

**Exercice 2.**

On utilise ici une technique très similaire à celle employée dans le séquençage chimique de l'ADN. Dans les deux cas, la molécule est marquée à une extrémité, puis partiellement fragmentée par une digestion ménagée au niveau d'un groupe de sites spécifiques. On obtient ainsi des fragments de différentes tailles, qui sont donc séparés par électrophorèse. La longueur d'un fragment marqué indique la distance entre l'extrémité marquée et le site de clivage.

Grâce à l'autoradiogramme réalisé, on établit une carte de restriction à partir de la présentation par ordre de taille croissant des différents fragments obtenus avec chaque marqueur. La taille est déduite de la comparaison avec la colonne de gauche intitulée « marqueurs ».

Attention, le fragment de 4 kb environ obtenu dans les trois pistes représente l'ADN non coupé, on ne le prend donc pas en compte pour établir la carte de restriction.

**Exercice 3.**

1. Les vrais jumeaux ou jumeaux monozygotes ont le même génome, ils ont donc des profils identiques. C'est le cas des enfants 2 et 8 ainsi que des enfants 3 et 6.

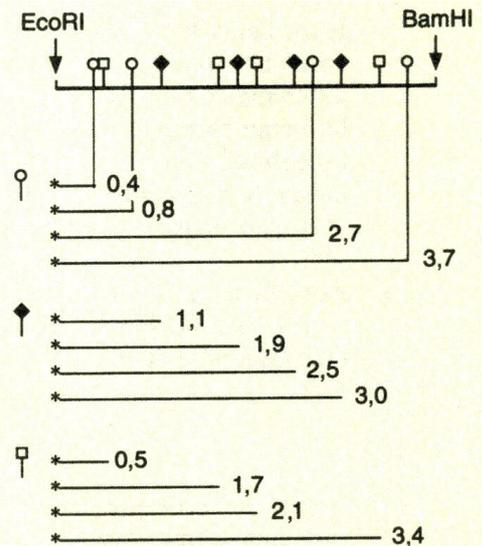
Les jumeaux dizygotes ont la moitié de leurs profils en commun. On peut ainsi regrouper les enfants 1 et 7 d'une part, et 4 et 5 d'autre part.

2. Pour rendre les enfants à leurs parents, il faut procéder de même et établir les polymorphismes VNTR des parents, les comparer à ceux des enfants. Toute bande présente chez un enfant doit se trouver chez l'un de ses deux parents et chaque enfant doit partager environ la moitié de ses polymorphismes de VNTR avec chacun de ses parents. Le degré d'appariement entre chaque parent et chaque enfant est du même ordre que celui entre frères jumeaux dizygotes.

**Exercice 4.**

Commencer par déduire le profil génotypique des différents individus à partir de l'analyse des résultats d'électrophorèse. Prendre en compte l'intensité des bandes : des bandes plus claires indiquent que les fragments sont moins nombreux et suggèrent que l'individu est hétérozygote pour certains sites de restriction.

- Grand-mère maternelle : bandes 1-2-4-5 donc génotype A+B+C+
- Grand-père maternel et **mère** : bandes 1-2-4-5-9 mais les trois dernières sont moins intenses et la bande 9 correspond à 4+5 : ces individus sont **hétérozygotes pour le site de restriction C**, donc génotype A+B+C+/-
- 1<sup>er</sup> enfant du couple : bandes 1-2-4-5-6 avec bandes 2-4-6 plus claires, or 2+4=6 donc il est hétérozygote pour le site de restriction B, et son génotype est A+B+/-C+
- Grand-mère paternelle et **père** : bandes 1-2-5-6-9 et bandes 2-5-6-9 plus claires : A+B+/-C+/-
- Grand-père paternel : bandes 1-5-6 d'où génotype A+B-C+ → l'état homozygote B- n'entraîne pas la maladie.



**Figure 7-32** Carte de restriction du segment d'ADN cloné et produits de digestion partielle à partir desquels elle a été déduite (Solution 7-10). Les nombres accompagnant les fragments de restriction indiquent leur taille, telle qu'elle peut être estimée d'après la Figure 7-8.

