



**Introduction :** Le génotype des individus est un héritage de milliards d'années d'évolution. Il est hérité des parents et dépend du type de reproduction de ceux-ci. Sur Terre, parmi les quelques 2 millions d'espèces dénombrées et décrites à ce jour, seules 2 000 sont strictement asexuées. Toutes les autres possèdent une reproduction sexuée.

**Problème :** Quelles conséquences les deux types de reproductions ont-elles sur les génotypes des descendants ? Quels mécanismes cellulaires favorisent la stabilité génétique et lesquels favorisent la variabilité ? Quels outils génétiques modernes permettent d'identifier la variabilité des génotypes ?

## Objectifs :

- Révision des acquis de 1ère sur les divisions cellulaires : mitose, méiose
- Analyse de documents et mise en relation des informations
- Observation à loupe binoculaire de drosophiles sauvages et mutantes
- Manipulation d'un logiciel de comparaison de séquences génétiques : Anagène
- (Activité 2 type ECE)

## I- Clone et stabilité génétique

D'après la série documentaire suivante (doc 1 à 4) répondre aux questions suivantes :

### Questions :

- 1) (Doc 1 et 2) Expliquer comment les scientifiques ont pu prouver que les 40 000 troncs de la forêt appartenaient à un même individu.
- 2) (Doc 1 et 2 + Rappel mitose méiose) Indiquer les deux modes de reproduction de Pando. Expliquer les deux mécanismes cellulaires impliqués et leurs différences quant aux nouveaux individus produits.
- 3) Compléter (p 4) les schémas de ces deux mécanismes. Préciser quel mécanisme favorise la stabilité génétique et lequel favorise la variation génétique.
- 4) (Doc 3 et 4) Donner la définition et les caractéristiques d'un clone puis discuter cette notion.
- 5) (Doc 4 ) Calculer le taux de mutations somatiques et germinales chez l'humain à partir des chiffres donnés. Expliquer s'il est possible de planter un pommier dont toutes les pommes seraient identiques à celle-ci.

### Doc1. : La forêt clonale Pando

« Le géant qui tremble ». C'est le surnom de Pando, le plus grand organisme du monde !



Pando n'est pas une simple forêt, c'est un organisme unique. Cette forêt de peupliers faux-trembles située dans l'Utah, aux Etats-Unis, est en effet composée de près de 47 000 troncs répartis sur 43,6 hectares, tous reliés entre eux par un seul système racinaire et génétiquement identiques donc clones les uns des autres.

Ce qui lui a valu son nom de « *Pando* », ce qui signifie « *Je m'étends* » en latin. Cette colonie clonale est donc considérée comme l'organisme vivant le plus lourd de la planète avec une masse estimée à 6 000 tonnes (Grant et al. 1992).

Les particularités de Pando peuvent être expliquées par son système de reproduction. En effet, le climat très sec de l'Utah, permet difficilement que les graines de cette espèce germent. La forêt s'est donc formée principalement grâce à de nouvelles pousses souterraines de la même plante, qui a germé à partir d'une seule et même graine, à une époque où le climat était beaucoup plus humide. Chaque pousse émerge pour devenir un nouveau tronc. Cette méthode de reproduction et de survie s'appelle le « drageonnage ». C'est une forme de reproduction asexuée ou multiplication végétative qui, au lieu de donner naissance à un nouvel individu (comme le fait la reproduction sexuée), crée des clones possédant tous le même patrimoine génétique. (DeByle et Winokur 1985)



Si les conditions sont favorables, ce petit jeu de clonage peut durer assez longtemps et conférer à Pando une quasi-immortalité ! Chaque tronc n'aura qu'une durée de vie d'environ 130 ans, mais tant que de nouveaux troncs sont créés, on peut considérer que c'est le même organisme dont il s'agit. Toutefois puisque les troncs disparaissent et sont remplacés, on ne peut pas utiliser le comptage des anneaux pour estimer l'âge total de Pando. C'est en mesurant son taux de croissance et le taux de mutations de son ADN, que son âge a été estimé à environ 80 000 ans (Mitton and Grant 1996) et il se pourrait que sa dernière floraison, et donc sa dernière reproduction sexuée, ait eu lieu il y a plus de 10 000 ans. Pando est donc également l'être vivant le plus âgé de la planète.



