

TRAVAUX PRATIQUES

Virtual Genetics Lab (VGL) II

<http://intro.bio.umb.edu/vgl/>

The screenshot displays the VGL II software interface with several cages and a summary table. The cages show the following data:

- Cage 1:** 07♂ Pointu, 07♀ Pointu; 10♂ En Zigzag, 05♀ En Zigzag.
- Cage 3:** 11♂ Pointu, 16♀ Pointu. Parents: ♂ (1) Corps-Pointu, ♀ (1) Corps-Pointu.
- Cage 5:** 16♂ En Zigzag, 16♀ En Zigzag. Parents: ♂ (3) Corps-Pointu, ♀ (4) Corps-En Zigzag.
- Cage 6:** 16♂ En Zigzag, 18♀ En Zigzag. Parents: ♂ (3) Corps-Pointu, ♀ (4) Corps-En Zigzag.
- Cage 9:** 11♂ Pointu, 07♀ Pointu; 06♂ En Zigzag, 09♀ En Zigzag. Parents: ♂ (3) Corps-Pointu, ♀ (5) Corps-En Zigzag.

The summary table (Tableau Récapitulatif) is as follows:

Phénotype	Mâles	Femelles	Total
Corps-Pointu	24	33	57
Corps-En Zigzag	20	24	44

At the bottom right, there are four images of dragonflies illustrating different body types: Pointu (top left), En Zigzag (top right), and two variations of En Zigzag (bottom left and bottom right).

2009-2010

Conception niveau Licence année 2:

Pr. Sophie JAVERZAT, Université de Bordeaux 1, sophie.javerzat@u-bordeaux1.fr
 Pr. Brian WHITE, University of Boston, brian.white@umb.edu

OBJECTIFS

- Utiliser vos connaissances de la génétique pour effectuer et interpréter des croisements afin d'établir le déterminisme génétique expliquant des variations de phénotypes chez des individus diploïdes.
- Effectuer suffisamment de croisements pour produire toutes les évidences du modèle génétique supporté par les tests statistiques.
- Rédiger vos résultats en utilisant des conventions standard d'article de recherche. Ceci vous familiarisera avec la démarche scientifique jusqu'à son aboutissement: la publication des résultats.

DESCRIPTION

Pour plus d'informations sur les différentes commandes/menus consulter le menu "Aide" de l'application.

VGL est un outil de simulation de résultats génétiques. VGL crée aléatoirement une population d'individus fictifs capturés dans une cage initiale (Cage 1) et présentant des variations phénotypiques discontinues. Pour de vraies illustrations de polymorphisme, consulter:

http://www.faune-flore.be/animaux_belgique/identification_odonate_libellule.htm

Comme dans un laboratoire, vous sélectionnez des individus pour initier des croisements justifiés par l'hypothèse que vous voulez tester. VGL vous indique la composition de la descendance dans une nouvelle cage (n'incluant pas les parents).

Une nouvelle analyse débute donc avec le descriptif de la cage initiale contenant une population de créatures récoltées dans la nature. Chacune de ces créatures va présenter un des différents phénotypes (traits) afférents à un, deux ou trois caractères (par exemple, pour le caractère "couleur du corps", trois phénotypes représentés dans la cage ([noir], [vert] ou [rouge])). Votre objectif est de découvrir comment ces caractères sont transmis. Vous allez procéder à une démarche génétique en sélectionnant des individus, en les croisant, et en observant leur descendance. Vous allez ainsi utiliser ces résultats pour démontrer le déterminisme génétique qui explique le mode de transmission de ces caractères. Vous devez décider judicieusement des croisements et en réaliser suffisamment pour être assuré que le résultat est statistiquement significatif et donc interprétable.

Les Déterminismes Génétiques explorés dans VGLII

Sont variables dans la population initiale: le nombre de gènes en ségrégation, le nombre d'allèles par gène, la relation de dominance complète ou incomplète; la localisation des gènes (autosomal ou sur un chromosome sexuel); le genre hétérogamétique, mâle ou femelle.

Enfin, les gènes peuvent être génétiquement indépendants ou liés; la fréquence de recombinaison peut donc varier entre 0% (gènes complètement liés) et 50% (gènes indépendants génétiquement).

