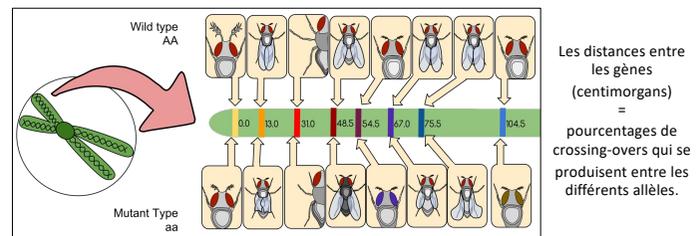


## Liaison génétique et test trois points

28

### Pourquoi caractériser la liaison génétique ?

- les organismes ont beaucoup plus de gènes que de chromosomes (*Drosophila melanogaster* : 13 000 gènes pour 4 chromosomes)
- Un grand nombre de gènes sont alignés sur chaque chromosome et certains sont très proches les uns des autres.

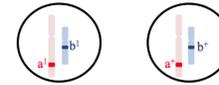


**=> Cela affecte-t-il la façon dont les gènes sont hérités ? Dans certains cas, oui co-ségrégation : liaison génétique !**

29

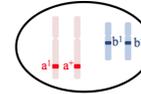
## Indépendance génétique

S1:  $a^+b^1$  [arg, B] x SSR  $a^+b^+$  [arg<sup>+</sup>, N]



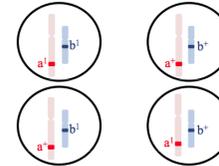
Fusion des spores

diploïdes :  $\frac{a^+ b^+}{a^1 b^1}$



Méiose

$a^+b^+$  [arg<sup>+</sup>, N] : 25%     $a^+b^1$  [arg<sup>+</sup>, B] : 25%  
 $a^1b^1$  [arg, B] : 25%     $a^1b^+$  [arg, N] : 25%



Association parentale 50%    Association recombinée 50%

30

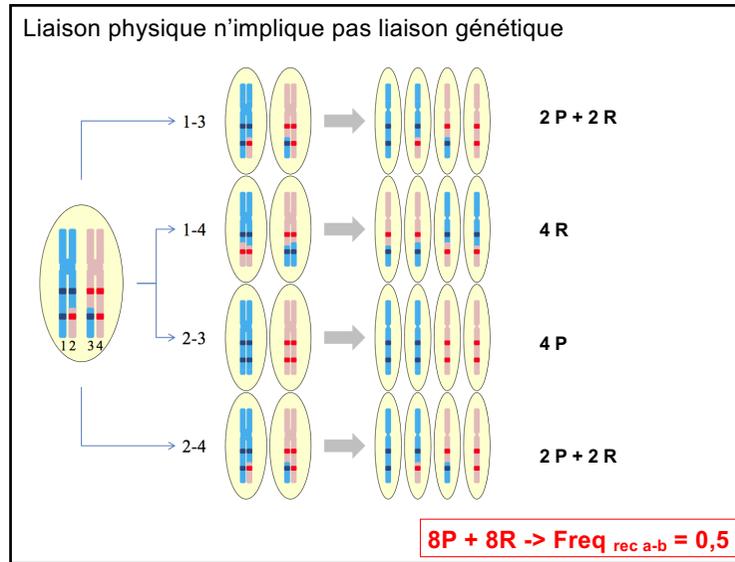
## Indépendance génétique

**Attention !**

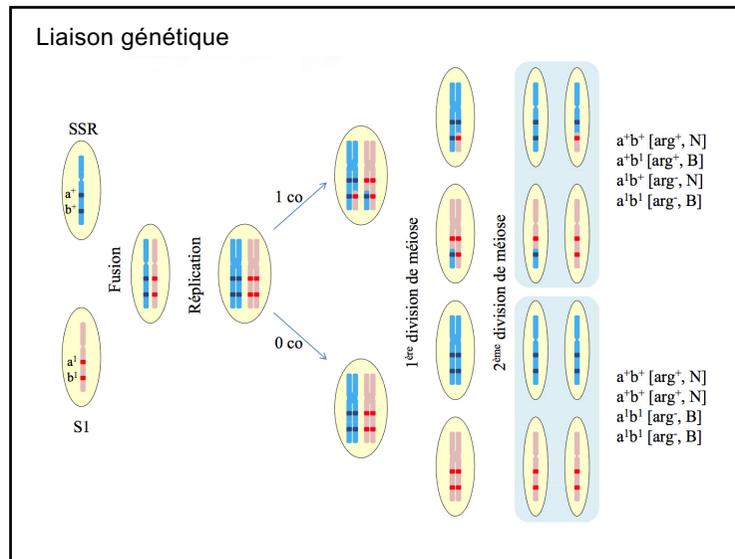
**si indépendance génétique alors associations  
 « recombinées » ne nécessitent pas forcément  
 d'évènements de recombinaison (crossing-over)  
 Il peut s'agir seulement du résultat de la distribution  
 aléatoire des chromosomes**

**Associations recombinées = associations non-parentales**

31



32



33

### Liaison génétique

The diagram shows two scenarios of genetic linkage. In the '1 co' scenario, two chromosomes (one blue, one red) undergo a crossover, resulting in two recombinant chromosomes (one blue with a red segment, one red with a blue segment). In the '0 co' scenario, the two chromosomes remain separate without crossing over.

**1 co**  
 P1 : a\*b\* [arg\*, N]      association allélique parentale  
 P2 : a'b' [arg, B]      association allélique parentale  
 R1 : a'b\* [arg\*, B]      association allélique recombinée  
 R2 : a\*b' [arg, N]      association allélique recombinée

$n_{P1} = n_{P2}$        $n_{P1} = n_{P2} \gg \gg n_{R1} = n_{R2}$   
 $n_{R1} = n_{R2}$

**0 co**  
 P1 : a\*b\* [arg\*, N]      association allélique parentale  
 P1 : a\*b\* [arg\*, N]      association allélique parentale  
 P2 : a'b' [arg, B]      association allélique parentale  
 P2 : a'b' [arg, B]      association allélique parentale

**Freq<sub>rec</sub> a-b ≤ 0,5**

34

### Liaison génétique

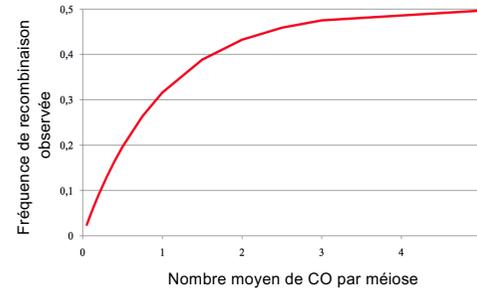
**Attention !**

**si liaison génétique alors associations « recombinées »  
nécessitent au moins un évènements de recombinaison  
(crossing-over)**

**Plus la distance génétique est petite, moins le nombre de  
CO est grand**

35

### Liaison génétique



Quand le nombre moyen de CO  $\rightarrow + \infty$  Freq<sub>rec</sub>  $\rightarrow$  0,5

36

### Liaison génétique

**Cas N° 2 : F<sub>rec a-b</sub> = 0,5**

- > sites a et b sont génétiquement indépendants
- > sites a et b peuvent se trouver sur le même chromosome ou sur deux chromosomes différents

**Cas N° 1 : F<sub>rec a-b</sub> < 0,5**

- > sites a et b sont génétiquement liés
- > sites a et b sont sur le même chromosome

↓

Pas de calcul de distance

↓

Estimation de la distance génétique a-b

Estimation distance a-b  $D_{a-b} \approx \frac{R1 + R2}{P1 + P2 + R1 + R2} \times 100$  centiMorgan (cM)

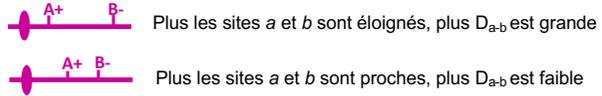
1 cM  $\approx$  1% de gamètes représentant une association allélique recombinée

	Levure	Nématode	Drosophile	Arabette	Homme
Taille physique (Mb)	13	100	180	125	3 000
Taille moyenne d'un cM (kb)	3	500	300	220	800

37

### Liaison génétique

$$\diamond f(0 \text{ CO}) > f(1 \text{ CO}) > f(2 \text{ CO})$$



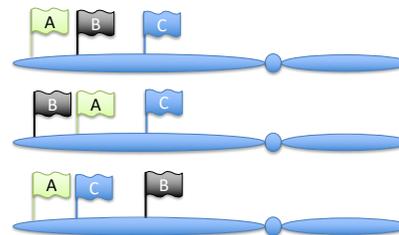
#### Estimation de la distance en fonction de la fréquence de recombinaison

- ✓ Si distance entre sites est réduite, multiples COs sont très rares ( $N \geq 2$ )
  - $F(r) \approx$  distance génétique
- ✓ Lorsque distance entre sites s'accroît, multiples COs ( $N \geq 2$ ) deviennent fréquents: individus de phénotypes parentaux peuvent résulter de multiples COs
  - $f(r) \neq$  distance génétique (sous-estimée)

38

### Ordonner des marqueurs liés : test trois points

- Tests classiques : marqueurs deux à deux, trois croisements
- Test trois points : un seul croisement pour déterminer la localisation des marqueurs sur le chromosome et la distance génétique qui les séparent



39

Ordonner des marqueurs liés (chromosome 2): test trois points

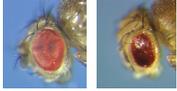
Caractère aile  
[vg<sup>+</sup>] et [vg]  
vg<sup>+</sup>>vg<sup>1</sup>



Caractère couleur du corps :  
[b<sup>+</sup>] et [b]  
b<sup>+</sup>>b<sup>1</sup>



Caractère couleur de l'œil  
[cn<sup>+</sup>] et [cn]  
cn<sup>+</sup>>cn<sup>1</sup>



Lignée pures homozygotes fem [b, cn<sup>+</sup>, vg] X mâle [b<sup>+</sup>, cn, vg<sup>+</sup>] Lignée pures homozygotes

F1 : [+] Hétérozygotes

40

fem [b, cn<sup>+</sup>, vg] X mâle [b<sup>+</sup>, cn, vg<sup>+</sup>]

F1 : [+]

Fem F1 [+] X mâle [b, cn, vg] (test cross)

	[b <sup>+</sup>	cn	vg <sup>+</sup>	: 125	
	[b	cn <sup>+</sup>	vg]	: 127	
	[b	cn	vg <sup>+</sup>	: 120	
F2	[b <sup>+</sup>	cn <sup>+</sup>	vg]	: 125	
	[b	cn <sup>+</sup>	vg <sup>+</sup>	: 124	⇒ toutes les catégories phénotypiques sont équiprobables
	[b <sup>+</sup>	cn	vg]	: 131	
	[b	cn	vg]	: 123	Ségrégation au hasard
	[b <sup>+</sup>	cn <sup>+</sup>	vg <sup>+</sup>	: 125	

41

fem [b, cn<sup>+</sup>, vg] X mâle [b<sup>+</sup>, cn, vg<sup>+</sup>]

F1 : [+]

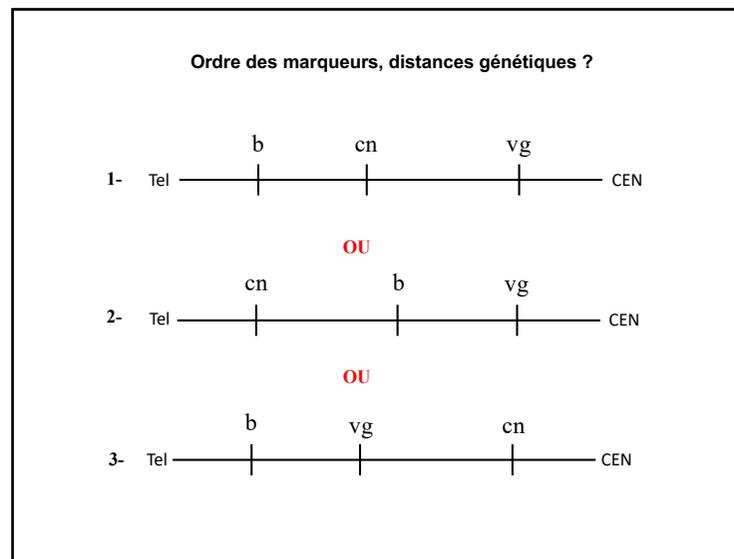
Fem F1 [+]

X mâle [b, cn, vg] (test cross)

	[b <sup>+</sup> cn vg <sup>+</sup> ]	: 382	
	[b cn <sup>+</sup> vg]	: 379	
	[b cn vg <sup>+</sup> ]	: 48	
F2	[b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg]	: 44	toutes les catégories phénotypiques NE sont PAS équiprobables
	[b cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ]	: 67	
	[b <sup>+</sup> cn vg]	: 69	
	[b cn vg]	: 5	=> LIAISON GENETIQUE
	[b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ]	: 6	

Ordre des marqueurs, distances génétiques ?

