



Analyse génétique

Généralités et mutations
Test de récessivité et de
complémentation
Introduction à la transgénèse

Le tutorat est gratuit. Toute
reproduction ou vente est
interdite.

A) Généralités et mutations

- On étudie surtout les **cellules mutantes**
 - Pour comprendre les **processus** cellulaires au niveau moléculaire
 - Pour établir des **modèles** de maladies génétiques
 - Pour identifier et **caractériser** des nouveaux médicaments

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par 

Génotype : ensembles des gènes sains/sauvages et mutés.

Polymorphisme génétique : phénomène permettant la diversité intra espèce : plusieurs allèles pour un même gène.

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par 

Phénotype : apparence extérieure codée par le génome et dépendant de l'environnement (épigénétique)

Epigénétique : phénomènes environnementaux régissant l'expression des gènes.

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par



Haploïdie/Diploïdie : si il y a une seule copie de chacun des gènes, alors l'organisme est haploïde (nK), si il y a les deux copies, alors l'organisme est diploïde ($2nK$).

Homozygote/Hétérozygote : allèle identiques ou différents pour un même gène.

Nb: La plupart des gènes humains sont hétérozygotes.

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par



Allèle dominant/récessif : l'allèle dominant domine l'allèle récessif. Seul deux allèles récessifs ensemble peuvent s'exprimer.

Ex : D = dominant, d = récessif


DD -> Dominant OK ;

Dd = Dominant OK ;


dd -> Récessif OK

(revu en biomol)

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par 
- Gènes **mutants** : **récessifs** ou **dominants**.
- **Les gènes récessifs mutants** :
 - ✓ Ne s'exprime que si les deux allèles sont récessifs.
 - ✓ C'est le cas **le plus fréquent** de mutation (++)
 - ✓ Ceci correspond à une **perte de fonction**

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par 
- Gènes **mutants** : **récessifs** ou **dominants**.
- **Les gènes dominants mutants** :
 - ✓ L'allèle muté s'exprime et annule la protéine saine.
 - ✓ Cas le **plus rare**
 - ✓ Correspond à un **gain de fonction**

A) Généralités et mutations

- Définitions à apprendre par 
- Gènes mutants : récessifs ou dominant

**➤ LA PLUPART DES MUTATIONS
RESPONSABLES DE MALADIES SONT DES
MUTATIONS RÉCESSIVES.**

B) Test de récessivité et complémentation

- Petite définition préalable :
- **La complémentation :**
 - ✓ C'est l'habilité à **restaurer une fonction** de gène en combinant dans une même cellule deux gènes dont **au moins un** des muté. DONC il est **IMPÉRATIF** que l'allèle muté soit **récessif** !

B) Test de récessivité et complémentation

- Première étape : le **test de récessivité**
 - Possible **SI** et **SEULEMENT SI** la mutation est récessive, donc il faut pouvoir vérifier cela.
 - *Comment faire ?*

B) Test de récessivité et complémentation

○ LE TEST

- On insère dans une cellule un allèle sauvage et un allèle muté du même gène, pour la mutation en question.
- Si le phénotype devient **sauvage**, alors la mutation est bien **récessive** (complémentée par l'allèle sain dominant !)

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation

(deux mutations appartiennent-elles au même groupe de complémentation ? Sont-elles allèles pour le même gène ?)

Expérience :

On a une **cellule A** possédant le gène **m1 muté** et le gène **M2 sain**.

On a une deuxième **cellule B** possédant le gène **M1 sain** et le gène **m2 muté**.

B) Test de récessivité et complémentation

• Le test de complémentation

(deux mutations appartiennent-elles au même groupe de complémentation ? Sont-elles allèles pour le même gène ?)

Expérience :

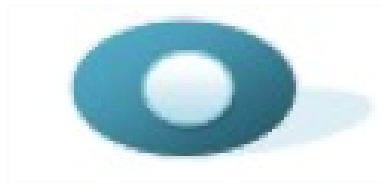
- ✓ On hybride les deux cellules : on obtient un **hétérocayon** puis un **hybride** (fusion des noyaux)
- ✓ La cellule obtenue possède cette configuration :

M1-m1 et m2-M2

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation
 - On observe **deux cas** de figures :

Phénotype Sauvage



Phénotype muté



B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation



Phénotype Sauvage

- Chacune des mutations a été **complémentée**.
- **M2** de la **cellule A** est allée **complémenter** le **m2** muté de la **cellule B**
- **M1** de la **cellule B** est allée **complémenter** le **m1** muté de la **cellule A**

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation



Phénotype Sauvage

- Que peut-on dire ?
- On **DÉMONTRE** que les deux mutations appartiennent à deux groupes de complémentation différents (ne complémentent pas entre elles)
- On **SUGGÈRE** que les mutations ne sont pas allèles
- Pourquoi suggère ? Voir après

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation



Phénotype Muté

- Les mutations **s'expriment**, elles n'ont **PAS** été complémenté.

