

REBUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA -1



Faculté des sciences de la nature et la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'études

Eu vue de l'obtention du Diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : sciences biologiques

Option : Génétique

Thème

**Etude rétrospective des caractéristiques génétiques de la
drépanocytose**

Présenté par :

Mlle. Bendoumia Yasmine

Mlle. Sadok Asma

Devant le jury :

Dr DEROUICHE.L

MCA

Présidente

Dr SAYAD. M

MCB

Examinatrice

Mme ABDUL HUSSAINAS

MCA

Promotrice

Mme AFRIT S K

Intervenante

Co-promotrice

2021 /2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons tous mes remerciements au Mme ABDUL HUSSAIN. A.S ; pour son encadrement et son soutien moral et scientifique, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment.

Nous remercions Mme AFRIT. S pour sa patience, ses encouragements, ses conseils, ses corrections pour mener à bien ce travail.

Nous remercions sincèrement Mme DEROUICHE. L a accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions également le membre du jury : Mme SAYAD. M qui n'a pas hésité à juger ce travail.

Et à tous ceux qui ont aidé à élaborer ce travail : Mes collègues de génétique.

Dédicace



Je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont donné leur amour, leur patience, leur présence et encouragements et qui m'ont aidée dans toute ma vie et mes années d'études

A ma grand-mère et toute ma grande famille Sadok et Chamma

A mes frères abdelhak et aboubakre et ma sœur hadjer

A tous mes chers amis et collègues surtout : sara et nour et yasmine et hadjer et amira et saïda, Merci pour vous étiez toujours là pour m'aider et encourager et merci pour les bons moments que nous avons passés

A tous ceux que j'aime

A mon belle binôme yasmine et sa famille

A toute ma spécialité de génétique 2021-2022, chacun son nom

Dédicace



*Je m'incline devant **Dieu** tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la. Franchir.*

Je dédie ce modeste travail

A la lumière de ma vie et prunelle de mes yeux et mon cœur, ma très chère maman, source d'affection de courage qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour ; j'adore maman.

A mon père, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde à moi.

*Une spéciale dédicace pour mes chers frères : **Mohamed Amine** et **Yassine**.*

A toute ma grande famille Bendoumia et Mokri.

*A mon binôme : **Asma**.*

A tous mes amis : Soumia, Asma, Amina, Hadjer, Amira

A tout ma promotion de génétique 2021-2022, chacun son nom.

Liste des figures

Figure 01 : Représentation de nombre des enfants avec la drépanocytose.....	4
Figure 02 : Physiopathologie de la drépanocytose et facteurs intervenant dans la polymérisation... ..	6
Figure 03 : Formation réversible de filaments tactoïdes en milieu désoxygène.....	7
Figure 04 : Mécanisme de la falciformation des hématies.....	8
Figure 05 : Syndrome mains – pieds.....	9
Figure 06 : La structure de l’hémoglobine.....	11
Figure 07 : Structure et localisation chromosomique des gènes alpha (chromosomique 16) et bêta globine (chromosomique 11)	12
Figure 08 : Organisation des gènes des chaines α – globine.....	12
Figure 09 : Organisation des gènes des chaines β – globine.....	13
Figure 10 : La drépanocytose au niveau du génotype.....	14
Figure 11 : La drépanocytose au phénotype moléculaire.....	14
Figure 12 : Mode de transmission de la drépanocytose.....	15
Figure 13 : Mutation génétique conduisent à la drépanocytose.....	17
Figure 14 : Utilisation de GenBank.....	27
Figure 15 : Tableau de bord de la requête sur NCBI.....	27
Figure 16 : Utilisation de Blast sur le plat forme NCBI.....	28
Figure 17 : Utilisation de Ensembl.....	29
Figure 18 : Utilisation de Swess – model.....	29
Figure 19 : Utilisation de Uniprot.....	31
Figure 20 : Séquence d’ARNm du gène HBB sous format FASTA.....	33
Figure 21 : Les caractéristiques structurales du gène HBB sur le chromosome.....	34

Figure 22 : La position des exons et des introns du gène HBB.....	34
Figure 23 : La structure tridimensionnelle de l'hémoglobine.....	37
Figure 24 : Structure 3D de l'hème sur logiciel Swiss-model.....	38
Figure 25 : Séquence protéique du gène HBB.....	38
Figure 26 : Structure 3D de gène HBB la chaîne bêta globine.....	39
Figure 27 : Alignement des séquences par Anagène.....	41
Figure 28 : Comparaison de séquence nucléotidique d'ADN et d'ARN et peptidiques avec Anagène.....	41
Figure 29 : position de la mutation dans le gène HBB.....	42
Figure 30 : Représentation graphique linéaire de la relation phénotype génotype de HBB...	44
Figure 31 : Représentation graphique linéaire de la relation phénotype de la drépanocytose.	45

Liste des tableaux

Tableau I : Le taux de drépanocytose et du nombre d'habitante pour chaque région de monde.....	4
Tableau II : Risque d'atteinte des enfants en fonction du génotype des parents.....	15
Tableau III : La définition des Différents outils bio-informatiques.....	25
Tableau IV : Séquences étudiés de gène HBB.....	26
Tableau V : Les Résultats de Blast de gène HBB.....	35
Tableau VI : Tableau des pathologies liées à l'hémoglobine bêta HBB.....	40
Tableau VII : Tableau des variants de HBB.....	40
Tableau VIII : Tableau des résultats d'Ensembl.....	43

Sommaire

Introduction	1
Partie I : Rappels Bibliographiques	2
Chapitre I : Généralités	3
1 Définition :	3
2 Historique :	3
3 Epidémiologie :	3
3.1 Dans le monde :	4
3.2 Dans l'Afrique :	5
3.3 Dans l'Algérie :	5
4 Physiopathologie :	6
5 Polymérisation des molécules d'hémoglobine drépanocytaire :	7
5.1 Mécanisme de polymérisation :	7
5.2 Les facteurs modulateurs de polymérisation :	7
5.3 La déformation du globule rouge drépanocytaires :	8
6 Phénotype de la drépanocytose :	8
6.1 Les crises vaso-occlusives :	8
6.1.1 Les facteurs de risque d'une crise vaso-occlusive :	9
6.2 L'anémie :	9
6.3 Le syndrome thoracique aiguë :	9
6.4 Manifestations chroniques :	9
7 Génotype de la drépanocytose :	10
7.1 L'hémoglobine normale :	10
7.1.1 Présentation de l'hémoglobine :	10
7.1.2 La Structure de l'hémoglobine :	10
7.1.3 L'hème :	11
7.1.4 Les gènes de l'hémoglobine :	11
7.1.5 La localisation des gènes de l'hémoglobine :	13
7.1.6 La fonction de l'hémoglobine :	13
7.2 L'hémoglobine drépanocytaire :	14
8 Mode de transmission :	15
9 Classification des syndromes drépanocytaire majeur (SDM) :	16
9.1 Drépanocytose homozygote (malade, individu SS) :	16

9.2	Drépanocytose hétérozygote (porteur sain, individus AS) :.....	16
10	Les mutations de la drépanocytose :.....	16
11	Les complications :.....	17
13	La thérapie génique dans la drépanocytose :.....	17
14	Démarche préventive génétique :.....	18
14.1	Consanguinité :.....	18
	Chapitre II : Etude bio-informatique	19
	Chapitre III : Matériels et Méthodes	24
	Matériels :.....	25
	Méthodes :	26
1.	Utilisation de GeneBank :.....	26
2.	Utilisation de BLAST :	28
3.	Utilisation de Ensembl :.....	28
4.	Utilisation de SWISS-MODEL :.....	29
5.	Utilisation de Uniprot :.....	30
	Chapitre IV : Résultante et discussion	32
	Conclusion.....	46
	Références bibliographiques.....	46

Liste des abréviations

AA : Acide Aminé.

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

AVC : Accident Vasculaire Cérébral.

α : Alpha.

BLAST : Basic Local Aligment search tool.

β : Bêta.

CVO : Crise Vaso-occlusive.

CO : monoxyde de carbone.

EMBL : European Molecular Biologie Laboratory.

GR : Globule Rouge.

Glu : Acide Glutamique.

Hb : Hémoglobine.

HbF : Hémoglobine feotale.

HbS : Hémoglobine drépanocytaire.

HbA : Hémoglobine normale (Hémoglobine Adulte majeur).

HbA₂ : Hémoglobine Adulte mineure.

HBB : gène de la chaine de β globine.

HBA : gène de la chaine de α globine.

HBC : Hémoglobine C

HBD : Hémoglobine D

HBE : Hémoglobine E

HB O-Arabe : Hémoglobine O -Arabe

Kb : Kilo Base.

Leu : leucine.

Lys : lysine.

Met : Methionine

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man COSMIC.

ORF : Open Reading Fram.

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

O₂ : Oxygène.

STA : Syndrome Thoracique aigu.

SCD : Sickle- cell disease.

SDM : Syndrome Drépanocytaire Majeur.

Uniprot : Universal Protein Resource.

Val : Valine.

Résumé

La drépanocytose constitué un véritable problème de santé publique avec les autres maladies hémoglobinopathies. L'objectif de notre étude est de déterminer les caractéristiques génétiques de la drépanocytose. Notre étude base sur la localisation de mutation de gène responsable à la maladie au niveau de leur séquence à l'aide des outils bio-informatiques, tels que BLAST, NCBI, Swess-model, Uniprot, Ensembl.

À travers une petite comparaison entre les résultats sur terrain et les résultats bio-informatique nous avons observés qu'il existe une grande similarité entre les deux résultats. En ce qui concerne le taux de maladie, nous notons qu'il y a une différence et cela est dû à a. Les différentes études, mais ce n'est pas important, c'est-à-dire que les mêmes chiffres peuvent être pris car ils sont proches, elle touche 276000 naissances an dans le monde, et regroupe près de 75% en Afrique, et présente un taux de 1 à 3% en Algérie. Concernant la position de la mutation affectant le gène HBB qui provoque la drépanocytose n'assume pas la même position dans les bases des données et les articles. Cette différenciation due à la prise en considération du codon d'initiation la Met, non tenu en compte dans les articles.

Parmi les articles traités nous avons trouvé dans un article que le taux de chaque hémoglobinopathie chez cent patient est pas stable, sachant que l'hémogramme de malades drépanocytoses (S/S) est comme suivant : le taux de globules rouges ($4,815 \pm 2,95$), le taux d'hémoglobine estimé à ($7,815 \pm 2,95$), le VGM estimé à $59,892 \pm 3,935$ et enfin le TCMH estimé à ($26,5 \pm 1,591$).

À travers cette étude nous avons conclure que les maladies héréditaires des globules rouges et les hémoglobinopathies en générale reste un problème majeur de la santé publique dans le monde et la prise en charge de malades depuis la naissance pour réduire la mortalité infonto-juvénile.

Les mots clés : drépanocytose, hémoglobinopathies, anémie, hémoglobine, bio-informatique.

Abstract

Sickle cell disease is major public health problem with other hemoglobin diseases, the aim of our study was to determine the genetic characteristics of sickle cell disease. The our study, is based on the localization of mutations of responsabl genes at the level of their sequence using bio-informatics tools, such as BLAST, NCBI, Swess-model, Uniprot, Ensembl.

Through a small comparaisn between the field results and the bioinformatics results we observed that there is great similarity between the two results. Regarding the disease rate, we note that there is a difference and this is due to a. The different studies, but it is not important, that is to say that the same figures can be taken because they are close, it affects 276000 births per year in the world, and includes almost 75% in African, and presents a rate of 1 to 3% in Algeria. Regarding the position of the mutation affecting the HBB gene that causes sickle cell disease does not assume the same position in databases and articles. This differentiation due to the consideration of the Met initiation codon, not taken into account in the articles.

The blood count of sickle cell patients (S / S) is as follows : the red blood cells ($4, 815 \pm 2.95$), hemoglobin estimated (7.815 ± 2.95), the VGM estimated $59.892 \pm 3,935$ and finally the MCH estimated at 26.5 ± 1.591 .

