

Chapitre 05

Cartographie physique et génétique des gènes

Introduction

Dans tous les organismes étudiés, les généticiens ont pour démarche de localiser les gènes pour identifier leur nature et leur rôle dans le contrôle des différents caractères phénotypiques. La cartographie des gènes en génétique humaine et médicale n'est en aucun cas une exception à cette règle, et a déjà fourni un grand nombre d'informations pratiques en biologie et en médecine. Actuellement, plus de 14 000 gènes ont été assignés à des localisations chromosomiques. Bien que ce rythme de progression soit remarquable, cela ne représente qu'une partie du nombre estimé de 30 000 à 40 000 gènes qui composent le génome humain. La cartographie des gènes est la détermination de la position d'un locus (gène ou marqueur génétique) sur un chromosome. Il y a deux approches fondamentalement différentes pour localiser les gènes sur les chromosomes humains : la cartographie physique et la cartographie génétique.

5.1. Cartographie génétique :

Permettant de représenter l'emplacement des marqueurs ou des gènes sur un chromosome, la cartographie génétique est une véritable révolution dans le domaine de la recherche médicale. Se présentant sous forme d'un graphique, la carte génétique démontre quelques différences par rapport à la carte physique.

La cartographie génétique est la construction d'une carte soit localisée autour d'un gène, soit à base large portant sur le génome entier. Plus généralement, c'est la détermination de la position d'un locus (gène ou marqueur génétique) sur un chromosome en fonction du taux de recombinaison génétique. Cette fréquence de recombinaisons méiotiques est utilisée pour estimer les distances entre les marqueurs. La distance génétique est une mesure statistique estimée en centi-Morgan (cM).

5.1.1. La carte génétique

Est une représentation graphique de la position des gènes d'un chromosome. Elle se différencie essentiellement de la carte physique, du fait qu'elle saisit l'ordre de localisation des gènes. Les distances exactes entre ces derniers sont, en effet, saisies sur la carte physique.

La première carte génétique est réalisée en 1913 par Thomas Hunt Morgan et Alfred Sturtevant sur le chromosome X de la drosophile. La première plante cartographiée est le maïs en 1935 grâce à la technique de marqueurs moléculaires. Ces cartes se basaient essentiellement sur la ségrégation de caractères phénotypiques disposés linéairement sur un chromosome et de

l'existence de crossing-over se produisant a priori aléatoirement le long de celui-ci. Ainsi, plus la distance séparant deux gènes portés par le même chromosome est importante, plus la probabilité de recombinaison entre ces deux gènes est élevée. La mesure du taux de recombinaison reflète donc la distance linéaire entre les gènes. Le centimorgan (cM), correspondant à 1 % de recombinaison, fut adopté comme unité de distance génétique. L'analyse de liaison, en suivant la transmission de caractères polymorphes, permet ainsi d'établir la position relative des gènes sur le chromosome et de mesurer la distance qui les sépare.

Il y'a 2 aspects fondamentaux en cartographie génétique :

- La détermination de l'ordre dans lequel les unités génétiques sont disposées les unes par rapport aux autres. On peut aussi représenter les marqueurs génétiques. Exemple : Les marqueurs RFLP utilisés dans la cartographie de la pomme de terre .sont répartis sur les 12 chromosomes de la pomme de terre.
- La détermination de la distance relative entre 2 unités génétiques par la carte physique.

La cartographie génétique est aussi utilisée pour **étudier l'assortiment de caractères** par analyse génétique ou l'hérédité.

➤ **Les marqueurs**

Au début du XXe siècle, les gènes furent utilisés comme marqueurs dans la cartographie génétique. Pour rappel, un gène est un **fragment d'ADN** qui transmet les caractéristiques héréditaires de parents à enfants. Chaque gène comporte deux *allèles*, produisant chacune un *phénotype* spécifique. En servant de marqueurs visuels, ces allèles montrent la position des gènes de :

- La forme des ailes
- La couleur des yeux
- La couleur de peau...

