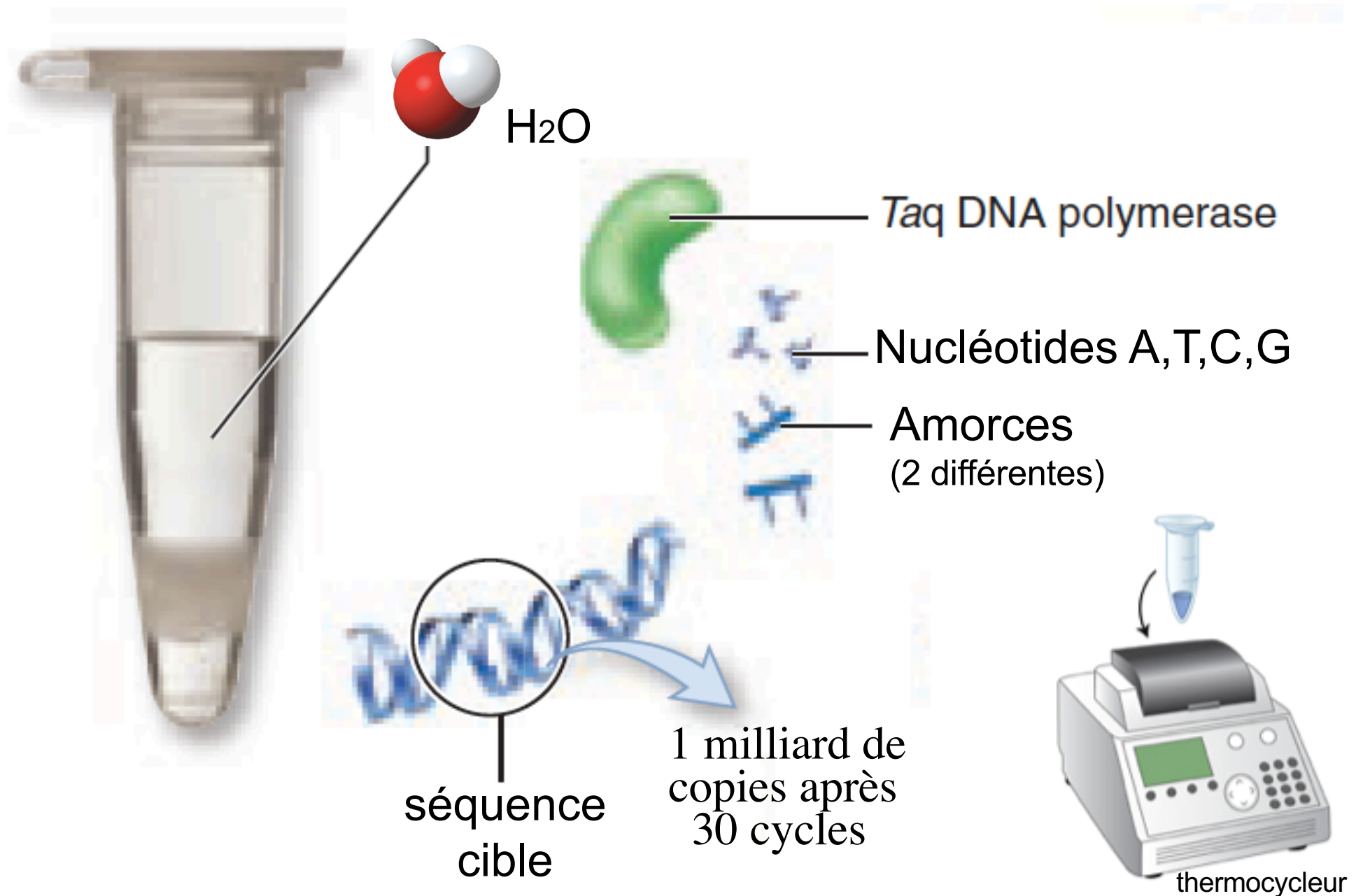


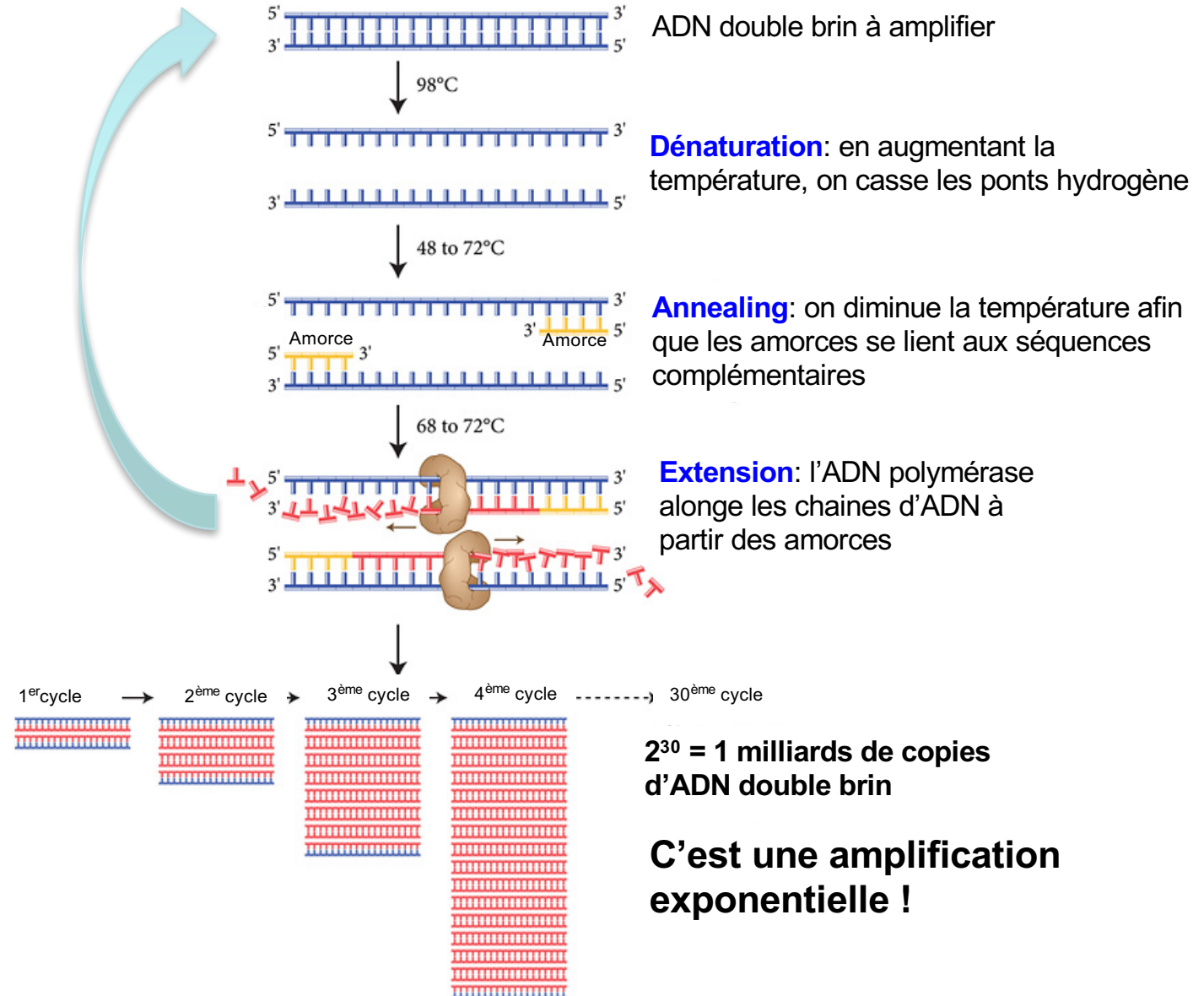
Les ingrédients d'une PCR :



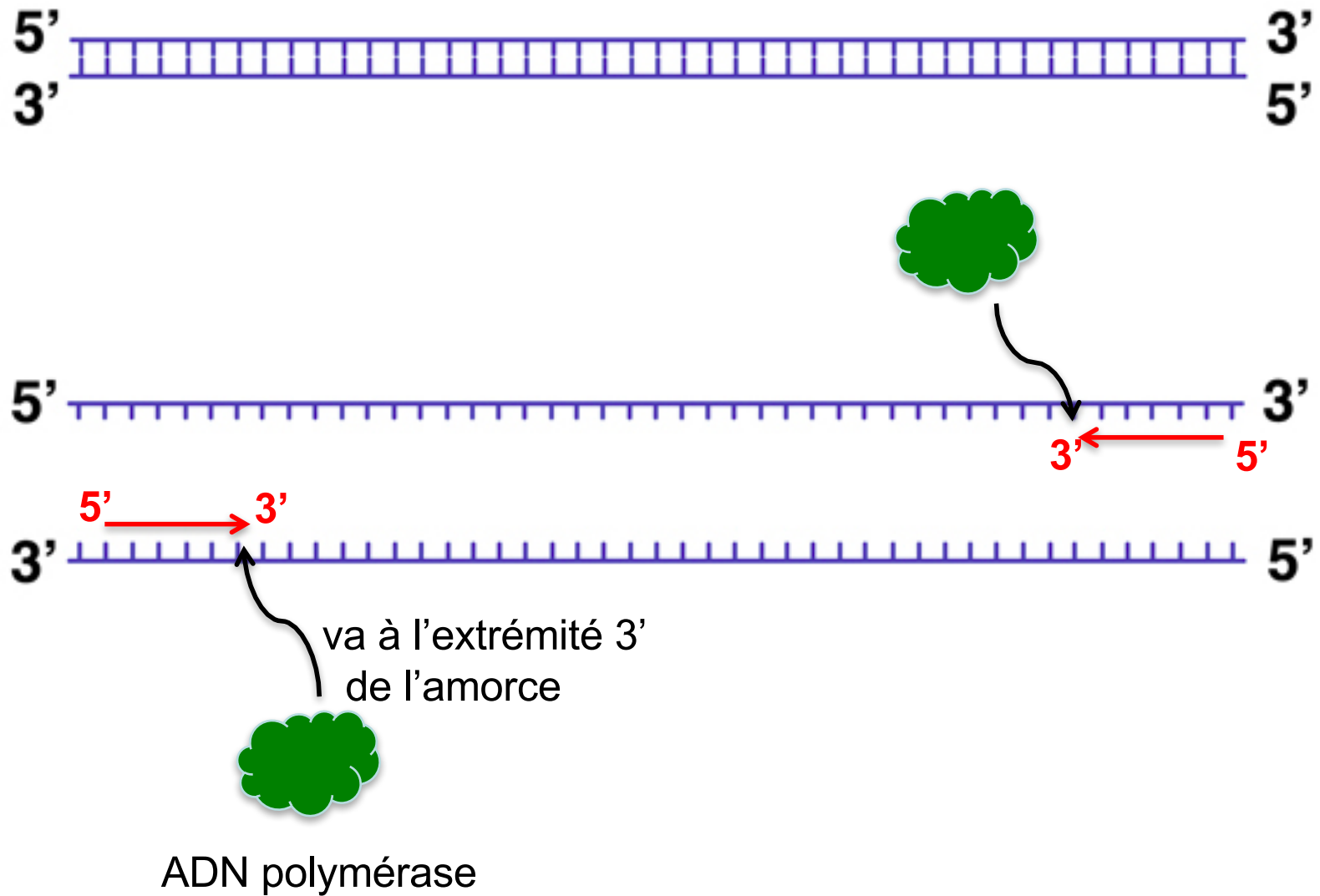
La **PCR** (polymerase chain reaction)



thermocycleur



Amorces correctes pour un P C R :

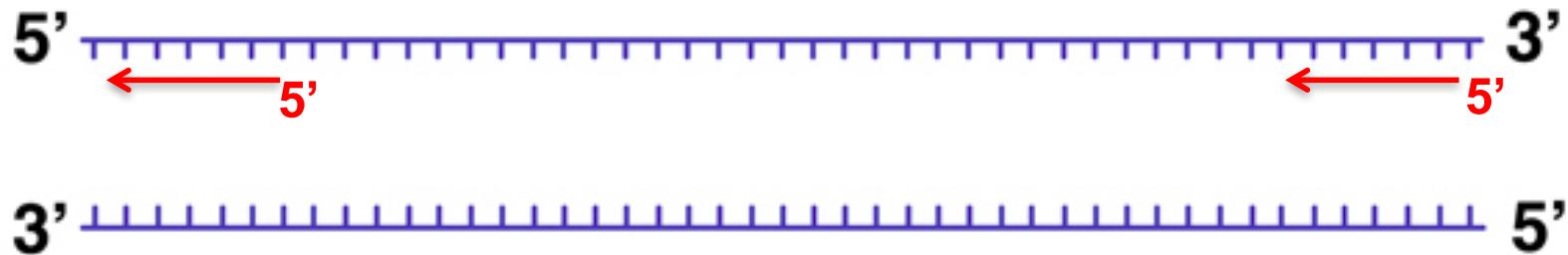


Amorces **incorrectes** pour un P C R :



Amorces divergentes : 30 copies en 30 cycles

Amorces **incorrectes** pour un P C R :



Amorces sur le même brin : 30 copies en 30 cycles

Réplication de l'ADN :

la copie est-elle identique à l'original ?