Through this study we conclude that inherited diseases of red blood cells and hemoglobin disorders in general is a major problem of public health in the world and the care of patients from birth to reduce infonto mortality.

Keywords : Sickle cell disease, hemogloninopathies, anemia, hemoglobin, bio-informatique

المخلص

يعتبر مرض فقر الدم المنجلي مشكلة حقيقية في الصحة العمومية الى جانب امراض أخرى متعلقة بالخضاب، الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الجينية لمرض فقر الدم المنجلي في الجزائر من خلال دراسة بأثر رجعي. يعتمد على توطين طفرات جيناتنا على مستوى تسلسلها باستخدام أدوات المعلوماتية الحيوية مثل: Ensembl وUniprot وSwess-model وNCBI وBLAST

من خلال مقارنة صغيرة بين النتائج الميدانية ونتائج المعلوماتية الحيوية لاحظنا ان هناك تشابه كبير بين النتيجةين. فيما يتعلق بمعدل المرض، نلاحظ ان هناك فرق وهذا يرجع الي ا. الدراسات المختلفة، ولكن ليس مهما، أي انه يمكن اخذ نفس الأرقام لأنها متقاربة، فهي تؤثر على 276000 مولود سنويا في العالم، وتشمل ما يقرب من 75% في افريقيا، وتقدم معدل 1 الي 3% في الجزائر. فيما يتعلق بموضع الطفرة التي تؤثر على جين HBB الذي يسبب مرض فقر الدم المنجلي، لا يتخذ نفس الموقف في قواعد البيانات والمقالات. هذا التمايز بسبب مراعاة كود بدء Met، ولم يؤخذ في الاعتبار في المقالات.

من بين المقالات التي تمت معالجتها وجدنا في مقال ان معدل كل من اعتلال الهيموغلوبين في مائة مريض غير مستقر، مع العلم ان هيموجرام مرضي فقر الدم المنجلي (S /S) على النحو التالي: عدد خلايا الدم الحمراء $(4,815 \pm 2,95)$ ، وعدد الهيموغلوبين المقدر $(7,815 \pm 2,95)$ ، و MCV المقدر بـ 59,892 $\pm 3,935$ وأخيرا TCMH المقدر بـ $(26,5 \pm 1,591)$.

من خلال هذه الدراسة نستخلص بان الأمراض الوراثية لكريات الدم الحمراء والخضاب خاصة تبقى مشكلة حقيقية للصحة العمومية في كل دول العالم والتكفل بالمرضى يكون مند الولادة وهذا قصد الحد من وفيات الأطفال.

الكلمات المفتاحية: فقر الدم المنجلي، خضاب الدم، الانيميا، الهيموغلوبين، المعلوماتية الحيوية.

Introduction

La drépanocytose est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive, caractérisée par la présence d'une hémoglobine anormale HbS dans le sang. C'est la maladie génétique la plus fréquente au monde affectant plus de 300 000 nouveau-nés chaque année. (33)

La drépanocytose, aussi appelée anémie falciforme, est une maladie héréditaire touchant l'hémoglobine des globules rouges. Chez les personnes atteintes, l'hémoglobine est anormale. Quand la concentration en oxygène dans le sang diminue, elle déforme les GR qui prennent alors la forme de faucilles, au lieu d'être biconcaves. Il en résulte plusieurs symptômes caractéristiques de la maladie dont les plus courants sont une anémie chronique, des crises douloureuses vaso-occlusives et une sensibilité plus importante aux infections. Cette maladie génétique est très répandue dans le monde. Apparue indépendamment en Afrique et en Inde, elle touche tout particulièrement les populations de ces régions. La drépanocytose est due à la mutation d'un gène localisé sur le chromosome 11, codant pour un des deux types de protéines qui forment l'hémoglobine : la β -globine (2)

D'abord confinée dans des territoires d'endémie palustre en Afrique, dans le sud-est asiatique et dans le bassin méditerranéen, cette maladie était disséminée dans d'autres régions en raison de déplacements de populations, et notamment au cours des flux migratoires en Europe de l'Ouest où elles constituent un réel problème de santé publique.

Le seul traitement curatif est la greffe de moelle. Ceci est impraticable actuellement en Afrique sub-saharienne.

Dans le cadre d'un conseil génétique, lorsqu'est détectée une anomalie de l'hémoglobine chez un parent, il est important que l'autre parent soit examiné.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher certaines anomalies de l'hémoglobine les plus fréquentes dans différentes populations, à travers une petite étude rétrospective, et l'utilisation de quelques bases des données de la bio-informatique.

Dans la première partie de ce travail, nous présentons un bref rappel sur la drépanocytose dans son ensemble (définition, épidémiologie, la génétique, la physiopathologie). La seconde partie rapporte les méthodes des bases des données utilisées, et les résultats obtenus avec leur discussion.

Partie I : Rappels Bibliographiques

Chapitre I : Généralités

1 Définition :

La drépanocytose est la maladie génétique monogénique la plus fréquemment signalée dans le monde (5) Elle résulte d'une mutation ponctuelle du 6^{ème} codon du gène de la β globine qui entraîne une polymérisation de l'hémoglobine mutée (H β S) en situation désoxygénée, l'HbS est à l'origine de l'hémolyse et des phénomènes vaso-occlusifs (6) Cette mutation à l'origine d'une modification structurale et fonctionnelle de l'hémoglobine (changement de conformation, polymérisation et modification de la propriété du transport d'oxygène). Le résultat est une malformation de la structure de la forme des globules rouges (en forme de croissant ou de faucille) (48).

2 Historique :

En 1910 le Dr James Herrick, médecine cardiologue à Chicago (Etats-Unis) a décrit dans une de ses publications chez un patient africain un syndrome encore inconnu jusqu' à lors. Ce syndrome était caractérisé par une anémie sévère liée à une forme particulière d'érythrocyte ressemblant à la faucille (7).

En 1917 Emmel a démontré que dans une situation d'hypoxie les hématies du sujet drépanocytaire se transforment en faucille. Plus tard il a été démontré que la falciformation n'apparaissait que lorsque la pression partielle en oxygène était inférieure à 45mm Hg dans le sang. la drépanocytose fut décrite pour la première fois en Afrique au Camerone en 1943 (7).

La différence de trace électrophorétique entre l'hémoglobine drépanocytaire (S) et l'hémoglobine A de l'adulte normal été mise en évidence en 1949 (7).

En 1957 Ingram découvre la mutation génétique de l'hémoglobine drépanocytaire. Le dépistage néonatal a été rendu possible à partir de 1980 (7).

Le diagnostic prénatal de la drépanocytose à partir de la PCR (Polymérase Chain Réaction) fut possible au début des années 1990 ; de même que les premiers essais de thérapie génique (7).

3 Epidémiologie :

Les principales régions ont risqué pour la drépanocytose sont certains départements d'outre-mer, tous les pays d'Afrique subsaharienne, l'Amérique du sud (Brésil, surtout), l'Amérique du Nord pour les sujets de race noire, l'océan indien et pourtour Méditerranéen (40).

La drépanocytose est présente dans tous les pays d'émigration des populations noires, notamment aux USA, aux Antilles, en France, en Belgique, en Angleterre etc. Elle est également retrouvée dans le bassin méditerranéen (Maghreb, Europe du Sud) au Moyen- Orient (Arabie saoudite), en Inde (40).

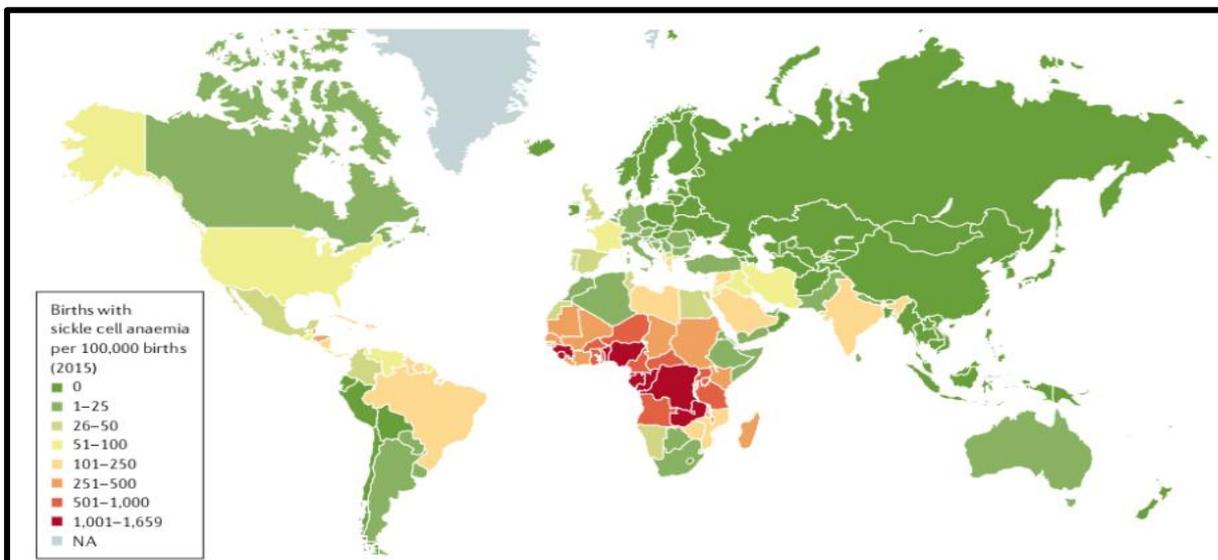


Figure 01 : Représentation de nombre des enfants avec la drépanocytose (17)

3.1 Dans le monde :

La drépanocytose fait partie des maladies acquises dès la naissance. Elle touche 276000 naissances par an et concerne principalement l'Afrique avec 233000 nouveaux cas par an soit 10,68/1000 nouveau- nés et à un plus faible niveau le proche et Moyen-Orient (0,84/1000) et l'Asie équatoriale (0,68/1000) (4).

Tableau I : Le taux de drépanocytose et du nombre d'habitante pour chaque région de monde (4).

Région du monde	Population (millions)	Naissance annuelle (Millions)	Naissance drépanocytaire (pour 1000 naissances)
Afrique	586	22895	10 ,68
Amérique	853	16609	0,49
Proche et Moyen Orient	573	16798	0,84
Europe	879	10459	0,07
Asie	1564	38139	0,68
Asie pacifique et Océanie	1761	23914	0,00
Monde	6217	128814	2,28

3.2 En Afrique :

La drépanocytose existe essentiellement chez les populations noires. Cependant, elle n'est pas exclusive de ces populations, des cas ayant été décrits chez d'authentiques caucasiens, des populations arabes, etc...(40)

Il a été décrit une ceinture cyclémique ou « sickle belt » qui s'étend en Afrique, du sud du Sahara au Nord du Zambèze, selon une aire comprise entre le 15^e parallèle, latitude de Nord et le 20^e parallèle, latitude Sud (40).

La prévalence du gène de la drépanocytose en Afrique Varie de 10 à 40 %. Elle est de 5 à 20 % en Afrique de l'ouest (1, 75 % au Burkina Faso, 6 à 16 % au Mali, 7 à 8 % en Mauritanie, 8 à 24 % au Niger) et de 9 à 10 % à Madagascar (40).

L'Afrique subsaharienne, reste la partie du continent la plus touchée ; la fréquence des porteurs du trait drépanocytaire est variable et peut atteindre 40 % au sein de certaine population Africaine ; cette fréquence augmente de l'ouest à l'Est, du Nord au Sud de l'Afrique. Ainsi le trait drépanocytaire passe de 15 % au Sénégal à plus de 40 % en Afrique centrale (24)

Au Maghreb, la prévalence du trait drépanocytaire est estimée entre 1 à 2 % de la population générale, avec des prévalences différentes d'un pays à l'autre, et un maximum au niveau de l'Est Algérien et le Nord de la Tunisie ; ou elle atteint à la naissance entre 0,04 et 0,02 % (35)

3.3 En Algérie :

Les syndromes drépanocytaires majeurs sont fréquents dans la région Nord-Est du pays, posant un important problème de santé publique (36).

