

COURS DE GENETIQUE HUMAINE

L3 - 2006

Jean-Jacques PANTHIER & Eric SEBOUN

.

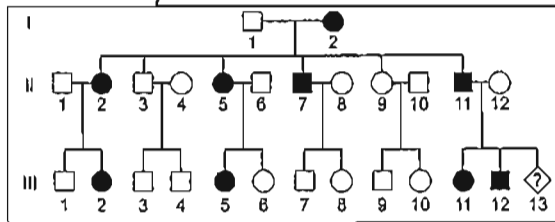
MODES DE TRANSMISSION DES MALADIES GENETIQUES

1. Introduction

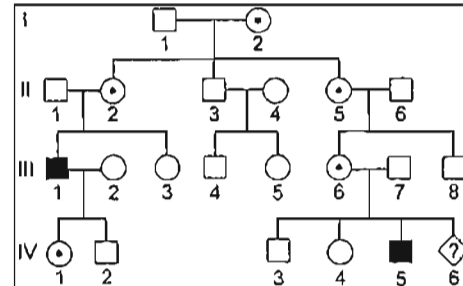
2. Mode de transmission des maladies monogéniques

3. Facteurs affectant le mode transmission

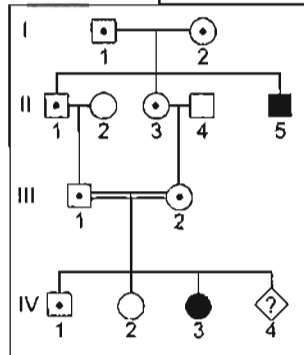
Autosomique dominant



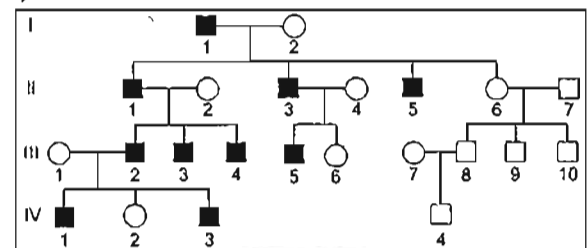
X récessif



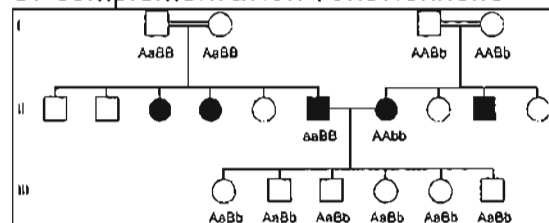
Autosomique récessif



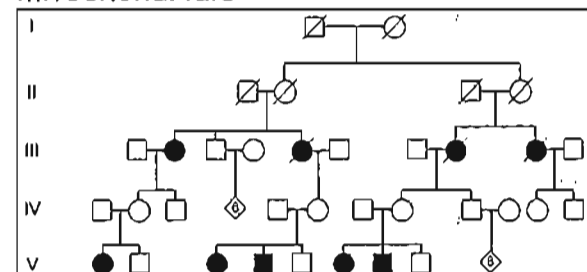
Y



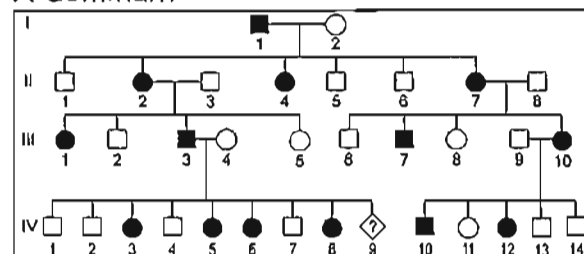
Transmission autosomique récessive et complémentation fonctionnelle

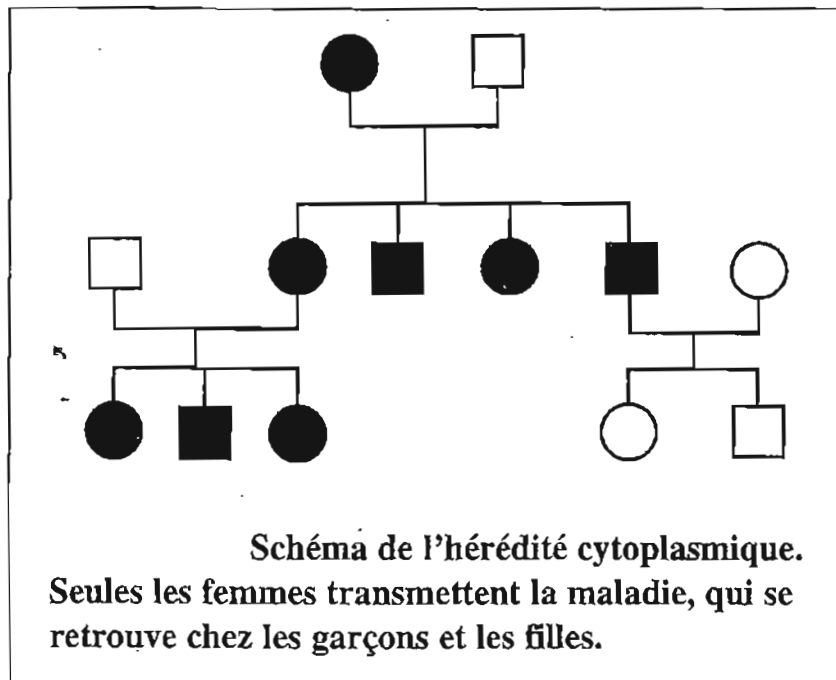


Transmission maternelle : hérédité mitochondriale



X dominant





La méthode des jumeaux (*twin studies*)

	Taux de concordance (%)	
	Jumeaux monozygotes	Jumeaux dizygotes
Allergie	50	4
Diabète	56	11
Fente labiale	30	5
Infarctus du myocarde	19	9
Schizophrénie	65	12
Cancer au même site	7	3
Cancer à des sites différents	15	15

Exemple : l'autisme est-il héréditaire ?

- Excès de cas familiaux

Prévalence de la maladie dans la population générale	Prévalence et risque relatif chez les germains par rapport à la population générale
0,04%	Prévalence : 3%, risque x75

Prévalence : Nombre de malades présents à un moment donné dans une population, que le diagnostic ait été porté anciennement ou récemment.

Remarque : On distingue la prévalence de l'incidence qui comptabilise les nouveaux cas enregistrés pendant une période donnée.

- Les études de jumeaux

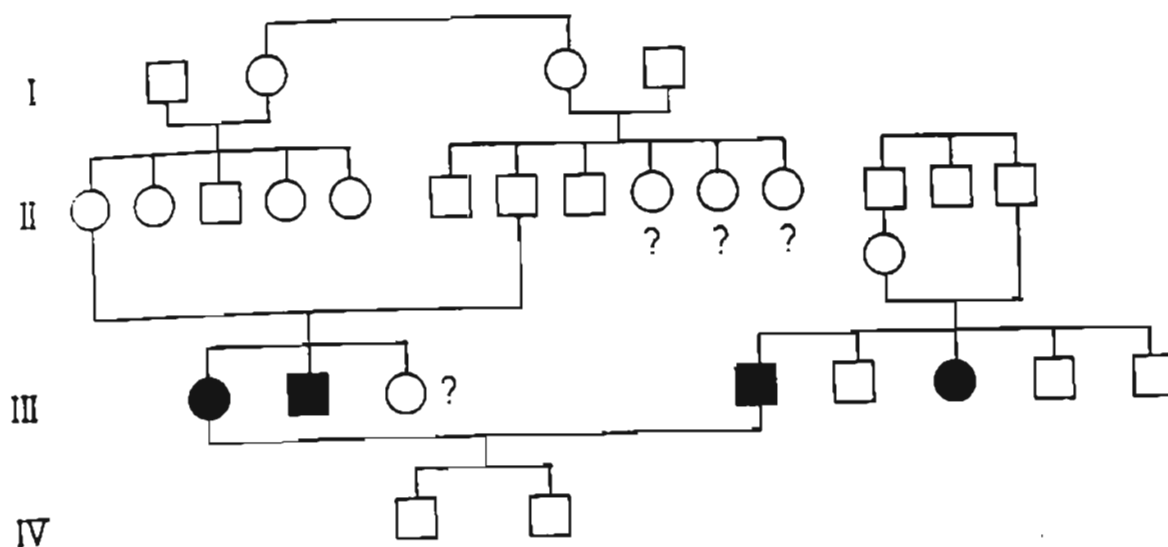
	Taux de concordance	
	Jumeaux monozygotes	Jumeaux dizygotes
Trois études distinctes :		
Folstein & Rutter (1977)	36%	0%
Ritvo et al. (1985)	95,7%	23%
Bailev et al. (1995)	60%	0%

Mise en évidence d'un excès de cas familiaux chez les apparentés d'un schizophrène par rapport à la population générale

<u>Parentée</u>	Risque relatif par rapport à la population générale (incidence= 0,8% dans la population générale)
Premier degré :	
Parents d'un schizophrène	X 5,45
Frères-sœurs (germain, sibs en anglais)	X 10,6
Enfants	X 15,6
Oncles-tantes	X 2,5
Neveux-Nièces	X 2,8
Cousins germains	X 3,6
Petits enfants	X 3,5

Des excès de cas familiaux ont été mis en évidence dans plusieurs maladies

Maladie	Fréquence chez les apparentés (premier degré) du malade (%)	Fréquence chez les apparentés des témoins sains (ou dans la population générale) (%)
Diabète insulino-dépendant	5 à 10	0,2 à 0,3
Diabète non insulino-dépendant	10 à 15	2 à 4
Asthme	9,2	3,8
Sclérose en plaque	0,5 à 1	0,02 à 0,06
Fente labiale	2 à 5	1



Pedigree de sourds-muets révélant l'existence d'une hétérogénéité génétique.

Les deux parents III-1 et III-4 souffrent d'une surdité héréditaire: ils ont des germains (frères-soeurs) atteints et sont issus de mariages consanguins. Pourtant ces parents ont deux fils qui ne sont pas sourds-muets. Ces enfants (IV-1 et IV-2) sont hétérozygotes pour des gènes différents responsables de surdité: soient A et B deux gènes différents responsables de surdité, le génotype des individus significatifs du pedigree sont les suivants:

- III-1: $A^-/A^-, B^+/B^+$
- III-2: $A^-/A^-, B^+/B^+$
- III-4: $A^+/A^+, B^-/B^-$
- III-6: $A^+/A^+, B^-/B^-$
- IV-1: $A^+/A^-, B^+/B^-$
- IV-2: $A^+/A^-, B^+/B^-$

