



## THEME 3A - Variation génétique et santé

### TP1 - La mucoviscidose, une maladie génétique

Lara, 10 ans, est une jeune fille atteinte de **mucoviscidose**. Elle doit régulièrement faire des séances de **kinésithérapie respiratoire**. En effet, du **mucus épais** s'accumule dans les bronches, ce qui rend la respiration très difficile et peut aboutir à la mort du patient. Ses parents, Paul et Sophie, viennent d'avoir un troisième enfant et Lara, soucieuse, se demande si son frère risque d'être atteint de cette maladie comme elle.



**POUMONS**  
Difficultés respiratoires (obstruction des voies respiratoires par du mucus, infections bactériennes).

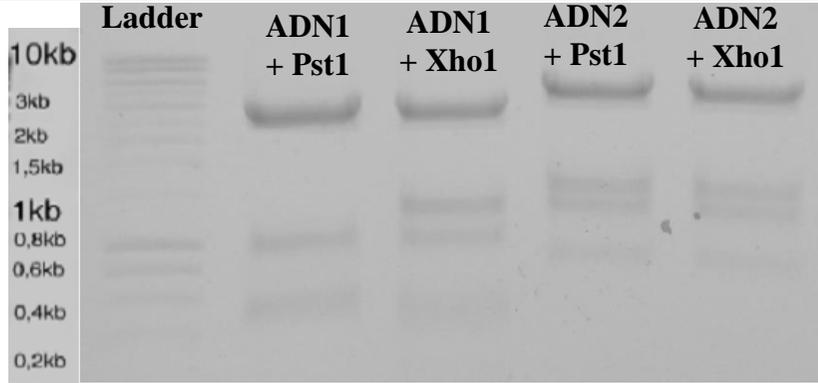
**PEAU**  
Sueur très salée. C'est le test principal (rapide, peu coûteux) pour dépister la maladie.

**Problématique : Comment une mutation de l'ADN peut-elle produire une telle maladie ?**

<p><b>Matériel :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Manuel BELIN p242 à 245 + <i>Exercice 5 p253 (pour les documents)</i></li> <li>- PC et logiciel <b>Anagène/GenieGen2</b> et fichier <b>CFTR.edi</b> (ou banque de données GeniGen2)</li> <li>- Logiciel <b>RASTOP/LibMol</b> et CFTR-complet.pdb, CFTR-muté.pdb, fragment_sain.pdb et fragment_mute.pdb</li> <li>- Matériel d'<b>électrophorèse d'ADN</b> (Cuve flashgel, Gel et échantillons d'ADN de la famille à déposer)</li> <li>- Documents 1 à 6</li> </ul>	<p><b>Aide :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Fiche Technique : RASTOP / LibMol</i></li> <li>- <i>Fiche Technique : Anagène / GenieGen2</i></li> <li>- <i>Fiche Protocole (Electrophorèse d'ADN)</i></li> </ul>
--	--

