

Biologie du développement animal

Invertébrés



- Oursin (4h cours et 1TP)
- C. Ghiglione: ghiglion@unice.fr
4ème étage du centre de biochimie

Livres recommandés:

- Principes du Développement, Lewis Wolpert
- Biologie du Développement, Scott Gilbert
- Développement des échinodermes, Michel Delarue,
Service BioMedia-UPMC:
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/oursinMDC/index.html>
- <http://sites.unice.fr/site/pierson/CoursL2oursins2013.pdf>

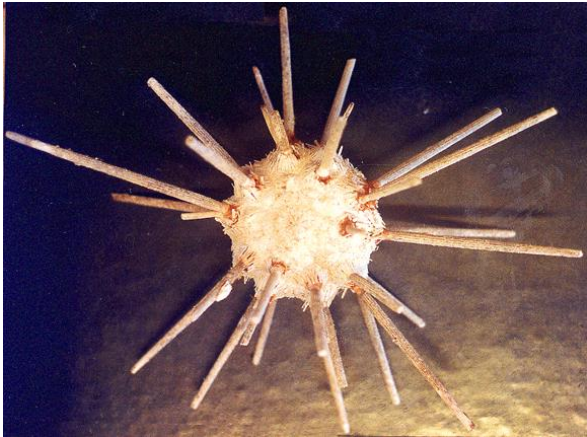
Oursins



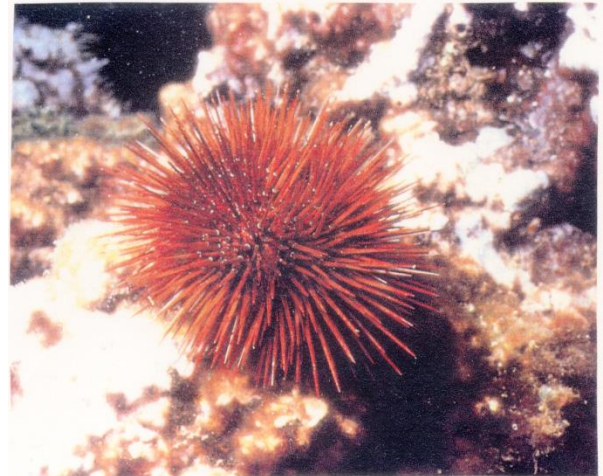
Sphaerechinus granularis



Heterocentrotus mammilata
"oursin crayon"



Phyllacanthus imperialis
"oursin baguette "



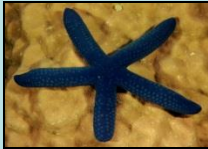
Paracentrotus lividus

Phylum Echinodermes

~ 7,000 espèces, toutes marines



Classe des Echinides (oursins, ~ 900 espèces)



Classe des Astérides (étoiles des mers)



Classe des Holothurides (concombres des mers)



Classe des Ophiurides (ophiures)



Classe des Crinoïdes (lis des mers)

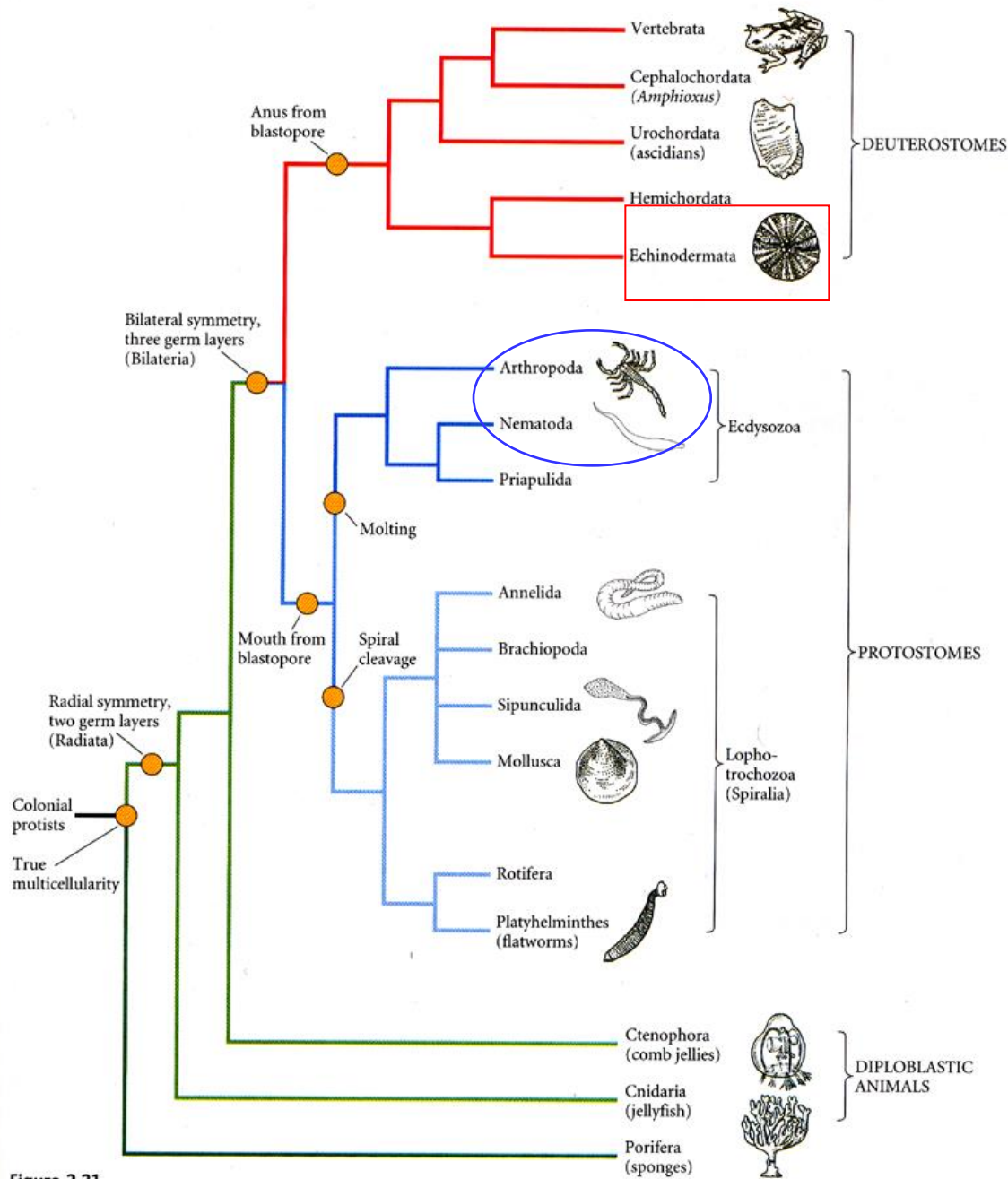
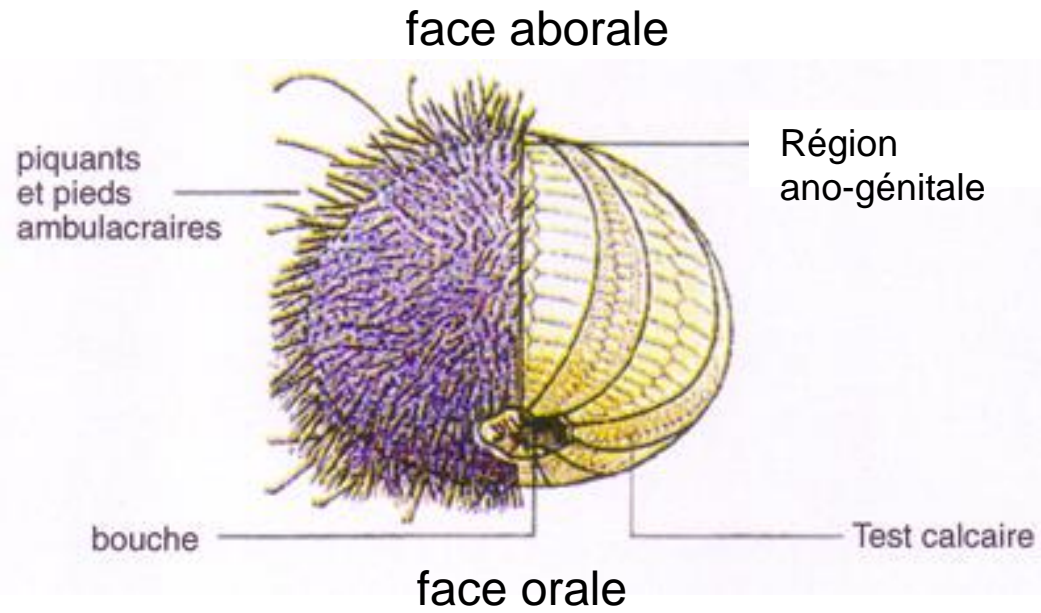
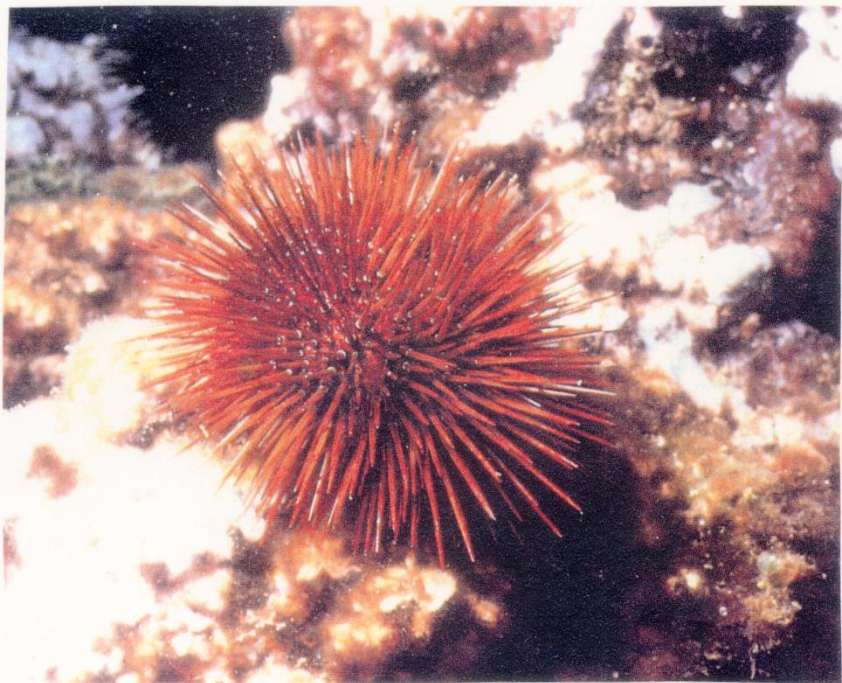


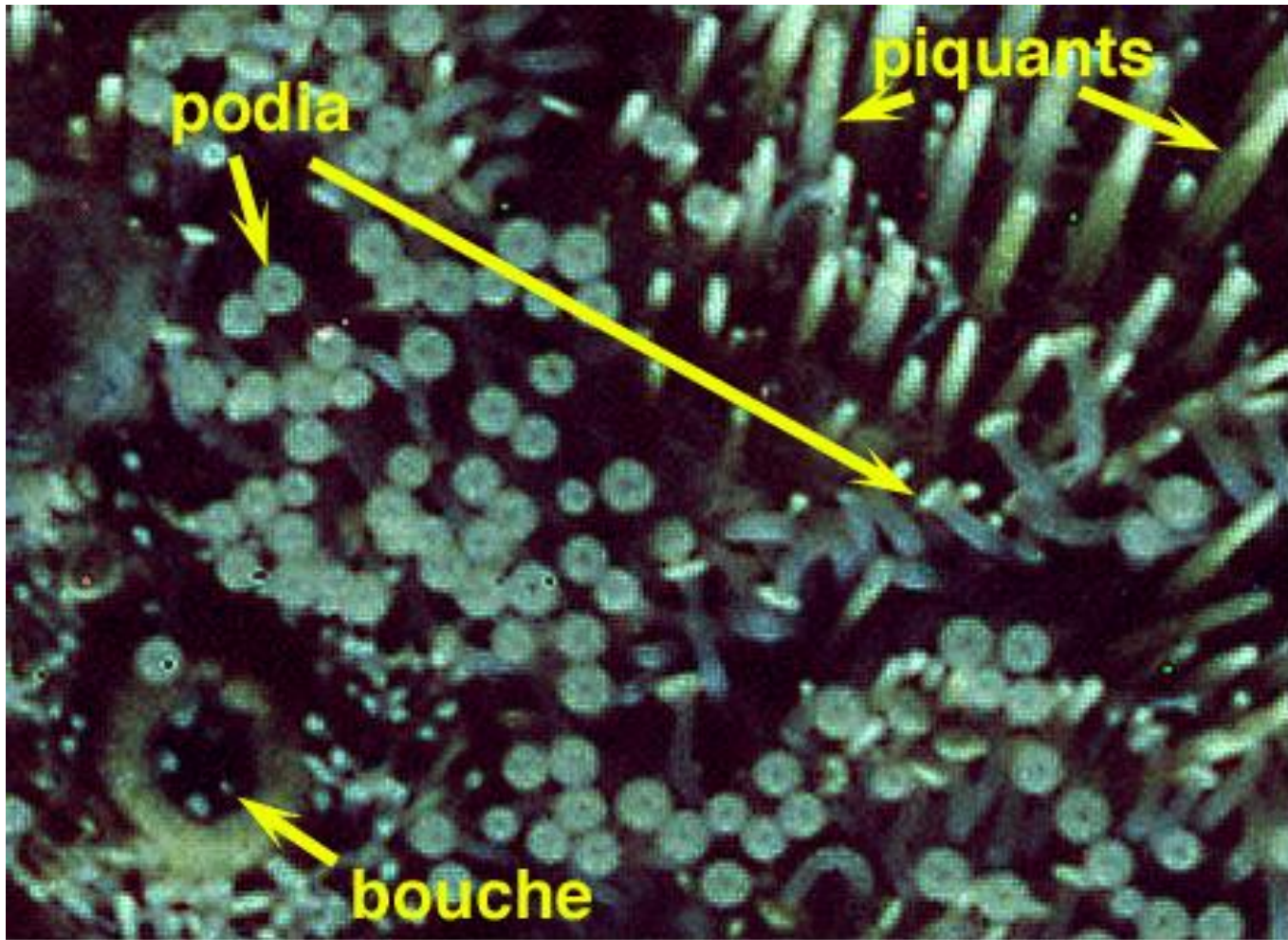
Figure 2.21
Major evolutionary divergences in extant animals. Other models of evolutionary relationships among the phyla are possible. This grouping of metazoa is based on embryonic, morphological, and molecular criteria. (Based on J. R. Garey, personal communication.)

Deutérostomes

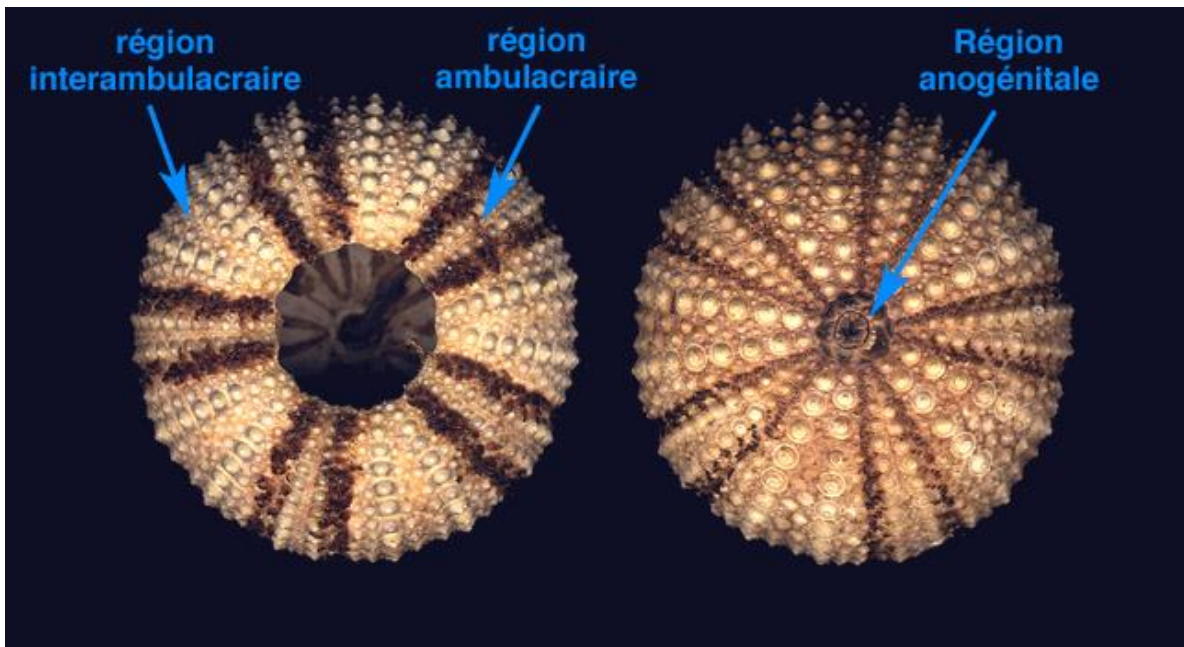
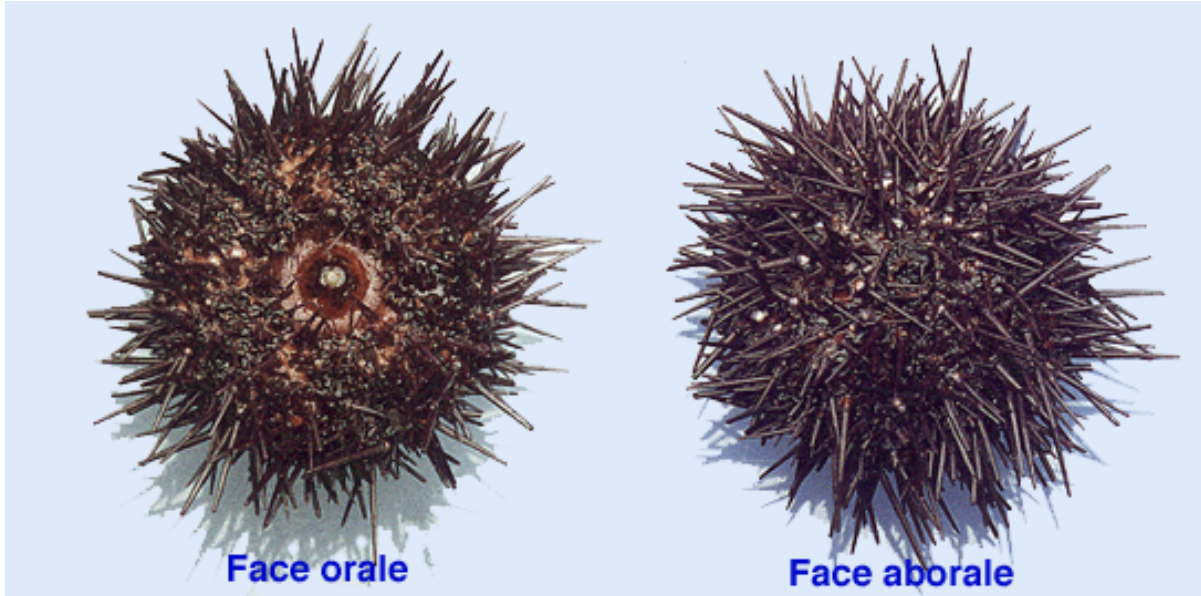
- Développement de la région anale avant la région buccale
- Segmentation holoblastique: totale
- Segmentation radiaire: plans de clivage parallèles ou perpendiculaires à l'axe primordial (A-V)
- Capacité de régulation des blastomères

Oursin adulte

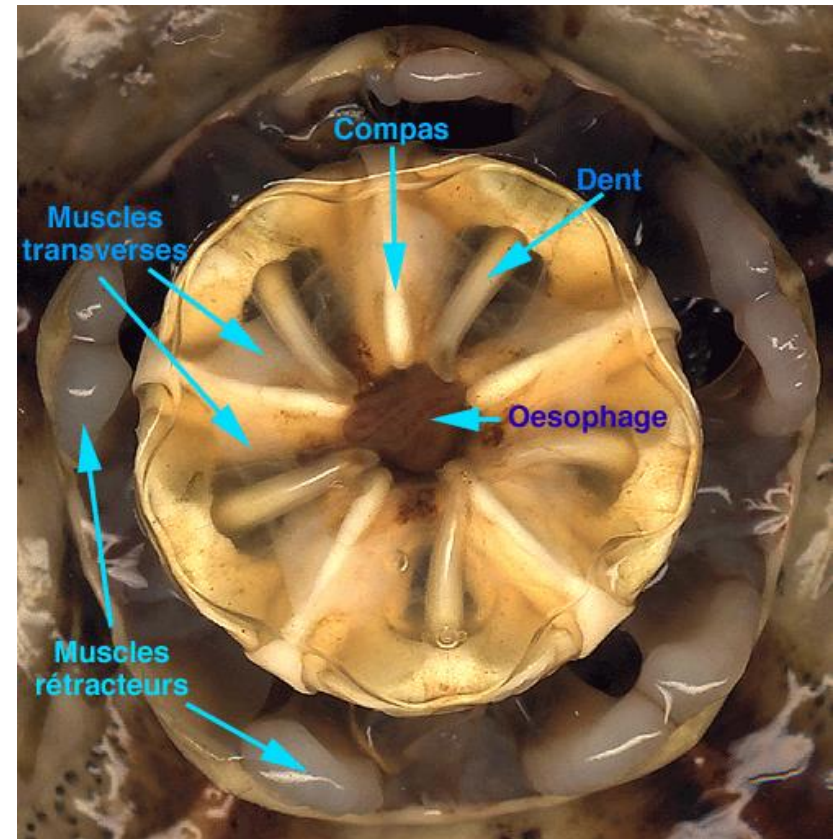
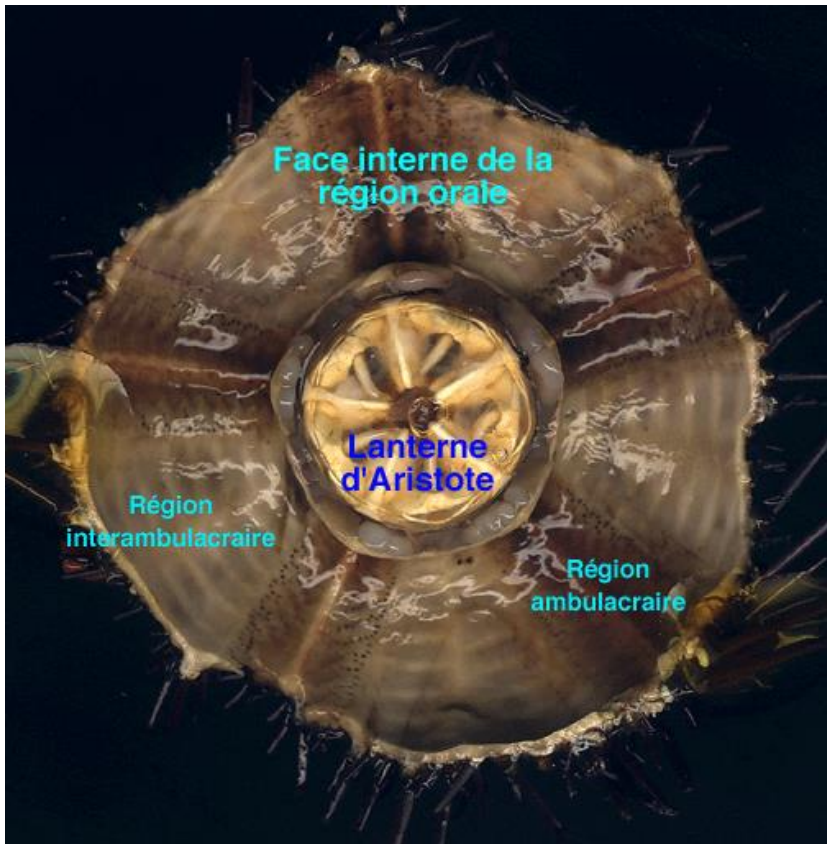




Détail de la région orale montrant les podia

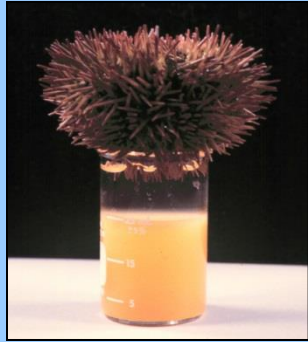


Test de *Paracentrotus lividus* vu de la face orale (à gauche) et de la face aborale (à droite).

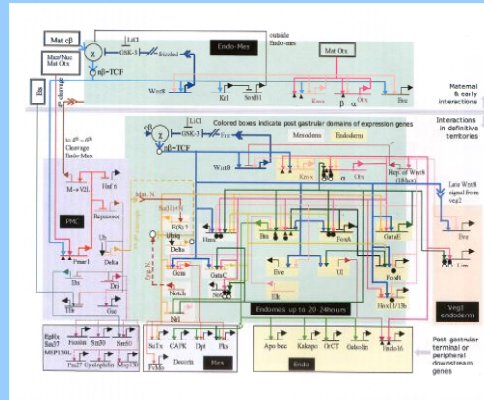


Vue interne d'une dissection de la région orale montrant la disposition de la "lanterne d'Aristote". On y reconnaît les 5 dents calcaires alternées avec une pièce squelettique articulée faisant office de pince : le compas. Divers muscles assurent les mouvements des dents. On remarquera la rigoureuse conservation de la symétrie pentaradiée.

Avantages que présente l'oursin pour l'étude du développement animal

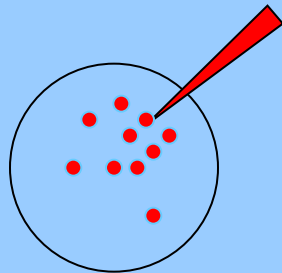


Génome de *S. purpuratus* séquencé (2006)

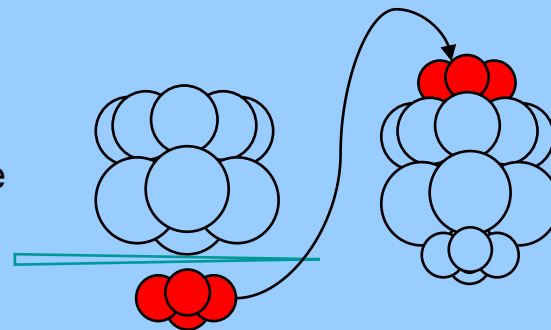


Embryon et larve transparents

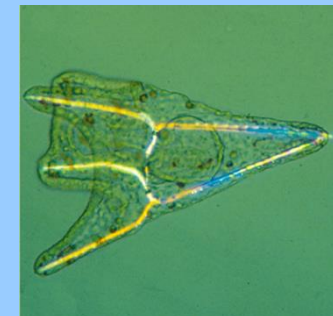
Grand nombre de gamètes
Fécondation et développement externes
Développement rapide et synchrone



Etude de la régulation/fonction d'un gène par injection d'ADN, ARNm, ou morpholinos



Manipulation aisée
(transplantation/dissociation cellulaire)

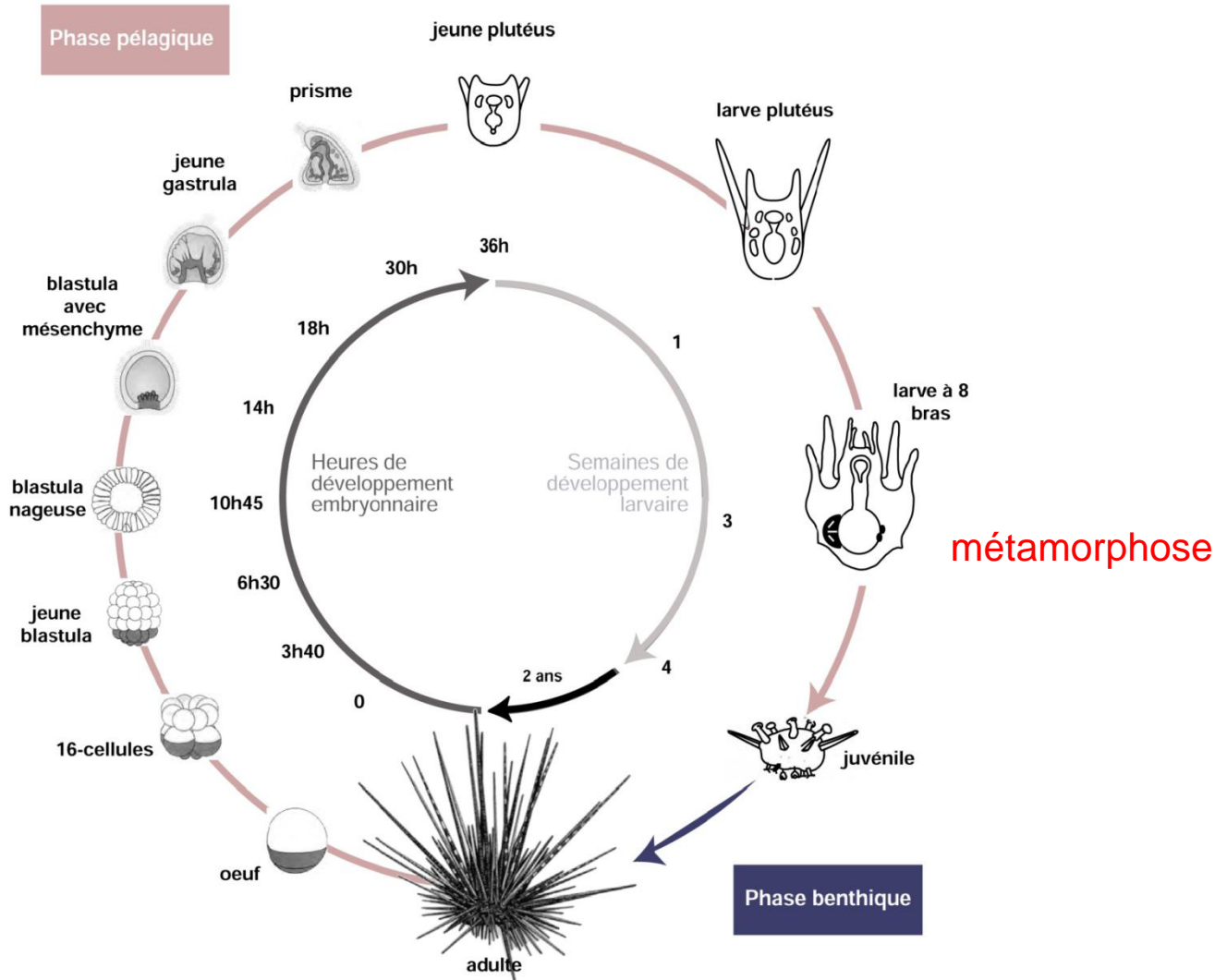


Structure simple (peu de cellules)

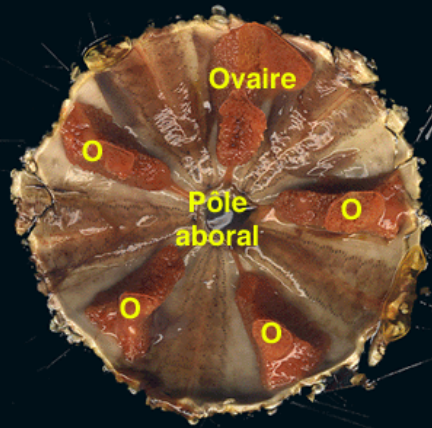
Inconvénients

- Production saisonnière des gamètes (de janvier à juin pour *Paracentrotus lividus*)
- Analyse génétique classique impraticable car temps de génération trop long (années)