CYTOGENETIQUE

1. Structure des chromosomes

1.1 Chromosome banding

1.2 Nomenclature

2. Variations anormales du caryotype

2.1 Anomalies du nombre de chromosomes

- Polyploïdie
- Aneuploïdie
- Mixoploïdie

2.2 Anomalies de structure des chromosomes

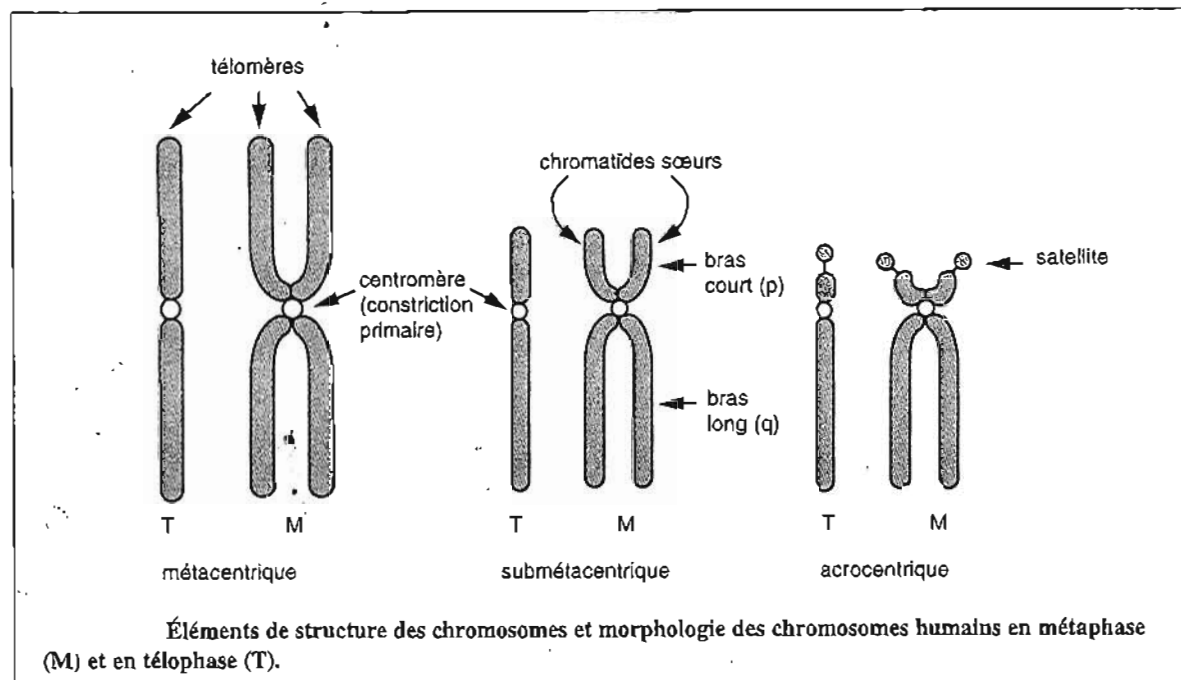
2.2.1 Cassures sur un même chromosome

- Inversions chromosomiques
- Délétions interstitielles
- Chromosomes en anneau

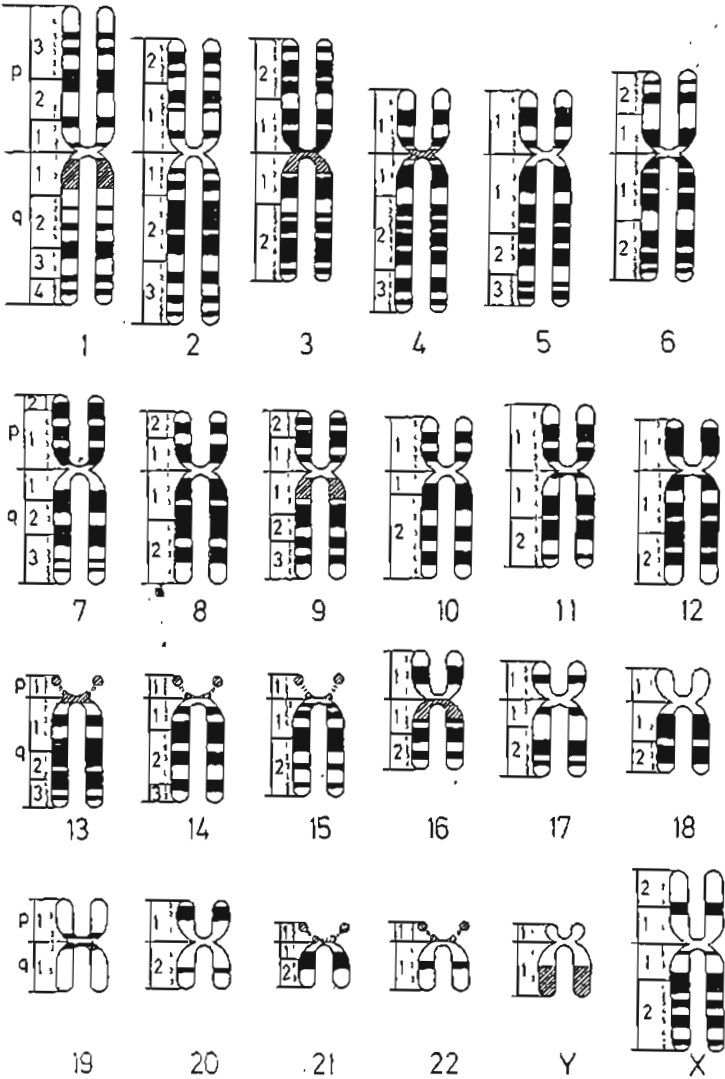
2.2.2 Cassures sur plusieurs chromosomes

- Translocations réciproques
- Fusions centromériques (translocations Robertsoniennes)
- Translocations d'insertion

3. Diploïdie mono-parentale, disomie et isodisomie mono-parentale

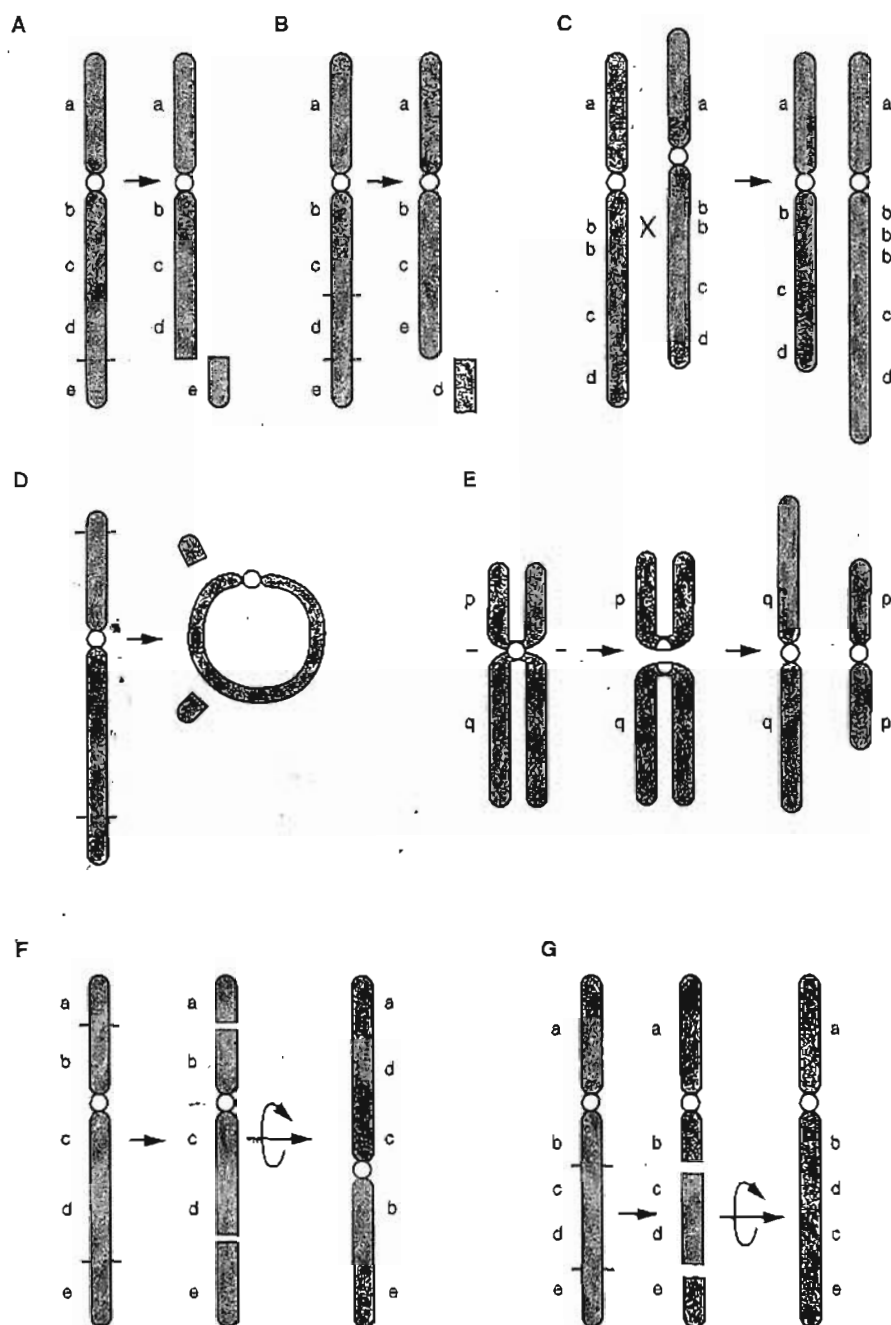


Idéogramme de l'Homme : Les bandes G et Q sont en noir, les bandes R en blanc. .



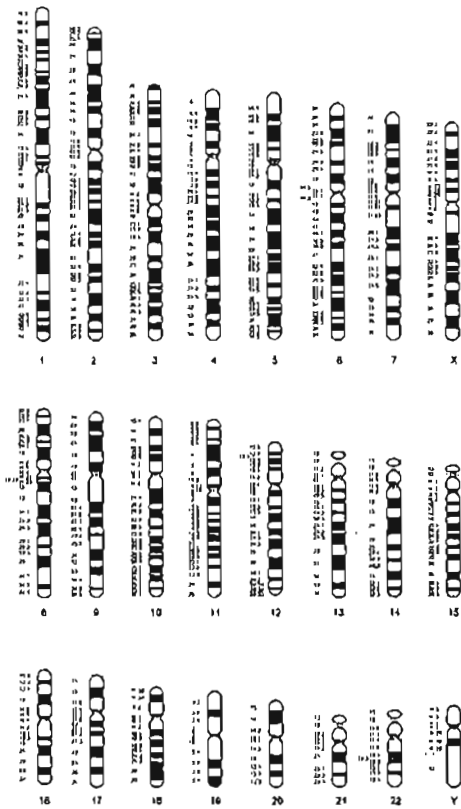
Les anomalies chromosomiques constitutionnelles au cours de la grossesse et chez les nouveau-nés (analyse effectuée sur 10 000 conceptions).

