

Maintien des innovations génétiques – Exemple des globines

Informations scientifiques

[Cf. page 124 \(classe terminale\)](#)

Pistes d'exploitation pédagogique

Les séquences de globines ont déjà été utilisées pour établir des relations de parenté entre les Vertébrés. Les élèves savent donc que tous les gènes bêta des globines (de même que les gènes alpha) proviennent d'un gène possédé par l'ancêtre commun à tous ces Vertébrés. Les différences entre les gènes des espèces actuelles résultent de mutations intervenues au cours de l'histoire des diverses lignées, **mutations qui ont réussi à se propager et à se fixer dans les populations successives**. La comparaison des séquences des gènes (ou des protéines) permet de rechercher si ces mutations sont réparties de façon quelconque ou non et, à partir des informations obtenues, de **réfléchir sur le devenir des mutations**.

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple des globines** permet d'atteindre **Gènes des globines** qui charge le fichier 6-globines-beta-Vertebres.edi affichant des séquences nucléiques de gènes de globines.

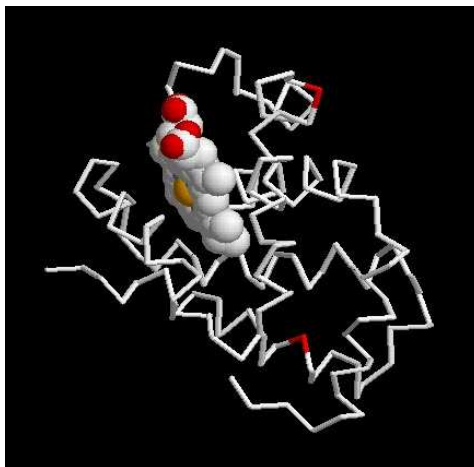
La comparaison de ces séquences permet de mettre en évidence des sites très variables et des sites conservés.

Sites très variables

	50	55	60	65	70	75
Traitement						
globine beta chien	D	L	S	T	P	D
globine beta thon	-	-	-	-	I	K
globine beta corbea	N	-	S	-	T	-
globine beta mancho	N	-	S	-	A	-
globine beta poule	N	-	S	-	T	-
globine beta souris	N	-	S	A	Q	-

	120	125	130
Traitement			
globine beta chien	F	G	K
globine beta thon	L	-	D
globine beta corbea	-	-	D
globine beta mancho	-	S	-
globine beta poule	-	S	-
globine beta souris	-	-	-

Repérage de quelques sites très variables dans les globines bêta des Vertébrés. À certaines positions, on observe une grande variabilité des acides aminés selon les globines : c'est le cas en position 57 par exemple, ou encore en position 130



Localisation de ces sites sur une molécule 3D de bêta globine (en rouge, les sites particulièrement variables)

Sites conservés

		25	30	35	40
Traitement	0				
globine beta thon	0	D	I	G	P
globine beta chien	0	E	V	-	G
globine beta corbea	0	E	C	-	G
globine beta mancho	0	E	C	-	A
globine beta poule	0	E	C	-	A
globine beta souris	0	K	V	-	G

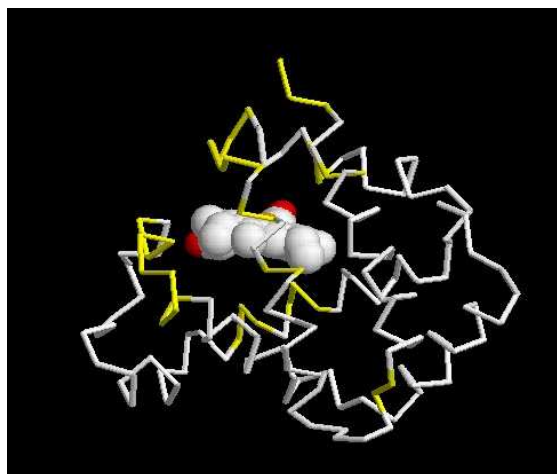
		60	65	70
Traitement	0			
globine beta thon	0	I	A	A
globine beta chien	0	U	K	-
globine beta corbea	0	U	Q	-
globine beta mancho	0	U	R	-
globine beta poule	0	U	R	-
globine beta souris	0	-	K	-

		90	95	100	105
Traitement	0				
globine beta thon	0	Y	S	E	L
globine beta chien	0	F	A	K	-
globine beta corbea	0	F	A	Q	-
globine beta mancho	0	F	A	Q	-
globine beta poule	0	F	-	Q	-
globine beta souris	0	F	A	H	-

		115	120	125	130	135	140	145
Traitement	0							
globine beta thon	0	A	A	N	L	G	D	A
globine beta chien	0	-	H	H	F	-	K	E
globine beta corbea	0	-	-	H	F	-	K	D
globine beta mancho	0	-	-	H	F	S	K	D
globine beta poule	0	-	-	H	F	S	K	D
globine beta souris	0	S	S	Y	F	-	K	E

Résultat d'une comparaison simple de globines bêta de quelques Vertébrés

On peut donc noter des sites « très conservés », c'est-à-dire n'ayant fixé aucune mutation : 32 à 40 ; 42 ; 62 à 64 ; 66 à 68 ; 88 à 89 ; 91 et 92 ; 94 à 100 ; 102 à 103 ; 106 à 107 ; 122 à 123 ; 140 à 141 ; 144 à 146.



Mise en évidence de ces sites conservés sur une molécule de globine bêta (en jaune : les sites conservés)

Les mutations apparaissent au hasard, avec *a priori* la même fréquence tout au long de la molécule. On constate cependant que certains sites sont particulièrement variables d'un taxon à l'autre, alors que d'autres sites sont très identiques.

La localisation sur la molécule 3D montre que les sites conservés sont **en règle générale situés autour de l'hème**. On peut donc supposer qu'un changement dans la séquence des acides aminés dans ces secteurs doit avoir des répercussions sur la fixation de l'hème ou la structure spatiale de la molécule dans cette région, et donc altérer la fonction de la globine. Ainsi, les individus porteurs de ces mutations doivent être « désavantagés », donc ces mutations se transmettent beaucoup moins ou pas du tout et finissent par être éliminées.

En revanche, des changements d'acides aminés qui ne sont pas importants pour le maintien de la structure spatiale de la globine ou la fixation de l'hème n'ont pas d'effet sur la survie ou la reproduction des individus qui les portent. Ils ne confèrent donc aucun avantage sélectif. Et pourtant, leur présence dans les populations des espèces actuelles indique que ces mutations apparues à différents moments de l'histoire des lignées se sont répandues dans les populations et transmises aux espèces successives des lignées. **La conservation de ces mutations dites neutres est aléatoire** (mécanisme de la dérive génique, hors programme).