42



43

Fem F1 [+]	X	mâle [b, cn, vg]												
<table border="1"> <tr><td>b<sup>+</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>+</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> </table>	b <sup>+</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>+</sup>	b <sup>1</sup>	cn <sup>+</sup>	vg <sup>1</sup>		<table border="1"> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> </table>	b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>	b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>
b <sup>+</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>+</sup>												
b <sup>1</sup>	cn <sup>+</sup>	vg <sup>1</sup>												
b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>												
b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>												
<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>+</sup></td><td>b<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>b<sup>+/b<sup>1</sup></sup></td><td>b<sup>1/b<sup>1</sup></sup></td></tr> </table>		b <sup>+</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>1</sup>	b <sup>+/b<sup>1</sup></sup>	b <sup>1/b<sup>1</sup></sup>	[b <sup>+</sup> cn vg <sup>+</sup> ] : 382 [b cn <sup>+</sup> vg] : 379 [b cn vg <sup>+</sup> ] : 48 [b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg] : 44 [b cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ] : 67 [b <sup>+</sup> cn vg] : 69 [b cn vg] : 5 [b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ] : 6							
	b <sup>+</sup>	b <sup>1</sup>												
b <sup>1</sup>	b <sup>+/b<sup>1</sup></sup>	b <sup>1/b<sup>1</sup></sup>												
499 [b] 501 [b <sup>+</sup> ]  1 seul gène pour ce caractère														

44

Fem F1 [+]	X	mâle [b, cn, vg]															
<table border="1"> <tr><td>b<sup>+</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>+</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> </table>	b <sup>+</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>+</sup>	b <sup>1</sup>	cn <sup>+</sup>	vg <sup>1</sup>		<table border="1"> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup></td><td>cn<sup>1</sup></td><td>vg<sup>1</sup></td></tr> </table>	b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>	b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>			
b <sup>+</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>+</sup>															
b <sup>1</sup>	cn <sup>+</sup>	vg <sup>1</sup>															
b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>															
b <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup>	vg <sup>1</sup>															
<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>1</sup>, cn<sup>1</sup></td><td></td></tr> <tr><td><b>P1</b></td><td>b<sup>+</sup>, cn<sup>1</sup></td><td>[b<sup>+</sup>, cn] 382 + 69</td></tr> <tr><td><b>P2</b></td><td>b<sup>1</sup>, cn<sup>+</sup></td><td>[b, cn<sup>+</sup>] 379 + 67</td></tr> <tr><td><b>R1</b></td><td>b<sup>+</sup>, cn<sup>+</sup></td><td>[b<sup>+</sup>, cn<sup>+</sup>] 44 + 6</td></tr> <tr><td><b>R2</b></td><td>b<sup>1</sup>, cn<sup>1</sup></td><td>[b, cn] 48 + 5</td></tr> </table>		b <sup>1</sup> , cn <sup>1</sup>		<b>P1</b>	b <sup>+</sup> , cn <sup>1</sup>	[b <sup>+</sup> , cn] 382 + 69	<b>P2</b>	b <sup>1</sup> , cn <sup>+</sup>	[b, cn <sup>+</sup> ] 379 + 67	<b>R1</b>	b <sup>+</sup> , cn <sup>+</sup>	[b <sup>+</sup> , cn <sup>+</sup> ] 44 + 6	<b>R2</b>	b <sup>1</sup> , cn <sup>1</sup>	[b, cn] 48 + 5	[b <sup>+</sup> cn vg <sup>+</sup> ] : 382 [b cn <sup>+</sup> vg] : 379 [b cn vg <sup>+</sup> ] : 48 [b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg] : 44 [b cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ] : 67 [b <sup>+</sup> cn vg] : 69 [b cn vg] : 5 [b <sup>+</sup> cn <sup>+</sup> vg <sup>+</sup> ] : 6	
	b <sup>1</sup> , cn <sup>1</sup>																
<b>P1</b>	b <sup>+</sup> , cn <sup>1</sup>	[b <sup>+</sup> , cn] 382 + 69															
<b>P2</b>	b <sup>1</sup> , cn <sup>+</sup>	[b, cn <sup>+</sup> ] 379 + 67															
<b>R1</b>	b <sup>+</sup> , cn <sup>+</sup>	[b <sup>+</sup> , cn <sup>+</sup> ] 44 + 6															
<b>R2</b>	b <sup>1</sup> , cn <sup>1</sup>	[b, cn] 48 + 5															
$D_{b-cn} = ((44+6+48+5)/1000) * 100 = 10,3 \text{ uR}$																	

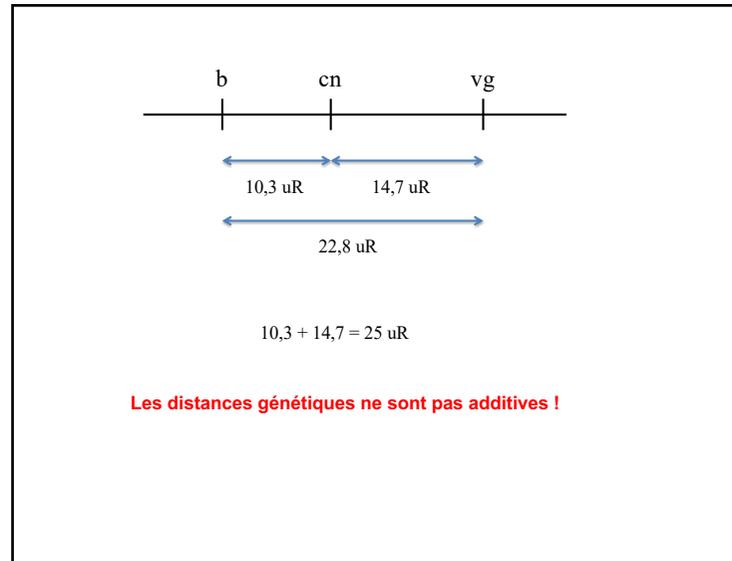
45

Fem F1 [+]		X	mâle [b, cn, vg]					
$\frac{b^+ \quad cn^1 \quad vg^+}{b^1 \quad cn^+ \quad vg^1}$			$\frac{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}$					
			[b+ cn vg+]	: 382				
			[b cn+ vg]	: 379				
			[b cn vg+]	: 48				
<b>P1</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>cn<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>cn<sup>+</sup>, vg<sup>1</sup></td><td>[cn<sup>+</sup>, vg]</td></tr> </table>		cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	cn <sup>+</sup> , vg <sup>1</sup>	[cn <sup>+</sup> , vg]	379 + 44	[b+ cn+ vg]	: 44
	cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>							
cn <sup>+</sup> , vg <sup>1</sup>	[cn <sup>+</sup> , vg]							
<b>P2</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>cn<sup>1</sup>, vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>cn<sup>1</sup>, vg<sup>+</sup></td><td>[cn, vg<sup>+</sup>]</td></tr> </table>		cn <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	cn <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	[cn, vg <sup>+</sup> ]	382 + 48	[b cn+ vg+]	: 67
	cn <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>							
cn <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	[cn, vg <sup>+</sup> ]							
<b>R1</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>cn<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>cn<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup></td><td>[cn<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup>]</td></tr> </table>		cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	[cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup> ]	67 + 6	[b+ cn vg]	: 69
	cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>							
cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	[cn <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup> ]							
<b>R2</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>cn<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>cn<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td><td>[cn, vg]</td></tr> </table>		cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	[cn, vg]	69 + 5	[b cn vg]	: 5
	cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>							
cn <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	[cn, vg]							
			[b+ cn+ vg+]	: 6				
$D_{cn-vg} = ((67+6+69+5)/1000) * 100 = 14,7 \text{ uR}$								

46

Fem F1 [+]		X	mâle [b, cn, vg]					
$\frac{b^+ \quad cn^1 \quad vg^+}{b^1 \quad cn^+ \quad vg^1}$			$\frac{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}$					
			[b+ cn vg+]	: 382				
			[b cn+ vg]	: 379				
			[b cn vg+]	: 48				
<b>R1</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>+</sup>, vg<sup>1</sup></td><td>[b<sup>+</sup>, vg]</td></tr> </table>		b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	b <sup>+</sup> , vg <sup>1</sup>	[b <sup>+</sup> , vg]	44 + 69	[b+ cn+ vg]	: 44
	b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>							
b <sup>+</sup> , vg <sup>1</sup>	[b <sup>+</sup> , vg]							
<b>R2</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>1</sup>, vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup>, vg<sup>+</sup></td><td>[b, vg<sup>+</sup>]</td></tr> </table>		b <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	b <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	[b, vg <sup>+</sup> ]	48 + 67	[b cn+ vg+]	: 67
	b <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>							
b <sup>1</sup> , vg <sup>+</sup>	[b, vg <sup>+</sup> ]							
<b>P1</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup></td><td>[b<sup>+</sup>, vg<sup>+</sup>]</td></tr> </table>		b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	[b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup> ]	382 + 6	[b cn vg]	: 69
	b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>							
b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup>	[b <sup>+</sup> , vg <sup>+</sup> ]							
<b>P2</b>	<table border="1"> <tr><td></td><td>b<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td></tr> <tr><td>b<sup>1</sup>, vg<sup>1</sup></td><td>[b, vg]</td></tr> </table>		b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	[b, vg]	379 + 5	[b cn vg]	: 5
	b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>							
b <sup>1</sup> , vg <sup>1</sup>	[b, vg]							
			[b+ cn+ vg+]	: 6				
$D_{b-vg} = ((44+69+48+67)/1000) * 100 = 22,8 \text{ uR}$								

47



48

Test trois points !

