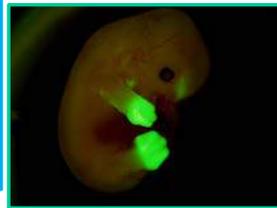




Denis Duboule

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



@Duboule

@CdF1530

1



Denis Duboule

Collège de France
Chaire Internationale
Evolution des Génomes et du Développement

2020-2021

***Syndromes génétiques :
Mécanismes, contraintes et atavismes
du développement.***

2



Denis Duboule

Collège de France
Chaire Internationale

Evolution des Génomes et du Développement

Colloque: Contraintes et plasticité dans le
développement et l'évolution (en anglais)

3-4 juin 2021, 14h-19h

Colloque intégralement en Webinaire à l'adresse
disponible sur le site internet du Collège de France

Colloque co-organisé avec le Prof. Thomas Lecuit
Chaire: Dynamiques du vivant

3



Denis Duboule

2020-2021

Syndromes génétiques : Mécanismes, contraintes et atavismes du développement

Objectif du cours

Cette année, le cours aura comme objectif principal de faire le lien entre certains syndromes génétiques connus et affectant les humains, et les mécanismes moléculaires impliqués pendant le développement embryonnaire. Ce lien amènera à considérer l'origine ontogénétique de ces mécanismes et, par là même, leur évolution. Cette relation étroite qui existe entre l'évolution et le développement sera naturellement illustrée par deux concepts intimement liés l'un à l'autre, à savoir celui des *contraintes* appliquées aux développements des systèmes vivants et celui des *atavismes* liés à certains problèmes rencontrés lors de notre embryogenèse.

4



Denis Duboule

2020-2021

Syndromes génétiques :
Mécanismes, contraintes et atavismes du développement

Objectif du cours

Il s'agira également de montrer à quel point les approches multidisciplinaires permettent aujourd'hui un niveau d'analyse et de compréhension jamais atteint dans le passé, et aussi de mettre en lumière le potentiel de fertilisations croisées entre des approches qui au premier abord semblent appartenir à des espaces épistémiques différents (la génétique humaine, l'étude de la chromatine, la biologie du développement).

Ce cours fait suite au cours 2019-2020 consacré aux séquences 'enhancers', puisqu'il ne concernera que des exemples de 'mutations de régulations', des syndromes dans lesquels les structures des gènes impliqués restent inchangées, seuls leurs paysages de régulations étant affectés. Le cours 2019-2020 est accessible sur le site internet du Collège de France

5



Denis Duboule

2020-2021

Syndromes génétiques :
Mécanismes, contraintes et atavismes du développement

Contexte général, système modèle

Ces syndromes ont été choisis parmi ceux affectant le développement des membres supérieurs et inférieurs des mammifères (les bras et les jambes chez les humains), ceci afin de simplifier l'étude des liens existant avec le développement et l'évolution. En effet, le développement et l'évolution des membres des tétrapodes a été un sujet d'études approfondies, depuis plus de 60 ans, et continue d'être un des systèmes les plus étudiés à l'interface du développement et de l'évolution. Les raisons de cet engouement sont à la fois d'ordre théoriques (une grande variation des formes, un sous-ensemble des mécanismes) et de logistique expérimentale (accessibilité).

6

Les membres des tétrapodes (amniotes)

Bras humain

Otarie

Aile de poulet

Aile de chauve-souris

Sinauer Associate, Inc.

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

7

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..

Bras humain

Membre antérieur d'un phoque

Aile d'oiseau

Aile de chauve-souris

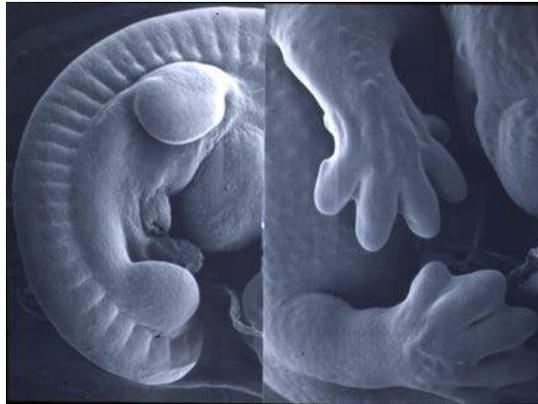
Une base génétique commune assure la réalisation de structures homologues mais impose également les contraintes liées à ce plan de base.

