

Denis Duboule

Collège de France
Chaire: *Evolution des Génomes et du Développement*
Denis.Duboule@college-de-france.fr



 @Duboule
@CdF1530



Denis Duboule

Collège de France
Chaire: *Evolution des Génomes et Développement*
Denis.Duboule@college-de-france.fr

2017-2018
*Evolution et Développement (Evo-Dévo):
Une histoire, quelques principes et
des exemples actuels*

Cours 6
11 avril 2018

Contraintes et homologie; des notions cousines..



C'est l'approche comparative de la morphologie et de l'anatomie, à la fois d'espèces fossiles et d'espèces vivantes, qui a conduit au concept central d'homologie.

Des caractères sont homologues si ils sont partagés par une série d'espèces et présents dans le plus proche ancêtre commun de ces espèces.

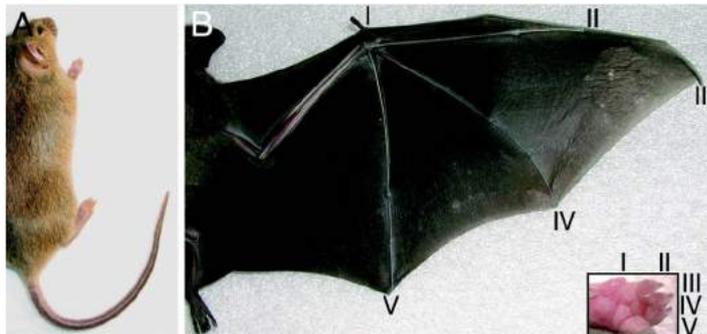
Donc une notion différente de celles d'analogie, de convergence ou d'évolution parallèle..

La notion même d'homologie' (au sens historique) implique l'idée de contraintes sous-jacentes..

Reconsidération de la notion d'homologie'...



Les différences anatomiques apparaissent sur des schémas de base construits par des gènes identiques. Variations sur un thème donné...

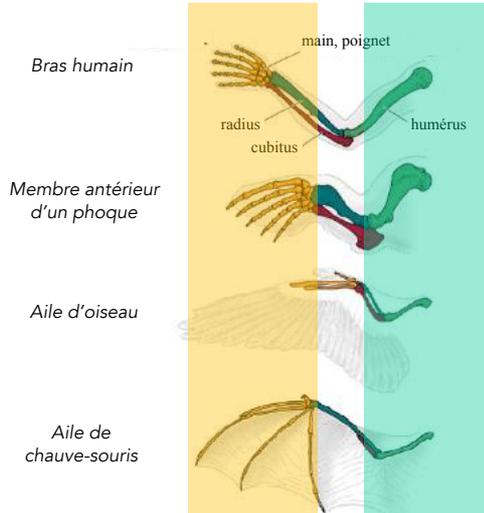


Weatherbee, S. et al. 2006. PNAS USA. 103

...et donc nécessairement existence de règles normatives conservées dans les deux cas qui imposeront (canalisation) un cadre (morphospace) au sein duquel ces structures se développeront (contraintes).

Homologie et contrainte..

Les contraintes sont liées à l'histoire et à la fonction des structures et pourront donc être d'importances différentes selon les contextes, même au sein d'une seule structure ayant une valeur adaptative globale..

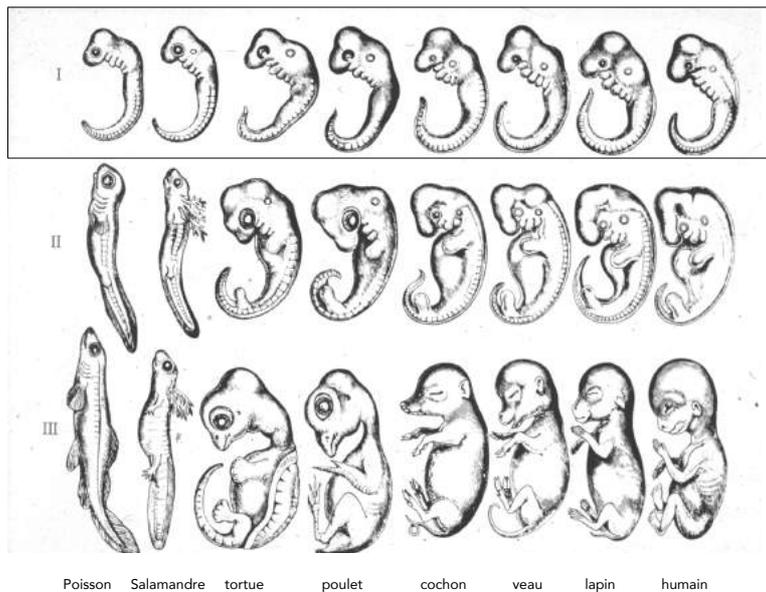


Une base génétique commune assure la réalisation de structures homologues mais impose également les contraintes liées à ce plan de base.

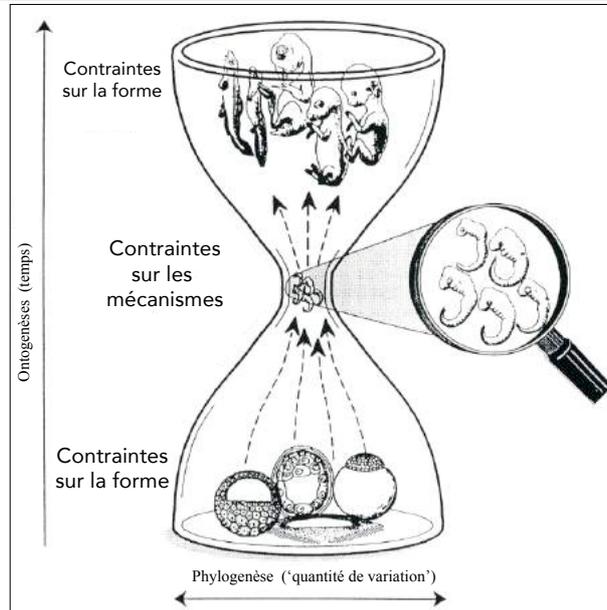
Ces contraintes ne sont pas nécessairement de la même importance dans toutes les (sous-) structures

Scott Gilbert © 2000 Sinauer Associates, Inc.