49

	Fem F1	X	mâle [b, cn, vg]
<b>P1</b>	b <sup>+</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>+</sup>		b <sup>1</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>1</sup>
<b>P2</b>	b <sup>1</sup> cn <sup>+</sup> vg <sup>1</sup>		b <sup>1</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>1</sup>

	[b <sup>+</sup> cn vg <sup>+</sup> ]	: 382		<b>P1</b>	}	<b>0 CO</b>
	[b cn+ vg]	: 379		<b>P2</b>		
	[b cn vg <sup>+</sup> ]	: 48		<b>R</b>	}	<b>1 CO</b>
	[b+ cn+ vg]	: 44		<b>R</b>		
	[b cn+ vg <sup>+</sup> ]	: 67		<b>R</b>		
	[b+ cn vg]	: 69		<b>R</b>		
	[b cn vg]	: 5		<b>R</b>	}	<b>2 CO</b>
	[b+ cn+ vg <sup>+</sup> ]	: 6		<b>R</b>		

$D_{b-vg} = (((44+69+48+67) + 2*(5+6))/1000) * 100 = 25 \text{ uR}$

50

	Fem F1	X	mâle [b, cn, vg]
<b>R2</b>	b <sup>+</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>+</sup>		b <sup>1</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>1</sup>
<b>R1</b>	b <sup>1</sup> cn <sup>+</sup> vg <sup>1</sup>		b <sup>1</sup> cn <sup>1</sup> vg <sup>1</sup>

	[b <sup>+</sup> cn vg <sup>+</sup> ]	: 382		<b>P1</b>	}	<b>0 CO</b>
	[b cn+ vg]	: 379		<b>P2</b>		
	[b cn vg <sup>+</sup> ]	: 48		<b>R1</b>	}	<b>1 CO</b>
	[b+ cn+ vg]	: 44		<b>R2</b>		
	[b cn+ vg <sup>+</sup> ]	: 67		<b>R</b>		
	[b+ cn vg]	: 69		<b>R</b>		
	[b cn vg]	: 5		<b>R</b>	}	<b>2 CO</b>
	[b+ cn+ vg <sup>+</sup> ]	: 6		<b>R</b>		

$D_{b-vg} = (((44+69+48+67) + 2*(5+6))/1000) * 100 = 25 \text{ uR}$

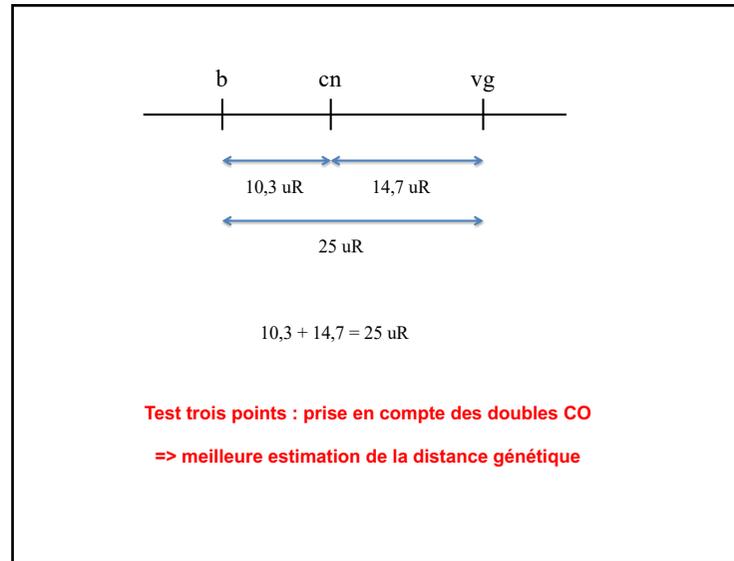
51

Fem F1	X	mâle [b, cn, vg]	
<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <div style="margin-bottom: 5px;">R4 <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">b<sup>+</sup></span> <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">cn<sup>1</sup></span> <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">vg<sup>+</sup></span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">R3 <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">b<sup>1</sup></span> <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">cn<sup>+</sup></span> <span style="border: 1px solid blue; padding: 2px;">vg<sup>1</sup></span></div> </div>	$\frac{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}$	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn vg<sup>+</sup>] : 382 <span style="color: blue;">P1</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn<sup>+</sup> vg] : 379 <span style="color: blue;">P2</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn vg<sup>+</sup>] : 48 <span style="color: blue;">R1</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn<sup>+</sup> vg] : 44 <span style="color: blue;">R2</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn<sup>+</sup> vg<sup>+</sup>] : 67 <span style="color: blue;">R3</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn vg] : 69 <span style="color: blue;">R4</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn vg] : 5 <span style="color: red;">R</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn<sup>+</sup> vg<sup>+</sup>] : 6 <span style="color: red;">R</span></div> </div>	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="margin-bottom: 10px;">} 0 CO</div> <div style="margin-bottom: 10px;">} 1 CO</div> <div style="margin-bottom: 10px;">} 2 CO</div> </div>
$D_{b-vg} = (((44+69+48+67) + 2*(5+6))/1000) * 100 = 25 \text{ uR}$			

52

Fem F1	X	mâle [b, cn, vg]	
<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <div style="margin-bottom: 5px;">R5 <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">b<sup>+</sup></span> <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">cn<sup>1</sup></span> <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">vg<sup>+</sup></span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">R6 <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">b<sup>1</sup></span> <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">cn<sup>+</sup></span> <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">vg<sup>1</sup></span></div> </div>	$\frac{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}{b^1 \quad cn^1 \quad vg^1}$	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn vg<sup>+</sup>] : 382 <span style="color: blue;">P1</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn<sup>+</sup> vg] : 379 <span style="color: blue;">P2</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn vg<sup>+</sup>] : 48 <span style="color: blue;">R1</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn<sup>+</sup> vg] : 44 <span style="color: blue;">R2</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn<sup>+</sup> vg<sup>+</sup>] : 67 <span style="color: blue;">R3</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn vg] : 69 <span style="color: blue;">R4</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b cn vg] : 5 <span style="color: red;">R5</span></div> <div style="margin-bottom: 5px;">[b<sup>+</sup> cn<sup>+</sup> vg<sup>+</sup>] : 6 <span style="color: red;">R6</span></div> </div>	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="margin-bottom: 10px;">} 0 CO</div> <div style="margin-bottom: 10px;">} 1 CO</div> <div style="margin-bottom: 10px;">} 2 CO</div> </div>
$D_{b-vg} = ((1*(44+69+48+67) + 2*(5+6))/1000) * 100 = 25 \text{ uR}$			

53

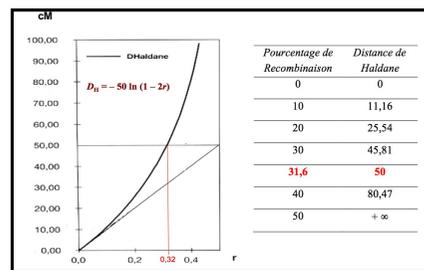


54

### Liaison génétique : distance de Haldane (cM)

Les taux de recombinaison ne sont pas additifs:

- les crossing-over multiples: plus la distance entre deux locus augmente, plus la probabilité de multiples COs augmente et si nombre pair de COs entre 2 locus considérés => phénotype parental (sous-estimation distance physique)
- Interférence : restreint la probabilité d'un second CO à proximité d'un premier CO
- ❖ **Distance de Haldane** : fonction  $f(r)$  prend en compte les CO multiples dans un même intervalle et respecte additivité distances soit  $d = -1/2 \ln(1-2r)$



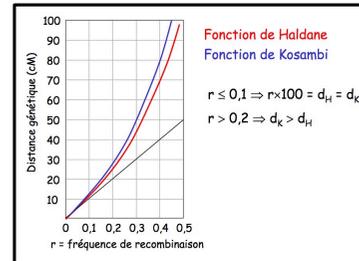
**F(r)=0,32**  
 ⇔  
**d<sub>H</sub>=50cM**

55

### Liaison génétique : distance de Kosambi (cM)

Les taux de recombinaison ne sont pas additifs:

- les crossing-over multiples: plus la distance entre deux locus augmente, plus la probabilité de multiples COs augmente et si nombre pair de COs entre 2 locus considérés => phénotype parental (sous-estimation distance physique)
- Interférence : restreint la probabilité d'un second CO à proximité d'un premier CO
- ❖ Distance de Kosambi : fonction  $f(r)$  prend en compte les CO multiples dans un même intervalle et l'interférence soit  
 $d = -1/4 \ln[(1-2r)/(1+2r)]$



56

### Analyse en tétrades

57

### Analyse en asque ≠ analyse en vrac

#### ❖ 4 produits de méiose groupés dans un asque

- ✓ Possibilité d'analyser des événements individuels de méiose
- ✓ Phénotypes de létalité immédiatement visibles
- ✓ Distance entre un gène et le centromère du chromosome sur lequel celui-ci se trouve

- Si diploïde à 4 paires de chromosomes =>  $2^4 = 16$  combinaisons possibles
- Si ségrégation observée en vrac => 16 combinaisons **équiprobables** de gamètes
- Si ségrégation en asques : chaque asque propose **UNE SEULE** des combinaisons possibles

58

### Analyse de spores en vrac

Soit deux gènes génétiquement indépendant, nécessaires à la biosynthèse de l'uracile chez la levure *S. cerevisiae*

*ura1* -> allèle sauvage *ura1+* [*ura*<sup>+</sup>]  
-> allèle mutant *ura1-* [*ura*<sup>-</sup>]

*ura1+* > *ura1-*

*ura2* -> allèle sauvage *ura2+* [*ura*<sup>+</sup>]  
-> allèle mutant *ura2-* [*ura*<sup>-</sup>]

*ura2+* > *ura2-*

[*ura*<sup>-</sup>]    *ura1-* *ura2+*    **X**    *ura1+* *ura2-*    [*ura*<sup>-</sup>]



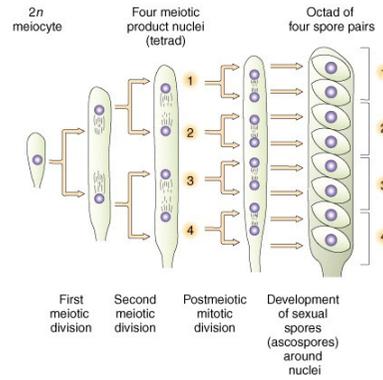
*ura1-* *ura2+*  
*ura1+* *ura2-* [*ura*<sup>+</sup>]

Analyse  
en vrac

<i>ura1-</i> <i>ura2+</i>	<i>ura1+</i> <i>ura2-</i>	<i>ura1+</i> <i>ura2+</i>	<i>ura1-</i> <i>ura2-</i>
[ <i>ura</i> <sup>-</sup> ]	[ <i>ura</i> <sup>-</sup> ]	[ <i>ura</i> <sup>+</sup> ]	[ <i>ura</i> <sup>-</sup> ]
25%	25%	25%	25%

59

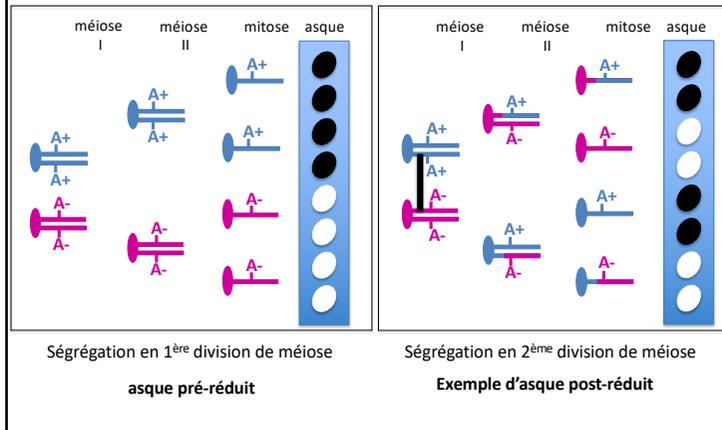
Analyse en tétrades ordonnées *Neurospora crassa*



