

DÉTERMINATION DES GÉNOTYPES ET PRÉVISION EN GÉNÉTIQUE HUMAINE

Une banque de données géniques sur les individus des arbres généalogiques

Dans les arbres généalogiques relatifs à des phénotypes cliniques, on est amené classiquement à considérer, pour chaque gène en cause, un allèle normal et un allèle muté. À partir de l'analyse de l'arbre, on détermine si les individus sont homozygotes ou hétérozygotes. En réalité, les conclusions tirées de cette analyse au niveau macroscopique sont **hypothétiques** car, comme l'a montré l'analyse des gènes, plusieurs allèles peuvent être à l'origine du phénotype normal ou à l'origine d'un même phénotype clinique, ou encore des allèles de deux gènes différents peuvent entraîner deux phénotypes cliniques voisins. **L'analyse génétique des individus d'un arbre généalogique permet de confirmer ou non les conclusions tirées de l'analyse classique.** C'est ce que nous proposons de faire à partir d'une banque contenant les séquences géniques des individus des arbres généalogiques.

Contenu de la banque

La banque renferme :

- les gènes, ou plus précisément le brin d'ADN non transcrit de chacun d'eux limité à la partie strictement « codante ». Chaque séquence commence donc par le triplet ATG et se termine par un des trois triplets STOP. Pour chaque gène, les *principaux allèles* répertoriés, en particulier tous ceux impliqués dans les arbres généalogiques proposés, sont donnés en référence dans un thème (ALL suivi du nom du gène) ;
- des fichiers d'enzymes de restriction correspondant à chaque gène étudié. Leur utilisation est détaillée dans la deuxième démarche ci-dessous ;
- le génotype (pour le gène étudié) des membres de chaque famille. L'extension de chaque nom de séquence indique le gène en cause. L'individu est repéré dans l'arbre par sa Famille (F1, F2, etc.) sa génération (i, ii, iii, iiiii) et sa position (1, 2, 3,...). Par exemple, F1-i1all1.tyr (all = allèle) et F1-ii1all2.tyr sont dans le premier arbre avec des individus albinos les 2 allèles du gène de la tyrosinase que possède la personne en position 1 à la première génération.

Principe de la recherche du génotype d'un individu d'un arbre généalogique avec le logiciel

L'élève doit utiliser les éléments de cette banque pour déterminer les génotypes des membres (ou de certains membres bien choisis) de la famille étudiée.

Deux démarches sont possibles :

- la première ressemble à l'utilisation vue à propos du polymorphisme génique. Pour comparer les allèles d'un individu avec un allèle choisi comme référence, on utilise les options **Comparaison simple** ou **Alignement avec discontinuités**. Les informations obtenues sont exploitées grâce à un tableau des différences entre l'allèle de référence et les autres allèles ce qui permet d'identifier précisément le génotype des individus. Cette démarche suppose le parcours de l'ensemble des deux séquences comparées qui peuvent être assez longues ;
- la deuxième est basée sur une utilisation simplifiée des méthodes de diagnostic génotypique à l'aide des **enzymes de restriction** : une enzyme de restriction reconnaît un motif spécifique dans une séquence d'ADN et coupe cette séquence au niveau du motif reconnu (ou à proximité). Pour chaque gène considéré, un fichier d'enzymes permettant d'identifier les allèles impliqués dans les arbres généalogiques et une grille de référence montrant l'action de ces enzymes sur tous les allèles de ce gène sont fournis.

Cette deuxième démarche est la seule illustrée dans l'analyse génétique des différents cas d'hérédité humaine envisagés dans cette brochure. L'encart ci-après précise les principes de cette démarche.

Considérons l'exemple théorique suivant :

Un gène G possède 4 allèles GA1, GA2, GA3 et GA4. Les enzymes du fichier d'enzymes (correspondant à G) coupent chaque allèle toutes les fois qu'elles rencontrent leur motif spécifique. Dans le diagnostic génotypique réel, les fragments sont séparés par électrophorèse puis hybridés avec une sonde spécifique et ainsi repérés. Le logiciel, lui, donne pour chaque enzyme la position des sites reconnus et la longueur des fragments obtenus après coupure par l'enzyme. En toute rigueur il faudrait comparer la longueur des fragments pour identifier les allèles les uns par rapport aux autres ; cela serait fort long et l'on peut se contenter du nombre de sites reconnus dans chaque allèle par les enzymes. Le tableau ci-dessous indique, dans notre cas théorique, le nombre de sites obtenus après avoir fait agir séparément 4 enzymes sur les 4 allèles du gène G. Ce tableau sert de référence.

Allèles	Enzymes			
	E1	E2	E3	E4
GA1	2	3	2	2
GA2	3	3	2	2
GA3	2	3	3	-
GA4	2	2	2	-

La lecture de ce tableau montre que :

- l'enzyme E4 a reconnu sur les allèles GA1 et GA2 2 sites et qu'elle n'a reconnu aucun site sur GA3 et GA4,
- l'enzyme E3 permet d'identifier GA3,
- l'enzyme E2 permet d'identifier GA4,
- l'enzyme E1 permet d'identifier GA2,
- les enzymes E4 et E1 combinées permettent d'identifier GA1.

En soumettant un allèle inconnu à l'action de ces enzymes on voit comment il est découpé par chacune d'entre elles ce qui permet son identification grâce au tableau de référence. Ainsi, si l'enzyme E2 ne reconnaît que deux sites sur cet allèle cela signifie que ce dernier est GA4.

Cette technique suppose que toutes les différences entre les allèles sont repérables grâce au panel d'enzymes de restriction dont on dispose. En réalité, il n'en est pas toujours ainsi. Les séquences des allèles des gènes contenus dans la banque de données concernent uniquement les régions strictement codantes. Lorsque pour un allèle n'existait pas d'enzymes reconnaissant sa spécificité, nous avons choisi de définir des enzymes théoriques qui reconnaissent des motifs permettant de faire le diagnostic de ces allèles. Ces « enzymes » sont appelées ENZINV et concernent uniquement quelques allèles de la tyrosinase impliqués dans l'albinisme.



Hérédité de l'albinisme

Informations scientifiques

Généralités

L'albinisme humain est la plus fréquente des anomalies héréditaires de pigmentation. Le phénotype macroscopique visible (hypopigmentation de la peau, des poils, des yeux) fut pendant longtemps le seul critère retenu pour détecter cette anomalie due à une réduction (ou absence) de synthèse de mélanine. Si cette hypopigmentation est générale, on parle d'albinisme oculo-cutané (OCA). Si elle est localisée aux yeux, on la nomme albinisme oculaire (OA). OCA correspond généralement à de l'hérédité autosomale récessive. OA est lié à un gène situé sur une région propre au chromosome X (Nature genetics, mai 1995).

Le seul critère de la pigmentation est insuffisant pour diagnostiquer l'albinisme. Des changements dans les yeux et le système visuel ont été trouvés dans tous les cas d'albinisme oculo-cutané (OCA) et d'albinisme oculaire (OA). L'iris et la rétine étant dépigmentés, les pupilles apparaissent rouges du fait de la réflexion de la lumière sur la choroïde très riche en vaisseaux sanguins. D'autre part, le développement des voies optiques est altéré : anomalies de decussation des fibres nerveuses au niveau du chiasma optique faisant que le nombre de fibres ipsilatérales est réduit ; anomalie de l'organisation des corps genouillés latéraux. Tout cela fait que beaucoup d'albinos sont photophobes et la plupart présentent un nystagmus résultant d'une hypoplasie fovéale (associée à une réduction de l'acuité visuelle qui peut varier de 0,5 dixième à 4 dixièmes) et aussi de la malformation des voies optiques. Ils ont de plus une diminution de l'acuité stéréoscopique et un strabisme alternant. Chez une personne qui pourrait avoir une pigmentation presque normale, l'examen ophtalmologique complet permet donc de dépister un albinisme.

Dans la suite, seul sera envisagé l'albinisme oculo-cutané (OCA) qui représente les formes les plus fréquentes (1 cas sur 16 000 à 20 000 aux USA).

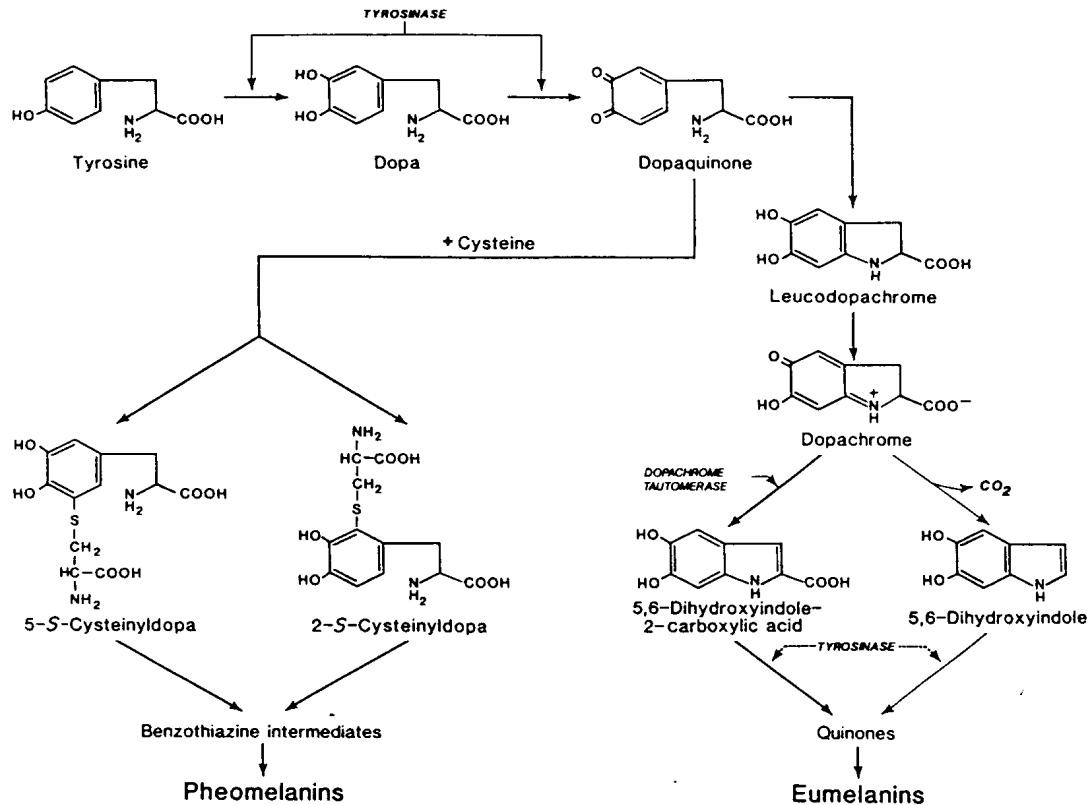
Pigmentation de la peau et synthèse de la mélanine

La pigmentation est un processus complexe qui résulte de la synthèse de pigments spécifiques, les mélanines. Les mélanocytes sont des cellules épidermiques capables de synthétiser des pigments, les mélanines, au sein d'organites spécialisés, les mélanosomes. Ces mélanosomes sont transférés dans les kératinocytes et transportés par eux à la surface de l'épiderme. Les mélanocytes synthétisent la mélanine ; les kératinocytes la stockent et l'éliminent lors de leur desquamation.