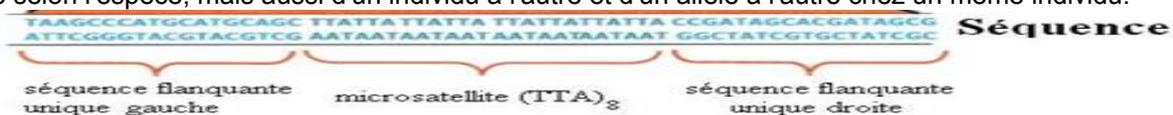
Afin de vérifier qu'il s'agit bien d'un seul individu génétique, des outils génétiques contemporains ont permis d'échantillonner 209 tiges sur une grille d'échantillonnage de 50 m<sup>2</sup> dans tout le clone à partir de laquelle des feuilles ou des tissus de tige ont été collectés pour déterminer le cytotype et le génotype en utilisant la variation allélique au niveau d'un panel de 7 loci microsatellites (DeWoody, Mock et al. 2008). -**Voir doc. 2**- Suite à ces analyses, une seule entité génétique a bien été identifiée sur les **43.6ha**, correspondant à celle décrite à partir des caractéristiques morphologiques et confirmant qu'il s'agit bien d'un même individu.

Une autre étude conçue pour explorer la diversité génétique dans les peuplements adjacents de Pando a été réalisée selon les mêmes protocoles. Après génotypage de l'ensemble des arbres, 40 génotypes supplémentaires ont été identifiés à côté du clone Pando, indiquant que la diversité des allèles peut être élevée dans le peuplement dans son ensemble. Par conséquent, bien que la multiplication végétative soit le mécanisme de régénération dominant chez les peupliers faux-trembles de l'ouest de l'Amérique du Nord, le peuplier faux-tremble est également capable de se reproduire sexuellement naturellement.

*D'après des articles de Western North American Naturalist 68, (2008) de J. DeWoody, C. Rowe, V. Hipkins, and K. Mock, et d'après sciencetonnante (27/10/2014), Lemonde (18/10/2018)*

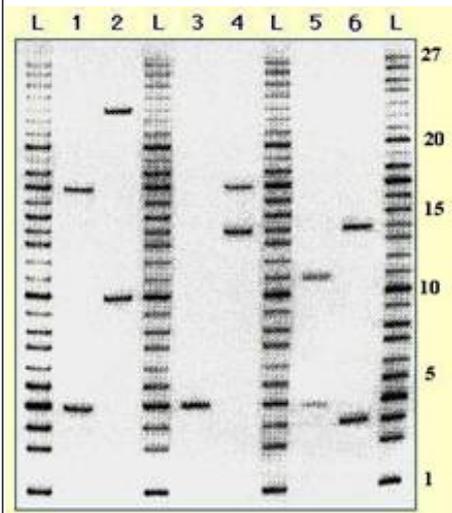
## Doc. 2 : Génotypage par microsatellites

Un **microsatellite** (ou **séquence microsatellite**) est une séquence d'ADN formée par une **répétition continue de motifs composés de 1 à 4 nucléotides** le plus souvent. Un motif souvent retrouvé est (CAGT). La longueur de ces séquences (c'est-à-dire le nombre de répétitions, de 5 à 100 fois en général) varie selon l'espèce, mais aussi d'un individu à l'autre et d'un allèle à l'autre chez un même individu.



Pour que ce marqueur puisse être un repère non ambigu, il doit être entouré à droite et à gauche de séquences flanquantes uniques.

Le **génotypage microsatellites SSR** (simple sequence repeats) permet d'identifier un nombre de répétitions du motif présent dans une séquence d'ADN microsatellite. A la suite d'une amplification de



l'ADN par PCR (Polymerisation Chain Reaction), les copies de la séquence d'ADN recherchée sont séparées en fonction de leur taille par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, ce qui permet d'identifier le nombre de répétitions présentes sur les 2 allèles d'un gène portés par un individu. Ce nombre de répétitions peut être partagé avec un pourcentage important de la population. Pour identifier formellement un individu, il faut donc utiliser plusieurs (une dizaine environ) séquences microsatellites différentes et ainsi obtenir une combinaison de répétitions unique pour chaque individu.