- ✓ Permet de visualiser les ségrégations et conversion génique
- ✓ Permet de déterminer la distance entre un gène et le centromère du chromosome qui le porte

60

Analyse en tétrades ordonnées *Neurospora crassa*



61

**Analyse de tétrades ordonnées, en résumé:**

1° ) Si ségrégation 2:2 dans chaque asque => caractère gouverné par un seul gène

2° ) Nombre d'asques pré et post réduits dépend de la fréquence de CO entre un gène et son centromère :

$$d_{a\text{-centromère}} \approx (\text{nombre d'asques post-réduits}) / 2 \times N_{\text{tot}} \times 100 \text{ cM}$$

3° ) Si gène très proche de son centromère fréquence<sub>rec</sub> ≈ 0

4° ) Si gène très éloigné de son centromère :

si 0 CO: 100% d'asques pré-réduits

si 1 CO: 100% d'asques post-réduits

si 2 CO: 50 % d'asques pré-réduits et 50 % d'asques post-réduits

si nombre de CO très grand, post-réduction tend vers 66%

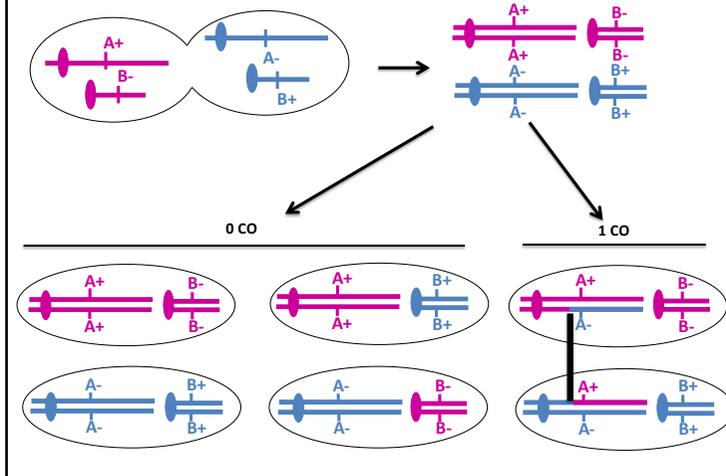
=> le gène considéré ségrège indépendamment de son centromère

donc si  $d_{a\text{-centromère}} < 66\%$  -> liaison génétique

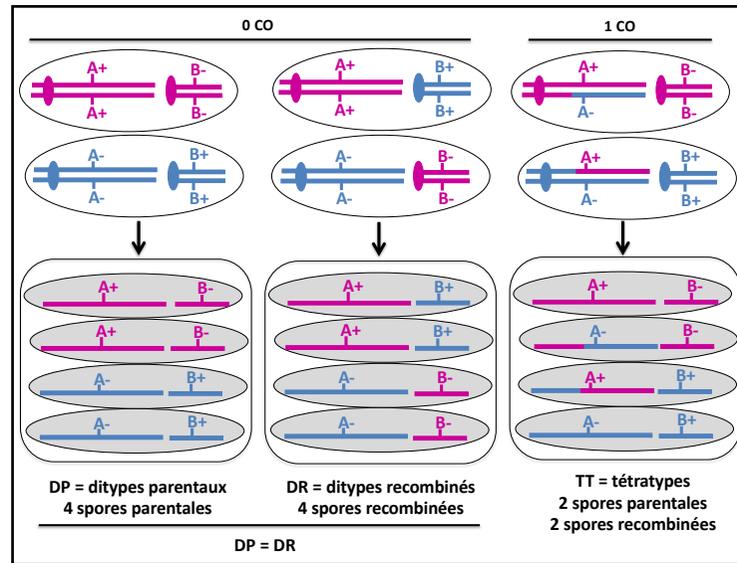
62

**Analyse en tétrades non ordonnées**

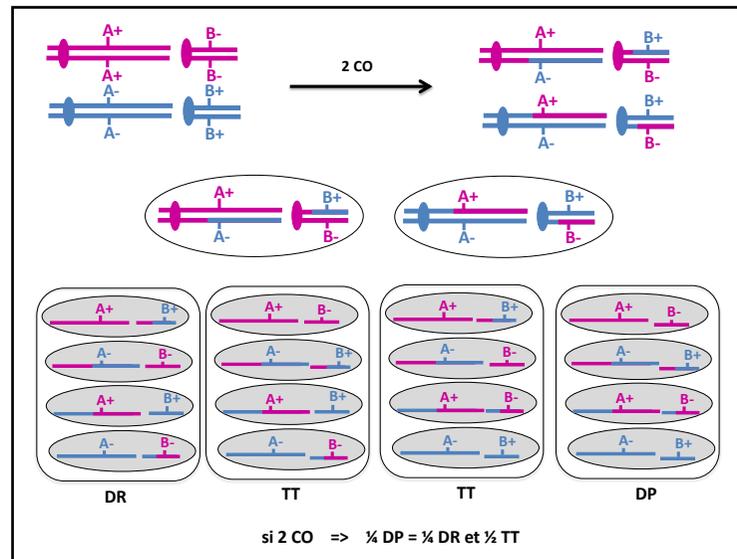
Soit les gènes A et B portés par deux chromosomes différents



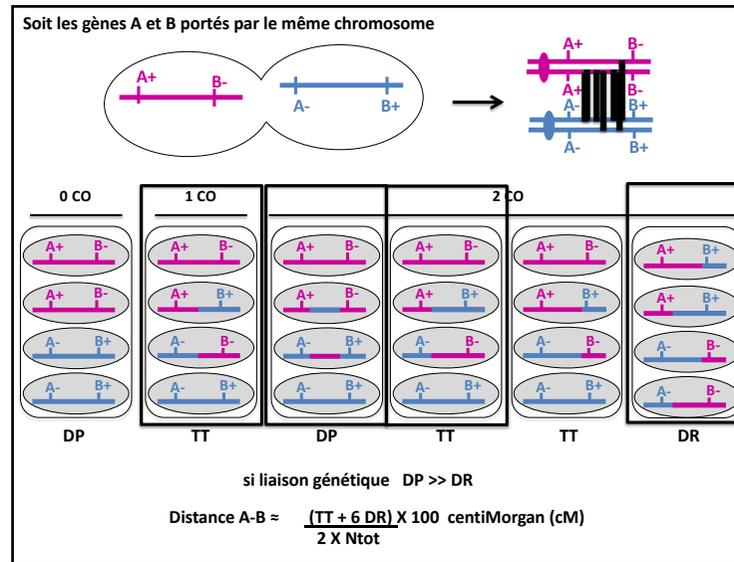
63



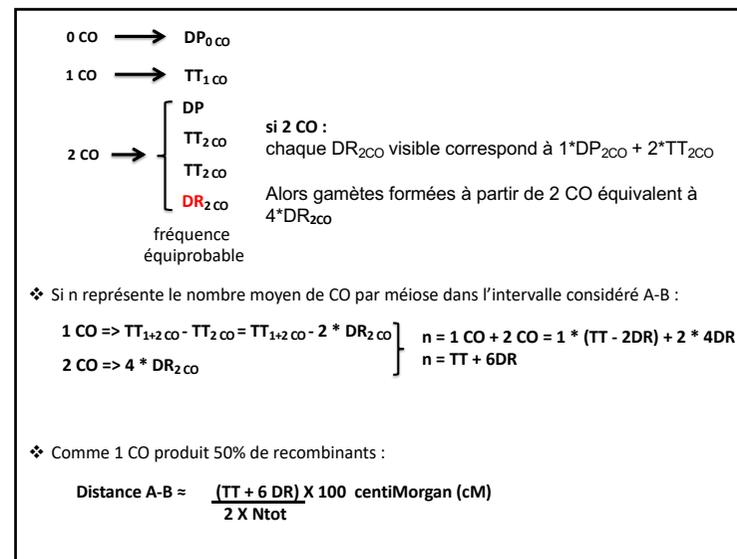
64



65



66



67

Si gènes *ura1* & *ura2* très éloignés de leur centromère respectif => très grand nombre de CO

[*ura*<sup>-</sup>]    *ura1*<sup>-</sup> *ura2*<sup>+</sup>    X    *ura1*<sup>+</sup> *ura2*<sup>-</sup>    [*ura*<sup>-</sup>]

$\frac{ura1^- ura2^+}{ura1^+ ura2^-}$  [*ura*<sup>+</sup>]

<i>ura1</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>
<i>ura1</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>
<i>ura1</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>
<i>ura1</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>-</sup>	<i>ura2</i> <sup>+</sup>

4 [*ura*<sup>-</sup>]    2 [*ura*<sup>+</sup>]    3 [*ura*<sup>-</sup>]  
 0 [*ura*<sup>+</sup>]    2 [*ura*<sup>+</sup>]    1 [*ura*<sup>+</sup>]

DP    DR    TT

1/6 DP = ditypes parentaux    1/6 DR = ditypes recombinés    2/3 TT = tétratypes

68

#### Analyse de tétrades non ordonnées, en résumé:

1° ) DP = DR alors les deux gènes sont indépendants

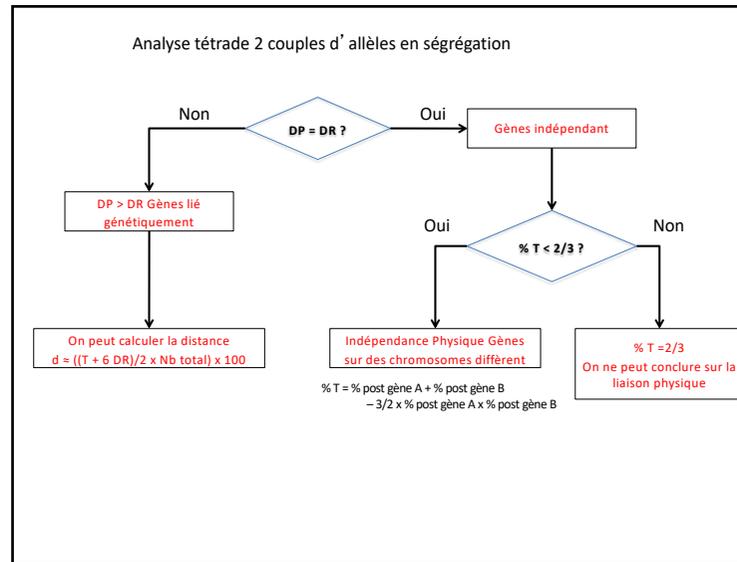
- si la fréquence de tétratypes est inférieure à 66%, les gènes sont sur des chromosomes différents

- si la fréquence de tétratypes est égale à 66%, on ne peut pas conclure

2° ) DP > DR alors les deux gènes sont liés

on peut calculer la distance  $d \approx (T + 6 DR) / 2 \times N_{tot} \times 100$  cM