➤ **Les phénotypes biochimiques**

Des années plus tard, la cartographie génétique fût réalisée à partir de **phénotypes biochimiques**. On peut citer par exemple, le *typage sanguin*. Pour des génomes importants, on se sert d'autres caractéristiques génétiques. On retrouve :

- Les polymorphismes de nucléotides simples (SNP)
- Les polymorphismes de longueur de séquence simple (SSLP)
- Les polymorphismes de longueur de fragment de restriction (RFLP).

5.1.2. Techniques de cartographie génétiques

Les techniques utilisées en cartographie génétique dépendent de la **liaison génétique** issue des découvertes faites dans le domaine par *Gregor Mendel*, au XIXe siècle. Les expériences ont été faites sur la reproduction sur les pois, dans lesquelles les allèles d'un gène menaient à **l'hétérozygotie** (se dit d'une cellule hétérozygote) ou à **l'homozygotie** (se dit d'une cellule homozygote).

➤ **Le DMAP**

C'est une méthode de cartographie génétique fine, qui s'adapte à des modèles génétiques complexes. Elle est plus rapide à exécuter que les autres méthodes de cartographie génétique déjà existantes.

➤ **L'étude d'association**

Elle permet de **définir l'emplacement d'une mutation causale** sur une séquence d'ADN. Elle teste le lien entre le phénotype relatif à la maladie génétique analysée et le marqueur d'une séquence ADN.

➤ **La méthode MapARG**

Elle repose sur **l'utilisation d'un schéma de recombinaison ancestral** pour construire des généalogies génétiques, depuis un échantillon spécifique.

➤ **La méthode Margarita**

Elle consiste à **amplifier l'ADN** en vue d'analyser le génome.

5.1.3. Comment calculer les distances entre deux gènes

➤ *Pour calculer les distances entre deux régions, il faut donc calculer le pourcentage de chromatides recombinés parmi la totalité des chromatides.*

Pour calculer la distance entre deux gènes, il faut donc déterminer le nombre de chromatides ayant une des deux combinaisons parentales (P1 et P2) et le nombre de celles ayant une des deux combinaisons recombinées (R1 et R2).

La distance génétique en cM sera alors égale à **$100 \times (R1+R2)/(P1+P2+R1+R2)$** .

Notez que si les allèles ségrègent indépendamment les effectifs de chacune des combinaisons sont identiques ($P1 = P2 = R1 = R2$). En appliquant la formule ci-dessus, on voit donc que la "distance génétique" calculable culmine à 50 cM. Dans ce cas, il y a indépendance génétique et on ne peut pas formellement calculer de distance!

Notez le cas où on observe une indépendance génétique entre deux gènes, cela ne veut pas forcément dire que les gènes sont sur des chromosomes différents. En effet, deux gènes suffisamment éloignés sur un même chromosome peuvent ségréger indépendamment l'un de

l'autre si suffisamment de crossing-over ont lieu entre eux à chaque méiose.

