

# **Les gènes et les mutations responsables de l'évolution morphologique**

**Virginie Orgogozo (CNRS-UPMC)**

**Avril 2008**

**Module de l'École Doctorale du Muséum**



What are the genetic changes responsible for phenotypic differences?

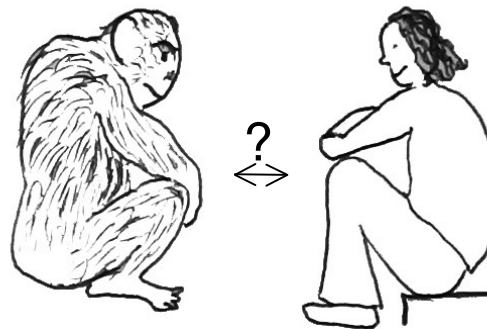
## ***VARIATION***

➤ understand the paradox between gene conservation and phenotypic diversity

98.2% identity between chimpanzee and human genome sequences  
(Mikkelsen 2005 Nature)

61% of human disease genes have homologs in *Drosophila*  
(Rubin 2000 Science)

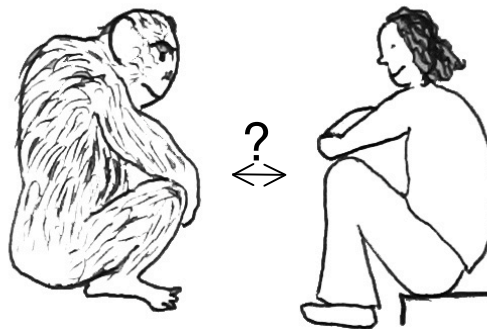
## ***CONSERVATION***



What are the genetic changes responsible for phenotypic differences?

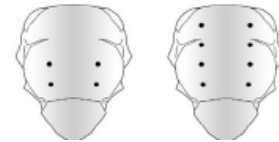
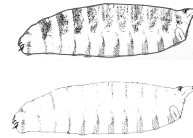
## ***VARIATION***

- understand the paradox between gene conservation and phenotypic diversity
- test the theory of evolution on concrete examples
- *elaborate new general principles underlying evolution*
- *predict future genetic changes?*





## Étude de 4 exemples



**Méthodes d'identification des gènes  
responsables de l'évolution morphologique**

**Principes généraux concernant les gènes et les mutations  
responsables de l'évolution morphologique**

# Forme des tomates

---



*Lycopersicon esculentum*

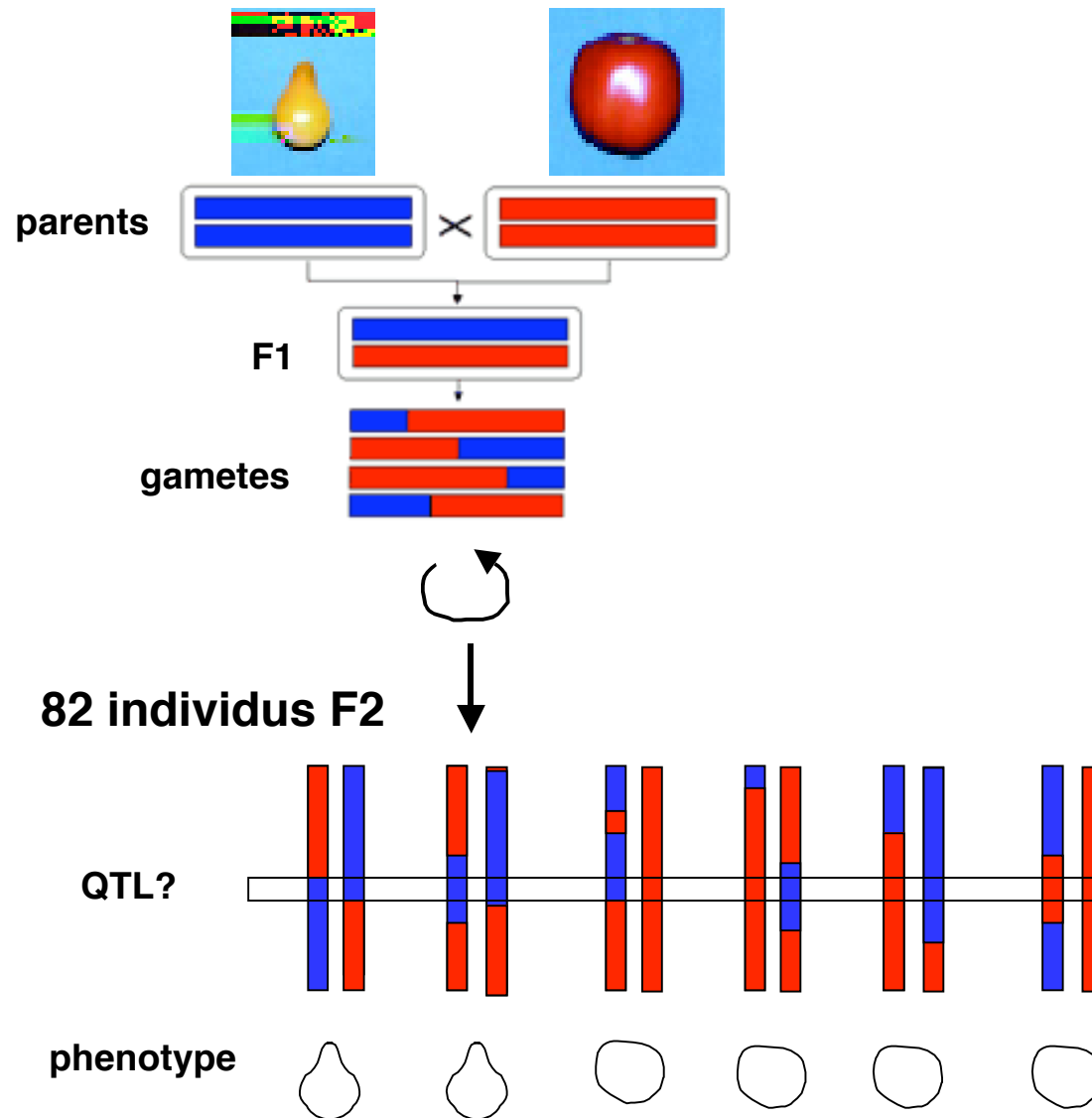


*Lycopersicon esculentum* cv. Yellow Pear

(Ku et al., 1999; Liu et al., 2002)

# Cartographie de QTL

*L. esculentum*  
cv. Yellow Pear      *L. pimpinellifolium*

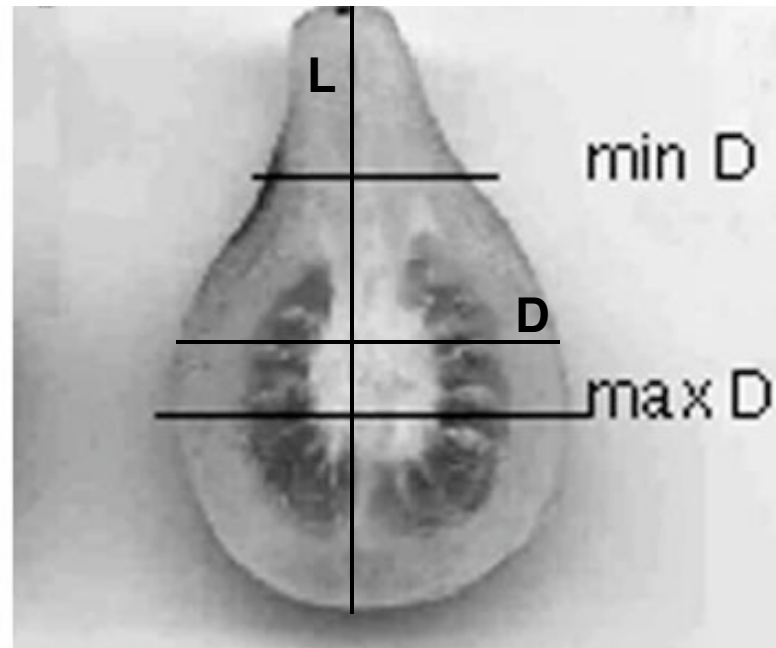
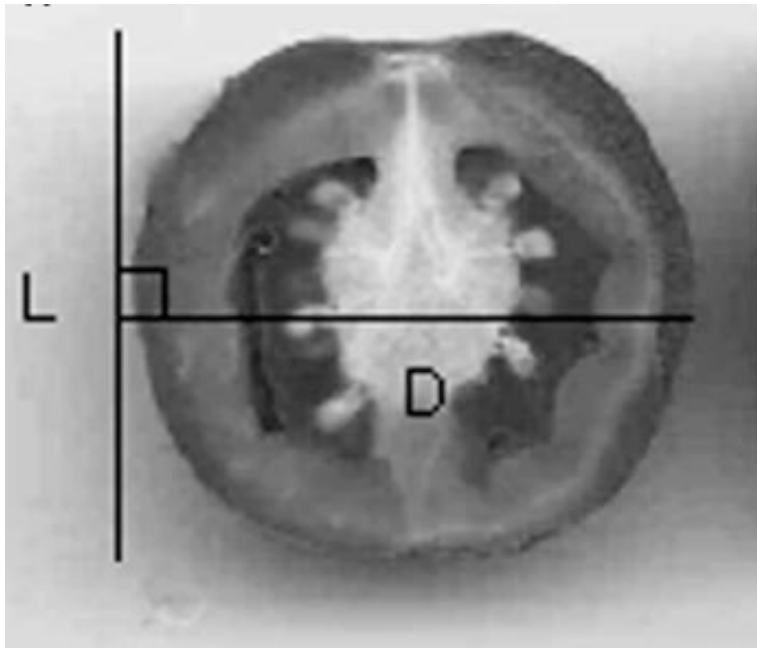


# Mesure quantitative du phénotype

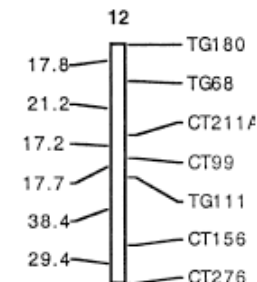
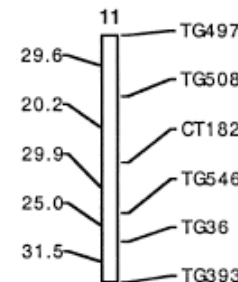
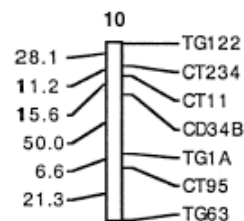
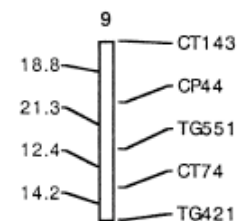
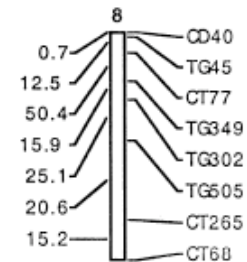
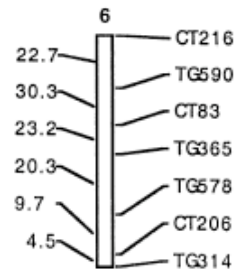
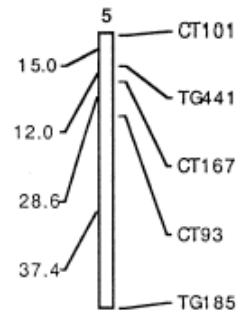
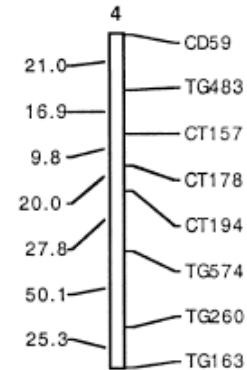
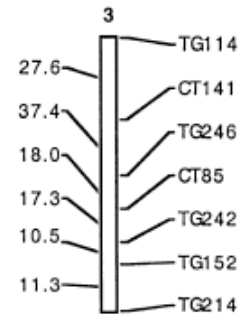
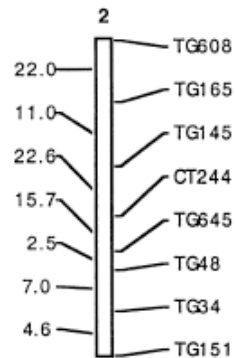
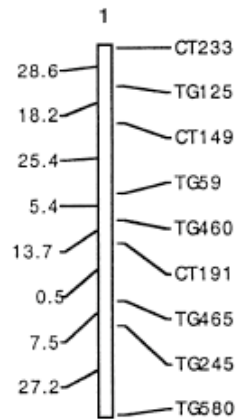
Mesure de deux indices,  $L/D$  et  $D_{min}/D_{max}$  pour 10 fruits par plante

$L/D$  :  $L$  = longueur,  $D$  = diamètre à l'équateur

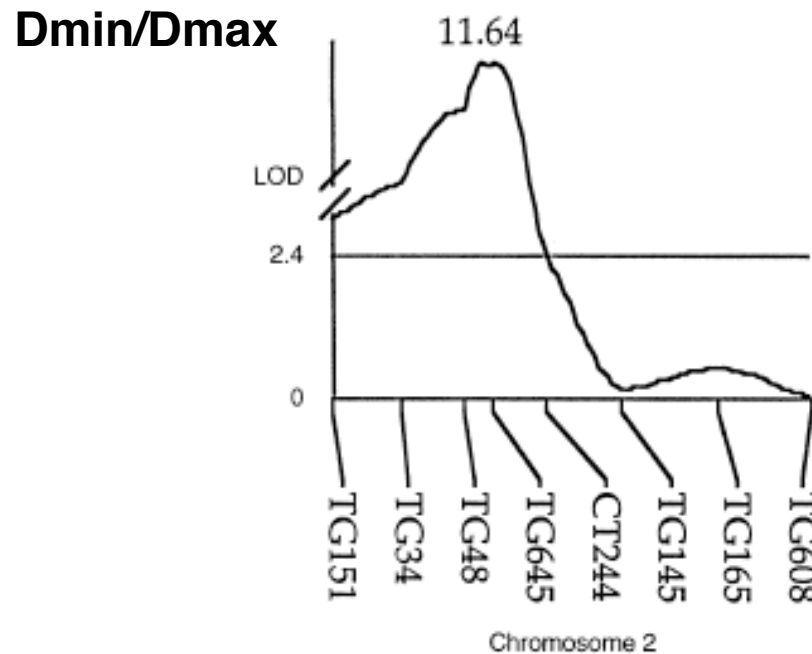
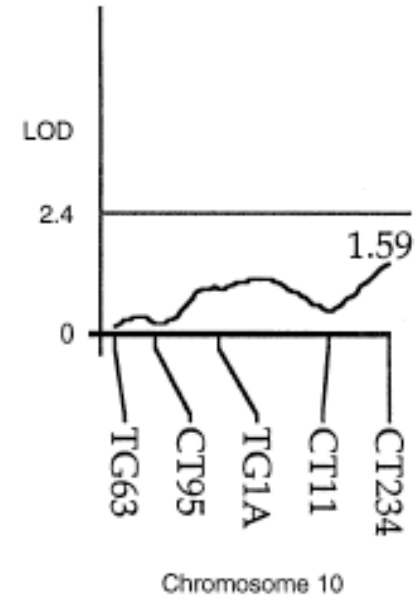
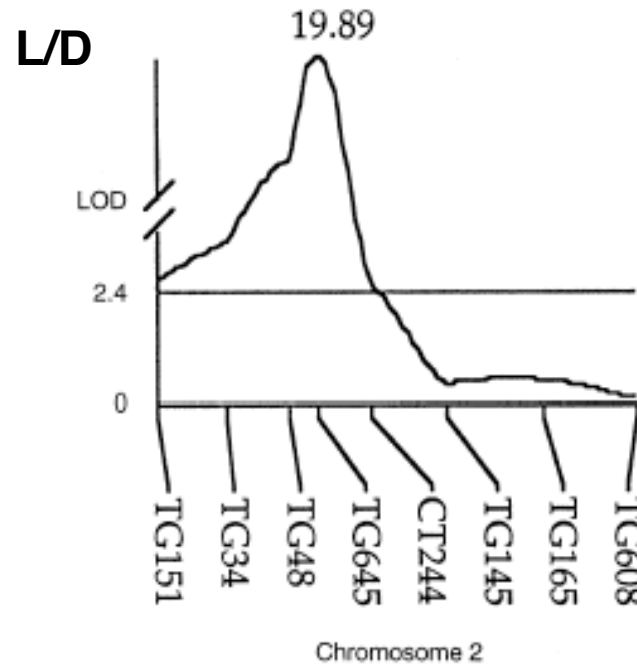
$D_{min}/D_{max}$



# 82 marqueurs moléculaires sur les 12 chromosomes de tomate



# Un locus majeur près du marqueur TG645



**responsable de  
67% de la variance  
de L/D**

**allèle YP = récessif**

## Banque de BAC (Bacterial Artificial Chromosomes)

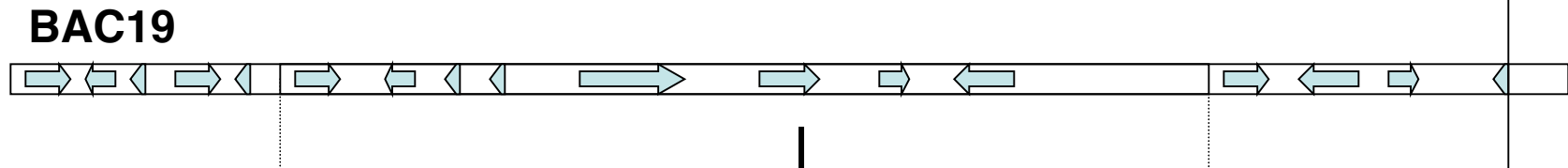
contient des fragments d'ADN génomique de tomate de 100-350kb



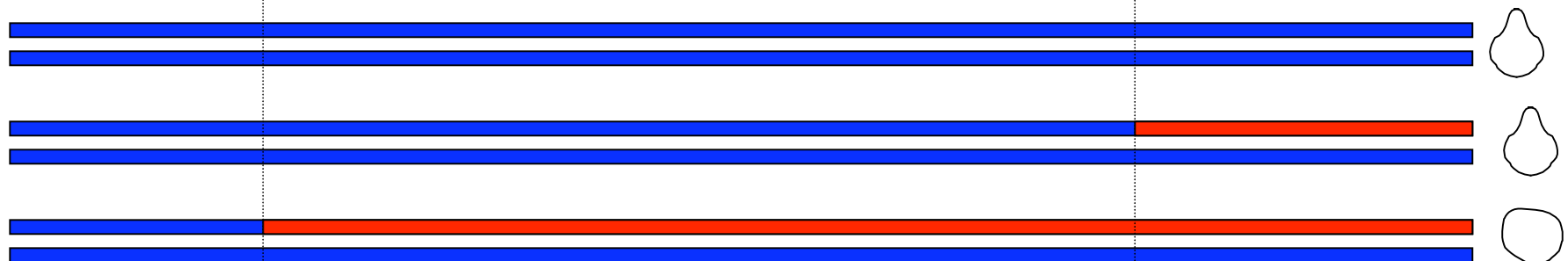
**Crible de la banque avec le marqueur TG645**



