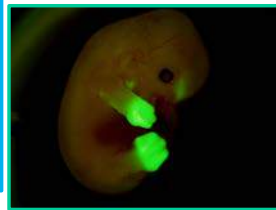
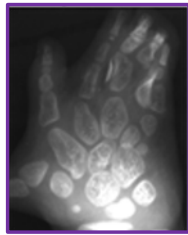




Denis Duboule

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



@Duboule

@CdF1530

1



Denis Duboule

2020-2021

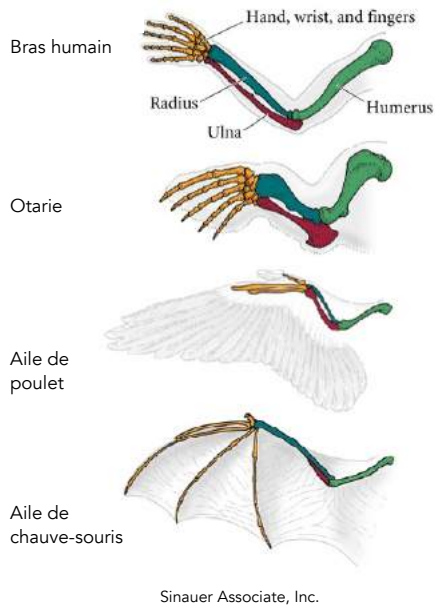
Syndromes génétiques :
Mécanismes, contraintes et atavismes du développement

Leçon #2 (11 mai 2021)

- *Résumé des points importants de la leçon 1
- *Polarité proximo-distale
- *Polarité antéro-postérieure
- *Polarité dorso-ventrale
- *Différences entre membre antérieur et postérieur
- *Notion de 'pléiotropie'
- *Malformations des membres, incidence, classification(s)
- *Syndrome de Liebenberg

2

Les membres des tétrapodes (amniotes)



Proximal
↓
Stylopodium (bras)

Zeugopodium (avant-bras)
(Mesopodium)(poignet)

Autopodium (main)
↓
Distal

'..Proximal stability versus distal variability..'

(R. Hinchliffe (1990's))

'..as if Nature got tired of counting towards the tail end of a developing animal....'

(E. Goodrich, 1913)

Un plan de base qui se réalise avec une palette de variations

3

Les membres des tétrapodes



Dynamique de l'apparition

- *Bourgeonnement
- *Croissance
- *Morphogenèse

Accessibilité expérimentale

- *Emergence tardive
- *Taille observable
- *Manipulations expérimentales possibles (greffes, irradiations..)
- *Dissections ciblées possibles
- *Nombre de cellules élevé (analyses moléculaires)
- *Génétique facilitée par le phénotype visible (humains) et souvent non-létal...

4

Positions et initiation des membres



Received: 19 December 2020 | Revised: 23 January 2021 | Accepted: 23 January 2021
 DOI: 10.1002/dvdy.1465

REVIEW

Q1 Q2

Developmental Dynamics WILEY

Limb positioning and initiation: An evolutionary context of pattern and formation

Samantha R. Royle^{1,2} | Clifford J. Tabin¹ | John J. Young²



Abstract

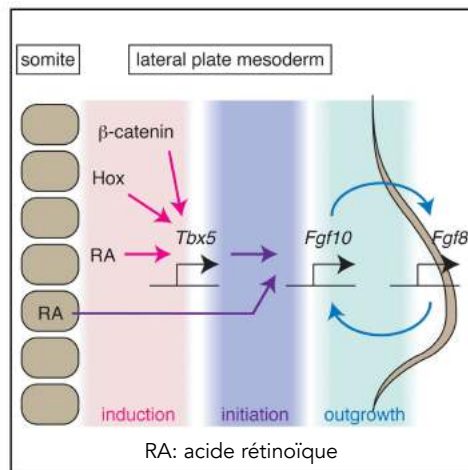
Before limbs or fins, can be patterned and grow they must be initiated. Initiation of the limb first involves designating a portion of lateral plate mesoderm along the flank as the site of the future limb. Following specification, a myriad of cellular and molecular events interact to generate a bud that will grow and form the limb. The past three decades has provided a wealth of understanding on how those events generate the limb bud and how variations in them result in different limb forms. Comparatively, much less attention has been given to the earliest steps of limb formation and what impacts altering the position and initiation of the limb have had on evolution. Here, we first review the processes and pathways involved in these two phases of limb initiation, as determined from amniote model systems. We then broaden our scope to examine how variation in the limb initiation module has contributed to biological diversity in amniotes. Finally, we review what is known about limb initiation in fish and amphibians, and consider what mechanisms are conserved across vertebrates.

