

M. TIXIER-BOICHARD

INRA, Laboratoire de Génétique Factorielle,
78352 Jouy-en-Josas cedex

e-mail : Michele.Boichard@jouy.inra.fr

2 - Polymorphismes génétiques

Polymorphismes moléculaires et phénotypes

Résumé. Les relations entre génotype et phénotype, initialement formalisées par la génétique mendélienne, peuvent être décrites plus précisément grâce à l'identification de la nature moléculaire d'une mutation et à l'étude des conséquences fonctionnelles de cette mutation. Sur un plan fonctionnel, les mutations peuvent être classées en trois catégories : perte de fonction, maintien partiel de la fonction avec interférences (action dominante négative), gain de fonction. Les anomalies génétiques fournissent les exemples les plus didactiques pour la compréhension de la relation génotype-phénotype. De nombreux travaux ont montré la grande diversité moléculaire des mutations responsables de maladies génétiques. Les effets sur le phénotype ne dépendent pas tant de la nature de la mutation que de sa localisation et de ses conséquences sur le fonctionnement du gène. Un polymorphisme peut affecter l'expression du gène (quantité ou structure des transcrits) ou peut modifier uniquement la structure de la protéine produite. Les conséquences fonctionnelles dépendront du mode d'action de la protéine modifiée, avec ou sans effet de dosage, avec ou sans interaction avec d'autres protéines ou des facteurs du milieu.

Avant de connaître la nature moléculaire des gènes, les relations entre génotype et phénotype ont été formalisées à l'aide de la terminologie mendélienne. Ainsi, la récessivité implique que les deux allèles soient mutés pour qu'un phénotype nouveau soit observé, alors que, dans le cas de la dominance, il suffit qu'un seul des deux allèles soit muté pour entraîner une modification du phénotype. L'observation de nombreuses situations intermédiaires entre ces deux cas simples a suscité l'apparition de notions supplémentaires : la pénétrance, qui correspond à la fréquence des individus portant le gène muté qui montrent aussi une modification du phénotype, et l'expressivité, qui traduit le degré variable de l'atteinte phénotypique observée. Maintenant que la structure des gènes en cause et des protéines produites deviennent mieux connues, on peut suivre l'effet d'une mutation jusqu'à son expression phénotypique. Prédire les conséquences phénotypiques d'une mutation d'un gène donné reste cependant très difficile et suppose de bien connaître le fonctionnement normal du gène puis de la protéine dans un environnement cellulaire donné.

Après une présentation de quelques définitions de base, les relations entre polymorphismes moléculaires et phénotype seront d'abord illustrées dans le cas d'un gène majeur bien connu dans une espèce d'élevage, le nanisme chez la poule. Cet exemple permettra de poser plusieurs questions qui seront ensuite traitées de façon plus systématique à l'aide d'exemples pris en génétique humaine (Strachan et Read 1998).

1 / Quelques définitions

Les polymorphismes moléculaires dans un gène donné peuvent être simplement neutres, ou bien affecter la fonction du gène selon trois modalités : perte de fonction, maintien partiel de la fonction avec interférences, gain de fonction.

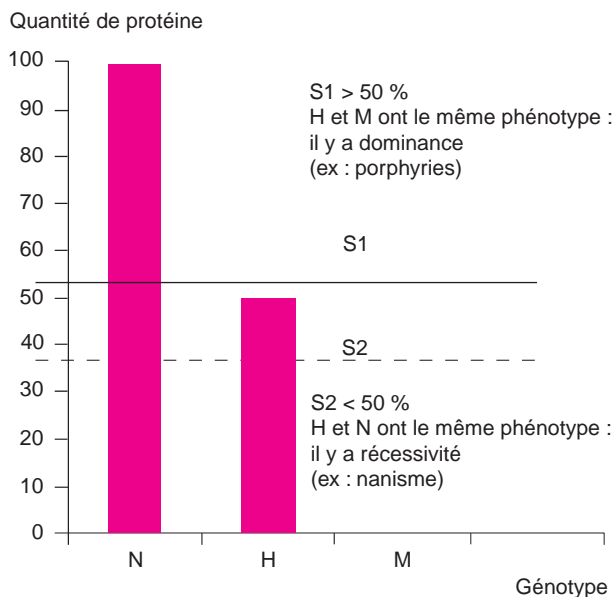
1.1 / Mutation « perte de fonction »