Maintien des innovations génétiques – Exemple des estérases – Résistance des Moustiques aux insecticides

Informations scientifiques

À partir des années 1960, des insecticides organophosphorés (OP) ont été utilisés pour lutter contre les Moustiques, notamment dans la région de Montpellier. Parallèlement à cette utilisation, on a constaté l'apparition dans les régions traitées, et avec une fréquence croissante au cours du temps, de Moustiques (*Culex pipiens*) résistants à ces insecticides.

Des innovations génétiques sont à l'origine de cette résistance ; ces innovations sont apparues au hasard, mais une sélection positive des individus qui en étaient porteurs a dû avoir lieu, expliquant l'augmentation de fréquence des phénotypes résistants qui a été constatée au cours du temps.

Le mode d'action des insecticides organophosphorés OP

Les insecticides OP et les carbamates ont pour cible l'enzyme acétylcholine estérase (ACE, présente au niveau des synapses cholinergiques et ayant pour rôle l'hydrolyse du neuromédiateur acétylcholine) qu'ils inhibent. Les anomalies de fonctionnement du système nerveux qui en résultent entraînent la mort de l'Insecte sensible. Cependant, pour qu'un insecticide soit efficace il faut qu'il puisse atteindre sa cible, c'est-à-dire ici l'espace synaptique. Il doit donc pénétrer dans l'organisme de l'Insecte et circuler dans son milieu intérieur.

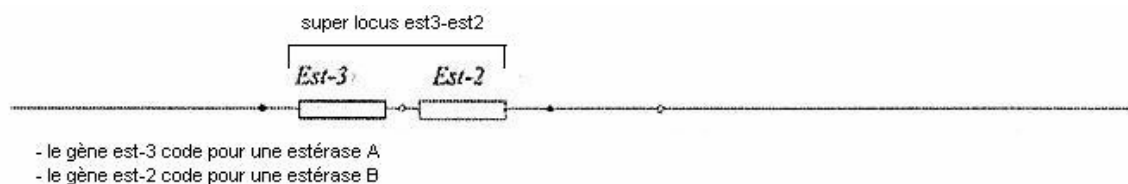
Les Moustiques non résistants peuvent lutter naturellement contre de faibles doses d'insecticides OP

La résistance aux insecticides OP et aux carbamates peut s'expliquer par des mécanismes qui empêchent ces insecticides d'atteindre leur cible, ou par une sensibilité moindre de la cible (ACE).

Les estérases, enzymes produites naturellement par les Moustiques, hydrolysent les liaisons ester, notamment celles des molécules des insecticides OP et des carbamates (comme le propoxur). Il existe chez le Moustique deux sortes d'estérases appelées A et B, qui hydrolysent toutes les deux des liaisons ester, mais avec une spécificité relative à la position des liaisons. Les gènes codant pour les estérases ne s'expriment pas dans tous les tissus de l'Insecte ; cette expression a surtout lieu dans la paroi du tube digestif, la zone cellulaire cutanée sous-hypodermique et les ganglions cérébraux et thoraciques, les deux premiers tissus constituant les principales voies de pénétration de l'insecticide dans l'organisme, les derniers contenant la cible des insecticides. Les estérases permettent donc d'empêcher l'insecticide de pénétrer et de circuler dans l'organisme de l'Insecte, donc d'atteindre sa cible. Il s'agit ici d'un mécanisme de **détoxication par métabolisation de l'insecticide**. Le rôle physiologique des estérases est inconnu actuellement...

Déterminisme génétique de la production d'estérases chez les Moustiques non résistants aux insecticides OP

Ces estérases sont codées par deux gènes (Est 3 codant pour l'estérase A et Est 2 codant pour l'estérase B) dont les loci sont situés sur le même chromosome et espacés de 2 à 6 kb. Il existe un polymorphisme important pour chacun de ces gènes. Ce polymorphisme est neutre, c'est-à-dire sans conséquences sur l'activité enzymatique.



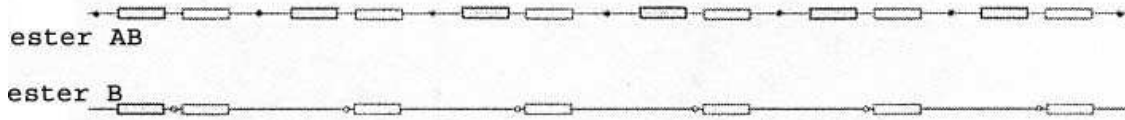
Dans un souci de simplification, ces gènes seront désignés par les lettres A et B dans la banque de données fournies, et les allèles de chacun de ces gènes sont désignés par des numéros (A1, A2... B2, B4...)

La résistance des Moustiques aux insecticides OP

La production d'estérases par les Moustiques sensibles est très faible, insuffisante pour empêcher l'insecticide d'agir. Chez certaines souches résistantes, la production d'estérases en beaucoup plus grande quantité est le mécanisme à l'origine de la résistance. Il ne s'agit donc pas d'un changement qualitatif (efficacité des estérases) mais d'un changement quantitatif (l'augmentation de la quantité d'estérases produites peut être considérable, jusqu'à représenter 6 à 10 % des protéines totales de l'Insecte). Un test au papier-filtre permet d'évaluer la quantité d'estérases produites par un Moustique.

Le génome des Moustiques résistants par production accrue d'estérases

Les Moustiques dont la résistance est due à une production accrue d'estérases ont un génome caractérisé par une **amplification des gènes Est3 (ou gène A) et Est2 (ou gène B)** : chacun de ces gènes est présent en de nombreux exemplaires. L'innovation génétique consiste donc en **duplications géniques**. Tous les gènes résultant de ces duplications sont identiques et s'expriment, ce qui explique la production accrue d'estérases. On désigne par « ester » le « supergène » résultant de l'amplification (ester B pour le résultat de l'amplification du gène B, ester A-B pour le résultat de l'amplification de l'ensemble des deux gènes A et B).