69



70

## Éléments mobiles et instabilité génétique

1

## Mutagénèse par insertion de transposons

**TRANSPOSON** = fragments d'ADN qui sont insérés dans le génome d'un organisme hôte et qui ont la propriété remarquable de se déplacer d'un point à un autre du génome

-> parasitisme moléculaire des génomes

2

## Pas de génome dépourvu de transposons !

maïs 1950



**B. Mc Clintock :**

Instabilité génétique = remaniements chromosomiques

-> éléments transposables (ETs) Ac/Ds

Ac = activateur

Ds = dissociateur

bactéries 1970

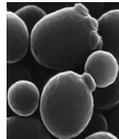


Séquences IS (Insertion Sequences)

-> résistances aux antibiotiques

3

*S. cerevisiae* 1980



Rétrotransposon Ty

*D. melanogaster* 1980



Transposons famille Copia, Eléments P

Rétroéléments famille Gypsy

*C. elegans* 1980



Transposons famille Tc1

4

**H. sapiens 1980**



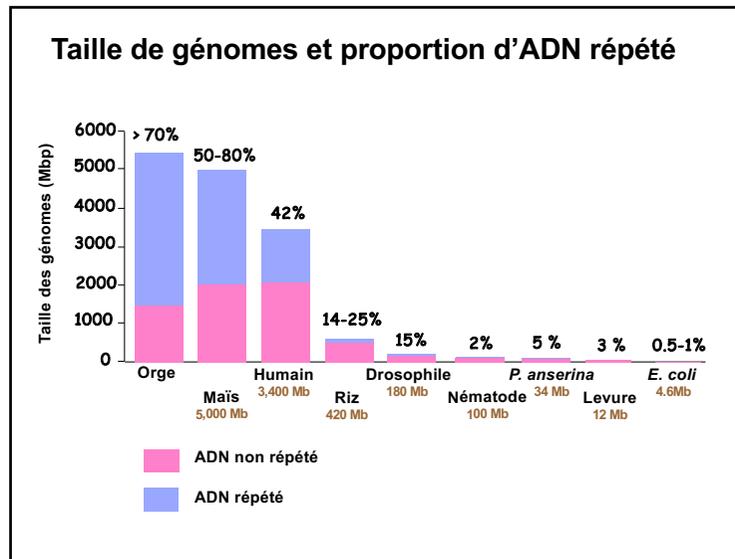
Rétroéléments de types LINE et SINE

**Champignons filamenteux 1990**



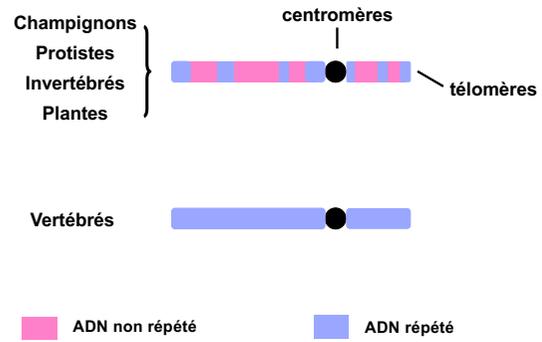
Transposons familles Copia, Tc1/mariner, pogo  
Rétroéléments famille Gypsy

5



6

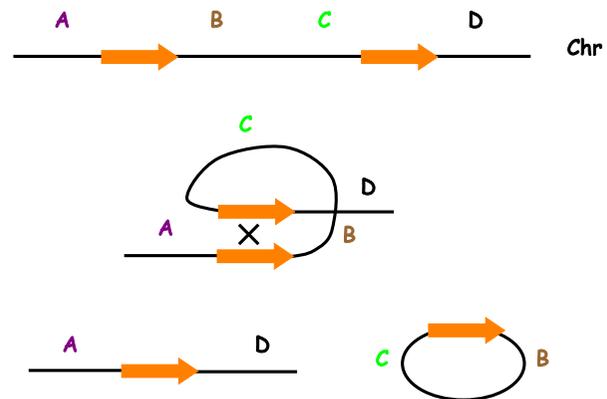
### Localisation des séquences d'ADN répété dans les génomes d'eucaryotes



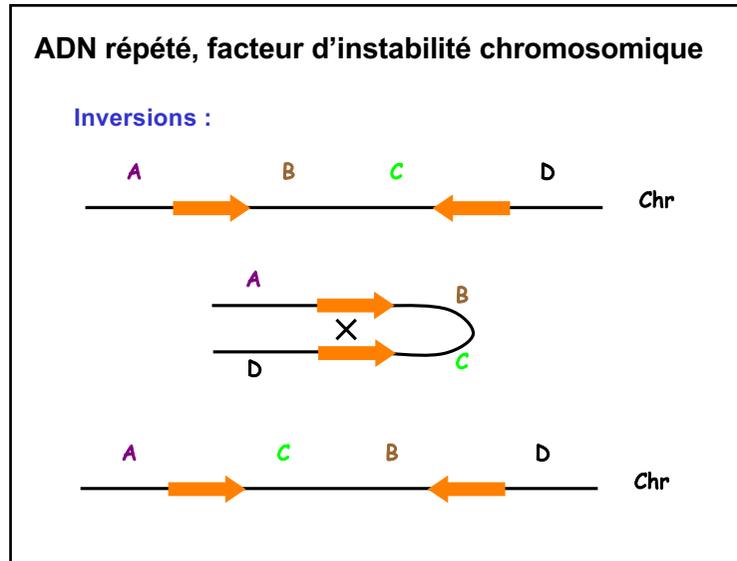
7

### ADN répété, facteur d'instabilité chromosomique

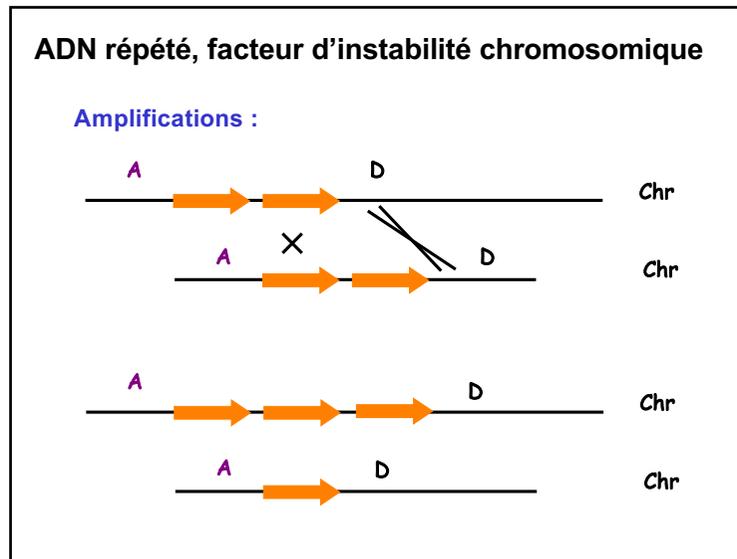
Délétions :



8



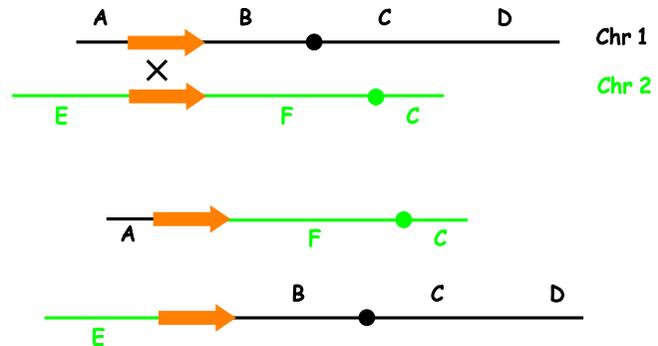
9



10

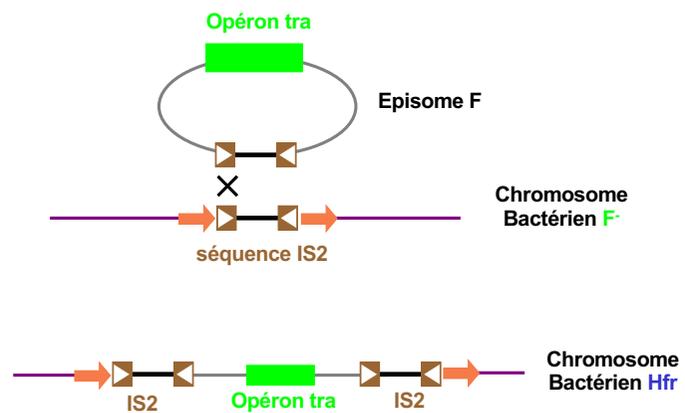
### ADN répété, facteur d'instabilité chromosomique

Recombinaisons -> **translocations** :

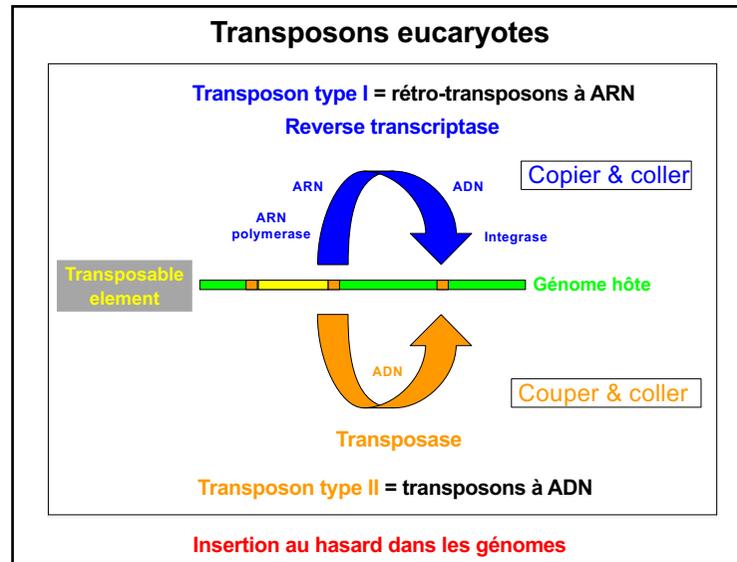


11

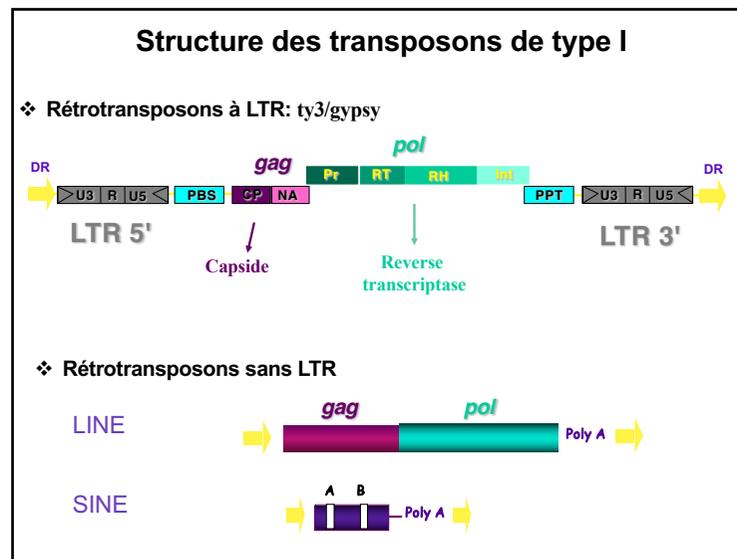
### Intégration de l'épisme F dans le chromosome bactérien



