

TP3A-1 : Le déterminisme d'une maladie génétique

Compétences : S'informer à partir de documents divers, analyser et raisonner, construire un schéma, analyser un arbre généalogique, utiliser les fonctionnalités des logiciels Anagène et Rastop

Matériel : Logiciels Anagène et Rastop, fiches techniques, fichiers de molécules pour Rastop et Anagène

La mucoviscidose est une des maladies génétiques graves les plus fréquentes dans les pays occidentaux (1/4500 naissances en France). Elle entraîne une mortalité précoce. **Quelle est son origine, comment se manifeste-t-elle, comment se transmet-elle et quels sont les traitements ?**

A) L'origine de la maladie

1) **Expliquez comment a été déterminée l'origine génétique de cette maladie à l'aide des documents 1 à 3 page 280-1.**

Près de 2000 allèles différents ont été identifiés chez les patients dans un long gène de 250 000 nucléotides, le gène CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*). Ces mutations sont de sévérité variable. On a regroupé les différentes mutations responsables de la mucoviscidose en 5 classes selon leur effet sur la protéine canal CFTR, qui peut être :

- non synthétisée (classe 1),
- produite mais aussitôt détruite car anormale (classe 2),
- non fonctionnelle : le canal ne s'ouvre pas (classe 3), ou s'ouvre sans fonctionner correctement (classe 4),
- ou encore trop peu produite (classe 5).

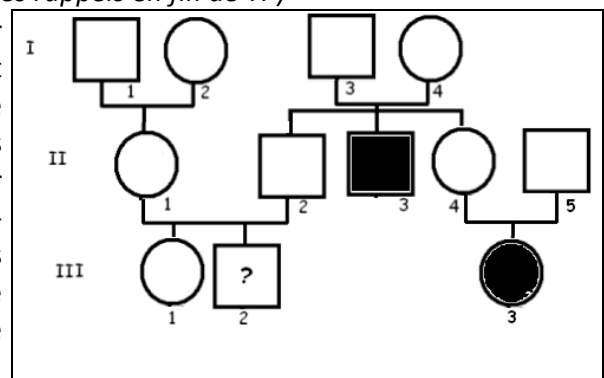
On s'intéresse en particulier à la mutation la plus fréquente de ce gène (près de 50 à 70% des patients atteints sont homozygotes pour cet allèle) : la mutation $\Delta F508$, assez sévère.

2) A l'aide des documents 1 et 2 page 284, et de votre travail sur les logiciels avec le protocole fourni et les fiches techniques (*résultats de secours pour Anagène : documents 4 p.281 et 3 p.285*), **expliquez l'origine de cette maladie aux différentes échelles, du génotype au phénotype moléculaire, cellulaire, macroscopique** (voir rappels en fin de TP et le chapitre 1A3 si besoin).

3) Identifiez la classe à laquelle appartient cette mutation (voir paragraphe ci-dessus).

B) Évaluer le risque et envisager des traitements (voir les rappels en fin de TP)

Vous êtes généticien. De futurs parents (II1 et II2 sur l'arbre ci-contre) attendent un enfant (III2) et sont inquiets, car des individus de la famille sont atteints de la mucoviscidose. Ils veulent savoir quels sont les risques que leur enfant soit atteint. Après les avoir interrogés, vous avez réalisé l'arbre généalogique ci-contre. Aucun cas de mucoviscidose n'est connu dans la famille de la mère II1. On note m l'allèle morbide responsable de la maladie, et N l'allèle sain. Pour le prochain rendez-vous :



- 4) **Expliquer à la famille le mode de transmission** de cette maladie, en le justifiant (récessif/dominant, autosomique/gonosomique). *Aidez-vous des informations dans la fiche de rappels.*
- 5) Des analyses génétiques ont été réalisées, avec la technique décrite dans le document 6 p.283 : elles ont montré que le génotype du père II2 est (N/m) et celui de la mère II1 est (N/N). **Calculer le risque** que l'enfant III2 soit porteur sain ou malade à l'aide de la technique du tableau de croisement expliquée dans le document 2 fourni.
- 6) **Déterminer les phénotypes, puis les génotypes possibles des membres de la famille.** Commencer par les individus atteints, puis raisonner pour trouver les autres (*dans certains cas, 2 génotypes sont possibles*).
- 7) **Expliquer à cette famille les traitements possibles actuels et à venir** (documents p.286-7).