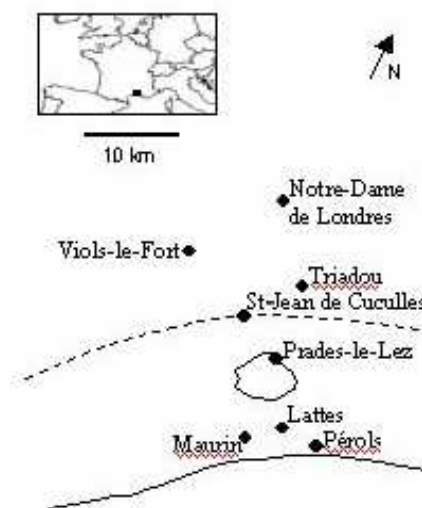
Selon l'allèle du gène qui est amplifié, on distingue plusieurs « supergènes ester » : ester B1 (plusieurs copies de l'allèle B1), ester A2-B2 (plusieurs copies de l'ensemble des deux allèles A2-B2)...

L'existence de plusieurs « supergènes ester » différents (ester B2, ester B4, ester A2-B2, ester A4-B4...) indique que **plusieurs innovations génétiques à l'origine de la résistance sont intervenues de façon indépendante dans les populations de Moustiques** (duplications à partir de l'allèle B2, duplication à partir de l'allèle B4...). Cependant, le polymorphisme des gènes A et B est très nettement supérieur à celui des « supergènes ester » ; cela indique donc que les mutations à l'origine des « supergènes ester » sont relativement rares. D'autre part, on a pu constater que des allèles ester apparus en premier dans une région se retrouvaient ensuite dans une autre région assez éloignée ; cela s'interprète comme le résultat de migrations des Moustiques (par transport aérien ou maritime par exemple) et non comme le résultat de deux mutations identiques indépendantes. Le niveau d'amplification varie selon les allèles ester : il peut atteindre cent copies du gène ou plus pour ester B1, tandis qu'il ne dépasse pas quelques copies pour ester A4-B4. De plus, pour un même allèle (par exemple, ester B1) le niveau d'amplification peut être variable selon les individus au sein d'une population sauvage ou entre des populations différentes.

Enfin, il existe un allèle ester A1 pour lequel la production accrue d'estérases n'est pas due à l'amplification du gène A1, mais à un changement dans la régulation de l'expression de ce gène. Comme les processus de régulation génique ne sont pas au programme de terminale S, nous n'avons pas retenu cet allèle dans la banque de données.

Les observations de terrain et les données expérimentales relatives à l'action de l'environnement sur la fréquence des phénotypes résistants

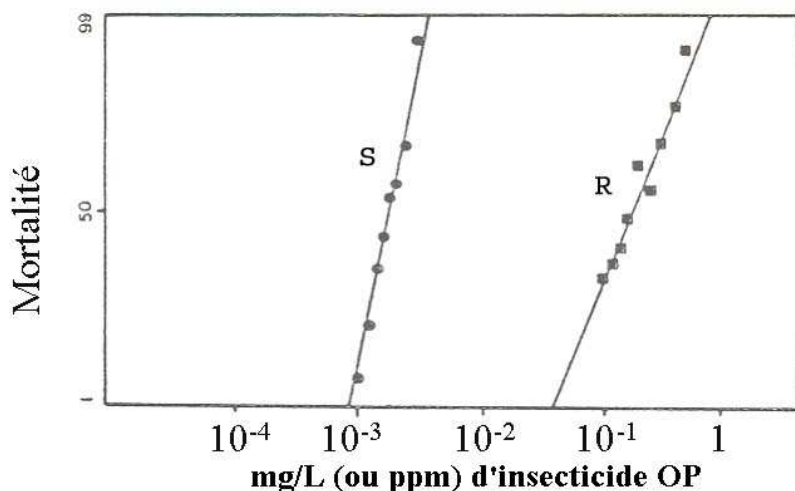
Des chercheurs ont déterminé le pourcentage de Moustiques résistants aux insecticides OP dans la région de Montpellier, dans une zone où il y a eu épandage d'insecticides depuis les années 1970, et dans une zone non soumise aux insecticides.



Les sites d'observation et de mesures.

La ligne pointillée indique la séparation entre la zone non traitée par les insecticides OP (au nord) et la zone traitée (près des côtes)

Pour ce faire, ils prélèvent des larves qu'ils placent dans des solutions d'insecticides de concentration croissante. Ils déterminent le nombre de larves mortes au bout de vingt-quatre heures, ce qui leur permet d'établir une courbe de mortalité.

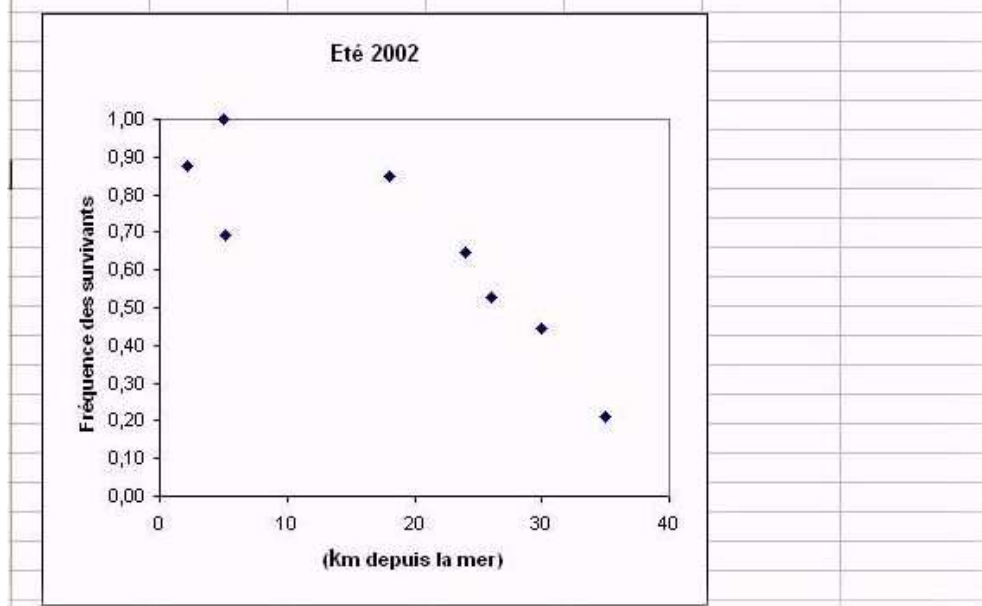


Courbes de mortalité expérimentale des larves en fonction des doses d'insecticides

S : souche sensible, R : souche résistante Les résultats sont présentés sous forme de graphique, les doses utilisées nécessitant l'utilisation d'une échelle logarithmique en abscisse

En opérant ainsi dans la région de Montpellier, ils ont obtenu les résultats indiqués dans le tableau et le graphe ci-dessous :