KEYWORDS

Evo-Devo, genetic networks, heterochrony, limb development, limb positioning

5

Positionnement des membres (3 phases)

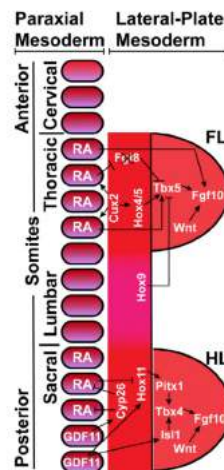


Cell Reports

RA Acts in a Coherent Feed-Forward Mechanism with Tbx5 to Control Limb Bud Induction and Initiation

Satoko Nishimoto, Susan M. Wilde, Sophie Wood, Malcolm P.O. Logan

Article



Received: 19 December 2020 | Revised: 23 January 2021 | Accepted: 23 January 2021
 DOI: 10.1002/dvdy.1465

REVIEW

Developmental Dynamics WILEY

Limb positioning and initiation: An evolutionary context of pattern and formation

Samantha R. Royle^{1,2} | Clifford J. Tabin¹ | John J. Young²

6

Croissance et 'patterning' (organisation) des membres



© 2020. Published by The Company of Biologists Ltd | Development (2020) 147, dev177956. doi:10.1242/dev.177956

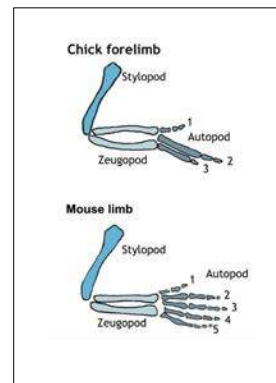
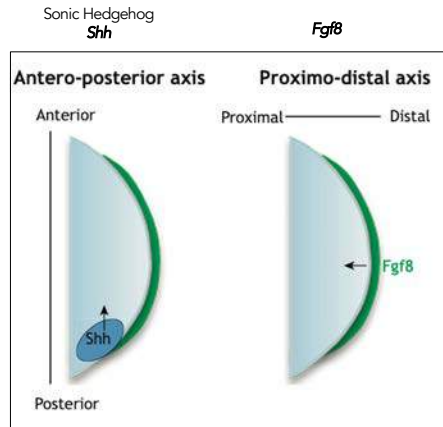
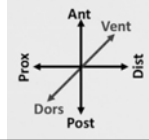
REVIEW

Establishing the pattern of the vertebrate limb

Caitlin McQueen and Matthew Towers*

Structure en 3D

- *Proximo-distal
- *Antéro-postérieur
- *Dorso-ventral



7

Croissance du membre, axe proximo-distal



© 2020. Published by The Company of Biologists Ltd | Development (2020) 147, dev177956. doi:10.1242/dev.177956

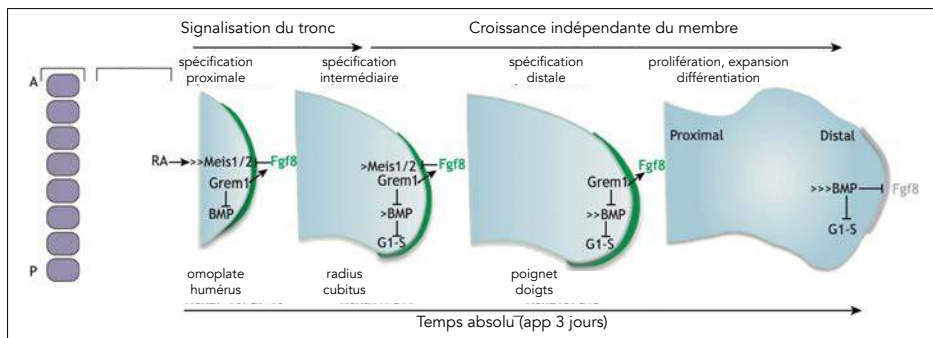
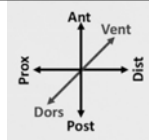
REVIEW

Establishing the pattern of the vertebrate limb

Caitlin McQueen and Matthew Towers*

Structure en 3D

- *Proximo-distal



*Deux systèmes coordonnés:

- 1) système d'expansion et de croissance distale
- 2) système de spécification progressive

8

Croissance du membre, axe proximo-distal

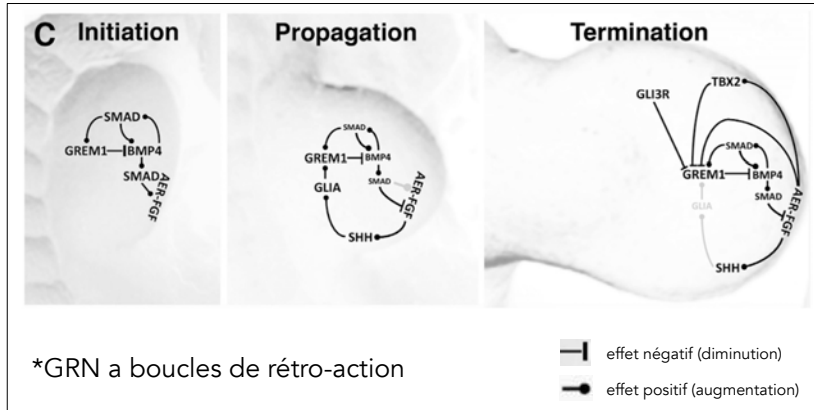


Dynamic and self-regulatory interactions among gene regulatory networks control vertebrate limb bud morphogenesis

Aimée Zuniga*, Rolf Zeller*
 Developmental Genetics, Department of Zoology, University of Basel, Basel, Switzerland
 *Correspondence: zuniga@zoo.unibas.ch; zeller@zoo.unibas.ch
 Current Topics in Developmental Biology, Volume 139
 ISSN 0078-2153
 © 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.
<https://doi.org/10.1016/j.ctdb.2020.102499>