FONCTIONNEMENT DE VGL, COMMANDES, MENUS

Comment Démarrer une Nouvelle Analyse

Quand vous démarrez VGLII, la barre de menu apparaît: A partir du menu "Fichier", sélectionner "Nouveau Problème" ou cliquer sur le bouton raccourci. Sélectionner le fichier indiqué par votre enseignant et cliquer sur le bouton "Ouvrir". Une fois que vous avez démarré un nouveau problème, une fenêtre (Cage 1) s'ouvre. Cette cage est le point de départ de votre projet.

ATTENTION: Les individus ne sont pas nécessairement issus de lignées pures. Les individus de même phénotype n'ont pas forcément le même génotype.

Ces nombres indiquent le nombre de mâles et de femelles de chaque classe phénotypique

Désigne les caractères impliqués dans ce problème

Ici tous les individus ont un corps courbé et une patte

Ici tous les individus ont un corps courbé et trois pattes

Ici tous les individus ont un corps long et une patte

Ici tous les individus ont un corps long et trois pattes

Désigne les phénotypes associés à chaque caractère que présente la catégorie d'individus

Cliquer sur le bouton "Images" pour une catégorie montrera une représentation de l'individu avec tous les phénotypes qui le caractérisent

Individus	Comptage	Corps	Patte	Images
♂♂ ♀♀ ♀♀ ♀♀	02♂ 04♀	Courbé	Une	🔍
♂♂♂♂♂♂ ♀	06♂ 01♀	Courbé	Trois	🔍
♂♂♂♂♂♂ ♂♂ ♀♀ ♀♀	08♂ 03♀	Long	Une	🔍
♂♂♂♂♂♂ ♀	04♂ 03♀	Long	Trois	🔍

Détails de l'individu
Corps-Long
Patte-Trois

Comment Ouvrir un Travail Sauvegardé

Vous pouvez utiliser cette fonction pour charger une analyse sur laquelle vous avez déjà commencé à travailler. Pour l'ouvrir, vous pouvez soit sélectionner "Ouvrir Une Analyse" à partir du menu déroulant ou cliquer le bouton de raccourci. Une boîte de dialogue s'ouvrira et vous aidera à sélectionner votre fichier en explorant l'arborescence des répertoires. Sélectionner le fichier et cliquer sur "Ouvrir". VGLII ouvrira l'analyse dans l'état de progression dans lequel vous l'avez laissée: vous retrouverez la cage de départ ainsi que toute la collection de cages que vous avez créées y compris celles que vous aviez fermées lors de la dernière session.

Comment Fermer une Analyse en Cours

Vous pouvez utiliser cette fonction pour fermer un problème sur lequel vous avez travaillé. Pour cela, cliquer sur "Fermer l'Analyse" à partir du menu déroulant "Fichier" ou sur le bouton de raccourci. Une boîte de dialogue s'ouvrira pour vous demander de confirmer votre décision. Si vous sélectionnez "Oui" et si l'analyse n'est pas sauvegardée, la boîte de dialogue vous proposera de sauvegarder l'analyse, vous pouvez ignorer cette action si vous ne souhaitez pas sauvegarder votre travail.

Comment Croiser Deux Individus

Pour croiser deux individus, vous devez sélectionner un mâle et une femelle à partir de n'importe laquelle des cages ouvertes dans la fenêtre (le mâle et la femelle peuvent provenir de deux cages différentes). Le mâle sélectionné apparaît en bleu et la femelle en rouge. Cliquer alors sur "Croiser" à partir du menu déroulant "Outils" ou sur le bouton de raccourci. Cette opération génère une nouvelle cage contenant la descendance de votre croisement. Les créatures virtuelles produisent des descendance de 25 individus en moyenne.

Si vous souhaitez augmenter l'effectif, re-cliquez sur le bouton "Cross" sans modifier le choix des parents. Si vous souhaitez croiser plusieurs fois le même individu avec des partenaires différents, cliquez sur son identifiant en tant que parent de la première cage de la série (en bas en vert) et choisissez le partenaire. Cela permet d'être sûr que vous testez le même individu et non pas un individu de même phénotype mais de génotype différent.

