

# Chapitre 2- Analyse génétique

S.Dekkiche

# Chapitre 2- Analyse génétique

## Plan du cour

### **I- Les maladies du patrimoine génétiques**

(ou pathologies génétiques)


- Causes des maladies génétiques
- Mode de transmission des maladies génétiques



### **II- Analyse génétique**

- Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale
- Diagnostics et tests génétiques
- Techniques appliquées dans une analyse génétique

**I- Les maladies du patrimoine  
génétiqnes  
(ou pathologies génétiques)**

# I-Patrimoine génétique et pathologies

**Patrimoine génétique**  l'ensemble de l'information génétique de l'individu représenté par les gènes (ADN) d'un individu (transmis d'un individu à sa descendance )

**Patrimoine génétique**  13 chromosomes issus de la mère  13 chromosomes issus du père

## 1- Les maladies du patrimoine génétiques ? (ou pathologies génétiques)

### maladies chromosomiques

- anomalies du nombre ou de la structure des chromosomes
- l'anomalie survient au hasard
- peut apparaitre dans n'importe quelle famille (cas de trisomie 21).
- mis en évidence par des techniques de cytogénétique (caryotype).

### maladies géniques

- l'anomalie se situe au niveau du gène
- l'allèle muté s'avère non fonctionnel
- affecte plus particulièrement les membres d'une même famille
- mis en évidence par des techniques de BM (difficile)

# Causes des maladies génétiques

gènes mutés dans des  
cellules somatiques

gènes mutés dans des  
cellules sexuelle (germinale)

localisation sur les chromosomes  
autosomiques (1-22)

localisation sur les chromosomes  
sexuelles (x, Y),

mutation autosomique

mutation liée au sexe

**Remarque:** les maladies liées au sexe sont transmises beaucoup plus par les femmes et en general seul les hommes en sont atteints (la Myopathie de Duchesne)

# Mode de transmission des maladies génétiques ?



## Transmission autosomique récessif

- La maladie se présente lorsque les 2 allèles sont mutés
- Si un couple est porteur de la mutations, il a 25% des enfants qui sont malades et 25% qui seront sains
- Exemple: fibrose kystique



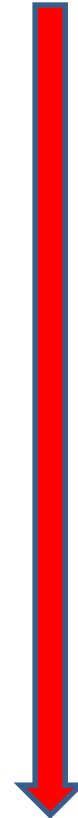
## Transmission liée au sexe

- la mutation associée au chromosome X est transmise différemment par la femme et par l'homme.
- Au cas d'une héritabilité d'une mutation récessive sur un chromosomes X, l'homme sera le malade et une probabilité faible pour la femme



## Transmission autosomique dominante

- un allèle dominant muté est suffisant pour la présentation de la maladie
- si un des parents est malade alors  $\frac{1}{2}$  de ses enfants seraient malades et  $\frac{1}{2}$  seraient des non malades.



## Transmission mitochondriale

- Tout le monde hérite des mitochondries maternelles
- Ce mode de transmission rare est associé à des troubles mitochondriques (métabolisme énergétique).

## **II- Analyse génétique**

# II-Analyse génétique



une analyse du génome d'un organisme (uni ou pluricellulaire) par une ou plusieurs techniques génétiques

**Chez les humains**  
(plusieurs objectifs)

## cadre médical

- diagnostic de la pathologie
- prédispositions à des maladies ( avant que les symptômes cliniques ne se manifestent).
- prévention et la thérapie des maladies (incurables)

## Identification d'un genre ou d'une espèce

(cas des microorganismes)

## cadre -juridique

(enquêtes criminelles ou affaire de paternité)



## II- Analyse génétique

# Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale ?

### 1-Détermination de la cause de la pathologie (génétique)

(plusieurs questions doivent trouver leur réponses)



**La maladie est elle chromosomique OU génique ?**



- de quelle anomalie s'agit il (structurale ou du nombre) ?
- quel chromosome s'agit il ?
- de quelle mutation ou anomalie s'agit il ?
- de quelle mutation ou anomalie s'agit il ?

-



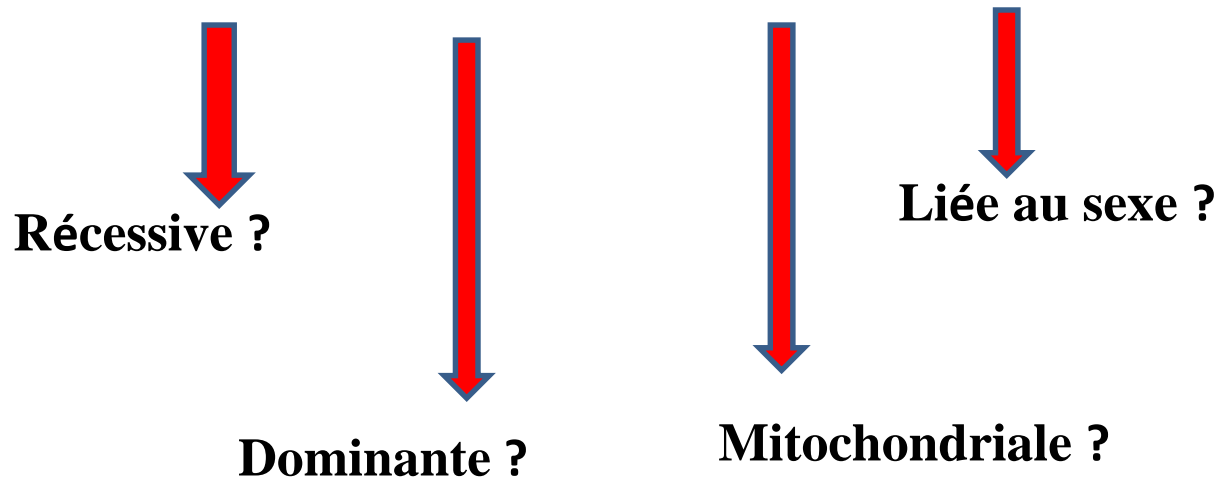
- maladie mono- génique ou pluri- génique ?
- de quel gène s'agit-il (sa localisation exacte et sa fonction exacte ?
- un seul allèle du gène est muté ou les deux allèles ?
- le type de mutation ou d'anomalie ?
- le type de protéines correspondantes dans le cas normal et dans le cas de pathologie ? (tout en déterminant leur quantité et leur qualité fonctionnelle dans les deux cas).