Les Pharyngulas de E. Haeckel (*Anthropogenie*; 1874)



Le sablier Phylotypique (1994) ("Developmental Hourglass")

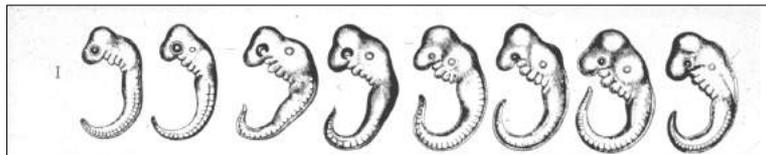


Nature des contraintes:

- 1) Interactions entre GRNs
- ?
 - 2) Mécanismes en cis vs trans

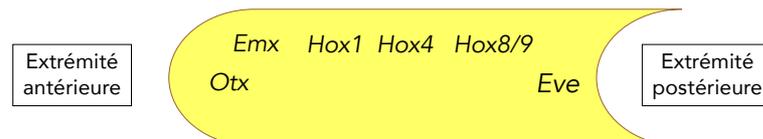
Modifié de: Duboule, Development (1994), Raff (1996)

L'hypothèse du zootype (1993)



*Une représentation moléculaire de la tête, du tronc et de la partie postérieure commune à tous les animaux

*Cette représentation commune serait transitoire, présente seulement au cours du développement précoce (notion de stade phylotypique)



Slack JM et al. The zootype and the phylotypic stage. Nature 1993; 362:490-92.

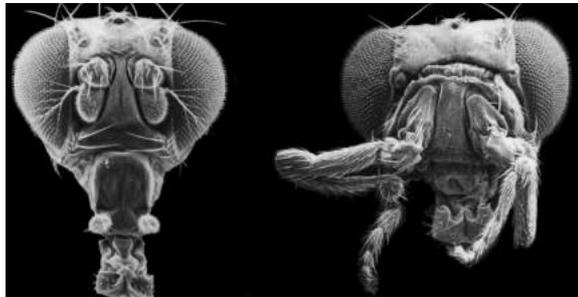
Les gènes architectes (homéotiques; Hox) (bref historique)



Des mutations aux phénotypes spectaculaires (homéotiques)

Ultrabithorax (Ubx)

Antennapedia (Antp)



Clonage des gènes homéotiques c/o Drosophila



(1918-2004)

*Lewis EB. *Nature* (1978)

Analyse génétique du 'complexe' Bithorax (BX-C) et proposition d'un modèle impliquant des duplications géniques et une logique générale de l'action des gènes homéotiques



(1925-)

*Bender W and al. and Hogness DS. *Science* (1983)

Analyse moléculaire du 'complexe' BX-C par la mise au point de la 'marche chromosomique'.



(1939-2014)

*McGinnis W and al. and Gehring WJ. *Nature* (1984)

*Scott MP and Weiner AJ. *PNAS USA* (1984)

Utilisation des séquences pour cloner (isoler) l'homéoboîte et ainsi associer une séquence commune aux gènes homéotiques

L'homéoboite, homéodomaine..

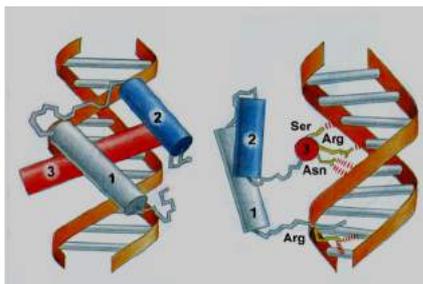


L'**homéodomaine** est une partie d'une protéine (60 acides aminés) qui a la capacité de lier l'ADN de façon spécifique à certains motifs

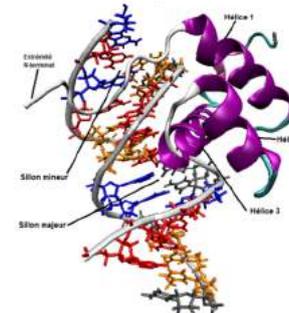
L'**homéoboite** est la séquence d'ADN qui code pour cette partie de la protéine (donc 180 paires de bases). Cette séquence est généralement contenue dans un seul exon (quelques exceptions)

L'**homéodomaine** a une structure en trois hélices alpha, la troisième établissant le contact par le travers du sillon majeur de l'ADN.

Homéodomaines et liaison à l'ADN



Double hélice d'ADN liée à une homéoprotéine



https://fr.wikipedia.org/wiki/Boîte_homéotique

- *La protéine lie l'ADN par son homéodomaine (60 résidus)
- *L'homéodomaine est replié en trois hélices alpha
- *Les hélices 2 et 3 forment un motif 'hélice-tour-hélice'
- *Ce motif reconnaît l'ADN dans le sillon majeur et établit les contacts

Homéodomains (variations sur un thème)

B. Galliot et al. Dev. Genes Evol. (1999)

Acide aminé	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	O	U	S	T	W	Y	V	
Alanine	A																						
Arginine		R																					
Asparagine			N																				
Acide aspartique				D																			
Cystéine					C																		
Glutamine						Q																	
Acide glutamique							E																
Glycine								G															
Histidine									H														
Isoleucine										I													
Leucine											L												
Lysine												K											
Méthionine													M										
Phénylalanine														F									
Proline															P								
Pyrolysine																O							
Sélocystéine																	U						
Sérine																		S					
Thréonine																			T				
Tryptophane																				W			
Tyrosine																					Y		
Valine																						V	

Position	10	20	30	40	50	60
Annotations	+*	** Δ+ Δ	*+	+ *+ + +	*Δ*+ΔΔ* Δ*Δ Δ Δ+	
Sequence	IAYTR YQLELEKEF	HFNRYLTRRR	RIELAHSLNL	TERQVKIWFQ	NRRMKWKKEN	
Sequence	QTFPSK EVTAA KRAY	LQSKKPSAAE	IEQISAATGM	SDTVIRV C K	ARERRQS	
Sequence	CPJET SAVER RNK	QKQPFIDIPK	KARV NEIC	NKAR QT S H Q L	QDT	
Sequence	VSLKS AIIRT QH	ERTQNVNKQD	LVSM RTVS	EPET T K A T Q	MQ	
Sequence	AV DA H KVV AR	AEKMR CVET	LHF QL Q	PMS	Y M LK	
Sequence	KN D Q RGS SS	RYCH ASKM	TA SR D	KQK	V A IE	
Sequence	RI V K TI TY	KTEN VEDA	QN EK H	DTD	S I RH	
Sequence	L N F QQ HF	NADS GHQ	KK DM K	R	N H AV	
Sequence	R Q T K EC	FSHV PL	RD KN R		Y VR	
Sequence	P N D	SI A LY	S LQ E		D SL	
Sequence	G L F	GV E S	Y TV A		F KA	
Sequence	Y D Y	DL T F I			K N	
Sequence	E P H	YN F C D			T	
Sequence		R MH	M			