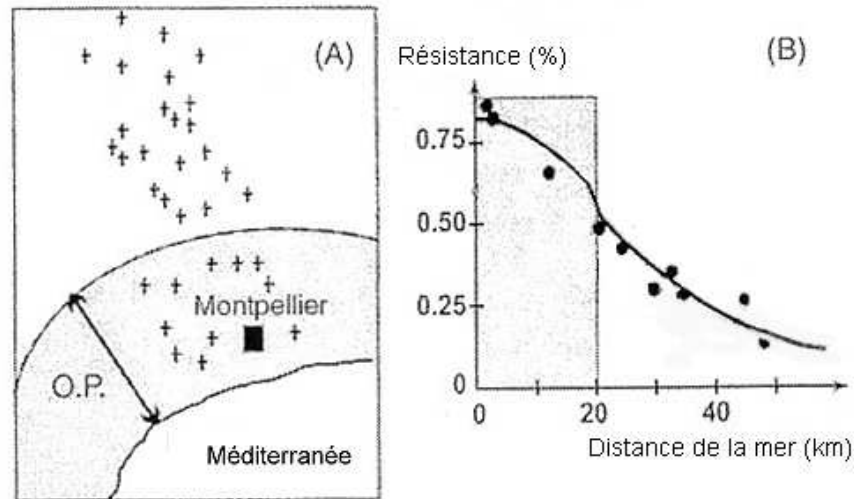
Communes	Morts	Vivants	Total	Distance	%vivants
Pérois	21	147	168	2,2	0,88
Maurin	0	227	227	5	1,00
Lattes	42	95	137	5,2	0,69
Prades-le-Lez	20	112	132	18	0,85
Triadou	82	149	231	24	0,65
St-Jean de Cuculle	73	81	154	26	0,53
Viols-le-Fort	93	74	167	30	0,44
Notre-Dame de Londres	155	41	196	35	0,21



Les larves, échantillonnées le long du cline (nom de la commune indiquée, ainsi que la distance à la mer), ont été soumises à une dose d'insecticide qui tuait tous les Moustiques avant les années 1968. Les larves mortes et vivantes ont été comptées au bout de 24 heures

On constate que la fréquence des phénotypes résistants est très forte dans la région soumise aux insecticides et qu'elle diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne de cette zone.

Des chercheurs ont déterminé le génotype des Moustiques recueillis dans la région de Montpellier en ce qui concerne les gènes des estérases. À partir des données obtenues, ils ont calculé la fréquence des allèles de résistance ester en fonction de la distance au bord de mer.



On peut alors constater que la fréquence des allèles de résistance est nettement supérieure dans la zone traitée et qu'elle diminue régulièrement lorsque l'on s'éloigne de cette zone. La recherche d'une explication à ces observations conduit naturellement à faire intervenir la sélection positive des Moustiques porteurs d'allèles de résistance dans la zone traitée...

Une étude expérimentale a été menée pendant quatre ans en laboratoire afin de tester l'influence de facteurs du milieu de vie sur les variations de fréquence alléliques et phénotypiques.

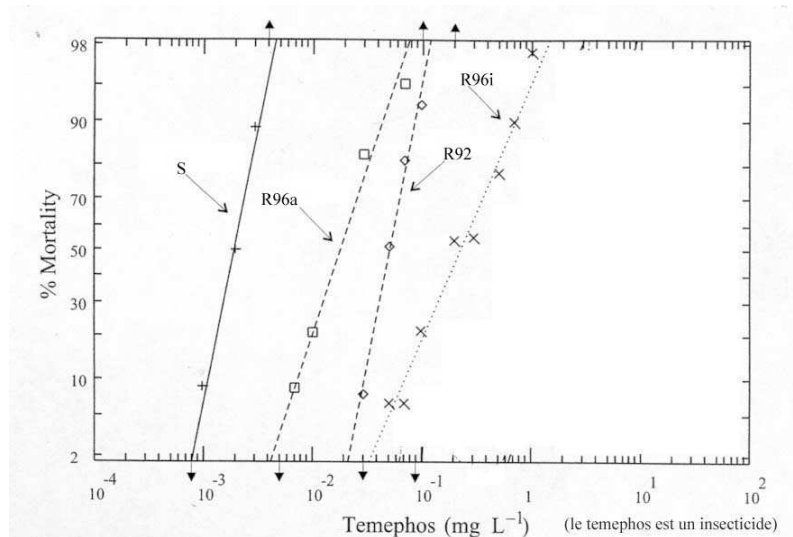
La souche « Edit » (R92 sur le graphe) est une souche de Moustiques résistants obtenue par les chercheurs en 1992 à la suite de nombreux croisements. La résistance de la souche est due à l'allèle EsterB1 qui entraîne une production considérablement amplifiée de l'estérase B1. La souche est initialement homozygote pour l'allèle B1 : tous les Moustiques ont deux allèles B1 avec le même nombre de répétitions de B1.

Les chercheurs ont divisé cette population de Moustiques de lignée pure pour EsterB1 en deux. La première fraction a été élevée pendant quatre ans dans un milieu sans insecticide (R96a). La seconde fraction a été soumise, à chaque génération, au dernier stade larvaire, à l'action d'un insecticide OP à une concentration entraînant une mortalité d'au moins 80 % des larves (souche « Sedit » - R96i). L'expérimentation permet donc de suivre l'évolution du phénotype des Moustiques initialement de même génotype, en fonction de l'environnement.

On met alors en évidence deux phénotypes macroscopiques au sein des populations de Moustiques : le phénotype « sensible aux insecticides OP » et le phénotype « résistant aux insecticides OP ».

Les scientifiques utilisent la DL50 pour traduire la résistance des Moustiques. Cette valeur correspond à la concentration d'insecticides pour laquelle on obtient 50 % de mortalité des larves.

En 1996, on a déterminé les courbes de mortalité des deux populations Edit96 (R96a) et SEdit (R96i) et on les a comparées à celle de Edit92 (R92).



Graphique présentant les résultats d'une expérimentation menée sur quatre ans pour étudier l'influence d'un facteur de l'environnement (les insecticides OP) sur la fréquence des phénotypes des Moustiques

La courbe de mortalité de « Sedit » (R96i) est décalée vers la droite par rapport à celle de « Edit92 » (R92). Cela indique que globalement, la population « Sedit » (R92i) est plus résistante que la population « Edit » (R92) dont elle est issue. La dose DL50 pour la souche « Edit92 » (R92) est environ 5.10^{-2} et pour « Sedit96 » (R96i) elle est environ de $2,5.10^{-1}$, ce qui donne un rapport de 5 environ.