La mutation conduit à l'absence du produit du gène ou à un produit totalement inactif. Il s'agit le plus souvent d'une mutation récessive, dans la mesure où, chez un porteur hétérozygote, l'allèle normal continue à s'exprimer et permet la synthèse d'une protéine normale. Cependant, la quantité d'ARN messager est en général diminuée et la quantité de protéine fonctionnelle le sera aussi, en proportions variables. Selon la fonction impliquée, cet effet de dosage aura ou n'aura pas de conséquences sur le phénotype (figure 1). De plus, cet effet de dosage peut varier d'un type cellulaire à un autre. L'existence d'un effet de dosage peut expliquer que certaines mutations « perte de fonction » soient dominantes. Cette situation, encore appelée « haploinsuffisance », demeure assez rare et peut être observée pour quelques maladies génétiques chez l'Homme. Ainsi, les mutations du gène codant pour l'enzyme hypoxanthine adénine phosphoribosyl transférase (HPRT) sont associées à un phénotype variable, qui peut aller de l'hyperuricémie (activité HPRT allant de 8 % à 60 % de la normale) à une atteinte neurologique, d'autant plus grave que l'activité HPRT dimi-

nue de 8 % à moins de 1,4 % du niveau normal. S'il n'y a pas d'effet de seuil, mais que les effets alléliques sont additifs, on s'attend chez l'hétérozygote à un phénotype intermédiaire entre les phénotypes des deux homozygotes.

On conçoit qu'il y ait de nombreuses façons d'annuler le fonctionnement d'un gène, on peut donc s'attendre à une diversité moléculaire assez grande parmi les mutations récessives à un même locus.

Figure 1. Effet de dosage en fonction de la quantité de protéine produite par les trois génotypes, normal (N), hétérozygote pour la mutation (H), homozygote pour la mutation (M), et de l'existence d'une valeur seuil (S1 ou S2) pour obtenir un phénotype normal.



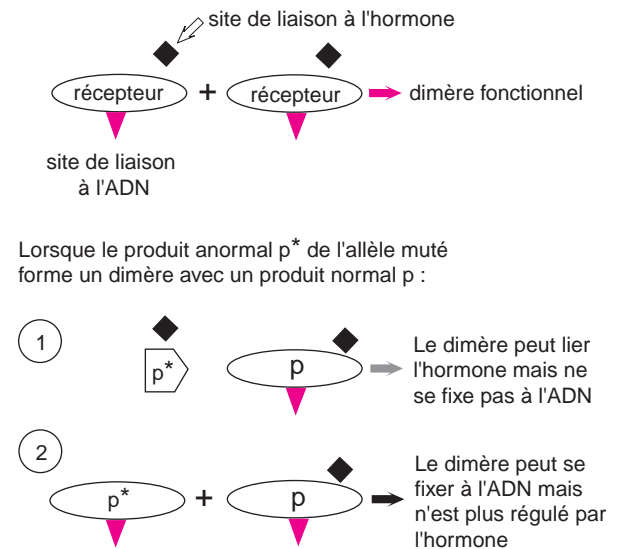
1.2 / Mutation « dominante négative »

La mutation conduit à une perte de fonction qui n'est pas totale. Un maintien partiel de la fonction du produit de l'allèle modifié conduit à des interférences avec l'allèle normal chez un porteur hétérozygote. Le produit muté peut entrer en compétition avec le produit de l'allèle normal et diminuer son action. Dans ce cas, il suffit d'un exemplaire de la mutation pour modifier le phénotype, on a donc une situation de dominance, et le mécanisme de piégeage ou de neutralisation du produit normal explique le qualificatif de « négative ». Cette situation correspond particulièrement au cas où le produit du gène muté fonctionne habituellement en homodimère, voire en multimères, avec d'autres protéines : le défaut d'un élément du multimère perturbe le fonctionnement de l'ensemble. De tels exemples sont rencontrés dans le cas des maladies du collagène, ou avec les récepteurs hormonaux nucléaires (figure 2).

