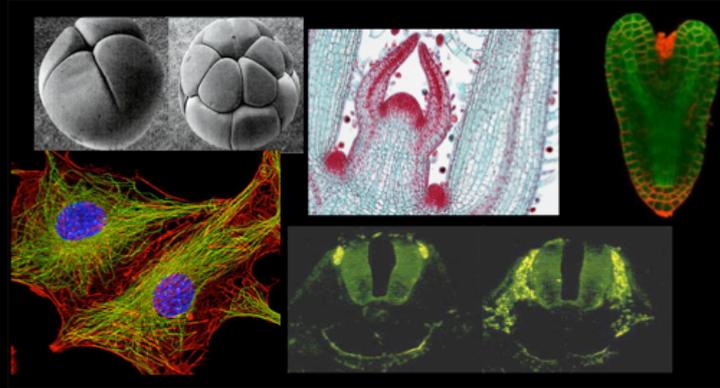
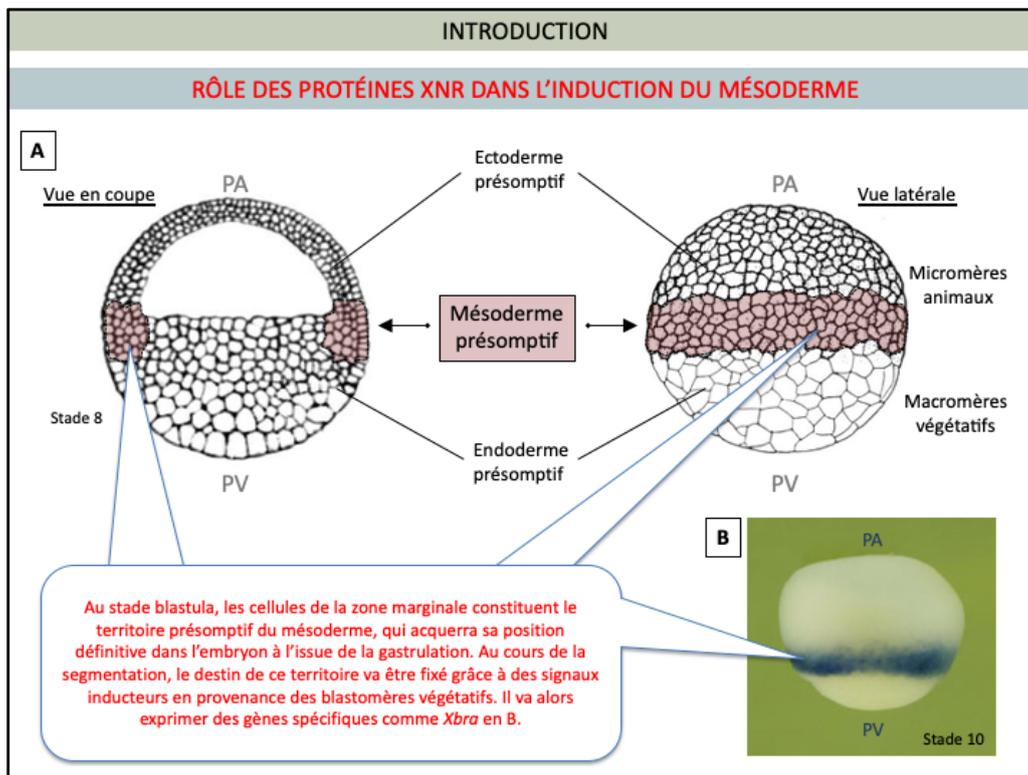


