

L'amphioxus ou comment devient-on un vertébré

par Stéphanie Bertrand*, Alain Camasses* & Hector Escriva*

*Laboratoire Arago, UMR 7628, CNRS et Université Pierre et Marie Curie, BP 44, F-66651 Banyuls sur Mer, France. E-mail : Hector.Escriva@obs-banyuls.fr

Reçu le 1^{er} mars 2007

RÉSUMÉ

L'évo-dévo est une jeune discipline dont le but est d'essayer d'expliquer l'évolution morphologique des organismes par la modification des mécanismes développementaux et des réseaux de gènes. Une des questions majeures de cette discipline est l'origine des vertébrés. Il semble désormais admis que les vertébrés sont issus d'un ancêtre chordé invertébré, et plusieurs modèles au sein des représentants vivants des chordés sont utilisés actuellement pour répondre à cette question. Le petit monde de l'évo-dévo s'intéressant à l'apparition des vertébrés est actuellement en pleine

ébullition avec l'arrivée des séquences complètes de plusieurs génomes permettant des analyses comparatives de plus en plus fiables, et avec le développement de modèles « non classiques » auxquels il est désormais possible d'appliquer les techniques nécessaires à l'étude fine du développement embryonnaire. L'un de ces modèles est l'amphioxus (genre *Branchiostoma*) dont nous allons décrire ici les caractéristiques faisant de lui un sympathique « filet d'anchois éclairant l'évolution des chordés » (Garcia-Fernandez, 2006a, b).

SUMMARY Amphioxus: how to become a vertebrate

Evo-devo is a young discipline, which aims to explain the morphological evolution of organisms through developmental mechanisms and genes networks. A major question within this discipline is the origin of vertebrates. It seems now admitted that vertebrates derive from an invertebrate chordate ancestor. Several models among living chordate representatives are used today to answer this question. The small world of evo-devo interested in the emergence of

vertebrates is ebullient about the advent of several totally sequenced genomes allowing comparative analyses to become evermore reliable. Furthermore "non classical" models are developed which can be submitted to refined developmental analysis. One of these is amphioxus (genus *Branchiostoma*), "a peaceful anchovy fillet to illuminate chordate evolution" (Garcia-Fernandez, 2006a, b). The features of this model are described in this review.

IL ÉTAIT UNE FOIS...

... un petit animal marin vivant le corps enfoui dans le sable, appelé aujourd'hui amphioxus. Sa première description nous vient du zoologiste allemand Peter Simon Pallas qui en 1774 nomma *Limax lanceolatus* le spécimen découvert sur les côtes de Cornouailles qu'il classa parmi les mollusques (Pallas, 1774). L'amphioxus européen fut ensuite de nouveau décrit en 1834 par Gabriel Costa, un naturaliste italien, qui considéra l'amphioxus comme très proche des vertébrés et le renomma *Branchiostoma lubricum* (Costa, 1834). Finalement le premier à l'appeler amphioxus (*Amphioxus lanceolatus*) fut William Yarrell en 1936. Il fut aussi le premier à décrire la présence d'une notochorde, caractère spécifique des chordés. Aujourd'hui plusieurs espèces du genre *Branchiostoma* ont été décrites, la plus abondante étant l'espèce européenne *Branchiostoma lanceolatum* que l'on trouve en Mer du Nord, sur la côte sud de l'Angle-

terre, sur les côtes atlantiques de l'Espagne, de la France et du Portugal, dans la Méditerranée ainsi que dans la Mer Noire, le Canal de Suez et même l'Océan Indien (Poss & Boschung, 1996). Cette espèce, ainsi que celle de Floride (*B. floridae*) et celle de la Mer de Chine (*B. belcheri*), sont utilisées depuis déjà plus d'une dizaine d'années comme modèles pour répondre à une question d'évo-dévo qui nous touche de près : quelle est l'origine des vertébrés (Holland *et al.*, 2004) ? Nous verrons ici en quoi l'amphioxus peut en effet, et aujourd'hui plus que jamais, nous permettre de répondre à cette question (Garcia-Fernandez, 2006a, b ; Schubert *et al.*, 2006).

