

TP N°1.1 : Recherchons le rôle de la matrice extracellulaire dans la contraction musculaire.

Compétences : **Exploitation de documents**

ECE : - étape 1

- étape 2

- étape 3

- étape 4

Matériel : ordinateurs avec **geniegen2** : <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/geniegen2/>

Source : <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/accompagnement-pedagogique/accompagnement-au-lycee/terminale-2020/la-terre-la-vie-et-l-organisation-du-vivant/genetique-et-evolution/dmd/dmd-exploitation-pedagogique>;
<http://svt.enseigne.ac-lyon.fr/spip/?Origine-d-une-myopathie-et-prediction-genetique>

Programme :

La cellule musculaire : une structure spécialisée permettant son propre raccourcissement.

Le muscle strié est un ensemble de cellules musculaires dites striées, organisées en faisceaux musculaires. Le raccourcissement et l'épaississement des muscles lors de la contraction musculaire permettent le mouvement relatif des deux os auxquels ils sont reliés par des tendons.

La cellule musculaire, cellule spécialisée, est caractérisée par un cytosquelette particulier (actine et myosine) permettant le raccourcissement de la cellule.

La contraction musculaire nécessite des ions calcium et l'utilisation d'ATP comme source d'énergie.

Dans certaines myopathies, la dégénérescence des cellules musculaires est due à un défaut dans les interactions entre les protéines membranaires des cellules et la matrice extra-cellulaire.

Notions fondamentales : fonctionnement musculaire, contraction, relâchement, ATP.

Réaliser et/ou observer au microscope optique et au microscope électronique des préparations de cellules musculaires striées, pour enrichir la notion de cellule eucaryote spécialisée. Manipuler, modéliser, recenser, extraire et organiser des informations et/ou manipuler (dissections, maquettes...) pour comprendre le fonctionnement du système musculo-articulaire. Utiliser un logiciel de modélisation moléculaire pour observer le pivotement des têtes de myosine. Remobiliser les acquis sur la matrice extracellulaire à travers l'exemple d'une myopathie.

Précisions : les mécanismes moléculaires de la contraction musculaire (complexe actine myosine) sont principalement abordés pour introduire le besoin d'énergie à l'origine du mouvement. On se limite au muscle strié squelettique. Les interactions moléculaires entre troponine et tropomyosine ne sont pas attendues. L'étude exhaustive d'une myopathie n'a pas à être effectuée ; il s'agit plutôt de mobiliser les acquis de la classe de seconde sur la matrice extra-cellulaire et ceux de la classe de première sur les mutations à l'origine de myopathies

Liens : SVT – collège : cellule, activité musculaire ; classe de seconde : cellules spécialisées et matrice

Rappel de seconde : La matrice extracellulaire animale, appelée aussi ciment intercellulaire, désigne l'ensemble de macromolécules extracellulaires du tissu conjonctif et des autres tissus animaux. Les constituants de la matrice extracellulaire ont de nombreux domaines de liaison avec les cellules, facilitant l'adhésion de celles-ci et leur organisation en tissus. La matrice extracellulaire joue un rôle dans le soutien structural, l'adhérence, le mouvement et la régulation de la cellule.

Il existe des matrices extracellulaires spécialisées :

- Matrice cartilagineuse.
- Matrice osseuse.
- Lamelle basale à la base des épithéliums et autour des cellules musculaires striées squelettiques.

Lundi matin, 7h30 : comme tant d'autres, le petit Luc, 5 ans se réveille difficilement pour aller à l'école. Il retire ses attelles de nuit puis retrouve ses parents pour le petit déjeuner. Tout est déjà prêt, il s'installe face à ses supports de bras, avale ses compléments alimentaires puis attaque un repas spécialement adapté : pas d'aliments trop durs pour lui. Il ne mange pas beaucoup, mais prendra plusieurs encas dans la journée, afin de l'aider à garder des forces. En effet, Luc a des semaines bien chargées. En plus de l'emploi du temps ordinaire d'un enfant, il doit aussi faire travailler l'ensemble de ses muscles grâce à tout un tas d'activités : des rendez-vous chez l'orthophoniste, des séances chez le kinésithérapeute, etc... Je parie que vous commencez à comprendre que quelque chose ne va pas avec les muscles de Luc.

