



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

Collège de France; Chaire:  
Evolution du Développement et des Génomes  
[Denis.Duboule@college-de-france.fr](mailto:Denis.Duboule@college-de-france.fr)

## Cours 2023: Les Temps du Développement Embryonnaire



@Duboule

@CdF1530

1



Denis Duboule/2023



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

Les Temps du Développement Embryonnaire



Denis Duboule

## Cours 2023: Les Temps du Développement Embryonnaire

### Objectifs du cours

Cette année, le cours aura comme objectif principal de traiter de quelques-uns des référentiels temporels mis en œuvre pendant le développement embryonnaire de la mouche et des mammifères. En effet, le développement des embryons est une accumulation de mécanismes moléculaires et cellulaires divers qui tous ont leurs propres temporalités. D'où viennent ces temps différents? Comment sont-ils codés? Comment l'embryon peut-il à la fois générer et suivre ses propres référentiels temporels? Cette question essentielle n'a pu être abordée que depuis quelques années et reste un des grands chantiers des sciences de la vie pour les années à venir.

L'objectif de ce cours est donc de faire le point sur quelques exemples d'horloges et de timers biologiques fonctionnant pendant le développement et d'essayer de comprendre comment ces horloges moléculaires peuvent se traduire en espaces biologiques, en arrangements cellulaires et tissulaires, comment ces différents temps peuvent *in fine* organiser les spatialités de l'embryon.

**Choix des exemples:** Importance en biologie du développement; qualité et rapport histoire/actualité. Mais; une science 'qui se fait' (in the making) et qui donc peut être sujette à réévaluation, correction.

2



Denis Duboule

## Cours 2023: Les Temps du Développement Embryonnaire

### Déroulé du cours

**Cours #1:** Introduction au cours et présentation des différents sujets abordés. Les différents temps du développement. Le temps des différenciations cellulaires; les cellules souches neurales –neuroblastes- de l'embryon de *Drosophile* et du système visuel des mouches. 'Identités temporelles'.

**Cours #2:** Le temps morphogénétique; exemple de la segmentation de l'axe principal chez les vertébrés, somitogenèse, embryologie et fonctionnalités des somites, horloge de segmentation, prédiction théorique.

**Cours #3:** Horloge de segmentation (suite), mécanisme moléculaire et évolution, systèmes *in vitro*.

**Cours #4:** Identification moléculaire et destin des somites, les gènes *Hox*, l'homéose, pseudo-embryons *in vitro* comme sujets d'études.

**Cours #5:** Le temps génomique; exemple du timer *Hox*, importance et mécanisme potentiel.

3



## Cours 2023: Les Temps du Développement Embryonnaire

### Cours #1, 16 mai 2023, 17h

**Cours #1:** Introduction au cours et présentation des différents sujets abordés. Les différents temps du développement. Temps linéaire, horloges, oscillations, durées, fréquences... Le temps des différenciations cellulaires: Exemples de cellules souches neurales chez l'embryon et la larve de *Drosophile* et de leurs progressions temporelles vers des types cellulaires différents, comparaison avec les mammifères.

4



### Quelques définitions de termes utilisés pour *les temps de l'embryon*

- \*Le **tempo du...** : Un paramètre mathématique abstrait qui est perçu à travers la reconnaissance de changements d'états au cours du développement (Henri Bergson)
- \***Echelle de temps**: Une dimension mesurable du temps, de la fertilisation au stade adulte, qui enregistre le passage d'évènements et de leurs intervalles
- \***Horloge**: Un mécanisme de haute précision basé sur des horloges atomiques qui est utilisé pour mesurer un temps de développement absolu, relativement à d'autres évènements biologiques ou physiques.
- \***Timer**: Un mécanisme qui mesure des intervalles de temps entre deux (ou plus) évènements séquentiels.
- \*Le **Timing**: Contrôle du déroulement d'évènements de leur fréquence et vitesse nécessaires pour réaliser et coordonner des phénomènes biologiques pendant le développement.
- \***Oscillation**: Un changement périodique entre deux ou plus états moléculaires/cellulaires/tissulaires, généralement produit par des boucles rétroactives négatives. Les oscillations sont définies par leur amplitude et leur phase.
- \***Fréquence**: Nombre de répétitions d'un évènement récursif par unité de temps.
- \***Tempo**: Vitesse relative des évènements se déroulant dans une échelle de temps définie.
- \***Période**: Durée d'un cycle à l'intérieur d'un processus récursif.
- \***Phase**: Caractéristique d'un cycle relativement au début de sa période.
- \***Amplitude**: Valeur maximale d'une variable pendant une période définie.

