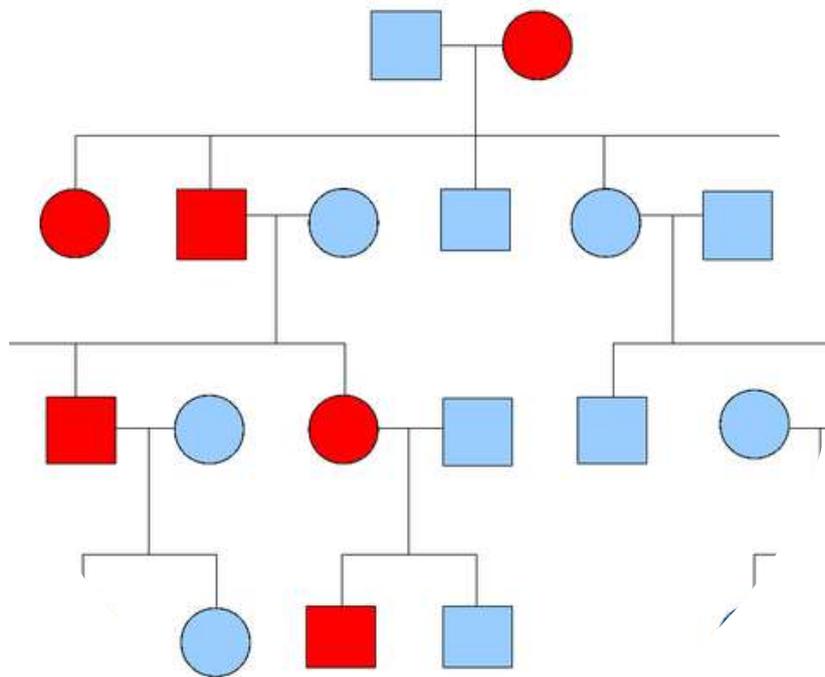


Génétique



SCIENCES DE LA VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

TP3

Polymorphisme et Distances
Génétiques: Mesure par
électrophorèse

A decorative graphic consisting of a thick red horizontal bar that spans the width of the slide. Below this bar, on the right side, there are two thin, parallel white horizontal lines that extend to the right edge of the slide.

Les objectifs de la génétique des populations

❑ Mesurer la variabilité génétique (= diversité génétique) à l'intérieur et entre les populations, par la fréquence des différents allèles d'un même gène et par les fréquences génotypiques

❑ Expliquer :
✓ l'origine de la variabilité
✓ l'évolution de la variabilité dans le temps et dans l'espace
Par les effets des facteurs évolutives

❑ Etablir les relations phylogéniques (distances) entre les populations et entre les espèces

Quelles sont les méthodes de détection de la variation génétique ?

Avant 1960,

Marqueurs morphologiques (phénotypiques) : basés sur les différences morphologiques

Par la suite,

Marqueurs sérologiques (groupe sanguins ABO, Rhésus...) : basés sur les techniques immunologiques

Puis à partir de 1970,

Marqueurs protéiques : Basés sur les propriétés de migration des protéines, qui permet leur séparation par électrophorèse . → **Allozymes**

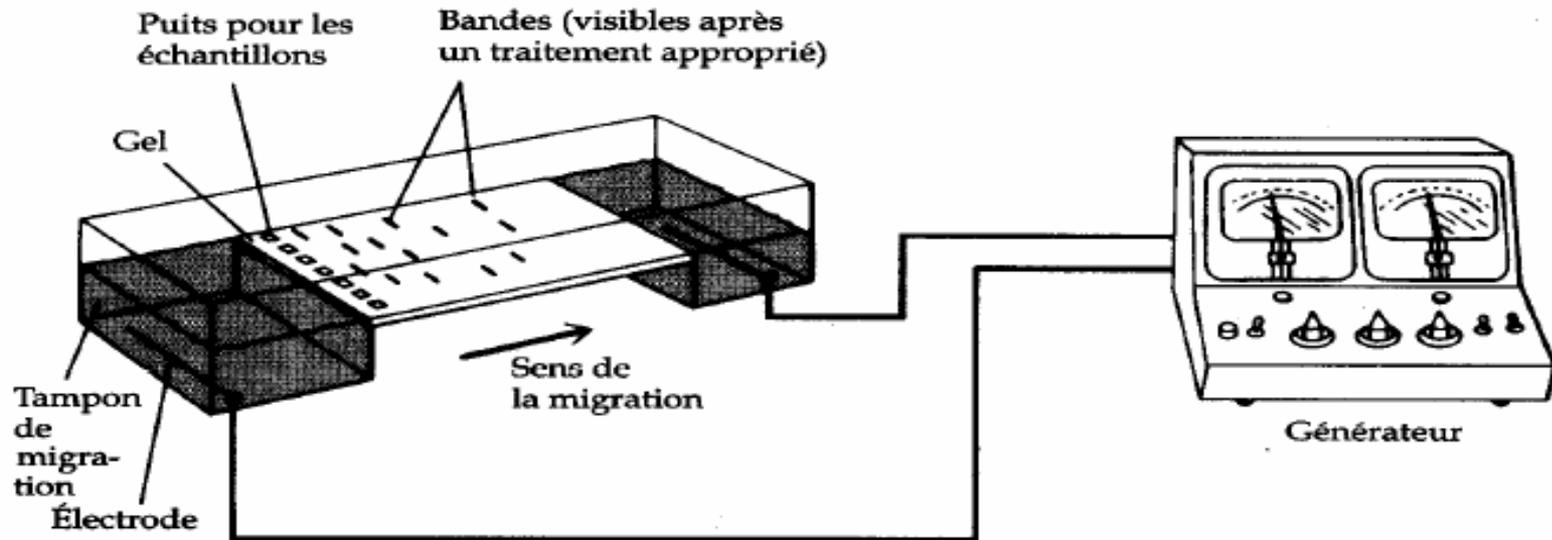
Et,

Marqueurs moléculaires (ADN) : basés sur les polymorphismes détectés dans la séquence de l'ADN du noyau ou des organites (mitochondrie ou chloroplaste)