La courbe de « Edit96 » (R96a) est décalée vers la gauche par rapport à « Edit92 » (R92) : globalement, la population « Edit96 » (R96a) est moins résistante que celle de « Edit92 » (R92). La DL50 de « Edit96 » (R96a) est de 2.10^{-2} , ce qui donne un rapport vis-à-vis de « Edit92 » (R92) de 0,4.

On constate donc une sélection positive des Moustiques résistants dans la population soumise au fil des générations à l'insecticide, mais aussi une sélection en faveur d'organismes moins résistants dans la population élevée en absence d'insecticide. Cela semble indiquer un désavantage des Moustiques résistants dans le milieu sans insecticide. Une première explication de ce coût de la résistance, certes sans support expérimental, consiste à dire qu'en l'absence d'insecticide, la quantité considérable d'estérase produite l'est pour rien. Il est possible que la production d'une telle quantité de protéines, comparativement aux Moustiques sensibles, affecte d'une certaine façon la valeur sélective. On a également montré que les souches produisant beaucoup d'estérases étaient beaucoup plus sensibles aux bactéries Wolbachia, ces dernières ayant une action néfaste sur la reproduction des Moustiques.

Les recherches ont été poursuivies sur les souches « Edit » (R92) et « Sedit » (R96i) en comparant l'évolution du génotype des deux populations. Chez quelques individus de chaque population, on a déterminé le nombre de répétitions de B1 dans l'allèle EsterB1 qu'ils possédaient. Le niveau d'amplification dans les deux populations « Edit96 » (R96a) et « Sedit96 » (R96i) était bien différent : une moyenne de 23 ± 7 copies chez « Sedit » (R96i), et de 11 ± 2 chez « Edit » (R92). Cela indique que dans l'histoire évolutive des deux populations de nouvelles mutations conduisent à un polymorphisme génique avec une sélection positive des individus porteurs d'un grand nombre de répétitions en milieu avec insecticide et de ceux dont le niveau d'amplification est faible dans le milieu sans insecticide. Ainsi, il y a une interaction permanente entre innovations génétiques et environnement.

NB : Le plus difficile est bien sûr de faire saisir que le milieu n'oriente pas la nature des mutations, mais que celles-ci sont sélectionnées en fonction des caractéristiques de celui-ci.

Dans un article de *Médecine Sciences* de décembre 2003, Michel Raymond *et al.* écrivent : « Il est important de comprendre que le Moustique ne mute pas pour résister aux insecticides ! De très nombreuses mutations préexistent dans les immenses populations de Moustiques. Lorsque des insecticides sont présents dans l'environnement, les Moustiques qui ont des mutations favorables à leur survie se reproduisent alors que les Moustiques sensibles aux toxiques meurent ! Les mutations conférant aux Moustiques la capacité de résister aux OP ne sont pas engendrées mais sélectionnées par le milieu. »

Pistes d'exploitation pédagogique

Les données fournies dans les thèmes d'étude sont utiles pour bâtir des séquences pédagogiques permettant d'aborder les mécanismes de l'évolution, tant en ce qui concerne les innovations génétiques (duplication génique, suivie ou non de mutations aléatoires), que l'influence de certains facteurs du milieu de vie sur le maintien de ces innovations génétiques au sein d'une population.

Il s'agit de données expérimentales, d'observations sur le terrain et de séquences nucléiques, fournies par Michel Raymond et son équipe (Institut des sciences de l'évolution de l'université de Montpellier I).

Innovations génétiques : apparition de nouveaux allèles par mutations

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple des estérases - Résistance des Moustiques aux insecticides/Innovations génétiques** permet d'atteindre **Duplication** qui charge le fichier `duplic-esterases.edi` affichant en tête de liste les séquences :

- AllèleB1complet : séquence nucléique de la partie strictement codante du gène B allèle B1 (du codon d'initiation au codon stop) - le gène B, ou Est2, code pour une estérase B ;
- AllèleB2complet : séquence nucléique de la partie strictement codante du gène B allèle B2 (du codon d'initiation au codon stop) - le gène B, ou Est2, code pour une estérase B.

Comparaison des allèles B1 et B2

De nouveaux allèles d'un même gène apparaissent par mutations. Les allèles B1 et B2 diffèrent par cinq mutations dont une seule apparaît dans la séquence protéique - 39 (C/T) - 59 (A/G) - 63 (A/G) - 66 (G/T) - 67 (TC) ; seule la 59 a des conséquences : AAC/AGC donc Asn (N) au lieu de Ser (S). Les estérases codées par ces allèles sont fonctionnelles.

Les résultats de ces comparaisons sont donc utilisables pour aborder les notions de mutations neutres et de mutations muettes.

Innovations génétiques : phénomène de duplication génique

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple des estérases - Résistance des Moustiques aux insecticides/Innovations génétiques** permet d'atteindre **Duplication** qui charge le fichier `duplic-esterases.edi` affichant entre autres les séquences :

- GèneBallèle1 : séquence simplifiée du gène B allèle B1 - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité cette séquence aux soixante-neuf premiers nucléotides du gène + codon stop ;
- B1R : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche B1R (appelée aussi EsterB1) - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence B1R représente donc huit gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;
- A2B2 : séquence simplifiée du « locus AB » - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence A2B2 représente donc un gène A, allèle A2, simplifié, suivi de 12N (séquence non codante) puis d'un gène B allèle B2, simplifié. ;
- A2B2R : séquence simplifiée du « locus AB » d'un Moustique résistant de la souche A2B2R (appelée aussi Ester A2B2) - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence A2B2R représente donc quatre ensembles A2B2, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N (une séquence de 12N séparant également les gènes A2 et B2 dans chaque ensemble A2B2).

Comparaison des séquences B1 et B1R, présentes respectivement chez les Moustiques sensibles et résistants

Chez le Moustique résistant (génomme B1R), on constate l'existence de plusieurs exemplaires (huit dans les séquences fournies) du gène B1 disposés « en tandem », tous identiques entre eux, ce qui peut s'interpréter par un phénomène de duplication génique du gène B1 (non encore suivi de mutation).

Innovations génétiques : phénomène de duplication génique suivie de mutations

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple des estérases - Résistance des Moustiques aux insecticides/Innovations génétiques** permet d'atteindre **Duplication** qui charge le fichier duplic-esterases.edi affichant entre autres les séquences :

- AllèleA2complet : séquence nucléique de la partie strictement codante du gène A allèle A2 (du codon d'initiation au codon stop) - le gène A, ou Est3, code pour une estérase A ;
- GèneAallèle2 : séquence simplifiée du gène A allèle A2 - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité cette séquence aux soixante-neuf premiers nucléotides du gène + codon stop ;
- GèneBallèle2 : séquence simplifiée du gène B allèle B2 - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité cette séquence aux soixante-neuf premiers nucléotides du gène + codon stop.

