

se reproduit rapidement, ce qui facilite l'obtention de mutants. L'étude de virus, de bactéries et de levures mutants avait déjà permis aux biologistes d'élucider diverses voies métaboliques et plusieurs mécanismes de régulation. Il y a 20 ans, avec Eric Wieschaus, nous avons utilisé des mutants pour rechercher des gènes qui déterminent la forme segmentée de la larve de drosophile. Les larves mesurent environ un millimètre de long, avec des segments bien délimités qui apparaissent 24 heures après la ponte de l'œuf. Ces caractéristiques sont essentielles pour l'interprétation d'anomalies déclenchées expérimentalement et qui perturbent le développement.

En outre, au cours des premiers stades du développement embryonnaire de la drosophile, l'œuf ne se sépare pas en plusieurs cellules. Dans les embryons de la plupart des autres animaux, la division des noyaux cellulaires s'accompagne de la division de la cellule ; des membranes cellulaires isolent alors les deux moitiés et forment deux cellules, là où il n'y en avait qu'une ; l'embryon est donc un amas de cellules. Chez la drosophile, en revanche, le noyau de l'œuf fécondé

se divise sans cesse, mais les différentes copies ne sont pas isolées par des membranes : des milliers de noyaux finissent par s'accumuler en périphérie d'une « cellule unique ». C'est seulement après trois heures de division cellulaire, lorsque 6 000 noyaux environ se sont formés, que des membranes de séparation apparaissent.

Ainsi, des substances chimiques peuvent diffuser librement et imposer le devenir des diverses régions de l'embryon. On peut transplanter du cytoplasme (le liquide visqueux contenu dans les cellules) ou injecter des molécules biologiques dans diverses régions de l'embryon de drosophile et en observer les effets.

Le pouvoir des gradients

En outre, la drosophile se prête bien aux techniques de la biologie moléculaire : l'insecte n'a que quatre paires de chromosomes, géants dans certains tissus, de sorte que l'on détecte parfois, au microscope, les anomalies génétiques. Enfin, à l'aide d'éléments génétiques mobiles, on peut ajouter des gènes spécifiques au patrimoine génétique de la drosophile.

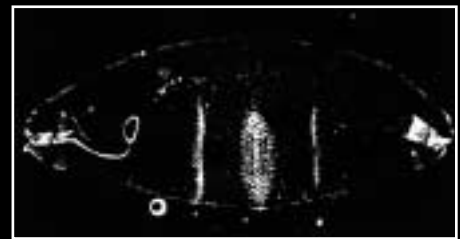
En étudiant des mutants, les biologistes ont trouvé une trentaine de gènes, actifs chez la femelle et qui définissent le « patron » de l'embryon. Seuls trois d'entre eux codent des signaux moléculaires qui déterminent les structures le long de l'axe antéro-postérieur (entre la tête et la queue) de la larve. Chacune de ces protéines de signalisation n'apparaît qu'en un site spécifique de l'œuf en développement et déclenche la création d'un type particulier de gradient morphogénique. La concentration en morphogène est toujours maximale sur le site de production du signal.

L'un de ces signaux commande le développement de la moitié antérieure de l'œuf, qui donnera la tête et le thorax de la larve. Un deuxième signal s'exprime dans la région qui deviendra l'abdomen et un troisième orchestre le développement des structures situées aux deux extrémités de la larve.

Le gradient morphogénique de la protéine nommée Bicoïd est le plus simple ; il détermine le développement de la partie antérieure de la larve. Avec Wolfgang Driever, nous avons découvert qu'un gradient de concentration en protéine Bicoïd s'établit dès les pre-



Jeremy Burgess, Science Photo Library, Photo Researchers, Inc.



Christian Nüsslein-Volhard

2. PAR MODIFICATION DE GRADIENTS DE PROTÉINES, on a obtenu ces deux embryons anormaux de mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster* (à gauche). L'un a deux extrémités antérieures symétriques (en haut) ; l'autre a deux extrémités abdominales (en bas). Dans ces embryons qui ne sont pas viables, on a coloré certaines protéines pour les repérer.

miers stades du développement : la concentration est maximale à l'extrémité antérieure de la larve et diminue progressivement le long de l'axe longitudinal. Des mutations du gène *bicoïd*, chez une drosophile femelle, empêchent la création du gradient de protéine Bicoïd, ce qui donne un embryon dépourvu de tête et de thorax.