Parmi les myopathies d'origine génétique, il existe celles qui affectent l'organisation des myofibrilles et celles qui affectent les protéines impliquées dans l'interaction entre le muscle et la matrice extracellulaire.

On cherche à préciser par observation microscopique et analyse génétique le type de myopathie suspectée chez Luc et les caractéristiques de transmission génétique de sa maladie.

Ressources :

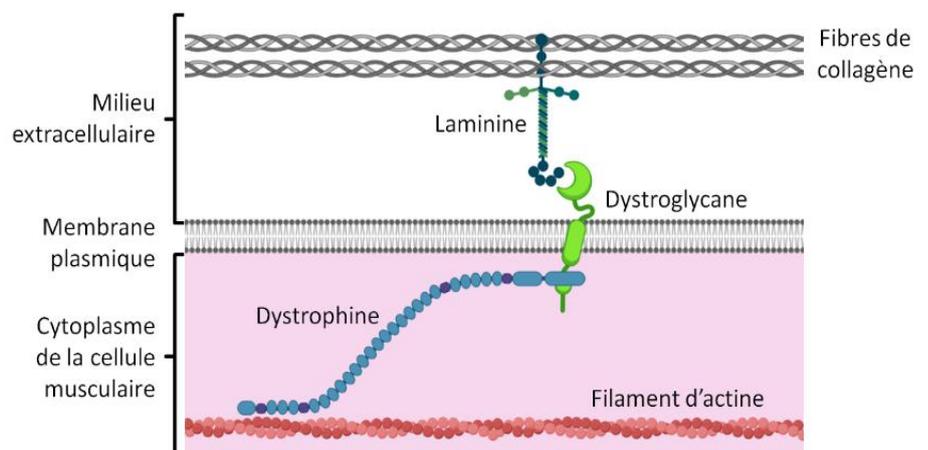
Observation microscopique d'une coupe longitudinale de muscle strié squelettique chez un individu sain (M.O. X 400) :



Remarque : En microscopie, la qualité des cellules musculaires s'évalue à leur striation. Cette striation est due à l'organisation des myofibrilles (filaments d'actine et de myosine, protéines à l'origine de la contraction cellulaire). Chez un individu atteint de myopathie affectant les myofibrilles, on observe que la striation n'est pas clairement apparente.

Organisation simplifiée des relations cellules musculaires – matrice extracellulaire :

Le fonctionnement normal des muscles repose sur l'intégrité de la cellule musculaire, des filaments d'**actine** et de myosine, mais aussi sur la liaison de ces filaments avec les fibres qui entourent les cellules musculaires. Ces fibres, principalement constituées de **collagène**, forment la matrice extracellulaire. Les principales protéines qui relient l'actine au collagène sont la **dystrophine**, le **dystroglycane** et la **laminine**.



Gènes intervenant dans les principales myopathies touchant les protéines impliquées dans l'interaction entre le muscle et la matrice extracellulaire

Principales myopathies d'origine génétique	Gène impliqué
Myopathie de Duchenne	DMD dirigeant la synthèse de la dystrophine
Myopathie musculaire associée à LAMA2	LAMA2 codant pour la laminine
Syndrome de Walter-Warburg	DAG2 codant pour le dystroglycane

Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant de **vérifier** que Luc souffre bien de myopathie puis de **déterminer** le type de myopathie dont souffre Luc.

On comparera :

- Les myofibrilles du muscle strié de Luc avec celle d'un individu non malade, on s'attend à pouvoir observer une striation pas clairement apparente.
- L'allèle de Luc correspondant au gène de la DMD dirigeant la synthèse de la dystrophine avec l'allèle d'un individu non malade.
- L'allèle de Luc correspondant au gène de la LAMA2 codant pour la laminine avec l'allèle d'un individu non malade.
- L'allèle de Luc correspondant au gène de la DAG2 codant pour le dystroglycane avec l'allèle d'un individu non malade.

Selon le type de myopathie dont souffre Luc, on s'attend à observer au moins une mutation sur un de ses allèles.

Pour déterminer les caractéristiques génétiques de sa maladie, nous devons disposer d'un arbre généalogique.

Étape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Protocole

Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix présenter et traiter les données brutes pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.

Étape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour déterminer le type de myopathie dont souffre Luc.

À partir des différents documents et activités, expliquer les différents symptômes de la maladie et à identifier l'origine de la maladie de Luc puis calculez les risques pour son cousin d'être atteint par la même maladie.

