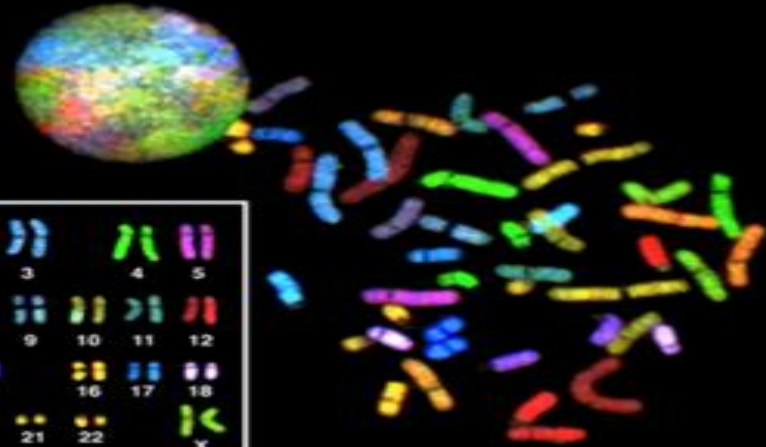


ANALYSE GENETIQUE



INTRODUCTION



Fire and Blood

Rappels et définitions

Génotype : Ensemble des gènes (normaux/sauvages ou mutés) d'un individu, Il conditionne le phénotype

Phénotype : Apparence d'un individu, il est fonction du **génotype** mais aussi de **l'environnement** (interaction de l'environnement avec les gènes ou épigénèse)

Organisme haploïde : Cellule ou individu possédant une copie de chaque chromosome (ex : Gamètes *Cf cours de BDR*)

Organisme diploïde : Cellule ou individu possédant deux copies de chaque chromosome (ex : cellules somatiques)

Polymorphisme, Homozygotie/Hétérozygotie



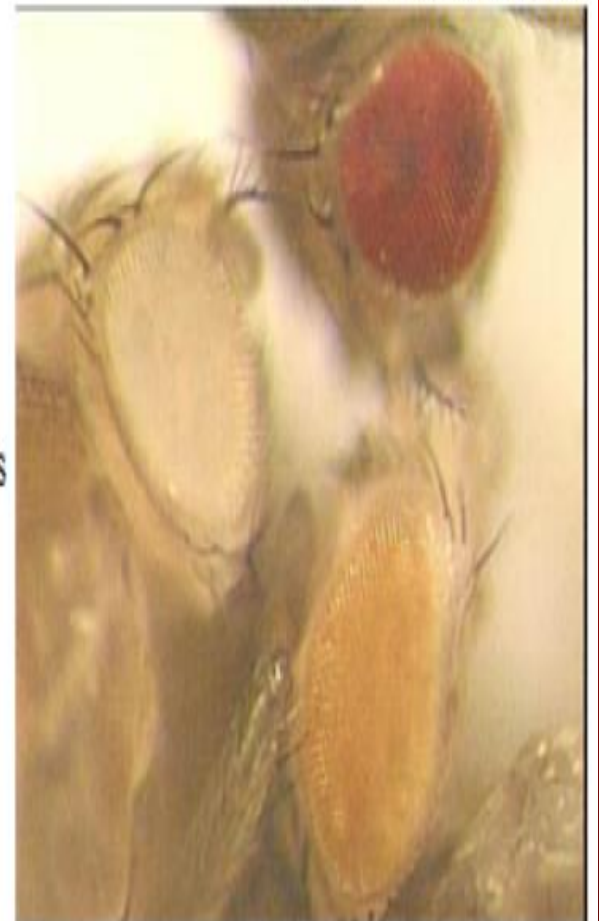
Polymorphisme: pour un gène donné, il existe plusieurs **variants** (ou **allèles**) responsables de la multitude de phénotype observable

Individu homozygote: organisme présentant deux allèles **identiques** pour un même gène

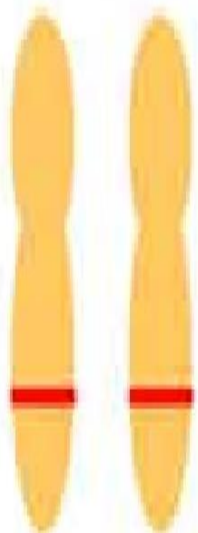
Individu hétérozygote: organisme présentant deux allèles **différents** pour un même gène