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation



Phénotype Muté

- Que peut-on dire ?
- On **DÉMONTRE** que les mutations appartiennent au **MÊME** groupe de complémentation.
- On **DÉMONTRE** que les mutations **SONT** allèles.

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation
 - *Pourquoi suggère-t-on que les mutations ne sont pas allèle lorsque le phénotype est sauvage ?*
 - Il y a ce qu'on appelle la **suppression intragénique**. Qu'est-ce que c'est ?
 - ✓ On admet que certaines mutations allèles peuvent reformer ensemble (si elles s'expriment) une **protéine sauvage** rétablissant le **phénotype sauvage**.

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation
 - Chacune des mutations code pour un **morceau de protéines**, dont l'assemblage reforme une protéine saine.
 - Imaginez deux pièces de puzzle qui seule code pour une protéine **incomplète et mutée**.
L'assemblage de ces deux pièces rétablit la **protéine complète** et sauvage !

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation
- **DONC** : si le phénotype est sauvage, **on ne peut pas DÉMONTRER que les mutations ne sont pas allèles**, elles le sont peut-être ! On **suggère** !

B) Test de récessivité et complémentation

- Le test de complémentation

Récap :

- **Phénotype sauvage** : complémentation OK
 - DÉMONTRE **2 groupes** de complémentation
 - SUGGÈRE **pas allèles**
- **Phénotype muté** : pas complémentation
 - DÉMONTRE **même groupe** de complémentation
 - DÉMONTRE **allèles** du même gène

C) Introduction à la transgénèse

Transgénèse: introduction d'un nouveau gène dans une cellule ou un organisme alors appelés transgéniques.

C) Introduction à la transgénèse

- Ce que l'on veut:
 - Amener une cellule à **exprimer un gène précis** qu'elle ne possède pas naturellement

C) Introduction à la transgénèse

- Ce qu'il faut faire :
 - Même méthode que l'**introduction** des **fluorochrome** = **transfection**

Rappel: Comment introduire un fluorochrome dans une cellule?

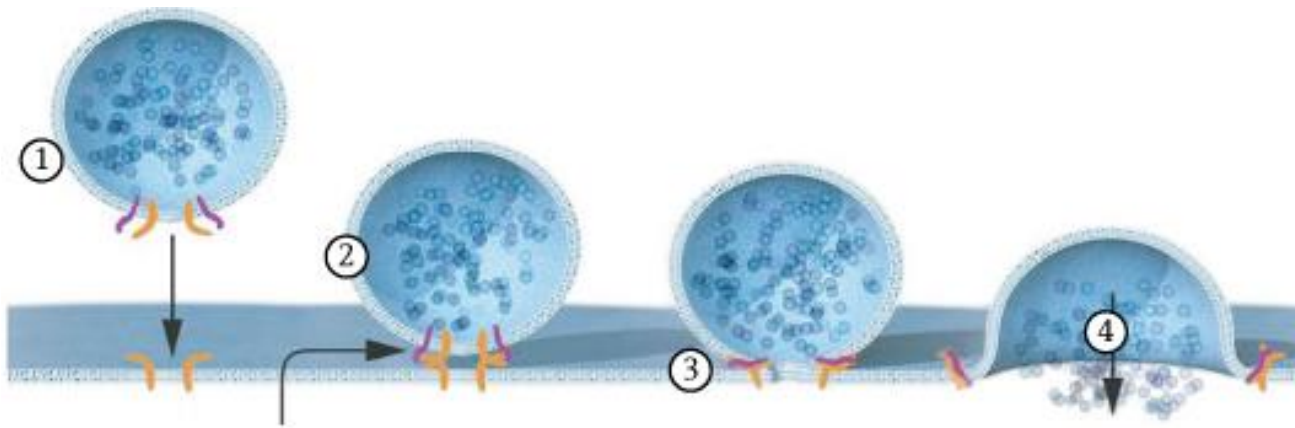
L'électroporation



- Choc électrique → trous transitoires dans la membrane plasmique → entrée des fluorochromes
- Méthode traumatisante

