

I) INTRODUCTION:

- Le génotype est l'ensemble ou une partie donnée de la composition génétique (information génétique) d'un individu.
- Le génotype d'un individu est donc la composition allélique de tous les gènes de cet individu.
- La définition de génotype sert également lorsque l'on considère la composition allélique d'un individu pour un nombre restreint de gènes d'intérêt.
- Par exemple, s'il existe deux formes du gène X : l'allèle Xa et l'allèle Xb, alors le génotype d'un individu pour le gène X peut être soit homozygote (Xa/Xa ou Xb/Xb), soit hétérozygote (Xa/Xb).
- Dans la molécule d'ADN, c'est la séquence des nucléotides qui constitue l'information génétique.
- Chez l'homme, on estime que le nombre de gènes est compris entre 25 000 et 30 000.
- Il existe pour une majorité de ces gènes plusieurs allèles dans la population.
- Il existe 3 génotypes différents possibles pour un gène existant sous 2 formes alléliques.
- Le génotype détermine les caractères d'un individu, constituant le phénotype, et se transmet des parents à leurs descendants.
- Le phénotype est l'ensemble des caractères observables d'un individu, à toutes les échelles : macroscopique (la couleur des yeux), cellulaire (la concentration sanguine en hématies) et moléculaire (l'activité d'une enzyme).
- La composition allélique de chaque individu pour chaque gène va produire un phénotype particulier à chaque fois.
- Par exemple, la couleur de la peau peut varier suivant la composition allélique des individus pour les gènes impliqués dans la voie de biosynthèse de la mélanine (échelle moléculaire), le pigment qui colore la peau (échelle macroscopique).
- Les personnes de couleur noire possèdent des allèles codant des enzymes très actives pour la production de la mélanine, contrairement aux personnes de couleur blanche.

II) METHODES UTILISEES POUR LE DIAGNOSTIC GENOTYPIQUE :

- **DIAGNOSTIC DIRECT**

1 -Recherche de mutations ponctuelles - mutation connue - screening d'un gène :
séquençage, DHPLC, HRM

2 -Recherche d'amplifications de triplets

3 - Recherche de délétions

- **DIAGNOSTIC INDIRECT**

III) HEMOGLOBINOPATHIES :

L'hémoglobine (Hb): tétramère (= 95% des prot intra c du GR):

- **4 globines** : chaînes polypeptidiques , semblables 2 à 2: 2 chaînes α + 2 chaînes non α : β , δ , γ (ϵ embryonnaire)
- **+ 4 hèmes** : porphyrine + 1 atome fer

Gènes :

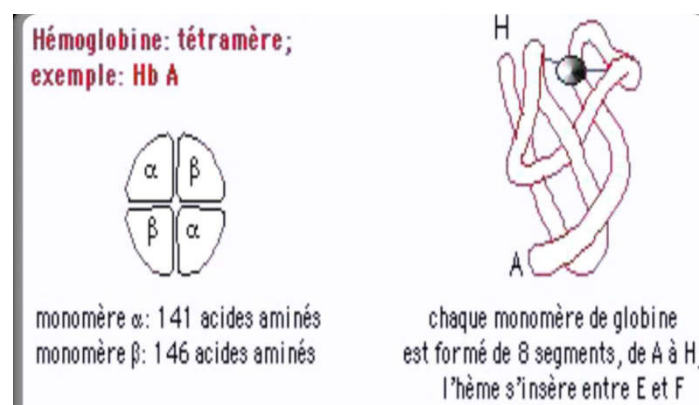
- chr 16 pour α (2 gènes α : $\alpha 1$ et $\alpha 2$)
- chr 11 pour β , δ , γ (2 gènes γ) équilibre de l'ensemble entre les chaines α et non α

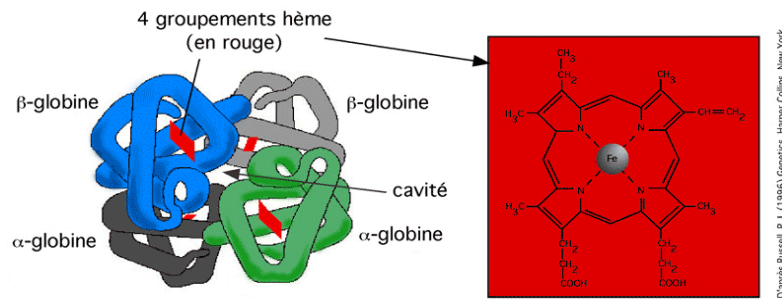
Principales Hb :

- HbA $2\alpha 2\beta$ dont 4- 5 % Hb glycosylée (HbA1C)
- HbA2 $2\alpha 2\delta$
- HbF $2\alpha 2\gamma$

La Globine: Protéine entrant dans la composition de l'hémoglobine (Hb).

