

Adaptation d'échelle et gradient de phase dans un modèle *ex vivo* de somitogenèse

Paul François

Ernest Rutherford Physics Building,
McGill University,
3600 rue University, Montréal, QC,
H3A 2T8 Canada.
paulf@physics.mcgill.ca

> Le plan d'organisation du corps des vertébrés est métamérique dans le sens antéro-postérieur. Les structures périodiques dans l'espace, dont les somites, précurseurs des vertèbres elles-mêmes, se forment dans la continuité de la gastrulation lors de l'élongation de l'axe antéro-postérieur. La régularité et la flexibilité de ce processus ont amené Cooke et Zeeman en 1976 à postuler l'existence d'une horloge de segmentation moléculaire, rythmant la formation des somites au cours du développement, et d'un front d'interaction se déplaçant vers le pôle postérieur [1]. Le rôle de ce front dynamique serait d'interagir avec l'oscillation de segmentation temporelle afin de former les motifs périodiques spatiaux.

Il a fallu attendre 1997 pour que cette hypothèse théorique soit confirmée en partie, avec la mise en évidence, dans le mésoderme présomitique, d'oscillations de la concentration du produit du gène *c-hairy* chez le poulet [2]. De nombreux travaux ont depuis confirmé l'existence d'oscillations d'expressions génétiques lors de ce processus, et ce dans au moins trois voies de signalisation (Notch, FGF, Wnt) ; des développements technologiques très récents permettent de les visualiser en temps réel [3-5] (→).

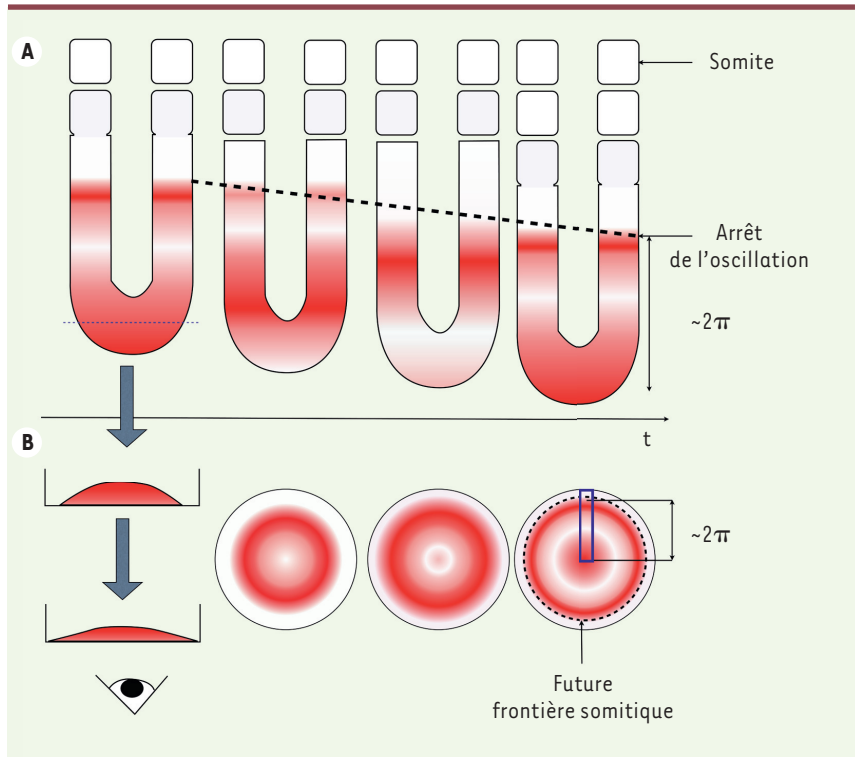
Cependant, la dynamique des oscillations elles-mêmes, ainsi que celle de l'hypothétique front de différenciation restent mal comprises.

(→) Voir la Nouvelle de E. Delaune et al., *m/s* 2013, n° 3, page 355

Une culture montrant le phénomène d'adaptation d'échelle

Dans un travail collaboratif publié en début d'année dans *Nature* [6], le groupe d'Alexander Aulehla (EMBL Heidelberg) a utilisé une nouvelle tech-

nique de culture du mésoderme présomitique (PSM) de souris, qui s'établit sous la forme d'une monocouche cellulaire (mPSM). Dans ces cultures, la polarité naturelle antéro-postérieure de l'embryon se trouve projetée en une