## II- Analyse génétique

### Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale ?

#### 2-Détermination du type et du pourcentage de la transmission par génération

##### Détermination du type de transmission



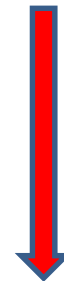
## II- Analyse génétique

# Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale ?

### Détermination du pourcentage de transmission (lois de Mendel) :

-Gregor Mendel, Après plus de 10.000 croisements (entre des espèces des petits pois.) soigneusement choisis et répertoriés, il a pu mettre 3 lois concernant la transmission des caractères au cour de la reproduction sexuée. 16ans après sa mort Ces lois sont redécouvertes et sont connus actuellement comme lois de Mendel.

**Les lois de Mendel**  **de déterminer le pourcentage ou l'effectif de la transmission d'un caractère donné par génération selon plusieurs critères :**



**Type de transmission**  
(récessive, dominante,  
liée au sexe)

**l'individu soit  
homozygote ou  
hétérozygote ( pour le  
caractère suivi**

**le nombre de caractères, de  
gènes et d'allèles intervenant**

**le caractère est de type  
autosomique ou germinal**

## II- Analyse génétique

# Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

Rappelons 1 -



**une fécondation**

(homme, 46 chromosomes, 23 paires de chromosomes : 22 autosomique et une paire germinale).



un spermatozoïde (23 chromosomes : 22 autosomique et 1 germinal , hétérozygote XY)



un ovotide (23 chromosomes: 22 autosomiques et 1 germinal , homozygote XX)



**2-** pour chaque caractère, l'individu peut être un homozygote (les deux allèles du même gène sont similaires), ou hétérozygote (les deux allèles du même gène sont différents)

- Le phénotype va dépendre des règles de dominance entre les allèles



**3-** le phénotype est l'ensemble des caractéristiques de l'individu visibles directement (structure, couleur....) et indirectement (fonction protéique et molécules.....).

Le génotype est l'ensemble des informations contenu dans le patrimoine génétique.

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un mono hybridisme (un seul gène et un seul caractère est suivi)

Application de 2 lois de Mendel

Une pour la première génération

Une pour la deuxième génération

première loi de Mendel : loi d'uniformité de la première génération



permet de donner le pourcentage de transmission d'un caractère donné après la première génération suite à la fécondation de deux racés purs (deux allèles homozygotes), que ce soit des allèles dominant ou récessifs.

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un mono hybridisme (un seul gène et un seul caractère est suivi)

#### première loi de Mendel



**tous les individus issus de la première génération, ont le même aspect extérieur (le même phénotype)**

Exemple : soit le caractère couleur de graine

-Blanc représenté par « b » (récessif)

-Noir représenté par « N » (dominant)


On croise des males noir homozygotes (race pure) avec des femelles blanches homozygotes (race pure), quel est le phénotype de la génération obtenue après la première division et quel est son pourcentage de transmission?

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un mono hybridisme (un seul gène et un seul caractère est suivi)

#### première loi de Mendel

Rassembler toutes les informations génétiques (génotype, phénotype, gamètes) dans un tableau



phénotype	Male (noir)	Femelle (blanche)
génotype	NN ou (N/N)	bb ou (b/b)
Gamètes (ou allèles)	N	b
Génotype de l'hybride	Nb (ou N/b)	
Phénotype de l'hybride	Noir (puisque le noir est dominant)	
Pourcentage de transmission du caractère noire	100%	



- tous les individus obtenus dans la première génération portent le même phénotype ( couleur noire) mais leur génotype est différent de ceux des parents.
- tous les individus obtenus dans la première génération sont des hétérozygotes

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un mono hybridisme (un seul gène et un seul caractère est suivi)

### Deuxième loi de Mendel : loi de réapparition des caractères parentaux

(loi de l'assortiment indépendant ou loi de recombinaison des gènes)



concerne les individus (hétérozygotes) issus après croisement des individus obtenus à la première génération entre eux



Suite de l'exemple précédent: on croise des graines mâles noir avec des femelles noir obtenu à la génération 1, on écrira : **F1XF1**



## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un mono hybridisme (un seul gène et un seul caractère est suivi)

#### Deuxième loi de Mendel

##### Donnés des parents (individus de F1)

	F1 male	F1 femelle
phénotype	noir	noir
génotype	Nb (ou N/b)	Nb (ou N/b)
Gametes donnés	N, b	N, b

##### Donnés des individus F2 (F1XF1)

		male	
		N	b
femelle	N	<b>N/N</b>	<b>N/b</b>
	b	<b>N/b</b>	<b>b/b</b>

##### Résultats :

-1/4 de génotype **N/N** dont le phénotype est noir (homozygote)

-2/4 de génotype **N/b** dont le phénotype est noir (hétérozygote)

-1/4 de génotype **b/b** dont le phénotype est blanc (homozygote)

-3/4 des individus présentent le caractère dominant et le  
-1/4 représente le caractère récessif.