Adapté et traduit de:

Development, Growth, & Differentiation  
The American Society of Developmental Biologists

Develop. Growth Differ. (2016) 98, 59–72 doi: 10.1111/dgd.12227

Review Article

**Encoding and decoding time in neural development**

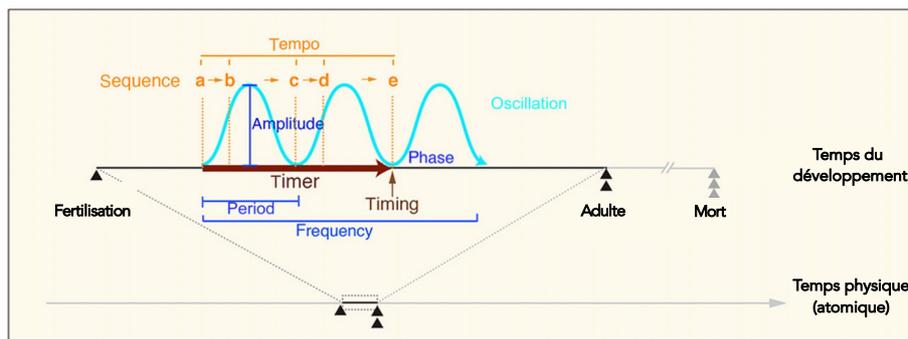
Kenichi Toma,<sup>1</sup> Tien-Cheng Wang<sup>1</sup> and Carina Hanashima<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Neurological Development, RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe 650-0047, and <sup>2</sup>Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University, Kobe 650-8001, Japan

5



### Quelques définitions de termes utilisés pour *les temps de l'embryon*



Tiré et traduit de:

Development, Growth, & Differentiation  
The American Society of Developmental Biologists

Develop. Growth Differ. (2016) 98, 59–72 doi: 10.1111/dgd.12227

Review Article

**Encoding and decoding time in neural development**

Kenichi Toma,<sup>1</sup> Tien-Cheng Wang<sup>1</sup> and Carina Hanashima<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Neurological Development, RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe 650-0047, and <sup>2</sup>Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University, Kobe 650-8001, Japan

6


Denis Duboule/2023
Les Temps du Développement Embryonnaire


COLLÈGE DE FRANCE  
— 1530 —

## Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux et de la rétine chez *Drosophila* (quelques textes généraux)

Development, Growth & Differentiation    The Japanese Society of Developmental Biologists

Develop. Growth Differ. (2016) 58, 59–72    doi: 10.1111/dgd.12257

2016

Review Article

### Encoding and decoding time in neural development

Kenichi Toma,<sup>1</sup> Tien-Cheng Wang<sup>1</sup> and Carina Hanashima<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Neocortical Development, RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe 650-0047, and <sup>2</sup>Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University, Kobe 657-8501, Japan

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)    Current Opinion in Neurobiology

2019

ScienceDirect

### Principles of progenitor temporal patterning in the developing invertebrate and vertebrate nervous system

Polina Oberst<sup>1,4</sup>, Gulistan Agirman<sup>1,2,4</sup> and Denis Jabaudon<sup>1,3</sup>

Seminars in Cell and Developmental Biology 142 (2023) 13–22

Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.elsevier.com/locate/semcdev)

Seminars in Cell and Developmental Biology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/semcdev](http://www.elsevier.com/locate/semcdev)

Review

### Temporal regulation of neural diversity in *Drosophila* and vertebrates

Rana N. El-Danaf<sup>1,2,3</sup>, Raghuvanshi Rajesh<sup>1,3</sup>, Claude Desplan<sup>1,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Center for Genomics and Systems Biology (CGSB), New York University Abu Dhabi, Abu Dhabi, United Arab Emirates  
<sup>2</sup>Department of Biology, New York University, New York, NY 10003, USA

2023

7


Denis Duboule/2023
Les Temps du Développement Embryonnaire


COLLÈGE DE FRANCE  
— 1530 —

## Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Cell, Vol. 106, 511–521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press    2001

### ***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>  
 Institute of Neuroscience/Institute of Molecular Biology  
 Howard Hughes Medical Institute  
 1254 University of Oregon  
 Eugene, Oregon 97403

Nous proposons que *Hb* et *Kr* contrôlent l'identité temporelle<sup>1</sup> des 'neuroblastes' (précurseurs neuronaux) à leur naissance [...]. Ces deux gènes sont suffisants et nécessaires pour fixer le destin cellulaire de ces neurones, et ceci dans des lignées multiples et indépendamment du type cellulaire impliqués.

