

Embryologie cellulaire et moléculaire

M^{me} Nicole LE DOUARIN, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Les cours de cette année ont été délivrés à Paris et à l'étranger.

Le cours de six heures délivré à Paris a porté sur l'état de nos connaissances concernant la crête neurale et son rôle dans le développement et l'évolution des vertébrés.

Quatre heures d'enseignement ont été délivrées à l'Université de Genève, en association avec la Fondation Louis-Jeantet sur deux sujets :

- La neurulation chez les vertébrés Amniotes
- Les relations entre angiogenèse et hématopoïèse chez l'embryon des vertébrés

Au Portugal, à l'Instituto Gulbenkian de Ciência, une heure a été consacrée à l'organisation du primordium neural chez les vertébrés Amniotes.

Un séminaire, regroupant les Chaires d'Embryologie cellulaire et moléculaire et de Médecine expérimentale, s'est tenu durant deux jours en mars. Il portait sur le sujet suivant : Les endothélines dans le développement et en physiopathologie.

Le Professeur Mona NEMER, de l'Institut des Recherches Cliniques à l'Université de Montréal, a été invitée par le Collège de France pour deux conférences :

- Contrôle transcriptionnel de la cardiogenèse
- Mécanisme moléculaire de l'hypertrophie et du remodelage cardiaque.

INVITATION DE PROFESSEURS SUR UNE CHAIRE D'ÉTAT

Le Professeur Lewis WOLPERT, de l'University College à Londres, a donné une série de cours en décembre sur les sujets suivants :

- Evolution of development
- Is embryology dangerous ?
- Limb patterning and morphogenesis.

Le Professeur Mario CAPECCHI, de l'Howard Hughes Medical Institute à Salt Lake City, donnera quatre cours en octobre et novembre sur les sujets suivants :

- The evolution of gene targeting into the 21st Century
- The role of *Hox* genes in hindbrain development
- How *Hox* genes guide the formation of the axial and appendicular skeletons
- What are *Hox* genes doing in our adult body.

RÉSUMÉ DE L'ACTIVITÉ SCIENTIFIQUE

Les recherches effectuées au cours de l'année académique 1998-1999 par le groupe que je dirige sont la continuation des travaux exposés l'année précédente (voir Annuaire du Collège de France 1997-1998).

Les thèmes de recherche abordés sont les suivants :

- La crête neurale
- Le développement du système nerveux central étudié au moyen des chimères embryonnaires
- La neurulation chez les vertébrés Amniotes
- L'organisation et la différenciation du mésoderme
- Angiogenèse et hématopoïèse
- Les mécanismes de la tolérance vis-à-vis du soi
- Localisation chromosomique de divers gènes chez le poulet.

I. LA CRÊTE NEURALE

Chercheurs : M.-A. Teillet (DR2), G. Couly (Professeur de Chirurgie, chercheur associé), M. Catala (Professeur de Médecine, chercheur associé), C. Dulac (MdC Collège de France, *en détachement à Harvard University, MA, USA*), A. Eichmann (CR1), L. Lecoin (chercheur post-doc), A. Grapin-Botton (chercheur post-doc, 1990-1998), R. Lahav (chercheur post-doc, 1991-1996), A. Burns (chercheur post-doc, 1996-1998), H. Corbett-Etchevers (étudiante en thèse), S. Bennaceur (Chirurgien des hôpitaux, étudiant en thèse)

Ingénieurs de Recherche et Ingénieurs d'Étude : E. Dupin, C. Bréant, F. Lapointe, P. Vaigot, C. Ziller (*jusqu'en janvier 1999*).

ITA : M.-A. Bonnin, D. Champeval, C. Glavieux, C. Oudin (*jusqu'en janvier 1999*).

Collaborations extérieures : M. Bronner-Fraser et C. Baker (California Institute of Technology, Pasadena, USA), G. Gabella (University College, Londres), M. Yanagisawa (Howard Hughes Medical Institute, Dallas), M. Siewecke et T. Graf (EMBL, Heidelberg).

La crête neurale antérieure est nécessaire à la viabilité du prosencéphale

Après la fermeture du neuropore antérieur, le prosencéphale est rapidement recouvert de cellules mésenchymateuses qui ont une double origine : le mésoderme paraxial antérieur¹ qui fournit essentiellement l'endothélium vasculaire des vaisseaux méningés et la crête neurale (diencéphalique et mésencéphalique antérieure) qui est à l'origine des péricytes des vaisseaux méningés², du frontal, du pariétal et du derme correspondant. Nous avons constaté que l'excision totale de la crête neurale antérieure (r1 inclus) n'est pas suivie d'une régénération suffisante pour que le prosencéphale soit normalement recouvert par son enveloppe mésenchymateuse. Il en résulte que le neuroépithélium prosencéphalique est le site d'une mort cellulaire par apoptose qui élimine la formation du cerveau antérieur. Les deux yeux fusionnent et la partie la plus rostrale du cerveau est l'hypothalamus. La dégénérescence du prosencéphale étant antérieure de 36 à 50 heures au moment où se produit la vascularisation du cerveau, nous pensons qu'elle est due au manque d'un (de) facteur(s) trophique(s) produit(s) par le mésenchyme méningeal présomptif. Il apparaît donc que la crête neurale joue un rôle essentiel dans le développement du cerveau antérieur, rôle qui a sans doute été critique pour l'apparition de cette structure au cours de l'évolution.

Publication : Etchevers et al., sous presse.

Migration et participation à l'innervation entérique de la crête neurale lombo-sacrée

L'innervation intrinsèque de l'intestin a pour origine principale la crête neurale vagale (du niveau des somites 1 à 7)³. L'existence d'une contribution, plus faible, de la crête neurale du niveau sacré (postérieur au 28^e somite) a également été démontrée. Cependant, les modalités de migration et les types cellulaires qui en sont issus n'ont pas été clairement établis.

Afin de réexaminer ces questions, une analyse spatio-temporelle de la formation des plexus nerveux entériques a été conduite en réalisant des transplantations d'ébauche neurale des niveaux vagal et sacré entre embryons de caille et de poulet. Cette étude a permis d'une part de montrer que la colonisation proximodistale de l'intestin par les cellules de la crête neurale vagale s'effectue de façon différente dans les régions pré- et post-ombilicales.

1. Couly, G., Coltey, M., Eichmann, A. and Le Douarin, N.M. (1995). *Mech. Dev.* 53, 97-112.

2. Couly, G., Coltey, M. and Le Douarin, N.M. (1993). *Development* 117, 409-429.

3. Le Douarin, N.M. and Teillet, M.-A. (1973). *J. Embryol. Exp. Morphol.* 30, 31-48.

D'autre part, nous montrons que les cellules de la crête neurale sacrée forment d'abord le nerf de Remak puis, plus tard, pénètrent le colo-rectum selon un gradient distal-proximal pour y coloniser d'abord le plexus myentérique, puis les ganglions sous-muqueux. Il apparaît de plus que les cellules de la crête neurale sacrée sont capables de former à la fois des cellules gliales et des neurones entériques.

Publication : Burns et Le Douarin, 1998.