► Ici on a amplifié une région du chromosome 1 qui contient un polymorphisme de type **microsatellite** (D1S80). La taille de chaque *amplifié* dépend du nombre de copies du motif présentes sur le chromosome 1. Le canal L contient un marqueur de taille présentant toutes les répétitions du motif de un à 27 fois. Les canaux un à six montrent les résultats pour six sujets différents. Dans chaque cas, on voit une ou deux bandes indiquant si la personne est homozygote ou hétérozygote pour le locus D1S80

**Ci-dessus** : Exemple de gel d'analyse du microsatellite D1S80 pour 6 individus

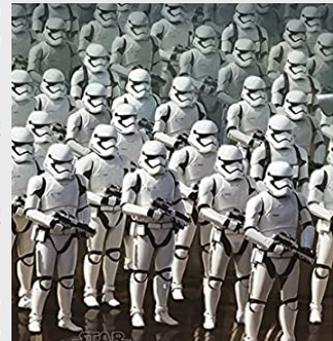
L'individu 1 par exemple est hétérozygote et possède un allèle à 4 répétitions et un allèle à 17 répétitions.

L'individu 3 est homozygote et possède 2 allèles à 4 répétitions.

D'après [http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot\\_05001/polymorphisme/microsatellites.html](http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/polymorphisme/microsatellites.html)

### Doc. 3 : La notion de clone

Un **clone** est l'ensemble des individus qui partagent le même patrimoine génétique, que leur existence soit naturelle (gemellité, multiplication végétative de nombreuses plantes telles les fraisiers ou certains kalanchoés), ou artificielle (greffages des arbres fruitiers, bouturages, divisions de méristèmes, transfert de noyau cellulaire, etc.). Le langage courant appelle clone tout élément d'un clone *stricto sensu*.



Un **clone cellulaire** est aussi un ensemble de cellules génétiquement identiques issues d'une même cellule originelle par mitoses successives. Ainsi, une colonie de levure est un clone de la levure initiale. De même, un lymphocyte B stimulé produit par divisions successives un clone de plasmocyte produisant tous le même anticorps, qualifié de ce fait de monoclonal.

### Quelques nuances sur la copie conforme :

Cette photo (Inra, NICOLAS Bertrand) montre les 17 clones somatiques d'âge différents issus d'une vache donneuse, la vache n°38 (isolée à gauche). Bien que les clones soient par définition génétiquement identiques, on se rend vite compte que ces clones sont morphologiquement différents (par exemple la répartition des tâches noires).



Autre exemple, les larves d'abeille, génétiquement identiques, deviennent des reines ou des ouvrières selon qu'elles sont nourries à la gelée royale ou au pollen et miel. **L'environnement fœtal, post-natal, l'alimentation, etc. modifient le programme génétique** sans affecter les gènes eux-mêmes. C'est ce qu'on appelle l'**épigénétique**.

D'autre part, les cellules contiennent dans leur cytoplasme de petits organites, les mitochondries, les centrales énergétiques de la cellule. **Elles sont dotées de leur propre ADN, l'ADN mitochondrial**

**(ADNmt) qui influence le programme génétique contenu dans l'ADN nucléaire et qui contrôle la vie des cellules.** Pour en revenir à nos clones de la vache 38, ils ont tous été obtenus à partir d'ovocytes différents qui avaient donc tous un réseau mitochondrial différent. En outre, des mutations peuvent avoir lieu au cours d'une réplication (**Voir document 4**). La lignée cellulaire qui en découle sera légèrement différente des précédentes et formera un sous-clone.

(D'après [museum.toulouse.fr](http://museum.toulouse.fr))

**Doc. 4 :** Variations génétiques d'un clone

Une sur un million ?

L'agriculteur Ken Morrish a été stupéfait quand il a trouvé une pomme Golden sur son arbre, divisée exactement au milieu, une moitié était verte et l'autre rouge.



D'après les scientifiques la coloration frappante du fruit est causée par une mutation génétique aléatoire. Ils estiment que les chances de rencontrer une telle pomme sont de l'ordre de une pour un million.

(D'après un article de « The Telegraph » de sept 2009 : *Million-to-one-apple-is-half-red-half-green*)