La protéine Bicoïd agit dans le noyau de l'embryon. C'est un «facteur de transcription», capable de déclencher la transcription d'un gène, c'est-à-dire la production d'un ARN messager à partir du matériel génétique, l'ADN, puis la synthèse de la protéine codée par le gène à partir de l'ARN messager. Les facteurs de transcription agissent en se fixant

sur des séquences d'ADN spécifiques, localisées dans les régions régulatrices, ou promoteurs, des gènes cibles. Pour que la protéine Bicoïd puisse se fixer sur un promoteur, sa concentration doit dépasser un seuil critique.

Nous avons étudié l'interaction de la protéine Bicoïd avec le gène *hunchback*, qui est transcrit dans la partie antérieure du jeune embryon et dont le promoteur contient plusieurs sites de fixation de la protéine Bicoïd. Nous avons réalisé deux types d'expériences : d'une part, nous avons modifié le profil de concentration en protéine Bicoïd ; d'autre part, nous avons changé la structure du promoteur du gène *hunchback*.

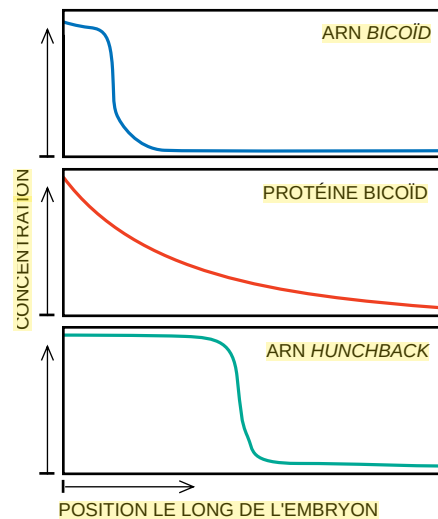
En introduisant des copies supplémentaires du gène *bicoïd* dans

l'ADN d'embryons qui forment ensuite des femelles, nous obtenons des animaux qui pondent des œufs où la concentration en protéine Bicoïd est quatre fois supérieure à la normale, tout le long du gradient : dans les embryons formés à partir de ces œufs, la zone d'activation du gène *hunchback* s'étend alors vers la partie postérieure, et la tête et le thorax se développent à partir d'une région de l'œuf plus étendue que la normale. Est-ce en raison d'un gradient de concentration plus marqué chez les embryons manipulés ? Est-ce parce que la concentration absolue en Bicoïd est supérieure à la normale ? En étudiant des mutants dont la concentration en Bicoïd était uniforme tout le long de leur axe antéro-postérieur (il n'y a pas de gradient), nous avons découvert que la seconde hypothèse est la bonne. Selon la concentration en protéine Bicoïd, ces embryons n'avaient qu'un seul type de structure antérieure (soit la tête, soit le thorax). Aussi, est-ce la concentration absolue en Bicoïd, et non l'amplitude du gradient, qui contrôle le développement de chaque région.

Dans le deuxième type d'expériences, nous n'avons pas perturbé le gradient de protéine Bicoïd, mais nous avons modifié le promoteur du gène *hunchback*. Lorsque la liaison de la protéine Bicoïd au promoteur modifié était faible, il fallait des concentrations en Bicoïd très élevées pour amorcer la transcription du gène *hunchback*. Par conséquent, la limite de la zone d'activité du gène *hunchback* se déplaçait vers l'avant et, comme on s'y attendait,