NB : La notion d'homozygotie et d'hétérozygotie se réfère au phénotype obtenu, il existe toujours de légères variations dans la séquence nucléotidique des allèles, même si ils codent pour le même phénotype

sauvage : yeux rouge brique

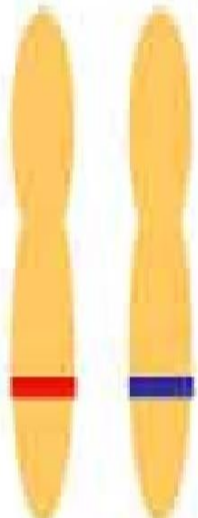


Homozygous



souche *white* : yeux blancs

Heterozygous



souche *white apricot* : yeux abricot



Dominance et récessivité

- Un allèle est considéré comme **dominant** lorsqu'il impose son phénotype, même à l'état hétérozygote
- Un allèle est dit **récessif** lorsqu'il s'exprime uniquement à l'état homozygote

Caractérisation des mutations :

- On parle d'une mutation **gain de fonction** si elle est dominante (car une mutation dominante engendrera l'expression d'un ARNm puis d'une protéine de fonction différente)
- Une mutation récessive est dite **perte de fonction** car elle codera pour une protéine non fonctionnelle.

Notion de complémentation



FIRE
AND
BLOOD
THIRTEEN

- Complémentation : Habilité à restaurer une fonction en combinant, dans une même cellule, deux gènes dont au moins un est muté.
- Groupe de complémentation : ensemble de mutants qui ne complémentent pas entre eux

Objectif : à l'aide d'un test de complémentation, on souhaite savoir si deux mutations correspondent au même gène ou à deux gènes différents

Test de complémentation

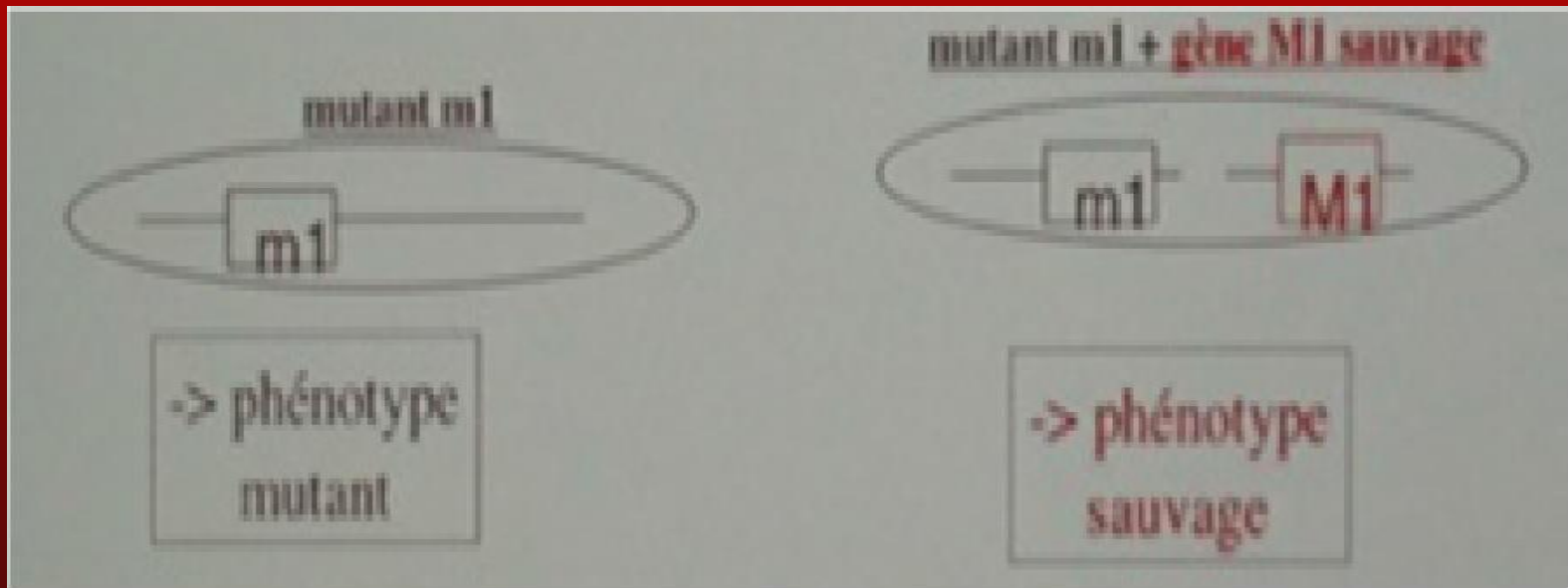
- Principe : Le test de complémentation consiste à combiner dans une même cellule (un organisme diploïde) **les deux mutations** et d'observer le phénotype qui va en découler (restauration du phénotype sauvage ou pas)