1.3 / Mutation « gain de fonction »

La mutation confère au gène une nouvelle fonction. Il peut s'agir d'une modification qualitative de la protéine, ou bien d'une expression anormale d'un produit normal. Dans ce dernier cas, l'allèle muté échappe à la régulation normale de ce gène et s'exprime dans des tissus ou à un âge où l'allèle normal ne s'exprime pas. Selon la fonction du gène et selon l'effet de dosage décrit à la figure 1, ce type de mutation

Figure 2. Interférences entre protéines fonctionnant en dimère : exemple d'un récepteur nucléaire hormonal (Yen et Chin 1994). La mutation d'un seul allèle modifie le fonctionnement du récepteur avec une action dominante négative, en gênant la liaison à l'ADN (cas 1) ou la liaison à l'hormone (cas 2).



peut se comporter de façon récessive ou dominante. Par exemple, si le gène concerné est un gène régulateur, l'expression d'un seul allèle peut suffire à perturber l'expression des deux allèles du gène contrôlé en aval, et la mutation sera identifiée comme dominante. Les mutations 'gain de fonction' ont en général des conséquences phénotypiques importantes.

Autant on pouvait imaginer plusieurs façons d'inactiver un gène, autant on peut penser que les mutations de type 'gain de fonction' correspondent à une anomalie bien particulière du gène.

1.4 / Nature du polymorphisme

Les mutations correspondent à l'ajout (insertion), la suppression (délétion) ou le remplacement (substitution) de nucléotides.

Les délétions peuvent aller d'une base à plusieurs milliers, voire millions. Les insertions peuvent être le résultat de différents mécanismes. Ces deux types de mutations peuvent toucher les séquences codantes ou non codantes. Lorsqu'elles se situent dans les séquences non codantes, elles peuvent perturber l'épissage du transcrit primaire ou modifier des éléments régulateurs et affecter l'expression du gène en entier. Lorsqu'elles se situent dans les séquences codantes, il est important de savoir si ces mutations induisent un décalage du cadre de lecture, c'est-à-dire si elles modifient la lecture des codons. S'il y a un décalage, la lecture du code génétique est fautive. S'il n'y a pas de décalage, la lecture sera interrompue mais la partie lue sera correctement interprétée et l'effet sur la fonction sera souvent moins sévère qu'avec une lecture fautive entraînant la synthèse d'une protéine complètement aberrante. Ainsi, les formes les plus sévères de myopathie sont associées à des délétions créant un décalage du cadre de lecture.

En ce qui concerne les mutations dues à une substitution nucléotidique, on peut distinguer plusieurs types :

- une mutation non sens remplace un codon d'acide aminé par un codon stop ;
- une mutation faux-sens modifie le codon et conduit au remplacement d'un acide aminé par un autre dans le produit du gène ;
- une mutation de site d'épissage supprime ou crée un signal d'épissage exon/intron.

Comme on va le voir, il n'y a pas de relation simple entre la nature moléculaire d'une mutation et son effet phénotypique. La conséquence fonctionnelle dépendra de la localisation de la mutation dans le gène, de son effet sur l'expression du gène, de la structure de la protéine produite, et du rôle normalement joué par la protéine dans la fonction atteinte.

2 / L'exemple des polymorphismes moléculaires associés à la mutation « nanisme » du poulet

Connue de longue date par ses effets phénotypiques et physiologiques chez le poulet, la mutation du nanisme *DW* a pu être identifiée sur le plan moléculaire à la suite du clonage du gène du récepteur de l'hormone de croissance du poulet (Burnside *et al* 1991).

Plusieurs lignées de poulet étaient connues pour porter une mutation récessive, liée au sexe, toujours attribuée au locus *DW*. Les études moléculaires conduites par deux équipes entre 1991 et 1994 ont permis d'identifier trois anomalies différentes dans des lignées non apparentées. Celles-ci ont pu être assez bien caractérisées sur un plan structural et fonctionnel et correspondent toutes à une muta-

tion de type « perte de fonction » du gène du récepteur de l'hormone de croissance (tableau 1).

Le seul point commun entre les trois mutations est l'absence d'activité de liaison significative hormone-récepteur, mesurée sur les cellules du foie. Au plan phénotypique, la proportion de réduction du poids corporel dépend des lignées de poulets qui diffèrent en effet par leur vitesse de croissance et leur poids adulte.

2.1 / Effet de dosage

On peut observer un léger effet de dosage dans la mesure où l'hétérozygote montre une faible réduction de poids corporel, mais celle-ci n'est pas du tout dans les mêmes proportions que la réduction de la liaison cellulaire hormone-récepteur. L'effet de la mutation sur la croissance de l'hétérozygote peut être mieux mesuré maintenant que l'on dispose d'un test moléculaire pour distinguer avec certitude les homozygotes normaux des hétérozygotes porteurs de la mutation.