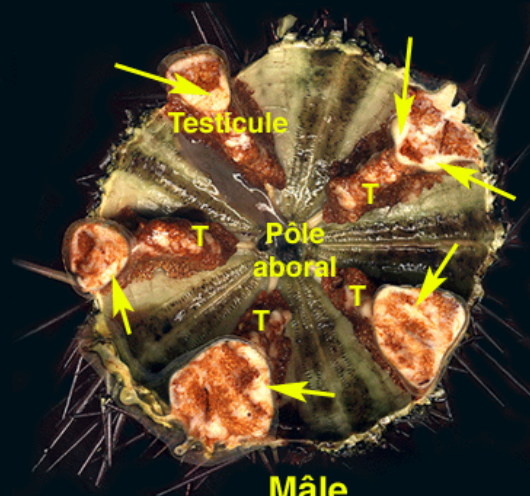
Le développement indirect de l'oursin



Les gamètes

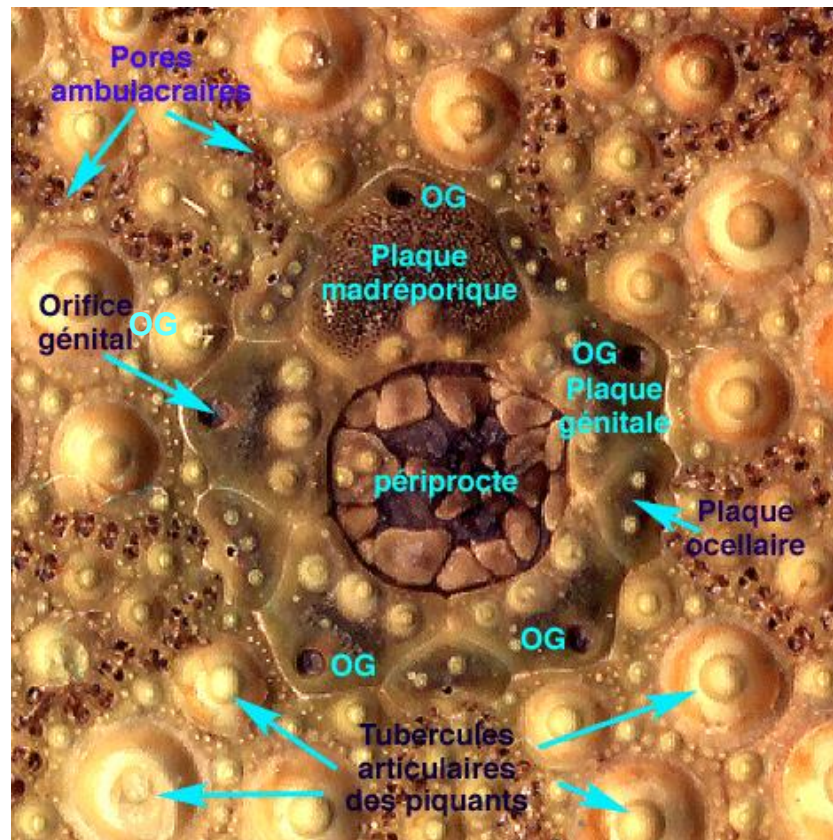


Femelle



Mâle

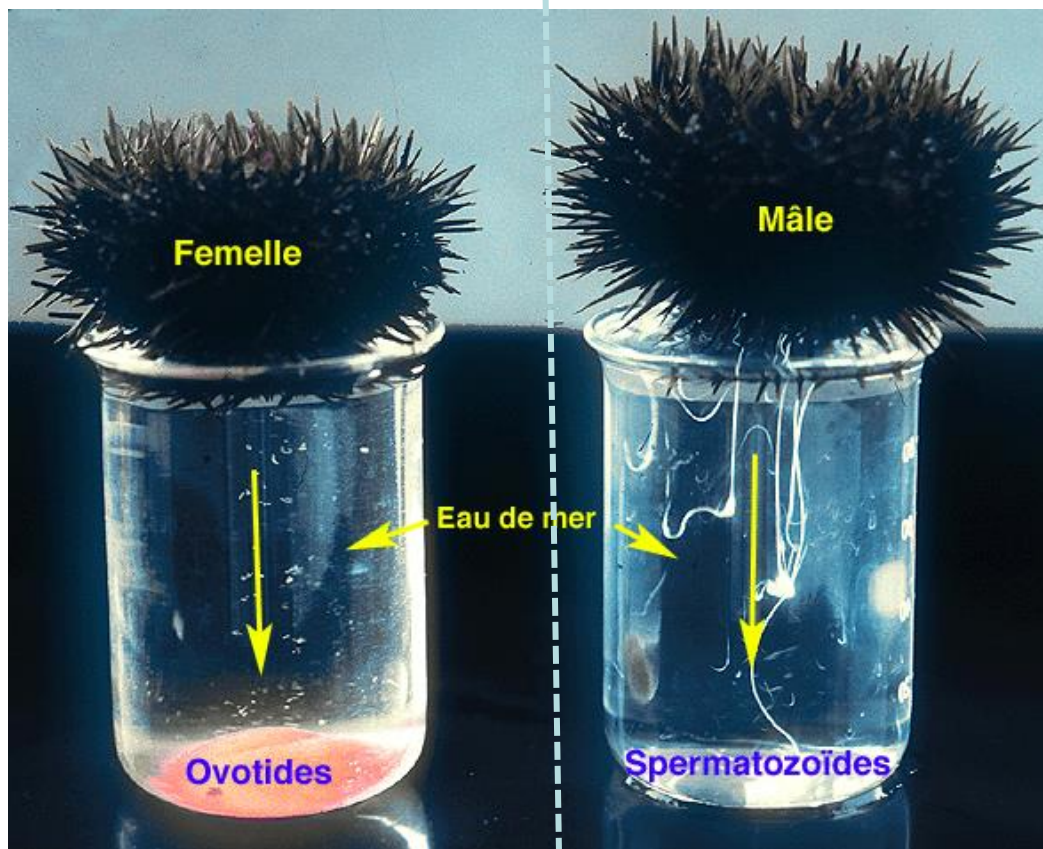
5 orifices génitaux



Vue externe
de la région aborale
(ano-génitale)

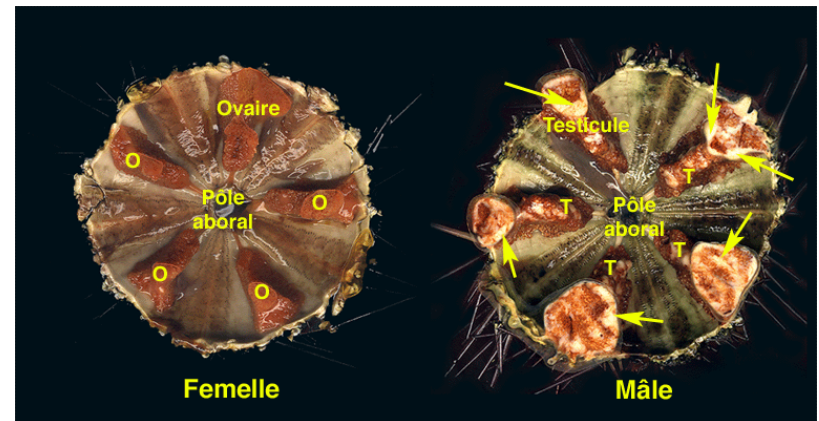
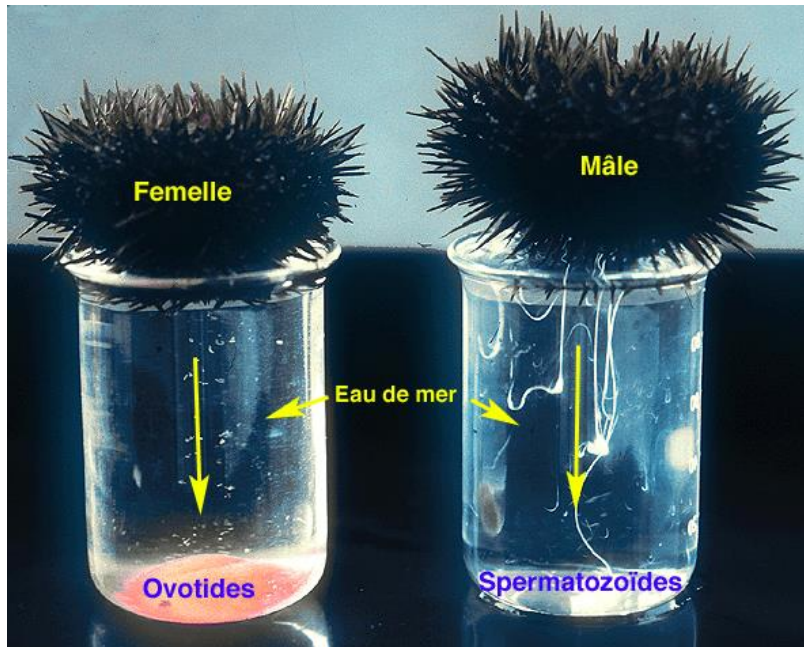


Vues de la région aborale



Les gamètes

Ponte « naturelle »



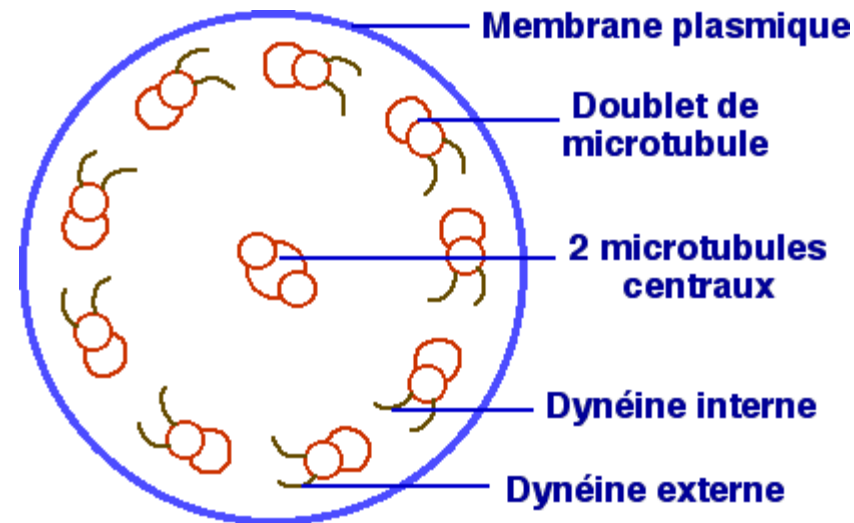
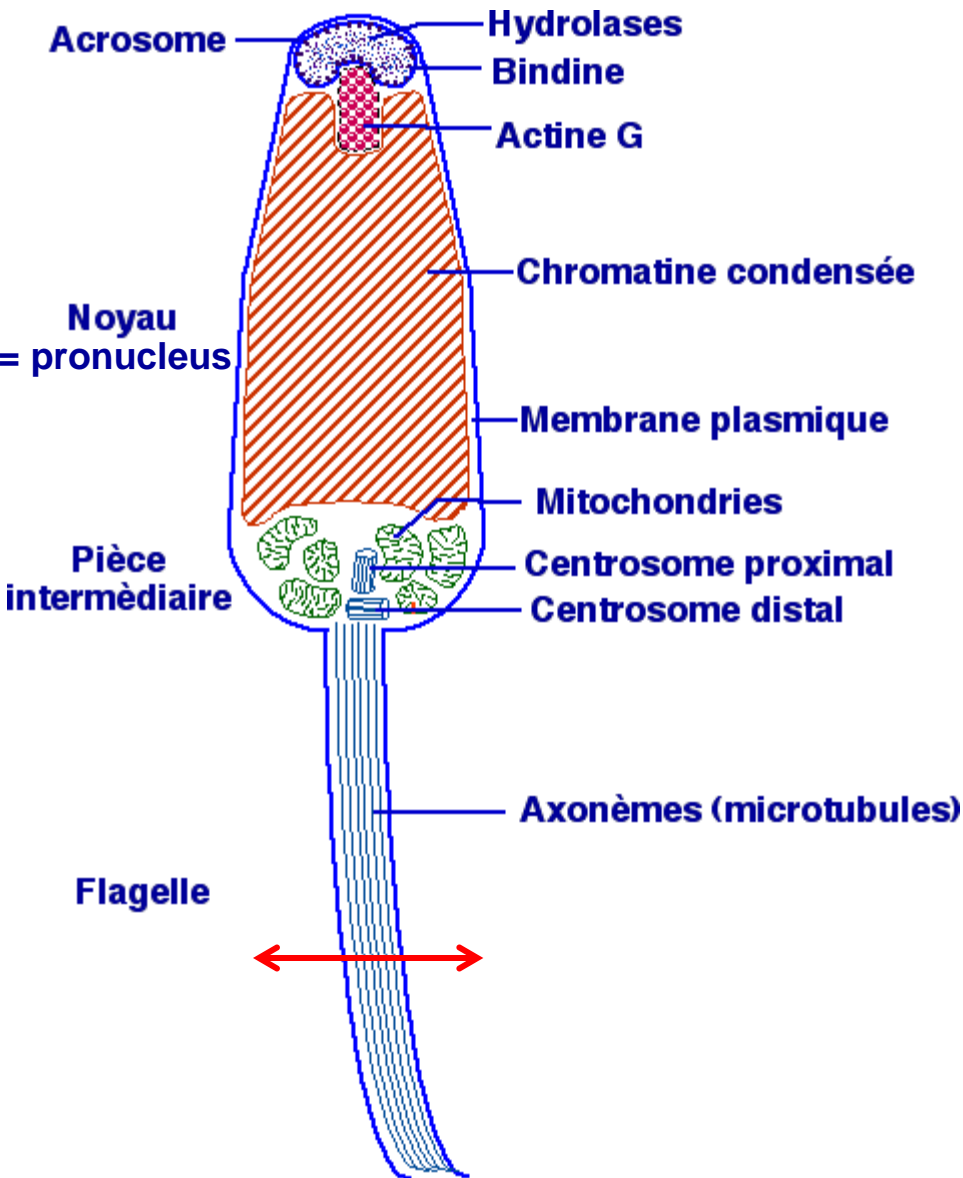


Schéma simplifié d'une coupe transversale dans un flagelle de spermatozoïde.

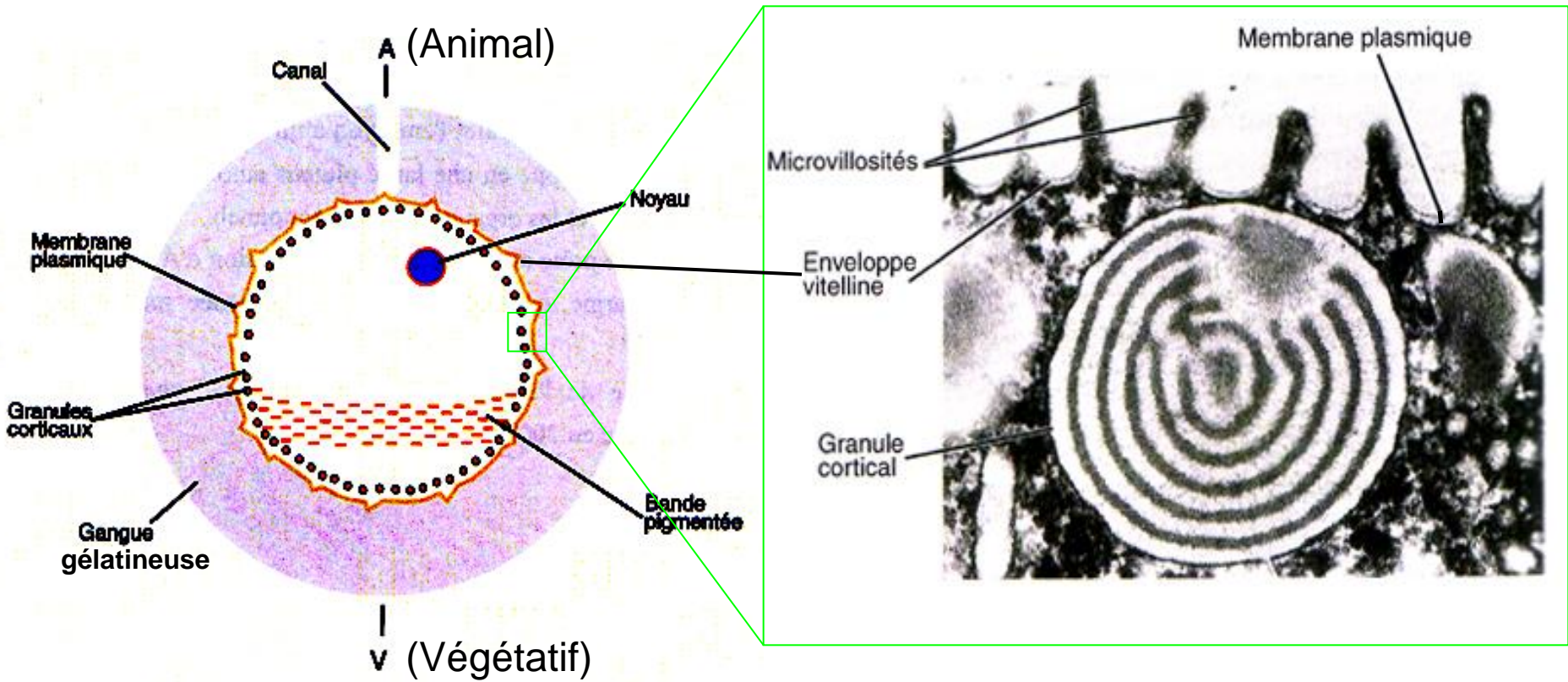
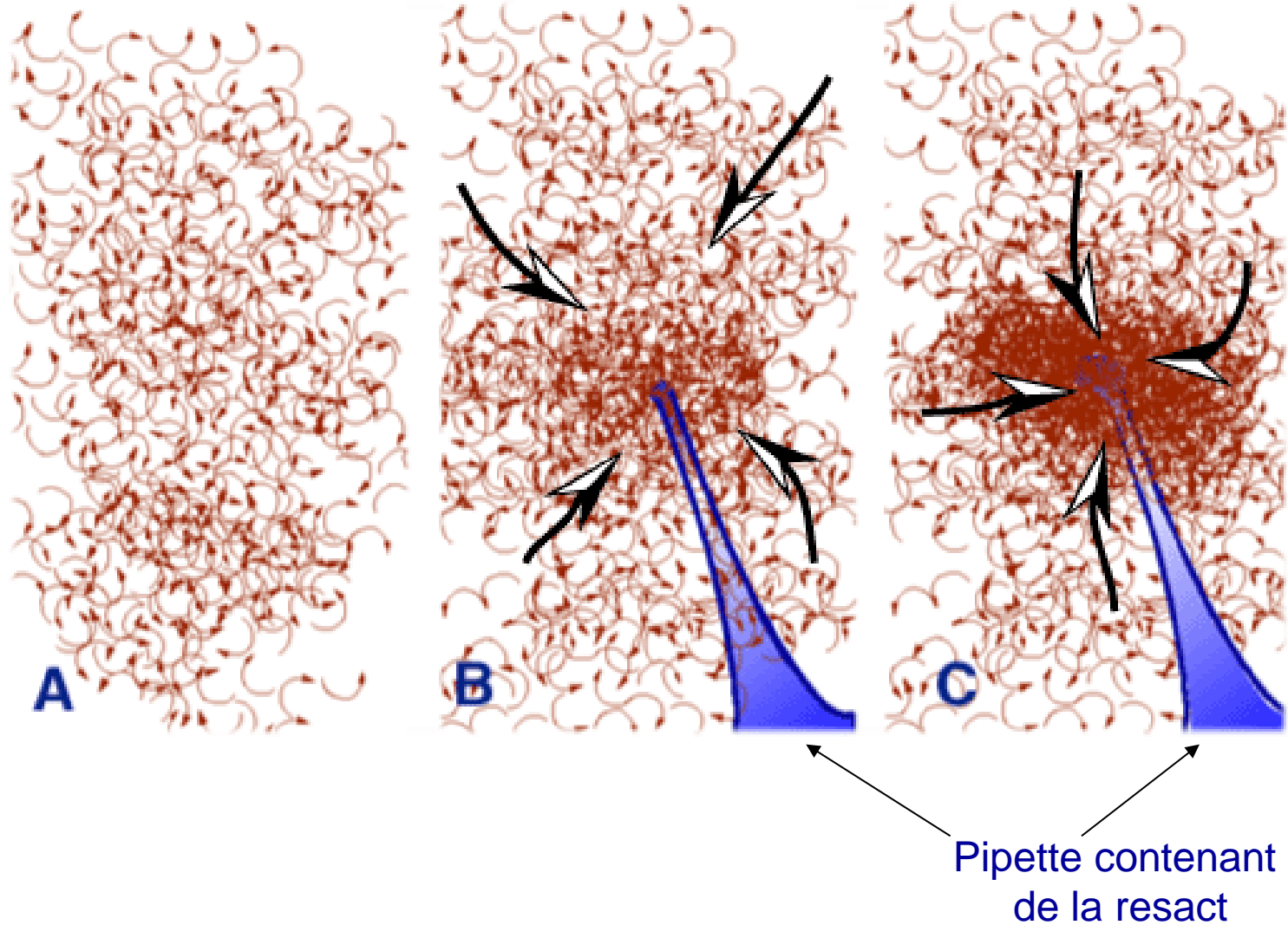


Schéma d'un oeuf non fécondé

(enveloppe vitelline non représentée, mais accolée à l'extérieur de la membrane plasmique)

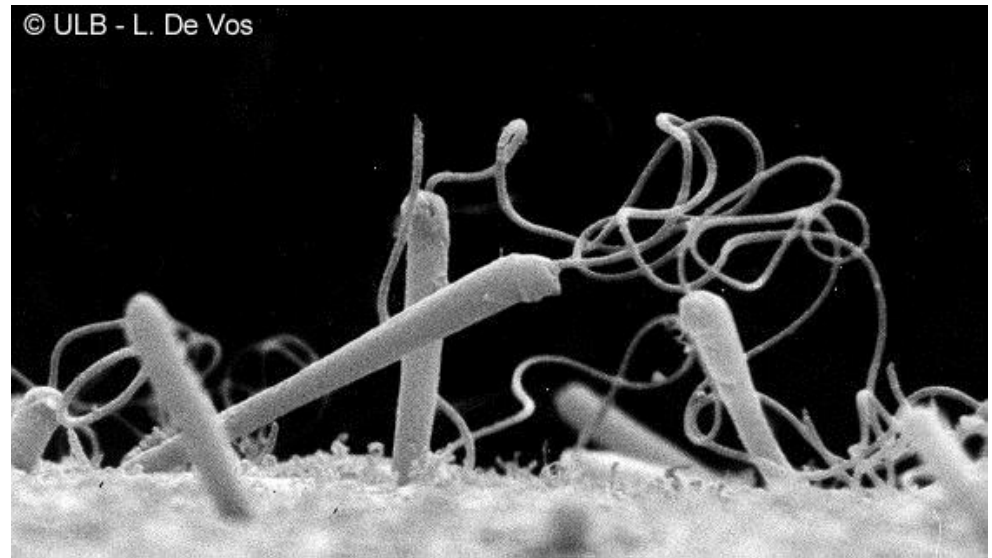
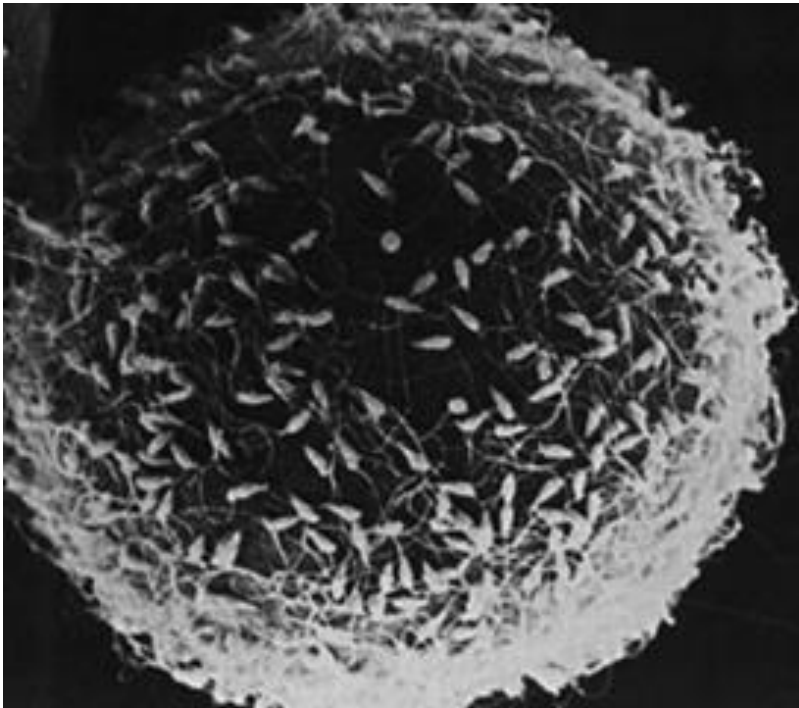
Coupe d'un œuf non fécondé



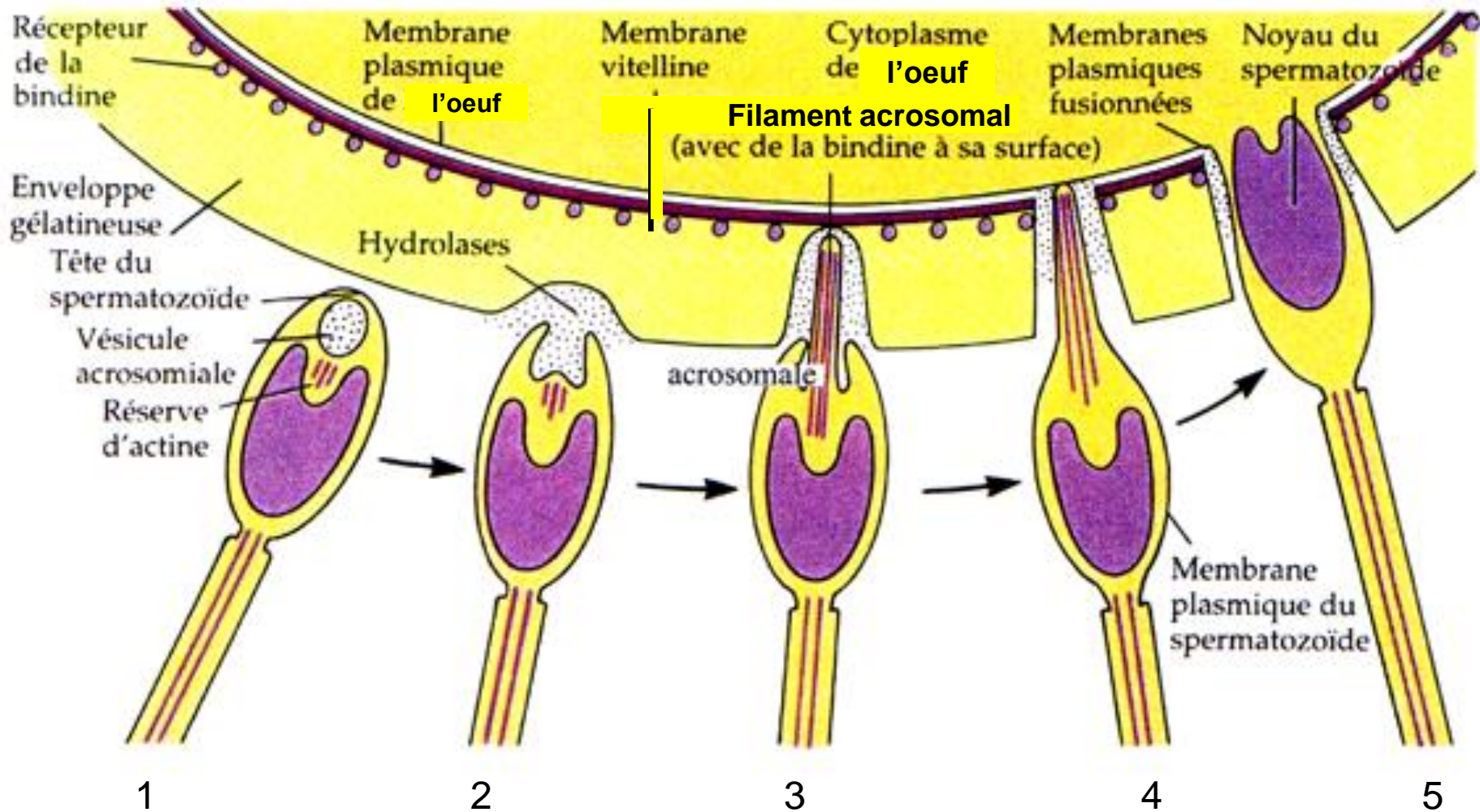
Pipette contenant
de la resact

Mise en évidence de l'attraction des spermatozoïdes par une molécule chimiotactique, la resact (peptide de 14 AA), trouvée dans la gangue gélatineuse.

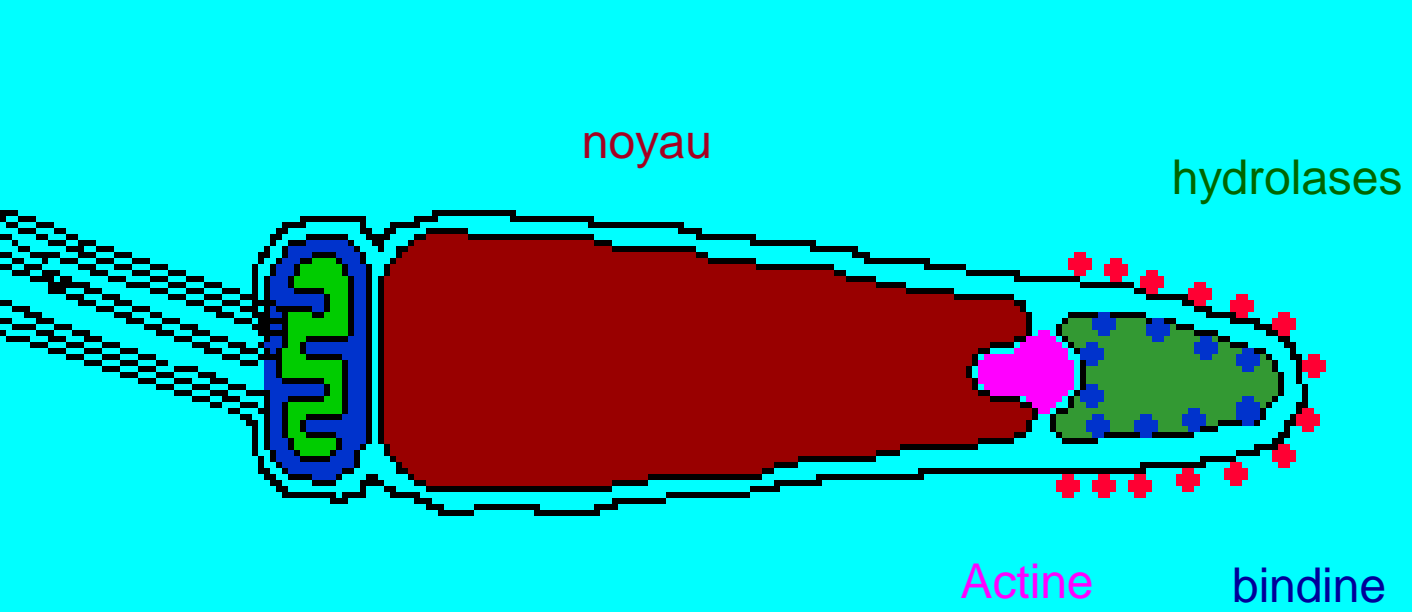
Fécondation

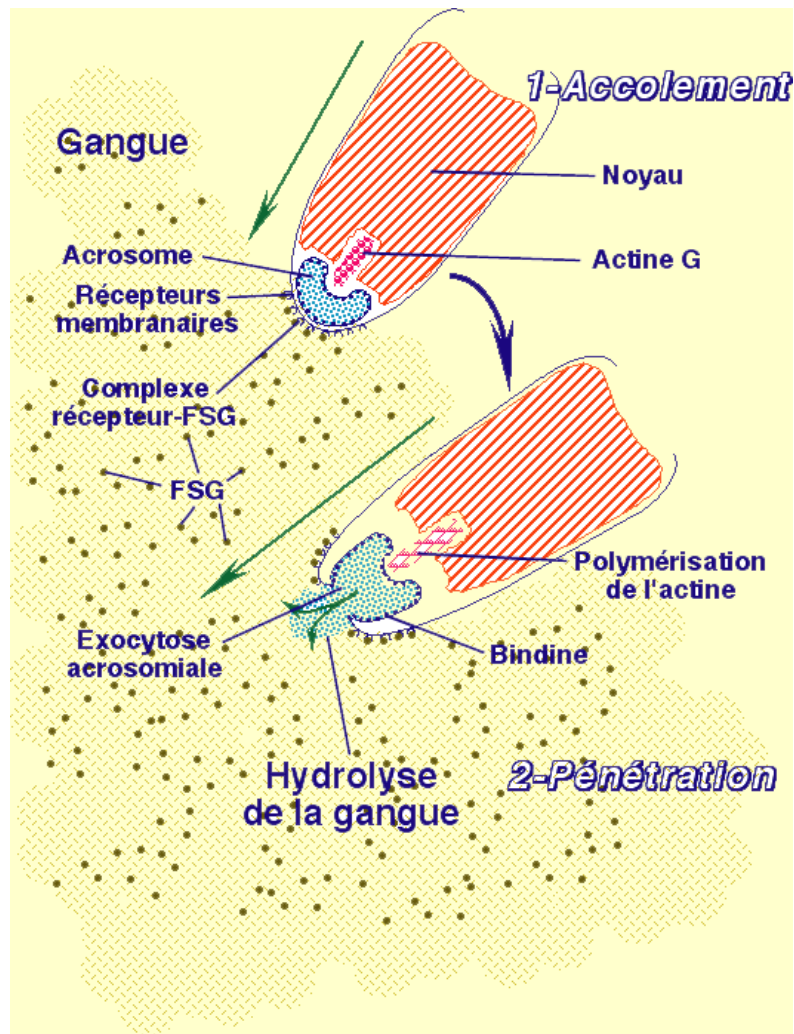


Réaction acrosomale du spermatozoïde

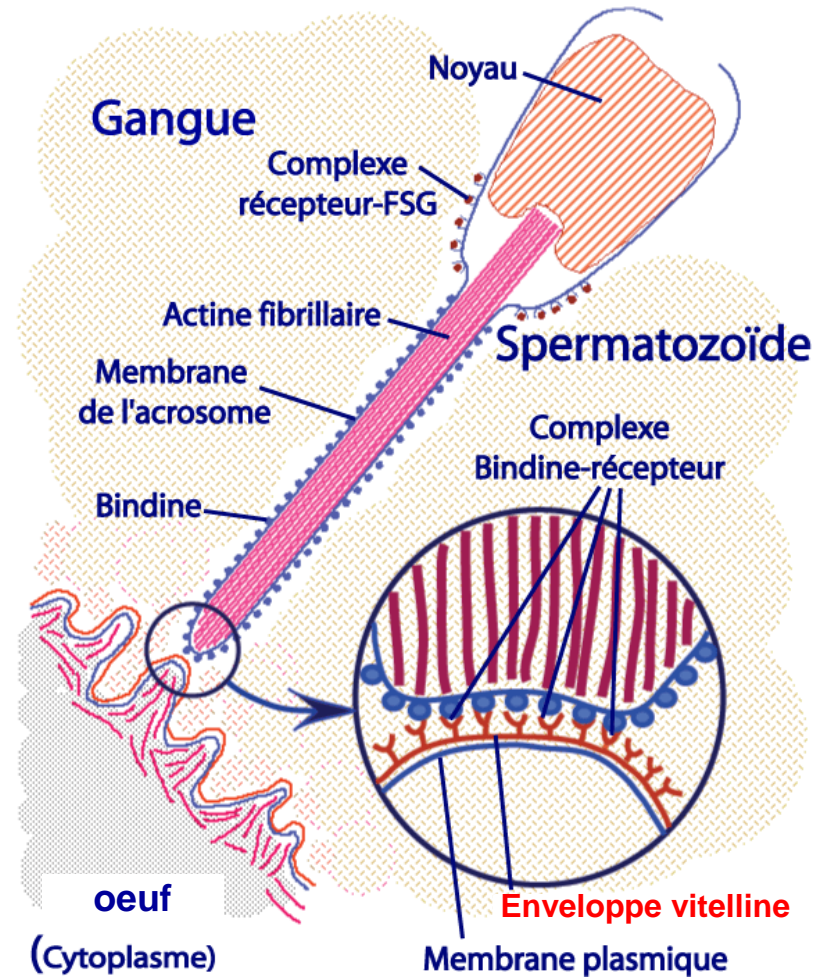


Gangue
gélatineuse



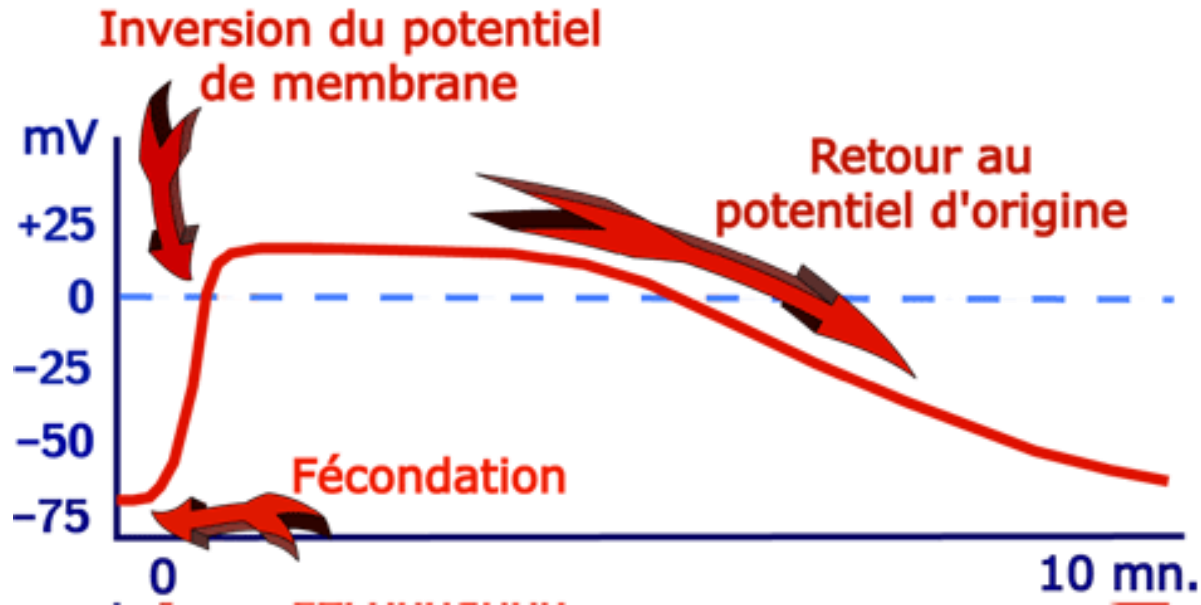


Contact et accolement du spermatozoïde avec la gangue de l'œuf, suivi de la pénétration de la tête spermatique.



