

115 - TP1 Le génotype détermine le phénotype : exemple de l'albinisme

L'albinisme est une anomalie de pigmentation qui peut toucher la peau, les yeux, les poils et les cheveux. Le terme albinisme dérive d'ailleurs du mot latin « albus » qui signifie blanc. Cette anomalie est associée à une déficience visuelle. Elle touche environ 6000 personnes en France.

Pb : Quelles sont les conséquences moléculaires du génotype à l'origine du phénotype macroscopique albinos ?

Activité 1 : Vérifier expérimentalement le rôle de la tyrosinase dans la synthèse de la mélanine

Suivre un protocole

Les mélanocytes produisent de la mélanine, pigment brun, qui donne sa couleur à la peau. La mélanine est synthétisée à partir d'un acide aminé : la tyrosine que l'on trouve dans nos aliments. Cette synthèse se déroule en plusieurs étapes et nécessite en particulier **une enzyme (= biocatalyseur) : la tyrosinase**.

Hypothèse à vérifier par cette expérience : la tyrosinase est nécessaire pour produire de la mélanine à partir de tyrosine.

1) **Suivre le protocole** (fiche jointe) pour extraire la tyrosinase du champignon et ensuite vérifier expérimentalement l'hypothèse.

Appeler le professeur pour montrer vos résultats.

2) **Présenter** vos résultats, **conclure** puis **proposer des hypothèses** sur l'origine de l'absence de mélanine chez les albinos.

Matériel et supports :

- Champignons de Paris frais, scalpel, mortier et pilon froid, sable, eau distillée froide, entonnoir, filtre, 4 tubes à essais, pipettes 2 ou 5 ml, petit bécher, feutre.

Production attendue :

- Expérience réalisée.

- Résultats présentés de façon judicieuse PAS DE TEXTE, conclure sur le rôle de la tyrosinase.

Protocole Activité 1

1) Extraire de la tyrosinase (enzyme) à partir de champignons de Paris

Matériel et support:

Champignons de Paris frais, scalpel, mortier et pilon froid, sable, bécher, entonnoir, filtre, tube à essais.

Préparation de la solution de tyrosinase :

1. Enlever toutes les parties colorées puis **découper en très petits morceaux (0,5cm) les parties blanches** des chapeaux des champignons de Paris.
2. **Broyer rapidement** dans mortier froid avec 10 mL d'eau distillée froide et un peu de sable.
3. Filtrer dans un tube à essais et **conserver le filtrat où est contenu l'enzyme appelée tyrosinase**. (mettre F pour filtrat au feutre sur le tube)

2) Vérifier le rôle de la tyrosinase extraite précédemment

Matériel et support:

Solution de tyrosine, solution de tyrosin**ase** (enzyme) **que vous venez de réaliser**, eau distillée froide, pipettes et dispositif de pipetage, feutre, 4 tubes à essais par portoir, bécher (10mL visible).

Pour éviter les contaminations, les solutions doivent être pipetées avec des pipettes différentes

1. Numérotez (en haut) vos tubes à essais 1, 2 et 3 à l'aide du feutre. **Vous devez préparer comme suit vos 3 tubes en même temps donc vous travaillez par produit à répartir.**

2. Dans le tube à essais n°1 : déposer 2 mL de solution de tyrosine et 2 mL d'eau distillée.
3. Dans le tube à essais n°2 : déposer 2 mL de solution de tyrosin**ase** (enzyme) et 2 mL d'eau distillée.
4. Dans le tube à essais n°3 : déposer 2 mL de solution de tyrosin**ase** (enzyme) et 2 mL de solution de tyrosine.

5. Placer les trois tubes **10 minutes au bain marie à 37°C**.

6. Observer les tubes à T0 et les résultats obtenus à T10 (minutes).

Appeler le professeur pour montrer les résultats.

Activité 2 : Utiliser des comparaisons de séquences (logiciel anagène) pour mettre en évidence un génotype particulier chez les individus atteints d'albinisme

Utiliser un logiciel de comparaison de séquences

Le gène responsable de la synthèse de tyrosinase existe sous différentes versions alléliques :

tyrcod1.cod chez les individus sains

tyralba1.cod chez les individus albinos étudiés dans ce TP (d'autres allèles de ce gène existent).

