

Vive la zoologie moléculaire !

Vincent Laudet

Depuis une quinzaine d'années le mariage de deux disciplines scientifiques aux relations complexes et souvent ombrageuses, la biologie du développement et les sciences de l'évolution, a permis la naissance d'un nouvel axe de recherche que ses adeptes nomment « Évo/Dévo » [1, 2]. L'objet de cette nouvelle approche est de mieux comprendre les relations qui existent entre les processus développementaux et ceux de l'évolution. Dans ces études, les innovations qui se produisent au cours de l'évolution peuvent être étudiées grâce aux concepts et aux outils forgés par la biologie du développement. Qui ouvre la littérature récente s'apercevra sans peine du foisonnement des recherches menées dans cette direction. Les auteurs d'articles présentant des résultats de biologie du développement terminent à présent fréquemment leurs discussions par un commentaire sur les implications évolutives de leurs découvertes [3, 4]. Les nombreux congrès dans ce domaine démontrent également le dynamisme de cette approche qui s'appuie sur une pratique très interdisciplinaire: embryologistes, biologistes moléculaires, évolutionnistes, mais aussi paléontologues, morphologistes, physiologistes, bio-informaticiens et zoologistes se côtoient dans ces manifestations. Ces spécialistes de domaines très différents, qui se sont ignorés pendant de nombreuses années se retrouvent maintenant ensemble à discuter de la date des premiers fossiles de métazoaires au Précambrien, du rôle adaptatif des profils de répartition des trichomes sur la patte de la drosophile ou de la relation entre l'absence d'un groupe de gènes paralogues du complexe Hox et de ceinture pelvienne chez le poisson fugu. Les modèles biologiques utilisés deviennent extrêmement divers et il n'est plus exotique de lire des travaux concernant le développement des hémichordés ou des mille-pattes. Tirant parti des connaissances de plus en plus fines des mécanismes intimes de la vie obtenues par les généticiens moléculaires sur les grands modèles classiques comme la drosophile ou la souris et de l'arrivée des

données issues du séquençage des génomes entiers, les chercheurs en Évo/Dévo disposent d'un nombre d'outils disponibles de plus en plus vaste. Si l'on ne veut retenir qu'un signe de succès de cette approche et de son enracinement maintenant solide dans la communauté des biologistes du développement, il suffit de mentionner que le paléontologue Simon Conway-Morris a été invité par la revue *Cell* à écrire un article concernant l'Évo/Dévo pour le numéro du 1^{er} janvier 2000 [5].

Les gènes des complexes homéotiques Hox ont été au centre de ce nouvel effort de recherche et leur étude a conduit à de nombreux résultats significatifs. Citons pour mémoire les travaux concernant l'évolution de la structure de ce complexe chez les métazoaires. Il est à présent largement accepté que le complexe Hox ancestral des bilatériens (c'est-à-dire des métazoaires à symétrie bilatérale et possédant trois feuilletts embryonnaires, une trentaine de phylums parmi lesquels les arthropodes, les nématodes, les vers plats, ou les vertébrés) contenait 8 à 10 gènes capables de conférer une identité précise aux différentes parties du corps selon l'axe antéro-postérieur [6]. L'expression des gènes *Hox* a été étudiée dans de très nombreux groupes zoologiques, ce qui a permis de vérifier, au moins dans les grandes lignes, la justesse du principe de colinéarité et de proposer l'hypothèse du zootype, sorte de définition moléculaire des animaux fondée sur la présence d'un complexe Hox responsable de la mise en place de la polarité antéro-postérieure [7]. On commence à mieux saisir le rôle que ces gènes *Hox* ont pu avoir dans l'apparition d'innovations développementales et/ou morphologiques chez les métazoaires [8].