Les DNA polymérases ont des problèmes quand elles copient des séquences répétitives en tandem (**microsatellites**).

Applications pratiques : science forensique

Erreurs durant la réplication de l'ADN :

Un bout de séquence d'un chromosome 7 humain :

10 20 30 40 50
TGTCATAGTTT TAGAACGAAC TAAC **GATAGATAGATAGATAGATAGATAGA**

60 70 80 90 100
TAGATAGATAGATAGATAGATAGACAGATTGATAGTTTTTTTTTTATCTCA

110 120 130 140 150
CTAAATAGTCTATAGTAAACATTTAATTACCAATATTTGGTGCAATTCTG

160 170 180 190 200
TCAATGAGGATAAATGTGGAATCGTTATAATTCTTAAGAATATATATTCC

210 220
CTCTGAGTTTTTGATACCTCAG

↳ c 10^{-9}

Remarquez l'unité :
mutation par génération

Transmission parent → enfant :

- Changement d'une base : 10^{-9}
- addition d'un GATA ou soustraction d'un GATA : 10^{-3}

Microsatellites / STR

Un bout de séquence d'un chromosome 7 humain :

```
      10      20      30      40      50
TGTCATAGTTTAGAACGAACTAACGATAGATAGATAGATAGATAGATAGA
      60      70      80      90     100
TAGATAGATAGATAGATAGATAGACAGATTGATAGTTTTTTTTTTATCTCA
      110     120     130     140     150
CTAAATAGTCTATAGTAAACATTTAATTACCAATATTTGGTGCAATTCTG
      160     170     180     190     200
TCAATGAGGATAAATGTGGAATCGTTATAATTCTTAAGAATATATATTCC
      210     220
CTCTGAGTTTTTGGATACCTCAG
```

12 éléments sur cette séquence : $(GATA)_{12}$

Les DNA polymérases peinent à copier correctement les microsatellites.

Variations génétiques entre individus d'une même espèce

SSR

Short Sequence Repeats

STR = microsatellites

ACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGA
GACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACACAGATATATAGCGCT**CACACACACACACACACACACA**CTTGAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGA
AGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGA

Allele 1 (CA)**13**

[illegible]

Allele 2 (CA)**16**

[illegible]

Allele 3 (CA)**7**

Unité répétée : 1 base
2 bases
etc.

p. ex. CCCCCCC

p ex. CACACACA

Variations génétiques entre individus d'une même espèce

Genome Variation

SNP

Single Nucleotide Polymorphism

ACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTC
GAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATAT
ATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCT
CGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGA
GACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATA
TAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCAC
ACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTC
AGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATA

Allele 1

ACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTC
GAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATAT
ATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCT
CGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGA
GACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATA
TAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCAC
ACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTC
GAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATATATAGCGCTCCCTGAAACAGCTCCGACACAGCTCGCACACCGCTCGAGACCTGACCTGACACGTGCTAGCTAGCTCCTCTCGAGACGTAGGGCTCTCGATATAGCTCGCGACACACAGATAT

Allele 2

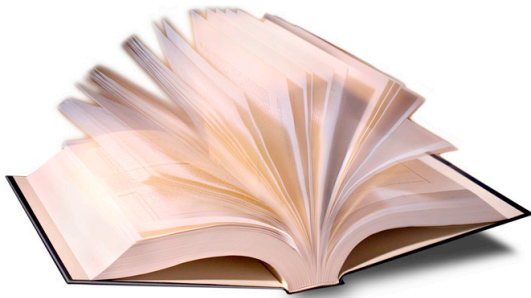
Différences entre 2 humains :
en moyenne 1 différence de base toutes les 1'000 bases

Différences entre un humain et un chimpanzé :
En moyenne 1 différence de base toutes les 100 bases

La PCR c'est comme

si on faisait 1 milliard de photocopies
de la page 345 d'un livre

**Génome
paternel**



12 GATA

**Génome
maternel**



14 GATA

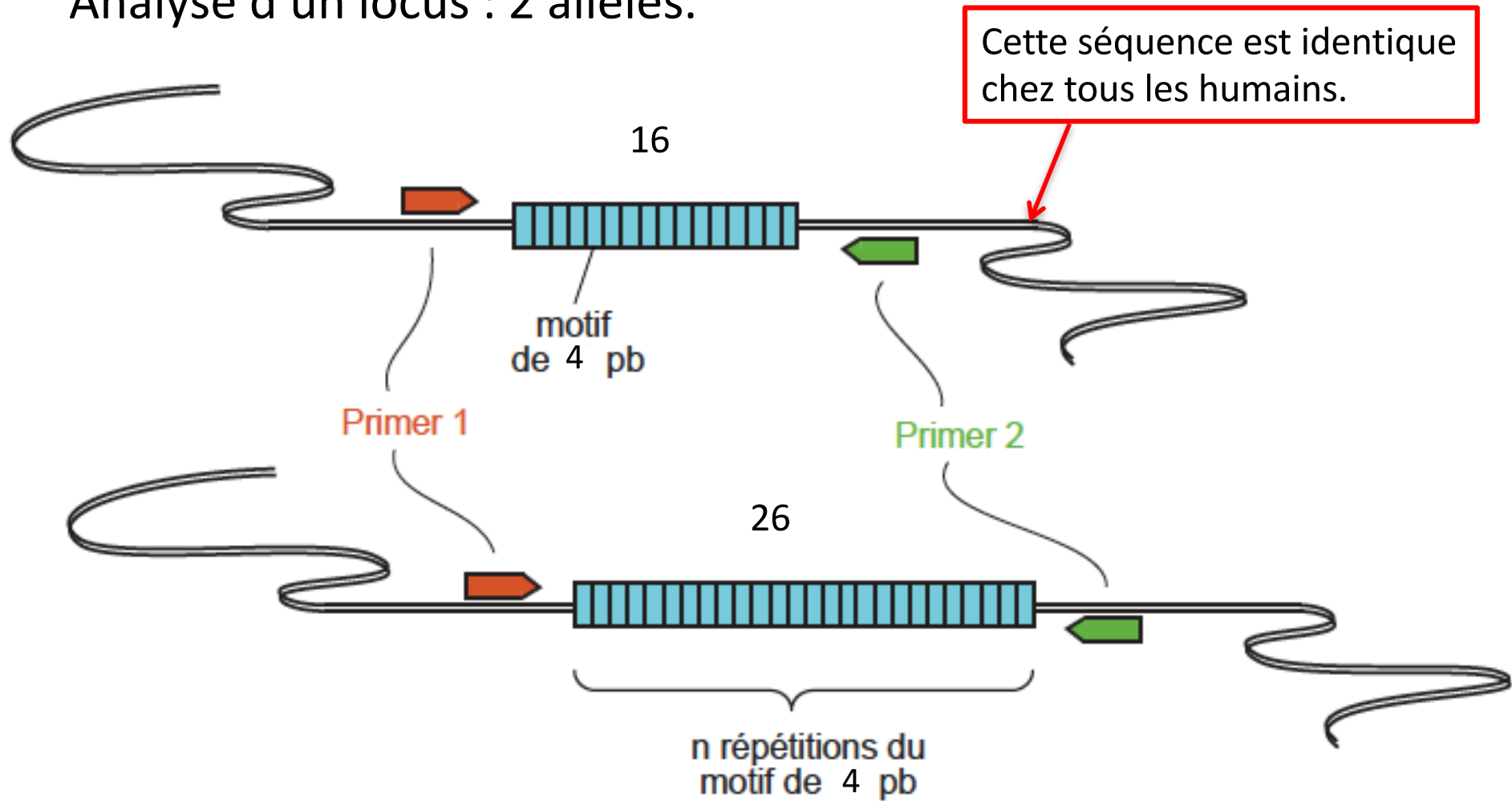


Le nombre de copies produites par PCR double à chaque cycle :

30 cycles $\rightarrow 2^{30} \approx 10^9$ copies ($2^{10} \approx 10^3$)

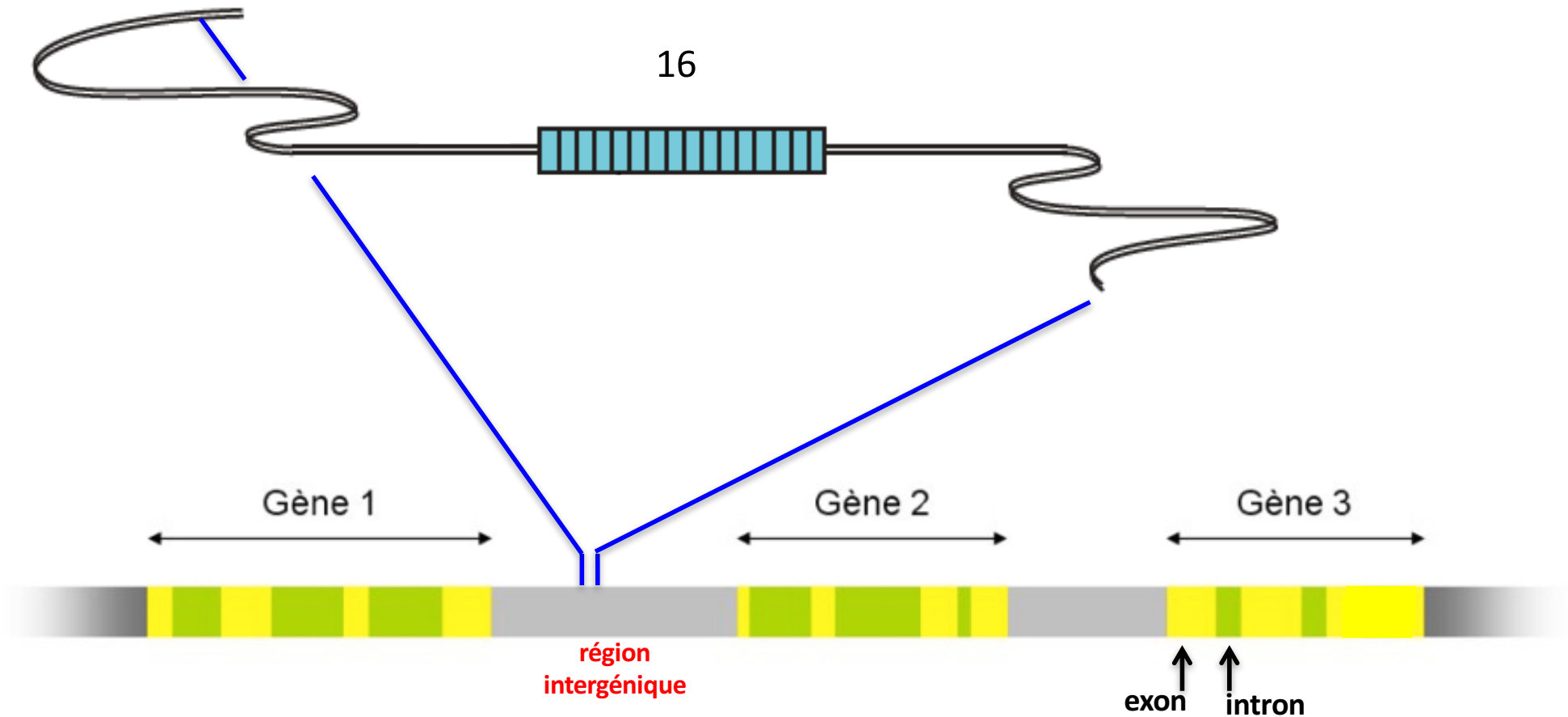
Analyse de microsatellites par PCR

Analyse d'un locus : 2 allèles.