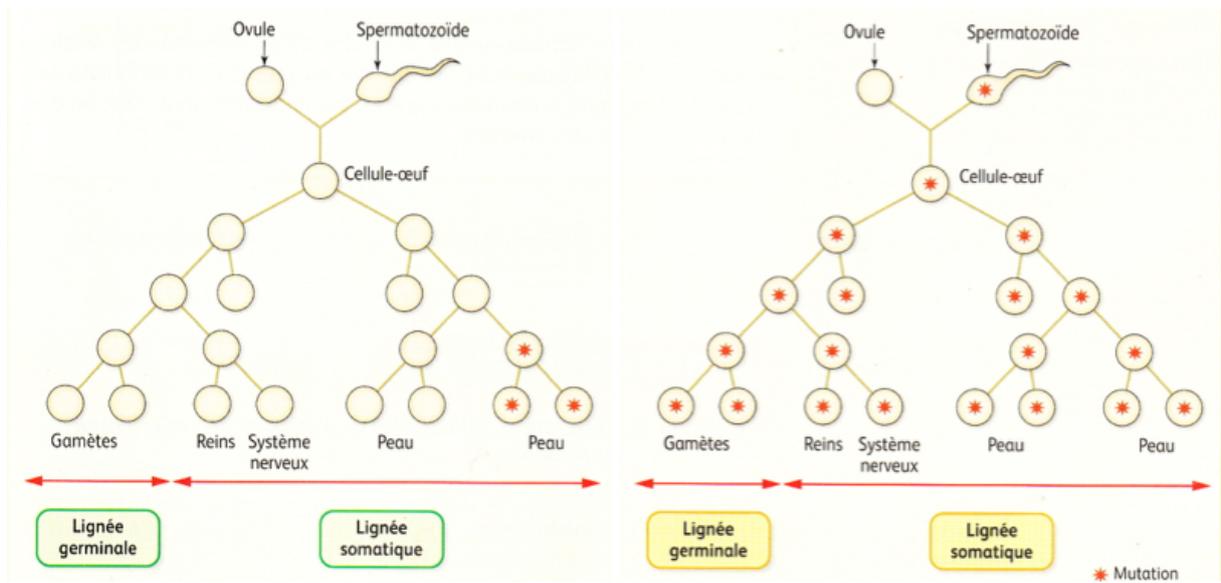
En effet, la **mitose**, reproduction conforme, ne donne que des cellules génétiquement identiques entre elles et identiques à la cellule mère, aux mutations près ! Ces mutations de l'ADN reflètent les erreurs inévitables lors de la réplication ou de la réparation de l'ADN.

Les taux de mutation mesurés chez différents types d'organismes sont variables mais toujours relativement bas : la probabilité qu'un nucléotide soit remplacé par un autre peut être proche de 1 sur mille chez des virus à ARN, mais être proche de 1 sur cent milliards chez des paramécies. Si ces événements sont peu probables à l'échelle du gène (taux de mutation chez les humains =  $2,66 \cdot 10^{-9}$  soit environ 1 erreur pour 2.66 millions de nucléotides répliqués), ils deviennent non négligeables dès lors que l'on considère le génome entier d'une cellule (de l'ordre de  $6,4 \cdot 10^9$  paires de bases chez les humains) et le nombre des divisions qui l'affecte (de l'ordre de  $10^{17}$  divisions somatiques au cours d'une vie humaine). Pour la lignée germinale, on estime à 24 le nombre de divisions nécessaires pour produire un ovule et à  $35 + 23n$  (où  $n$  = âge en années - 15) le nombre de divisions nécessaires pour produire un spermatozoïde.

(D'après Nathan SVT Tle spé et L.Schibler, D.Vaiman, E.P. Cribiu INRA).

Le taux de mutation observé correspondrait à un état d'équilibre entre deux forces de sélection. La sélection naturelle favorise les individus antimutateurs (dont le taux de mutation est le plus faible car les mutations sont le plus souvent défavorables) mais il est nécessaire qu'il existe une diversité génétique pour que

l'adaptation puisse se réaliser si l'environnement est instable. Le point d'équilibre dépendrait donc de l'environnement dans lequel vit une espèce.



