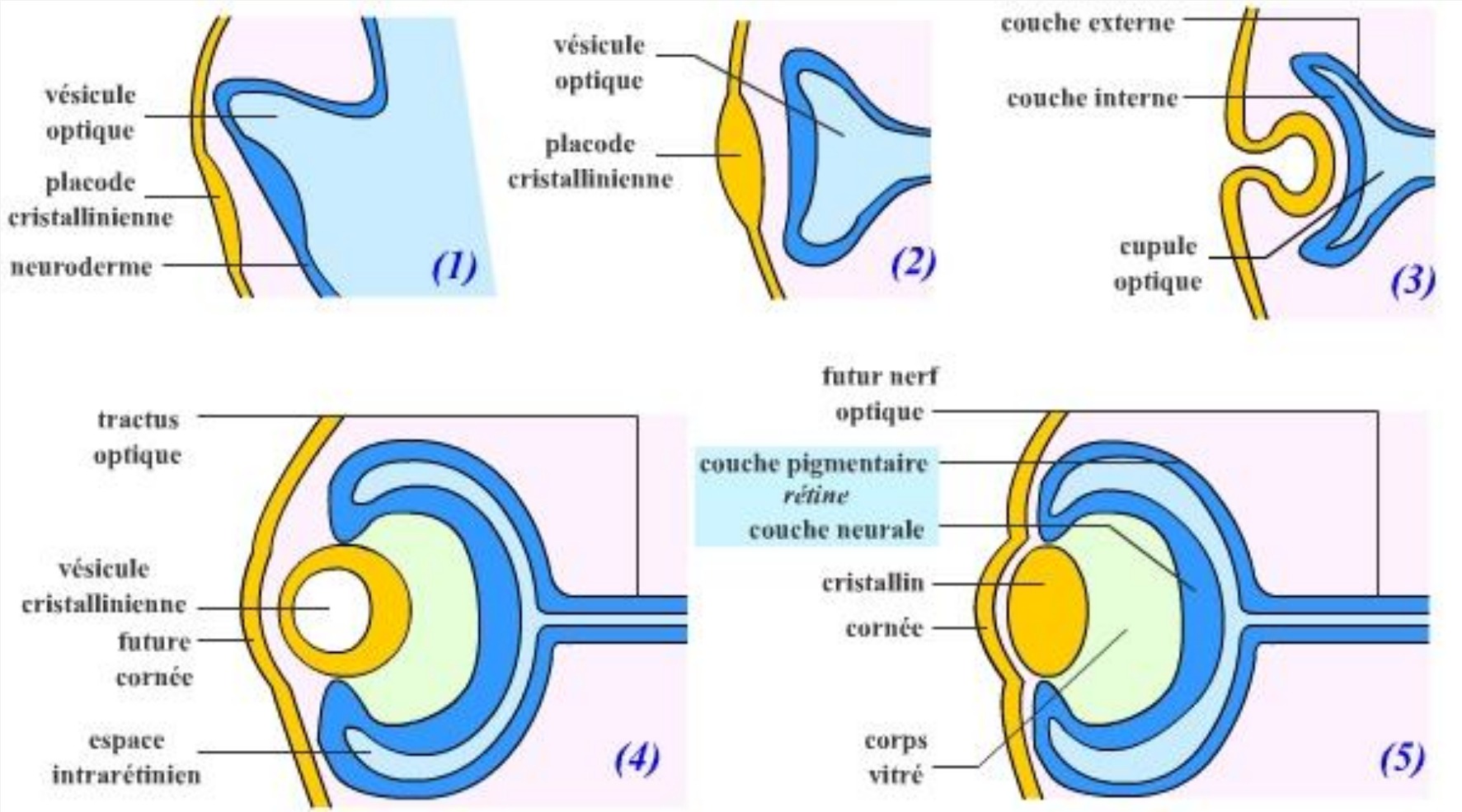
somite

placode optique

Ébauche d’œil

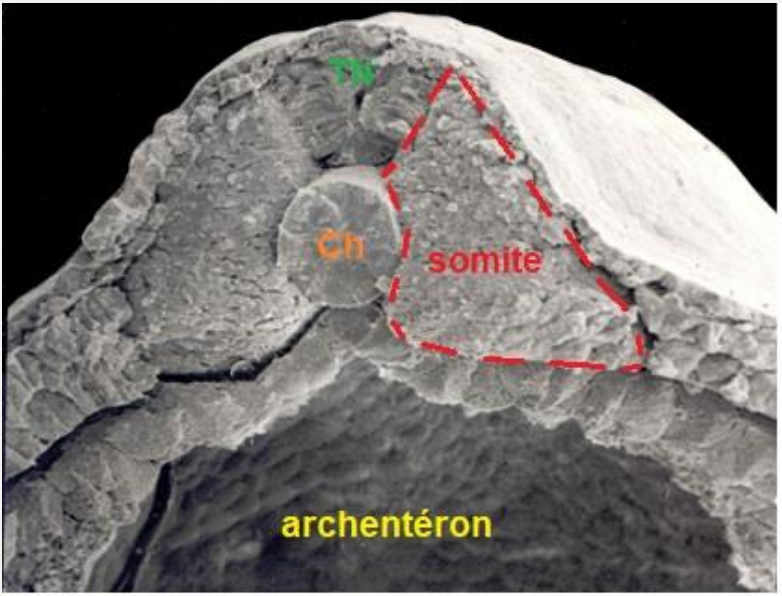
https://biodic.ulb.be/homepage.html

Formation de l'œil

