

Génétique

Génétique

Théorie, analyse et ingénierie

5^e édition

Jean-Louis Serre

Professeur émérite de l'université de
Versailles-St-Quentin-en-Yvelines

Sébastien Gaumer

Maître de conférences à l'université de
Versailles-St-Quentin-en-Yvelines

Sophie Netter

Maître de conférences à l'université de
Versailles-St-Quentin-en-Yvelines

DUNOD

À nos maîtres,
passionnés par la génétique
et son enseignement.
À nos brillants élèves
qui trouveront leur place
dans cette généalogie.

NOUS NOUS ENGAGEONS EN FAVEUR DE L'ENVIRONNEMENT :

- 
- Nos livres sont imprimés sur des papiers certifiés pour réduire notre impact sur l'environnement.
- 
- Le format de nos ouvrages est pensé afin d'optimiser l'utilisation du papier.
- 
- Depuis plus de 30 ans, nous imprimons 70 % de nos livres en France et 25 % en Europe et nous mettons tout en œuvre pour augmenter cet engagement auprès des imprimeurs français.
- 
- Nous limitons l'utilisation du plastique sur nos ouvrages (film sur les couvertures et les livres).

© Dunod, Paris, 2001, 2004, 2006, 2012, 2018, 2024
pour la nouvelle présentation
11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com
ISBN 978-2-10-087228-2

Table des matières

Avant-propos	XIII
Partie 1	
Concepts de base et exercices corrigés	1
1 L'émergence de la génétique	2
1. Les travaux de Mendel	3
1.1 La loi de pureté des gamètes	3
1.2 La combinatoire régissant la transmission de plusieurs caractères	5
2. La théorie chromosomique de l'hérédité	6
3. Le vocabulaire scientifique de la génétique	7
3.1 Le caractère	7
3.2 Le phénotype sauvage et la souche sauvage de référence	8
3.3 Quelle est la définition du gène à ce stade ?	9
3.4 La dominance et la récessivité	10
L'essentiel	12
2 L'analyse génétique des mutants par croisement avec sauvage	13
1. Éléments clés de l'analyse génétique	13
2. Principe du test de ségrégation 2/2 appliqué à l'analyse d'un mutant	16
3. La levure et la drosophile	17
3.1 La levure	17
3.2 La drosophile	19
4. Exemple d'analyse génétique de croisement mutant x sauvage chez la levure	20
5. Exemple d'analyse génétique de croisement mutant x sauvage chez la drosophile	22
6. L'hérédité liée à l'X	24
7. Dysfonctionnements de la méiose	25
L'essentiel	27
Entraînez-vous	28
Solutions	35

3	L'analyse de la recombinaison génétique	51
1.	Gamètes parentaux et gamètes recombinés	52
2.	La recombinaison génétique par brassage inter-chromosomique	53
3.	La recombinaison génétique par crossing-over et ses conséquences	55
4.	Mesure de la distance génétique et cartographie des gènes	58
4.1	Distances en unités de recombinaison	58
4.2	Distance génétique en centi-Morgan ou distance de Haldane	59
5.	Exemple d'analyse de la recombinaison génétique chez la levure	61
6.	Exemple d'analyse de la recombinaison génétique chez un diplobionte	64
6.1	Considérations générales	64
6.2	Illustration par croisement F1 × F1 chez une variété de Fuschia	64
6.3	Illustration par testcross chez une variété de Fuchsia	67
6.4	Cas de deux gènes impliqués dans un même caractère	68
7.	Exemple d'analyse de la recombinaison génétique chez la drosophile	69
7.1	Considérations générales	69
7.2	Cas de deux gènes physiquement indépendants	69
7.3	Cas de deux gènes physiquement liés pour une F2 issue d'un croisement F1 × F1	69
	L'essentiel	72
	Entraînez-vous	73
	Solutions	79
4	L'analyse de tétrades	103
1.	Ascomycètes, asques et tétrades	103
2.	La pré- et la post-réduction	104
3.	La distance du locus d'un gène à son centromère	109
4.	L'étude de l'indépendance et de la liaison génétique par l'analyse de tétrades	111
4.1	Analyse de tétrades pour deux gènes physiquement indépendants	111
4.2	Analyse de tétrades pour deux gènes physiquement liés	115
4.3	Domaine de variation des trois types de tétrades pour deux gènes physiquement liés	118
4.4	L'analyse de tétrades et la correction de la distance génétique	120

5. L'analyse de tétrades et le test de l'indépendance physique	122
6. La conversion génique	123
6.1 Mise en évidence du phénomène	123
6.2 Interprétation moléculaire de la conversion génique	126
L'essentiel	131
Entraînez-vous	132
Solutions	140

5 L'analyse génétique fonctionnelle : complémentation fonctionnelle et dominance/récessivité	149
1. La définition fonctionnelle du gène : la découverte de la relation un gène/une enzyme	150
2. L'approche formelle et factorielle de la dominance	151
3. La complémentation fonctionnelle et le test d'allélisme	153
3.1 Croisement des mutants par la souche SSR : test de dominance/récessivité	153
3.2 Analyse génétique de la méiose chez les diploïdes issus du croisement mutant \times SSR	154
3.3 Croisements entre souches mutantes : test de complémentation fonctionnelle et test d'allélisme	154
3.4 Les groupes de complémentation et le dénombrement des gènes	157
3.5 La complémentation fonctionnelle est un outil de croisement et d'analyse génétique	158
3.6 Les exceptions à la complémentation fonctionnelle	158
4. Interprétation fonctionnelle et moléculaire de la dominance et la récessivité	160
4.1 Les différentes mutations possibles d'un gène et leurs conséquences fonctionnelles	161
4.2 Interprétation fonctionnelle et moléculaire de la dominance et la récessivité	165
L'essentiel	168
Entraînez-vous	169
Solutions	177

6 La cartographie et carte fine des gènes	184
1. Cartographie des gènes et du génome	184
2. L'assignation ou localisation chromosomique	185

3. La cartographie par analyse de liaison génétique	186
4. La cartographie par délétion	187
4.1 Cartographie par délétion des sites de mutation d'un gène	187
4.2 Différences entre mutants par délétion et mutants ponctuels multiples	188
5. La cartographie fine par test multipoint	189
6. La cartographie chez la drosophile par utilisation de chromosomes balanceurs	191
6.1 Les chromosomes balanceurs de la drosophile	191
6.2 Utilisation des balanceurs pour suivre des mutations de phénotype récessif	192
6.3 Utilisation des balanceurs pour l'assignation chromosomique des gènes chez <i>Drosophila</i>	192
L'essentiel	194
Entraînez-vous	195
Solutions	199
7 Analyse génétique des révertants et des supresseurs	204
1. Les révertants phénotypiques	204
2. Analyse génétique formelle des révertants	207
2.1 Taux de réversion	207
2.2 Mise en évidence d'une mutation supresseur chez un révertant	207
2.3 Test de dominance-récessivité d'un supresseur	211
2.4 Test de complémentation fonctionnelle entre supresseurs récessifs	212
2.5 Propriétés génétiques formelles des supresseurs	213
3. Analyse fonctionnelle et moléculaire des révertants et des supresseurs	217
3.1 Analyse et interprétation moléculaire des révertants de première classe ou de certains révertants de seconde classe avec un supresseur très lié	218
3.2 Les supresseurs informationnels	222
3.3 Les supresseurs fonctionnels	224
4. Conclusions	228
L'essentiel	229
Entraînez-vous	230
Solutions	238

