

Thème I : La Terre, la vie et l'organisation du vivant

Partie 1-A-1 : L'origine du génotype des individus.

I- La conservation des génomes : stabilité génétique et évolution clonale

TP1 : La polydactylie

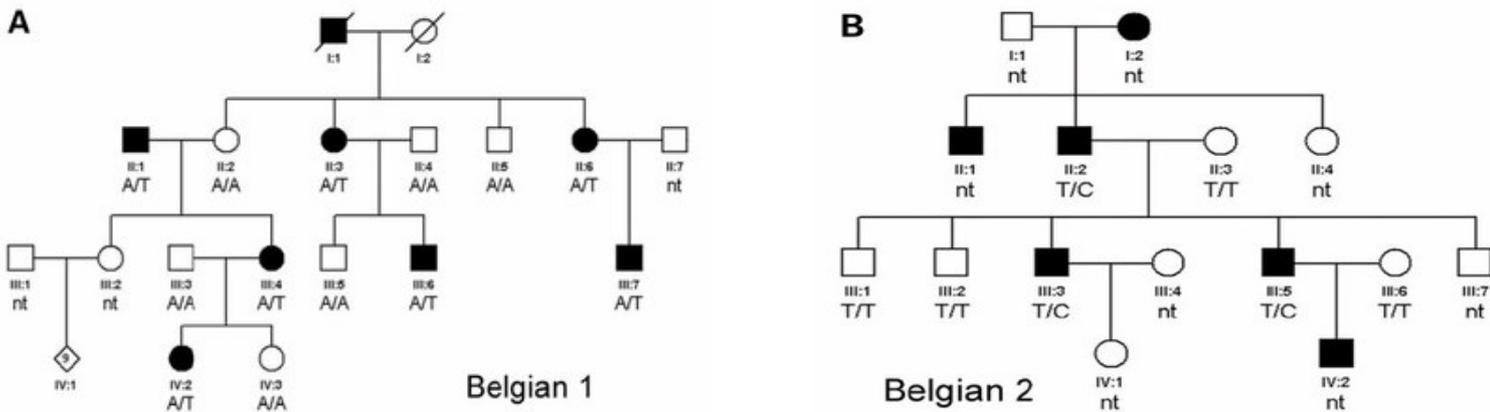
A - Présentation de la polydactylie pré-axiale

Doc 1 : Photos de polydactylie

Main d'une personne polydactyle (à gauche) et d'une personne non polydactyle (à droite). Eur J Hum Genet. 2010 June; 18(6): 733-736.



Doc 2 : Familles avec polydactylie (fréquence est environ 1/2000 naissances).



Les symboles des personnes polydactyles sont en noir. Human Molecular Genetics 12(14):1725-35.

Q1 : Déterminer le modèle génétique capable de rendre compte des caractéristiques de la transmission du phénotype polydactyle dans ces familles.

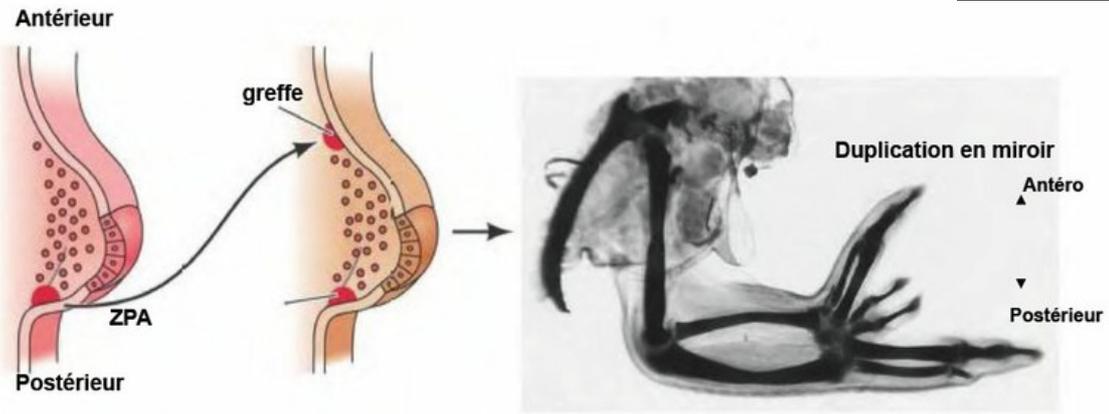
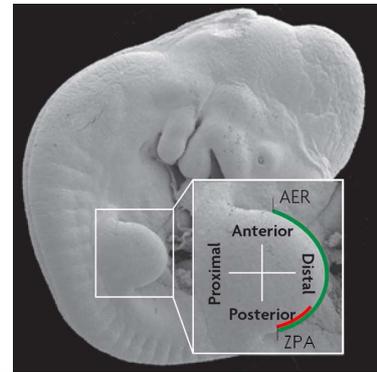
B - Le modèle murin de la polydactylie et l'implication du gène sonic hedgehog. (Shh)