Pré-requis indispensable : les mutations doivent être récessives

On réalise donc un test de récessivité **avant** le test de complémentation

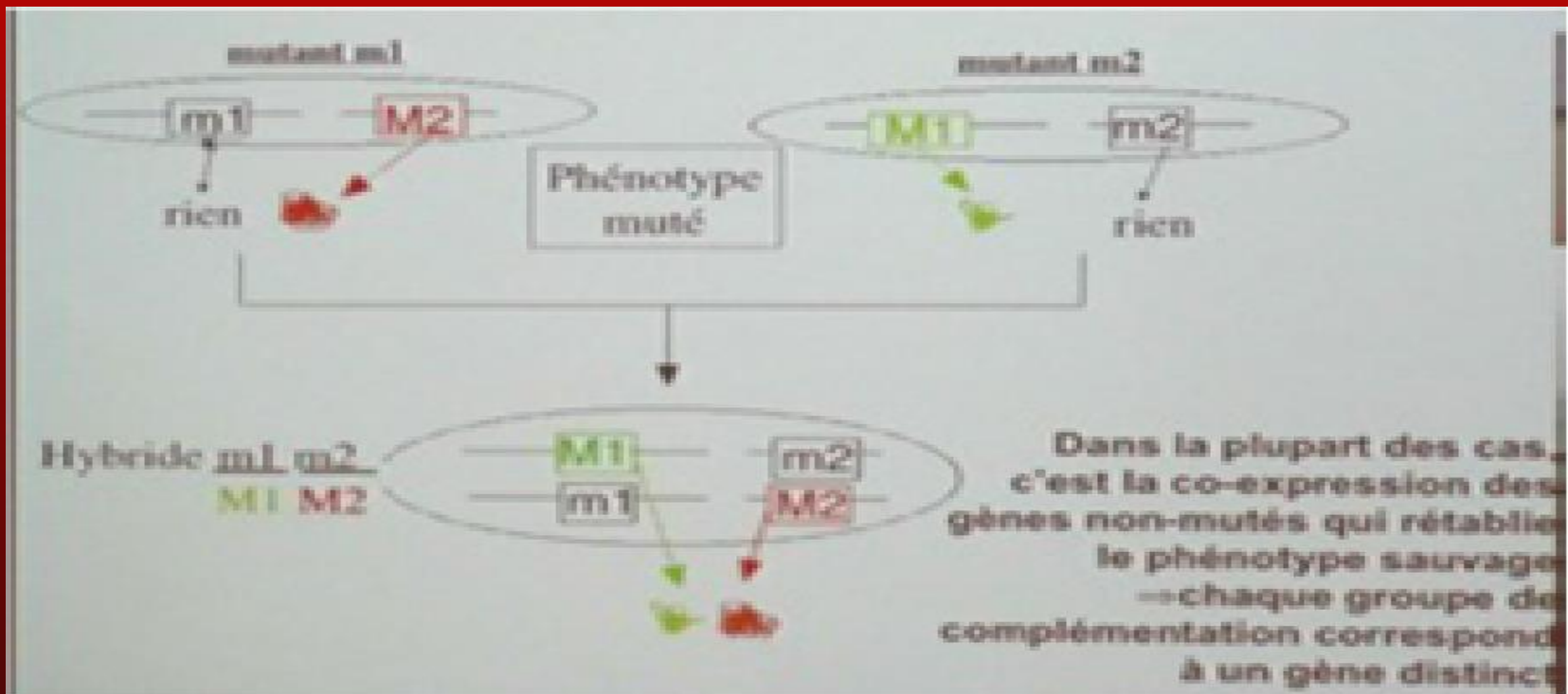
Test de récessivité

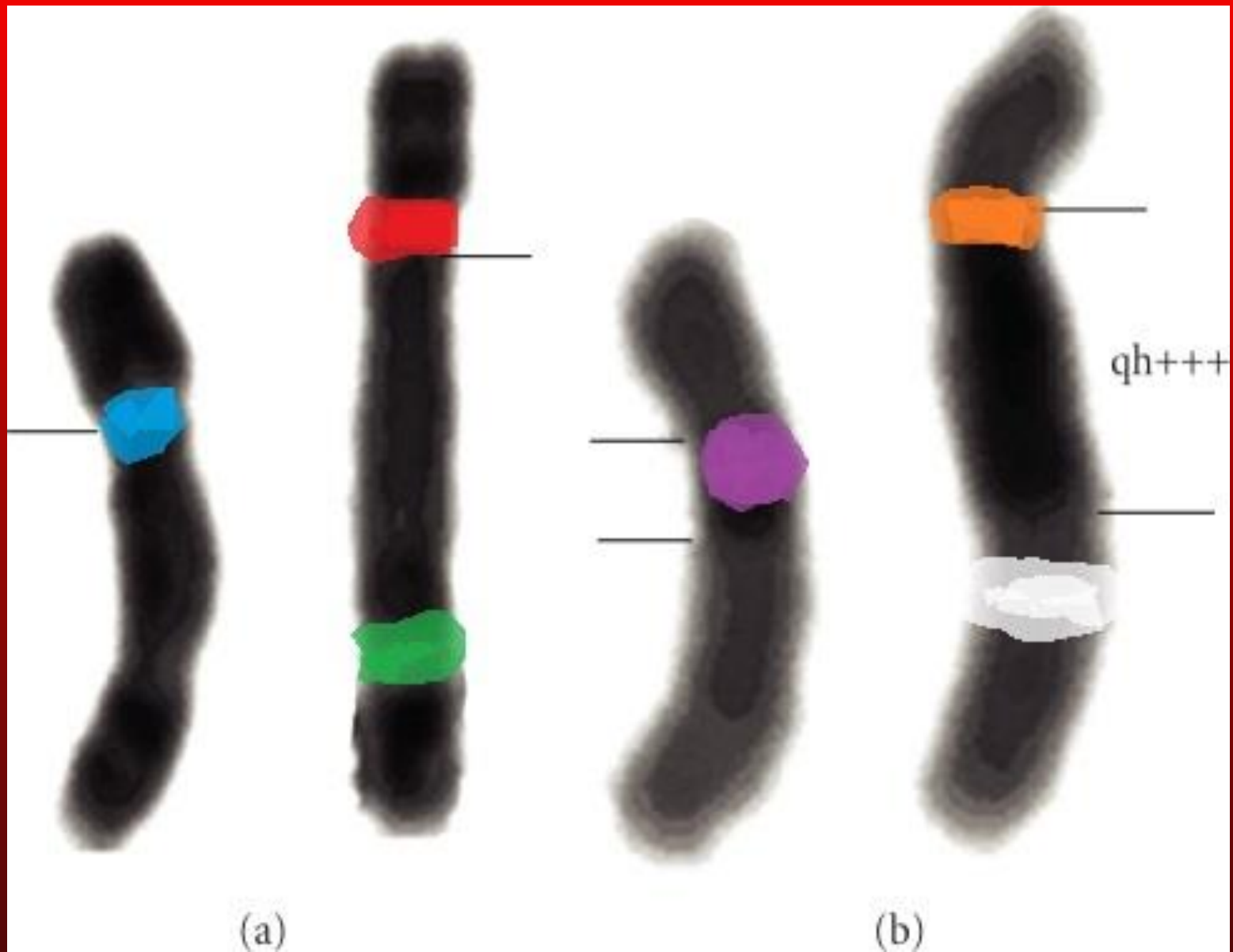
Test de récessivité : On combine le gène sauvage avec le gène muté, si le phénotype sauvage est restauré la mutation est **récessive**



Test de complémentation (le retour)

Test de complémentation : on combine les deux gènes mutés et on note le phénotype observé