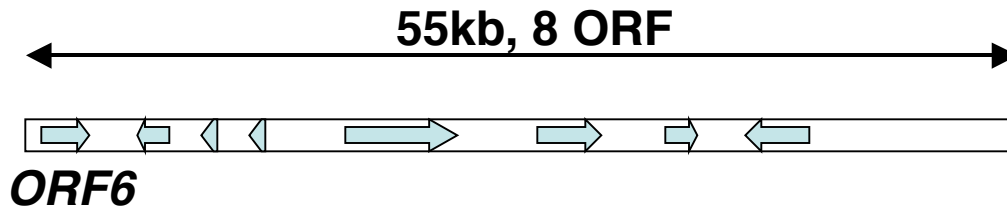
**BAC19 contenant 105kb, 17 ORF (open reading frame) TG645**



**Développement de nouveaux marqueurs moléculaires  
pour génotyper les recombinants précédents:**

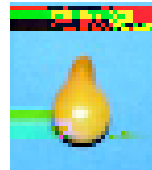






Séquençage de cette région chez les 2 tomates :

*L. esculentum*  
cv. Yellow Pear



1 SNP (single nucleotide polymorphism)  
et 1 indel (insertion-deletion) de 2bp  
dans les régions non codantes

*L. esculentum*



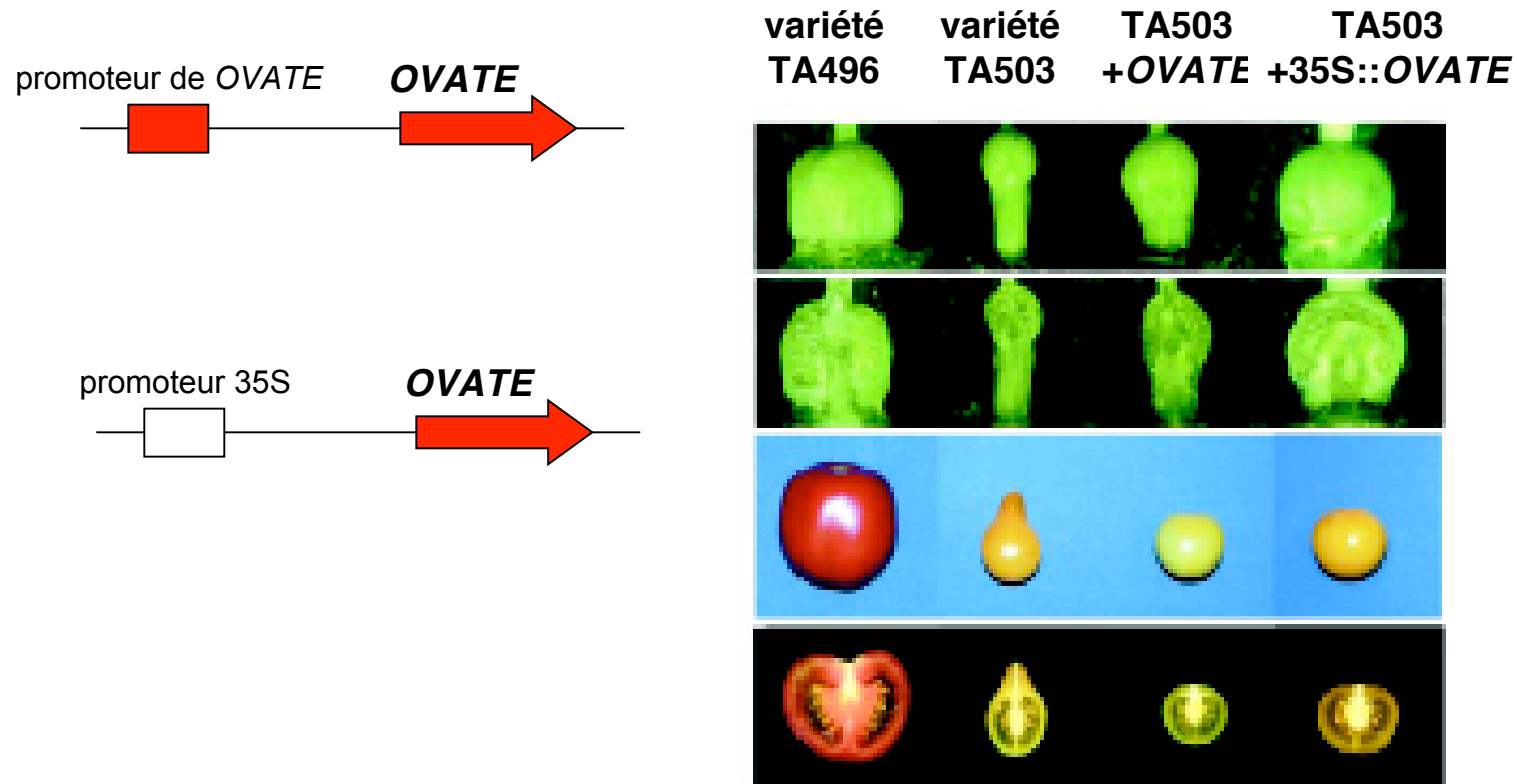
1 SNP dans l'*ORF6* : G496T, codon stop,  
protéine tronquée avec les 75 derniers acides  
aminés manquants

Hypothèse: le gène responsable est *ORF6* = *OVATE*

# Le gène responsable est *OVATE/ORF6*

Même mutation dans 3 autres variétés de tomate poire

Complémentation de la mutation par transgénèse



*OVATE* = protéine à domaine NLS (nuclear localisation signal), fonction inconnue, exprimée dans les fruits en développement mais pas dans l'appareil végétatif

# Tableau récapitulatif

|                                                                                   | Différence évolutive     | Trait de caractère | Méthodologies                                          | Gène         | Mutation                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------|
|  | entre variétés de tomate | Forme des fruits   | Cartographie de QTL<br>BAC, séquençage,<br>transgénèse | <i>OVATE</i> | Région codante,<br>probablement<br>perte de fonction<br>du gène |

# Couleur des organes bioluminescents de coléoptères

---

organes bioluminescents dorsaux



organes bioluminescents ventraux



*Pyrophorus plagiophthalmus*

*Pyrophorus plagiophthalmus* JV : organe ventral jaune vert

*Pyrophorus plagiophthalmus* OR : organe ventral orange

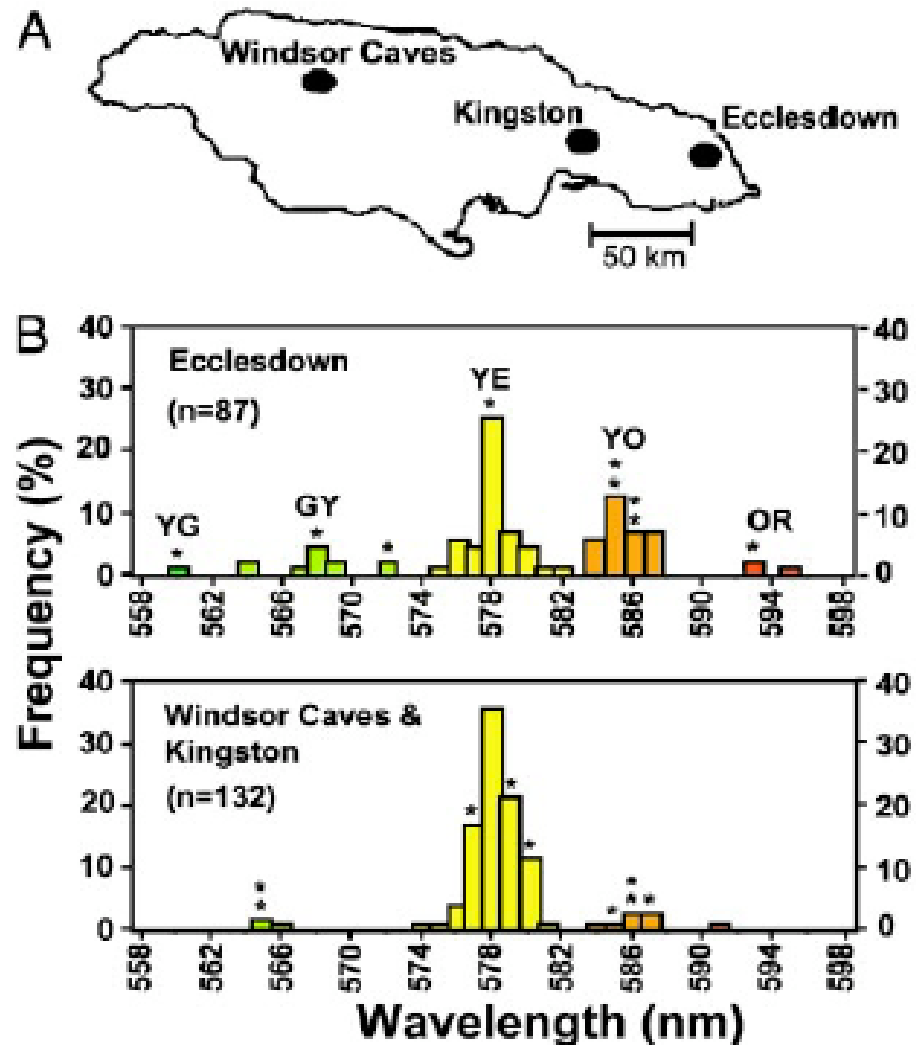
(Wood et al., 1989; Stolz et al., 2003)

# Polymorphisme et géographie

Capture des coléoptères  
sur 3 sites en Jamaïque



Mesure de la bioluminescence  
de l'organe ventral



# Test d'un gène candidat: la luciférase

Gène isolé chez les lucioles



# Test d'un gène candidat: la luciférase

**Gène isolé chez les lucioles**

**Luciférase = enzyme qui catalyse une réaction bioluminescente**

**Luciférine = substrat**

**Réaction en deux étapes:**

luciferin + ATP  $\rightarrow$  luciferyl adenylate + PPi

luciferyl adenylate + O<sub>2</sub>  $\rightarrow$  oxyluciferin + AMP + photon

**Utilisé comme gène rapporteur**



# Test d'un gène candidat: la luciférase



Extraction des ARNm  
des organes bioluminescents dorsaux

Extraction des ARNm  
des organes bioluminescents ventraux



Production d'ADNc, banque d'ADNc



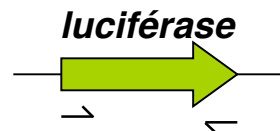
Crible de la banque avec un anticorps anti-Luciférase de luciole



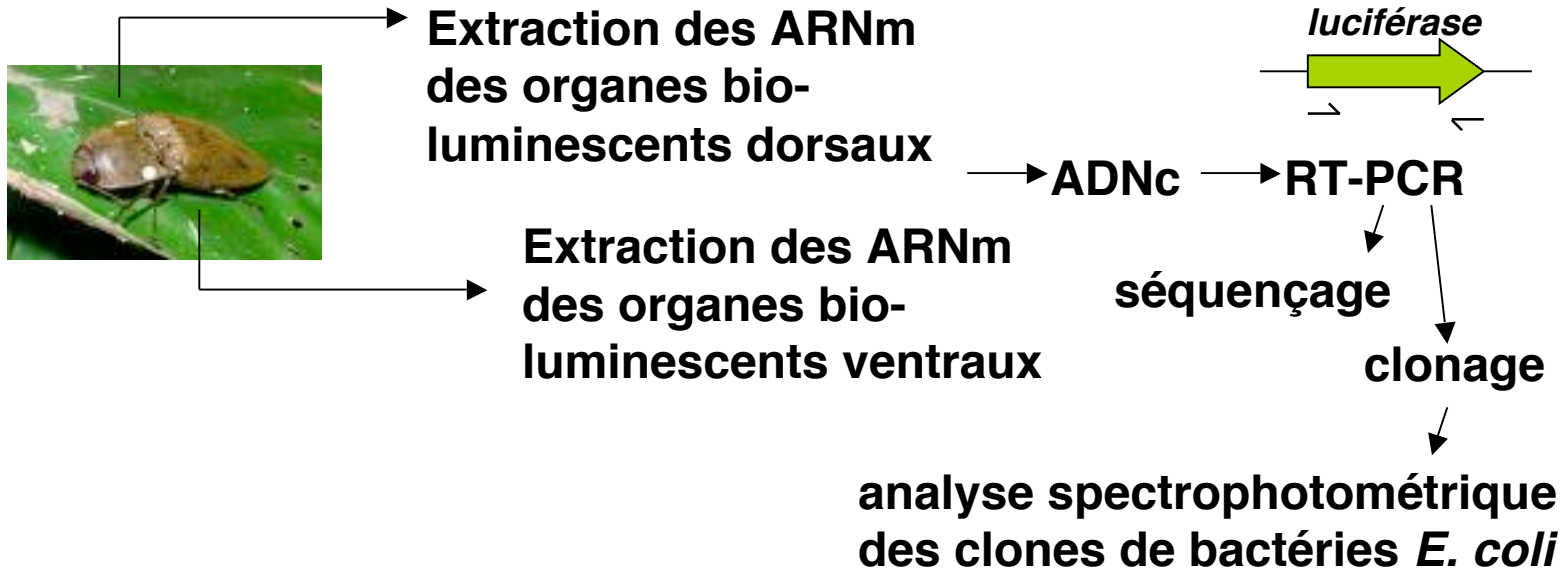
Séquençage des clones



Production d'amorces spécifiques du gène de *Pyrophorus plagiophthalmus*







# À chaque couleur correspond une séquence

|            |       |      |              | Exon 4 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | Exon 5 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | Exon 6 |   | E7 |
|------------|-------|------|--------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------|---|----|
| Organ      | Color | Pop. | Individual   | 6      | 6 | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 9 | 9 | 9 | 0      | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1      | 1 | 1  |
|            |       |      |              | 6      | 6 | 6 | 7 | 1 | 3 | 4 | 9 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6      | 7 | 8 | 9 | 0 | 6 | 6 | 9 | 0 | 2 | 7 | 5 | 8      | 9 |    |
|            |       |      |              | 3      | 7 | 8 | 1 | 2 | 9 | 0 | 8 | 4 | 7 | 4 | 6 | 7      | 1 | 4 | 2 | 5 | 3 | 5 | 7 | 7 | 7 | 1 | 3 | 1      | 5 | 9  |
| CR region  |       |      |              |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |    |
| NCR region |       |      |              |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |    |
| V          | YE    |      | Consensus    | c      | G | A | C | G | T | C | G | A | G | g | g | A      | G | a | G | A | C | A | t | g | A | a | G | T      | t | g  |
| 6s 69(2)   |       |      |              |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |        |   |    |
| V          | CR    | E    | 100 106 112  | .      | . | . | . | . | G | G | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | .  |
| V          | CR    | E    | 101          | .      | . | . | . | . | G | G | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | .  |
| V          | CR    | K    | 44 48        | .      | . | . | . | . | G | G | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | .  |
| V          | CR    | W    | 54           | .      | . | . | . | . | G | G | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | .  |
| V          | YE    | E    | 9 50 106     | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | E    | 9 65         | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | E    | 100          | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | E    | 101 112      | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | E    | 105          | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | K    | 36 48 88 125 | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | K    | 125          | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | W    | 16 35        | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | W    | 16           | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YE    | W    | 10 35        | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | A | g      | . |    |
| V          | YE    | W    | 54           | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | .      | . |    |
| V          | YG    | E    | 50 72 105    | .      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | . | . | . | G | . | . | G | . | . | . | A | g      | . |    |
| V          | YG    | K    | 36           | .      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | . | . | . | G | . | . | G | . | . | . | A | .      | . |    |
| D          | YG    | E    | 9            | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | E    | 9            | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | E    | 65 72        | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | E    | 72           | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | K    | 48           | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | K    | 125          | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | K    | 125          | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | W    | 10           | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | YG    | W    | 35           | t      | A | G | . | C | . | . | T | G | A | a | . | G      | A | . | . | . | . | G | . | . | G | . | . | A      | g | c  |
| D          | CR    | E    | 65           | .      | A | G | T | C | . | . | T | G | A | a | . | .      | A | . | A | T | T | G | c | a | G | g | C | .      | . | .  |
| D          | CR    | E    | 69           | .      | A | G | T | C | . | . | T | G | A | a | . | .      | A | . | A | T | T | G | c | a | G | g | C | .      | . | .  |
| D          | CR    | E    | 100          | .      | A | G | T | C | . | . | T | G | A | a | . | .      | A | . | A | T | T | G | c | a | G | g | C | .      | . | .  |
| D          | CR    | K    | 48           | .      | A | G | T | C | . | . | T | G | A | a | . | .      | A | g | A | T | T | G | c | a | G | g | C | .      | . | c  |

allèles OR

allèles J

allèles VJ

allèles VJ

allèles V

allèles OR

allèles J

allèles VJ

allèles VJ

allèles V

# À chaque couleur correspond une seule séquence

allèle VJ



allèle OR

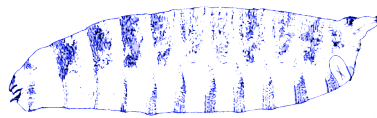
Seulement 2 mutations  
trouvées dans toutes les  
séquences des **allèles OR**:  
T739G et C740G dans  
l'exon4, conduisant au  
changement d'un acide  
aminé

# Tableau récapitulatif

|                                                                                   | Différence évolutive                         | Trait de caractère                  | Méthodologies                                       | Gène                       | Mutation                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------|
|  | entre variétés de tomate                     | Forme des fruits                    | Cartographie de QTL<br>BAC, séquençage, transgénèse | <i>OVATE</i>               | Région codante, probablement perte de fonction du gène |
|  | entre individus<br><i>P. plagiophthalmus</i> | Couleur des organes bioluminescents | Gène candidat<br>Test in vitro des protéines        | <i>Luciférase</i> (enzyme) | Région codante, changement de fonction                 |