La pigmentation résulte donc de processus complexes. Chez les albinos, l'insuffisance de mélanine peut être due soit à une anomalie dans la chaîne de biosynthèse (anomalie enzymatique) soit une anomalie non spécifique à la chaîne de synthèse (par exemple, membrane défectueuse du mélanosome).

La tyrosinase est une enzyme cruciale de la chaîne de biosynthèse des mélanines car elle catalyse 4 réactions : l'hydroxylation de la tyrosine en dopa, l'oxydation de la dopa en dopaquinone et les deux réactions aboutissant aux quinones. La banque renferme uniquement les séquences des allèles du gène qui code pour la tyrosinase. Certains de ces allèles sont à l'origine de l'albinisme dit oculo-cutané de type 1 (OCA-1).

Une autre forme d'albinisme oculo-cutané est due à un ou plusieurs gènes autre (s) que celui qui code pour la tyrosinase. Elle est dite albinisme oculo-cutané de type 2. En 1995, les séquences de ce (s) gènes (s) ne sont pas connues.



Biosynthèse de la mélanine.

L'albinisme oculo-cutané de type 1

Phénotypes cliniques

Tyrosinase négative (cas OCA-1A)

Ce phénotype a été trouvé dans tous les groupes ethniques étudiés à travers le monde. Il est lié à une activité nulle de la tyrosinase. Les enfants naissent avec les cheveux blancs, la peau blanche, les yeux bleus, et ces caractéristiques persistent pendant toute la vie. La peau ne bronze pas et reste très sensible au soleil tout au long de la vie. On peut détecter cette anomalie en pratiquant le test du bulbe pileux qui consiste à incuber des bulbes pileux d'une personne pendant 24 heures à 37°C dans une solution de tyrosine. On constate qu'il n'y a aucune synthèse de mélanine.

Type jaune (cas OCA-1B)

Il est reconnu dans beaucoup de populations et a été découvert dans la population Amish (Etat de l'Indiana aux Etats-Unis). Les enfants naissent avec les cheveux blancs et la peau blanche. Les cheveux se colorent en blond au cours des premières années de la vie et peuvent devenir blond foncé chez l'adulte. La peau devient crème et peut bronzer au soleil. L'iris, bleu gris, peut aussi se pigmenter davantage.

Type thermo-sensible (cas OCA-1TS)

Nées avec une peau blanche, des poils blancs et des yeux bleus, certaines personnes, au moment de la puberté, développent une pigmentation sur les zones les plus froides de leur corps comme les bras et les jambes. Selon la température de l'endroit du corps considéré, on aura une pigmentation plus ou moins développée.

Phénotypes moléculaires

Les allèles du gène

La tyrosinase résulte de l'expression d'un gène situé sur le chromosome 11. Le séquençage du gène a montré que l'allèle normal présentait un polymorphisme : au codon 192 TAT (sérine) ou TCT (tyrosine), avec une fréquence égale chez les « caucasiens » alors que l'on trouve 100% de TCT chez les orientaux ; au codon 402 CGA (arginine) ou CAA (glutamine) avec 100% de CGA pour les orientaux alors que pour les caucasiens on a 85% de CGA et 15% de CAA. Dans la banque, nous n'avons retenu que TAT/TCT, les deux allèles normaux étant appelés TyrCod1 avec TAT et TyrCod2 avec TCT. Le tableau suivant fournit les caractéristiques des allèles à l'origine de l'albinisme retenus dans la banque.

Séquence nucléique			Polypeptide	
Noms des allèles	Nucléotides changés Nature - Position	Codons changés Nature - Position	A.A. changés Nature - Position	Type de mutation
TyrCod1 (Référence 1)	A575	TAT192	Tyr192	
TyrCod2 (Référence 2)	C575	TCT192	Ser192	Substitution neutre
(1) TyrAlba1	G1147 A	GAT383 AAT	Asp383Asn	Substitution faux sens
(2) TyrAlba2	- TG732-733	TGT244 TGA	Cys244X	Délétion
(2) TyrAlba3	G533 A	TGG178 TAG	Trp178X	Substitution non sens
(1) TyrAlba4	C242 T	CCT81 CTT	Pro81Leu	Substitution faux sens
(2) TyrAlba5	C242 T	CCT81 CTT	Pro81Leu	Substitution faux sens
(2) TyrAlbb1	C1217 T	CCT406 CTT	Pro406Leu	Substitution faux sens
(1) TyrAlbts	G1265 A	CGG422 CAG	Arg422Gln	Substitution faux sens

Quelques allèles du gène qui code pour la tyrosinase.

Caractéristiques des enzymes codées par ces allèles

Ces mutations déterminent des enzymes ayant des caractéristiques diverses :

- enzymes totalement inactives (à l'origine du phénotype OCA-1A) : ce sont notamment celles codées par les allèles TyrAlba1, TyrAlba2, TyrAlba3, TyrAlba4 et TyrAlba5 dans la banque ;
- enzyme partiellement active (à l'origine du phénotype OCA-1B) : l'allèle muté est appelé TyrAlbb1 dans la banque ; la tyrosinase possède une activité résiduelle et la dopaquinone formée qui a une forte affinité pour les groupements sulfhydryl (présents dans la cystéine) est transformée en phéomélanine (pigment jaunâtre). La voie métabolique vers la phéomélanine est donc privilégiée aux dépens de celle de l'eumélanine (cf. chaîne de biosynthèse) ;
- enzyme thermo-sensible (à l'origine du phénotype OCA-1TS) : l'allèle muté est appelé TyrAlbts dans la banque : la tyrosinase est inactive au dessus de 35°C. La mutation serait semblable à celle qui existe chez le chat siamois.

L'albinisme oculo-cutané de type 2

Il est dit tyrosinase-positif car le test du bulbe pileux est positif, ce qui laisse supposer que le gène de la tyrosinase est normal. Cette forme d'albinisme est la plus commune et la plus variable. Sa distribution est mondiale avec une forte fréquence en Afrique, notamment équatoriale.

Phénotype clinique

Il est globalement moins sévère que l'OCA de type 1. L'hypopigmentation cutanée peut varier suivant l'origine ethnique et l'hétérozygotie éventuelle de l'individu. Cependant, certains caractères paraissent communs : les individus ont des cheveux légèrement pigmentés à la naissance, la peau est blanche, les yeux sont bleus et surtout la pigmentation augmente avec l'âge.

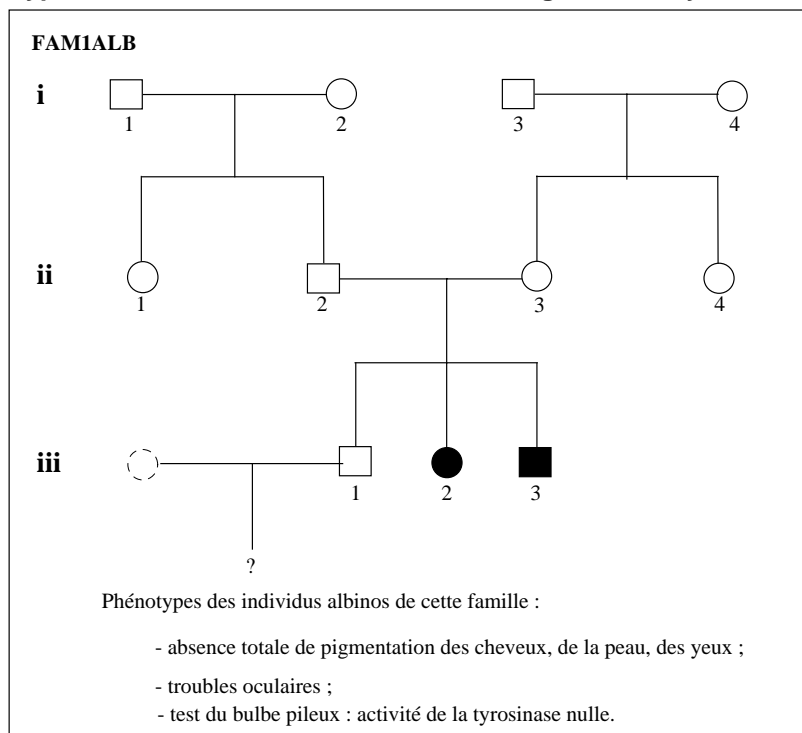
Phénotype moléculaire

Le ou les gènes responsables n'ont pas encore été séquencés et la pathologie moléculaire n'a pas été déterminée.

Utilisations pédagogiques

Deux aspects sont envisagés pour chaque exemple : l'un très sommairement car correspondant à une étude classique en génétique humaine, l'autre plus en détail car reposant sur l'utilisation du logiciel pour effectuer un diagnostic génotypique.

Albinisme de type OCA-1 dû à des allèles différents du gène de la tyrosinase



Famille 1 (à partir de Am. J. Hum. Gen., 1993, V52, p. 406-413).

Analyse classique

Après la présentation des données de base sur la synthèse de mélanine et le rôle joué par la tyrosinase, l'analyse de cet arbre débouche sur :

- le constat qu'il s'agit d'une hérédité autosomale récessive ;
- les génotypes possibles des individus (en utilisant le symbolisme " a+ " pour désigner tout allèle fonctionnel, et " a " pour désigner tout allèle à l'origine de l'albinisme) ;
- le calcul de la probabilité qu'a un couple d'avoir un enfant albinos.

Par exemple, on peut rechercher la probabilité qu'a iii1 d'avoir un enfant albinos sachant que sa femme ne présente aucun antécédent d'albinisme dans sa famille. iii1 est normal mais il a 2 chances sur 3 de porter l'allèle muté responsable de l'albinisme de sa sœur et de son frère. Sachant que dans la population la fréquence des allèles de l'albinisme est de 1%, ce couple a une probabilité de $2/3 \times 1/100 = 2/300$ d'être formé de deux hétérozygotes ; si c'est le cas, ils ont 25% de chances d'avoir un enfant albinos. La probabilité qu'a le couple d'avoir un enfant albinos est donc de : $2/300 \times 1/4 = 1/600$.

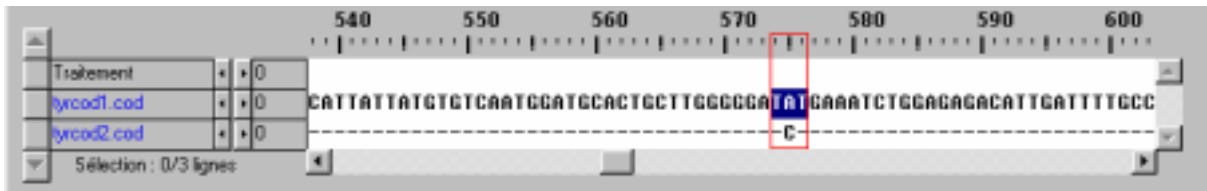
Analyse génotypique

Elle peut permettre de tester les hypothèses émises sur le génotype des individus, par exemple le génotype de iii1, et d'affiner en conséquence le calcul de probabilité de naissance d'un individu albinos.