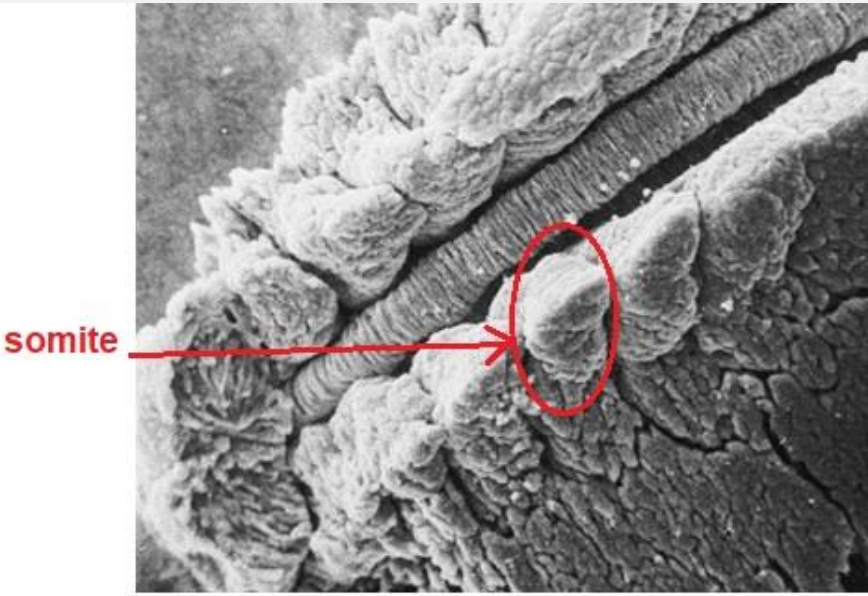


https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-nerveux-et-systeme-hormonal/l-oeil-structure-origine-et-proprietes