II. LA NEURULATION CHEZ LES VERTÉBRÉS AMNIOTES

Chercheurs : M.-A. Teillet (DR2), M. Catala (Professeur de Médecine, chercheur associé), J.-B. Charrier (Interne des hôpitaux, étudiant en thèse)

Ingénieur d'étude : F. Lapointe

ITA : M.-F. Hallais, B. Schuler

Collaborations extérieures : Pr. E. De Robertis (Université de Californie), N. Gonatas (Université de Pennsylvanie).

Caractéristiques moléculaires et fonctionnelles du nœud de Hensen (HN)

Les excisions du HN (réalisées au stade de 6 somites et limitées à la région de la dépression médiane), laissent en place un fragment caudal du HN capable d'effectuer un mouvement de régression et de fournir un fragment caudal de FP et de notocorde. Nous avons cherché à obtenir un tube nerveux caudal totalement privé de cellules de la ligne médiane. Nous avons obtenu ce résultat en effectuant l'une ou l'autre des opérations suivantes :

- 1) excision totale du nœud, prolongée en arrière de la dépression médiane jusqu'à la limite rostrale de la ligne primitive ;
- 2) excision profonde de la région caudale à la dépression médiane comprenant la partie caudale du HN et l'extrémité rostrale de la ligne primitive.

Dans les deux cas, la notocorde s'arrête dans la région thoracique sous la forme d'une massue indiquant une prolifération cellulaire sur place. La FP et la notocorde sont totalement absentes au-delà de cette région.

Il existe donc caudalement par rapport à la dépression médiane une partie du HN essentielle à son mouvement rostro-caudal.

— Nous avons examiné la région du sinus rhomboïdal d'un point de vue moléculaire en utilisant diverses sondes spécifiques des tissus nerveux présomptifs (*Sox2*⁴) et des tissus mésodermiques axiaux et paraxiaux (respectivement *HNF3β*⁵ et *Tbx-6L*⁶). Des cellules du HN exprimant *HNF3β* existent caudalement par

4. Rex *et al.* (1997). *Dev. Dyn.* 209, 323-332.

5. Ruiz i Altaba *et al.* (1995). *Dev. Biol.* 170, 299-313.

6. Knezevic *et al.* (1997). *Development* 124, 411-419.

rapport à la dépression médiane, sous la plaque neurale médiane exprimant *Sox2*, où elles sont en contact avec la partie rostrale de la ligne primitive qui contient des transcrits de *Tbx-6L*⁶.

— Nous avons remplacé cette région caudale du HN par son équivalent caille : elle fournit des cellules des plaques basales du tube nerveux dans la région thoraco-lombaire, quelques cellules de la FP proches de la CNH ainsi que des cellules de la CNH et enfin des cellules somitiques médianes depuis la région thoraco-lombaire jusqu'à la région caudale. La nature de ces dérivés confirme le fait que cette région correspond à la zone frontière entre le mésoderme axial et le mésoderme paraxial surmonté, au stade de l'opération, d'un fragment de plaque neurale.

— Dans une autre série expérimentale, nous avons remplacé ce territoire par un volume équivalent du HN rostral ou moyen. Nous avons obtenu alors un arrêt de la progression rostro-caudale des cellules de la ligne médiane donc un arrêt du HN.

En conclusion, la région caudale du nœud de Hensen, proche de la ligne primitive, est indispensable au recul du nœud et à la mise en place des cellules de la ligne médiane. Elle n'est pas remplaçable dans cette fonction par une partie plus rostrale du nœud de Hensen.

Publication : Charrier et al., 1999, sous presse.

III. L'ORGANISATION ET LA DIFFÉRENCIATION DU MÉSODERME

Chercheurs : M.-A. Teillet (DR2), A.-H. Monsoro-Burq (MdC, Collège de France), D. Duprez (CR2), I. Palmeirim (ATER, Collège de France), F. Edom-Vovard (chercheur post-doc, ARC), J.-B. Charrier (Interne des hôpitaux, étudiant en thèse), M.-C. Delfini (étudiante en DEA)

Ingénieur d'Étude : F. Lapointe

ITA : M.-A. Bonnin, M. Bontoux, C. Vincent, C. Oudin (*jusqu'en janvier 1999*).

Collaborations extérieures : P. Francis-West (Guy's Hospital, Londres), P. Brickell (UCL, Londres), M. Tessier-Lavigne (Université de Californie, Los Angeles), Pr. E. De Robertis (Université de Californie, Los Angeles), L. Leyns (Université de Californie, Los Angeles), L. Puelles (Université de Murcia, Espagne), T. Brand (Institute for Biochemistry and Biology, TU Braunschweig), L. Robson (St Barthelemy and the Royal London School of Medicine and Dentistry, London), G. Cossu (Universita di Roma La Sapienza, Rome), M. Vigny (INSERM U440, Paris).

Étude du rôle de SHH dans la mise en place des muscles périphériques

Il a été démontré par l'utilisation du système des chimères Caille-Poulet, que l'information contrôlant la mise en place des muscles est régie par le mésenchyme

du bourgeon d'aile et non par les cellules musculaires elles-mêmes. Nous avons analysé le phénotype musculaire (niveau tissulaire) après greffes de cellules produisant la protéine SHH, dans les régions antérieures du bourgeon d'aile. Nous avons trouvé qu'une source locale de SHH dans les régions antérieures du bourgeon d'aile, capable de donner une duplication complète au niveau des doigts (cartilage), transforme les muscles antérieurs en muscles postérieurs au niveau de l'avant-bras.

Les mécanismes régissant la diversité des différents types de fibres sont toujours mal connus. Certains travaux suggèrent que l'information contrôlant la diversité des fibres musculaires est intrinsèque aux cellules musculaires elles-mêmes⁷ alors que d'autres tendent à montrer que l'information résiderait en dehors des cellules musculaires⁸. Les chaînes lourdes de la myosine de type lent (dès que l'on peut les détecter avec des anticorps) paraissent être régionalisées au sein des masses musculaires. Nous avons utilisé l'anticorps Na8 qui reconnaît deux isoformes lentes (SM2 et SM3) des chaînes lourdes de la myosine⁹. Vers E5, les fibres lentes sont localisées postérieurement au niveau des masses musculaires dorsales, avant que le processus de clivage n'ait commencé. Après respecification avec SHH on peut observer une disposition symétrique des fibres lentes. Ceci montre que l'application ectopique de SHH peut respecifier la disposition des fibres lentes avant que le processus de clivage des masses musculaires n'ait commencé.

Publication : Duprez et al., 1999

IV. ANGIOGENÈSE ET HÉMATOPOÏÈSE

Chercheurs : C. Corbel (DR2 INSERM), A. Eichmann (CR1), L. Yuan (étudiant en Thèse)

Ingénieurs de Recherche et Ingénieurs d'Études : P. Vaigot, C. Bréant

ITA : A. Lehmann

Collaborations extérieures : L'équipe du Pr. K. Alitalo (Hartmann Institute, Helsinki), B. Imhof et C. Ody (Centre Médical Universitaire Genève), C. Marcelle (California Institute of Technology), P. Quéré (INRA, Nouzilly), F. Cormier (Institut Curie, Orsay), J. Wilting, B. Christ (Université Freiburg).