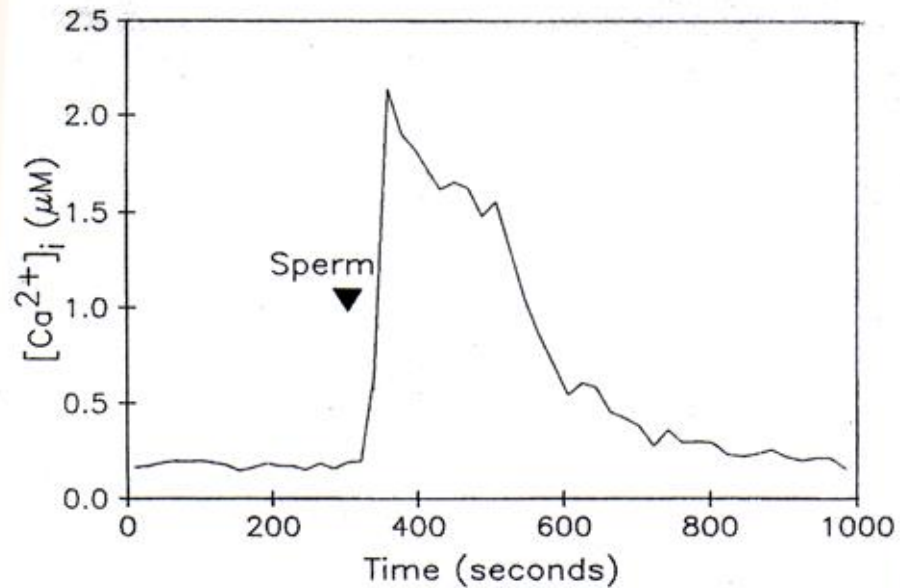
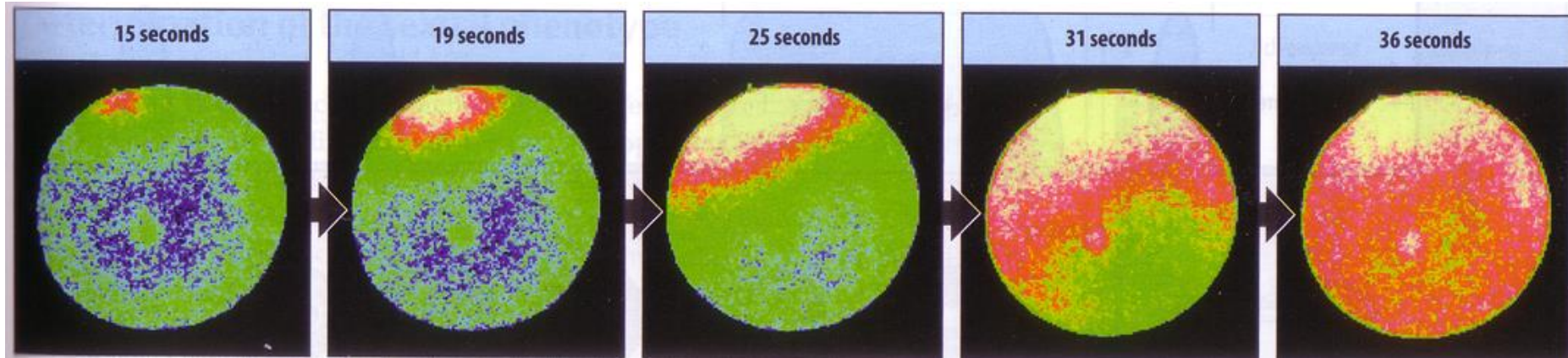
Traversée du processus acrosomal à travers la gangue.

Blocage précoce et transitoire de la polyspermie

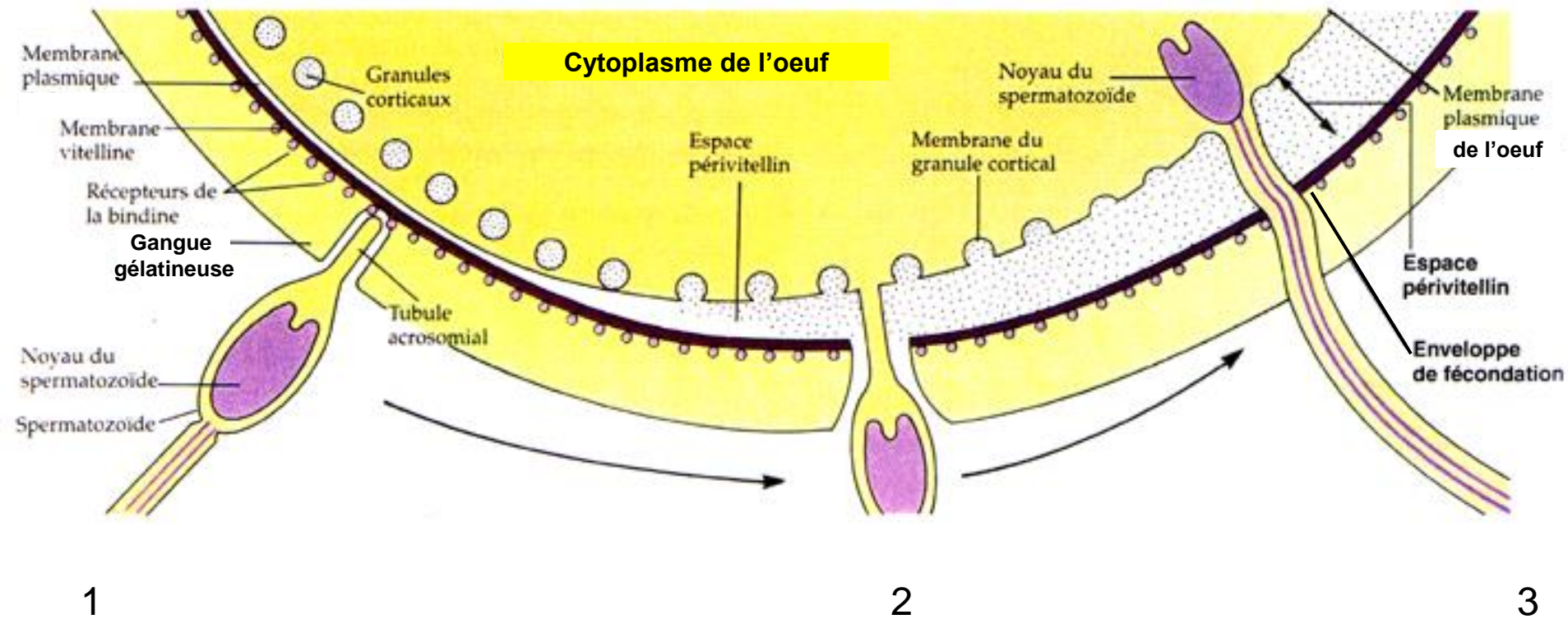


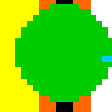
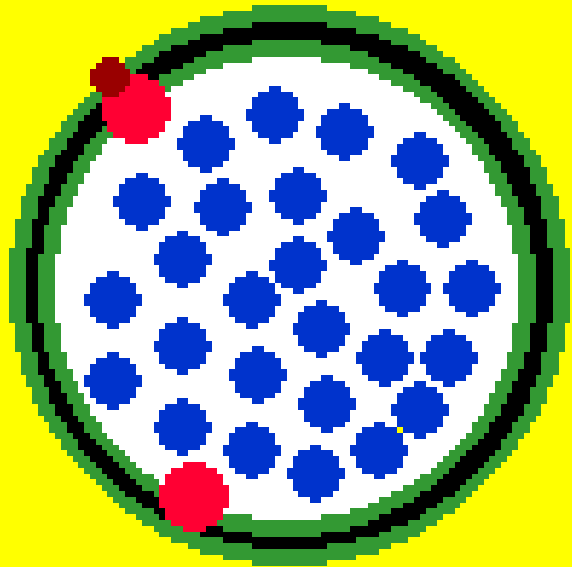
Modification transitoire du potentiel électrique de la membrane de l'oeuf d'oursin, consécutive à l'entrée du spermatozoïde.

Augmentation transitoire du calcium intracellulaire au cours de la fécondation



Réaction corticale de l'oeuf





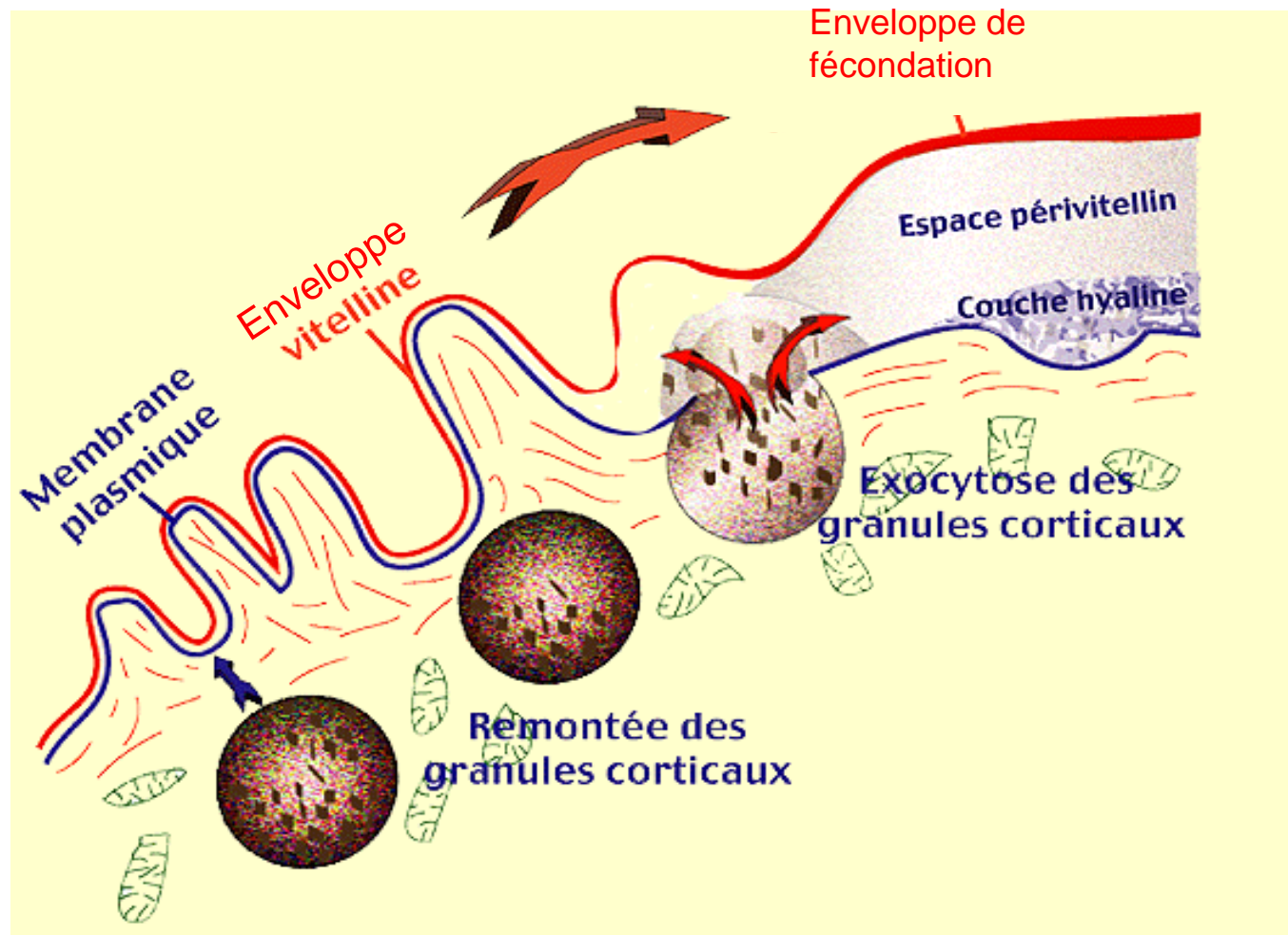
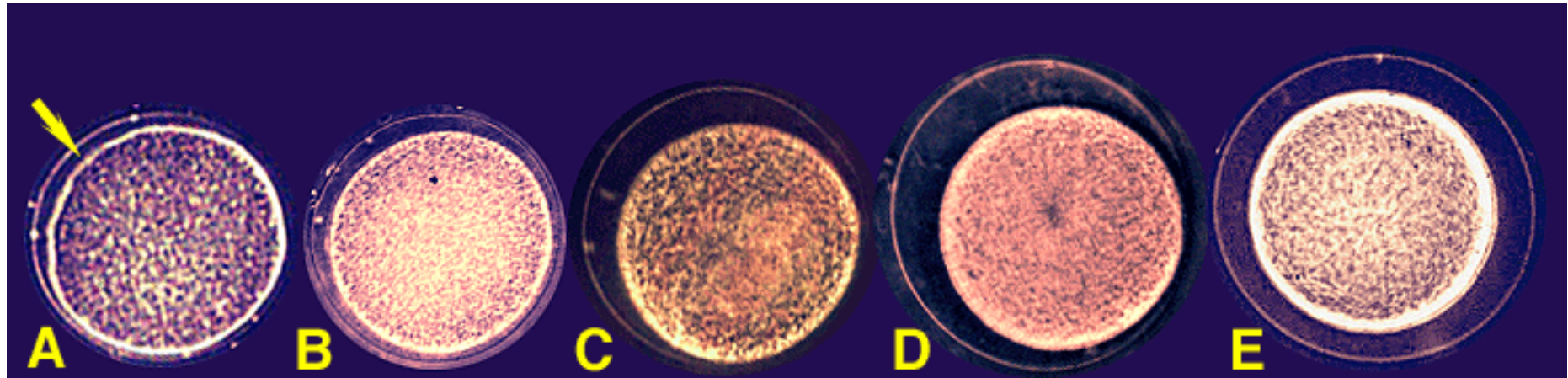
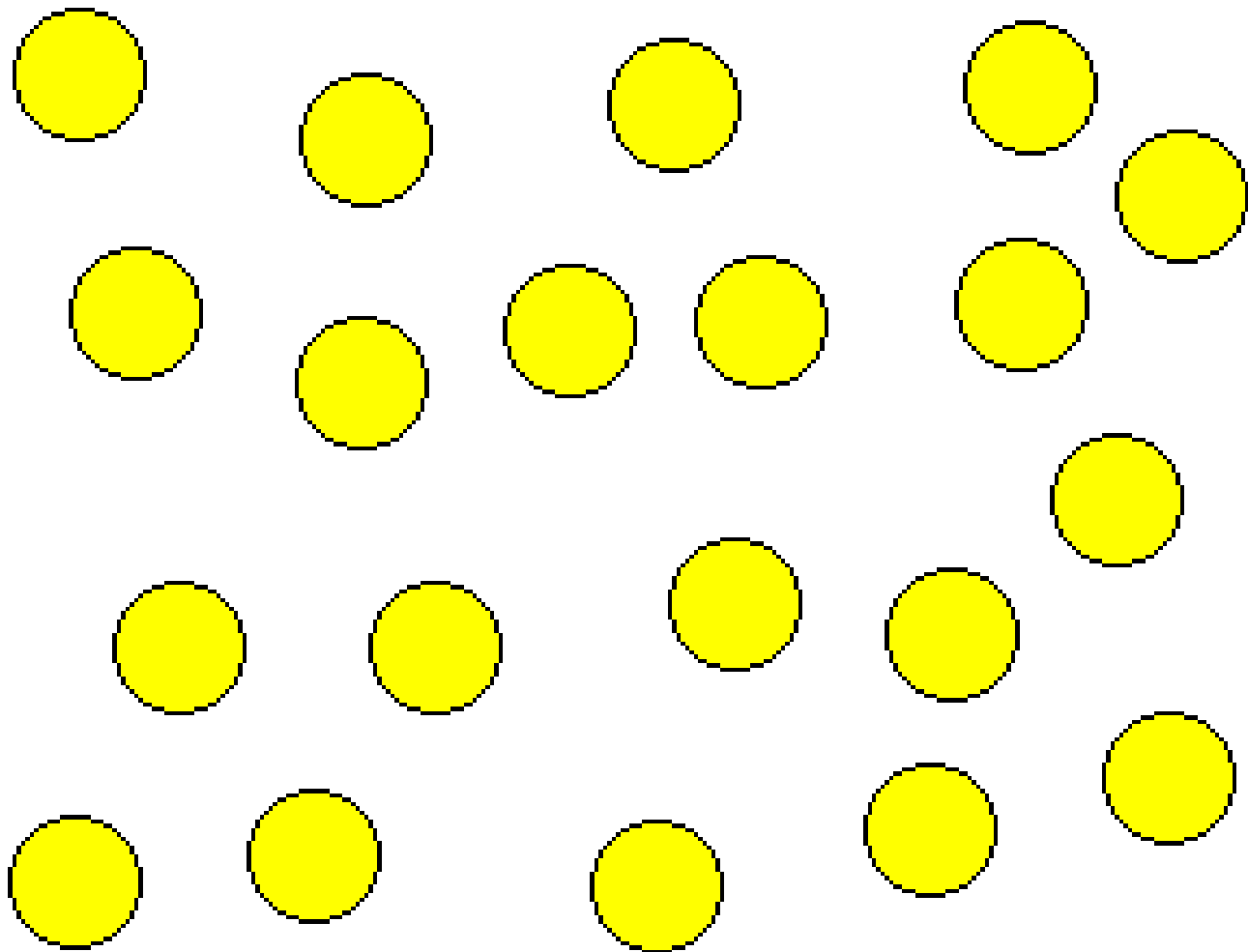


Schéma montrant le soulèvement de l'enveloppe de fécondation et la formation de l'espace périvitellin.

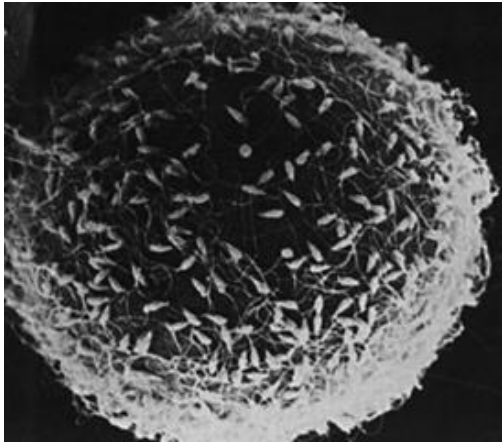
Blocage tardif et définitif de la polyspermie



L'enveloppe de fécondation commence son soulèvement à partir du point d'entrée du spermatozoïde (A) (flèche jaune). Le soulèvement progresse de manière concentrique jusqu'à l'opposé de ce point d'entrée (de A à E).



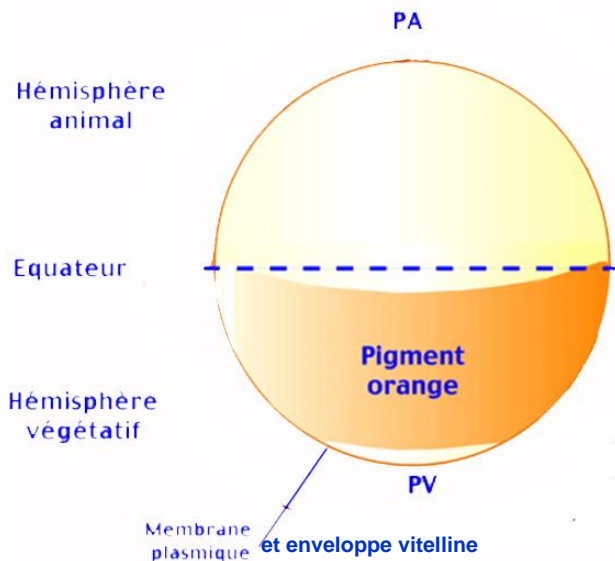
La fécondation



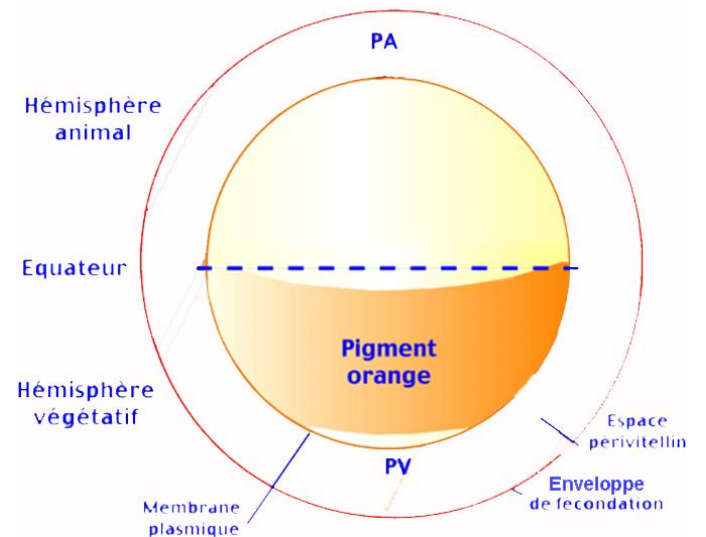
Enveloppe de fécondation



Œuf non fécondé



Œuf fécondé



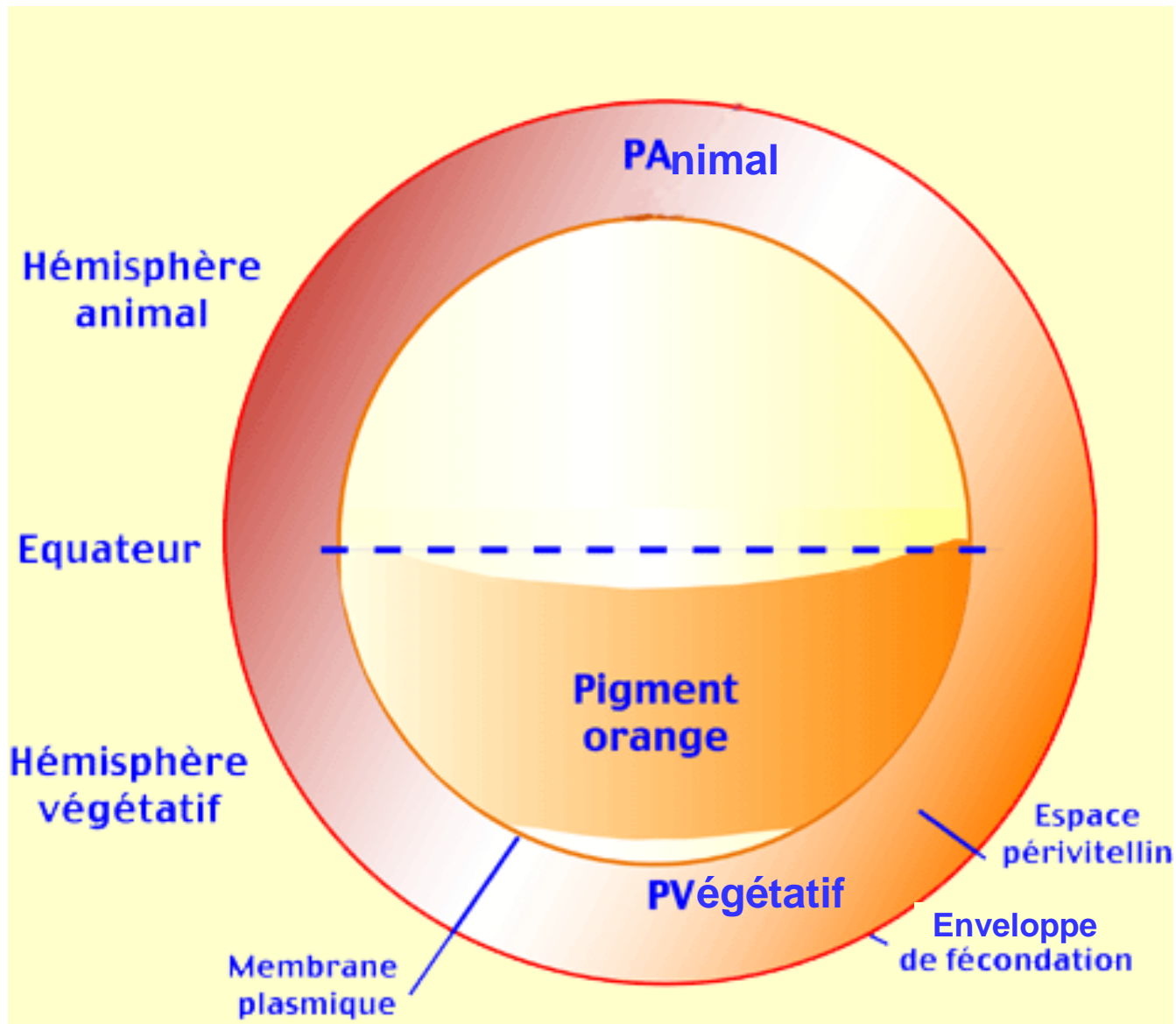
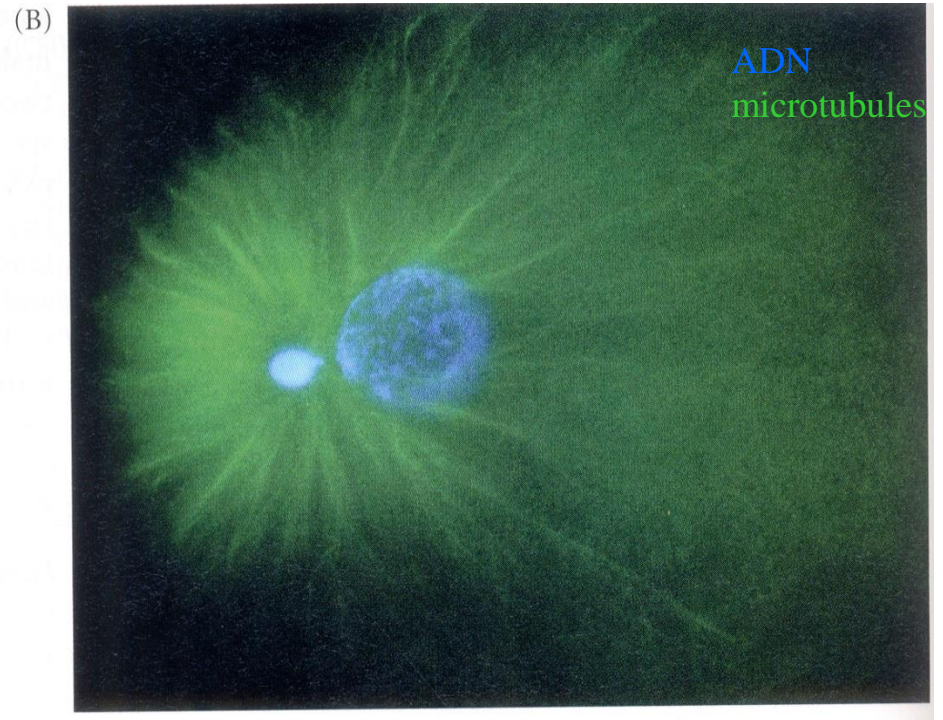
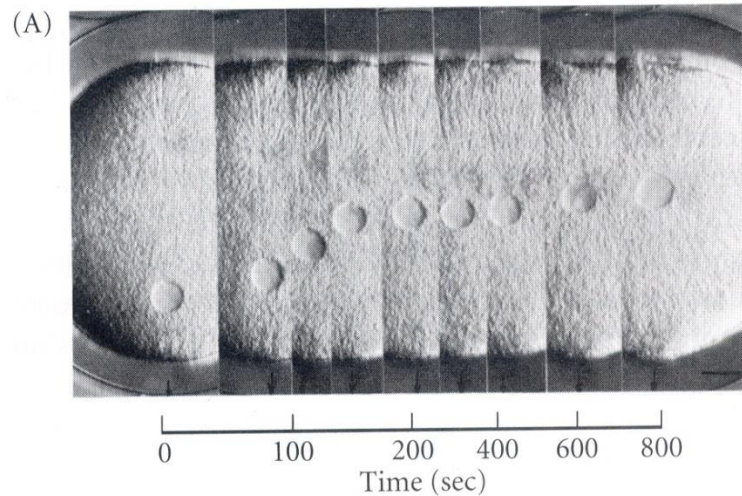


Schéma de l'oeuf fécondé

Amphimixie

1877 Hertwig: fusion des pronuclei à la fécondation



Le noyau du zygote provient de la fusion du pronucleus mâle et du pronucleus femelle, donc contribution des deux parents.