Reconnaissance des allèles *Tyrcod1* et *Tyrcod2* par la méthode des enzymes de restriction

Dans cet exercice préliminaire, il s'agit d'amener les élèves à s'approprier la technique d'identification d'un allèle grâce aux enzymes de restriction afin qu'ils puissent par la suite utiliser librement le logiciel pour déterminer le génotype d'un individu. Pour cela :

- comparer ces séquences et repérer l'existence d'une seule différence au niveau de la base 575 : **A** dans *Tyrcod1* devient **C** dans *Tyrcod2* ;



- introduire la notion d'enzyme de restriction et utiliser la banque des enzymes de restriction : repérer dans la liste des enzymes une enzyme susceptible de différencier les deux allèles *Tyrcod1* et *Tyrcod2*. L'élève doit arriver à la conclusion que *XhoII* (GGATCT) coupe *Tyrcod2* dans la région « 575 » mais pas *Tyrcod1* ;

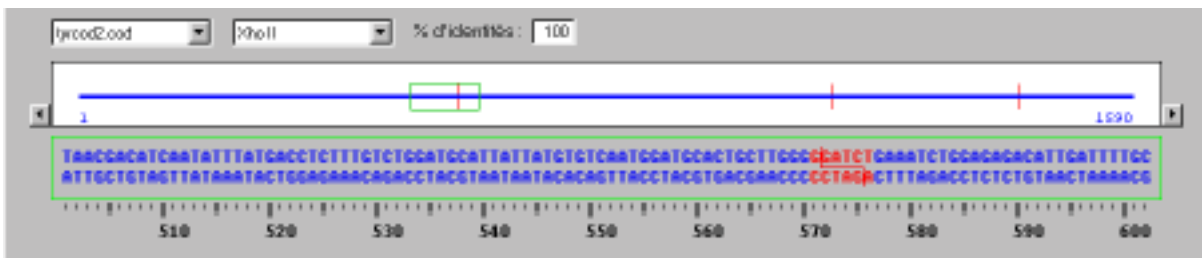
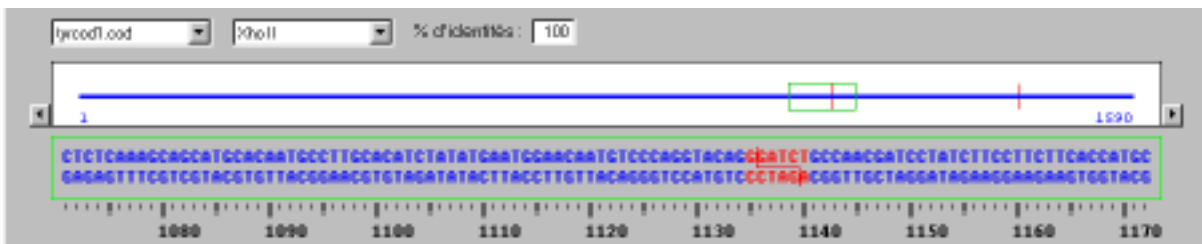
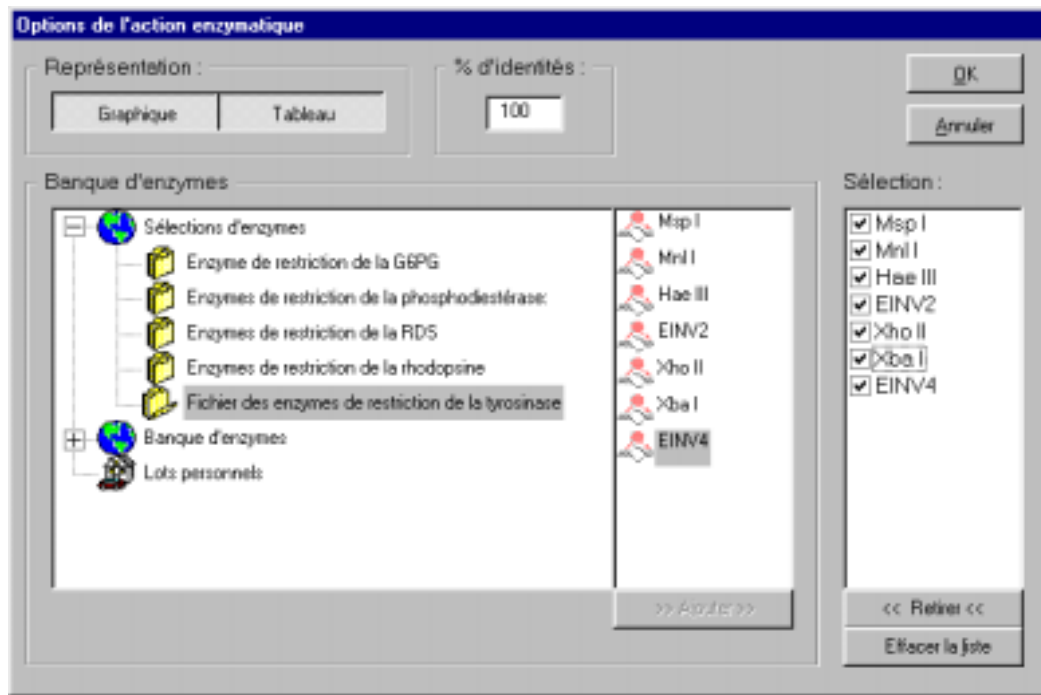
Enzymes du fichier **des enzymes de restriction de la tyrosinase**

Nom	Motif (s) reconnu (s)
Msp I	CCGG
Mnl I	CCTC
Hae III	GGCC
EINV2	CAATC
Xho II	GGATCT
Xba I	TCTAGA
EINV4	AGTGTG

- vérifier cette conclusion en faisant agir cette enzyme et d'autres appartenant au fichier des enzymes de restriction de la tyrosinase sur *Tyrcod1* et *Tyrcod2*.



Action enzymatique



Visualisation de l'action enzymatique sous la forme d'un graphique. *XhoII* coupe 2 fois *Tyrcood1* (en 1135 et 1418) et 3 fois *Tyrcood2* (en 571, 1135 et 1418). Le résultat obtenu signifie aussi qu'il y a plusieurs motifs GGATCT dans les séquences.

Pour les autres enzymes, il n'existe aucune différence dans le nombre de coupures entre les deux séquences.

Enzymes (100%)	Hsp I	Mnl I	Hae III	EINu2	Xho II	Xba I	EINu4
tyrcod1.cod	2	11	7	0	2	0	1
tyrcod2.cod	2	11	7	0	3	0	1

Visualisation de l'action enzymatique sous la forme d'un tableau.

Pour bien faire saisir la signification des informations fournies par le logiciel (nombre de sites et dimensions des fragments) on peut leur demander de reporter sur une représentation schématique de chaque allèle les sites de coupure et les longueurs des fragments. Il peut être intéressant de faire l'analogie avec la séparation des fragments de restriction par électrophorèse.

*Reconnaissance de tous les allèles du gène de la tyrosinase ;
construction du tableau de référence*

Pour appliquer cette technique à tous les allèles du gène de la tyrosinase, il convient de les analyser avec le fichier des enzymes de restriction de la tyrosinase. Les élèves doivent obtenir le tableau ci-dessous qui sert de référence pour la détermination des génotypes de tous les individus.

Enzymes (100%)	Hsp I	Mnl I	Hae III	EINu2	Xho II	Xba I	EINu4
tyrcod2.cod	2	11	7	0	3	0	1
tyralba1.cod	2	11	7	1	2	0	1
tyralba2.cod	2	11	7	0	3	0	0
tyralba3.cod	2	11	7	0	3	1	1
tyralba4.cod	2	11	6	0	2	0	1
tyralba5.cod	2	11	6	0	3	0	1
tyralbb1.cod	2	10	7	0	3	0	1
tyralbt.cod	1	11	7	0	2	0	1

Nombre de sites reconnus dans les allèles du gène de la tyrosinase.

À partir de ce tableau, les élèves doivent déterminer l'enzyme ou les enzymes permettant d'identifier tel ou tel allèle. On remarquera que Tyralba4 et Tyralba5 présentent la même mutation à l'origine de l'albinisme mais cette mutation est portée dans un cas par Tyrcod1 et dans l'autre par Tyrcod2.

Détermination des génotypes de l'arbre généalogique

La technique étant acquise, les élèves peuvent maintenant **tester les hypothèses** sur les génotypes et faire des prévisions sur le phénotype d'un descendant.

On peut cibler l'analyse génotypique sur l'individu iii1 prolongeant ainsi les suppositions émises à partir d'une analyse classique de l'arbre généalogique. Pour cela, il convient d'accéder aux séquences de la famille 1. L'analyse des allèles de l'individu iii1 (iii1ALL1.TYR et iii1ALL2.TYR) avec le fichier **enztyr** révèle que cet individu a comme génotype Tyrcod2/Tyrcod2. Il est donc homozygote et ne risque donc pas d'avoir un enfant albinos. Ainsi l'analyse génétique permet d'affiner les prévisions faites sur des bases phénotypiques. On peut aussi chercher à identifier les allèles portés par les individus albinos de cette famille (iii2 et iii3). L'analyse montre qu'ils sont hétérozygotes Tyralba1/Tyralba2 et remet en cause partiellement le génotype a/a établi à partir des phénotypes.

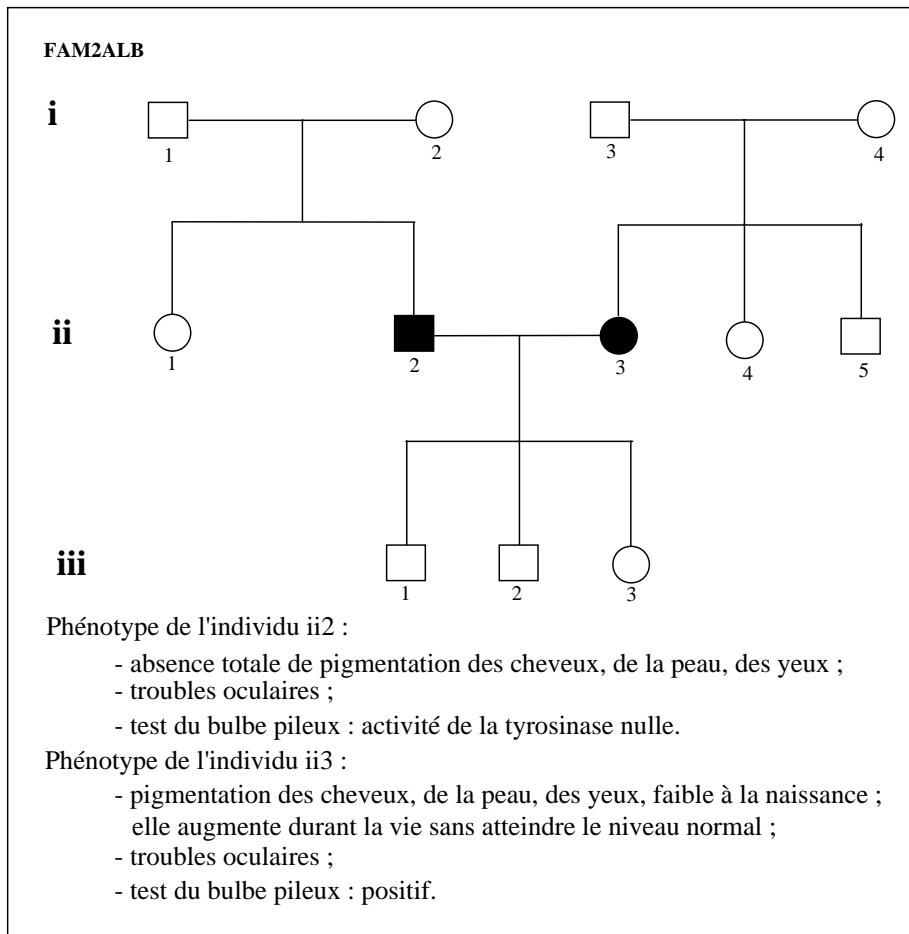
Il reste à préciser les caractéristiques de ces allèles morbides par rapport aux allèles de référence et d'en étudier les conséquences au niveau polypeptidique.

