

# Analyse génétique en biologie cellulaire

## A) Notion de mutations

En génétique on étudie les mutations, car étudier ce qui ne fonctionne pas nous permet de comprendre le mécanisme normal.

### 1) Définitions

La base de la génétique réside dans la différenciation de **génotype** et **phénotype**.

La **génétique** est alors la **relation** entre le génotype et le phénotype.

Le **génotype** = ensemble des gènes, normaux = **sauvages** ou **mutés**.

Le **phénotype** = Apparence d'un organisme ou d'une cellule.  
Codé par le génotype, mais dépendant de l'environnement.

**Polymorphisme génétique** = phénomène permettant la diversité intra-espèces  
→ plusieurs **allèles** pour un même gène.

**Organisme haploïde** = Une copie de chaque chromosome (ex des gamètes)

**Organisme diploïde** = Deux copies de chaque chromosome (cellules somatiques, la majorité de nos cellules).

→ **2 allèles** (un provenant du père, l'autre de la mère) du même gène dans un organisme diploïde :

- Gène **homozygote** si les 2 allèles sont **identiques** ;
- Gène **hétérozygote** si les 2 allèles sont **différents**.

**Allèle dominant** = exprimé même si présent une seule fois

**Allèle récessif** = exprimé seulement si présent en double

Il existe 2 types de gènes mutants :

- **Les gènes récessifs mutants** : s'expriment seulement si les 2 allèles sont récessifs. C'est le cas le plus fréquent. Cela correspond à une **perte de fonction**.
- **Les gènes dominants mutants** : s'expriment même si un des 2 allèles est sauvage. Cela correspond à un **gain de fonction**.

## 2) La notion de complémentation

Par définition, **un allèle dominant complémente une mutation récessive !!**

Plusieurs cas de figure :

- 1 allèle normal + 1 allèle **muté récessif** → **phénotype normal**
- **2 allèles** porteur d'une **mutation récessive** → **phénotype muté**
- 1 allèle normal + 1 allèle porteur d'une **mutation dominante** → **phénotype muté**

### B) Test de complémentation

Ce test est à la base de l'analyse génétique, des **interactions entre 2 gènes**.

**!! Complémentation = Habilité à restaurer une fonction en combinant dans une même cellule deux gènes dont au moins un est muté !!**

Dans le test de complémentation, on observe le phénotype d'une cellule hybride (s'il est muté ou sauvage) pour en déduire si **2 mutations** correspondent au même gène ou à 2 gènes différents.

Pour cela, on combine 2 cellules haploïdes porteuses d'une mutation chacune (donc ayant un phénotype muté) pour obtenir une cellule diploïde.

On observe ensuite le phénotype de la cellule diploïde :

- il y a complémentation si phénotype sauvage → on dit que les 2 mutations appartiennent à un **groupe distinct de complémentation**
- il n'y a pas complémentation si phénotype muté → on dit que les 2 mutations appartiennent au même groupe de complémentation

Pour faire un test de complémentation, il faut absolument que **les mutations soient récessives !!**

En effet, si une mutation est dominante, elle prendra forcément le dessus, donc on obtiendra toujours un phénotype muté.

### 1) Test de récessivité

Il consiste à voir si on peut **restaurer le phénotype sauvage** par introduction du gène sauvage dans une cellule muté.

On combine donc dans une même cellule l'allèle mutant avec l'allèle sauvage

→ si phénotype sauvage : la mutation est récessive

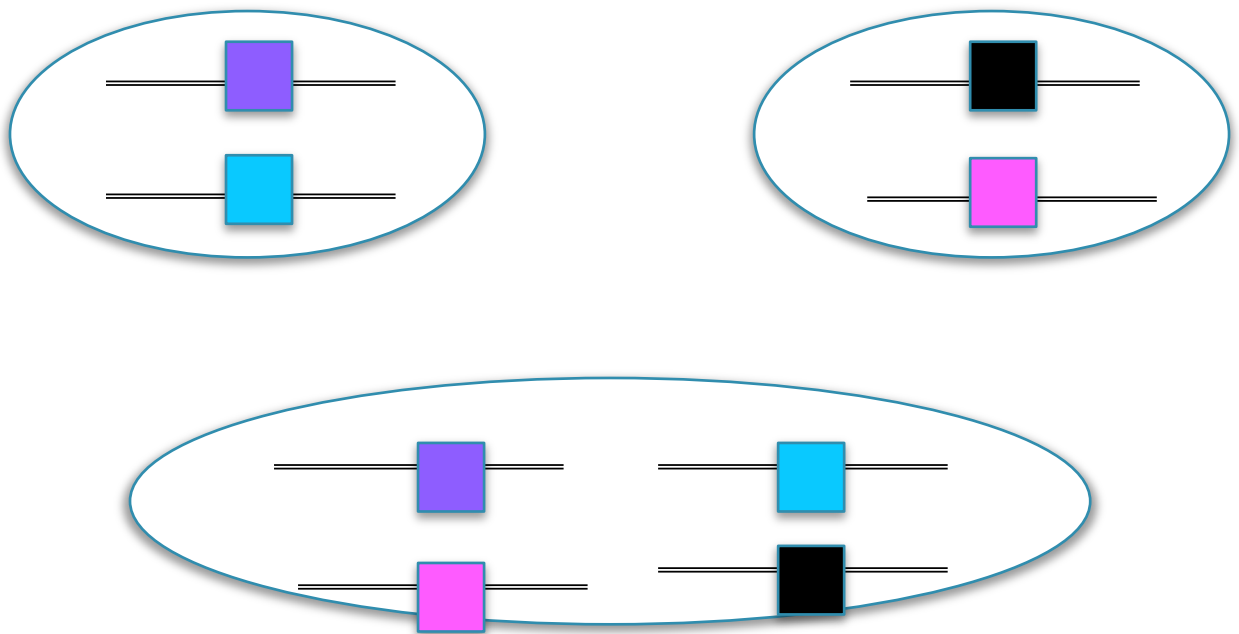
→ si phénotype muté, la mutation est dominante