Les génotypes des parents sont réapparus dans cette génération d'où le nom de la loi réapparition des caractères parentaux

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'un di- hybridisme (deux caractères sont suivis) :



### Application de la troisième lois de Mendel

**Exemple** : croisement des lapins

- Le caractère 1 est la couleur des yeux d'un lapin (noir ou blanc)
- Le caractère 2 est la longueur du poil (long ou court)

**On croise des mal noir, court avec des femelles blanches, longues**



Carctére1	Caractère2
Couleur des yeux	Longueur du poil
Noir ou blanc	Long ou court
Noir domine blanc	Court domine long
N domine b	C domine l

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Application de la troisième lois de Mendel

#### Caractérisation du F1 :

	Mal (noir, court)	Femelle (blanc, long)
génotype	NN, CC (ou NN /CC)	bb, ll (ou bb/ll)
Gamètes	N, C	b , l
Croisement	N, C /b,l (NC, bl)	



**Donc en F1, tous les individus sont noir, poil court (100%) (loi d'homogénéité)**

#### Caractérisation des individus F2 :

	F1 (male)	F1 (femelle)
génotypes	NCbl	NCbl
gamètes	NC , Nl, bC, bl	NC , Nl, bC, bl



**Croisement (F2XF2)**

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Application de la troisième loi de Mendel

#### Croisement (F2XF2)

	NC	NI	bC	bl
NC	NC/NC	NC/NI	NC/bC	NC/bl
NI	NC/NI	NI/NI	NI/bC	NI/bl
bC	bC/NC	bC/NI	bC/bC	bC/bl
bl	bl/NC	bl/NI	bl/bC	bl/bl

#### Résultats

(effectif , ou pourcentage)

- 9/16 Noir, Court (jaune)
- 3 /16 Noir, Long (vert)
- 3/16 Blanc, Court (gris)
- 3/16 blanc, long (rose)

Obtention d'un mélange des caractéristiques parentales

Disjonction indépendante des caractères parentaux  
( la troisième loi de Mendel)

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'hérédité liée au sexe

#### Cas de l'hémophilie



maladie dont le gène responsable est porté sur le chromosome X

**Exemple :** quelles sont les proportions obtenues suite au croisement d'un père sain et d'une mère porteuse de la mutation conduisant à une hémophilie ?

#### Réponse à la question

##### Données et caractérisation des parents

- XY représente un homme sain
- XX représente une femme saine
- $X_hX$  représente une femme porteuse
- $X_hY$  représente un homme malade

	père sain	Mère porteuse
génotypes	XY	$X_hX$
gamètes	X, Y	$X_h, X$

##### Résultat du croisement

- 1 / 4 femme porteuse
- 1 / 4 femme saine
- 1 / 4 homme malade
- 1 / 4 homme sain



-l'hémophilie affecte presque exclusivement les hommes  
-Les femmes sont soit indemnes (saines 100%), soit des porteuses de la maladie.

## II- Analyse génétique: Les paramètres d'une analyse génétique d'ordre médicale

### Détermination du pourcentage de transmission dans le cas d'hérédité liée au sexe

#### Cas du daltonisme



maladie dont le gène responsable est porté sur le chromosome X



- La maladie ne s'exprime chez la femme que dans le cas homozygote récessive pour ce caractère ( $X_dX_d$ ).
- L'homme daltonien, a pour formule génétique  $X_dY$ .

#### Remarque:

- en plus de l'hérédité liée au sexe, il existe l'hérédité influencée par le sexe
- pour le même génotype, certains caractères s'expriment différemment selon qu'il s'agit d'un male ou d'une femelle.

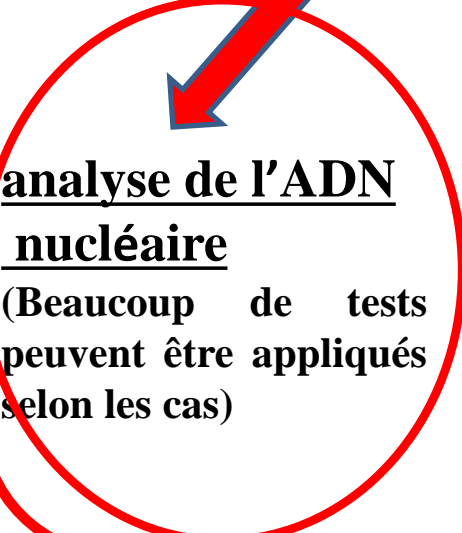

## II- Analyse génétique

# 2- Diagnostics et tests génétiques


(plusieurs tests génétiques dépendants des objectifs soulignés)



### Diagnostic génétique d'un cas pathologique



analyse de l'ADN  
nucléaire  
(Beaucoup de tests  
peuvent être appliqués  
selon les cas)



analyse de l'ADN  
mitochondriale  
(mettre en évidence  
une affiliation  
mère- enfant)



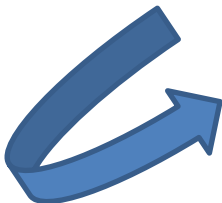
### Test de paternité

(établir un lien de  
parenté génétique  
(enfant- père ou enfant  
-mère).



### Test de Sexage

(l'analyse d'un gène  
qui détermine le  
sexe)



Quels sont les tests les  
plus appliqués pour cas  
pathologique ?

## II- Analyse génétique

# 2- Diagnostics et tests génétiques

## Différents tests d'analyse pour un cas pathologique



### A- Test de Diagnostic rapide (TDR)

-confirmer une maladie génétique soupçonnée chez une personne présentant les symptômes de la maladie

-réalisé grâce à des réactions chimiques par immuno-précipitation sur membrane immuno- chromatographique, le plus souvent sur bandelettes (Lateral- flou-test)

-rapide, simple et peu couteux, il est utilisé directement au sein du cabinet du médecin



### B- Test de prédiction

pour les personnes qui ont des antécédents familiaux d'une maladie génétique dont les symptômes ne sont pas encore décelés



### C- Le criblage des nouveaux nés

chez tous les nouveaux nés afin de rechercher les maladies génétiques fréquentes dans l'enfance et qui peuvent profiter d'une intervention précoce.



## II- Analyse génétique

# 2- Diagnostics et tests génétiques

## Différents tests d'analyse pour un cas pathologique



### D-Test de porteur

- établir si une personne est porteuse d'une mutation ou non si une maladie autosomique récessive est présente dans sa famille



### E- Test de diagnostic prénatal (TDPN)

-savoir si un fœtus a une maladie génétique (anomalie génétique ou mal formation congénitale) lorsque il ya une indication de risque élevée.



### Test de pré-implantation (TDPI)

-effectué sur les embryons produits au moyen de la fertilisation in vitro (risque accru de contracter une maladie génétique grave)  
- Le TDPI est similaire au diagnostic prénatal.