Conclusions du test

- **SI** le phénotype obtenu est **sauvage** : il y a complémentation. On peut suggérer que les deux allèles mutés sont sur des gènes différents (car si les gènes sont différents, ils ont chacun leur correspondant sauvage dominant sur l'autre allèle)

NB : on **suggère** que les allèles sont sur des gènes mutés car parfois, deux allèles mutés sur le MEME gène rétablissent le phénotype sauvage, c'est la **suppression intragénique** (la seconde mutation touche le même gène que la première, mais en un site différent)

- **Si** le phénotype obtenu est **muté** : il n'y a pas complémentation. On affirme que les deux allèles mutés sont sur le même gène (car si le gène touché est le même, il n'existe que des versions mutés et récessives du gène)

Phénotype observé à la fin du test :	Phénotype sauvage	Phénotype muté
COMPLEMENTATION	OUI	NON COMPLEMENTATION
GROUPE DE COMPLEMENTATION	DISTINCTS	MEME GROUPE
CONCLUSION	On suggère que les mutations sont sur des gènes différents	On affirme et on démontre que les mutations sont sur le même gène

Mnémono phonétique : -Phénotype sauvage / Groupe de complémentation séparé / suggère que les gènes sont séparés

-Phénotype muté / Même groupe de complémentation / affirme que les allèles sont sur le même gène

Application médicale des test de complémentation:

lorsqu'on découvre une maladie génétique rare inconnue présentant des signes cliniques particuliers, on fait fusionner des cellules de patient atteints de la maladie rare avec des cellules de malades atteints de maladies génétiques déjà connues aux signes cliniques similaires, afin de savoir si la mutation génétique entraînant la maladie rare est sur un gène codant pour l'une des fonctions altérées dans les autres maladies.

Mutations
conditionnelles



FIRE
AND BLOOD

THE WARRIOR

- Le principe de ces mutations conditionnelles est que le gène muté exprimera un phénotype différent en **fonction des conditions de culture**.

-Mutations thermosensibles : la mutation ne va s'exprimer qu'à une température élevée.

-Mutation cryosensible : la mutation ne va s'exprimer qu'à une température basse voir très faible

- NB : On dit que la température est **permissive** quand le caractère mutant **ne s'exprime pas** et qu'on observe un phénotype sauvage
- On dit que la température est **non permissive** quand le caractère mutant **s'exprime** et qu'on observe un phénotype muté

TRANSGENESE



Définition: La transgénèse est l'introduction d'un nouveau gène (transgène) dans une cellule ou un organisme, alors appelé transgénique.

Deux cas de figure :

- -Le gène est absorbé dans le nucléoplasme mais ne s'intègre pas au génome, il sera reconnu par la machinerie transcriptionnelle et traductionnelle mais son expression ne sera que **transitoire**
- -Le gène est absorbé dans le nucléoplasme et s'intègre dans le génome de la cellule hôte, son expression sera **permanente** et perdurera lors des divisions (donc chez les cellules filles)

On distingue différents types de recombinaison dans le génome :

- La recombinaison illégitime, qui s'effectue au hasard, sans homologie avec la séquence du gène sur lequel il se greffe, ce type de recombinaison est **fréquent**.
- La recombinaison homologue par intégration ciblée, qui est **séquence spécifique** (le gène introduit s'intègre dans une région possédant une succession de nucléotides correspondant aux extrémités de sa propre séquence) et beaucoup **plus rare**.

NB: Dans les deux cas, pour maximiser le taux de recombinaison génétique, on introduit aussi **un gène de résistance aux antibiotiques**