8	Sélection et construction de mutants	250
1.	De la nécessité de disposer de mutants	250
2.	Sélection de mutants	251
2.1	Mutants spontanés et mutants induits	251
2.2	Mutants de gain de fonction phénotypique	252
2.3	Mutants de perte de fonction phénotypique	253
2.4	Mutants indépendants	255
2.5	Mutants létaux conditionnels	255
2.6	Sélection de mutants létaux à l'aide de chromosomes balanceurs chez la drosophile	256
3.	Construction de mutants par génie génétique	258
3.1	Principe de la construction de mutants et de la génétique inverse	258
3.2	Mutagenèse ciblée	258
3.3	Transformation répllicative ou intégrative	259
3.4	Principe de construction de souris KO pour un gène	261
3.5	Construction de lignées transgéniques par transformation de la lignée germinale avec un élément <i>P</i> chez la drosophile	262
3.6	Obtention de mutants par transgenèse à l'élément <i>P</i> chez la drosophile	263
	L'essentiel	264
	Entraînez-vous	266
	Solutions	281
9	La génétique bactérienne conjugaison, transduction, transformation	291
1.	Un autre monde, une autre génétique	291
2.	Mécanismes bactériens de substitution ou de complément de l'information génétique endogène	292
2.1	La conjugaison	293
2.2	La transduction	297
2.3	La transformation	298
3.	La sexduction et l'opéron lactose	299
	L'essentiel	306
	Entraînez-vous	307
	Solutions	310

Partie 2

Problèmes corrigés	315
10 Problèmes de génétique chez la levure	316
11 Problèmes de génétique chez la drosophile	356
12 Problèmes de génétique bactérienne	385
Index	413

À la découverte de votre livre

1 Ouverture de chapitre

Elle donne :

- une introduction aux sujets et aux problématiques abordés dans le chapitre
- un rappel des objectifs pédagogiques
- le plan du chapitre

Chapitre 1 L'émergence de la génétique

Introduction
L'émergence de la génétique doit à la biologie cellulaire et à l'histologie, en particulier à la biologie animale, un cadre théorique et expérimental qui a permis de poser les questions fondamentales de la génétique. Fort de ces acquis, le chapitre 1 se propose de :

- 1. de rappeler le rôle prépondérant de l'organisme de laboratoire dans la génétique ;
- 2. d'expliquer comment l'analyse génétique a permis de découvrir les lois de Mendel et de comprendre comment les gènes sont transmis ;
- 3. de présenter les bases de la génétique moléculaire, en particulier les notions de gène, de chromosome et de cellule ;
- 4. de présenter les bases de la génétique humaine, en particulier les notions de gène, de chromosome et de cellule ;
- 5. de présenter les bases de la génétique humaine, en particulier les notions de gène, de chromosome et de cellule ;

Objectifs
À l'issue de ce chapitre, l'étudiant sera capable de :

- 1. expliquer comment l'analyse génétique a permis de découvrir les lois de Mendel et de comprendre comment les gènes sont transmis ;
- 2. présenter les bases de la génétique moléculaire, en particulier les notions de gène, de chromosome et de cellule ;
- 3. présenter les bases de la génétique humaine, en particulier les notions de gène, de chromosome et de cellule ;

Plan
1. Les bases de Mendel
2. Les bases de la génétique humaine
3. Les bases de la génétique moléculaire

2 Le cours

Le cours, concis et structuré, expose le programme. Il donne :

- un rappel des notions clés
- des schémas pour maîtriser le cours
- des exemple reliés au cours

Partie 1 • Concepts de base et exercices corrigés

Partie 2 • Exemples de cas et exercices corrigés

Exemple de cas : le phénotype
Le phénotype est l'ensemble des caractéristiques observables d'un individu. Il est déterminé par l'interaction entre le génotype (l'ensemble des gènes) et l'environnement. Les gènes influencent le phénotype en produisant des protéines qui jouent un rôle dans la structure et la fonction des cellules et des tissus.

Exercice corrigé 1
Un individu est affecté d'une maladie génétique. Les parents sont sains. Quelle est la probabilité que l'enfant soit également affecté ?

Exercice corrigé 2
Un individu est affecté d'une maladie génétique. Les parents sont affectés. Quelle est la probabilité que l'enfant soit également affecté ?

Tableau 1.1 Les bases de la génétique humaine

Caractéristique	Homme	Femme
Nombre de chromosomes	46	46
Nombre de chromosomes sexuels	XY	XX
Nombre de chromosomes autosomes	22 paires	22 paires
Nombre de chromosomes sexuels	1 X, 1 Y	2 X

3 En fin de chapitre

- L'essentiel : les points clés pour réviser les connaissances essentielles
- Des exercices corrigés

L'essentiel

- Les points clés du chapitre
- Les bases de la génétique humaine
- Les bases de la génétique moléculaire
- Les bases de la génétique humaine

Entraînez-vous

Exercice 2.1
Un individu est affecté d'une maladie génétique. Les parents sont sains. Quelle est la probabilité que l'enfant soit également affecté ?

Exercice 2.2
Un individu est affecté d'une maladie génétique. Les parents sont affectés. Quelle est la probabilité que l'enfant soit également affecté ?

Exercice 2.3
Un individu est affecté d'une maladie génétique. Les parents sont affectés. Quelle est la probabilité que l'enfant soit également affecté ?

4 En fin d'ouvrage

- Des problèmes corrigés
- Un index**

Chapitre 10 Problèmes de génétique chez la levure

Index

A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
Q
R
S
T
U
V
W
X
Y
Z

Avant-propos

La place de la génétique dans la biologie rend son enseignement incontournable dès le secondaire. Cependant cet enseignement est confronté à de nombreuses difficultés pédagogiques, dont la simple définition du gène n'est pas la moindre !

Pour bien comprendre la génétique (ou l'enseigner), il importe de bien faire la distinction entre la génétique en tant que science ou théorie et la génétique en tant qu'outil d'investigation, ce que les généticiens appellent l'*analyse génétique*.

Comme toute science, la génétique est un ensemble de représentations mentales d'objets et de phénomènes de la Nature, représentations mentales qui résultent de l'imagination de l'homme, contrainte par la raison appliquée à l'analyse des observations ou des résultats expérimentaux. Ces représentations mentales évoluent avec le temps et l'accumulation des connaissances, se précisant ou étant parfois complètement bouleversées. Les objets qui sont au centre de la génétique, en tant que science sont le gène, sa structure, sa fonction, ses mécanismes d'expression, de régulation, d'action concertée ou en cascade, et permettent d'expliquer comment les structures cellulaires et les organismes se construisent et fonctionnent.