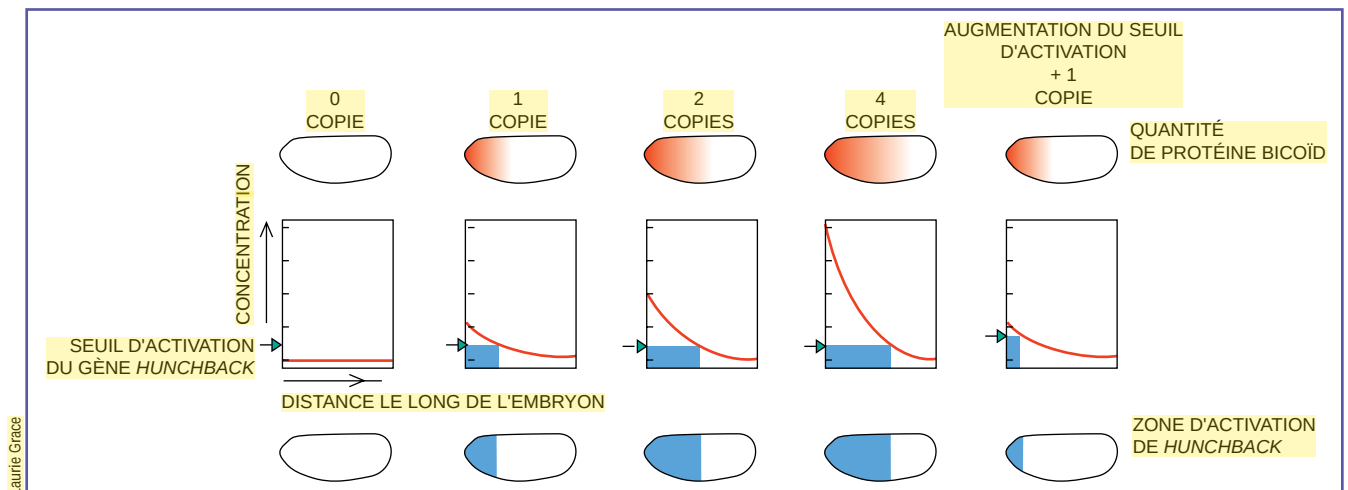


Christian Nüsslein-Volhard



Laurie Grace

3. APRÈS LA PONTE, les œufs de drosophile ne contiennent de l'ARN messager *bicoïd* qu'à leur extrémité antérieure, qui donnera la tête (visualisé par coloration en haut à gauche). Deux heures plus tard, la protéine Bicoïd, formée à partir de l'ARN, s'est répartie le long de l'embryon (au milieu). Le gradient de concentration en protéine Bicoïd dépasse une valeur seuil et active le gène *hunchback*, uniquement dans la moitié antérieure de l'embryon (en bas).



Laurie Grace

4. DES EMBRYONS pourvus d'exemplaires excédentaires du gène *bicoïd* produisent des gradients de protéine Bicoïd plus marqués que chez les embryons normaux. La région où la concentration en

protéine Bicoïd est supérieure au seuil d'activation du gène *hunchback* s'étend. Quand on augmente artificiellement le seuil d'activation, la zone d'activité du gène *hunchback* diminue.

la tête se développait à partir d'une région plus petite que la normale. Ces expériences établissaient que la protéine Bicoïd exerce son action en se liant au promoteur du gène *hunchback*.

Ces expériences montrent comment un morphogène (la protéine Bicoïd) détermine l'endroit, dans l'embryon, où le gène *hunchback* est activé. En théorie, de nombreux gènes cibles pourraient réagir à divers seuils, dans un même gradient de morphogène, lequel définirait plusieurs zones d'activation de gènes. En réalité, un gradient agit seulement sur deux ou sur trois gènes, ne déterminant que deux ou trois zones d'activation.

Comment le gradient de concentration du morphogène Bicoïd s'établit-il? Au cours du développement de l'œuf non fécondé, des cellules nourricières accumulent, au pôle antérieur, des ARN messagers *Bicoïd* ; la synthèse de la protéine, qui commence après la fécondation, a déjà lieu lors de la ponte de l'œuf. Au cours du développement embryonnaire, la protéine diffuse à partir de son lieu de production, situé à l'extrémité antérieure, mais elle est instable, de sorte que sa concentration en un point éloigné, c'est-à-dire à l'extrémité qui donnera l'abdomen, n'est jamais élevée. Le gradient de concentration qui s'établit ainsi persiste jusqu'à la formation des membranes cellulaires.

Cette simple diffusion est suffisamment précise pour assurer un développement normal. Des variations, même notables, de la concentration en protéine Bicoïd (une concentration double ou de moitié)

