

UTILISER DES TECHNIQUES : Utiliser un logiciel de traitement de l'information (**ANAGÈNE**)

Comparaison des séquences nucléiques mutées avec à la séquence de référence CFTR-cds

CFTR-R553X : **substitution** au 1657e nucléotide d'une **cytosine** par une **thymine**

CFTR-DeltaF508 : **délétion** de 3 nucléotides **TTT** à partir du 1522e nucléotide,

Comparaison des séquences primaire des protéines,

CFTR-R553X : protéine écourtée de **553 acides aminés** au lieu de 1481 acides aminés.

CFTR-DeltaF508 : protéine écourtée de **1 480 acides aminés** au lieu de 1481 acides aminés

Dans ce TP, le moyen le plus judicieux de présenter son travail est le tableau à double entrée.

Comparaison des séquences nucléiques et primaires du gène CFTR et de ses mutants

séquences allèles	Séquences nucléiques		Séquences primaires (protéine)		
	Nombre de nucléotides	Nature et position de la mutation	Nature du changement	Position dans la séquence	Nombre d'acides aminés
Allèle normal	4 443				1481
CFTR-DeltaF508	4 440	délétion 1522 ^e : -TTT	Phe → Gly	509 ^e	1480
CFTR-R553X	4 443	substitution 1657 ^e : C→T	Apparition d'un codon stop	554 ^e	553

Le génotype des membres de cette famille

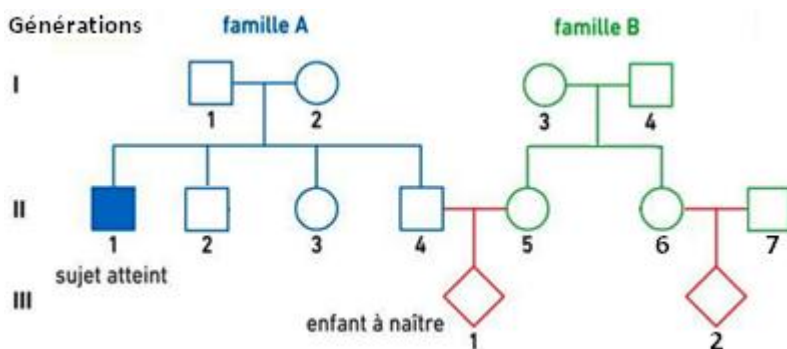
Individus allèles	Père : I-1	Mère : I-2	Fils 1 (II-1)	Fils 2 (II-2)
CFTR-cds				
CFTR-DeltaF508				
CFTR-R553X				

RAISONNER : Analyse génétique à partir d'un arbre généalogique

Le risque pour un couple d'avoir un enfant atteint d'une **maladie récessive autosomique** est égal à :

La probabilité que la mère porte l'allèle récessif x la probabilité que le père porte l'allèle récessif x la probabilité que le fœtus soit homozygote récessif

Document 1 : Arbre généalogique de familles touchées par la mucoviscidose



Échiquier de croisement du couple I-1 x I-2

Gamètes I-1 \ Gamètes I-2	N	m
N	(N//N)	(N//m)
m	(N//m)	(m//m)

1. Écrire le génotype de l'enfant II-1 et des ses parents I-1 et I-2.

Raisonnement complet : L'individu II-1 est atteint de mucoviscidose alors que ses parents I-1 et I-2 ne le sont pas. Il a donc reçu au moins un allèle muté de l'un de ses parents. Si l'allèle muté était dominant, le parent donneur serait lui-même atteint par la maladie. Par conséquent, l'allèle muté **m** est récessif et donc l'individu II-1 est obligatoirement **homozygote (m//m)** : ses parents sont chacun porteurs d'un allèle muté, ils sont **hétérozygotes (N//m)**.

2. Quelle était la probabilité pour que l'enfant II-1 ait été atteint de mucoviscidose

Ses parents étant hétérozygotes pour le gène qui code pour une protéine CFTR mutée, et en considérant que la mucoviscidose est une maladie récessive, sa chance d'être atteint par la maladie était de $\frac{1}{4}$ (Cf. échiquier de croisement).

3. Quelle est la probabilité pour que l'enfant II-4 soit hétérozygote ?

L'enfant II-4 étant sain, la probabilité qu'il soit porteur d'un gène muté est de $\frac{2}{3}$.

4. Calculer le risque que l'enfant III-1 soit atteint.

La probabilité que le père II-4 soit porteur l'allèle récessif : $\frac{2}{3}$

La mère II-5 n'ayant pas d'antécédents connus dans sa famille, la probabilité qu'elle soit hétérozygote est de $\frac{1}{27}$. Le risque est donc de : $\frac{2}{3} \times \frac{1}{27} \times \frac{1}{4} = \frac{2}{324} = \frac{1}{162}$

5. Calculer le risque que l'enfant III-2 soit atteint.

Les deux parents n'ayant pas d'antécédents connus dans leur famille respective, la probabilité que chacun soit porteur d'un allèle muté est : $\frac{1}{27}$. Par conséquent le risque est : $\frac{1}{27} \times \frac{1}{27} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{2916}$.

6. La mucoviscidose est une maladie *monogénique, autosomique, récessive*. Définir les termes en *italiques*.

Monogénique : dont la mutation ne concerne qu'un seul gène. Ici, le gène qui code pour une protéine CFTR qui est un canal à sodium.

Autosomique : la mutation est portée par un chromosome qui n'est pas un chromosome sexuel (la maladie n'est pas « liée au sexe »).

Récessive : pour que l'individu développe les symptômes de la maladie il faut qu'il soit homozygote pour l'allèle muté.