**Summary**

Neural precursors often generate distinct cell types in a specific order, but the intrinsic or extrinsic cues regulating the timing of cell fate specification are poorly understood. Here we show that *Drosophila* neural precursors (neuroblasts) sequentially express the transcription factors Hunchback → Krüppel → Pdm → Castor, with differentiated progeny maintaining the transcription factor profile present at their birth. Hunchback is necessary and sufficient for first-born cell fates, whereas Krüppel is necessary and sufficient for second-born cell fates; this is observed in multiple lineages and is independent of the cell type involved. We propose that Hunchback and Krüppel control early-born temporal identity in neuroblast cell lineages.

In this paper, we precisely define the timing of *hb* → *Kr* → *pdm* → *cas* expression in several identified neuroblast lineages. We show that *hb* → *Kr* → *pdm* → *cas* are sequentially expressed in neuroblasts, with GMC/neuronal progeny maintaining the transcription factor profile present at their birth. We show that Hb and Kr are necessary and sufficient for early-born cell fates; this is observed in multiple lineages and is independent of the cell type involved. We conclude that Hb and Kr specify early-born temporal identity in *Drosophila* neural stem cell lineages.

8



### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

2001

#### **Drosophila Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Ishiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Institute of Neuroscience/Institute of Molecular Biology  
Howard Hughes Medical Institute  
1254 University of Oregon  
Eugene, Oregon 97403

#### Neuroblastes de *Drosophila*

Les **Neuroblastes** sont les cellules souches précurseurs (progénitrices) des neurones du système nerveux de la mouche *Drosophila*.

#### Facteurs de transcription

Les **Facteurs de transcription** sont des protéines nucléaires qui contrôlent la transcription, i.e., la production d'ARN messagers.

#### Identité temporelle

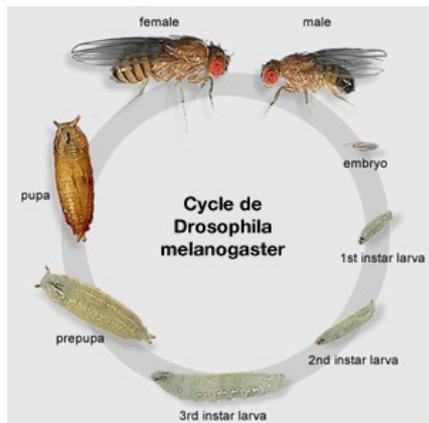
L'**Identité temporelle** fait référence à l'acquisition progressive, dans le temps, d'identités différentes pour des neurones produits par les neuroblastes.

#### 'Progéniture' neuronale

Par '**Progéniture neuronale**', on entend les séries de neurones dérivant des neuroblastes par divisions cellulaires successives.

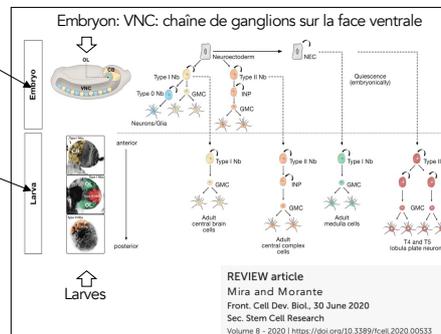


### Le cycle de *Drosophila melanogaster* Deux semaines à 22 degrés; app. 400 œufs pondus



Une description détaillée de la neurogenèse chez la mouche (en français) est proposée sous:  
[https://fr.wikibooks.org/wiki/Neurosciences/La\\_neurogenèse](https://fr.wikibooks.org/wiki/Neurosciences/La_neurogenèse)

Plusieurs vagues de neurogenèse:



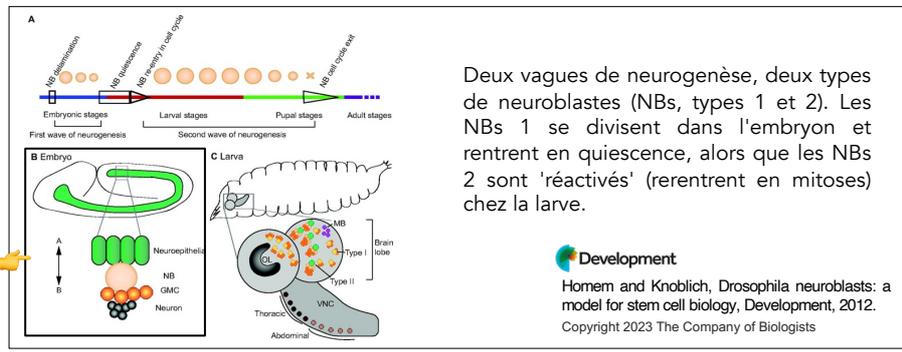


### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

#### Neuroblastes de *Drosophila*

Les **Neuroblastes** sont les **cellules souches précurseurs (progénitrices)** des neurones du système nerveux de la mouche *Drosophila*.