1) système d'expansion et de croissance distale

*BMP4 est un membre de la famille TGFbeta, qui signale par l'intermédiaire des protéines smad
 *Gremlin est un inhibiteur de BMP4



9

Croissance du membre, axe proximo-distal



DOI: 10.1098/nature07085 · Corpus ID: 2322422

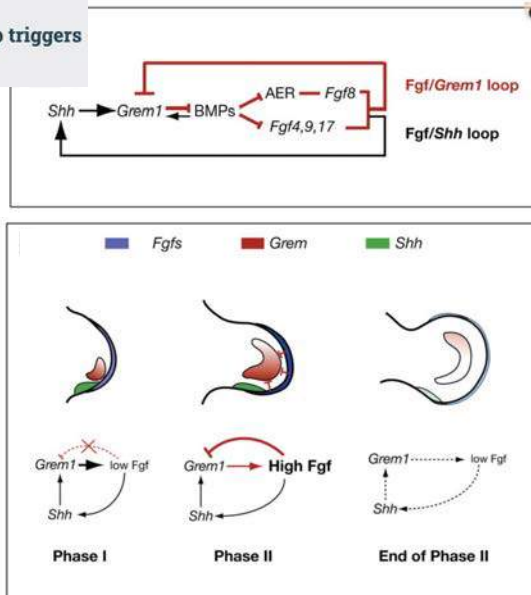
An Fgf/Gremlin inhibitory feedback loop triggers termination of limb bud outgrowth

J. Verheijen, X. Sun · Published 2008 · Biology, Medicine · Nature

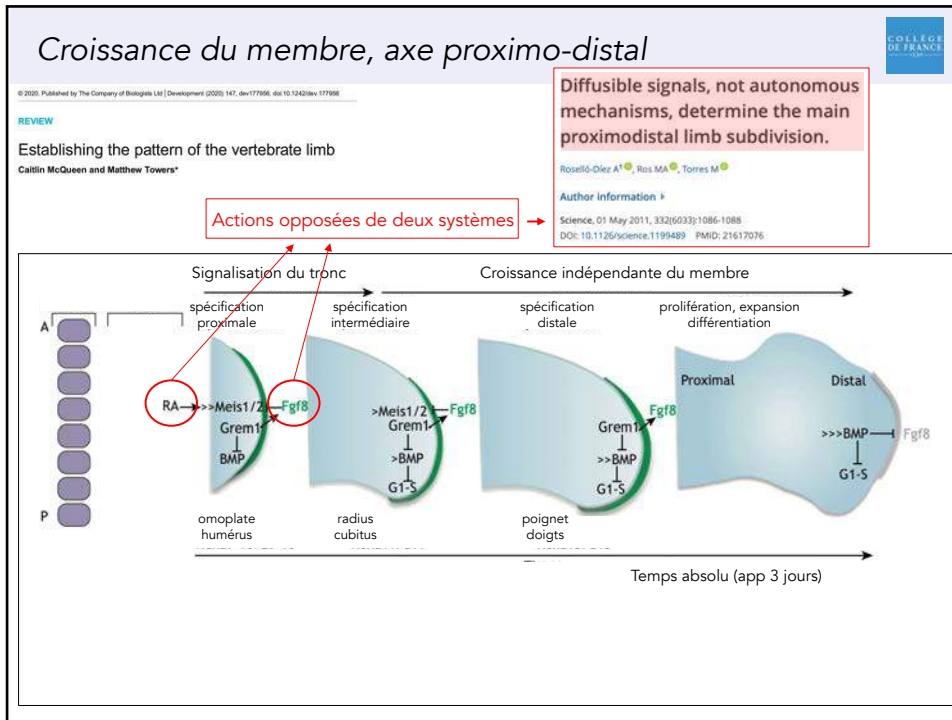
Au début, boucle positive qui stimule la production de Fgf dans l'AER. Cependant, l'accumulation de trop de Fgf dans cette structure va engendrer une boucle négative qui, en inhibant l'inhibiteur de BMP va conduire à une rétraction de l'AER, en parallèle à l'éloignement des cellules exprimant Gremlin de cette AER...

Ce système contient les éléments nécessaires à la balance entre l'initiation de la croissance de la structure, sa persistance et sa terminaison