Principe de l'électrophorèse des protéines

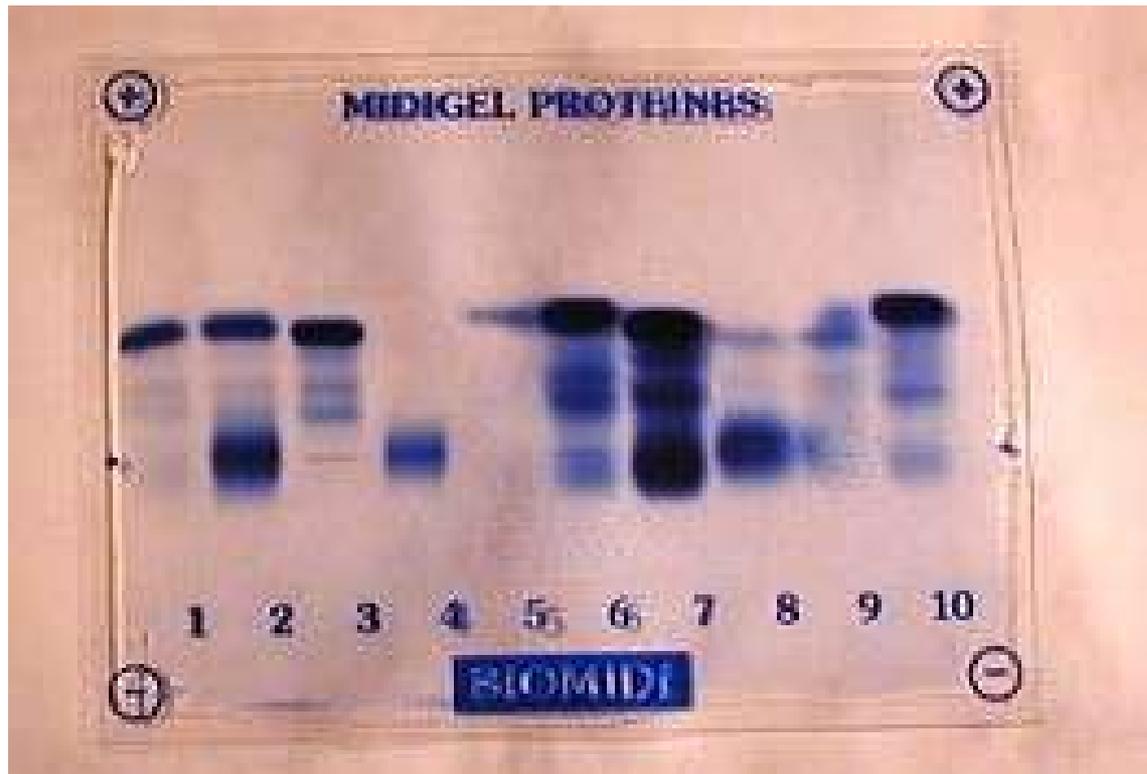
L'électrophorèse a pour but de séparer des molécules chargées au travers d'un gel sous l'effet d'un champ électrique. Les molécules se déplacent vers le pôle opposé à leur charge.

La migration se fait en fonction de la masse et de la charge électrique de la molécule : les molécules les plus lourdes et les moins chargées se déplacent moins vite que les molécules moins lourdes et les plus chargés.



Après migration, les protéines sont fixées dans le gel par une solution qui contient du méthanol et de l'acide acétique. Et les protéines sont révélées par une coloration (le bleu de Coomassie ou le nitrate d'argent).

On obtient différentes bandes pour chaque piste

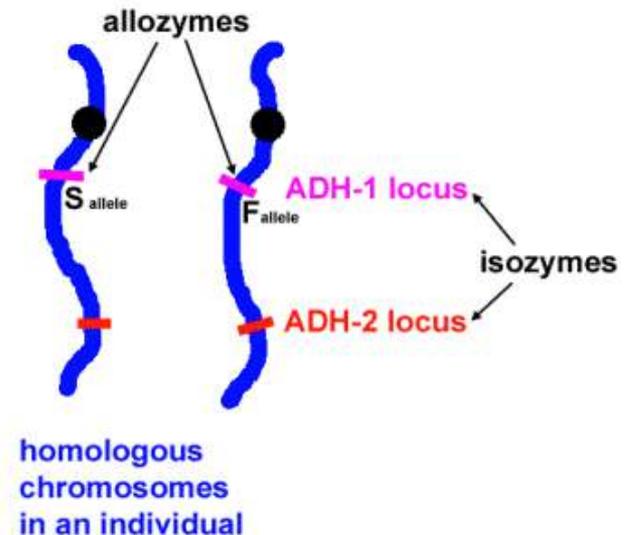


Interprétation des zymogrammes

Enzymes : les allozymes et les isozymes

Les multiples formes que peuvent prendre les enzymes se classent en deux :

- Allozymes - enzymes codées par différents allèles à un locus génique
- Isozymes – enzymes codées par des allèles de locus géniques différents

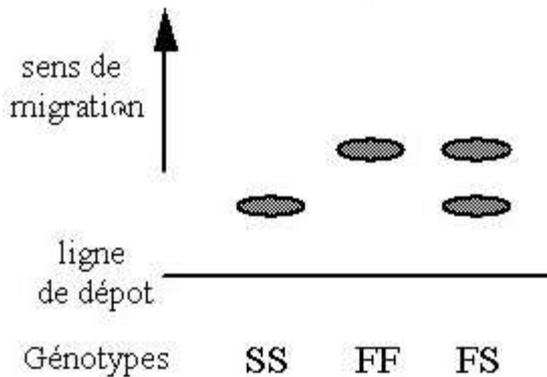


Structure quaternaire de l'enzyme

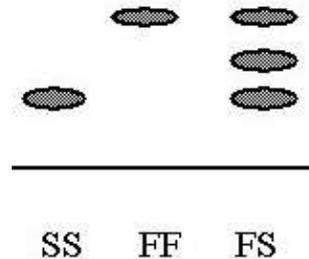
Les enzymes peuvent être : monomérique (1 unité), dimérique (2 sous unités), trimérique (3 sous unités), tétramérique (4 sous unités)...

