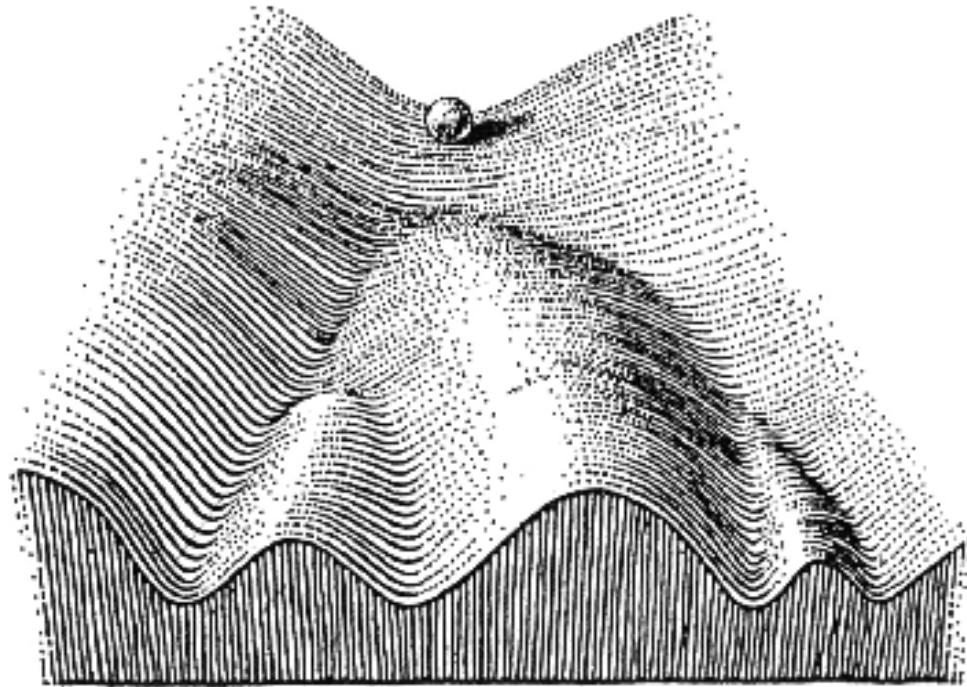


Robustesse, canalisation et évolutivité



Vincent Debat - MNHN

Plan

Introduction – historique – Expériences de Waddington

1 - Hsp90, '*Evolutionary capacitor*'?

2 - Critiques – alternatives à l'*evolutionary capacitor hypothesis* : robustesses des réseaux de gènes

3 - Comment évolue la canalisation?

Canalisation génétique - canalisation environnementale - plasticité?

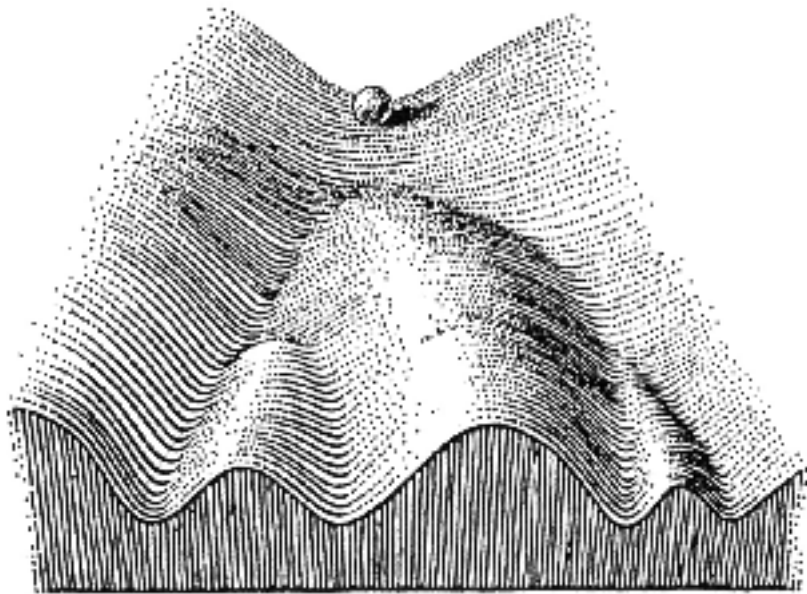
Des références

Introduction – historique

Organisme = système en déséquilibre entretenu. Maître mot = entretenu.
Activité qui assure la stabilité contre tendance à désagrégation

= Homéostasie physiologique (Claude Bernard)

Waddington (Années 40 et 50): Canalisation = robustesse des processus développementaux face à la variation environnementale et génétique. Métaphore du paysage épigénétique:



L'idée provient du constat que le type sauvage est généralement moins variable que les mutants
= tampon développemental

Canalisation génétique vs environnementale

Idées similaires développées par Schmalhausen en URSS

Système tampon = > qu'est ce qui tamponne?

Waddington comme Schmalhausen laissés de côté. Canalisation avec...

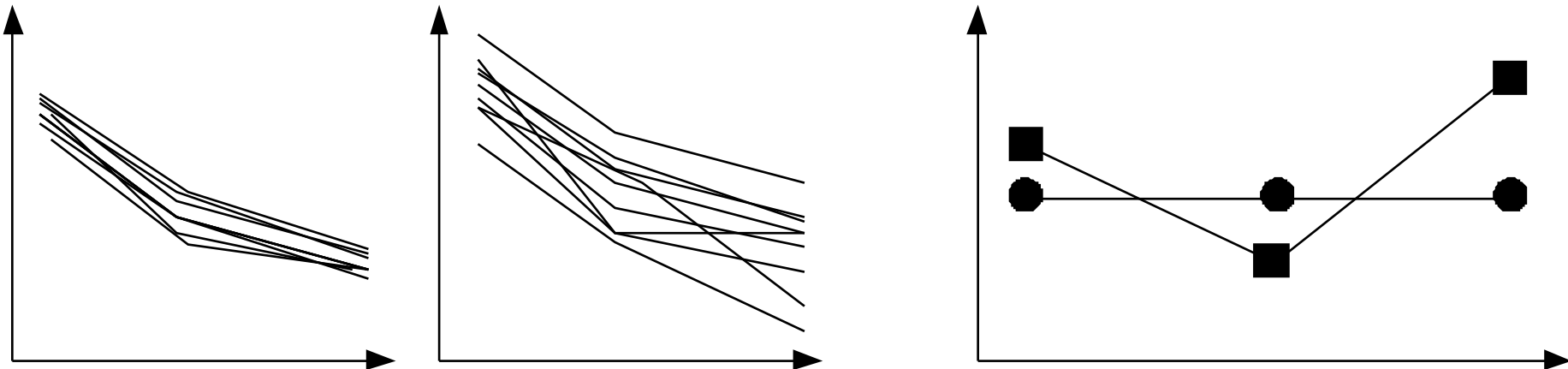
Définition:

La canalisation est la capacité de produire un phénotype constant en dépit des effets environnementaux et/ou génétiques.

On sépare traditionnellement canalisation génétique et environnementale:

La **canalisation génétique** tamponne les effets génétiques (les mutations, les changements alléliques, etc.). La **canalisation environnementale** tamponne les effets de différences d'environnement.

Quel est le lien entre la plasticité phénotypique et la canalisation ?



Stearns and Kawecki 1994: *'Plasticity and canalization are not mutually exclusive : they can combine in canalized reaction norms'*

Waddington Heat shock (1952) :

Waddington soumet des pupes de Drosophiles sauvages à 40 °C pendant 4 heures. 40% des adultes ont des ailes déformées (absence veine transverse postérieure).

Sélection : high (mouches avec défaut) and low (mouches sans défaut). Chaque génération est soumise au choc thermique.



Après 19 générations, high = 90% de mouches répondent à la température. Low= 20%. Il y a donc de la variation génétique!