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

Scott Gilbert © 2000 Sinauer Associates, Inc.

8

Les membres des tétrapodes (amniotes)



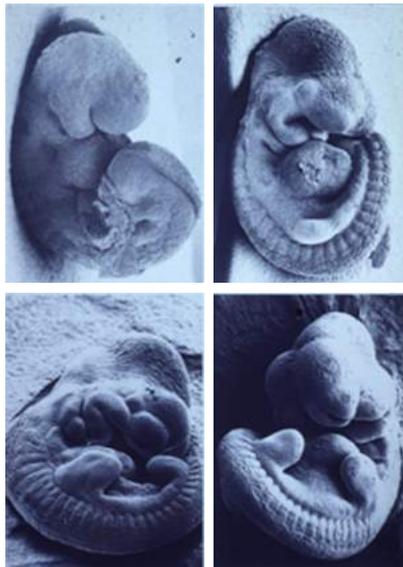
Lewis and Martin, 1991

Le développement du tronc se déroule dans le temps, de la région sous-occipitale vers les régions les plus postérieures par addition de 'segments'

Les bourgeons des membres postérieurs apparaissent donc avec un léger délai, nos bras sont morphologiquement plus âgés que nos jambes

9

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...

10

A l'origine de l'embryologie expérimentale



Étienne Wolff (1904-1996) :
Ses débuts, ses cahiers de laboratoire
(1932-1938)

Jean-Louis FISCHER (*)

Revue d'histoire des Sciences (2000)

Dans les années 1884, deux physiologistes suisses, Hermann Fol et Stanislas Warynski inaugurent une « méthode directe » en tératologie expérimentale : ils agissent directement sur des embryons de poulet âgés vingt-quatre à quarante-huit heures d'incubation, en pratiquant sur un point précis de ceux-ci, une brûlure, une piqûre ou une simple pression. Ils inaugurent une nouvelle pratique, celle du geste direct de l'expérimentateur sur une structure embryonnaire. Ces auteurs pouvaient, pour la première fois dans l'histoire, obtenir une malformation à volonté. Ces travaux qui sont restés peu nombreux ont connu une suite qui va se révéler capitale dans la mesure où elle se trouve à l'origine de l'embryologie expérimentale (33).



Hermann Fol
1845-1892

11

Les membres des tétrapodes



Introduction

**Présentation du système modèle, développement des membres des tétrapodes*

**Polarités proximo-distale, antéro-postérieure et dorso-ventrale, membre antérieur, membre postérieur*

12

Origine embryologique des membres



Les membres sont des dérivés mésodermique, de la lame latérale

Très tôt au cours du développement, apparaissent trois types généraux de tissus, les 'feuilles germinatifs' dont dériveront tous nos types cellulaires et nos tissus futurs:

L' **endoderme** (éndon; en *dedans*), l'**ectoderme** (Ektos; au *dehors*) et le **mésoderme** (mésos; *médian*)

ECTODERM	MESODERM	ENDODERM
<ul style="list-style-type: none"> • Epidermis of skin and its derivatives (including sweat glands, hair follicles) • Epithelial lining of mouth and anus • Cornea and lens of eye • Nervous system • Sensory receptors in epidermis • Adrenal medulla • Tooth enamel • Epithelium of pineal and pituitary glands 	<ul style="list-style-type: none"> • Notochord • Skeletal system • Muscular system • Muscular layer of stomach and intestine • Excretory system • Circulatory and lymphatic systems • Reproductive system (except germ cells) • Dermis of skin • Lining of body cavity • Adrenal cortex 	<ul style="list-style-type: none"> • Epithelial lining of digestive tract • Epithelial lining of respiratory system • Lining of urethra, urinary bladder, and reproductive system • Liver • Pancreas • Thymus • Thyroid and parathyroid glands

