

**2 ème partie**

**D'une génération à l'autre**

**ou :**

**comment les gènes sont-ils transmis et brassés ?**

**Chapitre 9 : Première conséquence de la méiose : la ségrégation 2/2.**

- 1. Etude directe des produits de la méiose chez la levure. page**
- 1.1. techniques d'étude*
  - 1.2. ségrégation 2 / 2.*
    - 1.2.1. analyse des spores « en vrac ».
    - 1.2.2. analyse de tétrades.
- 2. Etude indirecte des produits de la méiose chez les organismes à phase haploïde prépondérante. page**
- 2.1. exemple chez la drosophile.*
    - 2.1.1. constitution et analyse de la F1.
    - 2.1.2. détermination du génotype des produits de la méiose des individus F1.
  - 2.2. étude d'un exemple chez l'homme.*
- 3. Conclusions. page**

## Chapitre 9. Première conséquence de la méiose : la ségrégation 2/2

Les relations entre gènes et polypeptides peuvent être complexes, nous l'avons vu de manière diverse : par exemple, dans le chapitre 5, nous avons vu que la mutation d'un seul gène peut avoir plusieurs conséquences (paragraphe 2: symptômes multiples liés à l'absence d'une seule activité enzymatique). Nous avons vu également qu'un phénotype mutant peut être dû à la conjonction de deux gènes sous forme mutante (paragraphe 3.3 : phénotype « oeil blanc » lié à l'interruption des chaînes de biosynthèse des deux pigments). Il ne faut pas croire que ces situations sont exceptionnelles : il existe de **très nombreux exemples où la relation entre le génotype et le phénotype n'est pas simple**. Nous étudierons la transmission de ces cas complexes à la fin de ces chapitres consacrés à la méiose. Tout d'abord nous allons nous intéresser à des cas simples, correspondant à des individus « mutant » et « de référence » qui ne se distinguent que par une seule différence génétique.

### 1. Etude directe des produits de la méiose chez la levure.

#### 1.1. Techniques d'étude.

Les 2 divisions de la méiose donnent 4 cellules haploïdes. Chez la levure, ces produits sont des **spores**. Elles se présentent groupées par **4**, dans des asques. Chaque **asque** correspond à **une méiose**.

On peut isoler les asques un par un, grâce à un micromanipulateur. Les spores sont ensuite récupérées après la digestion de la paroi par un cocktail enzymatique contenu dans le suc d'escargot, l'hélicine.

On peut plus simplement récupérer les spores en soumettant les asques à une forte agitation. Elles sont alors mélangées, sans trace de leur appartenance à telle ou telle méiose: on dit qu'elles sont " en vrac "

#### 1.2. Ségrégation 2 / 2

Lorsque nous avons étudié les mutants de levure, auxotrophes pour l'histidine, par la méthode de la complémentation, nous avons fait l'**hypothèse** que chaque mutant étudié diffère de la souche de référence au niveau d'**un seul gène** ( chapitre 7 - 1). L'étude de la méiose va nous permettre de **confirmer** ou d'**infirmer** cette hypothèse.

##### 1.2.1 Analyse des spores « en vrac ».

Des cellules de la souche de référence, prototrophe, haploïde (n 1) sont mélangées avec des cellules de la souche auxotrophe pour l'histidine, haploïde (n 2). Les cellules diploïdes obtenues sont mises dans des conditions de sporulation. Des méioses se produisent. On récupère les asques, puis on les agite fortement : des spores sont obtenues et déposées sur un milieu de germination. Chacune germe, puis bourgeoine (1) ce qui permet la constitution d'un clone.

**Qu'attend-t-on** dans cette descendance ? A cette question, comme dans d'autres expériences déjà rencontrées la réponse doit être d'une extrême prudence : la meilleure réponse est de dire ... que l'on n'**attend rien**, même si on peut faire des hypothèses. Seuls les résultats expérimentaux doivent nous guider.