Méthode d'étude d'une pathologie héréditaire

➤ Rappels : génotype et phénotype

Le **génotype**, c'est l'ensemble des allèles d'un individu.

Des cellules diploïdes ($2n$) comme les cellules somatiques humaines portent 2 allèles pour chaque gène, l'un hérité de la mère, l'autre du père. Si ces allèles sont identiques, l'individu est **homozygote** pour ce gène. S'ils sont différents, il est **hétérozygote** pour ce gène.

Un allèle peut être **dominant** (le caractère dominant s'exprime dès que l'allèle est présent), ou bien **récessif** (le caractère récessif s'exprime uniquement s'il n'y a pas d'allèle dominant).

Le **phénotype**, c'est l'ensemble des caractères observables d'un individu dans un environnement donné. Il peut être observé à différentes échelles :

- Le **phénotype macroscopique** : à l'échelle de l'organisme ;
- Le **phénotype cellulaire** : à l'échelle de la cellule ;
- Le **phénotype moléculaire** : à l'échelle de la molécule (protéines).

Notations conventionnelles :

Le **phénotype** (= caractère exprimé par l'individu) est noté avec le caractère entre crochets

Exemple : $[a]$.

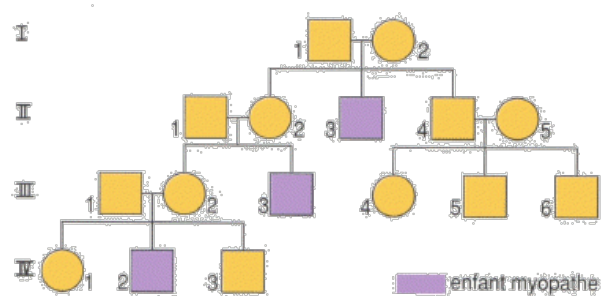
Le **génotype** (= allèles portés par l'individu en lien avec le caractère étudié) est noté pour les cellules diploïdes avec les 2 allèles entre parenthèses séparées par 1 ou 2 barres de fraction symbolisant les 2 chromosomes paternels et maternels. Généralement, on écrit l'allèle récessif en minuscule et l'allèle dominant en MAJUSCULE, abrégé en 1 à 3 lettres.

Exemple : $(A//a)$ pour un individu hétérozygote, avec A dominant.

➤ Les arbres généalogiques

L'étude d'une maladie génétique nécessite d'étudier la transmission de cette maladie notamment grâce à des **arbres généalogiques**. Si aucune légende n'est indiquée, on représente de façon conventionnelle :

- Une femme est représentée par un rond
- Un homme est représenté par un carré
- Un sexe inconnu (fœtus, ...) est représenté par un losange
- Une union est représentée par un trait horizontal
- Une filiation est représentée par un trait vertical
- Une personne atteinte par la maladie est représentée par un rond/carré/losange noir, grisé ou coloré
- Les générations successives sont représentées verticalement, les ascendants en haut et les descendants en bas. Elles sont numérotées en chiffres romains. Les individus de chaque génération sont numérotés en chiffres arabes.



Un arbre génétique pour une maladie gonosomique récessive : la myopathie de Duchenne

Un individu homozygote qui présente les symptômes de la maladie génétique est dit **atteint**. Un individu hétérozygote qui ne présente pas les symptômes mais risque de transmettre la maladie génétique à ses enfants est dit **porteur**.