Le système nerveux de la *Drosophila* est un excellent modèle pour étudier la spécification temporelle de types cellulaires. Les cellules précurseurs (neuroblastes) peuvent être identifiées individuellement et chacune génère un linéage cellulaire unique et invariant pour produire une population de neurones divers et de la glie.



11

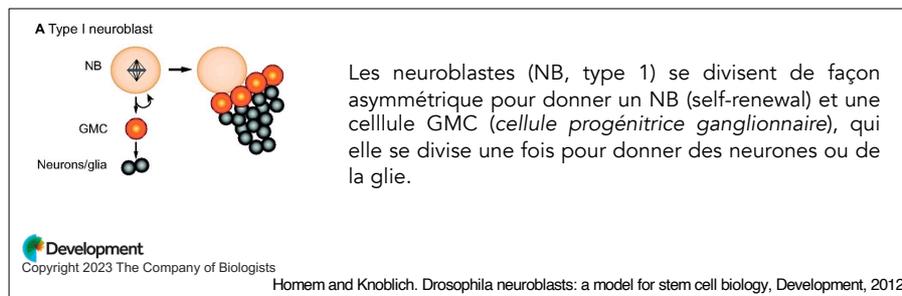


### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

#### Neuroblastes de *Drosophila*

Les **Neuroblastes** sont les **cellules souches précurseurs (progénitrices)** des neurones du système nerveux de la mouche *Drosophila*.

Le système nerveux de la *Drosophila* est un excellent modèle pour étudier la spécification temporelle de types cellulaires. Les cellules précurseurs (neuroblastes) peuvent être identifiées individuellement et chacune génère un linéage cellulaire unique et invariant pour produire une population de neurones divers et de la glie.

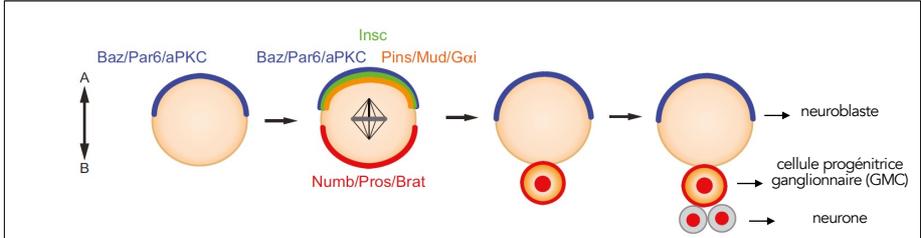


12



### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

#### Division cellulaire asymétrique des neuroblastes



Les divisions asymétriques des neuroblastes débutent par une localisation au cortex apical de composants cellulaires *Baz/Par6/aPKC*. Ce complexe recrute *Inscutable* qui à son tour recrute *Pins/Mud/Gal4* qui va orienter la division cellulaire (fuseau). Ce complexe localise *Numb* au cortex basal. Suite à des phosphorylations en cascade, le complexe *Par* va localiser *Numb/Pros/Brat* au cortex basal. S'en suit une division asymétrique et la GMC héritera du complexe *Numb* qui promeut la différenciation plutôt que le self-renewing des neuroblastes.

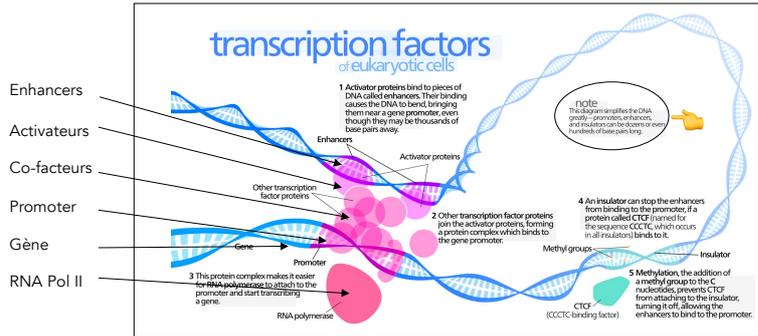
Development  
Copyright 2023 The Company of Biologists

