

entre deux souches différentes appartenant à la même espèce ou à deux espèces différentes. La combinaison entre cellules d'individus porteurs d'un marqueur aisément identifiable peut, si le marqueur est permanent, permettre de suivre les cellules pendant toute la durée du développement embryonnaire. L'association des cellules provenant de deux individus différents au sein d'un seul embryon consiste à construire une chimère. Pour qu'une chimère se développe normalement, les processus morphogénétiques et les interactions entre cellules, si importants pour le développement harmonieux de l'embryon, doivent être fondamentalement identiques dans les espèces dont sont issues les cellules recombinées. Cela est possible lorsque les espèces sont proches sur le plan taxonomique.

Chimère et exploration de l'embryon

L'association dans un même organisme de cellules provenant de deux individus distincts – en d'autres termes, la juxtaposition de cellules de deux génotypes différents –, loin de produire des monstres, permet non seulement de suivre les déplacements de cellules greffées reconnaissables de celles de l'hôte, mais aussi de mettre en évidence les interactions entre ces cellules.

Vers la fin des années 1960, le généticien Ernst Bösiger utilisait, comme matériel expérimental, la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*), une espèce particulièrement féconde, puisque la femelle pond un œuf par jour. Ayant plus d'œufs qu'il ne pouvait en utiliser pour son élevage, il en distribua à divers laboratoires d'embryologie. J'en bénéficiai moi-même et, par curiosité, fis quelques expériences pour éprouver l'intérêt potentiel de l'embryon de caille comme matériel expérimental. J'ai alors fait une observation qui a été décisive pour la suite de mes travaux, puisqu'elle m'a amenée à mettre au point la méthode de marquage cellulaire fondée sur la construction de chimères entre la caille et le poulet.

J'ai remarqué la présence, dans le noyau des cellules de caille, d'une volumineuse condensation d'ADN associée au nucléole (une structure présente dans tous les types cellulaires). L'ADN condensé dans les noyaux constitue l'hétérochromatine. Il s'agit d'une par-



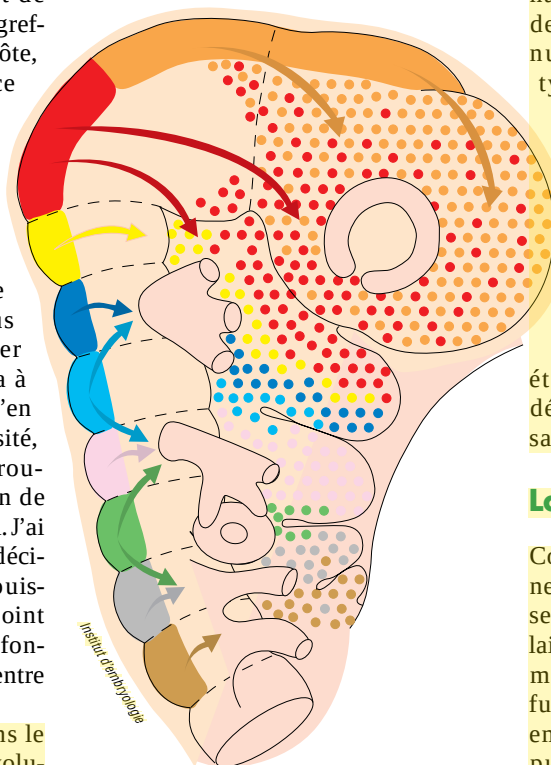
Institut d'embryologie

2. LA PLAQUE NEURALE (une couche de cellules indifférenciées) se replie au début de l'embryogenèse et les plis neurales se rapprochent, jusqu'à se coller, formant le tube neural d'où émergera la quasi-totalité du système nerveux (*embryon de poulet, à gauche*). L'étude des chimères caille-poulet a permis d'établir une carte du devenir des cellules de cette région : en remplaçant des cellules de poulet par des cellules de caille (*à droite, la zone greffée apparaît plus claire*), on suit le mouvement des cellules de caille, repérables par leur volumineux noyau (le grossissement est égal à 300).

tie du génome qui, à un moment déterminé et dans une cellule donnée, est non transcrite, par opposition à l'euchromatine, qui est constituée d'ADN non condensé et accessible à la transcription. Hétérochromatine et euchromatine sont des états dynamiques du génome et sont, dans une certaine mesure au moins, interconvertibles. Cette association de l'hétérochromatine (ADN condensé) et du nucléole n'existe généralement pas dans les

cellules animales... sauf chez la caille et quelques autres espèces d'oiseaux. Lorsque les cellules de caille et de poulet sont colorées de façon à mettre l'ADN en évidence, la différence de structure de leur noyau est manifeste (*voir la figure 1*).