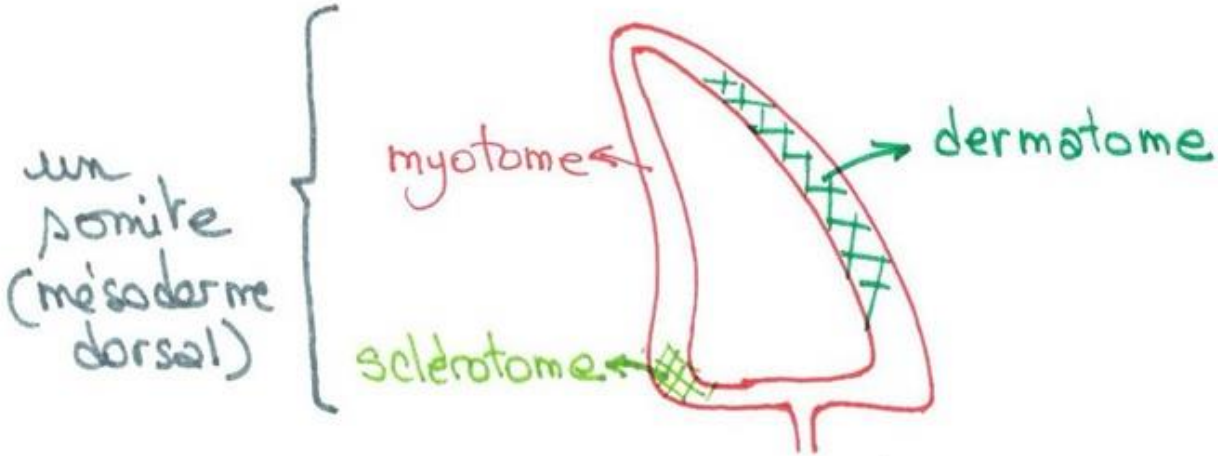
La différenciation des somites



CT région dorsale neurula

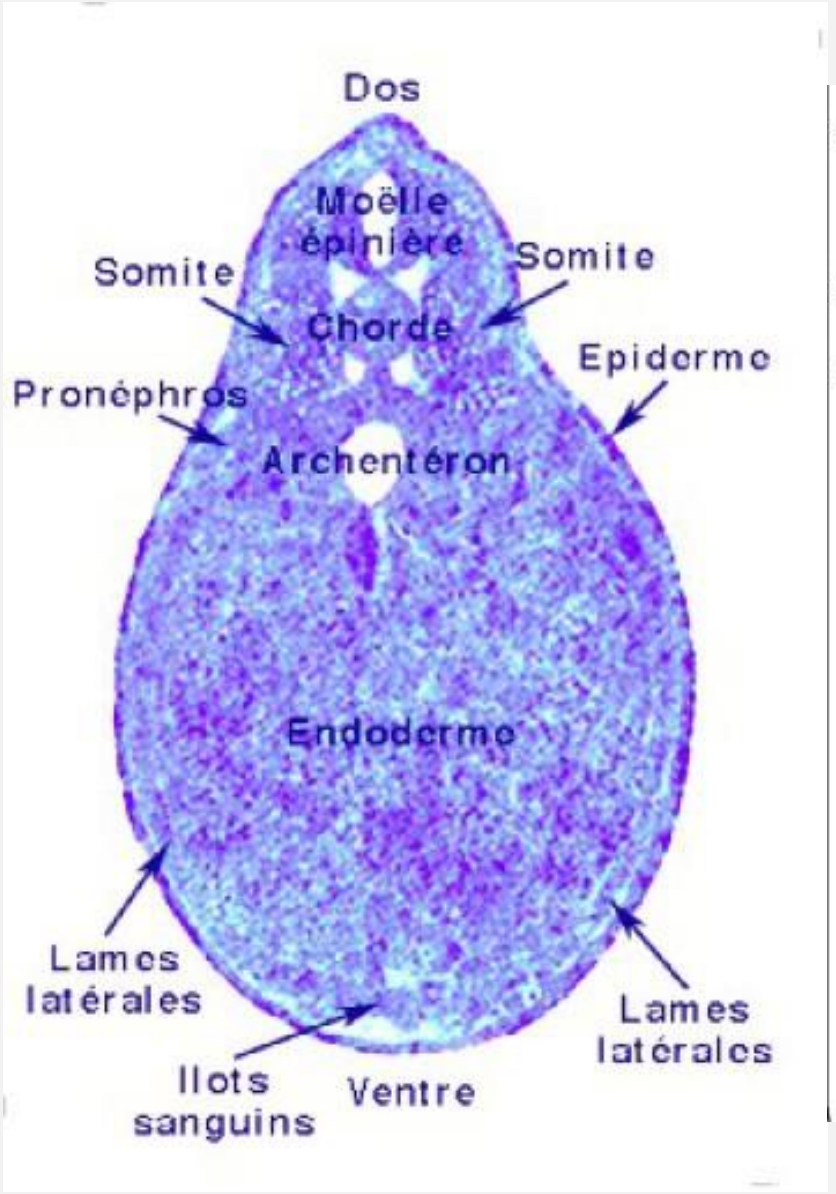


Vue dorsale neurula disséquée