	Avortements spontanés	Nouveau-nés vivants
<u>Fréquence des anomalies chromosomiques constitutionnelles :</u>	Environ 50%	8 pour 1000
- Chromosomes sexuels : 47, XXY ; 47 XYY ou autres 45, X ; 47, XXX ou autres	10%, essentiellement 45, X	2,5 pour 1000 pour l'ensemble des anomalies
- Anomalies autosomiques du nombre : trisomie dont, 21 18 triploïdie et tétraploïdie	26% 2,5% 1,5% 10%	1,3 pour 1000 0,1 pour mille
- Anomalie de structure : translocation robertsonnienne (équilibrée) translocation déséquilibrée		0,9 pour mille 0,6 pour mille

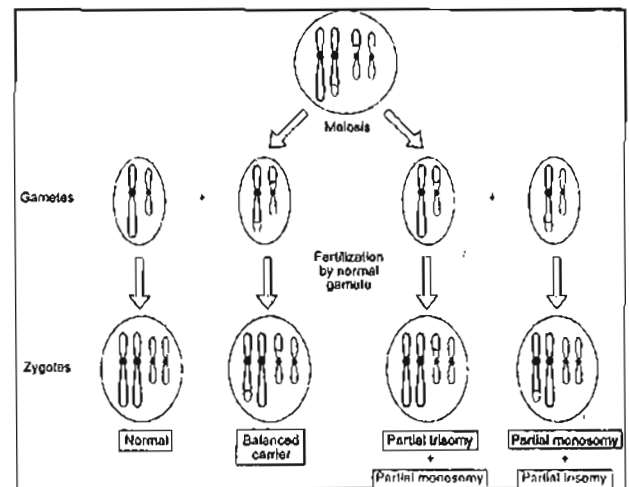
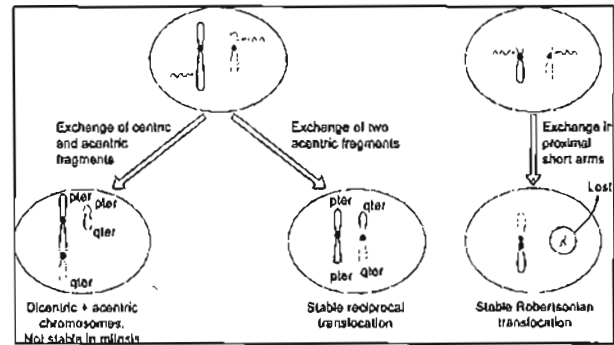
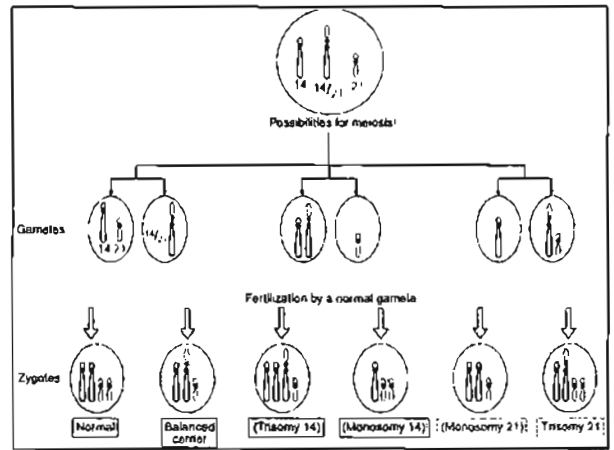


Anomalies de structure affectant un seul chromosome.

A, délétion terminale ; B, délétion interstitielle ; C, duplication partielle (*crossing-over inégal*) ; D, chromosome en anneau ; E, isochromosomes ; F, inversion péricentrique ; G, inversion paracentrique.
Les points de cassure sont indiqués par des tirets.

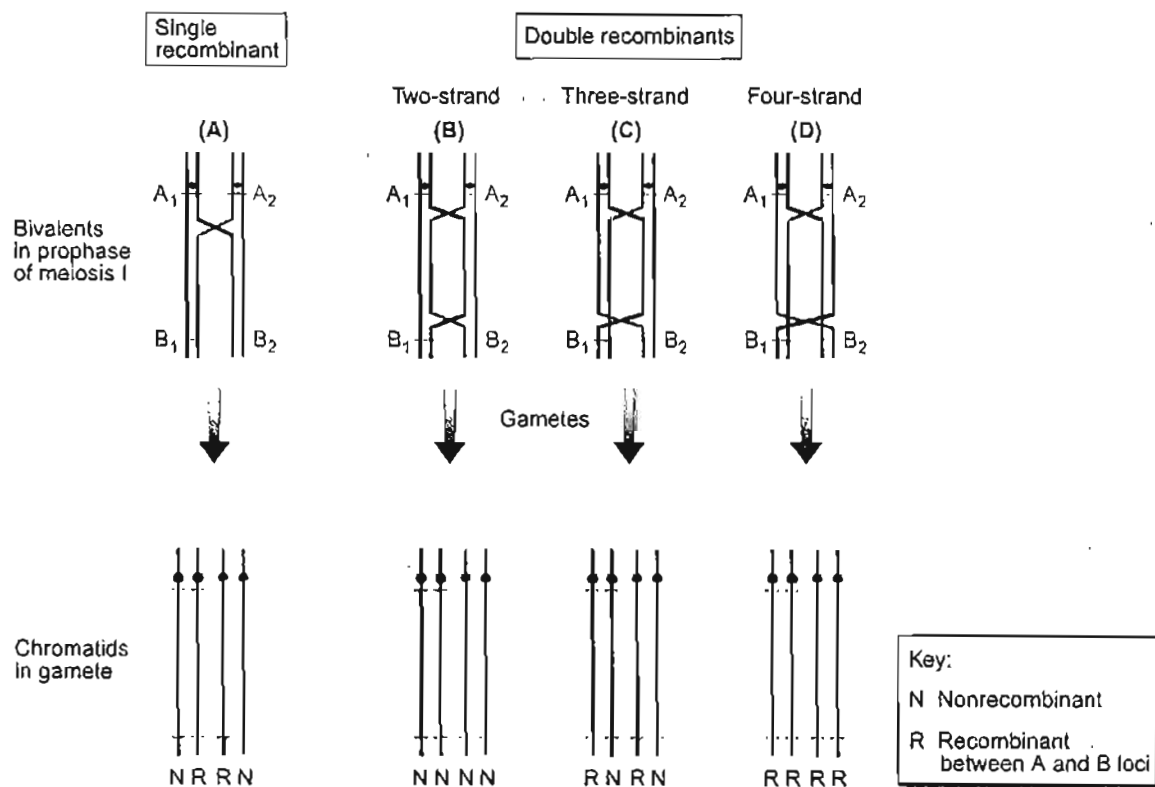


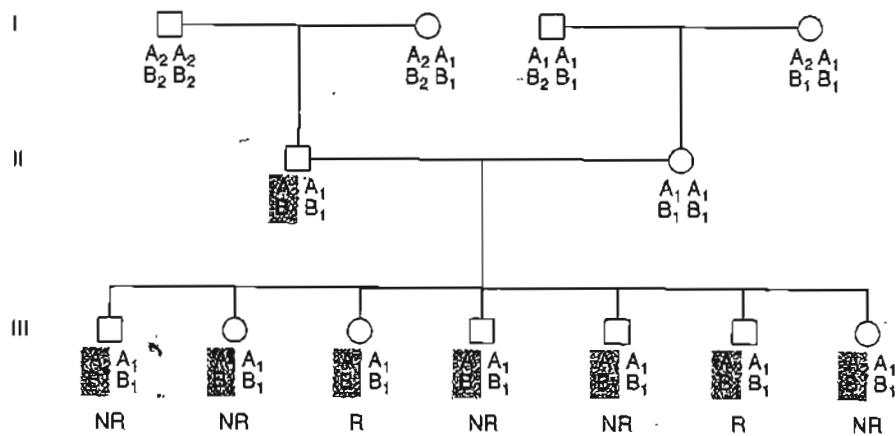
Key
 □ Centromere
 — rDNA
 □ Noncatalytic heterochromatin



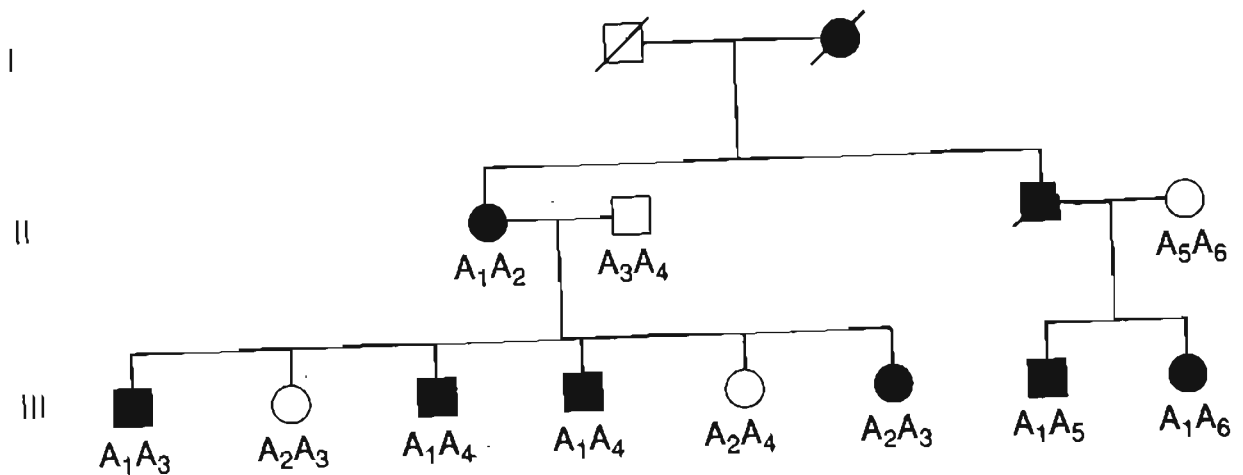
CARTOGRAPHIE GENETIQUE

1. Introduction
2. Cartographie génétique: la méthode des LOD scores et l'analyse bi-point
3. Propriétés des LOD scores
4. Marqueurs Génétiques Polymorphes
 - RFLPs
 - VNTRs
 - Microsatellites
 - SNPs





Les recombinants (R) et les non recombinants (NR). Les allèles à deux locus (locus A, allèles A₁ et A₂ ; locus B, allèles B₁ et B₂) ségrègent dans cette famille. La combinaison des allèles reçus par une personne de sa mère ou de son père est entourée lorsqu'elle peut être déduite. Les personnes de la génération III qui ont reçu la combinaison A₁B₁ ou A₂B₂ de leur père sont le produit de spermatozoïdes non recombinants ; les personnes qui ont reçu les combinaisons A₁B₂ ou A₂B₁ sont des recombinants. L'information disponible sur ce pedigree ne nous permet pas de classer les individus des générations I et II en recombinants/non recombinants ; elle ne permet pas non plus d'identifier les recombinants produit lors de l'oogenèse chez l'individu II₂.



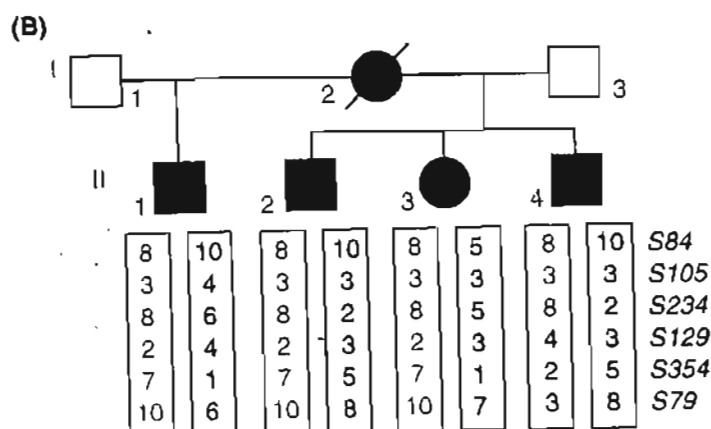
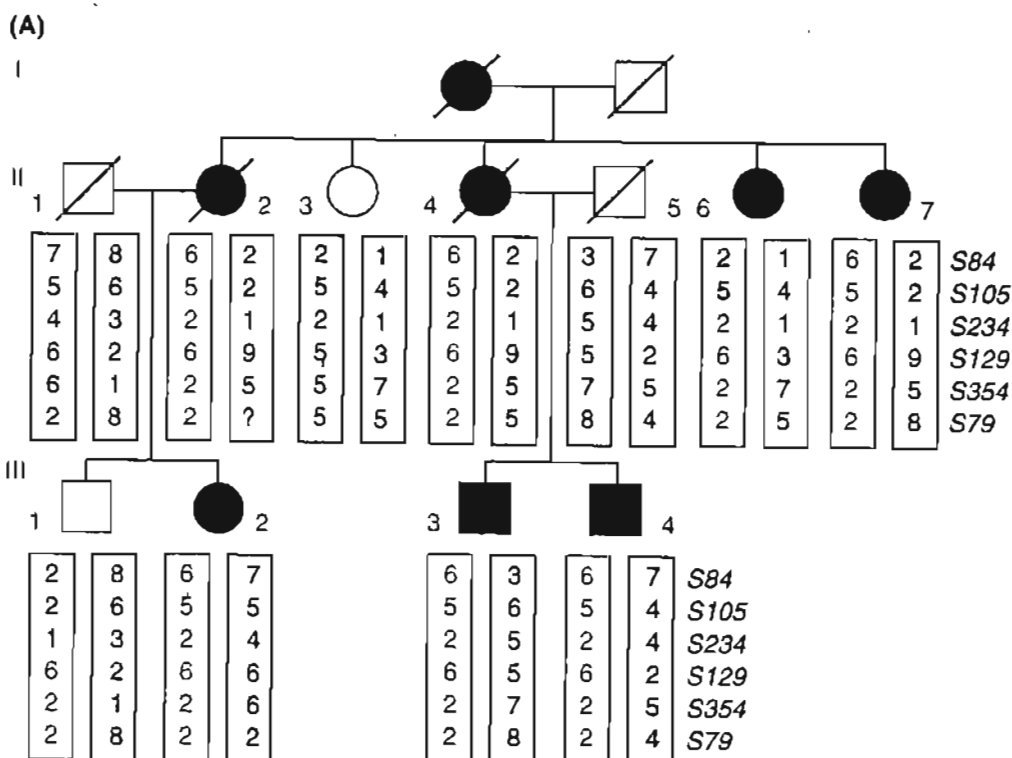
Une famille de mammifères où les recombinants ne peuvent pas être identifiés avec certitude.