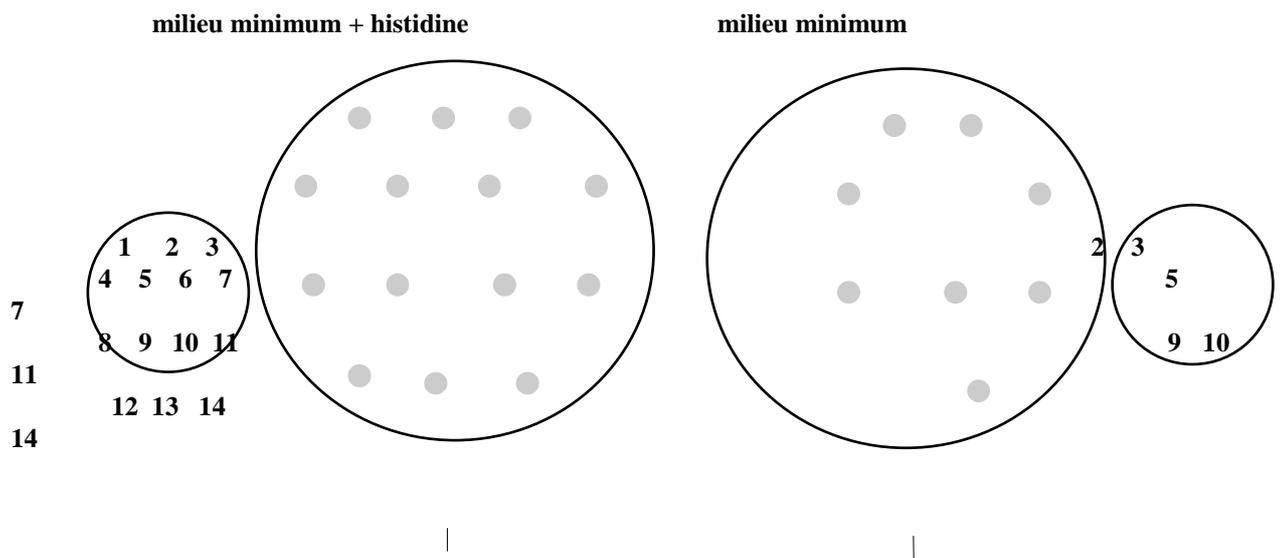
L'expérience consiste à comparer les répliques sur milieu minimum additionné ou non d'histidine ( figure 68 ).

Les clones 2, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 14 sont prototrophes, comme la souche de référence.

Les clones 1, 4, 6, 8, 12, 13, sont auxotrophes comme la souche mutante.

Qualitativement on ne trouve donc que des clones de **phénotype semblable** à celui de l'une des deux souches haploïdes dites **parentales**.

**Figure 68 : étude de quelques clones issus de spores d 'un diploïde constitué à partir de la souche de référence et d 'une souche auxotrophe pour l 'histidine.**



(1) : La division des cellules de levure n 'est pas immédiatement égalitaire: une cellule donne une cellule et un bourgeon. Ce n 'est qu 'après quelques temps que ce bourgeon prend une taille et une allure équivalentes à la cellule de départ. Cette particularité biologique n 'a aucune importance pour l 'étude en cours.

Quantitativement, le nombre de spores étudié est trop faible pour en tirer une conclusion. On en analyse donc un plus grand nombre. Lorsqu' on étudie 400 spores, on trouve 182 clones prototrophes et 218 clones auxotrophes. Nous allons voir que cette observation peut être facilement interprétée

### 1.2.2. Analyse de tétrades

On appelle **tétrade**, les 4 spores issues d 'une même méiose, contenues dans un asque. Dans une première expérience trois tétrades sont récupérées. Leurs 4 spores donnent des clones, que l'on réplique sur milieu minimum et milieu minimum additionné d 'histidine. On constate que chaque tétrade est constituée de deux spores donnant deux clones prototrophes et de deux spores donnant deux clones auxotrophes.

L 'étude de 100 asques donne un résultat strictement semblable ce qui montre que le résultat n 'est pas dû au hasard.