Les parents transmettant chacun un chromosome de chaque paire à leurs enfants, l'homozygotie A- ne peut pas être incriminée puisque aucun des parents n'est hétérozygote pour le site de restriction A.

On peut alors faire l'hypothèse que c'est l'homozygotie C- qui est responsable de la maladie.

Cette hypothèse est compatible avec les résultats des parents, tous deux étant hétérozygote pour C.

Conclusion : le profil de restriction qui indiquerait la maladie serait 1-2-9, il révélerait un individu C-.

### **Exercice 5. Entraînement à l'exploitation de documents : étude du cas de la polydactylie.**

- **Rôles de la ZPA et du gène Shh**

- Expérience de greffe de ZPA :

→ **Quelle est l'hypothèse de départ de cette expérience ?**

On fait l'hypothèse que la ZPA est impliquée dans la formation des doigts.

→ **Cette hypothèse se trouve-t-elle validée par les résultats expérimentaux (justifiez la réponse) ?**

La greffe de ZPA dans la région antérieure du bourgeon de l'aile entraîne l'apparition de doigts surnuméraires : l'hypothèse est donc validée.

- Observation de souris mutantes, avec le gène Shh (Sonic hedgehog) délété.

→ **Que pouvez-vous déduire de ces observations ?**

Le gène Shh semble impliqué dans la formation des doigts.

→ **Quelle hypothèse pouvez-vous formuler concernant les causes de la polydactylie ?**

L'expression du gène Shh dans la région antérieure du bourgeon du membre pourrait être à l'origine de doigts surnuméraires.

- Etude du domaine d'expression du gène Shh au cours du développement normal du membre.

→ **Expliquez le principe de la technique mise en œuvre et précisez sur quelle propriété des acides nucléiques elle repose.**

On repère le domaine d'expression du gène, c'est-à-dire les cellules ou tissus dans lesquels il est transcrit en ARNm grâce à des sondes marquées qui s'hybrident spécifiquement avec cet ARNm (sondes d'ADNc marquées avec une enzyme qui catalyse la formation d'un produit coloré, ici violet).

→ **Les résultats obtenus sont-ils en accord avec l'hypothèse précédente ?**

Lors du développement normal, le gène Shh s'exprime dans la région ZPA impliquée dans la formation des doigts et pas dans la région antérieure du bourgeon du membre. Ce constat est en accord avec l'hypothèse précédente.

- **Le gène Shh et la polydactylie**

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

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

→ **Les résultats obtenus sont-ils en accord avec l'hypothèse précédente ?**

On constate que chez l'embryon de souris polydactyle, le gène Shh s'exprime à la fois dans la ZPA (ce qui est normal) et dans la région antérieure du bourgeon du membre (antérieur comme postérieur) : l'hypothèse d'une expression anormale de ce gène dans cette région antérieure est validée.

→ **Comment pourrait-on expliquer l'expression de Shh dans la région antérieure des bourgeons des membres ?**

La comparaison des séquences montre qu'il ne s'agit pas d'une mutation du gène Shh. Le problème semble concerner le contrôle de son expression.

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

- Expériences de délétion :

→ A partir de l'exploitation de ces résultats et observations, proposez une explication à l'expression de Shh dans la région antérieure des bourgeons des membres chez les souris polydactyles.

Lorsque la séquence ZRS est délétée, les membres sont incomplètement développés, et l'on ne distingue pas de doigts. Or on sait que l'absence de ZRS entraîne l'absence d'expression de Shh au cours du développement du membre. On peut en déduire que ZRS induit normalement l'expression du gène Shh, ce qui conduit à la formation des doigts.

Dans le cas de la polydactylie, il existe une mutation ponctuelle dans la séquence ZRS, qui pourrait modifier l'effet de celle-ci et entraîner l'expression de Shh dans la région antérieure du bourgeon du membre et en conséquence la formation de doigts surnuméraires.

- Expériences de transgénèse :

→ Quel est le rôle du gène LacZ dans cette expérience ? Comment peut-on alors le qualifier ?