Mieux : certaines mouches high produisent le phénotype sans choc thermique!

Le caractère a été 'génétiquement assimilé'

Type sauvage est canalisé

Canalisation et évolutivité : Waddington et l'assimilation génétique

Question : la canalisation empêche ou promeut l'évolution??

- : les mutations sont rendues neutres.
- + : elle permet l'accumulation de variation génétique cryptique qui, si elle est dévoilée, constitue un stock de variation pour une adaptation rapide!

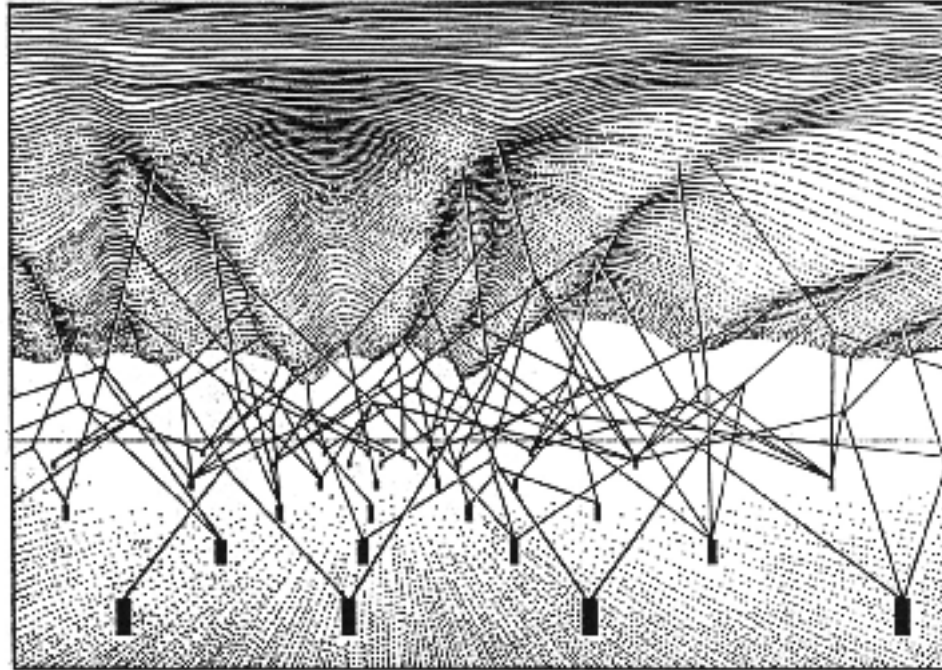
Waddington : mutation sévère/stress => décanalisation.

Le stress génère donc l'expression - environnement dépendante - de variants génétiques jusque là cryptiques. Si l'environnement persiste, ces variants peuvent être sélectionnés et devenir fixés.

Cette assimilation génétique est proposée par Waddington comme une explication très Darwinienne de phénomène d'hérédité de caractères acquis.

La capacité à évoluer (évolutivité) est elle donc elle même soumise à sélection?

En l'absence de connaissance sur les bases moléculaires et génétiques de la variation morphologique, ces résultats et hypothèses sont marginalisés.



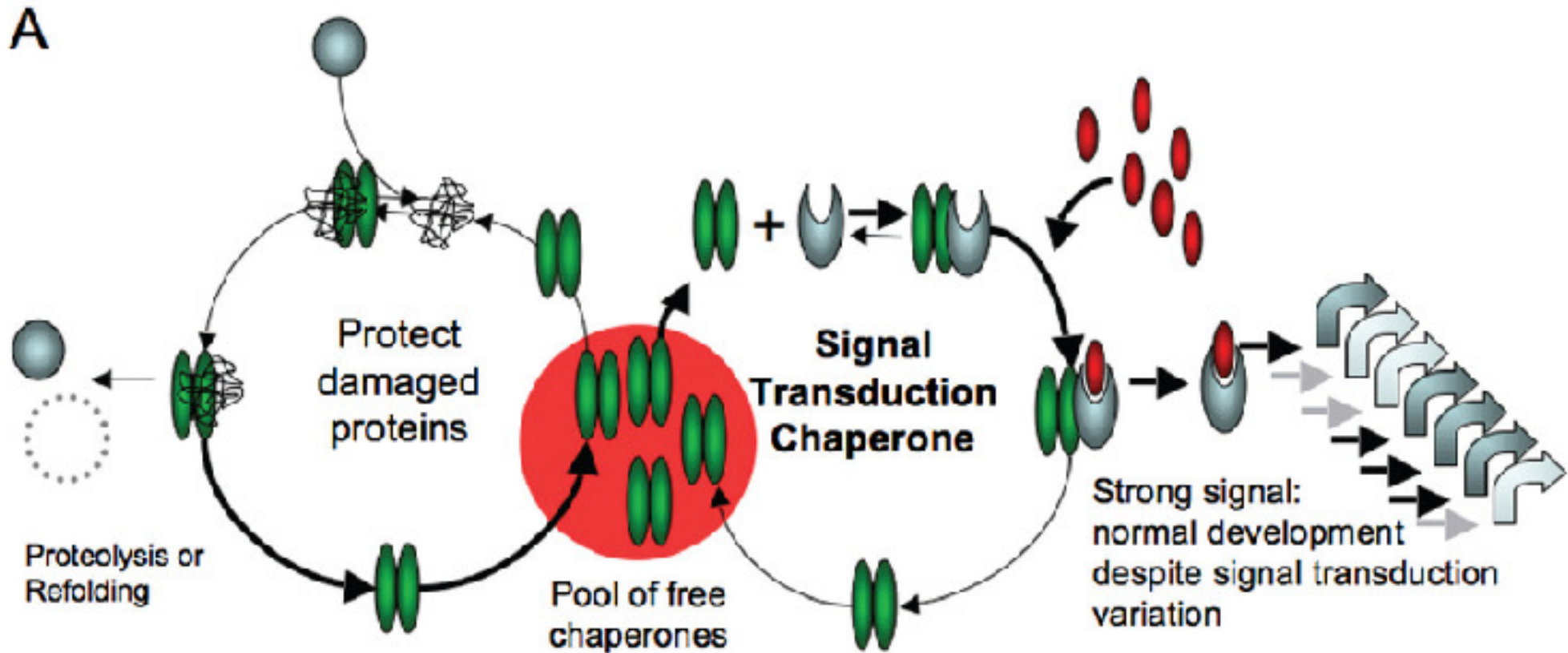
Waddington est d'ailleurs très particulier dans sa volonté d'appréhender la complexité du monde réel. La plupart des biologistes de son époque s'attaquent – avec succès – à des questions beaucoup plus réductionnistes : Beadle et Tatum reçoivent le prix Nobel en 58 pour leur modèle 'un gène – une enzyme'

Il faudra attendre les années 90 avec l'émergence des techniques de biologie moléculaire du développement pour voir ces idées ravivées.