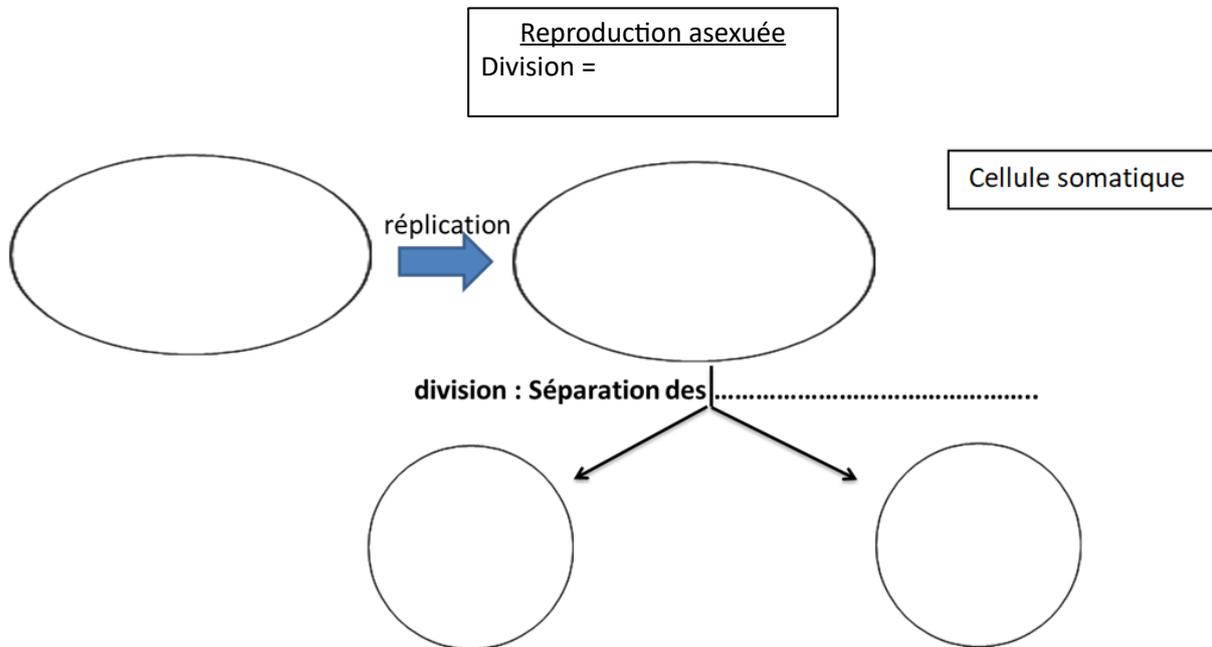
Même si beaucoup de mutations se produisent dans les lignées somatiques, c'est finalement peu important car ces mutations disparaîtront toutes à la mort de l'individu. La pression de sélection naturelle pour réduire le taux de mutation sur les lignées somatiques est donc moins forte, ce qui explique un taux de mutations beaucoup plus élevé que dans les lignées germinales.

(D'après medecinesciences.org Mars 2019)

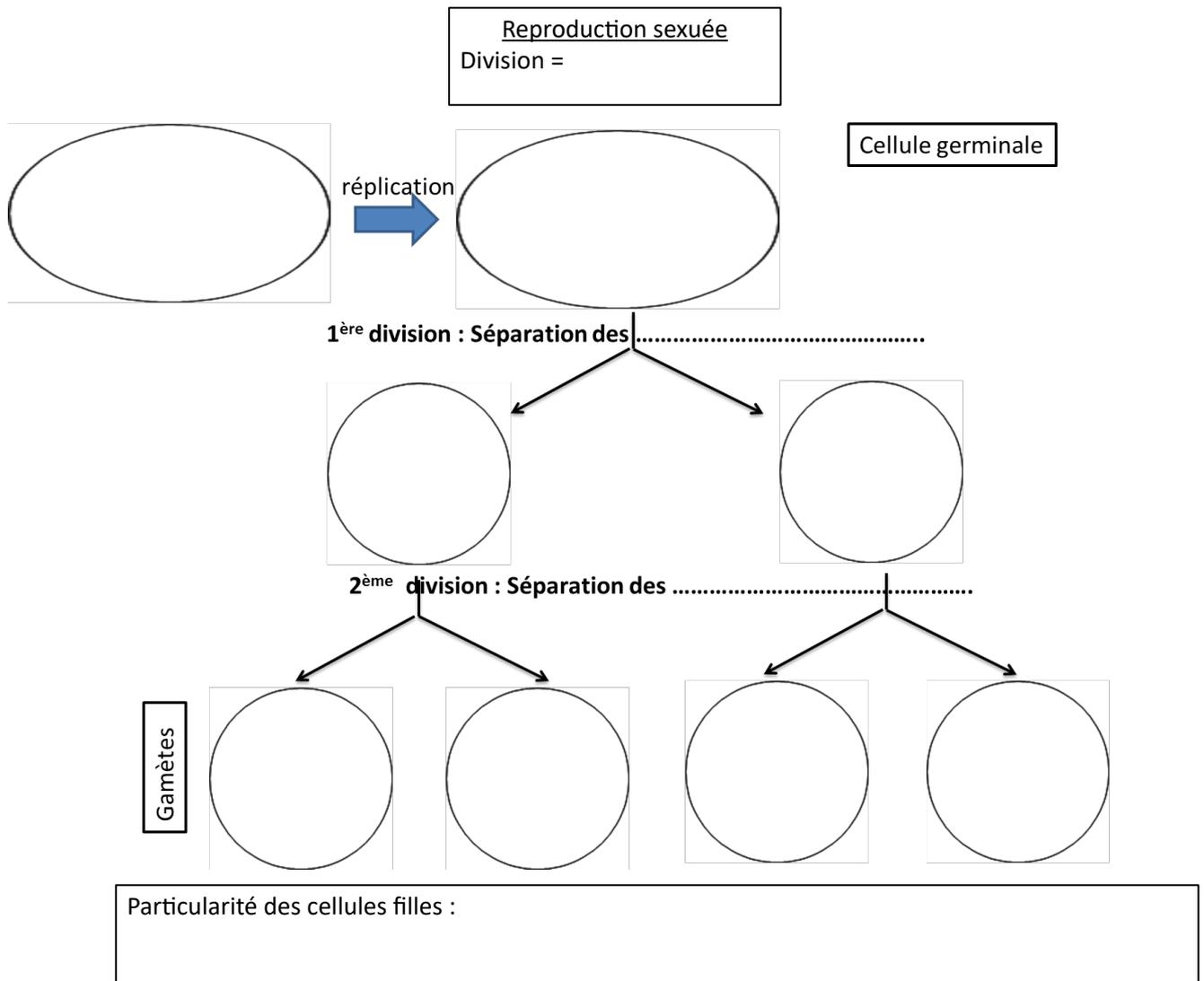
**Rappels Mitose Méiose** : Animation « La méiose VS mitose »