Quand on construit des embryons chimériques en greffant, comme nous allons l'expliquer, des territoires embryonnaires de caille sur un embryon de poulet (ou *vice versa*), on reconnaît aisément les cellules de chacune des deux espèces. La même structure nucléaire se rencontre dans tous les types cellulaires embryonnaires et adultes de caille et constitue un marqueur génétique d'une stabilité jamais égalée dans les marquages expérimentaux utilisés auparavant. Ainsi, les chimères offrent la possibilité de suivre, jusqu'au stade adulte, le devenir de cellules choisies dans un embryon. Dans mon laboratoire, cette méthode a été utilisée surtout pour l'étude du développement des systèmes nerveux, sanguin, vasculaire et immunitaire.



3. LES CHEMINS MIGRATOIRES des cellules de la crête neurale (ici dans la tête) ont été identifiés par l'auteur et ses collègues : on a indiqué par la même couleur les cellules de la crête neurale avant et après leur migration.

La crête neurale

Comme nous l'avons indiqué, la crête neurale se forme lorsque le tube neural se ferme et que les bourrelets médullaires qui bordent l'ébauche neurale primitive (aussi appelée plaque neurale) fusionnent. Le rôle de cette structure embryonnaire transitoire, très discrète puisqu'elle n'est constituée à l'origine que de quelques milliers de cellules chez l'embryon d'oiseau ou de souris, est resté longtemps mal connu. La construction de chimères entre caille et poulet permet d'étudier l'ontogenèse de la crête

neurale chez l'embryon des vertébrés supérieurs. La méthode utilisée consiste à remplacer, chez un embryon de poulet, des fragments bien définis du territoire neural par leurs équivalents provenant d'un embryon de caille au même stade de développement.

Cette substitution, dite isotopique et isochronique, reconstitue un embryon complet, mais où une partie du «soi» est remplacé par l'équivalent provenant d'une espèce différente et qualifié de «non-soi». On construit ainsi des chimères hétérospécifiques, où les tissus de deux espèces différentes sont associés. L'état indifférencié du système immunitaire de l'embryon a pour résultat que les tissus appartenant au greffon sont acceptés, car non identifiés comme «non-soi». De plus, les interactions cellulaires, si importantes dans l'organogenèse, se déroulent normalement chez les chimères. Ceci tient certainement au fait que les deux espèces d'oiseaux mises en présence appartiennent à la famille des Gallinacés et sont proches sur le plan taxonomique.

La crête neurale est une structure particulièrement intéressante, car son développement soulève la plupart des questions posées par l'embryogenèse. Non seulement les cellules qui en sont issues sont douées de propriétés migratoires, mais elles donnent naissance à des dérivés très diversifiés. Par conséquent, comme l'œuf lui-même, à l'origine de toutes les cellules de l'organisme, la crête neurale est une structure pluripotente.

Quand j'ai commencé à m'intéresser au développement de la crête neurale, au début des années 1970, il convenait d'établir tout d'abord quels sont les différents types cellulaires qui en dérivent chez les vertébrés supérieurs et comment s'effectue la diversification des types cellulaires qu'elle produit. Il est fréquent en effet que le «choix de différenciation» de cellules pluripotentes précède l'expression morphologique ou biochimique du phénotype différencié.

Ainsi, quand une cellule est déterminée à se différencier en un type cellulaire donné, elle se différencie selon son destin normal, même si elle est expérimentalement transposée dans un environnement différent, par exemple au cours d'une greffe hétérotopique (dans un territoire de l'embryon autre que le sien).

Au contraire, lorsque la cellule n'a pas un devenir déterminé, son choix de différenciation est influencé par l'environnement dans lequel elle se trouve. Donc, en situation de greffe hétérotopique, elle se différencie en accord avec le nouveau milieu où elle se trouve plutôt que selon son devenir normal.