Comparez des séquences nucléotidiques des allèles et des protéines chez un individu témoin (sain) et chez un individu atteint d'albinisme à l'aide d'un logiciel : anagène.

Protocole :

Ouvrir anagène (bureau de l'ordinateur → logiciels SVT → anagène)

A- Comparez les séquences nucléotidiques de ces allèles :

- 1) Dans fichier → ouvrir la banque de séquences, ouvrir le dossier « le gène de la tyrosinase » et sélectionner les deux séquences de nucléotides de tyrcod1.cod et tyralba1.cod
- 2) Traiter en comparaison simple les deux séquences, en prenant la séquence tyrcod1.cod en référence (ligne du haut). Si ce n'est pas le cas vous pouvez inverser l'ordre des deux lignes avec le curseur à gauche.

B- Comparez les protéines correspondantes aux 2 allèles :

- 3) A la séquence de nucléotides d'un allèle, correspond une séquence d'acides aminés formant une protéine. A l'aide du logiciel, faites correspondre pour tyrcod1.cod et tyralba1.cod. la séquence des acides aminés des protéines tyrcod1.cod et tyralba1.cod. : sélectionnez les séquences des allèles → traiter → convertir en séquence peptidique, traduction simple → cochez « placer le résultat dans la fenêtre affichage/édition ».
- 4) **Comparez (simple)** les deux séquences des protéines en prenant la séquence de la protéine de l'allèle tyrcod1.cod en référence (ligne du haut).

Matériel :

- Logiciel Anagène (dans dossier SVT), séquence gène de la tyrosinase normale ou mutée.

Production attendue :

Tableau de comparaison ci-dessous des séquences ADN et protéines à compléter.

Activité 2 : Tableau de comparaison des séquences obtenues avec anagène pour les allèles tyrcod1 et TyrAlbacod1:

Allèle	ADN			Polypeptide		
	Longueur (en nucléotides)	Position du changement	Nature du changement	Longueur (en acides aminés)	Position du changement	Nature du changement
Tyrcod1						
TyrAlbacod1						

Activité 3 : Identifier le phénotype moléculaire

raisonner

Préciser les caractéristiques de la tyrosinase chez les individus atteints d'albinisme (doc 1 et résultats activité 2 avec anagène). Vous répondez ainsi à l'une des deux hypothèses formulées dans l'activité 1.

La modification de cette enzyme qui est une **protéine (peptide) correspond au phénotype moléculaire** du phénotype albinos.

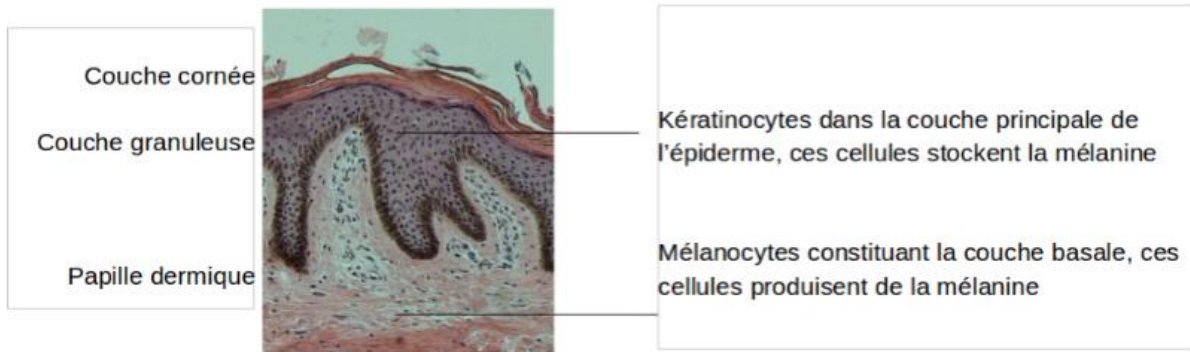
Production attendue :

Texte de moins de 10 lignes

Bilan : A partir de l'ensemble des ressources que vous mettez en relation, complétez le schéma proposé pour montrer que l'albinisme a pour origine un génotype particulier qui détermine un phénotype à différentes échelles : moléculaire, cellulaire et à l'échelle de l'organisme (= appelé macroscopique).