Cette personne est hétérozygote 16 / 26

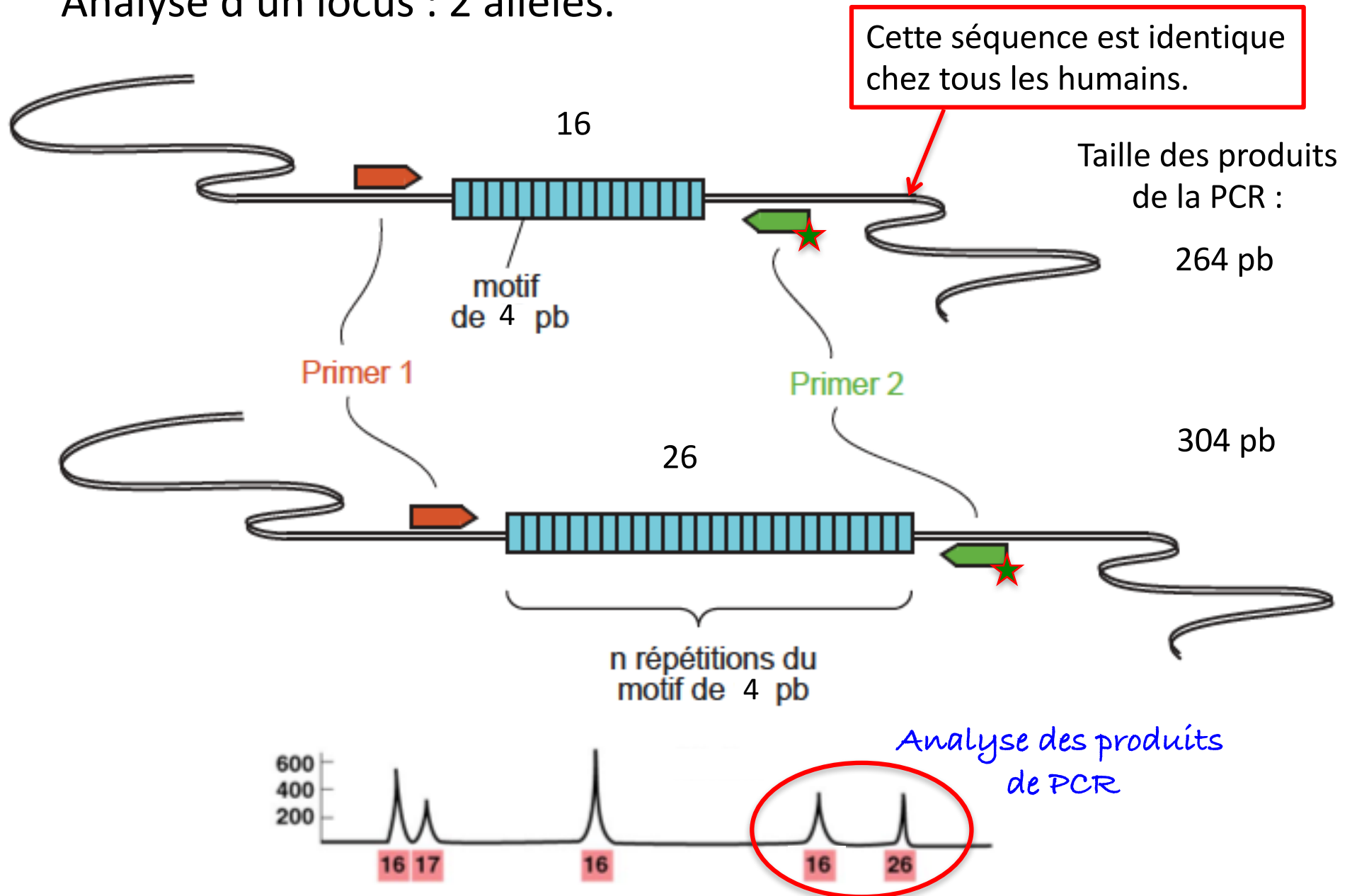
Analyse de microsatellites par PCR



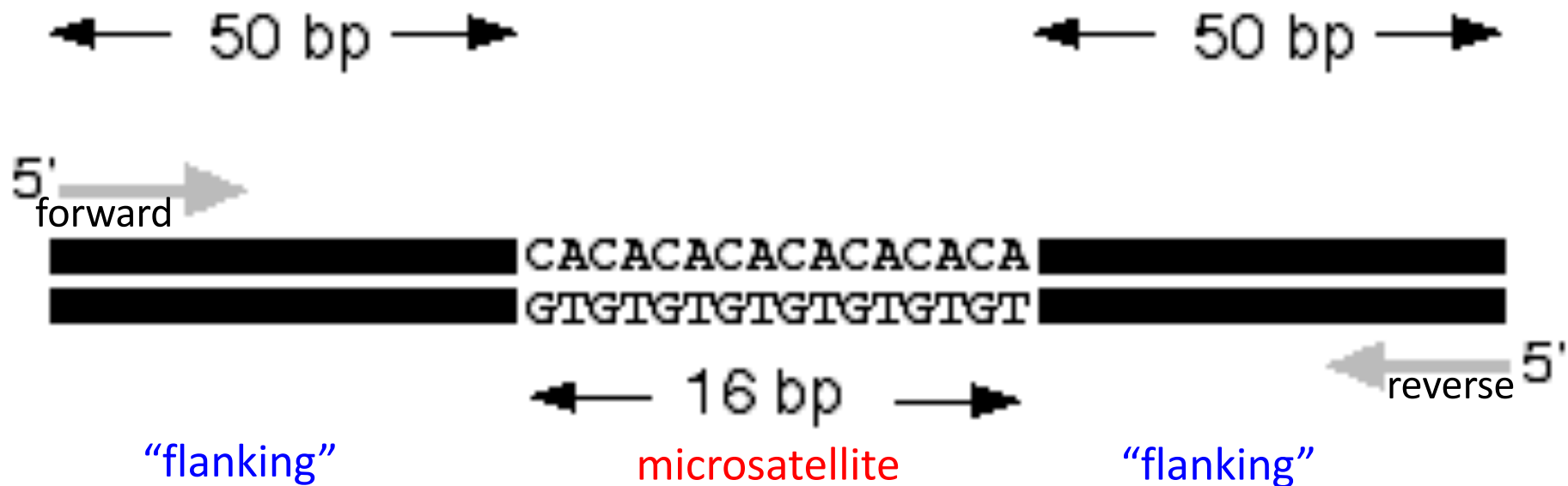
Pour le profil ADN on analyse des microsatellites sans importance fonctionnelle, situés entre les gènes, dans l'ADN « junk ».

Analyse de microsatellites par PCR

Analyse d'un locus : 2 allèles.



La ***taille*** [pb] du produit d'amplification
est convertie en ***nombre*** de répétitions

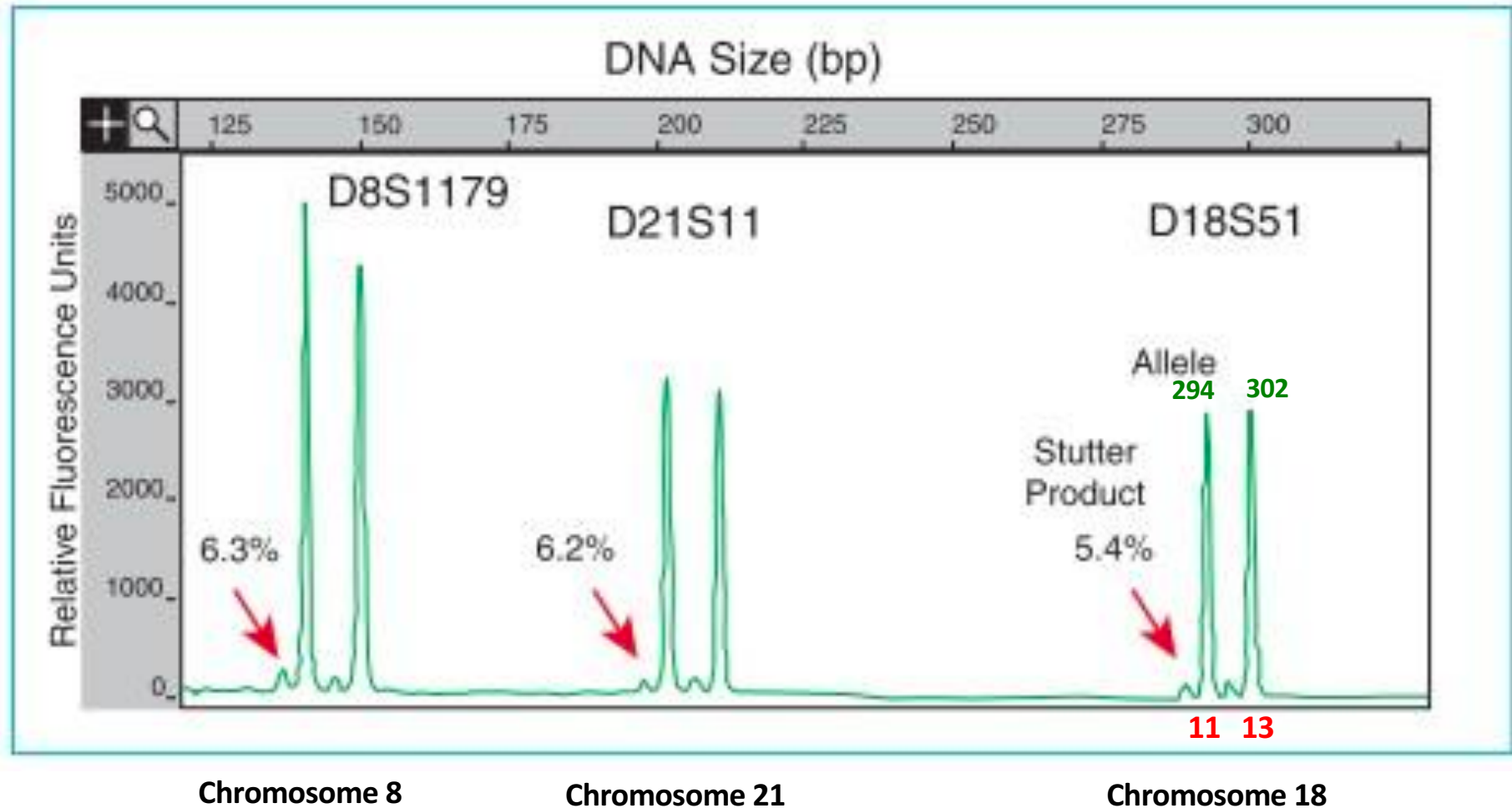


Les régions adjacentes au microsatellite sont invariantes : 100 pb chez tous.
L'expérimentateur choisit la longueur des 2 séquences constantes incluses
dans la PCR.

Un produit de 116 pb contient donc un microsatellite de 16 pb soit
8 répétitions de CA.

Analyse de 3 loci :

Mesure de la **taille** des produits de la PCR



Stutter = bégaiement

$$250 + 44 (4 \times 11) = 294$$

$$250 + 56 (4 \times 13) = 302$$

innocenté

Collect DNA



crime scene
evidence

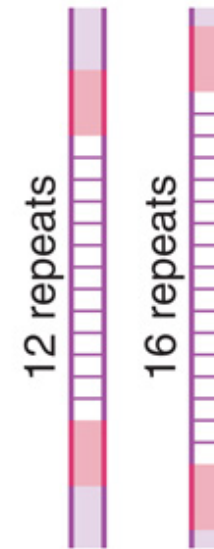
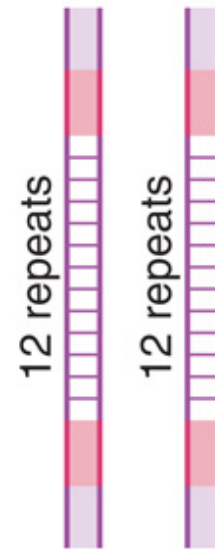


suspect
A



suspect
B

Perform PCR
on repeats



Use gel
electrophoresis
to identify criminals

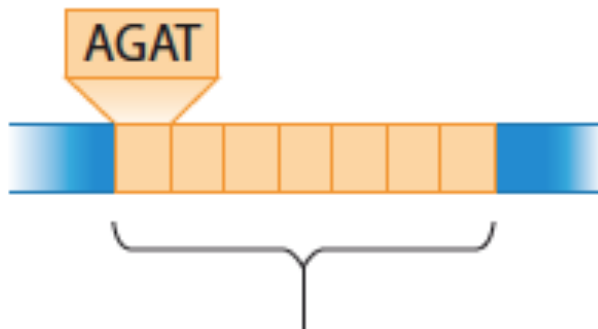


Un profil ADN : analyse de 10 loci.