Homem and Knoblich. *Drosophila* neuroblasts: a model for stem cell biology, Development, 2012

13



#### Les facteurs de transcription



#### Transcription factor

Article Talk

From Wikipedia, the free encyclopedia

In molecular biology, a **transcription factor** (TF) (or **sequence-specific DNA-binding factor**) is a protein that controls the rate of **transcription** of genetic information from **DNA** to **messenger RNA**, by binding to a specific **DNA sequence**.<sup>[1][2]</sup> The function of TFs is to regulate—turn on and off—genes in order to make sure that they are **expressed** in the desired **cells** at the right time and in the right amount throughout the life of the cell and the organism. Groups

[https://en.wikipedia.org/wiki/Transcription\\_factor](https://en.wikipedia.org/wiki/Transcription_factor)

Les facteurs de transcription sont des protéines qui lient des séquences d'ADN 'spécifiques' et qui contrôlent la transcription d'un ARNm à partir de l'ADN. Ils assurent ainsi la présence (ou absence) d'ARNm (donc de protéines) dans des cellules particulières à des moments particuliers, pendant un certain temps.

14

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

Genes that regulate GMC birth order identity in multiple neuroblast lineages have not yet been identified, but good candidates include the genes *hunchback* (*hb*), *pdm1/pdm2* (subsequently called *pdm*), and *castor* (*cas*; also called *ming*). *hb* is expressed in early-born deep layer neurons, *pdm* is expressed in middle layer neurons, and *cas* is expressed in late-born superficial layer neurons (Cui and Doe, 1992; Kambadur et al., 1998; Mellerick et al., 1992). In addition, we show in this paper that the *Krüppel* (*Kr*) gene is also expressed in early-born deep layer neurons, and thus is another candidate for regulating temporal identity within neuroblast lineages. *hb*, *Kr*, and *pdm* encode nuclear transcription factors that first function during segmentation and subsequently in the developing CNS (Gaul et al., 1987; Romani et al., 1996; Yang et al., 1993; this paper). *cas* encodes a nuclear zinc finger transcription factor detected during segmentation (this paper) and required for CNS development (Cui and Doe, 1992; Mellerick et al., 1992).

**Question:** quels sont les facteurs (gènes) qui déterminent les identités des GMC à leurs naissances et des neurones qu'elles produisent ensuite?

Les auteurs analysent une série de gènes codant pour des facteurs de transcription et qui semblent être exprimés dans des neurones de types différents (*Hunchback*, *Hb*, *pdm*, *castor*, *cas* et *Krüppel*, *Kr*).

A Type I neuroblast  
NB  
GMC  
Neurons/glia  
GMC: cellule progénitrice ganglionnaire

15

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

**Hb**  
**Cas**

\*Les neurones naissent par 'clones' et les neurones 'early born' (produits précocement) (*Hb positif*) sont toujours localisés dans une couche du CNS plus profonde que les neurones 'fils' qui apparaissent plus tard dans le clone (*Cas positif*) et qui sont plus superficiels.

\*Les deux protéines *Hunchback* (*Hb*) et *Castor* (*Cas*) sont des facteurs de transcription (nucléaires) à 'doigts de zinc'.

H: Histidine  
C: Cystéine

Linker  
C-terminal  
α-helix  
β-sheet  
N-terminal  
5' 3'  
3' 5'  
RECOGNITION CODE  
[https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-representation-of-DNA-zinc-finger-protein-interaction-depicting-the-two\\_fig1\\_311849454](https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-representation-of-DNA-zinc-finger-protein-interaction-depicting-the-two_fig1_311849454)

16



### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

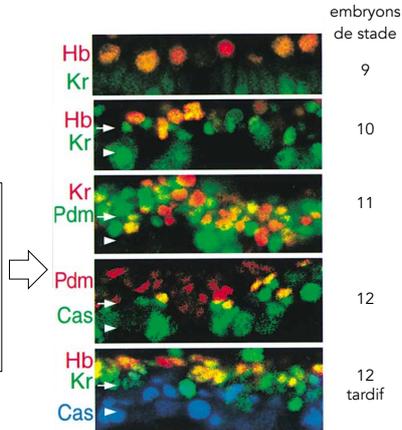
Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

2001

#### ***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

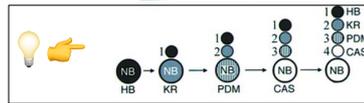

 \*Des gènes différents, codant pour des facteurs de transcription sont activés à chaque division de neuroblaste dans le nouveau neuroblaste produit mais, une fois activés, ils restent exprimés dans le neurone dérivant de la division du neuroblaste.