**Remarque: le diagnostic est différent du dépistage**

## II- Analyse génétique

### 3-Les techniques appliquées dans l'analyse génétique

#### A-Techniques d'analyse des chromosomes (techniques cytogénétiques)

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau des chromosomes sans la nécessité d'extraire l'ADN (détermination des anomalies chromosomiques au niveau du nombre ou de la structure).



#### Technique du caryotype

photographie de l'ensemble des chromosomes d'une cellule, disposés selon un format standard :

- Par paire
- Par taille
- Par position du centromère



#### Techniques basées sur hybridation



##### moléculaire

#### **Puce à ADN**

(micromatrice d'ADN, biopuces, en anglais : DNACHIP, DNA- microarrays)  
-ARNm → ADNc → Hybridation avec sondes fluorescentes



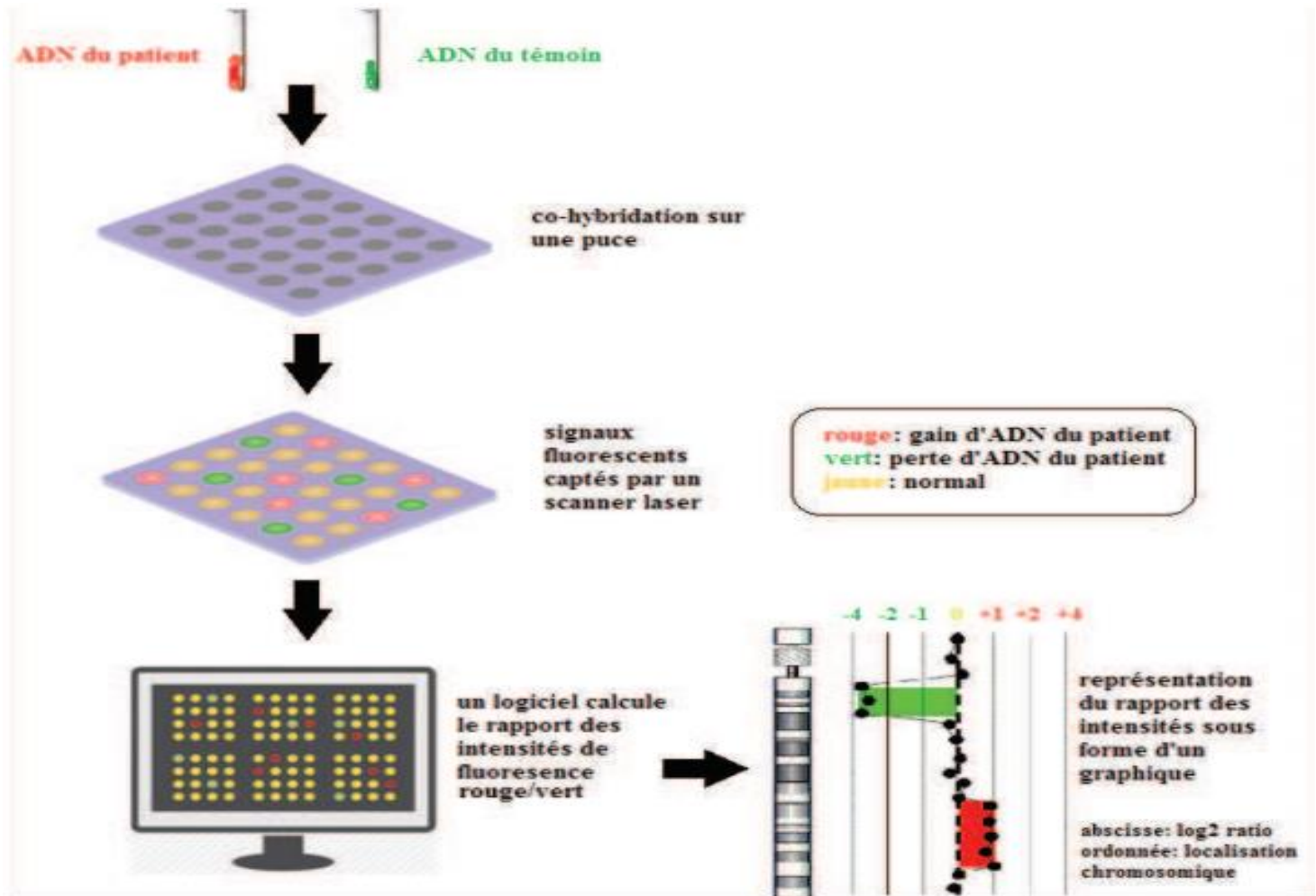
#### **FISH (Fluorescent-Insitu- Hybridation)**

-hybridation in-situ par utilisation de sondes sélectionnées et fluorescentes

## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### A-Techniques d'analyse des chromosomes (techniques cytogénétiques)