Expression de l'antigène de classe II du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) par les progéniteurs des lymphocytes T et des cellules myéloïdes aviaires

Dans la moelle osseuse embryonnaire, les progéniteurs des cellules T sont présents dans la population de cellules qui expriment *c-kit*. Nous avons recherché

7. DiMario *et al.* (1993). *Nature* 362, 165-167 ; Van Swearingen and Lance-Jones (1995). *Dev. Biol.* 170, 321-337.

8. Butler *et al.* (1988). *Development* 102, 763-772.

9. Bourke *et al.* (1995). *BAM* 1, 43-56.

si ces progéniteurs hématopoïétiques expriment les molécules de classe II du CMH. Des expériences *in vivo* de transfert cellulaire intrathymique ont été réalisées pour identifier les progéniteurs T dans les populations c-kit⁺CMH Classe II⁺ et c-kit⁺CMH Classe II. Les progéniteurs T sont restreints aux cellules c-kit⁺CMH Classe II⁺, avec une fréquence de 1 progéniteur pour 4 cellules doublement positives. Cependant, des expériences *in vitro* en cultures clonales montrent que les progéniteurs myéloïdes qui se différencient en monocytes, macrophages et granulocytes sont présents dans les 2 populations, exprimant ou non les molécules de Classe II du CMH. Les progéniteurs érythroïdes, ne sont présents que dans la population cellulaire c-kit⁺CMH Classe II. Par ailleurs, les cellules de la population double positive sont fortement marquées par le colorant supravital rhodamine 123 (rho 123), témoignant d'une forte activité mitotique, critère reconnu pour les progéniteurs hématopoïétiques primitifs (non engagés dans un lignage donné).

Bien que d'autres marqueurs doivent être utilisés pour préciser le phénotype des progéniteurs T, ces résultats montrent que les cellules qui expriment conjointement *c-kit* et un domaine non polymorphe de la chaîne β du CMH de Classe II sont des progéniteurs unipotents, restreints au lignage T, et/ou mixtes, lignages T et myéloïde.

Publication en préparation.

Clonage d'un membre de la famille des pim sérine-thréonine kinases chez la caille et analyse d'expression

Nous avons cloné, chez la caille, un nouveau cDNA, *qpim*, montrant une forte homologie avec la famille des Pim sérine-thréonine kinases. Le premier gène de cette famille à être identifié était le gène *pim-1*. Ce gène est connu depuis près de vingt ans comme un oncogène provoquant des leucémies chez la souris (pim-provirus integration of murine moloney leukemia virus)¹⁰. Son patron d'expression suggérait d'abord un rôle dans le développement des cellules hématopoïétiques. Cependant, son inactivation par recombinaison homologue n'a pas montré de phénotype important au sein de ce compartiment¹¹. Plus récemment, deux autres gènes *pim*, *pim-2* et *pim-3*, ont été clonés chez les mammifères¹².

Qpim montre le plus d'homologie avec *pim-3* de rat. Nous avons comparé les patrons d'expression de *qpim* chez la caille avec l'expression des gènes *pim-1*, 2 et 3 chez la souris. Il s'avère qu'aucun des trois gènes *pim* chez la souris ne montre un patron d'expression correspondant à celui de *qpim*. Il est donc possible que ce gène représente un quatrième membre de cette famille. Les gènes *pim-1*, 2 et 3 chez la souris ont des patrons d'expression complexes et se recouvrent

10. Cuypers *et al.* (1984). *Cell* 37, 141-150.

11. Laird *et al.* (1993). *Nucleic Acid Res.* 21, 4750-4755.

12. Van der Lugt *et al.* (1995). *EMBO J.* 14, 2536-2544 ; Feldman *et al.* (1998). *J. Biol. Chem.* 273, 16535-16543.

partiellement durant le développement embryonnaire. L'absence d'un gène *pim* pourrait donc être compensée par un autre membre de cette famille. Cependant, les gènes *pim* ont des sites d'expression importants en dehors du compartiment hématopoïétique, notamment dans le système nerveux.

Publication : Eichmann et al., soumis.

V. MÉCANISMES DE LA TOLÉRANCE VIS-À-VIS DU SOI

Chercheurs : J. Salaün (DR2), I. Barbosa (chercheur post-doctoral, *mars 1997-mars 1998*)

Ingénieur de Recherche : P. Vaigot

ITA : P. Belo-Diabangouaya

Collaborations extérieures : A. Bandeira, Y. Modigliani, R. Araujo, O. Annacker (Institut Pasteur, Paris), A. Coutinho (Instituto Gulbenkian de Ciencia, Portugal), D. Damotte (Hôpital Necker, Paris), R. Fucs (Instituto de Biologica, Niteroi, Brésil), M.F. Saron (Institut Pasteur, Paris), V. Thomas-Vaslin (CERVI, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris)

Implication de l'épithélium thymique et des cellules hématopoïétiques dans la sélection positive conduisant à la restriction au CMH des lymphocytes T

Notre modèle expérimental offre également la possibilité d'étudier le problème de la nature des cellules stromales thymiques responsables de la restriction des lymphocytes T au CMH. Nous suivons *in vivo* la réponse de souris chimères à une infection intracérébrale par le virus de la chorioméningite lymphocytaire (CML). En effet, chez des souris normales infectées par ce virus, les peptides viraux présentés en association avec les molécules du CMH sur les méninges sont la cible des cellules T cytotoxiques CD8⁺ ce qui entraîne la mort par méningite 7 à 9 jours après l'infection. Des souris nude BALB/c (H-2^d) ont été restaurées avec des EpT d'embryons C3H (H-2^k), BALB/c ou F1 (BALB/c x C3H) et ont été infectées par voie intracérébrale par le virus de la CML. Les souris chimères restaurées par des greffes d'EpT allogéniques survivent à l'infection intracérébrale. Ceci suggère que les cellules hématopoïétiques de l'hôte qui colonisent l'EpT ne permettent pas un recrutement suffisant de cellules T CD8⁺ pour induire une méningite fatale. Au contraire les souris restaurées par des EpT syngéniques ou semi-allogéniques meurent de méningite. Ainsi, l'haplotype BALB/c introduit dans l'EpT à l'état hétérozygote suffit à induire la restriction des lymphocytes T CD8⁺, indiquant un rôle des cellules de l'EpT dans la restriction des lymphocytes T. Ces souris cependant présentent des infiltrations lymphocytaires sporadiques et faibles lors de l'examen des coupes histologiques des cerveaux. Ce résultat suggère qu'il existe tout de même chez ces souris une certaine restriction vis-à-vis du CMH de l'hôte probablement médiée par les cellules dendritiques du thymus.

Cette hypothèse a pu être confirmée par le test d'hypersensibilité retardée réalisé dans les coussinets plantaires des animaux.

Une sélection conjointe sur les cellules épithéliales et hématopoïétiques de même haplotype semble nécessaire pour sélectionner de façon optimale les lymphocytes T et permettre leur restriction.

Ce travail fait l'objet d'une publication actuellement soumise.

Étude de la dynamique des cellules T dérivées des précurseurs hématopoïétiques précoces

Chez la souris, la colonisation de l'ébauche thymique par les précurseurs hématopoïétiques, commence au 11^e jour de la gestation.

Les travaux de Sakagushi *et al.*¹³ ont montré que la thymectomie néonatale provoque chez la souris, des réactions autoimmunes pouvant être évitées par l'injection de cellules T de souris normales adultes. La thymectomie précoce s'accompagne de plus de la modification de la dynamique de la population T présente à la périphérie à cet âge, avec une forte expansion de cette population.