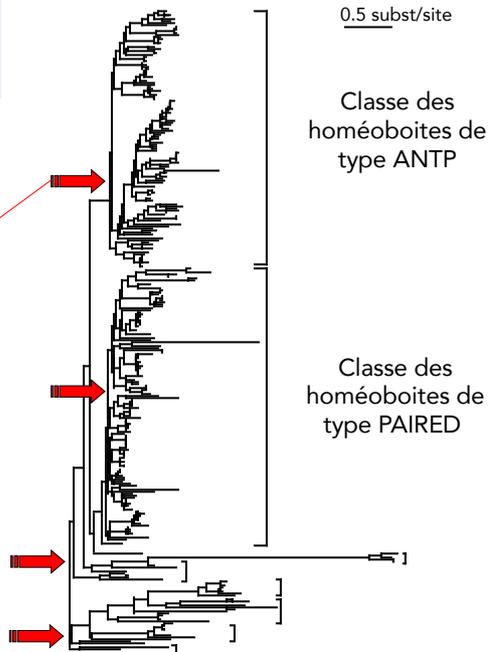
Δ: 1 ou 2 résidus (substitutions conservatives si 2)

+ : 2 à 4 résidus représentant 2 types d'acides aminés au maximum

* : 3 à 6 résidus représentant 4 types d'acides aminés au maximum

Différentes classes d'homéoboites

La classe des homéoboites de type ANTP contient les homéoboites des gènes homéotiques (*Hox*), ainsi que d'autres gènes à homéoboites..



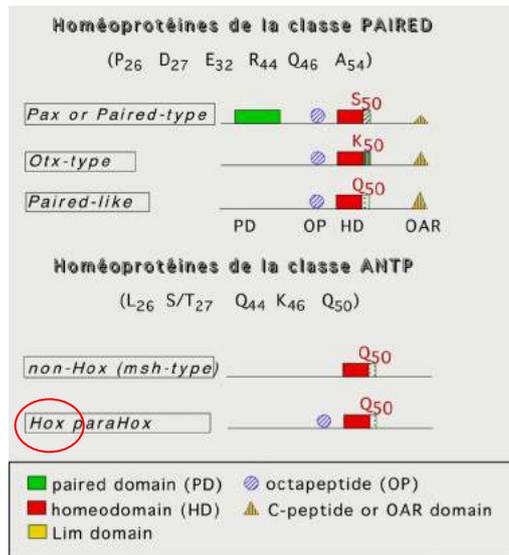
B. Galliot et al. Dev. Genes Evol. (1999)

Homéodomaines (variations sur thème)

B. Galliot et al. Dev. Genes Evol. (1999)

PAIRED →

ANTP →



Homéodomaines (variations sur un thème)

B. Galliot et al. Dev. Genes Evol. (1999)

Acide aminé	10	20	30	40	50	60
Alanine						
Arginine						
Asparagine						
Acide aspartique						
Cystéine						
Glutamine						
Acide glutamique						
Glycine						
Histidine						
Isoleucine						
Leucine						
Lysine						
Méthionine						
Phénylalanine						
Proline						
Pyrolysine						
Sélocystéine						
Sérine						
Thréonine						
Tryptophane						
Tyrosine						
Valine						

Hélice 1 Hélice 2 Hélice 3

~10 ~20 ~30 ~40 ~50 ~60

+* ** Δ+ Δ *+ + ** + + *Δ*+ΔΔ* Δ*Δ Δ Δ+

IAYTR YQLELEKEF HFNRYLTRRR RIELAHSNLN TERQVKIWFQ NRRMKWKKEN
 QTPSK EVTAA KRAY LQSKKPSAAE IEQISAATGM SDTVIRY C K ARERRQSS
 CPIET SAVER RNK QKQPFIDIPK KARV NEIC NKARQT S H Q L QDT
 VSLKS AIIRT QH ERTQNVNKQD LVSM RTVS EPET T K A T Q MQ
 AV DA H KVV AR AEKMR CVET LHF QL Q PMS Y M LK
 KN D Q RGS SS RYCH ASKM TA SR D KQK V A IE
 RI V K TI TY K TEN VEDA QN EK H DTD S I RH
 L N F QQ HF NADS GHQ KK DM K R N H AV
 R Q T K EC FSHV PL RD KN R Y VR
 P N D SI A LY S LQ E D SL
 G L F GV E S Y TV A F KA
 Y D Y DL T F I K N
 E P H YN F C D T

11 R MH M

- Δ: 1 ou 2 résidus (substitutions conservatives si 2)
- +: 2 à 4 résidus représentant 2 types d'acides aminés au maximum
- *: 3 à 6 résidus représentant 4 types d'acides aminés au maximum

Gènes *Hox* (architectes)

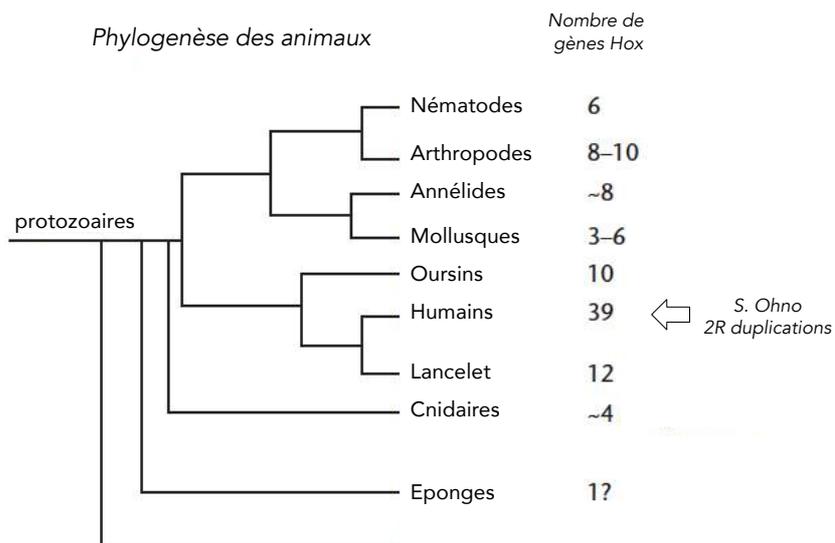


*Les gènes *Hox* sont un sous-ensemble des gènes incluant une homéoboite ('homeobox genes') de classe ANTP. Ils furent appelés '*Hox*' car clonés les premiers...

*Les gènes à Homéobox (homéoboites) ne sont pas tous des gènes *Hox*..