Le tableau ci-dessous renseigne sur les génotypes de tous les individus de la famille FAM1ALB.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par							Allèles du gène
	Msp I	Mnl I	Hae III	EINV2	Xho II	Xba I	EINV4	
F1-i1all1	2	11	7		3		-	Tyralba2
F1-i1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-i2all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-i2all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-i3all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F1-i3all2	2	11	7	1	2		1	Tyralba1
F1-i4all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-i4all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F1-ii1all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-ii1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-ii2all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-ii2all2	2	11	7		3		-	Tyralba2
F1-ii3all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-ii3all2	2	11	7	1	2		1	Tyralba1
F1-ii4all1	2	11	7	1	2		1	Tyralba1
F1-ii4all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F1-iii1all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-iii1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F1-iii2all1	2	11	7		3		-	Tyralba2
F1-iii2all2	2	11	7	1	2		1	Tyralba1
F1-iii3all1	2	11	7	1	2		1	Tyralba1
F1-iii3all2	2	11	7		3		-	Tyralba2

Allèles du gène de la tyrosinase chez les individus de FAM1ALB.

Albinisme dû à des gènes différents



Famille 2 (à partir de Brit. J. Ophtal., 1952, V 36, p. 37).

Analyse classique

L'analyse classique doit déboucher sur l'apparente contradiction soulevée par la descendance du couple ii2 et ii3 : alors qu'ils sont albinos et que le phénotype albinos est récessif, leurs trois enfants ont un phénotype non albinos. Les données sur la tyrosinase conduisent à proposer une interprétation de cette contradiction : l'albinisme du père serait dû à des allèles morbides du gène de la tyrosinase et l'albinisme de la mère serait dû à des allèles d'un ou d'autres gènes. Cette hypothèse peut être testée grâce à l'analyse génotypique en utilisant le fichier des enzymes de restriction enztyr.

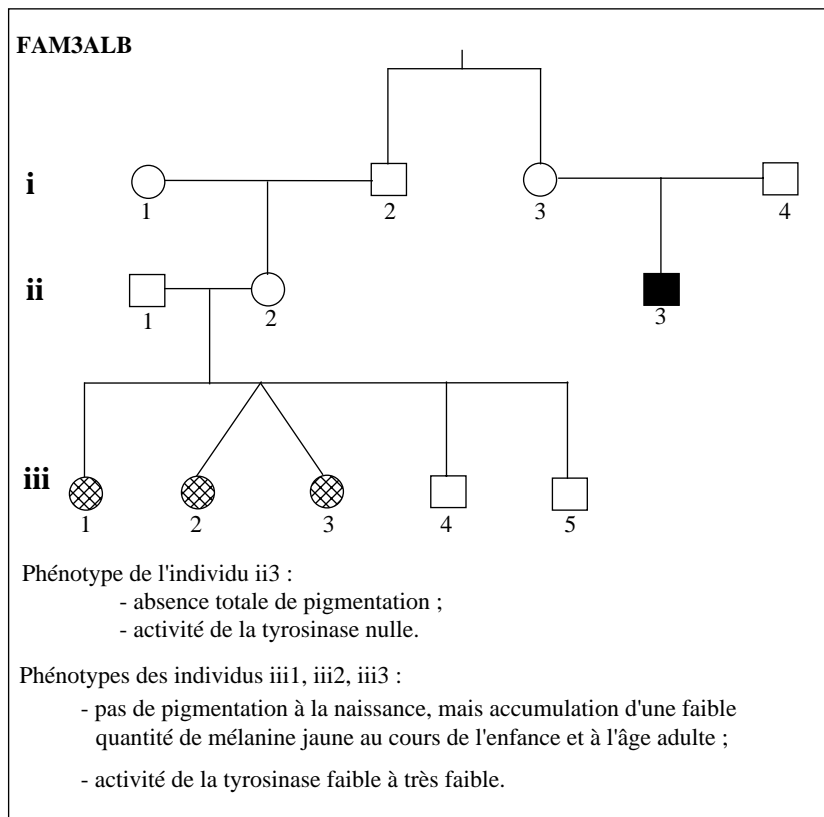
Analyse génotypique

La démarche est identique au cas précédent. L'analyse génotypique confirme cette interprétation puisque l'individu ii2 possède deux allèles morbides de la tyrosinase et ii3 deux allèles fonctionnels Tyr_{cod1}/Tyr_{cod2}. Cette analyse est néanmoins incomplète car on ne dispose pas d'informations sur le ou les autres gènes responsables de l'albinisme de l'individu ii3. On peut aussi s'intéresser au génotype d'autres individus de cette famille pour corroborer cette interprétation et préciser les caractéristiques des allèles morbides.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par							Allèles du gène
	Msp I	Mnl I	Hae III	EINV 2	Xho II	Xba I	EINV 4	
F2-i1all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F2-i1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-i2all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-i2all2	2	11	7		3	1	1	Tyralba3
F2-i3all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-i3all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-i4all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-i4all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-ii1all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-ii1all2	2	11	7		3	1	1	Tyralba3
F2-ii2all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F2-ii2all2	2	11	7		3	1	1	Tyralba3
F2-ii3all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-ii3all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-ii4all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-ii4all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-ii5all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-ii5all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-iii1all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F2-iii1all2	2	11	7		2		1	Tyrcod2
F2-iii2all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F2-iii2all2	2	11	7		3	1	1	Tyralba3
F2-iii3all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F2-iii3all2	2	11	6		2		1	Tyralba4

Allèles du gène de la tyrosinase chez les individus de FAM2ALB.

Phénotypes différents de l'albinisme OCA-1 dus à des allèles différents du gène de la tyrosinase



Famille 3 (d'après Am. J. Hum. Gen., 1980, V32, p. 387-395).

Analyse classique

Deux phénotypes albinos sont présents dans l'arbre généalogique de cette famille, l'un traduisant un albinisme oculo-cutané sévère, l'autre marqué par une pigmentation résiduelle augmentant au cours de la vie. L'analyse classique conduit à soulever le problème de l'origine de cette diversité phénotypique : est-elle due à des allèles de deux gènes différents ou des allèles d'un même gène. L'analyse génétique classique n'apporte pas de réponse (il n'y a pas dans la famille une union entre deux albinos de phénotypes différents pouvant révéler une complémentation). Toutefois, puisque le test du bulbe pileux révèle que l'activité de la tyrosinase est affectée chez les deux phénotypes, la deuxième hypothèse est la plus probable.

L'analyse des allèles du gène qui code pour la tyrosinase possédés par les membre de cette famille permet de tester cette dernière hypothèse. S'il en est bien ainsi, les individus à phénotype albinisme moins sévère doivent posséder au moins un allèle à la fois différent des allèles normaux Tyr_{cod1} et Tyr_{cod2} et des allèles morbides de la personne ii3.

Analyse génotypique

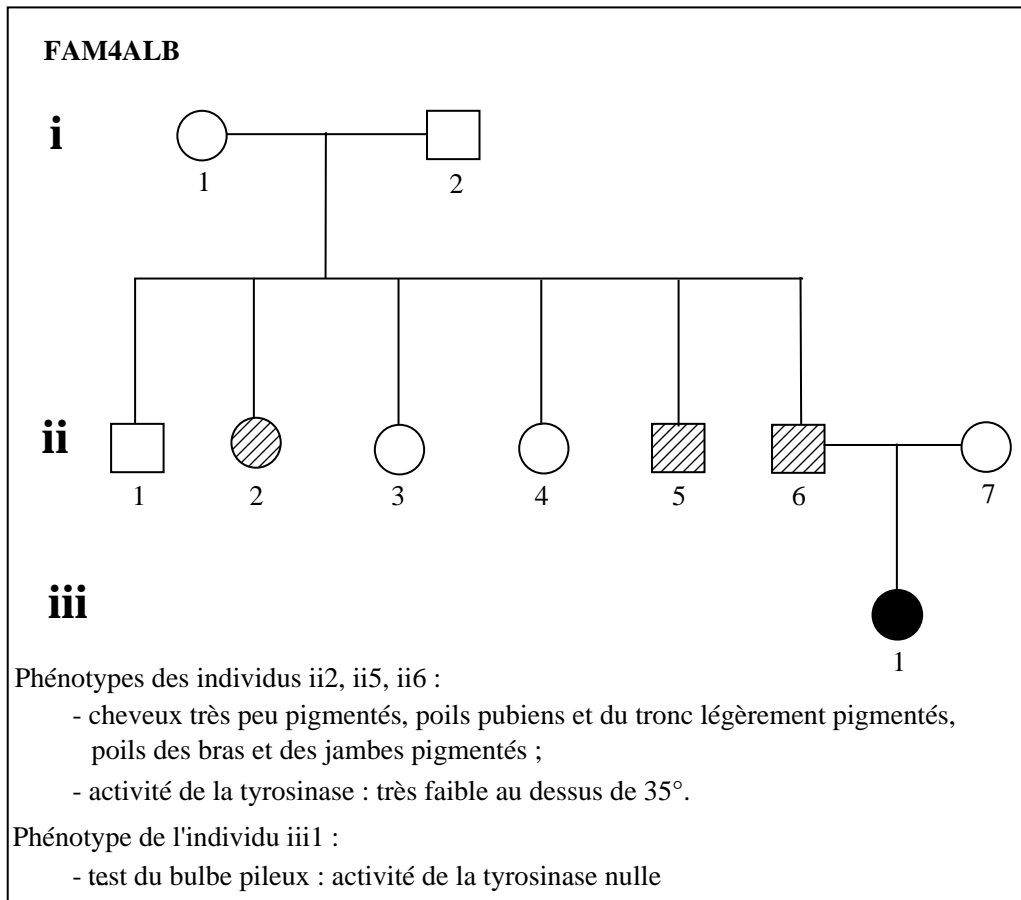
C'est ce que confirme l'analyse génotypique des personnes iii1, iii2, iii3 et ii3 réalisée avec le fichier des enzymes de restriction enztyr. Le tableau résume les différents génotypes des individus de l'arbre.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par							Allèles du gène
	Msp I	Mnl I	Hae III	EINV 2	Xho II	Xba I	EINV 4	
F3-i1all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F3-i1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F3-i2all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F3-i2all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-i3all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-i3all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F3-i4all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F3-i4all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-ii1all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F3-ii1all2	2	10	7		3		1	Tyralbb1
F3-ii2all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F3-ii2all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-ii3all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-ii3all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-iii1all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-iii1all2	2	10	7		3		1	Tyralbb1
F3-iii2all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-iii2all2	2	10	7		3		1	Tyralbb1
F3-iii3all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F3-iii3all2	2	10	7		3		1	Tyralbb1
F3-iii4all1	2	10	7		3		1	Tyralbb1
F3-iii4all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F3-iii5all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F3-iii5all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1

Allèles du gène de la tyrosinase chez les individus de FAM3ALB.