La greffe de thymus prélevés sur des fœtus au 14^e jour de la gestation, à des souris nude, permet d'étudier les potentialités d'expansion de cette population particulière de cellules T, dans des conditions syngéniques et allogéniques.

Nous avons greffé des thymus d'embryons de 14 et 17 jours et de nouveau-nés de la souche C57BL/6 B.A., dont les lymphocytes T expriment le marqueur Thy1.1, à des souris nude des souches BALB/c et C57BL/6. L'émigration à la périphérie et la persistance des cellules du donneur sont suivies par le marquage des lymphocytes Thy1.1 et Thy1.2, à différents temps après la greffe.

Nous avons observé que les cellules T issues du donneur émigrent hors du thymus et sont remplacées par les cellules de l'hôte en moins de 4 semaines après la greffe du thymus. La proportion des cellules T du donneur persistant à la périphérie varie en raison inverse de l'âge du donneur. Ces résultats mettent en relief la différence qualitative des lymphocytes issus des différentes vagues de précurseurs colonisant le thymus (Le Douarin *et al.*, 1996).

Pour étudier les potentialités d'expansion des cellules issues des lymphocytes fœtaux en absence des cellules de type adulte, nous avons prélevé le thymus greffé avant le 21^e jour après la greffe du thymus afin de permettre la restauration de la souris nude par les lymphocytes issus du donneur et de limiter le nombre de cellules issues du receveur. Nous avons constaté que le pourcentage des cellules du donneur se maintient dans le cas où les cellules Thy-1.1 représentent plus de 94 % des lymphocytes T sanguins au moment de la thymectomie, mais

13. Sakagushi *et al.* (1982). *J. Exp. Med.* 156, 1577-1586 ; Sakagushi *et al.* (1985). *J. Exp. Med.* 161, 72-87.

que dans les cas où cette population est inférieure à 80 % le pourcentage diminue rapidement.

Ces résultats mettent en évidence les capacités d'expansion des cellules de type fœtal et montrent également que cette expansion ne peut se faire qu'en absence des cellules de type adulte. L'établissement d'éventuelles maladies auto-immunes dans les animaux dont les lymphocytes périphériques sont majoritairement de type fœtal est actuellement en cours.

Publication en préparation.

VI. LOCALISATION CHROMOSOMIQUE DE DIVERS GÈNES CHEZ LE POULET

Chercheurs : K. Ladjali-Mohammedi (chercheur post-doc), L. Lecoin (chercheur post-doc), A. Grapin-Botton (chercheur post-doc, 1990-1998)

Collaborations extérieures : C. Ayer-Le Lièvre (DR2, Université de Limoges), M. Leibovici (CR2, Institut Pasteur), M. Tixier-Boichard (INRA, Jouy-en-Josas), D. Gourichon (INRA, Nouzilly), P. Voisin (CNRS UMR 6558, Poitiers), P. Remy (CNRS UPR 9005, MMDCD, Strasbourg), Pr. J.J. Bitgood (University of Wisconsin-Madison), Pr. F.A. Ponce De Leon (Department of Veterinary and Animals Sciences, University of Minnesota).

Le poulet est un modèle de choix pour l'étude des génomes aviaires car c'est chez cette espèce que l'identification des chromosomes est la plus avancée. Le caryotype du poulet (*Gallus domesticus*) est constitué de 38 paires de chromosomes autosomes et des chromosomes sexuels Z et W. La femelle représente le sexe hétérogamétique. Une nomenclature standard internationale a été établie pour les 8 premières paires chromosomiques et les chromosomes sexuels (Ladjali *et al.*, sous presse). Les premières paires de microchromosomes ont été identifiées jusqu'à la 15^e paire grâce à la technique de double synchronisation par de la thymidine¹⁴. Les microchromosomes dont les tailles varient entre 7 et 23 M bases représentent le quart du génome de poulet.

La cartographie de séquences codant pour des gènes connus est intéressante à plusieurs égards. En effet, il est indispensable de connaître la position d'un gène biologiquement important, dont les mutations pourraient entraîner l'apparition de pathologies ou de malformations. Nous disposons dans notre Institut de gènes de poulet appartenant à plusieurs superfamilles : les gènes *Hox*, les gènes récepteurs aux odorants, les gènes récepteurs de l'endothéline (A, B et B2) et les gènes récepteurs tyrosine kinase (RTK).

1. Les gènes à homéoboîte

De nombreux gènes à homéoboîte clonés chez le poulet sont étudiés au laboratoire. Par contre, il n'existait pas de travaux réalisés sur les chromosomes

14. Ladjali, K., Tixier-Boichard, M. and Cubin, E.P. (1995). *J. Hered.* 86, 136-139.

des oiseaux susceptibles de fournir des informations sur la distribution de ces gènes dans le génome. L'existence de liens physiques entre ces gènes, déjà démontrée sur les chromosomes des mammifères, est un élément précieux pour la compréhension de l'évolution de ces gènes chez les oiseaux.

Nos résultats de localisation montrent que ces gènes sont distribués chez le poulet de la même façon que chez les autres espèces. Nous avons pu démontrer l'existence de liens physiques entre les gènes *Hox* appartenant au même groupe. En effet, le groupe A a été localisé sur le chromosome 2 du poulet, le B sur le chromosome 3, le C sur le chromosome 1 et le D sur le chromosome 7. Ainsi de nouvelles régions de conservation génétique entre l'homme et le poulet ont été établies.

Publication en préparation.

2. Les gènes des récepteurs aux odorants

Les gènes des récepteurs aux odeurs appartiennent à la super famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires liés aux protéines G. De même que le nombre de molécules odorantes susceptibles d'être reconnues est élevé, la diversité des récepteurs aux odorants paraît exceptionnelle. Le nombre de gènes serait de l'ordre du millier chez des espèces macrosmates comme le rat et la souris, il dépasserait la centaine chez des espèces à l'odorat moins développées telles que l'homme¹⁵, le poulet¹⁶ ou le poisson chat¹⁷. L'un des problèmes qui se pose actuellement au sujet de cette famille multigénique concerne le choix d'exprimer un (ou quelques) récepteurs que doit effectuer le neurone olfactif lors de sa différenciation. A cet égard, l'existence de liens physiques entre ces gènes ainsi que leur localisation dans le génome sont importants. L'existence de clusters de gènes de même sous-famille (ayant une haute homologie) ou de sous-familles différentes a été reconnue chez l'homme et le poulet¹⁸. Des liens physiques entre les gènes de récepteurs ont été mentionnés chez le poisson chat et diverses espèces¹⁹.

La détection chromosomique des gènes des récepteurs aux odeurs a été effectuée essentiellement chez l'homme²⁰. Certains des récepteurs aux odeurs ont été localisés sur le bras long du chromosome 3 et sur le bras court du chromosome 17. Dans ce dernier cas la cartographie de 16 gènes a été effectuée. Toutefois, ils ne représentent qu'une partie du répertoire, ce qui indique que d'autres chromosomes porteraient aussi certains de ces gènes. Chez la souris, le gène de

15. Lancet et Ben Arie (1993). *Curr. Biol.* 3, 668-674.

16. Leibovici, M., Lapointe, F., Aletta, P. and Ayer-Le Lièvre, C. (1996). *Dev. Biol.* 175, 118-131.

17. Ngai *et al.* (1993). *Cell* 72, 657-666.

18. Nef *et al.* (1994). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8948-8952.

19. Vassar *et al.* (1993). *Cell* 74, 309-318.

20. Schurmans *et al.* (1993). *Cytogenet. Cell Genet.* 6, 200-204.

récepteurs aux odeurs numéro 17 est porté par le chromosome 7 où il serait lié physiquement à des récepteurs d'autres sous-familles²¹.