*Le terme 'gènes homéotiques' est généralement associé aux gènes *Hox*, mais des phénotypes homéotiques peuvent être produits par d'autres gènes à homéoboites (*Dlx* etc..)

Nombre de gènes *Hox*



Adapté de Tour and McGinnis, 2008

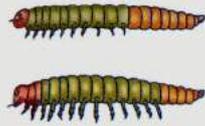
Quelques fonctions 'développementales' des gènes Hox

(A) Changes in Hox gene number



Changement dans le nombre de gènes Hox (duplication, neofonctionnalisation..)

(B) Broad changes of Hox expression



Changement dans les domaines d'expression des gènes Hox (tagmosis)

(C) Subtle changes within Hox domains



Changement de la régulation dans un domaine donné (homéosis..)

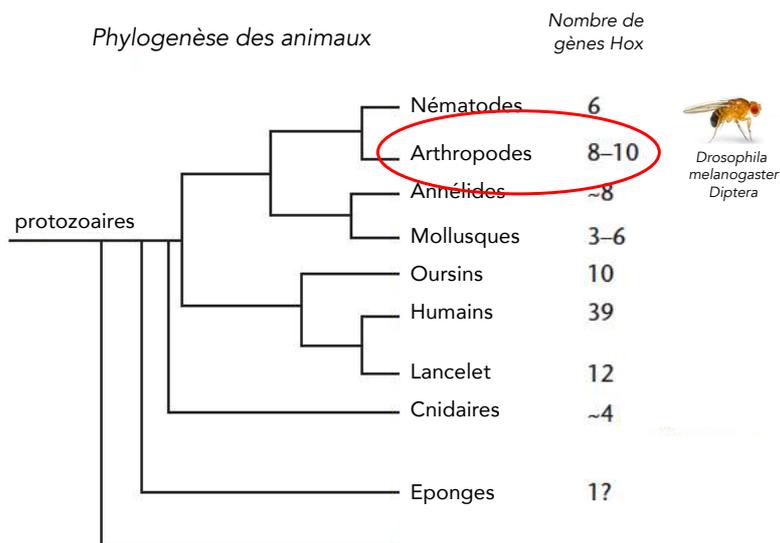
(D) Changes in regulation or function of downstream genes



Changement dans les gènes cibles des protéines HOX (appendices..)

Evolution - 2004.06 -

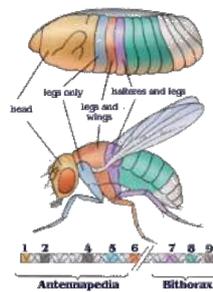
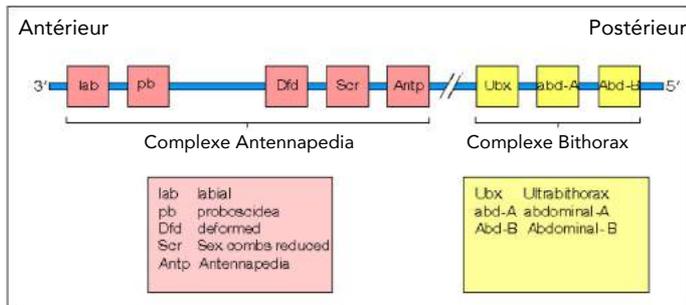
Caractérisation des gènes Hox chez *Drosophila*



Adapté de Tour and McGinnis, 2008

Huit gènes Hox chez Drosophila

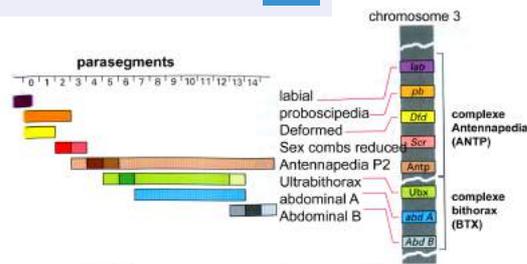
Laboratoires de E. Lewis, G. Morata, D. Hogness, T. Kaufman, W. Gehring, M. Levine...



- *Les gènes Hox sont en groupes ('clusters')
- *L'expression reflète la distribution des gènes ('colinéarité')

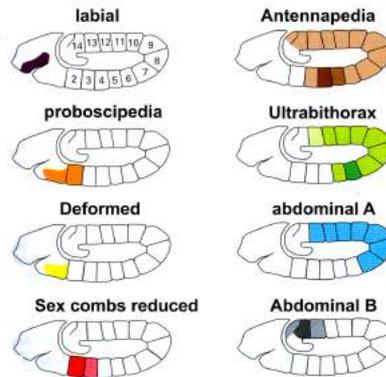
http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1995/illpres/more-l-segmspec.html

Expression colinéaire des gènes Hox



- *Les gènes Hox sont en groupes ('clusters') (Ed Lewis)

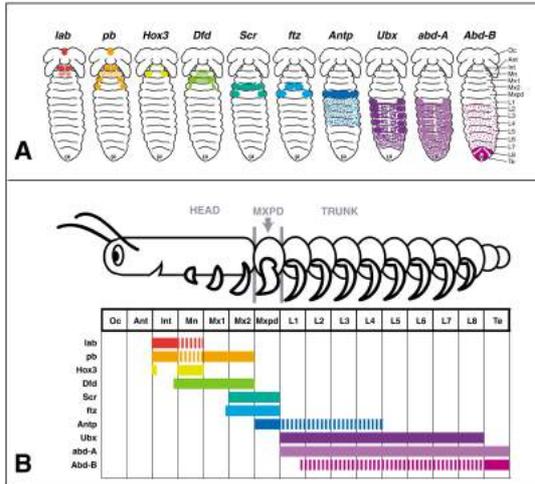
- *L'expression reflète la distribution des gènes ('colinéarité', Ed Lewis)



Harding K, Wedeen C, McGinnis W, Levine M. Science. 1985

Colinéarité chez les centipèdes (*chilopodes, mille-pattes*)

Les centipèdes se développent selon une temporalité antérieure-postérieure, contrairement à *Drosophila*.



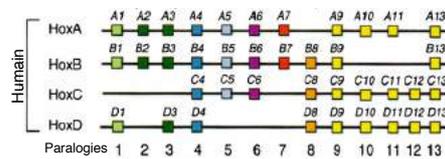
Hughes and Kaufman 2002, *Development*, 129

Mêmes gènes (orthologues), même stratégie générale d'expression, même résultat final, mais des morphologies différentes.

Information générique qui est interprétée selon les contextes 'spécifiques' et qui se superpose à la présence d'une structure segmentée.