UNE POSITION PHYLOGÉNÉTIQUE RÉCEMMENT REVISITÉE

Les animaux bilatériens sont divisés en protostomes, comme par exemple la *Drosophila* ou encore le ver

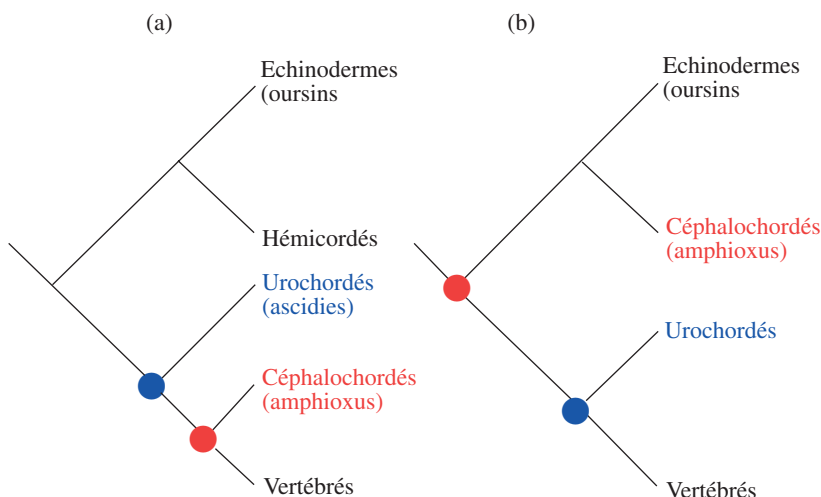


FIG. 1. – Phylogénie des deutérostomes. L'ancêtre commun le plus proche entre les céphalochordés et les vertébrés est représenté par un rond rouge et l'ancêtre commun le plus proche entre les urochordés et les vertébrés est représenté par un rond bleu. (a) Phylogénie classique présentant les céphalochordés (en rouge) comme groupe frère des vertébrés. (b) Phylogénie proposées par Delsuc *et al.* d'après de nouvelles études phylogéniques utilisant un grand nombre de séquences (Delsuc *et al.*, 2006). Les urochordés (en bleu) sont placés comme groupe frère des vertébrés.

C. elegans, et deutérostomes, dont font partie les vertébrés. Les deutérostomes sont eux divisés en trois phyla que sont les échinodermes (oursins), les hémichordés, et les chordés. Classiquement on considère que parmi ces derniers, il existe trois subphyla que sont les vertébrés, les urochordés (ascidies), et les céphalochordés qui ne comportent que trois genres (*Branchiostoma*, *Asymmetron* et *Epigonichthys*), le plus important étant le genre *Branchiostoma*, c'est-à-dire l'amphioxus. Tous les chordés partagent certains caractères qui définissent leur groupe. En effet, au moins à un stade de leur vie ils possèdent une notochorde, un tube nerveux dorsal, une queue post-anale, un endostyle (homologue de la glande thyroïdienne des vertébrés), une région pharyngienne perforée et des muscles en chevrons (Holland & Holland, 2001). Dans les années 80, Northcutt et Gans ont émis l'hypothèse qu'au cours de l'évolution des chordés la prédation soit apparue spécifiquement chez les vertébrés. Cela implique l'apparition de nouveaux organes et structures dédiées d'une part au nouveau type d'alimentation (mâchoires et autres éléments squelettiques) et d'autre part à la détection et capture de la proie (acquisition d'organes sensoriels très développés). Puisque la plupart de ces structures sont dérivées de la crête neurale et des placodes, Northcutt et Gans ont proposé que l'apparition de ces dernières soit à l'origine de l'évolution des vertébrés (Gans & Northcutt, 1983). Mais comment sont apparues ces nouveautés morphologiques ? Comment les mécanismes développementaux ont-ils évolués pour permettre de passer d'un organisme invertébré à un organisme vertébré ? L'amphioxus a longtemps été considéré comme l'organisme se rapprochant le plus de l'ancêtre des vertébrés et paraissait le plus adéquat pour répondre à ces questions (Holland *et al.*, 2004 ; Holland & Holland, 2001). Cependant plusieurs travaux ont récemment remis en cause cette position (Fig. 1).

Depuis longtemps les analyses morphologiques plaçaient les céphalochordés en groupe frère des vertébrés, les urochordés étant placés en position plus basale. En effet, même si les larves d'urochordés possèdent des caractéristiques morphologiques typiques des chordés,

l'adulte est très loin de ressembler à un vertébré, alors que l'amphioxus adulte ressemble fortement à une larve de poisson sans tête, ou encore à un filet d'anchois, avec ces muscles en chevrons tout le long du corps (Pough *et al.*, 2005) (Fig. 2). Un article relativement récent montre cependant que certaines ascidies possèdent des caractères morphologiques ressemblant à ceux des vertébrés et inexistant chez l'amphioxus. Celui-ci, même s'il pos-



FIG. 2. – Spécimen de céphalochordé et de tunicier.