On dit qu 'il y a **ségrégation 2/2** : chaque méiose de la souche diploïde obtenue par la mise en présence du matériel génétique de la souche auxotrophe et du matériel génétique de la souche de référence produit deux descendants haploïdes semblables à l'une des souches parentales et deux descendants haploïdes semblables à l'autre.

Le résultat obtenu en spores en vrac n 'est pas incompatible avec ce que nous venons de constater au niveau des tétrades. Dans une population de produits de la méiose, infiniment grande, issue de tétrades 2 / 2, on trouverait **50% de spores de chaque type.**

**Dans notre exemple, on attend 200 spores de chaque type.** L 'écart des nombres de spores observées ( 182 / 218 ) par rapport aux nombres théoriques ( 200 / 200 ) s'explique simplement par le fait qu' il s 'agit d 'un échantillon réel, de 400 spores, ce qui est un nombre relativement petit. Un test statistique est évidemment nécessaire pour savoir si l 'on conserve ou non l 'hypothèse 50 / 50 (2).

Lorsque l 'hypothèse peut être conservée comme ici, cela signifie que l 'analyse des spores permet d 'envisager de manière indirecte ce qui se passe au niveau des tétrades : **des proportions 50 / 50 observées sur des spores en vrac sont assimilables à la ségrégation 2/2 dans chaque méiose.**

### 1.2.3 Interprétation du résultat expérimental :

Faisons l 'hypothèse qu 'une seule différence génétique distingue la souche de référence et la souche mutante , au niveau d 'un gène A. C 'est la plus économique et la plus probable, compte tenu de la faible fréquence des mutations . Il faut cependant se souvenir qu 'elle n 'est pas définitive : nous trouverons plus loin des cas où une différence de phénotypes correspond à plusieurs différences génétiques.

Soient a+ et a les deux allèles. La réplication étant semi conservative, l 'allèle a+ est à l 'origine de deux spores a+, tandis que l 'allèle a est à l 'origine de deux spores a: ce qui conduit à la **ségrégation 2 / 2** ( figure 69) .

On peut donc conserver l 'hypothèse d '**une seule différence génétique entre la souche mutante et la souche de référence lorsque les tétrades sont faites de deux individus d 'un type parental et de deux individus de l 'autre type parental** (3).

On dit que **le déterminisme génétique de la différence phénotypique observée est monogénique** .

L 'hypothèse peut également être conservée lorsque les produits de la méiose (ici les spores en vrac) sont dans des proportions assimilables à **50 / 50** ( 2 ).

