



## Analyse génétique en Biocell'

- A) Généralités et mutations
- B) Test de récessivité et test de complémentation
- C) Introduction à la transgénèse

### A) Généralités et mutations

En biocell' on étudiera surtout les cellules mutantes. Pourquoi ? Cela nous permet de :

- comprendre les processus cellulaires au niveau moléculaire
- établir des modèles de maladies génétiques
- identifier et caractériser des nouveaux médicaments

Définitions de la mort qui tue à connaître par ♥ :

- **Génotype** : ensembles de gènes sauvages (=sains) et mutés
- **Polymorphisme génétique** : phénomène permettant la diversité intra espèce : plusieurs allèles pour un même gène
- **Phénotype** : apparence extérieure codée par le génotype et dépendant de l'environnement (épigénétique voir suivant)
- **Epigénétique** : phénomènes environnementaux régissant l'expression des gènes
- **Haploïdie/Diploïdie** : si un organisme n'a qu'une copie de chacun des gènes alors il est haploïde (nK), si deux copies alors il est diploïde (2nK)
- **Homozygote/Hétérozygote** : Homozygote si le gène est porté par deux allèles identiques

- **Allèle dominant/récessif** : il y a toujours interaction entre les deux allèles d'un même gène, cependant, si un allèle est dominant l'autre n'influencera pas le phénotype.

*Rappel : l'allèle dominant domine toujours le récessif, il faut donc 2 récessifs pour que ceux-ci s'expriment.*

Il existe deux types de gènes mutants :

- **Les gènes récessifs mutants** : ne s'expriment deux si les deux allèles sont récessifs. C'est le cas **le + fréquent** de mutation. Cela correspond à un **perte de fonction**.
- **Les gènes dominants mutants** : l'allèle muté s'exprime et annule les protéines engendrées par l'allèle sain. C'est le cas **le plus rare**. Cela correspond à un **gain de fonction**.

### LA PLUPART DES MUTATIONS RESPONSABLES DE MALADIES SONT LES MUTATIONS RÉCESSIVES.

*Nb : la consanguinité engendre souvent la rencontre entre deux allèles homozygotes récessif et donc l'apparition de mutations. Chez les humains, beaucoup de gènes sont hétérozygotes.*

**B) Test de récessivité et test de complémentation**

**La complémentation** : c'est l'habilité à restaurer une fonction de gène en combinant dans une même cellule deux gènes dont au moins un est muté. Donc il est impératif que l'allèle muté soit récessif.

**1) Première étape : test de récessivité**

Test de complémentation possible **SI** et **SEULEMENT SI** la mutation est **récessive**. (si elle est dominante, il sera impossible de restaurer une fonction avec un allèle sain).  
Le test : On insère dans une cellule (pour le même gène) un allèle sauvage et un allèle muté. Si le phénotype devient sauvage alors la mutation est récessive, si le phénotype devient muté alors c'est la mutation qui est dominante.

**2) Test de complémentation**

**Objectif** : déterminer si deux mutations appartiennent au même gène. Il faut pour cela combiner les deux mutations dans un organisme diploïde et établir l'allélisme entre les deux mutations :

*Expérience :*

On a une cellule A m1-M2 qui produit la protéine M2 mais **pas m1**  
On a une cellule B M1-m2 qui produit la protéine M1 mais **pas m2**  
On obtient d'abord un **hétérocaryon** puis un **hybride** avec une cellule **m1-M1** et **M2-m2**.  
La fusion des noyaux est appelée : **hybride** avec l'ADN des deux cellules.

On peut dès lors observer deux cas de figure :

Phénotype <b>sauvage</b>	Phénotype <b>muté</b>
	
-Chacune des mutations a été <b>COMPLÉMENTÉE</b> par un allèle sauvage.	- Dans l'hétérocaryon, les mutations s'expriment, elles n'ont <b>PAS</b> été complémenté.