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

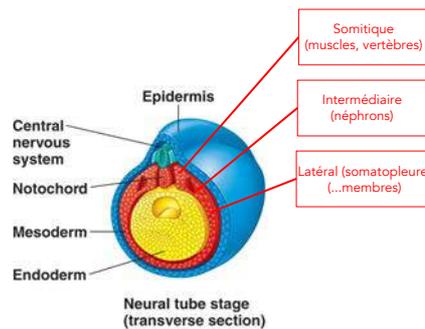
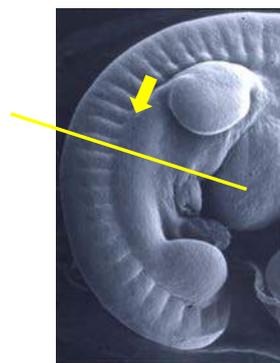
Campbell, 8^{ème} édition

13

Origine embryologique des membres



Les membres sont des dérivés mésodermique, de la lame latérale



Le développement précoce des embryons vertébrés consiste à organiser ces trois feuilletts embryonnaires avec la bonne géométrie. De là découlera la suite de l'organisation et de la morphogénèse des embryons

14

Positions et initiation des membres



Received 28 December 2016 | Revised 23 January 2017 | Accepted 23 January 2017
 DOI: 10.1002/dvdy.14144

REVIEW

Developmental Dynamics WILEY

Q1 Q2

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

Samantha R. Royle^{1,2} | Clifford J. Tabin¹ | John J. Young³



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

15

Initiation des membres



Received 28 December 2016 | Revised 23 January 2017 | Accepted 23 January 2017
 DOI: 10.1002/dvdy.14144

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. Young³

Les molécules clés:

Tbx4,5: (T-Box facteurs de transcription 4, 5), app 15 Tbx facteurs lient une T box TCACACCT et régulent la transcription de gènes cibles

Fgf8, Fgf10: Facteurs de croissance des fibroblastes (23 différents). Molécules de signalisation intercellulaire (ligands) qui lient 4 récepteurs différents (FGFR1-FGFR4). Effets multiples (division cellulaire...). Signalisation principalement par la voie Jak/Stat

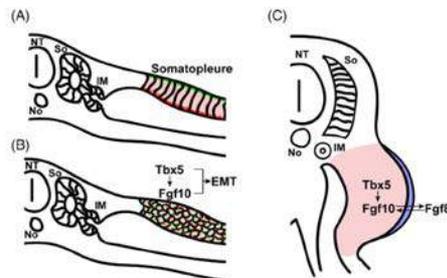
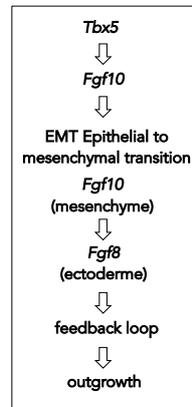


FIGURE 1 Schematic illustration of limb initiation in amniotes. A. The cells of the somatopleure are initially arranged in a regular, columnar, pattern with apical Actin (green) and basal Laminin (red). B. Tbx5 induces Fgf10 in the limb forming region which causes an epithelial to mesenchymal transition. Actin and Laminin lose their polarized expression patterns. C. Fgf10 in the mesenchyme induces Fgf8 in the ectoderm of the limb bud, setting up a feedback loop which leads to limb outgrowth. So, somite; IM, intermediate mesoderm; NT, neural tube; No, Notochord. Pink: Somatopleure, Blue: Ectoderm, Red: Actin, Green: Laminin. See text for references



16

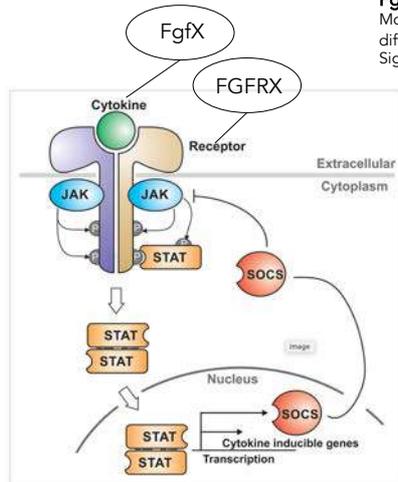
Initiation des membres (la voie du signal Jak/Stat)