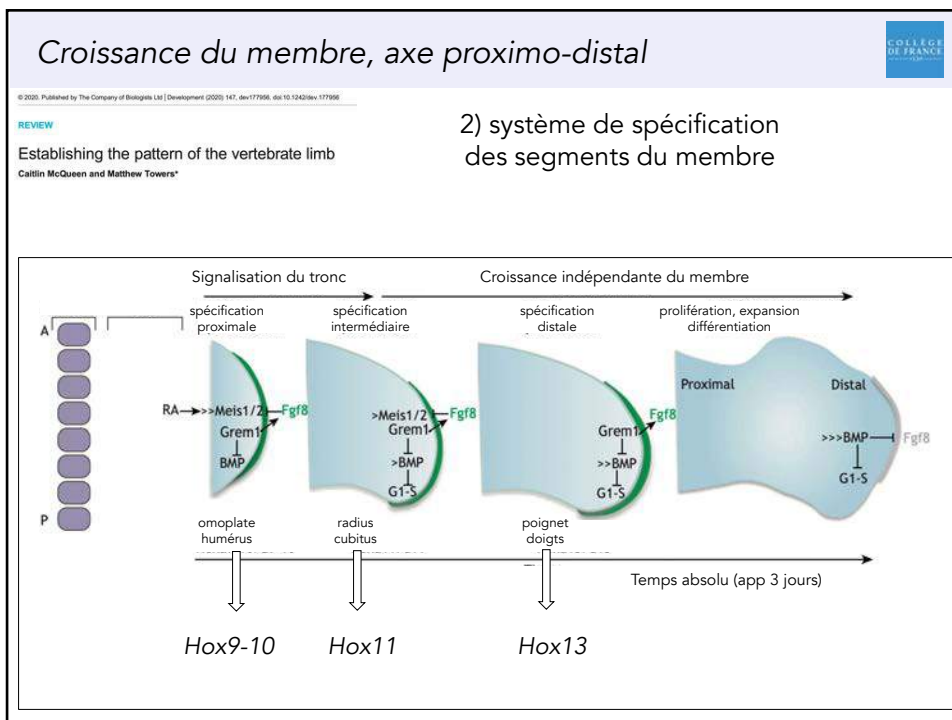
Un système auto-entretenu, qui contient les éléments de sa propre dynamique



10



11

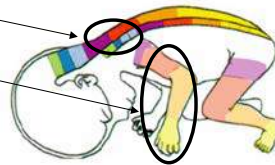
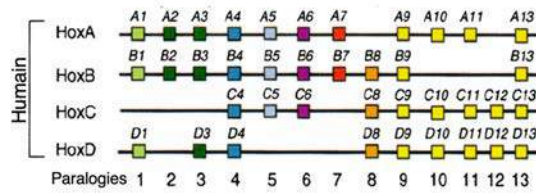


12

La double fonction des gènes Hox dans les membres

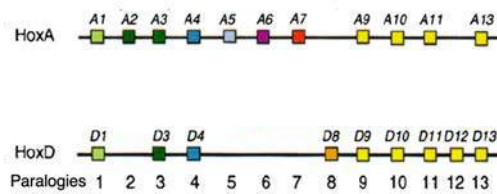
1) Détermination de la position sur l'axe AP

2) Croissance et organisation



13

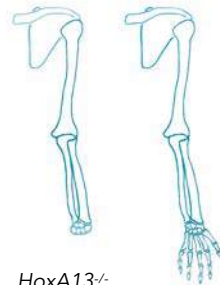
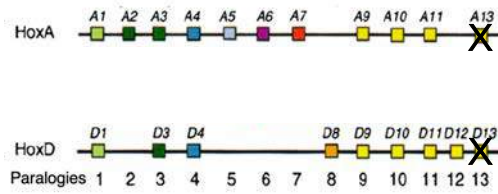
Gènes Hox et organisation des membres (HoxA/HoxD)



Capecchi, Chambon, Duboule laboratories; from Zakany and Duboule, 2007

14

Gènes *Hox* et organisation des membres (*HoxA/HoxD*)

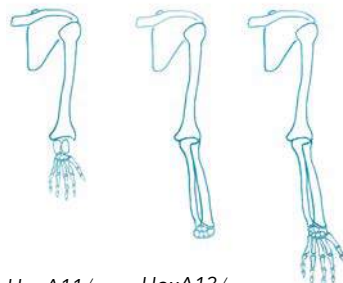
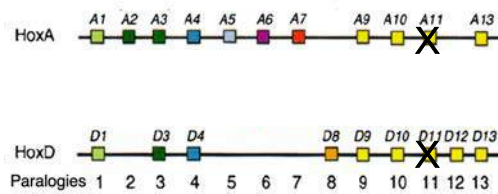


HoxA13^{-/-}
HoxD13^{-/-}

Capecchi, Chambon, Duboule laboratories; from Zakany and Duboule, 2007, Fromental-Romain et al., 1996

15

Gènes *Hox* et organisation des membres (*HoxA/HoxD*)

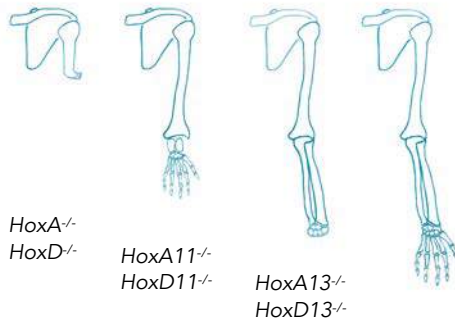
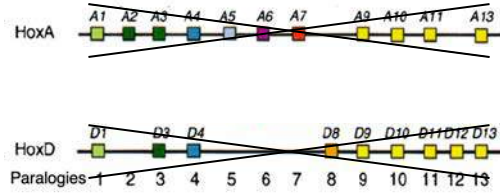


HoxA11^{-/-} *HoxA13*^{-/-}
HoxD11^{-/-} *HoxD13*^{-/-}

Capecchi, Chambon, Duboule laboratories; from Zakany and Duboule, 2007; Davis et al., 1995

16

Gènes Hox et organisation des membres (HoxA/HoxD)



