

## 19: Phylogénie moléculaire

La phylogénie moléculaire repose sur l'analyse comparative des séquences d'ADN. Cette discipline vient compléter les méthodes traditionnelles de classification basées sur l'observation des caractères morphologiques et anatomiques. La phylogénie moléculaire utilise les gènes des organismes vivants pour élaborer des arbres phylogénétiques en comparant les caractères moléculaires (séquences nucléotidiques ou protéiques). En essayant de retracer l'accumulation des mutations dans les génomes au cours de l'évolution des espèces, ces méthodes modernes permettent de reconstruire l'histoire évolutive des organismes. Les espèces ont des génomes d'autant plus proches qu'elles ont divergé récemment depuis leur ancêtre commun.

Cette expérience simple, courte et élégante (développée par l'Ecole de l'ADN de Nîmes) est proposée ici sous forme de démonstration à effectuer en classe, pendant le cours, afin d'illustrer les principes de variation de séquences et de distance génétique entre organismes. La partie pratique utilise la technique RFLP (ou Restriction Fragment Length Polymorphism) pour analyser l'ADN - préalablement hydrolysé par une enzyme de restriction - de 4 différentes espèces de primates. Ici, ce sont les séquences d'une partie du gène BRCA-1 du Chimpanzé, du Gorille, de l'Orang-outan et de l'Homme qui sont utilisées pour comparaison.

Les gènes BRCA-1 et 2 (pour "BREast CANcer" ou cancer du sein) sont présents chez tous les mammifères et sont responsables de la régulation des cycles de division cellulaire. En empêchant que les cellules ne se divisent de manière anarchique, ils jouent le rôle de gènes suppresseurs de tumeurs. Certaines mutations de ce gène peuvent donc accroître le risque de développer un cancer du sein.

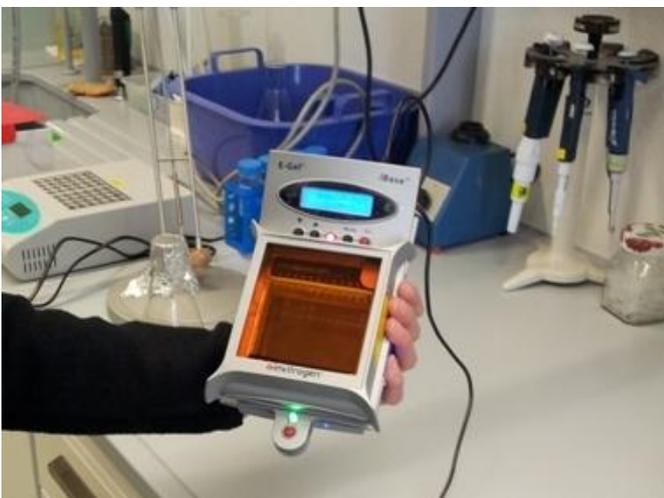
L'analyse du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction de BRCA-1 permet de préciser le degré de parenté entre les espèces étudiées et de construire l'arbre phylogénétique correspondant.

**Thèmes:** phylogénie, évolution, classification, génotype, RFLP, électrophorèse, homologies de séquences.

### La démonstration :

Un appareil d'électrophorèse moderne portable, sans intercalant toxique et sans tampon d'électrophorèse est mis à disposition pour la démonstration en classe. Le gel d'agarose, prêt à l'emploi, est fourni sous forme de "cassette" dans un emballage plastique.

1) Brancher l'appareil d'électrophorèse à une prise et relier la base de l'appareil (lampe bleue) avec la partie supérieure (support de migration).



2) Sortir le gel d'agarose (E-gel 1,2% d'agarose) de son emballage, enlever délicatement le peigne des puits et placer le gel dans les encoches prévues à cet effet.

3) Charger les échantillons dans les puits de la manière suivante:

- 1 x 5  $\mu$ l de marqueur de taille
- 1 x 10  $\mu$ l d'ADN Humain
- 1 x 10  $\mu$ l d'ADN Chimpanzé
- 1 x 10  $\mu$ l d'ADN Gorille
- 1 x 10  $\mu$ l d'ADN Orang-outan

**Attention:** il est important de charger également 10  $\mu$ l de tampon dans les puits vides afin d'éviter la surchauffe du gel.



4) Pour faire migrer les échantillons il suffit de lancer le programme en mode 1 "E-gel 0,8-2%" d'une durée de 26 minutes. Pour changer de programme, appuyer sur le bouton "Mode" et naviguer avec les flèches. Une fois le mode 1 sélectionné, appuyer sur le bouton "Go". La lumière centrale passe au vert. Pour mettre la migration sur pause, il suffit d'appuyer une nouvelle fois sur le bouton "Go". La lumière est alors rouge. Le programme peut être interrompu en appuyant de manière prolongée sur le bouton "Go".



5) Pour révéler les fragments d'ADN, déposer le filtre orange au-dessus du gel et allumer la lampe bleue en appuyant sur le bouton rouge au bas de l'appareil.



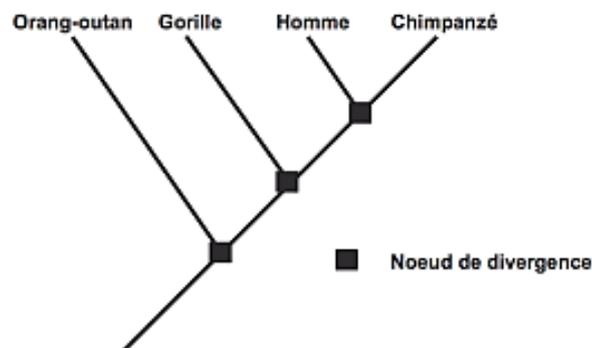
### Interprétation des résultats:

- Les profils de restriction ont été obtenus au moyen d'une seule enzyme de restriction.
- Les profils de l'homme et du chimpanzé sont identiques.
- Un seul fragment est commun entre les profils de l'Homme, du Chimpanzé et de celui du Gorille.
- Le profil de l'orang-outan est unique et ne présente aucun fragment en commun avec les trois autres espèces.

### Conclusions:

- L'Homme partage un ancêtre commun plus proche avec le Chimpanzé qu'avec le Gorille et l'Orang-outan.
- Nous pouvons aussi en déduire que le clade Homininés constitué de l'Homme et du Chimpanzé partage un ancêtre commun plus proche avec le Gorille que l'Orang-outan.

A l'aide de ces résultats, nous pouvons établir l'arbre phylogénétique des quatre espèces de primates.



Attention, sur cette représentation la distance entre les nœuds de divergence n'est pas représentative de l'échelle et de l'horloge évolutive.

Jeu créé et développé par:



L'Université de Genève décline toute responsabilité en cas de dommages survenus durant les expériences.