Cas de 2 allèles : F (fast)/S (slow)

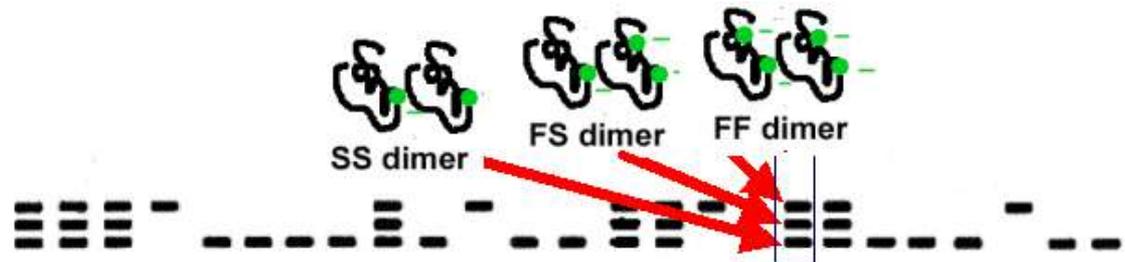
Enzyme monomérique
Hétérozygote : 2 bandes



Enzyme dimérique
Hétérozygote : 3 bandes



Les bandes chez l'hétérozygote représentent les différentes combinaisons des sous unités



Le nombre de bandes chez l'hétérozygote = nombre de sous unités + 1

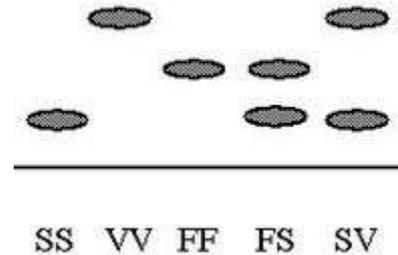
Dimère : 3 bandes

Trimère : 4 bandes

Tétramère : 5 bandes

Cas de 3 allèles : V (very fast)/F/S

Enzyme monomérique :
2 hétérozygotes, 2 bandes



Enzyme dimérique : 3 hétérozygotes, 3 bandes

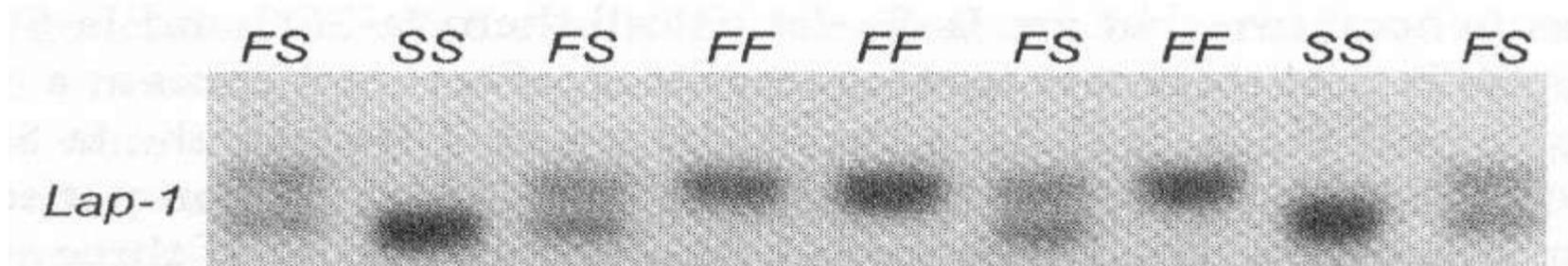
Objectifs du TP

1. Mesurer la variabilité intra population : le polymorphisme
1. Calculer les distances génétiques entre des populations et construire des dendrogramme

Evaluation de la variabilité iso-enzymatique

1. Variabilité intrapopulation : polymorphisme

Allozymes: Calcul des fréquences alléliques



- Echantillon de 9 individus (18 copies d'allèles)
 - génotypes FF: 3
 - génotypes FS: 4
 - génotypes SS: 2
- Fréquence de l'allèle F: $\langle p \rangle = (3 \times 2 + 4) / 18 = 0.56$
- Fréquence de l'allèle S: $\langle q \rangle = (4 + 2 \times 2) / 18 = 0.44$

Taux de polymorphisme : la proportion de locus variables par rapport à l'ensemble des locus étudiés

Une population est considérée polymorphe pour un locus donné, si en plus de l'allèle fréquent, on trouve un second allèle dont la fréquence dépasse une valeur seuil (généralement 1% à 5%).

Nombre moyen d'allèles par locus : Ce paramètre rend compte de la richesse allélique

$$N = 1/L \sum x_i \quad i \text{ varie de } 1 \text{ à } L$$

L : nombre de locus ; x_i : nombre d'allèles au locus i

Taux d'hétérozygotie observé :

Pour un locus donnée: $h = N \text{ Hétérozygotes} / N \text{ total d'individus}$

Pour plusieurs locus: $H_{obs} = \sum H / L$

Indice de diversité génétique ou taux d'hétérozygotie théorique :

Loi de H.W : $\mathbf{Hobs(i) = 1 - \sum f_i^2}$
i varie de 1 à n

(pour 1 locus à 2 allèles : $f_i^2 = p^2 + q^2$, pour 3 allèles : $f_i^2 = p^2 + q^2 + r^2...$)

Taux d'hétérozygotie théorique : $\mathbf{Hthéo = 1/L \sum Hobs(i)}$

Indice de fixation de Wright (Fis):

Fis= $1 - (Hobs / Hthéo)$

Variabilité interpopulation : distance génétique

Distance de Nei :

▪ Soit : 2 populations X et Y et 1 locus

▪ Soit : x_i et x_k les fréquences des i èmes et k èmes allèles à ce locus respectivement dans les populations X et Y

* La probabilité d'identité des 2 allèles à ce locus dans les 2 populations est :

$$J_x = \sum x_i^2 = (p_1^2 + q_1^2)$$

$$J_y = \sum x_k^2 = (p_2^2 + q_2^2)$$

* La probabilité d'identité des 2 allèles lorsqu'un gène est tiré au hasard de chaque population est:

$$J_{xy} = \sum x_i x_j = (p_1 \times p_2) + (q_1 \times q_2)$$

On désigne par J_x , J_y et J_{xy} la moyenne des J_x , J_y et J_{xy} pour l'ensemble des loci considérés, y compris les loci monomorphes.