Comparaison des gènes A (allèle A2) et B (allèle B2)

Les similitudes importantes suggèrent une origine commune des deux gènes (on peut alors évoquer une duplication génique), mais cette duplication a dû être suivie de mutations, ce qui a abouti à deux gènes aujourd'hui différents (qui codent tous deux pour des estérases, mais aux propriétés légèrement différentes).

Influence d'un facteur du milieu de vie sur le maintien des innovations génétiques

Séquences et documents

Séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple des estérases - Résistance des Moustiques aux insecticides/Sélection naturelle** permet d'atteindre **Sélection** qui charge le fichier select-moustiques.edi affichant les séquences :

- gène B allèle 1 : séquence simplifiée du gène B allèle B1 - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité cette séquence aux soixante-neuf premiers nucléotides du gène + codon stop ;
- R92 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R92 utilisée par les chercheurs pour l'expérimentation - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence R92 représente donc quatorze gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;
- R96a-1 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96a (ou Edit96), obtenue à partir de la souche R92 élevée dans un environnement sans insecticides OP pendant quatre ans - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence R92 représente donc sept gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;
- R96a-2 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96a (ou Edit96), obtenue à partir de la souche R92 élevée dans un environnement sans insecticides OP pendant quatre ans - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence R92 représente donc dix gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;
- R96a-3 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96a (ou Edit96), obtenue à partir de la souche R92 élevée dans un environnement sans insecticides OP pendant quatre ans - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence R92 représente donc treize gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;
- R96i-1 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96i (ou SEdit96), obtenue à partir de la souche R92 soumise aux insecticides OP pendant quatre ans - afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes - cette séquence R92 représente donc dix-huit gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;

- R96i-2 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96i (ou SÉdit96), obtenue à partir de la souche R92 soumise aux insecticides OP pendant quatre ans – afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux soixante-neuf premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes – cette séquence R92 représente donc vingt-deux gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N ;

- R96i-3 : séquence simplifiée du « locus B » d'un Moustique résistant de la souche R96i (ou Sedit96), obtenue à partir de la souche R92 soumise aux insecticides OP pendant quatre ans – afin de faciliter les traitements des séquences, on a limité la séquence de chaque gène aux 69 premiers nucléotides + codon stop ; les gènes sont séparés par 12N, correspondant à des séquences non codantes – cette séquence R92 représente donc vingt-trois gènes B, allèle B1, disposés à la suite les uns des autres, et séparés par des séquences non codantes représentées par 12N.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques : exemple de la résistance des Moustiques/Un modèle : la résistance aux insecticides chez les Moustiques/Innovations génétiques et/Sélection naturelle** permettent d'atteindre :

- **Courbe de mortalité** qui charge le fichier MortaliteSR.jpg : graphique de résultats expérimentaux (échelle logarithmique). On soumet des larves de Moustiques (au dernier stade larvaire) à des doses croissantes d'insecticides et on évalue le pourcentage de mortalité en fonction des concentrations utilisées ;

- **Production d'estérases** qui charge le fichier quantiteesterase.jpg : présentation de résultats expérimentaux d'un test au papier-filtre permettant d'évaluer les quantités d'estérase produites par des Moustiques ;

- **Répartition des phénotypes** qui charge le fichier repphenomoustiques.jpg : graphique de répartition des phénotypes de Moustiques en fonction de la distance à la côte, dans la région de Montpellier. Ce graphique a été établi à partir de mesures réalisées en 1992 ;

- **Fréquence des génotypes** qui charge le fichier frequencegenotypes-esterases.jpg : graphique présentant la fréquence de quelques génotypes pour le gène des estérases chez les Moustiques, en fonction de la distance la côte.

- **Fréquence allèles résistants** qui charge le fichier resistance.jpg : graphique présentant la fréquence allèles « résistants » pour le gène des estérases chez les Moustiques, en fonction de la distance la côte ;

- **Étude expérimentale** qui charge le fichier etude-experimentale-moustiques.jpg : graphique présentant les résultats d'une expérimentation menée sur quatre ans pour étudier l'influence d'un facteur de l'environnement (les insecticides OP) sur la fréquence des phénotypes des Moustiques.

Comparaison du génome de la souche R92 (ou Edit 92) avec l'allèle B1

Le génome de la souche R92 comprend quatorze exemplaires du gène B1, tous ces exemplaires étant issus d'un allèle B1 par duplications successives.

Comparaison des génomes des souches R96a-1, R96a-2, R96a-3, R96i-1, R96i-2, R96i-3 avec l'allèle B1 (ou encore avec le génome de la souche R92)

Les souches placées pendant quatre ans dans un environnement riche en insecticides OP présentent un génome où le nombre d'exemplaires du gène B1 est supérieur à celui de la souche d'origine ; les souches placées pendant quatre ans dans un environnement sans insecticides OP présentent un génome où le nombre d'exemplaires du gène B1 est inférieur à celui de la souche d'origine. Ce constat permet de poser le problème de l'influence d'un facteur de l'environnement (les insecticides OP) sur le maintien des innovations génétiques (il faut bien sûr partir du principe que les innovations génétiques se font au hasard !).

Documents complémentaires

Évaluation de la quantité d'estérase produite par différentes souches de Moustiques

Il est possible d'évaluer expérimentalement la quantité d'estérase produites par un Moustique.