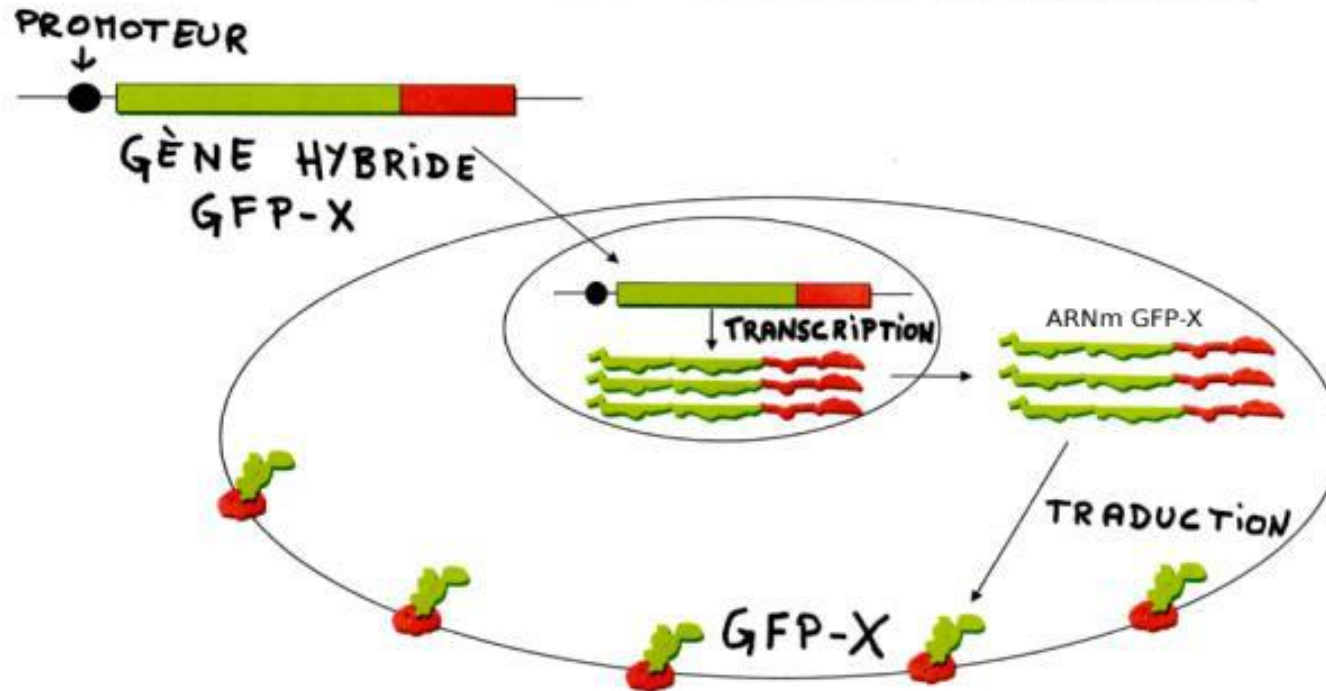
Rappel: Comment introduire un fluorochrome dans une cellule?

La vectorisation par vésicule



- Vésicules remplies de fluorochromes
- Fusion avec la membrane plasmique
→ contenu déversé dans la cellule

Etude de la localisation cellulaire d'une protéine X



La fluorescence est membranaire : suggestion forte que la protéine X est membranaire