2.2 / Transcription

On voit également que l'étude de la taille des transcrits ne suffit pas ici pour conclure au rôle causal du polymorphisme moléculaire identifié dans le gène. En effet, la mutation ponctuelle de la lignée WL conduit au remplacement d'une sérine par une isoleucine dans une région très conservée de la protéine : cette mutation ne modifie pas l'expression du gène ni la synthèse de la protéine et seul le séquençage de l'ADNc a permis d'identifier l'anomalie.

Si l'on compare les mutations GA et CT-OB, qui se traduisent par une anomalie des transcrits, on observe encore deux mécanismes différents :

Tableau 1. Anomalies du gène du récepteur de l'hormone de croissance, *RGH*, dans trois lignées de poulets nains.

Lignée	GA « type chair » (USA)			CT « type chair » (USA)	OB « type ponte œufs roux » (France)	WL « type ponte œufs blancs » (France)	
Référence	Huang <i>et al</i> (1993)			Agarwal <i>et al</i> (1994)		Duriez <i>et al</i> (1993)	
Anomalie moléculaire du gène	mutation ponctuelle (T → C)			déletion de 1773 pb		mutation ponctuelle (G → T)	
Localisation de la mutation	jonction exon5 / intron5 2 bases après la position 352 (séquence codante) 352+2(T → C)			région 3' du gène : position 1744 à 3516 = {fin de l'exon 10 + région 3' non traduite} nt1744(del 1773)		position 679 de la séquence codante domaine extracellulaire du récepteur 679(G → T)	
Effet attendu	anomalie d'épissage			décalage de lecture		faux-sens Ser199 → Ile (S199I)	
Test diagnostic	séquençage			RFLP ou test PCR		test PCR-ASO	
Génotype étudié	normal	hétérozygote	homozygote	hétérozygote	homozygote	hétérozygote	homozygote
Taille des transcrits ARN (kb)	4,3	4,3 / 0,8	0,8 et ≈ 5 kb	(prédict 4,3 / 2,5)	2,5	4,3	4,3
Protéine : quantité, structure, localisation	592 AA type récepteur cytokine			quantité ε non détectée		présente mais anormale : - 27 AA hydrophiles + 53 AA hydrophobes	
Activité de liaison à la GH	100	56	ε (limite de détection)		ε (limite de détection)		nulle
Phénotype : poids corporel	100	91	57	93-98	70	92	61

- dans la mutation GA, la mutation ponctuelle modifie l'épissage et conduit à la synthèse d'un ARN long très instable, un site interne de polyadénylation est alors préférentiellement utilisé, ce qui conduit à la production prédominante du petit transcrite de 0,8 kb ; cette mutation n'a pu être identifiée que par le séquençage d'un clone génomique contenant la jonction exon5/intron5, la séquence de l'ADNc seul n'aurait pas permis d'identifier cette mutation ;

- dans la mutation CT, une délétion importante dans la région 3' du gène conduit à une modification du domaine intra-cellulaire de la protéine ; la délétion entraîne la perte de 27 acides aminés, mais la transcription continue jusqu'au site suivant de polyadénylation, dans la région 3' habituellement non traduite, et substitue 27 acides aminés nouveaux auxquels s'ajoutent encore 26 acides aminés, jamais présents d'ordinaire dans la protéine. En conséquence, la taille de la protéine est modifiée et sa structure est profondément altérée car la nouvelle séquence carboxy-terminale est largement hydrophobe alors que celle du récepteur normal est principalement hydrophile. Le récepteur muté n'est pas fonctionnel.

2.3 / Recherche de la mutation causale

Si l'absence d'activité de liaison hormone-récepteur était un argument important pour la recherche de mutations du gène RGH chez les poulets nains, l'observation d'une perte de fonction n'est pas toujours un bon indicateur. Ainsi, des études physiologiques des poulets nains avaient démontré une hypothyroïdie et une forte réduction de l'activité *in vivo* d'une enzyme, la monodéiodinase. Certains s'orientèrent vers l'étude de cette enzyme comme candidat possible à l'effet primaire du gène. Cependant, l'activité de cette enzyme est régulée par l'hormone de croissance, donc toute anomalie de cette régulation retentit aussi sur l'activité enzymatique. La « piste » monodéiodinase fut abandonnée lorsque des études *in vitro* montrèrent que l'activité de cette enzyme pouvait être normale dans certaines conditions expérimentales.