*Hb* → *Kr* → *Pdm* → *Cas*

\**Kr*, zinc fingers

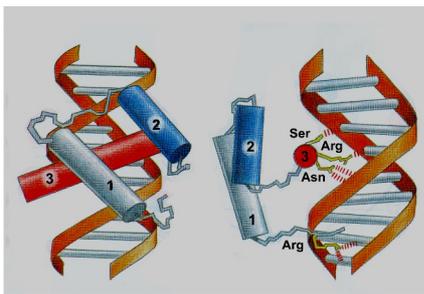
\**Pdm* (Pou domain protein), Homeobox



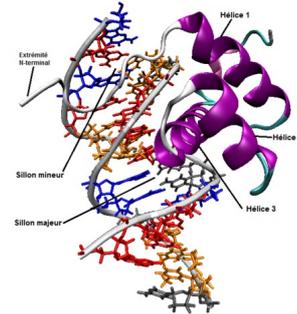
17



### Homéobox, homéodomaine et liaison à l'ADN



Double hélice d'ADN liée à une homéoprotéine



[https://fr.wikipedia.org/wiki/Boîte\\_homéotique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Boîte_homéotique)

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

18

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

\*Des gènes différents, codant pour des facteurs de transcription sont activés à chaque division de neuroblaste dans le nouveau neuroblaste produit mais, une fois activés, ils restent exprimés dans le neurone dérivant de la division du neuroblaste.

$Hb \rightarrow Kr \rightarrow Pdm \rightarrow Cas$

\*Kr, zinc fingers  
\*Pdm (Pou domain protein), Homeobox

$Hb \rightarrow Kr \rightarrow Pdm \rightarrow Cas$

embryons de stade

Hb Kr

Hb Kr

Kr Pdm

Pdm Cas

Hb Kr Cas

19

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Cell, Vol. 106, 511-521, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press

\*La séquence temporelle d'expression de ces gènes est la même que la distribution séquentielle des leurs ARNm le long de l'axe antéro-postérieur de l'embryon au stade de blastoderme syncytial.

$Hb \rightarrow Kr \rightarrow Pdm \rightarrow Cas$

$Hb \rightarrow Kr \rightarrow Pdm \rightarrow Cas$

A

Hb

Kr

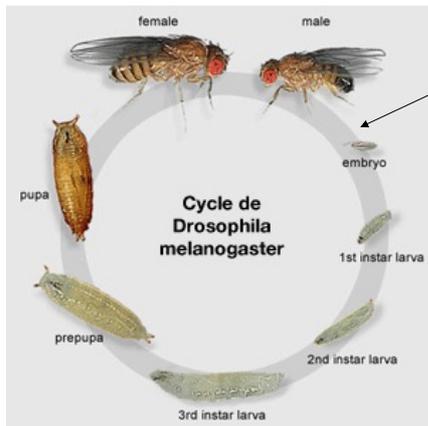
Pdm

Cas

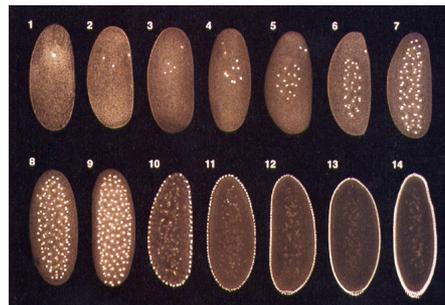
20



### Le cycle de *Drosophila melanogaster* Deux semaines à 22 degrés; app. 400 œufs pondus



syncytium, puis cellularisation..(avant la VNC..)  
 ↓  
 Les noyaux se divisent au centre puis migrent vers la périphérie

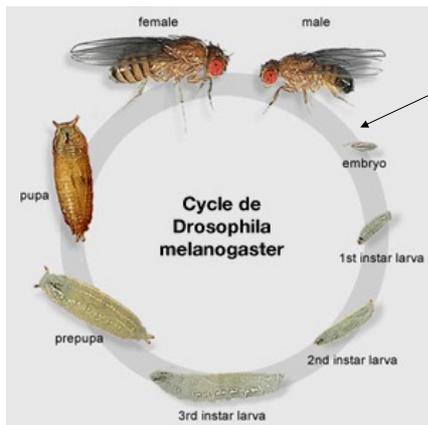


'Developmental Biology', Scott Gilbert; Figure 9.1

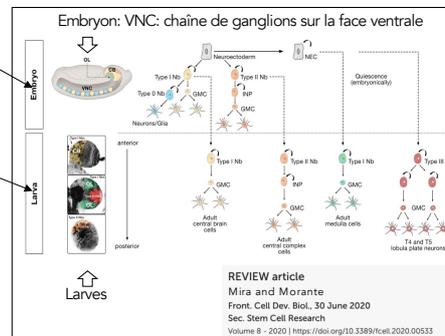
<http://www.google.com/search?client=safari&rls=en&q=cycle+de+drosophile&ie=UTF-8&oe=UTF-8>