Fermer/ré-ouvrir des Cages

Vous pouvez utiliser cette fonction pour fermer/ré-ouvrir n'importe laquelle des cages que vous avez produites. Sélectionner "Cages" à partir du menu déroulant "Outils". Une fenêtre s'ouvrira avec la liste des cages ouvertes lors de votre session. Celles qui sont visibles sont cochées. Cochez simplement une cage fermée pour l'ouvrir.

Comment Résumer les Résultats d'un Ensemble de Cages

En sélectionnant une ou plusieurs Cages et en choisissant "Créer un Tableau Récapitulatif" à partir du menu "Outils", VGLII va compiler tous les organismes d'un même type observés dans l'ensemble des cages. Ceci permet notamment d'augmenter les effectifs de la descendance issue d'un couple ou de parents identiques génétiquement. Tout d'abord, double-cliquer sur chaque cage que vous souhaitez prendre en compte dans ce calcul. Leur contour interne devient rouge montrant qu'elles sont bien prises en compte. Vous pouvez inverser l'opération en double-cliquant. Vous pouvez dé-sélectionner toutes les cages en choisissant "Tout Désélectionner" dans le menu déroulant "Outils". Attention: si vous avez fermé des cages alors qu'elles étaient sélectionnées (rouges), leur contenu fera partie du prochain tableau récapitulatif. Pour l'éviter, dé-sélectionnez toutes les cages avant de sélectionner les cages que vous souhaitez incorporer dans le tableau.

Une fois vos cages sélectionnées, choisissez " Créer un Tableau Récapitulatif" à partir du menu "Outils". Ceci produira un tableau comme ci-dessous:



Phénotype	Mâles	Femelles	Total
Corps-Courbé/Patte-Une	10	17	27
Corps-Courbé/Patte-Trois	4	5	9
Corps-Long/Patte-Une	33	29	62
Corps-Long/Patte-Trois	11	12	23

La ligne du haut indique qu'il s'agit d'une compilation des cages 3, 4, 5, & 6. Lorsque plusieurs caractères ségrègent, vous pouvez sélectionner le caractère ou les caractères pour le(s)quel(s) vous souhaitez évaluer les effectifs en cochant la case correspondante. Pour tester une hypothèse de manière plus fiable, vous pouvez choisir d'augmenter l'effectif en croisant plusieurs fois les mêmes parents.

EN PRATIQUE

1) Notez le nom du fichier problème choisi pour vous par votre enseignant. **Sauvez l'analyse dès l'ouverture de la Cage 1.** Vous travaillez en binômes. Echangez de place (ordinateur/prise de notes) au bout d'une heure. Il est plus facile de faire des croisements sur VGL que dans la vraie vie et la production de descendance est immédiate. Ne submergez pas l'écran de cages inutilement. Réfléchissez avant à l'utilité de chaque croisement. Prenez des notes de tous les résultats intermédiaires et travaillez vos hypothèses de modèle sur du brouillon. Sauvegardez l'analyse régulièrement. **Lorsque vous décidez de faire plusieurs croisements successifs pour augmenter la taille de la descendance et compiler les résultats, assurez vous que vous prenez bien les mêmes parents (deux individus de même phénotype peuvent avoir des génotypes différents y compris dans la cage initiale).**

2) Effectuer suffisamment de croisements pour produire toutes les évidences du modèle génétique supporté si besoin par les tests statistiques Favorisez les croisements simples d'interprétation (test-cross plutôt que F1xF1)

3) En TP, le programme tourne sous Mac OSX. Vous pouvez facilement récupérer votre travail à quelque stade que ce soit, sur clé USB ou sur votre ENT et poursuivre l'analyse sur PC ou sur MAC après avoir téléchargé le programme VGLII sur:

<http://intro.bio.umb.edu/VGL/>

4) Lorsque tous les résultats auront été obtenus, consignés et interprétés, vous sauvez l'analyse complète et vous créez un fichier imprimable (directement dans l'application) qui récapitulera tous vos croisements. Sur ce document, vous pourrez indiquer au crayon les modes de calcul que vous avez effectués.