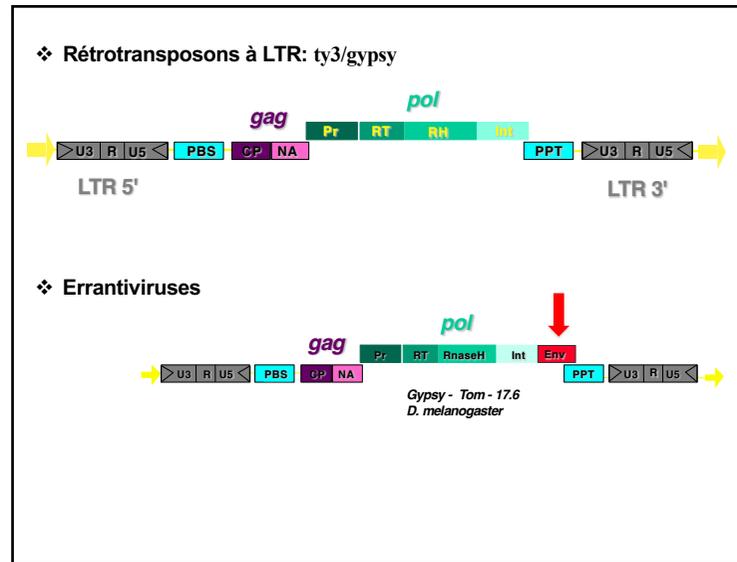
12



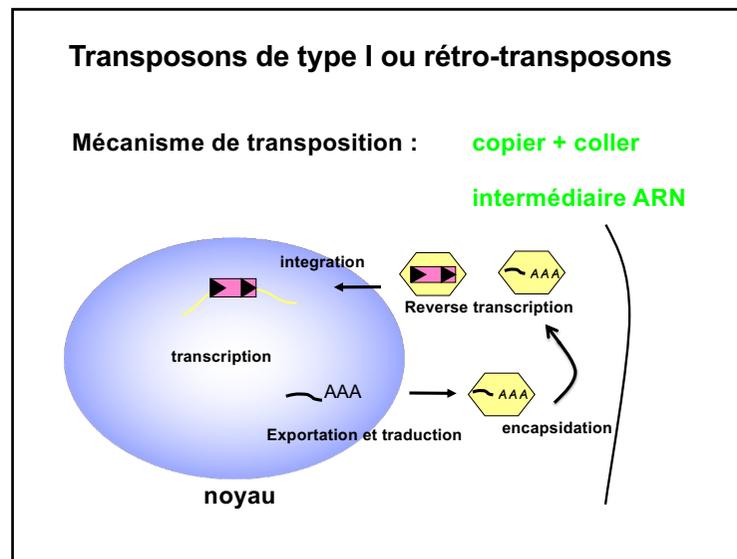
13



14



15



16

## Structure des transposons à ADN de type II

### ✓ Transposons autonomes

*Tc1/mariner*



### ✓ Transposons non autonomes

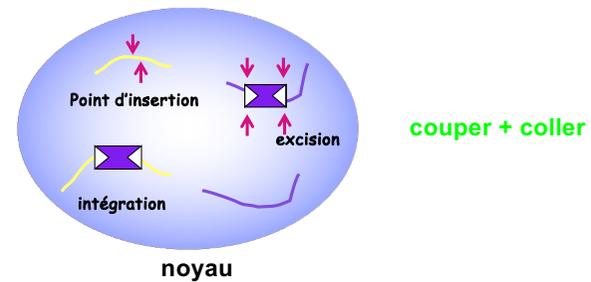


ITR = Inverted Terminal Repeat



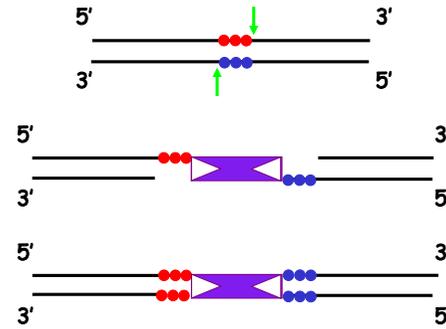
17

## Transposition conservative



18

### Mécanisme d'insertion transposon type II



**Duplications** : 2-14 pb, taille constante pour un ET donné

-> signature

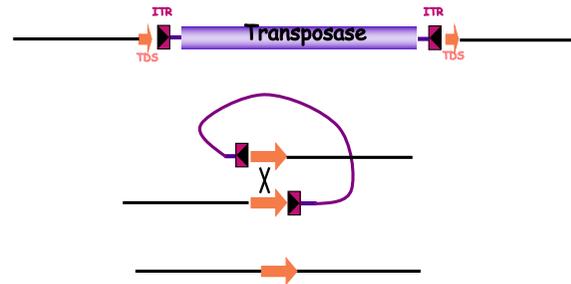
19

### Excision des ETs

**Parfaite**

-> Recombinaison entre séquences répétées en tandem (TDS)

-> restauration de la séquence sauvage



20

## Fréquence de transposition / excision

### ❖ Transposons ARN type I

#### Ty *S. cerevisiae*

Transposition : 1 / 20 générations env  $10^{-6}$   
Excision : env  $10^{-5}$  à  $10^{-6}$

### ❖ Transposons ADN type II

#### Transposon bactérien

Transposition : env  $10^{-6}$   
Excision : env  $10^{-6}$

#### Elément P *drosophile* : croisement mouche vide de P par mouche P

Transposition : env  $10^{-3}$  à  $10^{-4}$  soit  $10^3$  fois plus  
que taux de mutation spontanée  
Excision : jusqu'à quelques %

21

## Mobilité des transposons et expression génique

### ❖ Insertion :

- ✓ Dans une phase codante : interruption de l'ORF, protéine tronquée
- ✓ Dans un intron :
  - Pas d'effet !
  - Arrêt de la transcription dans le transposon : protéine tronquée
  - Epissage incorrect : protéine chimère
- ✓ Dans une séquence promotrice :
  - Dérégulation de l'expression du gène concerné

22

## Mobilité des transposons et expression génique

❖ Excision imparfaite :

✓ Dans une phase codante :

- ❖ Si pas multiple de 3 -> **décalage** du cadre de lecture
- ✓ Recombinaison sur les LTRs : une LTR (solo) reste au site d'**insertion**
- ✓ Cassure double brin et réparation imparfaite : **délétion** de matériel génomique de part et d'autre du point d'insertion
- ✓ Réarrangement : addition (**insertion**) de matériel génomique

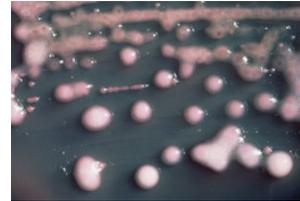
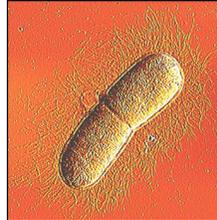
23

Recherche de mutants non pathogènes  
chez *Klebsiella pneumoniae* par  
mutagénèse insertionnelle

24

## *Klebsiella pneumoniae*

Entérobactérie **commensale**, encapsulée, à gram négative



**Si pathogène** : infections respiratoires  
-> pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies et des  
infections intestinales

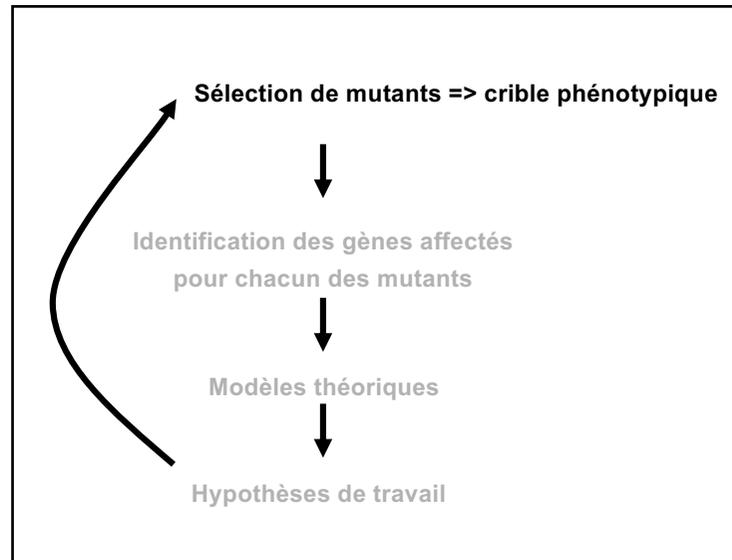
25

## Intérêt de la mutagenèse insertionnelle

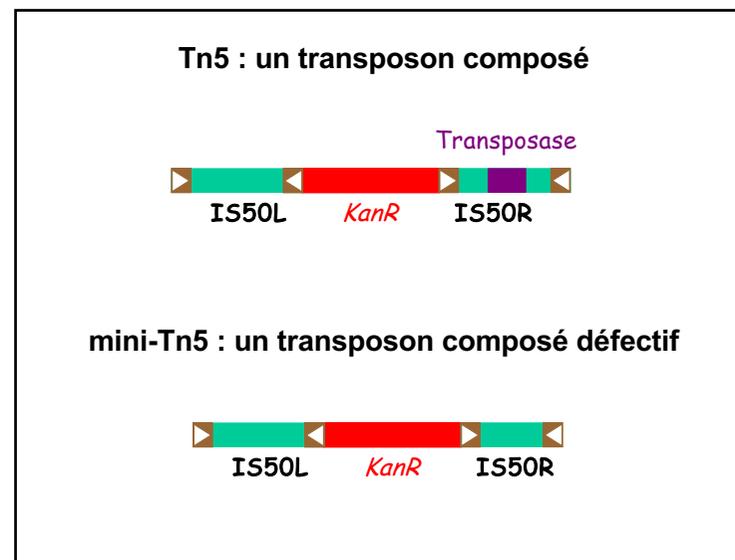
- ✓ Insertion au hasard dans le génome
- ✓ Facilité de localisation des gènes affectés
- « étiquetés » grâce au transposon