PROTEIN SCIENCE

The molecular details of cytokine signaling via the JAK/STAT pathway

Rhannon Morris, Nadia J. Kershaw, Jeffrey J. Babon



Les molécules clés:

Tbx4,5: (T-Box facteurs de transcription 4, 5), app 15 Tbx facteurs lient une T box TCACACCT et régulent la transcription de gènes cibles

Fgf8, Fgf10: Facteurs de croissance des fibroblastes (23 différents). Molécules de signalisation intercellulaire (ligands) qui lient 4 récepteurs différents (FGFR1-FGFR4). Effets multiples (division cellulaire...). Signalisation principalement par la voie Jak/Stat

The JAK/STAT pathway. Schematic of the signaling cascade induced by cytokines that signal via the JAK/STAT pathway. Cytokine binds to a specific receptor and allows transactivation of the associated Janus Kinases (JAKs). Activated JAKs then phosphorylate tyrosines on the intracellular domains of the receptor which recruit the Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT) transcription factors. STATs are translocated into the nucleus and upregulate the transcription of cytokine-responsive genes. SOCS proteins are direct targets of STAT and act as negative-feedback inhibitors to switch off the signaling cascade.

Cytokine: Ligand, Fgf etc..
JAK: Kinase
STAT: Facteur de transcription
SOCS: Inhibiteurs de la voie

17

Initiation des membres (changer la forme des cellules)

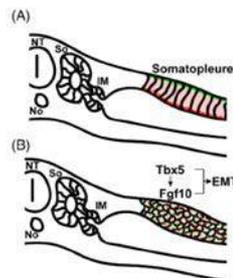


REVIEW

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

Samantha R. Boyle^{1,2}, Clifford J. Tabin^{1,2}, John J. Young¹

— Actin (apical)
— Laminin (basal)



Les molécules clés:

Tbx4,5: (T-Box facteurs de transcription 4, 5), app 15 Tbx facteurs lient une T box TCACACCT et régulent la transcription de gènes cibles

Fgf8, Fgf10: Facteurs de croissance des fibroblastes (23 différents). Molécules de signalisation intercellulaire (ligands) qui lient 4 récepteurs différents (FGFR1-FGFR4). Effets multiples (division cellulaire...). Signalisation principalement par la voie Jak/Stat

FIGURE 1 Schematic illustration of limb initiation in amniotes. A, The cells of the somatopleure are initially arranged in a regular, columnar, pattern with apical Actin (green) and basal Laminin (red). B, *Tbx5* induces *Fgf10* in the limb forming region which causes an epithelial to mesenchymal transition. Actin and Laminin lose their polarized expression patterns. C, *Fgf10* in the mesenchyme induces *Fgf8* in the ectoderm of the limb bud, setting up a feedback loop which leads to limb outgrowth. So, somite; IM, intermediate mesoderm; NT, neural tube; No, Notochord. Pink: Somatopleure, Blue: Ectoderm, Red: Actin, Green: Laminin. See text for references

- 1) Activation de *Tbx5*, qui lui-même active *Fgf10*
- 2) *Fgf10* induit une transformation épithélio-mésenchymateuse (EMT)
- 3) Activation de *Fgf8* dans l'ectoderme, formation de l'AER

18

Initiation des membres (formation de l'AER)



REVIEW

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

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

FIGURE 1 Schematic illustration of limb initiation in amniotes. A, The cells of the somatopleure are initially arranged in a regular, columnar, pattern with apical Actin (green) and basal Laminin (red). B, *Tbx5* induces *Fgf10* in the limb forming region which causes an epithelial to mesenchymal transition. Actin and Laminin lose their polarized expression patterns. C, *Fgf10* in the mesenchyme induces *Fgf8* in the ectoderm of the limb bud, setting up a feedback loop which leads to limb outgrowth. So, somite; IM, intermediate mesoderm; NT, neural tube; No, Notochord. Pink: Somatopleure, Blue: Ectoderm, Red: Actin, Green: Laminin. See text for references