5) Vous rédigez votre compte-rendu en suivant scrupuleusement les consignes ci-après.

COMPTE-RENDU

Vous remettrez un compte-rendu par binôme, rédigé sous traitement de texte sur une feuille (recto-verso) maximum, accompagné de la feuille récapitulative (impression directe à partir de VGL) annotée de vos croisements qui ne sera pas notée mais qu'il est indispensable de joindre.

Votre compte-rendu sera structuré en sections comme suit (il ne s'agit pas d'un rapport chronologique mais d'un rapport argumenté de l'obtention d'un nouveau résultat).

Ce format est impératif, c'est celui de la publication scientifique. Vous pouvez vous inspirer du modèle ci-après (attention le niveau de difficulté de l'analyse de l'exemple est inférieur à celui de votre travail). Un barème indicatif vous est donné.

PRESENTATION GENERALE (2/20)

TITRE: (2/20) indiquant en une phrase ou un groupe nominal précis l'objectif de l'étude. Indiquez votre nom, prénom, série et groupe, votre adresse e-mail, ainsi que le nom du fichier problème.

INTRODUCTION: (2/20) Vous donnerez les informations nécessaires et suffisantes pour étayer l'intérêt de votre étude. Certains faits généraux que vous allez découvrir au cours de votre analyse peuvent être placés dans l'introduction comme s'ils étaient connus à l'avance. Par exemple et comme dans l'exemple ci-après, si votre modèle est dépendant du fait que les mâles sont hétérogamétiques, vous pouvez le décrire comme un fait connu afin de ne pas le développer comme un nouveau résultat. Autre exemple : si vous avez une évidence que la méiose chez les mâles virtuels n'implique pas de crossing-over (comme chez la drosophile) et que ce fait est important pour l'interprétation des déséquilibres de liaison, vous pouvez le considérer comme un fait connu et le signaler dans l'introduction.

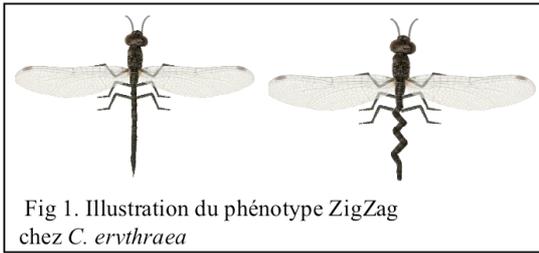
MATERIELS ET METHODES: (2/20) Vous indiquerez notamment quelles hypothèses ont été testées, combien de croisements impliquant des parents différents ont été réalisés, si un test statistique a été nécessaire et comment vous l'avez utilisé.

RESULTATS: (12/20) Evitez de détailler tous les croisements que vous avez réalisés. Focalisez vous sur les croisements réellement informatifs et présentez les de façon synthétique dans l'ordre des démonstrations majeures. Exemple : pureté des individus utilisés comme parents, relation de dominance, déterminisme(s) monogénique(s), localisation sur un chromosome sexuel, indépendance ou liaison, distance... Des schémas de croisements sont bienvenus, les tableaux de gamètes doivent être inclus pour les démonstrations complexes. Les effectifs seront indiqués en nombre ou pourcentage ou proportion (dans ce cas, avec un ordre de grandeur de l'effectif ; $n > x$). Il est inutile de dire combien de croisements identiques ont été nécessaires pour obtenir l'effectif analysé. Interprétez successivement chaque résultat.

DISCUSSION : (2/20) En une ou deux phrases, résumez vos résultats principaux et donnez des perspectives d'études ultérieures basées sur ce modèle.

Le gène *Zig* contrôlant la forme du corps chez *Crocothemis erythraea* est porté par le chromosome X
 Sophie JAVERZAT, série Y groupe x, sophie.javerzat@u-bordeaux1.fr, MGLX.pr2

INTRODUCTION :



Chez *Crocothemis erythraea*, le déterminisme sexuel est de type femelle homogamétique X/X et mâle hétérogamétique X/Y. On a identifié des variants mâles et femelles dont le corps présente une forme en zigzag alors que les individus de référence ont le corps pointu (Fig. 1). Les variants sont viables et fertiles. Notre étude a eu pour objectif d'identifier le déterminisme génétique du variant ZigZag. Par une approche génétique, nous démontrons ici que le phénotype ZigZag est dû à une mutation d'un gène que nous nommons *Zig*. Nous montrons

également que *Zig* est porté par le chromosome sexuel X.