Hypothèse n°1: Le caractère autosomique dominant, par exemple une maladie, ségrège probablement avec l'allèle marqueur A1. Dans cette hypothèse le seul individu recombinant est III₆. La conclusion est que le locus A et le locus morbide sont liés.

Hypothèse n°2: L'individu II₁ peut fort bien avoir hérité la maladie de sa mère avec l'allèle A2. Dans cette hypothèse, il y a de nombreux "recombinants" entre le locus A et le locus morbide. La conclusion serait que le locus A et le locus morbide ne sont pas liés.

Pour trancher entre ces deux hypothèses, il faudrait connaître le génotype des individus I₁, I₂ et II₃.

Bien que ce pedigree contienne des informations de liaison, les interpréter est problématique. La méthode des χ^2 est inadaptée pour résoudre ce type de situations réelles. La méthode développée par Morton permet : 1) de prendre en considération ce type de pedigree et 2) de cumuler les informations acquises sur ce type de pedigree au travers d'une seule valeur: le LOD score.



Analyse de crossing-overs pour restreindre l'intervalle contenant un locus morbide.

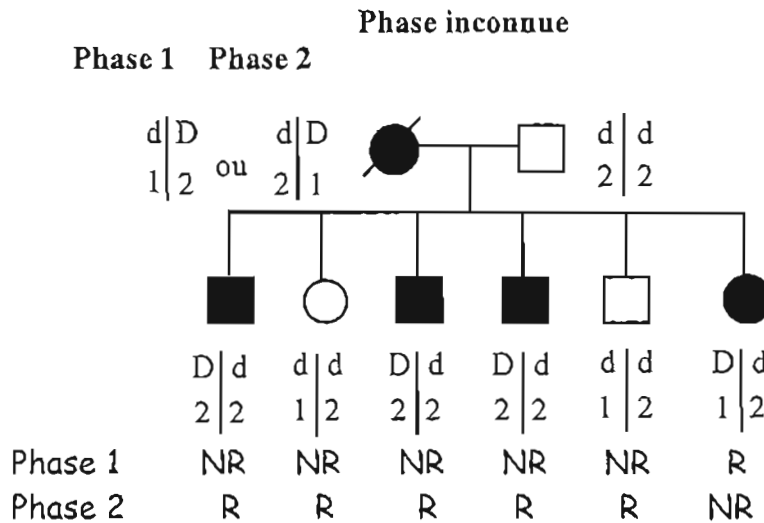
La figure montre une analyse des haplotypes dans deux pedigrees où ségrège une maladie à transmission autosomique récessive. Il s'agit d'une maladie de la peau, la maladie de Darier, qui a été localisée sur le chromosome 12 de l'Homme.

(A) Dans cette famille, le locus morbide ségrège avec l'haplotype 6-5-6-2-2 entre les marqueurs D12S84 et D12S79. Un crossing over chez l'individu II6 indique que le locus morbide est distal par rapport au marqueur D12S84.

(B) Dans cette famille, le locus morbide ségrège avec l'haplotype 8-3-8-2-7-10. Un crossing over chez l'individu II4 indique que le locus morbide est proximal par rapport au locus D12S129.

Ces deux familles localisent le locus morbide entre les marqueurs D12S84 et D12S129.

Calcul du LOD score



- La vraisemblance pour la famille ci-dessus est :

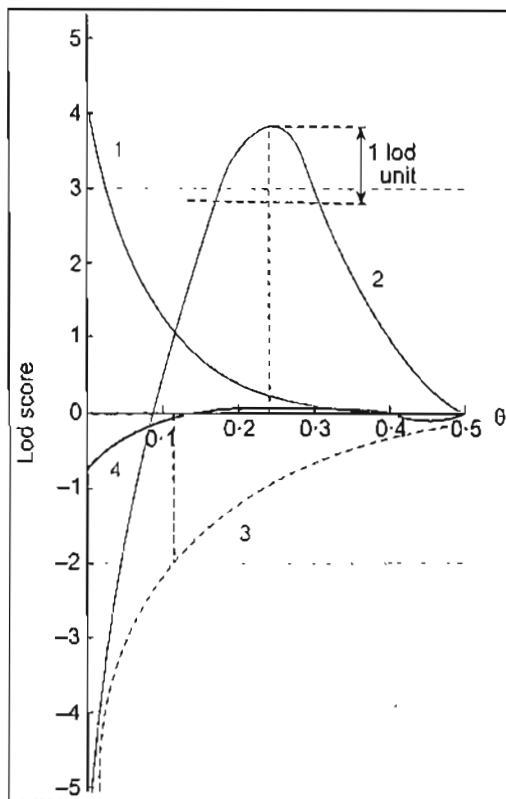
$$Z(\Theta) = \log_{10} [L(\Theta < 0,5)/L(\Theta = 0,5)]$$

Le LOD score pour la famille est:

$$Z(\Theta) = \log_{10} [1/2 (1/2 - \Theta/2)^5 (\Theta/2) + 1/2 (\Theta/2)^5 (1/2 - \Theta/2) / 1/2 (1/4)^6 + 1/2 (1/4)^6]$$

- $Z(\Theta)$ représente le score des rapports de vraisemblance pour une valeur donnée de Θ .

Θ	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Z	-inf	0,276	0,323	0,222	0,076	0



Informativité des marqueurs

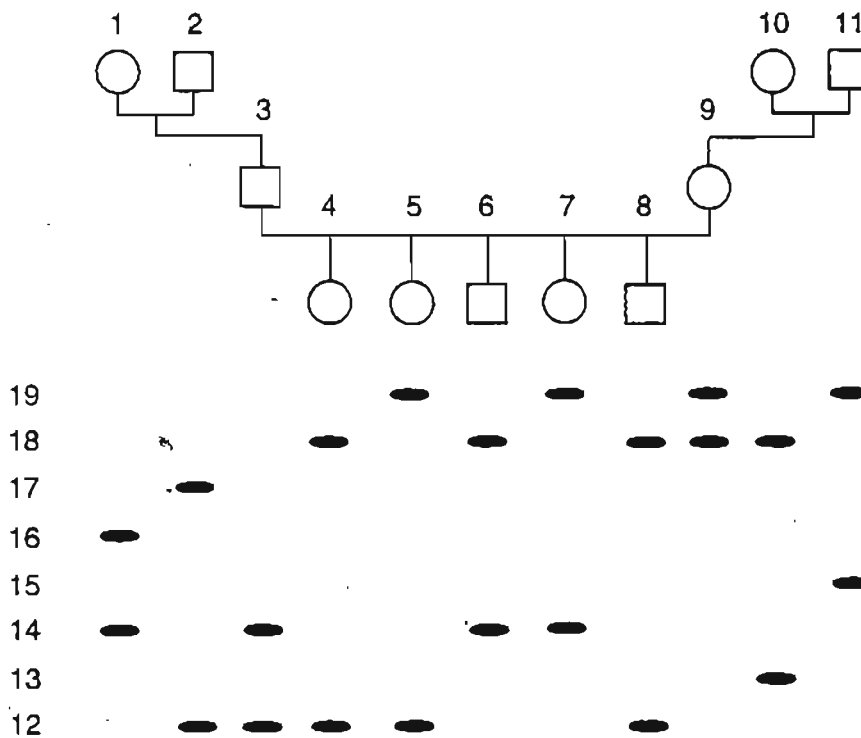
- **H (Hétérozygotie) :**

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

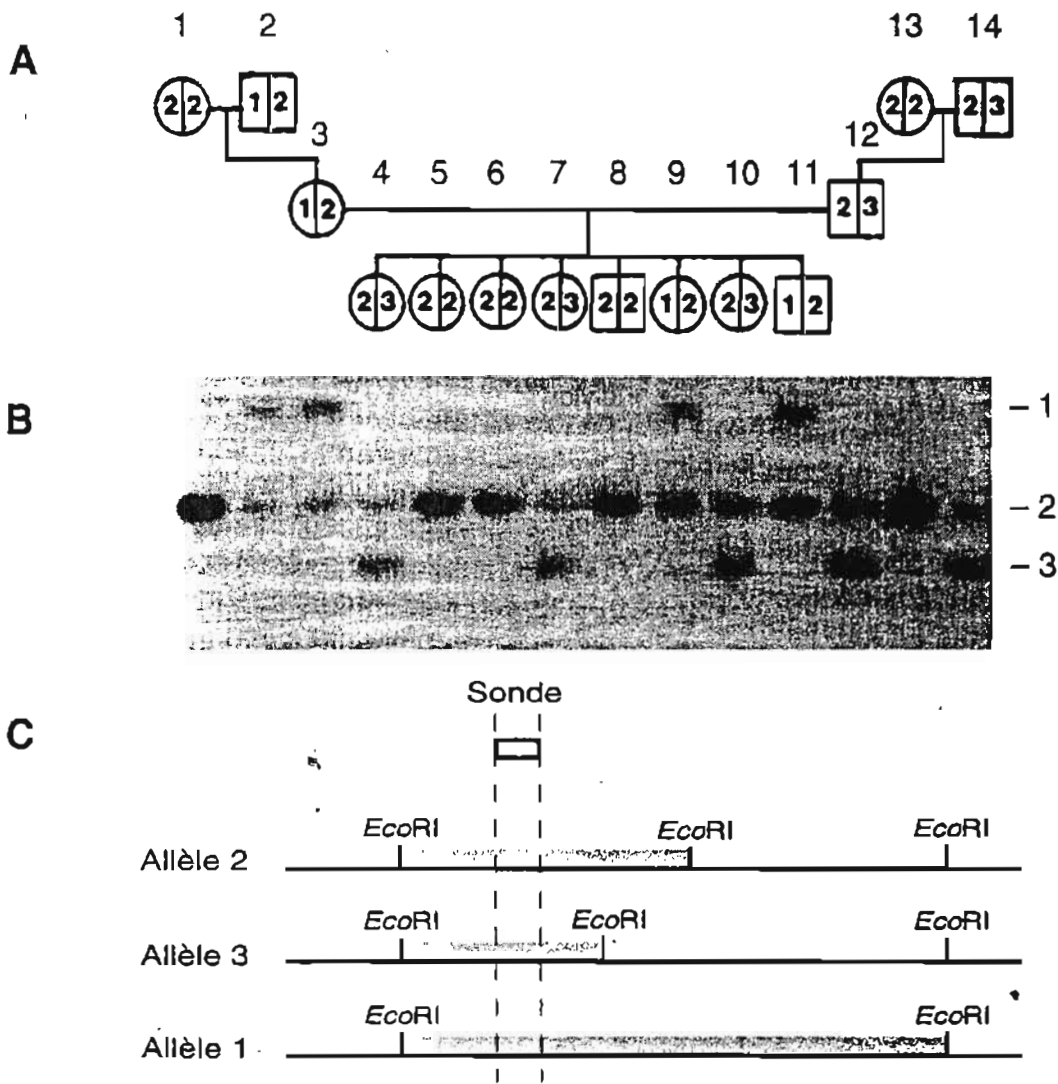
- PIC (Polymorphism Information

Content)