The Apical Ectodermal Ridge: morphological aspects and signaling pathways.
M. Fernandez-Teran, M. A. Ros

Published in The International journal of developmental biology 2008

Poulet Souris

d v d v

AER: Epithélium pseudo-stratifié chez le poulet (pas vraiment chez la souris)

19

Initiation des membres



REVIEW

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

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

FIGURE 1 Schematic illustration of limb initiation in amniotes. A, The cells of the somatopleure are initially arranged in a regular, columnar, pattern with apical Actin (green) and basal Laminin (red). B, *Tbx5* induces *Fgf10* in the limb forming region which causes an epithelial to mesenchymal transition. Actin and Laminin lose their polarized expression patterns. C, *Fgf10* in the mesenchyme induces *Fgf8* in the ectoderm of the limb bud, setting up a feedback loop which leads to limb outgrowth. So, somite; IM, intermediate mesoderm; NT, neural tube; No, Notochord. Pink: Somatopleure, Blue: Ectoderm, Red: Actin, Green: Laminin. See text for references

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

Hybridation *in situ* avec des sondes simple-brin

control *Tbx5* *Tbx5* *Fgf8*

A B B' C

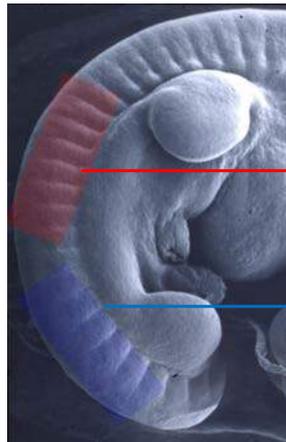
E9.0 E9.5 E9.5 E9.5

20

Positionnement des membres

Question: Quels gènes sont actifs de façon différentielle le long de l'axe corporel antéro-postérieur? (exprimés spécifiquement soit dans la partie antérieure, soit dans la partie postérieure)

Daan Noordermeer et al., 2011, 2014



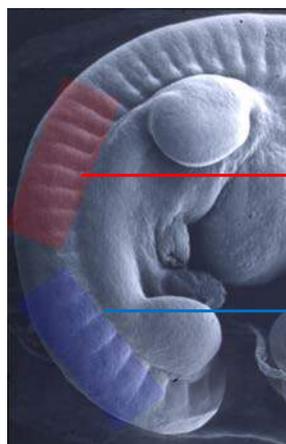
ARNs
 ↓
 Soustractions
 ↑
 ARNs

21

Positionnement des membres

Question: Quels gènes sont actifs de façon différentielle le long de l'axe corporel antéro-postérieur? (exprimés spécifiquement soit dans la partie antérieure, soit dans la partie postérieure)