**Schémas des mécanismes cellulaires intervenant dans les deux modes de reproduction de Pando :**

A compléter avec une cellule de départ à  $2n = 4$  chromosomes simples.



Particularité des cellules filles :



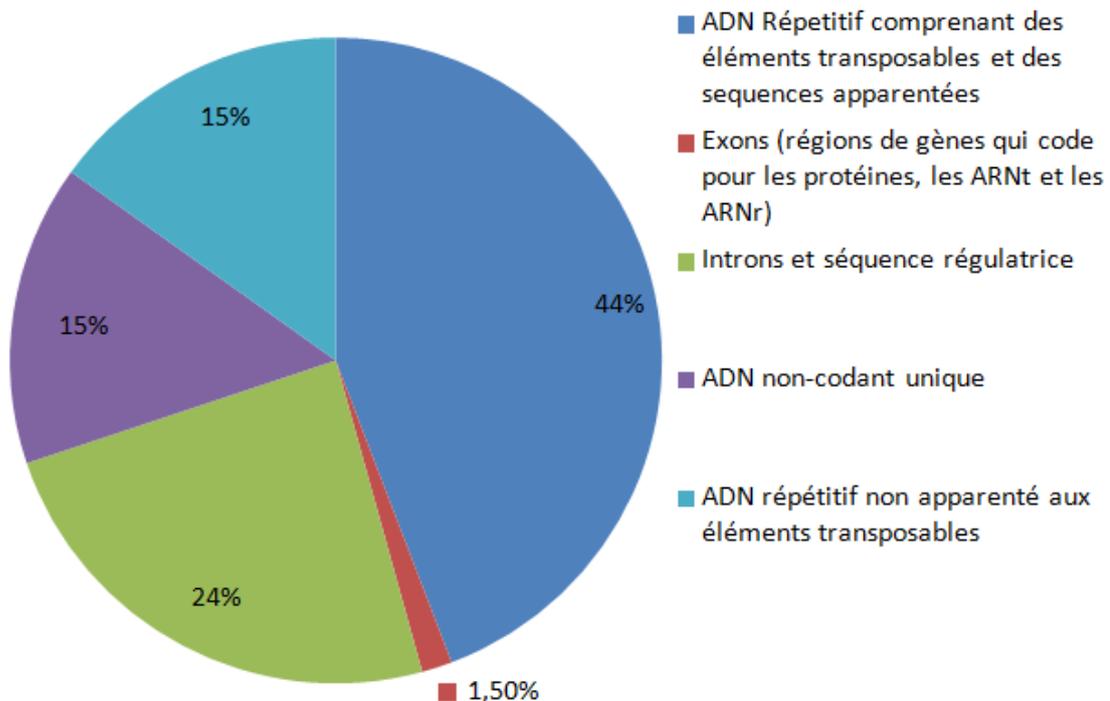
**Schémas interactifs pour réviser :**

[https://svt-lycee.nathan.fr/9782091727073/asset/ch01\\_schema\\_bilan\\_div\\_cellules/index.html](https://svt-lycee.nathan.fr/9782091727073/asset/ch01_schema_bilan_div_cellules/index.html)