Activités et déroulement des activités	Capacités & Critères de réussite
<p><b>ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>A partir du <u>document 1</u> et de vos connaissances, proposez une stratégie</b> permettant de comprendre comment une mutation de l'ADN peut aboutir à la mucoviscidose et de déterminer si le frère de Lara est atteint de cette maladie.</li> </ul> <p style="text-align: center;">📞 <b>Appelez le professeur pour vérification</b></p> <p><b>ETAPE 2 : Mettez en œuvre le(s) protocole(s) proposé(s)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Réalisez l'<u>électrophorèse d'ADN</u></b> pour identifier si le frère de Lara risque d'être atteint.</li> <li>➤ <b>Utiliser le <u>logiciel GenieGen2</u></b> pour comparer les séquences nucléiques et peptidiques de CFTR</li> <li>➤ <b>Utilisez le <u>logiciel LibMol</u></b> pour identifier les conséquences de la mutation du gène CFTR</li> </ul> <p style="text-align: center;">📞 <b>Appelez le professeur pour vérification</b></p> <p><b>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Votre production devra récapituler les <b>caractéristiques de la mutation</b> (nature et localisation) sur l'ADN et sur la protéine et le <b>fonctionnement de la protéine CFTR</b> (s'aider des <u>documents 2 et 3</u>).</li> <li>➤ Vous devrez également identifier si l'enfant à naître est atteint de mucoviscidose</li> </ul> <p><b>ETAPE 4 : Répondez au problème initial et identifier</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ - Rédigez un texte qui répond au problème.</li> </ul> <p><b>En fin de séance, rangez le matériel et fermez la session informatique.</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Recenser, extraire des informations</b> <i>Qu'est-ce que je fais, Comment je le fais, A quoi je m'attends ?</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Réaliser une manipulation (Electrophorèse d'ADN)</b> <i>Réaliser un dépôt propre, dans le bon puits, savoir se servir d'une pipette de précision.</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Utiliser un logiciel de traitement de données (GenieGen2)</b> <i>Comparer les séquences d'ADN et les séquences de protéines. Savoir utiliser le compteur (ADN/Protéine)</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Utiliser un logiciel de traitement de données (LibMol)</b> <i>Afficher la protéine sous forme de rubans, Identifier l'acide aminé qui subit la mutation (« 508 »), le colorer et l'afficher en sphère.</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Rédiger un texte scientifique</b> <i>On a vu que, Or on sait que, Donc</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Gérer et organiser le poste de travail</b></p>