Segmentation de l'embryon d'oursin

- Holoblastique

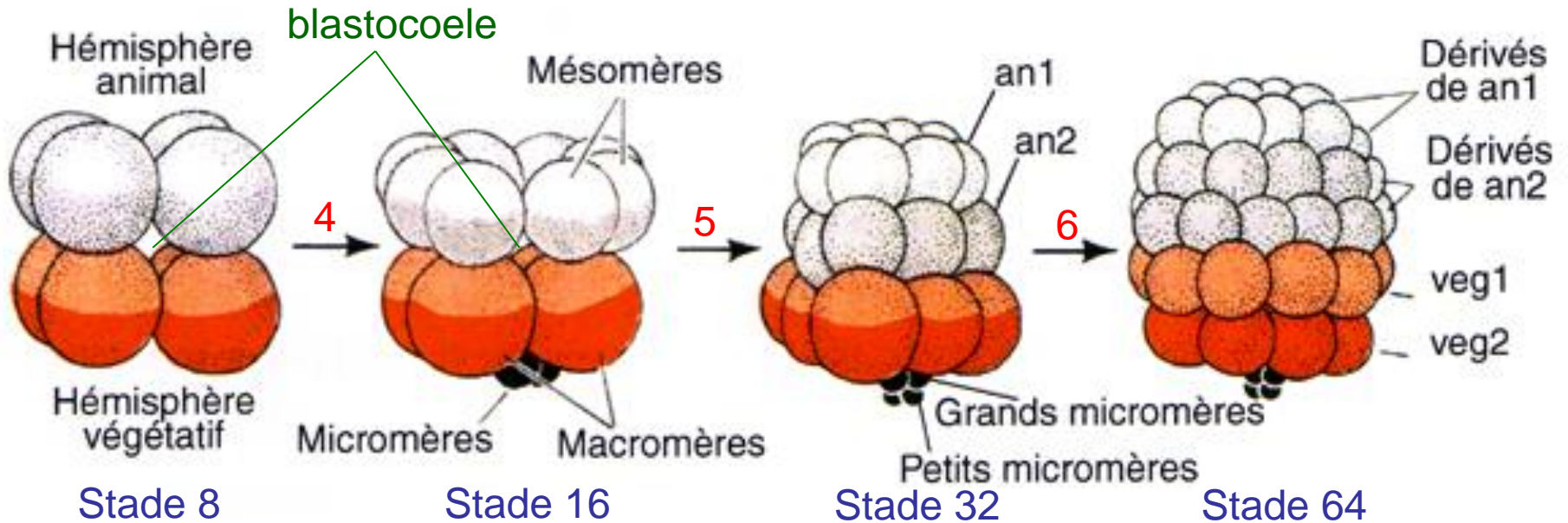
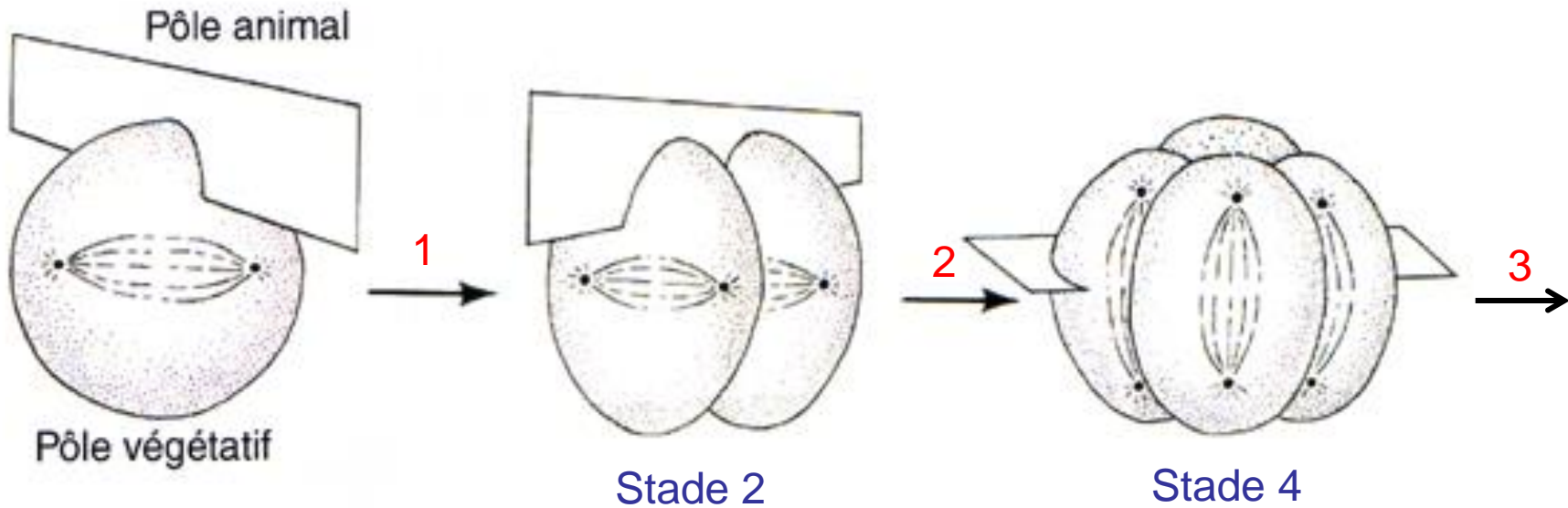
- Radiaire

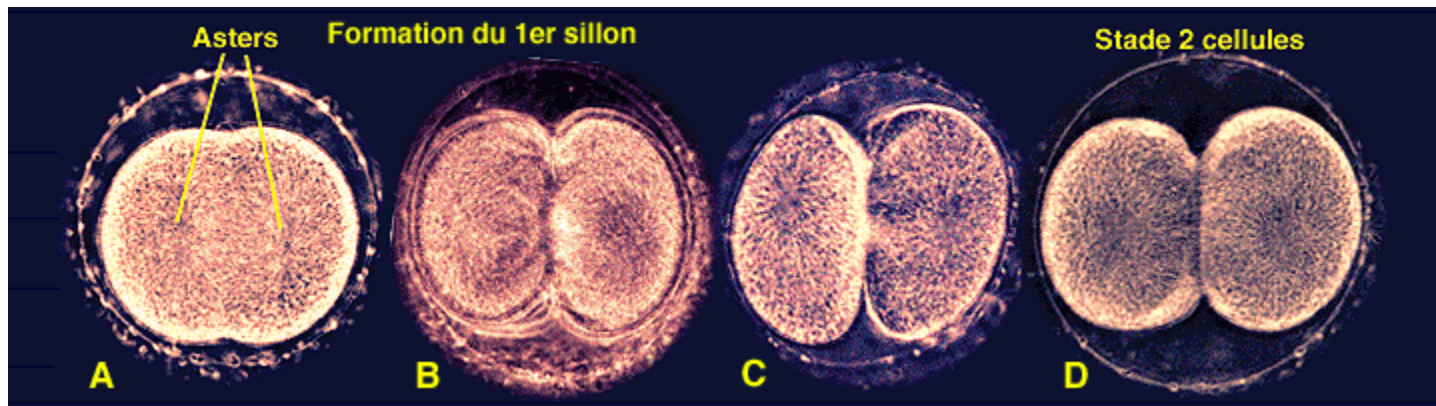
- Réductive

- Fin marquée par l'éclosion (stade blastula)



Segmentation de l'embryon d'oursin





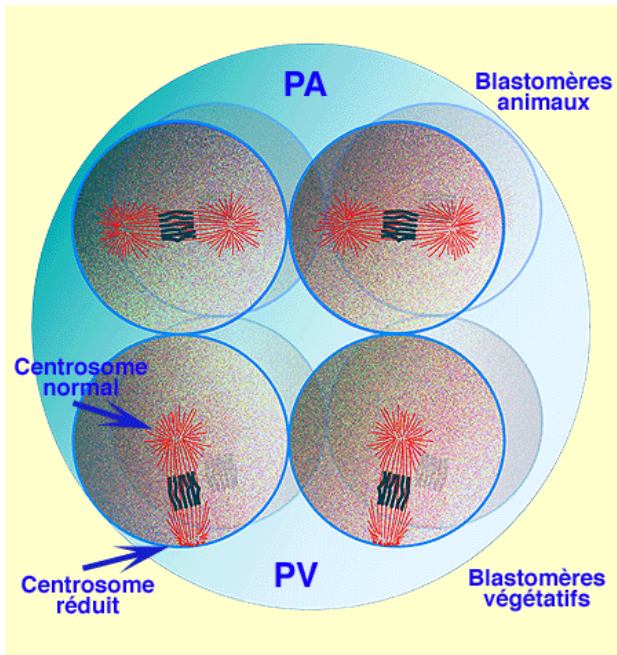
Première mitose conduisant au stade 2 blastomères.

Le premier sillon de clivage est méridien.

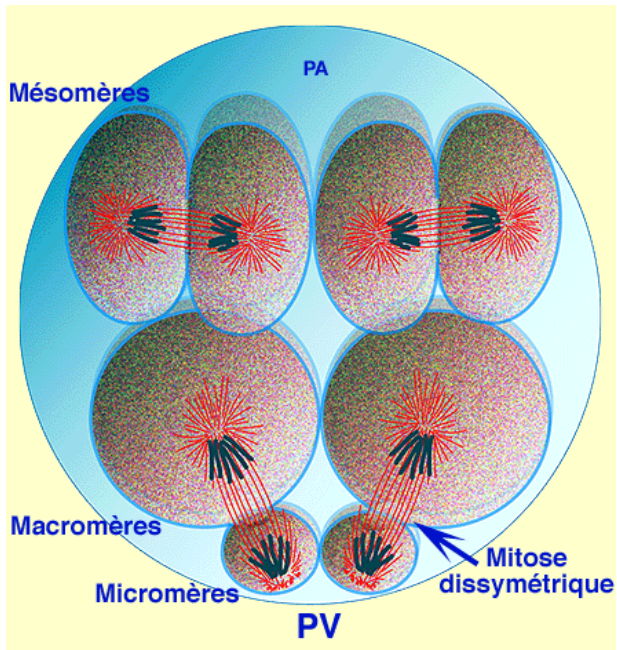
Il débute sous forme d'une contraction corticale (A et B).

Puis la membrane plasmique néoformée individualise chaque cellule (C et D).



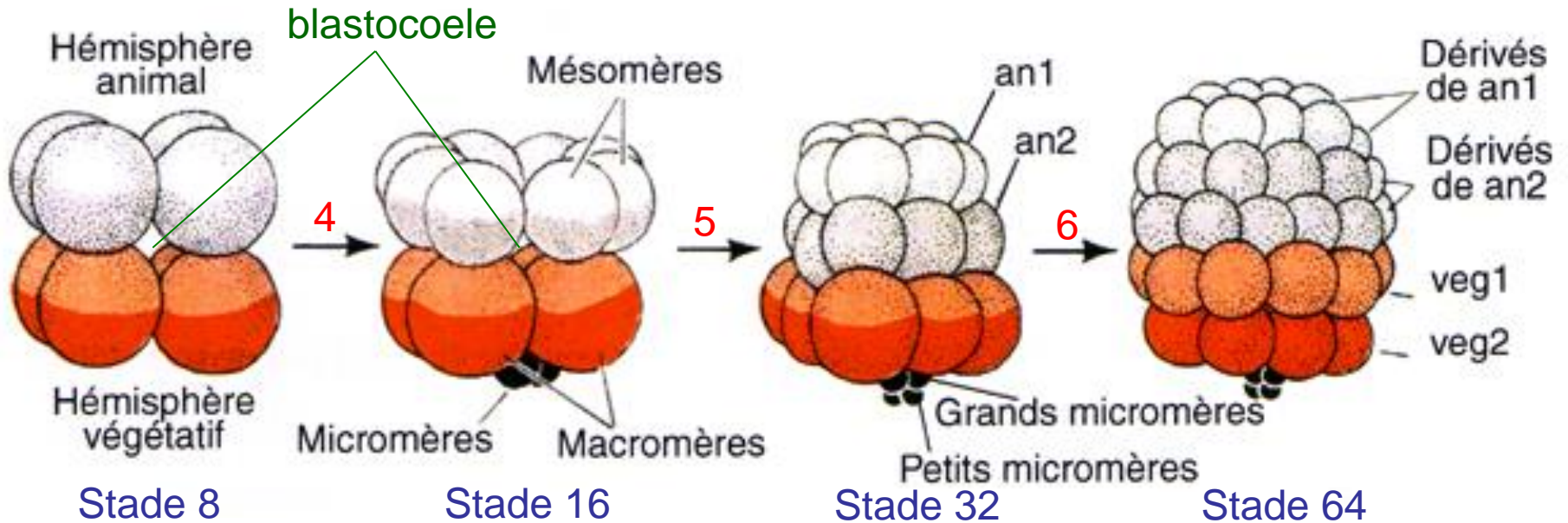
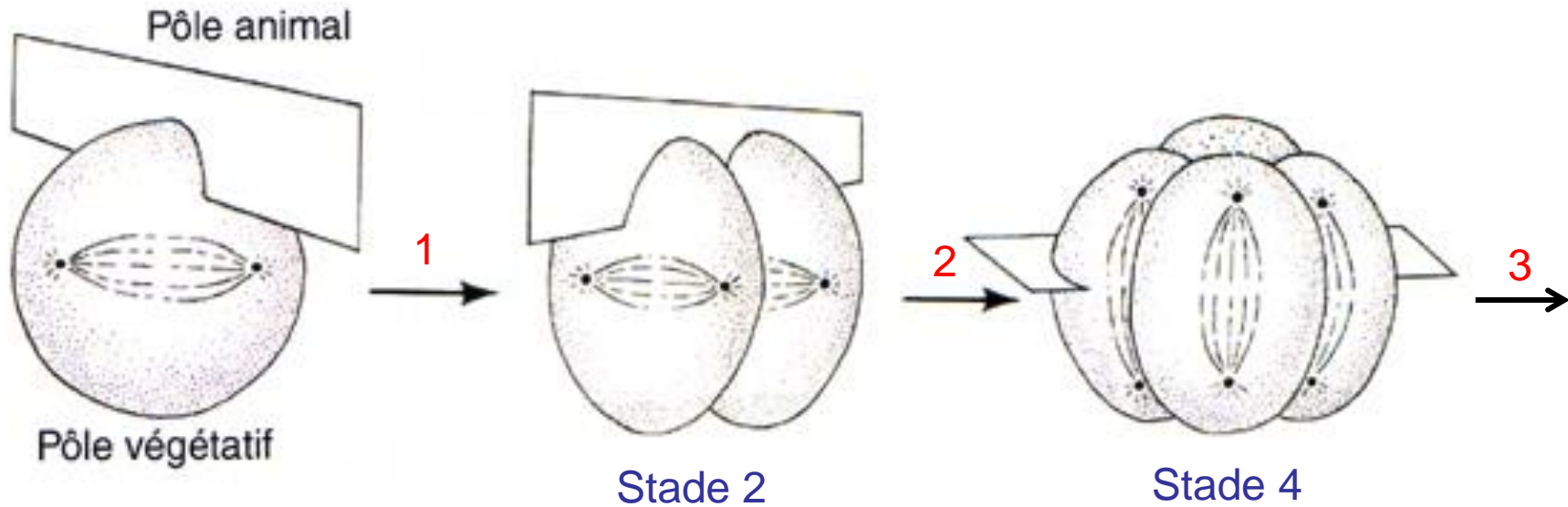


Au stade 8 cellules, les fuseaux mitotiques sont orientés perpendiculairement ou parallèlement à l'axe A/V selon qu'ils sont situés respectivement dans l'hémisphère animal ou végétatif. Dans les blastomères végétatifs, le fuseau est décentré vers le pôle végétatif. Le centrosome proche du pôle végétatif est plus petit que son homologue opposé et situé contre la membrane plasmique.



Dans l'hémisphère végétatif, le décentrement vers le pôle végétatif des fuseaux mitotiques, conduit au stade 16 à la formation de deux populations de blastomères inégaux, les macromères et les micromères.

Segmentation de l'embryon d'oursin



Etablissement d'une carte des territoires présomptifs à l'aide de traceurs fluorescents

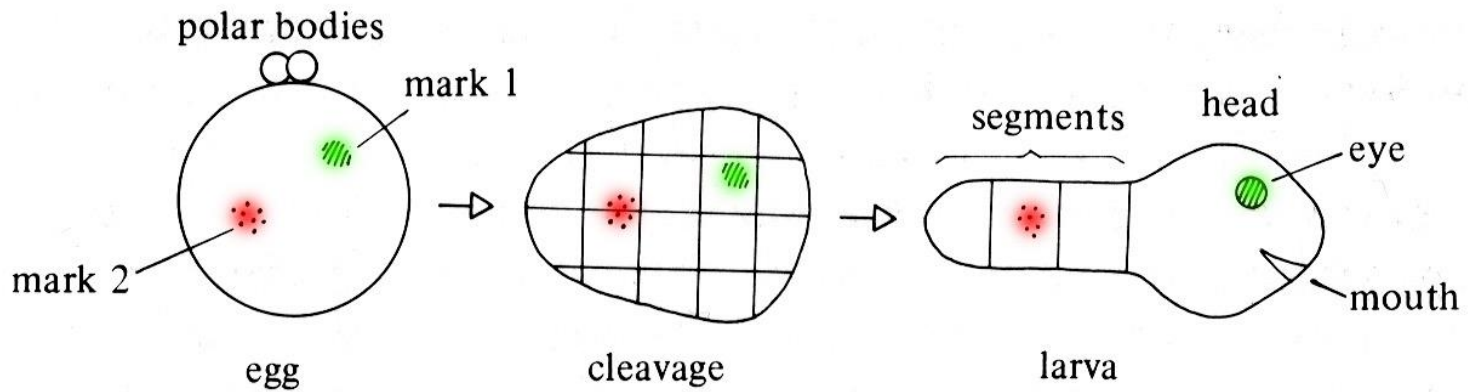
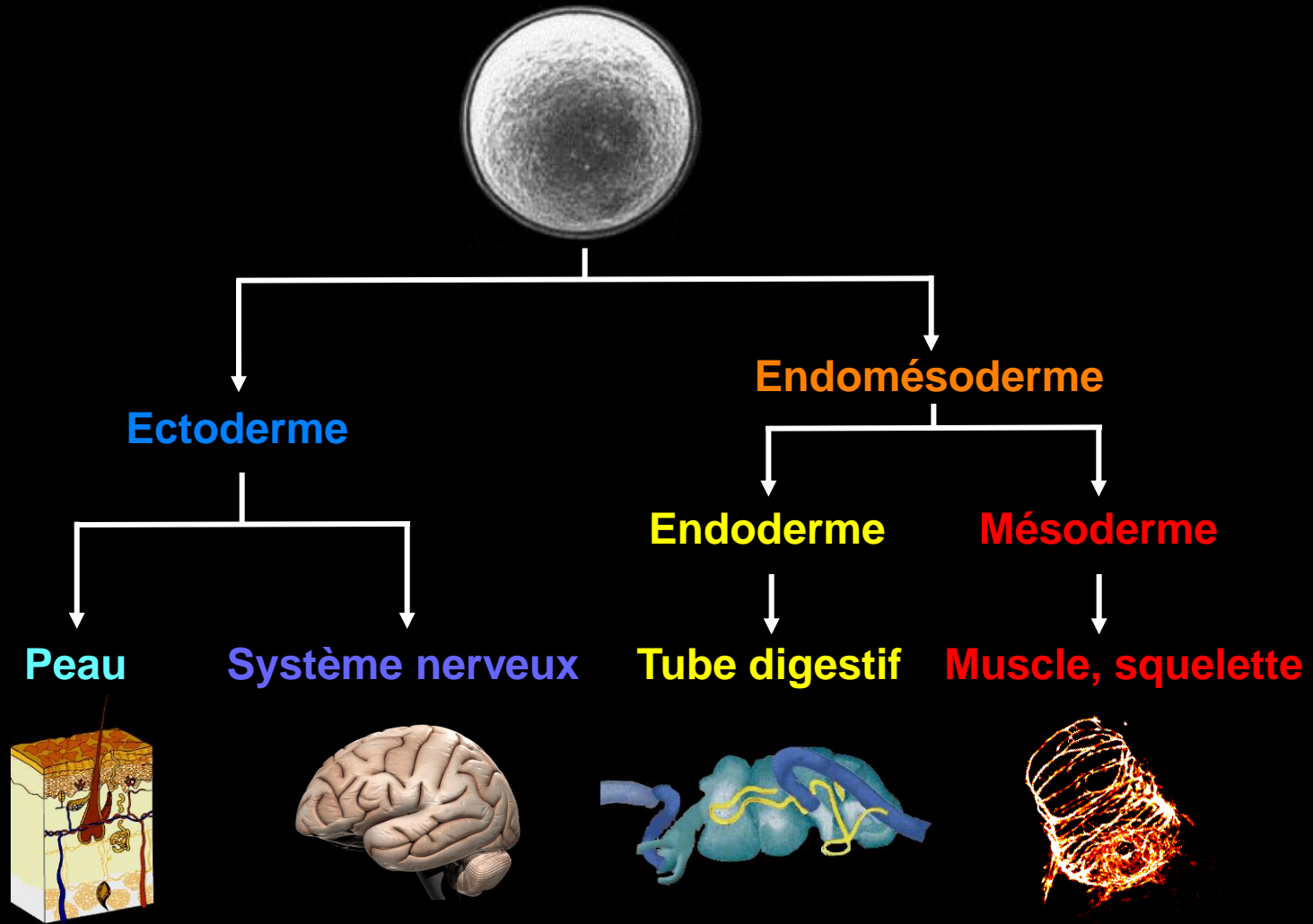


Fig. 2.1. The principle of fate mapping. In the absence of random cell mixing, marks placed on the egg will label particular regions of the larva, in this case the eye and the second abdominal segment.

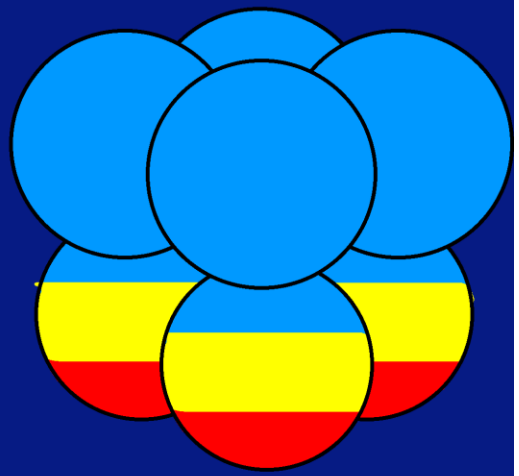
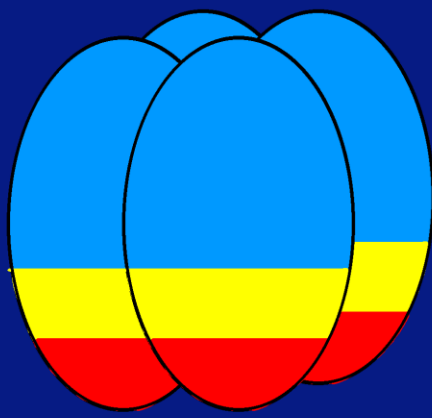
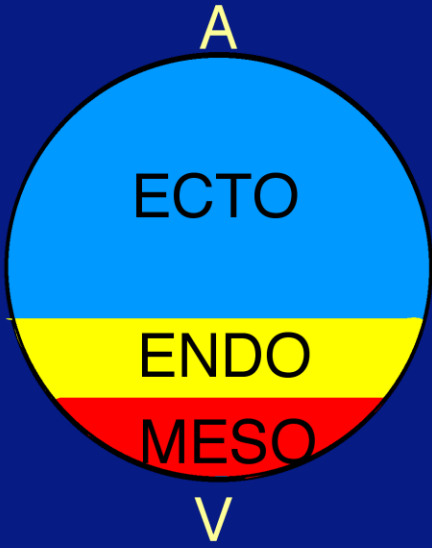
Identité et Destinée cellulaire



Fertilized Egg

4-Cell

8-Cell



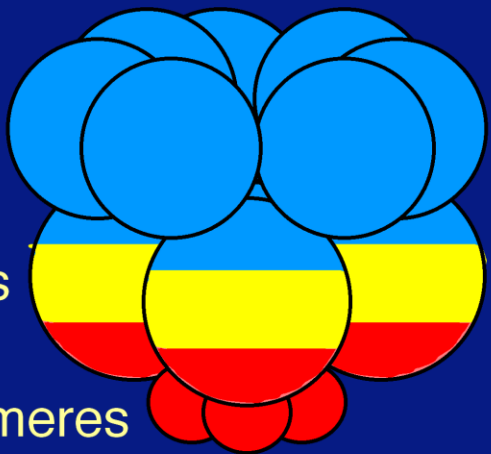
16-Cell

64-Cell

Mesomeres

Macromeres

Micromeres



an1

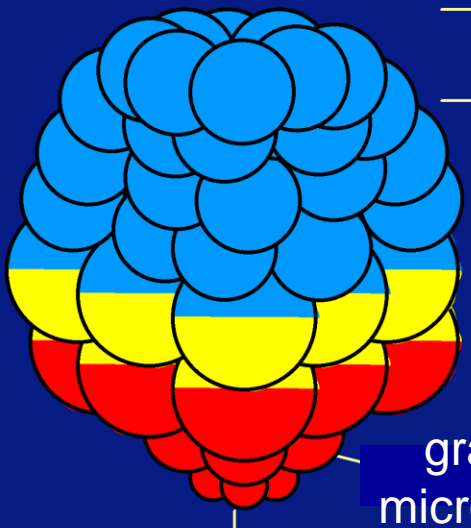
an2

veg1

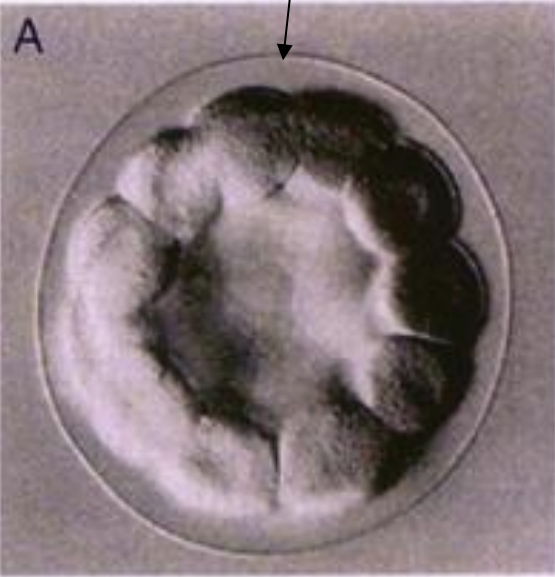
veg2

grands micromères

petits micromères

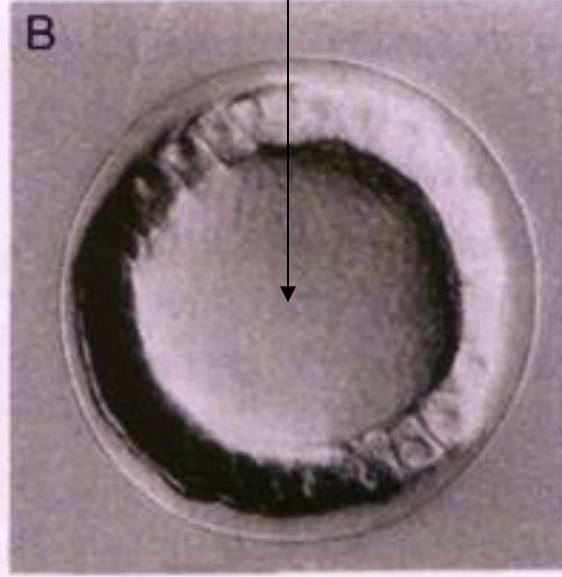


Enveloppe de fécondation



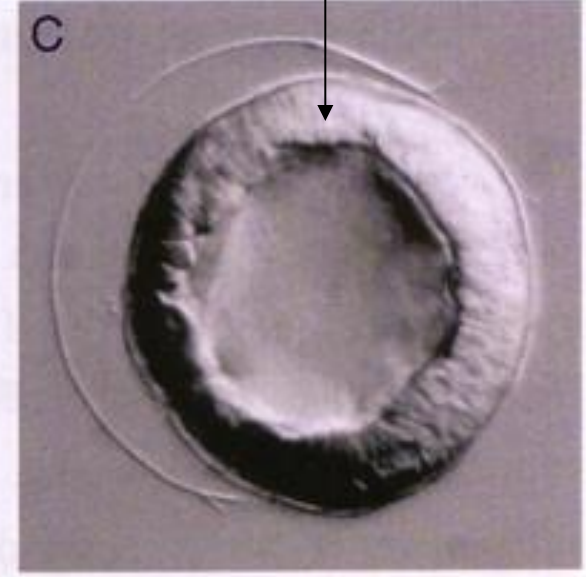
morula

blastocoele



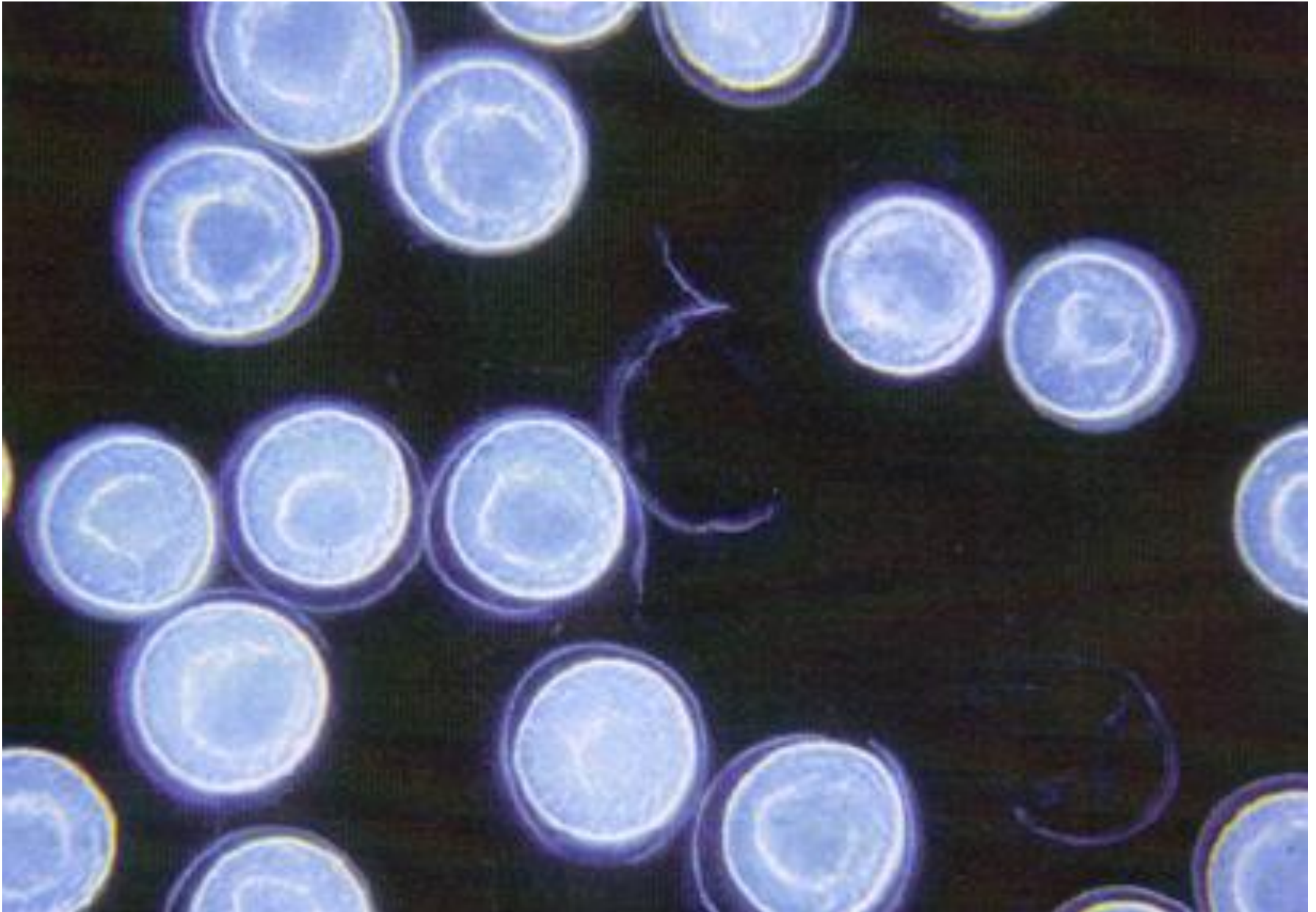
blastula

épithélium monocouche

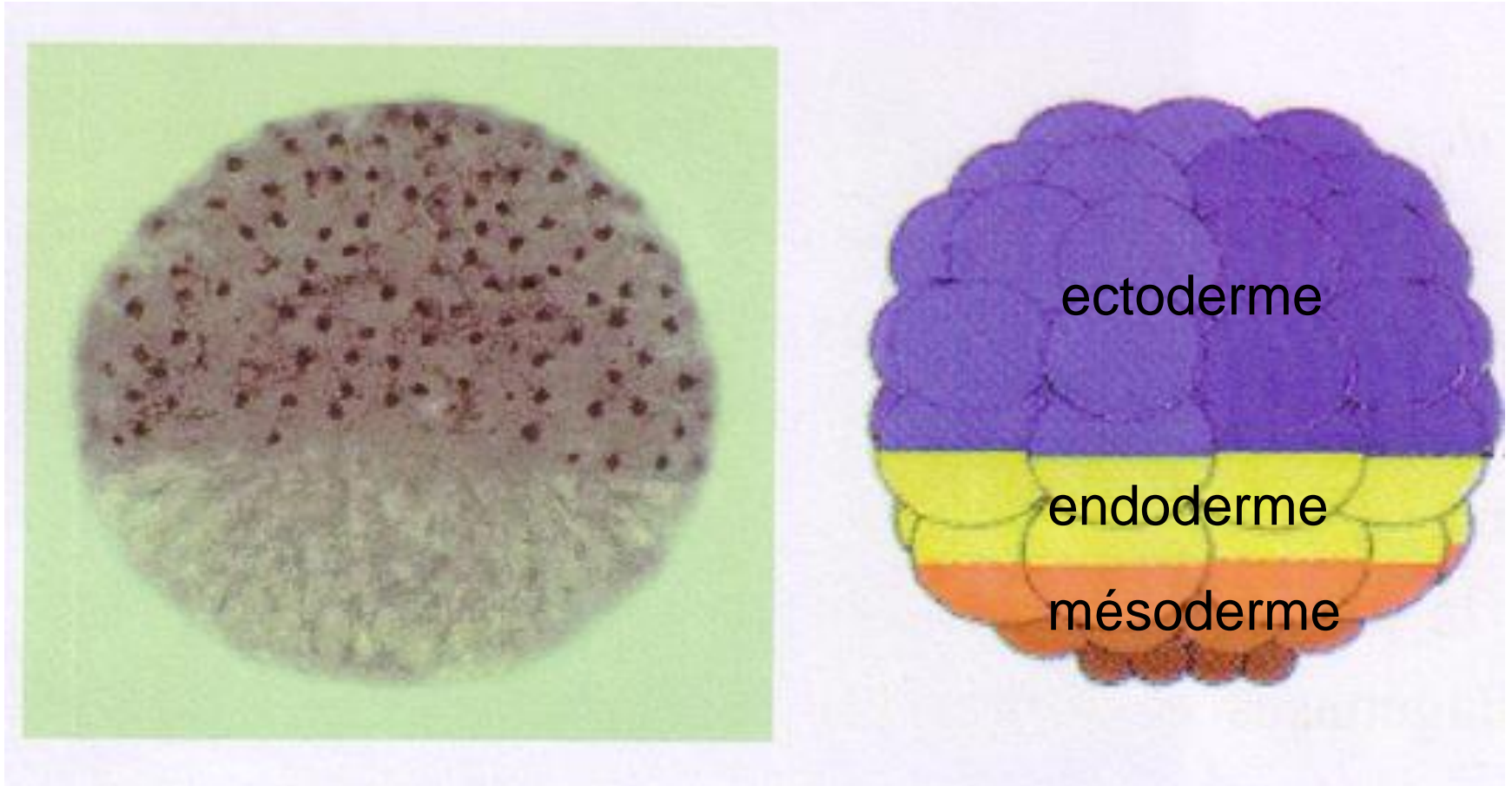


blastula en cours
d'éclosion
(~500 cellules)