## 2) Test de complémentation

Il consiste à rétablir l'allélisme de deux mutations récessives.

Objectif : Déterminer si 2 mutations appartiennent au même gène.

On prend 2 cellules mutées haploïdes, c'est à dire avec un allèle muté **m1**, un allèle **sauvage M2** (pas le même gène) puis une autre cellule avec un allèle **muté m2** et un allèle **sauvage M1** (pas le même gène).



Ici, **m1** s'apparie avec **M1**, et **M2** s'apparie avec **m2**.

Ici, il y a complémentation car le phénotype de la cellule hybride est sauvage, les 2 mutations appartiennent à 2 groupes de complémentation distincts, elles ne sont pas allèles.

**Cas particulier** : Il peut y avoir complémentation si les 2 allèles mutés appartiennent au même gène

→ On parle de suppression intragénique

Prenons une protéine homodimérique (composée de 2 sous-unités identiques) :

L'allèle **m1** muté code pour une sous-unité non fonctionnelle de la protéine.  
L'allèle **m2** muté code pour l'autre sous-unité non fonctionnelle de la protéine.

Grâce au phénomène de suppression intragénique, ces 2 sous unités non fonctionnelles de protéine se révèlent complémentaires lors de l'hybridation des 2 cellules : on restaure un phénotype sauvage.

**Attention :** Avec ce cas particulier, si on restaure un phénotype sauvage, on peut **DEMONTRER** que les 2 mutations appartiennent à 2 groupes de complémentation distincts, mais on peut seulement **SUGGERER** que les 2 mutations ne sont pas allèles.

En revanche, s'il n'y pas complémentation, on **DEMONTRE** que nos 2 mutations appartiennent au même groupe de complémentation.

### C) Transgénèse

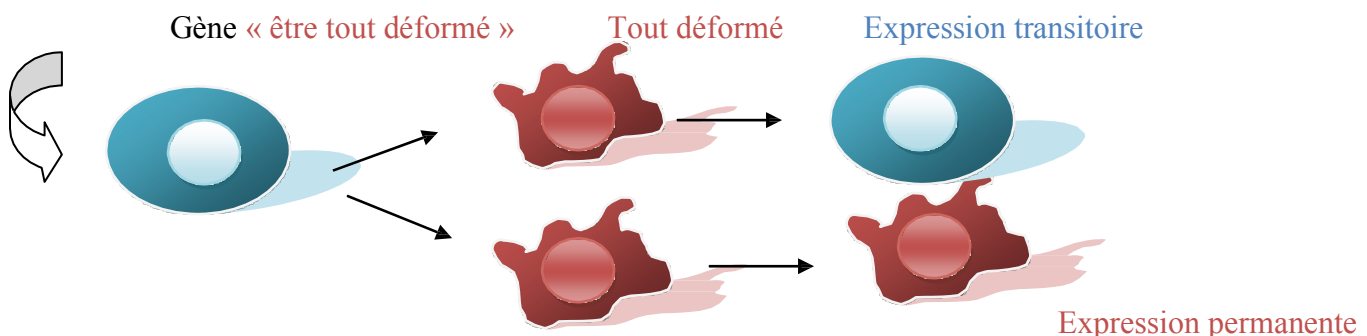
Objectif : Amener une cellule à **exprimer un gène précis** qu'elle ne possède pas naturellement

Comment : On utilise les mêmes méthodes que pour introduire un fluorochrome

**!! Deux possibilités : Expression TRANSITOIRE ou PERMANENTE !!**

**Transitoire :** le gène va jusqu'au noyau où il est reconnu, transcrit, traduit à fonction prévue mais il ne s'intègre **pas totalement** à la cellule. Il est perdu au bout de quelques divisions

**Permanente :** non seulement le gène rentre jusqu'au noyau et est exprimé, mais surtout il **s'INTEGRE totalement** à l'ADN de la cellule. PLUS RARE



### Sélection des expressions permanentes :

On ajoute au gène que l'on veut intégrer un gène de **résistance à un antibiotique**.  
On place toutes les cellules qui ont intégré le gène en présence d'antibiotique, celles qui survivent à long terme sont celles qui ont intégré le transgène de façon permanente.

### **!!! Deux types d'expression permanente : ILLEGITIME ou CIBLE !!!**

Illégitime : (=au hasard) pas d'homologie de séquence et l'ADN passager est intégré n'importe où dans le génome

Ciblée : (= homologue) la recombinaison se fait au niveau de séquences identiques entre le receveur et l'ADN intégré \* ++ intéressant mais **TRES rare**