Pour étudier les objets et les phénomènes qui l'intéressent, la génétique a développé un outil, l'analyse génétique, c'est-à-dire un ensemble de protocoles par lesquels elle se pose des questions simples, relatives aux gènes impliqués dans un phénomène biologique quel qu'il soit, et par lesquels elle obtient des réponses. L'analyse génétique qui a été fondée par Mendel (plus que la génétique proprement dite) est l'*analyse génétique par croisements* de toutes sortes qui seront décrits et mis en pratique dans cet ouvrage. Avec le développement de la biologie moléculaire dans les années 1970, est apparue l'*analyse génétique par transformation ou transgénèse (génie génétique)*. Il s'agit là de protocoles visant à étudier la fonction des gènes et leur fonctionnement plus directement, souvent à l'échelle moléculaire, en les mettant, par transgénèse au sein d'un contexte adapté à cette analyse, dans des organismes unicellulaires, ou des cellules, ou des organismes qui sont ainsi génétiquement transformés ou modifiés.

L'importance de la génétique provient de sa capacité à unifier des domaines de la biologie apparemment éloignés comme l'embryologie et la cancérologie, ou de permettre une dissection causale, cellulaire, voire moléculaire, de phénomènes globaux comme une pathologie ou tout autre phénomène biologique. Cette capacité vient de la méthode même de l'analyse génétique qui permet d'isoler puis d'étudier des mutants chez lesquels un seul des gènes impliqués dans ce phénomène est muté, ce qui conduit à l'identification progressive de tous ces gènes, puis de leur fonction.

De l'efficacité de la génétique dans la recherche fondamentale, il résulte obligatoirement des applications dans l'agronomie, l'environnement, la médecine, bientôt l'industrie, dont le retentissement économique, culturel et éthique est considérable. On comprend

aisément, dans ces conditions, la médiatisation qui entoure la génétique et ses résultats, et, hélas, ses dérives.

Apprendre la génétique est une démarche qui associe la compréhension de concepts théoriques à la pratique expérimentale de leur mise en œuvre, au moins à travers des exercices.

Le but de cet ouvrage n'est pas d'offrir un cours complet de génétique alors que d'autres ouvrages s'y sont parfois très bien employés et que le cours de l'enseignant s'avère toujours irremplaçable*¹, mais d'offrir aux étudiants déjà à l'aise avec les rudiments de la génétique (prépa, PACES, licence, Capes, agrégation...) ou aux enseignants de Sciences de la Vie et de la Terre du second degré, le moyen de parfaire leur compréhension. Le but de cet ouvrage est donc de proposer un véritable outil d'apprentissage de l'analyse génétique, celle qu'on apprend en TD, celle qu'on exige à l'examen et qu'on pratique au laboratoire.

Cette cinquième édition a été profondément remaniée. La recomposition et la réécriture des premiers chapitres présentent un contenu plus homogène et plus didactique, où l'approche théorique des concepts fondamentaux est illustrée par des exemples détaillant l'analyse génétique. Comme dans les éditions précédentes, les solutions des exercices sont rédigées avec la rigueur nécessaire pour éviter les pièges dans lesquels pourrait conduire l'application de « recettes ».

Par ailleurs, du fait de l'importance de la drosophile dans la recherche fondamentale, une présentation plus complète de cet organisme modèle et des outils génétiques disponibles ont été intégrés, grâce à l'association de deux nouveaux auteurs, enseignants chercheurs, **Sophie Netter** et **Sébastien Gaumer**.

Cette cinquième édition se présente donc avec un gain de contenu important, une rédaction plus concise, plus didactique et de nombreux exercices nouveaux, intégrant les aspects les plus récents des biotechnologies et des méthodes d'analyse en génétique formelle ou moléculaire.

1. Pour une approche simplifiée et illustrée des concepts de bases et des mécanismes génétiques, on peut consulter l'ouvrage *Génétique, Maxifiches* par J.L. Serre et L. Blottière, DUNOD, 2^e édition, 2016.

Partie 1

**Concepts de
base et exercices
corrigés**

L'émergence de la génétique

Introduction

En montrant ce que la génétique doit à la biologie cellulaire ou l'horticulture, ce chapitre illustre le fait que l'émergence d'un nouveau domaine scientifique est conditionnée par le développement nécessaire d'autres disciplines, non seulement pour définir ses objets et ses méthodes mais aussi pour dépasser présupposés et préjugés. En effet, pour une bonne compréhension de la génétique, il est souhaitable de montrer :

- les modalités et la progressivité de l'émergence des concepts fondamentaux de la génétique ;
- l'importance de la démarche *a priori* de Mendel qui forge, même imparfaitement, les principaux concepts de l'analyse génétique ;
- la faible valeur explicative de sa théorie, en l'absence d'une base matérielle, la ploïdie et la méiose, qui viendra seulement à la fin du siècle ;
- l'apport déterminant de la biologie cellulaire à la génétique et de l'émergence de celle-ci comme champ disciplinaire distinct dans la biologie ;
- l'ambiguïté de certains termes de la génétique formelle, comme « caractère », en montrant l'articulation entre les concepts introduits par Mendel et l'évolution plus ou moins importante de ces concepts, lors du développement de la génétique au début du siècle (passage de caractère à gène et allèles ou relation génotype/phénotype).

Objectifs

Connaître les notions de caractère, de phénotype et génotype, de gènes et allèles, de diploïdie et haploïdie, de dominance et récessivité.

Identifier ce que la génétique doit à Mendel et ce qu'elle doit à ses successeurs.

Définir les principes de base de l'analyse génétique par les croisements posés par Mendel.

Expliquer en quoi le développement de la théorie cellulaire avec la mise en évidence de la mitose et de la méiose, après la disparition de Mendel, a permis de conforter la théorie mendélienne de l'hérédité.

Plan

- 1 Les travaux de Mendel
- 2 La théorie chromosomique de l'hérédité
- 3 Le vocabulaire scientifique de la génétique

1 Les travaux de Mendel

Les travaux de Mendel sont caractérisés par le fait qu'ils constituent une réinterprétation théorique de faits antérieurement connus, pour ce qui concerne le pois *Pisum sativum*, décrits notamment par les hybrideurs anglais Seton et Goss (encart 1.1, A). Ils avaient observé la dominance du « caractère » (aujourd'hui les généticiens utilisent le terme phénotype, voir plus loin) jaune sur le vert chez les « hybrides » issus de croisements entre souches pures jaunes et vertes, puis l'hétérogénéité des descendants, issus par autofécondation des hybrides, avec des graines jaunes « pures » donnant des plantes exclusivement à pois jaunes, ou des graines vertes « pures » donnant des plantes exclusivement à pois verts, ou des graines jaunes encore « hybrides » puisqu'elles donnaient des plantes présentant de nouveau un mélange de pois jaunes et verts.

1.1 La loi de pureté des gamètes

L'approche « phénoménologique » de Seton et Goss est réinterprétée par Mendel (encart 1.1, B), sur la base d'une conception factorielle et combinatoire de l'hérédité et d'un principe, la « loi de pureté des gamètes », fondé sur l'interprétation quantitative des observations, à travers une combinatoire simple dans le croisement des gamètes.