$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}} \quad D = -\log_e I$$

I = degré de similitude génétique
D = degré de différenciation génétique.

l'identité (I) est une estimation de la proportion des gènes identiques dans les deux populations. I varie de 0 à 1:

- ✓ si I = 0, aucun allèle en commun
- ✓ si I = 1, même fréquence dans les 2 populations

la distance génétique (D) correspond aux substitutions alléliques par locus qui se sont produits durant l'évolution des deux populations après leur divergence. D varie de 0 à l'infini:

- ✓ si D = 0, aucun changement génétique
- ✓ si D > 1, chaque locus peut subir une substitution allélique plus d'une fois si l'évolution se produit sur de longues périodes du temps.

Etablissement des dendrogrammes :

On peut construire un dendrogramme, représentation qui tient compte des ressemblances entre populations, à partir d'une matrice de distance génétique. Celle-ci doit être établie à partir de nombreux loci pris au hasard.

Il existe plusieurs méthodes pour construire un dendrogramme dont la plus simple est celle des groupements par paires, non pondérés. On rassemble tout d'abord les deux groupes qui ont la distance génétique minimum : combinés, ils sont considérés comme un groupe unique. On recalcule la distance génétique entre ce groupe combiné et les autres groupes. On continue jusqu'à ce que tous les groupes aient été combinés dans une seule famille.

Exemple calcul de dendrogramme :

Supposons que la distance entre 3 et 4 soit la distance minimum.

On place ces groupes sur le dendrogramme en les reliant par un point de branchement situé à une distance D_{34} . Puis, on les combine en un seul groupe.

On calcule alors de nouvelles estimations des distances génétiques entre ce groupe et les autres groupes.

$D_1(34)$ et $D_2(34)$ sont données respectivement par $(D_{13}+D_{14}) / 2$ et $(D_{23}+D_{24}) / 2$.

Si par exemple $D_2(34)$ est la plus petite valeur, on place le groupe 2 sur le dendrogramme à une distance de branchement $D_2(34)$.

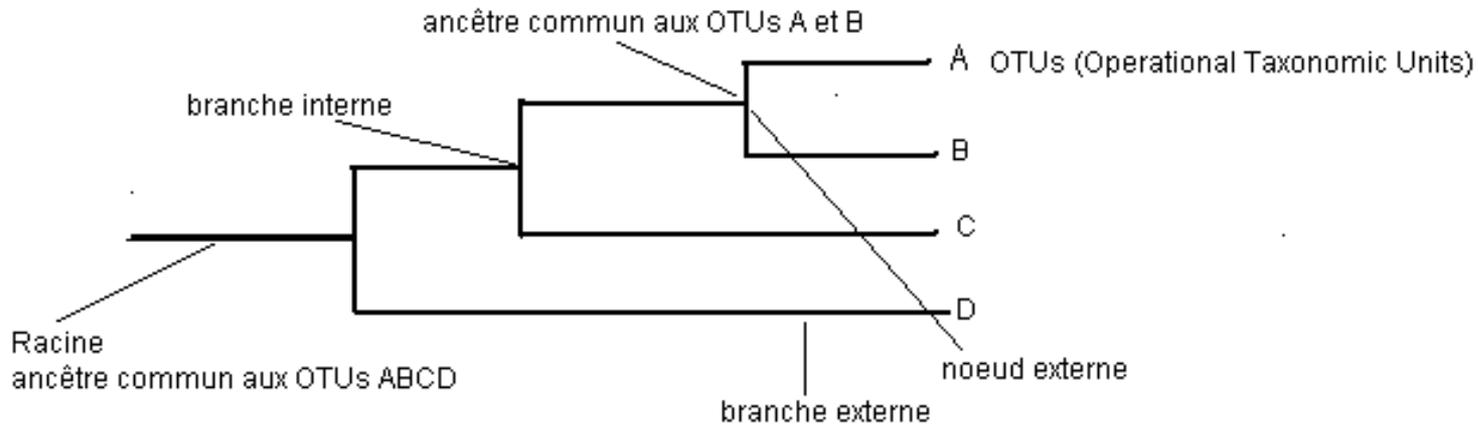
Le groupe 1 est le dernier à se placer.

Le point de branchement où ce groupe rejoint les autres est situé à une distance :

$D_1(234) = (D_{12}+D_{13}+D_{14}) / 3$.

4	3	2	1	Groupes
			-	1
		-	D_{12}	2
	-	D_{23}	D_{13}	3
-	D_{34}	D_{24}	D_{14}	4

2	1	Groupes
	-	1
	D_{12}	2
$D_2(34)$	$D_1(34)$	(3+4)