Chez le poulet, nous disposons actuellement de 4 gènes de récepteurs aux odeurs complètement séquencés représentant 3 sous-familles (COR2, COR3 et COR4), soit au moins 11 gènes distincts. Nous avons essayé de savoir dans quelle mesure ces gènes et leurs liaisons physiques avaient pu être conservés dans d'autres espèces aviaires. Nous avons ainsi pu mettre en évidence l'existence de gènes orthologues chez la caille et le canard.

Nos résultats récents de localisation des récepteurs aux odeurs sur les chromosomes du poulet montrent que ces gènes sont distribués sur plusieurs chromosomes (7 régions chromosomiques différentes). La liaison physique déjà établie par Leibovici *et al.* (1996) pour les gènes *COR2* et *COR4* a ainsi pu être confirmée puisque plusieurs membres de ces gènes ont été localisés sur les mêmes régions chromosomiques.

Publication en préparation.

3. Le gène *fli*

C'est un proto-oncogène impliqué dans le développement des cellules endothéliales et hématopoïétiques qui, lorsqu'il est l'objet de mutations, provoque l'apparition de l'érythroblastome et du sarcome d'Ewing. L'homologue humain de ce gène a été localisé sur le chromosome 11. Ce gène a été localisé sur le chromosome 1 du poulet et ainsi, nous avons établi une nouvelle région de conservation entre le chromosome 11 humain et le chromosome 1 du poulet. Nos résultats sur la localisation des gènes *Hox* montrent que le groupe C se trouve sur la même région chromosomique que le gène *fli* (1q3.1). Par ailleurs, des études réalisées sur des chromosomes de cellules tumorales humaines montrent que les régions de translocation correspondent exactement au site d'insertion des gènes *Hox*²². ***Ce qui laisserait penser que la proximité entre ces deux types de gènes serait propice au développement tumoral.***

Publication : Mager et al., 1998.

4. Le gène *HIOMT*

La Hydroxyindole-O-méthyltransferase (HIOMT) est une enzyme qui catalyse les étapes finales de la synthèse de la mélatonine. L'homologue humain de ce gène a été localisé sur le chromosome X, et il nous a donc paru intéressant de savoir si ce gène était aussi lié au sexe chez les oiseaux. Il a été localisé sur le chromosome 1 du poulet et ainsi, ce résultat confirme certaines données déjà

21. Chess *et al.* (1994). *Cell* 78, 823-834.

22. Apiou *et al.* (1996). *Cytogenet. Cell Genet.* 73, 114-115.

établies sur les gènes liés au sexe chez les mammifères qui sont localisés sur des chromosomes autosomes chez le poulet et vice-versa.

Publication : Grechez-Gassiau et al., 1998.

5. Les récepteurs de l'endothéline

Les récepteurs de l'endothéline (A, B et B2) ont été clonés chez la caille et le poulet dans notre laboratoire (Nataf *et al.*, 1996 ; Lecoin *et al.*, 1998 ; Nataf *et al.*, 1998), ils sont impliqués dans le développement des cellules de la crête neurale. Aucune donnée concernant leur distribution dans les génomes aviaires n'existait avant le début de ce travail. Le récepteur de l'endothéline B a été localisé sur le chromosome 13 humain²³.

Nous avons localisé les récepteurs de l'endothéline A sur le bras long du chromosome 4 du poulet et le récepteur B2 sur le bras court. L'homologue humain du récepteur A a été localisé sur le chromosome 4. Il n'existe pas pour l'instant de récepteur B2 chez l'homme. Toutefois, le chromosome 4 humain présente de nombreuses régions de conservation avec le chromosome 4 du poulet, ce qui nous laisserait penser que peut-être l'homologue humain du récepteur B2 (s'il existe ?) serait sur le même chromosome.

Il reste actuellement à préciser la localisation du récepteur de l'endothéline B.

Nous cherchons à déterminer si ces gènes sont localisés sur des régions chromosomiques correspondant aux différentes mutations affectant la pigmentation chez les oiseaux.

Publication en cours de préparation.

Les publications parues en 1998 et dont le contenu n'est pas analysé ci-dessus correspondent à des travaux déjà décrits dans le rapport fourni pour l'année académique précédente (1997-1998).

LISTE DES PUBLICATIONS

1998

AITKENHEAD, M., CHRIST, B., EICHMANN, A., FEUCHT, M., WILSON, D.J. and WILTING, J. (1998). Paracrine and autocrine regulation of vascular endothelial growth factor during tissue differentiation in the quail. *Dev. Dyn.*, 212, 1-13.

BURNS, A. and LE DOUARIN, N.M. (1998). The sacral neural crest contributes neurons and glia to the postumbilical gut : spatiotemporal analysis of the development of the enteric nervous system. *Development*, 125, 4335-4347.

CORBEL, C. (1998). Development of the hemopoietic stem cells in the avian embryo. In « Cell Technology ». A. Miyajima and M. Satake eds., 17, 1722-1726.

23. Puffenberger *et al.* (1994). *Hum. Mol. Genet.* 3, 1217-1225.

COULY, G., GRAPIN-BOTTON, A., COLTEY, P., RUHIN, B. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Determination of the identity of the derivatives of the cephalic neural crest : incompatibility between Hox-gene expression and lower jaw development. *Development*, 125, 3445-3459.

DREYFUS, J., DE CARVALHO, N., DUPREZ, D., RAULAIS, M. and VIGNY, M. (1998). HB-GAM/Pleiotrophin : Localisation of mRNA and protein in the chicken developing leg. *Int. J. Dev. Biol.*, 42, 189-198.

DREYFUS, J., DE CARVALHO, N., DUPREZ, D., RAULAIS, M. and VIGNY, M. (1998). HB-GAM/Pleiotrophin but not RIHB/Midkine enhances chondrogenesis in micromass culture. *Exp. Cell. Res.*, 241, 171-180.

DUPIN, E., ZILLER, C. and LE DOUARIN, N.M. (1998). The avian embryo as a model in developmental studies : chimeras and *in vitro* clonal analysis. In « Cellular and molecular procedure in developmental biology ». *Curr. Top. Dev. Biol.*, 36, 1-35.

DUPREZ, D., FOURNIER-THIBAUT, C. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Sonic Hedgehog induces proliferation of committed skeletal muscle cells in the chick limb. *Development*, 125, 495-505.

EICHMANN, A., CORBEL, C., JAFFREDO, T., BRÉANT, C., JOUKOV, V., KUMAR, V., ALITALO, K. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Avian VEGF-C : cloning, embryonic expression pattern and stimulation of the differentiation of VEGFR2 expressing endothelial cell precursors. *Development*, 125, 743-752.

GRAPIN-BOTTON, A., BONNIN, M.-A., SIEWEKE, M. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Defined concentrations of a *posteriorizing* signal are critical for *Mafb/Kreisler* segmental expression in the hindbrain. *Development*, 125, 1173-1181.

GRECHEZ-GASSIAU, A., BERNARD, M., LADJALI, K., RODRIGUEZ, I.-R. and VOISIN, P. (1998). Structural analysis of the chicken hydroxyindole-O-methyltransferase gene. *Eur. J. Biochem.*, 258, 44-52.