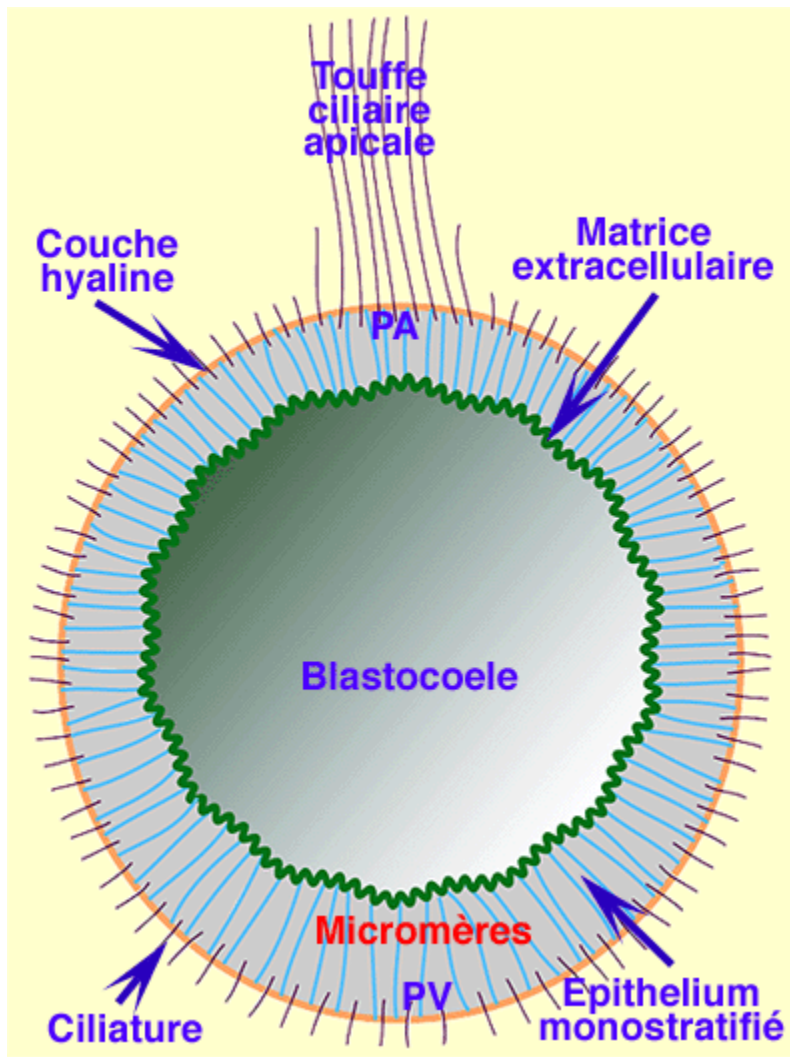
Eclosion de la blastula



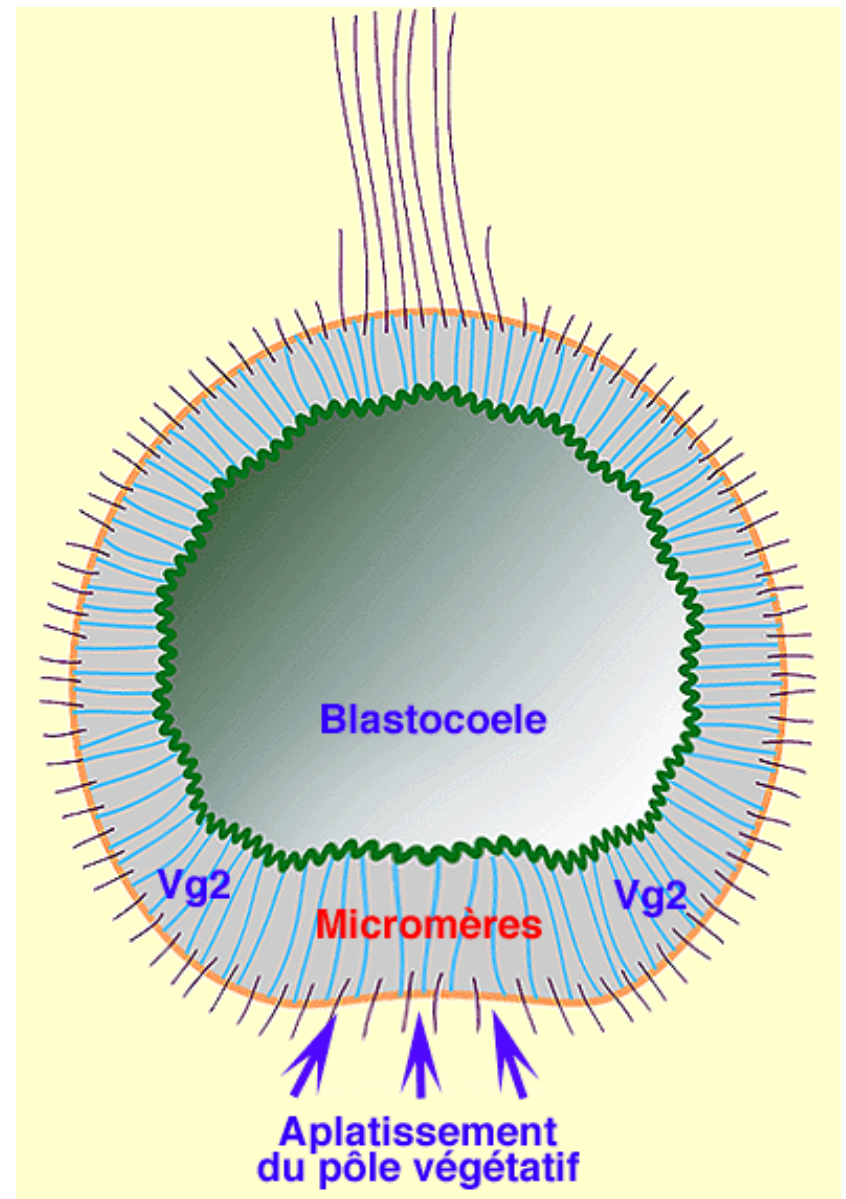
Expression spatiale de l'enzyme d'éclosion



Immunomarquage
(protéine)



***Schéma de la blastula
au terme de la période de clivage.***

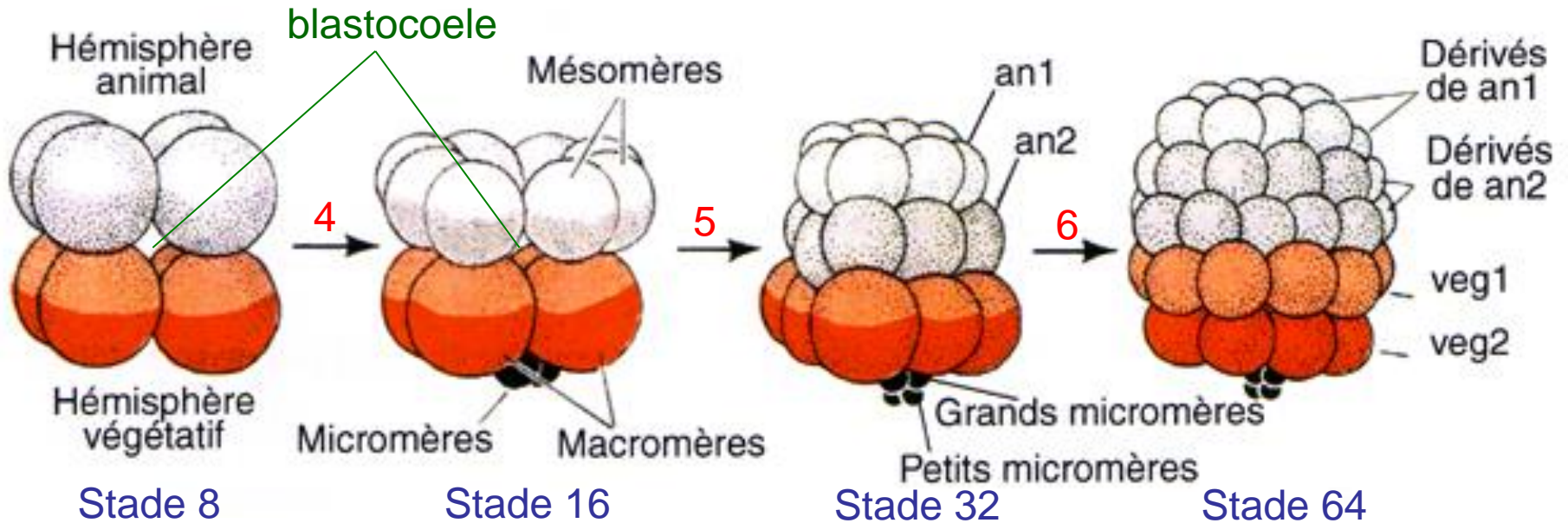
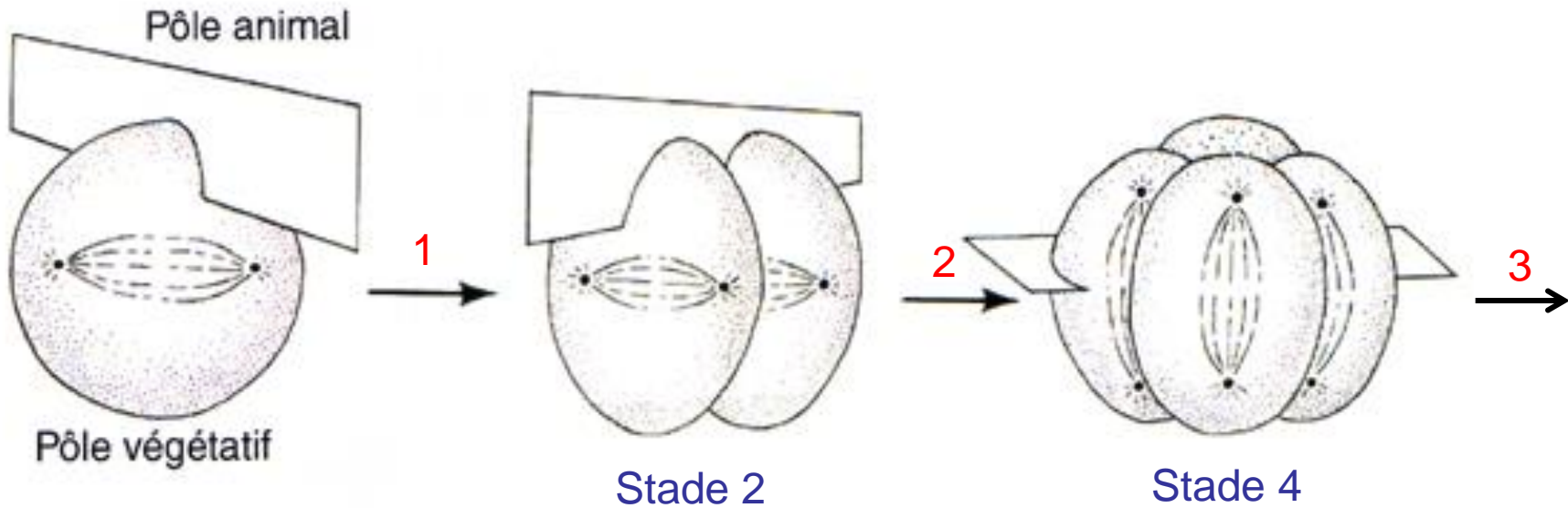


Blastula tardive

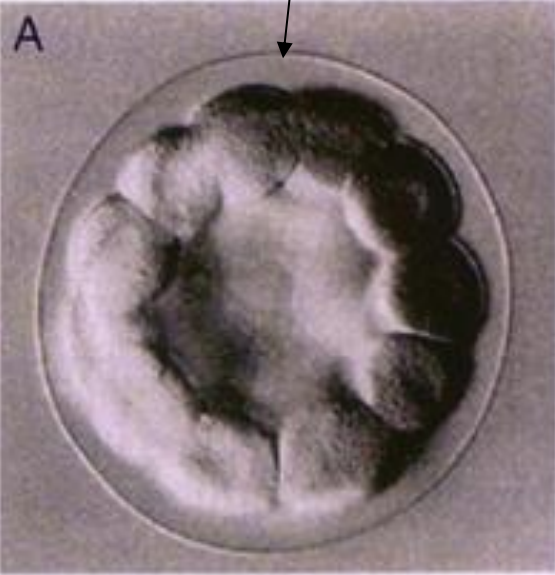
2ème cours

- <http://sites.unice.fr/site/pierson/CoursL2oursins2013.pdf>

Segmentation de l'embryon d'oursin

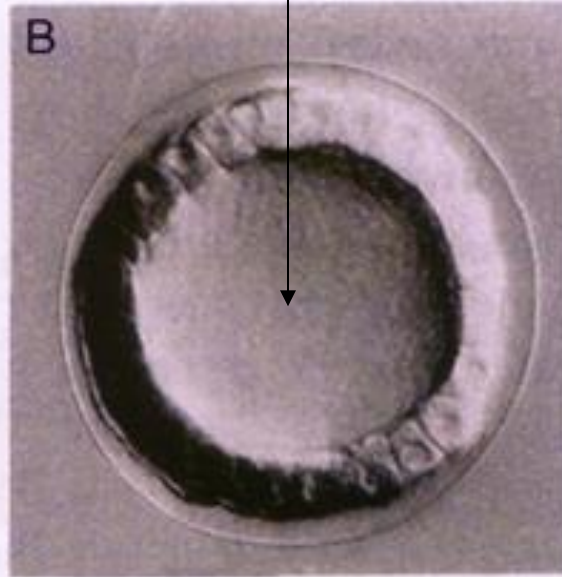


Enveloppe de fécondation



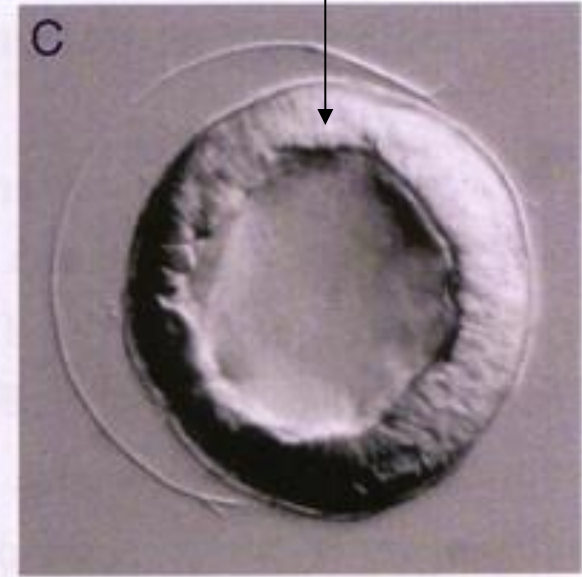
morula

blastocoele

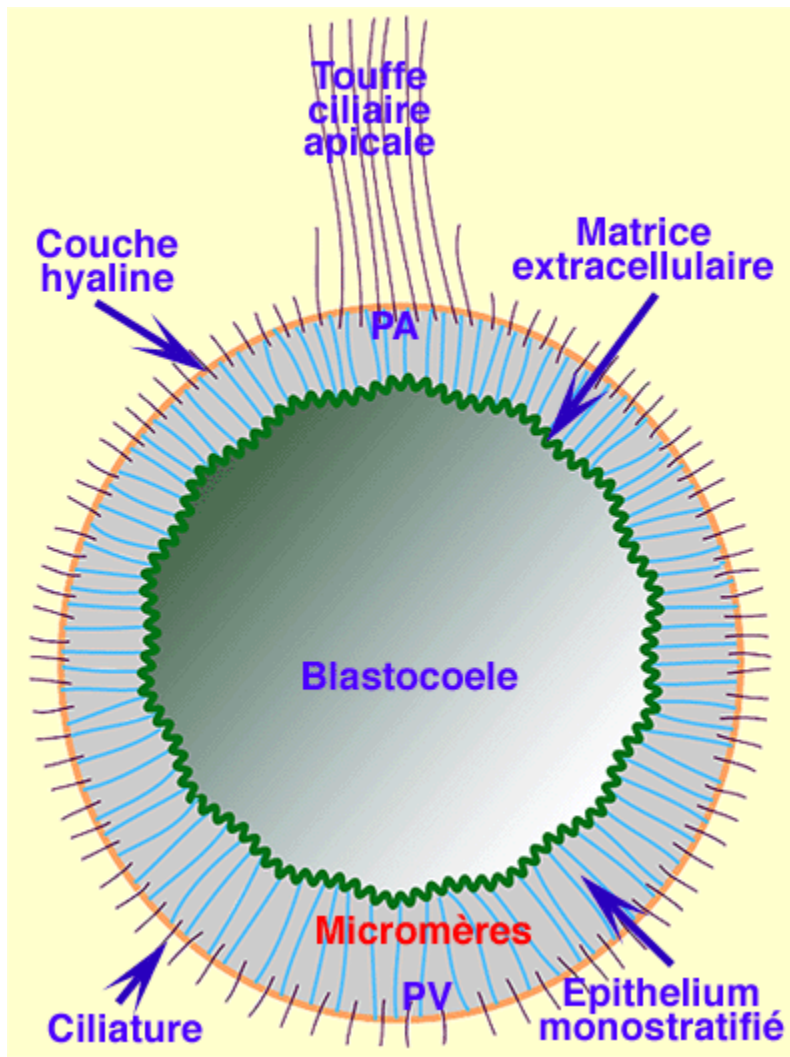


blastula

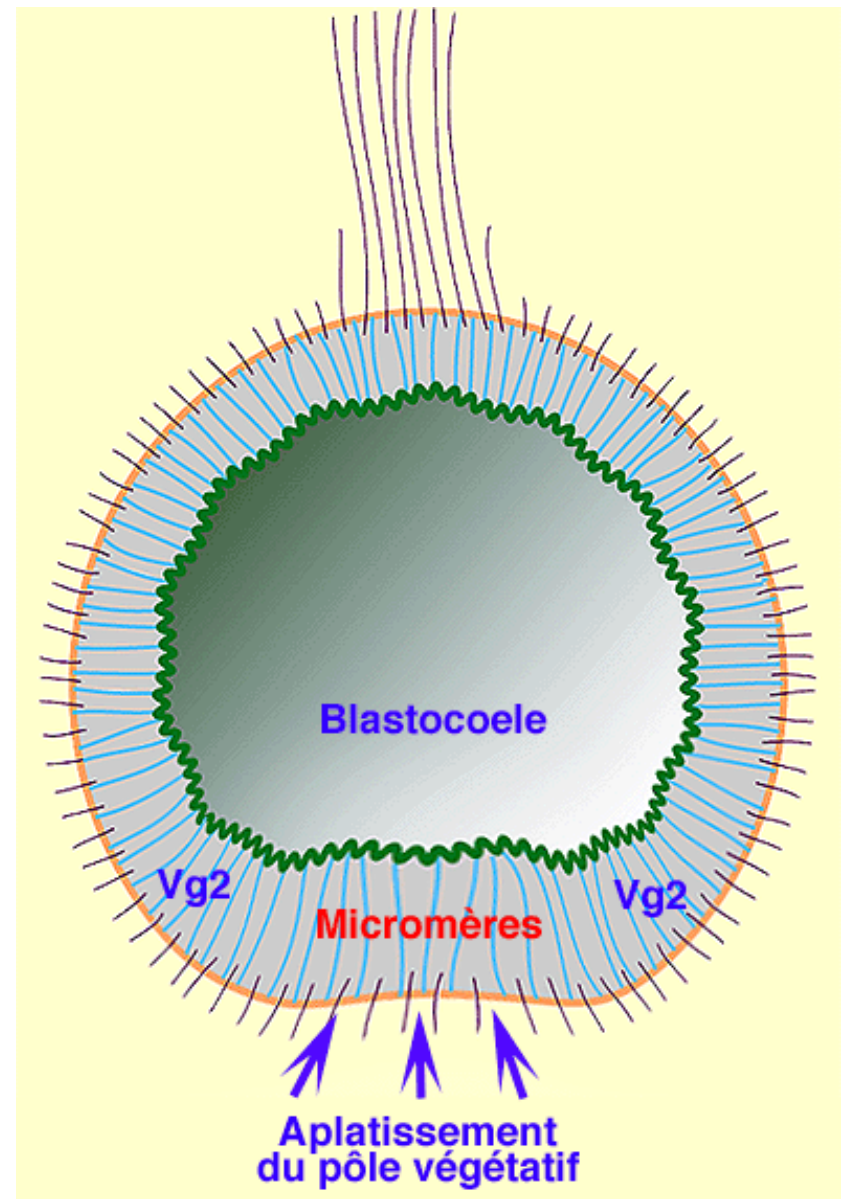
épithélium monocouche



blastula en cours
d'éclosion



**Schéma de la blastula
au terme de la période de clivage.**

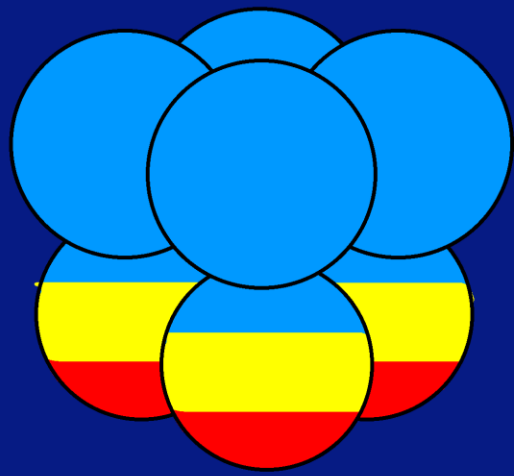
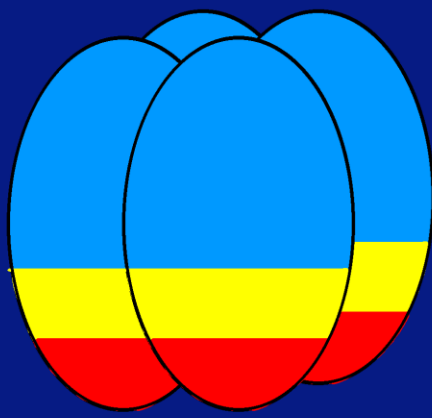


Blastula tardive

Fertilized Egg

4-Cell

8-Cell



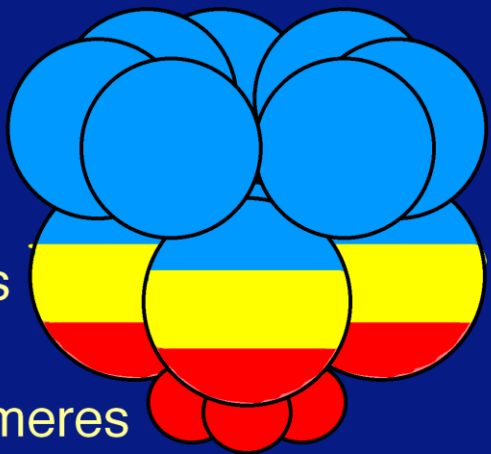
16-Cell

64-Cell

Mesomeres

Macromeres

Micromeres



an1

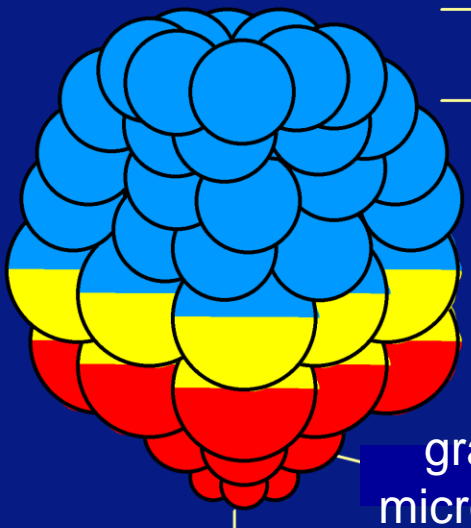
an2

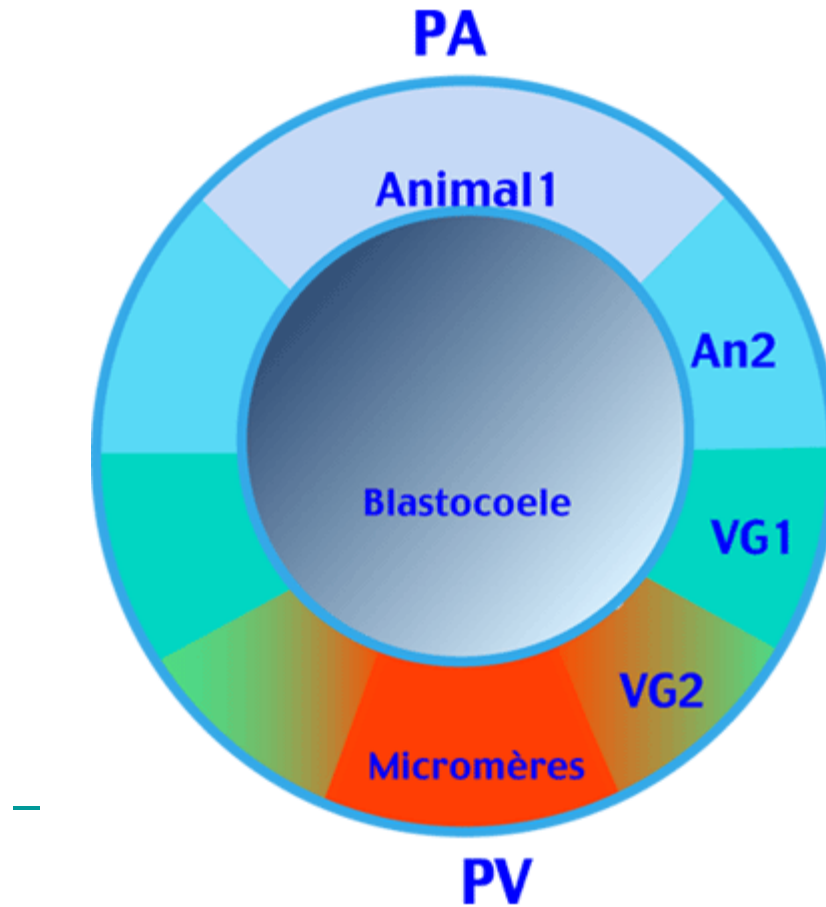
veg1

veg2

grands micromères

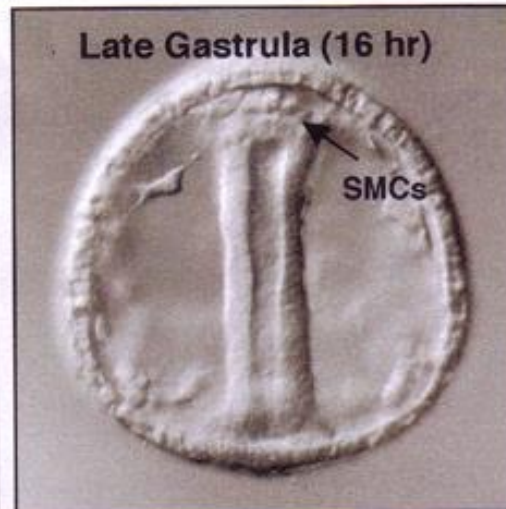
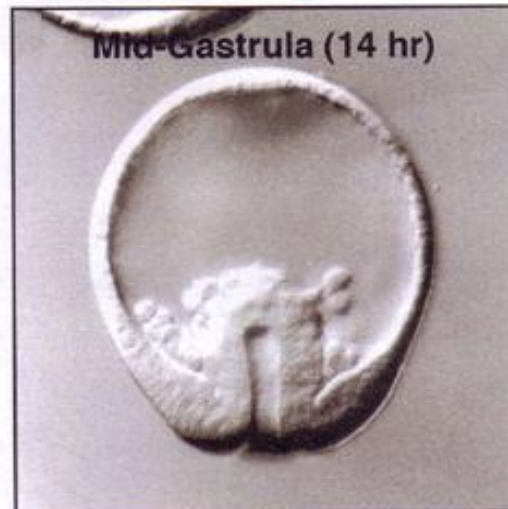
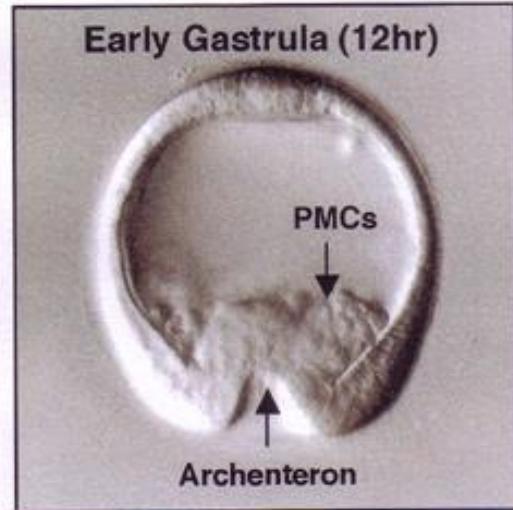
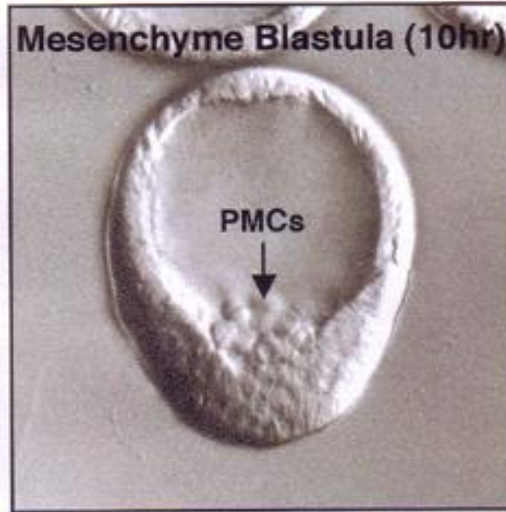
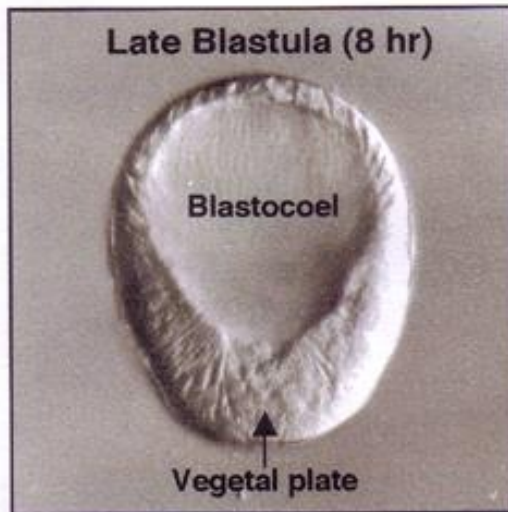
petits micromères

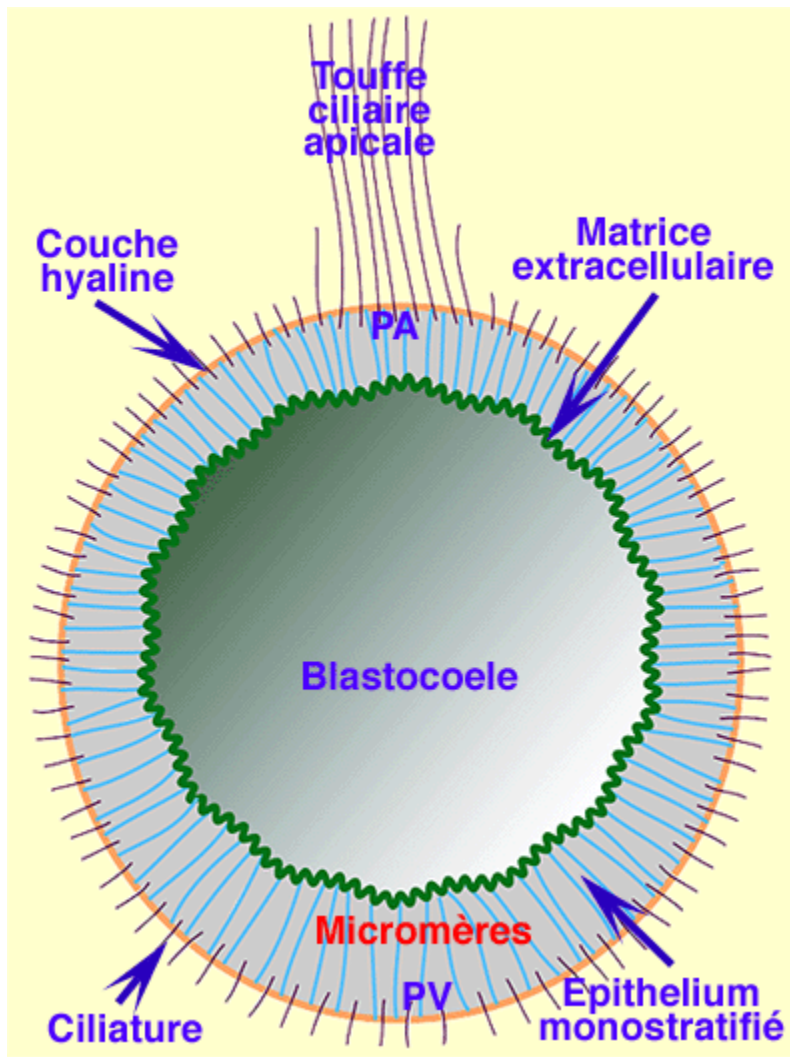




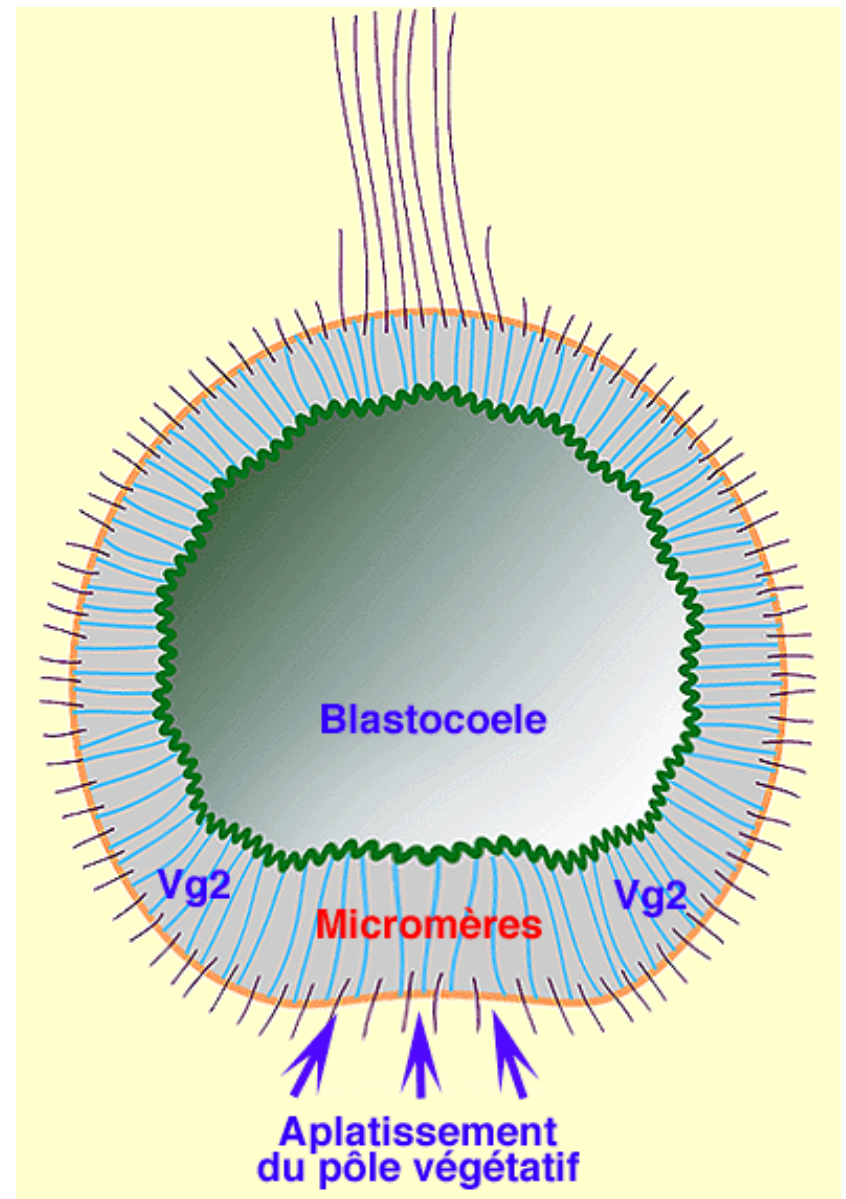
Carte des territoires présomptifs de la blastula d'oursin. Les cinq étages de cellules possèdent des destinées différentes. Animal1 et (An2) contribuent ensemble à l'élaboration de l'épiderme antérieur. Végétatif 1 (Vg1) forme l'épiderme postérieur et une partie de l'endoderme. Végétatif 2 (Vg2) élabore le tube digestif et le mésenchyme secondaire. Les micromères sont à l'origine du mésenchyme primaire. PA: Pôle Animal, PV: Pôle végétatif.