39 gènes *Hox* chez les mammifères

- *4 clusters (groupes) issus de **duplications génomiques**
- *13 groupes de **paralogie**
- *Seulement 3 groupes 'complets' (4, 9 et 13)
- *Vraisemblablement A/B et C/D..

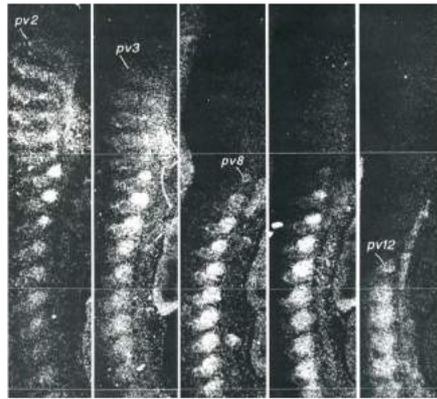


Colinéarité d'expression dans l'espace

Developmental Biology Supplement, 369-379 (1988)
 Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1988

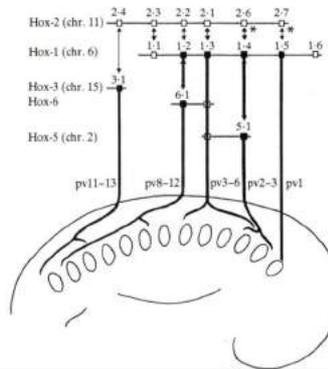
Spatially restricted domains of homeo-gene transcripts in mouse embryos: relation to a segmented body plan

Gaunt, Sharpe and Duboule



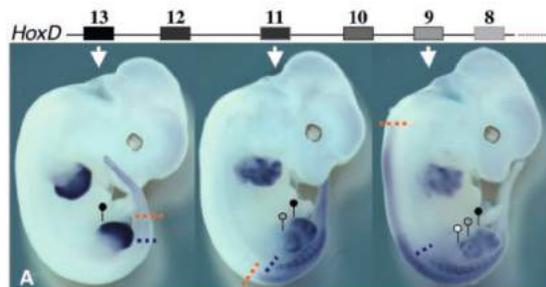
Second, there is an apparent correspondence between the relative position of genes within the Hox-1 cluster and that of their transcript domains within the mouse embryo (Fig. 7). It is possible that physical linkage of these genes is an essential feature of mechanisms necessary for their interaction. This could, for example, be *cis*-acting regulatory elements.

In *Drosophila*, there is a similar correspondence between the relative position of homco-genes on chromosomal DNA and that of their transcript domains in embryos (Harding *et al.* 1985).



Colinéarité d'expression dans l'espace

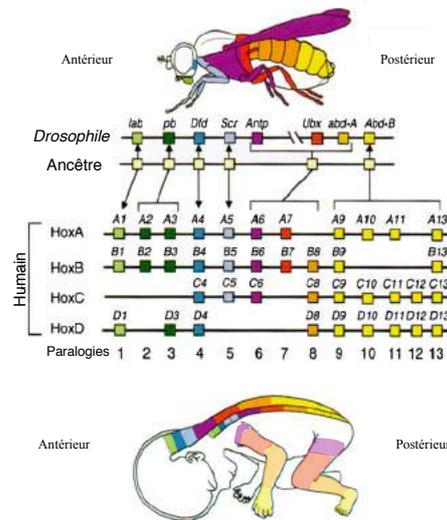
*Les domaines d'expression sont de plus en plus postérieurs en progressant le long du cluster



Science (2003)

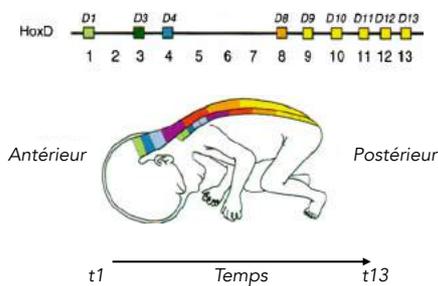
Conservation des gènes et de leur stratégie d'expression

Orthologie



Modifié de: <https://www.researchgate.net> Graham, Papalopulu and Krumlauf, Cell (1989); Duboule and Dollé, The EMBO J. (1989)

Colinéarité d'expression dans le temps



Modifié de: <https://www.researchgate.net>

Colinéarité d'expression dans le temps

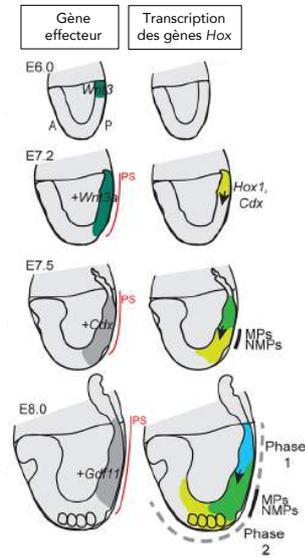
*Un mécanisme qui transforme le temps en espace.

(Le temps relatif d'activation des gènes *Hox* le long de leur cluster.. En succession d'espaces relatifs le long de l'axe antéro-postérieur..)

L'horloge *Hox* ('the *Hox* clock')

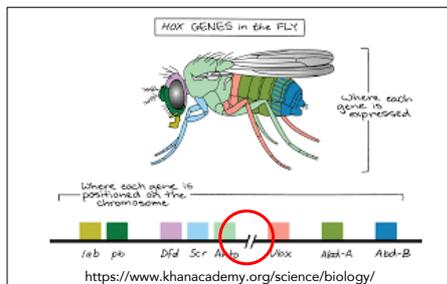
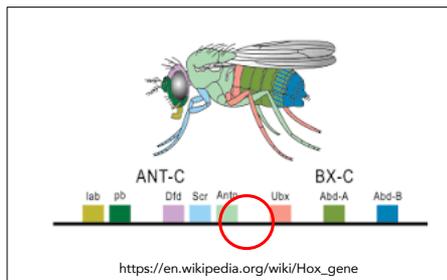
'Colinéarité temporelle':
Correspondance entre la position respective des gènes *Hox* sur leur cluster et leur temps d'activation

Mécanisme agissant en *cis* et qui donc requiert une structure en cluster de façon à assurer une activation coordonnée..



Deschamps and Duboule, *Genes & Dev.* (2017)

Contrainte(s) liées au cluster *Hox*?