C) Introduction à la transgénèse

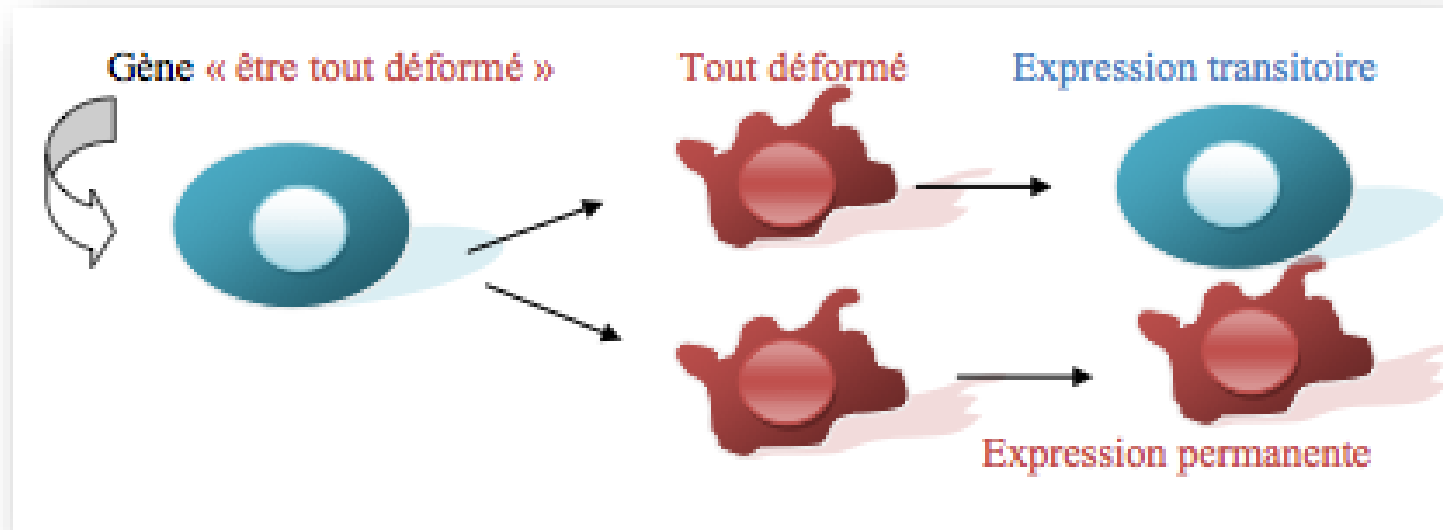
- Devenir du transgène dans la cellule:

Expression **TRANSITOIRE** ou **PERMANENTE**

- ✓ **TRANSITOIRE** : NON intégré dans le génome, sera perdu au bout de quelques divisions
- ✓ **PERMANENTE** : Intégré au génome, c'est plus RARE bien que se soit mieux !

C) Introduction à la transgénèse

- Deux possibilités :



C) Introduction à la transgénèse

- Comment sélectionner les expressions permanentes ?
 - On greffe à notre gène un autre **gène de résistance à un antibiotique**.
 - Si le gène est bien intégré, et **en présence de l'antibiotique**, la cellule pourra **survivre et résister**.

C) Introduction à la transgénèse

- Deux types d'expression permanente:

- **ILLÉGITIME** = *au hasard* : intégré **n'importe où** dans le génome
- **CIBLÉE** = *homologue* : la recombinaison se fait au niveau des **séquences identiques** entre receveur et ADN intégré. Encore + **RARE** et encore **mieux** !

C) Introduction à la transgénèse

- Exemple: intégration ciblée chez la souris
- On injecte le transgène dans nos **CSE** pour donner des souriceaux.

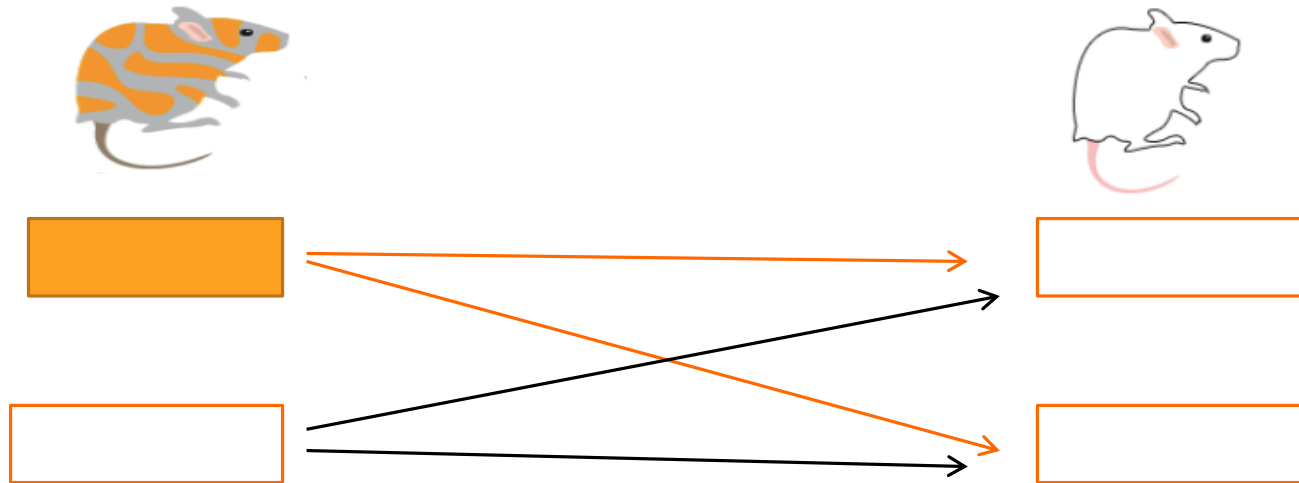
On obtient des **souris mosaïques** (toutes les cellules ne possèdent pas le transgène).