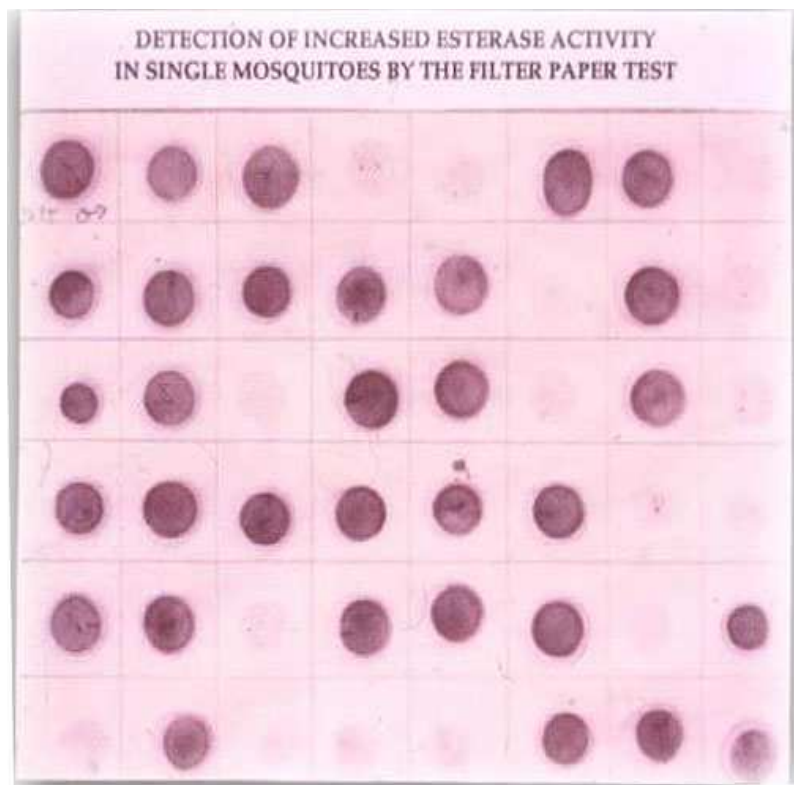
Protocole expérimental

On écrase des Moustiques recueillis sur un papier-filtre, puis on ajoute les réactifs suivants :

- un mélange de deux substrats sur lesquels l'estérase agit en les coupant ;
- un réactif qui colore en rouge l'un des produits obtenus.

Le substrat chromogène est un mélange de alpha-naphthyl acétate (alpha NA) et de bêta-naphthyl acétate (bêta NA). À la rigueur, un seul des deux peut être utilisé, mais habituellement, c'est un mélange des deux, dans un rapport 1/1, les estérases A utilisent préférentiellement alpha NA, et les estérases B agissent préférentiellement sur bêta NA. L'estérase coupe ces deux substrats, en libérant du alpha (ou bêta) naphthol, qui se colore en présence de Fast Garnet GBC (poudre à rajouter dans le tampon de coloration). Le produit plus Fast Garnet donne un précipité rouge, qui donne la coloration sur le papier-filtre ;

- une fois le Moustique écrasé sur le papier, la révélation se fait entre cinq et quinze minutes, si tous les réactifs sont prêts, chaque tâche correspondant à un Moustique écrasé, l'intensité de la coloration obtenue étant proportionnelle à la quantité d'estérase produite par ce Moustique.



Évaluation de la quantité d'estérase produite par différentes souches de Moustiques : résultats expérimentaux d'un test au papier-filtre

Ce protocole expérimental a été appliqué à une population de Moustiques de la région de Montpellier. On observe alors une variété phénotypique au sein de cette population de Moustiques, certains produisant beaucoup d'estérase, d'autres très peu.

Ces résultats sont à mettre en relation avec le document présentant la variabilité des populations de Moustiques au niveau du phénotype macroscopique (résistance ou sensibilité aux insecticides).

Maintien des innovations génétiques – Exemple de la G6PD – Paludisme, sélection naturelle

Informations scientifiques

[Cf. page 138 \(classe terminale\)](#)

Pistes d'exploitation pédagogiques

Les données sur les allèles de la G6PD ont permis d'établir que ceux-ci résultent de mutations à partir d'un gène ancestral G6PDB et de réfléchir ainsi à la filiation entre ces allèles. Ces allèles ont aussi une fréquence très variable suivant les populations. La recherche d'explications à ces différences permet de renforcer la notion de sélection naturelle positive.

Fréquence des allèles d'un gène et sélection naturelle

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques/Exemple de la G6PD – Paludisme, sélection naturelle** permet d'atteindre **Allèles de la G6PD Sélection** qui charge le fichier G6PD-HS.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes de quelques allèles du gène de la G6PD.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Stabilité et variation des génomes et évolution/Maintien des innovations génétiques : paludisme, G6PD, sélection naturelle** permet d'atteindre :

- **Rôle G6PD** qui charge le fichier roleG6PD.bmp fournissant des informations scientifiques, sous forme d'un petit texte, concernant la G6PD et les conséquences d'une réduction de l'efficacité de l'enzyme de la G6PD ;
- **Fréquence allèles G6PD** qui charge le fichier FRQG6PD.bmp affichant la fréquence de quelques allèles de la G6PD ;
- **Carte répartition G6PD déficiente** qui charge le fichier reparti-G6PD.bmp affichant la carte de la déficience en G6PD à l'échelle mondiale : elle permet de repérer les régions du monde où les déficiences en G6PD sont relativement fréquentes, et de souligner la fréquence élevée en Afrique tropicale ;
- **Carte-paludisme-2002** qui charge le fichier palu-2002.bmp montrant la répartition du paludisme dans le monde en 2002, permet d'établir une première corrélation entre la répartition du paludisme et les zones où la G6PD déficience est répandue ;
- **Carte paludisme passé** qui charge le fichier palu-passe.bmp montrant la répartition du paludisme dans le monde par le passé, révèle que l'éradication du paludisme dans le bassin méditerranéen est récente et permet donc d'affiner la corrélation « paludisme/déficience ». Les discordances dans les Amériques s'expliquent par l'histoire des populations africaines ;
- **Localisation Vanuatu** qui charge le fichier local-vanuatu.bmp révélant la localisation géographique de l'archipel de Vanuatu ;
- **Fréquence allèles G6PD-Vanuatu** qui charge le fichier G6PD-Vanuatu.bmp affichant la fréquence des allèles de la G6PD dans les îles de l'archipel et permettant de retrouver la corrélation « paludisme/déficience » à l'échelle locale ;
- **Données épidémiologiques Gambie-Kenya** qui charge le fichier gambie-kenya.bmp affichant la fréquence des allèles G6PDA- dans deux populations d'enfants paludéens et non paludéens et qui montre que dans une même population la fréquence des allèles G6PDA- est statistiquement plus faible chez les enfants paludéens que chez les enfants non paludéens ;
- **Fréquence hématies parasitées** qui charge le fichier freq-hematies.bmp affichant la fréquence des hématies parasitées par le plasmodium chez les filles paludéennes et hétérozygotes G6PDA-/G6PDB ou G6PDA-/G6PDA. Elle montre le moindre développement du parasite dans les hématies G6PD déficientes que dans les hématies G6PD fonctionnelles ;
- **Étude expérimentale G6PD** qui charge le fichier experG6PD.bmp présentant l'étude *in vitro* de l'infection par le *Plasmodium* d'hématies G6PD déficientes et d'hématies G6PD fonctionnelles qui révèle le moindre développement du *Plasmodium* dans les hématies G6PD déficientes.