A. Amphioxus (*Branchiostoma lanceolatum*) juvénile de 3 mois. La partie antérieure est à gauche, et la barre d'échelle correspond à 3 mm. B. Ascidie adulte (*Phallusia mamillata*). La barre d'échelle correspond à 1 cm.

sède des cellules ectodermiques dorsales exprimant des gènes marqueurs typiques de cellules de la crête neurale des vertébrés, ne possède pas de cellules migratoires de la crête neurale (Holland & Chen, 2001 ; Holland *et al.*, 1996). Or William Jeffery démontre l'existence chez une ascidie (*Ecteinascidia turbinata*) de cellules migratoires semblables aux cellules de la crête neurale des vertébrés (Jeffery *et al.*, 2004). En effet, ces cellules se détachent d'une région proche du tube nerveux et migrent pour finalement se différencier en cellules pigmentaires, qui sont chez les vertébrés dérivées des cellules de la crête neurale. Ce résultat tendrait à rapprocher les urochordés des vertébrés, même si l'on ne peut pas exclure la perte secondaire chez l'amphioxus de ce caractère, qui alors aurait été commun à tous les chordés, ni l'acquisition indépendante par les urochordés et les vertébrés de cellules migratoires. De même que pour les cellules migratoires de la crête neurale, les régions ectodermiques donnant naissance à des structures non ectodermiques (les placodes) sont classiquement considérées comme étant spécifiques des vertébrés. Or des données récentes montrent que les ascidies possèdent la machinerie génétique nécessaire à la différenciation des placodes, ainsi que, même si cela est assez discuté, des structures ectodermiques homologues possibles des placodes (Manni *et al.*, 2004 ; Mazet *et al.*, 2005).

De même que les observations morphologiques, plusieurs analyses phylogéniques plaçaient les céphalochordés en groupe frère des vertébrés (Cameron *et al.*, 2000 ; Winchell *et al.*, 2002). Un article récent de Delsuc *et al.*, tirant avantage du séquençage d'un nouveau génome d'urochordés, celui de *Oikopleura dioica* (Delsuc *et al.*, 2002), est venu contredire cette topologie de l'arbre des chordés, qui avait d'ailleurs déjà été ébranlée préalablement par des études phylogéniques déjà menées par le même groupe (Philippe *et al.*, 2005). En effet, cette étude montre clairement que les urochordés, et non les céphalochordés, représentent le groupe frère des vertébrés. De même, la topologie de l'arbre des deutérostomes obtenue remet en cause la monophylie des chordés puisque les céphalochordés sont ici placés comme groupe frères des échinodermes, même si cette position est relativement faiblement supportée. Cependant, d'autres études montrent clairement la monophylie des chordés (Bourlat *et al.*, 2006). Ainsi la nouvelle position phylogénétique de l'amphioxus pourrait faire de lui un modèle pour l'étude de l'évo-dévo non seulement des vertébrés, mais aussi de tous les deutérostomes.

LES DONNÉES PALÉONTOLOGIQUES

L'analyse des données fossiles est l'un des outils, avec les études moléculaires et morphologiques, nous permettant de comprendre l'évolution des deutérostomes. En effet, elle nous permet d'essayer de définir quels étaient les caractères ancestraux à la fois des chordés et des vertébrés pour mieux comprendre comment ont évolué les différentes lignées ayant mené aux espèces actuelles. La découverte de trois types de fossiles a été déter-

minante dans l'accroissement de notre compréhension de l'histoire évolutive des chordés et des vertébrés précoces que sont : les fossiles du Cambrien moyen des schistes de Burgess, les fossiles du Cambrien inférieur de la Chine centrale sud et les fossiles des conodontes.

Sans aucun doute le fossile le plus connu pour son intérêt dans la compréhension de l'histoire évolutive des chordés, et le plus controversé, est *Pikaia*, rendu populaire par Stephen Jay Gould (Gould, 1989). Ce fossile des schistes de Burgess du Cambrien moyen tout d'abord classé parmi les annélides a ensuite été réinterprété comme étant un céphalochordé en raison de sa ressemblance avec l'amphioxus. En effet, les fossiles de *Pikaia* ressemblent à l'amphioxus en ce qui concerne leur forme et leur taille ainsi que leurs nageoires. Cependant, les muscles du tronc n'ont pas une forme caractéristiques en V et il n'y a pas de trace claire de l'existence de structures de type branchial même s'il semble que *Pikaia* ait possédé un pharynx (Shu *et al.*, 1996). Il a donc aussi été proposé que *Pikaia* soit plutôt un chordé très basal ou encore même un organisme de type protostomien.