Au 1^{er} juin 2019, un total de 2191 patients de atteints de SDM est colligé. L'âge moyen actuel des drépanocytaires majeurs est de 29,41 ans, avec des extrêmes de [06-69 ans] et la sex-ratio est de 0,86 (36).

L'origine géographique des patients est variable, 78 % sont originaire de l'Est du pays, 21% du centre et 0,86% de l'Ouest. La forme homozygote prédomine (60% soit 1315 patients), suivie de la drépanocytose composite S/B Thalassémie (31 % : 680 pts) et de la double hétérozygotie S /C (9 % : 197 pts) (36).

Le trait drépanocytaire est de 1% en Algérie ; Il existe des foyers à l'Est : Annaba, taraf, Skikda et au sud : Touggourt, Ouargla ou le trait drépanocytaire peut atteindre un taux de 3%. (36)

4 Physiopathologie :

La mutation sur le codon 6 du gène de la β -globine conduit au remplacement de l'acide glutamique hydrophile par une valine hydrophobe qui est responsable d'un changement de conformation de l'hémoglobine mutée (HbS) en situation de désoxygénation. Un polymère se forme et s'allonge provoquant la déformation caractéristique des globules rouges en forme de faucille (falciformation). La polymérisation de HbS dépend de l'importance de la désoxygénation, de la composition de l'hémoglobine (la présence d'hémoglobine fœtale (HbF) diminue la polymérisation), de la température, de l'équilibre ionique, du PH du globule rouge. La formation de ces grandes fibres de polymères entraîne une cascade d'autres anomalies cellulaires qui participent du mécanisme physiopathologique : dérégulation de l'homéostasie des cations, libération de Fe^{3+} responsable d'un microenvironnement oxydant, exposition anormale des phosphatidylsérines à la surface des GR favorisant l'activation de la coagulation (26).

Ces différents phénomènes sont responsables de l'anémie hémolytique et d'une perte de déformabilité des GR. Les différents événements évoqués ci-dessus s'ils rendent bien compte de la physiopathologie de la maladie, n'expliquent pas le déclenchement de la crise vaso-occlusive (CVO) (26).

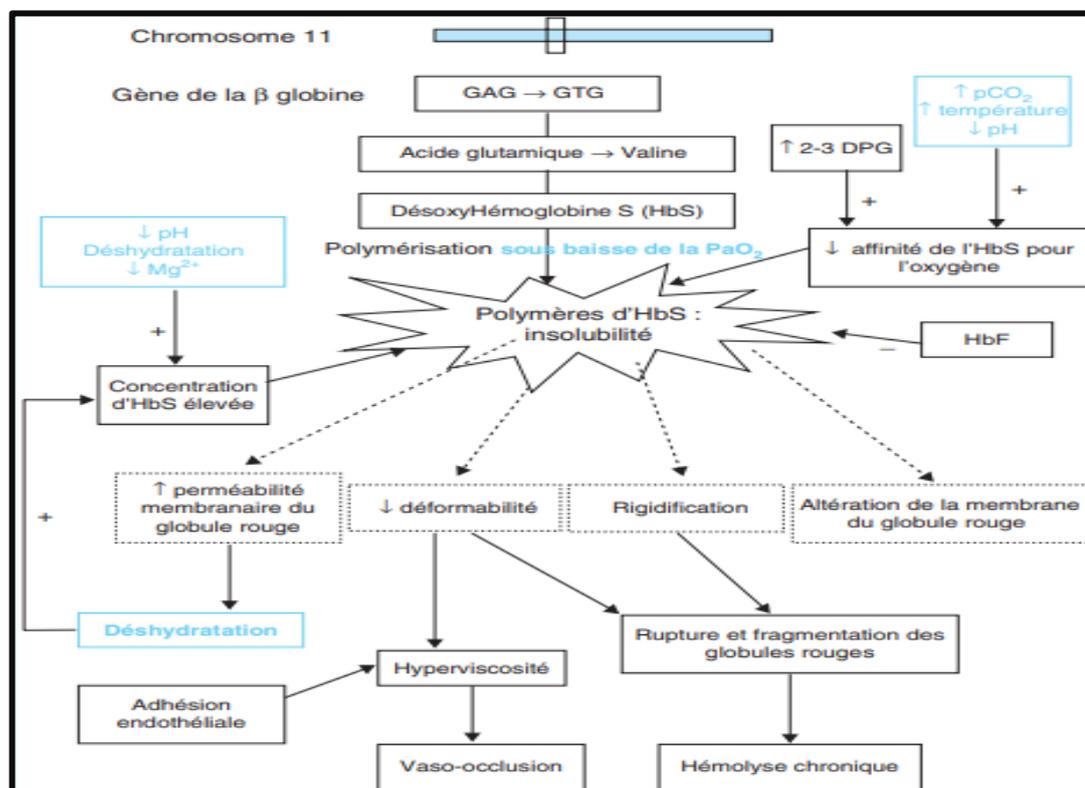


Figure 02 : physiopathologie de la drépanocytose et facteurs intervenant dans la polymérisation (15).

5 Polymérisation des molécules d'hémoglobine drépanocytaire :

5.1 Mécanisme de polymérisation :

Les 270 millions de molécules d'Hb contenues dans chaque GR sont pratiquement en contact les unes avec les autres, certaines forces répulsives localisées à leur surface les empêchant de se polymériser (40).

Cette solubilité est modifiée par un ensemble d'interactions hydrophobes lors de la substitution Glu par Val en position 6 de la chaîne β . Ce remplacement modifie le rapport aussi bien entre les sous-unités de l'Hb qu'entre deux molécules d'Hb voisines (40).

Cette substitution suffit donc pour rompre l'équilibre et amorcer une cristallisation en milieu désoxygéné. On observe alors une gélification du contenu cellulaire, des cristaux allongés en formes d'aiguille longue de 1 à 15 microns se forment, ce sont des tactoïdes. (40)

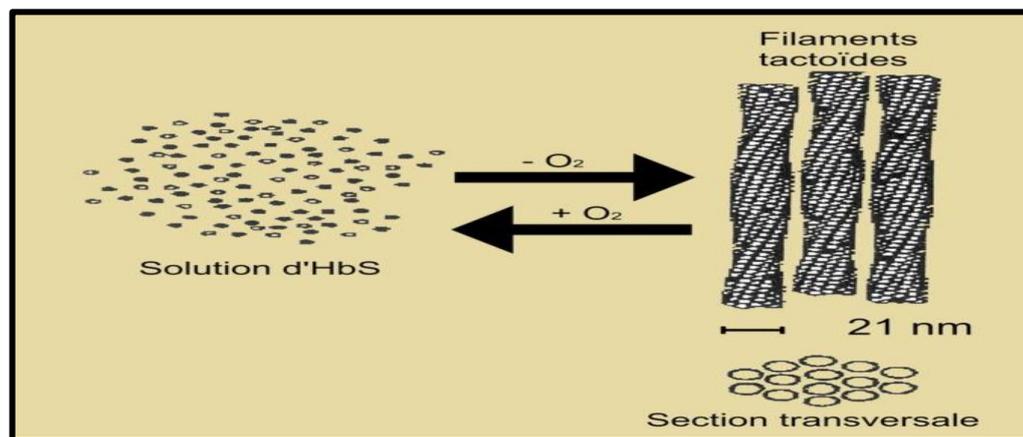


Figure 03 : formation réversible de filaments tactoïdes en milieu désoxygéné (40)

5.2 Les facteurs modulateurs de polymérisation :

La formation de polymères d'HbS à l'intérieur des érythrocytes a de nombreuses conséquences :

- Réduction de la déformation globulaire.
- Augmentation de la rigidité des GR favorisant leur accumulation dans la microcirculation.
- Augmentation de la viscosité sanguine.
- Rupteur et fragmentation des érythrocytes.
- Augmentation de la perméabilité cationique du GR induisant sa déshydratation.

(27)

5.3 La déformation du globule rouge drépanocytaires :

La polymérisation des molécules d'hémoglobine S dans leur configuration désoxygénée provoque la formation intracellulaire de longues fibres allongées. La formation de ces fibres entraîne une modification de forme de globule rouge qui acquiert un aspect en « faucille » : le drépanocyte (21).

La concentration en hémoglobine peut être supérieure à 40 g/dl. Le phénomène de falciformation est réversible pendant plusieurs cycles jusqu'à la fixation définitive de la cellule sous la forme d'un drépanocyte irréversible (21).

Les principales anomalies rhéologiques caractérisant la drépanocytose sont une augmentation constante de la viscosité du sang et une diminution de la déformabilité cellulaire. Ces deux phénomènes sont très dépendants de l'hématocrite. (21)

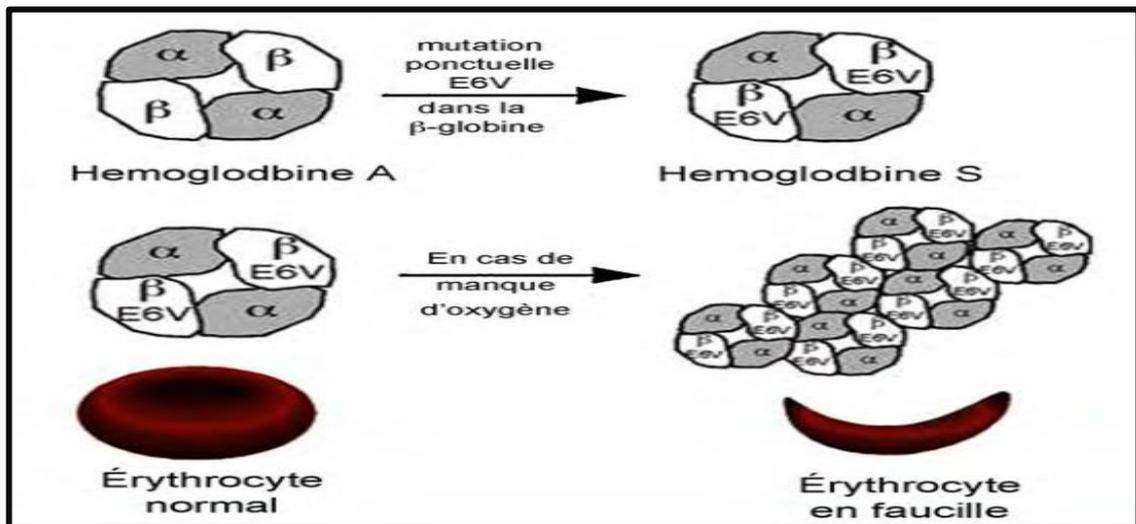


Figure 04 : mécanisme de la falciformation des hématies (3)

6 Phénotype de la drépanocytose :

6.1 Les crises vaso-occlusives :

Les CVO osseuses se manifestent par des douleurs osseuses très intenses affectant la métaphyse et la diaphyse des os longs. Il s'agit de l'évènement aigu le plus fréquent chez les patients drépanocytaires. La durée de la crise est variée de quelques heures à plusieurs jours (environ 7 jours chez l'adulte hospitalisé). Il peut exister des CVO abdominales, chez l'adulte par contre cette manifestation est exceptionnelle. (26) Le syndrome main-pied chez l'enfant de moins de 2 ans (ou dactylite) est aussi une conséquence de la CVO. Elle se caractérise par un œdème inflammatoire des extrémités avec douleur, dommages osseux et dommages musculaires ou tendineux (4).



Figure 05 : Syndrome mains-pieds (41)

6.1.1 Les facteurs de risque d'une crise vaso-occlusive :

Les facteurs de risque sont multiples. Ils comprennent les facteurs environnementaux tels que le climat, la qualité de l'air, l'exposition au tabac, la haute altitude ainsi que des facteurs socio-économiques, le milieu familial, l'usage des drogues, les multiples infections, etc.(32)

6.2 L'anémie :

L'anémie est définie comme étant une diminution de la quantité d'hémoglobine dans le sang. Elle se traduit par une fatigue excessive et une sensation de faiblesse générale. L'anémie drépanocytaire peut être de deux types différents :

- Une anémie hémolytique régénérative secondaire à la CVO.
- Une anémie arégénérative suite à une infection par le parvovirus B19.

