

**Devoir d'entraînement – épreuve sur support de documents**  
**« Le mésoderme »**  
**Éléments de correction**

---

**Partie 1 : La formation du mésoderme**

**Documents 1.1 :** on étudie le rôle des mitoses dans la mise en place d'un organisme pluricellulaire et l'établissement des trois feuilletts embryonnaires, notamment le mésoderme.

**1.1 A :** description du graphique → phase de segmentation et stades morula, blastula. On distingue deux phases de cycles cellulaires durant la segmentation, marquées par un changement de rythme des cycles. Durant les premiers cycles, le nombre de cellules augmente de façon exponentielle (échelle logarithmique). Après la transition mid-blastuléenne (changement de pente), le ralentissement des cycles cellulaires s'explique par une augmentation de la durée des phases G1 et G2.

**1.1 B :** au stade morula, distinction micromères / macromères. Territoires présomptifs : expliquer ce que c'est, en lien avec les trois feuilletts embryonnaires (les nommer) et ce que suggère le fait que le devenir de ces blastomères est déjà déterminé (si le DE s'effectue normalement).

**Documents 1.2 :** on étudie les mécanismes cellulaires associés à la mise en place des trois feuilletts, et plus précisément du mésoderme.

Le **document 1.2.A** permet de légender des cellules en bouteilles, situées entre les micromères et les macromères. L'invagination se fait au niveau de l'encoche blastoporale. On peut également identifier le blastocoele, l'archentéron, des plaquettes vitellines, le mésoderme, l'endoderme, l'ectoderme, la lèvre du blastopore.

Le **document 1.2.B** permet d'identifier sur le toit du blastocoele des cellules mésodermiques en cours de migration. Elles présentent des points de contact cellule-matrice extracellulaire et des filopodes (expansions cellulaires).

**Documents 1.3 :** mise en évidence de l'induction embryonnaire du mésoderme et du rôle des gradients dans la régionalisation dorso-ventrale.

Dans les expériences 1 à 4, l'expression du gène EF1 $\alpha$  sert de témoin de charge. Il calibre l'expérience. Des témoins positifs (comme la piste 1 de l'expérience 1) et témoins négatifs (comme la piste 2 de l'expérience 1) pouvaient également être identifiés.

**Expérience 1 :** le gène Xbra, qui s'exprime spécifiquement dans les cellules du mésoderme, s'exprime ici dans les cellules de la calotte animale si elles sont mises en contact avec les blastomères végétatifs → l'ensemble des blastomères végétatifs induit le mésoderme à partir des cellules de la calotte animale.

**Expérience 2 :** La présence de structures mésodermiques est associée à l'expression des gènes testés (pistes 2, 3, 5, 7) et conditionnée par l'association des blastomères de la calotte animale à des blastomères végétatifs.

La comparaison des pistes 2, 5 et 7 montre que la transcription des gènes mésodermiques est sélective : transcription de gènes dorsaux Gsc, Chd lorsque la calotte animale est mise en présence de macromères de la région végétative dorsale (régionalisation dorso-ventrale du mésoderme induit).

La comparaison des pistes 2/4, 5/6, 7/8 montre que les protéines Xnr sont nécessaires à l'induction du mésoderme. En revanche la comparaison des pistes 2/3 montre que ce n'est pas le cas des protéines de la voie BMP-activine.

**Expérience 3 :** la protéine Xnr ajoutée au milieu de culture de la calotte animale suffit à induire le mésoderme (inducteur moléculaire).

**Expérience 4 :** localisation de l'expression des gènes Xnr et Vg principalement dans la région végétative et non dans la calotte animale. Cette expression est plus intense dans la région dorsale que ventrale, formant ainsi un gradient dorso-ventral d'ARNm (et donc de protéines Xnr et Vg). Ce gradient de concentration de Xnr explique la régionalisation dorso-ventrale du mésoderme de l'expérience 3.

**Partie 2 : Du mésoderme aux somites**

Cette partie traite de la somitogenèse. Le rôle du gène Lfng est abordé avec les documents 2.1 et 2.2 et le rôle du gène Hes7 avec les documents 2.3 et 2.4.