Quatre types de fossiles de la Chine centrale du sud possédant des caractères typiques de chordés ont été décrits. Tout d'abord *Yunnanozoon* (Chen *et al.*, 1995), dont il existe peu de représentants, et *Haikouella* (Chen *et al.*, 1999) (Fig. 3) ont un corps comprimé latéralement ainsi qu'une région pharyngienne perforée avec six arcs branchiaux. Leurs muscles ne sont cependant pas en forme de chevrons, et la structure de leurs arcs branchiaux est assez inhabituelle ce qui est en faveur d'un positionnement à la base des vertébrés entre les céphalochordés et les cyclostomes (Mallatt & Chen, 2003). Cependant, comme pour de nombreux fossiles, l'interprétation n'est tout de même pas aussi simple et il faut savoir que ces deux fossiles ont aussi été classés comme hémichordés, deutérostomes basaux ou encore même bilatériens basaux (Budd & Jensen, 2000 ; Shu *et al.*, 1996). Il faut aussi mentionner *Haikouichtys* (Shu *et al.*, 2003) et *Mylokunmingia* (Shu *et al.*, 1999) qui possèdent, en plus de myomères en forme de chevrons et d'une région pharyngienne avec plusieurs branchies, plusieurs organes sensoriels comme une paire d'yeux, une capsule otique, et probablement un système olfactif. Ces caractères les rapprochent beaucoup des vertébrés, cependant d'autres caractères, comme la présence de gonades segmentées, absents chez les vertébrés mais présents chez les céphalochordés, poussent à les positionner en tant que groupe frère des vertébrés ayant divergé après les céphalochordés.

Finalement, l'une des plus grandes avancées des vingt dernières années en paléontologie des vertébrés est la découverte de fossiles à corps mous de conodontes provenant de Granton près d'Edimbourg. Ceux-ci présentent plusieurs caractéristiques permettant de les classer parmi les premiers vertébrés ayant divergés après les vertébrés sans mâchoires représentés aujourd'hui par des espèces comme la lamproie. Ceux-ci possèdent un appareil buccal minéralisé, une paire d'yeux ainsi que des muscles en chevrons et le plus âgé daterait de l'Ordovicien, c'est-à-dire après la fin du Cambrien (Donoghue *et al.*, 2000).



FIG. 3. – Plusieurs spécimens de l'espèce fossile *Haikouella lanceolata*, collection du Professeur Jun Yuan Chen (Early Life Research Center, Kunming, China). Photographie aimablement fournie par le Docteur Jean Vannier (Université Claude Bernard Lyon 1). La barre d'échelle correspond à 1 cm.

Finalement, toutes ces données paléontologiques, qui pour la plupart sont assorties d'un grand degré d'incertitude dû aux grandes possibilités d'interprétation d'un même fossile, laissent tout de même penser que les céphalochordés possèdent en effet des caractères morphologiques très proches des premiers chordés et vertébrés. A la lumière des données de phylogénie moléculaire, ceci signifierait que les urochordés présentent des caractères morphologiques extrêmement dérivés par rapport aux premiers chordés. L'amphioxus reste donc clairement le modèle le plus adapté pour la compréhension de l'apparition des vertébrés malgré sa position plus éloignée.

UN GÉNOME « NON DUPLIQUÉ »

L'une des caractéristiques les plus intéressantes de l'amphioxus en tant que modèle d'étude en évo-dévo est qu'il possède un génome « non dupliqué » par rapport à celui des vertébrés. L'un des mécanismes permettant l'acquisition de nouvelles fonctions, qui pourraient expliquer l'apparition de nouvelles structures morphologiques, et la complexification des organismes, est la duplication de gènes préexistants. Cette hypothèse a été proposée par Susumu Ohno en 1970 dans son fameux livre "Evolution by gene duplication" où il écrit "natural selection merely modified while redundancy created". En effet, on imagine bien de quelle manière la sélection naturelle permet par exemple l'apparition de nouvelles bactéries à partir d'une bactérie préexistante, mais on comprend mal comment à elle seule elle peut permettre la création d'un