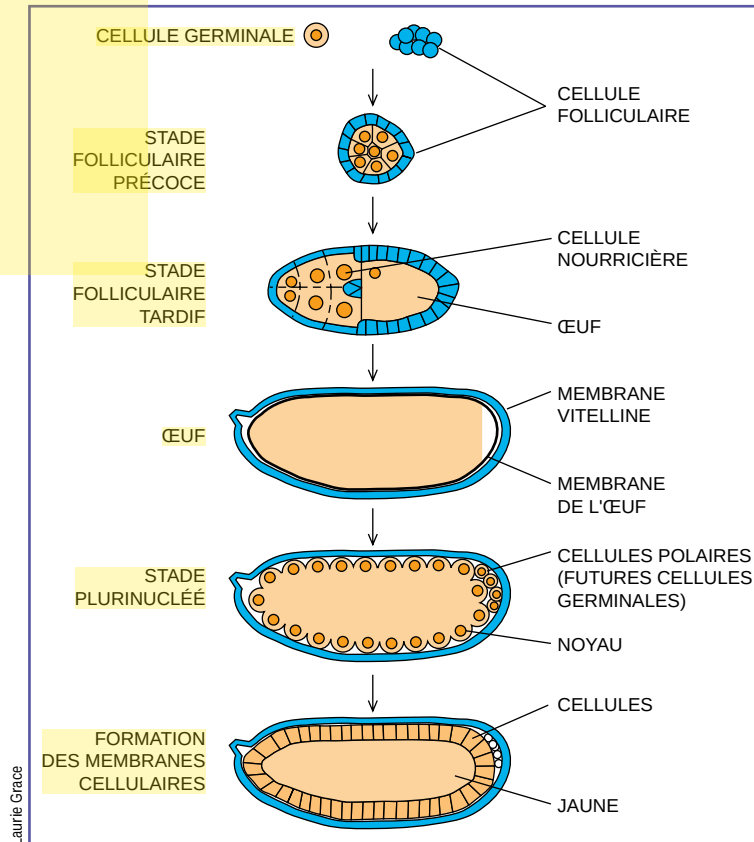
aboutissent à un développement normal des larves, car les mécanismes ultérieurs du développement peuvent corriger certaines erreurs survenues aux stades précoces. Quand on injecte des ARN messagers *bicoïd* dans le pôle postérieur d'un embryon normal, un second gradient de concentration en protéine Bicoïd, opposé au gradient naturel, apparaît. L'embryon a une seconde tête, à la place de l'abdomen. On en déduit

que l'ARN messager *bicoïd* suffit à déterminer la polarité.

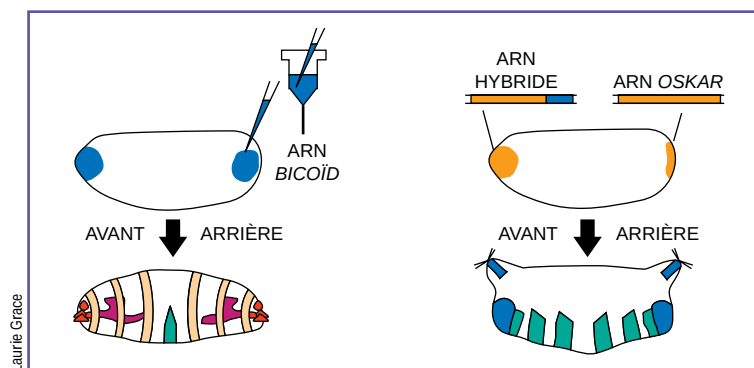
D'autres travaux ont révélé comment l'ARN messager de la protéine Bicoïd se répartit naturellement dans l'œuf. À l'Université Stanford, Paul Macdonald a identifié une séquence de cet ARN messager qui contient toutes les informations nécessaires à une cellule pour le reconnaître, le transporter et le fixer. En outre, nous

avons observé qu'un complexe moléculaire constitué d'un ARN messager *bicoïd* et d'une protéine nommée Staufen se déplace toujours dans la même direction, le long des éléments structuraux nommés microtubules. Cela expliquerait la localisation de l'ARN messager *bicoïd*, bien que d'autres protéines interviennent aussi dans ce mécanisme.

Si la protéine Bicoïd détermine la partie antérieure de la larve, le gradient morphogénique de la protéine Nanos en détermine la partie postérieure. L'ARN messager *Nanos* est concentré dans le cytoplasme, au pôle postérieur de l'œuf. Sa présence dépend essentiellement d'un autre complexe moléculaire, constitué de la protéine Staufen et de l'ARN messager d'un gène nommé *oskar*. Ce dernier est indispensable, et son remplacement par un ARN messager hybride contenant la séquence de l'ARN messager *bicoïd* (qui permet la localisation au pôle antérieur) aboutit à un transport du complexe macromoléculaire comportant l'ARN messager *Nanos* vers l'extrémité antérieure de l'embryon : celui-ci a alors deux extrémités abdominales symétriques.



5. UN ŒUF DE DROSOPHILE se forme à partir d'une cellule germinale. Les cellules nourricières et les cellules folliculaires fournissent des éléments nutritifs et divers facteurs commandant le développement embryonnaire. Trois heures après la ponte, lorsque 6 000 noyaux sont apparus, des membranes séparent ceux-ci en cellules adjacentes. Les tissus larvaires apparaissent plus tard.



6. UNE MODIFICATION DES GRADIENTS de protéines perturbe le développement embryonnaire. Quand on injecte de l'ARN *bicoïd* à l'extrémité postérieure d'un œuf (à gauche), une seconde tête et un second thorax se développent. Les œufs manipulés qui produisent des molécules hybrides d'ARN *oskar* et d'ARN *bicoïd* (à droite) donnent des embryons à deux extrémités abdominales.