La personne ii3 est homozygote Tyralba4/Tyralba4. Les individus iii1, iii2 et iii3 ont hérité de leur mère, cousine germaine de ii3, l'allèle Tyralba4. Ils possèdent en commun l'allèle Tyralbb1 qui provient de leur père. Comme leur phénotype est différent de celui de ii3, cette différence ne peut être attribuée qu'à la présence de l'allèle Tyralbb1 ; cela corrobore l'idée que cet allèle doit coder pour une tyrosinase à activité réduite à l'origine de leur faible pigmentation. Tyralba4 et Tyralbb1 sont tous les deux des allèles résultant d'une substitution faux sens qui entraîne le remplacement d'un résidu proline par de la leucine, l'une en position 81, l'autre en 406, occasion de rappeler que les conséquences d'une mutation au niveau polypeptidique dépendent non seulement de la nature de la substitution mais aussi de son emplacement.

Phénotype albinos température dépendant



Famille 4 (d'après J. Clin. Inv., 1991, V87, p. 1119-1122).

Analyse classique

L'analyse de cet arbre généalogique enrichit le spectre des phénotypes de l'albinisme. Les données laissent à penser que le phénotype composite observé est dû à un allèle codant pour une tyrosinase dont l'activité dépend de la température. La naissance d'un enfant albinos iii1 à partir du couple ii6 et ii7 peut paraître étonnante. Elle signifie en effet que iii1 n'a reçu ni l'allèle fonctionnel de sa mère ni un allèle de tyrosinase thermo-dépendante de son père. Cela ne se comprend que si ii6 et ii7 possèdent tous deux un allèle morbide codant pour une tyrosinase à activité nulle.

Analyse génotypique

La détermination des génotypes des individus cités permet de corroborer ces hypothèses.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par							Allèles du gène
	Msp I	Mnl I	Hae III	EINV 2	Xho II	Xba I	EINV 4	
F4-i1all1	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F4-i1all2	1	11	7		2		1	Tyralbts
F4-i2all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F4-i2all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-ii1all1	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-ii1all2	2	11	7		3		1	Tyrcod2
F4-ii2all1	1	11	7		2		1	Tyralbts
F4-ii2all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F4-ii3all1	1	11	7		2		1	Tyralbts
F4-ii3all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-ii4all1	1	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-ii4all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-ii5all1	1	11	7		2		1	Tyralbts
F4-ii5all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F4-ii6all1	1	11	7		2		1	Tyralbts
F4-ii6all2	2	11	6		2		1	Tyralba4
F4-ii7all1	2	11	6		3		1	Tyralba5
F4-ii7all2	2	11	7		2		1	Tyrcod1
F4-iii1all1	2	11	6		2		1	Tyralba4
F4-iii1all2	2	11	6		3		1	Tyralba5

Allèles du gène de la tyrosinase chez les individus de FAM4ALB.

Conclusions

Ces arbres généalogiques sur l'albinisme permettent de faire percevoir la complexité des maladies héréditaires traduite par une hétérogénéité phénotypique. Cette dernière est due à une hétérogénéité génétique liée à des allèles différents d'un même gène ou due à des allèles de gènes occupant des loci différents. Cette complexité génétique fait saisir toute la difficulté du diagnostic génétique. Les données de la banque et les fonctions du logiciel aident à comprendre les principes d'utilisation des enzymes de restriction pour la détermination du génotype et montrent tout l'intérêt dans le domaine prévisionnel de la détermination des génotypes par rapport à l'analyse classique.



Hérédité des rétinites pigmentaires

Informations scientifiques

Maladies héréditaires, les rétinites pigmentaires sont la cause principale des malvoyances (30% des déficiences visuelles). La maladie débute par une atteinte de la vision nocturne avec réduction du champ visuel causée par la dégénérescence progressive des bâtonnets. La dégénérescence de la rétine s'accroît et finit par atteindre la région de la fovéa (cellules en cônes) ce qui entraîne une baisse de l'acuité visuelle et une cécité presque complète.

Le phénotype rétinite pigmentaire est très hétérogène sur le plan clinique, se traduisant par une variabilité de la précocité des premiers signes et de la durée d'extension de la maladie. Cette diversité phénotypique a pour support une diversité génétique liée au fait que plusieurs gènes peuvent être impliqués (trois gènes ont été clairement identifiés) et qu'il existe pour chacun de ces gènes plusieurs allèles. Les gènes connus à l'origine des rétinites codent pour des protéines intervenant dans des processus de phototransduction (genèse d'un potentiel de récepteur à partir d'un stimulus lumineux). Ce sont les gènes qui codent pour :

- la rhodopsine : pigment situé dans la membrane des disques des segments externes des bâtonnets et qui capte les photons ;
- la périphérine : protéine de la membrane des disques des bâtonnets responsable du maintien de la structure des disques membranaires ;
- la phosphodiesterase : enzyme directement impliquée dans la genèse du potentiel de récepteur après absorption de photons par la rhodopsine.

L'analyse génétique a montré que certaines formes de rétinite sont dues à d'autres gènes que les trois cités ; ainsi, 15% des rétinites pigmentaires sont dues à des gènes situés sur le chromosome X. En fonction du mode de transmission, on reconnaît les rétinites pigmentaires dominantes, les rétinites pigmentaires autosomales récessives et les rétinites récessives liées au sexe.

Gènes des rétinites autosomales dominantes

Gène de la rhodopsine situé sur le chromosome 3

Plusieurs allèles de ce gène sont à l'origine de **rétinites sévères** apparaissant au cours de la **première décennie** et entraînant des atteintes graves de la fonction visuelle vers la fin de la deuxième décennie, la gravité variant selon la nature de l'allèle.

Séquence nucléique			Polypeptide	
Noms des allèles	Nucléotides changés Nature - Position	Codons changés Nature - Position	A.A. changés Nature - Position	Type de mutation
Rhonorm	(Référence)	(Référence)	(Référence)	(Référence)
Rhoret1	C68 →A	CCC23 →CAC	Pro23His	Substitution faux sens
Rhoret2	C1040 →T	CCG347 →CTG	Pro347Leu	Substitution faux sens
Rhoret3	GG404-405 →TT	CGG135 →CTT	Arg135Leu	Substitution faux sens
Rhoret4	C403 →T	CGG135 →TGG	Arg135Trp	Substitution faux sens

Rhoret5	- CTGCGCACGCCT 202 →213	- CTG68 CGC69 ACG70 CCT71	-Leu68Arg69 Thr70Pro71	Délétion
Rhoret6	A886 →G	AAG296 →GAG	Lys296GLU	Substitution faux sens
Rhoret7	- ATC763-764-765	- ATC255	- Ile255	Délétion
Rhoret8	C403 →G	CGG135→GGG	Arg135Gly	Substitution faux sens
Rhoret9	G745 →T	GAG249 →TAG	Glu249X	Substitution non sens

Caractéristiques de quelques allèles du gène de la rhodopsine.

Ce tableau résume les caractéristiques des principaux allèles morbides du gène de la rhodopsine qui résultent de mutations diverses (substitutions faux sens, non sens, délétions). L'incorporation des rhodopsines mutées dans la membrane, au cours du renouvellement des disques, est plus ou moins entravée selon les mutations, ce qui entraîne une dégénérescence plus ou moins rapide des photorécepteurs par des mécanismes non encore élucidés.

Gène de la périphérine

Situé sur le chromosome 6, ce gène s'exprime dans les cellules en cônes et en bâtonnets. Plusieurs allèles morbides de ce gène ont été identifiés.

Séquence nucléique			Polypeptide	
Noms des allèles	Nucléotides changés Nature - Position	Codons changés Nature - Position	A.A. changés Nature - Position	Type de mutation
Pernorm	(Référence)	(Référence)	(Référence)	(Référence)
Perret1	-TGC355-356-357	-TGC119	- Cys119	Délétion
Perret2	-TG73-74	TGG25 →GTT..... TGA43	Trp25Val..... 43X	Délétion
Perret3	C647 →T	CCT216 → CTT	Pro216Leu	Substitution faux sens
Perret4	- CCA655-656- 657	- CCA219	- Pro219	Délétion
Perret5	T554 →C	CTG185 →CCG	Leu185Pro	Substitution faux sens

Caractéristiques de quelques allèles du gène de la périphérine.

Ces allèles sont à l'origine de rétinites pigmentaires modérées qui se manifestent au cours de la deuxième décennie. L'acuité visuelle est généralement conservée pendant 20 à 30 ans d'évolution car la dégénérescence des cellules visuelles est lente (plus de 40 ans).

Gène des rétinites autosomales récessives

- Gène de la sous-unité bêta de la phosphodiesterase (PDE du guanine monophosphate cyclique - GMPc)

Ce gène est situé sur le chromosome 4. Plusieurs allèles morbides ont été identifiés : les mutations affectent l'activité catalytique de l'enzyme et empêchent la genèse du potentiel de récepteur.

Séquence nucléique			Polypeptide	
Noms des allèles	Nucléotides changés Nature - Position	Codons changés Nature - Position	A.A. changés Nature - Position	Type de mutation
Pdenorm	(Référence)	(Référence)	(Référence)	
Pderet1	C892 →T	CAG298 →TAG	Gln298X	Substitution non sens
Pderet2	C1591 →T	CGA531 →TGA	Arg531X	Substitution non sens
Pderet3	- C1486 →	CCC497CCA.....TGA574	Thr497Pro.... X574	Délétion décalante
Pderet4	C1669 →T	CAC557 →TAC	His557Tyr	Substitution faux sens

Caractéristiques de quelques allèles du gène de la PDE.

Utilisations pédagogiques

La banque de données contient, pour les trois gènes, les séquences relatives aux génotypes des individus appartenant à 5 arbres généalogiques. Cette richesse permet des démarches très diverses recoupant plus ou moins celles vues dans l'étude de l'albinisme. Néanmoins, cette banque a surtout été conçue en vue de mettre les élèves en situation d'autonomie au cours d'un travail de recherche impliquant le réinvestissement de méthodes de raisonnement rencontrées précédemment. **Le problème à résoudre consiste à identifier le ou les gènes pouvant être à l'origine des rétinites pigmentaires des différentes familles généalogiques.** La recherche peut être répartie entre plusieurs groupes d'élèves, chaque groupe s'occupant d'un ou de deux arbres généalogiques. Les informations suivantes peuvent être fournies au préalable :

- les caractéristiques des phénotypes rétinites pigmentaires ;
- les noms et localisations des gènes connus pouvant être à l'origine de ce phénotype, avec indication succincte du rôle des protéines qu'ils codent ;
- la dominance ou récessivité de ces gènes ; certaines formes de rétinites récessives sont dues à un (ou des) gène (s) situé (s) sur un chromosome X mais non encore identifié (s) ;
- les tableaux de référence permettant l'identification de chaque allèle grâce à un fichier d'enzymes de restriction propre à chaque gène (**enzrho**, **enzpde**, **enzper**).