https://www2.ulb.ac.be/sciences/biodic/homepage.html

Bourgeon caudal en CT



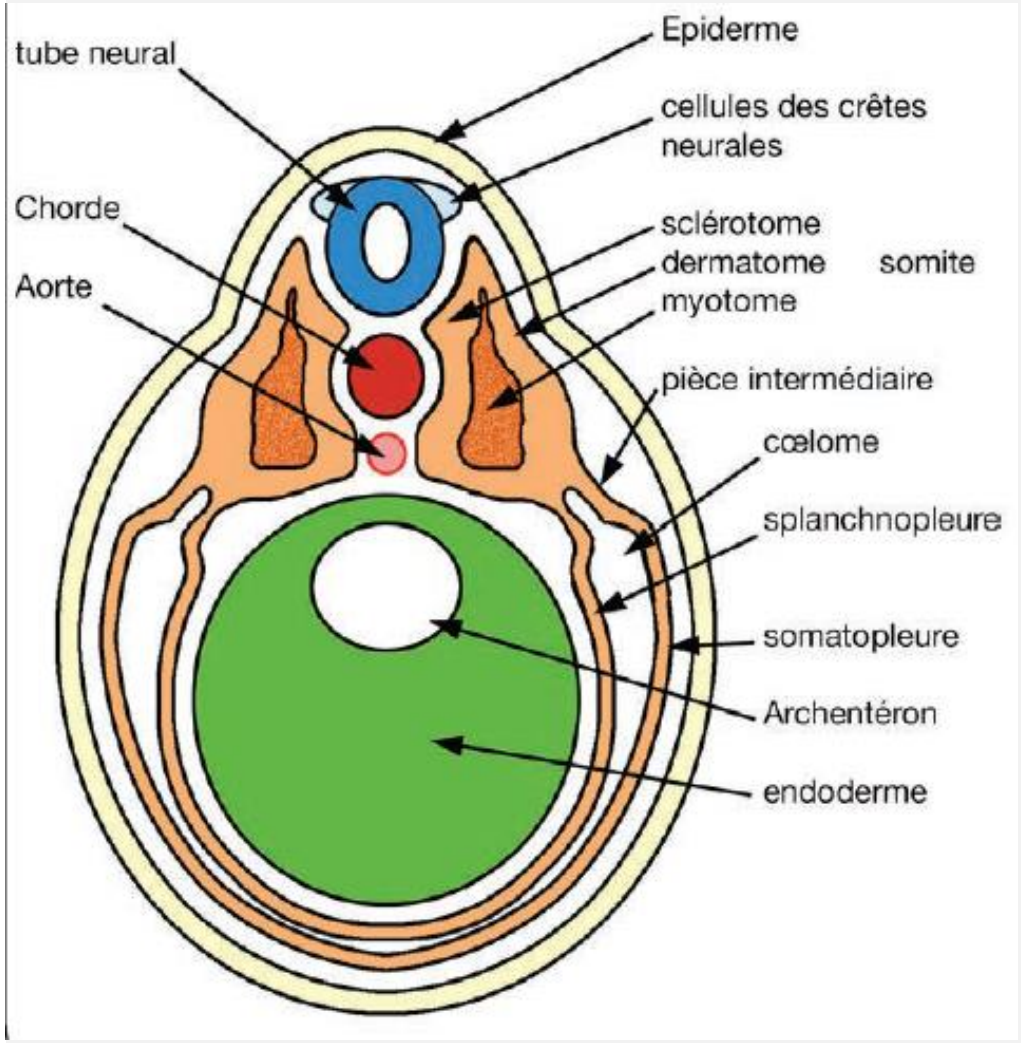


Schéma de B. ANSELME, professeur en BCPST2, Paris.