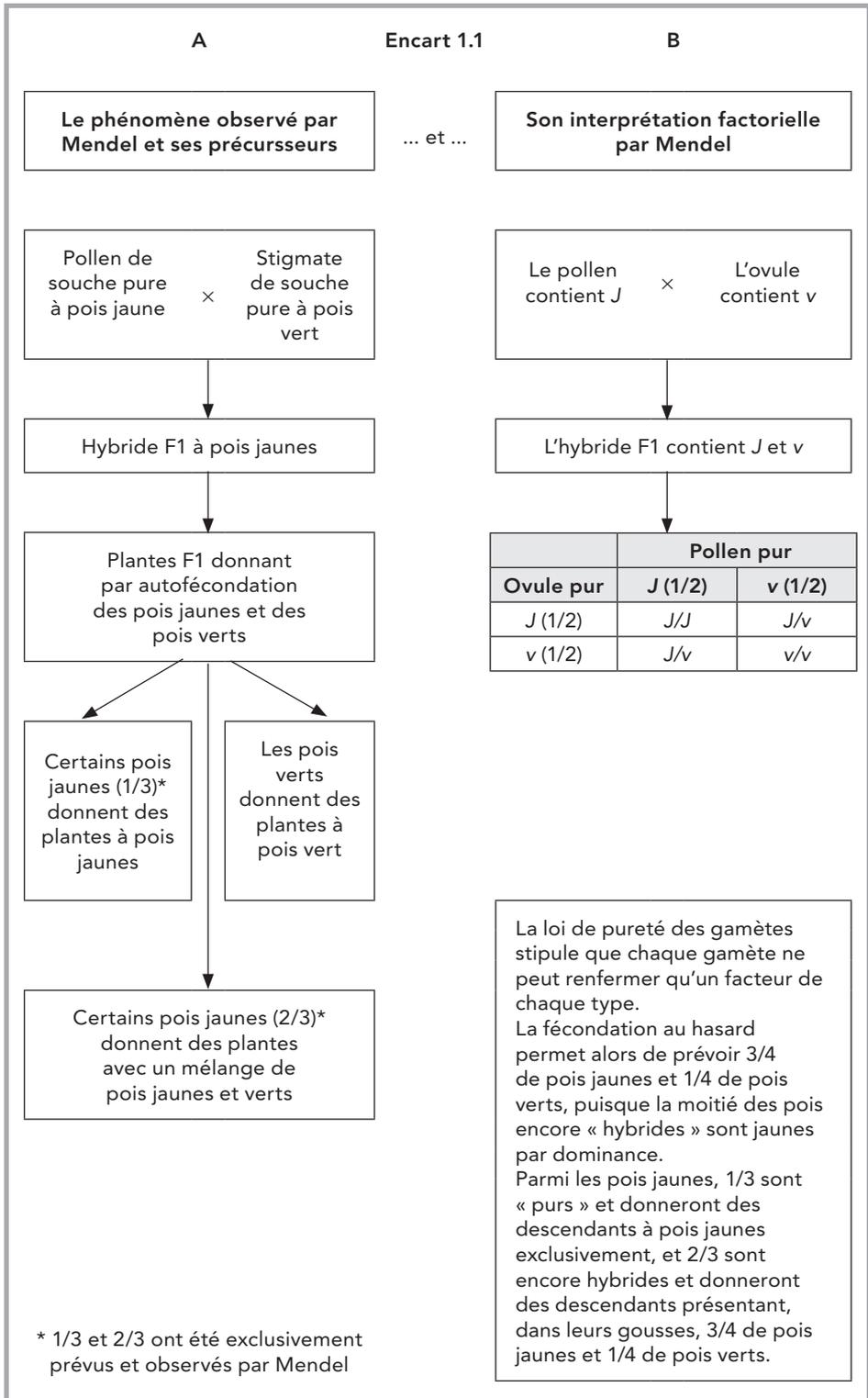
Pour Mendel un pois est jaune parce qu'un facteur J en est la cause ; de la même façon, un pois est vert parce qu'un facteur v en est la cause. Il ne s'occupe nullement de savoir ce que sont ces facteurs ni quel est leur mode d'action. Il ne s'intéresse qu'à leur comportement au cours des générations.

Il constate simplement, sans l'expliquer, que les pois hybrides sont jaunes, que le « caractère » jaune est donc « dominant » et que le « caractère » vert est dit « récessif » (chez Mendel, le terme de caractère est ambigu parce qu'il recouvre tantôt ce qui sera plus tard appelé « allèle », comme dans les tableaux de croisement des gamètes, tantôt ce qui sera appelé « phénotype », le résultat observable de l'effet joint de deux allèles pour chaque gène considéré).

Il constate aussi que l'hybride, bien que jaune comme l'un des deux parents, doit contenir les deux facteurs parentaux J et v , puisque des pois verts réapparaissent dans la descendance.

C'est parce qu'*a priori* Mendel conçoit l'hérédité comme factorielle, et le comportement de ces facteurs comme le résultat d'une combinatoire, qu'il émet la loi de pureté des gamètes qui rend si bien compte des fréquences des caractères chez les descendants F2 de l'hybride F1 (3/4 de pois jaunes et 1/4 de pois verts), et des fréquences relatives de 1/3 de pois jaunes purs ou 2/3 de pois jaunes encore hybrides (encart 1.1, B).

Il est intéressant de noter que Mendel, après avoir noté les descendants F2 comme dans notre tableau, c'est-à-dire 1/4 de J/J + 1/2 de J/v + 1/4 de v/v , simplifie immédiatement cette notation en écrivant 1/4 de J + 1/2 de J/v + 1/4 de v , montrant bien l'absence totale, à l'époque, du concept de ploïdie (gamètes haploïdes et zygotes diploïdes).



C'est pourquoi la loi de pureté des gamètes de Mendel semble si « gratuite », si peu réelle aux yeux des biologistes de l'époque, alors qu'elle prendra toute sa signification quand les découvertes de la mitose et de la méiose lui donneront une base cytologique objective, expliquant le comportement des facteurs héréditaires par celui des chromosomes qui leur servent de support.

1.2 La combinatoire régissant la transmission de plusieurs caractères

Pour valider sa théorie factorielle et combinatoire, Mendel a conçu des expériences de dihybridisme ou de trihybridisme, où était suivie la transmission héréditaire de deux ou trois « paires de caractères », chacune se comportant selon le modèle développé plus haut [NB : le terme caractère a un autre sens aujourd'hui].

Il montre ainsi que l'étude de la descendance d'hybrides différant pour deux couples de « caractères » jaune/vert et lisse/ridé, donne bien, pour chacun d'entre eux, à l'issue de la F1, 3/4 de jaunes et 1/4 de verts, et 3/4 de lisses et 1/4 de ridés, mais que partant de souches parentales pures jaunes et lisses d'une part, et vertes et ridées d'autre part, il obtient, sous l'hypothèse d'un assortiment indépendant de chacun des facteurs dans les gamètes, des descendants « recombinés » jaunes et ridés ou verts et lisses, dont certains sont purs. Le tableau dit de « croisement des gamètes » (tableau 1.1) montre comment l'assortiment aléatoire des « facteurs » (les allèles) dans les gamètes rend compte des proportions 9-3-3-1, parmi les phénotypes de la F2.