La gastrulation

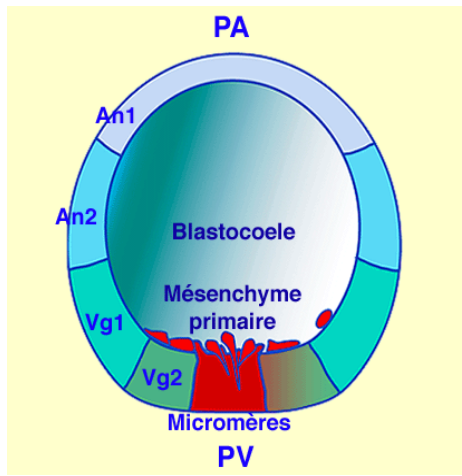
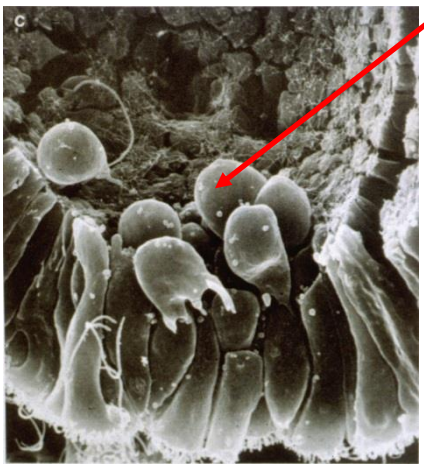
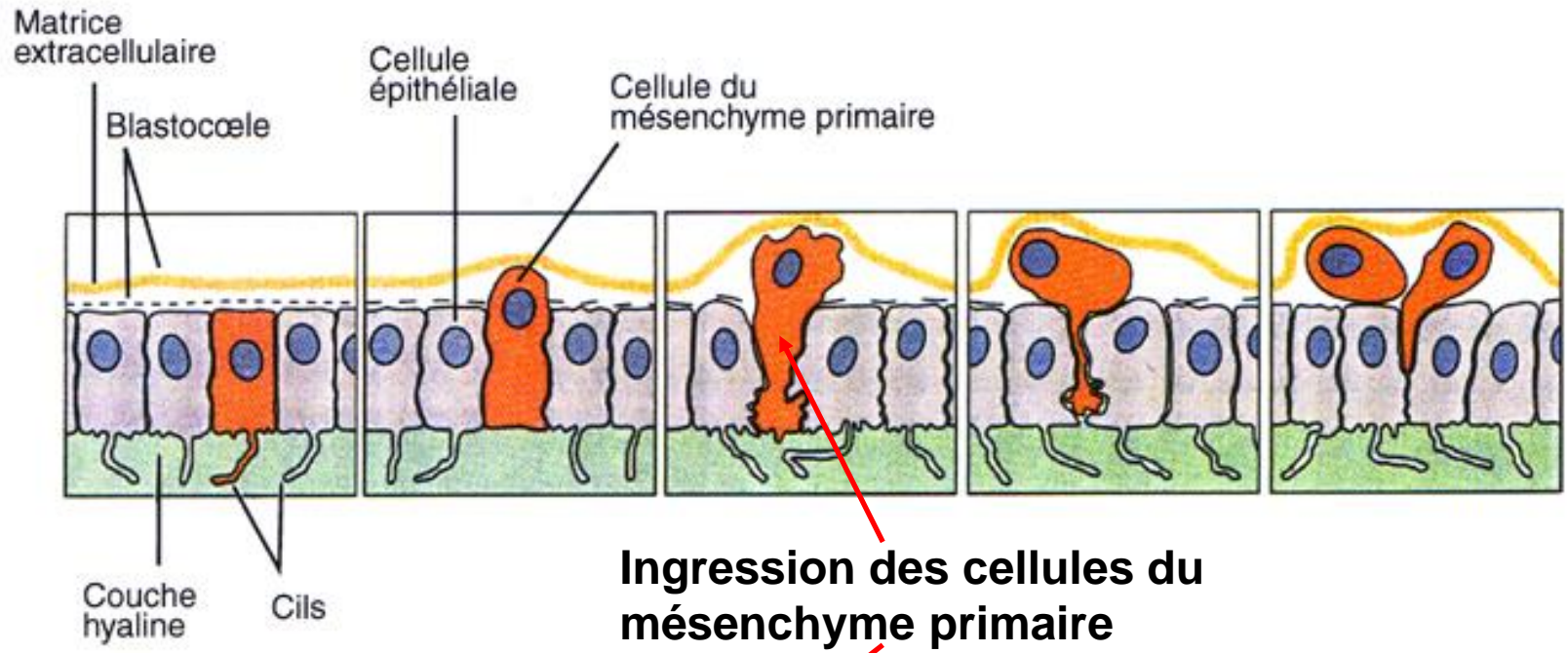




**Schéma de la blastula
au terme de la période de clivage.**



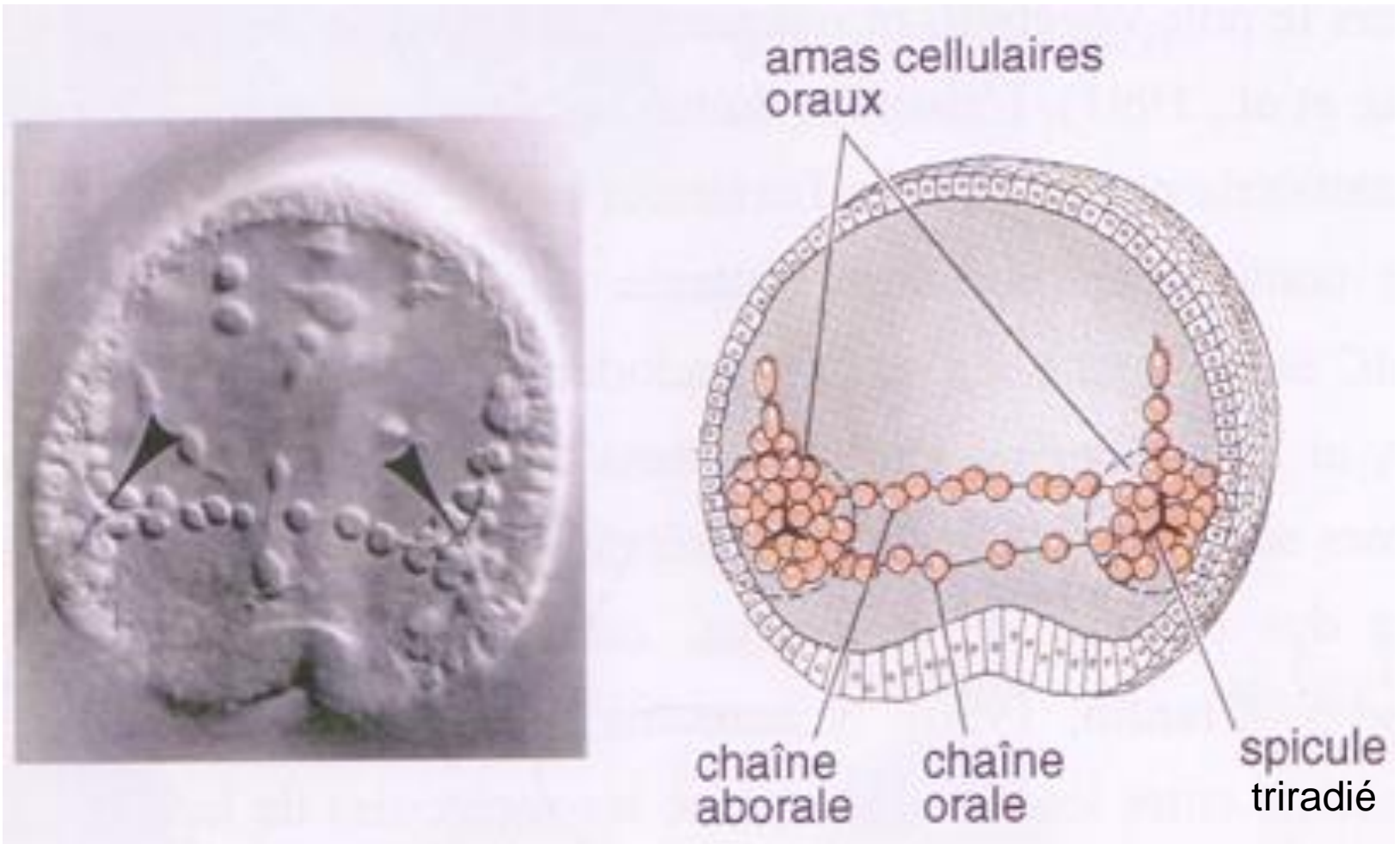
Blastula tardive



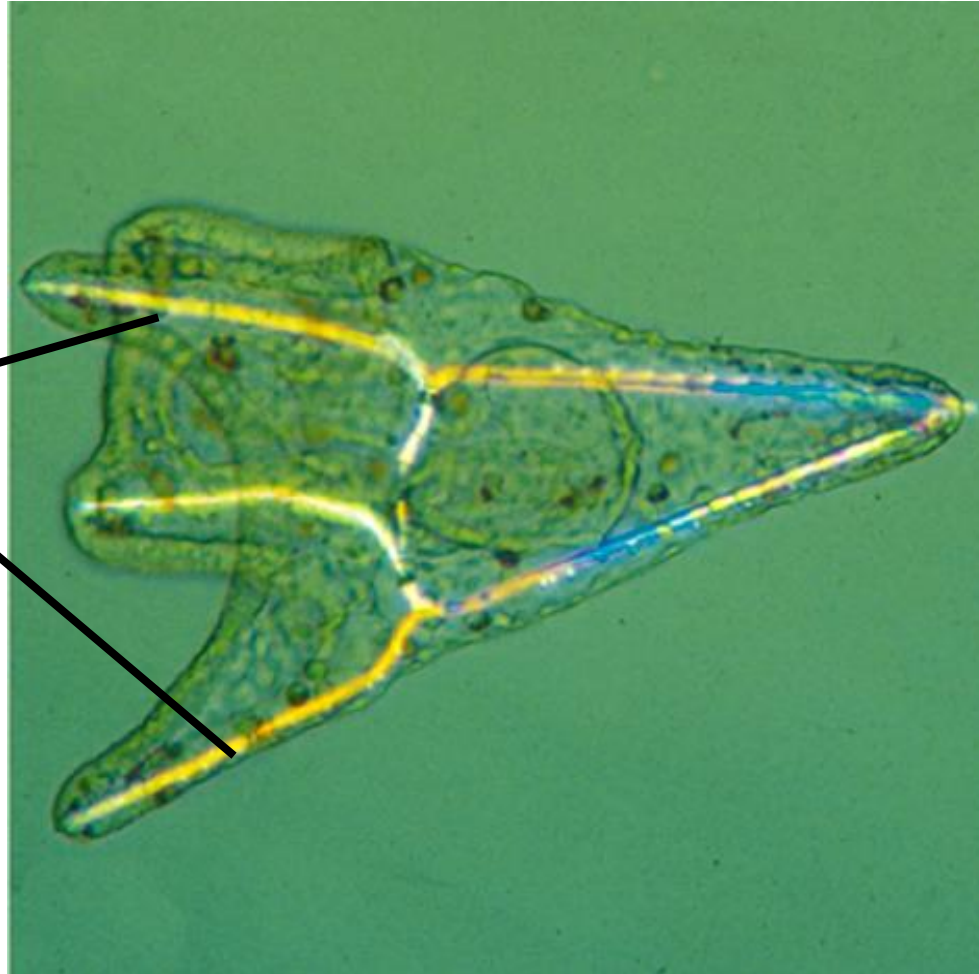
Blastula tardive

Blastula avec mésenchyme

Positionnement du mésenchyme primaire et formation des spicules



2 spicules
triradiés



Larve pluteus

La gastrulation débute toujours par la constriction apicale des cellules qui s'invaginent

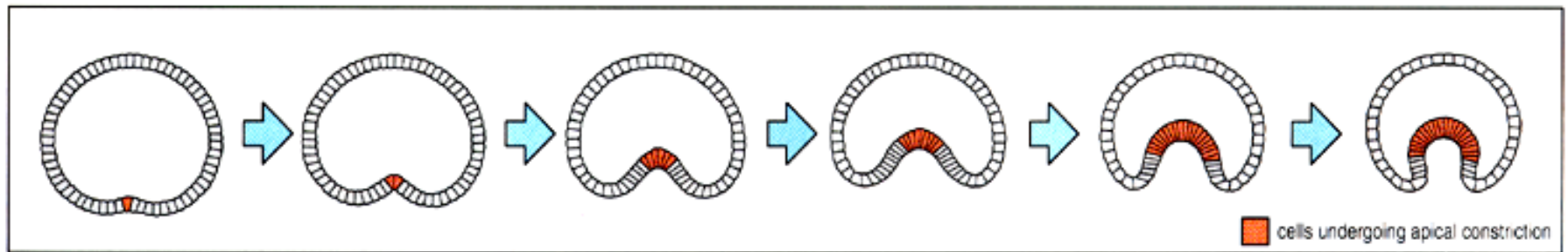
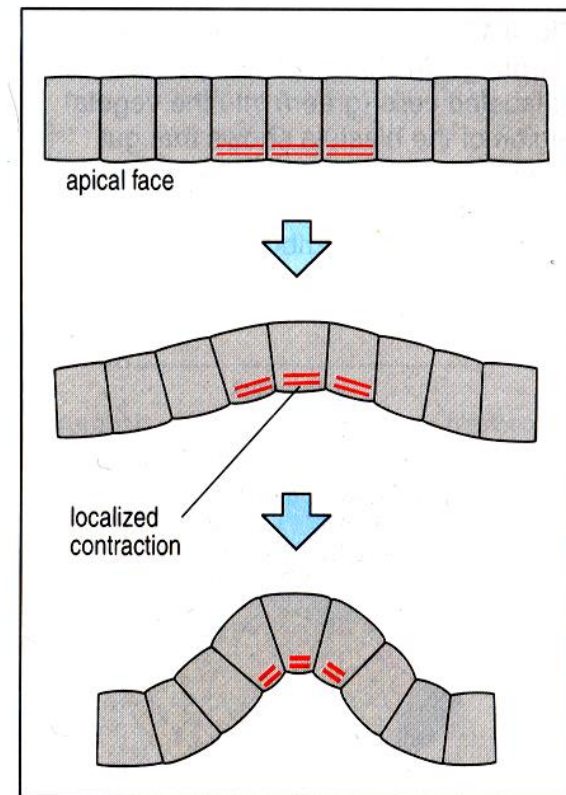
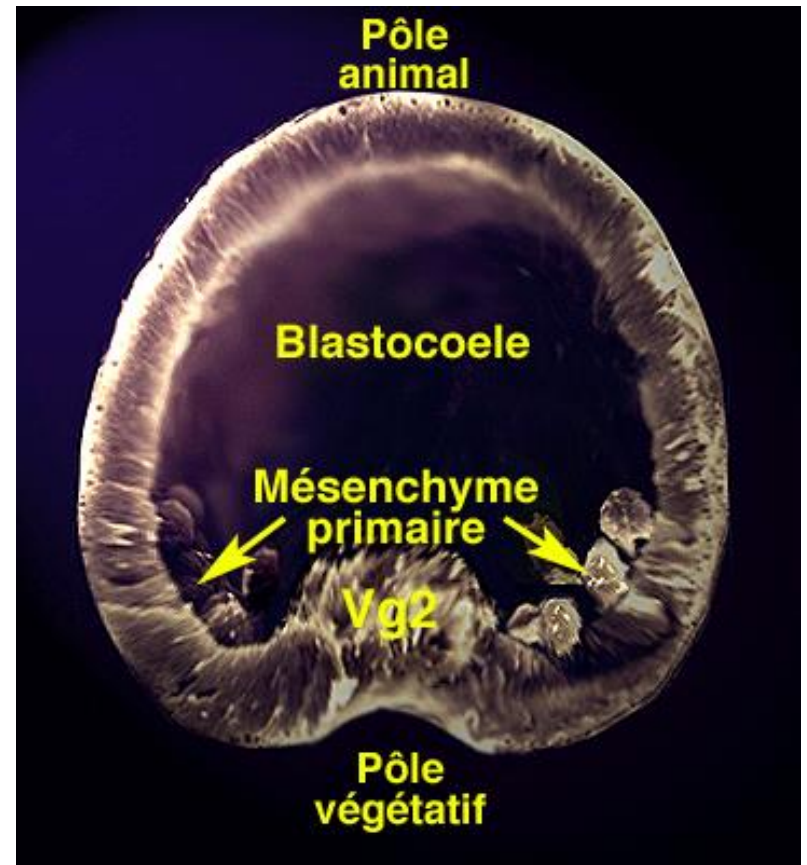
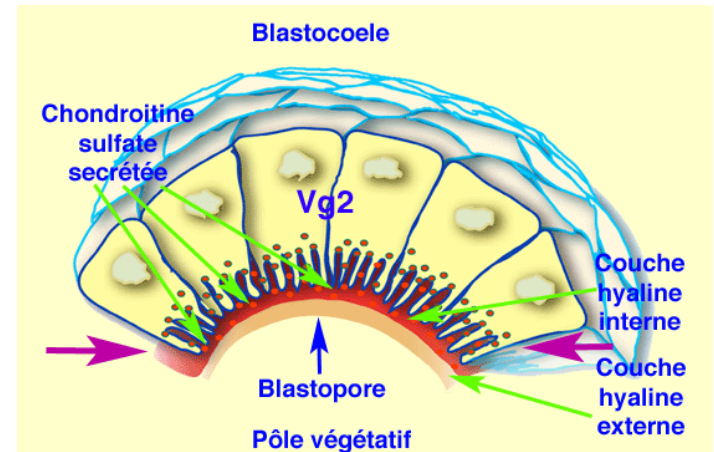
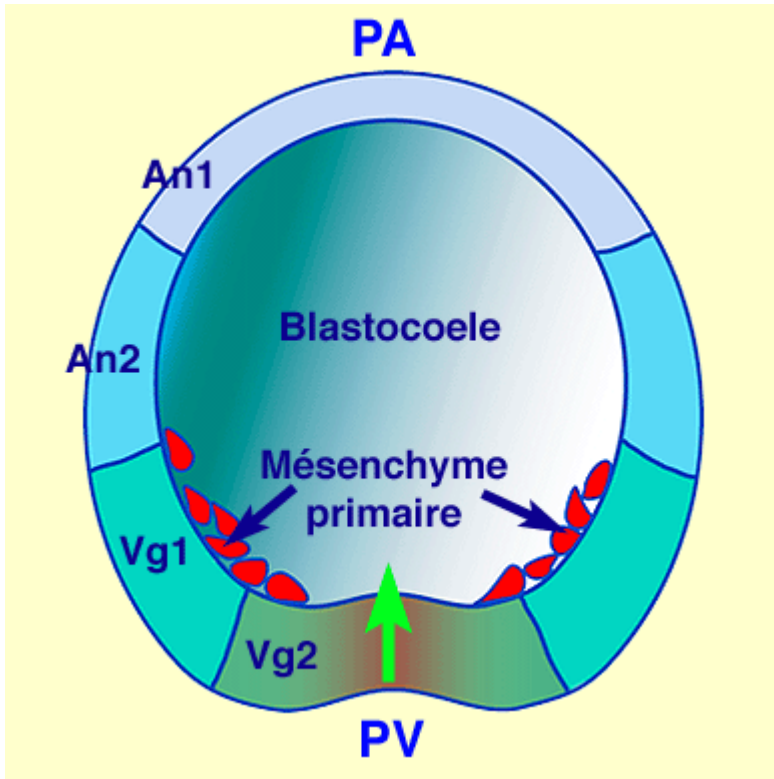
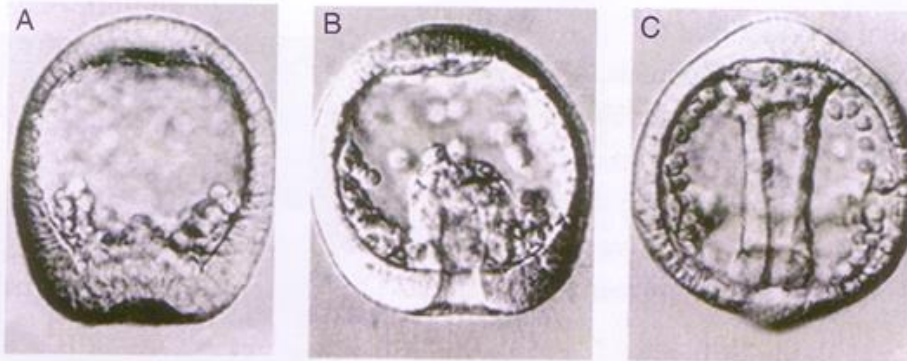


Fig. 8.16 Computer simulation of the role of apical constriction in invagination. Computer simulation of the spreading of apical constriction over a region of a cell sheet

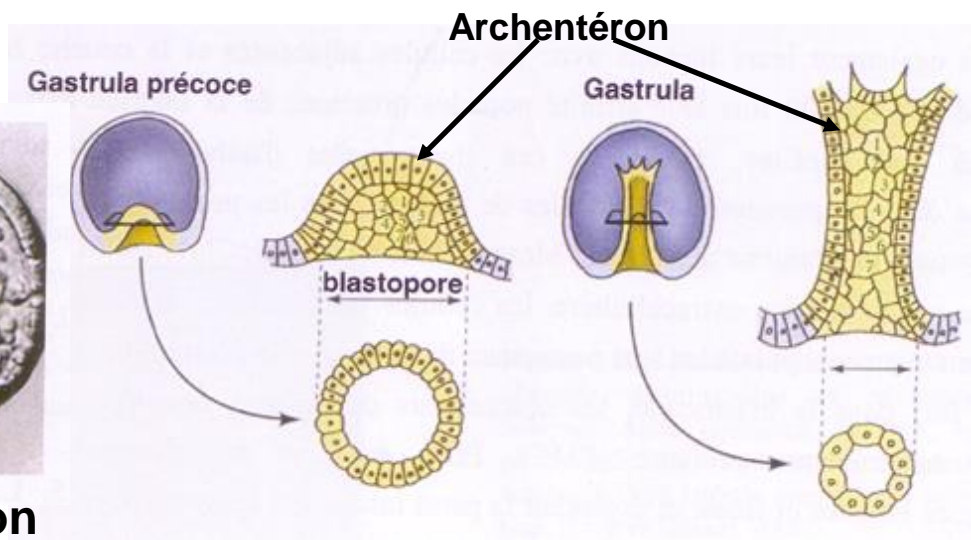
shows how this can lead to an invagination. Illustration after Odell, G.M., *et al.*: 1981.



*Le territoire Vg2 s'infléchit vers le blastocoele (flèche verte) .
Le mésenchyme primaire se situe en position latéro-végétative.*



Les différentes étapes de la gastrulation

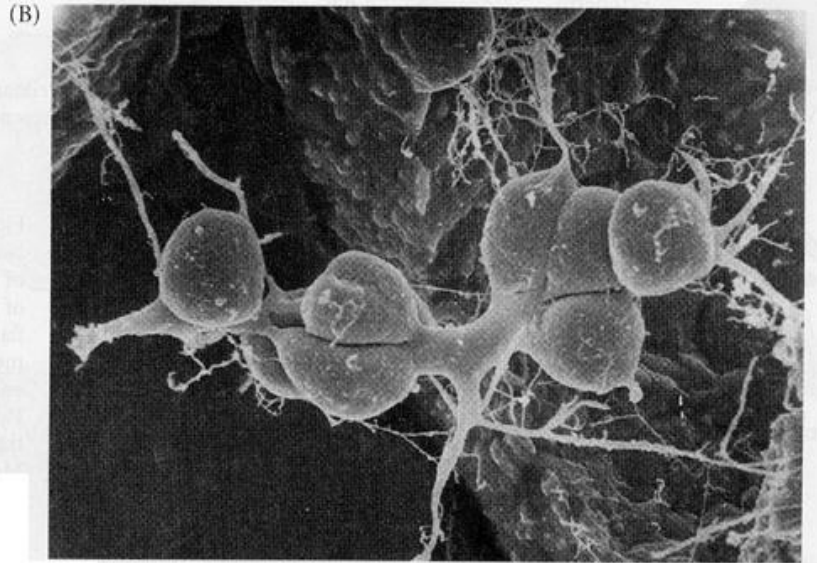


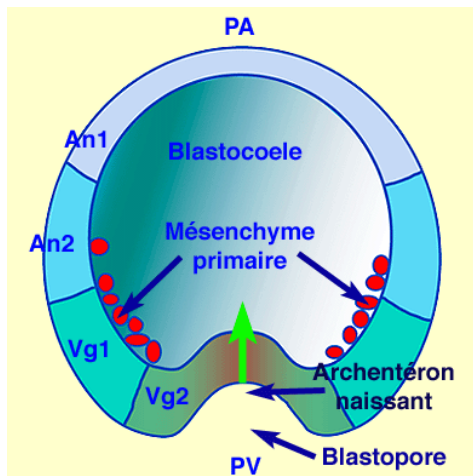
Evolution de l'archentéron lors de la 1ère phase d'élongation

SMC

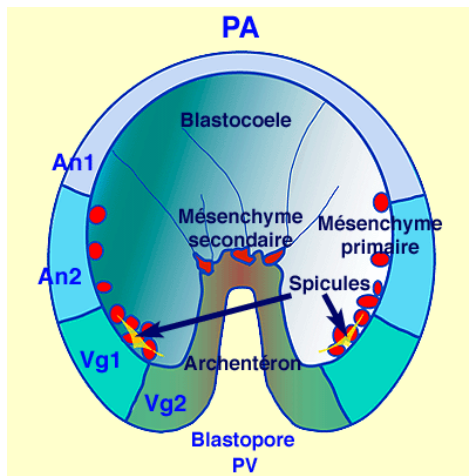


Seconde phase d'élongation

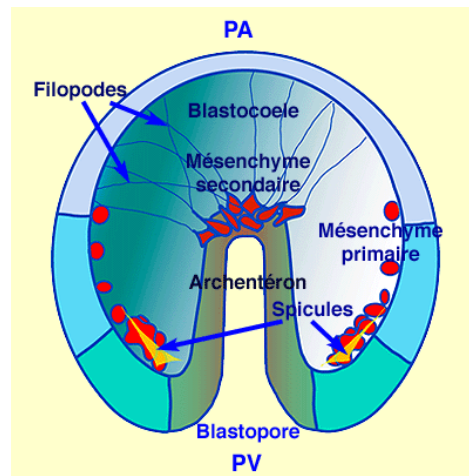




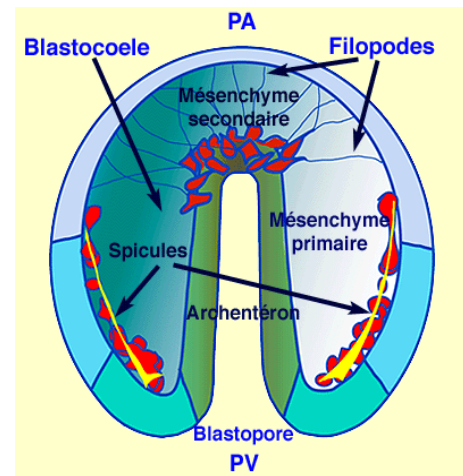
↑
1
↓



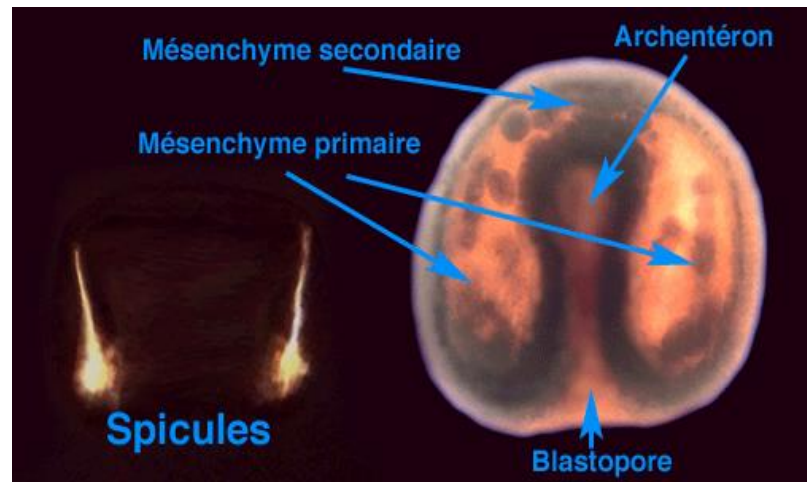
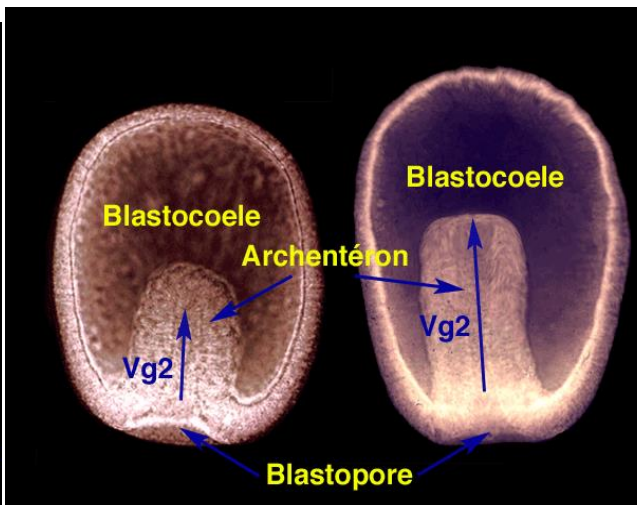
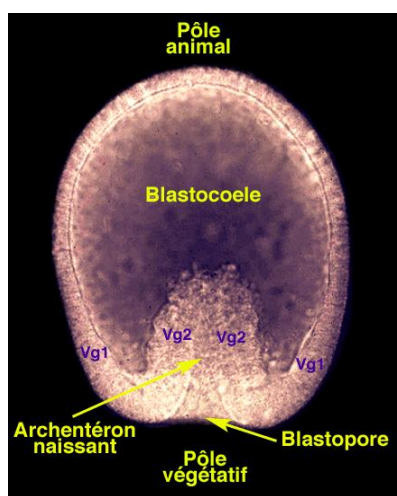
↑
2
↙