Locus 1
(Microsatellite 1)

Locus 2
(Microsatellite 2)

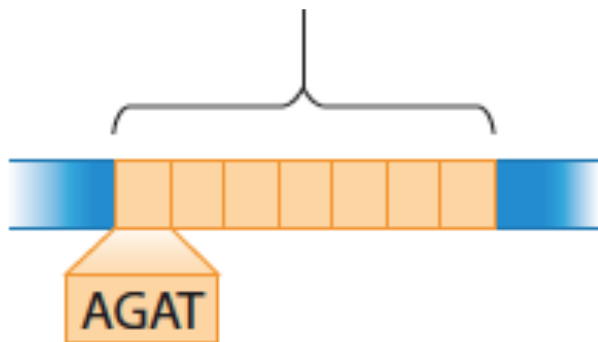
Allèle
reçu du
père



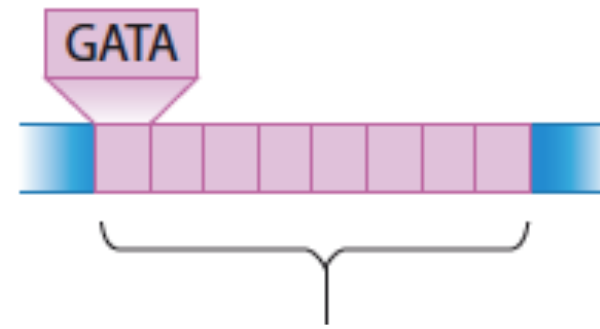
Profil

7/7

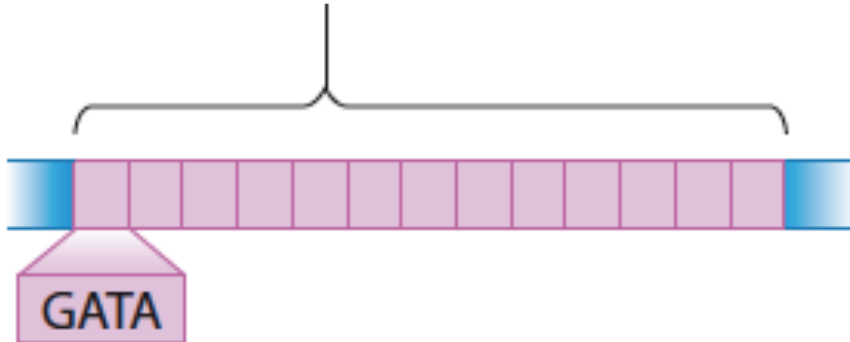
Allèle
reçu de
la mère



Chromosome 8

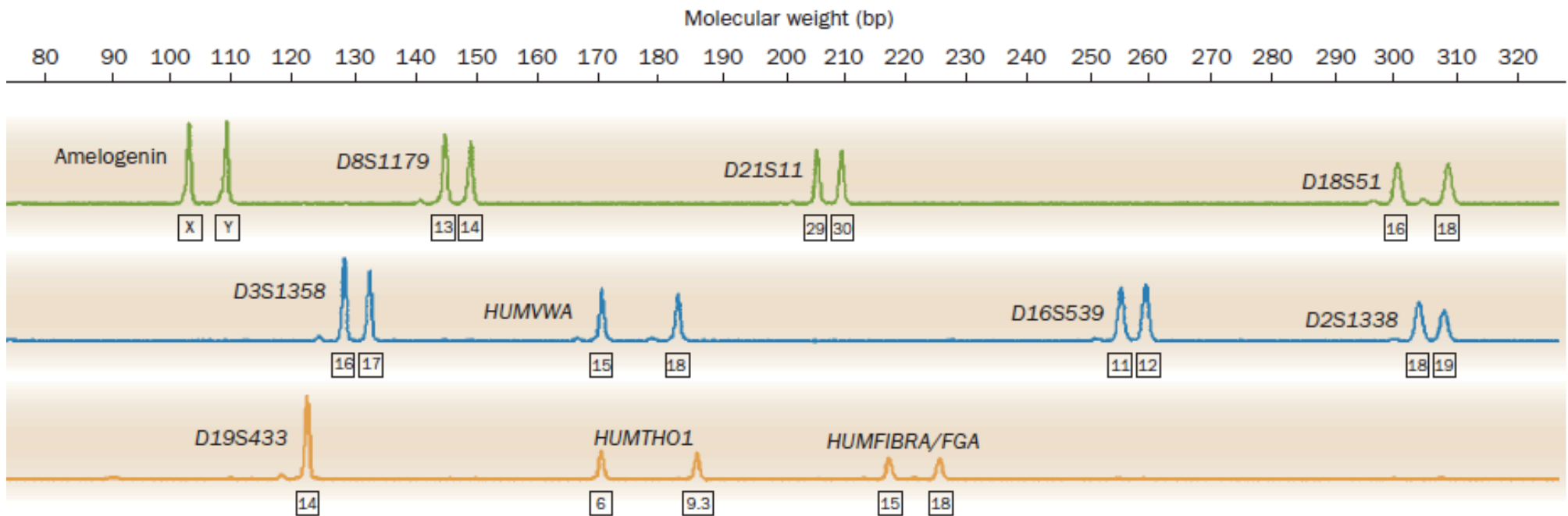


8/13



Chromosome 11

Un profil ADN conforme à la loi Suisse.



Le profil est stocké dans une banque de donnée informatique sous forme d'une suite de chiffre :

Locus : 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

 13/14 29/30 16/18 16/17 15/18 11/12 18/19 14/14 06/9.3 15/18

**Ordonnance du DFJP
sur les exigences de prestations et de qualité requises
pour les laboratoires forensiques d'analyse d'ADN
(Ordonnance du DFJP sur les laboratoires d'analyse d'ADN)**

⁵ Les marqueurs génétiques (loci) suivants doivent être analysés selon les découvertes scientifiques les plus récentes:

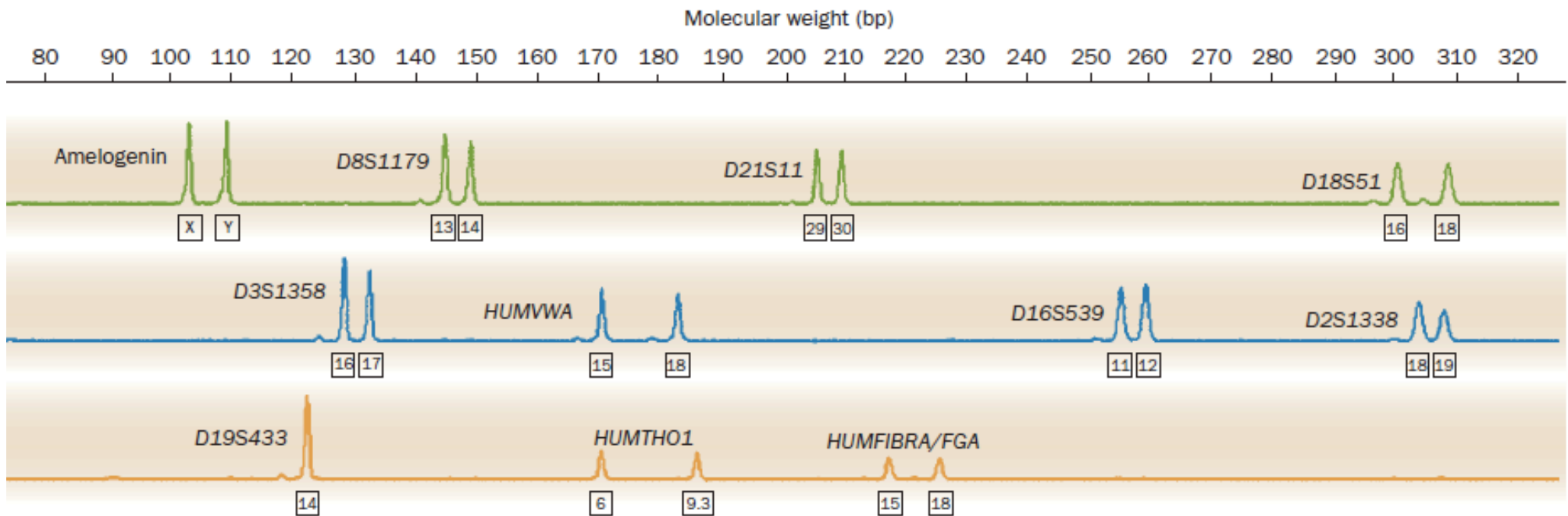
- a. D3S1358;
- b. vWA;
- c. D16S539;
- d. D2S1338;
- e. D8S1179;
- f. D21S11;
- g. D18S51;
- h. D19S433;
- i. TH01;
- j. FGA;
- k. Amélogénine.

10 microsatellites

(Il existe des dizaines de milliers de microsatellites dans le génome humain. La loi en désigne 10 pour l'analyse du profil ADN.)

→ Détermination du sexe : XX / XY

Un profil ADN conforme à la loi Suisse.



2 pics : hétérozygote

1 pic : homozygote

L'homme analysé est hétérozygote à 9 loci et homozygote à un locus.

Cette empreinte est unique à une seule personne.

Exception : jumeaux monozygotes

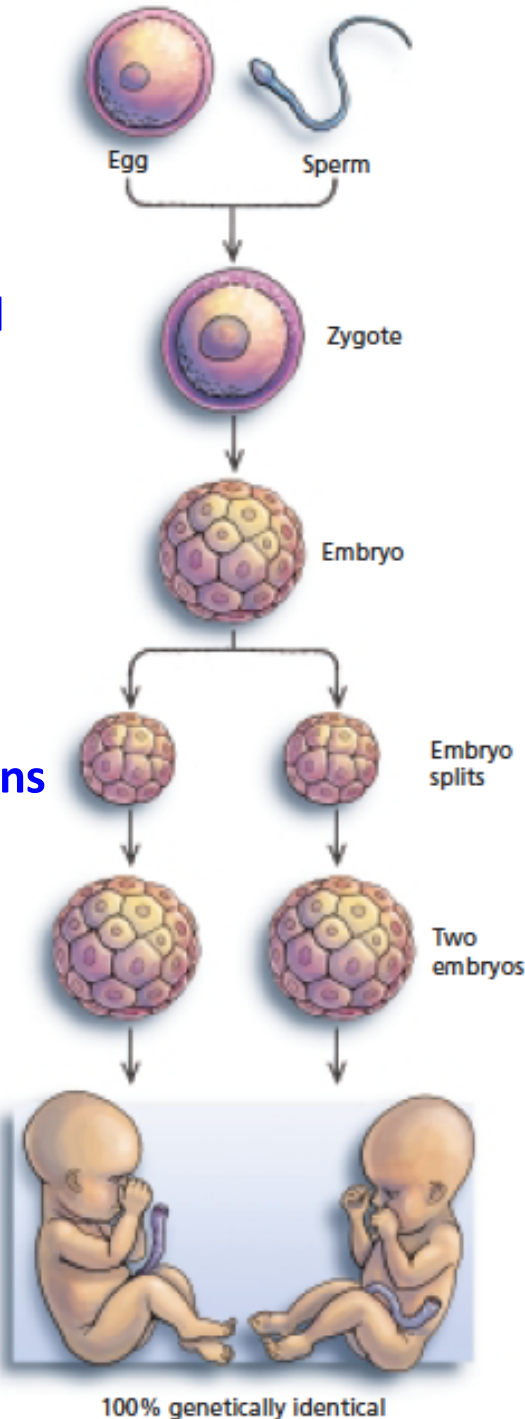
Les “vrais” jumeaux ont le même profil ADN.



Fig_06-11a *Genetics, Second Edition* © 2005 W.H. Freeman and Company

NB / les empreintes digitales ne sont pas identiques

(a) Monozygotic (identical) twins



un seul
zygote

deux
embryons

Jumeaux monozygotes

Jumeaux identiques

Jumeaux vrais



Statistique pour la Suisse :

Fin 2007, trois ans après l'entrée en vigueur de la loi sur les profils d'ADN, la banque de données CODIS contenait **92'912 profils de personnes** 17'346 traces relevées sur les lieux de délits.

90'000 personnes analysées en 3 ans !!

L'empreinte ADN ne révèle rien sur la santé d'une personne.