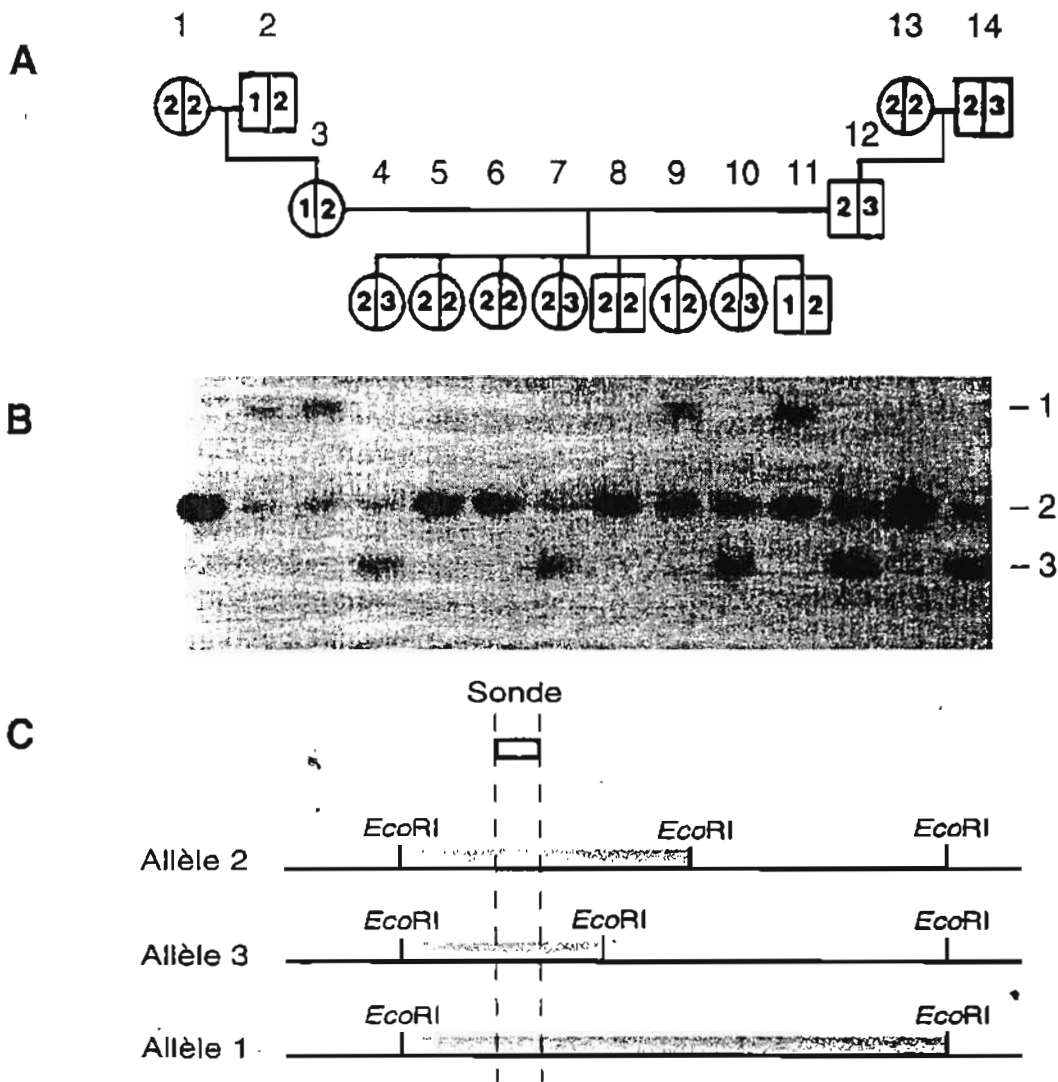
$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$



Génotypage d'un microsatellite dans une famille. Les amorces correspondant aux séquences encadrant la répétition de dinucléotides permettent d'amplifier le microsatellite chez les différents membres d'une famille. Leur taille est évaluée par électrophorèse. Le microsatellite est représenté par deux allèles de 16 et 14 dinucléotides chez la grand-mère (1), 17 et 12 dinucléotides chez le grand-père (2), 18 et 13 chez la grand-mère (10), 19 et 15 chez le grand-père (11). Le père (3) a hérité des allèles à 14 et 12 répétitions et la mère (9) des allèles à 19 et 18 répétitions. Les enfants (4) à (8) présentent respectivement les combinaisons d'allèles 18 et 12, 19 et 12, 18 et 14, et 18 et 12.

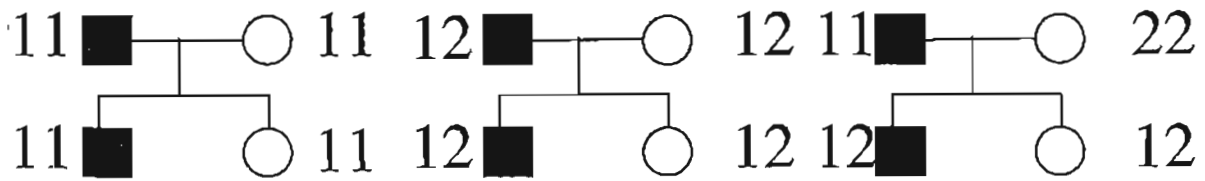


Génotypage par RFLP. **A** : généalogie de la famille étudiée (les carrés représentent les hommes, les ronds les femmes). **B** : l'ADN des individus est digéré par un enzyme de restriction, les fragments sont séparés sur gel, transférés sur une membrane et hybridés avec une sonde RFLP marquée. La taille des fragments révélés est spécifique de chaque allèle : la grand-mère (1) présente deux allèles 2 ; le grand-père (2), les allèles 1 et 2 ; la grand-mère (13), deux allèles 2 ; le grand-père (14), les allèles 2 et 3. La mère (3) a hérité des allèles 1 et 2, et le père (12) des allèles 2 et 3. Les enfants (4), (7) et (10) présentent les allèles 2 et 3, les enfants (5), (6), (8) deux fois l'allèle 2, et les enfants (9) et (11) les allèles 1 et 2. **C** : interprétation des RFLP, détectés ici avec l'enzyme *EcoRI*. Les tailles des fragments révélés dépendent de l'absence ou de la présence des sites de restriction. Le grisé représente la taille du fragment reconnu par la sonde.



Génotypage par RFLP. **A** : généalogie de la famille étudiée (les carrés représentent les hommes, les ronds les femmes). **B** : l'ADN des individus est digéré par un enzyme de restriction, les fragments sont séparés sur gel, transférés sur une membrane et hybridés avec une sonde RFLP marquée. La taille des fragments révélés est spécifique de chaque allèle : la grand-mère (1) présente deux allèles 2 ; le grand-père (2), les allèles 1 et 2 ; la grand-mère (13), deux allèles 2 ; le grand-père (14), les allèles 2 et 3. La mère (3) a hérité des allèles 1 et 2, et le père (12) des allèles 2 et 3. Les enfants (4), (7) et (10) présentent les allèles 2 et 3, les enfants (5), (6), (8) deux fois l'allèle 2, et les enfants (9) et (11) les allèles 1 et 2. **C** : interprétation des RFLP, détectés ici avec l'enzyme *EcoRI*. Les tailles des fragments révélés dépendent de l'absence ou de la présence des sites de restriction. Le grisé représente la taille du fragment reconnu par la sonde.

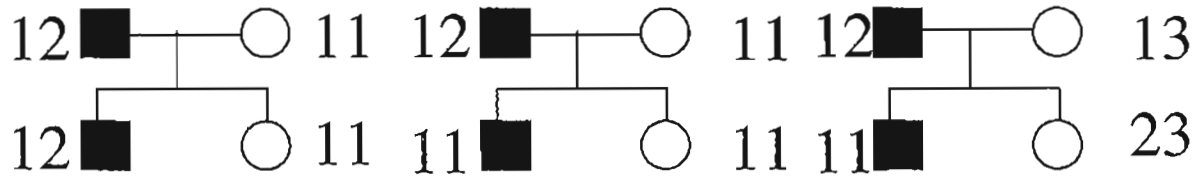
Maladie dominante :



Pas informative

Pas informative

Pas informative

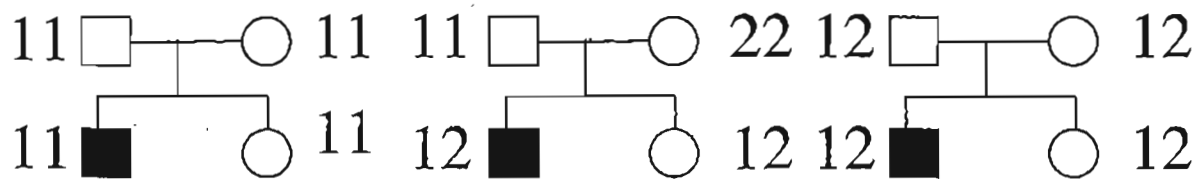


Informative

Informative

Informative

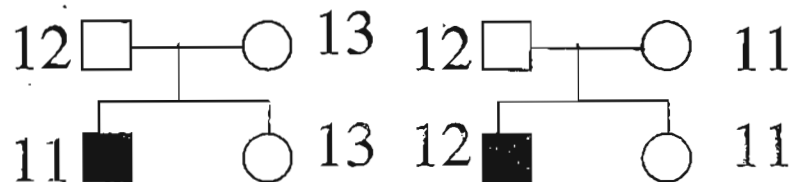
Maladie récessive :



Pas informative

Pas informative

Pas informative



Informative

Demi-informative

L'informativité des méioses.