# Trichomes

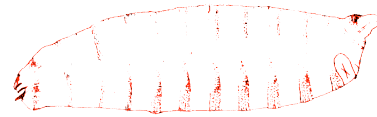
---



*D. melanogaster*

*D. mauritiana*

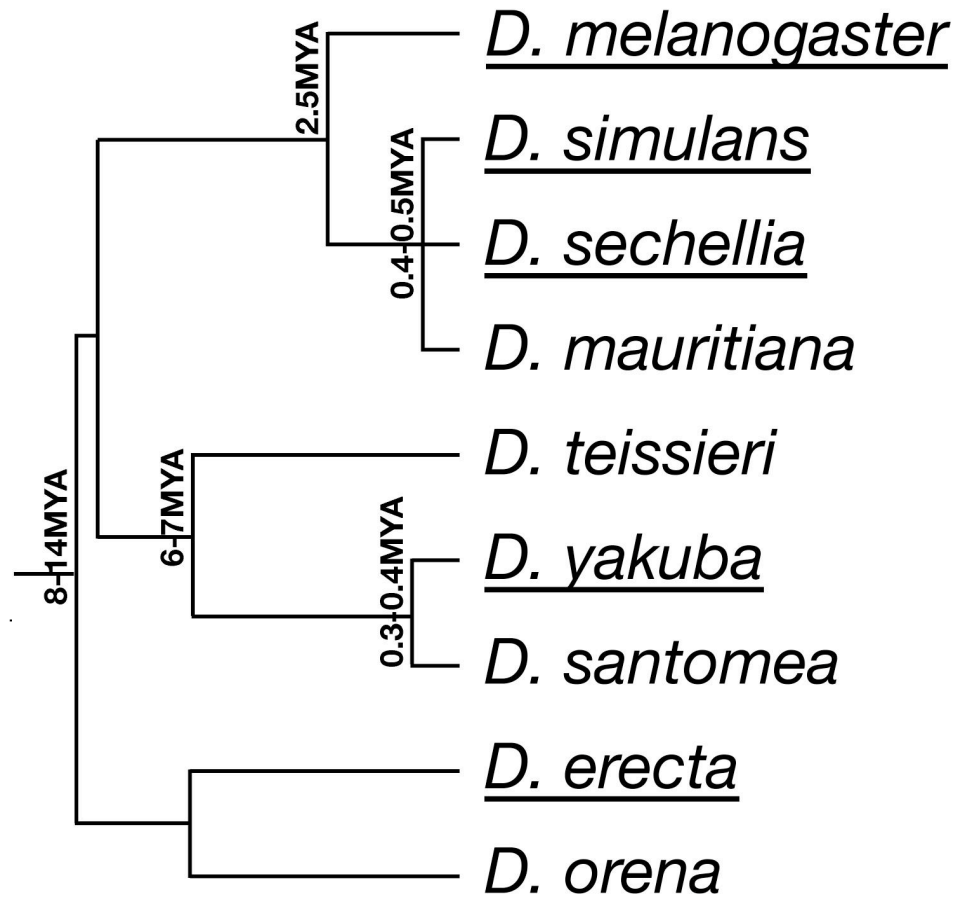
*D. simulans*



*D. sechellia*

(McGregor et al., 2007)

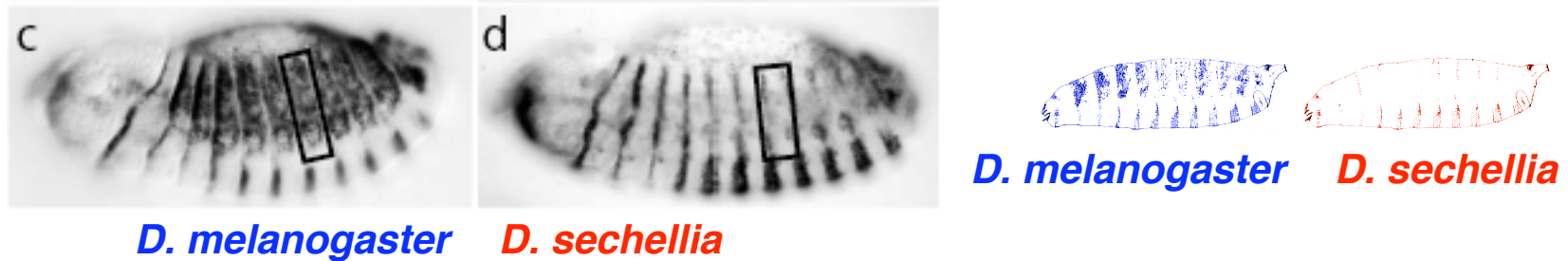
## The *D. melanogaster* species subgroup



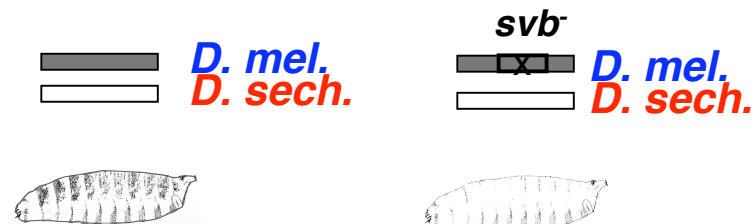
— genome sequenced

# Evolution caused by a change in the *svb* gene

- 1 Transcription factor that promotes trichome formation
- 2 Correlation between expression pattern and phenotype

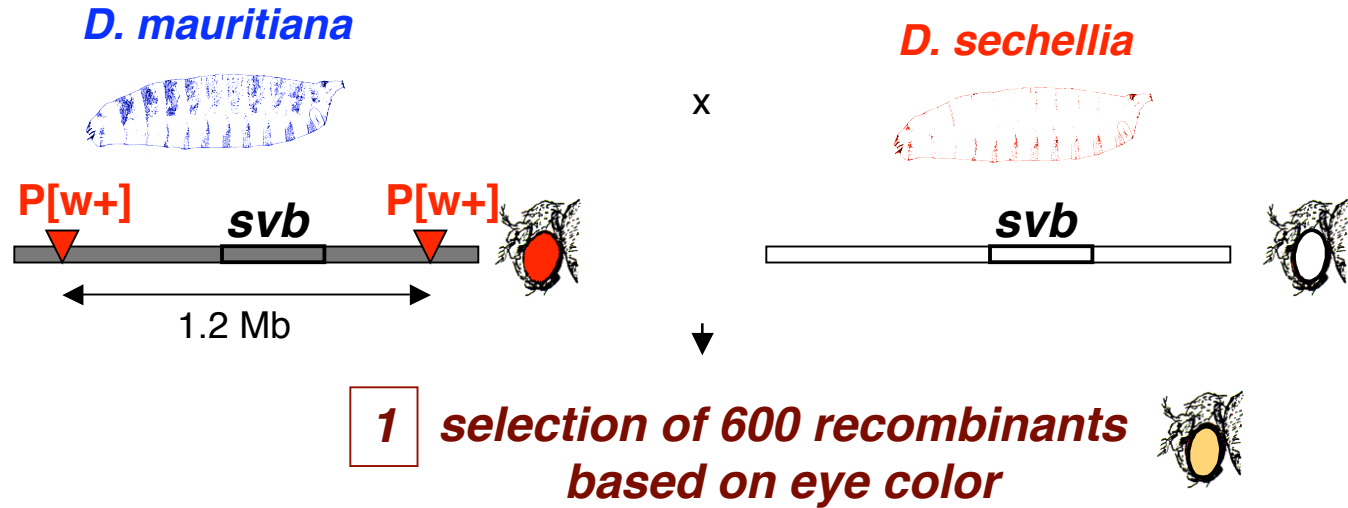


- 3 The mutation maps to the X chromosome
- 4 Complementation assay with *D. melanogaster* *svb*<sup>WT</sup> or *svb*<sup>-</sup> hybrids *D. mel./D.sech.*



(Sucena and Stern, 2000)

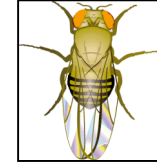
# What are the mutations responsible?



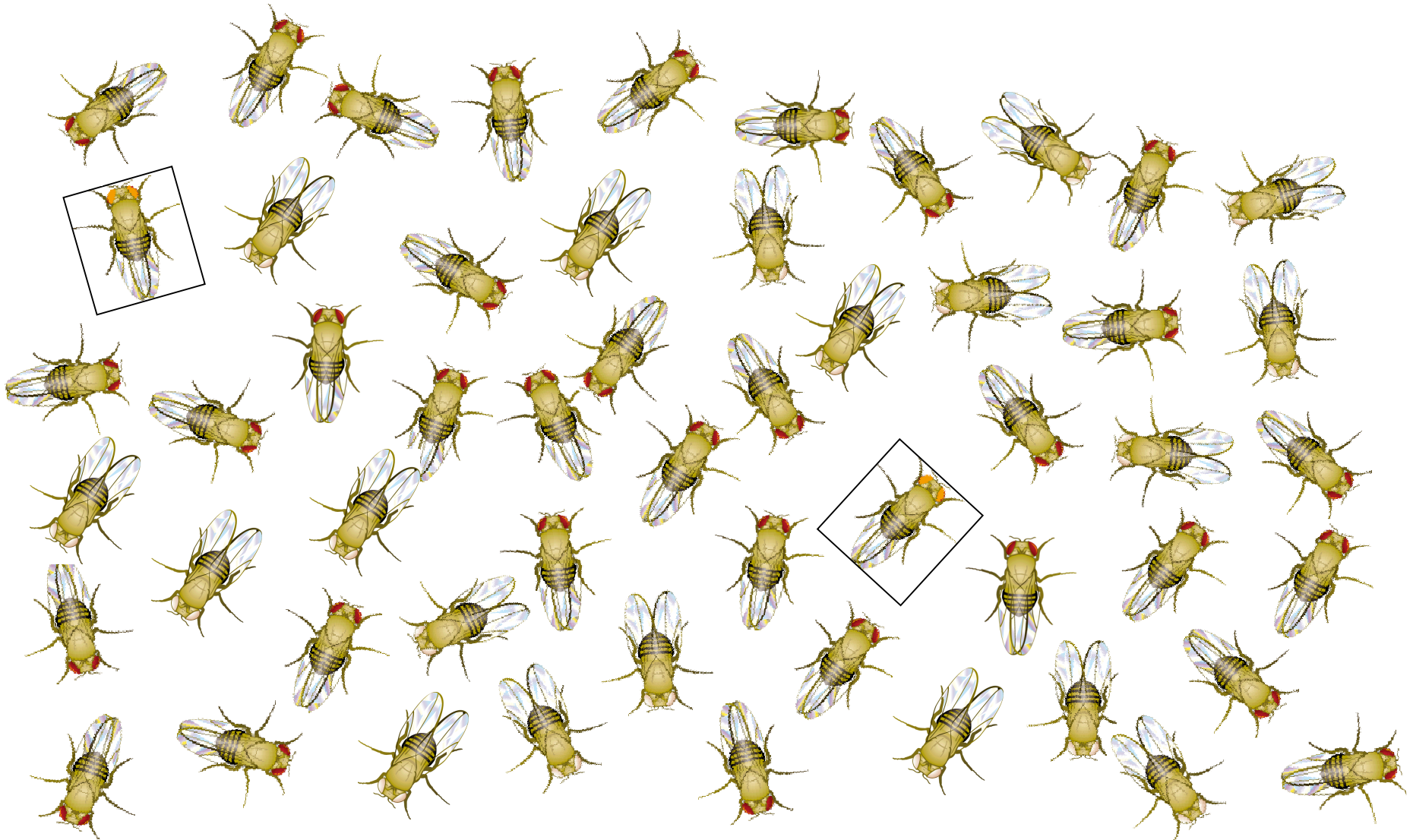
high recombination



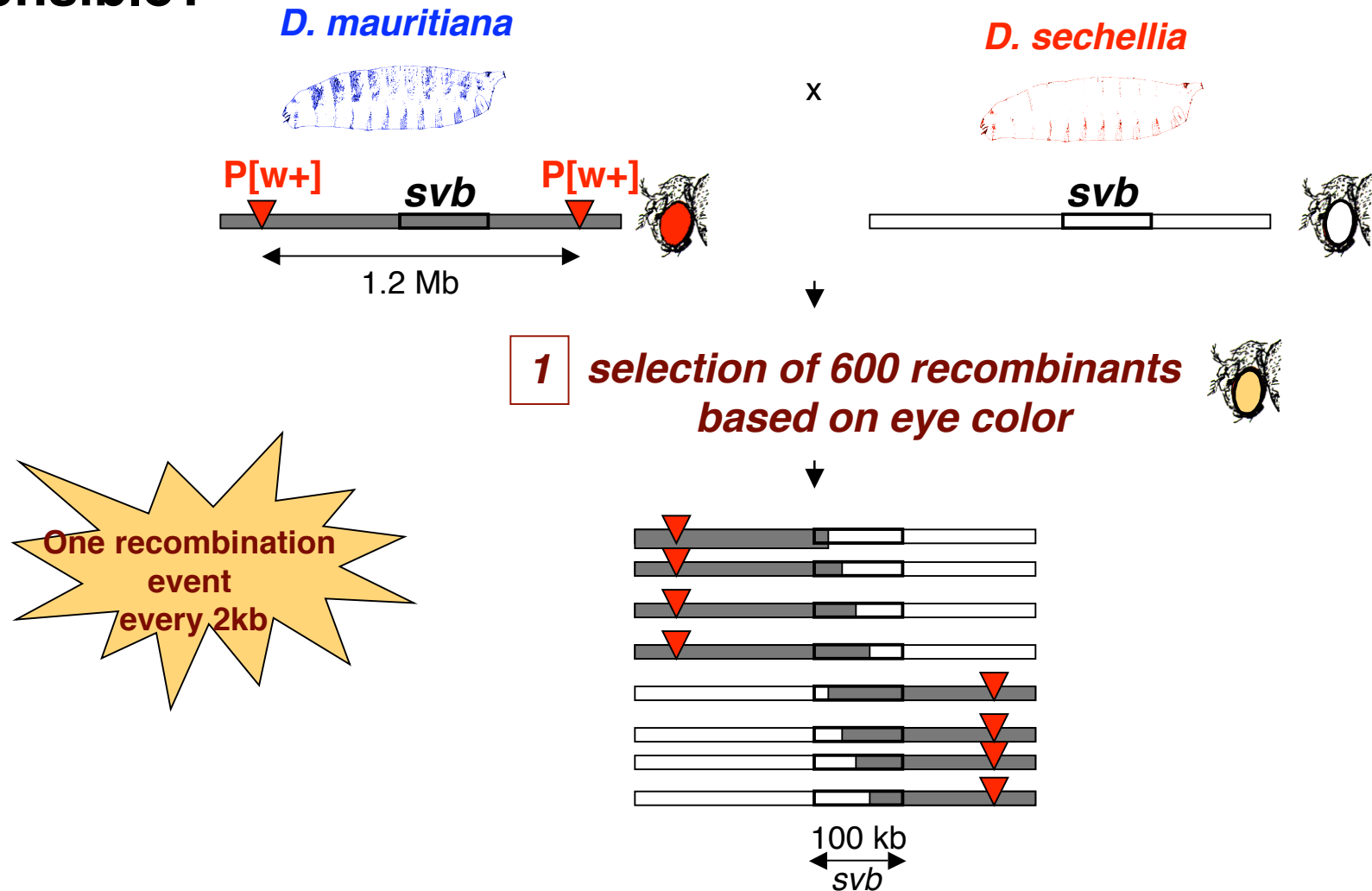
**Among progeny individuals: select [orange eye] flies:**

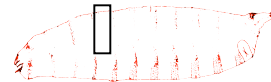
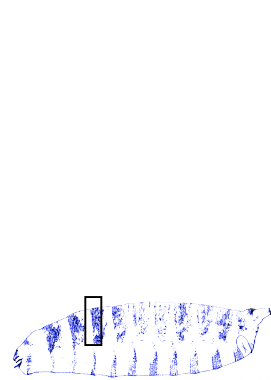