Tableau 1.1 Croisement des gamètes.

Une souche pure à pois lisses et jaunes, contenant les facteurs *L* et *J*, est croisée avec une souche pure à pois ridés et verts, contenant les facteurs *r* et *v*. L'hybride F1 contient les couples de facteurs *J/v* et *L/r*, ce qui permet la formation de quatre types différents de gamètes.

Types de pollen obtenu sur la base d'un assortiment indépendant des facteurs de chaque paire				
Types d'ovules	<i>J, L</i> (1/4)	<i>J, r</i> (1/4)	<i>v, L</i> (1/4)	<i>v, r</i> (1/4)
<i>J, L</i> (1/4)	[jaune et lisse]	[jaune et lisse]	[jaune et lisse]	[jaune et lisse]
<i>J, r</i> (1/4)	[jaune et lisse]	[jaune et ridé]	[jaune et lisse]	[jaune et ridé]
<i>v, L</i> (1/4)	[jaune et lisse]	[jaune et lisse]	[vert et lisse]	[vert et lisse]
<i>v, r</i> (1/4)	[jaune et lisse]	[jaune et ridé]	[vert et lisse]	[vert et ridé]
Bilan	Fréquences attendues :		[jaune et lisse] : 9/16, dont 1/9 « pur » ; [jaune et ridé] : 3/16, dont 1/3 « pur » ; [vert et lisse] : 3/16, dont 1/3 « pur » ; [vert et ridé] : 1/16, « pur ».	

Observant les fréquences attendues de phénotypes, et les fréquences relatives de « purs » parmi chacun d'entre eux, observant la répétabilité de ces fréquences sur

plusieurs expériences parallèles et indépendantes, portant sur des couples de caractères différents, Mendel pouvait considérer légitimement avoir mis en évidence la manifestation de « lois ». Celles-ci n'en demeuraient pas moins formelles et Mendel n'en concevait même pas l'universalité, pensant qu'elles relevaient du comportement des hybrides, et non, comme on le découvrira par la suite, d'un mécanisme général de l'hérédité.

Toutefois, Mendel, en tant qu'hybrideur, avait remarquablement atteint son objectif scientifique qui n'était pas la découverte des lois de l'hérédité mais simplement la mise en évidence des causes de l'instabilité connue des hybrides et aussi le moyen, malgré cette instabilité, de jouer avec la combinatoire des « caractères » à l'issue de croisements judicieux pour créer de nouvelles souches « pures » donc stables mais combinant des « caractères » (phénotypes) auparavant dispersés entre plusieurs variétés (cases en gras dans le tableau 1.1.).

Ainsi les travaux de Mendel ne seront jamais perçus, au XIX^e siècle, comme la découverte des lois biologiques de l'hérédité, mais comme un simple protocole d'horticulteur applicable à quelques espèces végétales pour y obtenir des hybrides stables.

En effet, la grande question de cette fin de XIX^e siècle est celle de l'évolution des espèces par la Sélection Naturelle proposée par Darwin, qui a développé sa propre loi de l'hérédité et se méfie, avec tous les évolutionnistes, de ce qui vient des hybrideurs dont l'ancêtre le plus illustre Carl von Linné fut un opposant déterminé au transformisme.

Par ailleurs, le « modèle scientifique » de Mendel très abstrait, assez « algébrique » et statistique s'applique sur une réalité biologique mal perçue, la formation des gamètes.

C'est cette réalité biologique que les cytologistes de la fin du XIX^e siècle vont exposer de façon concrète, par la mise en évidence de la mitose et de la méiose. En effet, l'observation du comportement des chromosomes à la méiose va fournir une base concrète et « mécanistique » au comportement des « facteurs » supposés par Mendel et qui vont s'appeler des gènes dans cette nouvelle discipline dénommée génétique à partir de l'énoncé de la théorie chromosomique de l'hérédité.

2 La théorie chromosomique de l'hérédité

W. Flemming observe, en 1879, un composant nucléaire fortement colorable qu'il nomme *chromatine*. En 1882, W. Flemming, chez la salamandre, E. Strasburger, chez plusieurs plantes et E. van Beneden, chez *Parascaris*, décrivent la mitose, au cours de laquelle la chromatine se condense en un certain nombre de blocs que W. Waldeyer nomme *chromosomes* en 1888.

Les différents stades de la méiose sont progressivement mis en évidence entre 1883 et 1905. Mais dès 1883, E. van Beneden établit la réduction chromatique, en montrant que les gamètes de *Parascaris* n'ont que deux chromosomes quand les autres cellules de l'organisme en ont quatre. En 1887, Flemming, travaillant sur le pollen, met lui aussi

en évidence la succession rapide de deux divisions à la suite desquelles le nombre de chromosomes est réduit de moitié.

Parallèlement, T. Boveri montre, en 1889, par des expériences de suppression ou d'échange de noyau chez l'oursin, l'importance capitale du noyau, non seulement dans le développement de l'œuf, mais aussi dans le déterminisme des caractéristiques du test de l'oursin.

La cytologie a donc préparé les esprits à l'idée que le noyau renferme la substance qui gouverne l'hérédité, ce germ-plasm dont A. Weissman postule le caractère inaltérable et dont il a fait le centre de sa théorie.

Et quels meilleurs candidats pour ce germ-plasm que ces chromosomes dont le nombre est réduit de moitié chez les gamètes, mais rétabli lors de la fécondation ? Cette alternance bien ordonnée de la méiose et de la fécondation maintient la ploïdie spécifique à chaque espèce, ce qui correspond exactement à la propriété que Weissman attend d'un support matériel de son hypothétique germ-plasm.

Enfin, T. H. Montgomery, en 1901 et W. Sutton, en 1902, montrent, chez les insectes, que les deux chromosomes appariés à la méiose sont l'un d'origine paternelle et l'autre d'origine maternelle.

Dès lors il n'est pas étonnant qu'en 1902, au moment où l'universalité des lois de Mendel devient évidente, les deux cytologistes Sutton et Boveri soient frappés par l'identité de comportement, à la méiose, des chromosomes qu'ils connaissent bien, et des facteurs mendéliens, désormais appelés *gènes*, au point qu'ils supposent que les premiers constituent le support des seconds.

L'hypothèse de Sutton-Boveri donne enfin une base objective, cytologique, aux lois de Mendel qui semblent devoir être aussi universelles que la méiose et la fécondation. Toutefois, la théorie chromosomique de l'hérédité ne sera définitivement admise par tous les biologistes qu'après plusieurs observations ou expérimentations décisives, notamment celles de E. Carothers (1913), puis T. H. Morgan et C. Bridges (1916).

3 Le vocabulaire scientifique de la génétique

Il est déterminant d'appréhender avec clarté et rigueur le vocabulaire de cette discipline sous peine de n'y rien comprendre et de confondre les effets et leurs causes sous-jacentes.

3.1 Le caractère

Le terme *caractère* est ambigu car il recouvre chez Mendel trois concepts différents mais interdépendants, aujourd'hui précisés par trois termes différents, le *caractère* proprement dit, le *phénotype* et l'*allèle*.