L'anémie la plus courante est l'hémolytique. Elle se caractérise par un taux d'hémoglobine circulante de 2g/dl inférieur à la normale (13 à 17g/dl pour un homme). (4)

6.3 Le syndrome thoracique aiguë :

Le syndrome thoracique aiguë est la principale cause de mortalité chez les patients drépanocytaires ayant accès à un traitement. Cela se définit par la présence d'un infiltrat radiologique pulmonaire. Elle est généralement associée à des symptômes respiratoires tels que la dyspnée et la toux, mais également des douleurs thoraciques et de fièvre. (4)

6.4 Manifestations chroniques :

Ils sont nombreux, variés (neurosensorielles, rénales, cardio-pulmonaire, hépatopathies, lithiases vésiculaires, ulcères cutanés, ostéonécroses...) et peuvent mettre en cause le pronostic vital et fonctionnel. Les plus sévères : vasculopathie cérébrale, rétinopathie, atteinte cardio-pulmonaire (26).

7 Génotype de la drépanocytose :

7.1 L'hémoglobine normale :

7.1.1 Présentation de l'hémoglobine :

L'hémoglobine est une protéine, qui permet aux érythrocytes de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus. Un érythrocyte normal contient 640 millions de molécules d'hémoglobine qui confère au sang sa couleur rouge. (44)

7.1.2 La Structure de l'hémoglobine :

L'hémoglobine est un tétramère possédant une structure quaternaire caractéristique de nombreuses protéines à sous-unités globulaires. La plupart de ses résidus d'acide aminé sont engagés dans des hélices α reliées entre elles par des segments non hélicoïdaux (2).

Les sections hélicoïdales sont stabilisées par des liaisons hydrogène qui confèrent à la protéine sa structure tridimensionnelle caractéristique ; appelée repliement globine car on le retrouve également dans d'autres globines à groupe prosthétique hémique telles que la myoglobine (2).

Ce repliement caractéristique présente une cavité dans laquelle est étroitement insérée une molécule d'hème constituant le groupe prosthétique de la protéine, l'hémoglobine contient donc une molécule d'hème par sous-unité. Chez l'homme adulte ; le type d'hémoglobine le plus courant est l'hémoglobine A, constituée de deux sous-unités α et deux sous-unités β , formées chacune de 141 et 146 résidus d'acides aminés respectivement. Cette structure est symbolisée par $\alpha_2\beta_2$. Chacune a une masse moléculaire d'environ 16 K DA, soit 64 K Da ($64\,458\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) pour la protéine complète. Chez l'enfant ; l'hémoglobine principale est dite hémoglobine F (fœtale), de formule $\alpha_2\gamma_2$; la chaîne γ étant progressivement remplacée par des chaînes β au cours de la croissance (Figure 06) (2)

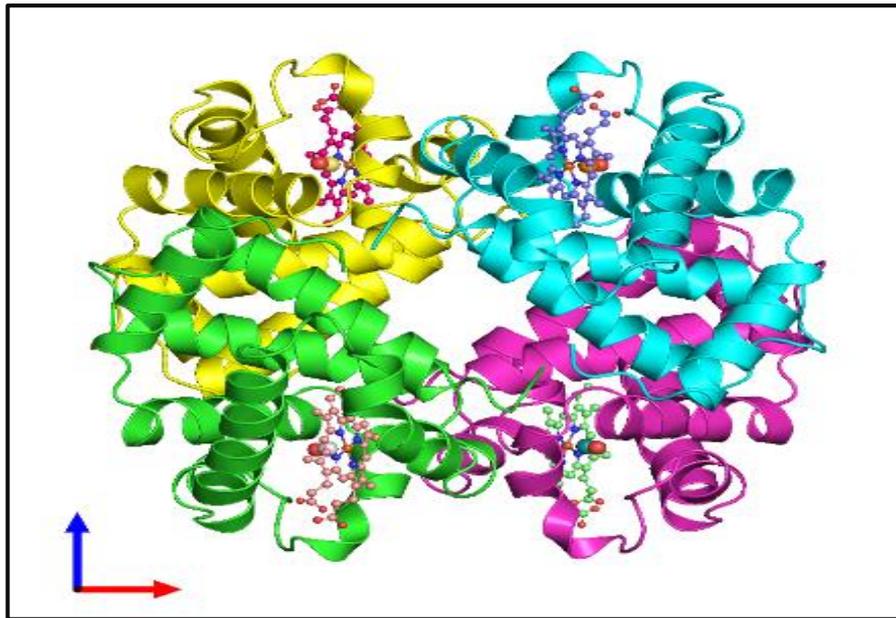


Figure 06 : la structure de l'hémoglobine (12)

7.1.3 L'hème :

C'est une molécule associant un atome de Fer à l'état ferreux et une protoporphyrine. La protoporphyrine est un anneau tétra pyrrolique comportant des radicaux fixés de manière asymétrique : quatre radicaux méthyles ($-\text{CH}_3$) en positions 1,3,5,8, deux radicaux propanoïques ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) en 6 et 7. Le Fer est relié par quatre valences à l'azote des noyaux pyrroles. La synthèse de l'hème est réalisée à partir de la glycine et de l'acide succinique. La combinaison d'une molécule de glycine et d'une molécule l'acide succinique aboutit à la formation d'une molécule d'acide delta-amino - lévulinique (Ala) sous l'action d'une enzyme, la ALA synthétase, en présence de vitamine B6, la condensation de deux molécules cyclique pentagonale (28)

7.1.4 Les gènes de l'hémoglobine :

L'hémoglobine, principale protéine contenue dans les globules rouges. Elle comprend une partie non protéique, l'hème, et une partie protéique, la globine dont il existe deux grands types : les chaînes de type α codées par un ensemble de gènes au niveau du chromosome 16 et les chaînes de type β codées par les gènes du β -globine sur le chromosome 11(16)

Les gènes de globine comportent trois zones codantes (exons) séparées par deux zones non-codantes (introns). Il existe également des zones non-codantes situées en 3' et 5' du gène. Les introns (IVS) débutent classiquement par une séquence GT et se terminent par une séquence AG. Un promoteur est situé en 5' de la région transcrite du gène. Cette zone implique dans la

fixation de l'ARN polymérase comporte les séquences qui se situent à une trentaine de nucléotides du site codant pour la coiffe (27).

Il existe également des séquences activatrices (enhancers) et inhibitrices (silencers) régulant le niveau d'expression des gènes au cours de l'évolution. La séquence AATAA ; en 3' serait le signal de terminaison pour la polymérase ou un site de reconnaissance pour la poly-adénylation. Des séquences de spécificité tissulaire, appelées LCR (locus control région) sont situées en 5' à distance du complexe β et α elles permettent une expression efficace et coordonnée des gènes qu'elles contrôlent (14) (27)

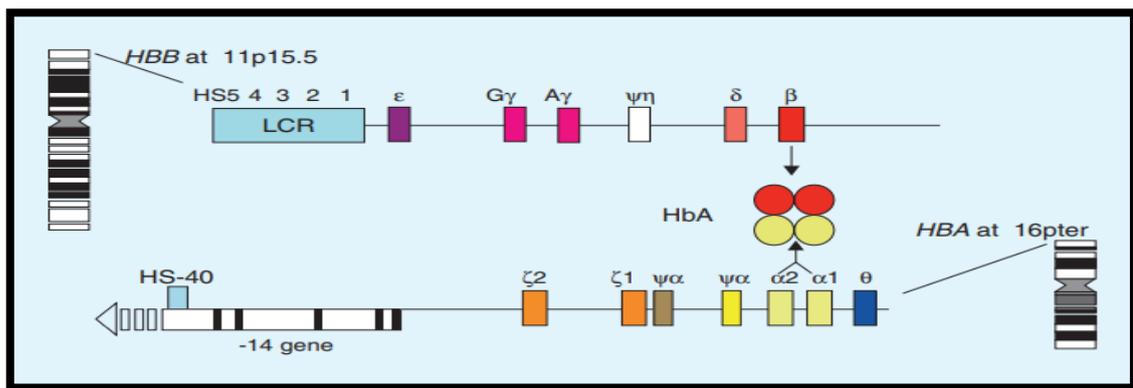


Figure 07 : structure et localisation chromosomique des gènes alpha (chromosomique 16) et bêta globine (chromosomique 11) (16)

7.1.4.1 La famille des gènes des chaînes α -globine :

La famille de type α codées par un ensemble de gènes au niveau du chromosome 16 où elle occupe environ 30 Kb. La famille α comprend 8 gènes dont seulement 4 sont exprimés : ζ_2 et ζ_1 en 5' du cluster et α_2 et α_1 en 3'. Les gènes $\psi\alpha_2$ et $\psi\alpha_1$ sont des pseudogènes non transcrits issus de la duplication de gènes alpha fonctionnels tandis que le gène θ , localisé en 3' du cluster α -globine, est transcrit mais non traduit (16)

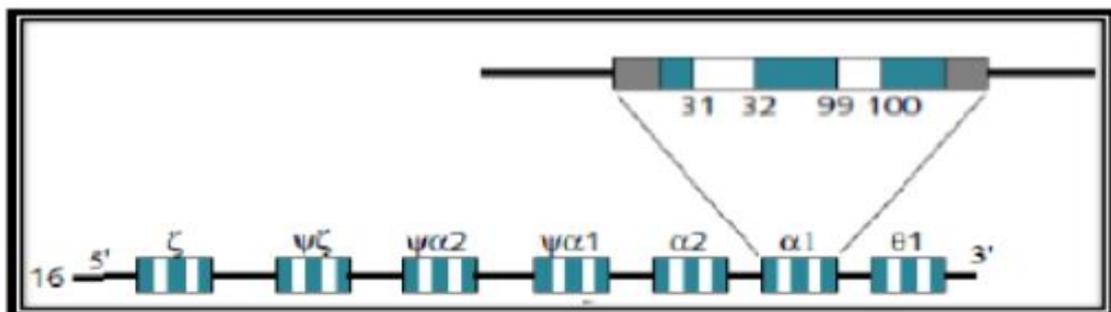


Figure 08 : Organisation des gènes des chaînes α -globine (11)

7.1.4.2 La famille des gènes des chaînes β -globine :

La famille de type β codées par les gènes du cluster β -globine sur le chromosome 11 s'étend, elle, sur environ 45 Kb. La famille β comprend seulement 6 gènes dont 5 sont exprimés : ϵ le gène de la chaîne embryonnaire, qui est suivi par les deux gènes des chaînes fœtales γ (γ^G et γ^A), puis par les deux gènes des chaînes adultes δ , β . Seul le gène $\psi\beta$ est un pseudogène non codant (16)

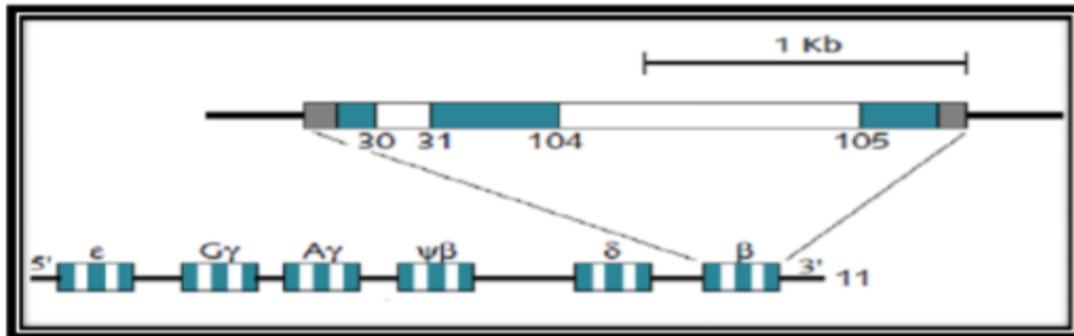


Figure 09 : Organisation des gènes des chaînes β -globine (11)

7.1.5 La localisation des gènes de l'hémoglobine :

Les gènes de la famille α sont localisés près de l'extrémité télomérique du bras court du chromosome 16 (16 p ter), et ceux de la famille β sur le bras court du chromosome 11 (11 p15.5). La différence principale que l'on peut noter entre ces deux systèmes de synthèse est que le cluster α -globine ne subit qu'une seule commutation pendant le développement (de ζ vers α) alors le cluster β en subit deux (de ϵ vers γ pendant la vie embryonnaire puis de γ vers β peu après la naissance) (16)

7.1.6 La fonction de l'hémoglobine :

7.1.6.1 Transport de l'oxygène (oxygénation des tissus) :

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Les globules rouges, constitués pour 33% de leur poids par l'hémoglobine, sont à l'origine du pouvoir oxyphorique du sang. Ainsi chez l'homme, avec un taux normal de 14 à 15 g/dl d'hémoglobine, la capacité de transport d'un décilitre de sang est d'environ 20 ml d'oxygène (49)

7.1.6.2 Transport de dioxyde de carbone (CO₂) :

En plus du transport d'O₂ des poumons aux tissus, l'Hb peut aussi se combiner aux substances suivantes :

- Dioxyde de carbone. L'Hb facilite le transport du CO₂ par le sang des tissus vers les poumons ;

- Ions hydrogène (H^+) qui sont la composante acide de l'acide carbonique ionisé généré dans les tissus par hydratation du CO_2 .
- Le monoxyde de carbone (CO). Ce gaz n'est pas normalement présent dans le sang.