Capecchi, Chambon, Duboule laboratories; from Zakany and Duboule, 2007; Kmita et al., 2005

17

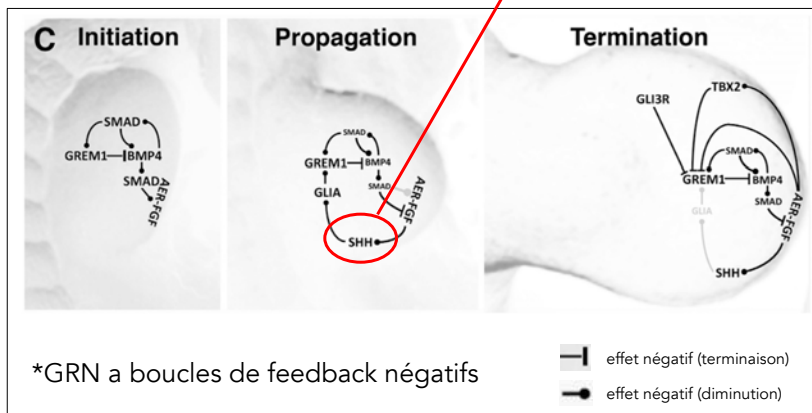
Croissance du membre, axe proximo-distal (et A-P.)

Dynamic and self-regulatory interactions among gene regulatory networks control vertebrate limb bud morphogenesis

Aimée Zuniga¹, Rolf Zeller¹
 Developmental Genetics, Department Biochemistry, University of Basel, Switzerland
 10.1002/dvdy.23012

Current Topics in Developmental Biology, Volume 139
 ISSN 0070-2153
 © 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

Le gène sonic hedgehog (*Shh*)
 gène clé de la polarité antéro-postérieure



18

Sonic hedgehog (*Shh*) et l'axe antéro-postérieur



Cell, Vol. 75, 1401-1416, December 31, 1993, Copyright © 1993 by Cell Press

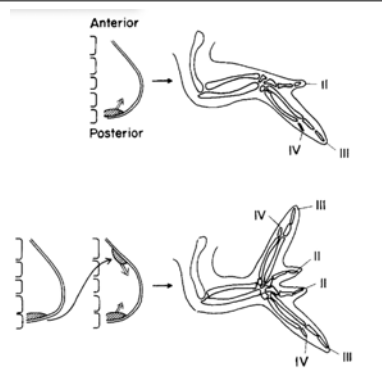
Sonic hedgehog Mediates the Polarizing Activity of the ZPA

Robert D. Riddle, Randy L. Johnson, Ed Laufer,
and Cliff Tabin
Department of Genetics
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts 02115

ZPA: Zone of Polarizing Activity
(Zone à Activité Polarisante)

ZPA: Expériences de Saunders et Gasseling dans les années 1960-70 qui consistent à greffer dans la partie antérieure du bourgeon de membre du poulet, des cellules provenant de la partie postérieure.

Le résultat est une duplication en miroir de la partie distale du membre. Par conséquent, ces cellules postérieures ont une activité 'polarisante'. Quelle est la nature de cette activité?



19

Sonic hedgehog (*Shh*) et l'axe antéro-postérieur



Cell, Vol. 75, 1401-1416, December 31, 1993, Copyright © 1993 by Cell Press

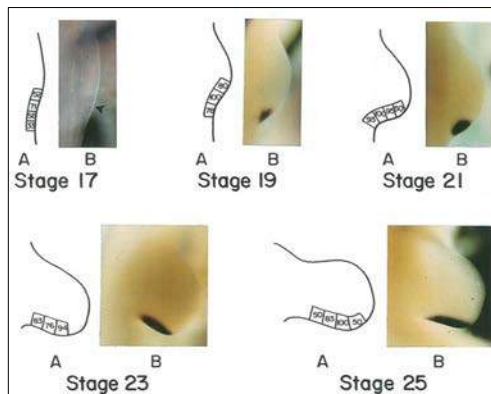
Sonic hedgehog Mediates the Polarizing Activity of the ZPA

Robert D. Riddle, Randy L. Johnson, Ed Laufer,
and Cliff Tabin
Department of Genetics
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts 02115



Shh est un des trois membres, chez les mammifères, d'une famille de protéines extracellulaires, sécrétées, qui signalisent à courte et longue distance, à travers une voie de signalisation impliquant deux protéines membranaires (*desert hh*; *indian hh*).

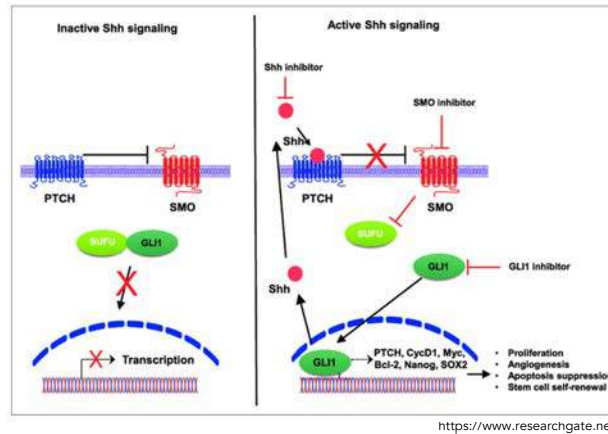
Le clonage original (1993) est fait en utilisant le gène Hedgehog (*hh*) de la *Drosophila melanogaster*, par homologie, un gène qui est exprimé dans les cellules postérieures de chaque segment de la l'embryon de mouche.