L'hémoglobine A (forme prépondérante chez l'adulte) est composée d'un tétramère $\alpha 2 \beta 2$ et de 4 molécules d'hème.





- **Au cours de la vie fœtale:**

surtout Hb F ($2\alpha 2\gamma$) commutation vers progressive 95 % à 6 mois, finie à 6 ans

- **à la naissance:**

Hb A: $2\alpha 2\beta$: 0,1-0,5 %

HbA2: $2\alpha 2\delta$: 10-30 %

HbF: $2\alpha 2\gamma$: 70-90 %

(déficit α visible dès naissance, β après plusieurs mois)

- **à l'âge adulte:**

HbA: $2\alpha 2\beta$: 96-98 % dont 4- 5 % Hb glycosylée

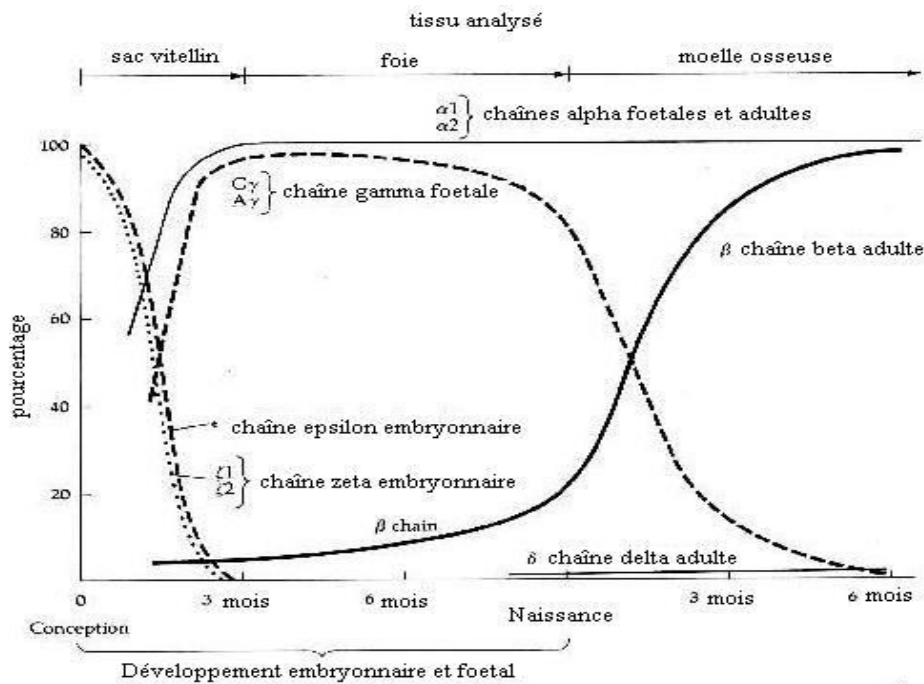
HbA2: $2\alpha 2\delta$: 2-3,5 %

HbF: $2\alpha 2\gamma$: < 1,5 %

- Ces **hémoglobinopathies** résultent d'une mutation du gène β globine et/ou α globine.
- La plupart des hémoglobinopathies sont le résultat du remplacement d'un AA dans les chaînes α ou β , désignées par les lettres de l'alphabet suivant l'ordre de leur découverte (HbC, HbD, HbG...), si ce n'est l'hémoglobine S (HbS).
- Alphabet épuisé, on a eu recours au nom de la localité (capitale) où la découverte a été faite: Hb Norfolk, Hb Stanleyville; ou au nom du patient: Hb Lepore, Hb Beilisson.
- Les hémoglobinopathies sont définies par la présence d'anomalies qualitatives et/ou quantitatives touchant les chaînes de globine.
- À ce jour, près de 700 hémoglobines anormales ont été décrites.