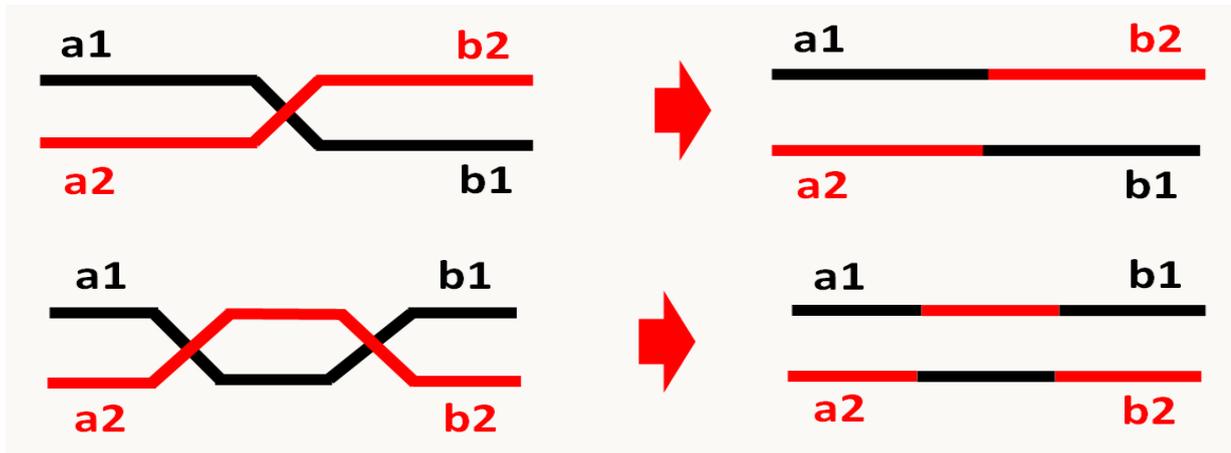


Figure 1 : un crossing-over (en haut) permet de recombiner les allèles. La présence d'un deuxième crossing-over (en bas) restaure la combinaison parentale des allèles.

Dans les calculs ci-dessus, on ne tient compte que des recombinants détectables. Mais, s'il se produit un deuxième crossing-over entre les locus examinés, cela va entraîner un retour à une combinaison d'aspect parental, bien qu'il y ait eu une recombinaison (figure 1).

5.1.Ladistancegénétique

Les gènes sur un chromosome sont disposés linéairement. Il y a deux aspects fondamentaux en cartographie génétique : (1) la détermination de l'ordre des gènes (2) la détermination de la distance relative entre les gènes. En génétique, on évalue la distance entre deux gènes liés sur un même chromosome par la probabilité que ces gènes soient séparés l'un de l'autre par crossing-over lors de la formation des gamètes.

L'unité de distance utilisée est le centimorgan (cM) correspondant à 1% de probabilité que les deux gènes soient séparés lors de la méiose. On estime que 1 cM correspond à environ 1000 kilobases sur la molécule d'ADN (un million de nucléotides).

2.2. Test-cross dihybridisme (test-cross à 2 marqueurs)

Le moyen le plus simple pour détecter des gamètes recombinés chez un hétérozygote se fait grâce à l'étude de la descendance issue d'un croisement test ou test-cross.

Exemple : Supposons que l'on réalise un test-cross sur un individu double hétérozygote AC/ac et que l'on trouve dans les phénotypes de la descendance

37% AC (phénotype dominant sur les deux loci)

37% ac (phénotype récessif sur les deux loci)

13% Ac (phénotype dominant sur le premier locus et récessif sur le deuxième locus)

13% aC (phénotype récessif sur le premier locus et dominant sur le deuxième locus)

D'une manière évidente les deux derniers phénotypes dont le génotype correspondant est Ac/ac et aC/ac sont produits par des gamètes recombinés des doubles hétérozygotes. Ainsi 26% de tous les gamètes (13%+13%) sont de types recombinés et la distance entre les loci A et C est estimée à 26 centimorgan ou unités de carte génétique.