Quand il est inhalé il occupe de façon préférentielle les sites accepteurs de l' O_2 de l'Hb qui devient impropre au transport d' O_2 (43).

7.2 L'hémoglobine drépanocytaire :

La drépanocytose est due à la mutation du gène qui code pour la chaîne bêta de l'hémoglobine et porté sur le chromosome 11p15.5(Figure10) (13).

Cette mutation provoque un remplacement d'un nucléotide A par un nucléotide T qui implique un changement de l'acide aminé en sixième position sur la protéine de l'hémoglobine : l'acide glutamique est substitué par une valine (Figure11). L'hémoglobine qui résulte de cette substitution, appelée HbS, se condense sous forme de fibres puis, l'insolubilité de cette forme désoxygénée induit une cristallisation simple (13)

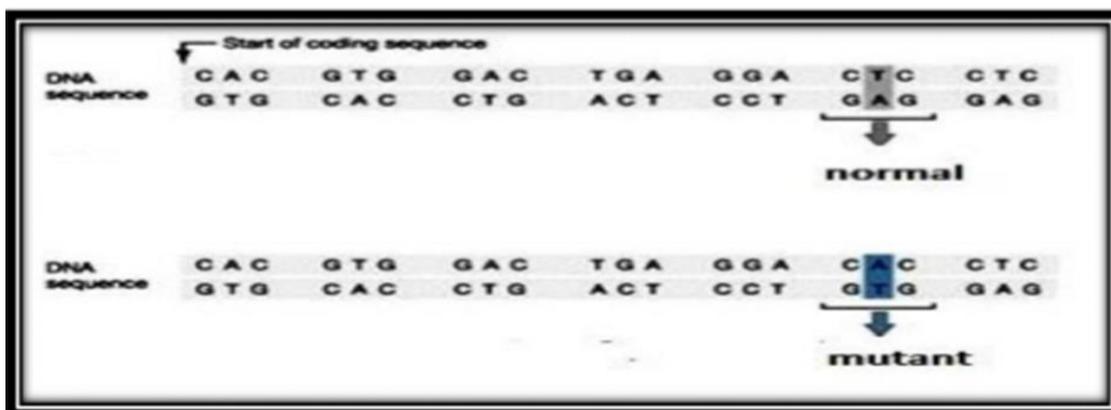


Figure10 : La drépanocytose au niveau du génotype (13)

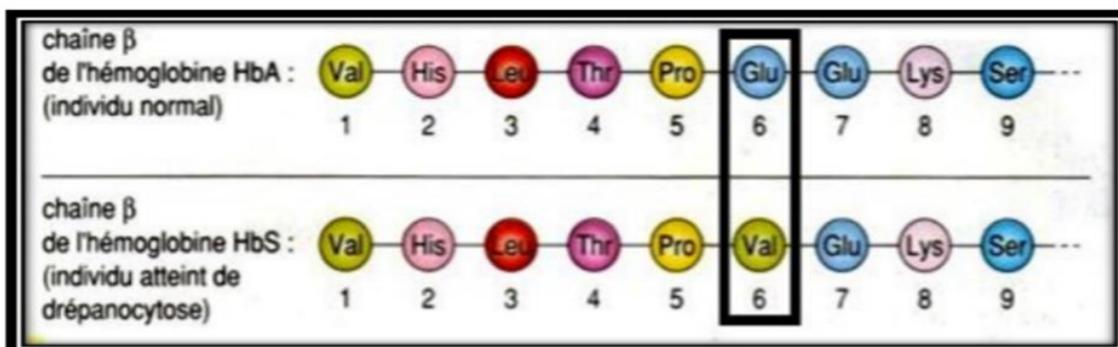


Figure11 : La drépanocytose au phénotype moléculaire (13)

8 Mode de transmission :

La drépanocytose est une affection génétique qui se transmet selon le mode autosomique récessif. Les individus homozygotes pour le gène βS sont désignés SS (sont considérés comme malades). Ainsi dans un couple de sujets hétérozygotes (AS), à chaque grossesse, la probabilité de naissance d'un enfant homozygote SS est de 25 %, celle d'un homozygote AA de 25 % et celle d'un hétérozygote AS de 50%. La maladie drépanocytaire n'apparaît que lorsqu'un individu est homozygote pour le gène drépanocytaire (48)

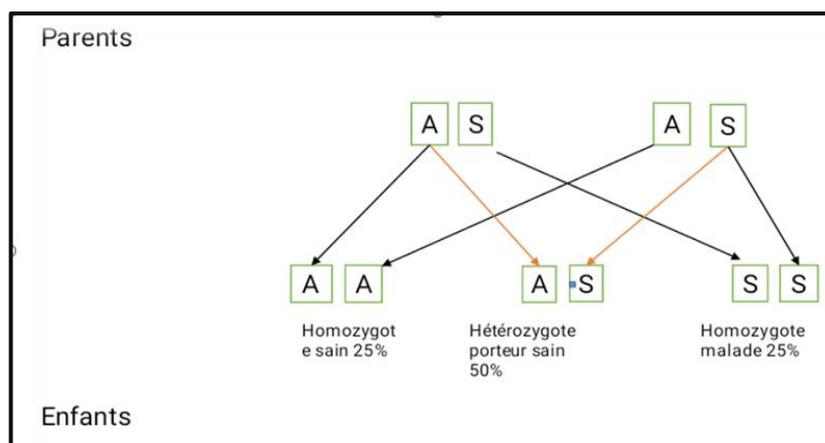


Figure12 : Mode de transmission de la drépanocytose (19)

A/A : Sujet sain non porteur (homozygote)

A/S : Sujet porteur du gène S (hétérozygote)

S/S : Sujet drépanocytaire (homozygote)

L'allèle S étant l'allèle malade et l'allèle A étant sain (48).

Tableau II : Risque d'atteinte des enfants en fonction du génotype des parents (35)

Père → / Mère ↓	AA	AS	SS
AA	AA = 100%	AA = 50% AS = 50%	AS = 100%
AS	AA = 50% AS = 50%	AA = 25% SS = 25% AS = 50%	AS = 50% SS = 50%
SS	AS = 100%	AS = 50% SS = 50%	SS = 100%

9 Classification des syndromes drépanocytaire majeur (SDM) :

9.1 Drépanocytose homozygote (malade, individu SS) :

Lorsque les deux gènes sont mutés, la double mutation est donc la forme SS et représente la cause principale des SDM. L'électrophorèse de l'hémoglobine du sujet homozygote ou la chromatographie liquide mettent en évidence la présence d'HbS, d'HbF, d'HbA₂ et l'absence totale d'HbA (34)(1)

9.2 Drépanocytose hétérozygote (porteur sain, individus AS) :

Lorsqu'un seul des gènes β de la globine est muté sur la paire de chromosome. Les caractéristiques hématologiques du sang périphérique des patients drépanocytaires hétérozygotes sont identiques à celles du sang normal. La morphologie des hématies est normale et il n'y a pas de drépanocytes en circulation. Cependant, l'électrophorèse de l'hémoglobine montre une fraction majeure d'HbA de 60 à 55 %, une fraction importante d'HbS de 40 à 45 % et enfin une fraction mineure d'Hb A₂ de 2 à 3 % (34) (1)

10 Les mutations de la drépanocytose :

La drépanocytose est due à une seule mutation qui est une substitution au niveau du 6^{ème} codon de la β -globine (Figure 13). Elle est une maladie causée par une HbA anormale appelée HbS. L'anomalie moléculaire responsable de la formation de l'HbS est le remplacement sur la chaîne polypeptidique β de l'HbA, de l'Acide glutamique (hydrophile) en position β 6 par la valine (hydrophobe). La substitution de l'acide glutamique (Glu) par (Val) est provoquée génétiquement par une mutation portant sur un gène codant pour la chaîne β de l'Hb situé sur le chromosome 11 : Il y a remplacement du 2^{ème} nucléotide du codon de Glu (GAG) qui est l'adénine par thymine, transformant ce dernier en (GTG) réalisant ainsi la mutation : (GAG→GTG) qui détermine le gène de la drépanocytose β S. Cette substitution d'une chaîne latérale apolaire à une chaîne polaire modifie la configuration spatiale de la molécule d'Hb et induit des propriétés physicochimiques spécifiques de l'HbS telle la diminution de la solubilité, la polymérisation de la forme désoxygénée de cette Hb etc... Ces propriétés anormales conduisent à la formation des précipités fibreux qui déforment les globules rouges et lui donnent la forme de faucille ou de croissant. La destruction des hématies qui en résulte produit une anémie hémolytique chronique. La mutation de la drépanocytose est parfois associée à des mutations responsables à d'autres maladies de l'hémoglobine comme la β -thalassémie (48)

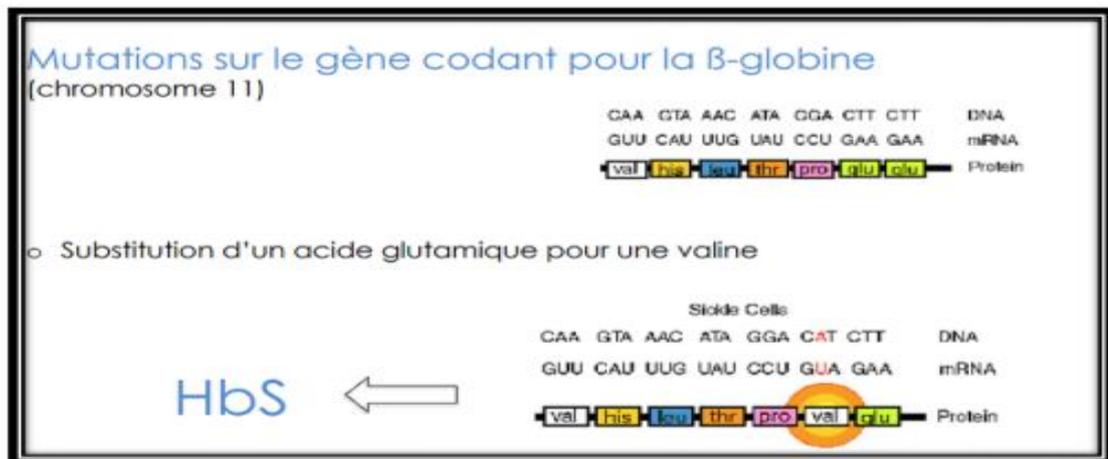


Figure 13 : Mutation génétique conduisant à la drépanocytose (48)

11 Les complications :

Les complications de cette maladie sont multiples et peuvent affecter la quasi-totalité des organes. (37) (47) Ses complications peuvent être chronique : tels une hypertension artérielle pulmonaire, une nécrose osseuse avasculaire, une néphropathie chronique, un problème cardiaque, ou bien aiguë : tels un syndrome thoracique aigu (STA), un accident vasculaire cérébral, un priapisme. Le STA et l'hypertension pulmonaire sont les plus répandues, ce qui traduit par le taux de mortalité le plus élevé au sein de cette population. (25) (47)

12 La thérapie génique dans la drépanocytose :

La thérapie génique, contrairement à l'injection de protéines recombinantes, est un traitement curatif des maladies génétiques. Cette méthode vise à corriger les mutations de l'ADN ou à modifier l'expression du gène impliqué. Pour ce faire, des acides nucléiques (ADN ou ARN) sont délivrés dans les cellules porteuses de l'anomalie. Elle a pour objectif de produire les protéines fonctionnelles en modifiant le génome. (4)

La stratégie adoptée consiste à transférer ex vivo des gènes vers des cellules souches hématopoïétiques. Le gène introduit est une variante du gène de l'hémoglobine A, modifié de manière à l'empêcher de se polymériser. Cette modification empêche les contacts latéraux nécessaires à la polymérisation de l'hémoglobine S résiduelle (38).