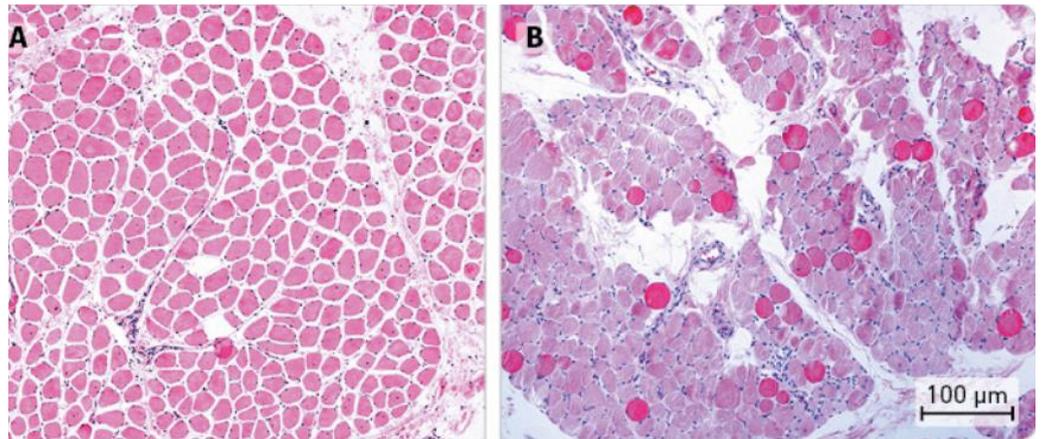
Document 1 : les symptômes de la maladie.

La maladie commence par des faiblesses musculaires vers l'âge de 3 ans, puis s'aggrave progressivement avec l'âge, jusqu'à provoquer des déformations et des contractures invalidantes graves. Elle est la cause d'une dégénérescence musculaire irréversible.

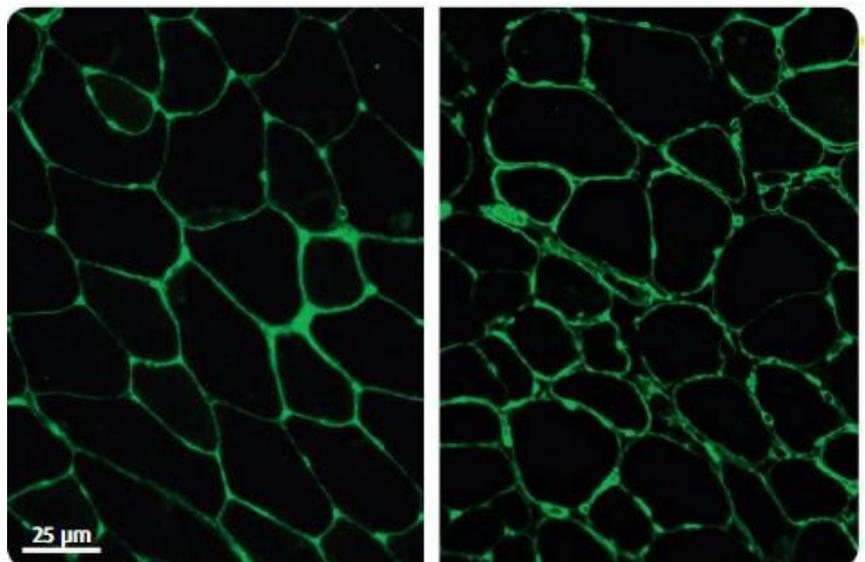


Document 2 : faisceau de cellules musculaires observées au microscope chez Luc (à droite) ou chez un individu sain (à gauche).