https://ressources.unisciel.fr/biodudev/co/grain_9_2.html

Région antérieur d’un bourgeon caudal, épiderme partiellement disséqué

https://biodic.ulb.be/homepage.html

Le stade bourgeon caudal : morphologie externe

Figure 40. Stade bourgeon caudal jeune

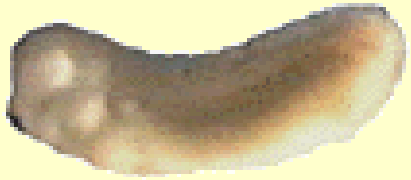
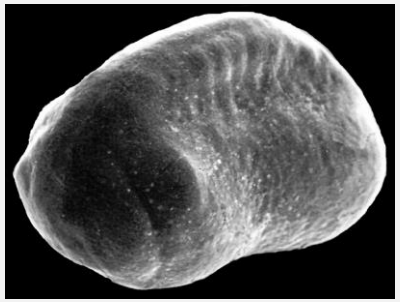


Figure 41. Stade bourgeon caudal moyen

Figure 42. Stade bourgeon caudal âgé



https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/sommaires/dvpt.htm

https://biodic.ulb.be/homepage.html

<u>Document 18.</u> Récapitulatif des modifications morphologiques et de l'organogenèse pendant le stage bourgeon caudal.

<u>Morphologie externe</u> :

La **forme** de l'embryon change (allongement), **trois régions** (céphalique, troncale et caudale) se différencient.

Des **ébauches d'organes** sont visibles sous l'épiderme.

<u>Morphologie interne :</u>

- Evolution du tube neural

- Mise en place des organes sensoriels (placodes) dans la région céphalique antérieure

- Plan d'organisation fondamental des Vertébrés bien visible dans la région troncale (m.e., chorde, endoderme et cavité archentérique, somites + pronéphros + lames latérales, épiderme limitant).

- Segmentation du mésoderme en somites (métamérie visible), à l'origine de 3 dérivés :
+ sclérotome profond --> vertèbres
+ dermatome superficiel --> derme
+ myotome intermédiaire --> muscles

- Mise en place des viscères :
cœur, diverticule hépatique, proctodeum (anus primitif issu du blastopore).

Document 19.
Devenir des feuillets lors de l'organogenèse.

NEURULA		BOURGEON CAUDAL	ORGANES DÉFINITIFS
EPIBLASTE		EPIDERME	Epiderme, dérivés cutanés
NEUROBLASTE		PLACODES SENSORIELLES	Dérivés sensoriels
		CRÊTES NEURALES	ganglions nerveux
		PROSENCÉPHALE	Télencéphale, Diencéphale
		MÉSENCÉPHALE	Mésencéphale
		RHOMBENCÉPHALE	Métencéphale, Myélencéphale
		MŒLLE	Mœlle épinière
MÉSODERME	AXIAL	CORDE	Corde
	SOMITIQUE	SCLÉROTOME	Squelette axial (vertèbres)
		MYOTOME	Muscles striés
		DERMATOME	Derme
	P. INTERM^{AIRE}	PIÈCE INTERMÉDIAIRE	Appareil Uro-génital
	L. LAT^{ALES}	SOMATOPLEURE	Appendices (= membres), Péricarde
		SPLANCHNOPLEURE	M. lisses, endo. et myocarde Endotheliums
ENDODERME		APP. RESPIRATOIRE	Poumons, fentes branchiale
		ARCHENTÉRON	Tubes digestif, glandes annexes
Cellules germinales			Ovogonies ou spermatogonies

B. ANSELME, professeur en BCPST2, Paris.