### **1. 3 . ségrégation différente de 2 / 2.**

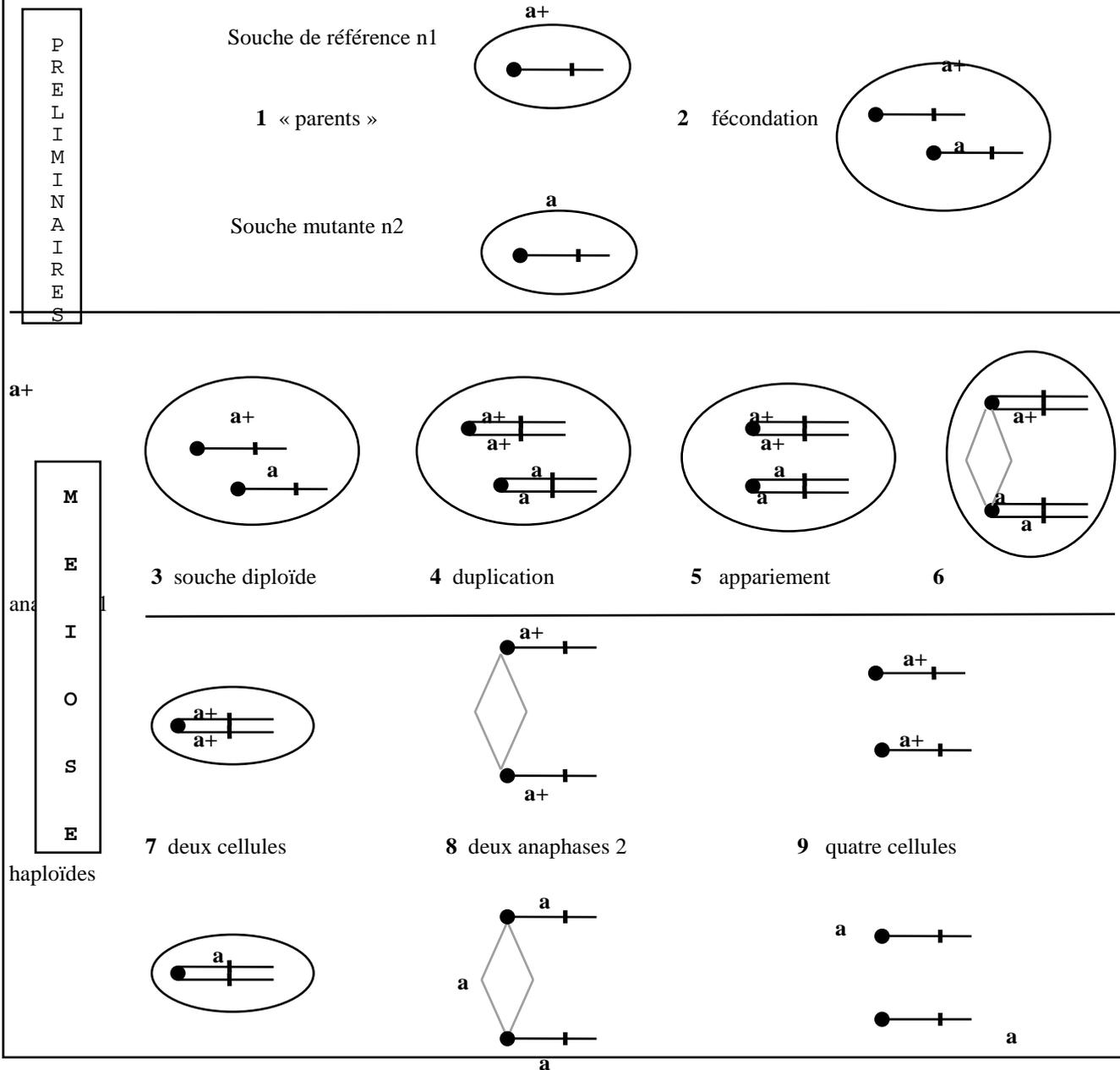
Que ce soit à la suite de l' observation des proportions 50 / 50 pour les spores en vrac ou même de 2 / 2 dans les tétrades, nous avons pris la peine d 'utiliser une précaution de langage: « **l'hypothèse d 'une seule différence génétique peut être conservée** » Nous ne parlons pas de conclusion.

En effet dans d'autres cas, on trouve des **proportions qui ne peuvent être assimilées à 2/2** : il est clair qu'à un résultat différent doit alors correspondre une hypothèse différente : si les produits de la méiose ne sont pas dans les proportions 2 / 2 , il n'y a pas une seule différence génétique en cause et il y en a donc plusieurs . Nous verrons dans le chapitre 13 des exemples de ces **déterminismes génétiques plurigéniques** (3).

**Figure 69 : figuration de la méiose dans le cas d'une différence monogénique.**

Le chromosome qui porte le gène qui nous intéresse est le seul représenté.

Bien entendu chaque trait représente une double hélice.



( 2 ) : le test de  $\chi^2$  est classiquement utilisé . Nous n'entrerons pas dans le détail de son application, en recommandant à nos lecteurs d'être prudents avec ce test, en particulier lorsque les nombres étudiés sont inférieurs à 30.

$$24 \quad \chi^2 = \sum ( \text{valeur théorique} - \text{valeur observée} )^2 \quad ( 200-182 )^2 + ( 200-218 )^2 = 3,$$

Dans les tables de  $\chi^2$  on trouve que, ici (1 degré de liberté), on prend 5% de risques de faire une erreur en rejetant une hypothèse dont les résultats donnent un  $\chi^2$  supérieur à 3,84. Comme le  $\chi^2$  calculé ici est inférieur à cette limite, on peut conserver l'hypothèse (ce qui ne signifie pas qu'elle soit *exacte* !!)