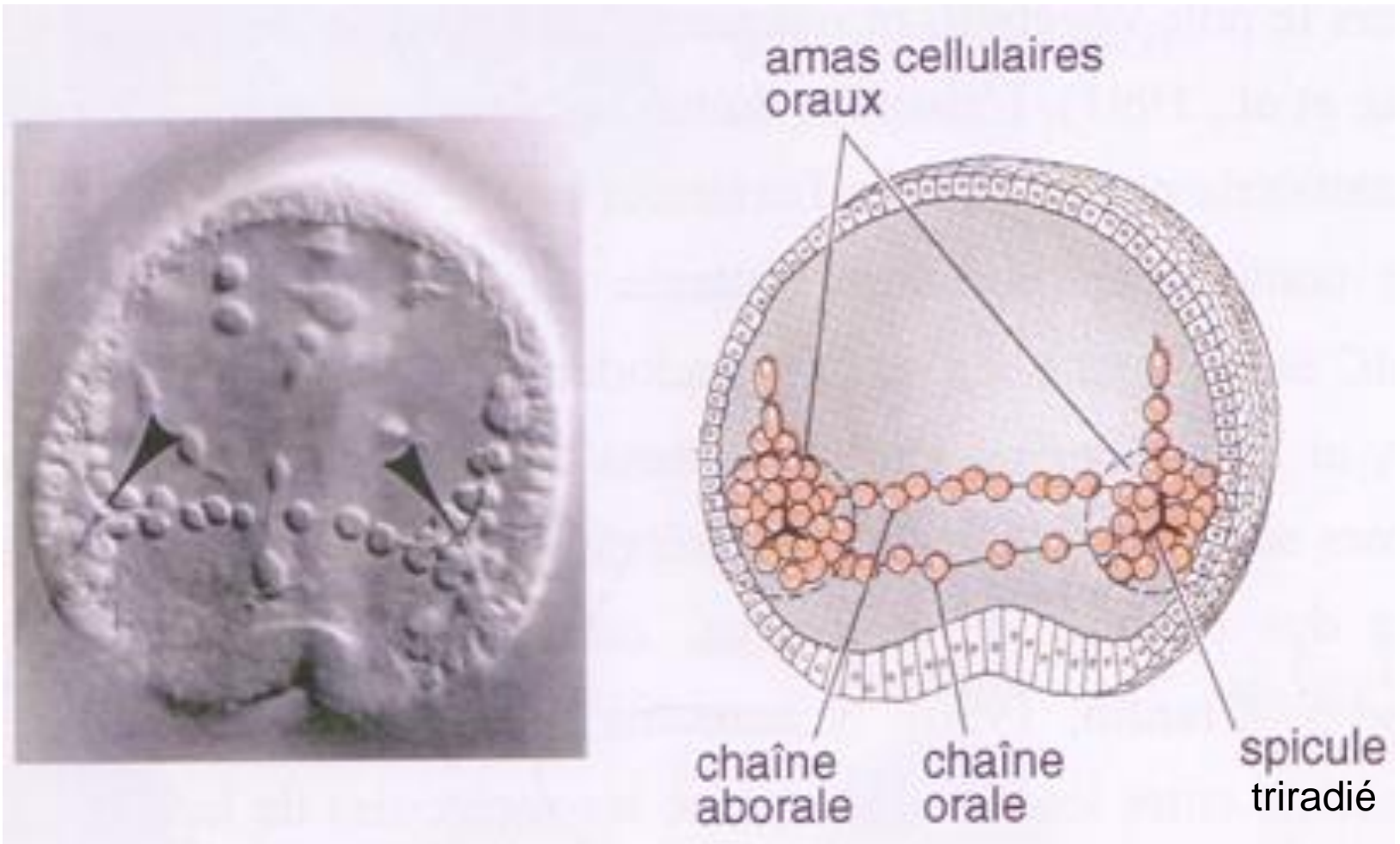
↑
3
↘



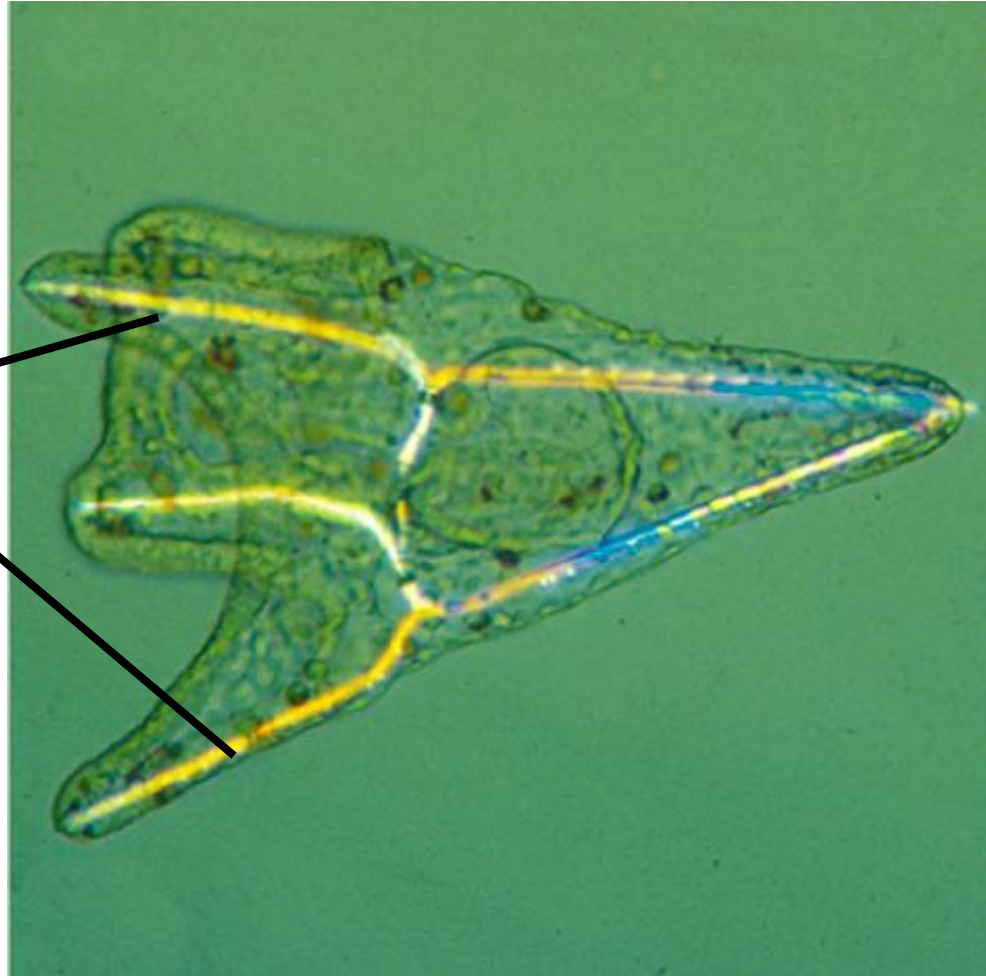
↑
4
↓



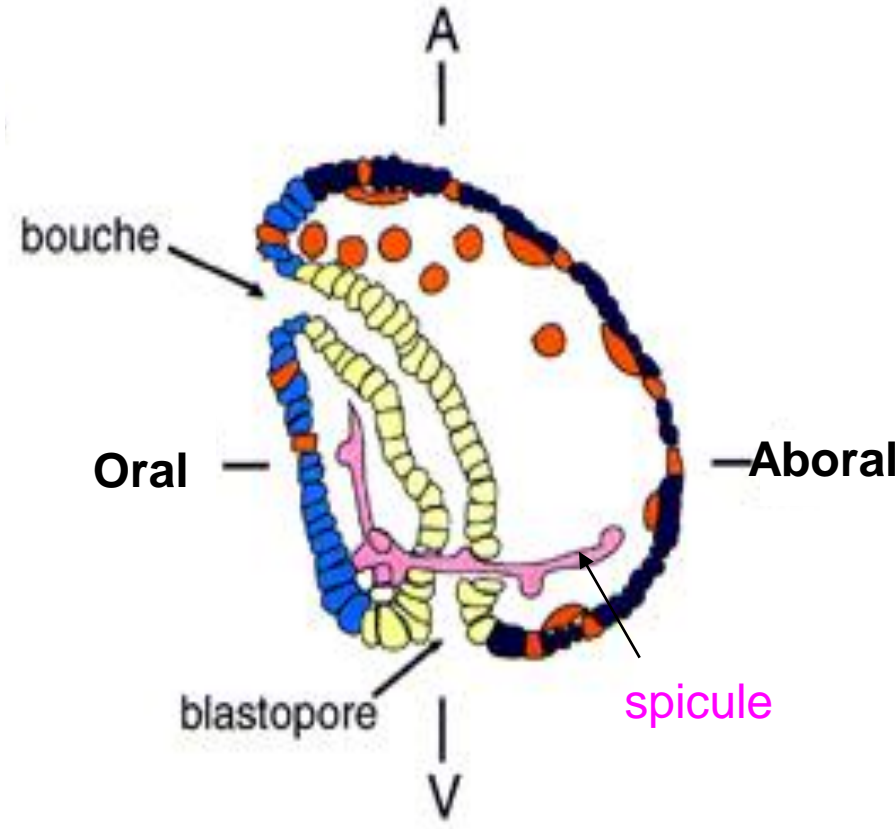
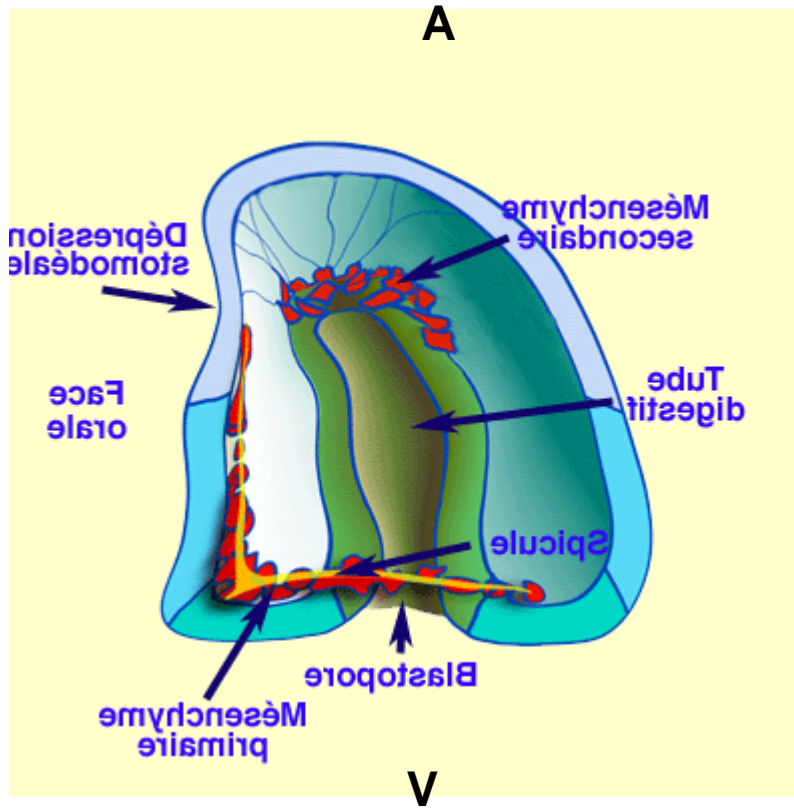
Positionnement du mésenchyme primaire et formation des spicules



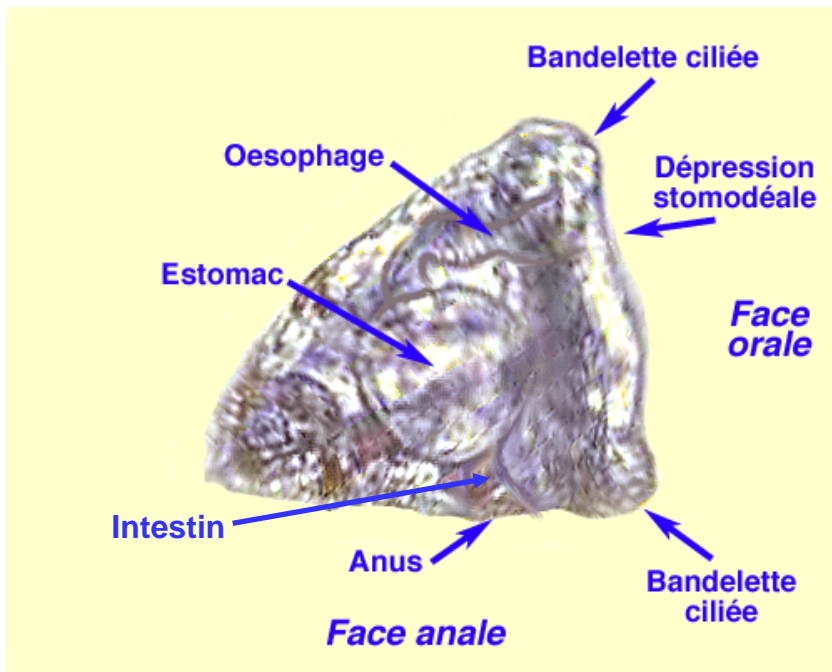
2 spicules
triradiés



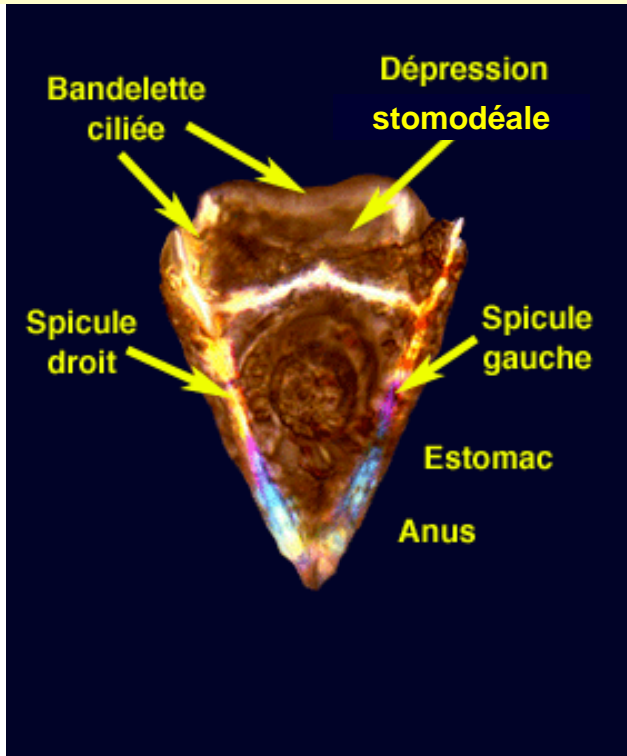
Larve pluteus



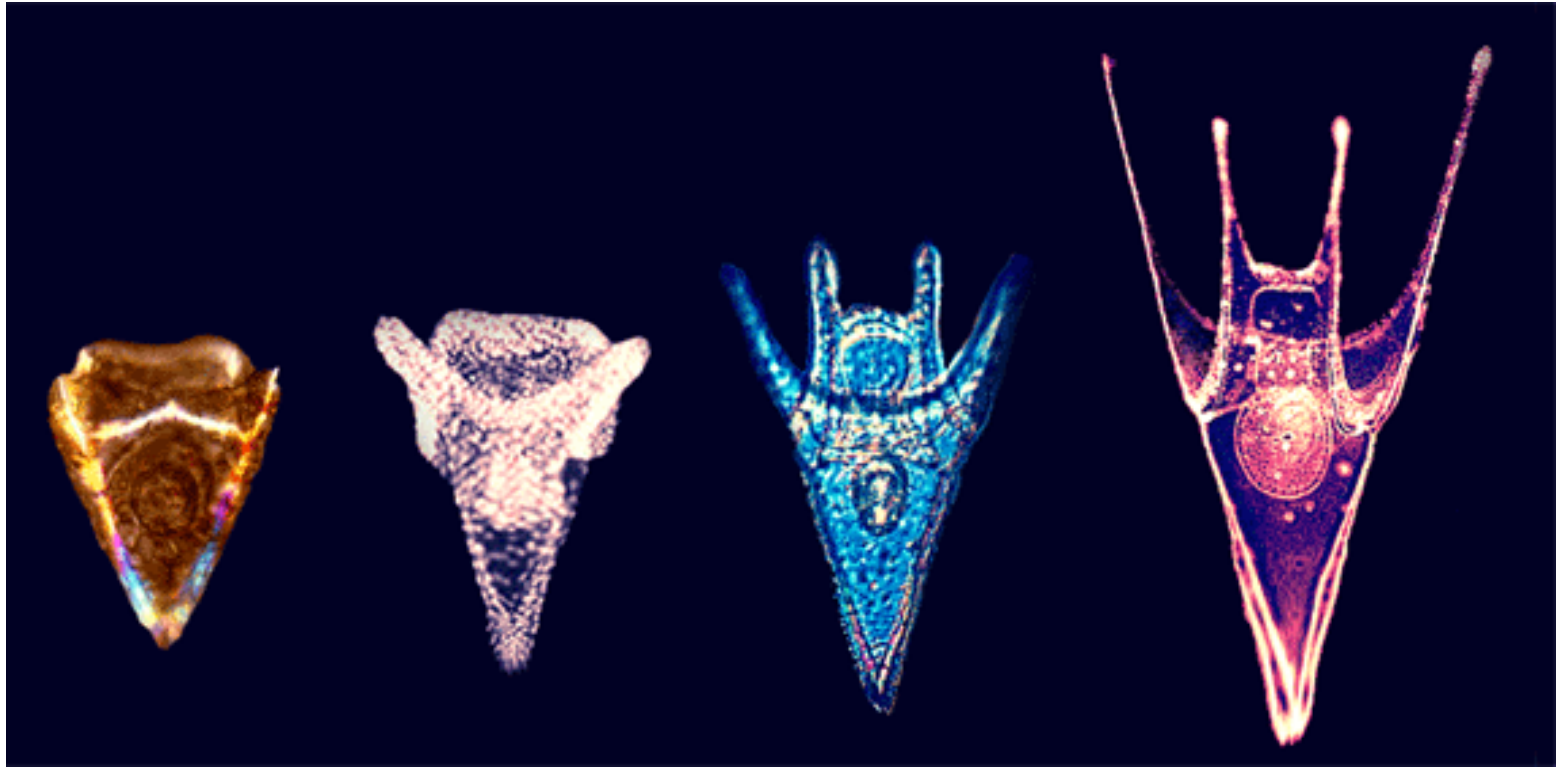
Formation de la bouche



***Larve prisme vue du profil droit.
La bandelette ciliée encadre la face orale.***

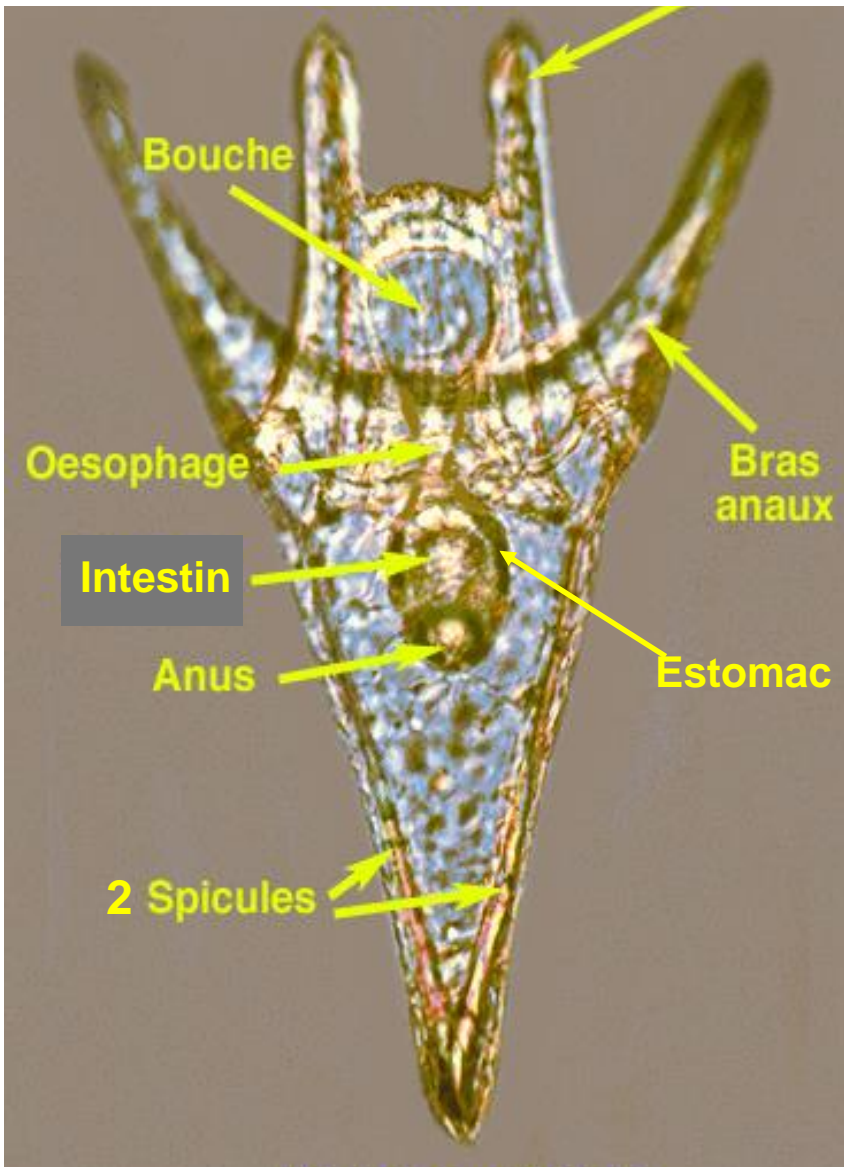


***Larve prisme vue de la face anale,
en contraste de phase interférenciel,
montre une organisation symétrique bilatérale
mise en évidence par les spicules
droit et gauche.***

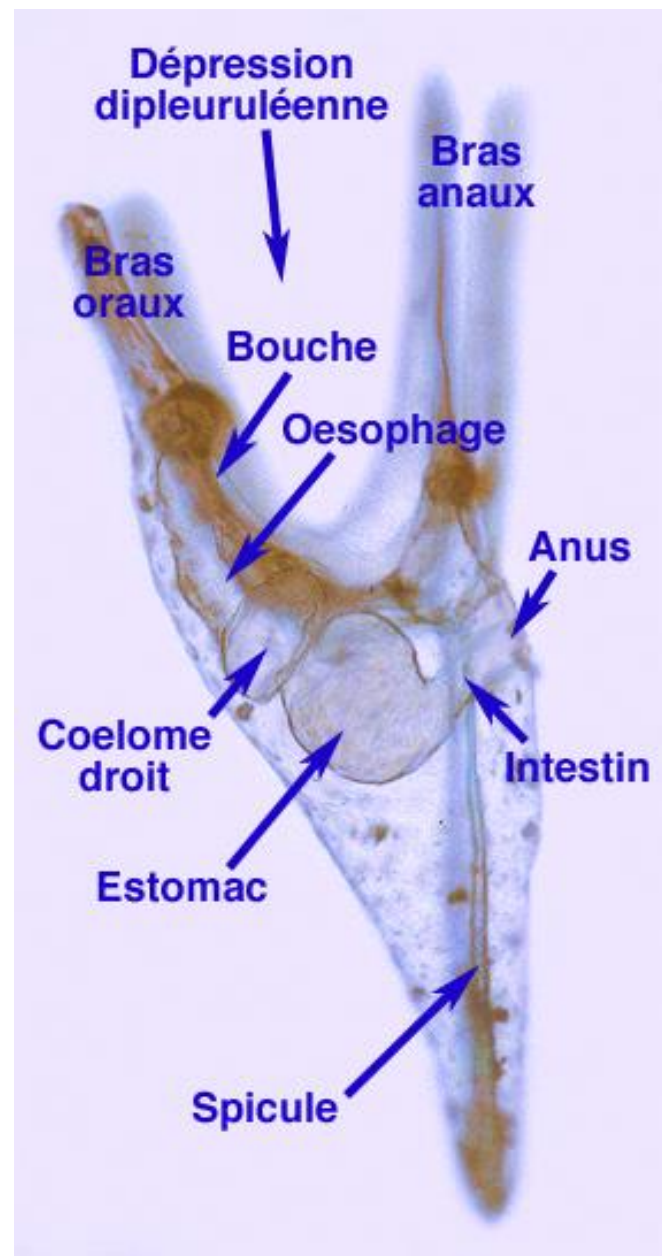


Evolution de la larve d'oursin du stade prisme (à gauche) au stade pluteus (à droite).

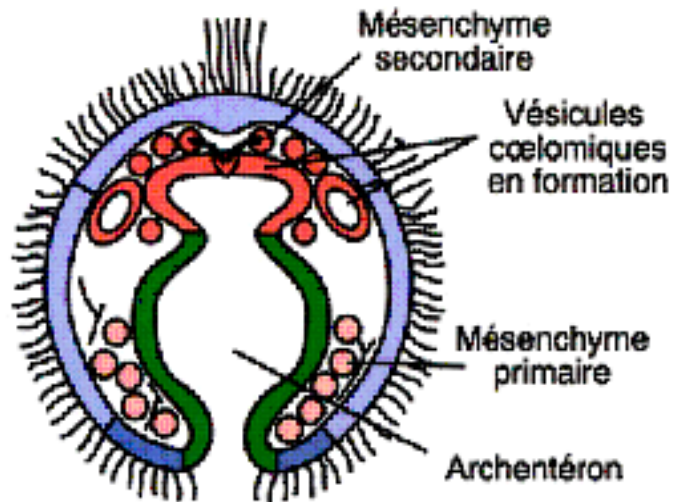
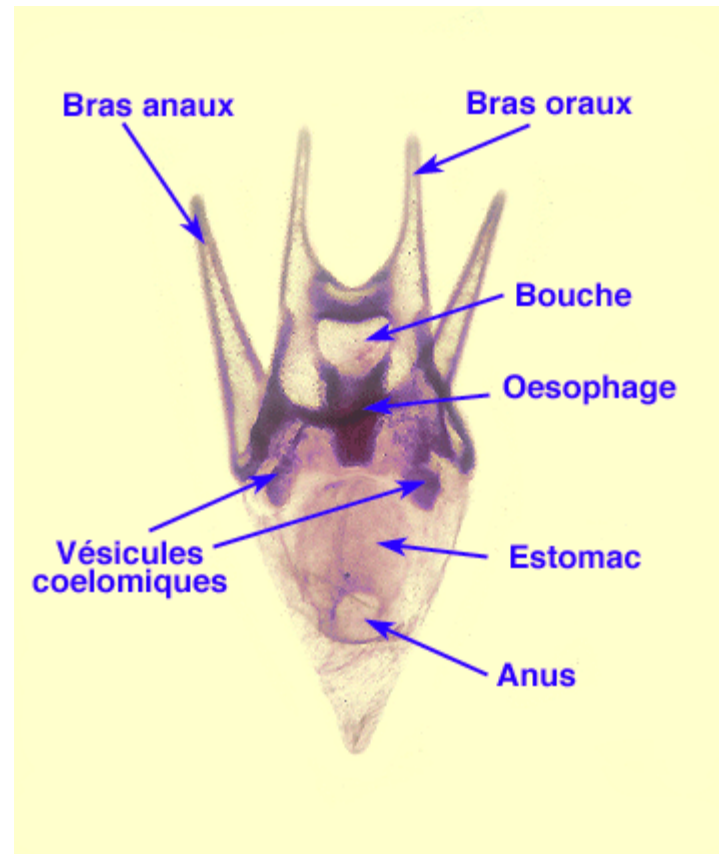
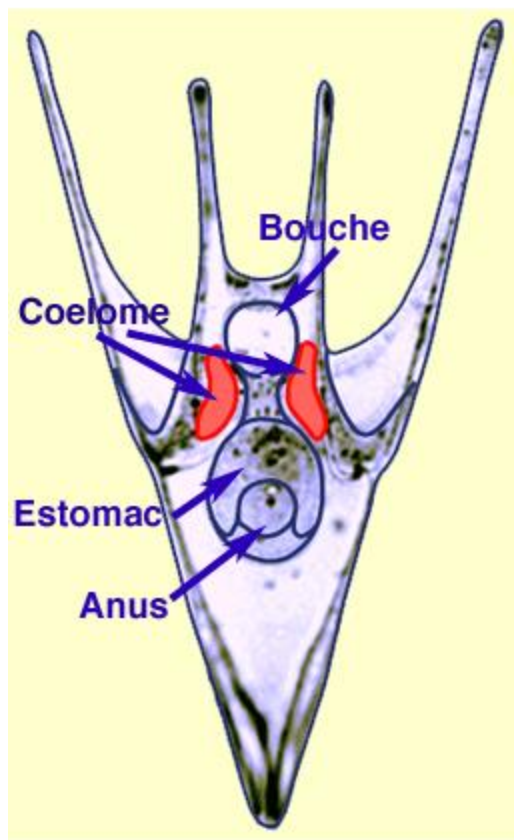
Bras oraux