CARTOGRAPHIE PHYSIQUE

1. Introduction

2. Cartographie à basse résolution

Hybrides somatiques

Hybrides d'irradiation

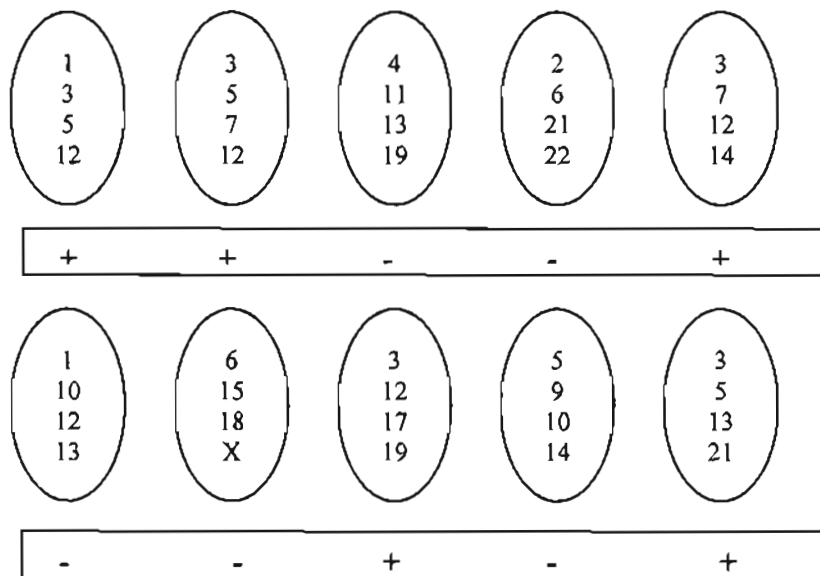
3. Cartographie à haute résolution

Marche sur le chromosome à partir de banques de cosmides

Marche sur le chromosome à partir de banques de YACs

Assemblage de contigs de YACs

Cartographie à l'aide d'un panel d'hybrides somatiques



Cartographie par hybrides d'irradiation

Calcul de la fréquence de cassures, θ , entre 2 marqueurs :

$$\theta = [(A^+B^-) + (A^-B^+)] / [T(R_A + R_B - 2R_AR_B)]$$

(A^+B^-) : nombre d'hybrides qui ont retenu A mais pas B

(A^-B^+) : nombre d'hybrides qui ont retenu B mais pas A

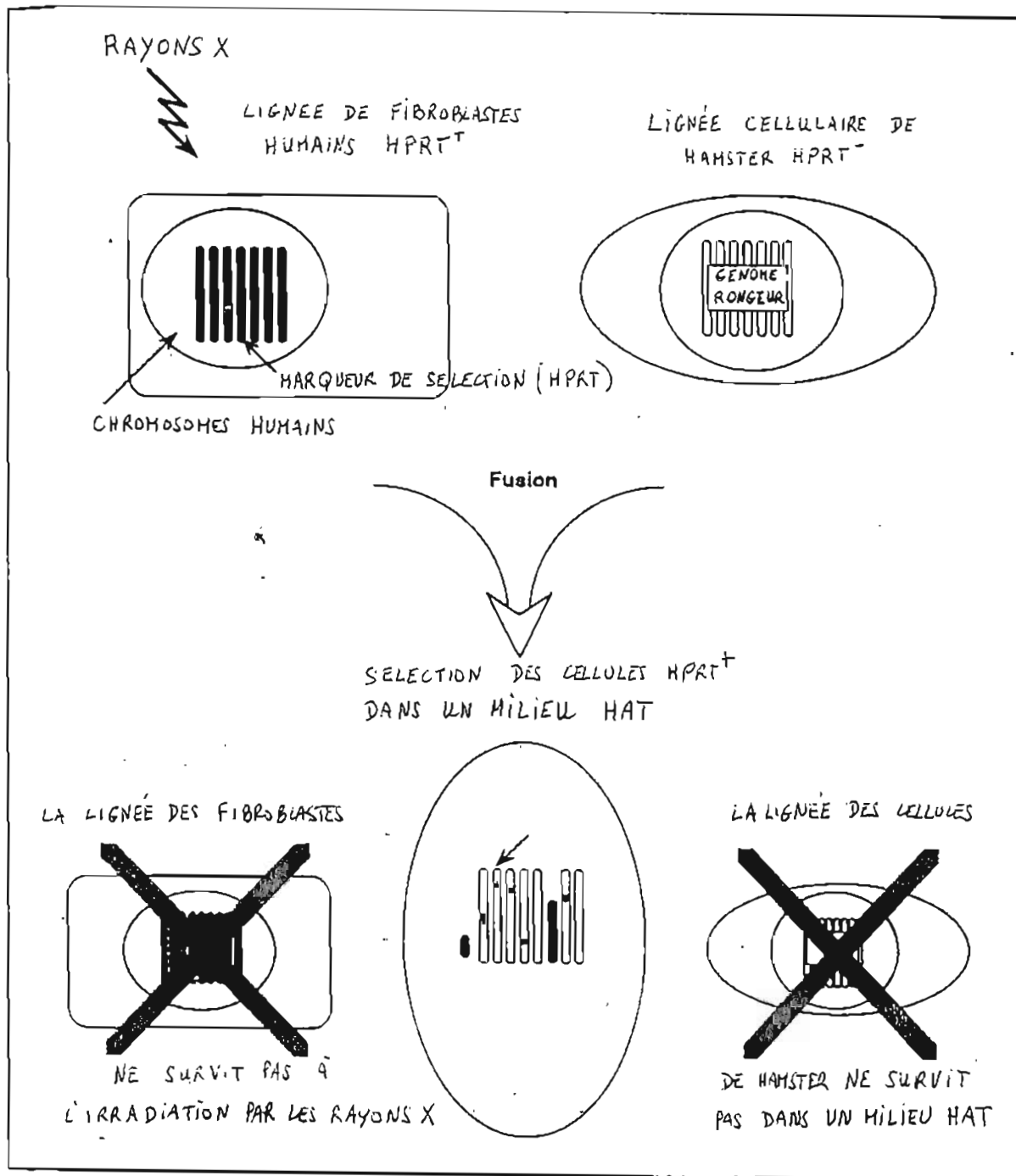
T : Nombre total d'hybrides analysés pour les marqueurs A et B

R_A : Fraction des hybrides qui ont retenu A

R_B : Fraction des hybrides qui ont retenu B

$0 < \theta < 1$

- HYBRIDES D'IRRADIATION -



Calcul de la fréquence de cassures entre marqueurs du chromosome 21

Marqueurs		Clones observés					F.C.θ	U.C.cR ₈₀₀₀
A	B	++	+-	-+	--	Somme		
S16	S48	46	2	1	32	81	0.08	8
S48	S46	37	2	1	31	71	0.09	9
S16	S46	36	4	2	29	71	0.17	19
S46	S4	32	6	1	32	71	0.20	11
S48	S4	46	10	2	38	96	0.25	13

$$\theta = [(A^+B^-) + (A^-B^+)]/[T(R_A + R_B - 2R_AR_B)]$$

Calcul de $\theta_{S48-S46}$:

$$\frac{[(2) + (1)]}{71 \left[\frac{(37+2)}{71} + \frac{(37+1)}{71} - 2 \frac{(37+2)(37+1)}{71} \right]}$$

Carte d'hybrides d'irradiation du chromosome 21

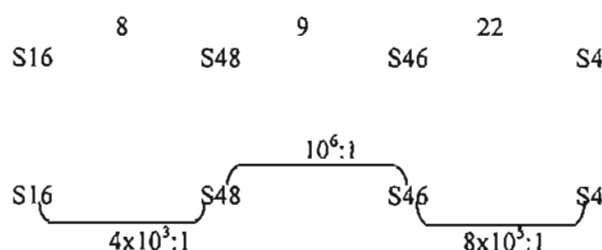
Marqueurs		Fraction de Cassures: θ	Unité de carte: cR ₈₀₀₀	Lod Score
A	B			
S16	S48	0.08	8	18
S48	S46	0.09	9	16
S16	S46	0.17	19	12
S46	S4	0.20	22	11
S48	S4	0.25	29	13

Le Lod score mesure la vraisemblance que 2 marqueurs sont liés

Calcul de la distance précise entre 2 marqueurs à l'aide de la fonction de carte d'Haldane :

$$D = -\ln(1 - \theta)$$

Carte d'hybride d'irradiation d'une région du chromosome 21



Vraisemblance de l'ordre S16-S48-S46-S4:

$$4 \times 10^3 \times 10^6 \times 8 \times 10^5$$

Vraisemblance de l'ordre S16-S46-S48-S4:

Calcul de la fréquence de cassures entre marqueurs du chromosome 21

Marqueurs		Clones observés					F.C.θ	U.C.cR ₈₀₀₀
A	B	++	+-	-+	--	Somme		
S16	S48	46	2	1	32	81	0.08	8
S48	S46	37	2	1	31	71	0.09	9
S16	S46	36	4	2	29	71	0.17	19
S46	S4	32	6	1	32	71	0.20	11
S48	S4	46	10	2	38	96	0.25	13

$$\theta = [(A^+B^-) + (A^-B^+)]/[T(R_A + R_B - 2R_AR_B)]$$

Calcul de $\theta_{S48-S46}$:

$$\frac{[(2) + (1)]}{71 \left[\frac{(37+2)}{71} + \frac{(37+1)}{71} - 2 \frac{(37+2)(37+1)}{71} \right]}$$

Carte d'hybrides d'irradiation du chromosome 21

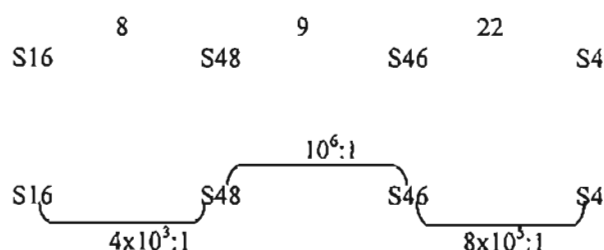
Marqueurs		Fraction de Cassures: θ	Unité de carte: cR ₈₀₀₀	Lod Score
A	B			
S16	S48	0.08	8	18
S48	S46	0.09	9	16
S16	S46	0.17	19	12
S46	S4	0.20	22	11
S48	S4	0.25	29	13

Le Lod score mesure la vraisemblance que 2 marqueurs sont liés

Calcul de la distance précise entre 2 marqueurs à l'aide de la fonction de carte d'Haldane :

$$D = -\ln(1 - \theta)$$

Carte d'hybride d'irradiation d'une région du chromosome 21



Vraisemblance de l'ordre S16-S48-S46-S4:

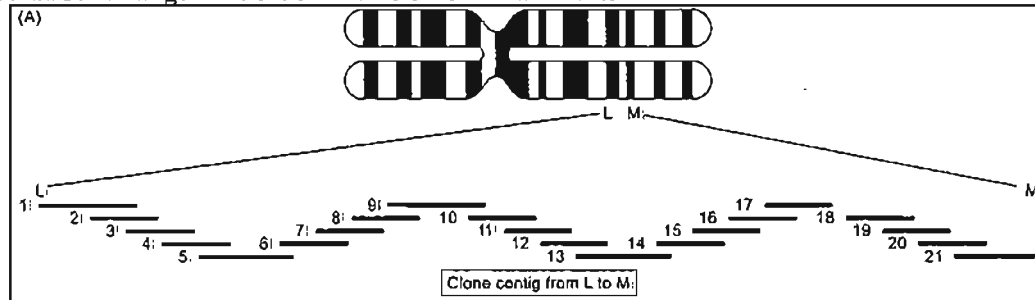
$$4 \times 10^3 \times 10^6 \times 8 \times 10^5$$

Vraisemblance de l'ordre S16-S46-S48-S4:

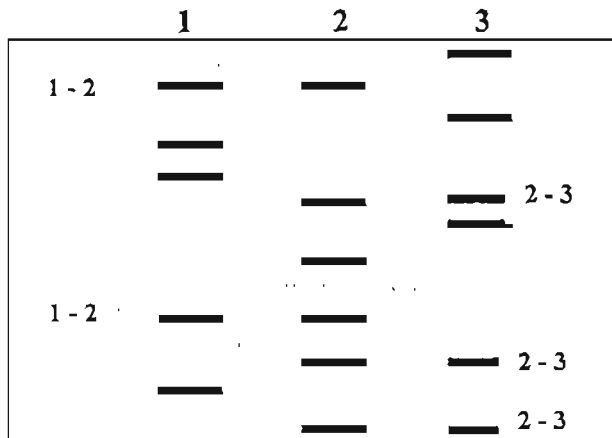
$$4 \times 10^3 \times 1 \times 8 \times 10^5$$

Cet ordre est 1 million de fois moins vraisemblable que le précédent.