Office fédéral de la police

La partie non codante de l'ADN

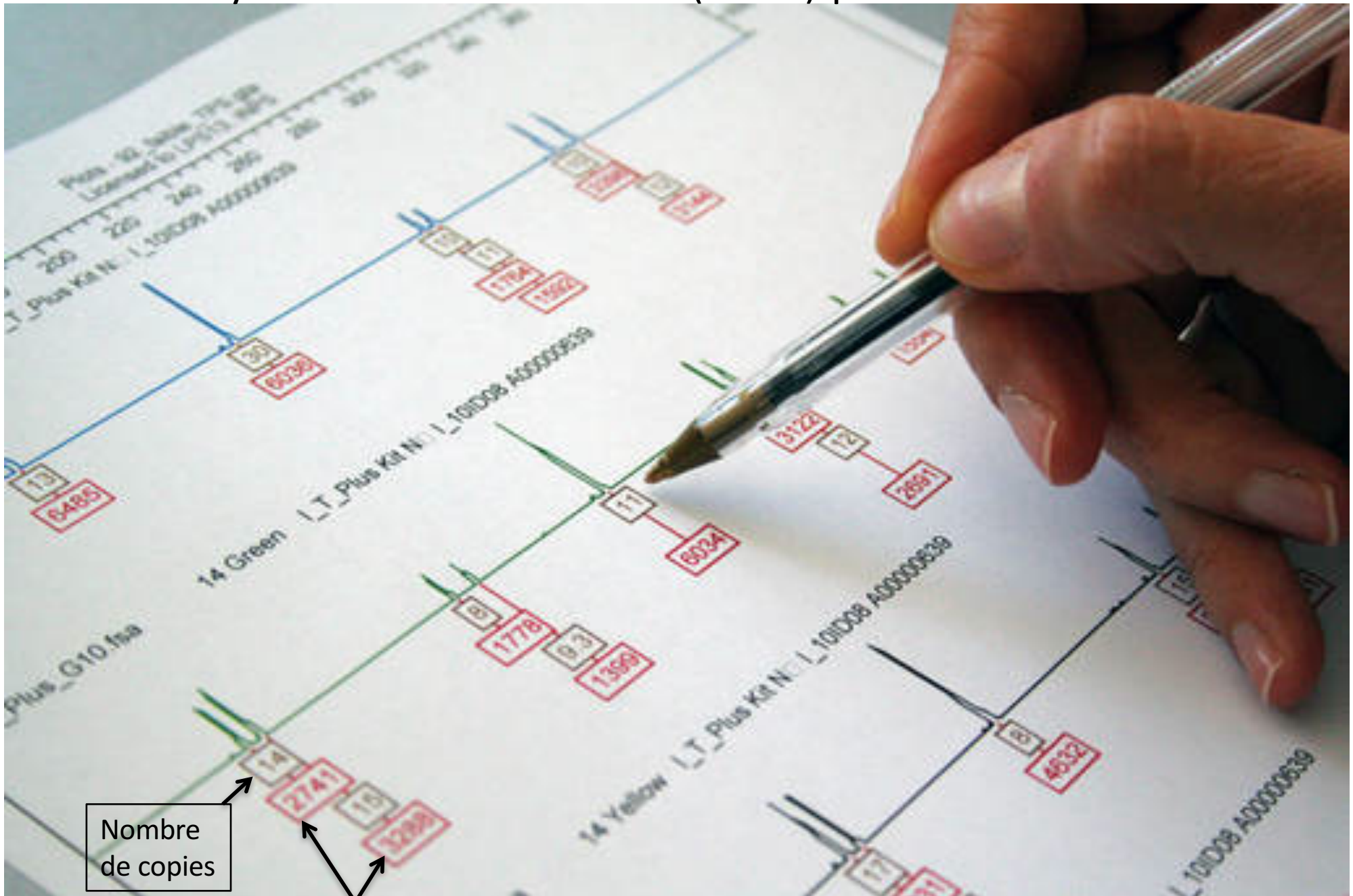
Retour à «[Profils d'ADN](#)»

L'ADN (acide désoxyribonucléique) est présent dans chaque noyau cellulaire du corps humain. Il est donc possible d'établir des profils d'ADN à partir de la plupart des matériaux biologiques, comme le sang, les tissus, la salive, les os ou le sperme. Toutes les séquences de l'ADN analysées dans le cadre d'une évaluation forensique proviennent de la partie non codante du génome. Cela signifie que les informations enregistrées dans la banque de données ADN ne permettent en aucun cas de connaître les caractéristiques physiques ou psychiques des personnes concernées, ni même d'éventuelles maladies (une exception est possible en cas de trisomie 21).

Les jumeaux univitellins présentent le même profil d'ADN et les analyses d'ADN ne permettent pas de les distinguer l'un de l'autre, ce qui est en revanche possible par leurs empreintes digitales.

univitellins = monozygotes

L'analyse des microstallites est (semi-)quantitative



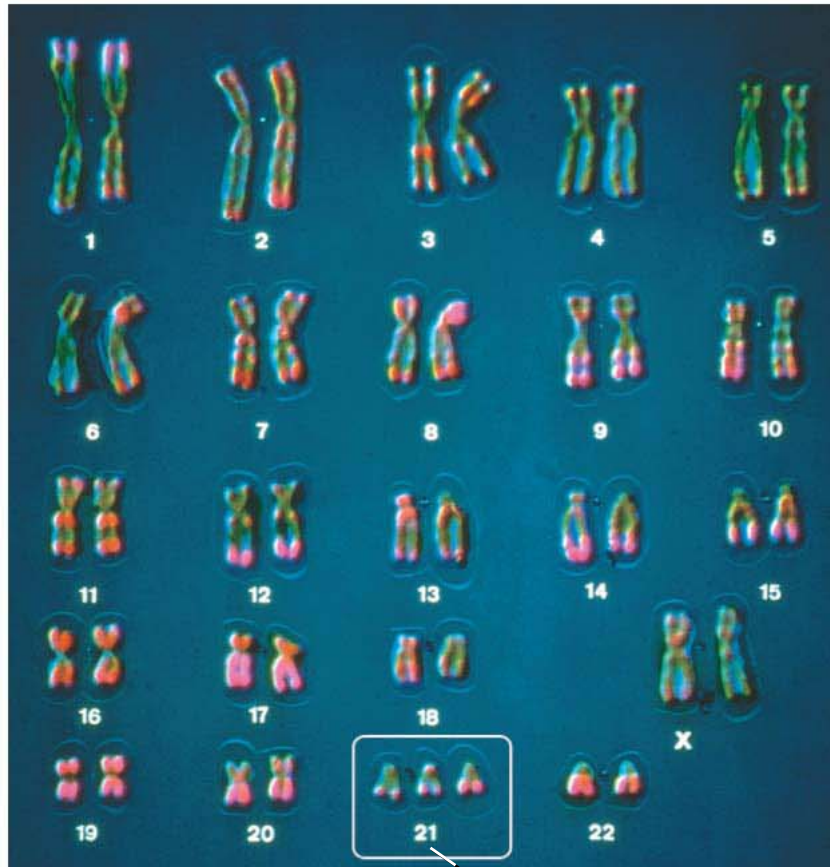
L'étude des microsatellites permet

1. de déterminer l'origine parentale d'un chromosome surnuméraire
2. de tester la paternité
3. d'identifier une personne (p. ex. un violeur)

2 et 3 nécessitent de maîtriser le calcul de probabilité

La trisomie 21 (syndrome de Down)

LM



Trisomie 21

caryotype



La trisomie 21 (syndrome de Down)

Profil ADN :

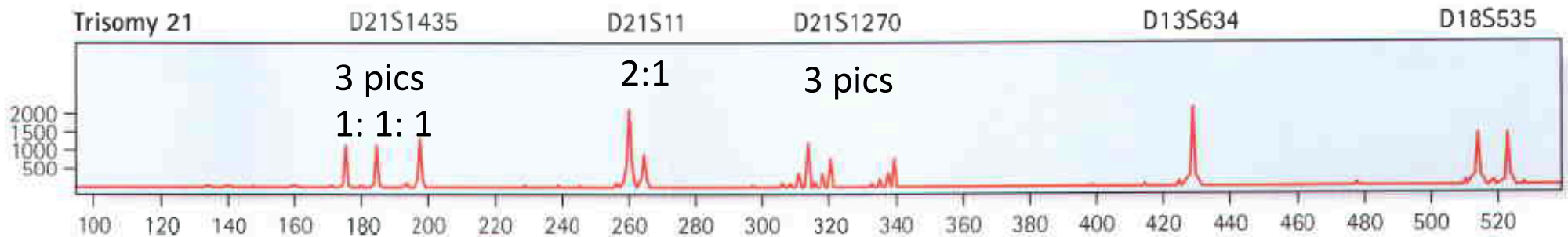
Microsatellites sur le 21 :

3 pics 1 : 1 : 1

ou

2 pics 2 : 1

Microsatellites sur les
autres chromosomes :
sans particularité

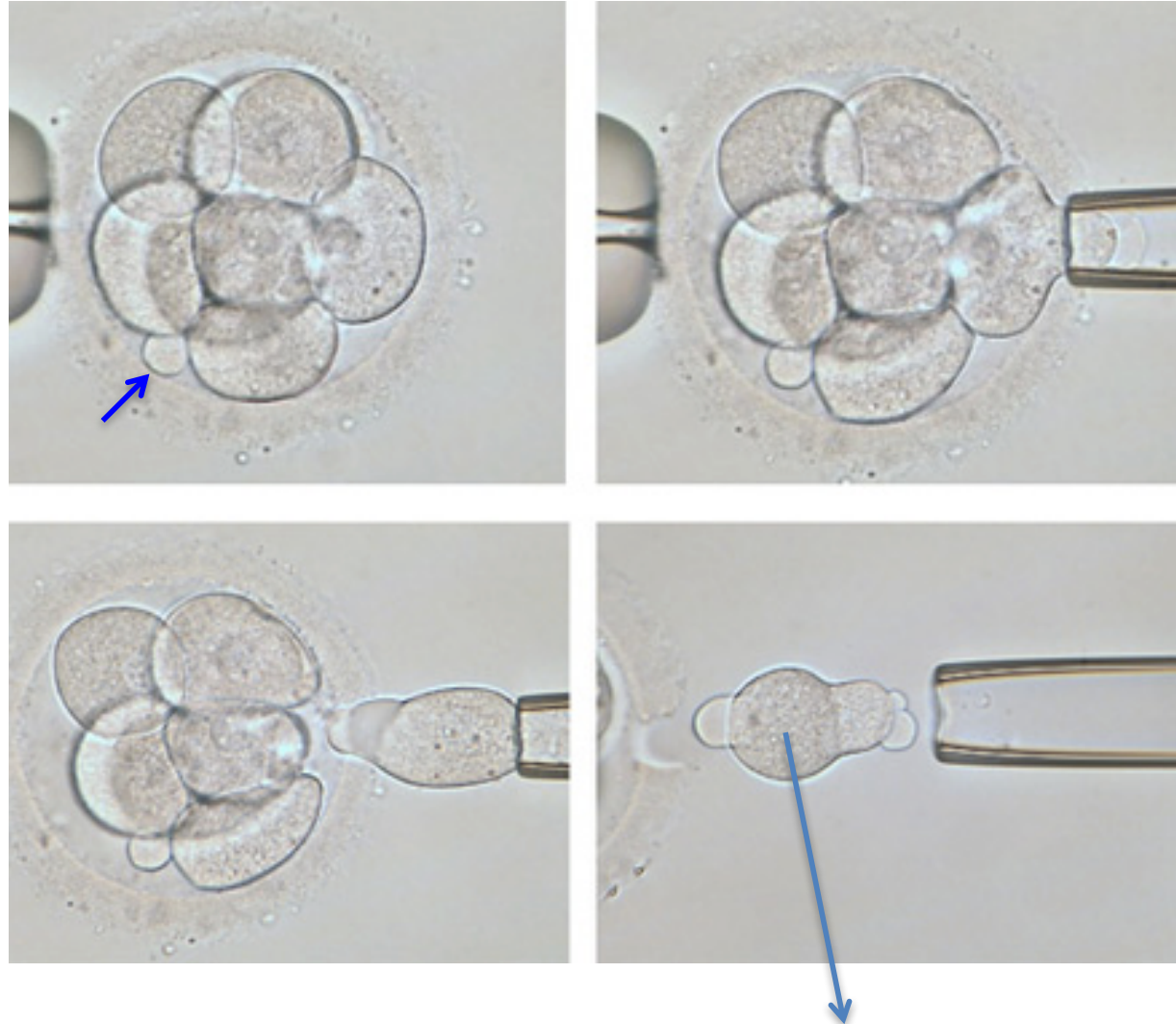


DPI :

Prélèvement d'un blastomère

Cet embryon
est-il atteint
par la maladie
présente dans
la famille ou
d'une trisomie?

L'embryon
poursuit un
développement
normal.