Et pourtant... pourtant on peut tout de même s'interroger sur certains aspects de cette discipline nouvelle. D'abord l'Évo/Dévo est menée essentiellement par des biologistes du développement, avec des questions et des approches de biologie du développement, et les retombées de ces recherches concernent, logiquement, plus la biologie du développement que les sciences de l'évolution proprement dites. On peut regretter cet état de fait qui

Cnrs UMR 5665,
Laboratoire de Biologie
Moléculaire et Cellulaire,
École Normale Supérieure
de Lyon,
46, allée d'Italie,
69364 Lyon Cedex 07, France.
Vincent.Laudet@ens-lyon.fr



explique la relative indifférence que manifestent de nombreuses équipes de sciences de l'évolution vis-à-vis de ce domaine qui touche pourtant à des aspects très pertinents à leur propres concepts. Ceci est très regrettable puisque les recherches en Évo/Dévo requièrent de façon absolument critique les compétences de morphologistes, anatomistes, phylogénéticiens (en bref des zoologistes...) spécialistes des différents animaux qui sont étudiés sous l'angle de l'évolution et du développement. Les zoologistes sont une espèce en voie de disparition et, pour que leur discipline retrouve tout son dynamisme, il nous semble qu'elle doit se préoccuper activement des recherches menées en Évo/Dévo.

Un autre point d'interrogation est le côté un peu systématique des recherches menées en Évo/Dévo. Il est devenu presque lassant de voir des études rapportant le clonage de l'homologue de tel gène important pour un phénomène développemental donné dans tel organisme, de lire la description du profil d'expression détaillée de ce gène au cours du développement de l'organisme en question puis la théorie qui en découle sur l'évolution de telle ou telle structure anatomique. Ces études du type « une PCR, une théorie » (selon la savoureuse expression d'un spécialiste bien connu des gènes *Hox*...) sont devenues le pain quotidien des revues spécialisées du domaine. Bien sûr, le phénomène de mode associé à cette discipline en pleine expansion explique en partie le grand nombre d'études de ce style mais, si le domaine de l'Évo/Dévo ne veut pas s'essouffler, il va falloir rapidement passer à autre chose. D'autant plus que ce genre de résultats fondés sur des comparaisons de profils d'expression est souvent d'une interprétation difficile et pose en termes brûlants le problème du concept d'homologie. L'expression d'un gène donné (voire de tous les membres d'une voie de régulation développementale) dans deux structures suffit-elle pour affirmer que ces structures sont homologues? L'exemple de l'expression d'un même gène, *Pax6*, dans les yeux des vertébrés et ceux des arthropodes qui ne sont pas considérés comme des structures homologues montre que ce débat est loin d'être terminé. De plus, une corrélation d'expression n'est pas une démonstration claire de l'implication de tel gène dans la formation de telle structure. Il faut encore en apporter la démonstration en invalidant le gène, ou en interférant avec son expression, en bref en optant pour une démarche expérimentale qui permette de répondre à la question de façon précise. Fort heureusement, de nombreux chercheurs de ce domaine sont très conscients de ce problème et des résultats récents permettent d'être optimistes en ce qui concerne la manipulation de l'expression des gènes dans une vaste gamme d'organismes. Que ce soit la transgénèse chez les insectes non drosophilien ou chez les amphibiens, l'utilisation de l'interférence ARN chez les néma-

todes, la transgénèse somatique chez de nombreux vertébrés ou l'utilisation des morpholinos chez les poissons, les nouveaux moyens techniques qui sont à notre disposition devraient permettre d'apporter la preuve (ou de démentir) les belles théories fondées sur l'analyse des profils d'expression. L'Évo/Dévo va sortir de ses langes.