A. Muscle sain.
B. Stade très avancé de la myopathie. Les cellules musculaires fonctionnelles sont colorées en rose.



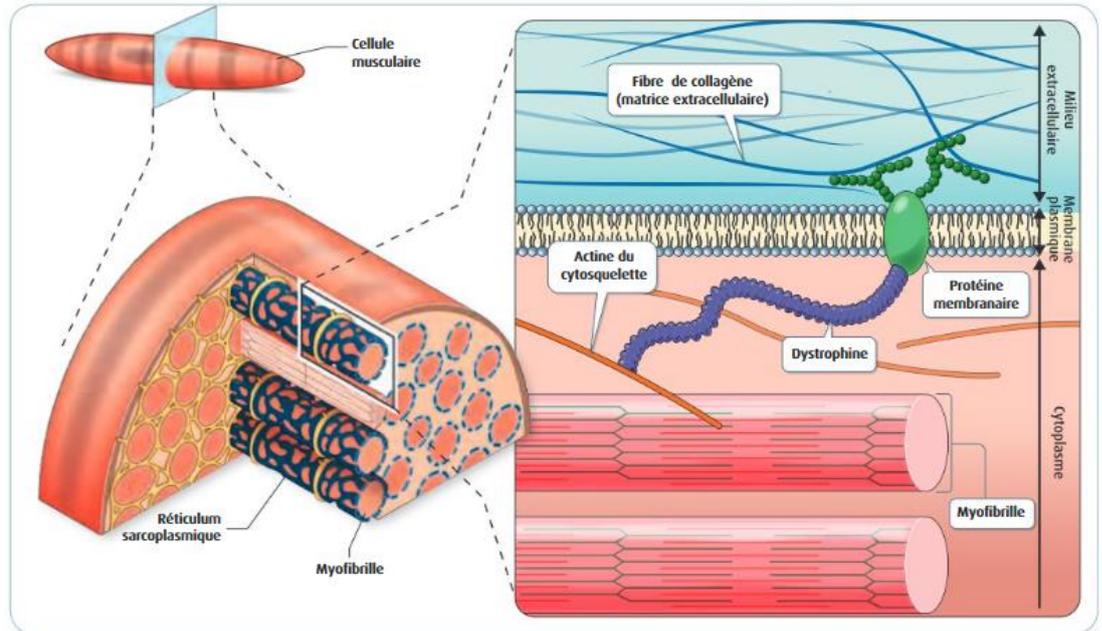
b. Les cellules ont été incubées avec un anticorps reconnaissant un composant important de la matrice extracellulaire, ce gel qui assure normalement la cohésion des cellules au sein des tissus : le collagène. Cet anticorps émet une fluorescence verte.



Remarque : en cas d'absence de dystrophine ou de dystroglycane, le collagène peut prendre leur place.

Document de référence : représentation schématique d'une portion de cytoplasme d'une cellule musculaire au sein de la matrice extracellulaire.

Le maintien de l'intégrité de la membrane plasmique de la cellule musculaire durant les cycles de contraction relâchement implique 3 acteurs. Il y a



tout d'abord des protéines cytoplasmiques jouant un rôle de squelette interne » de la cellule (cytosquelette), et notamment la dystrophine et des filaments d'actine. Il y a ensuite des protéines enchâssées dans la membrane plasmique. Il y a enfin les protéines de la matrice extracellulaire : les fibres de collagène. Elles assurent la flexibilité des cellules et, au-delà, du tissu musculaire. La dystrophine joue un rôle central. En son absence, les cycles de contraction relâchement finissent par déchirer » la membrane plasmique, à l'origine de la mort de la cellule.

On cherche à expliquer les différents symptômes de la maladie et à identifier l'origine de la maladie de Luc.

I. L'origine de la dégénérescence musculaire.

Document 1 :

On apprend que la myopathie de Duchenne est une maladie dégénérative irréversible des muscles.

Comment expliquez cette dégénérescence ?

Document 2 :

- On voit que cette maladie correspond au niveau cellulaire à la non fonctionnalité des cellules musculaires.
- On voit que cette maladie correspond aussi au niveau moléculaire à une abondance de fibres de collagène, un composant important de la matrice extracellulaire, ce gel qui assure normalement la cohésion des cellules au

sein des tissus : le collagène. Cela peut être du soit à une absence de dystrophine, soit à une absence de dystroglycane.