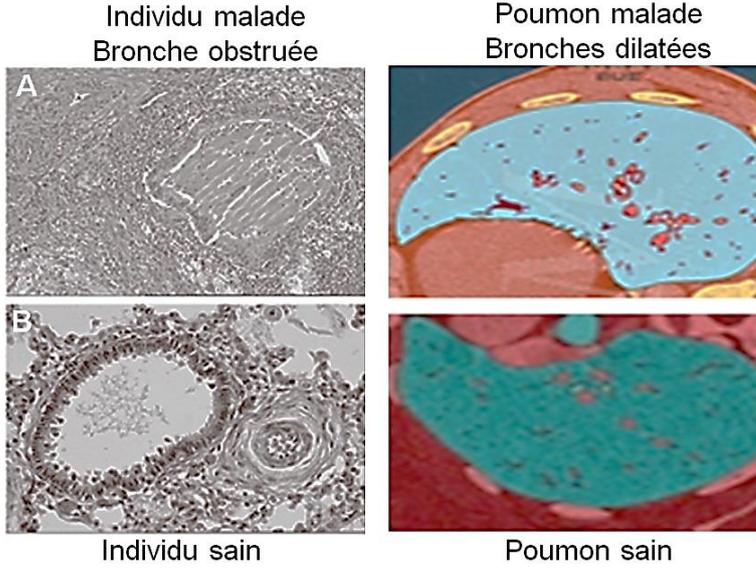
## PROTOCOLE ELECTROPHORESE D'ADN

MATERIEL	PRINCIPE	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cuve à électrophorèse (flashgel)</li> <li>- Générateur (alimentation)</li> <li>- Cassette (gel de type flashgel)</li> <li>- Micropipette de précision réglable</li> <li>- Cônes/embout de prélèvement (jaune)</li> </ul>	<p>Le diagnostic d'une maladie génétique est réalisé via le principe des <b>empreintes génétiques</b>.</p> <p>On connaît des <b>enzymes de restriction</b> qui sont capables de couper l'ADN au niveau de séquences spécifiques. Ainsi, lorsqu'on utilise une enzyme de restriction sur l'ADN d'une personne, on va obtenir un <b>nombre et une taille de fragments d'ADN spécifiques de l'individu</b>. Les fragments d'ADN sont ensuite déposés sur un gel d'électrophorèse et séparés au cours de la migration : c'est ce qu'on appelle son <b>profil ADN (ou profil génétique)</b>.</p>	 <p>Exemple de gel obtenu pour 2 ADN testés chacun avec une enzyme de restriction.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Echantillon de marqueur de taille</b> contenant des fragments d'ADN de taille connue afin de déterminer la taille des fragments testés.</li> <li>- <b>Echantillons d'ADN</b> (Père, Mère, Lara, Nouveau-Né, ADN sain)</li> </ul> <p><i>Chaque ADN a été traité avec 2 enzymes de restriction (soit Pst1 soit Xho1) afin d'identifier des sites de restriction typiques de la maladie (mutation).</i></p>	<h3 style="text-align: center;">PROTOCOLE</h3> <p style="text-align: center;"><b>1 – Prélèvement de l'échantillon</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>ATTENTION : Changer d'embout/cône à chaque prélèvement</b></li> <li>- <b>Placer un embout</b> sur la micropipette réglable</li> <li>- <b>Prélever 5µL de la solution</b> à tester qui vous a été attribuée. Pour cela,             <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Appuyer sur le piston</b> de la pipette jusqu'au « <b>cran</b> » (pas à fond)</li> <li>- <b>Plonger l'embout</b> dans la solution à pipeter</li> <li>- <b>Remonter doucement</b> le piston jusqu'à la position maximale</li> <li>- Il faut <b>éviter de faire des bulles</b> sinon, le volume sera incorrect</li> </ul> </li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>2– Dépôt de l'échantillon sur le gel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Placer la pointe de l'embout dans le puits du gel</b> correspondant au <b>plan de dépôt</b></li> <li>- <b>Vider le contenu de l'embout dans le puits</b>. Pour cela,             <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Appuyer sur le piston en allant jusqu'au bout</b> (dépasser le cran)</li> <li>- <b>Ne pas chasser trop violemment</b> (risque de reflux hors du puits)</li> </ul> </li> <li>- Enlever l'embout et le jeter dans le bac prévu à cet effet</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>3– Migration des échantillons</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Insérer la cassette dans la cuve à électrophorèse</b></li> <li>- <b>Brancher l'appareil et mettre en route la migration</b></li> <li>- Laisser migrer pendant <b>10 minutes</b></li> <li>- <b>Révéler les résultats</b> en éclairant le gel</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Xho I</b>                      <b>Pst I</b></p> <p style="text-align: center;">5'... C TCGAG ... 3'    5'... CTGCA G ... 3'</p> <p style="text-align: center;">3'... GAGCT C ... 5'    3'... G ACGTC ... 5'</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px; text-align: center;"> <p><b><u>Plan de dépôt</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Puits 1 : Marqueur de taille</li> <li>- Puits 2 : ADN sain + Pst1</li> <li>- Puits 3 : ADN sain + Xho1</li> <li>- Puits 4 : ADN Lara + Pst1</li> <li>- Puits 5 : ADN Lara + Xho1</li> <li>- Puits 6 : ADN Père + Pst1</li> <li>- Puits 7 : ADN Père + Xho1</li> <li>- Puits 8 : ADN Mère + Pst1</li> <li>- Puits 9 : ADN Mère + Xho1</li> <li>- Puits 10 : ADN Enfant + Pst1</li> <li>- Puits 11 : ADN Enfant + Xho1</li> </ul> </div>

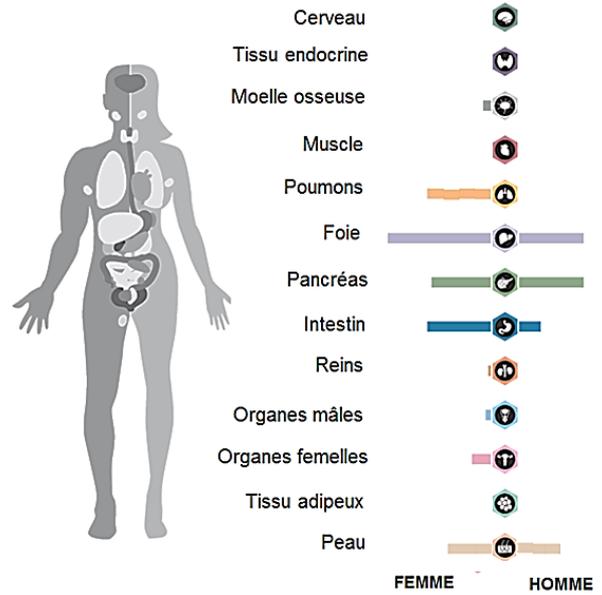
## Document 1 : Qu'est-ce que la mucoviscidose ?