Bases Génétiques et moléculaires de la canalisation

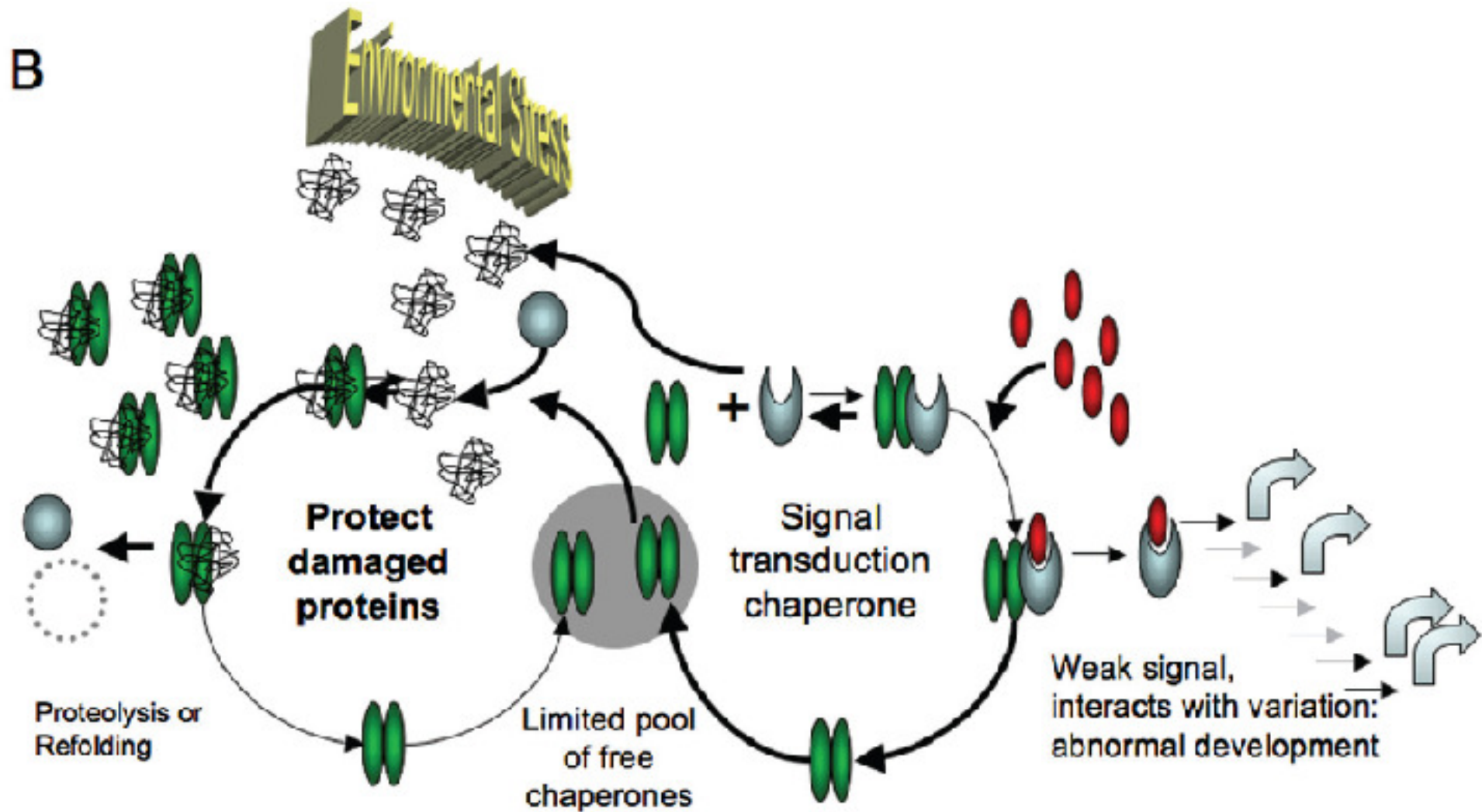
1- Hsp90 as an evolutionary capacitor: Rutherford and Lindquist (1998) Nature

Hsp90 = Heat shock protein 90 kDA - Protéine chaperon



D'après Rutherford et al 2007

Fonctionnement d'Hsp90 en relation avec un stress environnemental



D'après Rutherford et al 2007

1998 - Rutherford et Lindquist: Hsp90 as an evolutionary capacitor

Différents mutants du gène *hsp83* codant pour Hsp90 ont été étudiés. Elle montrent que les mutants présentent une grande diversité de phénotypes.

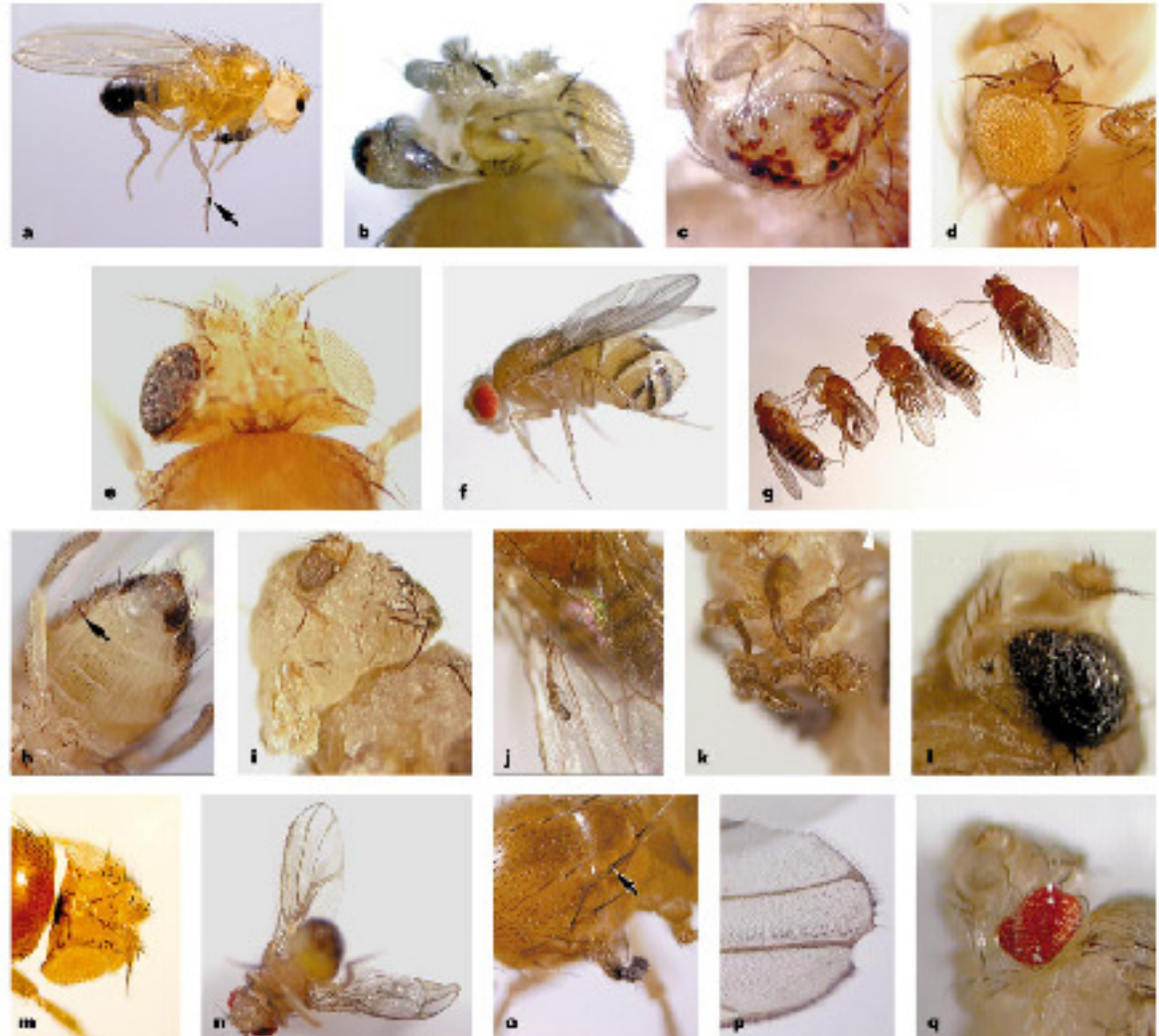
Sélection : phénotype alaire + phénotype d'oeil.

=> forte augmentation de leur fréquence.

Après 12 générations, la plupart ont perdu la mutation d'Hsp90.

La production du phénotype, d'abord dépendante de la mutation d'Hsp90, a donc été facilitée par la sélection.