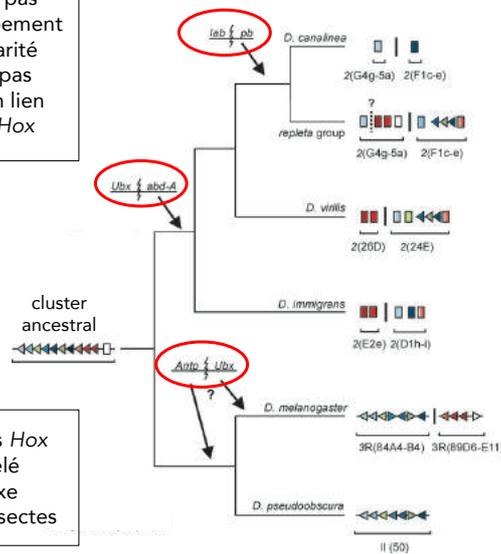


*Une cassure existe entre ANT-C et BX-C chez la mouche *Drosophila*, qui sont sur le même chromosome mais à une grande distance l'un de l'autre. Cette cassure peut se trouver à un autre endroit dans des espèces différentes.

Contrainte(s) liées au cluster Hox?

Par conséquent, l'intégrité du cluster *Hox* ne semble pas essentielle pour le développement de la mouche et la colinéarité spatiale ne semble donc pas dépendre strictement d'un lien physique entre les gènes *Hox*

Negre et al. Mol. Biol. Evol. (2003)

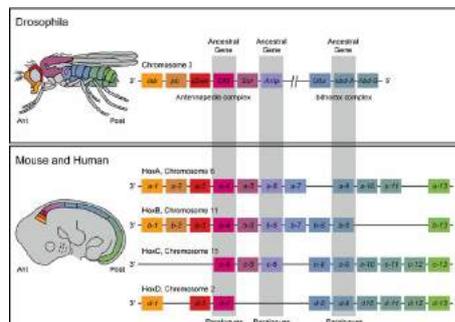


C'est le clonage des gènes *Hox* des vertébrés qui a révélé l'existence d'un complexe ancestral unique chez les insectes

Contrainte(s) liées au cluster Hox?

Par conséquent, l'intégrité du cluster *Hox* ne semble pas essentielle pour le développement de la mouche et la colinéarité spatiale ne semble donc pas dépendre strictement d'un lien physique entre les gènes *Hox*

...mais chez les vertébrés, les clusters *Hox* n'ont pas de point de cassure et les gènes sont restés ensemble depuis plus de 500 millions d'années...



Pourquoi cette différence?

Les Temps du développement



Drosophila est un insecte à bandelette germinale longue i.e. les segments apparaissent tous en même temps, par un mécanisme de division d'une entité existante

*Segmentation 'simultanée'

*Identifications indépendantes du temps. Gènes *Hox* activés ensemble par un pré-pattern maternel



Les vertébrés se développent en rajoutant progressivement des 'segments' de l'antérieur vers le postérieur, par un mécanisme d'addition

*Segmentation 'progressive'

*Identifications dépendantes du temps. Gènes *Hox* activés successivement par un mécanisme en *cis*

La 'conjecture Hox' (BioEssays, 1992)

L'existence d'un cluster complet de gène *Hox* (sans cassure) est liée à (contrainte par) un mécanisme d'activation temporelle de ces gènes pendant le développement.

Par conséquent:

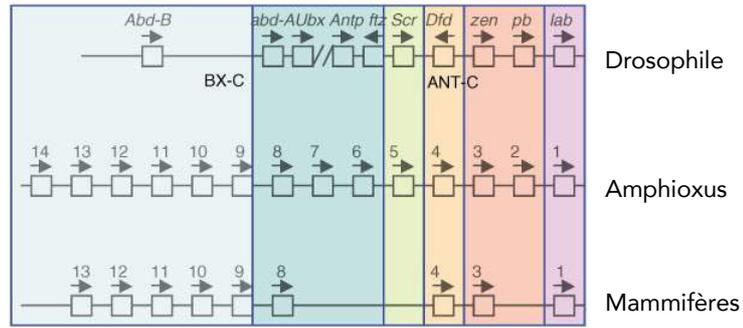
* Tous les animaux se développant selon une progression temporelle antéro-postérieure **doivent** avoir un cluster de gènes *Hox* intégral (sans cassure)

* Tous les animaux montrant une (des) cassure(s) dans leur cluster *Hox* **doivent** utiliser un type de développement 'simultané' (i.e. sans progression antéro-postérieure dans le temps, en tous cas concernant la partie 'cassée'..).

Le séquençage de nombreux génomes n'a pas (encore) révélé de contre-exemple, mais quelques surprises...

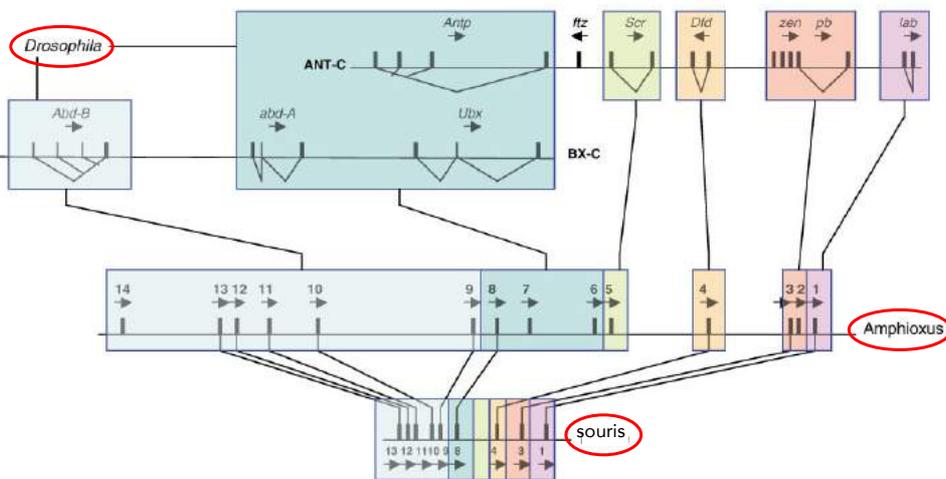
Quand la simplification obscurcit la signification

Représentation conventionnelle de la conservation des clusters *Hox* chez les métazoaires (internet, wikipedia, textbook, muséums..)