### Le cycle de *Drosophila melanogaster* Deux semaines à 22 degrés; app. 400 œufs pondus



syncytium, puis cellularisation..(avant la VNC..)



<http://www.google.com/search?client=safari&rls=en&q=cycle+de+drosophile&ie=UTF-8&oe=UTF-8>

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

\*La séquence temporelle d'expression de ces gènes est la même que la distribution séquentielle de leurs ARNm le long de l'axe antéro-postérieur de l'embryon au stade de blastoderme syncytial.  
 Origine évolutive? le CNS prédate ce type de développement très adapté...

Hb → Kr → Pdm → Cas

23

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

2001

***Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny**

Takako Isshiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe<sup>1</sup>

Although early- and late-forming neuroblasts begin their cell lineages hours apart (Broadus et al., 1995), all show the same sequential, transient Hb → Kr → Pdm → Cas pattern of expression (Figure 2).

\*La séquence temporelle d'expression de ces gènes est indépendante du temps de naissance d'un neuroblaste (le temps n'est pas absolu (*chronos*) mais relatif à l'évènement (*Kairos*). La même séquence temporelle est observée pour des neuroblastes apparaissant plus tôt ou plus tard.

**3 conclusions à ces expériences**

We draw three conclusions from our detailed gene expression analysis. First, nearly all of the 30 known neuroblasts go through an invariant temporal pattern of Hb → Kr → Pdm → Cas gene expression, including early-forming and late-forming neuroblasts (see Discussion). Second, Hb → Kr → Pdm → Cas gene expression is transient in neuroblasts, but is maintained in differentiated neuronal progeny. Third, Hb → Kr → Pdm → Cas gene expression is correlated with birth order and not a particular cell type. For example, Hb<sup>+</sup> progeny are all early-born, but can differentiate as interneurons, motoneurons, or glia depending on their parental neuroblast (see below).

stade	En	Hb	Kr	Pdm	Cas	NB 7-1	NB 2-4
8						Hk → 1 <U1x	Hk → 1
9						Hk → 2 <U2x	K → 2
mid 9						K → 3 <U3x	K → 3
10						P → 4 <U4x	P → 4
early 11						P → 5 <U5x	P → 5
11						C → 6	C → 6

Colorations multiples des NBs et GMCs/stades différents

Eg: Eagle, marqueur des NBs      En: Engrailed, marqueur des NBs

24

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

*Hb* → *Kr* → *Pdm* → *Cas*

Pour comprendre le mécanisme de cette horloge moléculaire, les auteurs passent à une approche génétique:

**Gain de fonction:** Expression d'un gène soit à un temps ou à un endroit (cellule) inapproprié pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

**Perte de fonction:** Inactivation d'un gène dans des cellules ciblées pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

*Gal4* est une protéine de levure qui est un activateur transcriptionnel (M. Ptashne, P. Chambon...) et qui se lie spécifiquement à une séquence UAS (upstream activating sequence) pour activer la transcription d'un gène cible placé derrière.

Gain de fonction de *Kr* dans des neuroblastes en utilisant le système **GAL4/UAS**

Brand and Perrimon, 1993

**Lignées parentales (inertes)**

×

**1ère génération**

La protéine GAL4 active la transcription via la séquence UAS. On dispose de bibliothèques de mouches portant soit des transgènes GAL4, soit des transgènes UAS différents.