Dans le cas de la mutation WL, l'étude de la structure du gène par RFLP et l'analyse des transcrits en Northern blot ne montraient pas d'anomalie grossière du gène RGH des nains WL. La décision de continuer jusqu'au séquençage de l'ADNc a été justifiée par deux arguments : d'une part, le gène RGH était déjà impliqué dans le déterminisme du nanisme des souches CT et OB, d'autre part, l'homologie entre les mutants nanisme des souches OB et WL avait été établie au préalable par un croisement entre ces deux lignées. Enfin, l'importance fonctionnelle de la mutation ponctuelle a été démontrée par un test de mutagenèse et d'expression en culture cellulaire du gène RGH humain : modifié sur le même acide aminé dans le même motif très conservé (S199I), le récepteur muté ne s'exprime pas à la membrane des cellules.

2.4 / Autres gènes majeurs

L'étude des polymorphismes moléculaires d'autres gènes majeurs est également riche d'enseignement, comme celle des gènes des caséines (Martin et Leroux 2000, cet ouvrage) ou, plus récemment, l'étude des mutants du gène de la myostatine chez les bovins culards. Dans le cas de la

myostatine, on rencontre également une importante hétérogénéité allélique entre races (Grobet *et al* 1998), qui redonne tout son intérêt à d'éventuelles différences phénotypiques observées antérieurement entre races pour le phénotype culard. A l'instar de l'étude des anomalies du gène RGH chez les poulets nains, tous les niveaux d'étude doivent être considérés pour établir la relation génotype-phénotype : l'étude des transcrits ou le séquençage de l'ADNc ne sont pas forcément suffisants. La dissection complète de toutes les étapes est une lourde tâche, qui ne doit s'envisager que lorsque plusieurs arguments convergents suggèrent que la mutation causale doit être dans le gène étudié, tels que la démonstration d'une liaison génétique et l'association d'une mutation de ce gène avec un phénotype très proche dans une autre race ou une autre espèce.

Les très nombreux exemples d'anomalies génétiques identifiées en médecine humaine permettent de généraliser l'étude des relations entre polymorphismes moléculaires et phénotypes et de les aborder en fonction du niveau d'action de la mutation.

3 / Les différents types d'effets associés aux polymorphismes moléculaires

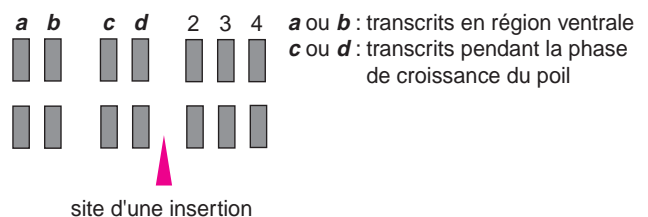
3.1 / Effets sur le fonctionnement du gène

On peut tenter d'établir une liste des polymorphismes responsables de maladies génétiques chez l'Homme, sans prétendre toutefois à l'exhaustivité (tableau 2). Parmi les exemples cités, on voit apparaître plusieurs fois l'alpha-thalassémie ou la myopathie de Duchenne, ce qui illustre une fois de plus l'hétérogénéité moléculaire sous-jacente à une classification clinique des maladies génétiques. Le nombre d'allèles identifiés dans le même locus associé à une maladie génétique peut aller jusqu'à 400 dans le cas de la mucoviscidose.

Dans le cas du locus *agouti* de la souris, un polymorphisme d'insertion modifie la régulation tissulaire de l'expression du gène (figure 3).

Figure 3. Anomalies de la transcription liées à des insertions de taille différente en région 5' non codante dans le gène *agouti* de la souris et phénotypes correspondants (d'après Siracusa 1994).

Schéma du gène *agouti* : les exons 2, 3, 4 sont codants, les exons **a**, **b**, **c**, **d** sont non codants mais ont un profil de transcription tissu-spécifique :



taille de l'insert :

- 11 kb : expression nulle, mutant récessif noir
- 6 kb : expression ventrale de pigment jaune
- a** et **b** sont transcrits mais pas **c** ni **d**
- 0,5 kb : expression normale, phénotype sauvage

Tableau 2. Exemple de polymorphismes moléculaires associés à des anomalies de la transcription.