BILAN

On cherche expliquer l'origine de la mucoviscidose dans cette famille et à évaluer le risque d'être atteint pour un enfant à naître.

La **mucoviscidose** est classiquement considérée comme la plus fréquente des maladies génétiques graves de l'enfant dans les populations d'Europe du nord ouest et d'Amérique du nord. Elle est liée à la production d'une protéine CFTR qui intervient dans l'expulsion des ions Cl⁻ hors de la cellule. Cette perte de fonction entraîne l'apparition d'un mucus épais qui encombre les voies respiratoires, digestives et les canaux déférents chez l'homme.

Nous allons montrer par l'analyse de l'arbre généalogique de cette famille que la mucoviscidose est une maladie héréditaire et par là-même nous serons capable de calculer le risque de l'enfant à naître III-1 d'être atteint.

1. Origine de la maladie chez l'individu II-1

L'individu II-1 est atteint alors que ses parents ne le sont pas. On peut alors émettre l'hypothèse que la mucoviscidose est une maladie **récessive**. Par conséquent, pour être atteint, l'individu doit être **homozygote**, c'est-à-dire être porteur en double exemplaire de l'allèle muté. Si c'est le cas, il a reçu par fécondation un allèle muté de chacun de ses parents qui eux, sont **hétérozygotes** c'est-à-dire expriment le phénotype « porteur sain ».

On peut donc écrire les génotypes des 3 membres de la manière suivante : I-1 et I-2 (N//m), II-1 (m//m). Possibilité de faire un échiquier de croisement.

L'analyse en détail des séquences nucléotidiques du gène CFTR permet de constater que le père I-1 est porteur de la **mutation CFTR-R553X** et la mère, I-2 de la mutation CFTR-DeltaF508. Les génotypes peuvent donc être précisés : I-1 (N// R553X), I-2 (N// DeltaF508), et II-1 (DeltaF508 // R553X).

Ce qu'il faut retenir : Il n'existe pas une mutation du gène CFTR mais plusieurs, chacune ayant des conséquences plus ou moins graves sur le phénotype de la mucoviscidose.

Cette mutation (DeltaF508 // autre mutation) représente 40% des cas de mucoviscidose détectés et c'est une mutation sévère de classe II entraînant un non repliement de la protéine après sa synthèse ce qui explique les graves troubles que nous avons décrits.

2. Quels sont les risques de l'enfant III-1 d'être atteint ?

Du côté paternel, l'enfant à naître a un oncle atteint. Du côté maternel, aucun antécédent de mucoviscidose n'est connu. Pour connaître le risque, il faut appliquer la formule suivante :

Probabilité que la mère porte l'allèle récessif x probabilité que le père porte l'allèle récessif x probabilité que le fœtus soit alors homozygote récessif

D'après l'échiquier de croisement réalisé dans la famille du père II-4, celui-ci étant sain a **2 chances sur 3 d'être porteur de l'allèle muté** (hétérozygote). La mère étant elle aussi saine, a d'après les informations, **1 chance sur 27**.

Le risque est donc : $\frac{2}{3} \times \frac{1}{27} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{162}$

GRAND ORAL : LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

Selon leur impact sur la fonction de la protéine, on considère de façon un peu schématique que les mutations peuvent être classées en « mutations sévères » où l'on range les mutations de classe 1, 2 et 3, ou en « mutations peu sévères » où l'on retrouve les mutations de classe 4 et 5.

Les mutations dites sévères sont associées, sur le plan phénotypique, à une insuffisance pancréatique et à une atteinte pulmonaire qui débute dans l'enfance. Ce sont les formes de présentation classique de la maladie et les patients homozygotes $\Delta F508del$ en sont les exemples les plus fréquemment rencontrés.

Au-delà des mutations portées par le patient, la variabilité de l'expression de la maladie est aussi largement influencée par des facteurs d'environnement (tabagisme, pollution, facteurs socio-économiques, compliance au traitement, ...) et par d'autres facteurs génétiques que l'on appelle des gènes modificateurs (gènes impliqués dans la réponse immunitaire, dans l'inflammation, ...).

Devant un tableau clinique de suspicion de mucoviscidose, la première étape, la plus simple, est de rechercher la présence de mutations fréquentes. Pour ce faire, il existe aujourd'hui de nombreux kits qui permettent de dépister en quelques heures une trentaine de mutations du gène, mutations qui sont les plus fréquemment rencontrées dans le monde. L'étude de ces 30 mutations permet, dans 60 % des cas, d'établir le génotype du patient. Les deux mutations sont alors identifiées ; elles sont soit identiques et le patient est homozygote pour la mutation considérée, soit différentes et le patient est dit « hétérozygote composite ».

Si le génotype est incomplet parce qu'il manque une ou deux mutations, l'étude du gène est poursuivie par une technique dite de balayage*, qui permet au niveau de chacun des exons* du gène de mettre en évidence la présence d'une anomalie moléculaire confirmée par une réaction de séquençage*. Au terme de ce balayage complet des 27 exons du gène, les 1800 mutations sont recherchées et s'il reste encore un allèle non identifié, il faut mettre en place une technique de recherche de grand réarrangement (délétion/duplication). Ces anomalies rendent compte de 2 % des anomalies du gène CFTR. Au terme de cette recherche, il reste environ 1 à 2 % des sujets atteints de mucoviscidose (selon l'origine géographique ou ethnique) pour lesquels au moins une mutation n'est pas caractérisée. Il est probable qu'il s'agit chez ces patients de mutations concernant les introns* ou de mutations situées dans les régions régulatrices du gène.

Les termes avec une * devront être définis et approfondis.