25

Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

*Hb* → *Kr* → *Pdm* → *Cas*

Pour comprendre le mécanisme de cette horloge moléculaire, les auteurs passent à une approche génétique:

**Gain de fonction:** Expression d'un gène soit à un temps ou à un endroit (cellule) inapproprié pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

**Perte de fonction:** Inactivation d'un gène dans des cellules ciblées pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

Gain de fonction de *Kr* dans des neuroblastes en utilisant le système GAL4/UAS et des lignées engrailed/GAL4 et UAS/*Kr*

	wild type	UAS- <i>Kr</i>
Pdm		
Cas		

*Kr* → *Pdm*  
*Kr* → *Cas*

26



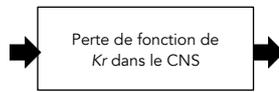
### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Hb → ~~Kr~~ → Pdm → Cas

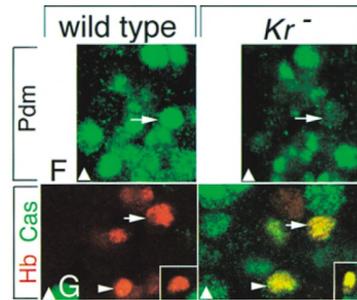
Pour comprendre le mécanisme de cette horloge moléculaire, les auteurs passent à une approche génétique:

**Gain de fonction:** Expression d'un gène soit à un temps ou à un endroit (cellule) inapproprié pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

**Perte de fonction:** Inactivation d'un gène dans des cellules ciblées pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).



Kr → Pdm  
Kr ⊣ Cas



27



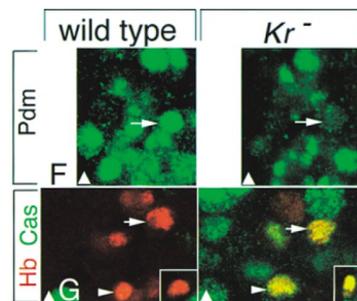
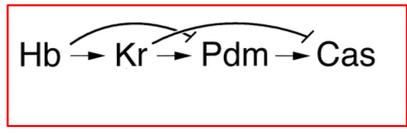
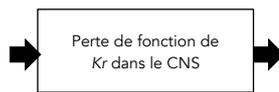
### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Hb → Kr → Pdm → Cas

Pour comprendre le mécanisme de cette horloge moléculaire, les auteurs passent à une approche génétique:

**Gain de fonction:** Expression d'un gène soit à un temps ou à un endroit (cellule) inapproprié pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

**Perte de fonction:** Inactivation d'un gène dans des cellules ciblées pour en voir les effets sur les autres gènes (cellules).

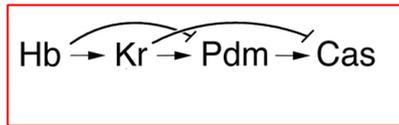


28

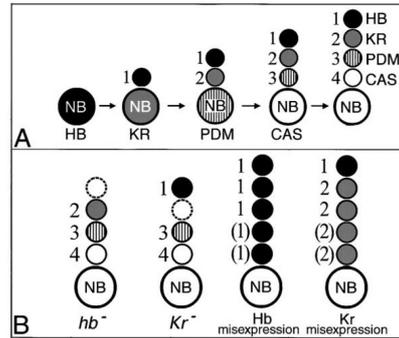


### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Hb → Kr → Pdm → Cas



On voit que les résultats ne matchent pas complètement le modèle proposé (mentionné par les auteurs eux-mêmes.), car même les mutations nulles n'empêchent pas le déroulement de l'activation séquentielle (contrairement aux gains de fonctions)

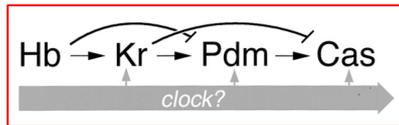


### Régulation temporelle de la diversité des neurones pendant le développement du système nerveux chez *Drosophila*

Cell, Vol. 106, 911–921, August 24, 2001, Copyright ©2001 by Cell Press 2001

#### *Drosophila* Neuroblasts Sequentially Express Transcription Factors which Specify the Temporal Identity of Their Neuronal Progeny

Takako Ishiki, Bret Pearson, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe



**Conclusions de l'étude**  
Ce modèle propose que chaque gène active le gène suivant et réprime le suivant. 'Néanmoins, ces interactions ne sont pas nécessaires pour dérouler une activation temporelle car des mutations dans ces gènes ne supprime pas cette activation séquentielle (elles l'altèrent légèrement). Ainsi, un mécanisme relié et indépendant doit exister en coordination avec le cycle cellulaire.' (car chaque division cellulaire 'fixe' l'expression dans un neuroblaste précis).

We conclude that a cell cycle-dependent "clock" is required to drive the transitions in Hb → Kr → Pdm → Cas gene expression (gray arrows in Figure 6L).

We favor a model in which the timing of Hb → Kr → Pdm → Cas expression is regulated primarily by a cell cycle-dependent clock but also by regulation within the Hb → Kr → Pdm → Cas pathway.



..mais, voir plus loin...