Dans les premiers essais de thérapie génique ayant conduit à une mutagenèse d'insertion, le vecteur est, dans le cas présent, dérivé d'un lentivirus qui a la capacité de s'insérer au hasard dans les régions de transcription active plutôt qu'à proximité des promoteurs avec un biais en faveur des gènes « dangereux ». De plus, cette deuxième génération de vecteur est caractérisée

par l'inactivation de la région amplificatrice du LTR (long terminal repeat) viral et est, par conséquent, inactive par elle-même, d'où son nom « self-inactive » (38)

Le transfert ex vivo du gène de l'hémoglobine A dans les cellules souches hématopoïétique permet de corriger toutes les complications liées à la polymérisation de l'hémoglobine S et ses conséquences vasculaires. (38)

13 Démarche préventive génétique :

Il est essentiel d'identifier les couples de porteurs d'anomalies de l'hémoglobine qui risquent d'avoir des enfants atteints d'un syndrome drépanocytaire majeur (23).

Toute femme originaire d'une ethnie à risque, en âge de procréer, devrait donc bénéficier d'une recherche d'Hb anormale (essentiellement Hb S) et d'un trait β -thalassémique (23).

Un résultat positif implique alors impérativement l'étude du conjoint. Lorsque les deux partenaires sont porteurs d'Hb S ou d'une association susceptible d'aboutir à un syndrome drépanocytaire majeur, le médecin praticien doit expliquer au couple le risque théorique de 25% d'avoir un enfant atteint et de les orienter vers un généticien (23)

13.1 Consanguinité :

Un conseil génétique doit être proposé aux couples ayant un lien de parenté. Les couples consanguins ont un risque augmenté d'avoir un enfant atteint d'une maladie génétique récessive. En effet, les deux parents sont à risque d'être tous les deux porteurs sains d'une mutation héritée du même ancêtre commun. Une anamnèse familiale aussi précise que possible est indispensable. De plus, le risque de malformations congénitales estimé à 2% pour la population générale est doublé pour un couple consanguin. Un suivi échographique détaillé de la grossesse est important (29) Enfin, certains couples consanguins sont plus à risque pour certaines maladies génétiques en fonction de leur origine géographique et/ou ethnique. Un dépistage spécifique est discuté lors du conseil génétique (18).

Chapitre II : Etude bio- informatique

C'est quoi la bio-informatique ?

La Bio -informatique est une science hybride née de la rencontre entre de la biologie et l'informatique. C'est une branche à part entière de la biologie en plein essor (9) qui est très interdisciplinaire et qui utilise des techniques et des concepts issus de l'informatique, de la statistique, des mathématiques, de la chimie, de la biochimie, de la physique ainsi que la linguistique. Elle associe des données biologiques à des techniques de stockage, de distribution et l'analyse d'information afin de prendre en charge de nombreux domaines de la recherche scientifique, y compris le domaine biomédical (6)

Qu'elle est L'historique de la bio-informatique ?

Le terme de « bio-informatique » date du début des années 80. Cependant, le concept sous-jacent de traitement de l'information biologique est bien plus vieux.

Lorsque le laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL) et le département américain de la santé (NIH) ont créé les banques de données EMBL et GENBANK pour répertorier les séquences d'ADN découvert par les biologistes, quatre ans plus tard, une nouvelle banque généralisée est apparue PIR (Protéine Information Ressource) en USA et Swiss Prot (constituée à l'université de Genève à partir de 1986) (46). En 1985, est eu la création d'un programme d'alignement local de séquences "FASTA". En 1990, programme d'alignement local de séquences "BLAST" (10)

L'apparition de la bio-informatique n'est donc pas une conséquence de la génomique (séquençage d'un génome et son interprétation), mais plutôt une de ses fondations.

Quel est l'objectif de la bio-informatique ?

La Bio -informatique a pour but d'intégrer des données d'origines très diverses pour modéliser les systèmes vivants afin de comprendre et prédire leurs comportements (analyse du génome, modélisation de l'évolution d'une population animale, modélisation moléculaire, reconstruction d'arbres phylogénétiques...). L'informatique est devenue un apport fondamental à la biologie moléculaire. Les moyens informatiques sont utilisés pour le stockage ou la gestion des données mais également pour l'interprétation de ces données (8)

Qu'elles sont les différents outils bio-informatiques ?

- NCBI
- GeneBank
- Ensembl
- Uniprot
- Blast
- FASTA
- Swiss- model

Qu'elle est l'utilité des outils bio-informatique ?

Les outils bio-informatiques permettent :

- La localisation des gènes.
- La prédiction des gènes peut générer des erreurs.
- Les cadres ouvertes de lecture.
- Analyse des séquences protéines.
- Prédiction de la localisation cellulaire.

Matériels & Méthodes

Notre étude a été réalisée au sein de l'université de SAAD DAHLEB BLIDA-1 dans le cadre de la préparation du projet de fin d'étude intitulé « **étude rétrospective des caractéristiques génétiques de la drépanocytose** ».

III. Matériel :

Cette étude a été réalisée grâce à :

- Pc
- Connexion internet
- Bases de données et logiciels bio-informatiques

Tableau III : La définition des différents outils bio-informatiques :

Base de données	Définition
GenBank	Base de données généraliste américaine, elle est construite et distribuée par le centre national pour l'information biotechnologique (NCBI).
BLAST	Il permet de trouver les régions similaires entre deux ou plusieurs séquences de nucléotides ou d'acides aminés et de réaliser un alignement de ces régions homologues.
UniProt	C'est une base de données ouverte, stable et accessible en ligne, elle est issue de la consolidation de l'ensemble des données produites par la communauté scientifique.
Ensemble (EBI)	Est un système bio-informatique d'annotation automatique de génomes. Elle regroupe les annotations provenant de différentes sources.
Swiss model	Est un serveur Web de bio-informatique structurale dédié à la modélisation d'homologie de structures protéiques 3D.

- **Séquences étudiées :**

La séquence du gène HBB : la sous-unité β d'hémoglobine normale, identifiée dans la base de données sur l'ID NC-000011.10

Tableau IV : Séquences étudiées de gène HBB

Séquence	Position	D'accèsion sur NCBI	Variant	ID sur NCBI
Gene HBB	5225464...5227071	NC_000011.10	-	3043
ARNm HBB	1 ... 628	NM_000518.5	-	-
Exon 1	1 ... 142		-	-
Exon 2	143 ... 365		-	-
Exon 3	366 ... 628		-	-
Protéine	51 ... 494	NP_000509.1	-	-

Ce tableau résume la séquence étudiée à travers les différentes bases de données.

III. Méthodes :

III.1. Utilisation de GeneBank :

Principe : Consultée pour récupérer et télécharger la séquence de gène HBB et les séquences des exons. En passant sur un moteur de recherche. (**Figure 16**)

Méthode :

1. Insérer le numéro d'accèsion.
2. Lancer la recherche.

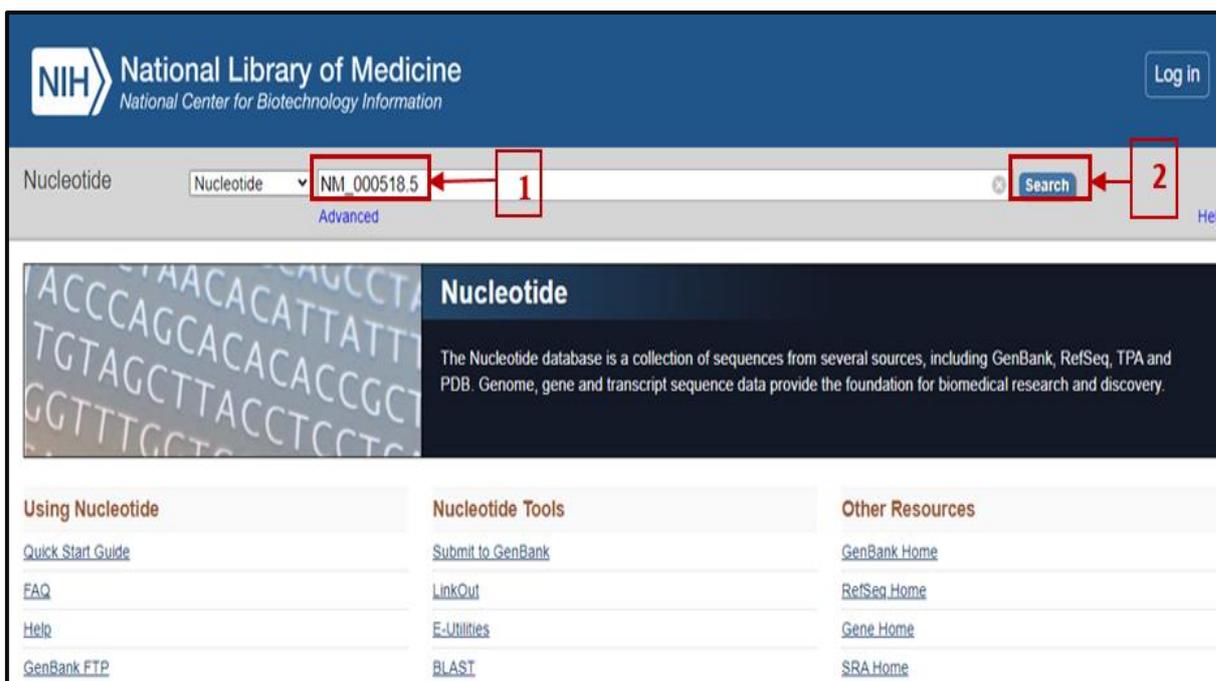


Figure 16 : Utilisation de GenBank (Original, 2022)

- **Téléchargement des séquences :**

Une fois que la recherche de la séquence est lancée sur un plat -forme NCBI, un tableau du bord concernant la requête demandée est affiché sur la page de navigation, d'où on la possibilité de télécharger les séquences sur format Fasta (Figure 17)



Figure 17 : Tableau de bord de la requête sur NCBI (Original, 2022)

III.2. Utilisation de BLAST :

Principe : Le Blast est utilisé pour l'alignement entre les différentes séquences

Nous avons utilisé pour notre étude le BLASTn et le BLASTp.