## Série d'expériences IE1: Induction du mésoderme





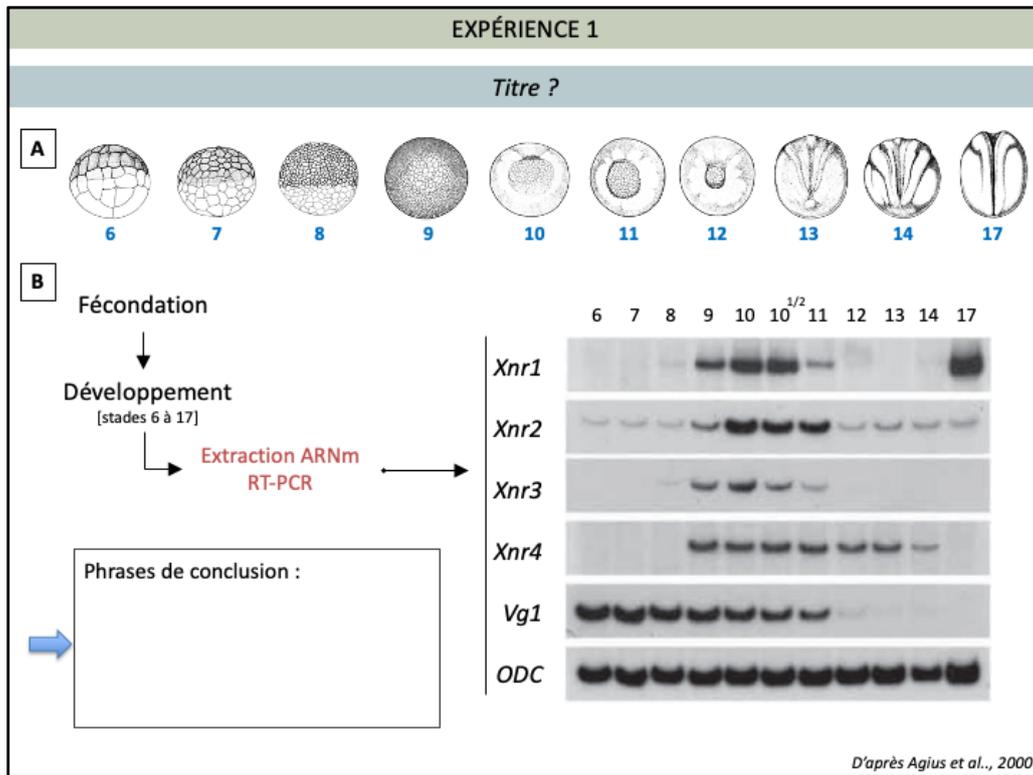
## IE1 Introduction

**(A)** Représentation schématique d'un embryon de Xénope au stade blastula en coupe et en vue latérale. Les cellules formant le mésoderme présomptif ont été coloriées en rose. Ce territoire appelé « zone marginale » se situe à la frontière entre l'endoderme présomptif au pôle végétatif (matérialisé par des grosses cellules ou macromères) et l'ectoderme au pôle animal (petites cellules ou micromères). **(B)** Profil d'expression typique détecté par hybridation *in situ* d'un marqueur mésodermique au tout début de la gastrulation (avant que le mésoderme ne commence à s'insinuer entre ectoderme et endoderme par le biais des mouvements gastruléens).

### CONTEXTE ET PROBLÉMATIQUE :

**Au stade blastula des expériences de lignage permettent de déterminer quelles cellules donneront naissance aux différents dérivés mésodermiques, ectodermiques et endodermiques. On parle de TERRITOIRES PRÉSUMPTIFS. Celui du mésoderme se situe dans la région marginale de l'embryon. Ce territoire présomptif doit recevoir des signaux pour être irrémédiablement déterminé. Une fois déterminé, il exprimera des marqueurs spécifiques comme le gène *Xbra* qu'on observe en B.**

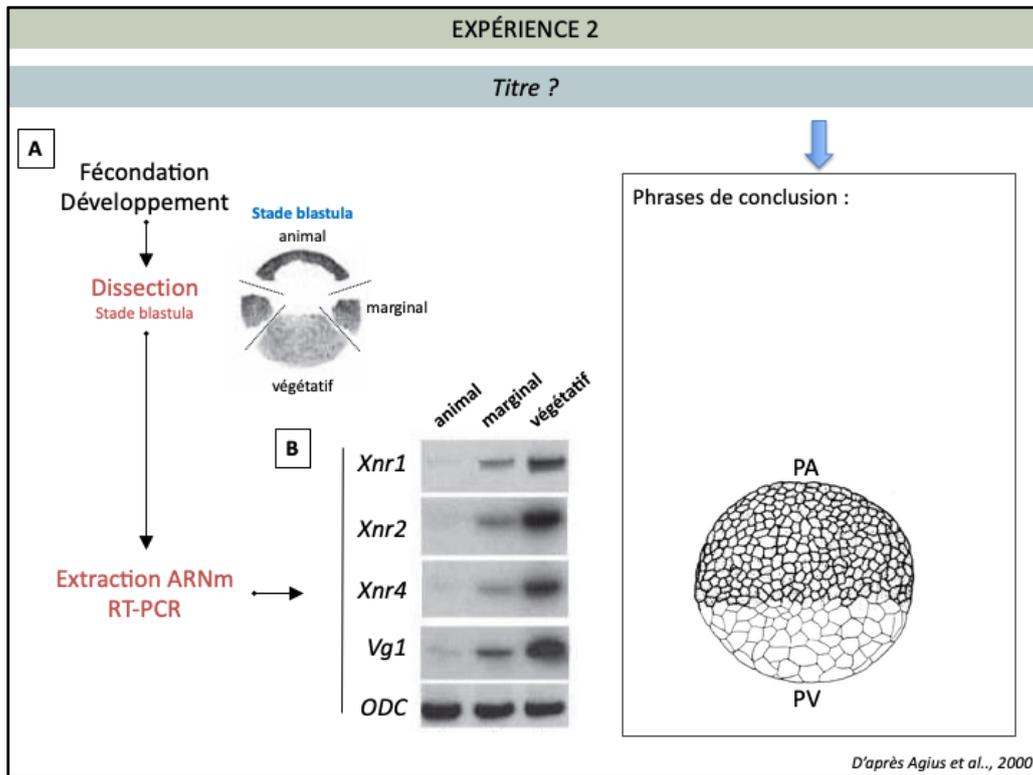
**Le but des expériences qui suivent est d'explorer le rôle des protéines XNR dans l'induction du destin mésodermique.**