organisme plus complexe tel un eucaryote unicellulaire à partir d'une bactérie. Pour cela, il semble nécessaire d'apporter du « matériel » neuf sur lequel l'évolution peut agir, et Ohno propose que ce matériel soit apporté par la duplication génique, et particulièrement la duplication complète des génomes. Dans ce cadre, il propose de même que les innovations morphologiques des vertébrés soient le résultat de deux duplications complètes du génome entre les premiers chordés et les vertébrés (Ohno, 1970, 1999). Cette hypothèse, mieux connue sous le terme d'hypothèse 2R, a fait couler beaucoup d'encre ces dernières années. Plusieurs auteurs ont essayé, par différentes méthodes dont l'analyse du nombre de gènes (Holland *et al.*, Spring, 1997), les analyses phylogéniques (Escriva *et al.*, 2002 ; Friedman & Hughes, 2001 ; Garcia-Frenandez & Holland, 1994 ; Hughes, 1999 ; Panopoulou *et al.*, 2003 ; Robinson-Rechavi *et al.*, 2004) ou encore les analyses concernant l'existence de blocs synténiques paralogues (Abi-Rached *et al.*, 2002 ; Olinski *et al.*, 2006 ; Pebusque *et al.*, 1998 ; Vienne *et al.*, Vienne *et al.*, 2003), de prouver la véracité de cette hypothèse. Toutes ces études ont clairement montré qu'il existe un plus grand nombre de gènes chez les vertébrés que chez les invertébrés, et que ceci est le résultat de duplications, qu'elles soit de gènes isolés, ou de grand blocs de gènes. Cependant, seule l'analyse des génomes complets a permis l'année dernière à Dehal et collaborateurs de démontrer l'existence entre les chordés et les vertébrés de deux duplications complètes du génome (Dehal *et al.*, 2005).

Ainsi l'amphioxus, comme d'ailleurs les urochordés, possède un génome plus « simple » que les vertébrés, puisqu'il est « non dupliqué » (Holland *et al.*, 2004). Pour

un gène chez l'amphioxus, on trouve en effet entre 1 et 4 paralogues chez les vertébrés. Ainsi les études chez l'amphioxus de la fonction des gènes, et des différentes voies de signalisation intervenant au cours du développement, est plus simple puisqu'elle demande l'étude d'un nombre de gènes plus faible, et puisqu'il n'y a pas de redondance. En effet, par exemple chez la souris, il est souvent nécessaire de réaliser plusieurs combinaisons de souris KO pour les gènes paralogues pour finalement déterminer leur fonction, et ceci est très lourd en terme de travail expérimental. Prenons par exemple le cas de l'acide rétinoïque qui agit *via* des récepteurs nucléaires (celui de l'acide rétinoïque, RAR, qui hétérodimérise avec le récepteur RXR). L'amphioxus ne possède qu'un seul récepteur de l'acide rétinoïque, AmphiRAR, et un seul récepteur AmphiRXR, alors que chez les mammifères il existe trois récepteurs RAR α , β et γ et trois RXR (α , β et γ) (Escriva *et al.*, 2002). Pour comprendre comment agit l'acide rétinoïque au cours du développement, il faut donc analyser la fonction de neuf hétérodimères possibles chez la souris, alors que l'étude d'un seul hétérodimère est suffisante chez l'amphioxus. L'analyse de la fonction du RAR d'amphioxus nous a ainsi permis par extrapolation, en tenant compte du fait que de nombreux mécanismes moléculaires régissant le développement sont conservés chez tous les chordés, de comprendre certaines fonctions de l'acide rétinoïque au cours du développement embryonnaire chez les vertébrés (Escriva *et al.*, 2002; Schubert *et al.*, 2004, 2005).

Les duplications de gènes sont un des mécanismes majeurs de l'évolution des génomes. Cependant, le destin des gènes après duplications et les mécanismes permettant d'expliquer pourquoi certains duplicats sont conservés alors que d'autres disparaissent restent des questions non entièrement résolues. Un des modèles proposé est celui de Duplication-Dégénérescence-Complémentation (DDC) (Force *et al.*, 1999). D'après ce modèle il existe trois devenir possibles des duplicats : *i*) soit l'une des copies retient la fonction ancestrale et l'autre copie disparaît par accumulation de mutations, c'est la non-fonctionnalisation, *ii*) soit l'une des copies garde la fonction ancestrale alors que l'autre acquiert une nouvelle fonction, c'est la néofonctionnalisation, *iii*) soit finalement les deux copies se partagent les fonctions ancestrales, c'est ce qui est appelé la sous-fonctionnalisation. L'amphioxus, utilisé pour une étude comparative avec les vertébrés, est un excellent modèle pour tester cette hypothèse. Nous nous sommes intéressés par exemple de nouveau aux récepteurs de l'acide rétinoïque et nous avons pu montrer en utilisant l'amphioxus et plusieurs espèces de vertébrés qu'au niveau de l'expression de gènes, de la fonction des gènes au cours du développement, et des propriétés fonctionnelles des protéines, les gènes codant pour les RARs de vertébrés ont fait l'objet d'une néofonctionnalisation. En effet, le gène RAR β a gardé une fonction ancestrale, alors que les gènes RAR α et γ de vertébrés ont acquis de nouvelles fonctions. Ainsi la comparaison entre la fonction de AmphiRAR et la fonction des différents RARs de vertébrés nous permet de comprendre comment les gènes ont évolué après

duplication, et comment ces duplications ont pu éventuellement participer à l'acquisition des « nouveautés » morphologiques des vertébrés par rapport aux invertébrés (Escriva *et al.*, 2006).