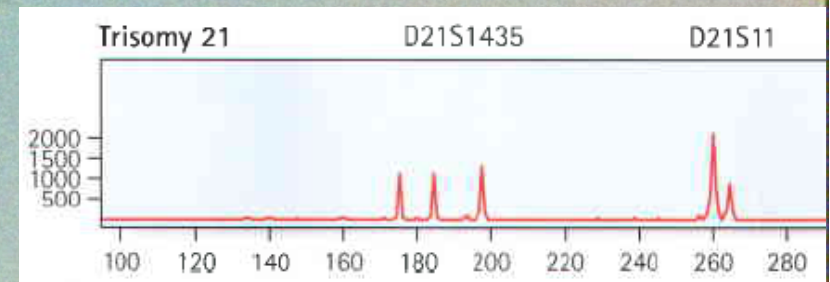
analyse de l'ADN par **PCR**

Diagnostic pré-implantatoire (DPI) :

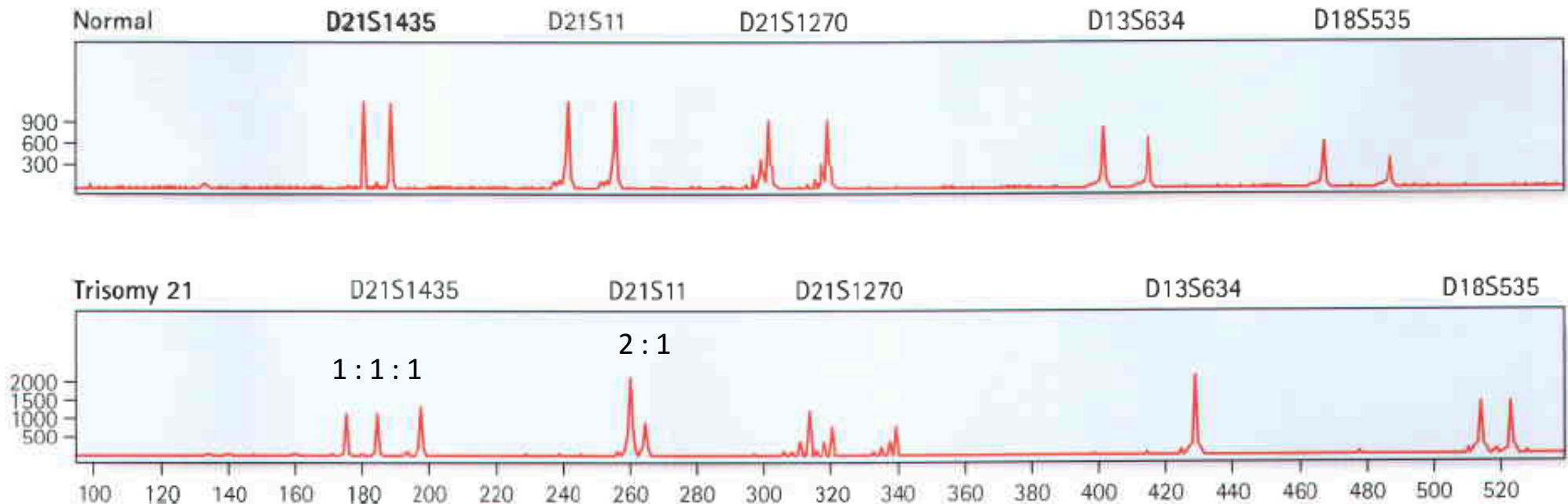
Morula de
8 cellules

3 jours après
la fécondation

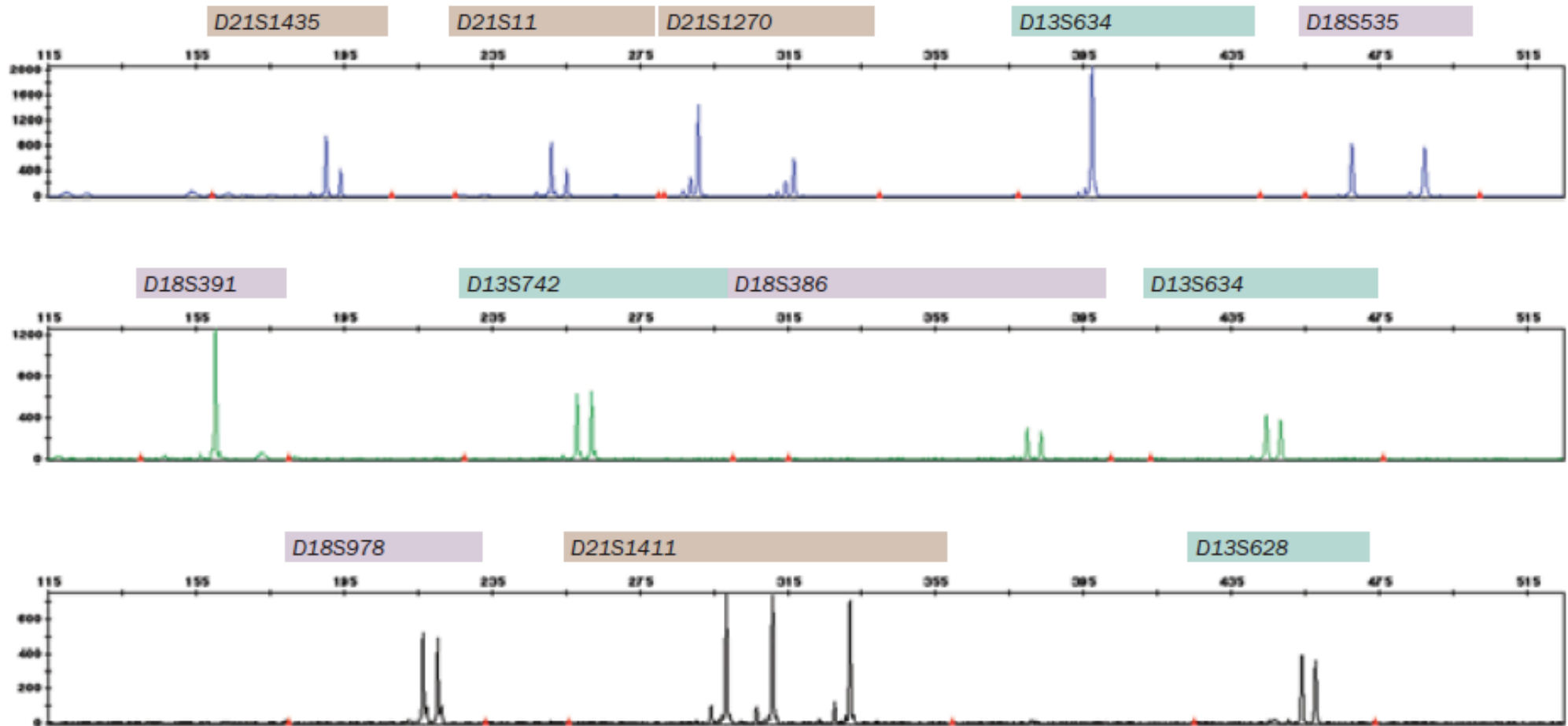
ADN



Détection des 3 trisomies viables par P C R.



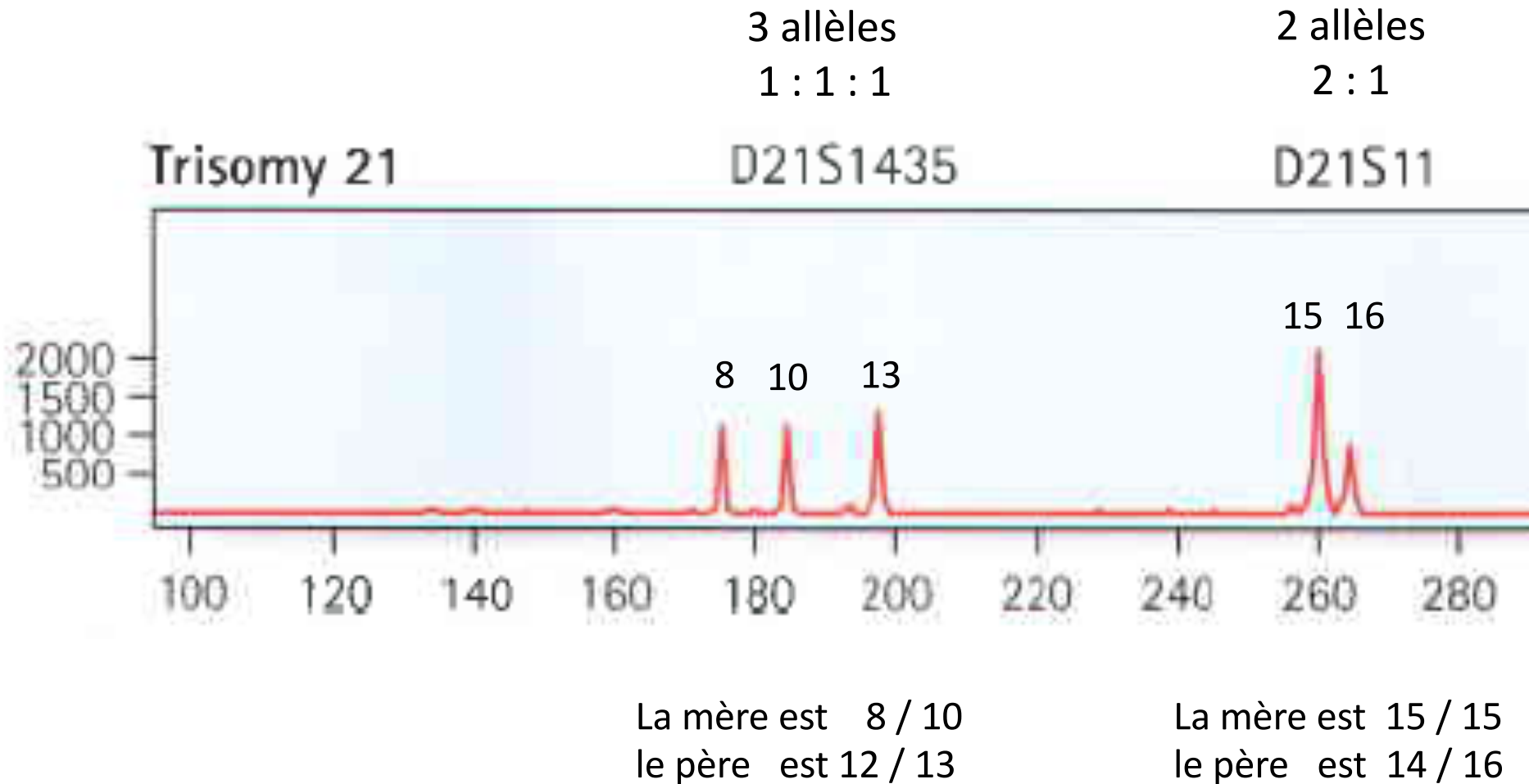
QF-PCR : Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction



4 loci sur le chromosome 21
4 loci sur le chromosome 18
4 loci sur le chromosome 13

Diagnostic : trisomie 21

Détection d'une trisomie par analyse de microsatellites :



- Questions : 1. origine parentale de la trisomie 21 ?
2. non-disjonction à quelle division méiotique ?

$2n = 46$, if human

We are following one pair of homologs.

Disjonction
normale

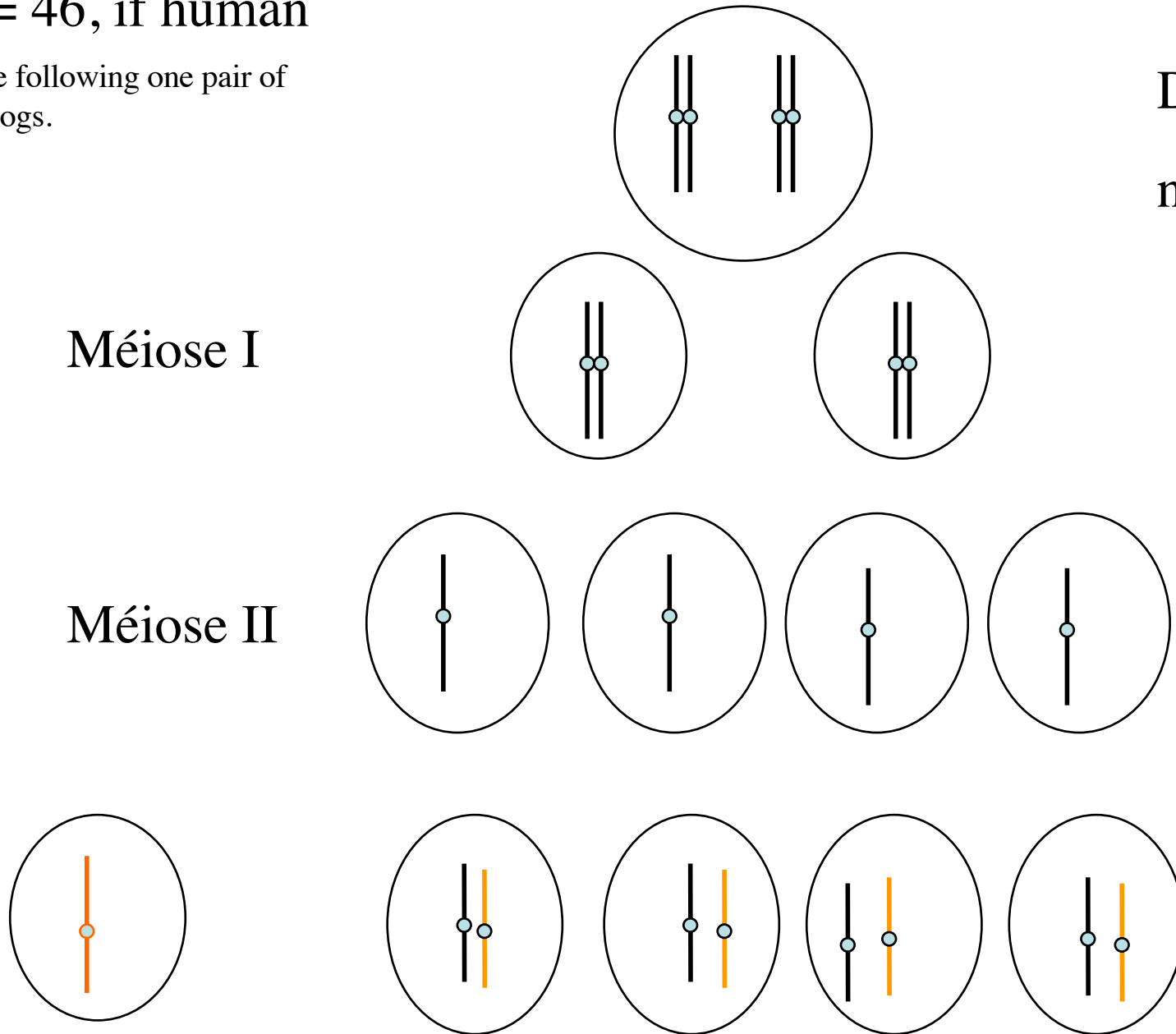
Méiose I

Méiose II

(gamètes)

Gamète haploïde

Disomique



$2n = 46$, if human

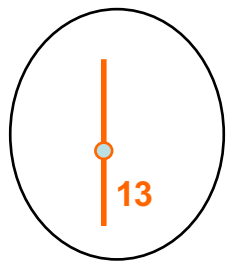
We are following one pair of homologs.