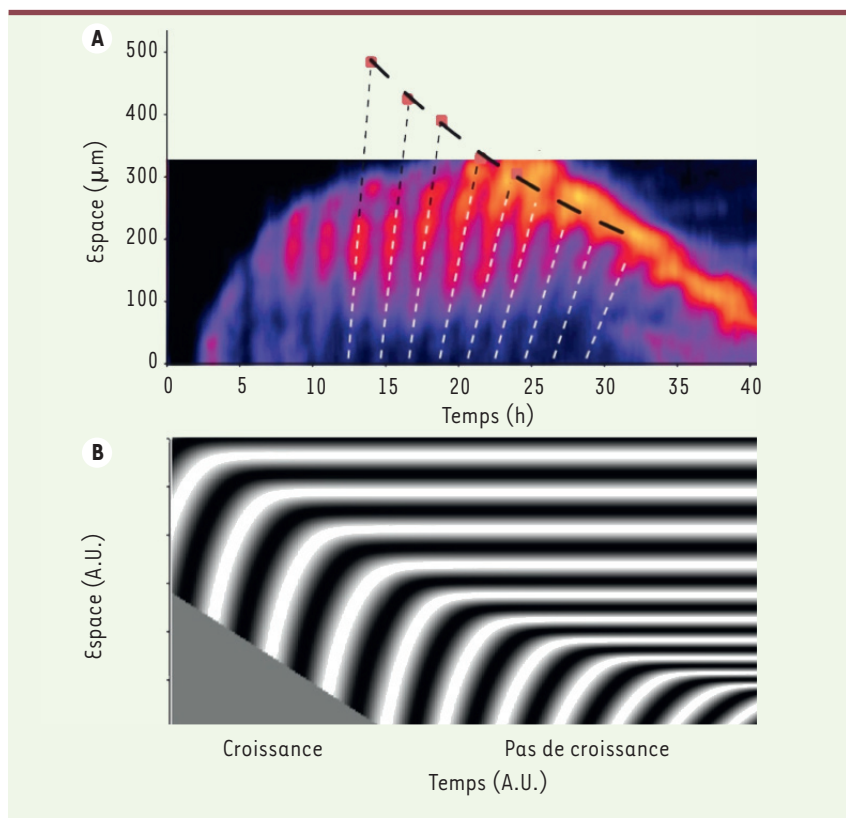


Figure 2. Analyse mathématique des oscillations. **A.** Kymographe expérimental, montrant le changement de pente du gradient de phase au cours du temps caractéristique de l'adaptation d'échelle (lignes pointillées blanches). La ligne noire représente la longueur « projetée » correspondant au déphasage de 2π . **B.** Simulation numérique du modèle mathématique, montrant la segmentation périodique *in vivo*, puis l'adaptation d'échelle lorsque la croissance est arrêtée (correspondant à l'explant *ex vivo*) (figure reproduite de [6]).

polarité radiale : la partie postérieure de l'embryon se trouve au centre de la culture et la partie antérieure en périphérie (Figure 1). L'utilisation de souris transgéniques pour une construction de type LuVeLu¹ permet de visualiser les oscillations de la voie Notch : de façon surprenante, le programme de segmentation embryonnaire persiste malgré le changement de géométrie du tissu. Les oscillations associées et les différents morphogènes du mPSM présentent une symétrie cylindrique, amenant à la propagation d'ondes d'oscillations et à la formation de véritables frontières somitiques concentriques ! Ainsi ces cultures

¹ Cette construction code pour une forme instable d'une protéine Venus (un variant de la protéine fluorescente YFP) sous le contrôle du promoteur cyclique *Lfng* (*lunatic fringe*), lui-même contrôlé par l'activité de Notch.

reconstituent-elles un PSM complet *ex vivo*, mais avec une géométrie complètement différente.

Cette géométrie différente n'est cependant pas sans conséquence et agit en révélateur de nouvelles propriétés fondamentales de ce processus. En fait, la segmentation concentrique de la périphérie vers le centre ne progresse pas de façon linéaire, mais de façon proportionnelle à la taille du mPSM présomptif qui n'est pas encore segmenté. Comme si le processus de segmentation était capable de « mesurer » en temps réel la zone centrale qui reste à segmenter, et d'adapter la vitesse du front de différenciation pour qu'une fraction fixe du mPSM se segmente en somites à chaque cycle, une propriété que nous appelons « adaptation d'échelle » (*scaling*).

Visualiser le gradient de phase

Tout comme dans l'embryon [5], les oscillations cellulaires dans le mPSM ne sont pas toutes en phase, mais sont spatialement et temporellement organisées. Ainsi, les oscillateurs antérieurs dans l'embryon (périphériques dans nos cultures) sont plus lents que les oscillateurs postérieurs dans l'embryon (centraux dans nos cultures). Il en résulte ce qu'on appelle des « ondes cinématiques » : les pics de l'oscillation semblent naître dans le postérieur/centre pour se propager de façon continue vers l'antérieur/périphérie. La deuxième conséquence est que s'établit un « gradient de phase » de l'oscillation : comme les oscillateurs n'ont pas tous la même période, ils se déphasent lentement les uns par rapport aux autres, avec un retard de phase maximum dans la région antérieure/périphérique.