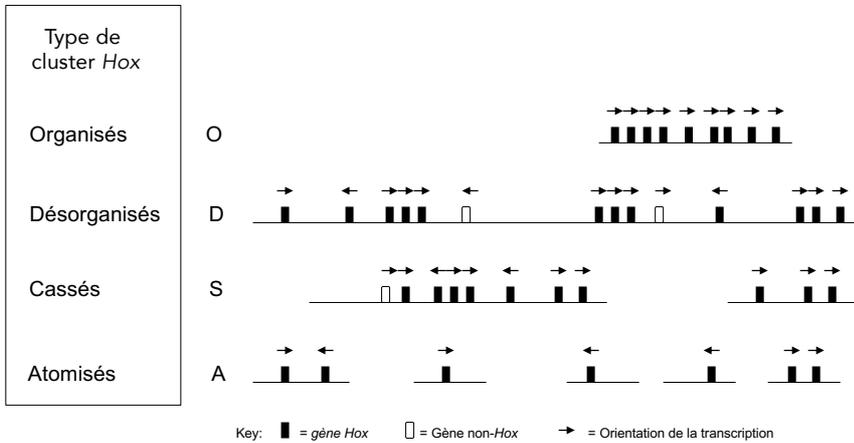


Quand la simplification obscurcit la signification

Schémas des clusters *Hox* ramenés aux tailles réelles...



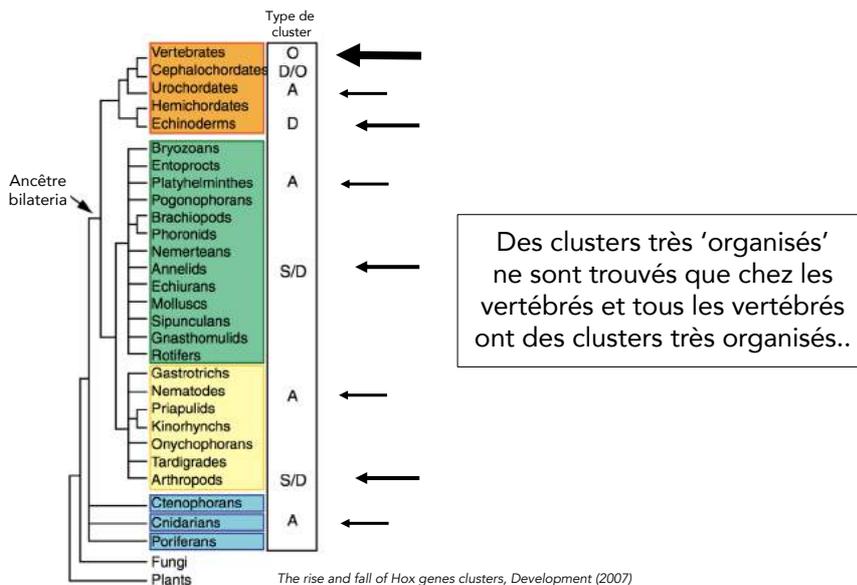
Il y a 'cluster' et 'cluster'



The rise and fall of Hox genes clusters, *Development* (2007)

Il y a 'cluster' et 'cluster'

Où trouve-t-on quel type de cluster chez les animaux?



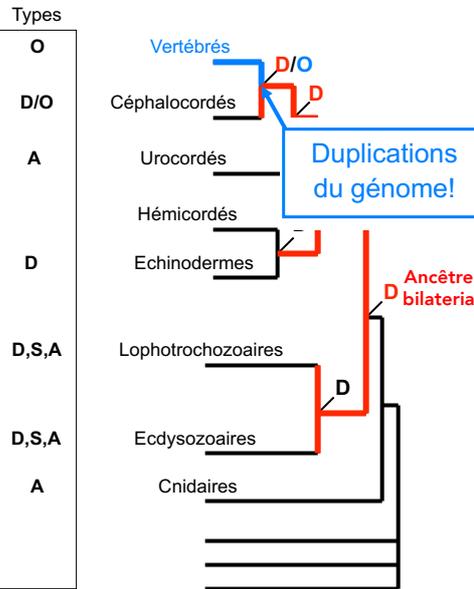
The rise and fall of Hox genes clusters, *Development* (2007)

Deux possibilités (inégales..)

2. Vue de 'consolidation'

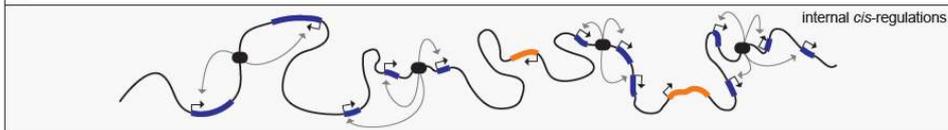
Cette vue est contre-intuitive car elle suppose un mouvement évolutif allant vers le 'mieux organisé' (anti-entropique..).

Donc nécessité d'une pression de 'sélection interne' (L. Whyte) et d'un événement déclencheur (S. Ohno)..

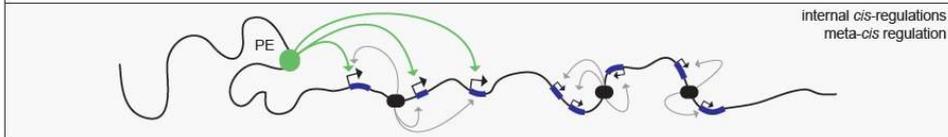


Consolidation par recrutement de méta-régulations

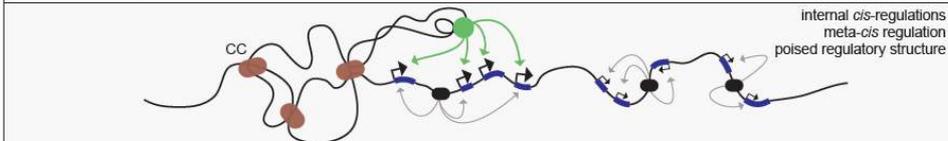
A. Cluster ancestral désorganisé



B. Evolution d'un (méta-)enhancer pionnier (PE) Redondance, compensation, robustesse...



C. Renforcement par construction d'une 'structure'



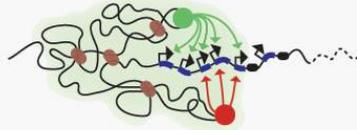
Consolidation par recrutement de méta-régulations

Duplication du génome



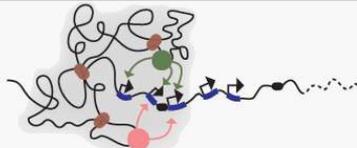
D. Relâchement des contraintes internes, nouveaux enhancers, consolidation...

HoxY



internal *cis*-regulations
meta-*cis* regulations
poised regulatory structure
co-option by enhancers

HoxZ



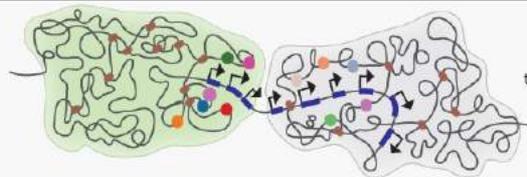
Optimisation des réponses géniques aux régulations...

