

[D'après <http://acces.ens-lyon.fr/evolution/evolution/accompagnement-pedagogique/accompagnement-au-lycee/terminale-2012/diversification-genetique-des-etres-vivants/genes-du-developpement-et-evolution-morphologique/polydactylie/polydactylie-application-pedagogique>]

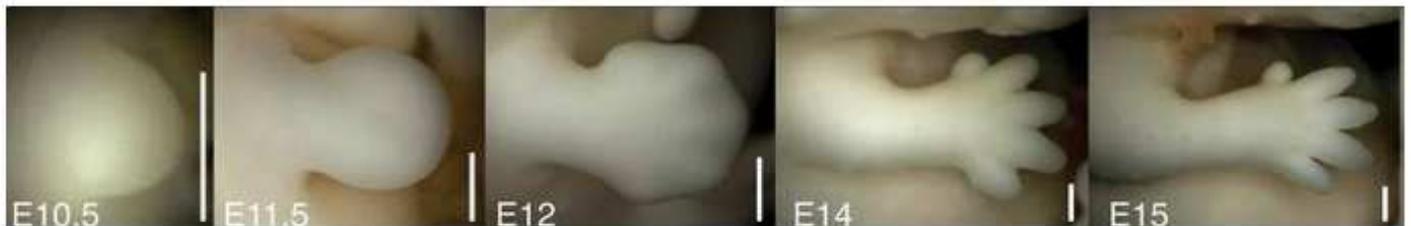
On parle de polydactylie pour les personnes présentant des doigts surnuméraires. Une des variantes est la polydactylie préaxiale, avec les doigts surnuméraires localisés sur le côté interne de la main ou du pied.

Cette anomalie s'observe avec une fréquence de 1 pour 2000 naissances. Certaines familles présentent de nombreux cas, et les données généalogiques attestent du caractère héréditaire de la polydactylie.

Le phénotype polydactyle étant aussi connu chez la souris, elle peut servir de modèle à l'étude de certains aspects du développement des membres, afin d'élucider les mécanismes à l'origine de l'anomalie des doigts.

- **Etapes du développement des membres :**

Les membres se forment à partir de petites protubérances, les bourgeons des membres, qui font saillie sur la paroi du corps de l'embryon. Cette formation débute à 9,5 jours de gestation pour le membre antérieur, 0,5 jour plus tard pour le membre postérieur (la gestation dure 19 à 21 jours).



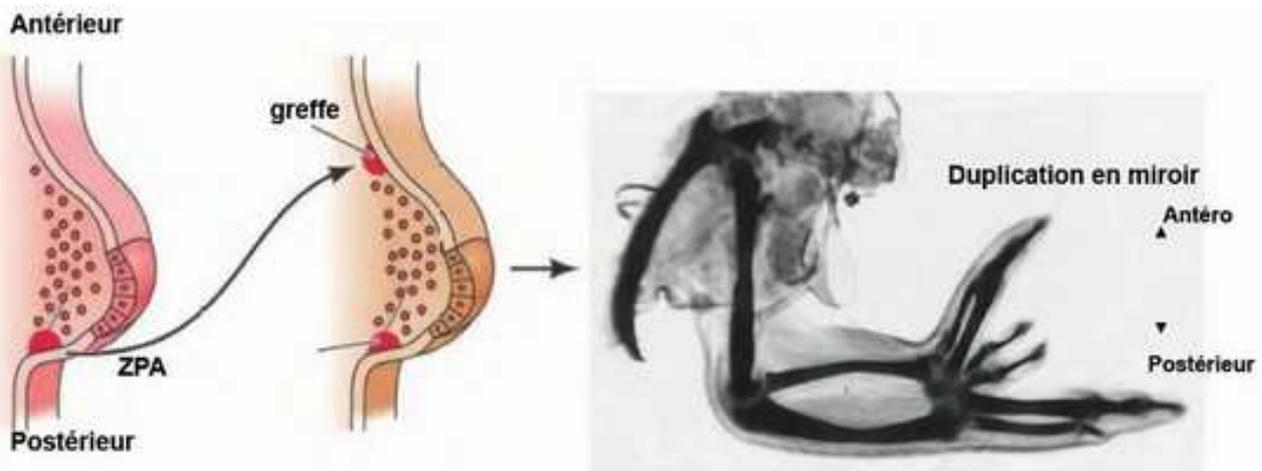
Développement embryonnaire d'un membre antérieur de souris.