Nous souhaitons soutenir une autre façon d'aborder les problèmes d'évolution et de développement qui nous paraît riche de découvertes futures, et qui en même temps pourrait permettre de dépasser le clivage qui subsiste encore entre la génétique moléculaire et les sciences de l'évolution. Cette proposition part d'un constat simple déjà énoncé dans la littérature [9]: il n'y a pas que les profils d'expression des gènes et leur régulation qui changent au cours de l'évolution, mais la fonction même des molécules, leur mode d'action biochimique peut varier de façon subtile ou plus spectaculaire et jouer également un rôle important dans la mise en place d'innovations développementales. Or, la nature qui nous entoure est pleine d'expériences de biologie moléculaire dont les chercheurs n'auraient jamais pu rêver et dont la réussite est validée par des millions d'années d'évolution. Nous pensons donc qu'il est important de se tourner vers la fonction même des molécules qui évoluent et de ne plus seulement étudier leur expression ou l'information phylogénétique qu'elles contiennent. Bien sûr une telle approche est beaucoup plus lourde car elle demande de caractériser ces molécules, c'est-à-dire de cloner des gènes homologues complets dans les espèces étudiées (c'est-à-dire de ne plus se contenter d'un grand fragment de PCR...), d'exprimer cette molécule dans des systèmes cellulaires idoines *in vitro* ou *in vivo*, d'étudier sa fonction par des tests fonctionnels adaptés et, enfin, de perturber la fonction ou l'expression de cette molécule *in vivo* pour comprendre dans un contexte intégré son mode d'action. Malgré ces difficultés techniques bien réelles, nous sommes convaincus que le jeu en vaut la chandelle et que de belles découvertes sont à faire de ce point de vue.

Il existe de très nombreux cas d'espèces animales (ou végétales) qui constituent des sortes de « mutants naturels », c'est-à-dire des organismes qui, pour une raison ou pour une autre, en s'adaptant souvent à des conditions particulières ont engendré des voies développementales ou des régulations physiologiques uniques. De la même façon que l'étude de manifestations pathologiques (cancer, virus, etc.) a permis de mieux comprendre le mode de fonctionnement des cellules, nous pensons que l'étude au niveau moléculaire et fonctionnel de ces espèces permettra d'apporter une double contribution à nos connaissances. Une telle approche apporterait un éclairage sur les mécanismes évolutifs mais aussi, du point de vue du biologiste moléculaire et de ses objets de recherche, de mieux

saisir comment les molécules s'adaptent à de fortes contraintes structurales et fonctionnelles.

Prenons un exemple: chez les insectes, comme chez les autres organismes, l'existence d'horloges circadiennes est absolument vitale pour anticiper un changement majeur et régulier de l'environnement du cycle jour/nuit. Ces dernières années, les gènes impliqués dans les horloges circadiennes ont été caractérisés très finement chez la drosophile et chez la souris. On sait à présent que, chez tous les métazoaires, ces horloges sont constituées de boucles de rétroaction de facteurs de transcription qui s'autorèglent les uns les autres. L'oscillation de l'expression de ces gènes est très précisément synchronisée par la lumière sur la durée du jour, soit 24 heures. En même temps, la lumière véhicule une information sur la photopériode et donc, à nos latitudes, sur la saisonnalité. Cette information est prise en compte par le cerveau d'une façon encore très mal comprise. En caractérisant les gènes des horloges circadiennes chez la drosophile, l'équipe de Charalambos Kyriacou s'est aperçue qu'il existait un polymorphisme au niveau d'une répétition d'acides aminés Thr-Gly dans l'un de ces gènes appelé *Period*. Cette variation de la séquence, qui change le nombre de répétitions Thr-Gly dans la région codante de ce gène, se retrouve à des fréquences variables dans les populations de drosophiles sauvages et est répartie d'une façon graduelle (c'est-à-dire sous forme d'un cline) en fonction... de la latitude [10]. Des études fonctionnelles détaillées de la protéine *Period* de drosophiles vivant en Europe comparée à la protéine *Period* de drosophiles vivant en Afrique du nord ont montré que la différence de séquence entre ces deux populations se traduisait par une variation subtile de la période du cycle gouvernée par cette protéine et par une différence importante sur l'influence de la température sur la synchronisation de l'horloge circadienne. Des manipulations génétiques appropriées ont permis de prouver que ces différences comportementales sont bien directement liées au nombre de répétitions Thr-Gly présentes au sein de la protéine *Period*. Ainsi, il existe une protéine *Period* de jours courts et une de jours longs! Outre des informations intéressantes sur un modèle de changement adaptatif chez des populations sauvages, un cas qui n'est pas si fréquent en biologie évolutive, ces travaux ont aussi apporté des données sur la relation structure/fonction de la protéine *Period*. Cet exemple illustre donc très bien le double intérêt de cette démarche.