- Les anomalies **qualitatives** conduisent à la production d'une hémoglobine de structure anormale.
- Parmi ces variants, les mieux connus sont l'**Hb S à l'origine de la drépanocytose**, l'**Hb C** et l'**Hb E**, et ceci en raison des conséquences cliniques et/ou biologiques qu'ils sont susceptibles d'engendrer.
- Toutefois, une majorité de variants est asymptomatique et reste de ce fait méconnue ou de découverte fortuite.
- Les anomalies **quantitatives** de l'hémoglobine résultent de la synthèse diminuée des chaînes de globine et définissent ainsi les thalassémies.
- Enfin, il existe dans certains cas une **association d'anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémoglobine**.
- **Hémoglobinopathies** : Maladies dues à une anomalie héréditaire qualitative ou quantitative de l'Hb= anémies hémolytiques corpusculaires par destruction des GR en intra et extra vasculaire patentes ou latentes,
- souvent autosomiques récessives
 - **hétérozygotes : svt sains.**
 - **homozygotes ou hétérozygotes composites: malades.**
- Les gènes de la famille α sont situés sur le chromosome 16 et ceux de la famille β sur le chromosome 11.
- La famille α comporte: trois gènes et la famille β : cinq gènes.
- Il existe de plus des séquences similaires à celles des gènes ne codant pour aucune chaîne polypeptidique (pseudogènes).
- Comme d'autres gènes, ceux de la globine sont constitués par des zones codantes et des zones non codantes.
- L'ordre des gènes de 5' en 3' sur le chromosome correspond à l'ordre de leur expression au cours du développement.

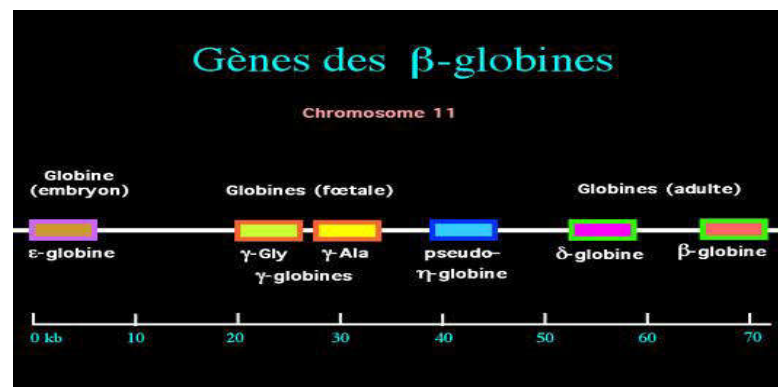
En effet le profil électrophorétique des hémoglobines varie au cours de la vie



Evolution de la synthèse des chaînes d'Hb avec l'âge

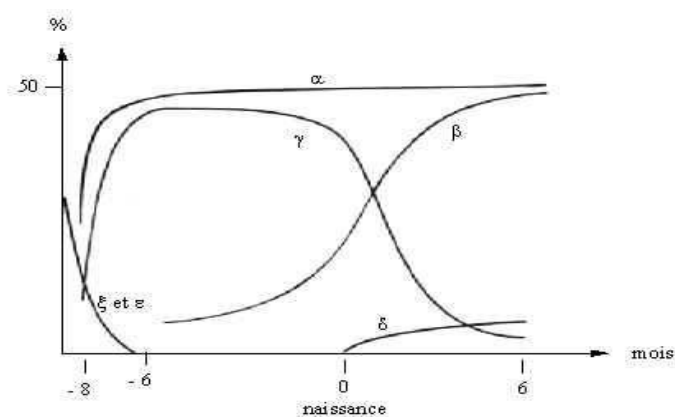
- En effet le profil électrophorétique des hémoglobines varie au cours de la vie :
- **Chez l'embryon**, trois hémoglobines coexistent :
 - Hb Gower 1 ($\zeta 2 \epsilon 2$)
 - Hb Gower 2 ($\alpha 2 \epsilon 2$)
 - Hb Portland ($\zeta 2 \gamma 2$)
 - **Chez le foetus** apparaît l'hémoglobine foetale ($\alpha 2 \gamma 2$). Les chaînes γ sont produites par deux gènes dupliqués : $G\gamma$ et $A\gamma$
- $*\gamma$: le rapport $G\gamma / A\gamma = 3/1$.
- **Après la naissance**, l'hémoglobine F diminue rapidement ; le rapport $G\gamma / A\gamma$: $\gamma = 2/3$.
- **Le statut hémoglobinique adulte** est atteint, en principe, entre l'âge de 1 et 2 ans, et comporte :
 - * Hb A $\approx 97\%$.
 - * Hb A2 $\leq 3,1\%$.
 - * Hb F $\leq 1\%$.

- Plusieurs gènes existent pour exprimer les chaînes d'acides aminés qui constituent l'hémoglobine :
 - **α -globines sur le chromosome 16.**
 - **β -globines sur le chromosome 11.**
 - Sur ce dernier chromosome il existe cinq gènes exprimés successivement au cours du développement de l'individu dans les hémoglobines embryonnaires, foetales et adultes.