Les valeurs en bas de chaque image indiquent le nombre de jours après fécondation.

- **Rôles de la ZPA et du gène Shh**

- On a cherché à mettre en évidence le rôle de la ZPA (zone d'activité polarisante) dans la formation des doigts. Cette zone est située dans la région postérieure du bourgeon du membre.

La ZPA est prélevée chez un jeune embryon de Poulet au niveau du bourgeon de l'aile et greffée sur le bord antérieur d'un autre bourgeon alaire :

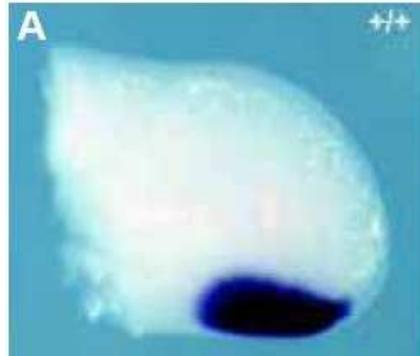


Expérience de greffe chez le Poulet : protocole et résultats.

La disposition normale des doigts est 4, 3, 2 (pas de doigt 1 au niveau de l'aile de Poulet). Ici la disposition observée est 4, 3, 2, 2, 3, 4. Les trois doigts surnuméraires proviennent du bourgeon sur lequel on a réalisé la greffe et non du greffon.

- On a constaté que des souris mutantes avec le gène Shh (Sonic hedgehog) délété présentent une morphologie anormale des membres avec un seul doigt, le doigt 1 (d'autres régions du corps sont également atteintes).
- On a cherché à étudier le domaine d'expression du gène Shh au cours du développement du membre.

La présence d'ARNm est repérée par une technique d'hybridation in situ. La fixation des sondes se traduit ici par une coloration violette.



Résultats à 11,5 jours de gestation chez l'embryon de souris normale.

La région antérieure est en haut.

Des taches violettes apparaissent à partir de 9,5 jours, et à 12 jours de gestation on n'en distingue plus.

- **Le gène Shh et la polydactylie**

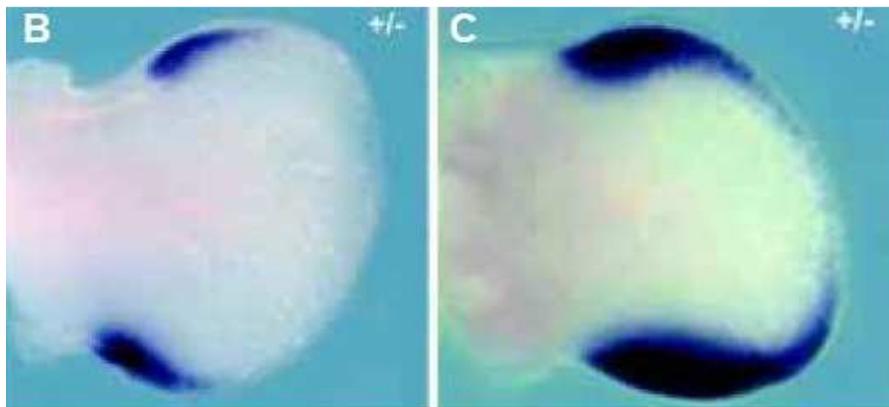
L'hypothèse de l'implication du gène Shh dans la polydactylie est proposée.

- Comparaison des séquences codantes de Shh de la souris normale et de la souris polydactyle :

Ces séquences sont identiques.

- Expression de Shh dans les bourgeons de membres d'une souris polydactyle :

La même technique d'hybridation moléculaire que précédemment est mise en œuvre.



Résultats à 11,5 jours de gestation chez l'embryon de souris polydactyle.