- Le *caractère* est un aspect ou une propriété biologique, un phénomène dont on peut étudier le déterminisme génétique à travers les modalités de sa transmission

héréditaire, par exemple le groupe sanguin ABO chez l'Homme, la couleur de l'œil chez la drosophile, la capacité de métaboliser le galactose ou de synthétiser l'histidine chez la levure. C'est le seul usage encore admissible du terme caractère.

- Le *phénotype* est l'une des formes possibles du caractère puisque l'analyse génétique d'un caractère suppose qu'il se présente au moins sous deux formes ou phénotypes possibles, par exemple les groupes [A], [B], [AB] et [O], pour le premier caractère évoqué plus haut ou [rouge brique], [rouge vif], [brun] ou [blanc] pour le suivant.
- L'*allèle* est une des formes possibles d'un gène impliqué dans le déterminisme du caractère étudié (il correspond au facteur causal mendélien, aussi appelé caractère par Mendel). Sur le plan moléculaire, un gène étant constitué (pour simplifier) d'une séquence d'ADN chromosomique, les allèles d'un gène diffèrent les uns des autres par des modifications de cette séquence qui peuvent affecter l'information génétique et avoir, de ce fait, des conséquences phénotypiques (voir plus loin et chapitre 5).
- Le *génotype*, pour un gène, est constitué de l'ensemble des allèles de ce gène présents dans la cellule (ou l'organisme), un seul chez les organismes haploïdes, une combinaison de deux chez les diploïdes, etc.

La conception moderne des relations causales entre caractère, phénotype, génotype et allèle est donc la suivante :

- les phénotypes sont les différentes formes possibles d'un caractère présentant une variabilité ;
- si ce caractère est génétiquement déterminé, ces différents phénotypes sont le résultat de l'expression des différents génotypes possibles du ou des gènes impliqué(s) dans le déterminisme du caractère ;
- ces différents génotypes résultent eux-mêmes du fait que le ou les gène(s) présentent eux-mêmes des variations alléliques génératrices de génotypes variables.

En d'autres termes, la variabilité phénotypique d'un caractère est la conséquence visible de la variabilité allélique du ou des gène(s) impliqué(s) dans le déterminisme de ce caractère.

3.2 Le phénotype sauvage et la souche sauvage de référence

Dans la plupart des cas, l'analyse génétique d'un caractère ou d'un phénomène débute par l'obtention de variants phénotypiques, ou « mutants », qui diffèrent d'un phénotype de référence appelé « phénotype sauvage » (traduction de *wild type*).

Cette appellation a été introduite par les généticiens drosophilistes au début du xx^e siècle car, chez *Drosophila*, les organismes des populations naturelles semblaient identiques, au moins pour leurs caractères morphologiques, ce qui permettait de définir une norme « sauvage » de référence.

Mais en génétique expérimentale, la souche sauvage correspond rarement à ce qu'on pourrait trouver à l'état sauvage dans des populations naturelles, constituées d'organismes génétiquement différents, hétérozygotes pour un grand nombre de gènes (même pour la

drosophile). C'est une souche pure, obtenue au laboratoire, constituée d'individus homozygotes tous identiques entre eux, pour un certain nombre de gènes, ou pour tout le génome, et servant simplement de référentiel pour situer les mutants dans l'analyse génétique.

C'est d'ailleurs pourquoi de nombreux généticiens utilisent le terme de *souche de référence* (SR) qui a l'avantage pédagogique de préciser son utilité et de dissiper l'ambiguïté du terme sauvage, et parfois encore le terme de « souche sauvage de référence » (SSR).

3.3 Quelle est la définition du gène à ce stade ?

a) L'unité de ségrégation

C'est une première définition du gène. Le gène est défini par un couple de facteurs déterministes, appelés *allèles*, qui ségrègent à la méiose et rendent compte des modalités de la transmission des différentes formes du caractère étudié (par exemple la couleur de la fleur dans l'encart 2.1), appelées *phénotypes*.

Les souches pures sont homozygotes pour chacun des deux allèles du gène impliqué dans le déterminisme du caractère étudié et présentent chacune un phénotype différent pour ce caractère.

Après croisement de ces souches pures, l'hybride obtenu est hétérozygote pour ce gène, et l'on obtient alors, parmi les produits des croisements entre hybrides, des fréquences conformes aux fréquences attendues sous le modèle de la ségrégation 2/2 à la méiose (chapitre 2).

b) La polyallélie

L'assimilation du concept de gène à celui de caractère mendélien alternatif était simpliste car elle supposait qu'un gène n'existait que sous deux états alléliques. La difficulté d'interprétation de certains résultats a vite conduit les généticiens au concept de polyallélie : un gène peut exister sous plus de deux versions alléliques possibles (comme par exemple pour le groupe ABO).

Cependant, comme les organismes (pour la plupart) sont diploïdes, seuls deux allèles différents d'un même gène sont présents chez un hétérozygote, de sorte qu'il y a toujours ségrégation 2/2 à la méiose pour ce gène.

c) Le gène ne peut être défini par son support

Définir le gène par son support, c'est-à-dire une séquence d'ADN ou un locus chromosomique n'a pas de sens d'un point de vue fonctionnel. C'est aussi contestable que de dire qu'une symphonie de Beethoven est un cédérom ou une bande magnétique. Pour s'affranchir de cette confusion entre le gène et son support, il faut définir le gène par ce qu'il est, c'est-à-dire une information ou un message.

Bien sûr, comme tout message, le gène a un support, l'ADN lui-même dans le chromosome ; c'est le comportement de ce support qui permet de définir le gène comme une unité de ségrégation permettant d'interpréter, selon la théorie mendélienne, les fréquences des phénotypes à l'issue d'une série de croisements.

On a précisé seulement au début du xx^e siècle la nature du support cytotogique, le chromosome, puis au milieu du xx^e siècle la nature chimique du message, l'ADN contenu dans les chromosomes.

Le contenu du message d'un gène (un gène/une chaîne peptidique) a ensuite été identifié, ce qui a permis de donner une autre définition du gène, selon des critères *fonctionnels* (chapitre 5). Le gène a alors été conçu comme une unité fonctionnelle, définie par la fonction biochimique de la chaîne peptidique pour laquelle il code, dont l'absence retentit en aval sur les phénotypes associés à l'expression du gène, à l'échelle moléculaire, de la cellule, du tissu, de l'organisme ou de la population.

Depuis, la biologie moléculaire a montré les limites d'une telle définition puisqu'une même séquence d'ADN peut renfermer plusieurs messages différents dont l'expression dépend du sens de transcription (gènes emboîtés) ou des modalités de la transcription (épissage différentiel). Certains codent des ARN dits non codants, qui ne sont pas traduits en protéines mais qui assurent une fonction au sein de la cellule. Par ailleurs des séquences d'ADN ne sont pas exprimées mais constituent un message puisqu'elles ont un rôle biologique. C'est le cas des séquences cis-régulatrices contrôlant la transcription des gènes.

La complexité du concept de gène ne sera pas développée dans cet ouvrage

d) L'expression du message d'un gène

L'expression du message d'un gène dépend de celle des autres gènes et aussi de l'environnement. L'expression d'un gène s'inscrit dans un ensemble d'opérations qui assurent le cycle vital d'un organisme.