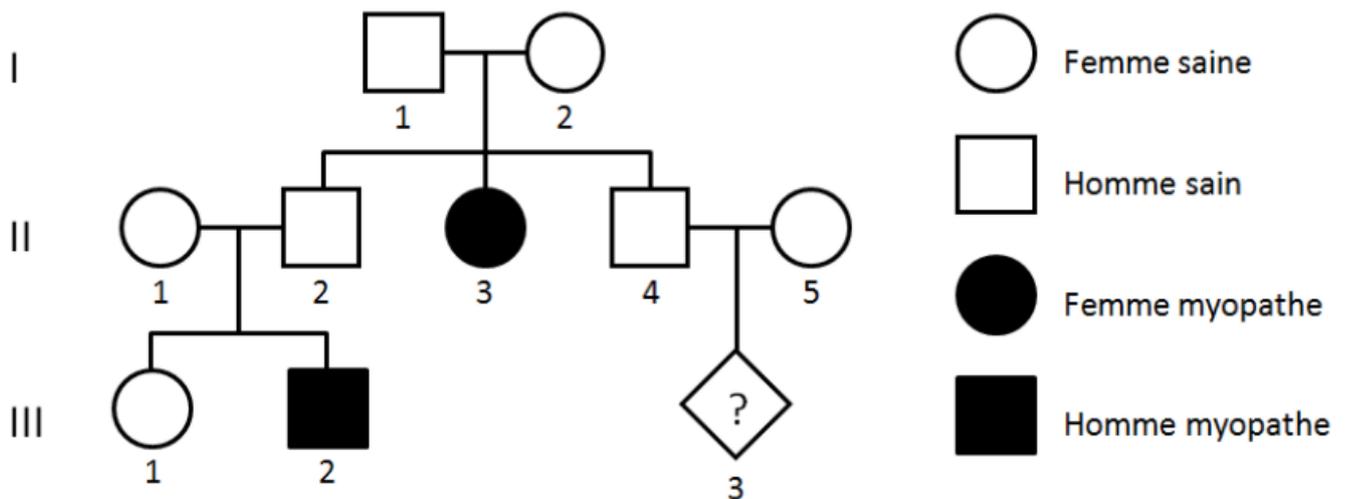
Le document de référence nous permet de savoir que la dystrophine est indispensable à l'intégrité de la membrane plasmique qui est « déchirée » en son absence au cours des cycles de contraction relâchement.

On comprend dès lors qu'au début de la maladie, les myofibrilles endommagées sont régénérées de façon efficace, à partir de cellules souches musculaires. À terme toutefois, l'absence de dystrophine endommagent durablement les cellules qui ne sont plus remplacées. Le tissu musculaire est alors progressivement envahi de fibres de collagène ce qui entraîne la perte de fonction des muscles.

Comment expliquez que la dystrophine ne soit pas synthétisée ?

Document 3 : données génétiques

a. Arbre génétique de la famille de Luc avec un enfant à naître.



Luc correspond à l'individu III2

b. Les différents types de myopathies.

1. MYOPATHIE D'ULLRICH

La maladie est due à des mutations des gènes COL6A1, COL6A2, ou COL6A3 codant pour le collagène. Elle se caractérise par une faiblesse des muscles, des contractures (en particulier des coudes et des genoux), et une hyperextensibilité des articulations des mains, chevilles, pieds et doigts. Un retard de croissance et un déficit respiratoire sont fréquents. La probabilité d'être porteur d'un allèle muté est de 0,002.

2. DYSTROPHIE MUSCULAIRE ASSOCIÉE À LAMA2

La maladie est due à des mutations du gène LAMA2 codant pour la laminine. Elle se caractérise par un faible tonus musculaire dès la naissance, le développement de contractures des grosses articulations, et une atteinte respiratoire progressive. L'atrophie musculaire et la faiblesse sévère empêchent généralement l'acquisition d'un déplacement autonome. La probabilité d'être porteur d'un allèle muté est de 0,002.

3. MYOPATHIE DE DUCHENNE

La maladie est due à des mutations du gène DMD codant pour la dystrophine. Elle touche principalement les garçons. Elle se caractérise par une dégénérescence des muscles chez l'enfant. La faiblesse musculaire se propage à l'ensemble du corps jusqu'à une insuffisance respiratoire ou cardiaque fatale. La probabilité d'être porteur d'un allèle muté est de 0,03.

4. SYNDROME DE WALKER-WARBURG

La maladie est due à des mutations du gène DAG2 codant pour le dystroglycane. Elle se caractérise par un faible tonus musculaire, une faiblesse musculaire, un développement psychomoteur absent ou très pauvre, une atteinte oculaire et des convulsions. La probabilité d'être porteur d'un allèle muté est de 0,008.