**3/100 flies**



# What are the mutations responsible?





————— *D. mauritiana*  
 ————— *D. sechellia*

*D. mauritiana*-  
like

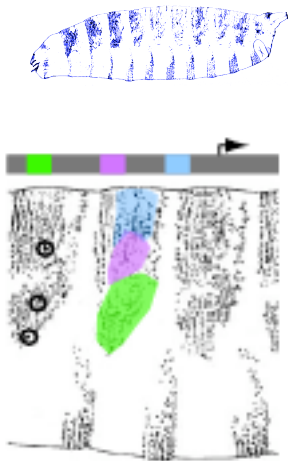


*D. sechellia*-  
like

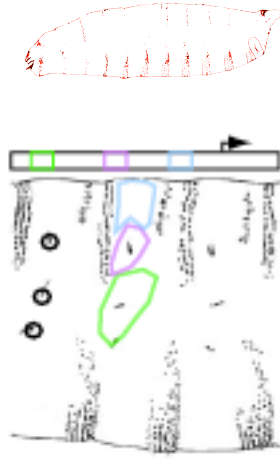


# Five types of recombinants

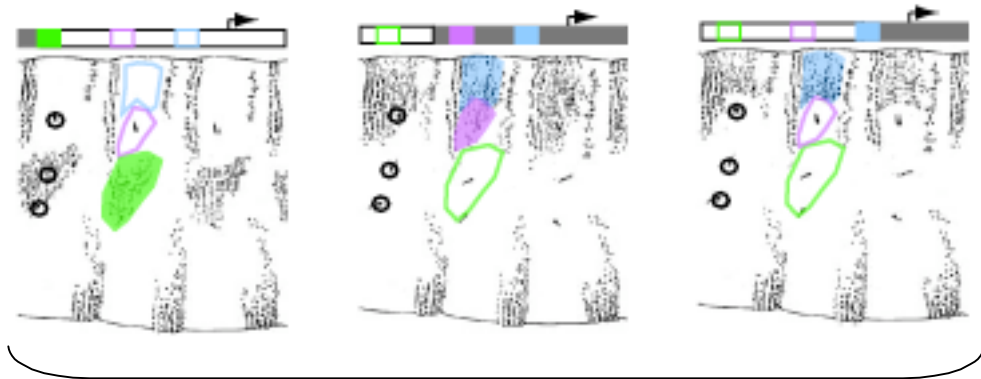
 *D. mauritiana*  
 *D. sechellia*



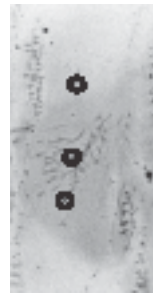
*D. mauritiana*-  
like



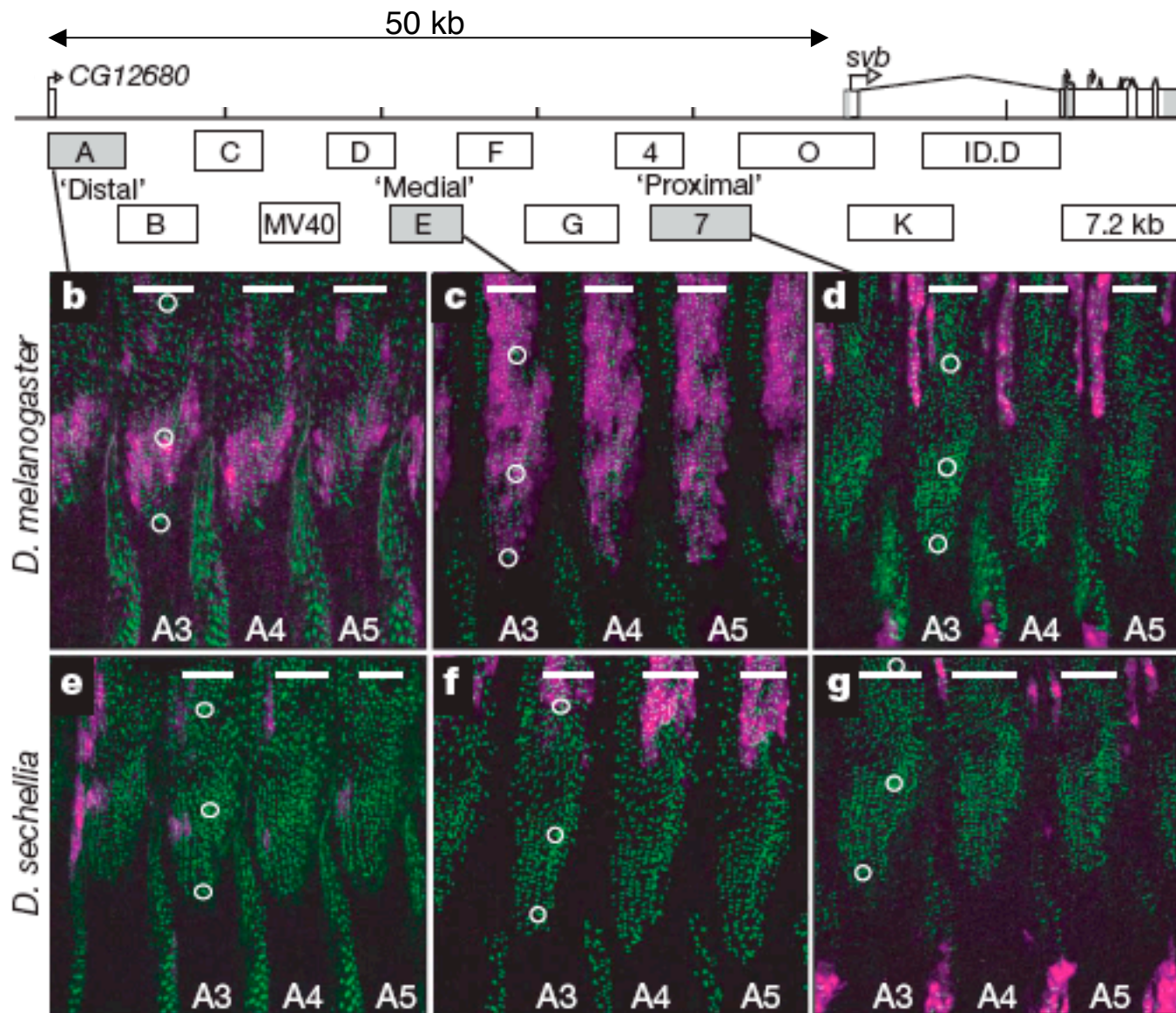
*D. sechellia*-  
like



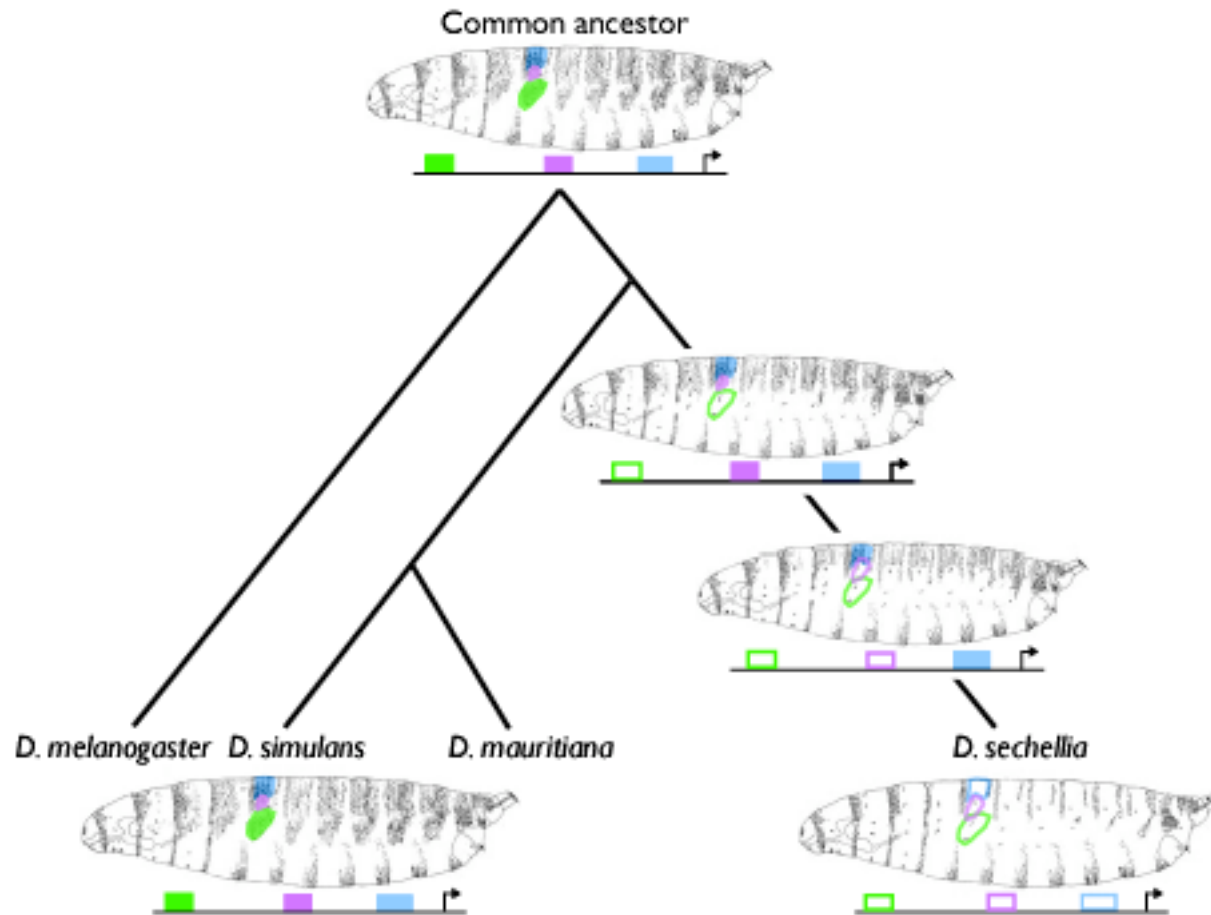
Three new phenotypes



# Three enhancer regions have evolved

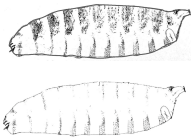


# Multiple incremental mutations at a single gene



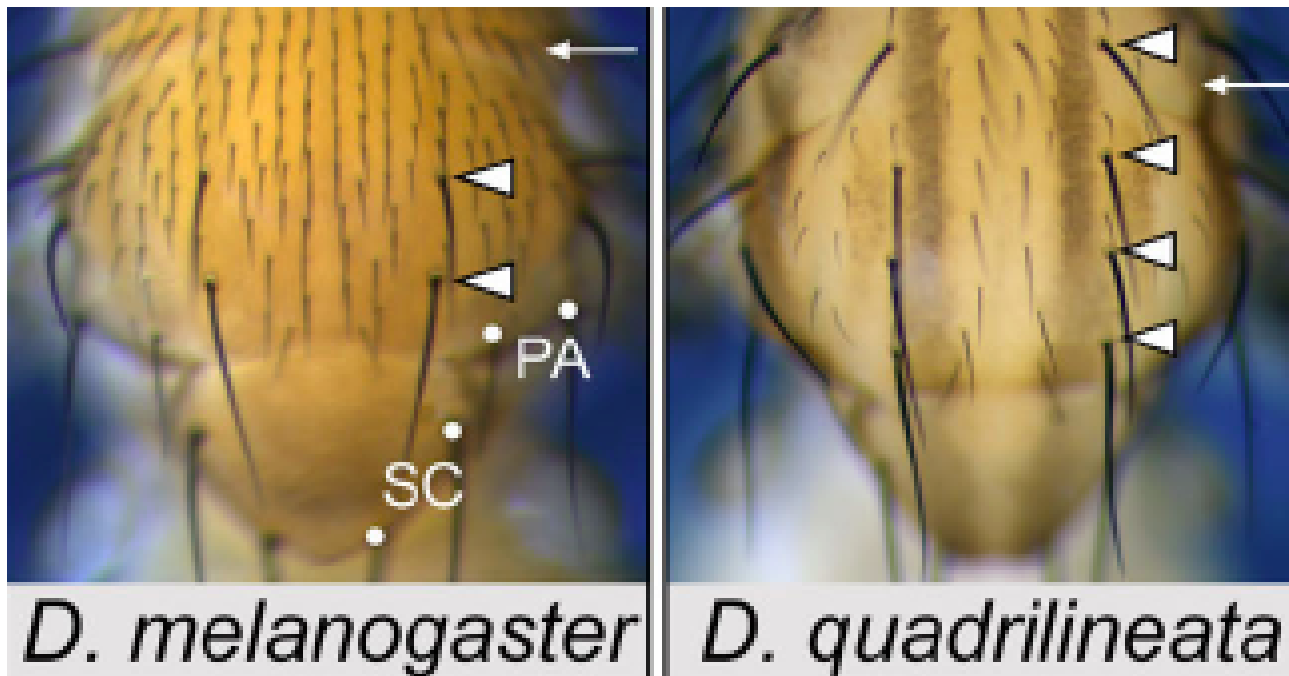


# Tableau récapitulatif

|                                                                                    | Différence évolutive                                                 | Trait de caractère                  | Méthodologies                                                                 | Gène                                  | Mutation                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|   | entre variétés de tomate                                             | Forme des fruits                    | Cartographie de QTL<br>BAC, séquençage, transgénèse                           | <i>OVATE</i>                          | Région codante, probablement perte de fonction du gène |
|   | entre individus<br><i>P. plagiophthalmus</i>                         | Couleur des organes bioluminescents | Gène candidat<br>Test in vitro des protéines                                  | <i>Luciférase</i> (enzyme)            | Région codante, changement de fonction                 |
|  | entre<br><i>D. melanogaster</i> et<br><i>D. sechellia</i><br>(2.5MA) | Perte de trichomes larvaires        | Test de complémentation,<br>Test des régions cis-régulatrices par transgénèse | <i>svb</i> (facteur de transcription) | Région cis-régulatrice                                 |

## Nombre de soies thoraciques

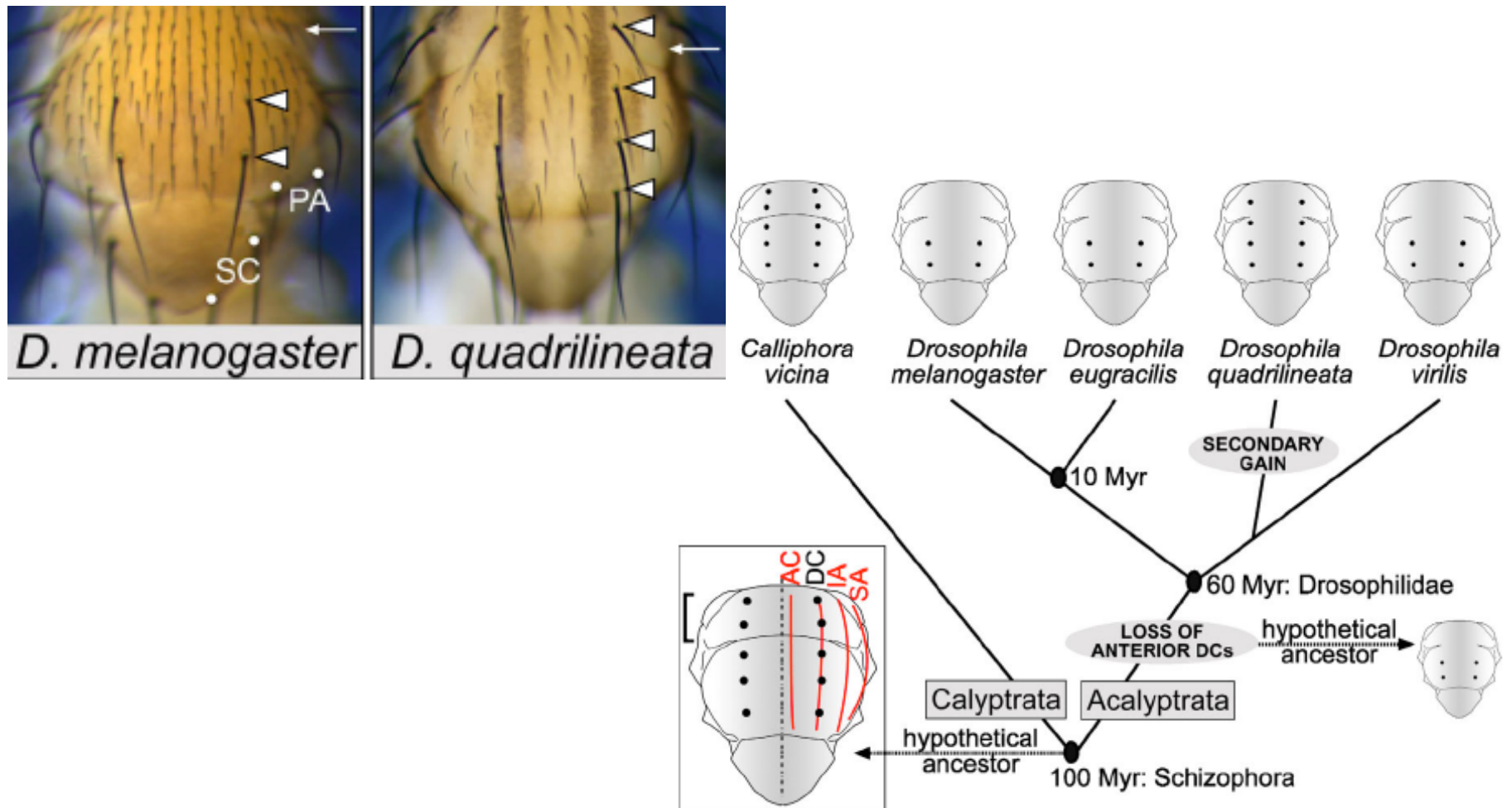
---



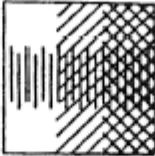
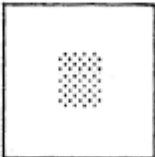
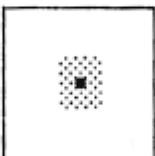
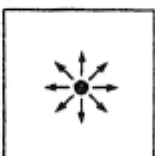
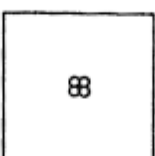
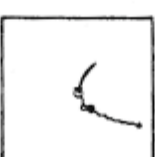


## Entre *D. melanogaster* et *D. quadrilineata*

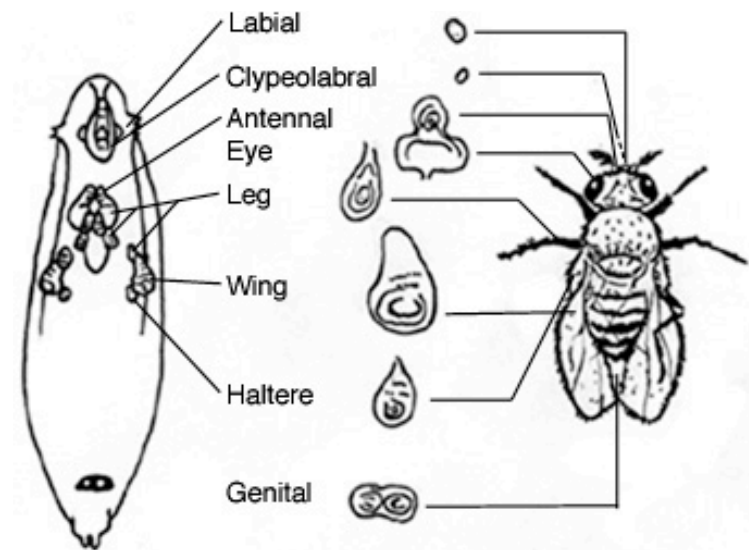
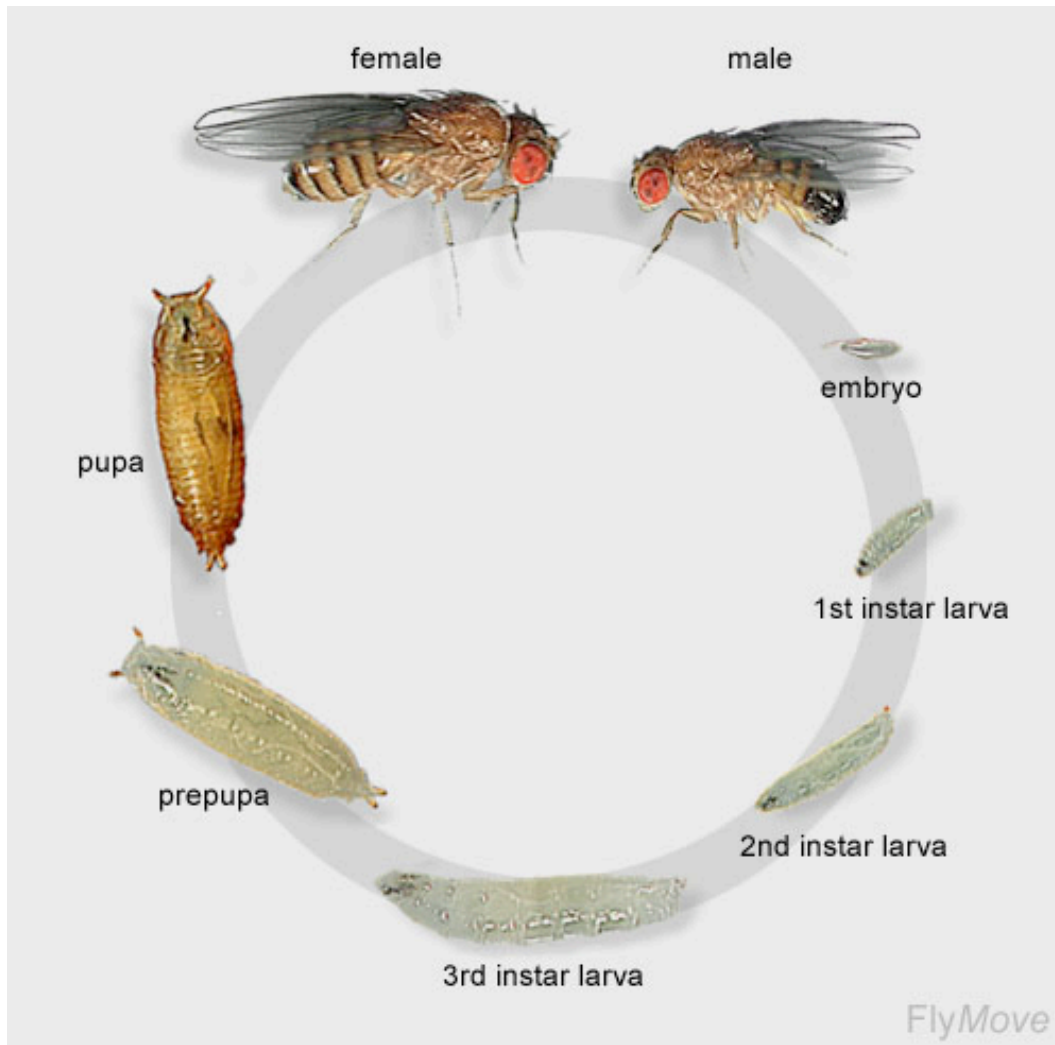
Environ 60 000 000 ans entre *D. melanogaster* et *D. quadrilineata*