L'AMPHIOXUS, MODÈLE EN ÉVO-DÉVO

La recherche en évo-dévo utilise des approches et des techniques pluridisciplinaires, allant des classiques de la biologie du développement aux dernières techniques bio-informatiques de la génomique comparative. Ainsi, deux points sont essentiels pour permettre à la communauté scientifique de faire de l'amphioxus un vrai modèle en évo-dévo : tout d'abord la possibilité de manipuler les oeufs et le sperme avec facilité, ce qui est essentiel pour des travaux sur le développement embryonnaire, et, ensuite, la possibilité d'avoir accès à la séquence complète de son génome.

Concernant l'accessibilité des ovocytes et du sperme, deux espèces d'amphioxus ont été utilisées ces dernières années, l'espèce de Floride, *Branchiostoma floridae*, et l'espèce asiatique *B. belcheri*. *B. floridae* ne laisse que peu de possibilités à l'expérimentateur puisque cette espèce ne pond qu'une fois toutes les deux semaines en moyenne au cours de la saison de reproduction (juin-août) et que l'expérimentateur ne peut induire artificiellement la ponte que les jours naturels de ponte (Holland & Yu, 2004). Quant à l'espèce asiatique, le problème est encore plus grand, puisque l'expérimentateur ne contrôle pas la ponte, qui se produit de manière spontanée au laboratoire entre les mois de mai et juillet. C'est cette raison qui a poussé il y a plus de quatre ans maintenant plusieurs équipes de différents laboratoires européens situés en France, Espagne et Italie, à se regrouper pour former un consortium dont le but était d'obtenir la ponte des amphioxus de l'espèce européenne *B. lanceolatum* de manière régulière. Et ils ont réussi (Fuentes *et al.*, 2004). En effet, il est désormais possible d'obtenir des fécondations au laboratoire tous les jours du mois d'avril au mois de juillet, et ceci au Laboratoire Arago de Banyuls-sur-Mer, premier lieu d'accueil des membres du consortium, ainsi que dans un laboratoire « sec » (c'est-à-dire n'ayant pas un accès direct à l'eau de mer) à l'Université de Barcelone (Garcia-Fernandez, 2006). Cette obtention de beaucoup d'oeufs rendra par exemple désormais applicable à plus grande échelle les techniques d'injections permettant la modification de l'expression des gènes qui ont déjà été développées avec l'espèce de Floride (Schubert *et al.*, 2005; Holland & Yu, 2004; Yu *et al.*, 2004).

Concernant la séquence complète d'un génome d'amphioxus, un projet défendu par différents groupes de recherche européens depuis 1999 avait été déposé auprès des différents centres de séquençage français et anglais (Génoscope et Sanger Center). Cependant, soit par manque de moyens soit par manque de convictions sur l'intérêt de l'amphioxus comme modèle, ce projet n'a pas été retenu. Heureusement, deux équipes de recherches américaines, dirigées par Linda Holland et Jeremy Gibson

Brown, appuyées par toutes les équipes intéressées par l'amphioxus au niveau mondial, ont collaborés avec le Joint Genome Institute du Department of Energy pour permettre le séquençage du génome de l'amphioxus qui est actuellement achevé, l'annotation étant en cours. Nous pouvons donc dès aujourd'hui avoir accès à la séquence complète d'un génome d'amphioxus.

LONGUE VIE AU MODÈLE AMPHIOXUS !

La popularité de l'amphioxus acquise au XIX^{ème} siècle, auprès des biologistes étudiant la morphologie et l'anatomie comparée du vivant, avait diminué après le développement des techniques de biologie moléculaire. Dans les années 90 les biologistes moléculaires et du développement ont finalement pris la suite et aujourd'hui l'amphioxus possède réellement toutes les caractéristiques d'un bon modèle « non classique ». En effet, comme nous l'avons vu, sa position phylogénétique, sa morphologie ayant très peu dérivée par rapport aux données fossiles des premiers chordés, son génome « non dupliqué » et totalement séquencé, ainsi que la possibilité d'utiliser les techniques modernes nécessaires aux études développementales, font de lui l'ami incontournable des passionnés de l'évolution non seulement des vertébrés, mais plus largement des deutérostomes.