**Recherche de mutants non pathogènes**

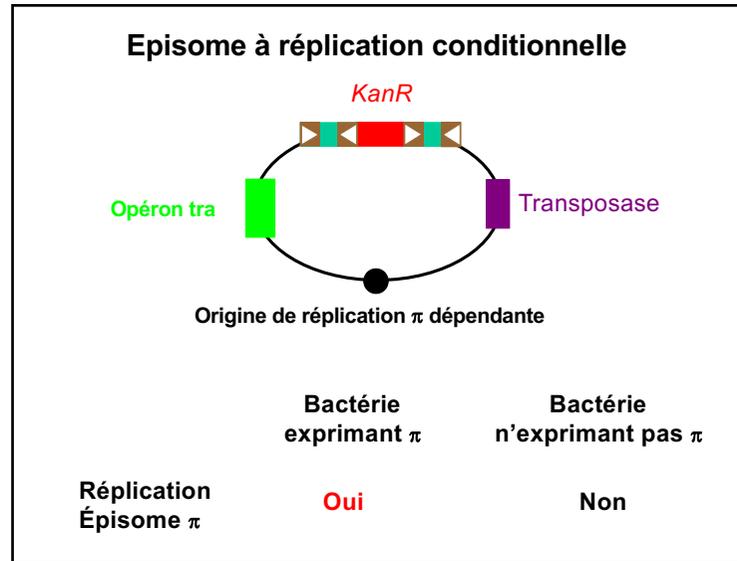
26



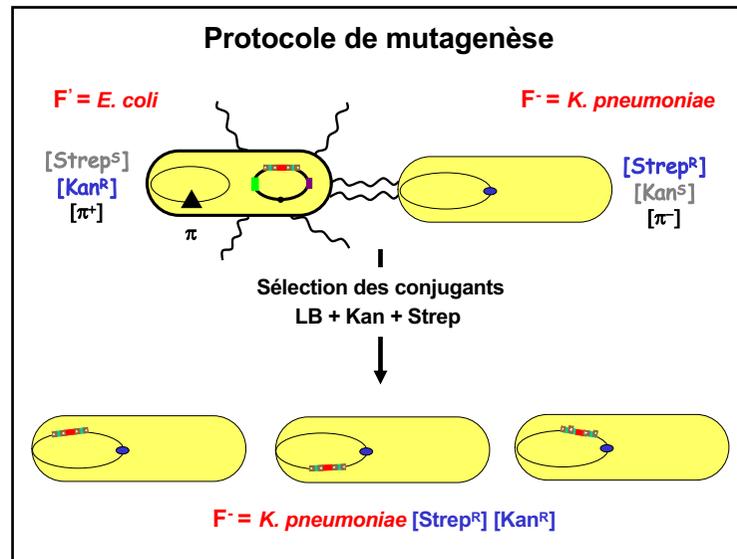
27



28



29



30

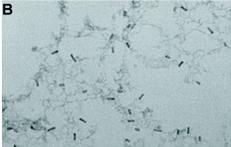
**Crible phénotypique de sélection de mutants non pathogènes**

**Hyperviscosité [HV<sup>+</sup>]**

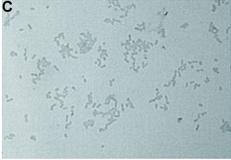


**Hyperviscosité [HV<sup>+</sup>]**

**B**



**C**



**Pas d'hyperviscosité [HV<sup>-</sup>]**

31

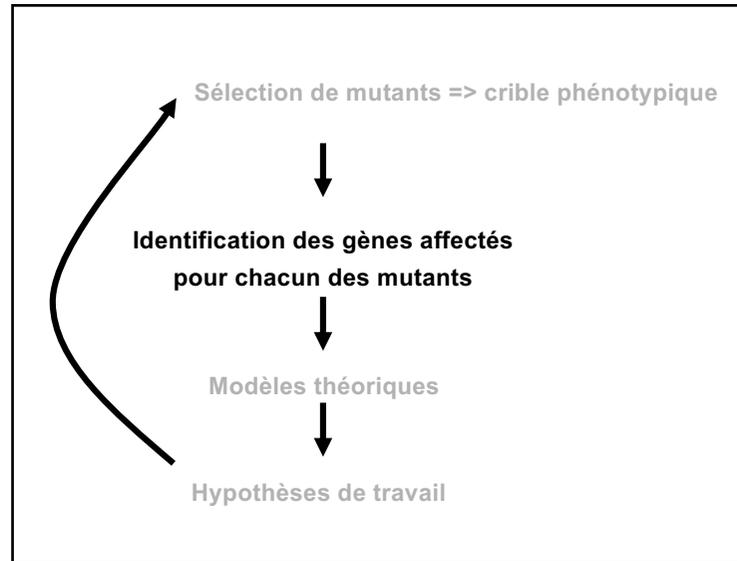
**Résultats du crible**

**2500 conjugants analysés**

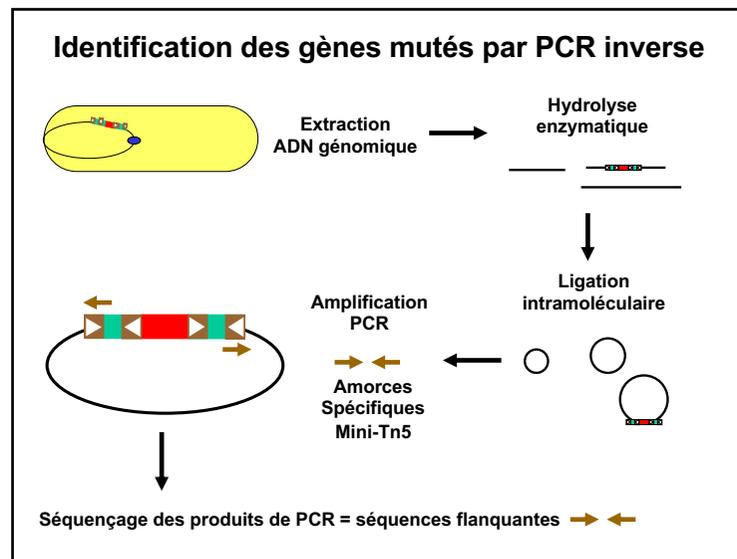
↓

**15 mutants [HV<sup>-</sup>]**

32



33



34

### Identification des gènes mutés

✓ Si la séquence complète du génome est disponible

Séquences flanquantes

Algorithme « BLAST »

Comparaison avec la banque génomique

-> recherche de la séquence nucléotidique complète

PROTEINE

FONCTION

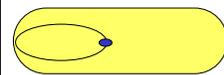
35

### Identification des gènes mutés

✓ Si la séquence complète du génome n'est pas disponible

Séquences flanquantes

Amorces  
spécifiques



*K. pneumoniae* [HV<sup>+</sup>]