Type d'anomalie de la transcription	Type de polymorphisme moléculaire	Exemples
Inhibition	Réarrangement chromosomique Délétion totale Expansion trinuécléotidique Erreur d'empreinte	Myopathie de Duchenne Alpha-thalassémie Maladie de l'X fragile Syndrome d'Angelman
Réduction de l'activité transcriptionnelle ou transcription aberrante	Mutation dans le promoteur Délétion supprimant un codon stop Mutation non sens	Béta-thalassémie Une forme d'alpha-thalassémie
Interruption : ARN tronqué	Délétion/insertion créant un décalage du cadre de lecture Mutation non sens	Myopathie de Duchenne Poulet nain CT
Défaut de régulation : défaut d'expression dans certains tissus ou, à l'inverse, expression ectopique	Délétion/insertion dans la région 5' non codante	Locus <i>agouti</i> (cf figure 3)
Anomalie d'épissage	Mutation faux-sens créant ou supprimant un site d'épissage	Gène PAX3 Poulet nain GA

3.2 / Effets sur la fonction de la protéine

La protéine sera tronquée si la transcription est elle-même incomplète. Mais, indépendamment des anomalies de transcription, la structure de la protéine peut être modifiée à cause d'une anomalie de séquence. On retrouve ici toutes les mutations faux-sens localisées dans les séquences codantes. La conséquence phénotypique dépend strictement du rôle que l'acide aminé remplacé joue dans la structure secondaire et la fonction de la protéine. Elle peut donner lieu à une mutation « perte de fonction » (ex : nanisme WL) ou « gain de fonction » (ex : anémie falciforme).

La fonction d'une protéine peut également être étroitement liée à des modifications secondaires, post-traductionnelles, telles que la glycosylation. Une mutation dans un site de glycosylation pourra avoir des conséquences variables selon l'importance de la glycosylation dans la fonction de la protéine, voire selon le type cellulaire. Par exemple, il semble que différents types de prions humains puissent être distingués par leurs profils de glycosylation.

3.3 / Interactions entre gènes et phénotypes complexes

Une anomalie importante telle qu'une délétion peut affecter plusieurs gènes contigus. Dans ce cas, le phénotype ne pourra pas être expliqué par un seul gène candidat et la recherche de la mutation causale sera rendue plus difficile. Par exemple, la mutation 'pink-eyed cleft-palate' de la souris, notée p(cp), est caractérisée par une hypopigmentation associée à un palais fendu et une atteinte neurologique. L'ensemble de ces symptômes paraissait difficile à rattacher à une anomalie d'un seul gène. Une étude approfondie de la région du locus p « pink-eyed » (Nakatsu *et al* 1993) a révélé l'existence d'une délétion englobant aussi un groupe de trois gènes codant respectivement pour les sous-unités $\alpha 5$, $\beta 3$ et $\gamma 3$ du récepteur d'un neurotransmetteur, le GABAA (acide gamma-aminobutyrique). La même mutation affecte ici deux gènes très voisins, dont la fonction est différente, et le phénotype observé, apparemment transmis comme un caractère monogénique, est une résultante de deux anomalies.

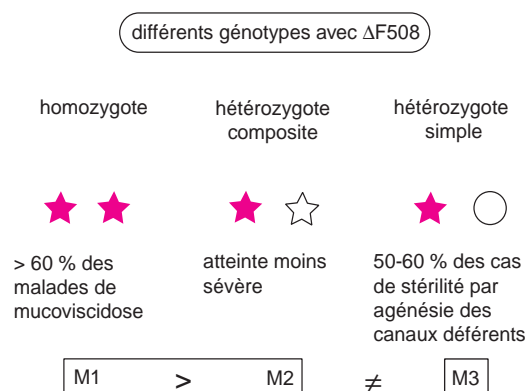
Ce type d'interaction peut aussi se rencontrer entre allèles au sein d'un même gène. Par exemple dans le cas du variant arabo-indien de l'anémie falciforme humaine, l'association de deux mutations dans le même gène constitue un haplotype dont l'effet phénotypique est moins sévère que celui de l'anémie falciforme classique : l'une des deux mutations concerne le promoteur et diminue l'activité transcriptionnelle du gène, l'autre mutation entraîne la synthèse d'une protéine anormale (mutation « gain de fonction »), responsable de la sévérité de la maladie. L'association des deux mutations en un seul haplotype, sur le même chromosome, conduit à une diminution de la quantité de protéine anormale synthétisée et à une atteinte phénotypique moins sévère chez l'hétérozygote (Cooper et Krawczak 1994).