(3) : attention ! . Un *phénotype mutant* -exemple [auxotrophe pour l'histidine] - peut être dû à des *génotypes différents*, la mutation affectant dans chaque souche l'un des gènes en cause dans ce métabolisme). Par contre, un phénotype à déterminisme *plurigénique* correspond à l'action *simultanée* de *plusieurs gènes*. (chapitre 13).

## 2. Exemple chez la drosophile.

Cette fois, les caractères des haploïdes ne sont pas observables, car les gamètes n'ont pas de caractères étudiables : il est impossible d'avoir des renseignements comme ceux obtenus chez la levure. En effet, les mutants et leurs descendances sont étudiés chez des diploïdes: Il est cependant possible de tourner la difficulté et d'obtenir des renseignements indirects sur la fréquence des haploïdes. Nous allons voir comment, en étudiant une souche mutante, homozygote, dont les yeux sont marrons (« parents » **P1**), alors qu'ils sont rouge sombre chez la souche de référence (« parents » **P2**)

### 2. 1. Constitution et analyse de la F1.

La mise en présence de mâles et de femelles des deux souches donne des descendants, après développement des oeufs et des larves qui en découlent. Ces individus diploïdes **F1** ont les yeux rouge sombre. **L'observation des caractères chez ces diploïdes n'apporte rien en ce qui concerne les gamètes, haploïdes.**

#### 2.1.2. Détermination du génotype des produits de la méiose des individus F1

On réalise une  $F_2 = F_1 \times P_1$  ( $P_1$ , parent dont le phénotype est récessif, nous venons de le voir).

On observe que ce croisement donne 50 % d'individus semblables à la souche de référence et 50% d'individus semblables à la souche mutante (5).

Faisons l'hypothèse qu'une seule différence génétique distingue la souche de référence et la souche mutante (figure 70)

Les génotypes des parents sont  $P_1 : a / a$  et  $P_2 : a+ / a+$ . La  $F_1$  est  $a+ / a$ .

Les gamètes de la  $F_1$  sont **a+ ou a**, dans les proportions 2 / 2 dans chaque méiose, 50 / 50 dans une population de gamètes

Ils rencontrent, lors de la fécondation, des gamètes venant des individus  $P_1$ , tous de génotype **a**. Les diploïdes qui en découlent sont  $a+ / a$  ou  $a / a$

La proportion des individus diploïdes  $F_2$  est ici une **image** spectaculaire de la proportion des gamètes de la  $F_1$ .

A la suite de l'observation des résultats d'un croisement entre la  $F_1$  et le parent  $P_1$  dont le caractère mutant est récessif, on peut conserver l'hypothèse d'une seule différence génétique entre une souche mutante et la souche de référence lorsque les individus  $F_2$  sont dans des proportions non significativement différentes de 50 / 50.

Bien entendu, comme chez la levure, on peut être amené à ne pas conserver l'hypothèse : si la  $F_2$  ( $F_1 \times P_1$ ) donne des proportions différentes de 50 % / 50 %, il y a plus d'une différence génétique en cause.

#### 2.1.3. Analyse de la $F_2$ ( $F_1 \times F_1$ ).

Dans le cadre de l'hypothèse d'une seule différence génétique, les individus  $F_1$  produisent des gamètes **a+** ou **a**.

La rencontre au hasard des gamètes donne des individus diploïdes de trois types (figure 71):

$a^+ / a^+$  ,  $a^+ / a$  ,  $a / a$  .

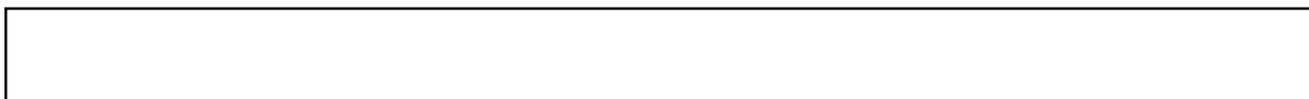
Les rencontres de gamètes figurées dans les quatre cases du tableau sont équiprobables, et se produisent chacune dans 25 % des cas . Comme nous savons que les individus  $a^+ / a$  sont de phénotype récessif (cf. F1), les individus ont une fréquence théorique de 75% de phénotype [oeil rouge sombre] et de 25% de phénotype [oeil marron].