➤ **Étudier la transmission d'une maladie génétique**

L'examen des arbres généalogiques familiaux permet de connaître les modes de transmission héréditaire des gènes responsables de la maladie, selon :

- Le type de chromosome qui porte le gène responsable de la pathologie. Il peut être porté par une paire de chromosomes :
 - Non sexuels (paires n° 1 à 22 chez l'espèce humaine) : on parle de **transmission autosomique**. Les hommes et les femmes sont alors également touchés sur l'arbre généalogique.
 - sexuels (paire X et Y) : on parle de **transmission gonosomique** (ex : myopathie de Duchenne). Le chromosome Y est très rarement impliqué dans les maladies génétiques, en raison de son faible nombre de gènes. Les chromosomes X et Y n'ayant presque pas de gènes communs, un homme n'aura qu'un seul allèle pour presque tous les gènes portés par le chromosome X. Lorsque le chromosome X est impliqué, les hommes sont donc plus fréquemment atteints que les femmes si puisqu'ils hommes ne portent qu'un seul allèle.
- Le caractère de l'allèle responsable de la maladie (= allèle morbide) :
 - **récessif** (= il ne s'exprime pas s'il y a un allèle dominant) : le gène ne s'exprime que lorsqu'il est présent en 2 exemplaires, l'un provenant du père, l'autre de la mère. Dans ce cas, un individu atteint peut avoir ses 2 parents sains mais porteurs d'un allèle muté.
 - ou **dominant** (= il s'exprime toujours). En général, un allèle dominant est présent chez une majorité d'individus dans un arbre généalogique, au contraire de l'allèle récessif. Un individu atteint a toujours au moins un de ses parents atteints.
 - Remarque : il existe des allèles codominants où les 2 allèles présents s'expriment (ex : allèles A et B du système ABO du groupe sanguin).

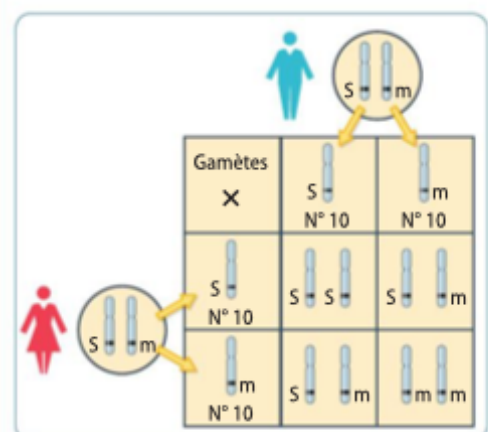
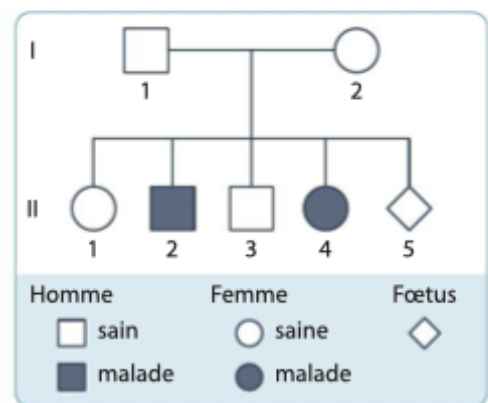
➤ **Calculer le risque de transmission**

De là, on peut calculer le risque qu'un enfant soit atteint si on connaît le génotype de ses parents : un parent peut être homozygote pour ce gène (2 allèles identiques) et produit dans ce cas un seul type de gamètes, porteur du même allèle ; ou il peut être hétérozygote (2 allèles différents) et produire de façon équiprobable 2 types de gamètes, l'un porteur de l'allèle atteint et l'autre de l'allèle non atteint. Lors de la fécondation, les gamètes produits par les 2 parents se rencontrent de façon équiprobable. Chaque cellule-œuf a une probabilité de se former égale au produit des probabilités des 2 gamètes.

Ainsi, dans l'exemple ci-contre, les 2 parents sont hétérozygotes, porteurs sains d'une maladie génétique autosomale récessive. Ils produisent donc les gamètes (S) et (m) avec une probabilité de 1/2. Chaque phénotype de la cellule-œuf représenté au centre de l'échiquier de croisement a donc une probabilité de $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$.

Évaluation du risque génétique par l'étude de l'arbre généalogique et la réalisation d'un tableau de croisement dans le cas de parents hétérozygotes.