Enzymes du fichier <i>enzrho.zym</i>	
Nom	Motif(s) reconnu(s)
Alu I	AGCT
Hpa II	CCGG
Mnl I	CCTC,GAGG
Fsp I	TGCGCA

	Alu I	Hpa II	Mnl I	Fsp I
Rhonorm (Référence)	2	4	12	1
Rhoret2	2	3	12	1
Rhoret3	3	4	12	1
Rhoret5	2	4	11	-

Nombre de sites reconnus dans quelques allèles du gène qui code pour la rhodopsine.

Enzymes du fichier <i>enzpde.zym</i>	
Nom	Motif(s) reconnu(s)
Mae I	CTAG
Ava II	GGACC,GGTCC

	Mae I	Ava II
Pdenorm (Référence)	-	10
Pderet1	1	10
Pderet2	-	9

Nombre de sites reconnus dans quelques allèles du gène qui code pour la PDE.

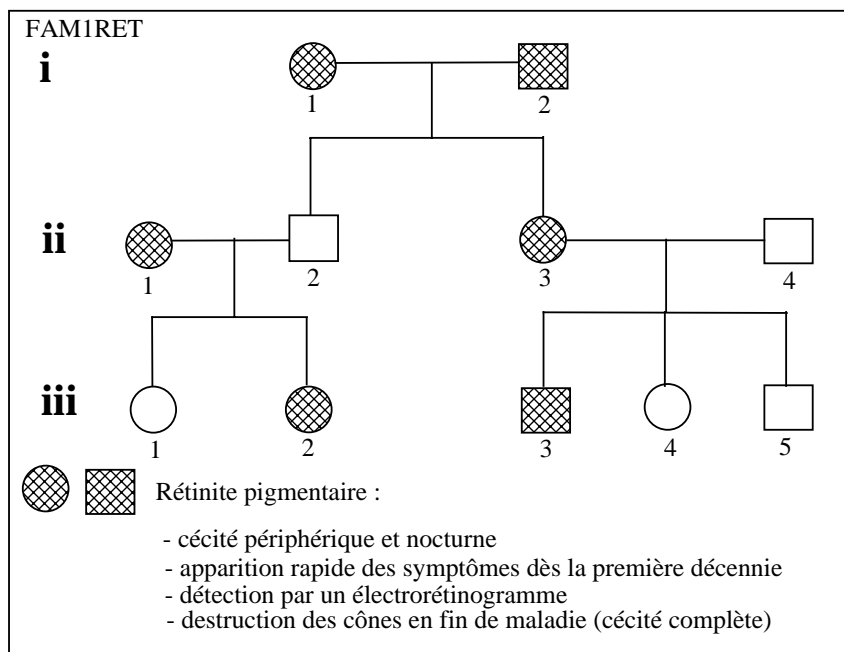
Enzymes du fichier enzper.zym	
Nom reconnu(s)	Motif(s)
Bbv I	GCAGC,GCTGC

	Bbv I
Pernorm (Référence)	10
Perret1	9

Nombre de sites reconnus dans deux allèles du gène de la périphérine.

Munis de ces renseignements, les élèves doivent exploiter les informations tirées de l'analyse des arbres généalogiques pour argumenter sur le ou les gènes en cause possibles et tester leurs suppositions par la détermination des génotypes d'individus bien choisis.

Rétinite due à des allèles du gène de la rhodopsine



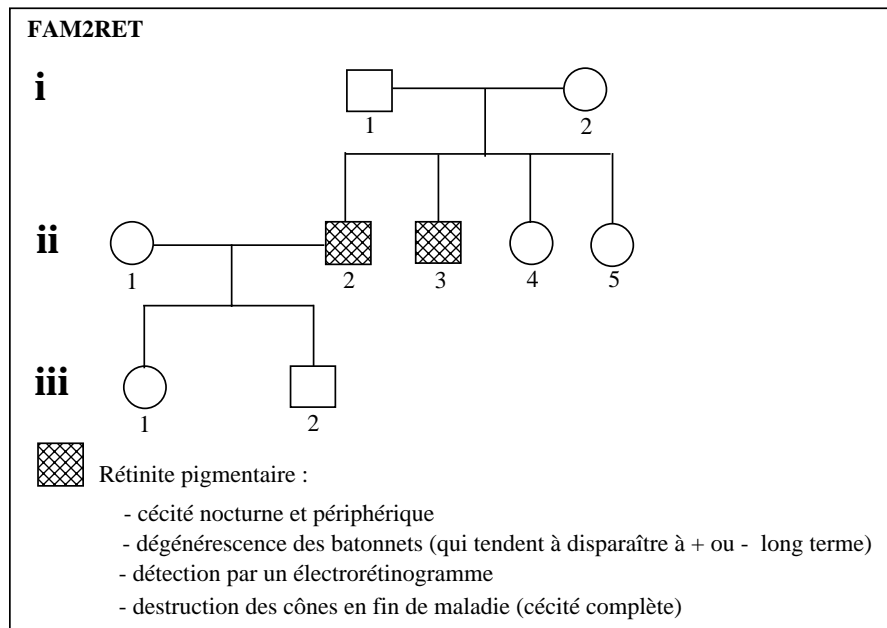
Famille 1 (d'après *Genomics*, 11, 1991).

De l'analyse de cet arbre l'élève doit conclure que le phénotype rétinite pigmentaire est dominant et que la transmission peut s'expliquer par un gène autosomal ou par un gène porté par X. Etant donné les informations fournies au préalable, il doit songer soit au gène de la rhodopsine soit à celui de la périphérine, mais plus probablement au gène de la rhodopsine vu la gravité des symptômes dans cette famille. En identifiant les génotypes des individus malades, il constate que tous ces individus possèdent des allèles normaux du gène de la pésiphérine ; en revanche, ils ont pour le gène de la rhodopsine un allèle connu comme étant à l'origine d'une rétinite et un allèle normal.

On pourrait prolonger l'étude en demandant en quoi les données sur les génotypes de cet arbre confirment que les allèles Rhoret3 et Rhoret5 sont bien causes de rétinites : on ne les retrouve pas chez les individus de la famille à phénotype normal.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par				Allèles du gène
	Alu I	Hpa II	Mnl I	Fsp I	
F1-i1all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-i1all2	3	4	12	1	Rhoret3
F1-i2all1	2	4	11	-	Rhoret5
F1-i2all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii1all1	3	4	12	1	Rhoret3
F1-ii1all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii2all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii2all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii3all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii3all2	2	4	11	-	Rhoret5
F1-ii4all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-ii4all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii1all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii1all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii2all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii2all2	3	4	12	1	Rhoret3
F1-iii3all1	2	4	11	-	Rhoret5
F1-iii3all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii4all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii4all2	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii5all1	2	4	12	1	Rhonorm
F1-iii5all2	2	4	12	1	Rhonorm

Allèles du gène de la rhodopsine chez les individus de la famille FAM1RET.

Rétinite due à des allèles du gène de la phosphodiesterase

Famille 2 (d'après Nature Genetics, vol. 4, juin 1993).

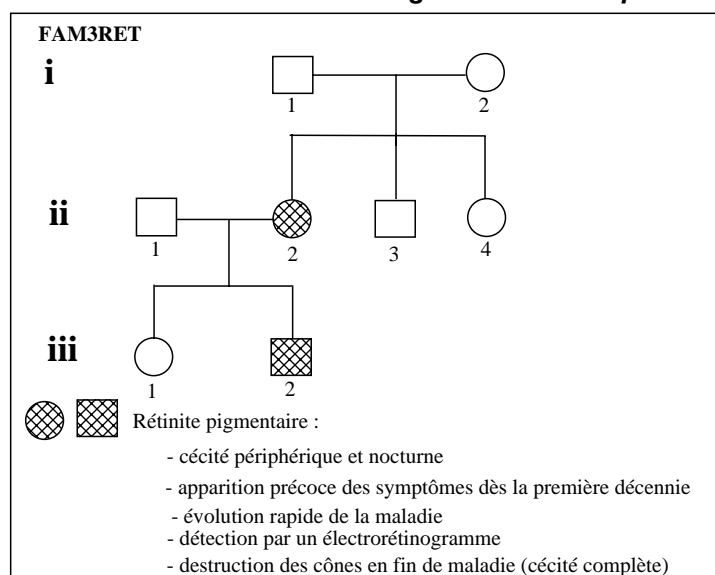
L'analyse classique conduit à conclure à un cas d'hérédité autosomale récessive ou à un cas d'hérédité liée au sexe. D'après les données fournies, c'est plutôt le gène de la phosphodiesterase qui pourrait être impliqué. La détermination des génotypes de ii2 et ii3 montre qu'ils possèdent deux allèles morbides du gène de la PDE. On peut poursuivre l'étude en mettant en évidence les conséquences des mutations sur les polypeptides : dans les deux cas, les polypeptides sont tronqués (cf. tableau des caractéristiques des allèles de ce gène).

Allèles des individus	Nombre sites reconnus par		Allèles du gène
	Ava II	Mae I	
F2-i1all1	-	10	Pdenorm
F2-i1all2	1	10	Pderet1
F2-i2all1	-	9	Pderet2
F2-i2all2	-	10	Pdenorm
F2-ii1all1	-	10	Pdenorm
F2-ii1all2	-	10	Pdenorm
F2-ii2all1	1	10	Pderet1
F2-ii2all2	-	9	Pderet2
F2-ii3all1	-	9	Pderet2
F2-ii3all2	1	10	Pderet1
F2-ii4all1	-	10	Pdenorm
F2-ii4all2	1	10	Pderet1
F2-ii5all1	-	9	Pderet2

F2-ii5all2	-	10	Pdenorm
F2-iii1all1	-	10	Pdenorm
F2-iii1all2	1	10	Pderet1
F2-iii2all1	-	10	Pdenorm
F2-iii2all2	1	10	Pderet1

Allèles du gène de la PDE chez les individus de la famille FAM2RET.

Rétinite résultant d'une néomutation dans le gène de la rhodopsine



Famille 3 (d'après Proc. Nat. Acad. Sci. USA, vol. 88, oct. 1991).