- L'ensemble des cinq gènes constitue un groupe de gènes (*cluster*).
- Le gène ϵ -globine est à l'extrémité 5' du groupe de gènes.
- Après un long intergène, on rencontre les deux gènes des γ -globines (γ -Gly et γ -Ala).
- Dans l'intergène suivant se trouve un pseudogène η -globine, qui n'est plus exprimé.
- Enfin vers l'extrémité 3' se rencontrent successivement les deux gènes exprimés chez les adultes δ -globine et surtout **β -globine**.

Evolution de la synthèse des chaînes d'Hb avec l'âge



A. Anomalies quantitatives :**thalassémies**

- Diminution de l'ensemble de certaines chaînes polypeptidiques →
Augmentation de l'ensemble des autres chaînes (dont γ)

Les thal sont désignées par le nom de la chaîne manquante:

β thal: $\uparrow \delta$ « puis » γ → \uparrow HbA2 et F

α thal: \uparrow de tétramères à un seul type de chaînes :

4 β : Hb H

4 γ : Hb Bart's

- précipitation intra-globulaire de chaînes libres ou fractions 4 β et 4 γ .

Drépanocytose:

Anomalies génétiques et protéiques du codon 6 conduisant à l'hémoglobine S (β S) et à l'hémoglobine C (β C).

ADN

Codon	5	6	7
• β ACCT	GAG	GAG.....
• β SCCT	GTG	GAG....
• β CCCT	AAG	GAG....

PROTEINE

	5	6	7
• β APro	Glu	Glu.....
• β SPro	Val	Glu....
• β CPro	Lys	Glu....

mécanismes génétiques et physiopathologie SS

- autosomique récessif :
- **hétérozygotes AS:** asymptomatiques

- **homozygotes SS**, ou doubles ou «hétérozygotes composites»

(SC, S- β thal....

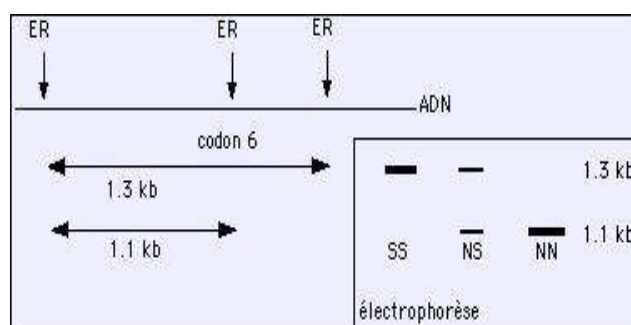
symptomatiques

phénotype variable ++

Diagnostic anténatal :

- Il existe une enzyme de restriction (ER) qui reconnaît sur le gène un site impliquant le 6^{ème} codon et qui coupe donc le gène, entre autres, à ce niveau, produisant normalement un fragment de DNA de 1,1 Kbases.
- La mutation responsable de la maladie abolit ce site.
- Le prochain site étant plus loin sur le gène, le fragment sera alors de 1,3 Kbases;
- puis, par électrophorèse du DNA, on peut reconnaître les homozygotes
- normaux (NN), les hétérozygotes (NS) et les homozygotes atteints (SS).
- **Polymerase Chain Reaction:** Des techniques d'amplification de l'ADN à l'aide d'amorces judicieusement choisies permettent de faire apparaître sur l'électrophorèse en gel d'agarose ou de polyacrylamide, des produits d'amplification de tailles différentes selon la présence ou l'absence d'une mutation ou d'une délétion.

mécanismes génétiques et physiopathologie SS





LA DREPANOCYTOSE

- est une maladie héréditaire de l'hémoglobine, transmise de façon autosomale récessive, due à une mutation unique et ponctuelle du gène β -globine situé sur le chromosome 11.
- Cette mutation est caractérisée par le remplacement d'un acide aminé par un autre (**acide glutamique** remplacé par une **valine**).
- Anémie à cellules falciformes chez l'homme (drépanocytose).
- Anomalie génétique quasi-létal à l'état homozygote.

* Allèle normal \rightarrow A;

* Allèle muté \rightarrow S;

* Individus atteints génotype \rightarrow SS.



Examen génétique

- Mise en évidence de la mutation par séquençage direct de l'ADN,
- par différentes techniques permettant une identification rapide et simultanée chez plusieurs individus (exemple: PCR SNP, Single Nucléotide Polymorphisme).