= assimilation génétique de Waddington!

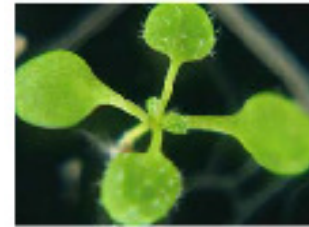


ISI web of science : papier cité 660 fois. Pourtant les études empiriques sont peu nombreuses:

Rutherford and Lindquist 1998 *Nature*
Milton et al 2003 *PNAS*
Sollars et al 2003 *Nature*
Milton et al 2005 *Genetics*
Debat et al 2006 *Evolution*
Milton et al 2006 *PLOSone*
Carey et al 2006 *PLOSone*
Kellermann et al *BJLS* 2007



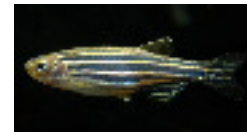
Queitsch et al 2002 *Nature*
Sangster et al 2007, *PLOSone*
Samakovli et al *J Exp Bot* 2007
Sangster et al 2008a,b *PNAS*



Cowen and Lindquist 2005 *Science*

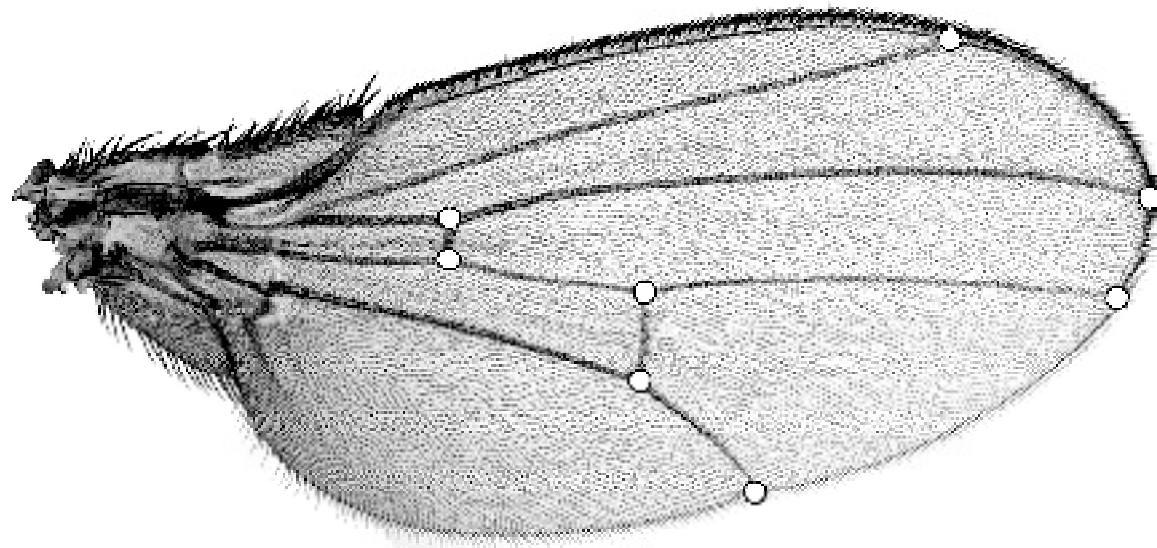


Yeyati et al 2007 *PLOS Genetics*



Hsp90 et variation de forme alaire chez *Drosophila melanogaster*

Debat et al 2006 *Evolution*



Déterminisme de la variation phénotypique

Canalisation:

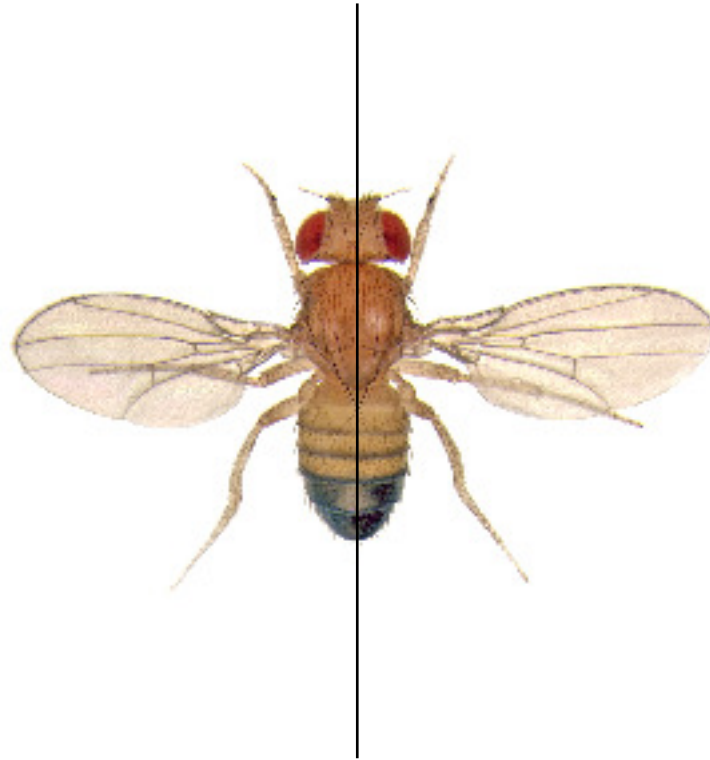
Mécanismes assurant la constance du phénotype en dépit des effets environnementaux et génétiques

Stabilité de développement

Mécanismes assurant la constance du phénotype en dépit des erreurs aléatoires de développement. Mesurée par l'asymétrie fluctuante

Asymétrie fluctuante

**Mêmes gènes
Même environnement**



**Théoriquement = deux fois la même chose
=> Amplitude des différences = précision du développement**

Mais

**Canalisation et Stabilité de développement
= concepts flous depuis Waddington:
bases développementales / génétiques / moléculaires?**

Hsp90 et l'hypothèse “evolutionary capacitor” Rutherford and Lindquist, *Nature* 1998

Conditions environnementales standards

Hsp90 = chaperon moléculaire

Stabilise ses protéines cibles => maintient leur fonction. Des mutations peuvent se produire sur ces protéines sans effet phénotypique = neutres

Permet la formation d'une variance génétique cryptique

Conditions environnementales extrêmes

Hsp90 peut être détournée de ses cibles habituelles

Déstabilisation => effets phénotypiques = la variance génétique cryptique est révélée

**Augmentation de la variance phénotypique héritable
= Augmentation du potentiel évolutif -adaptatif**

Questions

Hsp90 = la meilleur piste comme base moléculaire de la canalisation génétique (= tamponne l'effet de la variation génétique)

Mais: le support expérimental est faible

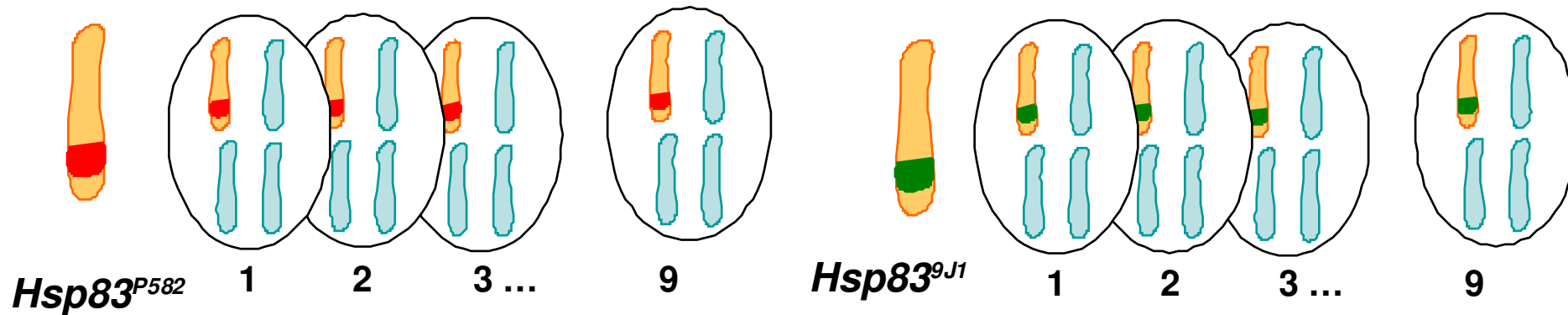
Qu'en est-il de la canalisation environnementale? (= contrôle de la variation environnementale?)