## II- Localisation des mutations et conséquences phénotypiques (Type ECE - Durée 1h)

Des individus mutants apparaissent de façon récurrente dans les populations (ex : comme des mouches aux yeux blancs dans une population de mouches avec les yeux rouges). Ces individus mutants sont les descendants de parents porteurs de modifications (des mutations) dans des cellules de leur lignée germinale.

### Type de séquences d'ADN dans le genome Humain



Ces mutations, provenant majoritairement des erreurs de réplication ou de réparation de l'ADN, peuvent avoir lieu n'importe où au hasard dans le génome. Or le génome est constitué de différents types de séquences dont 80 à 95% sont non codantes, 1.5% seulement constituent des exons. Ces séquences non codantes appelées **ADN intergénique** ou parfois improprement **ADN poubelle** sont encore mal connues mais peuvent jouer un rôle dans la régulation de la transcription et la maturation des ARN ou dans l'organisation et la maintenance du génome. Compte-tenu de la redondance du code génétique, de la présence d'introns et d'une masse d'ADN qui ne code apparemment pour rien, de très nombreuses mutations restent silencieuses. Les mutations ne modifient donc pas toujours le phénotype des individus, et leurs conséquences dépendent de leur localisation sur l'ADN.

### Quelles sont les conséquences de mutations ayant lieu dans les séquences intergéniques ?

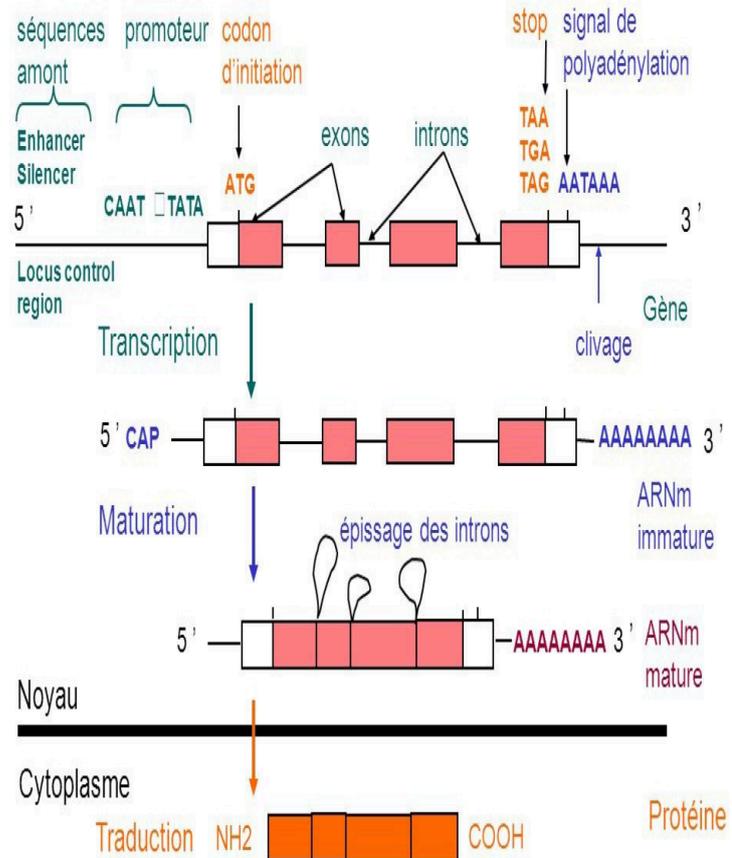
#### Mise en situation et recherche à mener

Dans un laboratoire, des étudiants découvrent un flacon contenant des drosophiles dont les phénotypes sont étonnants. Ils ont fixé les individus possédant ces phénotypes dans une résine et ont analysés leur génome.