Expression (ARNs) de *Shh* est restreinte à une population de cellules localisée à l'aspect postérieur du bourgeon

20

La voie de signalisation hedgehog



*Liaison de la protéine hedgehog à son récepteur *Patched* (*Ptch*), qui 'libère' l'activité de signalisation de *smoothened* (famille des récepteur couplés aux protéines G (RCPG))

*Par une chaîne de transduction du signal, cela va permettre au facteur de transcription GLI de rentrer dans le noyau, lier l'ADN et activer des gènes cibles

21

Sonic hedgehog (*Shh*) est l'activité polarisante de la ZPA

Cell, Vol. 75, 1401-1416, December 31, 1993, Copyright © 1993 by Cell Press

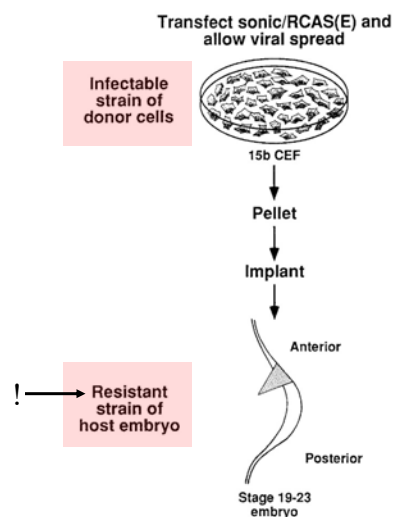
Sonic hedgehog Mediates the Polarizing Activity of the ZPA

Robert D. Riddle, Randy L. Johnson, Ed Laufer, and Cliff Tabin
Department of Genetics
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts 02115

*La protéine SHH peut-elle être l'activité polarisante présente dans la ZPA?

*Expérience de gain de fonction dans la partie antérieure du bourgeon d'aile de poulet.

*Virus répliquatif RCAS. Greffon fait de fibroblastes de poulet infectés par le virus/*Shh*



22

Sonic hedgehog (*Shh*) est l'activité polarisante de la ZPA

Cell, Vol. 75, 1401-1416, December 31, 1993, Copyright © 1993 by Cell Press

Sonic hedgehog Mediates the Polarizing Activity of the ZPA

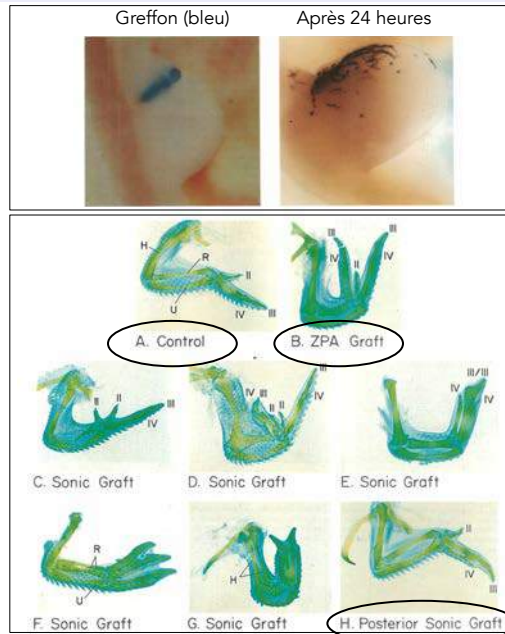
Robert D. Riddle, Randy L. Johnson, Ed Laufer, and Cliff Tabin
Department of Genetics
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts 02115

Conclusion:

*La protéine SHH seule est capable de reproduire une grande partie de l'effet d'une greffe de ZPA.

*La protéine SHH est l'activité polarisante découverte par Saunders et Gasseling.

*Par conséquent, la polarité antéro-postérieure est fixée par la localisation des ARNs *Shh* dans la partie postérieure du bourgeon de membre.



23

Localisation postérieure des ARNs *Shh*

Dynamic and self-regulatory interactions among gene regulatory networks control vertebrate limb bud morphogenesis

Aimée Zuniga*, Rolf Zeller*
Developmental Genetics, Department of Zoology, University of Basel, Basel, Switzerland
*Corresponding authors: e-mail address: zuniga@unibas.ch, rlf.zeller@unibas.ch

Hand2: gène essentiel pour l'activation postérieure de *Shh*.
Facteur de Tx de la famille BHLH...)