Le gène LacZ est un gène rapporteur : inséré en maont du gène étudié, il s'exprime en même temps que celui-ci et produit une enzyme à l'origine de l'apparition d'une couleur bleue permettant de détecter précisément les cellules ou tissus dans lequel le gène LacZ, et donc le gène étudié, s'expriment.

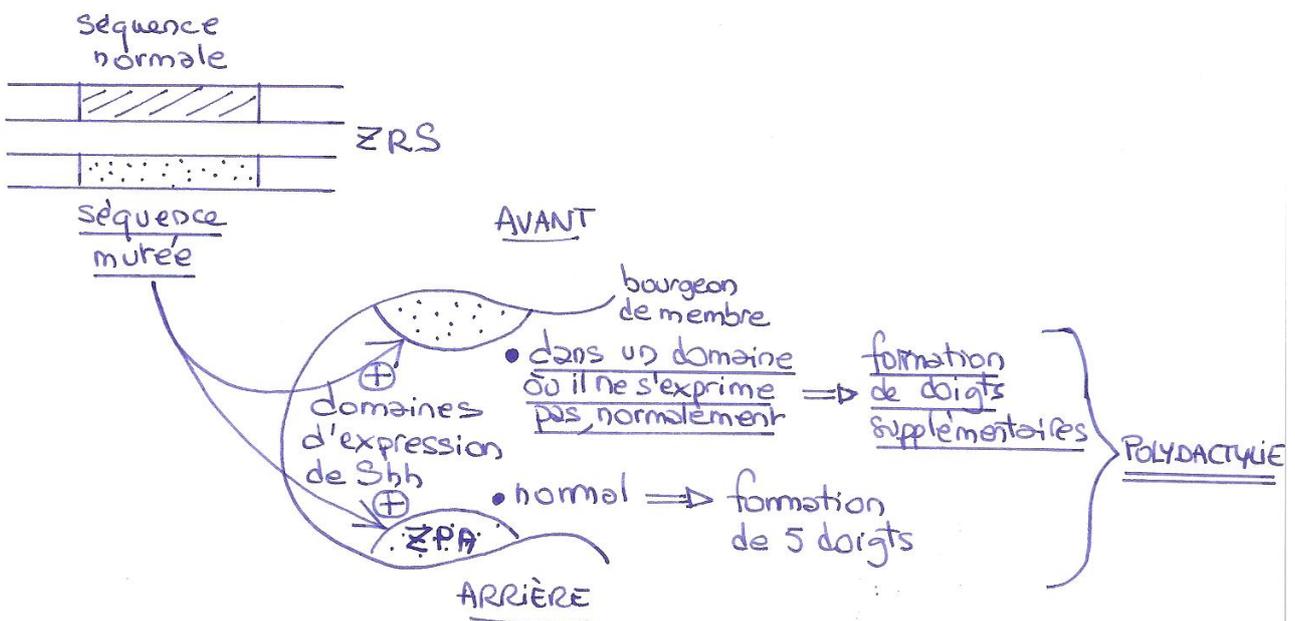
→ **Interprétez les résultats obtenus.**

Lorsque la séquence ZRS est normale, le gène Shh ne s'exprime que dans la ZPA.

Lorsque la séquence ZRS est mutée, le gène Shh s'exprime à la fois dans la ZPA et dans la zone antérieure des bourgeons des membres.

- Comparaison des séquences des gènes Shh et ZRS entre individus polydactyles ou non dans l'espèce humaine. Il existe une mutation dans la séquence de ZRS (mais pas dans celle de Shh), comme dans le cas des Souris étudiées chez les individus polydactyle. En outre, ces individus sont hétérozygotes pour la séquence ZRS : il suffit qu'ils possèdent un exemplaire de la séquence mutée pour que leur phénotype soit modifié.

→ A partir de ces constatations et de l'ensemble des données précédentes, proposez sous la forme d'un schéma bilan un mécanisme expliquant la polydactylie dans l'espèce humaine.



**Mécanisme de la polydactylie dans l'espèce humaine**