• La mucoviscidose est une **maladie génétique** et **héréditaire** qui touche environ 6000 personnes en France. Elle affecte les cellules qui tapissent différents organes tels que les voies respiratoires, le tube digestif, les glandes sudoripares en altérant leurs sécrétions (mucus, sueur, ...).

Extrait de <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Mucoviscidose-FRfrPub49.pdf>



Photographie de tissu pulmonaire chez un individu atteint de mucoviscidose (en haut) et sain (en bas).



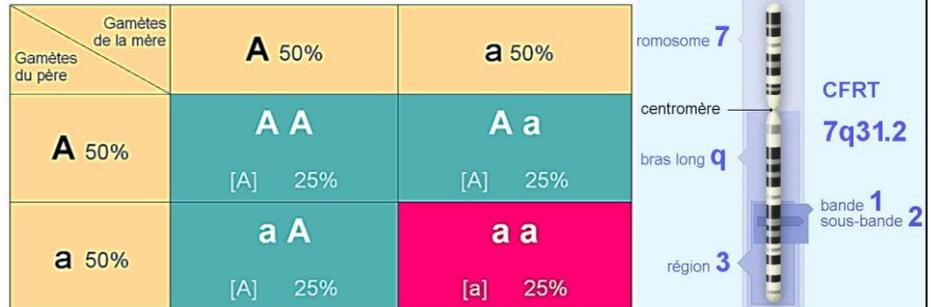
Graphique montrant l'expression de CFTR dans les principaux organes chez la femme et l'homme.

## Document 2 : La cause génétique de la maladie

• Depuis 1989, on sait que cette maladie est due à une **mutation** sur le **gène CFTR** présent sur le **chromosome 7**, un chromosome non sexuel (autosome). La maladie est donc de type **autosomale**.

• De plus, il faut porter **2 allèles mutés** pour être atteint de la maladie : il s'agit d'une **maladie récessive**.

• Ainsi, un couple dont les 2 parents portent la mutation aura **25% de risque d'avoir**



Risque génétique =  $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$  (25%)

## Document 3 : Structure générale de la protéine CFTR

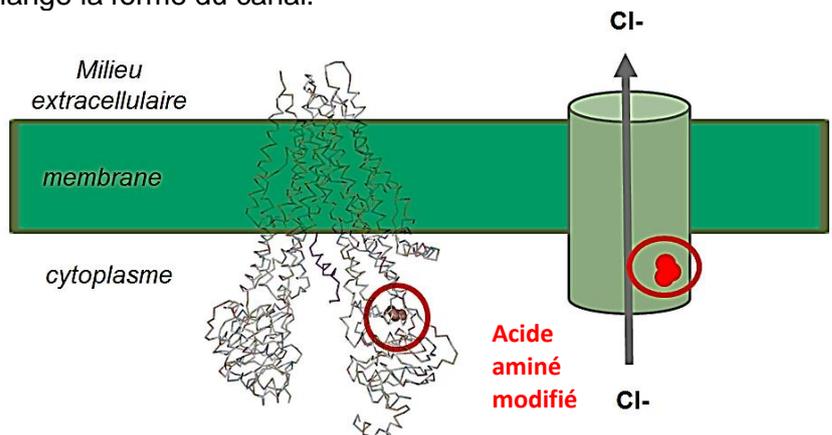
• Le **gène CFTR** est grand (250 000 nucléotides) et forme une **protéine CFTR** de 1480 acides aminés qui a une forme globale en pointe de flèche, plantée dans la membrane. La protéine CFTR est un **canal** qui permet le **passage des ions chlorure (Cl<sup>-</sup>)** vers l'extérieur de la cellule. La **mutation ΔF508** (entourée en rouge) affecte la partie interne du canal, ce qui change la forme du canal.