D'autres interactions impliquent les allèles situés sur les chromosomes homologues. La mucoviscidose (figure 4) et les mutations du gène CFTR en offrent un bon exemple : le phénotype associé à une mutation dépend de l'autre allèle présent sur le chromosome homologue.

Figure 4. Variabilité phénotypique associée à différentes combinaisons alléliques au locus CFTR responsable de la mucoviscidose (d'après Férec et al 1994).

gène CFTR : 27 exons, 230 kb, protéine de 1480 acides aminés

$\Delta F508$: mutation fréquente, délétion 3 bases, perte d'un acide aminé



Lorsque le phénotype résulte de l'action simultanée de deux gènes, voire plus, une mutation dans un seul de ces gènes peut suffire pour modifier le phénotype résultant. L'interaction se situe ici entre les produits de différents gènes et l'identification des polymorphismes moléculaires devra être interprétée en tenant compte de cette interaction. Ce type d'interaction est rencontrée dans le cas des protéines fonctionnant en hétérodimères ou hétéromultimères.

D'un point de vue encore plus général, une interaction entre une mutation et un génome entier peut être mise en évidence lors de l'analyse du phénotype de souris portant un même transgène mais issues de différents croisements. L'accumulation de données issues des expériences de transgénèse chez la souris permet maintenant d'aborder l'interprétation du phénotype en terme d'interaction gène x contexte génétique (Doetschman 1999, Muller 1999).

3.4 / Interactions avec le milieu

Il ne faut pas négliger le fait qu'une mutation peut être nécessaire mais non suffisante pour conduire à une modification phénotypique. Par exemple, la phénylcétonurie est une maladie du métabolisme des protéines due à la perte de fonction d'une enzyme, qui conduit à l'accumulation de phénylalanine, toxique pour le système nerveux. Un régime alimentaire strictement dépourvu de protéines contenant cet acide aminé permet d'éviter toute expression du phénotype. Ce cas est assez extrême, mais illustre bien l'importance des facteurs de milieu dans l'expression d'un phénotype.

Enfin, le phénomène d'empreinte peut être vu comme un cas particulier d'interaction avec le milieu parental. En effet, l'expression du gène dépend du sexe du parent qui a transmis l'allèle. Dans le cas d'une mutation perte de fonction, celle-ci n'aura de conséquence phénotypique que si elle est transmise par le parent transmettant habituellement la forme 'active' du gène. Ainsi, dans le cas des syndromes d'Angelman (AS) et de Prader-Willi (PWS) chez l'Homme, la même région du chromosome 15 est impliquée, le syndrome AS est dû à une perte d'expression du domaine maternel alors que le syndrome PWS est dû à une perte d'expression du domaine paternel. L'origine parentale de l'allèle transmis peut aussi affecter la sévérité d'une anomalie génétique : par exemple la maladie de Huntington apparaît plus tardivement lorsque l'allèle

le anormal est transmis par la mère. Chez les animaux domestiques, le phénomène d'empreinte apparaît la meilleure explication au mode de transmission très particulier de la mutation *callipyge* chez le mouton (Cockett *et al* 1996).

Conclusions

A défaut de pouvoir dégager de lois générales permettant de relier un polymorphisme moléculaire à un phénotype, quelques observations méritent d'être soulignées :