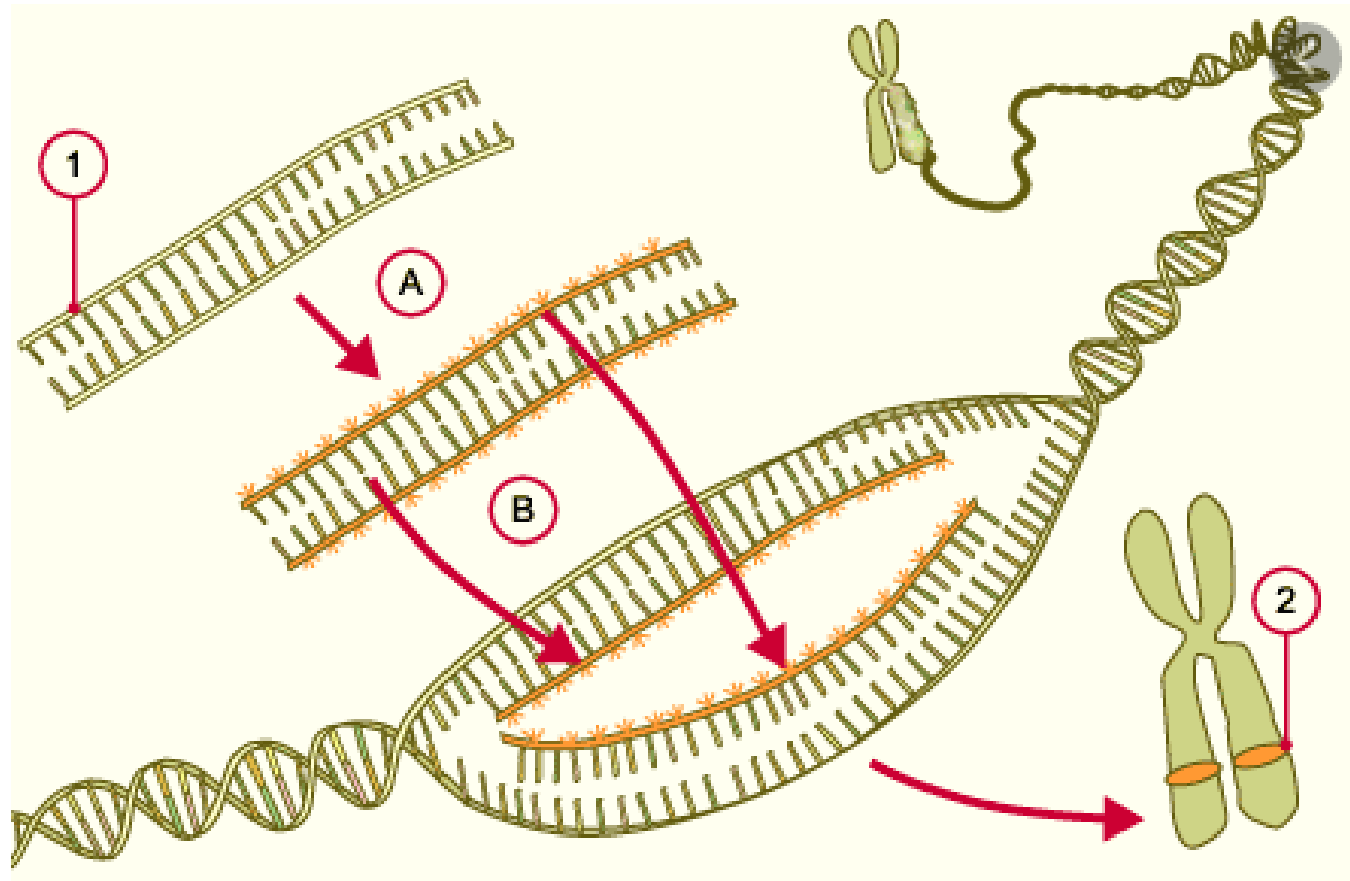
#### Exemple appliquant laPuce à ADN



## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### A-Techniques d'analyse des chromosomes (techniques cytogénétiques)

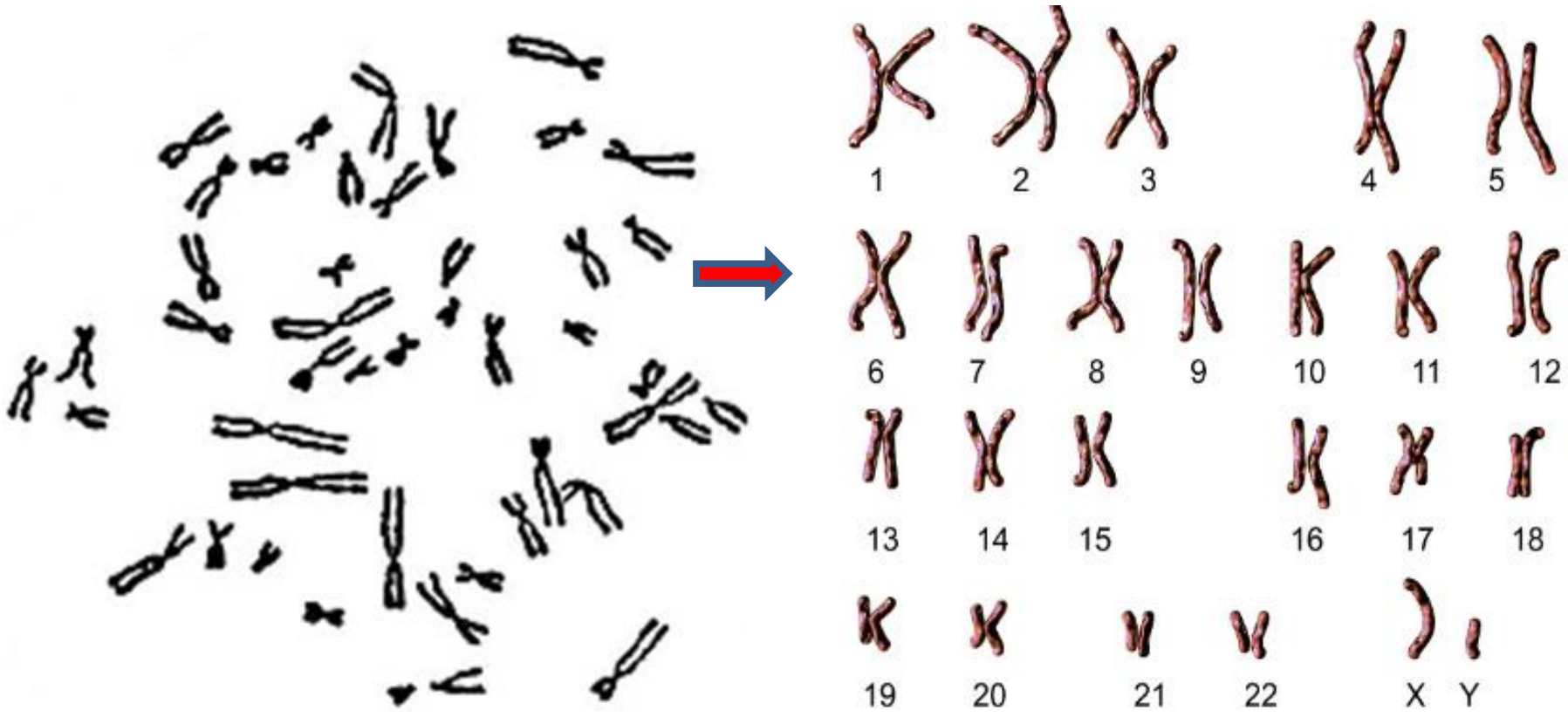
#### Exemple appliquant la technique FISH