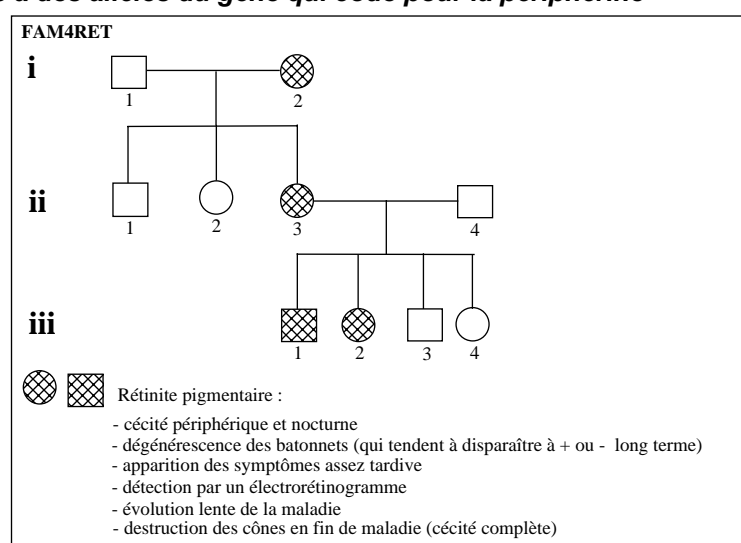
L'analyse classique laisse penser à un cas d'hérédité récessive et autosomale ce qui implique que ii1 soit hétérozygote comme i1 et i2. D'après les informations dont on dispose, on peut soupçonner le gène de la phosphodiésterase. L'analyse génotypique concernant ii2 et iii2 indique qu'ils possèdent 2 allèles normaux de ce gène. Pour rechercher d'autres solutions, l'élève peut examiner le génotype de ii2 dans les autres gènes disponibles et découvrir qu'il possède un allèle morbide du gène de la rhodopsine. Cette conclusion est en contradiction avec la récessivité apparente de la transmission de la rétinite dans cette famille. En analysant les génotypes de i1 et i2, l'élève doit conclure que la rétinite de ii2 s'explique par une mutation nouvelle lors de la formation des gamètes de i1 ou i2.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par				Allèles du gène
	Alu I	Hpa II	Mnl I	Fsp I	
F3-i1all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-i1all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-i2all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-i2all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii1all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii1all2	2	4	12	1	Rhonorm

F3-ii2all1	2	3	12	1	Rhoret2
F3-ii2all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii3all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii3all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii4all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-ii4all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-iii1all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-iii1all2	2	4	12	1	Rhonorm
F3-iii2all1	2	4	12	1	Rhonorm
F3-iii2all2	2	3	12	1	Rhoret2

Allèles du gène de la rhodopsine chez les individus de la famille FAM3RET.

Rétinite due à des allèles du gène qui code pour la périphérine



Famille 4 (d'après Nature Genetics, vol. 3, mars 1993)

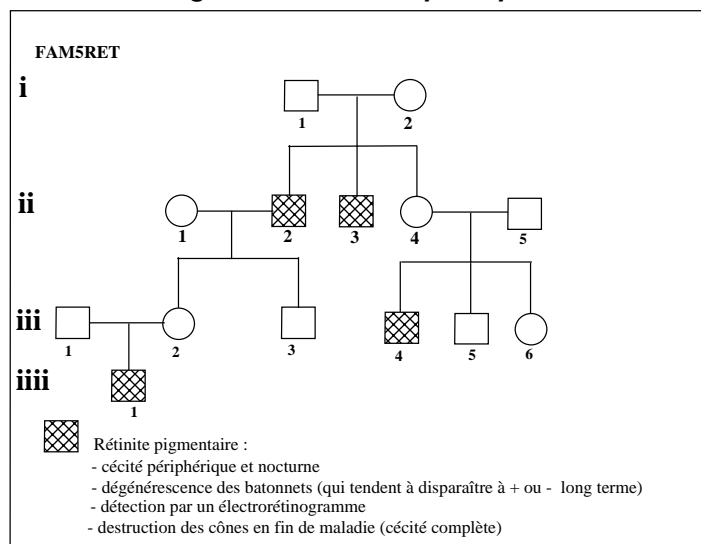
L'analyse classique de cet arbre exclut une hérédité récessive liée au sexe ; elle laisse possible, avec une probabilité faible, une hérédité autosomale récessive. Les interprétations les plus probables sont soit une hérédité autosomale dominante, soit une hérédité liée au sexe dominante. Les symptômes orientent plutôt vers la périphérine. L'analyse génotypique corrobore ce point de vue : tous les individus s'avèrent normaux pour la rhodopsine.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par Bbv I	Allèles du gène
F4-i1all1	10	Pernorm
F4-i1all2	10	Pernorm
F4-i2all1	10	Pernorm
F4-i2all2	9	Perret1
F4-ii1all1	10	Pernorm

F4-ii1all2	10	Pernorm
F4-ii2all1	10	Pernorm
F4-ii2all2	10	Pernorm
F4-ii3all1	9	Perret1
F4-ii3all2	10	Pernorm
F4-ii4all1	10	Pernorm
F4-ii4all2	10	Pernorm
F4-iii1all1	10	Pernorm
F4-iii1all2	9	Perret1
F4-iii2all1	9	Perret1
F4-iii2all2	10	Pernorm
F4-iii3all1	10	Pernorm
F4-iii3all2	10	Pernorm
F4-iii4all1	10	Pernorm
F4-iii4all2	10	Pernorm

Allèles du gène de la périphérine chez les individus de la famille FAM4RET.

Rétinite liée à un allèle d'un gène non identifié porté par un chromosome X



Famille 5 avec rétinite.

L'analyse classique conduit à une hérédité récessive soit autosomale soit liée au sexe. On peut suspecter le gène de la phosphodiesterase ; par ailleurs, l'apparition d'une néomutation expliquant le phénotype malade chez deux individus de la deuxième génération peut être exclue (très faible probabilité de deux mutations).

L'analyse génétique des individus malades infirme l'hypothèse du gène de la phosphodiesterase. Les autres gènes pourraient-ils avoir des allèles récessifs à l'origine de rétinites ? L'analyse génétique des individus malades montre qu'ils possèdent des allèles normaux pour les gènes de la rhodopsine et pour celui de la périphérine.

La seule conclusion possible est que cette rétinite est due à un ou des allèles d'un gène autre que ceux de la rhodopsine, de la péroxydase et de la phosphodiesterase. Ce gène est probablement situé sur le chromosome X étant donné l'aspect de l'arbre généalogique.

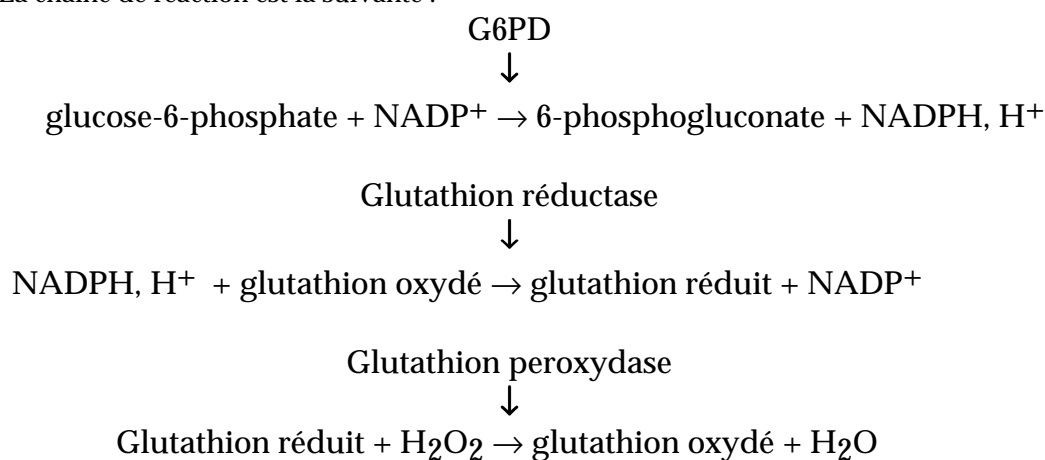


Les déficiences en glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD)

Données scientifiques

Rôle de l'enzyme G6PD

C'est une enzyme cytoplasmique présente dans toutes les cellules. Elle catalyse la première réaction de la voie des pentoses phosphates. Cette autre voie du catabolisme glucidique produit du ribose 5 phosphate (qui servira ultérieurement à la synthèse des nucléotides) et du NADPH, coenzyme qui est le principal donneur d'hydrogène dans de nombreuses réactions de biosynthèse. NADPH est aussi indispensable pour que se réalise la destruction du peroxyde d'hydrogène hautement toxique pour la cellule. La chaîne de réaction est la suivante :



La catalase catalyse la réaction : $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2$

Ces quelques réactions nous montrent que pour la destruction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), la catalase et le glutathion sont indispensables. Avec une G6PD inactive ou de très peu active, il y a un arrêt de production de NADPH par la voie des pentoses phosphates. Cela empêche la réduction du glutathion et par là la destruction de H_2O_2 . On sait d'autre part que le NADPH « stabilise » la catalase. Donc sans NADPH, H_2O_2 ne sera pas détruit et la cellule sera tuée. Dans les globules rouges cette situation est d'autant plus dramatique que d'autres enzymes permettant la production de NADPH manquent.

Le polymorphisme du gène G6PD

Le gène codant pour la G6PD est situé dans la partie télomérique du bras long du chromosome X ; il est formé par 13 exons et mesure 18 kilo paires de bases environ. Toutefois, sa région codante ne comprend que 1545 paires de bases ce qui correspond à une protéine enzymatique formée par 515 acides aminés. On connaît de très nombreux allèles (plus d'une centaine), dont certains ont une fréquence supérieure à 1%.

Allèles	Fréquence			Activité enzymatique (% par rapport au normal)	Manifestations cliniques
	Afrique	Europe	Méditerranée		
G6pdb	65 %	99,7 %	90-99 %	100	Aucune
G6pda	20 %		< 1 %	85	Aucune
G6pda-1	-	-	-	12	Jaunisse néo-natale ; anémie hémolytique aiguë (médicaments, infection)
G6pda-2	15 %	-	< 12 %	12	Jaunisse néo-natale ; anémie hémolytique aiguë (médicaments, infection)
G6pda-3	-	-	-	12	Jaunisse néo-natale ; anémie hémolytique aiguë (médicaments, infection)
G6pdm	< 0,1 %	-	1 - 8 %	3	Jaunisse néo-natale ; anémie hémolytique aiguë (médicaments, ingestion de fèves, infection)
G6pdseat	-	-	-	25	Rares

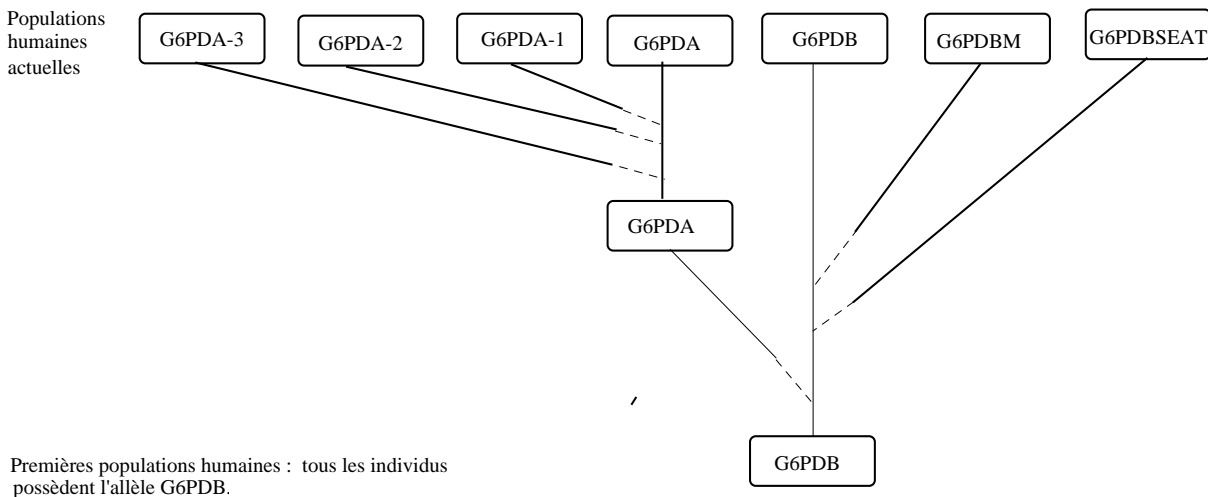
Fréquence de quelques allèles de la G6PD contenus dans la banque.