# Modèle général de formation des organes sensoriels

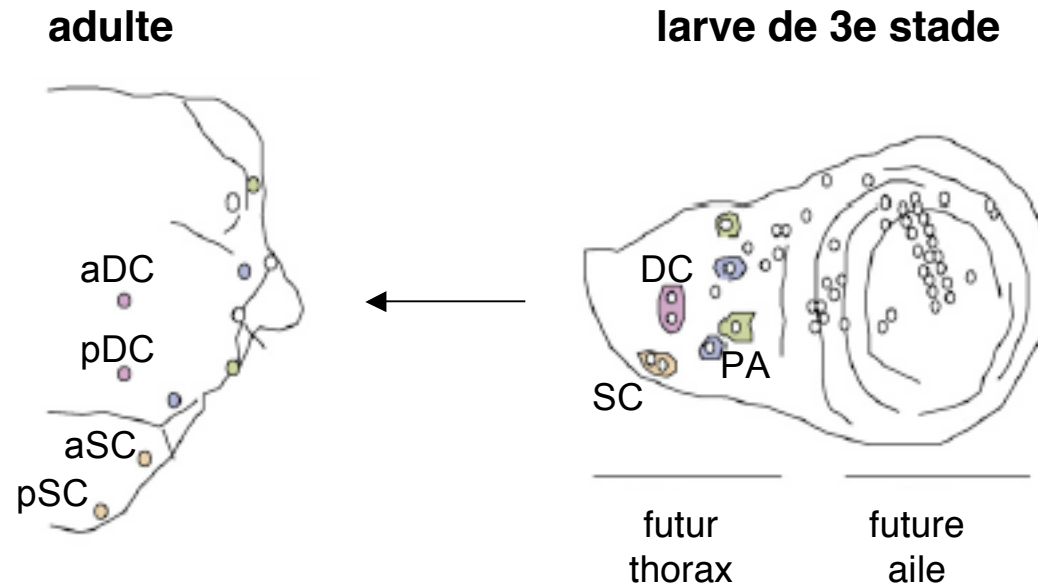
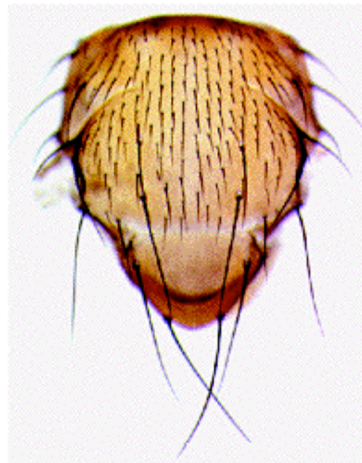
| operation                                               |                                                                                     | result                  | Gènes impliqués                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| region-specific expression of activators and repressors |    | prepattern              | Gènes de prépattern<br>= gènes des voies de signalisation (Wnt, TGF, etc.)<br>+ facteurs de transcription                                 |
| local expression of proneural genes                     |    | proneural cluster       | Gènes proneuraux<br>= <i>achaete</i> , <i>scute</i> , <i>lethal of scute</i> , <i>atonal</i> , <i>amos</i><br>= facteurs de transcription |
| commitment of one cell                                  |    | sensory mother cell     | Gènes de spécification des cellules précurseurs<br>= <i>Senseless</i> , <i>Cut</i> , etc.<br>= facteurs de transcription                  |
| lateral inhibition                                      |   | epidermalized neighbors | Gènes de la voie de signalisation Notch                                                                                                   |
| fixed lineage                                           |  | four sister cells       | Gènes impliqués dans les divisions cellulaires asymétriques                                                                               |
| differentiation                                         |  | sense organ             | Gènes de différenciation ( <i>tubuline</i> , <i>actine</i> , <i>Or</i> , <i>Gr</i> , etc.)                                                |

# Développement de *D. melanogaster*



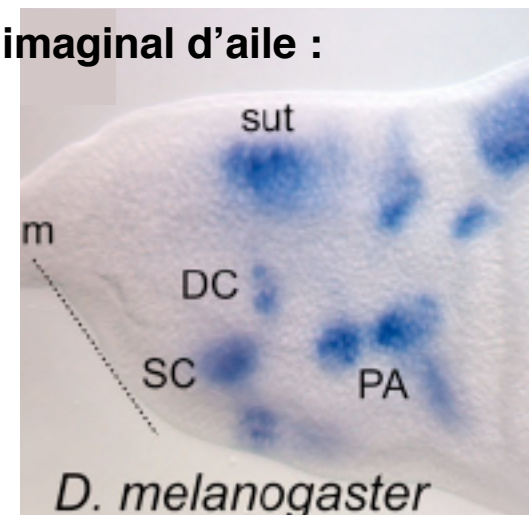
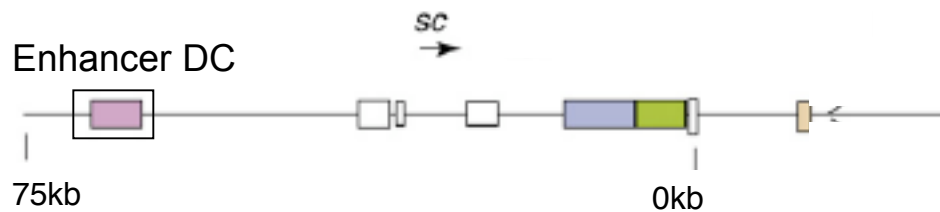
<http://www.swarthmore.edu/>

# Développement des soies thoraciques



***scute* dans le disque imaginal d'aile :  
(hybridation in situ)**

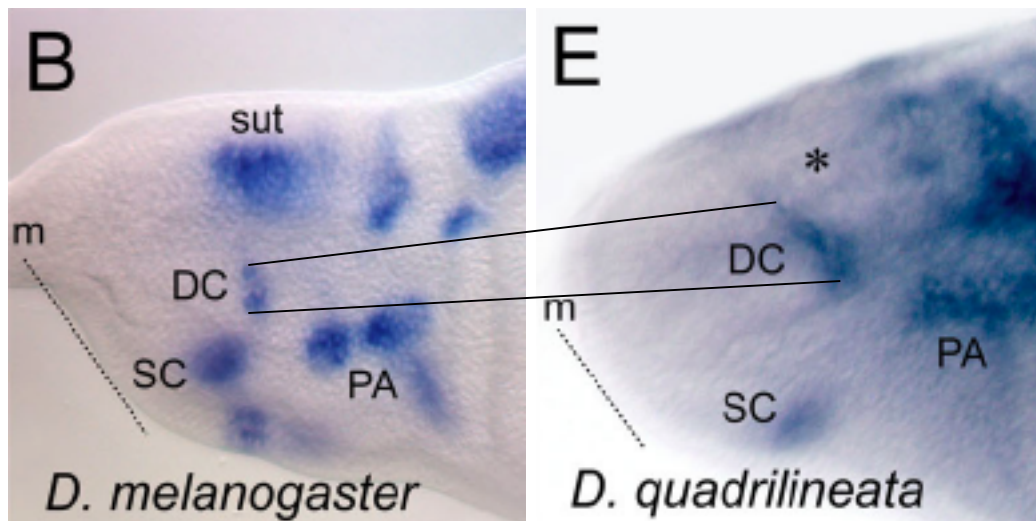
**Région cis-régulatrice de *scute* :**



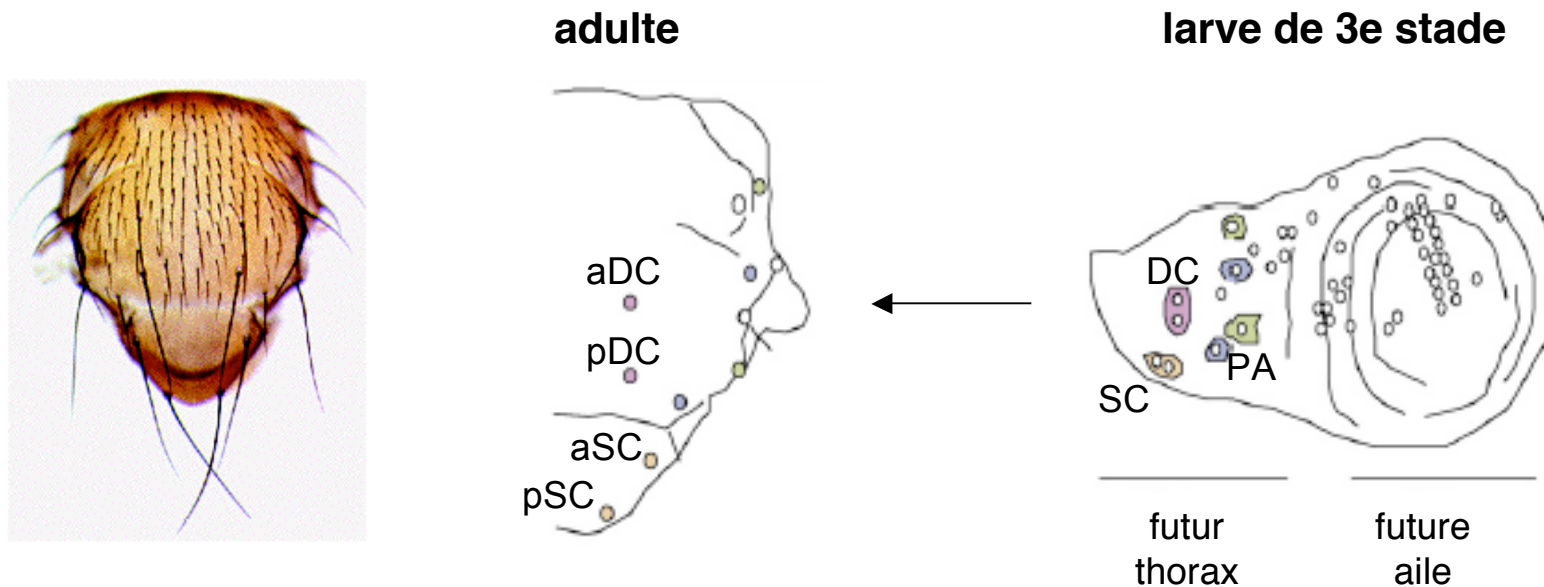
## Entre *D. melanogaster* et *D. quadrilineata*

Dû à une différence d'expression du gène *scute* ?

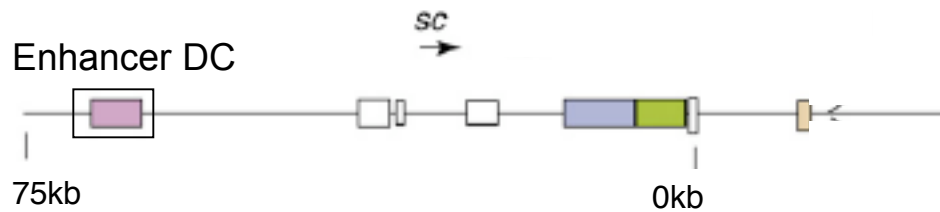
Hybridation in situ des disques imaginaux d'aile :



# Développement des macrochètes thoraciques chez *D. melanogaster*



## Région cis-régulatrice de *scute* :

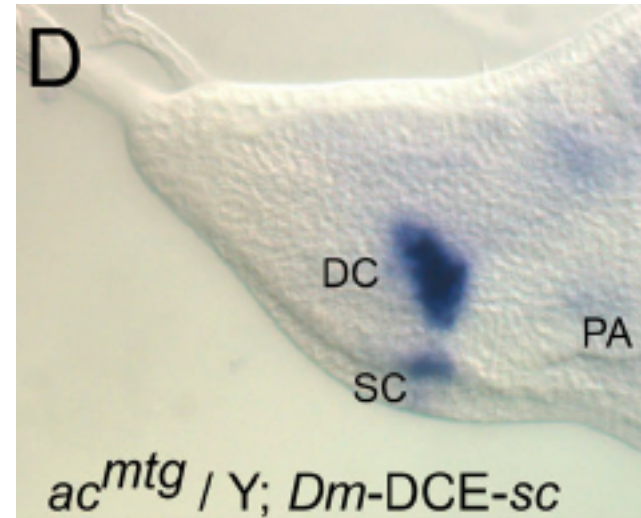




Dû à une différence dans le promoteur du gène *scute* ?

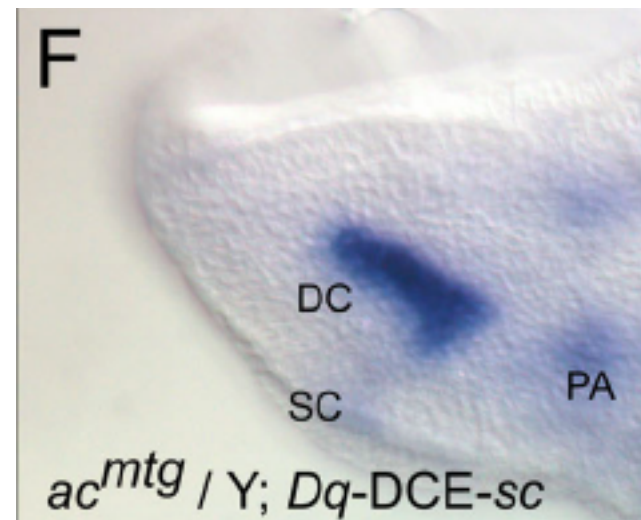
Enhancer DC  
de *D. melanogaster*

*scute*

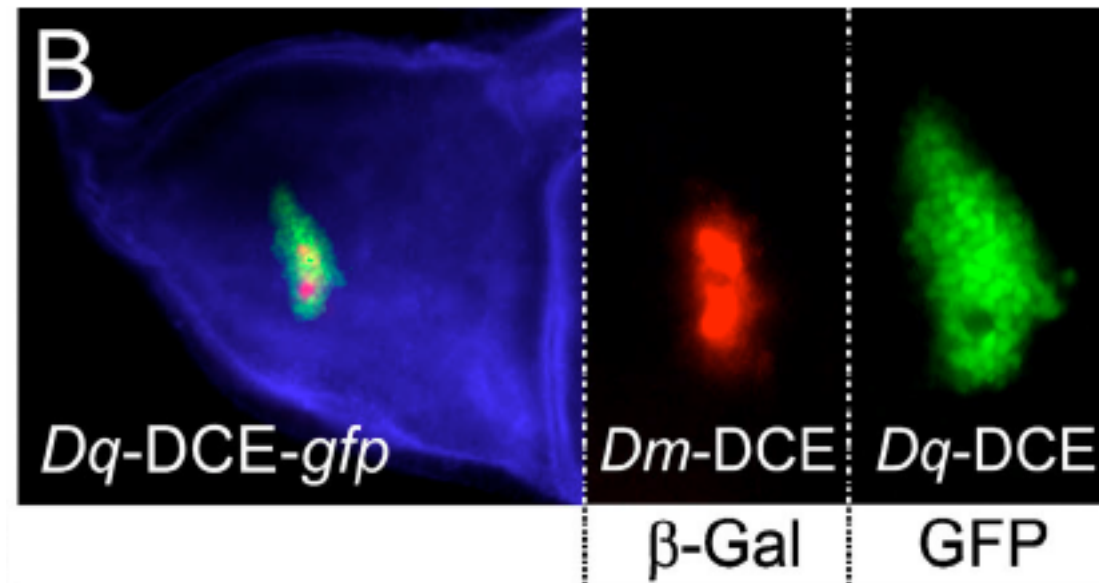
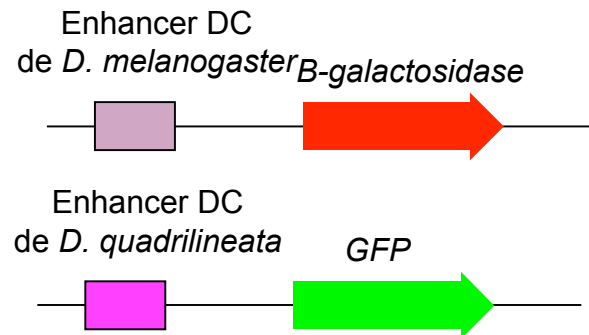
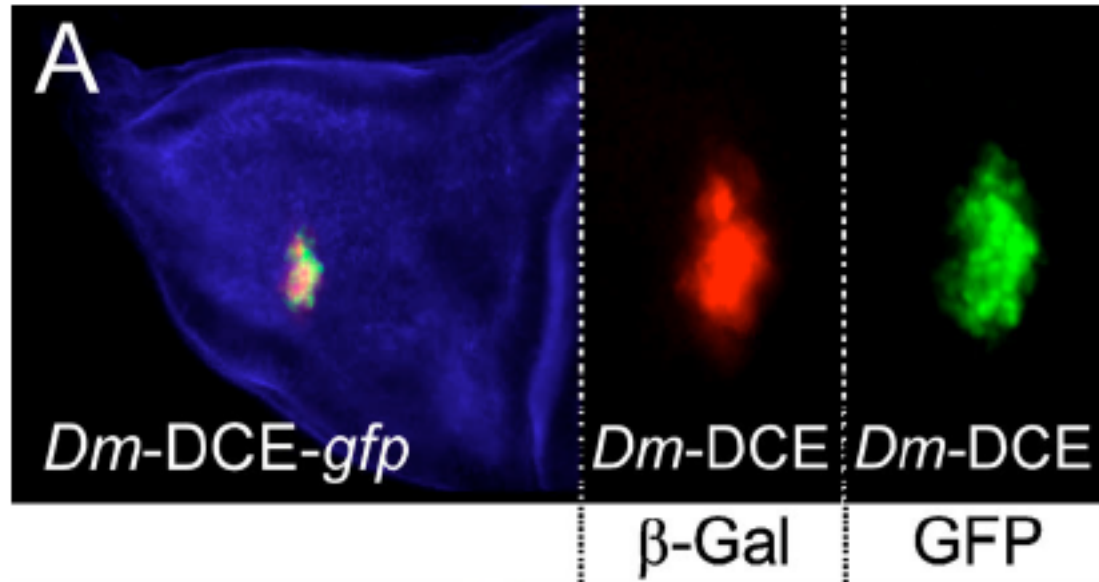
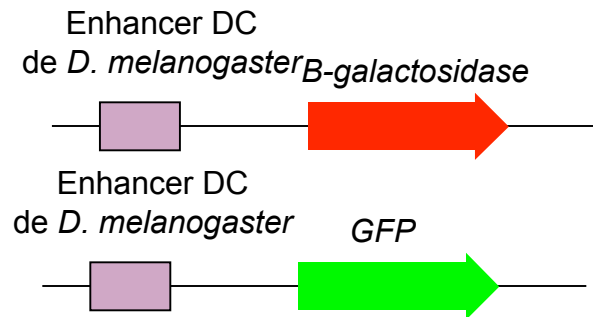


Enhancer DC  
de *D. quadrilineata*

*scute*

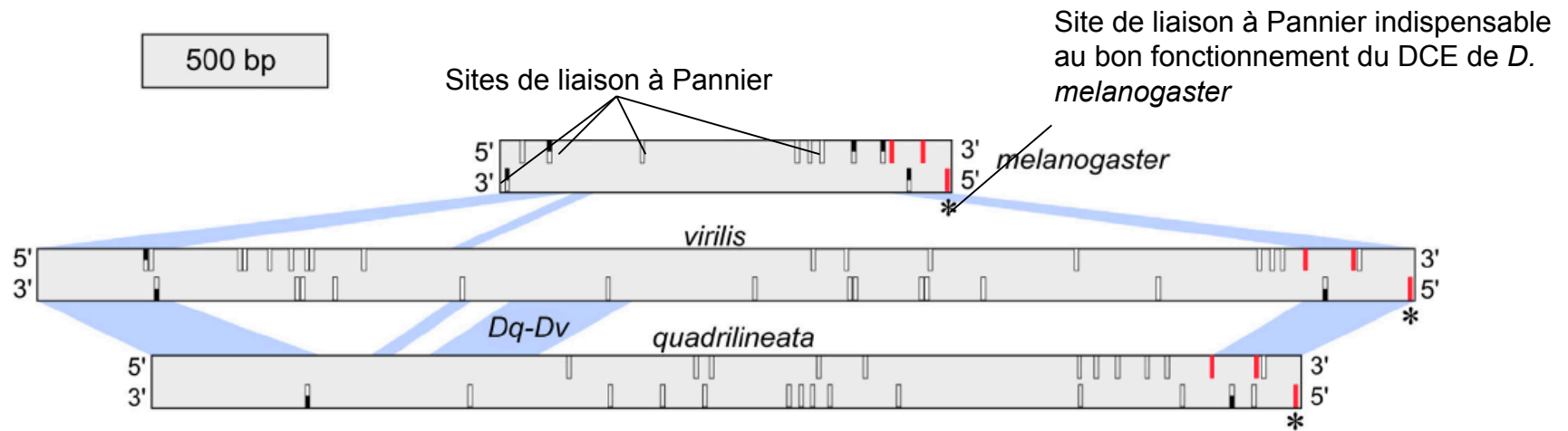


Dû à une différence dans le promoteur du gène *scute* ?