**On veut déterminer la nature et la localisation des mutations ayant provoqué les phénotypes des drosophiles présentes dans la résine.**

#### Ressources

## Organisation et expression d'un gène

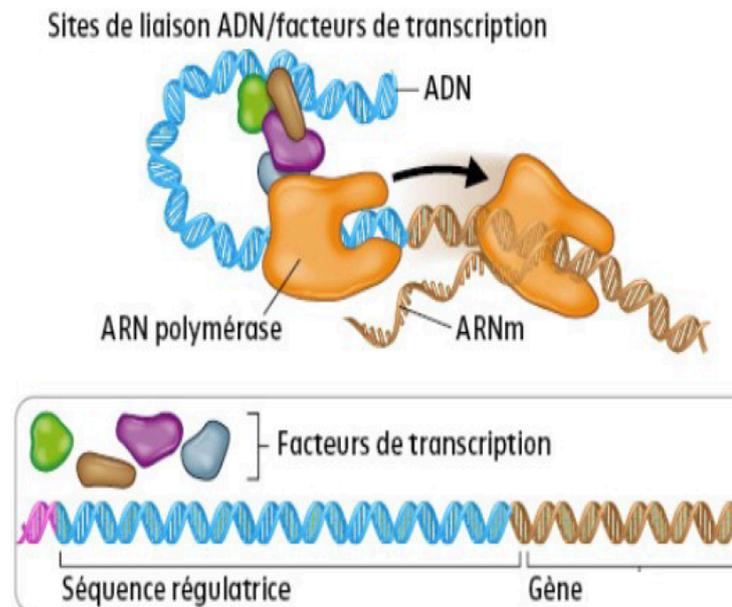


### Rôle des séquences régulatrices

Des segments d'ADN appelés séquences régulatrices, présents en amont des gènes, contrôlent leur expression. Elles sont constituées d'un promoteur permettant à l'ARN polymérase de se fixer et de site de fixation de facteurs de transcriptions permettant de réguler, augmenter (Enhancer) ou diminuer (Silencer) la transcription du gène, au moment et à l'endroit où il doit être actif.

Des mutations peuvent intervenir dans le promoteur ou la zone régulatrice du gène ou encore dans un intron et affecter la transcription, la traduction ou l'épissage de l'ARNm. Cela peut notamment perturber le lieu, l'intensité, la chronologie ou la durée de son expression.

### Rôle de la séquence régulatrice (D'après Nathan) chez les eucaryotes



**Etape 1 et 2 : Concevoir une stratégie et mettre en œuvre un protocole pour résoudre une situation problème (durée maximale : 40 minutes)**

**Proposer une stratégie** opérationnelle de résolution du problème en **l'argumentant à l'oral**.

**Mettre en œuvre votre protocole** d'observation de mutants chez la drosophile et de comparaison de séquences.

**Vous pouvez modifier à tout moment votre stratégie et votre protocole en appelant l'examineur**

**Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel**

**Matériel**

- ➔ Loupe binoculaire avec éclairage
- ➔ Boîtes de Pétri dans lesquelles sont fixés les mutants dénommés antp, correspondant au contenu du flacon découvert par les étudiants
- ➔ Un échantillon de référence comportant des drosophiles de phénotype sauvage
- ➔ Logiciel Anagène et fiche technique du logiciel Anagène
- ➔ Fichier de séquences nucléotidiques « genes\_homotiques.edi » contenant :
  - ▶ les séquences codantes du gène homéotique antp de la drosophile sauvage et du mutant antp
  - ▶ les séquences régulatrices du gène homéotique antp de la drosophile sauvage et du mutant antp

**Sécurité : RAS**

**Afin de déterminer la nature et l'origine des phénotypes étonnants présents dans le flacon :**

**1) Observer**

.....  
.....

**2) Comparer**

.....  
.....

**3) Comparer**

.....  
.....

***Appeler l'examineur à la fin de la manipulation pour vérification et éventuellement obtenir une aide.***

**Précautions de la manipulation :**

Pour identifier une structure située à un emplacement inattendu, raisonner sur sa forme et/ou sa zone d'insertion.

**Etape 3 et 4 : Présenter et exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème (durée maximale : 20 minutes)**

Sous la forme de votre choix, **présenter et traiter les résultats** pour mettre en valeur les informations nécessaires à la résolution du problème.

**Exploiter les résultats** pour déterminer la nature et l'origine des phénotypes étonnants présents dans le flacon.

**Présenter en 3 étapes : - Je vois que → Résultats**

- **Je sais que → Connaissances** issues des **documents ressources** et de vos **connaissances personnelles**

- **J'en déduis que → Réponse au problème.**

**Garder les 5 dernières minutes pour nettoyer et ranger votre paillasse !**