Séquence nucléique			Polypeptide	
Noms des allèles	Nucléotides changés Nature - Position	Codons changés Nature - Position	A.A. changés Nature - Position	Type de mutation
G6pdb	(Référence)	(Référence)	(Référence)	
G6pda	A376 G	AAT126 GAT	Asn126Asp	Substitution faux sens
G6pda-1	A376 G	AAT126 GAT	Asn126Asp	Substitution faux sens
	G202 A	GTG68 ATG	Val68Met	Substitution faux sens
G6pda-2	A376 G	AAT GAT	Asn126Asp	Substitution faux sens
	G680 T	CGC227 CTC	Arg227Leu	Substitution faux sens
G6pda-3	A376 G	AAT126 GAT	Asn126Asp	Substitution faux sens
	T968 C	CTG323 CCG	Leu323Pro	Substitution faux sens
G6pdm	C563 T	TCC188 TTC	Ser188Phe	Substitution faux sens
G6pdseat	G844 C	GAT282 CAT	Asp282His	Substitution faux sens

Caractéristiques de quelques allèles du gène de la G6PD.

Les allèles de ce gène peuvent donc servir de support pour étudier la notion de polymorphisme génique. Certes, les allèles diffèrent uniquement par des substitutions faux sens et ne permettent pas d'illustrer les diverses modalités des différences alléliques (les allèles résultant de mutations non sens, d'insertions et délétions décalantes codant pour des protéines tronquées totalement non fonctionnelles sont sans doute rapidement éliminées par la sélection naturelle). Mais ce système allélique est probablement le meilleur outil pour faire saisir la micro évolution d'un gène et sa diversification au cours de l'évolution des populations humaines.

L'allèle G6pdb, le plus fréquent dans toutes les populations, est sans doute l'allèle ancestral (c'est aussi le plus proche de celui séquencé chez le Chimpanzé). L'allèle G6pda, répandu en Afrique, résulte d'une substitution au nucléotide 376 de la région codante (A376G) dans l'allèle G6pdb. Les trois allèles G6pda⁻ présentent cette même différence avec G6pdb plus une autre : tous les trois résultent de mutations survenues au cours de la gaméto-genèse d'individus G6pda et sont donc apparus postérieurement à cet allèle. Par contre, l'allèle G6pdm diffère de G6pdb par une substitution autre que celle trouvée dans G6pda : il provient d'une mutation intervenue chez un individu G6pdb mais on ne peut situer chronologiquement sa formation par rapport à G6pda.



Filiation possible entre les allèles de G6PD. Les pointillés indiquent seulement que le moment et l'ordre d'apparition des allèles par mutation au cours de l'histoire de l'humanité sont inconnus.

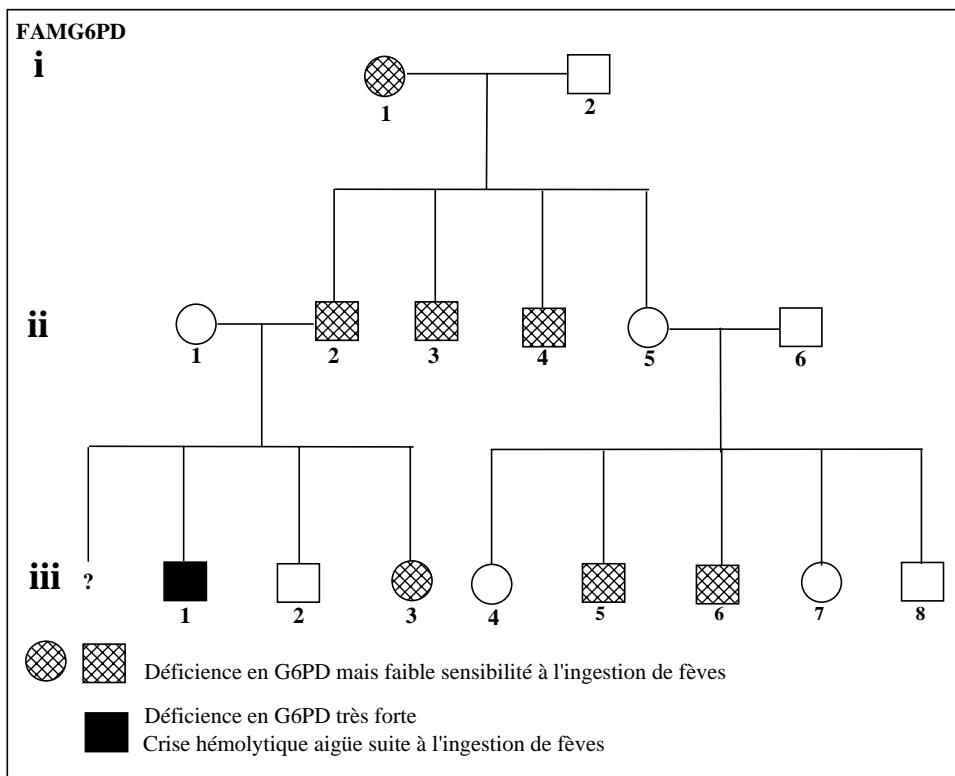
La déficience en G6PD

La déficience en G6PD est l'enzymopathie la plus répandue : elle affecterait 400 millions de personnes dans le monde. Les régions les plus touchées sont l'Afrique tropicale, le moyen Orient, l'Asie tropicale et subtropicale. Un certain nombre d'allèles codent pour une enzyme G6PD déficiente. La déficience n'est jamais totale : l'absence d'enzyme G6PD est sans doute incompatible avec la vie. Les manifestations cliniques sont la jaunisse néonatale, une anémie hémolytique, et dans des cas sévères des séquelles neurologiques. Des crises aiguës d'anémie hémolytique peuvent être déclenchées par des infections, des ingestions de fèves et divers médicaments (comme la primaquine). Heureusement, seule une faible proportion des malades déficients en G6PD présentent une anémie hémolytique chronique et pour les autres, en dehors des crises hémolytiques, il n'y a aucun symptôme particulier. L'action favorisante de l'ingestion de fèves sur le déclenchement des crises hémolytiques est surtout nette chez les personnes possédant l'allèle G6pdm.

Le phénotype des femmes hétérozygotes possédant un allèle « normal » et un allèle « déficient »

Il est classique de considérer comme récessif le phénotype G6PD déficient et c'est ce que traduit l'arbre généalogique soumis à l'analyse. En réalité, la situation est plus complexe et le phénotype des femmes hétérozygotes variable, certaines pouvant manifester des signes cliniques de déficience. Cela est en relation avec l'inactivation au hasard d'un des chromosomes X dans chacune des cellules de l'organisme, inactivation qui peut atteindre l'un ou l'autre des chromosomes X. La femme hétérozygote possède deux populations d'hématies, l'une G6PD déficiente, l'autre avec une enzyme G6PD efficace. L'importance relative de ces deux populations varie d'une femme à l'autre.

Utilisations pédagogiques en génétique humaine



Famille avec déficit en G6PD.

L'étude du polymorphisme génique à partir de G6PD peut être conduite en adoptant une démarche voisine de celle suivie pour l'alpha-antitrypsine.

Analyse classique

L'analyse de l'arbre généalogique conduit à la récessivité du phénotype G6PD déficient. En revanche, les deux interprétations, hérédité autosomale récessive ou hérédité récessive liée au sexe, sont plausibles même si la seconde apparaît plus probable.

L'interprétation suivant laquelle le gène serait situé sur un autosome implique que les individus non apparentés ii2, ii1 et ii6 soient hétérozygotes ; l'interprétation suivant laquelle l'hérédité serait liée au sexe nécessite seulement que la femme ii1 soit hétérozygote. En outre, la différence entre les deux phénotypes G6PD déficients des personnes iii1 et iii3 doit conduire à supposer que des allèles G6PD déficients différents existent dans cette famille.

Analyse génotypique

La détermination des génotypes des individus de l'arbre réalisée grâce à l'utilisation des enzymes de restriction (fichier **enzg6pd.zym**) permet de tester ces hypothèses.

Enzymes du fichier enzg6pd.zym	
Nom	Motif(s) reconnu(s)
Nla III	CATG
Fok I	GGATG,CATCC
Mbo II	GAAGA,TCTTC

Nla III	Fok I	Mbo II	Allèles reconnus
7	8	10	G6pda
8	8	10	G6pda-1
7	7	10	G6pdb
7	7	11	G6pdm

Allèles de la G6PD reconnus par les enzymes de restriction.

Allèles des individus	Nombre de sites reconnus par			Allèles du gène
	Nla III	Fok I	Mbo II	
F1-i1all1	8	8	10	G6pda-1
F1-i1all2	8	8	10	G6pda-1
F1-i2all	7	7	10	G6pdb
F1-ii1all1	7	7	10	G6pdb
F1-ii1all2	7	7	11	G6pdm
F1-ii2all	8	8	10	G6pda-1
F1-ii3all	8	8	10	G6pda-1
F1-ii4all	8	8	10	G6pda-1
F1-ii5all1	8	8	10	G6pda-1
F1-ii5all2	7	7	10	G6pdb
F1-ii6all	7	8	10	G6pda
F1-iii1all	7	7	11	G6pdm
F1-iii2all	7	7	10	G6pdb
F1-iii3all1	8	8	10	G6pda-1
F1-iii3all2	7	7	11	G6pdm
F1-iii4all1	7	7	10	G6pdb
F1-iii4all2	7	8	10	G6pda
F1-iii5all	8	8	10	G6pda-1
F1-iii6all	8	8	10	G6pda-1
F1-iii7all1	8	8	10	G6pda-1
F1-iii7all2	7	8	10	G6pda
F1-iii8all	7	7	10	G6pdb

Allèles du gène de la G6PD chez les individus de FAMG6PD.

L'existence d'un seul allèle G6PD dans la banque pour les hommes et de deux allèles pour les femmes doit conduire les élèves à bien s'approprier la notion d'hérédité liée au sexe. La détermination du génotype de iii1 met bien en valeur que dans un cas d'hérédité liée au sexe, le chromosome X d'un garçon et les allèles des gènes qu'il porte proviennent de sa mère.