• Visualiser la protéine CFTR (Libmol)

- <https://libmol.org/?libmol=358>



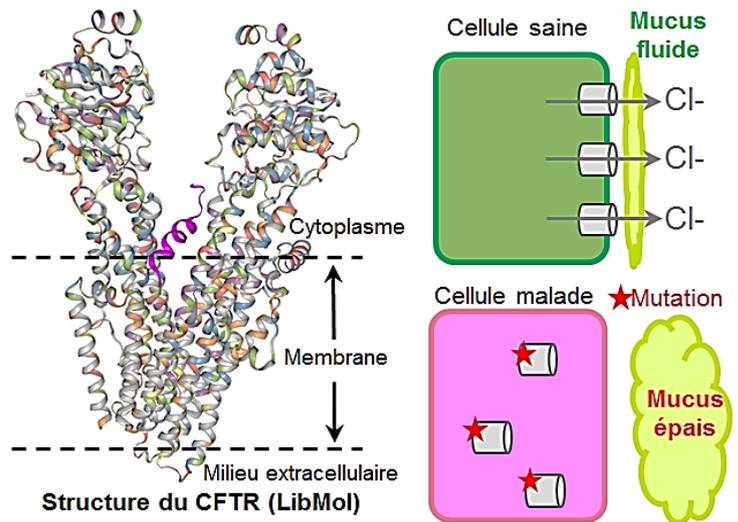
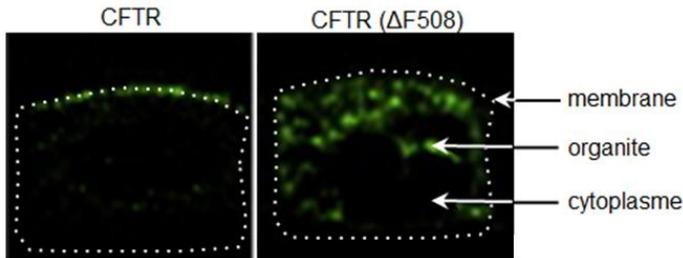
<https://libmol.org/?libmol=358>



### Document 4 : Structure générale de la protéine CFTR

• La **protéine CFTR** peut être localisée dans la cellule en réalisant une fusion avec la protéine fluorescence verte : GFP (*Green Fluorescent Protein*). La protéine normale se localise dans la membrane plasmique des cellules où elle peut réaliser son rôle de canal.

• A l'inverse, la protéine modifiée par la mutation ( **$\Delta F508$** ) est localisée dans des organites à l'intérieur de la cellule. Sa fonction n'est alors plus réalisée, même si le canal pouvait faire passer du chlore.



### Document 5 : Le dépistage de la mucoviscidose

En France, depuis 2002, un dépistage systématique est fait sur le nourrisson (3 à 4 jours), de 2 manières :

- **Prélèvement sanguin** et recherche de marqueurs génétiques de la maladie (séquence ADN spécifique)
- **Test de sueur** qui montre le taux de chlorure dans la sueur. Le test est réalisé plusieurs fois indépendamment car le taux fluctue en fonction du niveau d'hydratation de bébé (très variable).

Taux de chlorures	Résultat du test
Inférieur à 40 mmol/L	Négatif
Compris entre 40 et 60 mmol/L	Douteux
Supérieur à 60 mmol/L	positif

Test n°	Concentration en chlorure
Test 1	53 mmol/L
Test 2	60 mmol/L
Test 3	76 mmol/L

### Document 6 : Arbre généalogique de la famille

• La mucoviscidose touche **un enfant sur 4500 naissances** en France, c'est-à-dire que près de 200 enfants qui naissent chaque année sont atteints de mucoviscidose.

• Les parents ne sont pas forcément touchés car ils peuvent être **porteurs sains** : ils possèdent un allèle malade et un allèle sain : ils sont **hétérozygotes**.

• Le tableau ci-contre montre que les hétérozygotes (A/a) ont une fréquence de 2pq.

**Fréquence de la mucoviscidose (a/a) :**

$$q^2 = 1/4500 \text{ donc } q \approx 1/67$$

$$\text{Or, } p + q = 1$$

$$\text{Donc } p = 1 - q \text{ soit } 1 - 1/67 \text{ c'est-à-dire } p \approx 66/67$$

**Fréquence des hétérozygotes (A/a) :**

$$2pq \text{ soit } 2 \times 66/67 \times 1/67 = 132/4489 \text{ soit } 2pq \approx 1/34$$

**Un Français sur 34 est donc hétérozygote (A/a)**