JAFFREDO, T., GAUTIER, R., EICHMANN, A., and DIETERLEN-LIÈVRE, F. (1998). Intraaortic hemopoietic cells are derived from endothelial cells during ontogeny. *Development*, 125, 4575-4583.

KOO, S.J., CLARK-ALDERFER, J.D., TANAKA, H., TEILLET, M.-A., SCHULER, B., LE DOUARIN, N.M. and CONRAD, G.W. (1998). Species-specific immunostaining of embryonic corneal nerves : techniques for inactivating endogenous peroxidases and demonstration of lateral diffusion of antibodies in the plane of the corneal stroma. *J. Neurosci. Meth.*, 85, 63-71.

LAHAV, R., DUPIN, E., LECOIN, L., GLAVIEUX, C., CHAMPEVAL, D., ZILLER, C. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Endothelin 3 selectively promotes survival and proliferation of neural crest-derived glial and melanocytic precursors *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 14214-14219.

LE DOUARIN, N.M. (1998). Chimères embryonnaires. Que sont-elles ? A quoi servent-elles ? In « Corps, art et société, chimères et utopies » Lydie Pearl ed. Nouvelles études anthropologiques, *l'Harmattan*, pp. 95-109.

LE DOUARIN, N.M. (1998). Embryologie Cellulaire et Moléculaire. Annuaire du Collège de France 1997-1998. Résumé des Cours et Travaux. 98^e année. Paris.

LE DOUARIN, N.M. (1998). Les chimères de caille et de poulet pour étudier l'embryogenèse. *Pour la Science n° 252*, 48-54.

LE DOUARIN, N.M. (1998). Problèmes éthiques liés aux progrès de la biologie du développement. *C.R. Soc. Biol.*, 192, 859-882.

LE DOUARIN, N.M., TEILLET, M.-A. and CATALA, M. (1998). Neurulation in amniote vertebrates : a novel view deduced from the use of quail-chick chimeras. *Int. J. Dev Biol.*, special issue 1998, 42, 909-916.

LECOIN, L., LAHAV, R., DUPIN, E. and LE DOUARIN, N. (1998). Development of melanocytes from neural crest progenitors. In « Molecular Basis of Epithelial Appendage », *Cheng Ming Chuong, Ed.*, R.G. Landes Company, Georgetown TX USA, chap. 8, pp. 131-154.

LECOIN, L., SAKURAI, T., NGO, M.-T., ABE, Y., YANAGISAWA, M. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Cloning and characterization of a novel endothelin receptor subtype in the avian class. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 3024-3029.

MAGER, A.M., GRAPIN-BOTTON, A., LADJALI, K., MEYER, D., WOLFF, C.M., STIEGLER, P., BONNIN, M.-A. and REMY, P. (1998). The avian *fli* gene is specifically expressed during embryogenesis in a subset of neural crest cells giving rise to mesenchyme. *Int. J. Dev. Biol.*, 42, 561-572.

MONSORO-BURQ, A.-H., STIEBER, A., BONTOUX, M., LE DOUARIN, N.M. and GONATAS, N. (1998). Environmental factors modulate the size and the secretory activity of the notochord : a study of the Golgi apparatus in avian embryos. *C. R. Acad. Sci.*, 321, 621-631.

NATAF, V., AMENIYA, A., YANAGISAWA, M. and LE DOUARIN, N.M. (1998). The expression pattern of endothelin 3 in the avian embryo. *Mech. Dev.*, 73, 217-220.

NATAF, V., GRAPIN-BOTTON, A., CHAMPEVAL, D., AMENIYA, A., YANAGISAWA, M. and LE DOUARIN, N.M. (1998). The expression patterns of endothelin-A receptor and endothelin 1 in the avian embryo. *Mech. Dev.*, 75, 145-149.

PALMEIRIM, I., DUBRULLE, J., HENRIQUE, D., ISH-HOROWICZ, D. and POURQUIÉ, O. (1998). Uncoupling segmentation and somitogenesis in the chick presomitic mesoderm. *Dev. Genet.*, 23, 77-85.

POURQUIÉ, O. and PALMEIRIM, I. (1998). Une horloge moléculaire liée à la segmentation des vertébrés. *Méd. Sci.*, 14, 340-343.

TAJBAKHSH, S., VIVARELLI, E., KELLY, R., PAPKOFF, J., DUPREZ, D., BUCKINGHAM, M. and COSSU, G. (1998). Differential activation of Myf-5 and MyoD by

different Wnt signalling molecules in explants of mouse paraxial mesoderm ; later activation of myogenesis in the absence of Myf-5. *Development*, 125, 4155-4162

TEILLET, M.-A., LAPOINTE, F. and LE DOUARIN, N.M. (1998). The relationships between notochord and floor plate in vertebrate development revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 11733-11738.

TEILLET, M.-A., WATANABE, Y., JEFFS, P., DUPREZ, D., LAPOINTE, F. and LE DOUARIN, N.M. (1998). *Sonic hedgehog* is required for survival of both myogenic and chondrogenic somitic lineages. *Development*, 125, 2019-2030.

WATANABE, Y., DUPREZ, D., MONSORO-BURQ, A.-H., VINCENT, C. and LE DOUARIN, N.M. (1998). Two domains in vertebral development : antagonistic regulation by SHH and BMP4 proteins. *Development*, 125, 2631-2639.

XUE, Z., ZILLER, C. and XUE, X.J. (1998). Quox 1 homeobox protein is expressed in postmitotic sensory neurons of dorsal root ganglia. *Dev. Brain Res.*, 105, 59-66.

1999

DUPREZ, D., LAPOINTE, F., EDMOND-VOVARD, F., KOSTAKOPOULOU, K. and ROBSON, L. (1999). Sonic Hedgehog (SHH) specifies muscle pattern tissue and cellular level, in the chick limb bud. *Mech. Dev.*, 82, 151-163.

EICHMANN, A. and CORBEL, C. Les précurseurs des cellules endothéliales chez l'embryon d'Oiseau. *Path. Biol.*, 47, 307-313.

FOURNIER-THIBAUT, C., POURQUIÉ, O., ROUAUD, T., LE DOUARIN, N.M. (1999). BEN/SC1/DM-GRASP expression during neuromuscular development : a cell adhesion molecule regulated by innervation. *J. Neurosci.*, 19, 1382-1392.

LE DOUARIN, N.M. and ZILLER, C. (1999). The neural crest. In « Encyclopedia of Neuroscience 474 ». *G. Adelman, B.H. Smith, eds*, Elsevier Science, Amsterdam. pp. 1305-1309.

ODY, C., VAIGOT, P., QUÉRÉ, P., IMHOF, B.A. and CORBEL, C. (1999). GPIIb-IIIa is expressed on avian multilineage hemopoietic progenitor cells. *Blood*, 93, 2898-2906.

Sous Presse

ALITALO, K., GUNJI, Y., ALITALO, R. and EICHMANN, A. (1999). VEGF receptors in vascular development and hematopoiesis. In « Hematopoiesis : A Developmental Approach », *L. Zon ed.*, Oxford University Press. (sous presse).

CHARRIER, J.-B., TEILLET, M.-A., LAPOINTE, F. and LE DOUARIN, N.M. (1999). Defining subregions of Hensen's node essential for caudalward movement, midline development and cell survival. *Development* (sous presse).