# II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

## A-Techniques d'analyse des chromosomes (techniques cytogénétiques)

### Exemple appliquant un caryotype



## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### A-Techniques d'analyse des chromosomes (techniques cytogénétiques)

#### Etapes pour réaliser un caryotype

##### 1- prélèvement des chromosomes

- Chez la femme enceinte ( liquide amniotique)
- Chez le nouveau (prise de sang)
- Chez un malade (cancer ou maladies du sang), le prélèvement ( moelle osseuse, des ganglions, sang ou biopsie d'un organe)

##### 2- culture cellulaire

- in vitro  
lymphocytes, + la colchicine

##### 3- traitement et fixation cellulaire

- mise à gonfler dans un milieu hypotonique.
- Un réactif fixateur est ajouté

##### 4- observation au microscope

- un étalement de la suspension cellulaire est réalisé sur une lame de verre,
- observe les chromosomes et on prendre une photo.

### Caryotype

## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### B- Techniques d'analyse des gènes (techniques géniques)

#### Techniques basées sur l'analyse de la séquence d'un gène

##### **RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction)**

- digérer l'ADN avec un ou plusieurs enzymes de restriction
- comparer son profil electrophoretiques avec celui de référence

##### **Séquençage et alignement**

- déterminer l'ordre de l'enchaînement des nucléotides
- Aligner la séquence avec celle de référence

#### Techniques basées sur hybridation moléculaire

##### **Puces d'ADN**

- Met en évidence la mutation génique responsable de la maladie
- utilisation d'une multitudes de sondes porteuses de mutation

##### **Southern ou Northern blot**

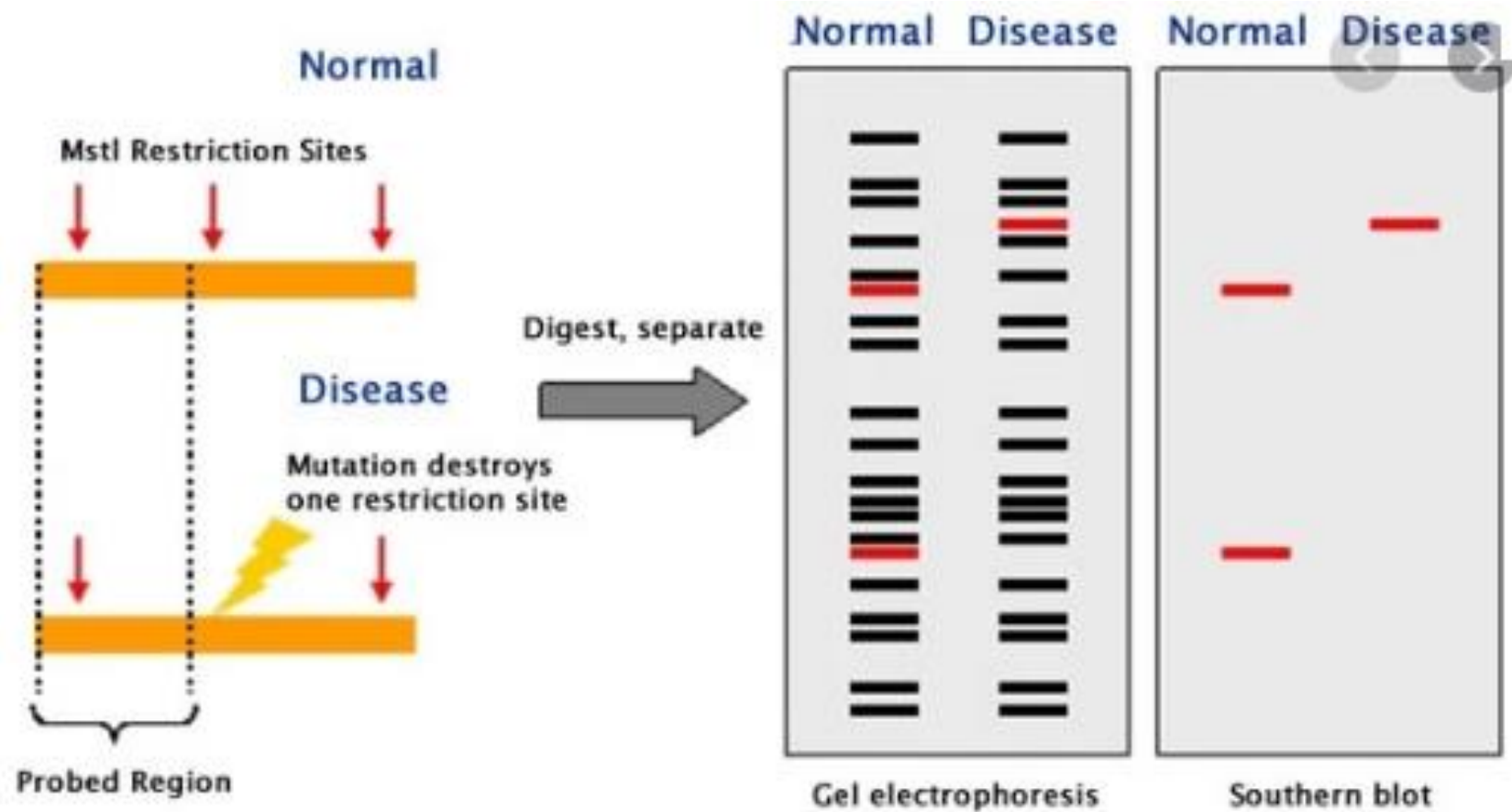
- permet de trouver un gène déterminé et de rechercher les modifications moléculaires importantes ou les réarrangements nucléotidiques.
- permet d'examiner la taille et la quantité d'ARNm transcrit par ce gène