CONTIG: Arrangement ordonné de clones chevauchants

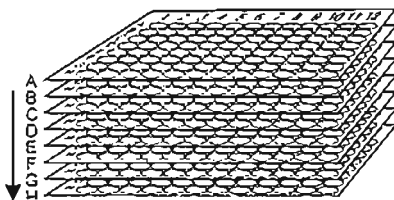


Empreinte d'ADN

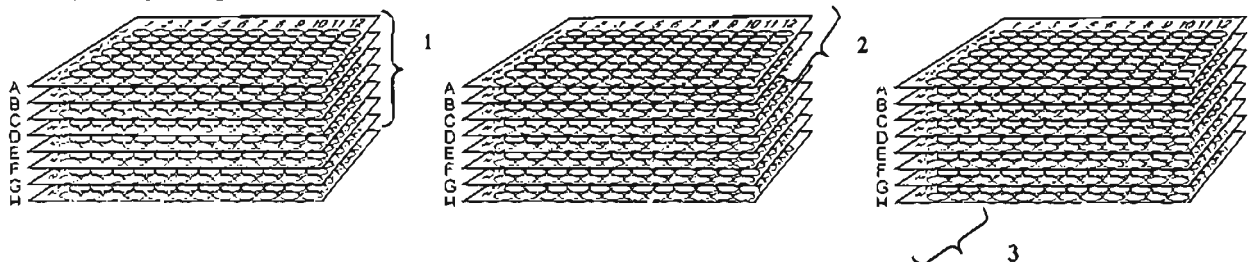


Criblage tri-dimensionnel d'une banque de YAC: criblage primaire

Master pool : 8 MTP (8 x 96 = 768 clones) dans 1 MTP (96 puits)



Sous-pools: pooling tri-dimensionnel



- 1: tous les clones de la même rangée pour les 8 MTP dans un puits -> 8 puits
 - 2: tous les clones de la même MTP dans un puits -> 8 puits
 - 3: tous les clones de la même colonne pour les 8 MTP dans un puits -> 12 puits
- Au total : 28 réactions de PCR pour définir une adresse unique

LA PATHOLOGIE MOLECULAIRE

1. Introduction

2. Les différents types de mutations

- Perte de fonction

La myopathie de Duchenne : l'apport de la cytogénétique

- Haplo-insuffisance

Le syndrome de Waardenburg de type 1

- Dominant négatif

L'ostéogénèse imparfaite

- Gain de fonction

La chorée de Huntington

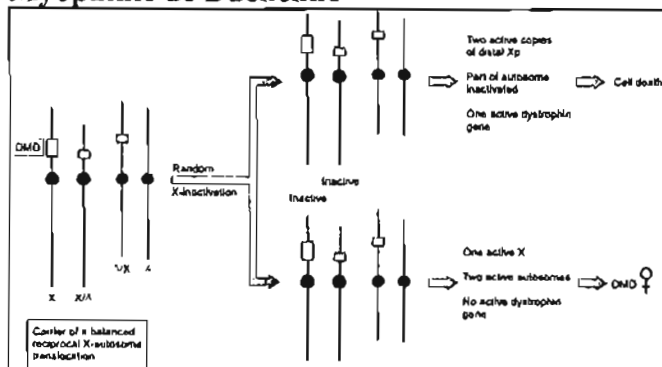
- Dosage génique

La maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1

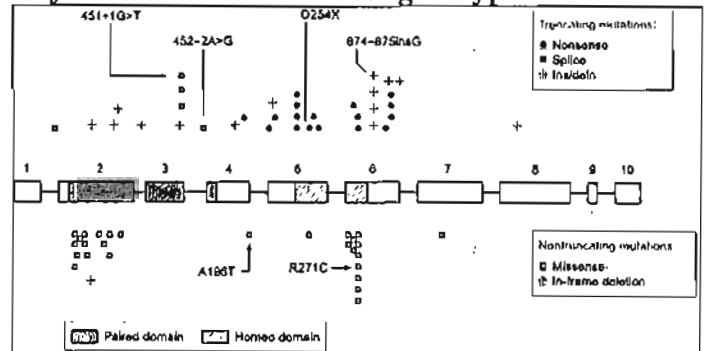
3. Cancers familiaux

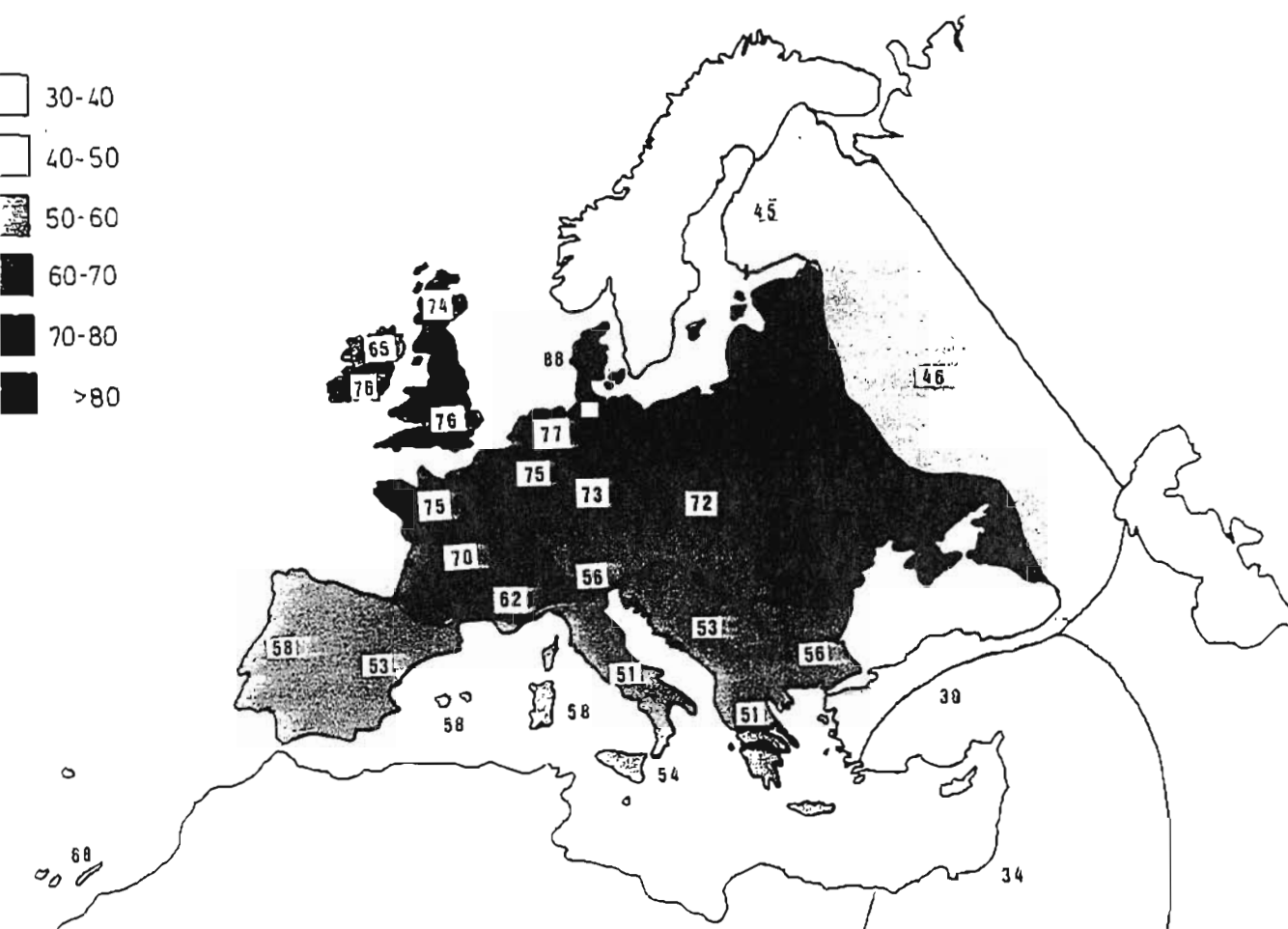
Le rétinoblastome : perte d'hétérozygotie (Loss of Heterozygosity - LoH)

Myopathie de Duchenne

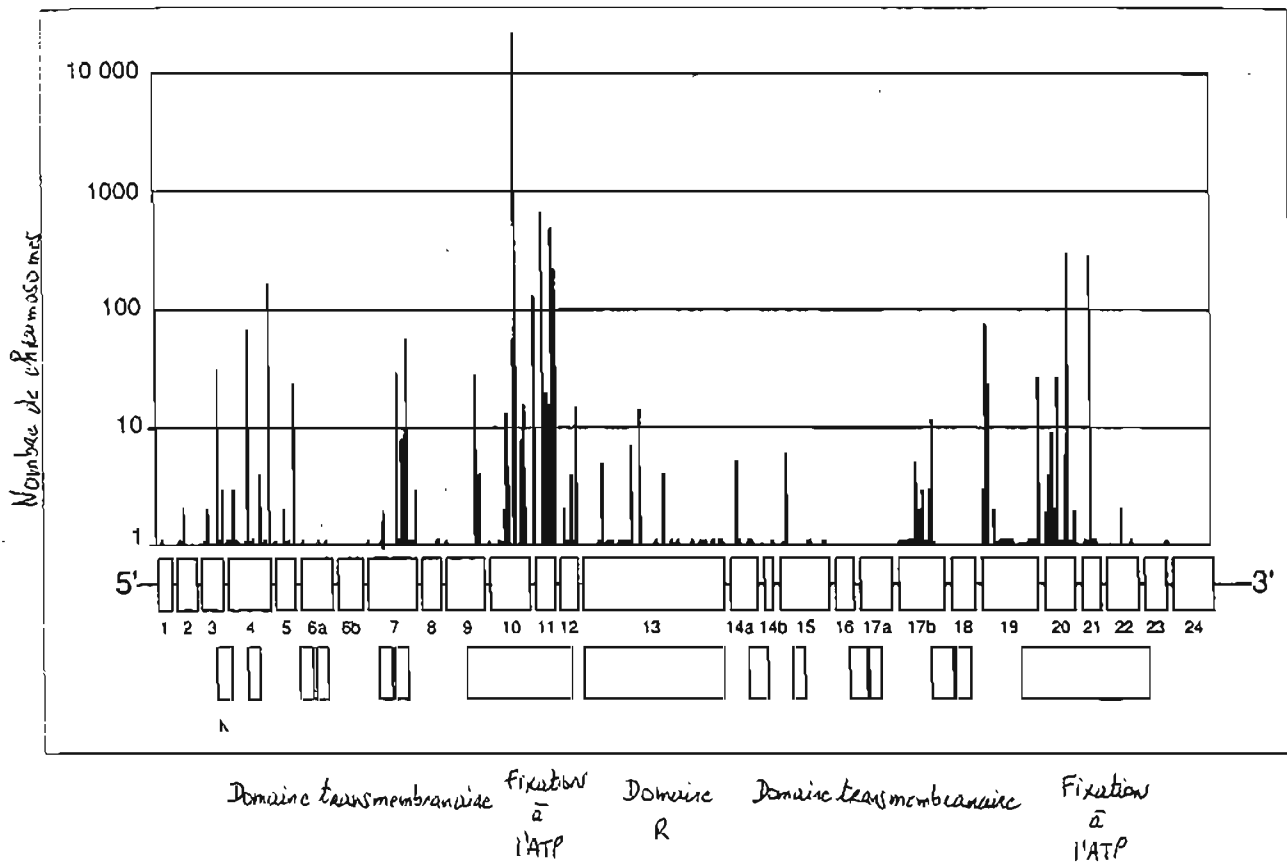


Syndrome de Waardenburg de type I





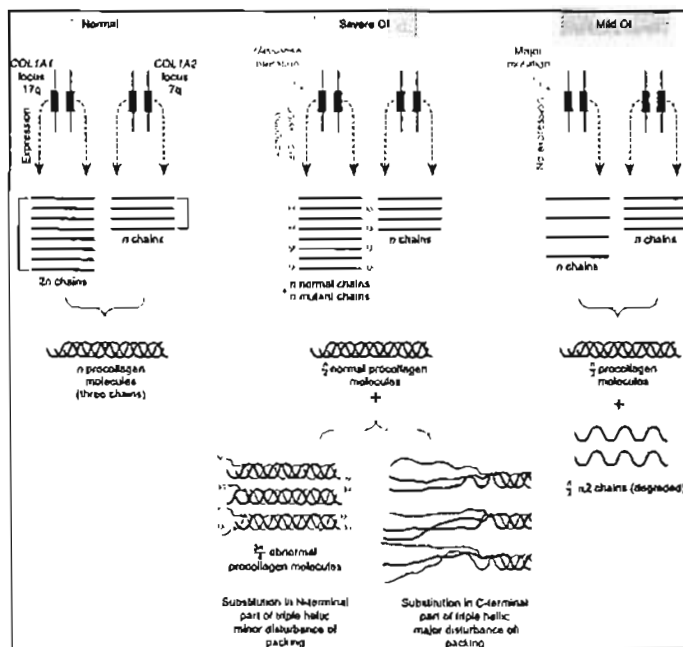
Fréquence de la mutation $\Delta 508$ dans le gène CF (*cystic fibrosis*) responsable de la mucoviscidose dans les différentes populations européennes. Les chiffres représentent les fréquences de l'allèle D508.