### IE1 Expérience 1

**(A)** Schéma d'embryons de Xénope à différents stades de la segmentation (stades 6 à 9), de la gastrulation (stades 10 à 12) et de la neurulation/organogenèse (stades 13 à 17). **(B)** Analyse par RT-PCR de l'expression du gène *Vg1* ou de différents gènes de la famille *Xnr* (*Xenopus Nodal-related*). Les ARNm ont été extraits d'embryons entiers aux stades indiqués (stades 6 à 17). L'analyse de l'expression du gène *ODC* (ubiquitaire) sert de contrôle interne à la PCR. Les protéines Xnr sont des morphogènes.

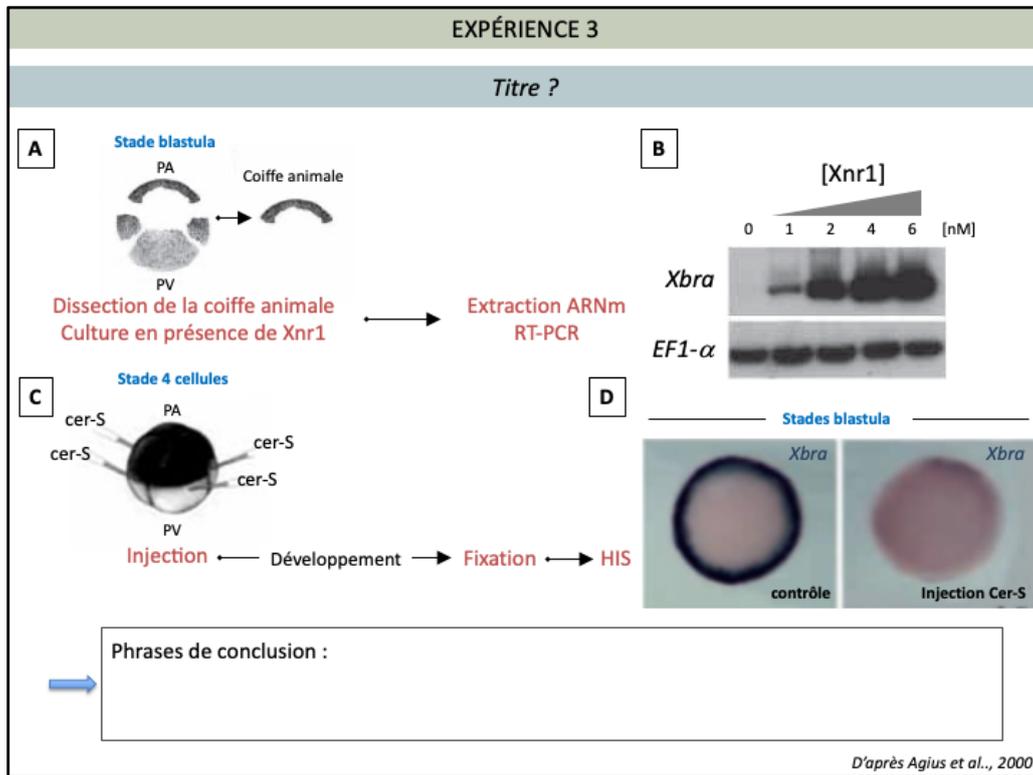
**Aide à l'interprétation : Décrire les profils d'expression temporelle en essayant de faire des regroupements logiques (ne pas décrire gène/gène et puits/puits ; faites ressortir l'essentiel en mettant bien en lumière ce qui concerne la période développementale qui est étudiée dans cet exercice !). Attention : gardez en tête que la transition mid-blastuléenne a lieu au stade 7, il faut donc distinguer les expressions maternelles et zygotiques.**



### IE1 Expérience 2

**(A)** Protocole expérimental de l'expérience réalisée en B. **(B)** Analyse par RT-PCR de l'expression de différents gènes *Xnr* au stade blastula. Les ARNm ont été extraits à partir de différentes régions de l'embryon disséqués comme décrit en A. L'analyse de l'expression du gène *ODC* (ubiquitaire) sert de contrôle interne à la PCR.