Doc 3 : Vue ventrale de membres postérieurs de souris hétérozygotes Hx montrant une polydactylie pré-axiale.



Doc 4 : Développement embryonnaire d'une patte avant de souris. Les valeurs en bas de chaque image indiquent le nombre de jours après le début de la gestation.

Doc 5 : Image d'un embryon de souris à 10,5j de gestation. Le zoom montre le bourgeon d'un membre avant avec ses deux axes principaux de développement. Nature Reviews Genetics 10:845-856.

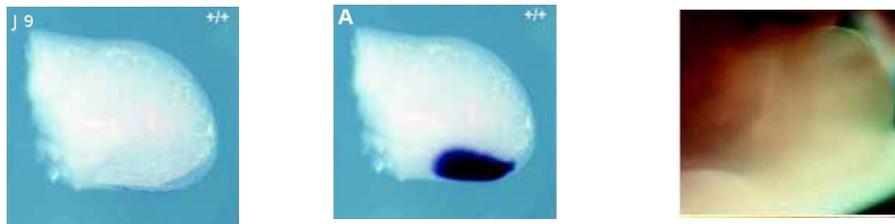


Doc 6 : Photo de greffe de la zone ZPA dans la région antérieure du bourgeon du membre chez le poulet.
Remarque : les doigts formes le sont toujours par le bourgeon.

Doc 7 : La figure montre l'aspect d'un embryon de souris mutant avec Shh délété (noté -/-, souris normale notée +/+) par rapport à un embryon normal.

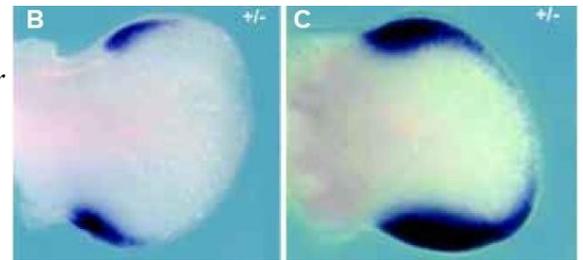


Les chercheurs ont établi les caractéristiques de l'expression du gène Shh dans le bourgeon du membre (lieu et moment d'expression). Pour cela ils ont mis en évidence l'ARNm spécifique de ce gène par la méthode de l'hybridation in situ. La présence de l'ARNm se traduit par une coloration violette.
 Dans tous les clichés qui suivent, la région proximale du membre est à gauche, la région antérieure vers le haut (et donc la région postérieure vers le bas).



Doc 8 : Expression du gène Shh dans le bourgeon du membre aux jours 9, 11,5 et 12 chez l'embryon de souris normale.

Doc 9 : Expression du gène Shh dans le bourgeon du membre au jour 11,5 chez l'embryon de souris. B : bourgeon d'un membre avant d'un embryon de souris polydactyle. C : bourgeon d'un membre arrière d'un embryon de souris polydactyle.