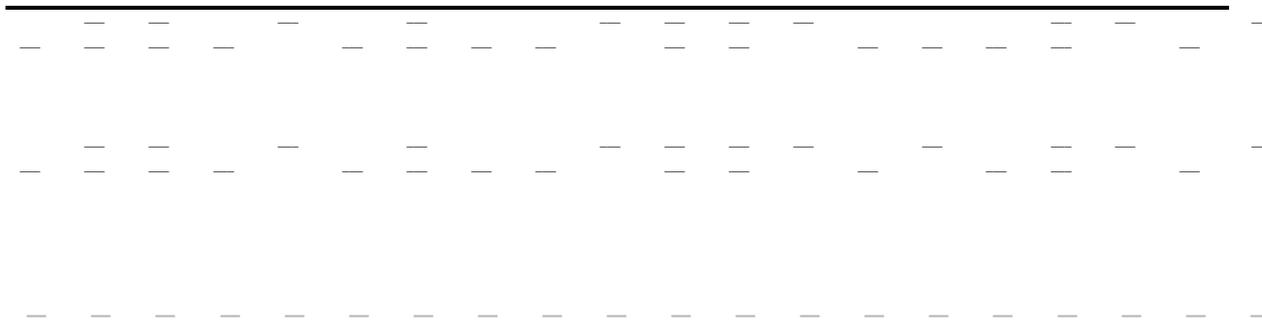
- Les nœuds externes représentent les organismes ou les groupes d'organismes étudiés. Ils peuvent correspondre à des individus, des populations, des espèces, des genres, des familles.
- Le terme OTU désigne l'unité de ces unités taxonomiques
- Les nœuds internes correspondent à des organismes ancestraux
- Les branches définissent les parentés entre ancêtres et descendants.
- La façon dont les branches sont reliées entre elles est nommée topologie.
- Généralement, la longueur d'une branche est proportionnelle aux nombres de changements génétiques qui se sont produits le long de cette branche.

Exercice 1 :

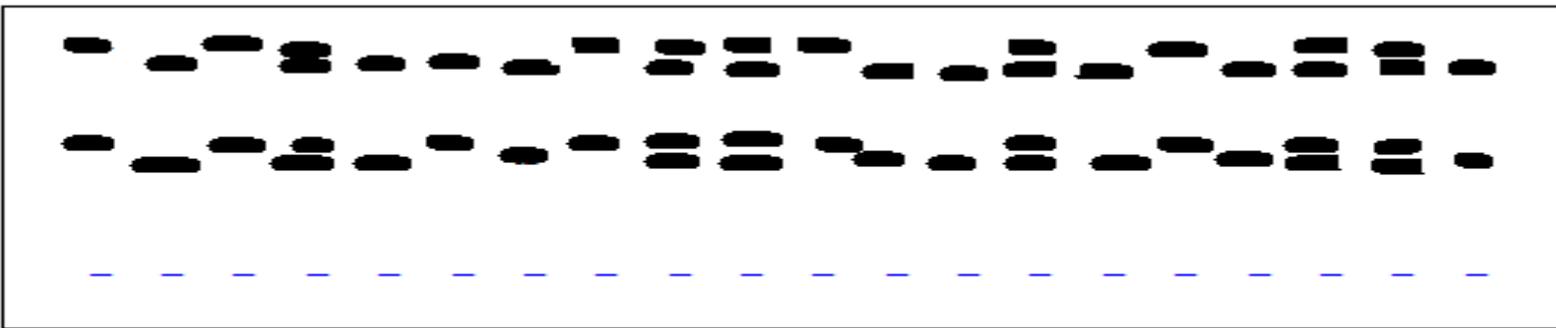
Analyser les zymogrammes des systèmes enzymatiques suivants obtenus à partir d'extraits de 20 plants d'une population naturelle d'*Atriplex halimus*.

Pour chacun d'eux :

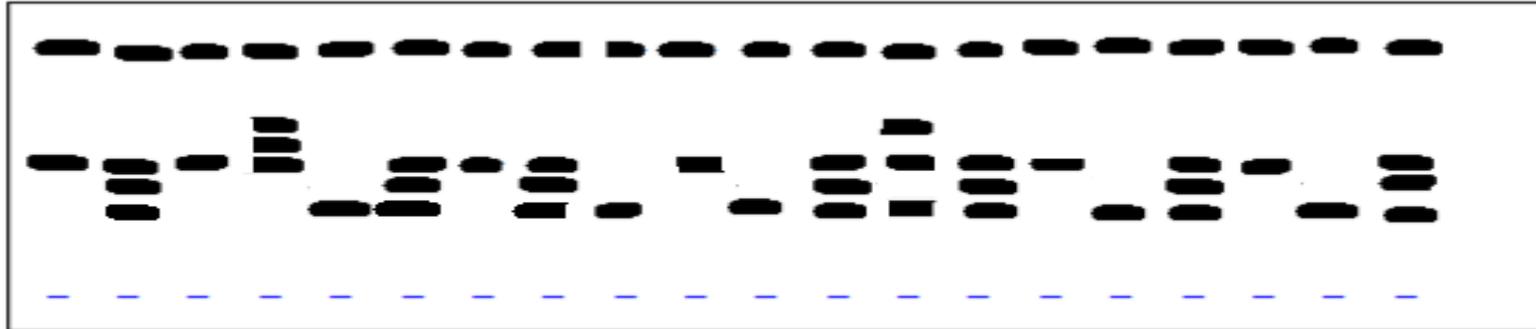
- Quel est le nombre de loci révélés ?
- Quel est le nombre d'allèles ?
- Quelle est l'hypothèse relative à la structure de l'enzyme mise en question ?
- Déterminer les fréquences des allèles et des génotypes de la population représentée sur le zymogramme.
- Calculer le taux de polymorphisme, le nombre moyen d'allèles par locus et le taux d'hétérozygotie observé, l'indice de diversité génétique et Indice de fixation F_{is} de Wright



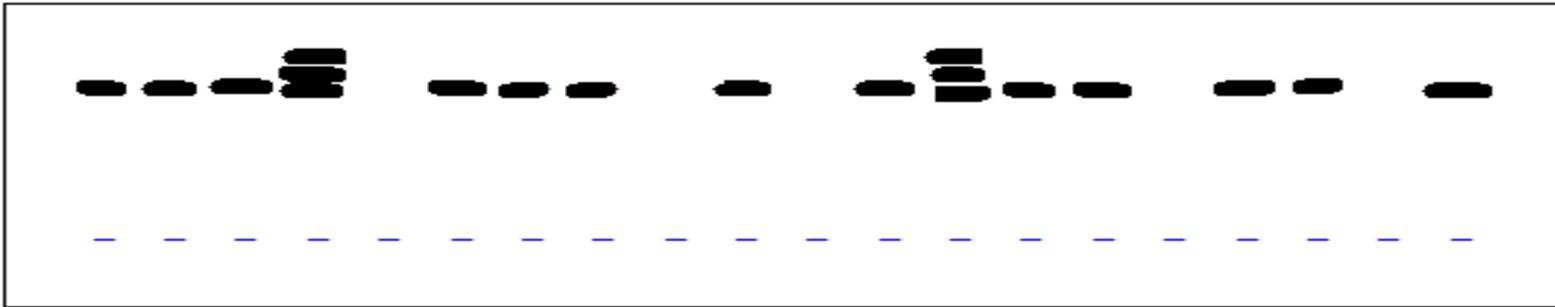
Zymogramme du système des estérases (EST)



