

### V- Cartographie physique et génétique des gènes

#### 1. Introduction

La carte génétique est un schéma, une représentation la position et de la distance relative des gènes d'un chromosome. La cartographie génétique montre la disposition linéaire des gènes dans le génome d'un organisme. Une distinction est faite entre les cartes génétiques et génétiques physiques. L'ordre de localisation des gènes est saisi sur une carte génétique. Les distances exactes entre les gènes, mesurées en paires de bases, sont entrées sur une carte des gènes physiques.

Bien que la disposition des gènes sur les deux types de cartes soit la même, il n'existe pas de "formule de conversion" universelle entre les deux types de cartes. La raison en est que les fréquences de recombinaison varient extrêmement selon la région du génome et le sexe.

Afin d'obtenir une carte complète des gènes physiques, la séquence du génome d'un organisme doit être connue. Cela peut également être utilisé pour estimer le nombre de gènes contenus dans le génome.

#### 2. Types de cartes

Une carte étant un diagramme représentant la position relative des [locus](#) sur un [chromosome](#) et les distances entre eux, on distingue les types de cartes suivants :

- Une **carte génétique** est un alignement linéaire des gènes sur un chromosome, basé sur les fréquences de recombinaison (carte de liaison) ou sur l'emplacement physique (carte physique ou chromosomique). Les termes de carte factorielle, ou de carte statistique, sont souvent fréquemment employés comme synonymes de carte génétique. Une carte génétique est aussi appelée **carte de recombinaison méiotique**.
- Une **carte de liaison** est un diagramme linéaire ou circulaire représentant les positions relatives des gènes sur un chromosome qui sont déterminées par la fraction de recombinaison.
- Une **carte physique** ou **carte chromosomique** porte l'indication de la séparation, en paires de bases (souvent abrégées en *pb*), entre les paires de locus liés.

- Une **carte de restriction** montre l'arrangement linéaire des sites de reconnaissance de l'endonucléase de restriction (qui coupe le fragment de l'ADN) le long d'une molécule d'[ADN](#).
- Une **carte optique** permet de visualiser la composition génomique ou chromosomique à une échelle plus générale que le séquençage.

### 3. La cartographie génétique

Est une discipline de la génétique qui, grâce à diverses techniques, cherche à attribuer aux différents gènes d'un génome leur emplacement physique. Il existe deux variantes fondamentales des cartes : la génétique, définie par des unités de fréquence de recombinaison, et la physique, dans laquelle les distances entre les loci sont exprimées en unités de distance nucléotidique.

**Rappel :** Les paires de chromosomes homologues s'apparient au cours de la méiose I et subissent un certain nombre de recombinaisons ; échangeant des sections homologues par crossing-over (CO) et créant de nouvelles combinaisons d'allèles dans les produits de la méiose. Le crossing-over a lieu au moment de la méiose où il existe quatre chromatides (tétrade). Cependant, chaque crossing-over implique seulement 2 des 4 chromatides. Pour chaque recombinaison, il existe quatre produits : deux qui sont recombinants (R) et deux non recombinants (NR)

Quant à elle, mesure la probabilité dans une famille qu'ont deux gènes de ségréger ensemble au cours de la méiose, décrivant en cela le comportement des gènes en méiose plutôt qu'une localisation physique. Dans la cartographie génétique, la 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).

L'analyse de liaison génétique est une méthode permettant de localiser les gènes par l'étude de leur co-ségrégation (c'est-à-dire de leur liaison) sur un chromosome au cours de la méiose.

**La liaison génétique** est extrêmement importante en génétique médicale, car pour la grande majorité des gènes responsables des maladies génétiques, ni leur base biochimique, ni leur base moléculaire ne sont identifiées.

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.

### 3.1. 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.

#### A. 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...

#### B. 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**).

**Des cartes cytologiques** des gènes associés aux mutations peuvent être établies lorsque certaines mutations ont un support chromosomique qui peut être mis en évidence par les techniques de colorations de bandes des chromosomes.

<b>Polymorphisme</b> : forme différente qui peut prendre un même gène
---

### 3.2. Les méthodes de la cartographie génétique

Les techniques utilisées en cartographie génétique dépendent de la liaison génétique issue des découvertes faites dans le domaine par **Gregor Mendel**, au XIX<sup>e</sup> 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 (ancien) pour construire des généalogies génétiques, depuis un échantillon spécifique.