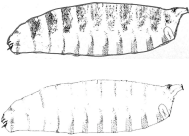
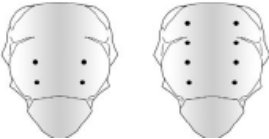




## Analyse informatique de l'enhancer DC du gène *scute*



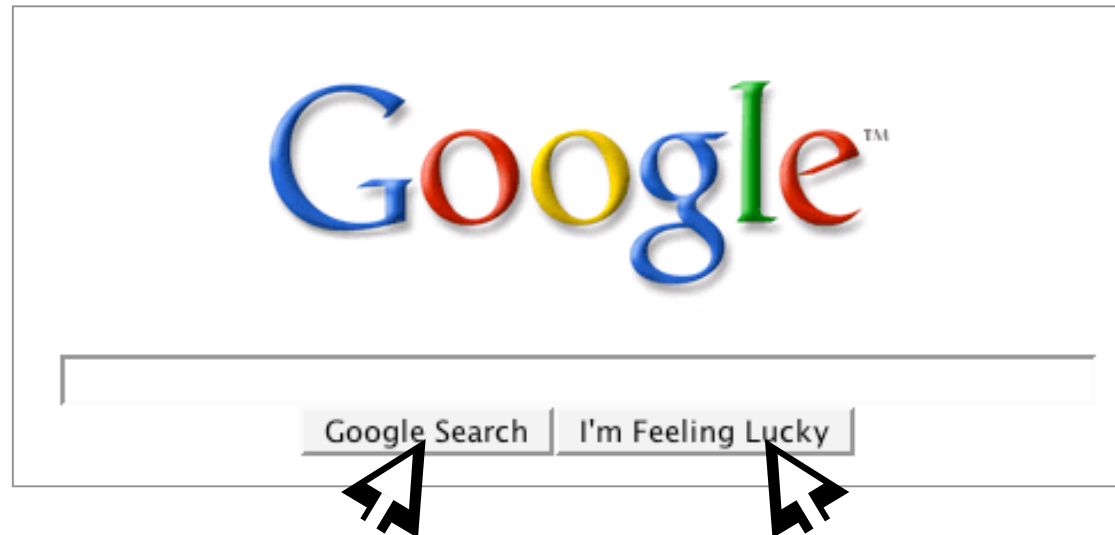
# Tableau récapitulatif

|                                                                                     | Différence évolutive                                           | Trait de caractère                  | Méthodologies                                                                         | Gène                                    | Mutation                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|    | entre variétés de tomate                                       | Forme des fruits                    | Cartographie de QTL<br>BAC, séquençage, transgénèse                                   | <i>OVATE</i>                            | Région codante, probablement perte de fonction du gène |
|    | entre individus <i>P. plagiophthalmus</i>                      | Couleur des organes bioluminescents | Gène candidat<br>Test in vitro des protéines                                          | <i>Luciférase</i> (enzyme)              | Région codante, changement de fonction                 |
|   | entre <i>D. melanogaster</i> et <i>D. sechellia</i> (2.5MA)    | Perte de trichomes larvaires        | Test de complémentation,<br>Test des régions cis-régulatrices par transgénèse         | <i>svb</i> (facteur de transcription)   | Région cis-régulatrice                                 |
|  | entre <i>D. melanogaster</i> et <i>D. quadrilineata</i> (60MA) | Soies thoraciques surnuméraires     | Comparaison patron d'expression,<br>Test des régions cis-régulatrices par transgénèse | <i>scute</i> (facteur de transcription) | Région cis-régulatrice                                 |

# **Méthodes pour identifier les mutations responsables de l'évolution**

---

# Deux types d'approches



**Cartographie de QTL**

**gène candidat**

**pas d'idée a priori, moins de biais  
long et laborieux,  
se termine rarement par l'identification du gène**

**basée sur une idée a priori  
peut être rapide et performant**

**possible seulement sur des espèces/souches  
qui peuvent se croiser**

**ne trouvera que des gènes déjà connus**

**Dans les deux cas: les gènes à faible effet sont plus difficiles à identifier**

# Diverses méthodologies

## Génétique

Cartographie du chromosome impliqué (ex : autosomal versus sexuel)

Cartographie de QTL et ses variantes

Associations génétiques

Test de complémentation

## Biologie générale

Connaissance des gènes impliqués dans le processus biologique

Congruence avec un phénotype mutant connu

Corrélation avec le changement du patron d'expression d'un gène

## Test définitif des différentes protéines

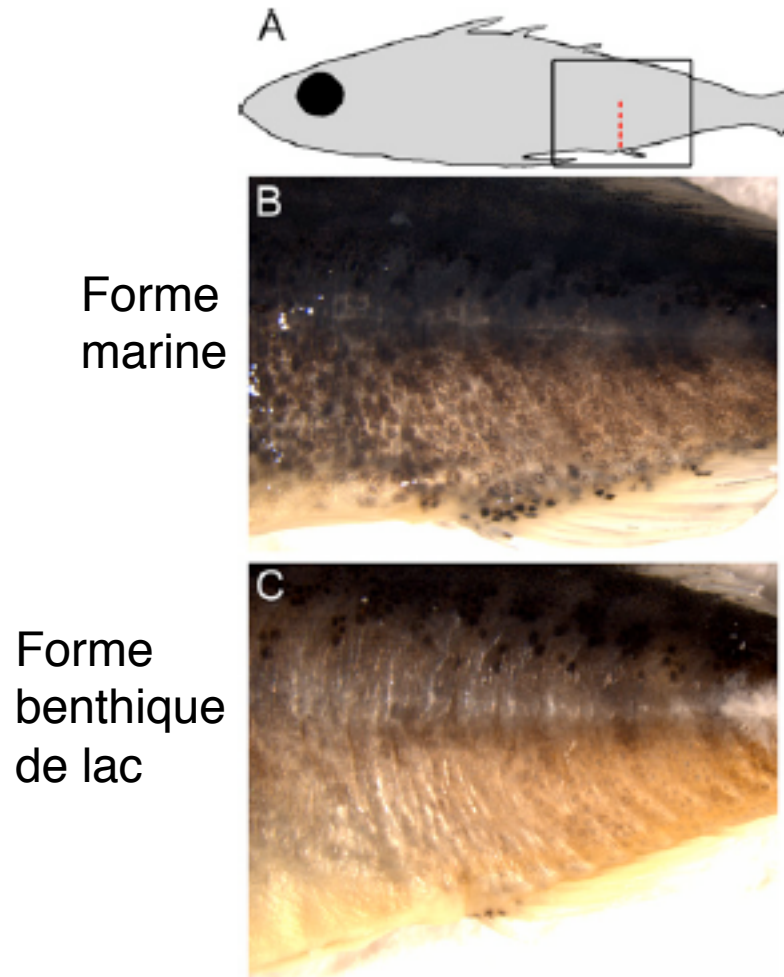
in vitro dans *E. coli*, par transgénèse chez l'espèce en question ou chez l'espèce modèle la plus proche (ex: *period* de *D. simulans* testé chez *D. melanogaster*, *beta-defensin* des chiens de race noirs testé chez la souris...)

## Test définitif des différentes régions cis-régulatrices

- (1) par transgénèse des 2 régions et comparaison
- (2) par comparaison du profil d'expression des deux allèles dans des hybrides

# Un exemple de comparaison du profil d'expression des deux allèles dans des hybrides

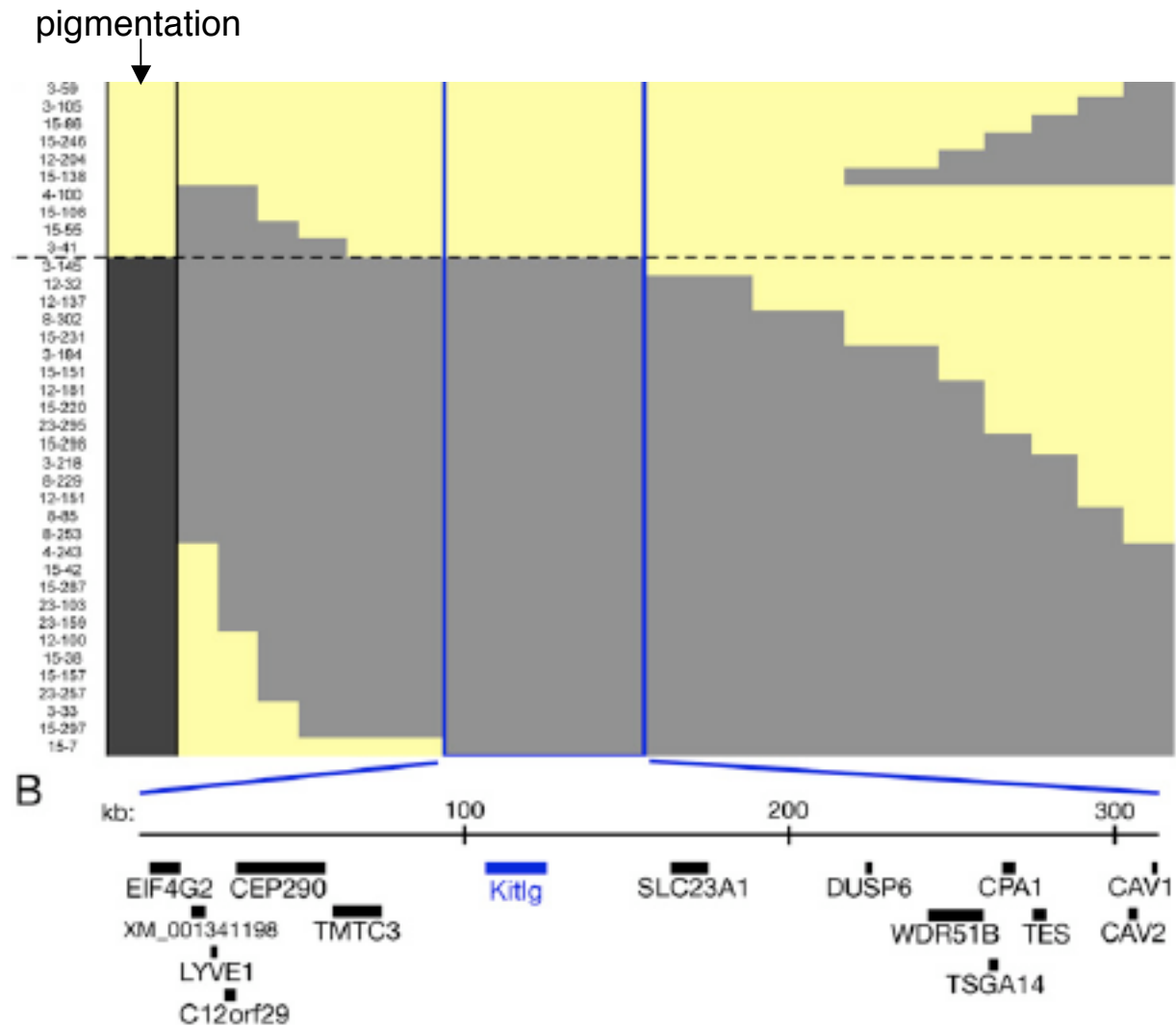
évolution de la pigmentation des épinoches



(Miller et al., 2007 Cell 131, 1179)

# Cartographie de QTL

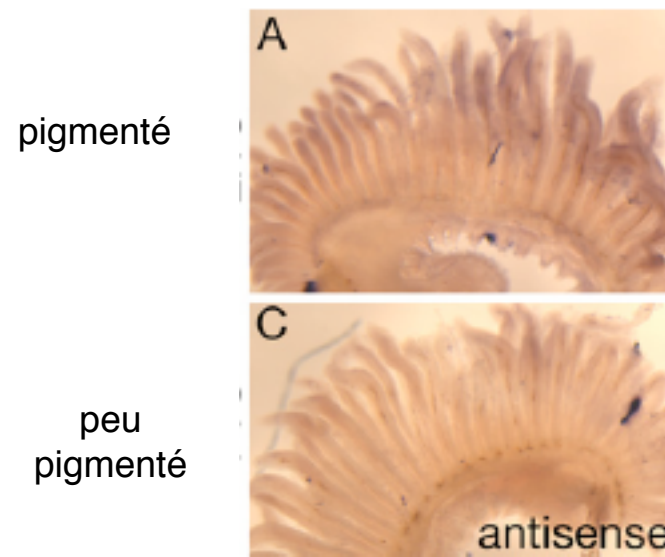
## série de recombinants informatifs



***Kitlg* = ligand de kit, contrôle la position des mélanocytes**

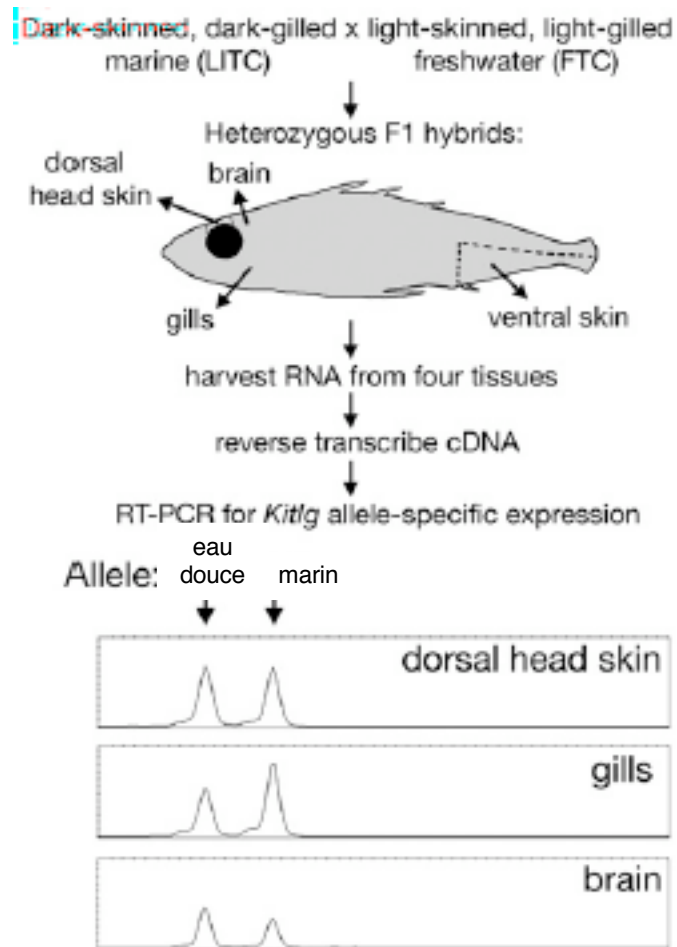
**Seulement 2 SNP dans des régions non conservées**

**Corrélation entre la perte de pigmentation et le niveau d'expression de *Kitlg***

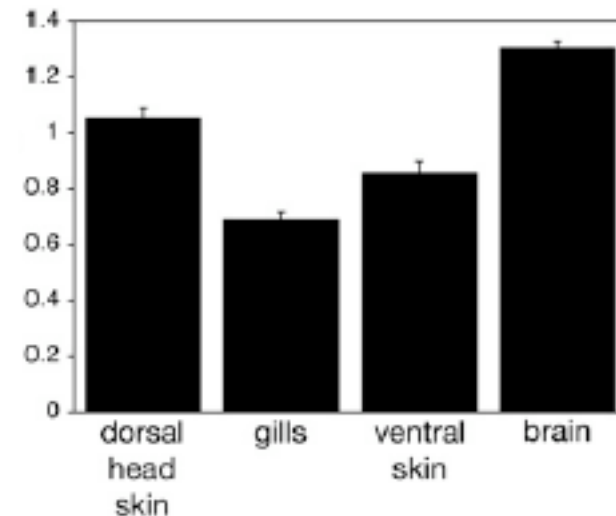




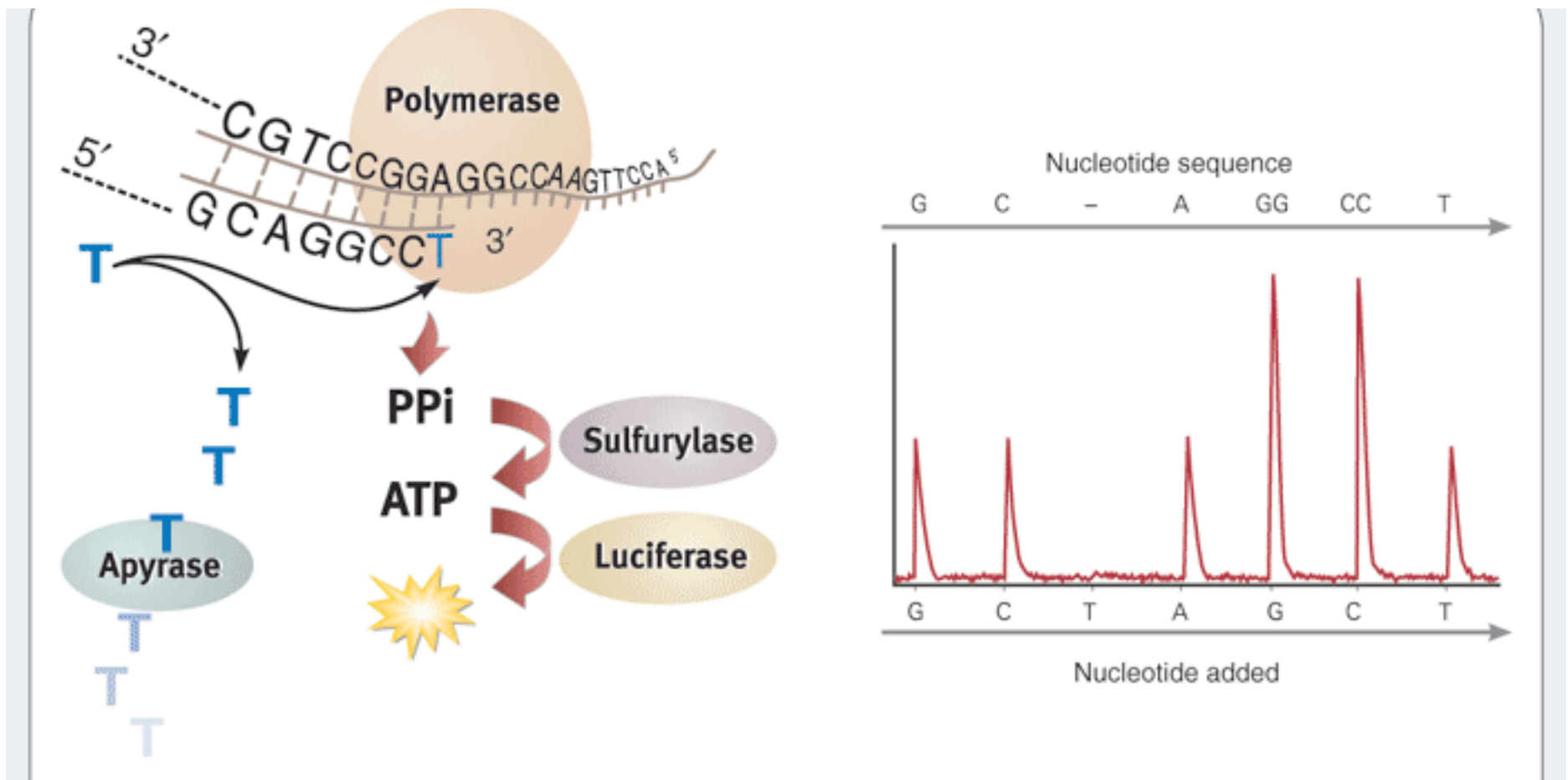
# Comparaison du profil d'expression des deux allèles dans des hybrides par pyroséquençage



ratio niveau d'expression de  
l'allèle eau douce/ allèle marin



# Principe du pyroséquençage



# Diverses méthodologies

## Génétique

Cartographie du chromosome impliqué (ex : autosomal versus sexuel)