Localisation et fréquence des mutations dans le gène CFTR chez l'Homme.

L'histogramme montre le nombre de cas décrits pour chaque mutation en fonction de sa localisation dans le gène CFTR. L'échelle en ordonnée est logarithmique.

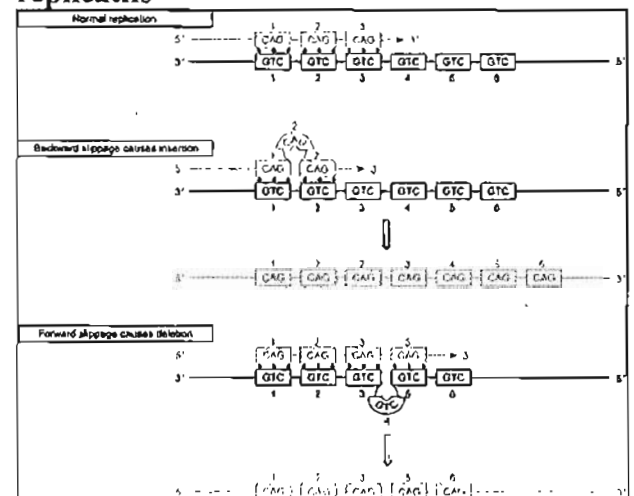
Ostéogénèse imparfaite



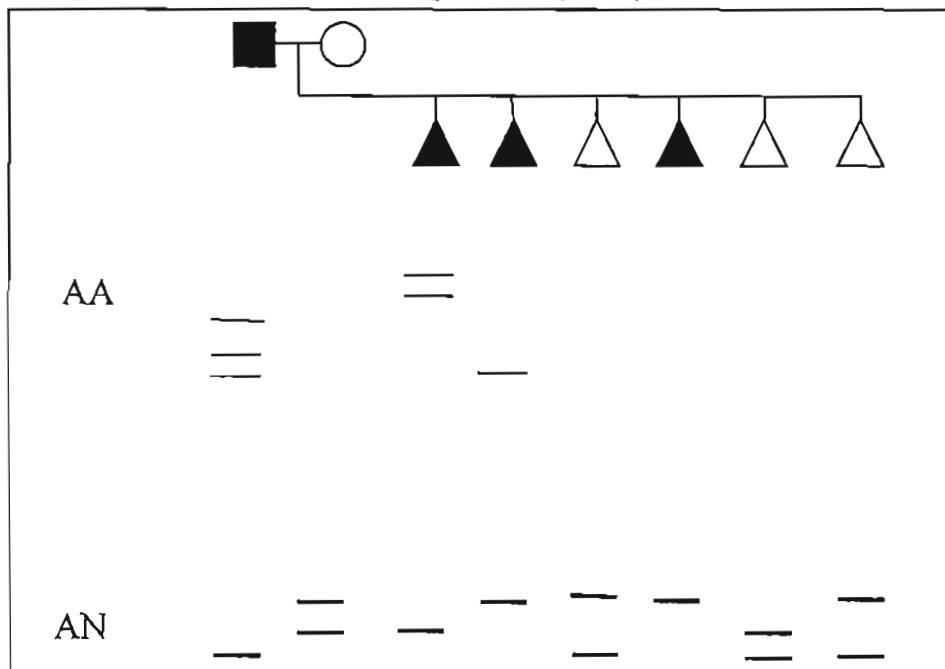
Chorée de Huntington : Comparaison du nombre de répétitions

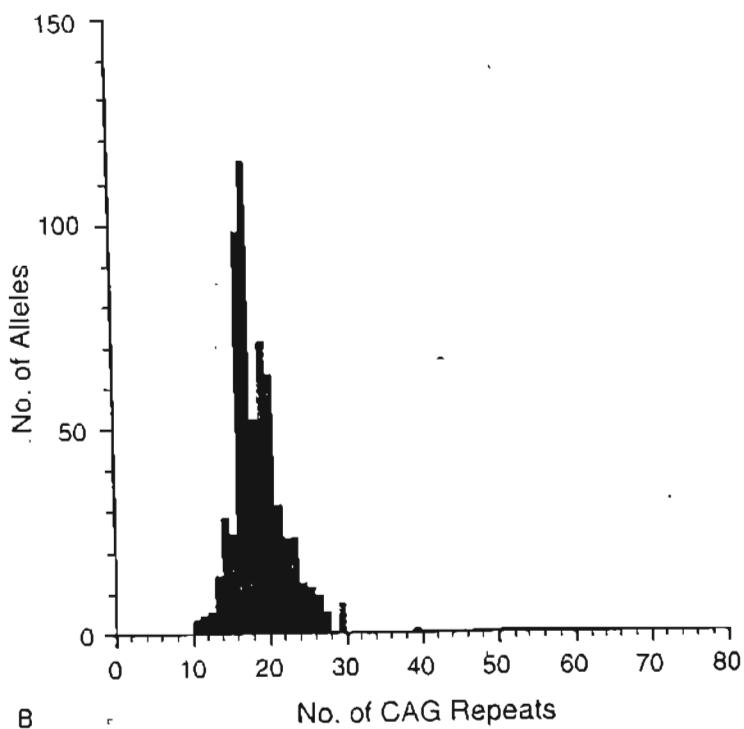
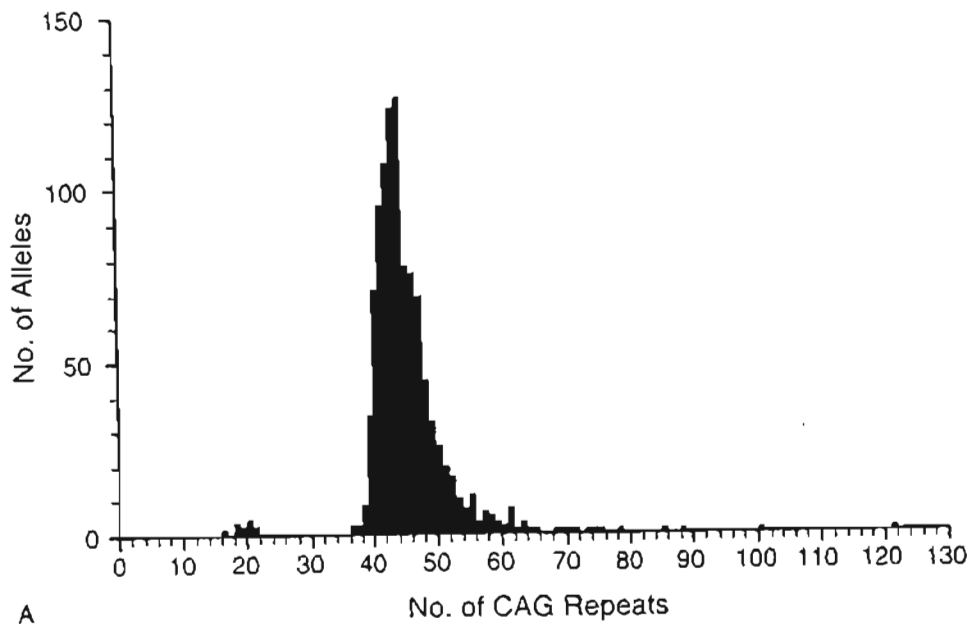
Nombre de répétitions	Chromosomes normaux		Chromosomes HD	
	Nombre	Fréquence	Nombre	Fréquence
>48	0	0	44	0.59
42-47	0	0	30	0.41
30-41	2	0.01	0	0
25-30	2	0.01	0	0
<24	169	0.98	0	0
Total	173	1.00	74	1.00

Répétition CAG : glissements réplicatifs



Analyse par PCR du nombre de répétitions (CAG)_n dans une famille HD

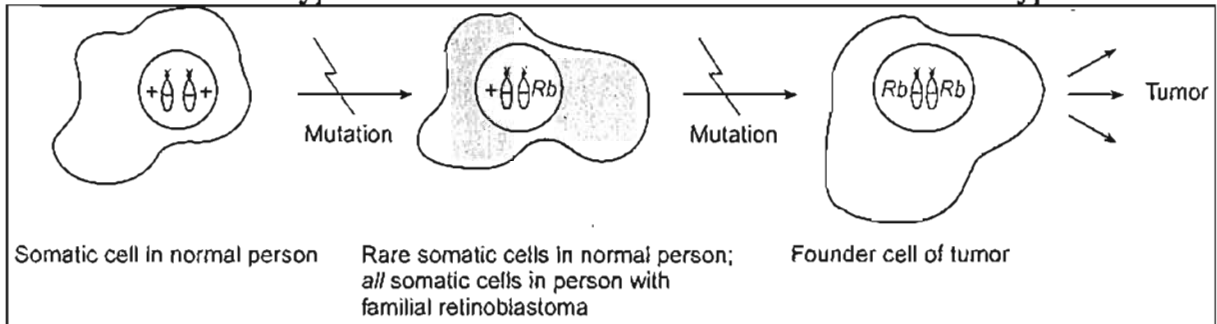




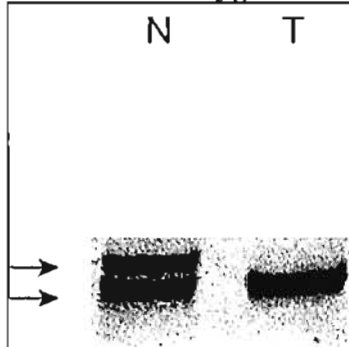
Distribution du nombre de triplets (CAG)_n.

Chez 995 patients présentant les signes cliniques et les symptômes de la maladie de Huntington (Figure A), la taille moyenne des répétitions est de 44 (taille comprise entre 36 et 121). Chez les sujets normaux, (Figure B) la taille moyenne des répétitions est de 20 (comprise entre 10 et 29).

Le rétinoblastome : hypothèse des 2 hits de Knudson "Knudson Two-hit hypothesis"



Perte d'hétérozygotie : LoH



Mécanisme de la perte d'hétérozygotie

