



Détection de la drépanocytose par analyse génétique

EL BARJRAJI Fattouch, JAZOULI Nawal, NAJAR Mehdi, DE LEENER Anne, MAUEN Sébastien

Causes de la maladie

La cause moléculaire de la drépanocytose est une mutation au niveau du gène de la β -globine.

```

Met Val His Leu Thr Pro Glu Glu      HbA
ATG GTG CAC CTG ACT CCT GAG GAG ...
      | | | | | | |
ATG GTG CAC CTG ACT CCT GTG GAG ...
Met Val His Leu Thr Pro Val Glu      HbS
  
```

La substitution d'une adénine par une thymine dans la séquence de nucléotides du gène de la β -globine entraîne une modification de la séquence protéique dans laquelle un acide glutamique est remplacé par une valine.

La mutation présente dans le gène β -globine est responsable de la formation d'une protéine d'hémoglobine anormale appelée hémoglobine S ou HbS.

L'hémoglobine normale est dénommée hémoglobine A ou HbA.

Principe de la détection

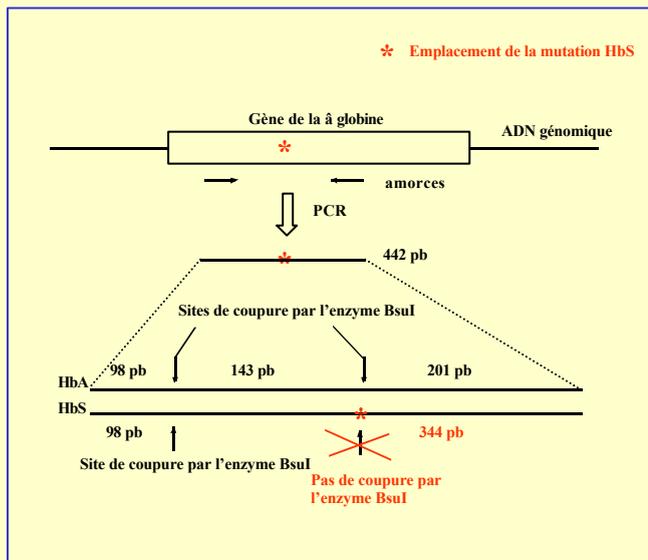
La mutation responsable de la maladie est située au niveau d'une séquence reconnue par l'enzyme de restriction BsuI. L'ADN muté ne peut plus être coupé par l'enzyme à cet endroit.

Séquence reconnue par l'enzyme : CCTNAGG (N: A,C,G ou T)

ADN normal : CCTGAGG → Reconnu et clivé par l'enzyme BsuI

ADN muté : CCTGTGG → Non reconnu et donc non clivé par l'enzyme BsuI

Analyse génétique



Après extraction d'ADN génomique à partir des lymphocytes contenus dans le sang, un fragment d'ADN contenant la région susceptible d'être mutée est amplifié par PCR à l'aide d'amorces spécifiques.

Le fragment amplifié de 442 paires de bases contient 2 sites de restriction pour l'enzyme BsuI si il correspond à un gène normal; il n'en contient qu'un seul si il correspond à un gène muté.

La digestion du fragment amplifié donne donc naissance à trois fragments de 201, 143 et 98 paires de bases pour un gène normal. En présence de la mutation, un des sites disparaît, la digestion produit alors deux fragments de 344 et 98 paires de bases.

La taille des fragments d'ADN formés est mesurée par électrophorèse en gel d'agarose.

Chaque individu possède 2 copies du gène de la β globine, l'une héritée de son père, l'autre héritée de sa mère. Il y a donc 3 cas possibles:

- soit les 2 copies sont normales (2x HbA ou « AA »)
- soit une seule des 2 copies est mutée (1x HbA et 1x HbS ou « AS »)
- soit les 2 copies sont mutées (2x HbS ou « SS »)