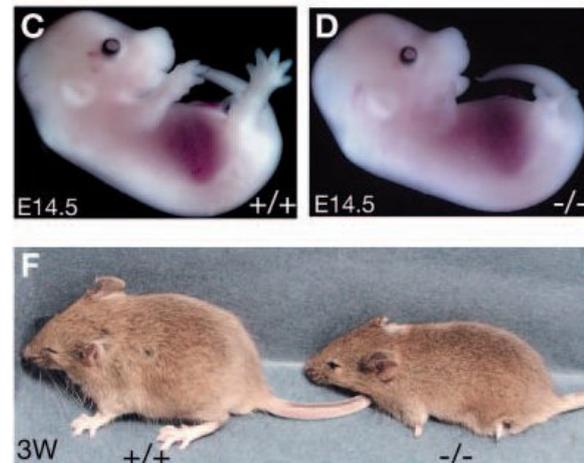


Q2 : A l'issue de l'exploitation des documents précédents, proposez une hypothèse expliquant la polydactylie – Comment pourriez vous pour valider votre hypothèse - Demandez au professeur

Chez la souris normale, on a mis en évidence une séquence, dite **ZRS**. Cette séquence est située à un million de paires de bases en amont du site de transcription de Shh.

L'importance de la séquence non codante ZRS au cours du développement a été testée par des expériences où on a délété spécifiquement cette zone tout en gardant la séquence transcrite de Shh. Les figures suivantes permettent d'analyser les résultats de ces expériences.

Doc 10 : Développement de l'embryon normal (C) et de l'embryon chez lequel ZRS a été délétée à 14,5 jours de gestation.(D) En F, souris âgées de 3 semaines, la main comporte un seul doigt



Doc 11 : Données génétiques (à exploiter avec Anagène)

SHH-ZRS-Mus.edi : Alleles des genes SHH et ZRS chez les souris WT (normale) et HX (polydactyle)

Document 12 : Fabrication de souris transgéniques

Les chercheurs ont réalisé deux constructions génétiques. La première est constituée par la séquence ZRS normale associée au promoteur du gène Shh et à la séquence transcrite du gène rapporteur lacZ.

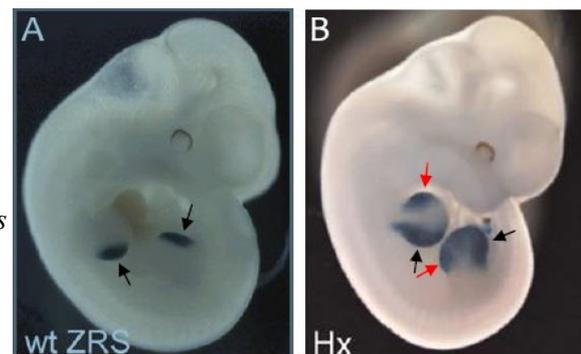
La deuxième construction est identique à la première sauf que la séquence ZRS mutée remplace la séquence ZRS normale.

Les chercheurs ont ensuite introduit à l'aide d'un micromanipulateur ces constructions dans des œufs de souris. Ils ont ensuite sacrifié les embryons à 11,5 jour de gestation. Ils ont réalisé des coupes dans ces embryons et les ont traités avec la substance X-gal. L'enzyme beta galactosidase codée par le gène LacZ agit sur la substance X-gal avec formation d'un produit bleu. Les zones bleues de l'embryon indiquent donc les endroits où le gène rapporteur a été exprimé sous l'action de la séquence régulatrice ZRS. Ce sont bien sûr les endroits où le gène SHH se serait aussi exprimé sous l'action des séquences régulatrices ZRS.

Expression de LacZ dans un embryon transgénique de 11,5 jours.

A : sous contrôle de la séquence ZRS normale.

B : sous le contrôle de la séquence ZRS mutée. Cette expression est observée sur un membre avant et un membre arrière. Les flèches noires indiquent la région postérieure des bourgeons des membres. Les flèches rouges la région antérieure. ” Human Molecular Genetics 17 (7):978-85.



Q3 : Exploiter les résultats expérimentaux (doc 10-11-12) chez l'animal pour comprendre l'origine du phénotype « polydactyle »

C- Retour à la polydactylie humaine

Document 13 : Données génétiques (à exploiter avec Anagène)

SHH-ZRS-Humains.edi : Alleles des genes SHH et ZRS chez les humains WT (normale) et HX (polydactyle)

Q4 : Les mécanismes génétiques causes de la polydactylie murine sont-ils aussi en jeu dans la polydactylie humaine ?