La quantification de ce gradient de phase révèle une propriété très surprenante : que cela soit dans l'embryon ou dans nos cultures, la zone d'arrêt des oscillations de segmentation est toujours déphasée d'environ un cycle (2π) par rapport aux oscillateurs les plus rapides postérieurs/centraux. Cette règle reste valable y compris lorsque la période d'oscillation est considérablement ralentie, ce qui se produit lorsqu'on abaisse la température de l'embryon. Elle reste également valable en culture, bien que la taille du mPSM (et donc des somites) se réduise considérablement au cours du temps du fait de l'adaptation d'échelle. Mathématiquement, nous avons caractérisé cette dynamique par la quantification du gradient de phase local, qui, du fait de l'adaptation d'échelle, est exponentiel en temps (lignes blanches pointillées sur la Figure 2).

Modélisation heuristique

Ces différents éléments suggèrent donc que le déphasage des horloges a lui-même un rôle biologique : il contrôle l'information de position, ce qui semble contradictoire *a priori* avec le modèle le plus simple de Cooke et Zeeman où

un front extérieur contrôle l'arrêt des oscillations [1].

Afin de clarifier ces différentes expériences, nous avons développé un modèle mathématique heuristique permettant de récapituler ces différentes propriétés, à l'aide de seulement trois paramètres. La dynamique exponentielle du gradient de phase de l'oscillateur suggère l'existence d'une échelle de temps caractéristique de ralentissement de l'horloge (que nous appelons α) : plus l'horloge se déphase de l'oscillateur central, plus elle ralentit. Un deuxième paramètre (que nous appelons ϵ) caractérise le changement de comportement dynamique lorsque la croissance de l'embryon est stoppée ou que l'embryon est mis en culture, qui entraîne le phénomène d'adaptation d'échelle. Enfin, nous modélisons l'arrêt de l'horloge (le front) lorsque le retard de phase de l'oscillateur sur l'oscillateur central dépasse un seuil, troisième paramètre de notre système $\Delta\phi$ (approximativement égal à un cycle

d'oscillation, *i.e.* 2π). Un kymographe de ce modèle est présenté sur la Figure 2, et récapitule toutes nos observations. En particulier, il montre comment on peut passer d'une segmentation périodique régulière dans l'embryon à une segmentation adaptée à l'échelle du PSM présomptif, indépendamment des processus biochimiques impliqués. Le défi dorénavant est de relier ces trois paramètres à des acteurs moléculaires.

Conclusion

Une nouvelle culture embryonnaire (mPSM) permet de mettre en évidence le nouveau phénomène d'adaptation d'échelle. La visualisation des oscillations en temps réel suggère que le gradient de phase des oscillateurs individuels cellulaires contrôle *totalemment* l'information de position. Nos observations et hypothèses sur les mécanismes de contrôle sont récapitulées dans une équation de phase simple. \diamond

Scaling and phase gradient in an *ex vivo* model of somitogenesis

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Cooke J, Zeeman EC. A clock and wavefront model for control of the number of repeated structures during animal morphogenesis. *J Theor Biol* 1976 ; 58 : 455-76.
2. Palmeirim I, Henrique D, Ish-Horowitz D, Pourquie O. Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis. *Cell* 1997 ; 91 : 639-48.
3. Aulehla A, Wiegand W, Baubet V, et al. A beta-catenin gradient links the clock and wavefront systems in mouse embryo segmentation. *Nat Cell Biol* 2008 ; 10 : 186-93.
4. Delaune EA, François P, Shih NP, Amacher SL. Single-cell-resolution imaging of the impact of Notch signaling and mitosis on segmentation clock dynamics. *Dev Cell* 2012 ; 23 : 995-1005.
5. Delaune EA, François P, Shih NP, Amacher SL. Une avancée technique pour comprendre la dynamique de l'horloge de segmentation. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 355-8.
6. Lauschke VM, Tsiairis CD, François P, Aulehla A. Scaling of embryonic patterning based on phase-gradient encoding. *Nature* 2013 ; 493 : 101-5.

STRESS, TRAUMATISMES ET INSOMNIES

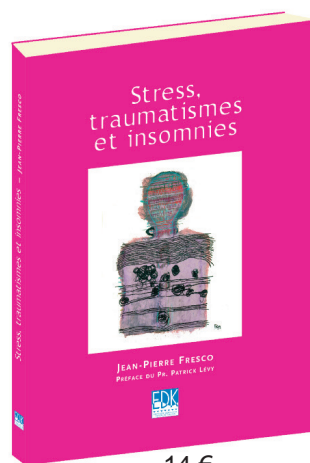
de Jean-Pierre FRESCO

L'insomnie c'est

1 Français sur 5

1 personne âgée sur 3

qui en souffrent



14 €

ISBN : 978-2-8425-4175-0

Une étude
sur les liens entre stress,
traumatismes et insomnies.

Une réflexion
philosophique et sociétale
sur les conditions de travail
et de vie d'aujourd'hui.

Une analyse
d'un mal fréquent mais
encore peu compris.

edp sciences

Ouvrage disponible sur :
www.edition-sciences.com