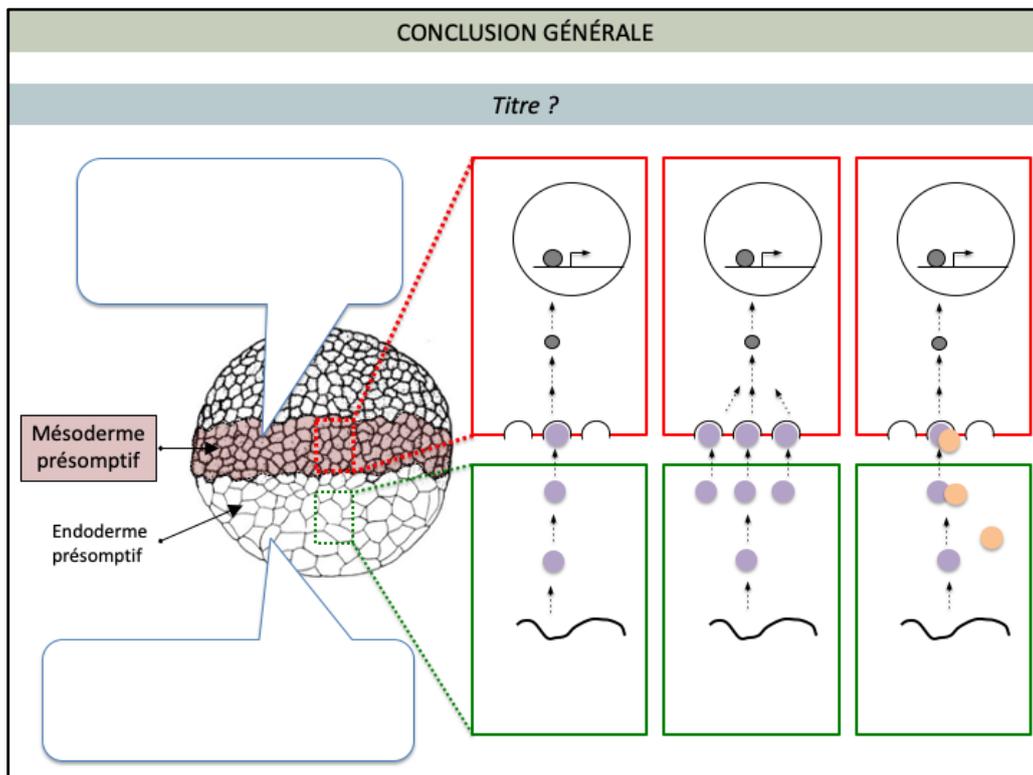
**Aide à la schématisation du résultat : Utiliser le schéma fourni dans l'encart « conclusion » pour représenter graphiquement le phénotype observé. Opter pour un code couleur ou tout autre formalisme de votre choix. Faire le lien avec les résultats de l'expérience précédente.**



### IE1 Expérience 3

**(A)** Protocole expérimental de l'expérience réalisée en B. **(B)** Analyse par RT-PCR de l'expression du marqueur mésodermique *Xbra*. Les ARNm ont été extraits à partir de coiffes animales disséquées puis cultivées en présence de différentes concentrations de protéine Xnr1 (0 à 6 nM). L'analyse de l'expression du gène *EF1-α* (ubiquitaire) sert de contrôle interne à la PCR. **(C)** Protocole expérimental de l'expérience réalisée en D. Des ARNm codant la protéine Cerberus (*Cer-S* ; un inhibiteur des protéines Xnr) sont injectés dans les 4 blastomères au stade 4 cellules. Les embryons sont ensuite fixés au stade blastula puis soumis à hybridation *in situ* (HIS) avec une sonde antisens dirigée contre les ARNm *Xbra*. **(D)** Photographies de deux embryons représentatifs après hybridation *in situ* contre *Xbra* : un embryon contrôle (non injecté), et un embryon dans lequel ont été injectés les ARNm *Cer-S*. Les embryons sont ici observés depuis le pôle animal.

**Aide à l'interprétation : Attention à ne pas faire de confusion entre tous ces ARN : l'ARNm exogène injecté (pour surexprimer Cerberus), les ARNm *Xbra* endogènes que l'on cherche à détecter (pour analyser le phénotype) et la sonde antisens utilisée pour ce faire. En C, D : réfléchissez bien aux effets d'une surexpression de Cerberus. Cela a-t-il pour conséquence un gain ou une perte de fonction des Xnr ?**



**IE1 Conclusion générale et modèle :** Aidez-vous des schémas pour conclure sur les événements moléculaires mis en évidence. Les schémas de gauche et du centre correspondent à la situation physiologique (i.e. ce qui a lieu au cours du développement normal). Le schéma le plus à droite correspond à la situation expérimentale rencontrée en Fig. 3, C, D (surexpression de Cerberus, ronds beiges).