Méthode :

1. Choisir le type de blast selon le besoin
2. Introduire le numéro d'accèsion ou bien la séquence sous forme FASTA.
3. Choisir la base de comparaison
4. Lance l'algorithme d'alignement

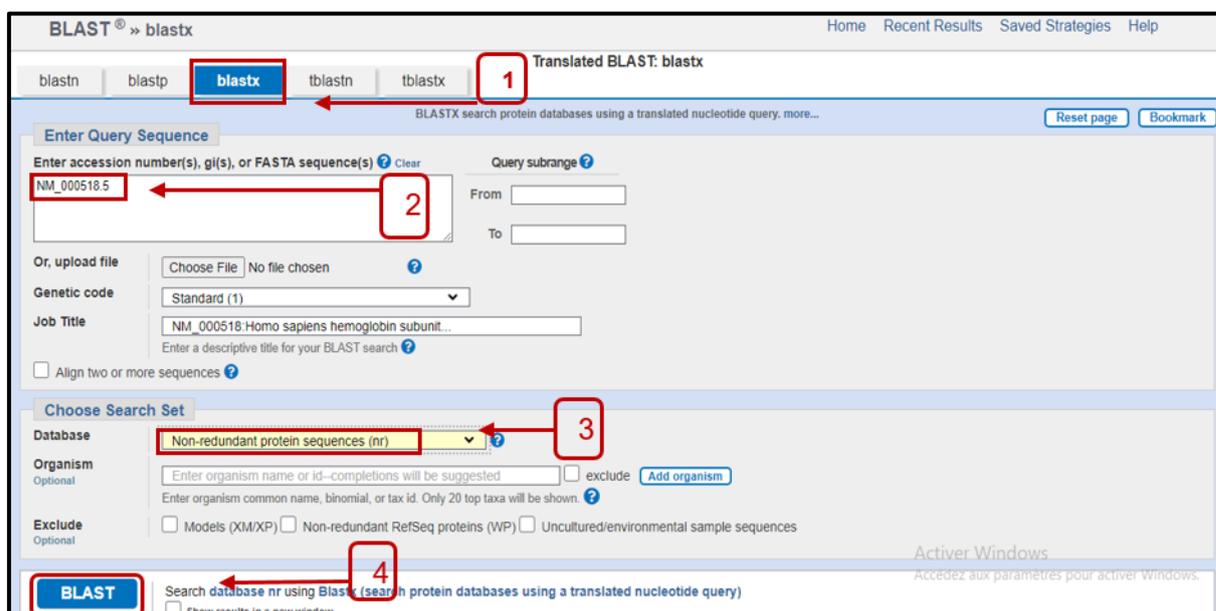


Figure 18 : Utilisation de BLAST sur le plat forme NCBI (Original, 2022)

III.3. Utilisation de Ensembl :

Principe : On utilise cette base de données pour chercher une éventuelle relation entre la structure et la fonction de notre gène, pour cela, on passe sur la page d'accueil de la base de données Ensembl.

Méthode :

- 1 – Choisir l'espèce humain.
- 2 – Insérer le nom de gène.
- 3 – Lancer la recherche.

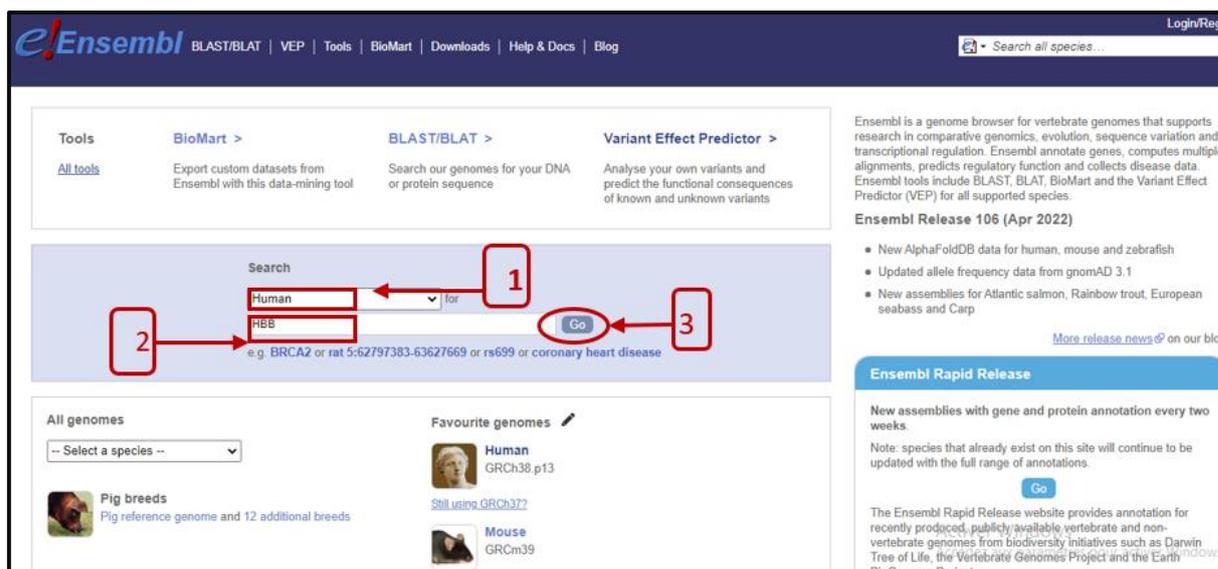


Figure 19 : Utilisation de Ensembl (Original, 2022)

III.4. Utilisation de SWISS-MODEL :

Principe : c'est une base des données spécialisée dans laquelle on retrouve les différentes informations concernant notre requête (structure 3D, séquence protéique, alignement multiple ... etc.) on passe sur la page d'accueil de swiss-port pour commencer la modélisation (**Figure 20**)

Méthode :

1. Insérer la séquence protéique ou bien le nombre d'accèsion.
2. Lancer la recherche de modèle.

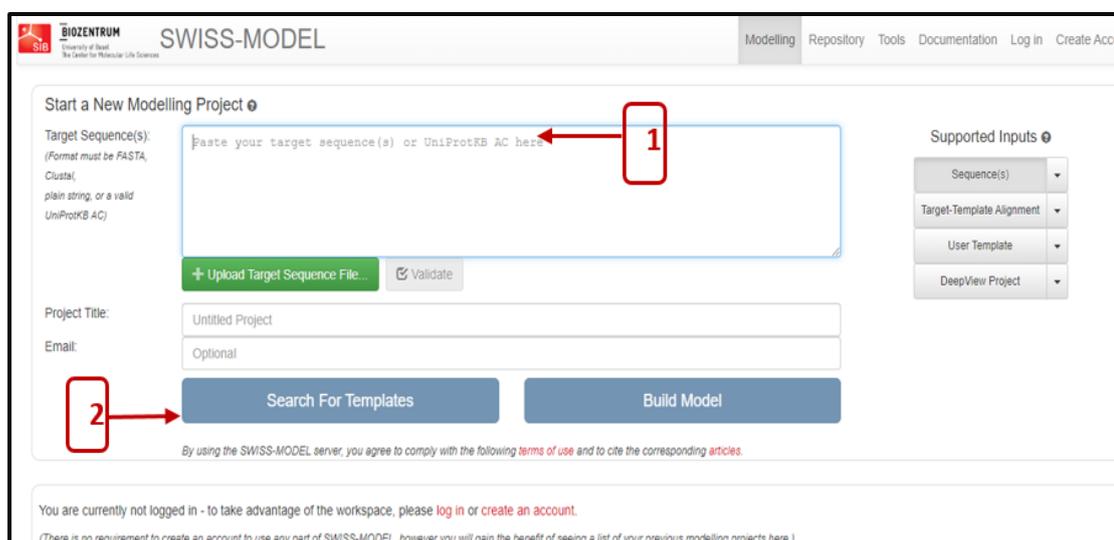


Figure 20 : Utilisation de Swiss-Model (Original, 2022)

III.5. Utilisation de Uniprot :

Principe : UniProt est une base de données généraliste « open source », protéique qui permet d'aligner 2 ou plusieurs protéines est donc de prédire la similarité entre les séquences.

Méthode :

1. Rendez-vous sur UniProt (<http://UniProt.org/>).
2. Puis insérer le symbole de la protéine (HBB).
3. On clique sur search.
4. On clique dans le tableau des résultats sur la protéine avec le numéro d'accèsion « P68871 » qui correspondent à HBB-HUMAN.

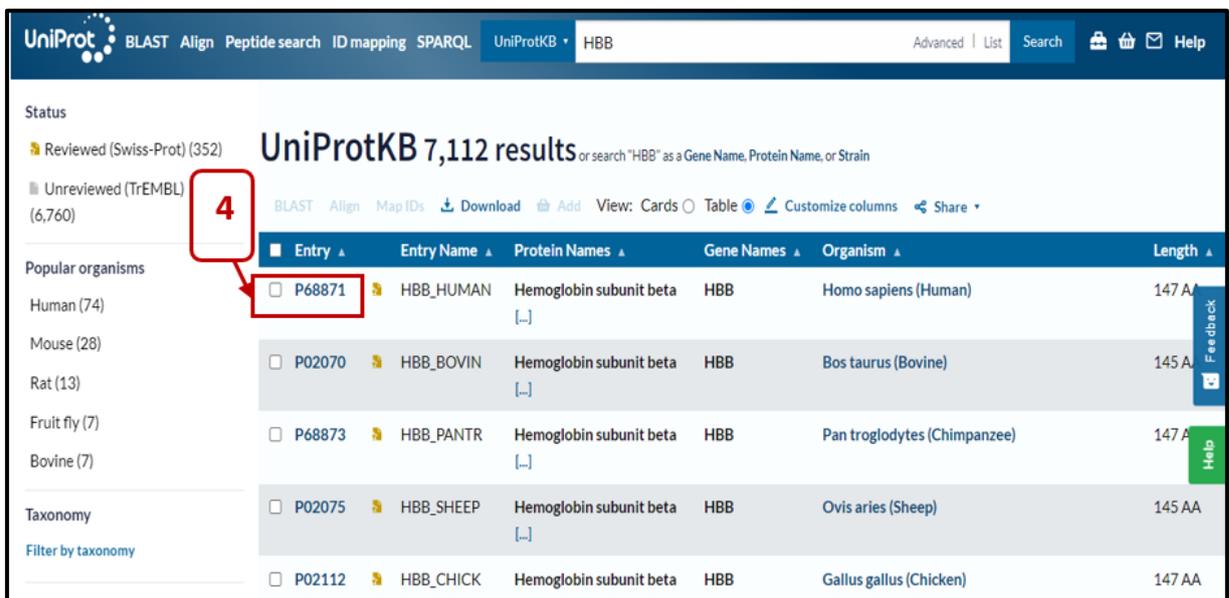
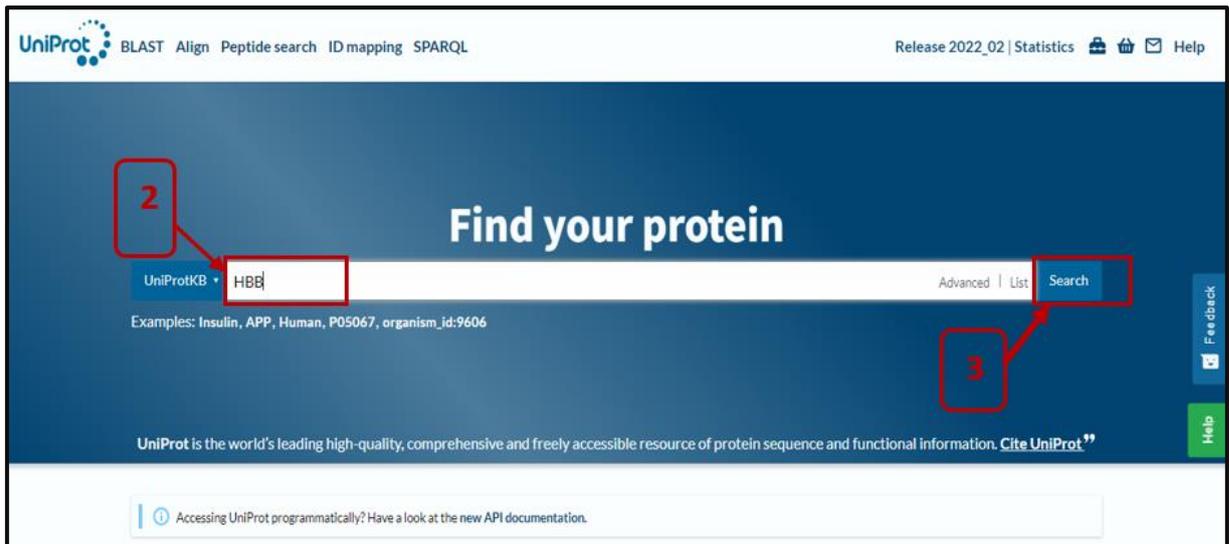


Figure 21 : utilisation de Uniprot (Original, 2022)

Résultats & discussion

IV.1. Les résultats de GenBank :

Les résultats de GenBank obtenus sous forme FASTA débutent par un linge commençant par :

- Le signe « > » recommandé que toutes les lignes de texte soient plus courtes que 80 caractères
- L'identifiant du gène
- Quelques commentaires
- Puis sur la deuxième linge début la chaîne de séquence (**Figure 22**)

The screenshot shows the NCBI GenBank interface for the sequence NM_000518.5. The title is "Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB), mRNA". The sequence is displayed in FASTA format, starting with a header line: >NM_000518.5 Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB), mRNA. The sequence itself is a long string of nucleotides. On the right side of the page, there are several interactive elements: a "Send to" dropdown, a "Change region shown" dropdown, a "Customize view" dropdown, and a section titled "Analyze this sequence" with links for "Run BLAST", "Pick Primers", and "Highlight Sequence Features". Below that, there is a section titled "Articles about the HBB gene" with links to "Proteomic analysis of the mitochondrial glucocorticoid receptor inter: [J Proteomics. 2022]" and "Importance of Sequencing c[>HBA1</> and c[>HBA2</> and c[>HBB</> [Genes (Basel). 2022]".