Zymogramme du système glutamate oxaloacétate transaminase (GOT)



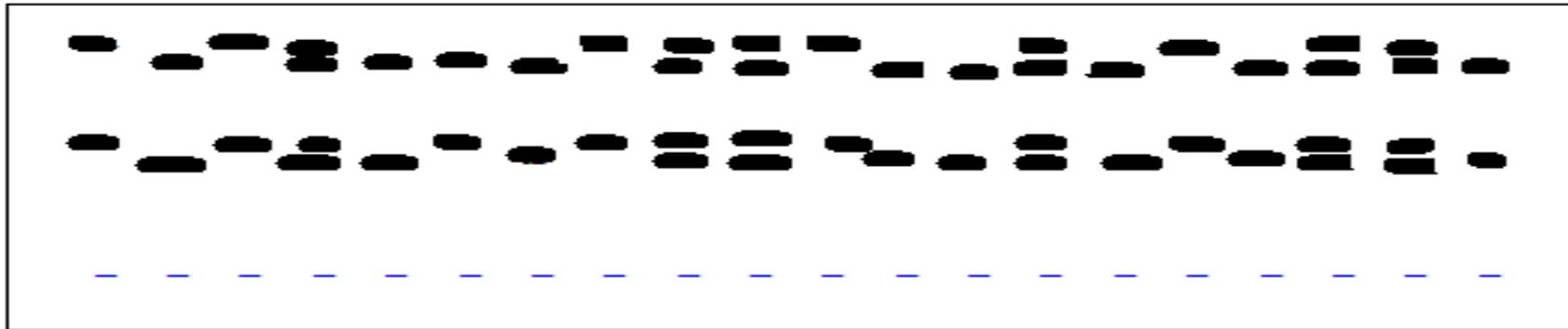
Zymogramme des phosphatases acides (ACP)



Correction exercices

Exercice 1 :

Zymogramme du système des estérases (EST)

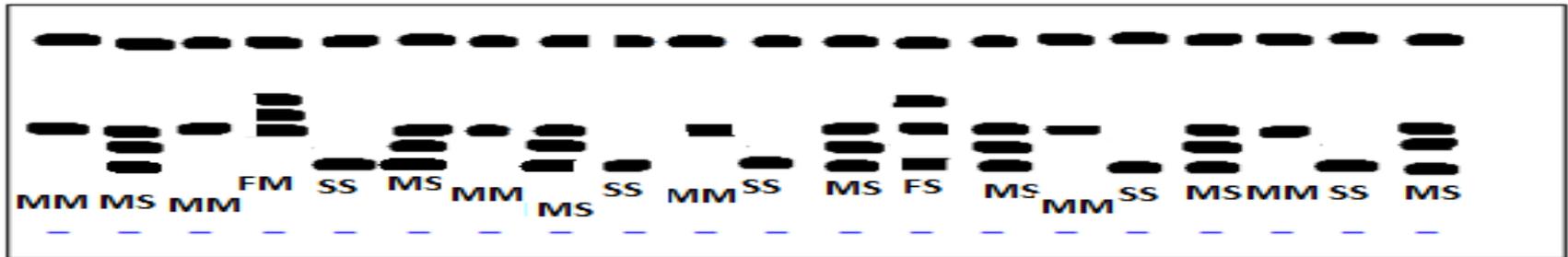


Le système des estérases (EST) montre 2 loci (Est1 et Est2) avec deux allèles chacun (S: Slow et F: Fast) et les individus hétérozygotes sont à 2 bandes

Ces résultats semblent être en faveur de l'hypothèse d'une structure monomérique de l'enzyme

Fréquences alléliques	Allèles	Fréquences génotypiques	Génotypes	Locus iso-enzymatique
$(10+6) / (2 \times 20) = 0,40$	F	$5/20 = 0,25$	FF	Est 1
$1 - 0,40 = 0,60$	S	$6/20 = 0,30$	FS	
		$9/20 = 0,45$	SS	
$(12+6) / (2 \times 20) = 0,45$	F	$6/20 = 0,30$	FF	Est 2
$1 - 0,45 = 0,55$	S	$6/20 = 0,30$	FS	
		$8/20 = 0,40$	SS	

Zymogramme du système glutamate oxaloacétate transaminase (GOT)



Les zymogrammes du système glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), montrent deux zones qui correspondent à 2 loci : Got1 et Got2

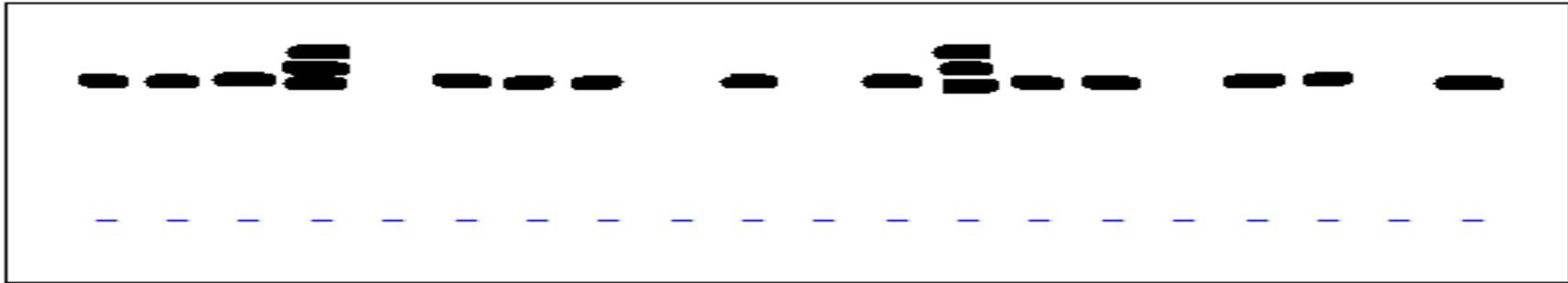
Le locus Got1 est vraisemblablement monomorphe pour la population analysée

Le locus Got2 présente 3 allèles (F: Fast, S: Slow, M : Medium).