- **La méthode Margarita**

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

### 3.4. La distance génétique

La distance génétique (D) est la distance qui sépare deux loci sur un chromosome. La distance entre deux loci peut être déduite en estimant la fréquence de recombinaisons survenant dans les familles. 1cM est approximativement égal à une fréquence de recombinaison de 1%. La distance génétique est proportionnelle à la fréquence de recombinaison entre deux gènes liés. L'unité de la distance génétique est le centi Morgan (cM).

$$D (A-B) = \text{fréquence des gamètes recombinants pour les gènes A et B} \times 100$$

$$D = \frac{\text{Nombre de recombinants}}{\text{Nombre total de descendants}} \times 100$$

- **Comment calculer les distances entre deux gènes**

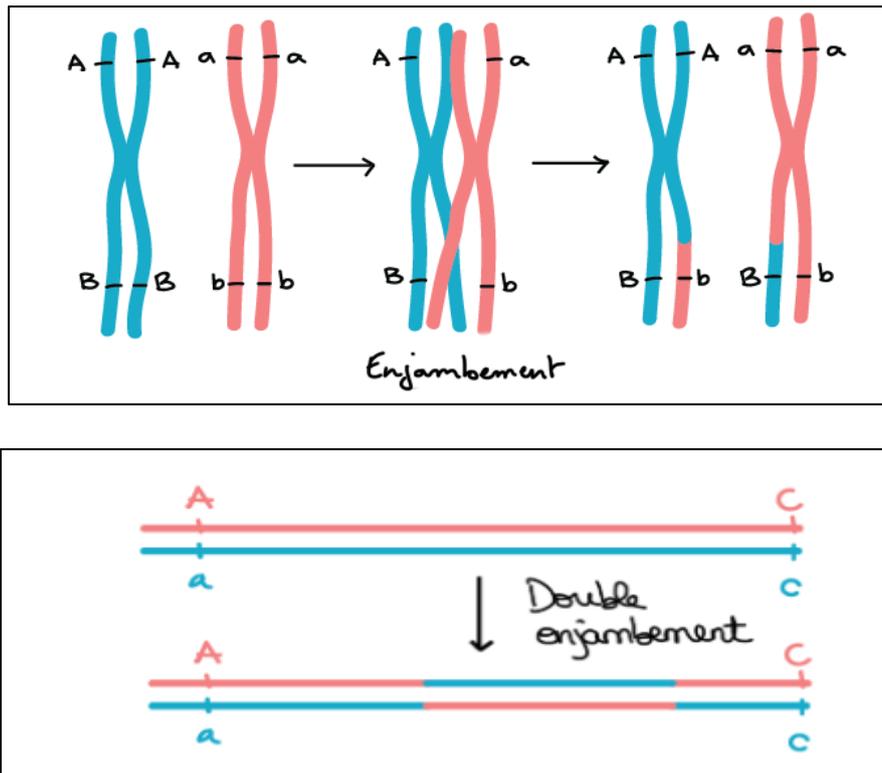
Pour calculer les distances entre deux régions, il faut donc calculer le pourcentage de chromatides recombinés parmi la totalité des chromatides.

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 recombinaison 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 parentale, bien qu'il y ait eu une recombinaison

### 3.5. Test-Cross

Le test cross permet de déterminer le génotype (identification des hétérozygotes) d'un individu testé et de révéler les différents gamètes produits par cet individu.

#### Dans notre exemple :

Les plantes de phénotype (rond) peuvent avoir le génotype A/A ou A/a

- Si un individu de phénotype (rond) et de génotype C/C est croisé avec un individu (creusé) dont le génotype est obligatoirement c/c (homozygote), tous les descendants seront de génotype C/c et donc de phénotype (rond).

Si l'individu est homozygote dominant, tous les descendants auront le phénotype dominant. -

Au contraire, si l'individu de phénotype (rond) est de génotype C/c, son croisement avec un

homozygote  $c/c$  de phénotype (creusé) donnera pour moitié des génotypes  $C/c$  de phénotype (rond) et pour moitié des génotypes  $a/a$  de phénotype (creusé).

Ainsi, ce rapport  $1 : 1$  ou  $\frac{1}{2} : \frac{1}{2}$  des phénotypes dominants et récessifs démontre que l'individu testé de phénotype (rond) était hétérozygote  $C/c$ .

Si l'individu est hétérozygote, la moitié des descendants auront le phénotype dominant et l'autre moitié le phénotype récessif.  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{2}$  sont également les proportions d'une ségrégation monogénique.

**Remarque :** Back-cross (croisement en retour) = F1 x l'un des parents

Conclusion Pour démontré qu'on est en présence d'un seul gène, on réalise :

- Soit une autofécondation (F1 x F1) qui donne  $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{4}$  (3 : 1) ; dans le cas d'une dominance complète
- Soit un test cross (F1 x parent récessif) qui donne  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{2}$  (1 : 1).

### 4- La carte 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.

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 (Sequenced Tag Site) : C'est une courte séquence représentée de façon unique dans le génome.
- La FISH

### A. 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.

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

Les Plasmides sont des structure d'ADN circulaire double brin, extra-chromosomique présents dans les bactéries et ils sont capable de répliqué indépendamment du chromosome bactérien leur taille est de 3-10 Kb, sont utiliser comme des vecteur de colonage et d'expression des gènes



**Figure 2** : Carte de restriction du plasmide pGLO

**ori** : origine de répllication (augmentation le nombre du copie et control le nombre de copies )

**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

**Protein.bla** : gène codant l'enzyme

**PstI, Hind III, EcoR1** : lieux ou agissent les endonucléases de restriction.