L'expression de la plupart des gènes est donc régulée afin d'être intégrée dans une expression concertée de l'ensemble des messages constituant le génome d'un organisme. Cette régulation est une réponse par activation ou répression de l'expression du gène, en fonction non seulement de l'expression d'autres gènes mais aussi, dans certains cas, du milieu puisque des organismes génétiquement identiques peuvent présenter des phénotypes très différents pour certains de leurs traits ou de leurs propriétés.

3.4 La dominance et la récessivité

Lorsque deux souches pures parentales sont croisées entre elles, il arrive que le diploïde issu de ce croisement (appelé hybride F1 chez Mendel) présente un des deux phénotypes parentaux. Ce phénotype parental qui s'impose est alors dit dominant sur l'autre ; symétriquement le phénotype parental qui disparaît en F1 est dit récessif vis-à-vis de celui qui est dominant.

Lorsque le diploïde issu d'un croisement entre deux souches pures présente un phénotype différent des deux phénotypes parentaux, on définit ces deux derniers comme codominants ou semi-dominants.

Un test de dominance consiste à croiser entre elles deux souches pures afin d'observer le phénotype du diploïde hétérozygote issu de ce croisement pour statuer sur la dominance d'un des deux phénotypes parentaux ou sur leur codominance.

Remarque. Il est très important de comprendre que la dominance est une propriété du phénotype et non de l'allèle. Le fait de définir des *allèles dominants* ou des *allèles récessifs* est une dérive sémantique que s'autorisent les généticiens entre eux, mais qui est source d'une confusion conceptuelle quand on maîtrise encore imparfaitement la génétique. En effet, l'effet d'un allèle est « contextuel », il peut dépendre de l'effet de l'autre allèle (par exemple un allèle *A1* peut avoir un effet dominant vis-à-vis d'un allèle *A2* mais récessif vis-à-vis d'un autre allèle *A3*), de l'effet d'autres gènes ou de facteurs du milieu (pour plus de détails, voir l'interprétation dans le chapitre 5).

Les points clés du chapitre

- 1 Les travaux de **Mendel** ont été déterminants dans l'émergence de la **génétique** en tant que **théorie scientifique** autonome au sein de la biologie.
- 2 Par ses travaux, Mendel apparaît comme le fondateur de **l'analyse génétique par croisement**, procédure par laquelle il va s'avérer possible d'étudier des caractères, non plus d'un point de vue physiologique, biochimique, cytologique mais d'un point de vue génétique, par l'obtention puis l'analyse de mutants phénotypiques de ces caractères.
- 3 Cependant Mendel n'est pas au sens strict le fondateur de cette théorie : la génétique a été fondée par des cytologistes comme **Suton** et **Boveri** quand ils ont rapproché les connaissances acquises, après la mort de Mendel, sur les chromosomes, la mitose et la méiose, des travaux de Mendel pour formuler leur « **théorie chromosomique de l'hérédité** ».
- 4 En termes modernes, on peut dire que la variabilité phénotypique d'un caractère est la conséquence visible de la variabilité allélique du ou des gène(s) impliqué(s) dans le déterminisme de ce caractère.
- 5 Un **phénotype** est défini comme une des formes possibles d'un caractère quand celui-ci présente une variation.
- 6 Un **allèle** est défini comme une des formes possibles d'un gène quand celui-ci présente des variations de sa séquence nucléotidique. La variation allélique d'un ou des gène(s) impliqué(s) dans le déterminisme d'un caractère participe à la variation phénotypique de ce caractère ; l'analyse génétique d'un caractère consiste à établir et préciser cette relation en dénombrant ces gènes, en identifiant leurs mutations, les génotypes associés aux phénotypes, la fonction des gènes et les conséquences fonctionnelles des mutations.

L'analyse génétique des mutants par croisement avec sauvage

Introduction

L'analyse génétique d'un caractère suppose d'avoir des mutants présentant un phénotype différent du phénotype sauvage de référence pour croiser ces mutants par la souche sauvage afin de déterminer la dominance ou la récessivité du phénotype mutant, puis de déterminer si son génotype diffère du génotype sauvage pour un seul gène ou plus. Cette analyse est appliquée à deux organismes modèles de la génétique, la levure et la drosophile.

Objectifs

Connaître le principe de ségrégation 2/2 ; l'hérédité liée à l'X ; les différents types de dysfonctionnement de la méiose et leurs conséquences.

Identifier le rapport entre ségrégation 2/2 et comportement des chromosomes à la méiose.

Définir les méthodes de culture et de croisement de la levure et la drosophile.

Expliquer les tests de dominance, de liaison au sexe (si pertinent), de ségrégation 2/2 ; expliciter leurs conclusions.

Plan

- 1 Éléments clés de l'analyse génétique
- 2 Principe du test de ségrégation 2/2 appliqué à l'analyse d'un mutant
- 3 La levure et la drosophile
- 4 Exemple d'analyse génétique de croisement mutant x sauvage chez la levure
- 5 Exemple d'analyse génétique de croisement mutant x sauvage chez la drosophile
- 6 L'hérédité liée à l'X
- 7 Dysfonctionnements de la méiose

1 Éléments clés de l'analyse génétique

L'analyse génétique reprise dans le cadre de la théorie chromosomique de l'hérédité s'appuie sur les mêmes protocoles expérimentaux que ceux définis par Mendel, mais interprète la causalité génétique sur la base de la **réduction de ploïdie** à la méiose qui sépare dans des gamètes haploïdes chacun des deux exemplaires de chaque gène.

Afin de bien comprendre les conséquences génétiques de la méiose d'un point de vue théorique (**ségrégation 2-2** d'un couple d'allèles) et l'utilisation pratique de ce principe comme outil d'analyse génétique, il est utile de revenir sur le mécanisme cytogénétique de la méiose en le comparant au mécanisme cytogénétique de la mitose.

Pour bien comprendre la mise en œuvre de cet outil d'analyse génétique chez deux espèces modèles, la levure et la drosophile, il sera utile de préciser les modalités d'élevage et de croisement de ces organismes.

Quelque soit l'organisme, l'analyse génétique d'un mutant commence toujours par son croisement avec la **souche sauvage de référence** parce que les résultats de ce croisement apportent des informations capitales :

- la première est relative à l'effet de **dominance** ou de **récessivité** du phénotype mutant vis-à-vis du phénotype sauvage (selon que le diploïde issu du croisement est de phénotype muté ou sauvage),
- la seconde est la mise en évidence d'une **liaison au sexe**, le cas échéant, chez la drosophile ou tout autre organisme diplobiontique portant des chromosomes sexuels.

Ultérieurement, l'analyse de la méiose chez le diploïde issu du croisement mutant par la souche sauvage permet de déterminer si le mutant diffère génétiquement de cette souche pour un seul gène (*un seul des gènes impliqués dans le déterminisme du caractère*) ou plus d'un seul gène.

- Dans la **mitose** (figure 2.1) les chromosomes sont dupliqués en paires de chromatides homologues qui se comportent indépendamment l'une de l'autre ; par ailleurs les centromères unissant les chromatides sœurs sont liées aux deux centrosomes.