L'existence d'interaction intra-locus (individus hybrides : 3 bandes) confirme l'hypothèse d'une structure dimérique de l'enzyme.

Fréquences des allèles et des génotypes de la population pour le locus GOT

Fréquences alléliques	Allèles	Fréquences génotypiques	Génotypes	Locus iso-enzymatique
1	F	20/20 = 1	FF	Got 1
2/40 = 0,05	F	0/20 = 0,00	FF	Got 2
20/40 = 0,50	M	1/20 = 0,05	FM	
18/40 = 0,45	S	1/20 = 0,05	FS	
		6/20 = 0,30	MM	
		7/20 = 0,35	MS	
		5/20 = 0,25	SS	

Zymogramme des phosphatases acides (ACP)

- Pour les phosphatases acides (ACP), l'analyse du zymogramme obtenu révèle la présence d'un seul locus ACp1 avec deux allèles chacun (S: Slow et F : Fast) et les individus hybrides sont à 3 bandes.

Ces résultats semblent être en faveur d'une structure dimérique de l'enzyme.

Fréquences des allèles et des génotypes de la population pour le locus ACP

Fréquences alléliques	Allèles	Fréquences génotypiques	Génotypes	Locus iso-enzymatique
$(0+(0+15))/(30) = 0,06$	F	0	FF	Acp 1
$((13 \times 2)+2)/30 = 0,94$	S	$2/15 = 0,13$	FS	
		$13/15 = 0,87$	SS	

- Taux du polymorphisme :

Nombre de loci polymorphes au seuil de 5% / Total loci analysés = $4/5 = 0,8$

- Nombre moyen d'allèles par locus

$N = 1/L \sum x_i x_i = 10 \text{ allèles} / 5 \text{ loci} = 2$

- Taux d'hétérozygotie observé :

$H_o = 1/L \sum H_t \text{ (hétérozygotes)}$

$H_o = 1/5 (0,30 + 0,30 + 0,00 + 0,05 + 0,05 + 0,35 + 0,13) = 1,18/5 = 0,24$

- Taux de diversité génétique ou taux d'hétérozygotie théorique

$H_t = 1/L (1 - \sum p_i^2)$

$H_t = 1/5 [(1 - (0,4^2 + 0,6^2)) + (1 - (0,45^2 + 0,55^2)) + (1 - (1^2)) + (1 - (0,05^2 + 0,5^2 + 0,45^2)) + (1 - (0,06^2 + 0,94^2))]$

$= 0,35$

- Indice de fixation F_{is} de Wright

$F_{is} = 1 - (H_o/H_t) = 1 - (0,24/0,35) = 0,31$

Exercice 2 :

Les fréquences alléliques des gènes obtenus dans trois populations d'*Atriplex halimus* provenant de trois régions différentes sont données conformément au tableau suivant :

Tanger	Ouarzazate	Marrakech	Allèles	Gènes
0,95	0,70	0,62	F	Est 1
0,05	0,30	0,38	S	
0,53	0,58	0,54	F	Est 2
0,47	0,42	0,46	S	
1,00	1,00	1,00	F	Got 1
0,27	0,19	0,24	F	Got 2
0,17	0,16	0,06	M	
0,56	0,65	0,70	S	
0,27	0,19	0,24	F	Acp 1
0,73	0,81	0,76	S	

- Calculer les distances entre les trois populations
- Tracer le dendrogramme correspondant et interpréter les résultats obtenus

Distances génétiques entre les 3 populations

jOT	jMT	jMO	jT	jO	jM	T	O	M	Allèles	Gènes
0,665	0,589	0,434	0,902	0,490	0,384	0,95	0,7	0,62	F	Est 1
0,015	0,019	0,114	0,002	0,090	0,144	0,05	0,3	0,38	S	
0,307	0,286	0,313	0,281	0,336	0,292	0,53	0,58	0,54	F	Est 2
0,197	0,216	0,193	0,221	0,176	0,212	0,47	0,42	0,46	S	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	F	Got 1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	S	
0,051	0,065	0,046	0,073	0,036	0,058	0,27	0,19	0,24	F	Got 2
0,027	0,010	0,010	0,029	0,026	0,004	0,17	0,16	0,06	M	
0,364	0,392	0,455	0,314	0,422	0,490	0,56	0,65	0,7	S	Acp 1
0,051	0,065	0,046	0,073	0,036	0,058	0,27	0,19	0,24	F	
0,591	0,555	0,616	0,533	0,656	0,578	0,73	0,81	0,76	S	
3,270	3,197	3,226	3,428	3,269	3,218		Somme			

M : Marrakech, O : Ouarzazate, T : Tanger

* Probabilité d'identité des deux allèles à ce locus dans les populations de Marrakech (M) et d'Ouarzazate (O):

- jM : $0,62^2 + 0,38^2 + \dots$

- jO : $0,7^2 + 0,3^2 + \dots$

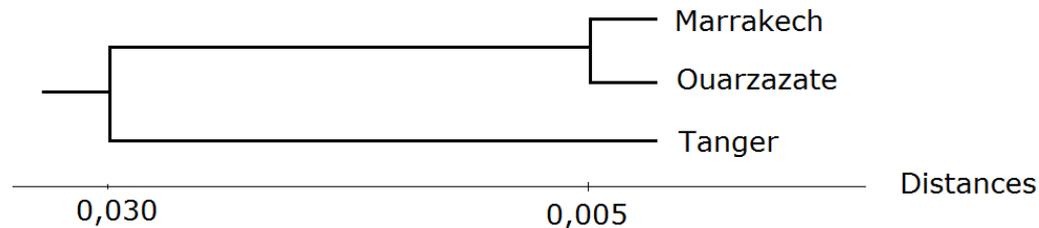
* Probabilité d'identité des 2 allèles lorsqu'un gène est tiré au hasard de chaque population