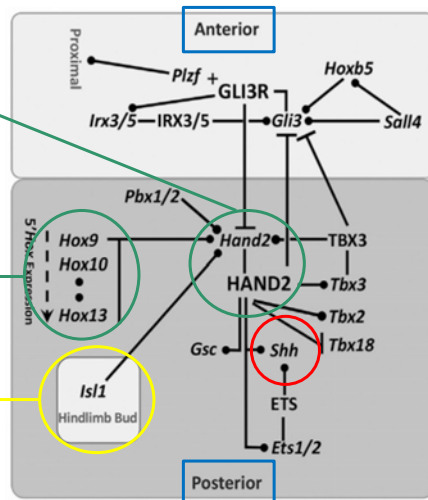
↑ Activation

Gènes *Hox* (3ème fonction dans le développement des membres)

Dans les membres postérieurs, l'activation de *Hand2* est assurée en partie par le gène *Isl1*

Hand2: Basic Helix loop helix, lie l'ADN, facteur de transcription
Isl1: *Islet1*; LIM/Homeodomain, lie l'ADN, facteur de transcription

Pré-organisation et polarisation A-P du bourgeon de membre

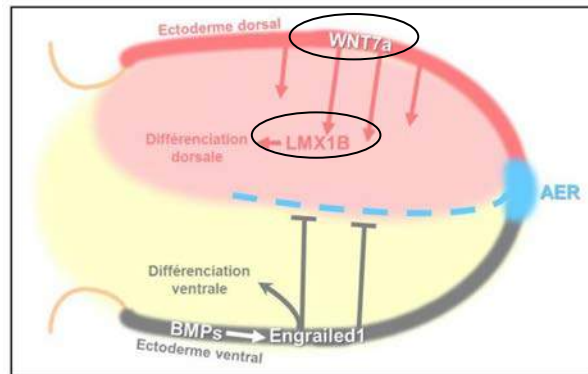


24

Polarité dorso-ventrale

*La polarité dorso-ventrale est initiée par l'expression de *Wnt7a* dans l'ectoderme dorsal, alors que l'ectoderme ventral exprime *engrailed1*

*le signal *Wnt7a* active la transcription du gène *LMX1B* qui est le déterminant de la polarité DV



Florence Petit <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01159394> (d'après Loomis et al., 1998)

25

La voie de signalisation Wnt

CELLULAR NEUROSCIENCE

REVIEW ARTICLE
published: 13 March 2015
doi: 10.3389/fncel.2015.00009

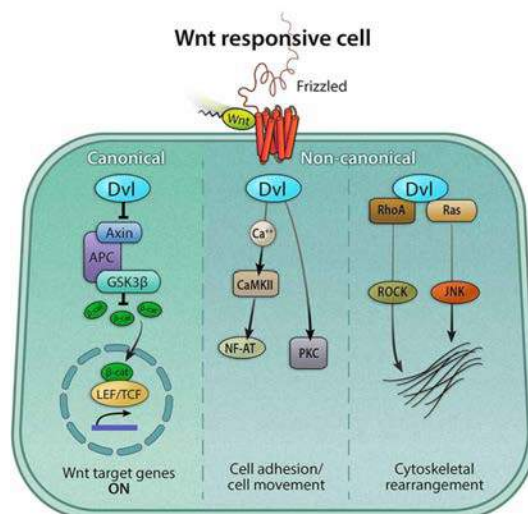
Making sense of Wnt signaling—linking hair cell regeneration to development

Lina Jansson, Grace S. Kim and Alan G. Cheng *

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, School of Medicine, Stanford University, Stanford, CA, USA

*Un même récepteur (*Frizzled*) mais des voies différentes. Une 'canonique' utilisant la bêta-caténine comme agent principal, et d'autres voies 'non-canonique' qui n'utilisent pas cette molécule.

*Dans l'ectoderme dorsal, la signalisation *Wnt* semble passer par une voie non-canonique bien que cela ne soit pas encore totalement clair.



26

Lmx1b, effecteur de la polarité dorso-ventrale



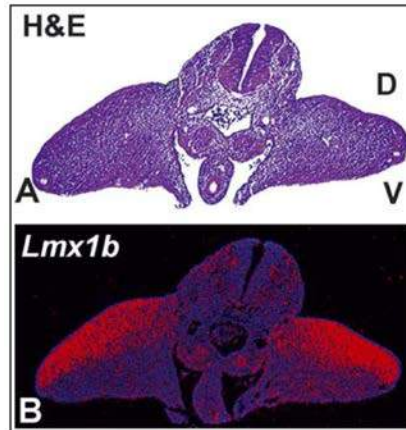
Lmx1b expression during joint and tendon formation: localization and evaluation of potential downstream targets

Sandra D. Dreyer^{a,b}, Takuji Naruse^c, Roy Morello^b, Bernhard Zabel^a, Andreas Winterpacht^a, Randy L. Johnson^d, Brendan Lee^{b,c}, Kerby C. Oberg^{c,f,*}

H&E: Coloration hematoxyline et éosine, sur coupe

Révélation des ARNs *Lmx1b* par hybridation in situ sur coupe avec une sonde marquée par un isotope.