**Remarque:** la RFLP est souvent vérifiée et complétée par une technique d'hybridation (Southern blot)

## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### B- Techniques d'analyse des gènes (techniques géniques)

#### Exemple d'application de la RFLP et Southern blot

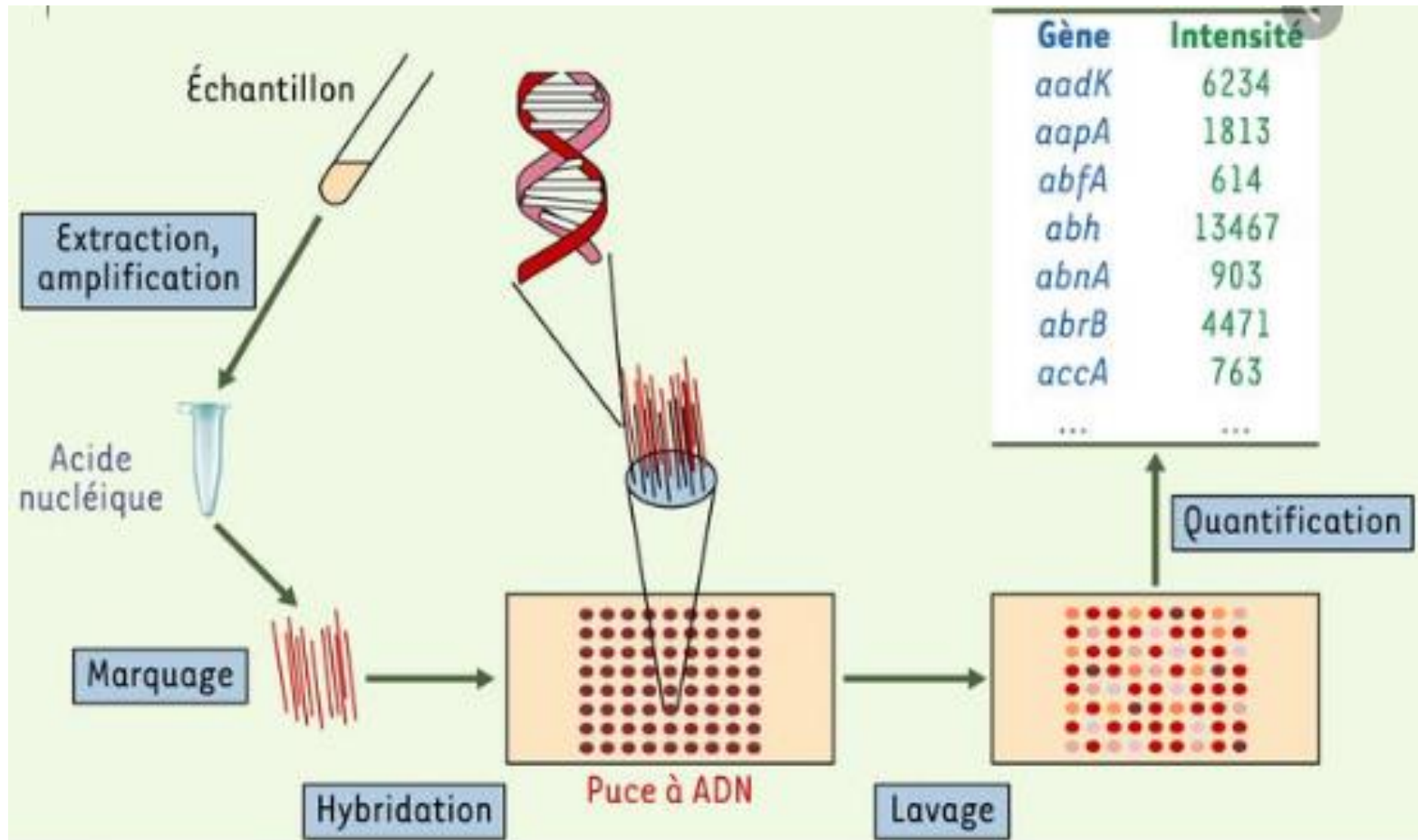




## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### B- Techniques d'analyse des gènes (techniques géniques)

#### Exemple d'application de la puce d'ADN (analyse fonctionnelle)



## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### B- Techniques d'analyse des gènes (techniques géniques)

#### Exemple d'application de la puce d'ADN (analyse structurale)

**Marquages des ADN**  
(fluorochromes de couleurs différentes)

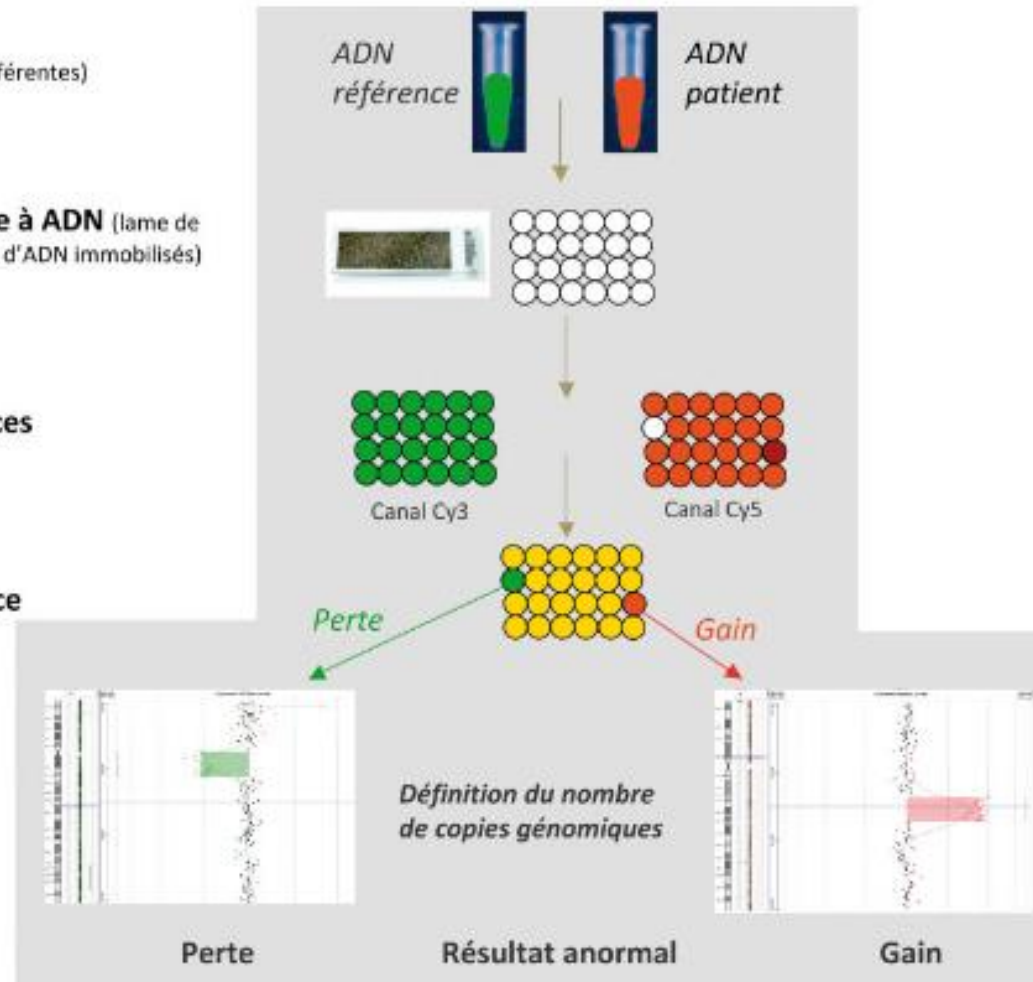
**Co-hybridation sur puce à ADN** (lame de microscope avec des fragments d'ADN immobilisés)