Cartographie de QTL et ses variantes

Associations génétiques

Test de complémentation

## Biologie générale

Connaissance des gènes impliqués dans le processus biologique

Congruence avec un phénotype mutant connu

Corrélation avec le changement du patron d'expression d'un gène

## Test définitif des différentes protéines

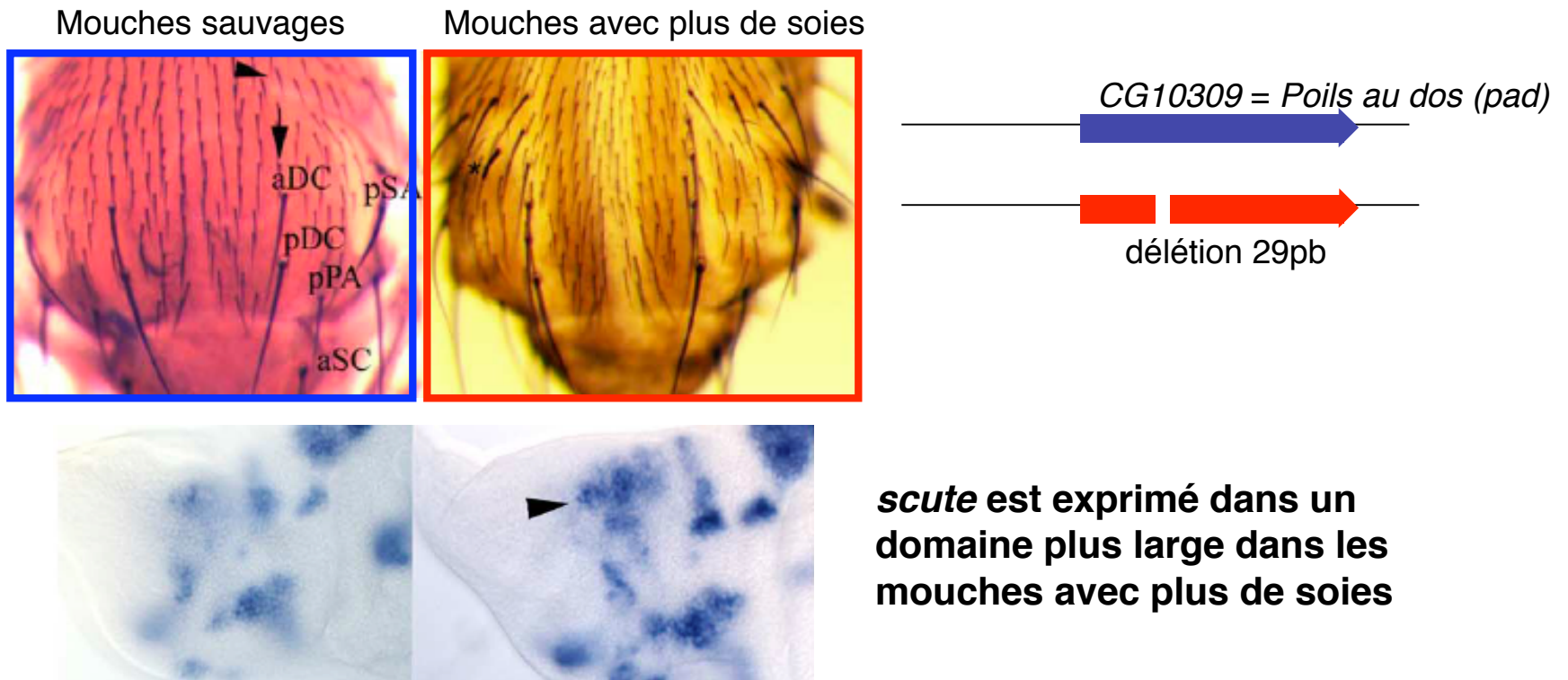
in vitro dans *E. coli*, par transgénèse chez l'espèce en question ou chez l'espèce modèle la plus proche (ex: *period* de *D. simulans* testé chez *D. melanogaster*, *beta-defensin* des chiens de race noirs testé chez la souris...)

## Test définitif des différentes régions cis-régulatrices

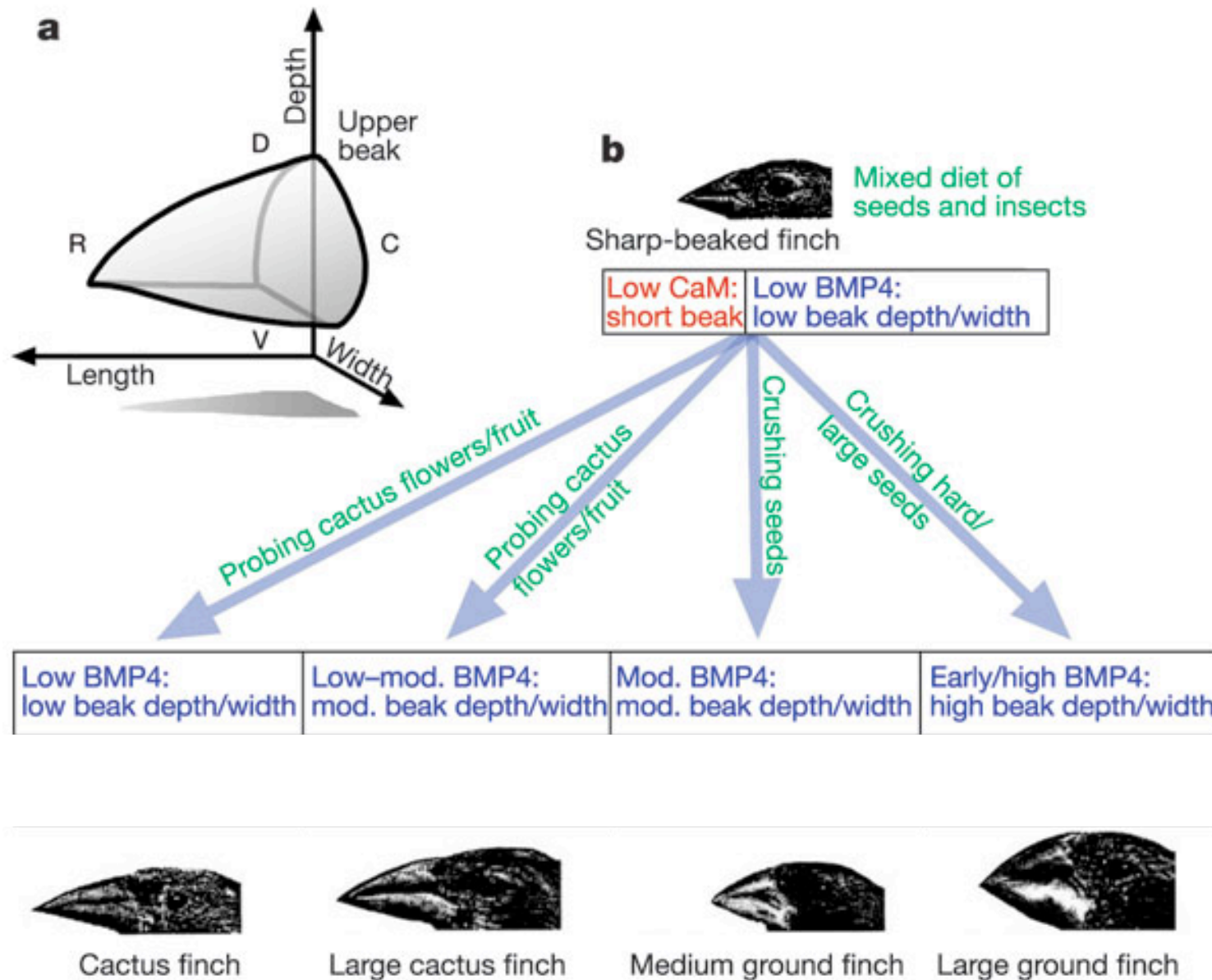
- (1) par transgénèse des 2 régions et comparaison
- (2) par comparaison du profil d'expression des deux allèles dans des hybrides

# Attention aux corrélations phénotype / changement du patron d'expression d'un gène

Dans une population *D. melanogaster* de Marrakech, Maroc



# Exemple célèbre de *BMP4* chez les pinsons

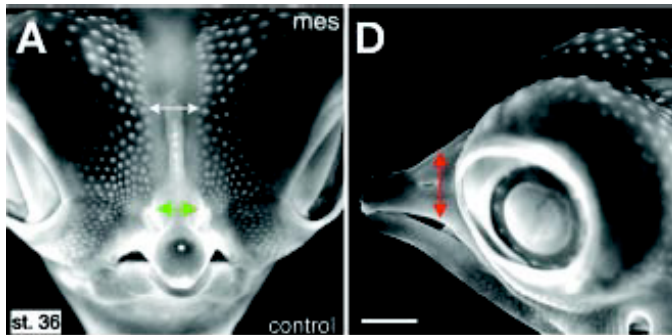


## Corrélation grosseur du bec / niveau d'expression de BMP4

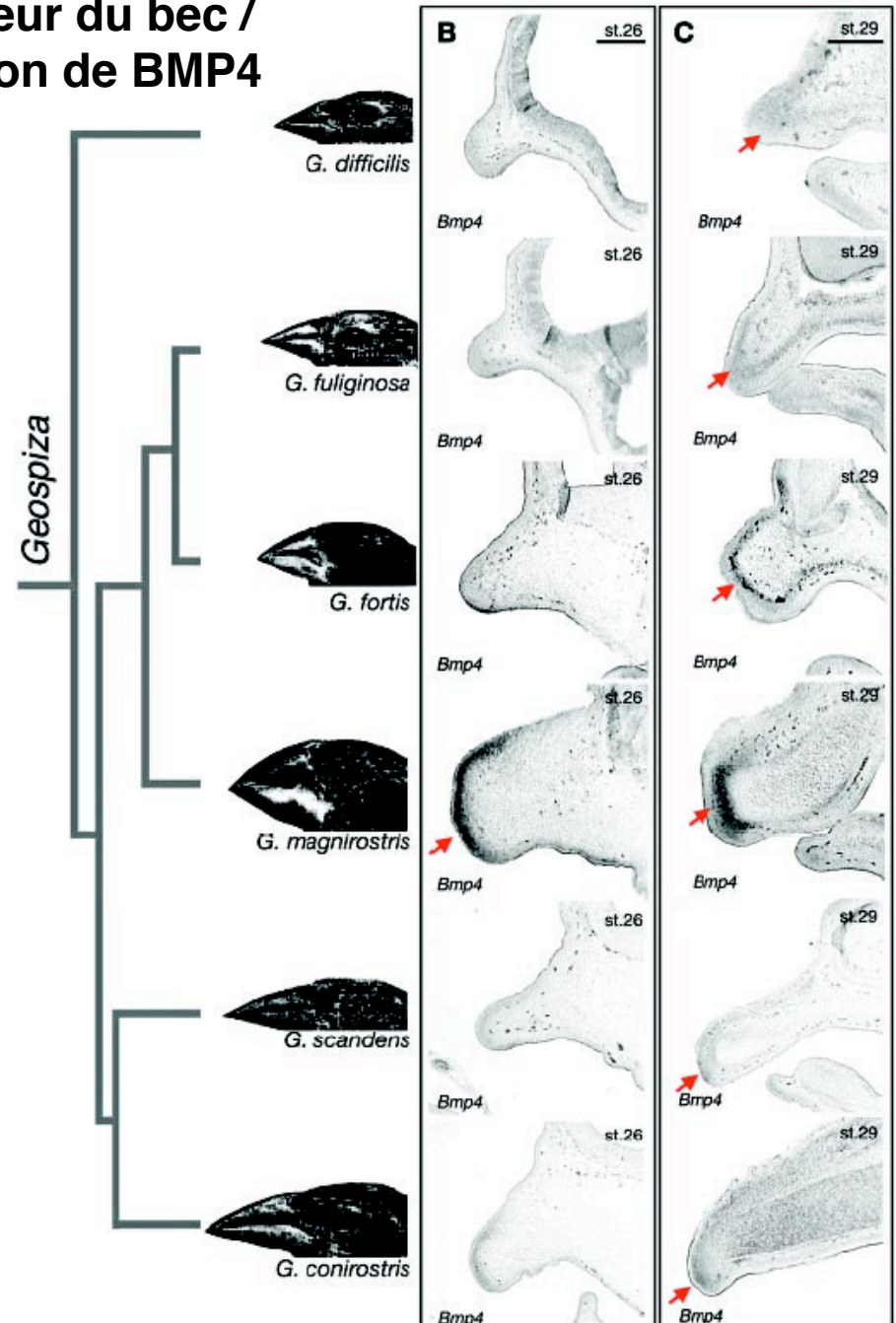
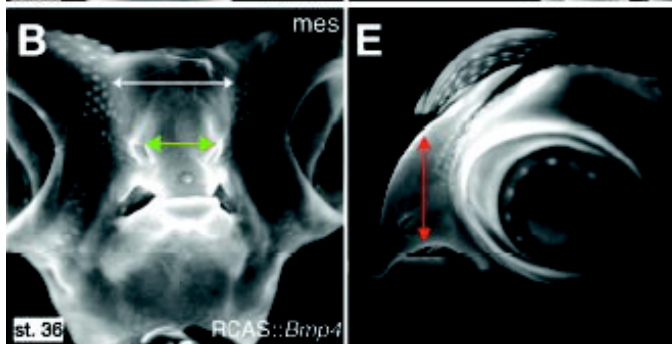
**BMP4 = TGFbeta impliqué  
dans le développement des os**

**Surexpression de BMP4  
chez le poulet augmente la  
grosseur du bec**

sauvage



surexpression  
de BMP4



(Abzhanov et al. 2004 Science 5689, 1462)

# Principes généraux

---

## Mutations dans les régions régulatrices ou codantes?

*“regulatory sequence evolution must be the major contributor to the evolution of form.”*

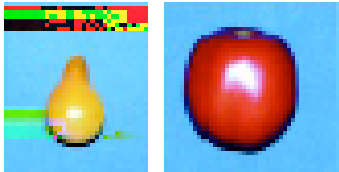
(Carroll 2005 PLoS Biology)

*“Neither the theoretical arguments nor the data from nature support the claim for a predominance of cis-regulatory mutations in evolution.”*

(Hoekstra and Coyne 2007 Evolution)



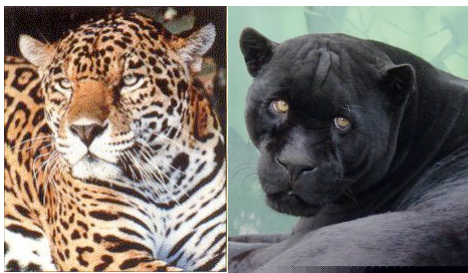
*OVATE* coding region  
(Liu 2002)



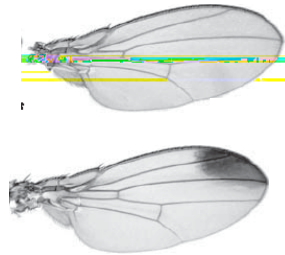
*myostatin* coding region  
(Grobet 1997)



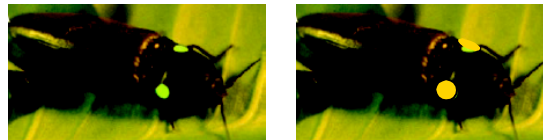
*Mc1r* coding region  
(Eizirik 2003)



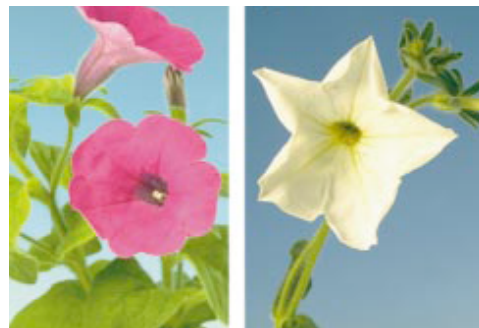
*yellow* cis-reg. region  
(Prud'homme 2006)



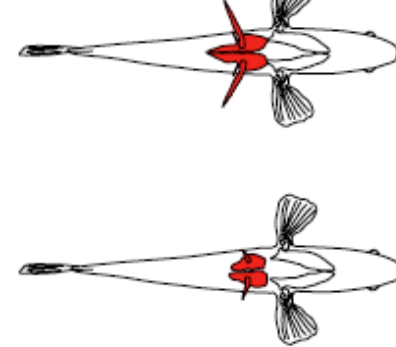
*luciferase* coding region  
(Stolz 2003)



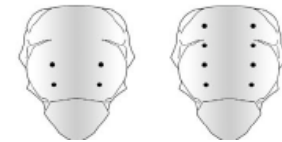
*anthocyanin-2* coding region  
(Quattrocchio 1999)



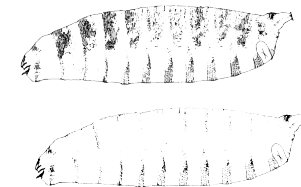
*Pitx1* cis-reg. region  
(Shapiro 2004)



*scute* cis-reg. region  
(Marcelini 2006)