Spécificité d'expression dorsale, exclusivement



27

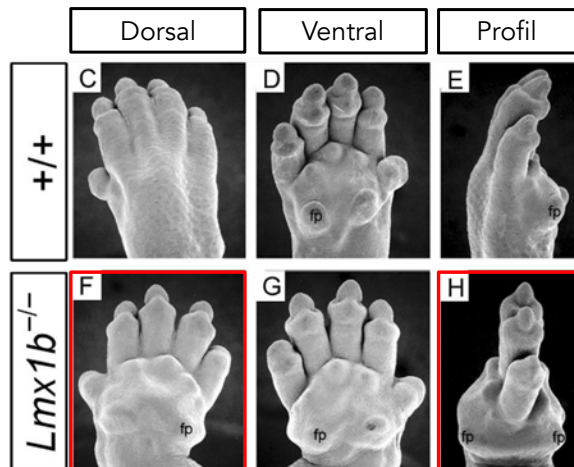
Lmx1b, effecteur de la polarité dorso-ventrale

Limb and kidney defects in *Lmx1b* mutant mice suggest an involvement of *LMX1B* in human nail patella syndrome

Haiyu Chen¹, Yi Lan¹, Dmitry Ovchinnikov¹, Hiroki Kokubo¹, Kerby C. Oberg², Carmen V. Pepicelli³, Lin Gan¹, Brendan Lee³ & Randy L. Johnson¹

*Une mutation induite dans le gène *Lmx1b* et qui inactive totalement fonction produit des membres qui ont deux faces ventrales...

*Ce gène est donc bien le déterminant principal de la polarité dorso-ventrale.



28

Différences entre membres antérieurs et postérieurs

The bicoid-related homeoprotein *Ptx1* defines the most anterior domain of the embryo and differentiates posterior from anterior lateral mesoderm

Christian Lacoté^{1,2}, Bruno Lamolet¹ and Jacques Drouin^{1,3*}

¹Laboratoire de génétique moléculaire, Institut de recherches cliniques de Montréal, 110 avenue des Pins ouest, Montréal, Québec, Canada, H2W 1R7
²Département de Biochimie, Université de Montréal
³Autorité de santé publique, Institut de santé publique de Montréal

Development 124, 2807-2817 (1997)
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1997
DEV4822

Le gène PITX1, facteur de transcription à homéodomaine (lie l'ADN à des séquences spécifiques) est exprimé seulement dans les membres postérieurs (1997).

Détection des ARNs marqués au S³⁵ par hybridation in situ sur lames histologiques et expositions sur films



29

Différences entre membres antérieurs et postérieurs

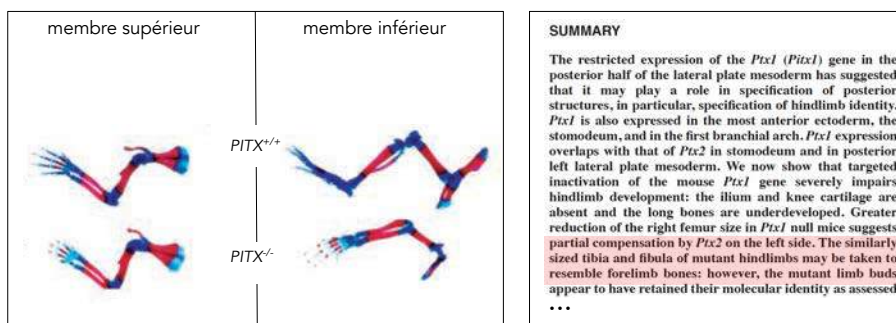
Hindlimb patterning and mandible development require the *Ptx1* gene

Christian Lacoté^{1,2}, Alain Moreau¹, Michel Chamberland¹, Michel L. Tremblay² and Jacques Drouin^{1*}

¹Laboratoire de génétique moléculaire, Institut de recherches cliniques de Montréal, 110 des Pins Ouest, Montréal Québec, Canada H2W 1R7
²Department of Biochemistry, McGill University, Montréal Québec, Canada

Development 126, 1805-1810 (1999)
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1999
DEV2416

L'inactivation fonctionnelle du gène PITX1 induit de nombreuses malformations des membres inférieurs, incluant un raccourcissement notable des os longs.



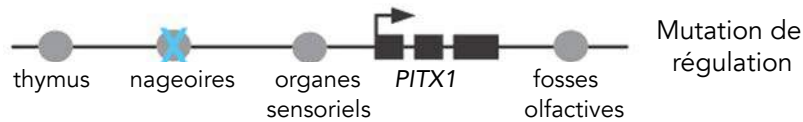
Une suspicion de transformation homéotique des pattes arrière en pattes avant
(William Bateson -1861-1926- homeo- ...into the likeness of..)

30

PITX1 et les épinoches à trois épines...



Gasterosteus aculeatus (variation intra-spécifique)



La modularité des enhanceurs permet l'évolution de traits spécifiques sans compromettre la viabilité de l'animal (épinoche à trois épines pectorales)

Shapiro et al... Kingsley, 2004 Nature

31

Pléiotropie

One Hundred Years of Pleiotropy: A Retrospective

Frank W. Stearns¹

Department of Biology, University of Maryland, College Park, Maryland 20742

Genetics 186: 767–773 (November 2010)

McKusick, V. A., 1976 Pleiotropism. *Am. J. Hum. Genet.* 28: 301–302.

1910: Ludwig Plate, étudiant de Ernst Haeckel, Jena.

(du grec "pleion" (πλείων, plus), et tropé (τροπή, changement)

"I call a unit of inheritance pleiotropic if several characteristics are dependent upon it; these characteristics will then always appear together and may thus appear correlated"

'Je qualifie une "unité génétique" de 'pléiotropique' si plusieurs caractéristiques en dépendent; ces caractéristiques apparaîtront toujours ensemble et seront donc corrélées..' (syndromes...)

32