BIBLIOGRAPHIE

- Abi-Rached L. *et al.*, Evidence of en bloc duplication in vertebrate genomes. *Nat. Genet.*, 2002, 31, 100-105.
- Bourlat S. J. *et al.*, Deuterostome phylogeny reveals monophyletic chordates and the new phylum Xenoturbellida. *Nature*, 2006, 444, 85-88.
- Budd G. E. & Jensen S., A critical reappraisal of the fossil record of the bilaterian phyla. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 2000, 75, 253-295.
- Cameron C. B., Garey J. R. & Swalla B. J., Evolution of the chordate body plan: new insights from phylogenetic analyses of deuterostome phyla. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 4469-4474.
- Chen J. Y. *et al.*, A possible Early Cambrian chordate. *Nature*, 1995, 377, 720.
- Chen J. Y., Huang D. Y. & Li C. W., An early Cambrian craniate-like chordate. *Nature*, 1999, 402, 518-522.
- Costa O. G., Cenni zoologici, ossia descrizione delle specie nuove di animali scoperti in diverse contrade del regno nell'anno. *Annuario Zoologico*, 1834, 12, 49.
- Dehal P & Boore J. L., Two rounds of whole genome duplication in the ancestral vertebrate. *PLOS Biol.*, 2005, 3, 1700-1708.
- Delsuc F. *et al.*, Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature*, 2006, 439 (7079), 965-968.
- Donoghue P. J., Forey P. L. & Aldridge R. J., Conodont affinity and chordate phylogeny. *Biol. Rev.*, 2000, 75, 191-251.
- Escriba H. *et al.*, Analysis of lamprey and hagfish genes reveals a complex history of gene duplications during early vertebrate evolution. *Mol. Biol. Evol.*, 2002, 19 (9), 1440-1440.
- Escriba H. *et al.*, The retinoic acid signaling pathway regulates anterior/posterior patterning in the nerve cord and pharynx of amphioxus, a chordate lacking neural crest. *Development*, 2002, 129, 2905-2916.
- Escriba H. *et al.*, Neofunctionalization in vertebrates: the example of retinoic acid receptors. *PLoS Genet.*, 2006, 2, e102.
- Force A. *et al.*, Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics*, 1999, 151 (4), 1531-1545.
- Friedman R. & Hughes A. L., Pattern and timing of gene duplication in animal genomes. *Genome Res.*, 2001, 11, 1842-1847.
- Fuentes M. *et al.*, Preliminary observations on the spawning conditions of the European amphioxus (*Branchiostoma lanceolatum*) in captivity. *J. Exp. Zool. Part. B. Mol. Dev. Evol.*, 2004, 302, 384-391.
- Gans C. & Northcutt R. G., Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science*, 1983, 220, 268-274.
- Garcia-Fernandez J. & Holland P. W. H., Archetypal organization of the amphioxus Hox gene cluster. *Nature*, 1994, 370, 563-566.
- Garcia-Fernandez J., Amphioxus: a peaceful anchovy fillet to illuminate Chordate Evolution (I). *Int. J. Biol. Sci.*, 2006, 2, 30-31.
- Garcia-Fernandez J., Amphioxus: a peaceful anchovy fillet to illuminate Chordate Evolution (II). *Int. J. Biol. Sci.*, 2006, 2, 93-94.
- Gould S. J., *Wonderful Life*, Norton ed., 1989.
- Holland P. W. H. *et al.*, Gene duplication and the origins of vertebrate development. *Development (Suppl.)*, 1994, 125-133.
- Holland N. D. *et al.*, Sequence and developmental expression of *AmphiDll*, an amphioxus distal-less gene transcribed in the ectoderm, epidermis and nervous system: insights into evolution of craniate forebrain and neural crest. *Development*, 1996, 122, 2911-2920.
- Holland N.D. & Chen J., Origin and early evolution of the vertebrates: new insights from advances in molecular biology, anatomy, and palaeontology. *Bioessays*, 2001, 23, 142-151.
- Holland L. Z. & Holland N. D., Evolution of neural crest and placodes: amphioxus as a model for the ancestral vertebrate? *J. Anat.*, 2001, 199 (Pt 1-2), 85-98.
- Holland L. Z., Laudet V. & Schubert M., The chordate amphioxus: an emerging model organism for developmental biology. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004, 61, 2290-2308.
- Holland L. Z. & Yu J. K., Cephalochordate (amphioxus) embryos: procurement, culture, and basic methods. *Methods Cell Biol.*, 2004, 74, 195-215.
- Hughes A. L., Phylogenies of developmentally important proteins do not support the hypothesis of two rounds of genome duplication early in vertebrate history. *Journal of Molecular Evolution*, 1999, 48, 565-576.
- Jeffery W. R., Strickler A. G. & Yamamoto Y., Migratory neural crest-like cells form body pigmentation in a urochordate embryo. *Nature*, 2004, 431, 696-699.
- Mallatt J. & Chen J. Y., Fossil sister group of craniates: predicted and found. *J. Morphol.*, 2003, 258, 1-31.
- Manni L. *et al.*, Hair cells in ascidians and the evolution of lateral line placodes. *Evol. Dev.*, 2004, 6, 379-381.
- Mazet F. *et al.*, Molecular evidence from *Ciona intestinalis* for the evolutionary origin of vertebrate sensory placodes. *Dev. Biol.*, 2005, 282, 494-508.
- Ohno S., Evolution by gene duplication. Springer-Verlag, Heidelberg, 1970.
- Ohno S., Gene duplication and the uniqueness of vertebrate genomes circa 1970-1999. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 1999, 10, 517-522.
- Oliniski R. P., Lundin L. G. & Hallbook F., Conserved synteny between the *Ciona* genome and human paralogs identifies large duplication events in the molecular evolution of the insulin-relaxin gene family. *Mol. Biol. Evol.*, 2006, 23, 10-22.
- Pallas P. S., *Spicilegia Zoologica quibus novae imprimis et obscurae animalium species iconibus, descriptionibus atque commentariis illustrantur*, Berolini G. A. L. (ed.). Vol. I. 1774, Berlin.