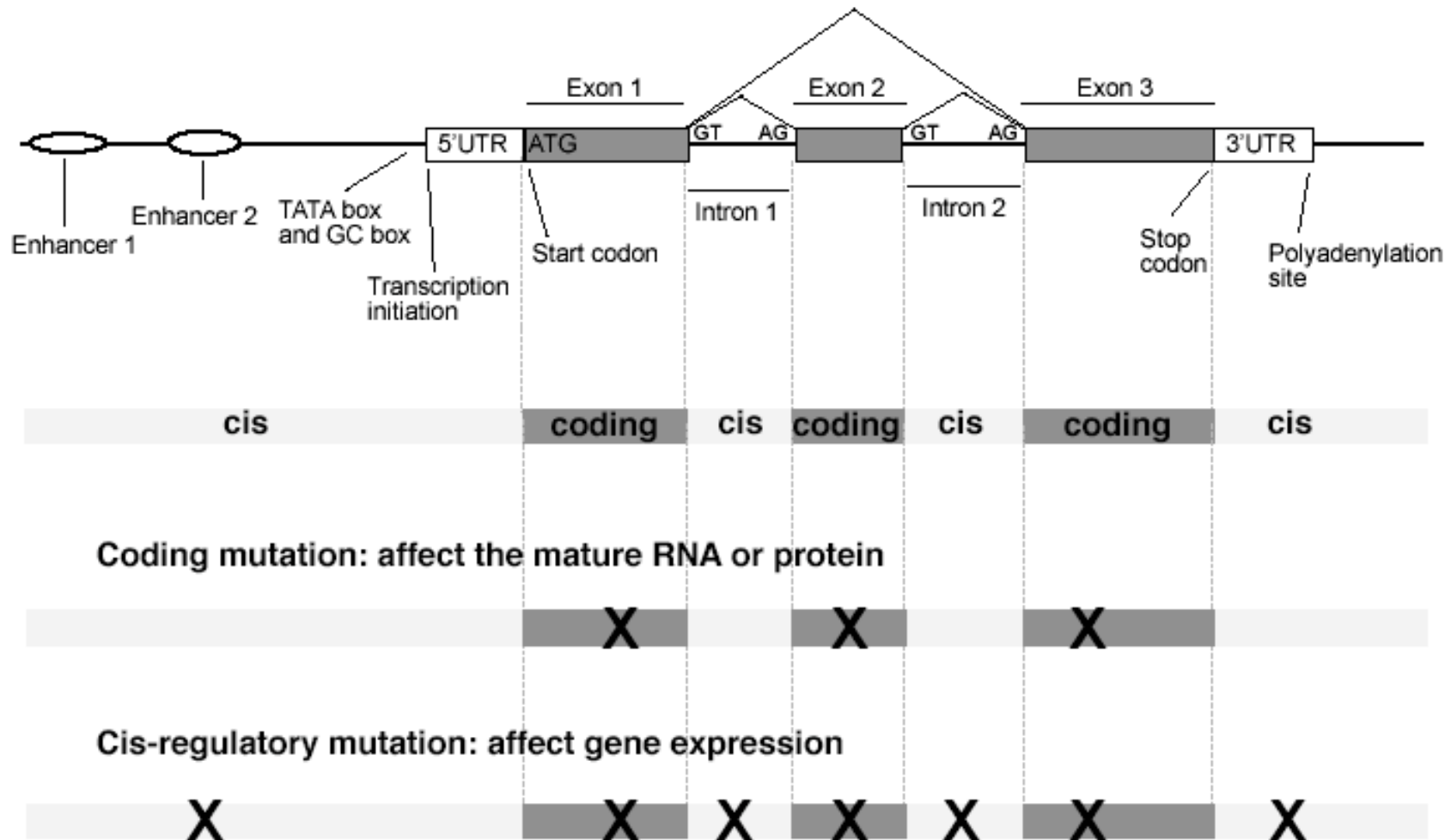


*svb* cis-reg. region  
(McGregor 2007)

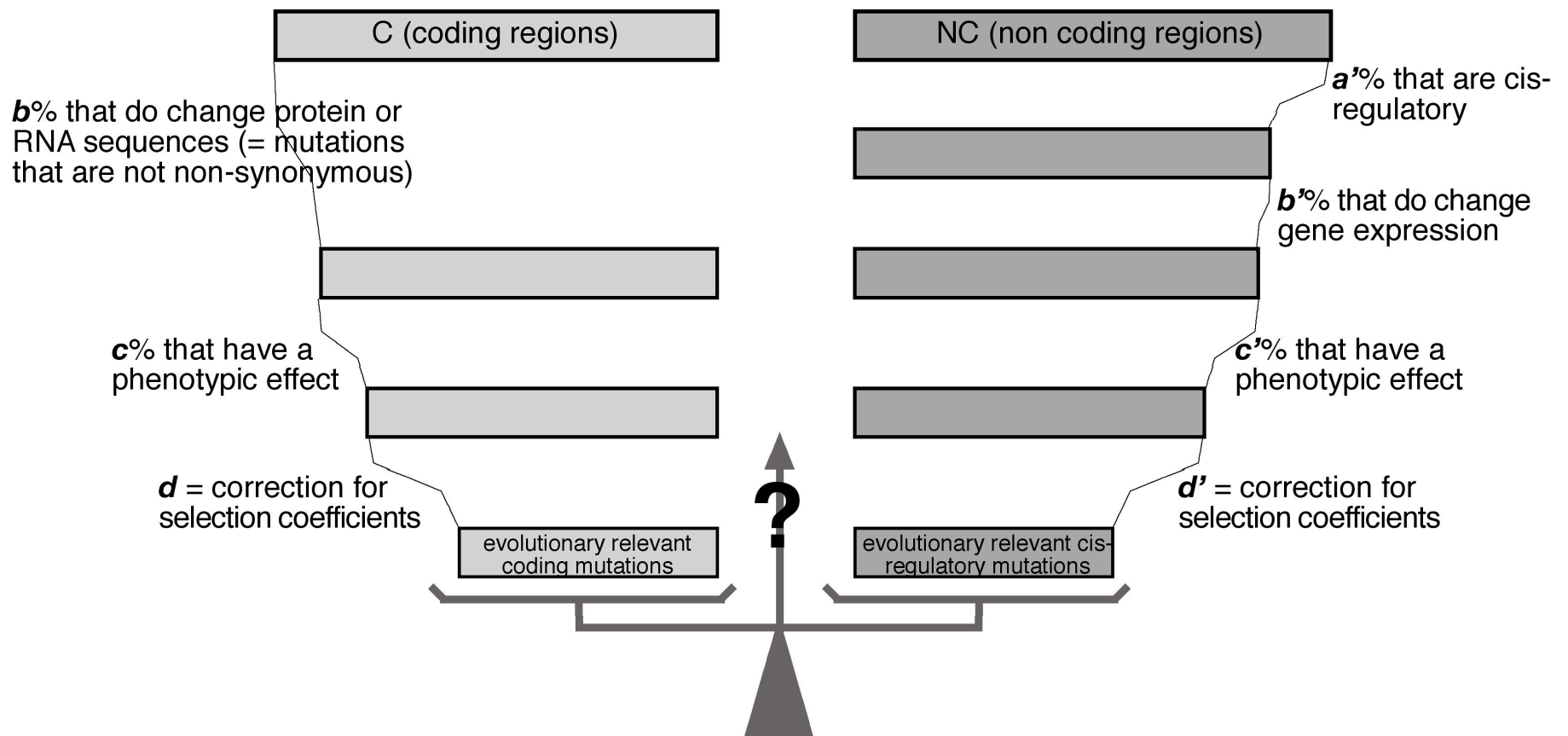




**Three categories of genetic changes:**  
**(1) coding, (2) cis-regulatory,**  
**(3) other (gene loss, gene amplification, gene rearrangement, etc.)**



# Multiple factors influence the distribution of cis-regulatory and coding mutations



***Evolgene***, a database of the evolutionary relevant genes

***What?***

Purcellular organisms

(Deleterious phenotypes and selection in laboratory not included)

Domesticated species included

Based on genetic or molecular evidence

***Important biases in the data***

More genes with known function

more coding than cis-regulatory changes

-> *we can only make comparisons*

A few genes are more represented

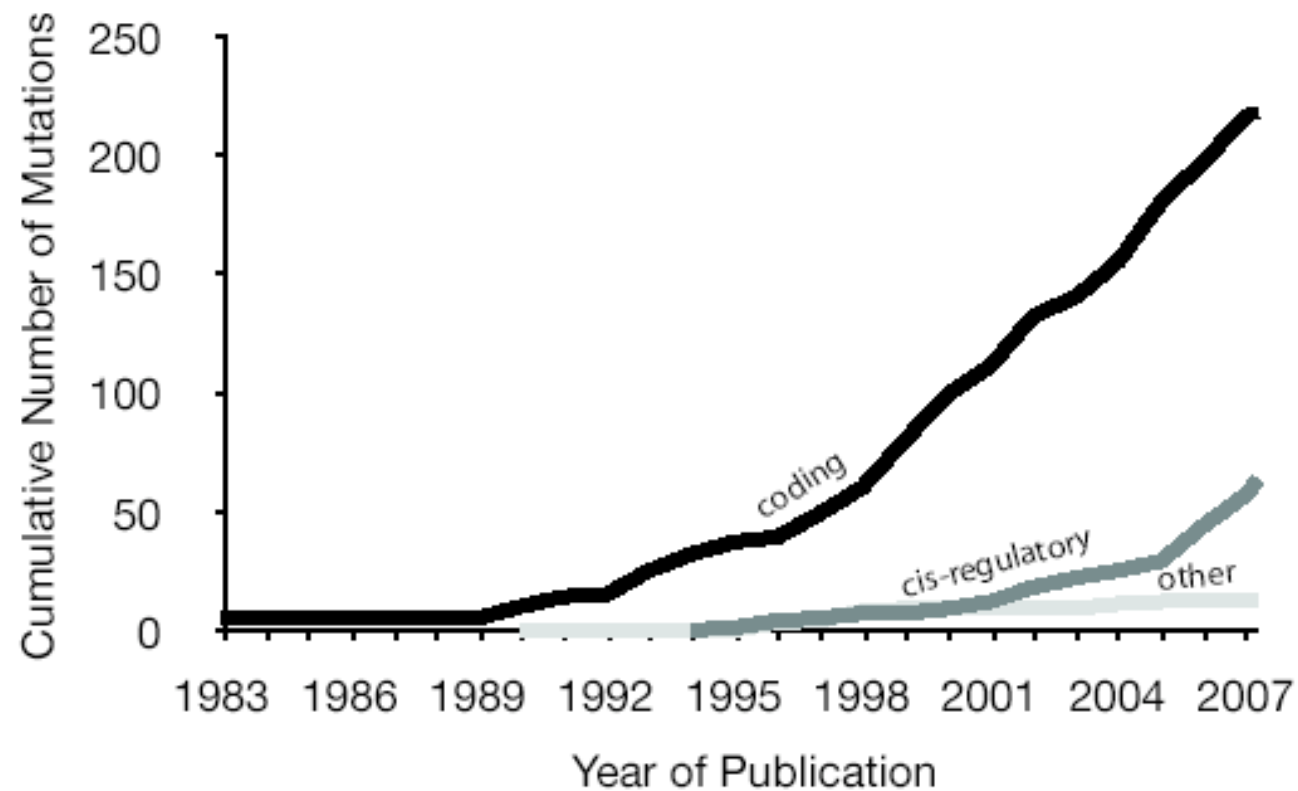
*“regulatory sequence evolution must be  
the major contributor to the evolution of form.”*

(Carroll 2005 PLoS Biology)

### **Evolgene:** more coding than cis

|                     | Plants | Animals |
|---------------------|--------|---------|
| Coding <sup>1</sup> | 65     | 153     |
| Cis-regulatory      | 21     | 43      |
| Other <sup>2</sup>  | 10     | 7       |
| Total               | 96     | 203     |
| Null <sup>3</sup>   | 61     | 30      |

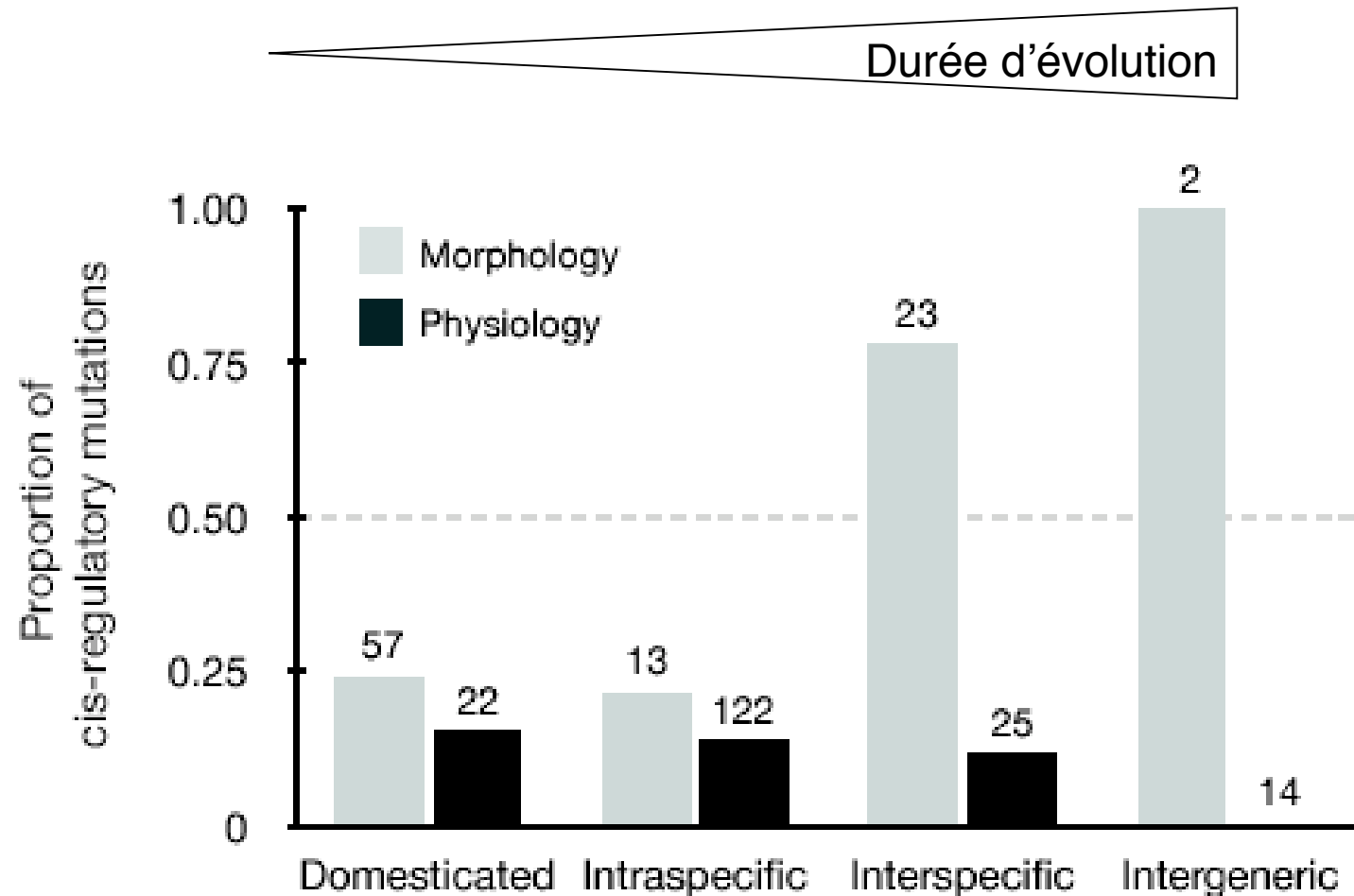
## The rate of reported cases of cis-regulatory changes is increasing



**More cis-regulatory changes  
for morphology than for physiology**

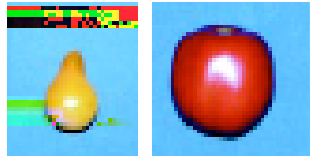
|                        | Morphology | Physiology | Behavior |
|------------------------|------------|------------|----------|
| Coding <sup>3</sup>    | 58         | 158        | 2        |
| <i>Cis</i> -regulatory | 37         | 25         | 2        |
| Other <sup>4</sup>     | 3          | 14         | 0        |
| Total                  | 98         | 197        | 4        |
| Null <sup>5</sup>      | 42         | 49         | 0        |

## The proportion of cis-regulatory mutations varies with taxonomic level

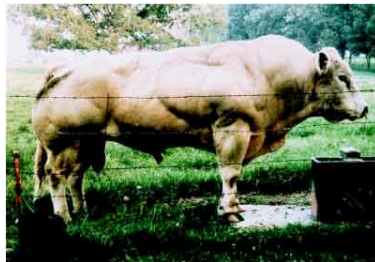


## Codant: changement global

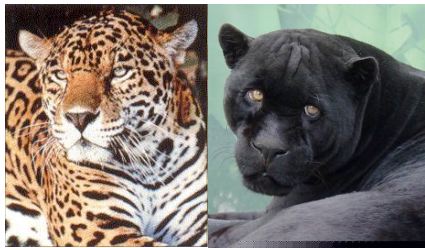
*OVATE* coding region  
(Liu 2002)



*myostatin* coding region  
(Grobet 1997)

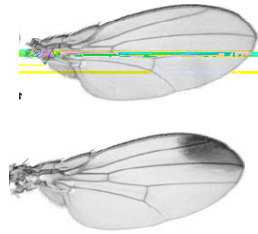


*Mc1r* coding region  
(Eizirik 2003)

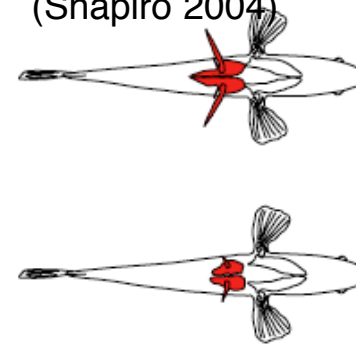


## Cis-régulateur: changement local

*yellow* cis-reg. region  
(Prud'homme 2006)



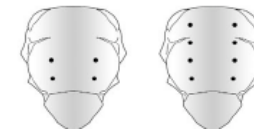
*Pitx1* cis-reg. region  
(Shapiro 2004)



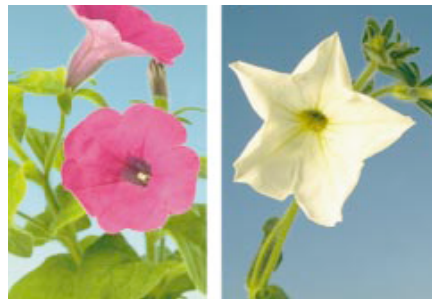
*luciferase* coding region  
(Stolz 2003)



*scute* cis-reg. region  
(Marcelini 2006)



*anthocyanin-2* coding region  
(Quattrocchio 1999)



*svb* cis-reg. region  
(McGregor 2007)





## **Conclusion: *cis-régulateur versus codant ?***

Plus de cas connus de mutations dans les régions codantes  
(mais il existe un biais expérimental)

Changement morphologique local versus changement global

Morphologie versus physiologie : plus de mutations codantes  
pour les caractères physiologiques

Les mutations responsables de la macroévolution sont peut-être  
différentes des types de mutations impliquées dans les  
différences intraspécifiques.