DUPIN, E., LECOIN, L. and LE DOUARIN, N.M. (1999). From multipotent neural crest precursors to differentiated cells : the role of endothelin signalling pathway. In « Regulatory Processes in Development : The legacy of Sven Hörstadius »

Wenner-Gren International Symposium (23-25 august 1998), *Portland Press eds.* (sous presse).

EICHMANN, A., CORBEL, C. and LE DOUARIN, N.M. (1999). Segregation of the embryonic vascular and hemopoietic systems. *Biochem. Cell Biol.* (sous presse).

EICHMANN, A., MOYON, D. and CORBEL C. (1999). Récepteurs et développement des cellules endothéliales et hématopoïétiques. *C.R. Soc. Biol.*, 193 (sous presse)

ETCHEVERS, H.C., COULY, G., VINCENT, C. and LE DOUARIN, N.M. (1999). The anterior cephalic neural crest is required for forebrain viability. *Development* (sous presse).

GRAPIN-BOTTON, A., CAMBROMERO, F., WEINER, H.L., BONNIN, M.-A., PUELLES, L. and LE DOUARIN, N.M. (1999). Patterning signals acting in the spinal cord override the organizing activity of the isthmus. *Mech. Dev.* (sous presse).

LADJALI-MOHAMMEDI, K., BITGOOD, J.J., TIXIER-BOICHARD, M. and PONCE DE LEON, A. (1999). International System for Standardized Avian Karyotypes (IS-SAK) : Standardized Banded Karyotypes of the Domestic Fowl (*Gallus domesticus*). *Cytogenet. Cell Genet.* (sous presse).

LE DOUARIN, N.M. (1999). La radioactivité et l'essor de la Biologie au XX^e siècle. *Discours et notices biographiques. Acad. Sci. Paris* (sous presse).

LE DOUARIN, N.M. and KALCHEIM, C. (1999). « The Neural Crest », second edition. Cambridge University Press, New York. *Cambridge University Press* (sous presse).

LE DOUARIN, N.M., DIETERLEN-LIÈVRE, F., TEILLET, M.-A. and ZILLER, C. (1999). Interspecific chimeras in avian embryos. In « Developmental Biology Protocols », ed. : R.S. Tuan, *Humana Press.* (sous presse).

MONSORO-BURQ, A.-H. and LE DOUARIN, N.M. (1999). Duality of molecular signaling involved in vertebral chondrogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* (sous presse).

PALMEIRIM, I. (1999). La segmentation chez les vertébrés : une horloge moléculaire liée à la segmentation périodique des somites. *C.R. Soc. Biol.* (sous presse).

TEILLET, M.-A., ZILLER, C. and LE DOUARIN, N.M. (1999). Quail-chick chimeras. In « Vertebrate Embryology : Methods and Protocols ». Series : *Methods in Molecular Biology*, vol. 97, P. Sharpe and I. Mason eds., *Humana Press*, Totowa, N.J. USA (sous presse).

Soumis

EICHMANN, A., YUAN, L., BRÉANT, C., ALITALO, K. and KOSKINEN, P.J. Developmental expression of Pim kinases suggests functions also outside of the hematopoietic system.

THOMAS-VASLIN, V., COLTEY, M., LE DOUARIN, N.M., SALAÜN, J. and SARON, M.-F. Thymic selection : *in vivo* evidence for positive selection and self-restriction of CD8 T cells on both hemopoietic and epithelial thymic cells.

DISTINCTIONS ET ACTIVITÉS DIVERSES

Nicole LE DOUARIN

Prix et distinctions

- 1998 Docteur Honoris Causa de l'Université de Montréal
- 1998 Titulaire de la Chaire Unesco « Biologie du Développement » à l'Université Fédérale de Rio de Janeiro
- 1998 Médaille d'Or de la Société d'Encouragement au Progrès
- 1999 Grand Prix de la Fondation pour la Recherche Médicale Française
- 1999 Élection comme membre de l'Académie Pontificale

Conférences honorifiques

Keynote Lecture, American Association for Cancer Research, Orlando, Florida (1998)

Conférence Inaugurale de la Société Française de Biologie du Développement, Paris (1998)

Karolinska Research Lectures Series at the Nobel Forum, Stockholm (1998)

Académie des Sciences « Comité du Centenaire du Radium » : *La radioactivité et l'essor de la biologie au XX^e siècle*, Paris (1998)

Keynote Lecture, First European Meeting on Zebrafish Genetics and Development, Tübingen, Allemagne (1999)

Viktor Hamburger Lecture, University of Missouri in Saint-Louis, USA (1999)

Nouvelles fonctions publiques et universitaires (en France et à l'étranger)

Présidente du Comité de Coordination des Sciences du Vivant (1998-)

Membre du Conseil National pour la Science (1998-)

Membre de sociétés savantes

Membre de l'Editorial Board of Progress in Neurobiology (1998)

Direction de thèses

Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI (1999) « *The cephalic neural crest and the patterning of the embryonic brain* », Heather Etchevers (PhD, Université de Berkeley, Californie, USA)

Congrès et symposia sur invitation

Journées Annuelles d'Éthique, Paris, 1-14 janvier 1998.

American Association for Cancer Research, Orlando, Floride, USA, 23-27 janvier 1998.

Ateliers INSERM, organisés par le Pr. J.-C. Boucaut, Le Vésinet, 19 mars 1998.

Meeting « Concepts and Models in Developmental Biology », Naini Tal, Inde, du 5 au 12 avril 1998.

SISD International Conference, Rouen, du 20 au 23 avril 1998.

Meeting on « Molecular Genetics of Development Conference », Airlie House, Virginie, USA, du 6 au 8 mai 1998.

2nd International Symposium on Molecular Control of Organogenesis, Ann Harbor, Michigan, USA, le 9 mai 1998.

Société Française de Biologie du Développement, Paris, le 12 juin 1998.

Colloque de la Fondation des Treilles (Centre d'Études du Bassin Méditerranéen) « Molecular genetic analyses of vertebrate nervous system development and function », du 13 au 18 juin 1998 (organisateurs : N. Le Douarin et P. Gruss).

Wenner-Gren Foundations International Symposium « Regulatory processes in development », The Legacy of Sven Hörstadius, Stockholm, Suède, du 23 au 25 août 1998.

Cent Cinquantenaire de la Société de Biologie, Collège de France, Paris, le 20 novembre 1998.

Grandes Conférences de Lyon, Cycle 1998-1999, Pôle Universitaire Lyonnais, Lyon, les 31 mars et 1^{er} avril 1999.

Séminaires sur invitation

Séminaire à l'Institution Carnegie, Baltimore, Madison. Invitation du Dr. J. Michaud, le 27 janvier 1998.

Séminaire dans la série « Neurosciences et médecine » à l'Unité de neurovirologie et régénération du système nerveux, Institut Pasteur, Paris. Invitation du Dr. M. Dubois-Dalcq, le 17 septembre 1998.

Séminaire au Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologie, Università di Roma, Rome, Italie. Invitation du Pr. P. Amati, le 24 septembre 1998.

Séminaire à la Stazione Zoologica « Anton Dohrn », Naples, Italie. Invitation du Pr. R. Di Lauro, le 25 septembre 1998.