Daan Noordermeer et al., 2011, 2014

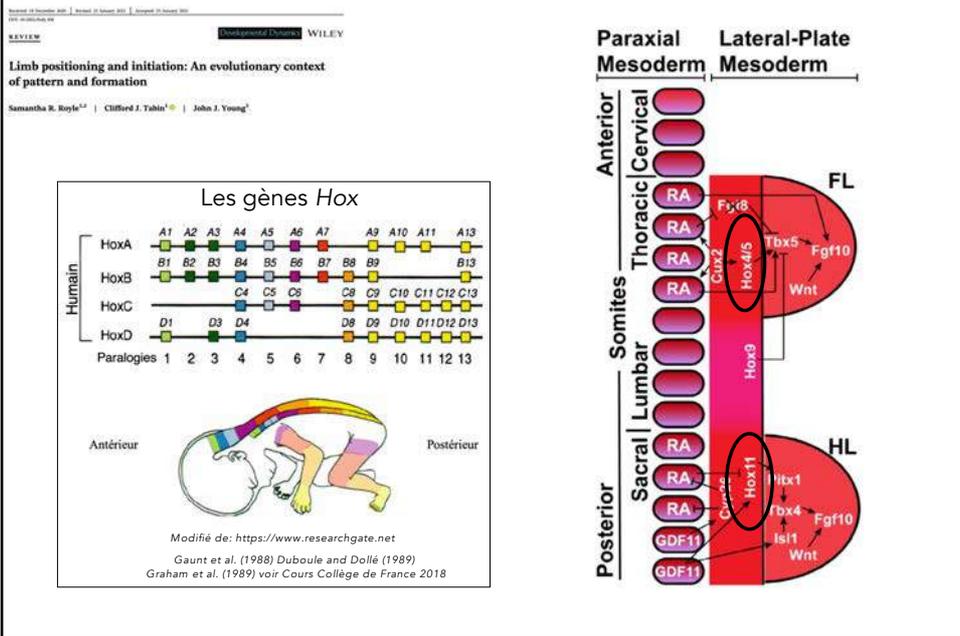


ARNs
 ↓
 Soustractions →
 ↑
 ARNs

Spécifique antérieur		Spécifique postérieur	
Anterior trunk vs. Forebrain (fold upregulation)		Posterior trunk vs. Anterior trunk (fold upregulation)	
<i>Hoxc8</i>	161.0	<i>Hoxd13</i>	30.6
<i>Hoxa9</i>	110.3	<i>Hoxd10</i>	22.6
<i>Hoxb3</i>	87.4	<i>Hoxd11</i>	15.8
<i>Hoxc5</i>	81.6	<i>Hoxc13</i>	12.3
<i>Hoxb7 / b8</i>	78.5	<i>Hoxa11</i>	10.6
<i>C1qtnf3</i>	75.9	<i>AK012157</i>	10.1
<i>Hoxc10</i>	53.5	<i>Hoxa10</i>	8.5
<i>Hoxc4</i>	51.0	T	8.0
<i>Hoxa5</i>	50.2	<i>Hoxc10</i>	6.4
<i>AK007148</i>	43.0	<i>Hoxb13</i>	6.4
<i>Actc1</i>	38.4	<i>Hoxa11as</i>	5.9
<i>Myf4</i>	33.5	<i>Olig1</i>	5.7
<i>Hoxb9</i>	33.2	<i>Olig2</i>	5.5
<i>Myh3</i>	32.1	<i>Tbx4</i>	4.8
<i>Myf1</i>	30.9	<i>Ilfm1</i>	4.3
<i>A1448005</i>	30.5	<i>Tbx6</i>	4.3
<i>Dmrt2</i>	27.6	<i>Tmem30b</i>	4.3
<i>Aldh1a2</i>	26.5	<i>Hoxd12</i>	3.6
<i>AK002860</i>	26.2	<i>Fgf17</i>	3.6
<i>Hoxb2</i>	25.9	<i>Sall4</i>	3.6