Or, des cas de ce type sont beaucoup plus fréquents qu'on ne le croit. Pour mémoire, citons la perte de la vue chez de nombreuses espèces fouisseuses ou cavernicoles comme les poissons du genre *Astyanax* ou les rats-taupes du genre *Spalax*. Que deviennent les gènes impliqués dans la vision comme les cristallines, et le rythme circadien de ces animaux? La protéine Pax 6 qui intervient également

dans la mise en place du système nerveux a-t-elle une fonction modifiée chez ces organismes? Chez deux genres de rongeurs différents qui ne sont pas phylogénétiquement liés, *Ellobius* et *Tokudaia*, il existe des animaux mâles et femelles qui ont tous le même caryotype avec... un seul chromosome X et pas de chromosome Y. Ces animaux ne comportent pas de gène *Sry* et pourtant produisent des mâles fonctionnels, situation vraiment bizarre pour des mammifères! À l'opposé, chez certains rats, il existe plusieurs copies du gène *Sry*. Comment cela est-il possible? Les autres gènes de la cascade de détermination sexuelle sont-ils modifiés? La réponse à ces questions nous apprendrait sans doute beaucoup sur la plasticité de ces mécanismes de détermination sexuelle.

Cette liste n'est bien sûr pas limitative, chacun en considérant la diversité du monde vivant qui nous entoure peut faire son marché et trouver des exemples intéressants. À l'heure où la biodiversité est à l'honneur et où l'interdisciplinarité est favorisée, de telles approches, qui pourraient contribuer à dépasser enfin le clivage stérile qui persiste encore entre naturalistes et fonctionnalistes, nous semblent devoir être entreprises hardiment. Vive la zoologie moléculaire! ♦

Hurrah for molecular zoology !

REMERCIEMENTS

Je remercie Catherine Hänni, Pierre Jurdic, François Bonneton, Hector Escriva et Marc Robinson-Réchavi pour la relecture attentive, critique et constructive de ce texte.

RÉFÉRENCES

1. Raff RA. The shape of life: genes, development and evolution of animal form. New York: University of Chicago Press, 1996.
2. Akam M. The Yin and Yang of Evo/Devo. *Cell* 1998; 92: 153-5.
3. Pasqualetti M, Ori M, Nardi I, Rijli FM. Ectopic Hoxa2 induction after neural crest migration results in homeosis of jaw elements in *Xenopus*. *Development* 2000; 127: 5367-78.
4. Miller CT, Schilling TF, Lee K, Parker J, Kimmel CB. Sucker encodes a zebrafish endothelin-1 required for ventral pharyngeal arch development. *Development* 2000; 127: 3815-28.
5. Conway-Morris S. Evolution: bringing molecules into the fold. *Cell* 2000; 100: 1-11.
6. de Rosa R, Grenier JK, Andreeva T, et al. Hox genes in brachiopods and priapulids and protostome evolution. *Nature* 1999; 399: 772-6.
7. Slack JM, Holland PW, Graham CF. The zootype and the phylotypic stage. *Nature* 1993; 361: 490-2.
8. Gellon G, McGinnis W. Shaping animal body plans in development and evolution by modulation of Hox expression patterns. *Bioessays* 1998; 20: 116-25.
9. Grenier JK, Carroll SB. Functional evolution of the Ultrabithorax protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 704-9.
10. Peixoto AA, Barbuji G, Kyriacou CP. A latitudinal cline in a *Drosophila* clock gene. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1992; 250: 43-9.