- Panopoulou G. *et al.*, New evidence for genome-wide duplications at the origin of vertebrates using an amphioxus gene set and completed animal genomes. *Genome Res.*, 2003, 13, 1056-1066.
- Pebusque M. J. *et al.*, Ancient large-scale genome duplications: phylogenetic and linkage analyses shed light on chordate genome evolution. *Mol. Biol. Evol.*, 1998, 15, 1145-1159.
- Philippe H., Lartillot N. & Brinkmann H., Multigene analyses of bilaterian animals corroborate the monophyly of ecdysozoa, lophotrochozoa, and protostomia. *Mol. Biol. Evol.*, 2005, 22, 1246-1253.
- Poss S. G. & Boschung H. T., Lancelets (Cephalochordata: Branchiostomatidae): how many species are valid? *Israel. J. Zool.*, 1996, 42 (suppl.), 13-66.
- Pough F. H., Janis C. M. & Boschung H. T., Vertebrate life. Prentice Hall, ed. Pearson, 2005.
- Robinson-Rechavi M., Boussau B. & Laudet V., Phylogenetic dating and characterization of gene duplications in vertebrates: the cartilaginous fish reference. *Mol. Biol. Evol.*, 2004, 21, 23.
- Schubert M. *et al.*, Retinoic acid influences anteroposterior positioning of epidermal sensory neurons and their gene expression in a developing chordate (amphioxus). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 29, 29.
- Schubert M. *et al.*, Retinoic acid signaling acts via Hox1 to establish the posterior limit of the pharynx in the chordate amphioxus. *Development*, 2005, 1, 61-73.
- Schubert, M. *et al.*, Amphioxus and tunicates as evolutionary model systems. *Trends Ecol. Evol.*, 2006, 21, 269-277.
- Shu D. G., Zhang X. L. & Chen L., Reinterpretation of Yunnanzoon as the earliest known hemichordate. *Nature*, 1996, 380, 428.
- Shu D. G., Morris S. C. & Zhang X. L., A Pikaia-like chordate from the Lower Cambrian of China. *Nature*, 1996, 384, 157.
- Shu D. G. *et al.*, Lower Cambrian vertebrates from south China. *Nature*, 1999, 402, 42-46.
- Shu D. G. *et al.*, Head and backbone of the Early Cambrian vertebrate Haikouichthys. *Nature*, 2003, 421, 526-529.
- Spring J., Vertebrate evolution by interspecific hybridisation – are we polyploid? *FEBS Letters*, 1997, 400, 2-8.
- Vienne A. *et al.*, Evolution of the proto-MHC ancestral region: more evidence for the plesiomorphic organisation of human chromosome 9q34 region. *Immunogenetics*, 2003, 55, 429-436.
- Vienne A. *et al.*, Systematic phylogenomic evidence of en bloc duplication of the ancestral 8p11.21-8p21.3-like region. *Mol. Biol. Evol.*, 2003, 20, 1290-1298.
- Winchell C. J. *et al.*, Evaluating hypotheses of deuterostome phylogeny and chordate evolution with new LSU and SSU ribosomal DNA data. *Mol. Biol. Evol.*, 2002, 19, 762-776.
- Yarrell, W., A history of British fishes, Voorst J. V. (ed.). 1936, London.
- Yu J. K., Holland N. D. & Holland L. Z., Tissue-specific expression of FoxD reporter constructs in amphioxus embryos. *Dev. Biol.*, 2004, 274, 452-461.
-