Qu'en est-il de la stabilité de développement (estimée par l'asymétrie fluctuante) ?

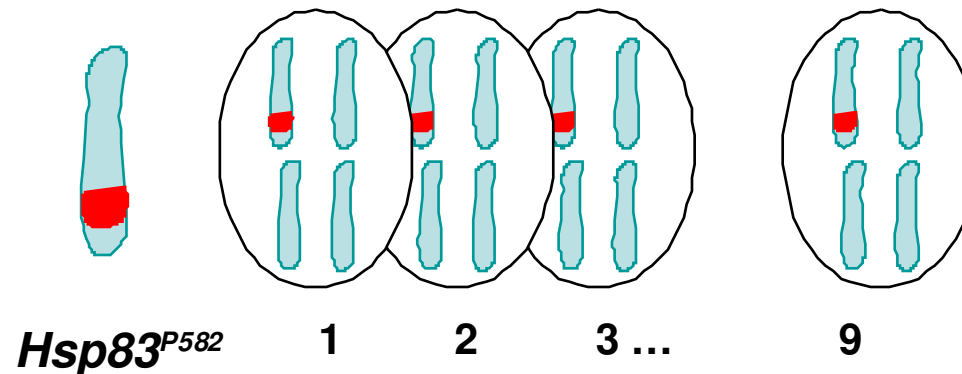
Effets d'une altération du système Hsp90 sur la variation de la forme de l'aile de la Drosophile

- Inhibition pharmacologique de Hsp90
- Mutations affectant *Hsp83*, le gène codant pour Hsp90

- Deux *chromosomes* mutants => Introduits dans 9 lignées consanguines



- Un *allele* mutant Introduit dans les mêmes 9 lignées



Questions - Prédiction

- Hypothèse 'Evolutionary capacitor' :

=> augmentation de variance génétique
= variation entre lignées consanguines

- Hsp90 tamponne t-elle les effets environnementaux?

=> augmentation de variance environnementale
= variation *intra lignée*

- Hsp90 tamponne t-elle les erreurs aléatoires de développement?

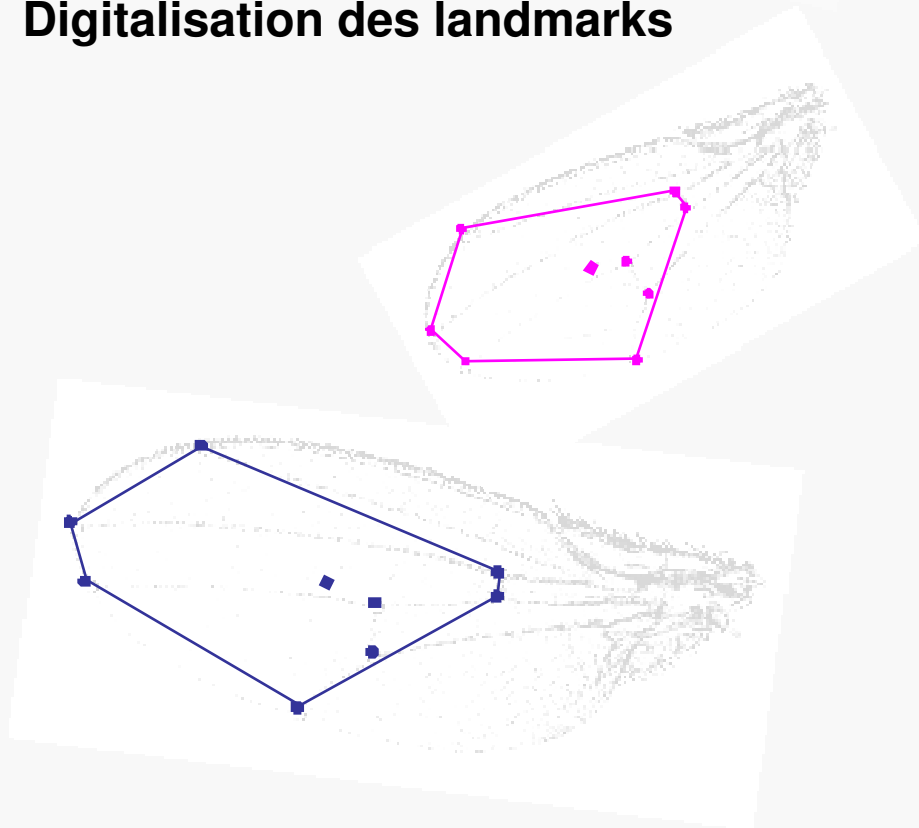
=> Instabilité de développement
= augmentation d'asymétrie

Morphométrie géométrique – Superposition Procrustes

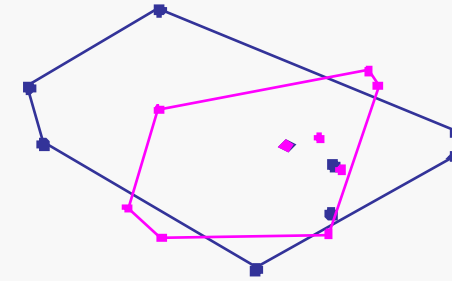
Acquisition des images



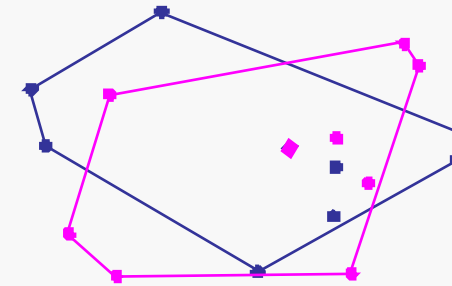
Digitalisation des landmarks



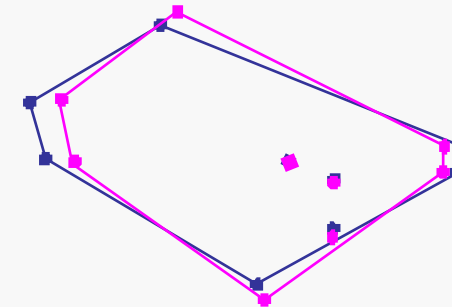
Translation



Mise a l'échelle



Rotation



Mesure des composantes de variance de forme

Entre lignées



Variation génétique

Intra lignées (entre individus)



Variation environnementale

Intra lignées (intra-individus)



Asymétrie fluctuante

Comparaisons avec contrôles

Résultats

Inhibition pharmacologique

Pas d'augmentation de variance phénotypique
Pas d'augmentation d'asymétrie fluctuante

Chromosomes mutants

Pas d'augmentation de variation entre lignées
Pas d'augmentation de variation intra lignée
Pas d'augmentation d'asymétrie fluctuante

Allèle mutant

Pas d'augmentation de variation entre lignées
***Forte augmentation* de variation intra lignée**
***Forte augmentation* d'asymétrie fluctuante**

Conclusions:

Pas d'augmentation de variance génétique:

La théorie de l' 'evolutionary capacitor' n'est pas supportée

Augmentation de variation de forme dans les lignées contenant l'allèle mutant :

Hsp90 tamponne les effets environnementaux

Augmentation d'asymétrie fluctuante dans les lignées contenant l'allèle mutant :

Hsp90 tamponne les erreurs de développement

La non concordance entre les expériences limite l'interprétation de ces résultats

Conclusions:

L'effet d'Hsp90 sur la variation phénotypique dépend du contexte génétique (chromosomique)

Notre étude montre que le rôle d'Hsp90 dans le contrôle de la variation morphologique est plus complexe qu'il n'était envisagé jusqu'ici.