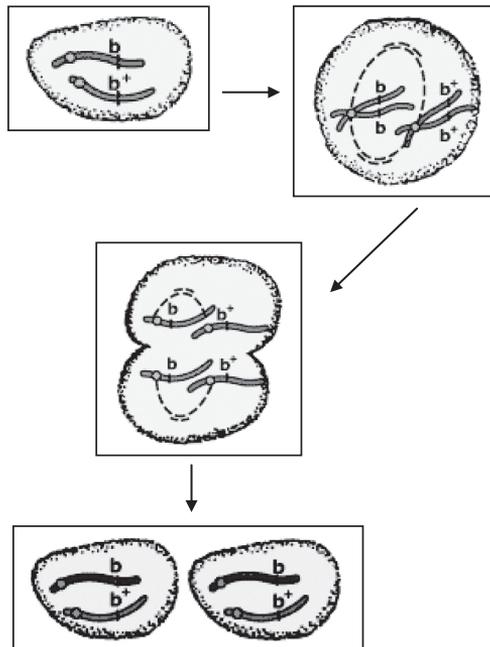


Figure 2.1 – Mécanisme cytogénétique de la mitose.

- Dans la **méiose** (figure 2.2) les chromosomes sont dupliqués en paires de chromatides homologues, mais contrairement à la mitose, ces paires de chromatides homologues sont, en prophase de première division de méiose, appariées et ne se comportent pas indépendamment l'une de l'autre ; par ailleurs les centromères unissant les chromatides sœurs ne sont liées qu'à un seul des deux centrosomes.

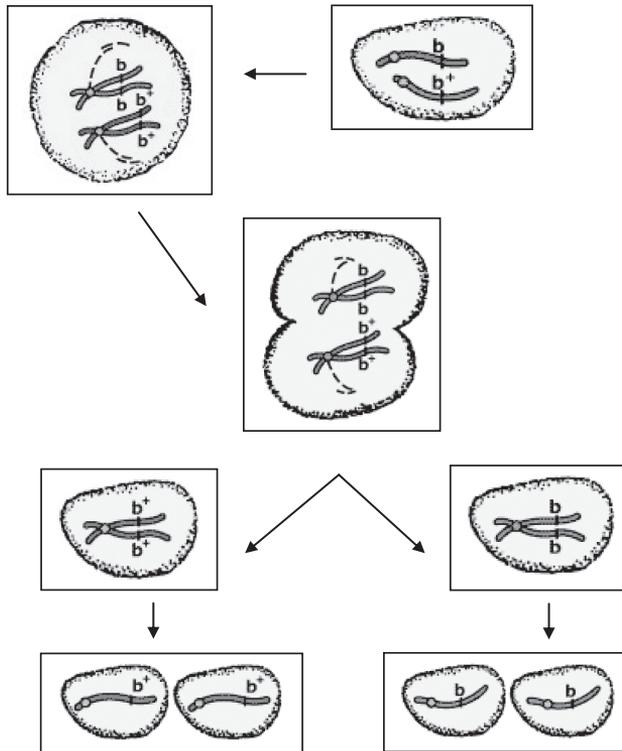


Figure 2.2 – Mécanisme cytogénétique de la méiose.

Ces deux différences entre mitose et méiose (indépendance ou appariement des paires de chromatides homologues, liaison des centromères à deux ou un seul centrosome) conduit à des conséquences génétiques totalement différentes.

- À l'issue de la métaphase de la mitose, les centromères se clivent et libèrent les chromatides devenues des chromosomes fils dont la migration vers un pôle pour l'un et l'autre pôle pour l'autre conduit à deux cellules filles pourvues de la même dotation chromosomique et donc génétiquement identiques : pour la cellule hétérozygote b/b^+ de la figure 2.1, la mitose conduit donc à deux cellules identiques de même génotype b/b^+ .
- À l'issue de la métaphase de la méiose 1, les centromères ne se clivent pas et migrent chacun vers un pôle en entraînant les deux chromatides sœurs, ce qui conduit à deux cellules pourvues soit de chromatides sœurs d'origine paternelle, soit de chromatides sœurs d'origine maternelle. Cette première division est suivie d'une seconde

destinée à séparer les chromatides sœurs en chromosomes fils et conduit alors à des cellules haploïdes pourvues soit d'un chromosome paternel, soit d'un chromosome maternel : pour la cellule hétérozygote de la figure 2.2, la méiose conduit donc à quatre cellules haploïdes, deux porteuses de l'allèle b et deux porteuses de l'allèle b^+ .

C'est ce résultat qui est désigné comme **principe de la ségrégation 2-2** : *la méiose pour un couple d'allèles d'un gène conduit à quatre gamètes haploïdes, deux porteurs d'un des deux allèles et deux porteurs de l'autre allèle.*

Remarque. En cas de crossing-over, mécanisme moléculaire de cassure, d'échange et de soudure des molécules d'ADN contenues dans deux chromatides homologues (voir chapitre 3), certaines chromatides sont remaniées et ne sont plus strictement paternelles ou maternelles, mais cela ne change rien au principe de la ségrégation 2-2 pour un couple d'allèles (les allèles b et b^+ sont séparés dès la première division si le CO a lieu en aval de leur locus ou bien à l'issue de la seconde division si le CO a lieu en amont, phénomènes de pré- ou de post-réduction qui seront détaillés au chapitre 4).

2 Principe du test de ségrégation 2/2 appliqué à l'analyse d'un mutant

Partant du principe de ségrégation 2-2 énoncé plus haut, il est possible d'en faire un *outil d'analyse génétique* de tout nouveau mutant en le croisant par une souche sauvage de référence, afin de savoir s'il en diffère pour un seul gène ou plus.

En effet, dans l'hypothèse où le mutant ne diffère de la souche sauvage que pour un seul gène (*un seul des gènes impliqués dans la variabilité du caractère étudié*), le diploïde issu de ce croisement est hétérozygote pour ce seul gène ; il sera noté A/a et la méiose sera le siège d'une ségrégation 2-2 dans la formation des gamètes, conduisant à 50 % de gamètes A et 50 % de gamètes a , ce qui peut être validé par un test statistique qui sera ici dénommé « test de ségrégation 2/2 ».

Si le mutant diffère réellement de la souche sauvage pour plus d'un seul gène, la méiose du diploïde issu du croisement mutant x sauvage implique alors plusieurs couples d'allèles et ne peut, sauf exception, conduire aux résultats caractéristiques de la ségrégation 2/2 d'un couple d'allèles, soit parce qu'il y a plus que deux types de gamètes, soit parce qu'il y a deux types de gamètes mais dans des proportions inégales, différentes de 50-50 (voir chapitres 3 et 4).

En principe, il conviendrait donc de comptabiliser les différents types de gamètes produits à la méiose du diploïde issu du croisement mutant x sauvage puis d'effectuer un test statistique pour conclure :

- que le mutant diffère de sauvage par un seul gène, si on observe deux catégories de gamètes de même fréquence (un test statistique de χ^2 ne montre pas de différence significative entre effectifs observés et effectifs attendus sous cette hypothèse) ;