Consolidation par recrutement de méta-régulations

Re-duplication du génome

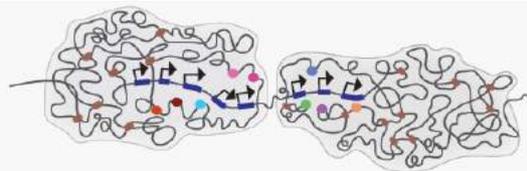


Hox1



internal *cis*-regulations
meta-*cis* regulations
poised regulatory structure
co-option by enhancers
topologically associated domains

Hox2



Hox3



Hox4



Consolidation par recrutement de méta-régulations



Selon cette hypothèse, le cluster de gènes s'est consolidé progressivement en réponse à l'accumulation de séquences régulatrices, afin de maximiser la réponse génétique soit en développant des caractéristiques intéressantes d'un point de vue adaptatif..

- *Redondance
- *Complémentarité
- *Robustesse
- *Epissage différentiel

..soit en éliminant des facteurs sources de problèmes potentiels

- *Éléments répétés
- *Gènes 'non-Hox'

Evolution d'un **groupe de gènes** vers un **méta-gène**
i.e. un cluster de gènes dans lequel les différents gènes sont soumis à des 'règles' générales pour produire une fonction globale associée à ce groupe



Denis Duboule

Collège de France
Chaire: *Evolution des Génomes et du Développement*
Denis.Duboule@college-de-france.fr

Colloque: Evo-Dévo: Nouvelle discipline ou période de transition?

18 mai 2018, 9h-18h

Interventions en Anglais

Le paradoxe du système modèle



Drosophila melanogaster
Diptera

*Une des raisons principales de la valeur heuristique extraordinaire de la mouche du vinaigre est l'accumulation des paramètres permettant une approche génétique (croisements faciles, ponte élevée, détection de phénotypes facilitée (développement larvaire) et ...

...rapidité du développement (temps de génération)

MAIS! cette rapidité est associée à l'évolution d'un type de développement très spécialisé au diptères, par lequel l'information maternelle organise un pré-pattern qui est réalisé par l'embryon, ce dernier étant 'déchargé' de ce travail. Le système de régulation des gènes *Hox* est donc différent et ne reflète sans doute pas un fonctionnement ancestral. Néanmoins, c'est au travers de la mouche que ces systèmes furent découverts chez les vertébrés (et qui fonctionnent chez beaucoup d'arthropodes..)

Contraintes et systèmes-modèles

La biologie (génétique) du développement a souvent utilisé des systèmes-modèles, définis comme tels par l'existence de particularités mécanistiques peu contraintes..

Ce qui pose bien entendu la question de l'existence même de la notion de 'système-modèle' (car si peu contraintes, alors ces particularités sont probablement éloignées des mécanismes essentiels...

Cela conduit à cette idée curieuse d'animaux ayant des 'avantages'...

Advantages of *Xenopus* as a Model Organism

Experimental organisms such as frogs (*X. laevis* and *X. tropicalis*), nematode worms (*C. elegans*), fruit flies (*Drosophila spp.*), zebrafish (*Danio rerio*), chicken (*Gallus Gallus*) and mice (*Mus musculus*) are used to discover the molecular mechanisms fundamental to life, thereby providing a shortcut to understanding human biology. Each model organism has its advantages and disadvantages, and these are compared in the table to the right (adapted from Wheeler and Brändli 2009).

Category	<i>C. elegans</i>	<i>Drosophila</i>	Zebrafish	<i>Xenopus</i>	Chicken	Mouse
Broodsize	250-300	80-100	100-200	900-3000+	1	5-8
Cost per embryo	low	low	low	low	medium	high
High-throughput multiwell-format screening	good	good	good	good	poor	poor
Access to embryos	good	good	good	good	poor	poor
Micro-manipulation of embryos	limited	limited	fair	good	good	poor
Genome	known	known	known	known	known	known
Genetics	good	good	good	fair	poor	good
Knockdowns (RNAi, morpholinos)	good	good	good	good	limited	limited
Transgenesis	good	good	good	good	poor	good
Evolutionary distance to human	very distant	very distant	distant	intermediate	intermediate	close

Color code: green, best in category; red, worst in category.

Adapted from Wheeler & Brändli 2009 Dev Dyn 238:1287-1308.

(adapted from Wheeler and Brändli 2009).

Les natures différentes des questions fondamentales influencent le choix des systèmes-modèles

Ces différences se traduisent dans l'utilisation de modèles d'études ('model systems') qui soit permettent une approche du mécanisme ('c'est comme cela'), soit débouchent sur des hypothèses adaptatives ou des considérations de linéages, d'homologies ('ce sont les mêmes..').

Dans les deux cas, le choix est biaisé par l'existence de traits adaptatifs forts qui permettent soit l'une soit l'autre de ces approches..

Problems and paradigms 

Model systems in developmental biology

By Jessica A. Bolker

Summary

The practical criteria by which developmental biologists choose their model systems have evolutionary correlates. The result is a sample that is not merely small, but biased in particular ways, for example towards species with rapid, highly canalized development. These biases influence both data collection and interpretation, and our views of how development works and which aspects of it are important.

Accepted
12 December 1994

BioEssays Vol. 17 no. 5 451

© 1995 Sinauer Associates, Inc. 0162-3097/95 \$08.00

Les critères pratiques selon lesquels les biologistes du développement choisissent leurs systèmes modèles ont des raisons évolutives. Il en résulte un échantillonnage qui n'est pas simplement réduit, mais qui est également biaisé de façon particulière, pas exemple en faveur des espèces qui ont un développement rapide et très canalisé. Ces biais influencent à la fois la récolte des résultats et leur interprétation, ainsi que nos vues sur le fonctionnement du développement et sur quels en sont les aspects critiques.

Evo-Dévo ou Dévo-Evo? Les 'systèmes modèles'



La notion d'**avantage**' d'un système modèle: entre le besoin de populariser son système d'étude et une compréhension superficielle du problème..



★ Traits adaptatifs forts..

*Vitesse du développement des diptera.

*Régénération des urodèles.

*Linéage cellulaire chez *C. elegans*.

*....

Evo-Dévo ou Dévo-Evo? Les 'systèmes modèles'



Cette tendance est centrifuge plus que centripète.. Par conséquent, le non-choix (ou le choix par critères 'personnels') ne serait peut-être pas pire.



★ Traits adaptatifs forts..

*Vitesse du développement des diptera.

*Régénération des urodèles.

*Linéage cellulaire chez *C. elegans*.

*....

Du centripète vers le centrifuge....