Take home message (s):

L'histoire d'Hsp90 ne doit pas être rejetée en bloc... Il s'agit toujours du meilleur exemple de base moléculaire de canalisation.

Cela dit:

Rutherford et Lindquist 1998, ISI web of science, cité 660 fois:

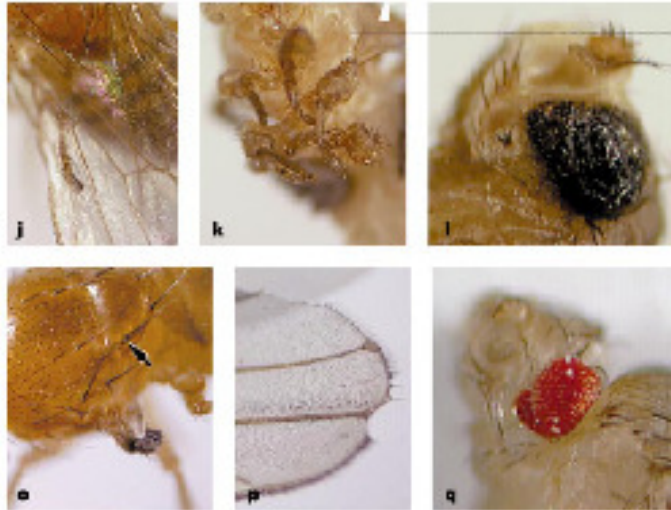
- 14 études empiriques

-Il faut plus de données

- Certainement pas le seul mécanisme

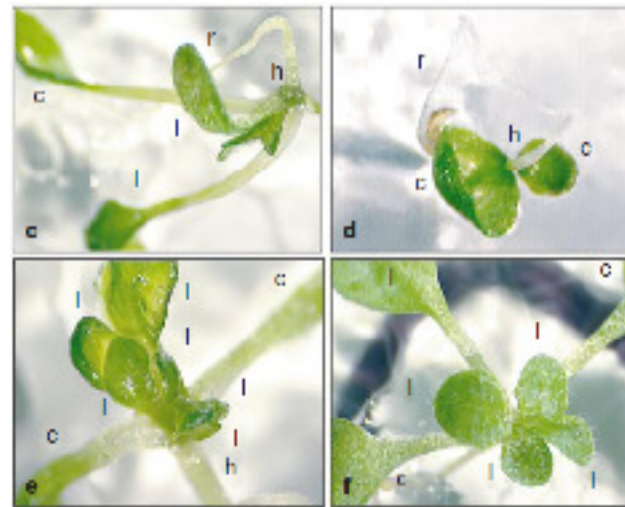
2 - Critiques de l'"Evolutionary capacitor' hypothesis

Est-ce que les mutations révélées peuvent être bénéfiques?



Les défauts initialement rapportés sont des macromutations délétères...

Réponse par Queitsch et al 2002 sur Arabidopsis : Effets dose dépendants



Critique de l'adaptationisme de Rutherford et Lindquist :

Est ce que Hsp90 a été sélectionnée pour cet effet sur l'évolvabilité?

=> Exaptation ? Des modèles mathématiques récents ont montré que c'est possible!

Les structuralistes contre attaquent :

Modèles de génétique des populations et modèles de réseaux de gènes

= la robustesse serait une propriété inhérente aux systèmes complexes...

Critique de l' *Evolutionary capacitor Hypothesis* : modèles de génétique des populations

Hermisson and Wagner Genetics 2004

Ces auteurs suggèrent que lorsque deux conditions sont remplies:

- population à l'équilibre mutation-sélection-dérive
- existence d'épistasie ou de forte interaction G x E

Une mutation à effet majeur/ un stress environnemental suffisent à générer une augmentation de variation = mise en évidence de la variation génétique cryptique.

Il concluent donc :

- que l'hypothèse de l'existence d'un mécanisme de canalisation n'est pas nécessaire pour expliquer le relargage de CGV
- que l'existence de CGV n'implique pas la canalization du type sauvage

Critique de l'Evolutionary capacitor hypothesis': robustesse des réseaux de régulation de gènes

A. Wagner 1996
Siegal and Bergman 2002 PNAS
Bergman and Siegal 2003 Nature

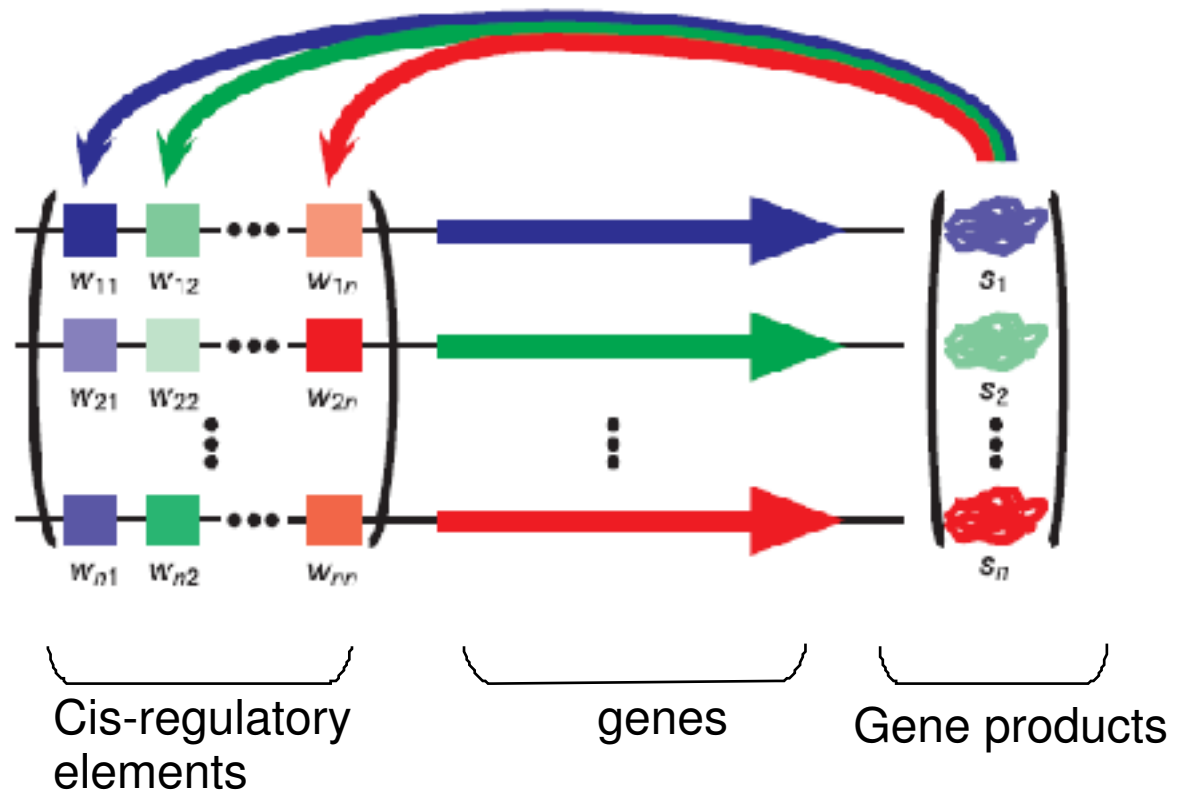
Modélisation du développement:

N gènes => feedback régulation

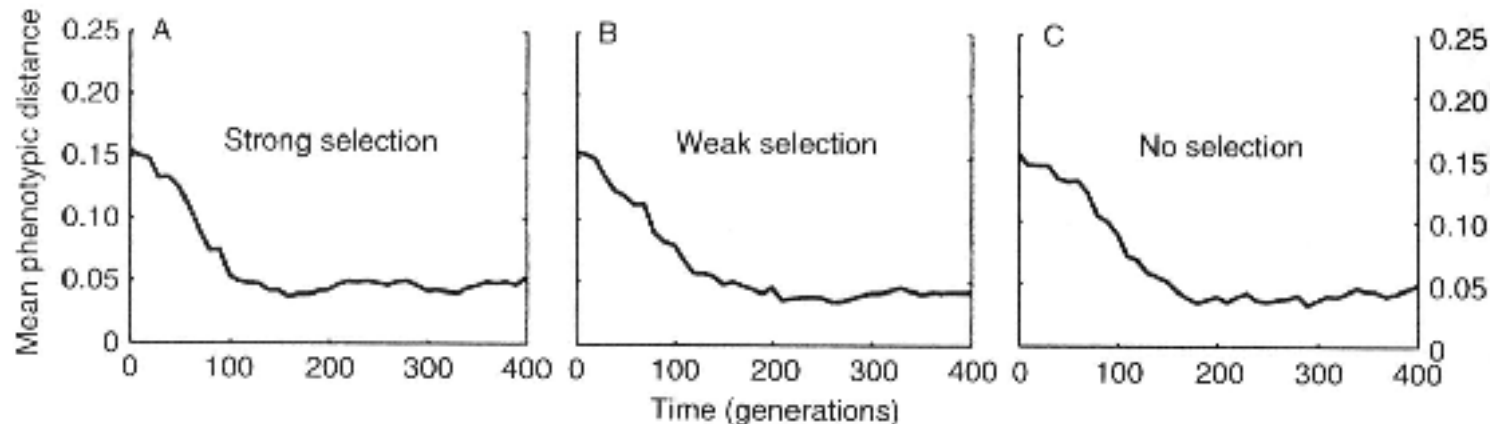
Système dynamique : on part d'un état aléatoire (des éléments régulateurs) et on fait tourner la boucle jusqu'à ce qu'un état stable soit atteint.

Modélisation de la reproduction et de la sélection

(l'optimum adaptatif est un état S quelconque)



Critique de l'Evolutionary capacitor hypothesis': robustesse des réseaux de régulation de gènes



Les résultats sont similaires avec ou sans sélection stabilisante: le système évolue vers une plus grande robustesse (l'effet phénotypique d'une mutation diminue avec le nombre de générations).

Enfin, ils montrent que cette stabilité est fonction de la complexité du système.

Ils concluent qu'il n'y a pas besoin de sélection stabilisante pour atteindre un système robuste.

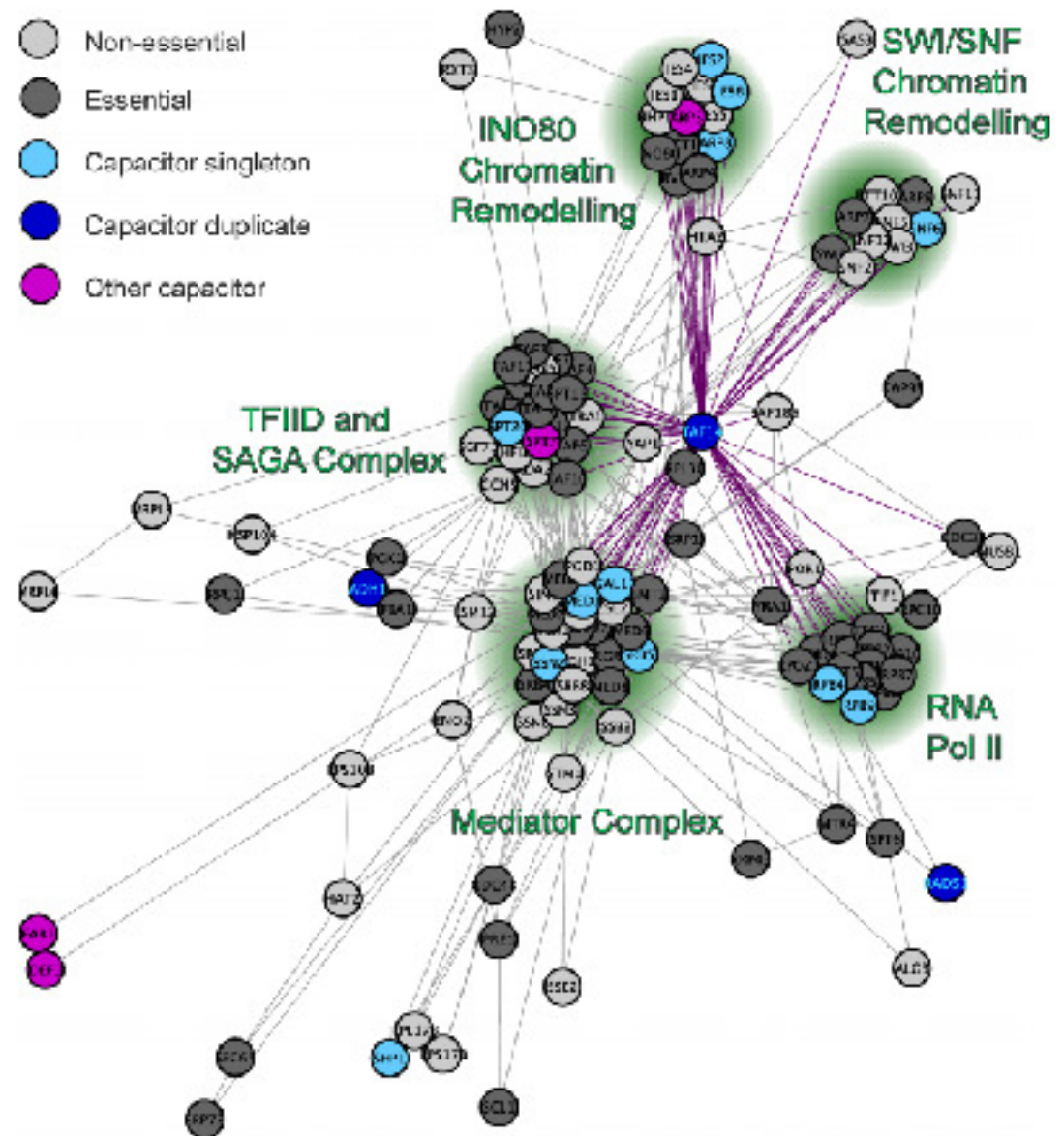
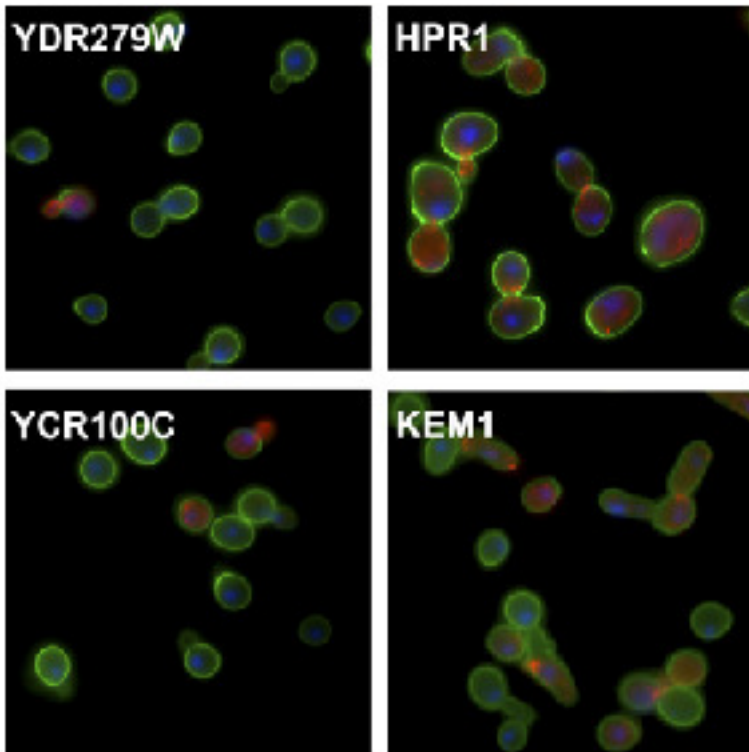
Seul le critère de stabilité du système de développement compte.