La carte des régions du monde où la fréquence des allèles G6PD déficients est supérieure à 1 % recouvre globalement celle où le paludisme sévit de façon endémique. Les principales discordances s'expliquent aisément : le paludisme a été éradiqué depuis une centaine d'années seulement dans le bassin méditerranéen ; il n'y a pas de paludisme en Amérique du Nord mais les personnes G6PD déficientes sont d'origine africaine. Cette corrélation laisse à penser que l'extension des allèles G6PD déficients, dans les régions où le paludisme

est endémique, est due à l'avantage sélectif qui résulte de la possession d'allèle G6PD déficient vis-à-vis du paludisme. Cela est confirmé à l'échelle locale par les données relatives à l'archipel du Vanuatu : alors que le peuplement des îles a la même origine, la fréquence de la déficience en G6PD est beaucoup plus grande dans celle où le paludisme est répandu. Le maintien d'une fréquence relativement forte d'allèles à l'origine d'une G6PD déficiente dans des zones d'endémie palustre résulte d'un équilibre entre l'avantage contre le *Plasmodium* assuré par ces allèles et le désavantage dû à la déficience enzymatique.

Les données épidémiologiques confirment l'avantage sélectif des porteurs d'allèles G6PD déficients dans les régions impaludées.

Filles hétérozygotes G6PDB / G6PDA- ou G6PDA / G6PDA-			
	Non paludéennes	Paludisme modéré	Paludisme sévère
Gambie	13,7%	9,1%	6,7%
Kenya	27,3%	17,2%	18,8%

Fréquence des filles hétérozygotes chez les filles non paludéennes et chez des filles souffrant d'un paludisme plus ou moins sévère

Garçons de génotype G6PDA-			
	Non paludéens	Paludisme modéré	Paludisme sévère
Gambie	5,9%	2,7%	1,4%
Kenya	18,8%	14,3%	11,1%

Fréquence des garçons G6PDA- chez des garçons non paludéens et chez des garçons souffrant d'un paludisme plus ou moins sévère

D'après RUWENDE C. et al. (1995).

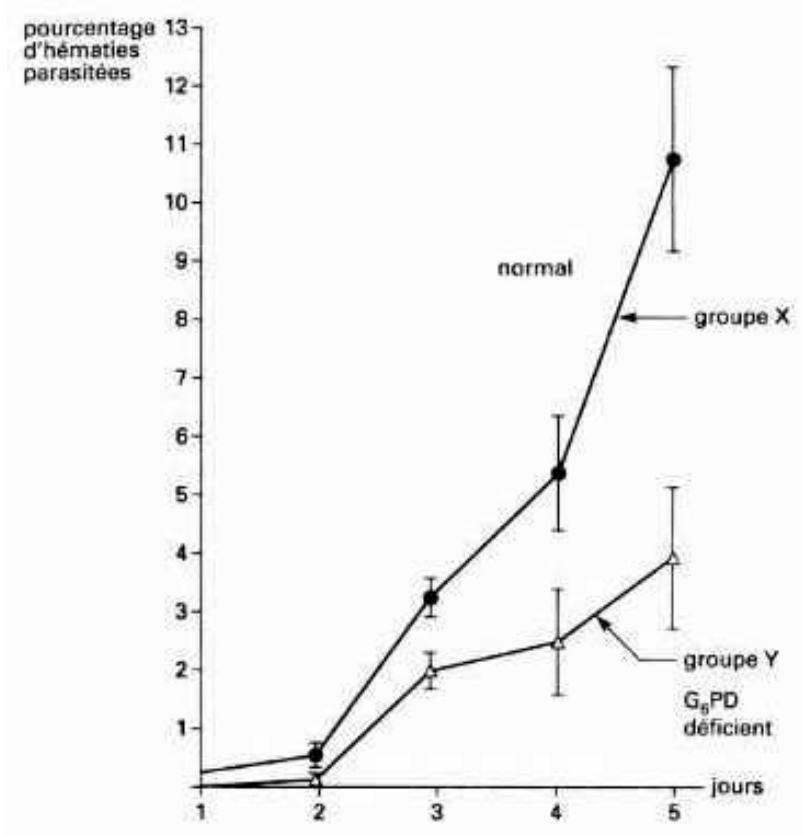
En effet, dans une population **d'enfants paludéens** d'Afrique de l'Ouest et de l'Est, la fréquence des garçons et filles porteurs de l'allèle G6PDA-, est **significativement inférieure** à celle **d'enfants non paludéens**, en particulier chez les enfants victimes d'un paludisme sévère. Tout se passe comme si la possession conférait une résistance vis-à-vis du *Plasmodium*.

À l'échelle cellulaire, cela est confirmé par les données relatives aux femmes hétérozygotes parasitées par le *Plasmodium* : chez ces femmes, la fréquence des hématies G6PD déficientes parasitées est, suivant les individus, 2 à 80 fois plus faible que celle des hématies parasitées possédant l'enzyme G6PD efficace (par suite du phénomène de lyonisation, les allèles des gènes portés par un chromosome X s'expriment dans certaines cellules, les allèles de l'autre chromosome X dans d'autres cellules, d'où la présence de deux populations d'hématies chez les femmes hétérozygotes pour le gène G6PD).

Individus (Filles)																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Hématies G6PD déficiente	1,2	0,2	0,14	5,3	3,6	0,07	0,17	1,2	0,64	2,9	2,4	7,8	5	0,31	0,39	2,3	1,4	1,9	0,03	0,11
Hématies G6PD fonctionnelle	2,3	3,4	1,5	29	12	5,5	2,2	7,3	6,6	6,7	6,4	23	13,7	10,2	2,4	16,5	5,1	14,5	0,28	0,88

D'après LUSATTO L. et al. (1969).

Les données expérimentales fournissent un début d'explication à la résistance vis-à-vis du *Plasmodium* que confère la possession d'un allèle G6PD déficient. D'une part, on constate qu'*in vitro* les hématies G6PD déficientes sont moins parasitées que les hématies non déficientes ; d'autre part, lorsqu'elles sont parasitées, elles sont plus phagocytées à un stade où le parasite n'a pas encore réalisé sa multiplication. Il en résulte une moins grande production de *Plasmodium* et donc un paludisme moins sévère.



Étude expérimentale : comparaison *in vitro* du pourcentage d'hématies parasitées chez une population déficiente en G6PD et une population non déficiente