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le M2 de la cellule A est allé compléter le m2 muté de la cellule B.</li> <li>- Le M1 de la cellule B est allé compléter le m1 muté de la cellule A.</li> </ul> <p>Comme les mutations sont récessives, elles ne s'expriment pas. Le phénotype est donc <b>sauvage</b>.</p> <p>On a <b>DÉMONTRER</b> que les mutations appartiennent à <b>DEUX</b> groupes de complémentation différents.</p> <p>On <b>SUGGÈRE</b> que les mutations <b>ne sont pas</b> allèles (donc deux gènes différents en jeu). <i>(pourquoi suggère ? Voir ci-dessous)</i></p>	<p>- Pas de phénotype sauvage → muté.</p> <p>On a <b>DÉMONTRER</b> que les mutations appartiennent au <b>MÊME</b> groupe de complémentation.</p> <p>On a <b>DÉMONTRER</b> que les deux mutations <b>sont</b> allèles.</p>
---	---

*Pourquoi suggère-t-on dans le premier cas ?*

En admettant que chacune des mutations est en mesure de créer **deux morceaux complémentaires** d'une protéine si elles s'expriment toutes les deux, la protéine résultant devient saine et **complète**, le phénotype peut s'exprimer normalement !  
A la base se sont deux mutations récessives qui seules ne forment qu'un morceau incomplet de protéine, non utilisable.  
**Donc : la réunion de ces deux mutations récessives rétablissent le phénotype sauvage.**  
La complémentation a donc bien lieu alors que les mutations **SONT** allèles. C'est un cas exceptionnel, c'est la **suppression intragénique**.

**Récap :**

Phénotype sauvage = il y a eu complémentation  
→ **DÉMONTRER** 2 groupes de complémentation  
→ **SUGGÈRE** pas allèles

Phénotype muté = il n'y a pas eu complémentation  
→ **DÉMONTRER** même groupe de complémentation  
→ **DÉMONTRER** allèles du même gène

C) Introduction à la transgénèse

Ce que l'on veut :

Amener une cellule à **exprimer un gène précis** qu'elle ne possède pas naturellement

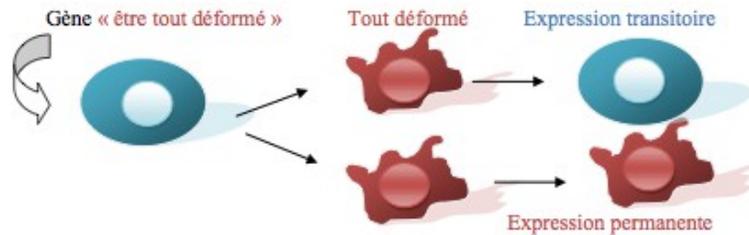
Ce qu'il faut faire :

Même méthode que l'introduction d'un fluorochrome

Deux possibilités : expression **TRANSITOIRE** ou **PERMANENTE**

**TRANSITOIRE :** le gène arrive au niveau du noyau, il est reconnu, transcrit, traduit. Il ne s'intègre pas dans le génome, et **il est perdu** au bout de quelques divisions.

**PERMANENTE :** le gène arrive au niveau du noyau, exprimé, mais surtout il s'est **intégré totalement** à l'ADN de la cellule. C'est + RARE (mais c'est mieux).



*Sélection des expressions permanentes :*

On greffe à notre gène un autre gène de **résistance à un antibiotique**. En présence de cet antibiotique, et si le gène a bien été intégré, la cellule **résistera** et **survivra**.

Deux types d'expression permanente :

**ILLÉGITIME** (= au hasard) : intégré **n'importe où dans le génome**

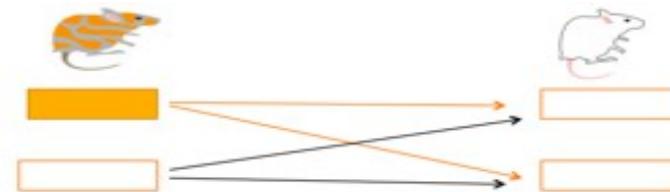
**CIBLÉE** (=homologue) : la recombinaison se fait **au niveau des séquences identiques** entre receveur et ADN intégré. Encore + RARE, et toujours mieux !

Exemple de transgénèse par intégration ciblée:

On cherche à **inactiver** le gène sauvage, en utilisant les **CSE**. Nos CSE, vont donner des souris.

On obtient des **souris mosaïques** (toutes les cellules n'ont pas intégré le transgène).

1. On va croiser nos souris mosaïques avec des sauvages pour obtenir des **souris mutées** (totalement) **hétérozygotes** pour la mutation.



On obtient, en croisant nos souris mosaïques et sauvages:

- 50% de **souris sauvages**
- 50% de **souris mutées hétérozygotes**

2. On va croiser les souris **hétérozygotes entre elles** pour obtenir des souris **homozygotes** pour la mutation (le but final = inactiver le gène sauvage).



On obtient:

- 25% de **souris sauvages**
- 50% de **souris hétérozygotes pour la mutation**
- 25% de **souris homozygotes pour la mutation**