Nondisjunction
en méiose I

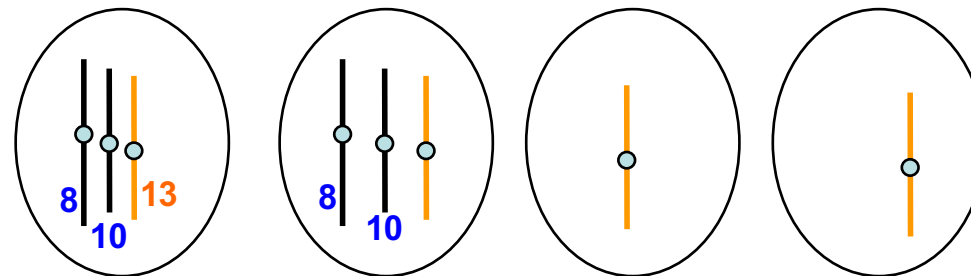
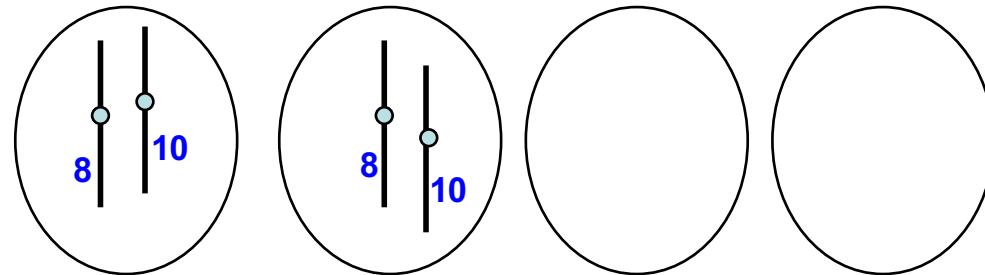
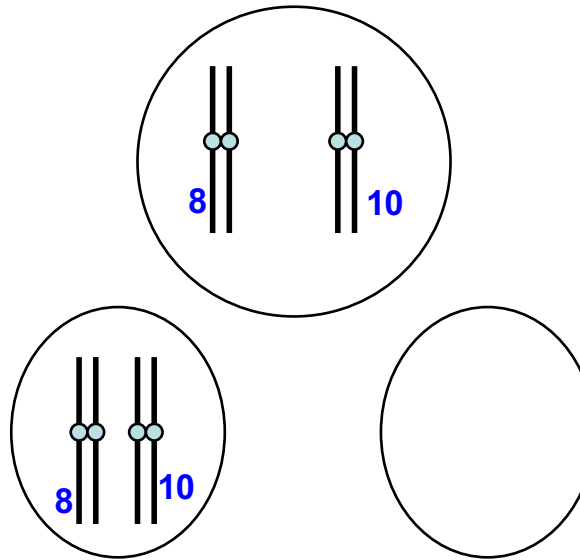
Méiose I

Méiose II

(gamètes)



Gamète haploïde



Trisomique

Trisomique

Monosomique

Monosomique

$2n = 46$, if human

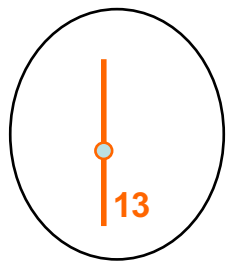
We are following one pair of homologs.

Nondisjunction
en méiose II

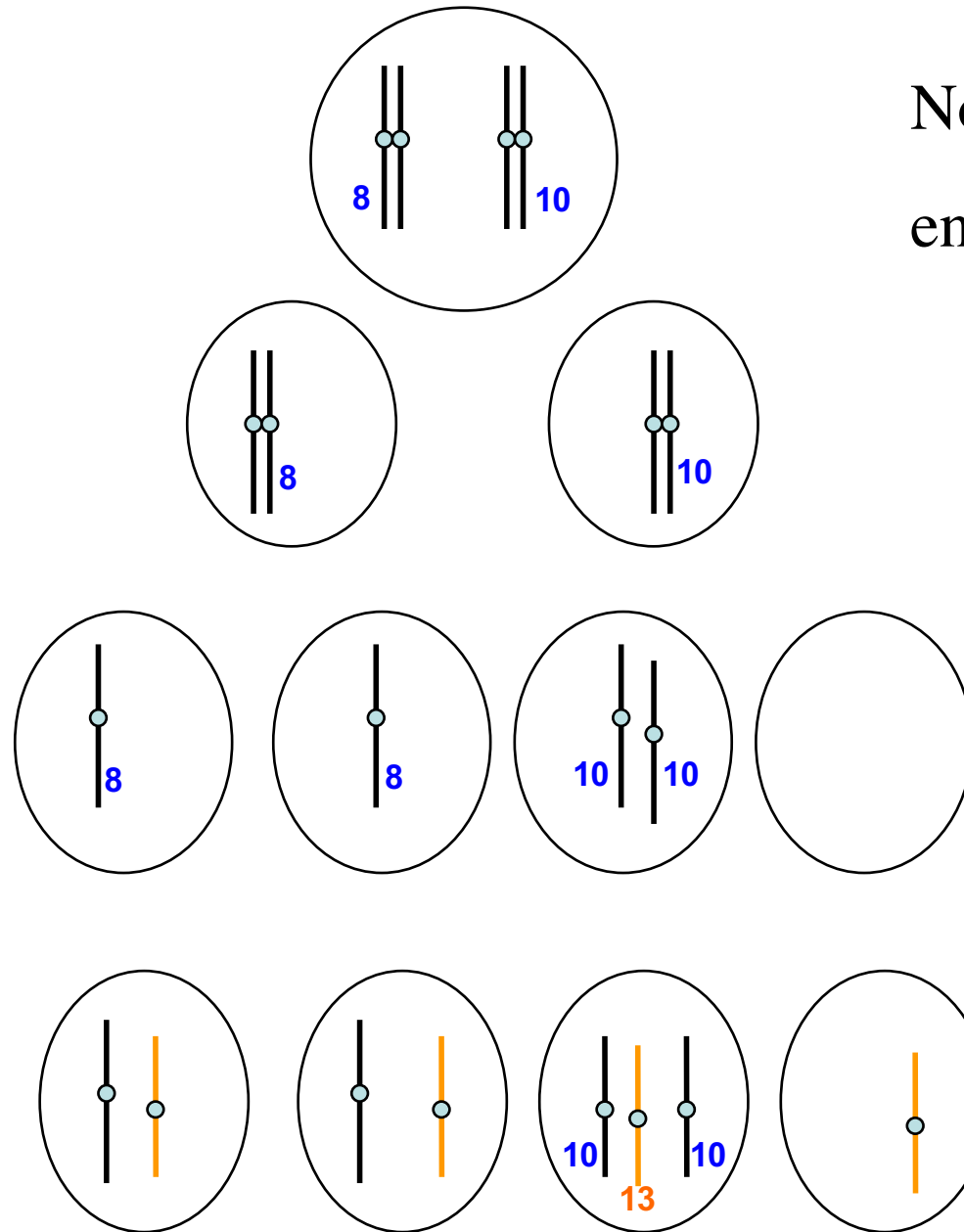
Méiose I

Méiose II

(gamètes)