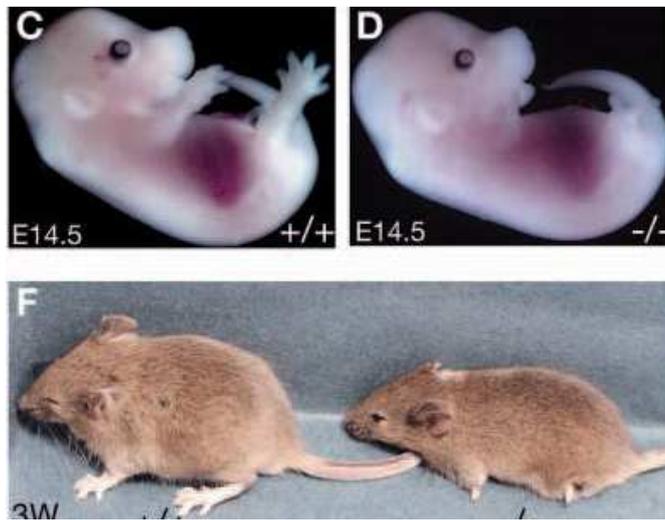
B : membre antérieur ; C : membre postérieur

- **Le contrôle de l'expression de Shh**

Chez la souris normale, on a mis en évidence une séquence, dite ZRS, qui contrôle l'expression du gène Shh dans le membre. Cette séquence est située à un million de paires de bases en amont du site de transcription de Shh.

- Expériences de délétion :

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



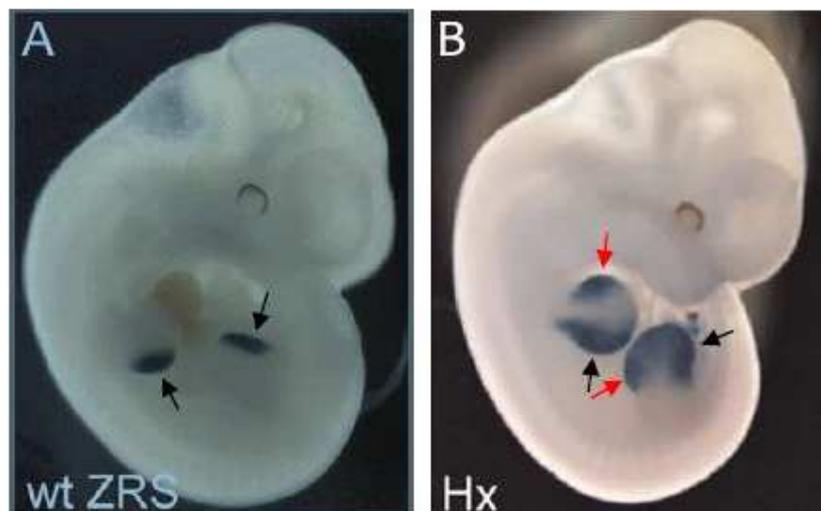
En C et D, développement des embryons à 14,5 jours de gestation : C = embryon normal ; D = embryon chez lequel ZRS a été délété. En F, souriceaux correspondants âgés de 3 semaines.

On a montré en outre que la délétion de ZRS entraîne l'absence d'expression de Shh au cours du développement du membre.

La comparaison des séquences de ZRS chez des souris polydactyles et chez des souris normales révèle une différence ponctuelle : une guanine est localisée en position 488 (sur une séquence de 540 pb) à la place d'une adénine.

➤ Expériences de transgénèse :

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 jours de gestation, puis réalisé des coupes dans ces embryons qui ont été traitées avec la substance X-gal. L'enzyme β -galactosidase codée par le gène LacZ agit sur la substance X-gal avec formation d'un produit bleu.



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 antérieur et un membre postérieur. Les flèches noires indiquent la région postérieure des bourgeons des membres. Les flèches rouges la région antérieure.

Les séquences des gènes Shh et ZRS ont été comparées entre individus polydactyles ou non dans l'espèce humaine : les séquences sont identiques pour Shh, et présentent une différence ponctuelle pour ZRS. Les individus atteints sont hétérozygotes pour la séquence ZRS.