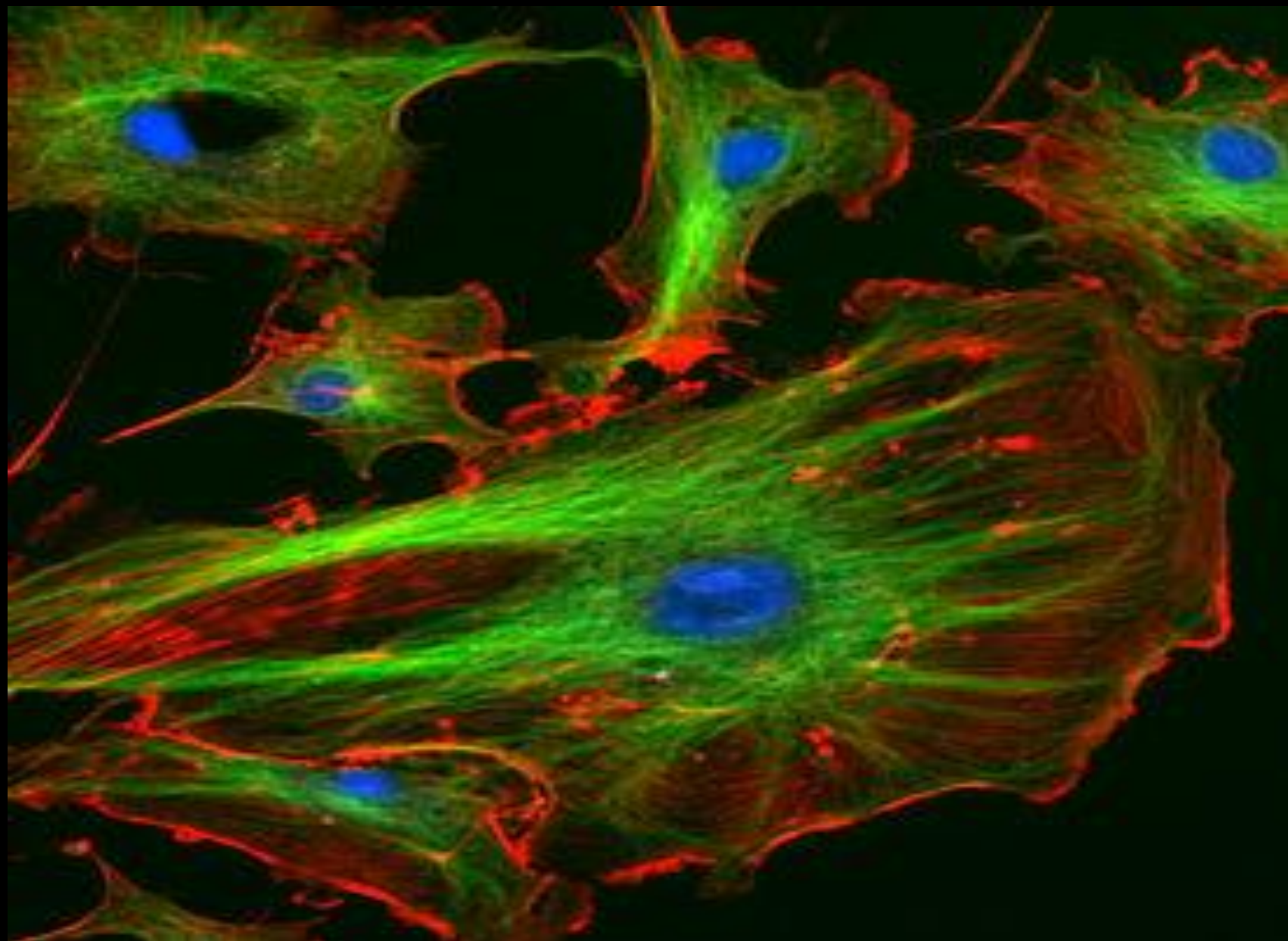
Applications médicales:

-Visualisation de protéines spécifiques de matière dynamique (*Cf fiche sur la microscopie*)

-Inactiver totalement un gène de manière spécifique (ou Knock-out)

-Inactiver partiellement un gène de manière spécifique (knock-down) :

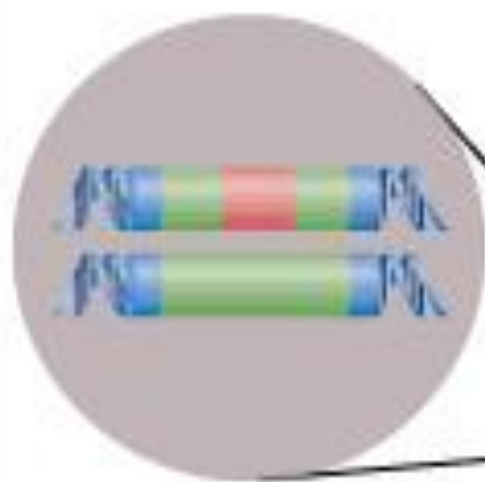
-Tracer l'activité d'un gène au cours du développement (knock-In)