Gamète haploïde



Disomique

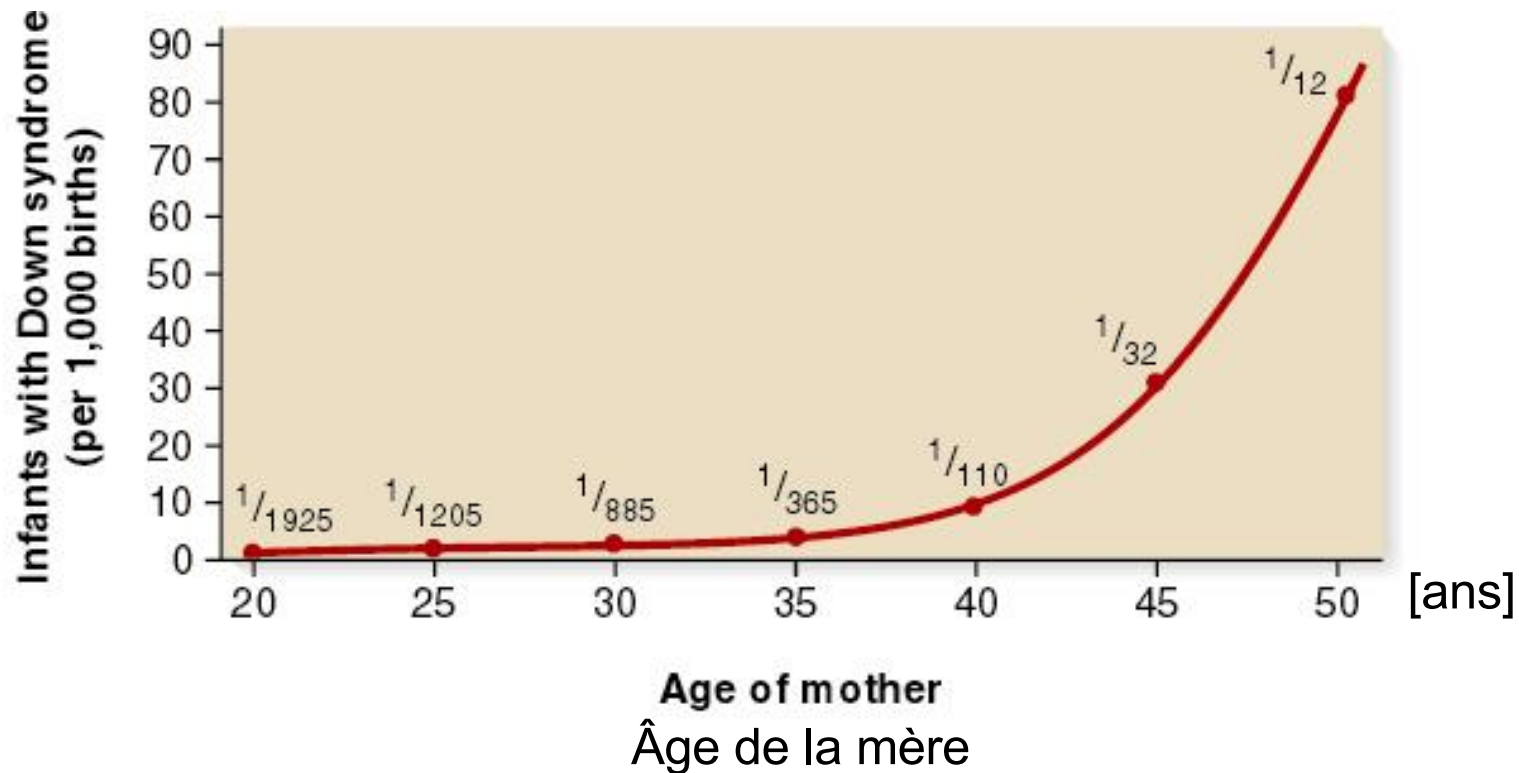
Disomique

Trisomique

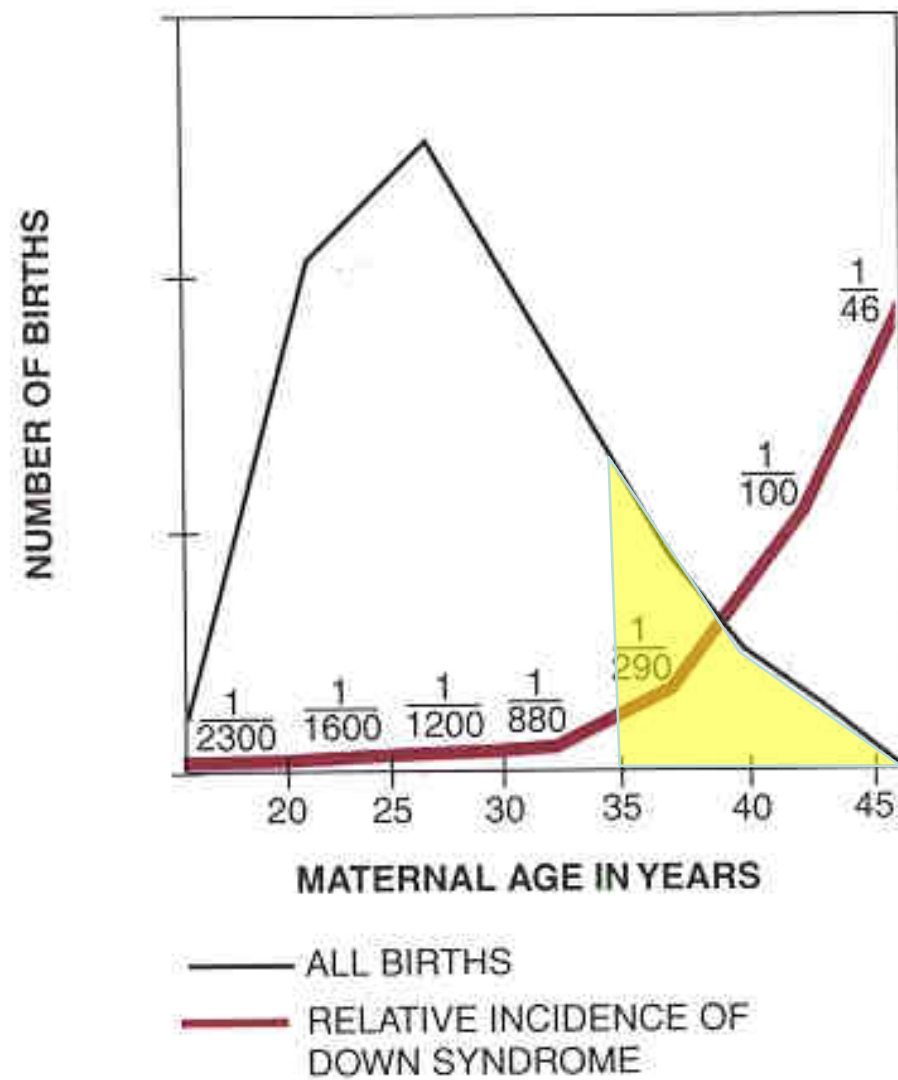
Monosomique

9 trisomies 21 sur 10 sont d'origine maternelle.

L'âge maternel au moment de la conception augmente le risque de trisomie 21.

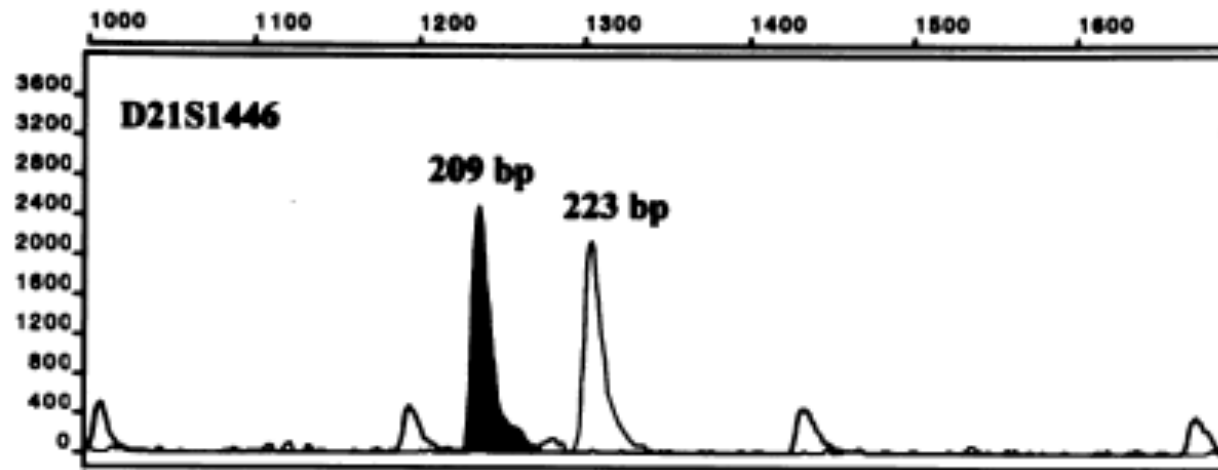


L'âge du père = l'âge de la mère \pm 2 ans



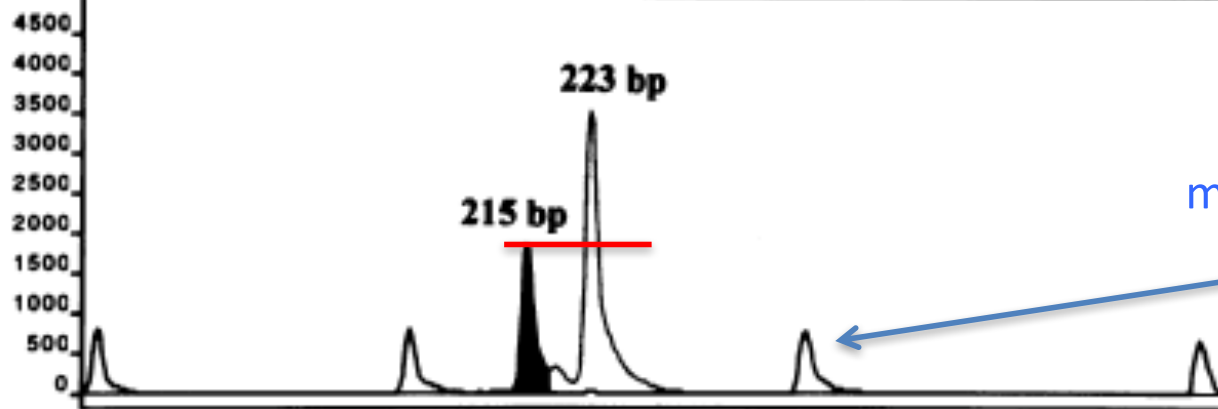
Exemple :
(réel)

mère

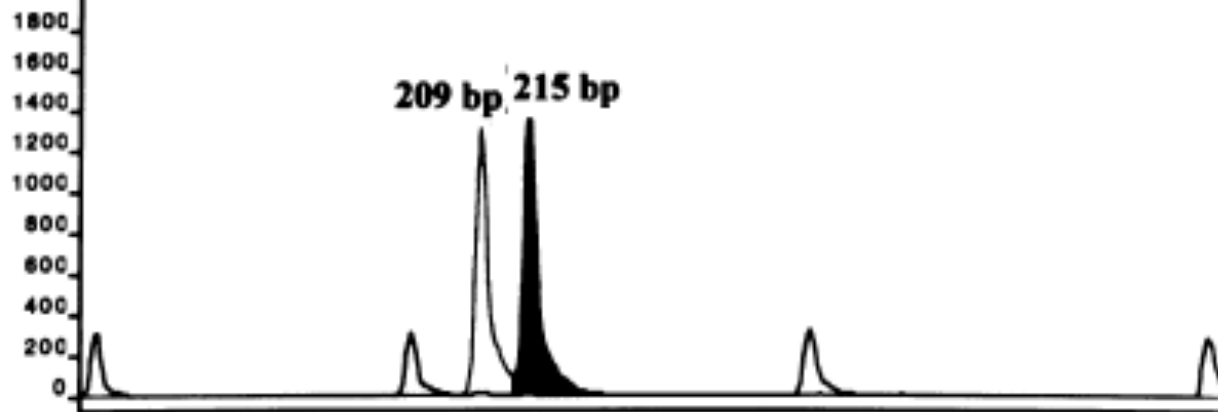


paires de bases

enfant :
trisomie 21

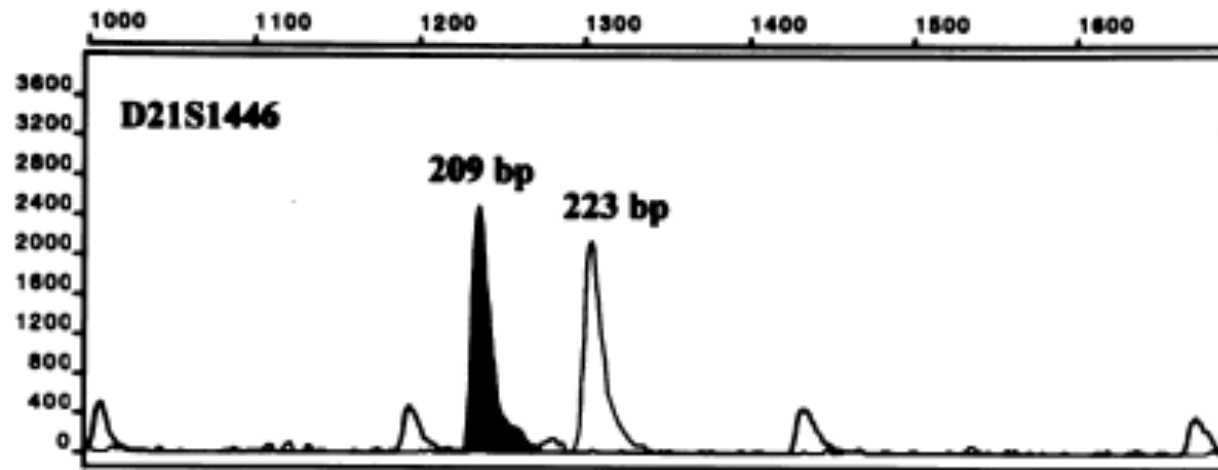


père

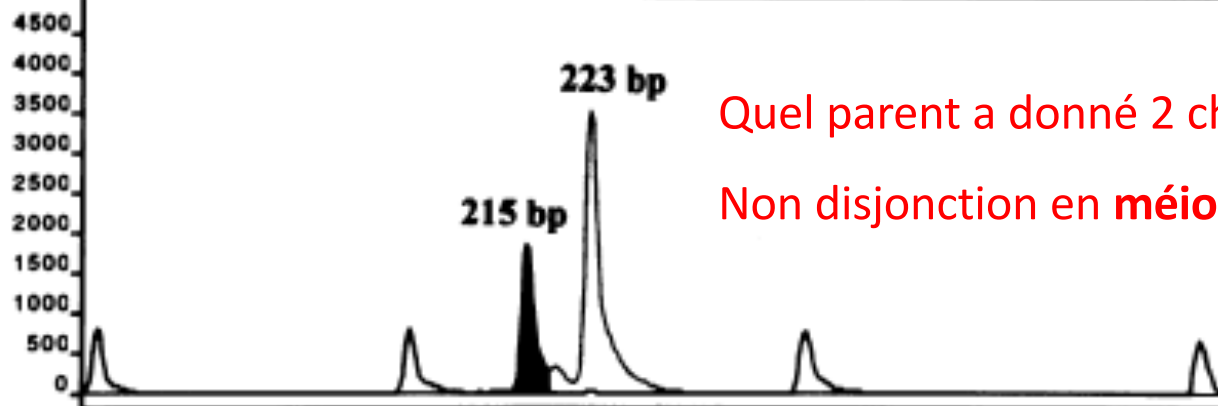


Ne comparez pas
les échelles entre
les analyses

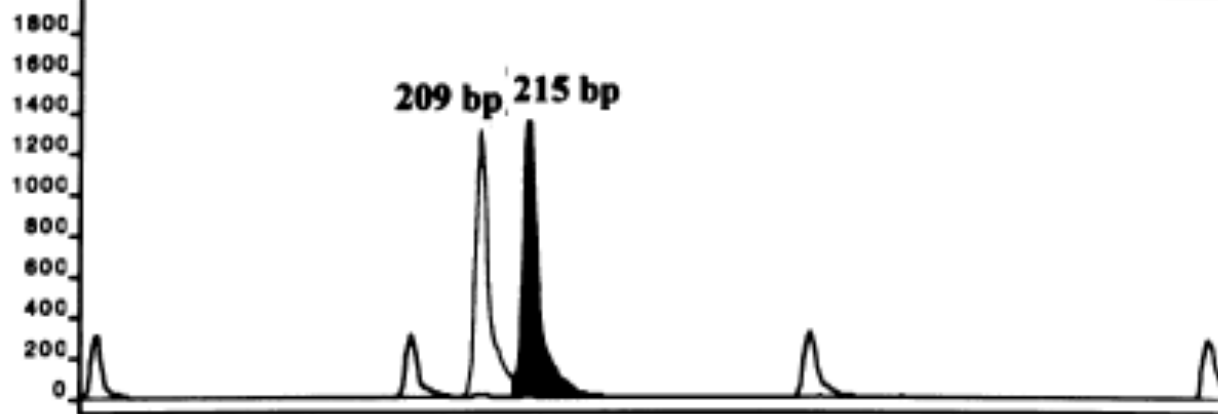
mère



enfant :
trisomie 21



père



L'étude des microsatellites permet

1. de déterminer l'origine parentale d'un chromosome surnuméraire
2. de tester la paternité
3. d'identifier une personne (p. ex. un violeur)

2 et 3 nécessitent de maîtriser le calcul de probabilité