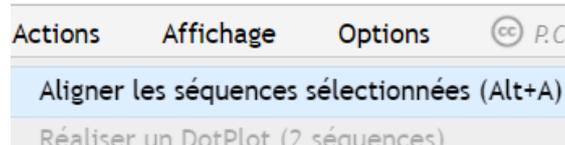
Activité : Vous disposez dans votre dossier des [séquences](#) des différents allèles de Luc pour chacun des gènes correspondant aux différents types de myopathie. Utilisez les fonctionnalités de genigen2 : <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/geniegen2/> pour identifier le type de myopathie dont est atteint Luc.

II. L'origine génétique de la maladie.

Résultats :

1. La myopathie d'Ullrich : les gènes COL6A1

Sélectionnez COL6A1 - Référence
 III-2 COL6A1 Allèle 1
 III-2 COL6A1 Allèle 2 , cliquez sur action, aligner les séquences sélectionnés.



à priori pas de différence ; cliquez sur affichage, choisir tableau de comparaison.

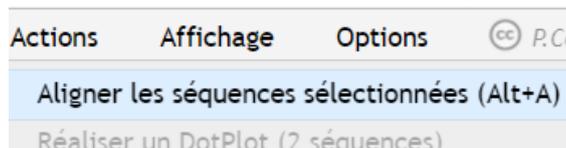
Matrice de similarité :
(pourcentage d'identités)

	(1)	(2)	(3)
<i>COL6A1 - Référence (1)</i>	100	100	100
<i>III-2 COL6A1 Allèle 1 (2)</i>	100	100	100
<i>III-2 COL6A1 Allèle 2 (3)</i>	100	100	100

Luc n'est pas atteint de cette myopathie.

2. La dystrophie musculaire : le gène LAMA2.

Sélectionnez LAMA2 - Référence
 III-2 LAMA2 Allèle 1
 III-2 LAMA2 Allèle 2 , cliquez sur action, aligner les séquences



sélectionnés.

à priori pas de différence ; cliquez sur affichage, choisir tableau de comparaison.

Matrice de similarité :
(pourcentage d'identités)

	(1)	(2)	(3)
<i>LAMA2 - Référence (1)</i>	100	100	100
<i>III-2 LAMA2 Allèle 1 (2)</i>	100	100	100
<i>III-2 LAMA2 Allèle 2 (3)</i>	100	100	100

Similarité globale : 100 %

Luc n'est pas atteint de cette myopathie.

3. La myopathie de Duchenne: le gène DMD.

- DMD - Référence
- III-2 DMD Allèle 1
- III-2 DMD Allèle 2

Sélectionnez, , cliquez sur action, aligner les séquences sélectionnés.

On voit que les allèles 1 et 2 sont différents de l'allèle de référence => 5784A->C

Cliquez sur action aligner les séquences sélectionnées.

Actions	Affichage	Options	CC P.Cosentino
Aligner les séquences sélectionnées (Alt+A)			
Réaliser un DotPlot (2 séquences)			
Transcrire les séquences sélectionnées			▶
Traduire les séquences sélectionnées			▶

	5775	5780	5785
<input checked="" type="checkbox"/> DMD - Référence	GAGCTGAATGCAGT		
<input checked="" type="checkbox"/> III-2 DMD Allèle 1	GAGCTGAATGCCGT		
<input checked="" type="checkbox"/> III-2 DMD Allèle 2	GAGCTGAATGCCGT		
<input type="checkbox"/> DMD - Référence PRO	Glu Leu Asn Ala Val		
<input type="checkbox"/> III-2 DMD Allèle 1 PRO	Glu Leu Asn Ala Val		
<input type="checkbox"/> III-2 DMD Allèle 2 PRO	Glu Leu Asn Ala Val		

Après traduction puis comparaison des protéines, on voit que la mutation ne crée aucune différence dans la protéine. GCA -> GCC en position 5784 ; ALA1928 -> ALA. C'est une mutation silencieuse due à la redondance du code génétique.

Luc n'est pas atteint de cette myopathie.

4. Le syndrome de Walker-Warburg : le gène DAG2.

- DAG2 - Référence
- III-2 DAG2 Allèle 1
- III-2 DAG2 Allèle 2

Sélectionnez, , cliquez sur action, aligner les séquences sélectionnés.

On voit que les allèles 1 et 2 sont différents de l'allèle de référence => 70C->T

Bilan :

La myopathie qui touche cette famille est due à une mutation dans le gène *DAG2* empêchant la production du dystroglycane : il s'agit donc du **syndrome de Walker-Warburg**.

Le risque pour son cousin d'être atteint est de 1/750.