Le tutorat est gratuit. Toute reproduction ou vente est interdite.

C) Introduction à la transgénèse

- On croise nos souris mosaïques avec des souris sauvages:



C) Introduction à la transgénèse

On obtient:

- 50% de souris **normales**

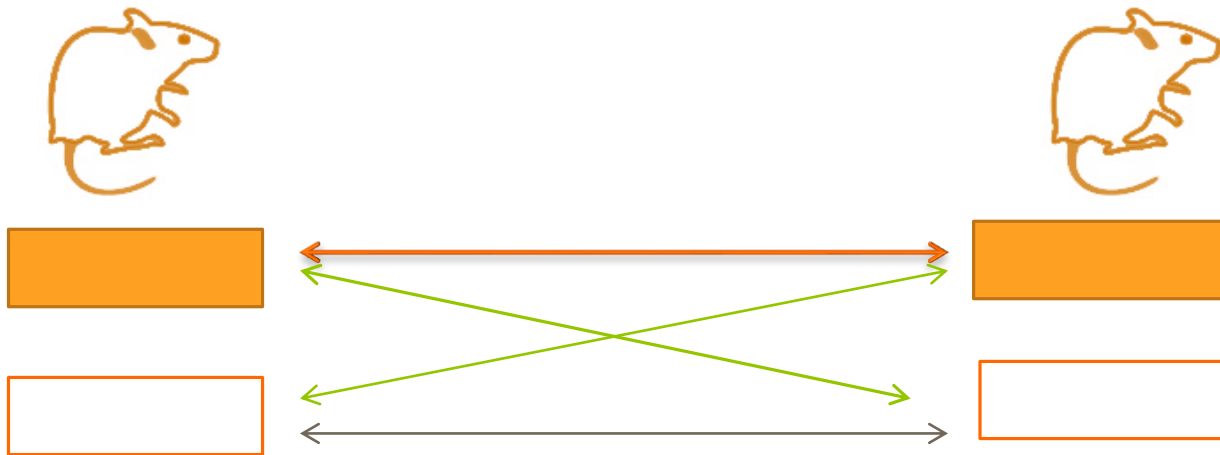


- 50% de souris **hétérozygotes**



C) Introduction à la transgénèse

- On croise nos souris hétérozygotes **entre elles** :



C) Introduction à la transgénèse

● On obtient:

✓ 25% de souris **normales**



✓ 50% de souris **hétérozygotes**



✓ 25% de souris **homozygotes**



QCMs

QCM1 : Concernant le test de récessivité, donnez les vraies.

- A) Il précède le test de complémentation.
- B) Il permet de savoir si une mutation est dominante ou récessive.
- C) Si le résultat du test de récessivité donne un phénotype sauvage alors la mutation est récessive.
- D) Inversement, si le résultat donne un phénotype muté, alors la mutation est dominante.
- E) Aucune de ces réponses n'est correcte

QCMs

QCM1 : Concernant le test de récessivité, donnez les vraies.

- A)** Il précède le test de complémentation.
- B)** Il permet de savoir si une mutation est dominante ou récessive.
- C)** Si le résultat du test de récessivité donne un phénotype sauvage alors la mutation est récessive.
- D)** Inversement, si le résultat donne un phénotype muté, alors la mutation est dominante.
- E)** Aucune de ces réponses n'est correcte

Réponse: ABCD

QCMs

QCM2 : A propos de la transgénèse, donnez les vraies.

- A) Il existe deux types expressions : permanente et transitoire.
- B) Aussi, il existe deux sous-types d'expression transitoire : ciblée ou illégitime.
- C) L'expression illégitime signifie que le gène est intégré au niveau des séquences identiques.
- D) L'expression ciblée est préférable, bien que le gène soit intégré n'importe où dans le génome.
- E) Aucune de ces réponses n'est correcte

QCMs

QCM2 : A propos de la transgénèse, donnez les vraies.

A) Il existe deux types expressions : permanente et transitoire.

B) Aussi, il existe deux sous-types d'expression transitoire : ciblée ou illégitime.

C) L'expression illégitime signifie que le gène est intégré au niveau des séquences identiques.

D) L'expression ciblée est préférable, bien que le gène soit intégré n'importe où dans le génome.

E) Aucune de ces réponses n'est correcte

Réponse: A

Le tutorat est gratuit. Toute reproduction ou vente est interdite.

THE END

Le tutorat est gratuit. Toute reproduction ou
vente est interdite.