- jM,O : $(0,62 \times 0,7) + (0,38 \times 0,30) + \dots$

* Identité : Marrakech-Ouarzazate

- $I(M,O) : (J M \times O) / (\sqrt{J M \times J O})$

- $D(M,O) = -\log_e I(M,O)$



* Identité normalisée et distances génétiques :

$I(M,O) = 0,994;$ $D(M,O) = 0,005$

$I(M,T) = 0,962;$ $D(M,T) = 0,038$

$I(O,T) = 0,977;$ $D(O,T) = 0,023$

Exercice 3 :

La matrice suivante regroupe les distances génétiques entre 10 espèces de lézards du genre *Anolis* (Yang et coll., 1974)

bl	lu	ri	gr	tr	ex	ro	ae B	ae G	Espèces
								-	1-aenus G (aeG)
							-	4	2-aenus B (aeB)
						-	106	105	3-roquet (ro)
					-	13	139	137	4-extremus (ex)
				-	205	191	252	235	5-trinitatis (tr)
			-	342	303	313	295	276	6-griseus (gr)
		-	371	369	436	416	311	324	7-richardi (ri)
	-	618	426	395	465	437	512	493	8-luciae (lu)
-10-	326	973	710	639	631	613	708	700	9-blanquillanus (bl)
176	295	761	506	423	447	413	469	459	10-bonaiensis (bo)

Toutes les valeurs sont multipliées par 1000.

Tracer le dendrogramme et interpréter les résultats obtenus.

Matrice des distances génétiques entre 10 espèces de lézards du genre *Anolis* (Yang et al., 1974)

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
									-	1
								-	4	2
							-	106	105	3
						-	13	139	137	4
				-	205	191	252	235		5
			-	342	303	313	295	276		6
			-	371	369	436	416	311	324	7
		-	618	426	395	465	437	512	493	8
	-	326	973	710	639	631	613	708	700	9
	176	295	761	506	423	447	413	469	459	10

Pour simplifier, on peut regrouper dès le début les espèces ayant entre elles les distances génétiques les plus faibles. Ainsi en regroupant les espèces (1-2) ; (3-4) et (9-10), on aura le tableau de matrice de distances génétiques suivant :

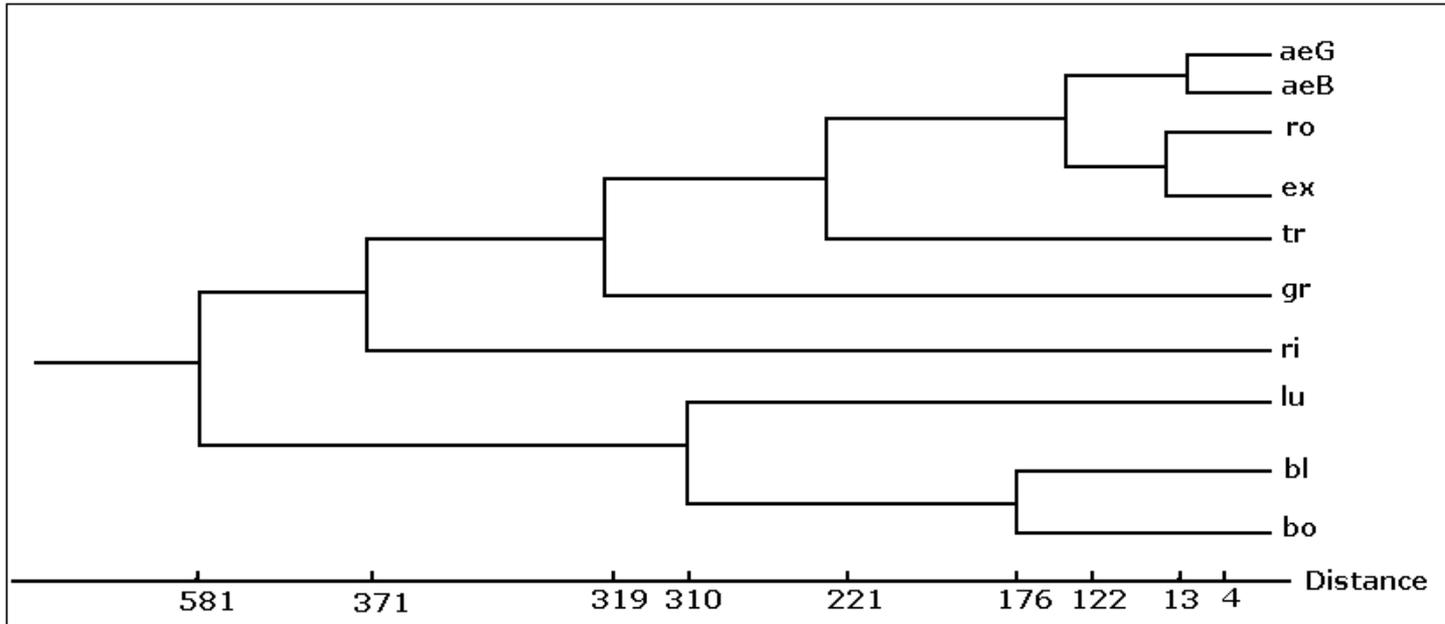
9/10	8	7	6	5	3/4	1/2	
					-	122	3/4
				-	198	243	5
			-	342	308	285	6
		-	371	369	426	317	7
	-	698	426	395	451	502	8
-	310	867	608	531	526	584	9/10

8/9/10	7	6	5	1/2/3/4
			-	291
		-	342	297
	-	371	369	372
-	732	517	463	516

5
6
7
8/9/10

8/9/10	7	1/2/3/4/5/6
	-	371
-	732	430

7
8/9/10



Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