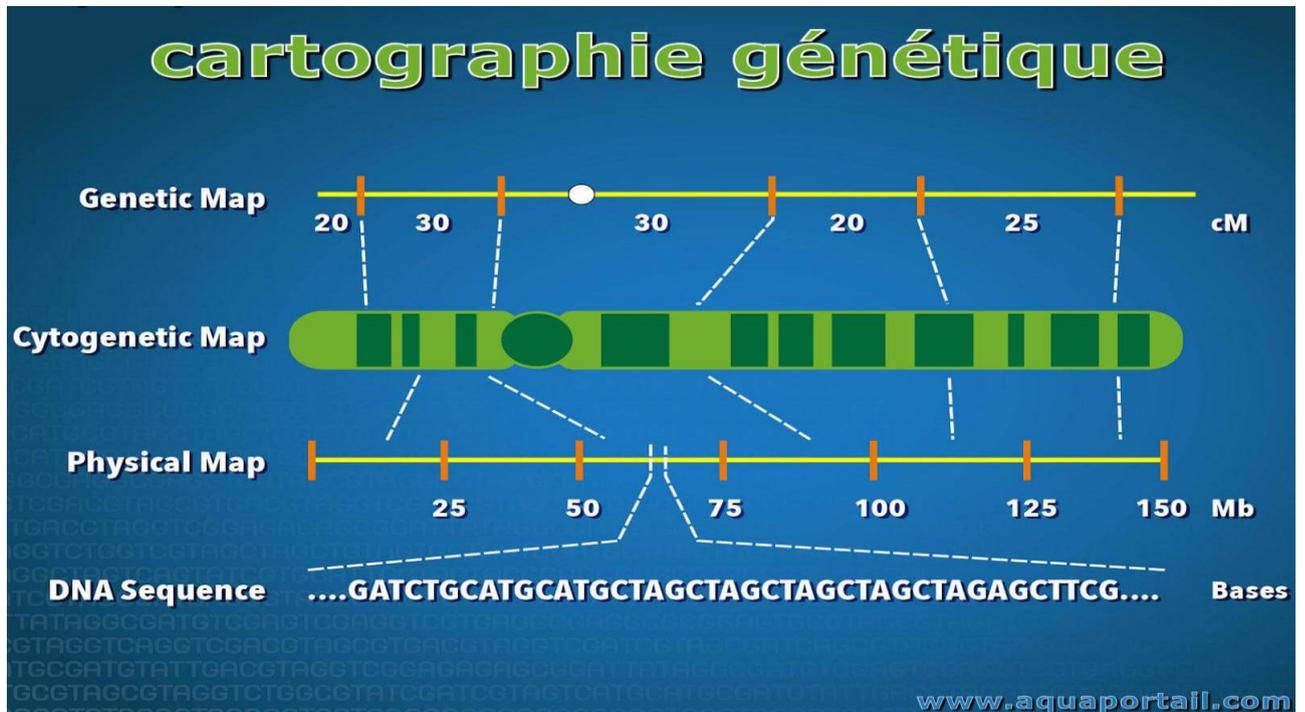
5.2. La cartographie physique :

Fait appel à une variété de méthodes cytogénétiques et moléculaires réalisées sur des cellules somatiques dans le laboratoire et capables de localiser les gènes le long des chromosomes. La position des gènes sur la carte est décrite en unité de mesure physique et réelle. La distance physique se mesure en paires de bases (pb) et kilo, mega ou giga pb.

5.2.1. Présentation générale d'une carte physique

Les cartes physiques sont généralement obtenues par l'utilisation de l'hybridation *in situ* des fragments d'ADN clonés avec des chromosomes en métaphase, ou l'utilisation d'hybrides somatiques ou hybrides d'irradiation.

- Une carte physique ou carte chromosomique porte l'indication de la séparation, en paires de bases entre les paires de locus liés.



La cartographie physique est la technique utilisée pour mesurer la distance réelle entre deux gènes. Elle est importante car le petit nombre de croisements rend la résolution des cartes génétiques faible. C'est notamment grâce au nombre de nucléotides que la cartographie physique donne la distance physique entre les marqueurs. Parmi les techniques de cartographie physique existantes, on peut citer :

- La cartographie STS
- La FISH
- La cartographie de restriction.

➤ **La cartographie STS**

Cette technique est à la fois rapide et peu exigeante. Elle est puissante et permet d'obtenir des cartes très détaillées de grands génomes.

➤ **La FISH**

Elle permet de voir directement la position du marqueur sur le chromosome. Elle se sert de l'hybridation de sondes fluorescentes ou radioactives, mais aussi de chromosomes très condensés pour ce faire.