Source : 1SVT Hachette 2019 p.254



Protocole d'étude des gènes et protéines de la mucoviscidose avec Anagène et Rastop

- Ouvrir Anagène, puis « fichier », « ouvrir », parcourir l'arborescence de l'ordinateur pour trouver le fichier CFTR_allèle_et_proteine.edi. Ensuite :
 - Comparer avec alignement des discontinuités les allèles du gène « CFTR normal » et « CFTR normal ». Repérer la mutation.
 - Comparer les 2 séquences protéiques correspondantes « Pro-CFTR normal » et « Pro-CFTR muté ». Repérer l'effet de la mutation sur la séquence protéique. Penser à cliquer sur la règle pour la numérotation des acides aminés et non des nucléotides. Aller jusqu'au bout des séquences comparées pour voir l'ensemble des modifications de la protéine. Noter l'emplacement des modifications pour la suite du travail avec Rastop.
- Ouvrir Rastop, puis ouvrir les fragments de protéines CFTR_sauvage.pdb (non mutée) et CFTR_mutante.pdb.
 - Réorganiser les « Fenêtres » en « mosaïque verticale ».
 - Sélectionner le 1^e acide aminé modifié dans chaque protéine avec la commande ctrl+ M et taper dans la fenêtre de commande : Select 508 ; la mettre en valeur (couleur, affichage) dans les 2 molécules.
 - Afficher le nom de cet acide aminé pour les 2 protéines : Menu Atomes > Labels (ou Étiquettes) > Choisir > cliquer sur un atome de cet acide aminé. Il est possible de changer la couleur de l'étiquette dans la Palette de couleurs : dans la liste déroulante commençant par Atomes, choisir Labels ou Étiquettes, et choisir une couleur visible dans la palette. Bien penser à choisir à nouveau Atomes dans la Palette si vous devez à nouveau colorer des atomes.
 - Sélectionner les acides aminés modifiés restants dans la protéine mutante (voir fiche technique) et modifier leur affichage.

Protocole d'étude des gènes et protéines de la mucoviscidose avec Anagène et Libmol

- Ouvrir Anagène, puis « fichier », « ouvrir », parcourir l'arborescence de l'ordinateur pour trouver le fichier CFTR_allèle_et_proteine.edi. Ensuite :
 - Comparer avec alignement des discontinuités les allèles du gène « CFTR normal » et « CFTR normal ». Repérer la mutation.
 - Comparer les 2 séquences protéiques correspondantes « Pro-CFTR normal » et « Pro-CFTR muté ». Repérer l'effet de la mutation sur la séquence protéique. Penser à cliquer sur la règle pour la numérotation des acides aminés et non des nucléotides. Aller jusqu'au bout des séquences comparées pour voir l'ensemble des modifications de la protéine. Noter l'emplacement des modifications pour la suite du travail avec Rastop.
- Ouvrir Libmol (<https://www.libmol.org/>) et sa fiche technique : https://libmol.org/docs/FT_Libmol.pdf), puis :
 - chercher la protéine humaine CFTR (taper « CFTR » dans la barre de recherche dans la librairie de molécule)
 - Dans l'onglet commande, mettre en évidence la forme de la protéine canal (l'affichage « *rubans* » permet de bien voir)
 - Dans l'onglet *Commande*, en face de Sélectionner, taper « 508 » pour sélectionner l'acide aminé n°508, modifié dans la protéine, puis valider avec la touche « entrée ».
 - OU : dans l'onglet Séquence, cliquer sur le bouton « *aucun* », puis, dans la chaîne A au-dessus, faire défiler la séquence des acides aminés jusqu'au 508^e acide aminé PHE (positionner votre souris sur les acides aminés pour voir apparaître le numéro des acides aminés).
 - Choisir un affichage (ex : sphères) pour cet acide aminé et changer sa couleur (dans l'onglet *Commande*, allez dans *Palette*).
 - Positionner votre souris sur l'acide aminé n°508 pour faire apparaître la légende et faire une capture d'écran.