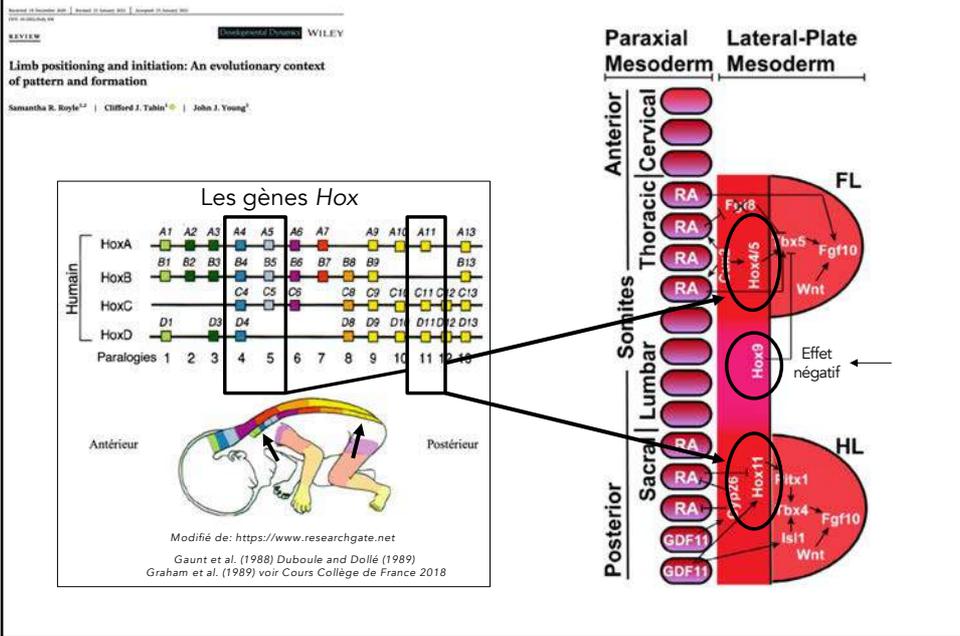
22

Gènes Hox et positionnement des membres



23

Gènes Hox et positionnement des membres



24

Gènes Hox et positionnement des membres

CURRENT BIOLOGY

Genet.Biol. 2019, Jan 7, 29(1): 35-40 e4.
doi: 10.1016/j.cub.2018.11.009

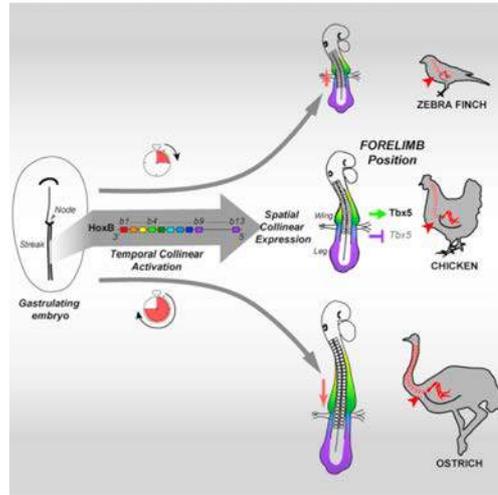
Timed Collinear Activation of Hox Genes during Gastrulation Controls the Avian Forelimb Position

Chloé Morneau^{1,2,3}, Paolo Castellani^{1,2,3}, Didier Roussancour^{1,2}, Julian Roussel^{1,2,4}, Nicolas Denaxa⁴, Olivier Prouzet⁴, and Jérôme Garcia^{1,2,3*}

*Transposition du niveau antéro-postérieur des membres suivant la vitesse d'activation des gènes Hox (et donc du niveau de la bonne combinaison)

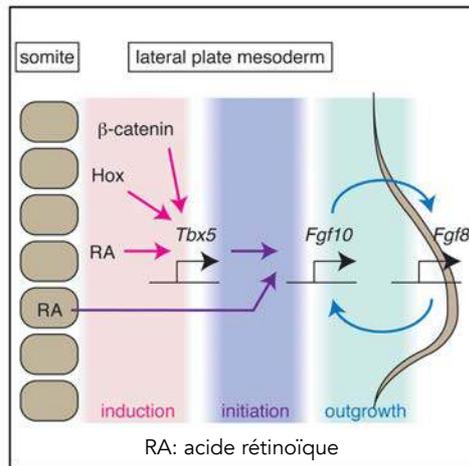
*Phénomène de 'tagmose' (voir cours du Collège de France 2017-2018)

Contraintes dans la position relative des membres dues à la distribution des morphologies le long de l'axe AP (ou l'inverse?)



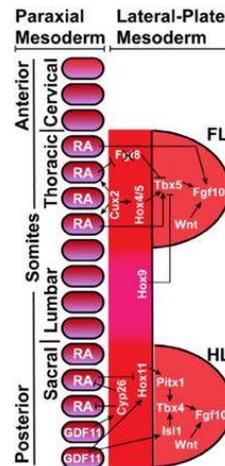
25

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



Wiley

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

Samantha K. Royle^{1,2}, Clifford J. Tabin^{1,2}, John J. Young¹

26

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