➤ **La cartographie de restriction**

Une **carte de restriction** montre l'arrangement linéaire des sites de reconnaissance de l'endonucléase de restriction le long d'une molécule d'ADN. Exemple ci desous

On utilise les sites de restriction comme marqueurs dans ce cas. On applique généralement cette technique aux fragments d'ADN courts.

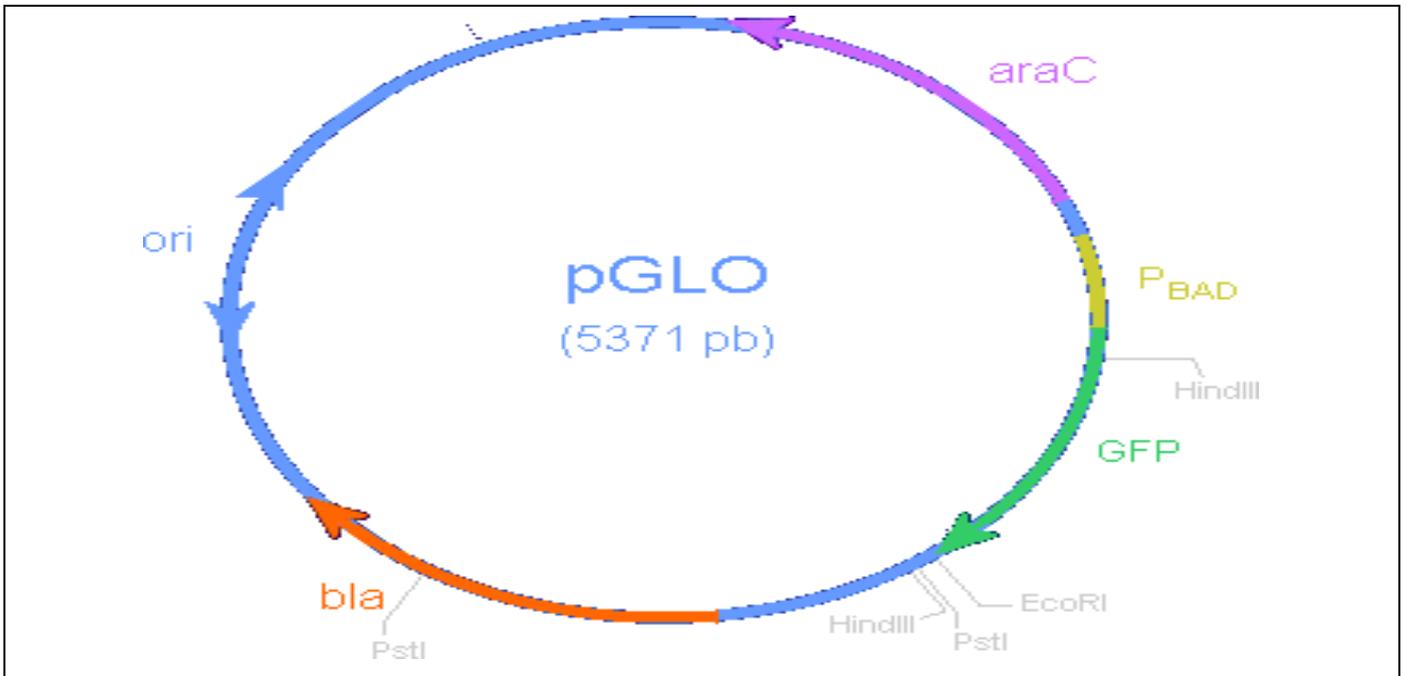


Fig3. Carte de restriction du plasmide pGLO

ori : origine de réplication.

araC : gène codant la protéine

araC, facteur de régulation, initialement de la transcription de l'opéron arabinose, et ici du gène

GFPPBAD : promoteur, initialement de l'opéron arabinose, et ici du gène

GFP. GF: gène codant la Green Fluorescent

Protein.bla : gène codant l'enzyme β -lactamase responsable de la résistance à l'ampicilline.

PstI, Hind III, EcoR1 : lieux où agissent les endonucléases de restriction