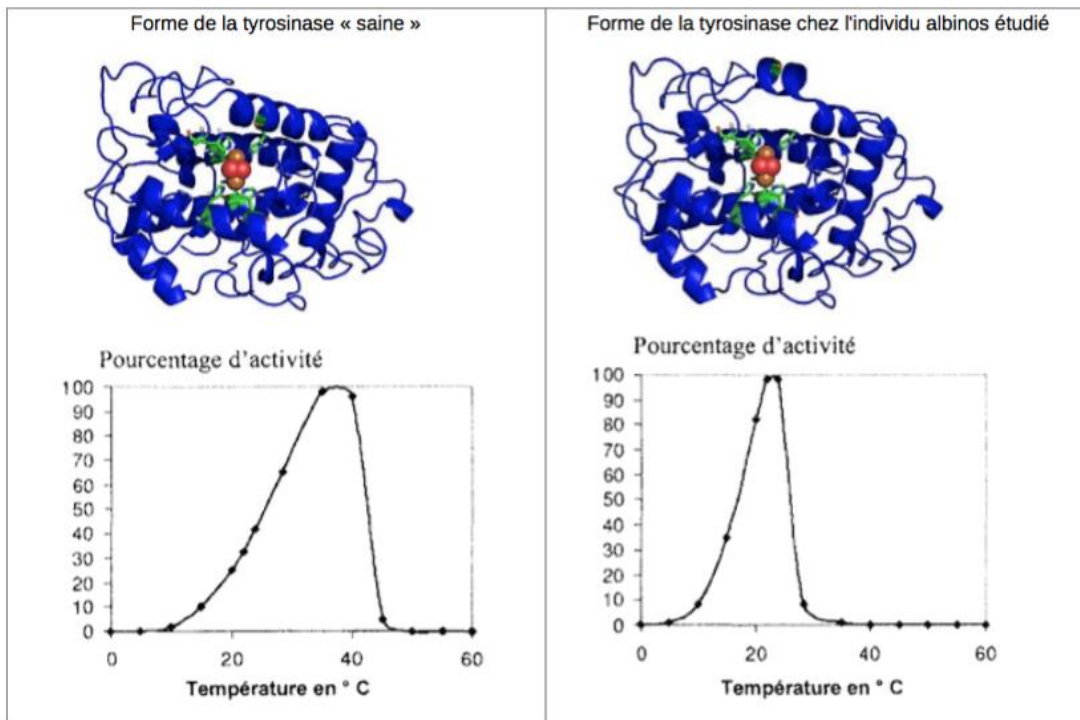
Document de référence : identification des constituants d'une peau humaine

Microphotographie d'une coupe de peau d'un individu non albinos, au microscope optique (X100)



Doc 1 : Deux tyrosinases à la forme et l'activité différente

La tyrosinase est constituée d'une chaîne peptidique de 530 acides aminés repliée sur elle-même. Comme pour la plupart des molécules, la forme tridimensionnelle (= en 3D) de la molécule détermine son activité biologique : si la forme de la molécule est modifiée cela pourra modifier l'activité de la tyrosinase.



Document 2: Des aspects phénotypiques de l'albinisme

L'albinisme se manifeste par des anomalies de pigmentation mais ce seul critère ne suffit pas à le diagnostiquer. Des changements dans les yeux et le système visuel ont été observés dans tous les cas d'albinisme oculo-cutané. L'iris et la rétine étant dépigmentés, les pupilles apparaissent rouges du fait de la réflexion de la lumière sur l'arrière de l'œil, très riche en vaisseaux sanguins. Beaucoup d'albinos sont photophobes (sensibilité accrue à la lumière) et la plupart présentent un strabisme et un développement altéré des voies nerveuses visuelles.

Dans le cas d'albinisme étudié lors du TP, les mélanocytes et les kératinocytes sont présents, mais les mélanocytes ne produisent pas de mélanine.

Schéma bilan du TP 1 :

Durée de l'activité :

Titre : ...

Génotype

Phénotype...

Phénotype...

Phénotype...

Critères de réussite du schéma bilan :

- Titre général complété,
- Titre complété des différentes échelles de phénotypes qui sont représentés par des rectangles,
- Connecteurs logiques liant les rectangles (flèches avec légende de signification de la flèche),
- Informations, précisant les différents phénotypes, à mettre dans les rectangles (informations issues de l'ensemble des ressources à votre disposition).