L'analyse est indirecte : on peut conserver l'hypothèse d'une seule différence génétique lorsque le croisement F1Xf1 donne 3 / 4 d'individus semblables à la souche de référence et 1/4 d'individus semblables à la souche mutante (5).

Là encore, une situation différente peut être observée: lorsque la F2 (F1Xf1) ne donne pas les proportions 3/4 1/4 on doit faire l'hypothèse que plusieurs différences génétiques sont en cause.

<b>Figure 70 : analyse du croisement F1 X P1.</b>		
gamètes de la F1 de deux types	gamètes de la souche P1 d'un seul type : <b>a</b>	phénotype des individus F2
50 % $a^+$	diploïdes obtenus : $a^+ / a$	oeil rouge sombre 50 %
50 % $a$	diploïdes obtenus : $a / a$	oeil marron 50 %

<b>Figure 71 : analyse du croisement F1 X F1</b>			
		gamètes d'un parent F1	
		50% $a^+$	50 % $a$
gamètes (25%)	50 % $a^+$	diploïdes $a^+ / a^+$ (25%)	diploïdes $a^+ / a$
de l'autre parent F1 (25%)	50 % $a$	diploïdes $a / a^+$ (25%)	diploïdes $a / a$



( 5 ) : dans la réalité expérimentale, un test statistique est nécessaire pour savoir si les résultats observés sont ou non assimilables aux résultats théoriques - voir note 2 -

## 2.2. Etude d 'un exemple chez l 'homme.

Les études génétiques sont particulièrement délicates chez l 'homme, nous l 'avons déjà dit plusieurs fois ( par exemple chapitre 5.2.). En particulier, il y a peu de chances qu 'un mariage se produise entre une personne hétérozygote et une personne homozygote mutante, situation que nous avons étudiée chez la drosophile. Par contre les mariages entre hétérozygotes sont assez fréquents ( 6 ).

Comme on l ' a déjà dit, si le caractère mutant est rare , on peut soupçonner que la cause de la maladie est héréditaire lorsqu' il existe deux individus différents dans la même descendance ( figure 72 ) . Peut-on faire l ' hypothèse qu ' une seule différence génétique est en cause pour produire ce phénotype récessif ?

Si c 'est le cas, les parents sont de génotype  $a/a+$  , les enfants non atteints  $a+/a+$  ou  $a/a+$  , les enfants malades  $a/a$  . On s 'attend donc à observer 75% d'enfants non atteints et 25 % d 'enfants malades.

Le couple ayant eu 5 enfants, il est **ridicule** de tenter le moindre test statistique pour essayer de rejeter l 'hypothèse: ce faible échantillonnage peut très bien correspondre à des proportions 3/4- 1/4.... Mais également à bien d 'autres !

Pour pouvoir répondre à la question, il peut venir à l 'esprit d ' étudier de nombreuses familles présentant la même différence héréditaire. L 'ennui est que l 'on doit alors se demander si c 'est le même gène qui est en cause dans l'ensemble des familles étudiées : en effet , nous avons plaidé sans cesse pour que l 'on ne confonde pas le phénotype et le génotype . Or, les situations pour lesquelles on peut être certain que le même gène est en cause sont rares (7).

La plupart du temps, seule une analyse moléculaire permet de conclure. Par exemple, des personnes ayant des hémoglobines  $\alpha$  différentes de la forme de référence portent toutes, bien entendu, des allèles mutés du même gène. Ou bien, lorsque l 'on pousse l 'analyse au niveau de l 'ADN, on peut également conclure sans ambiguïté : les succès actuels de la génétique humaine sont liés aux développements de la génétique moléculaire (voir troisième partie).