L'identification des voies de migration

L'exploration systématique du devenir des cellules de la crête neurale par la méthode décrite précédemment nous a permis de découvrir des dérivés de cette structure jusque-là insoupçonnés, de montrer le rôle essentiel qu'elle joue

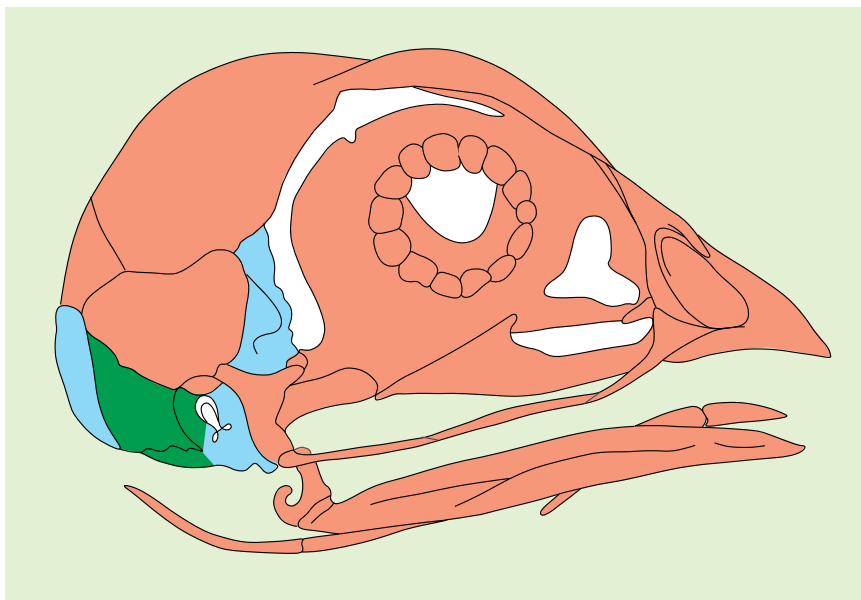
dans la formation de la tête chez les vertébrés et de connaître les niveaux précis de l'axe neural, dont chacun des dérivés de la crête neurale est issu. Les voies de migration de ces cellules à travers les tissus de l'embryon ont aussi été identifiées dans ces expériences. Enfin, les transplantations hétérotopiques de tube neural, où l'on modifie la position d'un territoire donné le long de l'axe antéropostérieur de l'embryon, ont permis de mettre en évidence le rôle décisif joué par l'environnement dans la différenciation de la plupart des dérivés de la crête neurale.

Ces expériences ont révélé qu'après transposition hétérotopique les cellules de crête atteignent les tissus cibles correspondant à leur position sur l'axe neural (et non pas ceux qu'elles colonisent en l'absence de transposition). Ensuite, elles se différencient en fonction de leur nouvel environnement plutôt qu'en fonction de leur destinée normale, régie par leur emplacement d'origine.

Une autre façon d'évaluer la pluripotentiaité des cellules de crête est de les transplanter *in vitro* dans un milieu qui permet l'expression de la totalité des phénotypes auxquels elles donnent naissance chez l'embryon. Si les cellules sont transplantées isolément, elles donnent naissance, par divisions cellulaires successives, à une colonie, ou clone. Dans le cas où la cellule initiale est pluripotente, plusieurs phénotypes cellulaires sont représentés dans le clone. Au contraire, quand la cellule est monopotentielle ou bipotentielle, respectivement un ou deux types cellulaires sont présents dans le clone.

Quand elles commencent à migrer, les cellules de la crête neurale sont pour la plupart pluripotentes, c'est-à-dire que leur descendance se compose par exemple de neurones, de cellules gliales, ou de mélanocytes. *In vivo*, le «choix» de différenciation est dicté par des facteurs spécifiques des différentes régions de l'embryon : les mélanocytes se développent dans la peau, ou les neurones dans les ganglions du système nerveux périphérique. Ainsi, la différenciation des dérivés de la crête neurale dépend des interactions qui ont lieu entre les cellules de la crête et celles des tissus embryonnaires environnants.

Nous avons également étudié le rôle de la crête neurale dans l'embryogenèse de la tête chez les vertébrés supérieurs. Mes premières recherches sur ce sujet ont été effectuées en collabo-



4. LE CRÂNE DES VERTÉBRÉS dérive, pour l'essentiel, de la crête neurale (en rouge). Les quelques zones qui ne dérivent pas de la crête neurale proviennent d'autres régions de l'embryon nommées mésenchyme céphalique (en bleu) ou mésoderme somitique (en vert).