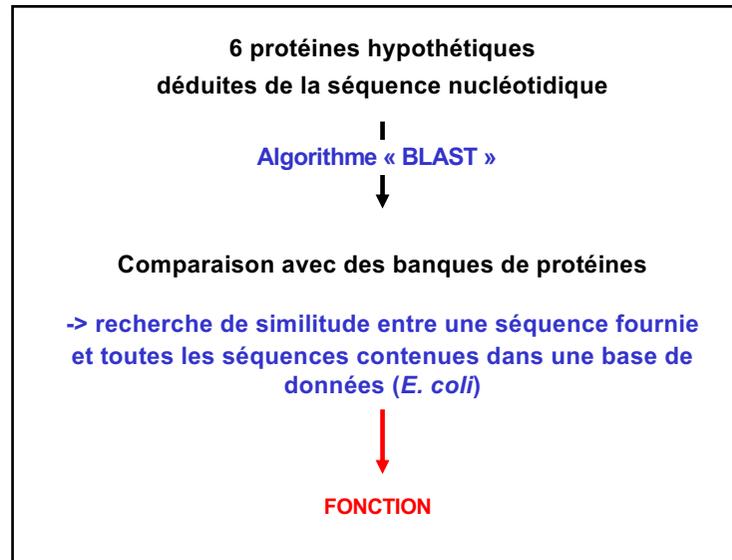
Extraction  
ADN génomique

Amplification PCR

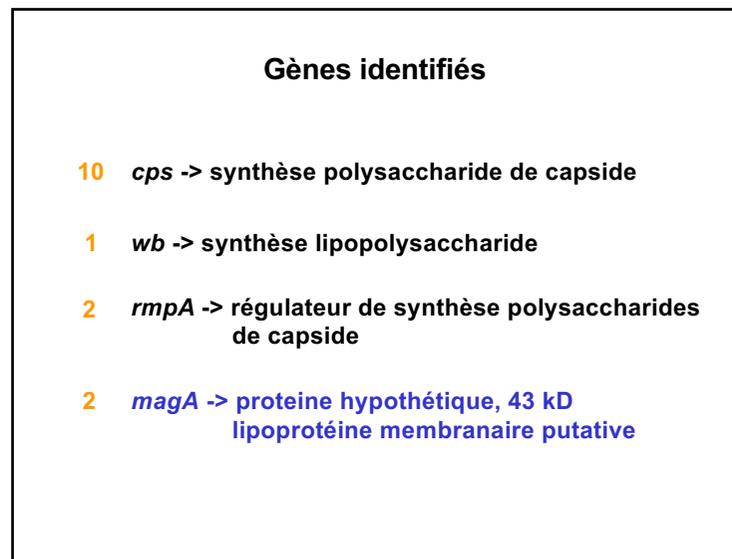


Séquençage de  
l'allèle interrompu

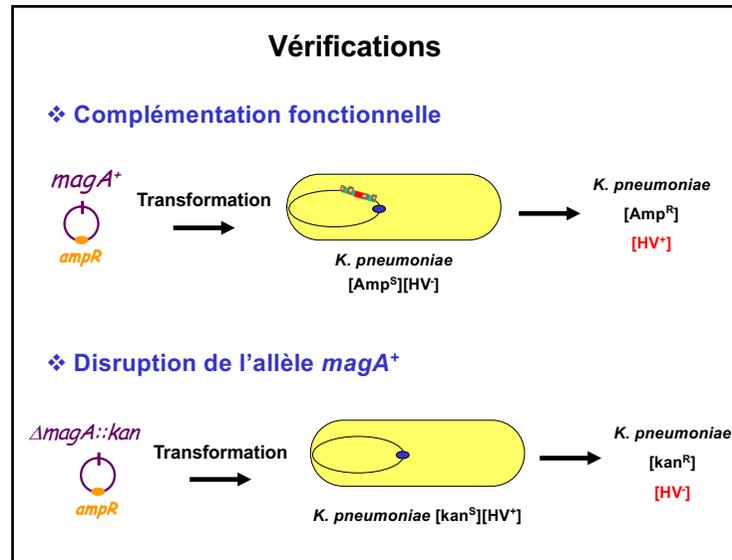
36



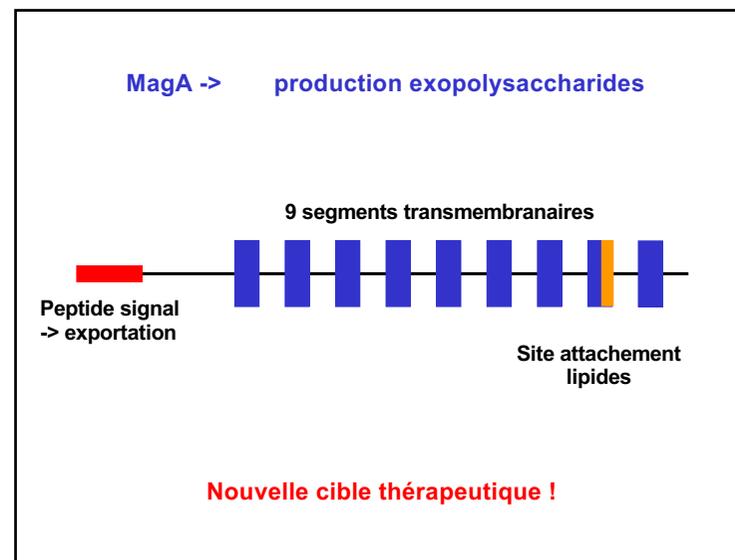
37



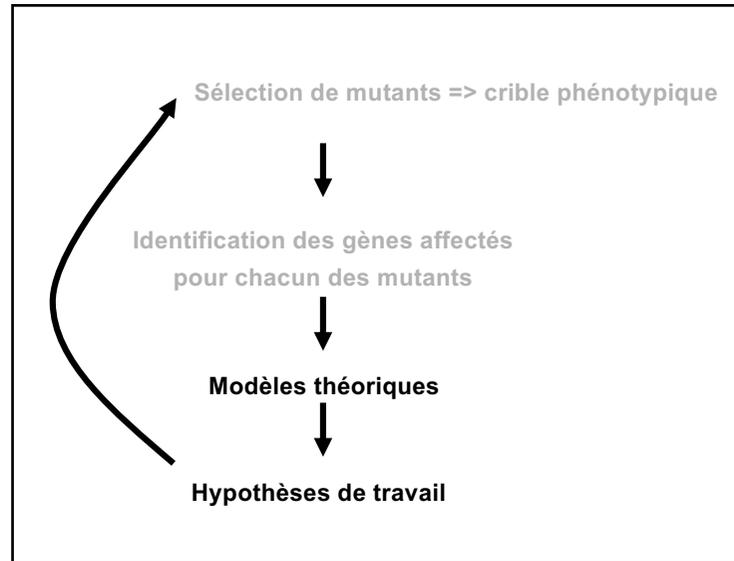
38



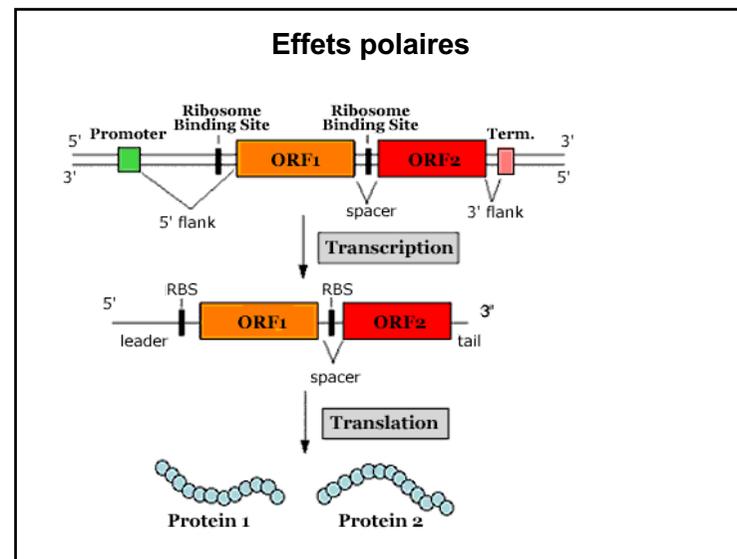
39



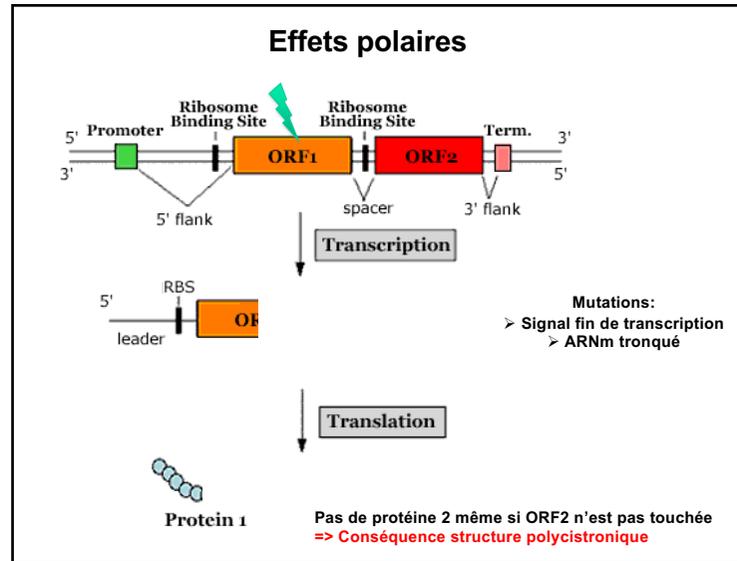
40



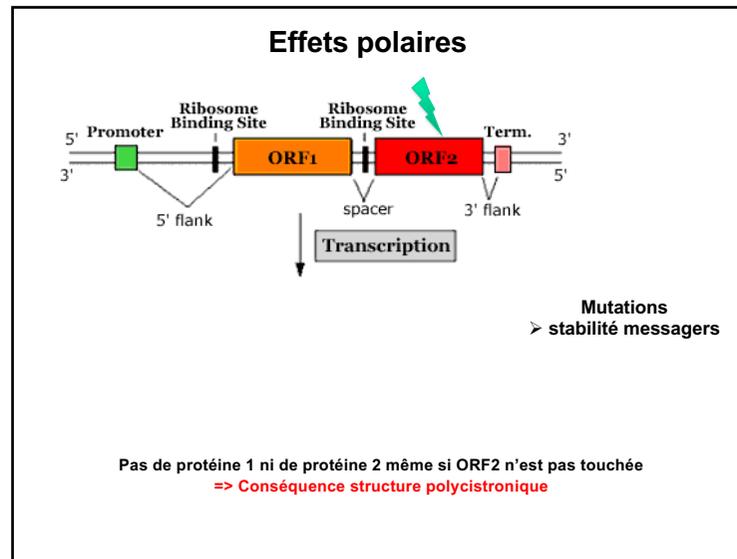
41



42



43

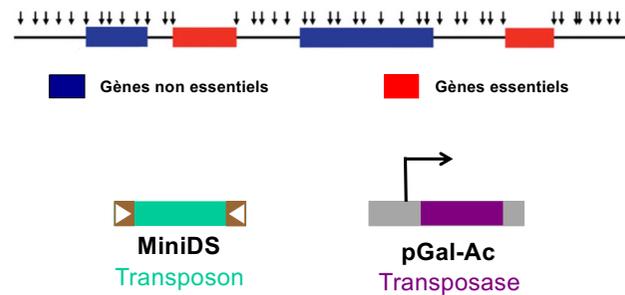


44

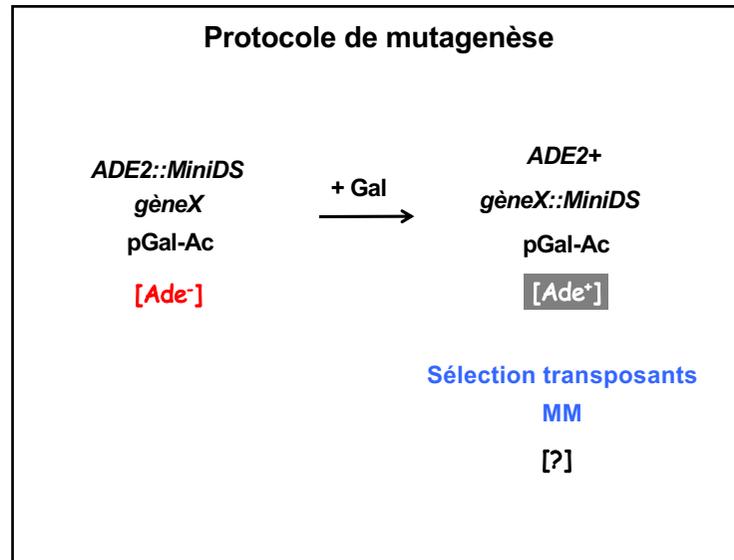
**Identification des gènes essentiels chez la  
levure *S. cerevisiae* par mutagenèse  
insertionnelle saturée**

45

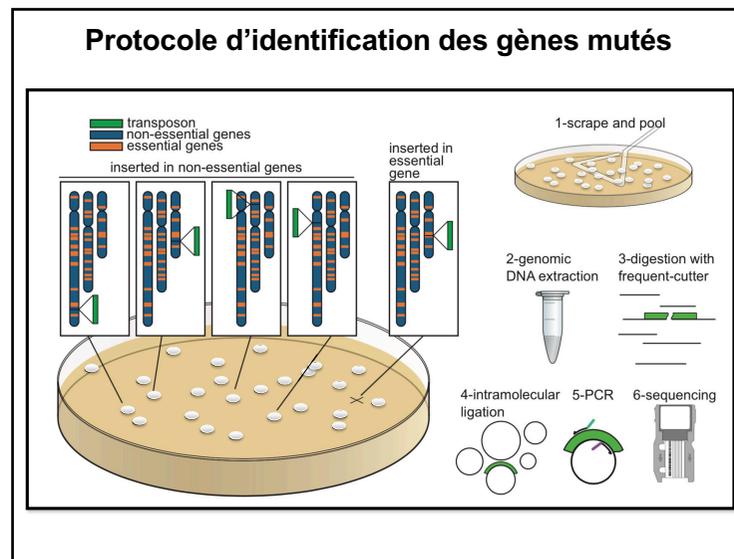
**Principe du crible SATurated Transposon Analysis  
in Yeast (SATAY)**



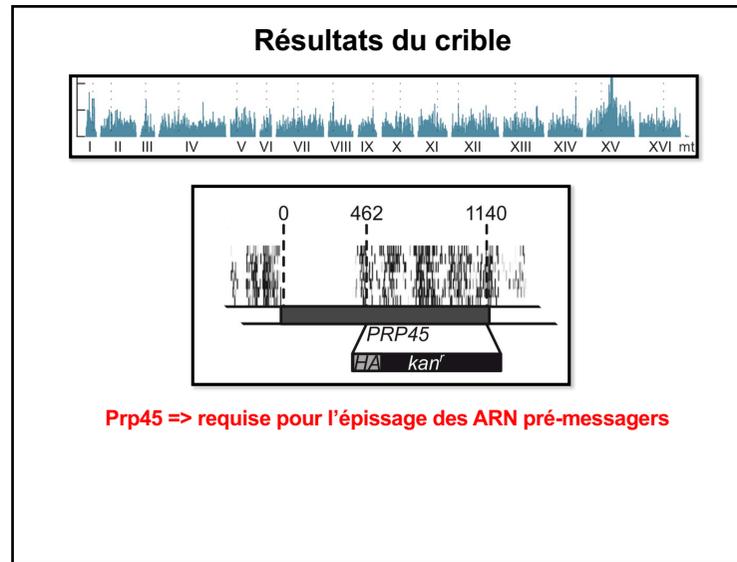
46



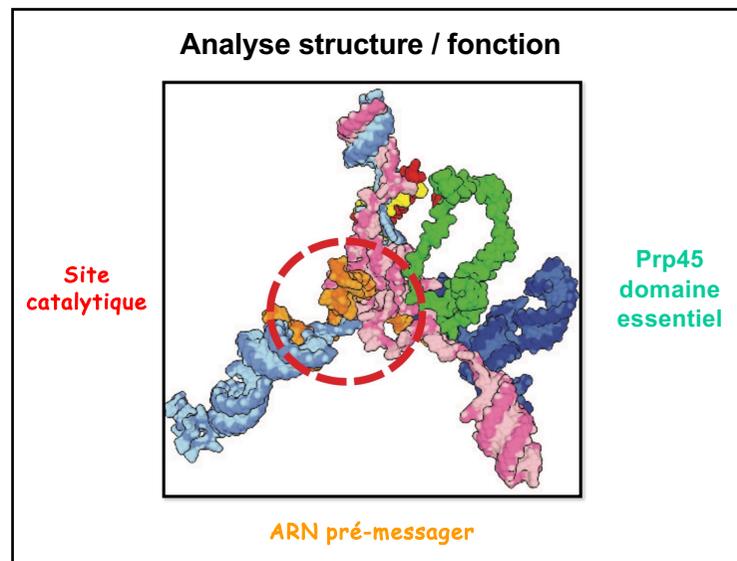
47



48



49



50