## 3.Conclusions:

Lorsque l 'on étudie la transmission d 'un gène au cours de la méiose, on constate qu ' elle est fidèle. Cela n 'a rien de surprenant puisque la synthèse de l 'ADN est produit par le système semi conservatif.

Si l 'on considère un gène à l 'état hétérozygote chez les cellules diploïdes, les résultats sont les mêmes chez tous les êtres vivants, au delà des différences de méthodes d 'analyse, liées aux différences de cycle biologique (8). Les aspects historiques n' ont pas à nous encombrer : ceux qui connaissent les « lois de Mendel » peuvent constater que les résultats des croisements  $F1 \times F1$  , ne sont que les conséquences de la **loi fondamentale** de la génétique que nous avons énoncée plusieurs fois, sous sa seule forme convenable :

**s 'il existe une seule différence entre deux matériels génétiques, cela se traduit à la méiose du diploïde par la production de 50% d 'individus haploïdes d 'un type et de 50% d'individus haploïdes de l 'autre.**

Comme cela est dû uniquement à la répllication semi- conservative, il en découle que cette loi est généralisable à l'ensemble des êtres vivants (8). Les particularités de mise en présence des deux matériels haploïdes différents (la fécondation) puis celles de leur ségrégation ( la méiose ) peuvent varier, la loi fondamentale demeure:

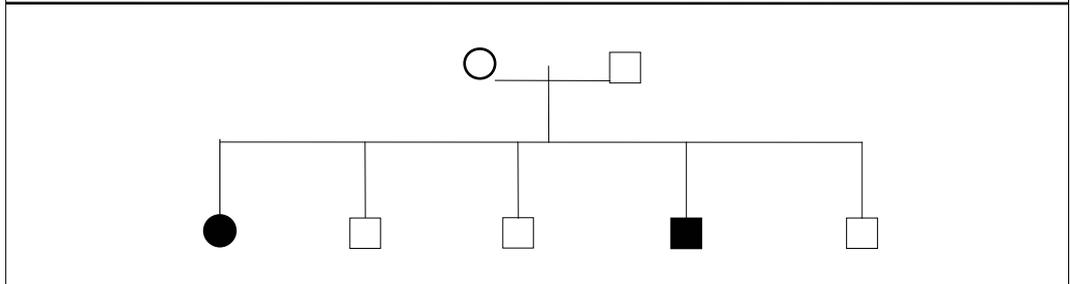
Toute l'analyse génétique repose sur cette loi. Lorsque l 'on étudie une différence de caractères héréditaires, il faut donc avant tout, examiner les résultats pour mettre à l'épreuve l'hypothèse d'un **déterminisme monogénique**.

Par exemple, on voudra bien se souvenir que l 'interprétation des mutants affectant le métabolisme (chapitres 5 à 7) a été faite dans l 'hypothèse d 'une seule différence génétique entre la souche de référence et chacune des souches mutantes étudiées. Cette situation génétique simple est souvent rencontrée : c 'est même la seule que nous ayons réellement examinée jusqu' à présent, à l 'exception cependant notable d 'une souche à yeux blancs

chez la drosophile (fin du chapitre 5). Cet exemple représentatif de situations comparables justifie les précautions de vocabulaire et d'analyse que nous avons présentées.

**Seule l'expérience permet de s'assurer qu'un seul gène est en cause dans une différence phénotypique. Nous verrons plus loin d'autres cas pour lesquels la réalité est beaucoup plus complexe.**

**Figure 72 : exemple de généalogie suggérant une différence héréditaire.**



(6) : nous verrons plus loin ( 4 ème partie ) quelles sont les fréquences des mariages entre les différents types d 'individus.

(7) : par exemple , il aurait été particulièrement mal venu d 'ajouter tous les individus [sourds- muets] étudiés dans le chapitre 5 , puisque 'il s 'avère que deux gènes différents sont en cause et conduisent au même phénotype , lorsque l 'on considère les homozygotes mutants .

(8) : et même des virus , avec quelques particularités supplémentaires.