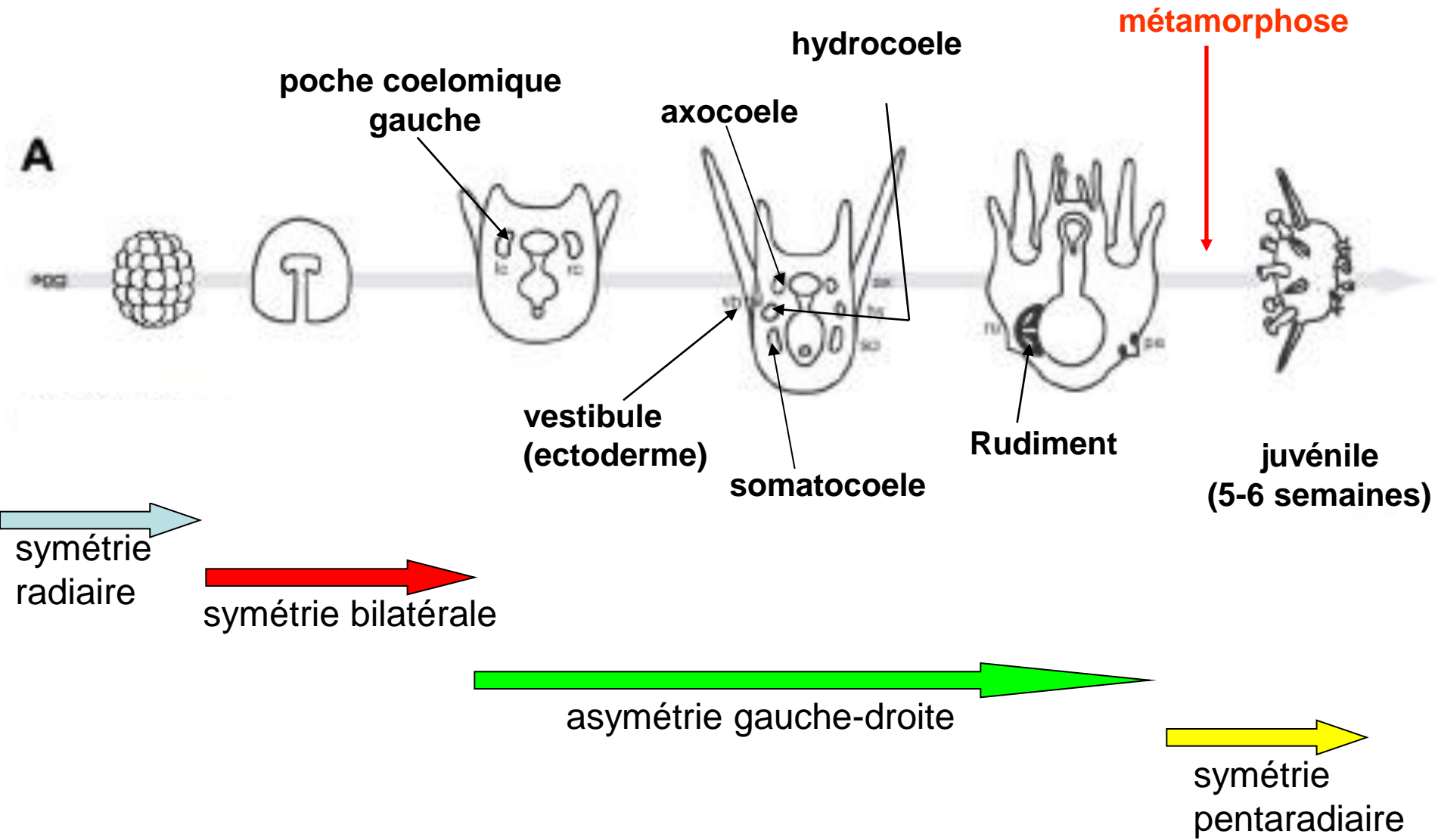


Vue anale

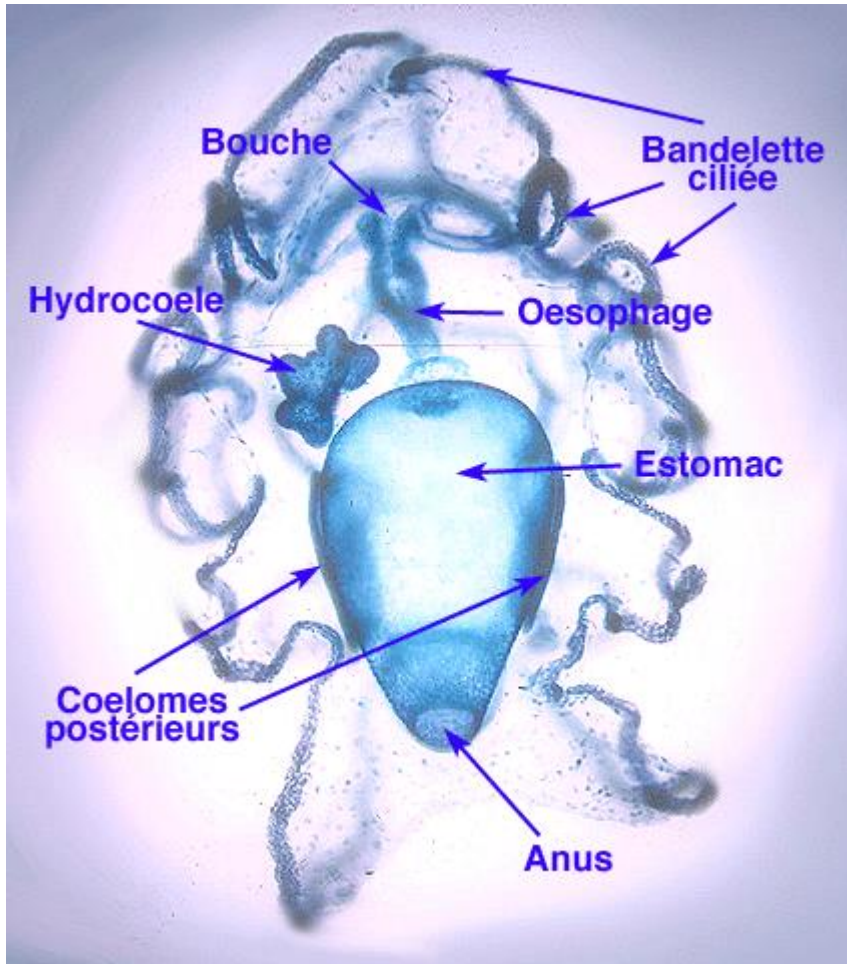


Vue de profil



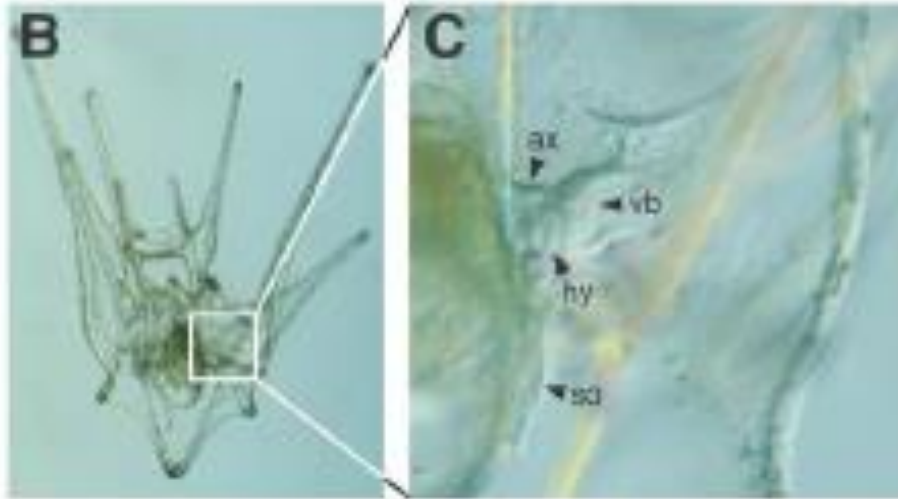


Formation du rudiment (disque imaginal)

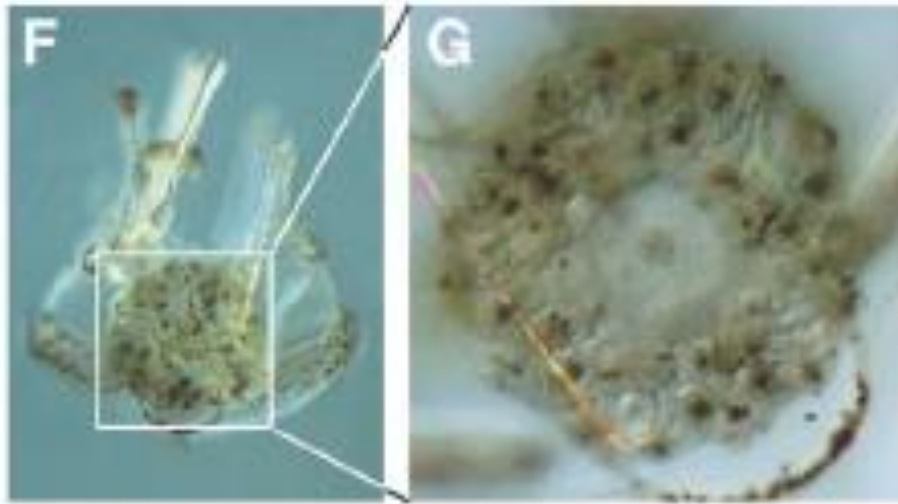
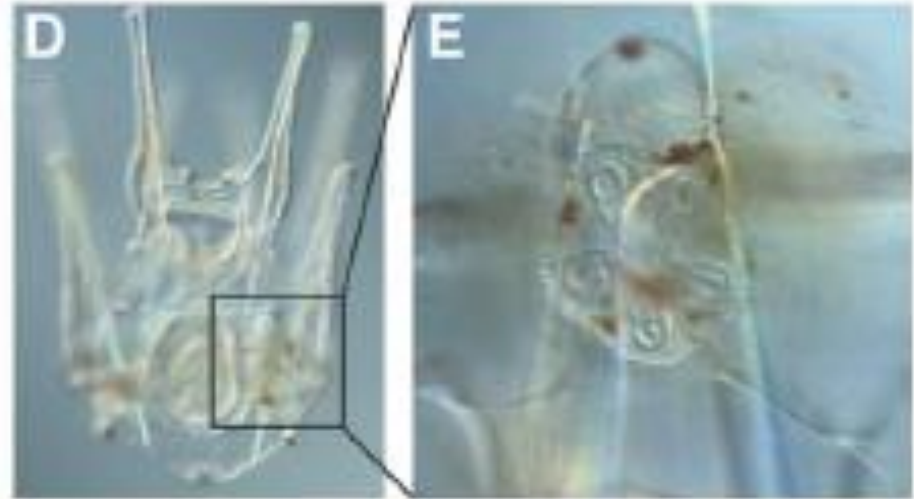


*L'hydrocoele bourgeonne en cinq vésicules. C'est le début de la pentamérisation.
(Larve auricularia).*

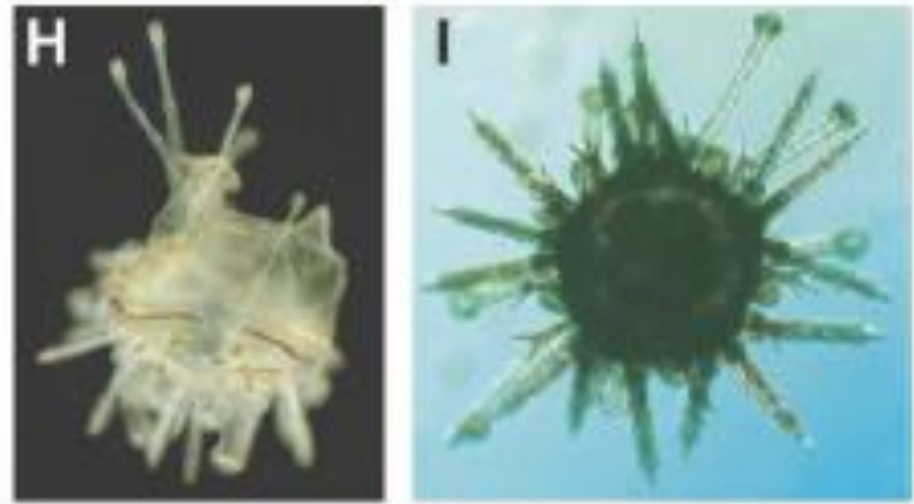
2 semaines



3 semaines



4 semaines



5 semaines

juvénile

La métamorphose chez l'oursin (développement indirect)

A

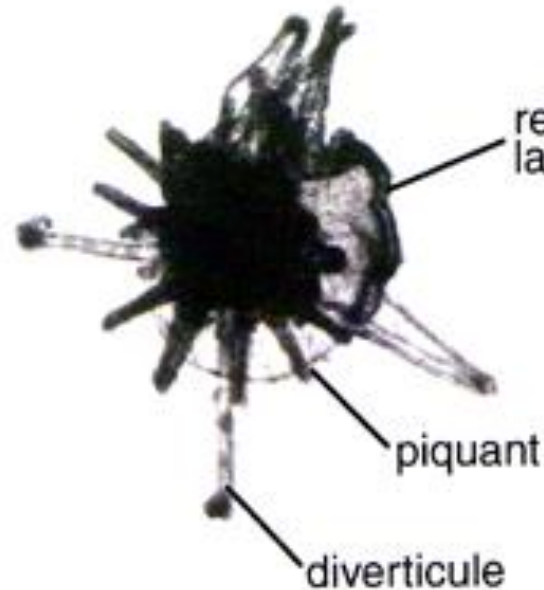


B



ébauche du
futur oursin

C

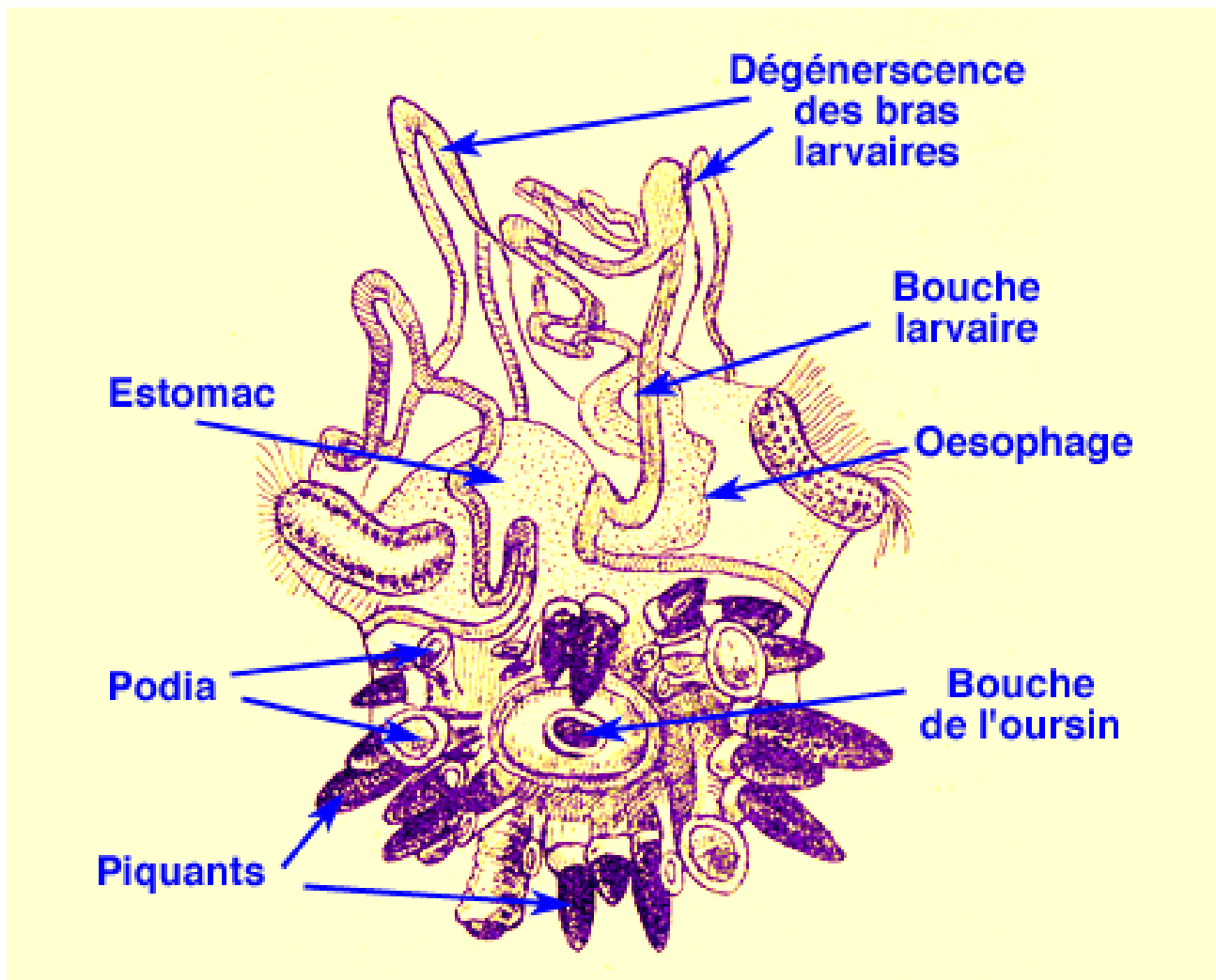


reste d'enveloppe
larvaire

piquant

diverticule

juvénile

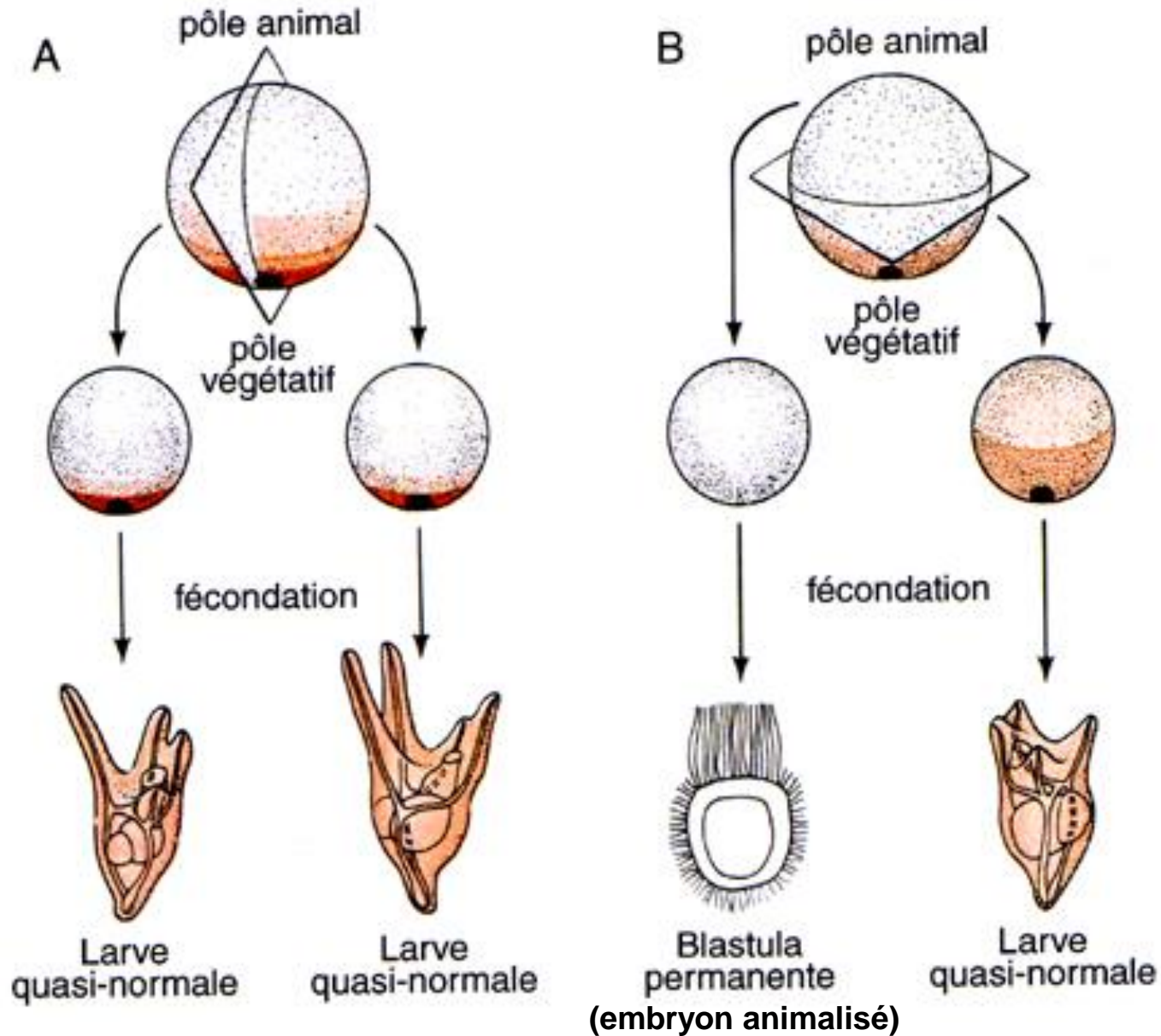


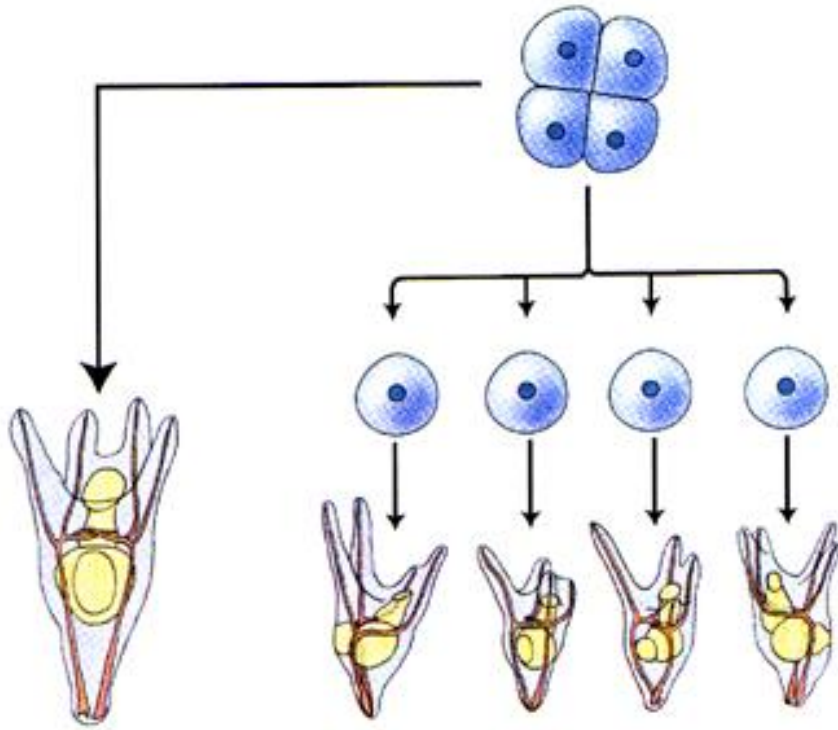
Métamorphose du pluteus d'oursin (Echinus miliaris, d'après Mc. Bride, 1914, Textbook of Embryology).



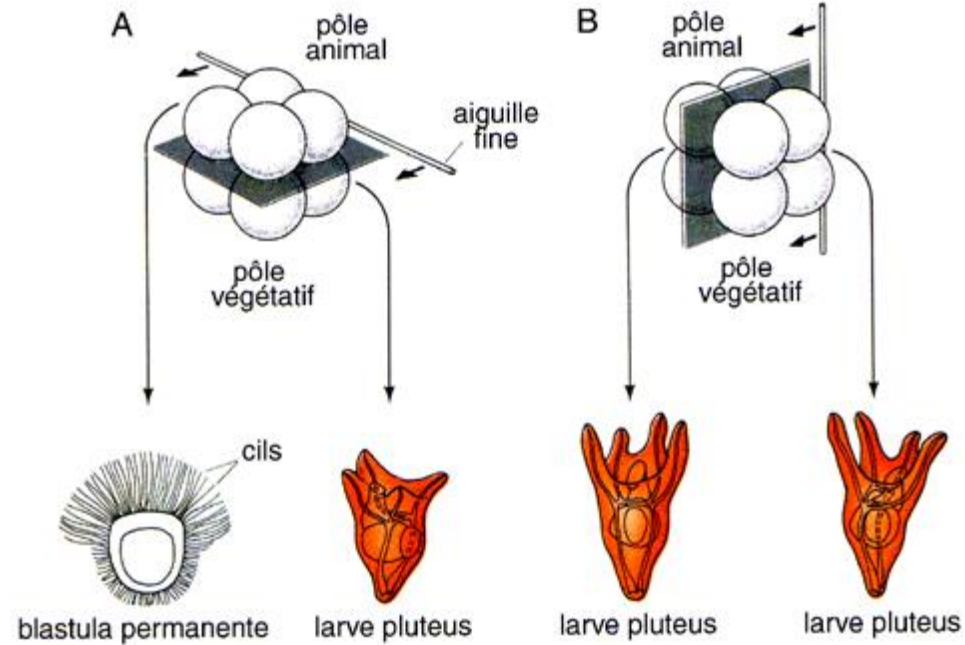
L'axe animal-végétatif

Démonstration de l'existence de la polarité animale-végétative avant la fécondation





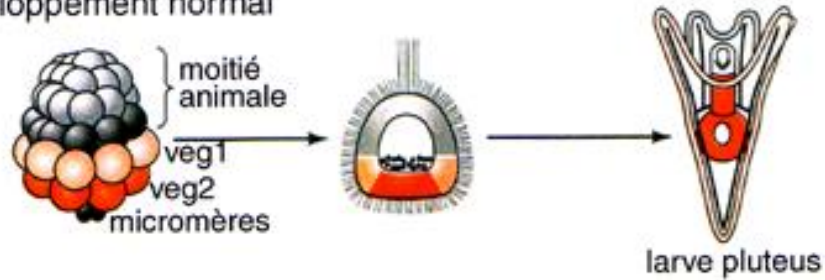
Développement de blastomères isolés à partir d'un embryon au stade 4 cellules



Développement de moitiés d'embryon obtenues par coupure au stade 8 cellules

Expériences suggérant l'existence d'un gradient végétatif

A. Développement normal



B. Moitié animale isolée



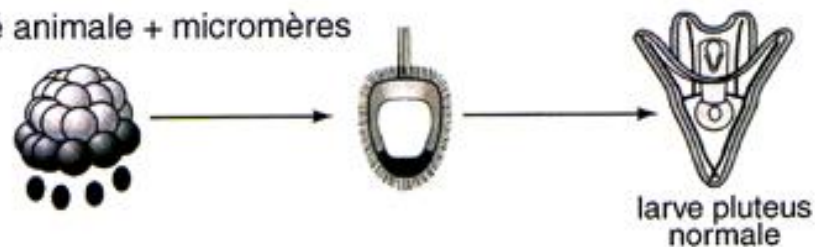
C. Moitié animale + veg1



D. Moitié animale + veg2



E. Moitié animale + micromères



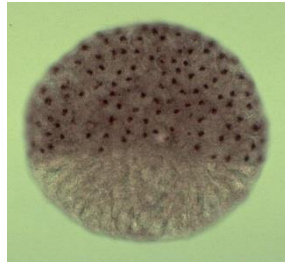
Analyse des territoires présomptifs après traitement au zinc et au lithium

Expression de
l'enzyme d'éclosion

Territoires
présomptifs

Phénotype

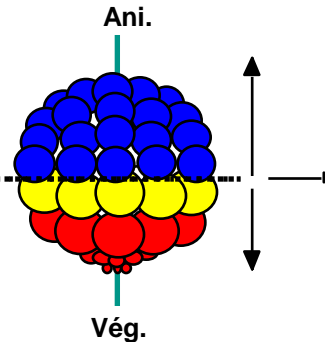
Normal



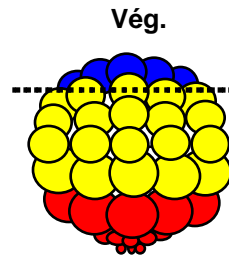
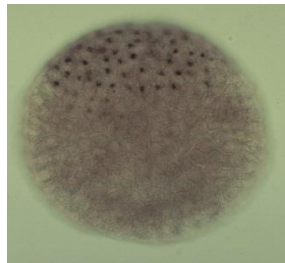
Ectoderme

Endoderme

Mésoderme

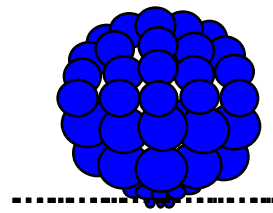


+ Lithium



Végétalisation

+ Zinc



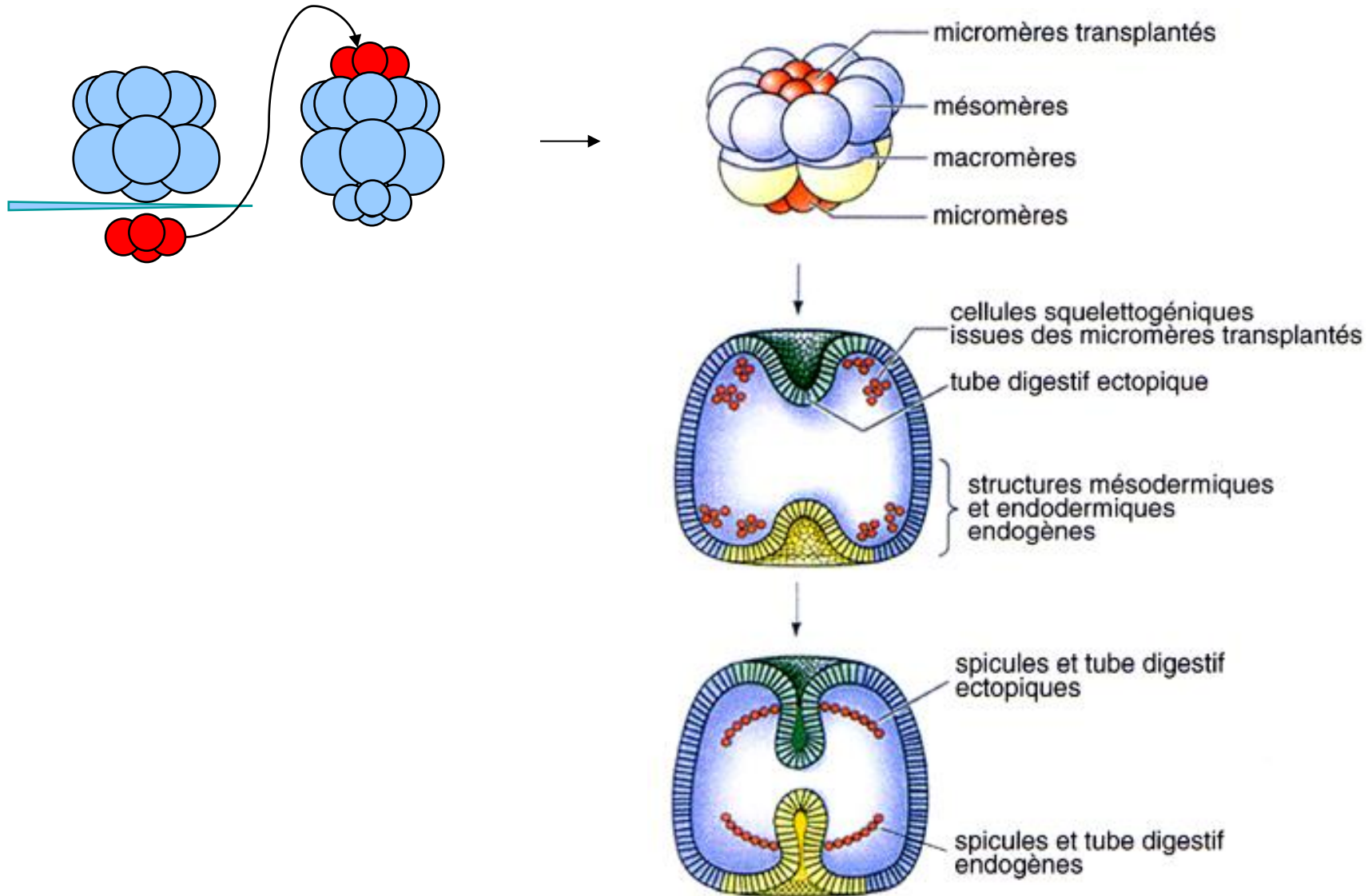
Animalisation

blastula

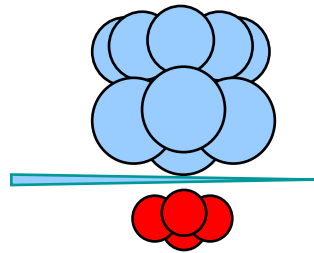
Stade 64

embryon à 48 h

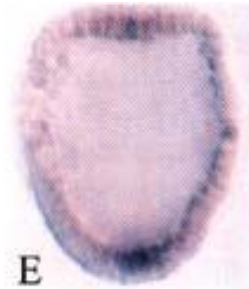
Capacité des micromères à induire un deuxième archentéron chez l'embryon d'oursin



Effets de l'ablation des micromères sur la gastrulation



Ablation des micromères au stade:



E

16



F

32



G

64



H

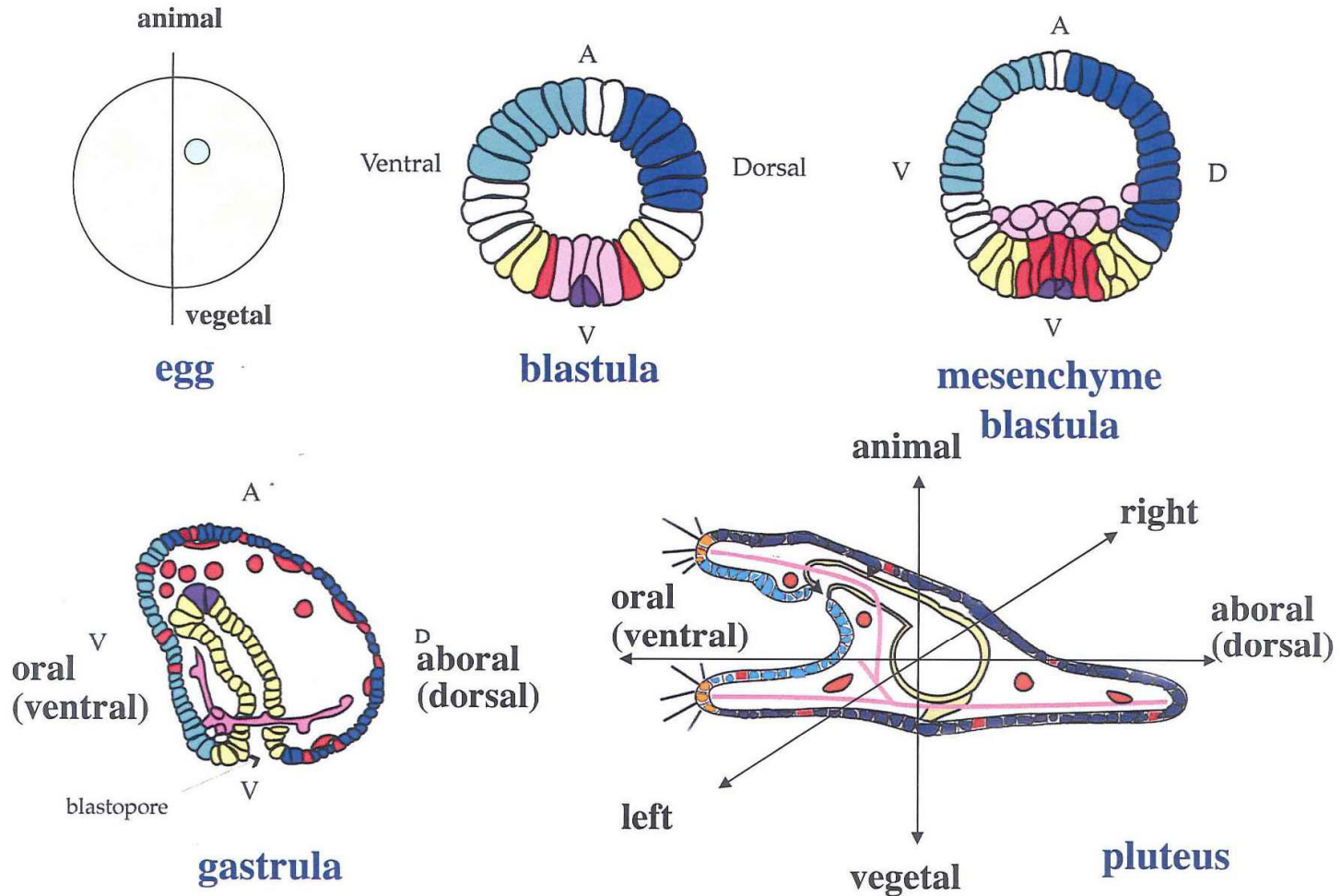
+1mic



I

+ 4mic

Les axes embryonnaires de l'oursin





Thierry.LEPAGE@unice.fr

7^{ème} étage, bâtiment Sciences Naturelles
Faculté des Sciences
06108 Nice

jeni.croce@obs-vlfr.fr

Station Zoologique,
La Darse,
06230 Villefranche-sur-Mer