Séminaire au Department of Molecular and Cellular Biology, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, États-Unis. Invitation du Department of Molecular and Cell Biology, le 1^{er} octobre 1998.

Sixième Conférence Scientifique Cochin, Faculté de Médecine Cochin-Port-Royal, Université René Descartes, Paris. Invitation du Pr. X. Bertagna, le 2 décembre 1998.

Séminaire au Skirball Institute de New York University, New York Medical Center, New York, États-Unis. Invitation du Pr. Ruiz y Altaba, le 20 février 1999.

Organisation de colloques et autres activités d'enseignement

Colloque de la Fondation des Treilles (Centre d'Études du Bassin Méditerranéen) « Molecular genetic analyses of vertebrate nervous system development and function », organisé par N.M. Le Douarin et P. Gruss, du 13 au 18 juin 1998.

Cours dans le cadre du DEA « Biologie moléculaire et cellulaire du développement » à l'Université Paris VI, le 30 octobre 1998.

Organisation de cours dans le cadre de la Chaire UNESCO « Biologie du Développement » à l'Université Fédérale de Rio de Janeiro, Brésil, du 3 au 13 novembre 1998.

ACTIVITÉS DIVERSES

du personnel Collège de France affecté à l'Institut d'Embryologie

Kafia LADJALI-MOHAMMEDI, Préparateur Temporaire

Congrès

Journée de l'Institut de Biologie du Collège de France, Paris, décembre 1998.
« *Distribution du gène HOX dans le génome du poulet* »

Encadrement de stagiaire

BTS de l'école des Techniques de Biologie Appliquée, juin-août 1998.

Laure LECOIN, ATER

Congrès

Congrès de la European Society for Pigment Cell Research. Prague, 23-26 septembre, présentation de deux posters : « *Expression patterns of endothelins and endothelin receptors during avian pigment cell development* » et « *Effect of endothelin 3 on avian pigment cell development in clonal cultures* ». Abstracts publiés dans Pigment Cell Research 1998 (11) 4, p. 250.

Réunion INRA « Gènes de coloration » Limoges, 23 décembre 1998, présentation orale : « *Développement des cellules pigmentaires, le modèle aviaire.* »

Congrès de la SFBF. Mur de Bretagne, 19-21 mai 1999, Présentation orale : « *Endothelin and endothelin receptors in trunk neural crest cell development.* »

XVII^e International Pigment Cell Conference. Nagoya, Japon, 31 octobre-4 novembre 1999.

Séminaires

17 juin 1998 : Séminaire invité par P. Corvol à l'Unité INSERM 36, Collège de France, Chaire de Médecine expérimentale. « *Développement des cellules pigmentaires à partir de la crête neurale* »

11-12 mars 1999, Paris, Collège de France, journées « endothélines » organisées conjointement par les chaires de Médecine expérimentale et d'Embryologie Cellulaire et Moléculaire. Présentation orale : « *Identification of a third endothelin receptor expressed in avian melanocytes* »

Enseignement et activités de formation

Encadrement de stage de BTS. Juin 1998, janvier 1999

Encadrement de stage de maîtrise avril-mai 1999.

Anne-Hélène MONSORO-BURQ, Maître de Conférence

Congrès

European Research Conferences « The genetic Control of Morphogenesis », Lengries (Germany), 6-11 juin 1998. Séminaire « *The role of the axial organs in survival and the differentiation of the somitic cells* »

57th SDB annual meeting, Stanford (USA) 19-25 Juin 1998. Communication affichée.

French SDB-SCB joint summer meeting, Marseille (France) 15-19 juillet 1998. Communication affichée.

Journée de l'Institut de Biologie du Collège de France, 9 décembre 1998 : séminaire : « *Contrôle moléculaire de la formation de la vertèbre chez l'embryon d'oiseau* »

Colloque SFBD, Mur-de-Bretagne, 18-21 mai 1999.

Congrès EDBC 1999, Oslo, 19-23 juin 1999.

Activités d'enseignement

DEA de Biologie cellulaire et moléculaire du Développement, Universités de Paris 6, 7, 11 :

Séminaire : « *La polarité dorso-ventrale de la moelle épinière* » (1998)

Organisation et mise en place des travaux pratiques sur l'embryon d'oiseau (5 jours) : observation de l'embryon, microchirurgie embryonnaire, culture ce cellules de crête neurale, marquages *in toto*.

DEA de Neurobiologie Sensorielle (Montpellier)

Séminaire : « *La polarité dorso-ventrale de la moelle épinière, rôles de Sonic Hedgehog et de BMP4* »

CHU Paul Brousse, Kremlin-Bicêtre, « *Aspects moléculaires de la différenciation au cours de l'embryogenèse* »

Encadrements de stages ou TP

Responsabilité et encadrement du stage de DEA de Manuelle Ducoux : septembre 1997-juillet 1998 « *Analyse de l'expression des gènes Msx au cours du développement des crêtes neurales chez l'Oiseau* »

Responsabilité et encadrement du stage postdoctoral de Mohamed Rachidi (septembre 1997-juillet 1998) « *Clonage de l'homologue aviaire du gène Xom* »

Responsabilité et encadrement du stage postdoctoral d'Alexandra Quilhac (janvier 1998-) « *Analyse des gènes BMP4, Msx1 et 2, ostéocalcine et ostéopontine, au cours de la formation des sutures crâniennes* »

Encadrement de stage de maîtrise : Anne-Cécile Moreau, avril-juin 1999 : « *Analyse de l'expression de Noggin dans la crête neurale, initiation à la biologie moléculaire* ».

Isabel PALMEIRIM, ATER

Prix scientifiques

Juin 1998, Prix Gulbenkian de Cience, Fundação Calouste Gulbenkian

Mars 1999, Attribution d'une décoration de l'État Portugais : « Comendadora da Ordem de Santiago da Espada ».

Congrès et Séminaires

Hôpital Cochin, Paris, 13 janvier 1998. Séminaire.

Journée ICGM. « Le muscle squelettique dans tous ses états ». 3 février 1998. Communication orale.

I Simposium Celestino da Costa em Biologia do desenvolvimento, Lisboa, Portugal, 13 février 1998. Communication orale.

Institut Pasteur, Paris, 3 mars 1998. Séminaire.

Molecular analysis of vertebrate nervous system development, Fondation des Treilles, 14-18 juin 1998. Communication orale.

The Gulbenkian PhD Programme in Biology and Medicine 1998 Meeting. Curia, Portugal. 13-19 septembre 1998. Communication orale.

Evo-Devo, Instituto Gulbenkian de Ciência, 21-22 septembre 1998. Communication orale.

Organisation d'une journée de la Société de Biologie. Thème : Comment se forment les vertèbres chez l'embryon ? mars 1999.

Université classique de Lisbonne, Faculté de Biologie, invitation du Prof. Solveig Thorteinsdottir, mai 1999. Séminaire.

Activités d'enseignement

Assistant d'enseignement à la chaire de génétique à l'Université de Médecine de Lisbonne, 1997-1998.

Organisation du module « Biologie du développement » dans le cadre du Programme de Doctorat en Biologie et Médecine de l' « Instituto Gulbenkian de Ciência », Oeiras, Portugal, 5-31 janvier 1999.

Encadrement

Catarina Freitas, Stagiaire, depuis le 20 février 1999.

Sofia Rodrigues, Stagiaire, depuis le 20 février 1999.