MATERIELS ET METHODES :

Les croisements ont été réalisés dans les conditions recommandées par VGL. Plusieurs hypothèses consécutives ont été testées: pureté génétique des individus parentaux, dominance/récessivité de phénotype, déterminisme monogénique, gène autosomal, gène porté par un chromosome sexuel. Au total six types de croisements ont été effectués pour établir le déterminisme. Les résultats de chaque croisement ont été consignés et comparés aux attendus en fonction de l'hypothèse. Le test du Chi2 (<http://people.ku.edu/~preacher/chisq/chisq.htm>) a été utilisé pour ne pas rejeter l'hypothèse de déterminisme monogénique avec une valeur de risque fixée à 5% et des effectifs suffisants pour avoir $q > 0.5$.

RESULTATS :

Dans la cage initiale, pour chacun des deux phénotypes, l'absence d'hétérozygotie a été validée par l'obtention d'une descendance homogène et identique en phénotype aux parents ($n > 25$). Tous les individus mâles et femelles [Pointus] se comportaient comme des lignées pures ainsi que les mâles [ZigZag]. Sur les 5 femelles [ZigZag], une seule a donné une descendance homogène et a été sélectionnée comme parent pour les croisements ultérieurs.

Puis les individus génétiquement purs [Pointu] et [ZigZag] ont été croisés entre eux. Des différences ont été observées selon le sexe du parent présentant le phénotype [ZigZag].

- (1) ♂ [Pointu] x ♀ [ZigZag] → F1 ♂ [ZigZag], ♀ [ZigZag]
 puis F1 ♀ [ZigZag] x ♂ [Pointu] → 91 [ZigZag] : ♂ (44) ♀ (47) et 97 [Pointu] : ♂ (46) ♀ (51)
 (2) ♂ [ZigZag] x ♀ [Pointu] → ♂ [Pointu], ♀ [ZigZag]

Lorsque le père est [Pointu] et la mère [ZigZag] (1), tous les descendants (F1) sont [ZigZag], mâles ($n > 25$) comme femelles ($n > 25$). La F1 indique que [ZigZag] domine [Pointu]. Lorsqu'une femelle F1 est croisée avec un mâle [Pointu], on obtient sur 188 descendants, autant de [ZigZag] ($n = 91$) que de [Pointu] ($n = 97$) (indifféremment mâle ou femelle) en accord avec un déterminisme monogénique ($\chi^2 = 0.191$; $d.l.f = 1$; $q = 0.66$). Le croisement réciproque du premier (2) donne des femelles toutes [ZigZag] et des mâles tous [Pointu]. Cette transmission ne s'explique que si le gène est porté sur le chromosome X.

(2)	X ^{ZIG}	Y
X ^{zig}	♀ [ZigZag]	♂ [Pointu]
X ^{zig}	♀ [ZigZag]	♂ [Pointu]

Pour confirmer ce modèle, les femelles [ZigZag] issues du croisement (2) de génotype supposé (X^{ZIG}/X^{zig}) ont été croisées avec des mâles [Pointus]. Comme attendu, la descendance comporte : $\frac{1}{2}$ [ZigZag] autant ♂ que ♀ et $\frac{1}{2}$ [Pointu] autant ♂ que ♀ ($q > 0.5$)

DISCUSSION :

Nous avons identifié un nouveau gène porté par la région spécifique du chromosome X. Ce gène que nous nommons *Zig* participe probablement à la forme allongée du corps alors qu'une mutation dominante confère une structure désorganisée de l'axe antéro-postérieur. De prochaines expériences auront pour objectif de localiser *Zig* par rapport à des gènes de position connue sur le chromosome X. Ceci permettra d'isoler le gène *Zig* et d'étudier sa fonction par des approches moléculaires.