**Lecture des fluorescences**  
(scanner)

**Extraction des rapports de fluorescence**

**Analyse des profils**  
Profils moléculaires  
des anomalies génomiques

**Interprétation**



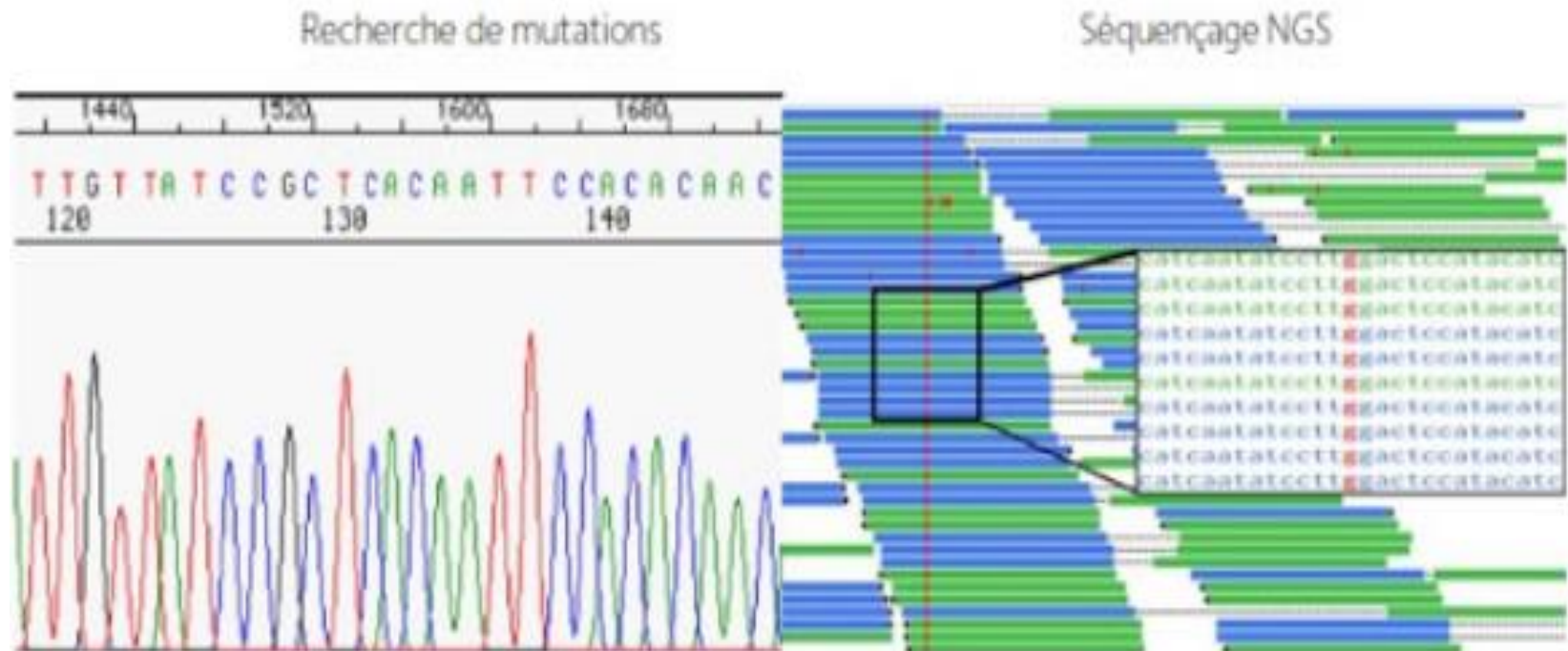
## II- Analyse génétique: 3- techniques appliquées dans l'analyse génétique

### B- Techniques d'analyse des gènes (techniques géniques)

#### Exemple d'application d'un séquençage et d'un alignement

Identification	Base sous le curseur : 60
<input checked="" type="checkbox"/> gène CGRP	5' TCCCGCCAGGTGAGCCCCGAGATCCTGGCTCAGGTAT
<input checked="" type="checkbox"/> ARNm1 CGRP	5' UCCCGCCAGGUGAGCCCCGAGAUCUUGGCUCAGAGAG
<input checked="" type="checkbox"/> ARNm2 CGRP	5' UCCCGCCAGGUGAGCCCCGAGAUCUUGGCUCAGAGAG

gène CGRP : Id-A-1 - Id-B-1



**Fin du chapitre 2**

**merci**