- un même gène peut connaître des mutations de type 'gain' ou 'perte' de fonction ; selon l'allèle présent, une forme dominante ou récessive de la même maladie peut être observée ;
- la nature moléculaire de la mutation est moins importante que sa localisation ;
- en général, les effets phénotypiques des mutations « gain de fonction » sont les plus sévères ;
- on ne peut pas opposer des mutations dites qualitatives, dues à une anomalie de la séquence codante, à des mutations dites quantitatives, dues à une anomalie dans les séquences de régulation ;
- il est nécessaire de cumuler différents types d'information : liaison génétique, expression du gène, séquençage, structure de la protéine, fonction de la protéine ; parfois l'étude de l'expression suffit à expliquer la relation génotype-phénotype, mais une absence de résultat à ce niveau ne signifie pas que le gène n'est pas impliqué dans le phénotype anormal ;
- les conséquences phénotypiques d'un polymorphisme moléculaire contribuent à mieux comprendre le rôle d'un gène donné dans une fonction, l'identification des polymorphismes est un excellent outil pour disséquer le fonctionnement d'un gène ;
- il doit y avoir un aller-retour entre les données de la biologie moléculaire et les observations de physiologie cellulaire et de physiologie de l'organisme entier ;
- les exemples les plus démonstratifs proviennent souvent de gènes à effets majeurs ou de situations pathologiques graves, car les conséquences phénotypiques y sont plus faciles à voir et le polymorphisme du gène y est déterminant. La diversité moléculaire révélée grâce à ces situations extrêmes doit également contribuer à la variabilité phénotypique des performances zootechniques, mais les phénomènes d'épistasie, de redondance entre gènes et d'interaction avec le milieu compliquent l'analyse de la relation génotype-phénotype.

Références

- Agarwal S.K., Cogburn L.A., Burnside J., 1994. Dysfunctional growth hormone receptor in a strain of sex-linked dwarf chicken: evidence for a mutation in the intracellular domain. *Journal of Endocrinology*, 142, 427-434.
- Burnside J., Liou S.S., Cogburn L.A., 1991. Molecular cloning of the chicken growth hormone receptor complementary deoxyribonucleic acid: mutation of the gene in sex-linked dwarf chickens. *Endocrinology*, 128, 3183-3192.
- Cockett N.E., Jackson S.P., Shay T.L., Farnir F., Berghmans S., Snowden G.D., Nielsen D.M., Georges M., 1996. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*, 273, 236-238.
- Cooper D.N., Krawczak M., 1994. Human gene mutation. BIOS Scientific Publishers Ltd. 412p.
- Doetschman T., 1999. Interpretation of phenotype in genetically engineered mice. *Laboratory Animal Science*, 49, 137-143.
- Duriez B., Sobrier M-L., Duquesnoy P., Tixier-Boichard M., Decuyper E., Coquerelle G., Zeman M., Goossens M., Amselem S., 1993. A naturally occurring growth hormone receptor mutation: in vivo and in vitro evidence for the functional importance of the WS motif common to all members of the cytokine receptor superfamily. *Molecular Endocrinology*, 7, 806-814.
- Férec C., Mercier B., Audrézet P-P., 1994. Les mutations de la mucoviscidose : du génotype au phénotype. *Médecine/Sciences*, 10, 631-639.
- Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménissier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M., 1998. Molecular definition of an allelic series of mutations dis-

rupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mamm. Genome*, 9, 210-213.

Huang N., Cogburn L.A., Agarwal S.K., Marks H.L., Burnside J., 1993. Overexpression of a truncated growth hormone receptor in the sex-linked dwarf chicken: evidence for a splice mutation. *Molecular Endocrinology*, 7, 1391-1398.

Martin P., Leroux C., 2000. Le gène caprin spécifiant la caséine $\alpha s1$: un suspect tout désigné aux effets aussi multiples qu'inattendus. *INRA Productions Animales*, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 125-132.

Muller U., 1999. Ten years of gene targeting: targeted mouse mutants from vector design to phenotype analysis. *Mechanisms of Development*, 82, 3-21.

Nakatsu Y., Tyndale R.F., DeLorey T.M., Durham-Pierre D., Gardner J.M., McDanel H.J., Nguyen Q., Wagstaff J., Lalande M., Sikela J.M., Olsen R.W., Tobin A.J., Brilliant M.H., 1993. A cluster of three GABAA receptor subunit genes is deleted in a neurological mutant of the mouse p locus. *Nature*, 364, 448-450.

Siracusa L.D., 1994. The agouti gene: turned on to yellow. *Trends in Genetics*, 10, 423-428.

Strachan T., Read A.P., 1998. *Génétique moléculaire humaine*. Médecine-Sciences, Flammarion, 597 p.

Yen P.M., Chin W.W., 1994. Molecular mechanisms of dominant negative activity by nuclear hormone receptors. *Molecular Endocrinology*, 8, 1450-1454.