Et cette stabilité étant fonction de la complexité du système, ils concluent que la canalisation est une propriété inhérente aux systèmes complexes.

Levy and Siegal 2008 *PlosBiol*

Saccharomyces cerevisiae (levure)

4000 mutants knock out (délétions de gènes individuels) => 300 phenotypic capacitors! = network hubs!



Evolution de la canalisation

3 hypothèses :

-La canalisation peut être sélectionnée et est adaptative

Sélection stabilisante : maintenir le phénotype proche de sa valeur optimale.
Modeles supposent l'existence de deux types de loci : loci structuraux et loci épistatiques = 'modifiers' modulant l'effet des loci structuraux.

-La canalisation est une propriété intrinsèque des systèmes développementaux et évolue comme sous produit de la sélection de caractères fonctionnels

C'est l'hypothèse discutée par les modèles de réseaux.

-La canalisation génétique évolue comme conséquence de la sélection pour la canalization environnementale

Des travaux de modélisation montrent que les mutations sont des événements trop rares pour que la canalisation génétique soit sélectionnée.
Par contre les effets environnementaux sont fréquents...

Exemple



Etude des effets conjoints de la température et de mutations sur l'aile de *Drosophile* Debat V., A. DeBelle and I. Dworkin (soumis)

L'aile de *Drosophile* est bien connue d'un point de vue développemental

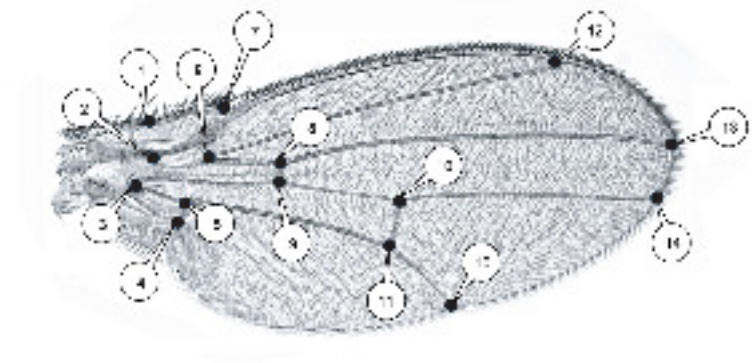
16 mutations hétérozygotes

2 températures 18°C et 28°C



Mutations

		M1	...	M16	CTR
Température	18°C	20 individus 	...		
	28°C	20 individus 	...		



L'aile est décrite par des points de repères (morphométrie géométrique)





Mutations

	Mutations			
	M1	...	M16	CTR
Température	18°C	20 individus	...	
				
	28°C	20 individus	...	
				



Canalisation
génétique à 18°C

		Mutations			
		M1	...	M16	CTR
Température	18 °C	20 individus 	...		
	28 °C	20 individus 	...		

Canalisation
génétique à 28 °C

		Mutations			
		M1	...	M16	CTR
Température	18 °C	20 individus 	...		
	28 °C	20 individus 	...		

Plasticité
phénotypique (M1)

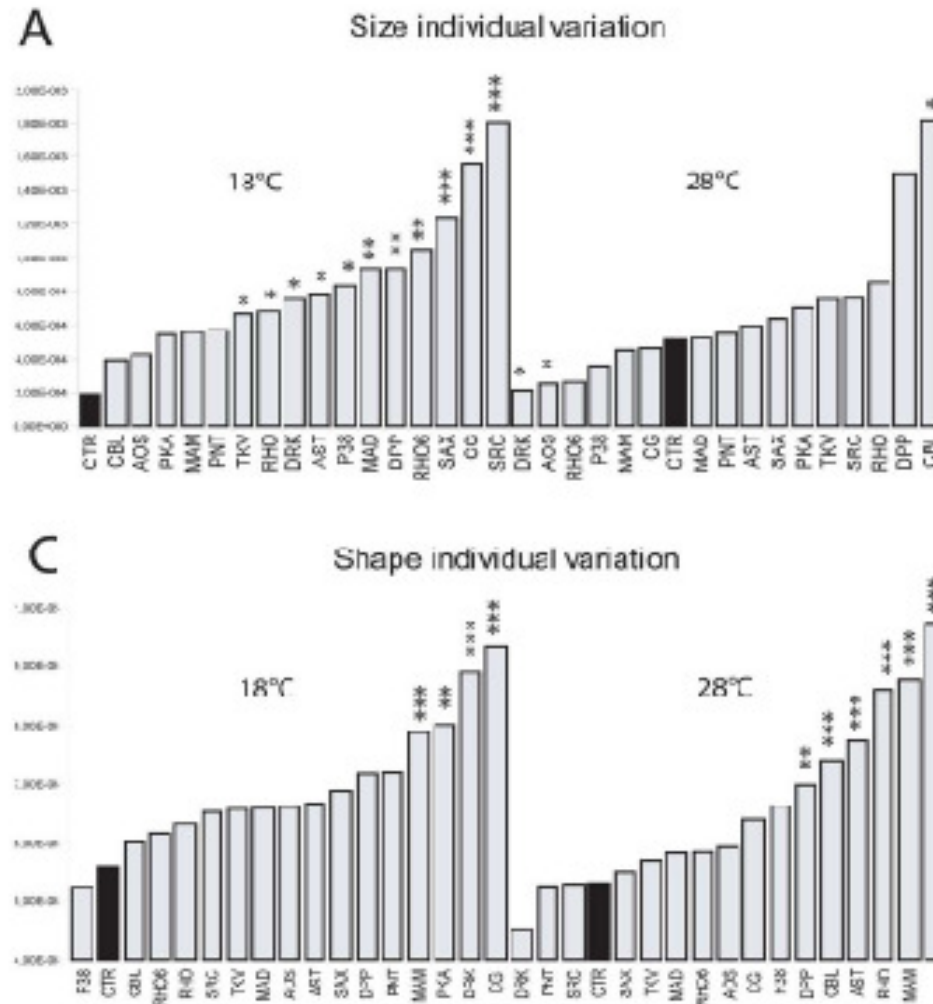
		Mutations			
		M1	...	M16	CTR
Température	18°C	20 individus	...		
					
	28°C	20 individus	...		
					

Canalisation
environnementale
(18°C - M1)

Résultats:

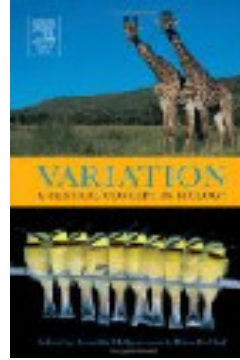
Canalisation génétique: pas d'effet de la température (la variation entre mutants n'est pas modifiée par la température)

Canalisation environnementale :



Des références

Waddington : *the strategy of the genes*
Schmalhausen : *Factors of evolution*



Hallgrímsson and Hall
Variation