Knockout mice

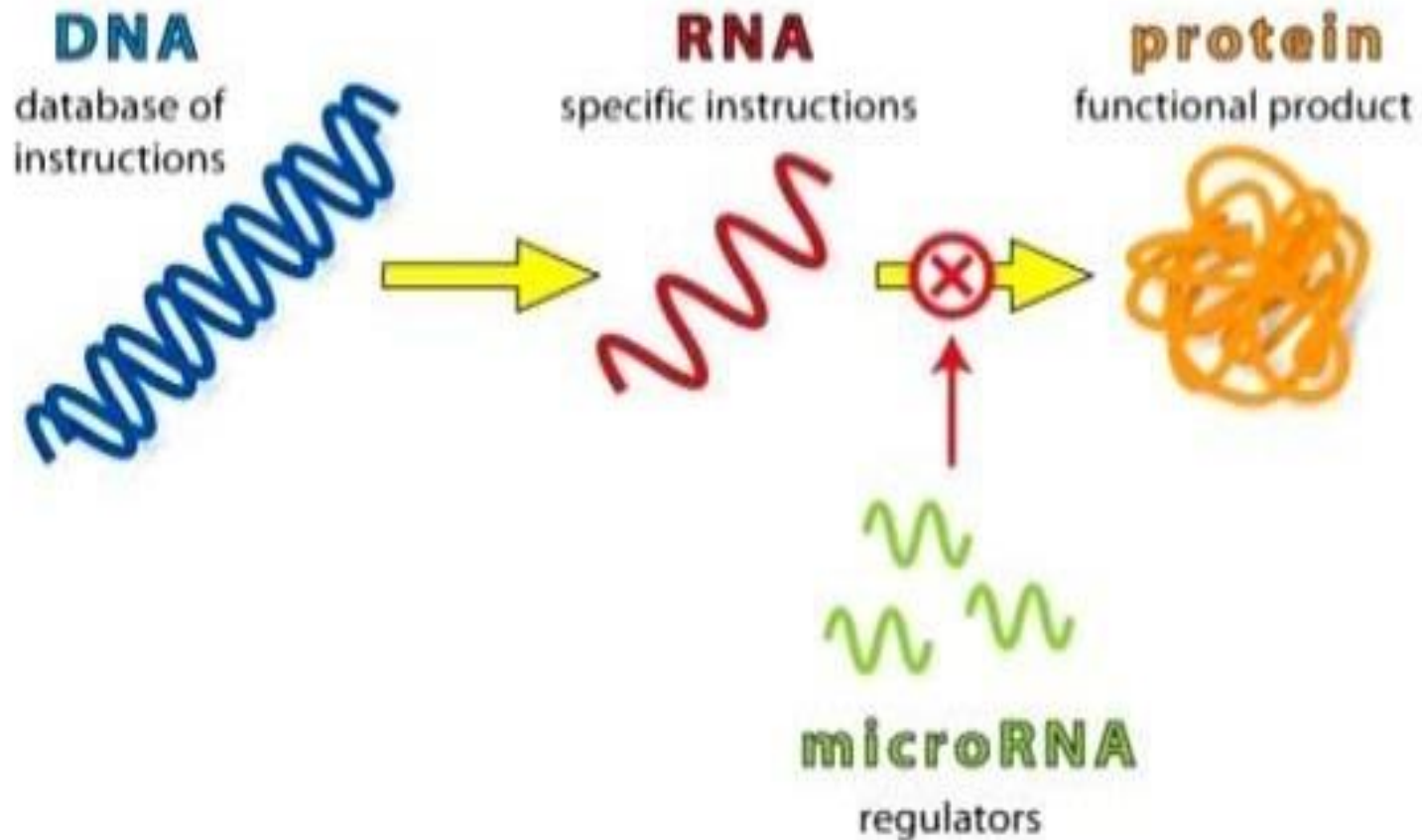


chimeric black/brown mouse
(mixture of cells)



brown mouse with one
non-functional copy
of the gene

Micro RNAs (miRNAs)





Knock-in du gène hoxB8 chez l'embryon