Sur le **document 2.1**, les souris mutantes sont plus petites et présentent une queue plus courte, des vertèbres tassées et des côtes déformées. Lfng intervient donc dans le développement de l'axe antéropostérieur, et notamment dans le développement du squelette axial (documents A, B et C). Les mutants présentent des somites soudés. Ces mutants expriment le gène Uncx4.1 en plus faible quantité et de façon plus diffuse que les somites des souris sauvages. Lfng intervient donc dans l'individualisation des somites (somitogenèse). Son expression est nécessaire à l'expression du gène Uncx4.1 dans la partie postérieure des somites.

**Document 2.2.** On observe que Lfng ne s'exprime pas dans les somites mais dans le mésoderme présomitique. Le triangle rouge pointe toujours le même groupe de cellules.

A t=30 min, ce groupe de cellules exprime Lfng mais ne l'exprime plus à t=60 min. Or à t=60 min, la barre verte, qui désigne le dernier somite formé, se situe au niveau du triangle rouge. Ainsi à t=60 min, le groupe de cellules associées au triangle rouge correspond à un somite qui vient de se former. Ce somite se situe de façon plus postérieure que le somite indiqué à t=0 min par la barre verte. De même les cellules situées à t=0 min dans les zones d'expression médiane et caudale du mésoderme pré-somitique présentent une intensité changeante et migrent au cours du temps : à partir de t=60 min, elles prennent respectivement les positions antérieures et médianes au sein du mésoderme pré-somitique. Le patron d'expression de Lfng est donc cyclique.

**Document 2.3.A.** La comparaison A/D, B/E et C/F montre que les trois zones de transcription de Hes7 (zones antérieures, médianes et caudales au sein du mésoderme pré-somitique) détectées par la technique d'hybridation in situ correspondent respectivement aux trois zones où la protéine Hes7 détectée par immunocytochimie est présente en faible quantité. Il y a donc contrôle négatif de la protéine Hes7 sur sa propre expression.

**Le document 2.3.B.** En présence d'un inhibiteur du protéasome, la dégradation des protéines est inhibée et la protéine Hes7 est présente en grande quantité. On constate alors l'absence d'ARNm de Hes7 et de Lfng. En revanche, si le protéasome est fonctionnel, il y a peu de protéine Hes7 et les ARNm de Hes7 et de Lfng sont nombreux. La protéine Hes7 exerce donc un contrôle négatif sur sa propre expression et sur l'expression de Lfng.

**Document 2.4.A.** L'expression du gène rapporteur en l'absence de protéine Hes7 (ligne 1) est bien plus importante qu'en présence de cette protéine (ligne 2) : la protéine Hes7 sauvage inhibe l'expression du gène rapporteur, et donc l'expression de son propre gène.

Les protéines Hes7 mutées au sein du domaine hélice double hélice (mutations K17R, K22R, K52R, K55R) n'inhibent pas (ou peu) l'expression du gène rapporteur (prendre en compte les barres d'erreurs). Elles ont une activité inhibitrice réduite, contrairement aux protéines Hes7 mutées en dehors de ce domaine (K14R, K129R, K211R) pour laquelle il n'y a pas de différence significative par rapport au type sauvage WT. Hes7 est donc un facteur de transcription (de type bHLH, ce domaine permettant la liaison à l'ADN au niveau de séquences spécifiques), inhibant sa propre expression.

**Document 2.4.B** Les mutants Hes7<sup>K14R/K14R</sup> dont la protéine Hes7 a une durée de vie plus longue que la protéine non mutée montrent une expression plus diffuse des gènes Uncx4.1 (ligne 1) et Hes7 (ligne 2) → Hes7 intervient dans l'individualisation des somites (et dans l'expression de Uncx4.1). C'est l'expression régionalisée dans le mésoderme pré-somitique de Hes7 (ligne 3), et donc de Lfng (ligne 4), qui permet l'individualisation des somites.

**Schéma bilan :**