Figure 22 : Séquence d'ARNm du gène HBB sous format FASTA (**Original, 2022**)

La figure 22 donne la description de la séquence ARN du gène répertorié dans NCBI, ainsi que les différents identifiants (**Tableau 04**)

D'après une fenêtre ouverte dans le Séquence Viewer (NCBI) réalisée et résume les caractéristiques structurales du gène HBB, localisé sur le chromosome 11, avec la position des exons et les introns. (**Figure 24**) On peut remarquer que dans l'ARNm qui sera traduit, il y a chaque extrémité une courte séquence non codante appelée UTR. Le codon initiateur TAC sur le brin codant de l'ADN sera transcrit en AUG dans l'ARNm. Le codon stop ATT sera transcrit en UAA dans l'ARNm. (**Figure 23**)

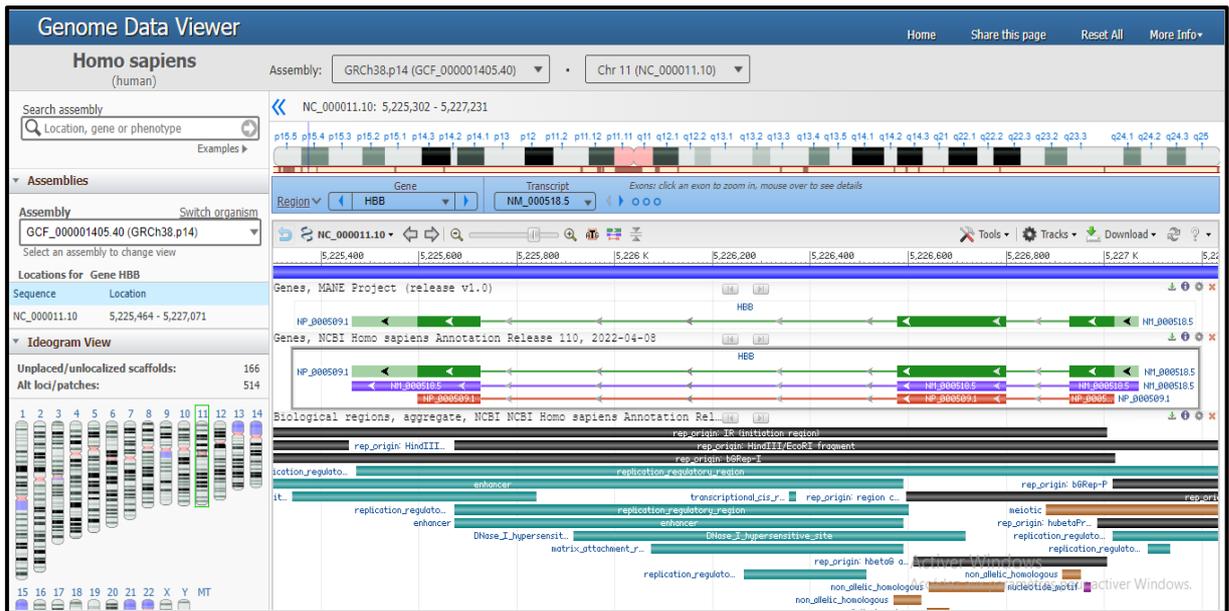


Figure 23 : Les caractéristiques structurales du gène HBB sur le chromosome (Original, 2022)

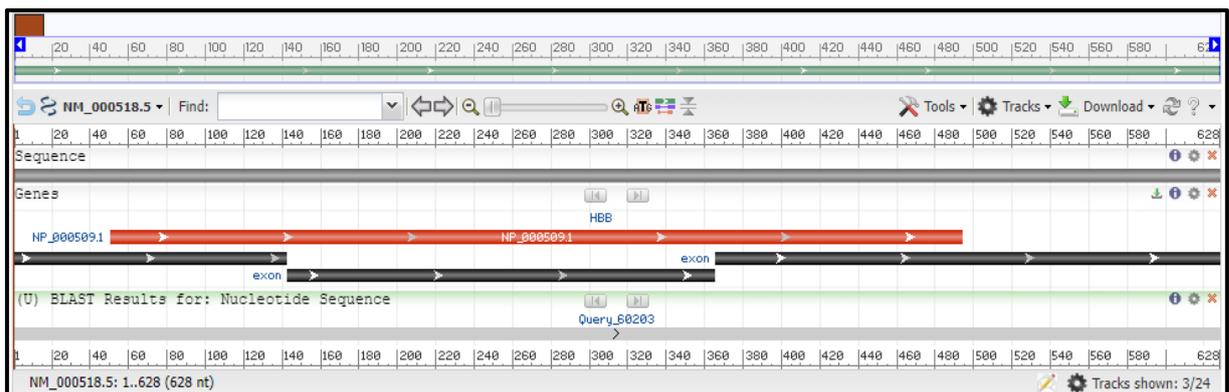


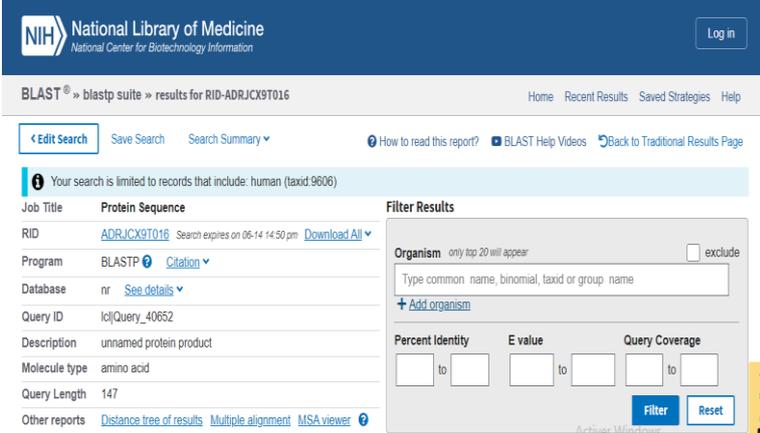
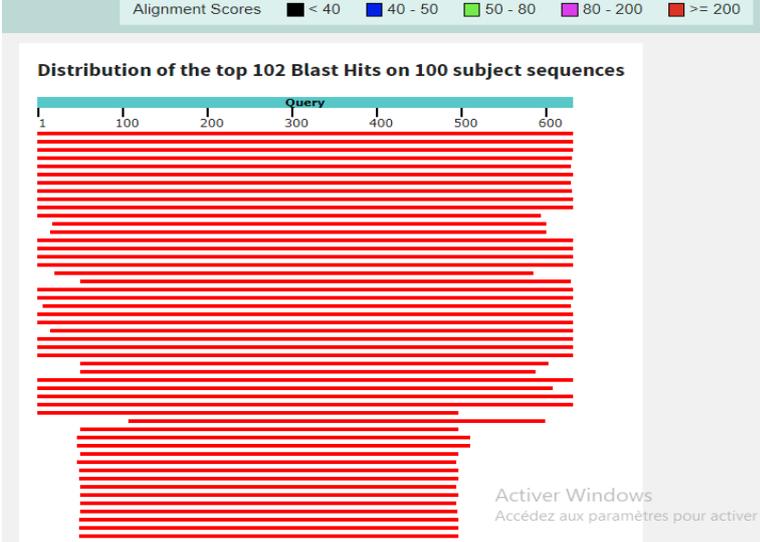
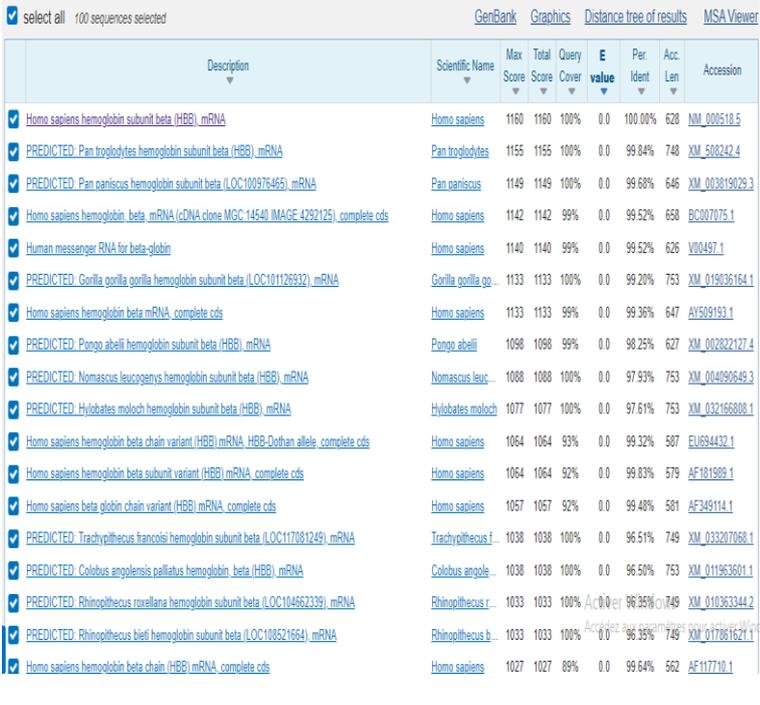
Figure 24 : La position des exons et des introns du gène HBB. (Original, 2022)

Nous avons observé que le gène de HBB est composé de 3 exons et 2 introns et leur position dans le chromosome

IV.2. Les Résultats de Blast n et l'ARNm HBB :

Les résultats de Blast n (alignement global nucléotidique) sont montrés dans le tableau.

Tableau V : Résultats de Blast de gène HBB

Résultat	Rôles	Descriptifs																																																																																																																																																																											
 <p>NIH National Library of Medicine BLAST® » blastp suite » results for RID-ADRJCX9T016</p> <p>Job Title: Protein Sequence RID: ADRJCX9T016 Program: BLASTP Database: nr Query ID: Icd Query_40652 Description: unnamed protein product Molecule type: amino acid Query Length: 147</p> <p>Filter Results Organism: only top 20 will appear Percent Identity: [] to [] E value: [] to [] Query Coverage: [] to []</p>	<p>Récapitulatif de la requête</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Séquence soumise. -Identifiants. -longueur. -Type. - Banque de donnée interrogée. -Programme utilisée. 																																																																																																																																																																											
 <p>Alignment Scores: < 40, 40 - 50, 50 - 80, 80 - 200, >= 200</p> <p>Distribution of the top 102 Blast Hits on 100 subject sequences</p>	<p>Représentation graphique des résultats</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Les traits de couleur représentent à un alignement entre la séquence soumise et une séquence de la banque. -La couleur correspond au score. -La longueur correspond à la taille de l'alignement. 																																																																																																																																																																											
 <p>select all 100 sequences selected</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Description</th> <th>Scientific Name</th> <th>Max Score</th> <th>Total Score</th> <th>Query Cover</th> <th>E value</th> <th>Per Ident</th> <th>Acc Len</th> <th>Accession</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1160</td> <td>1160</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>100.00%</td> <td>628</td> <td>NM_000518.5</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Pan troglodytes hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA</td> <td>Pan troglodytes</td> <td>1155</td> <td>1155</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>99.84%</td> <td>748</td> <td>XM_538242.4</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Pan paniscus hemoglobin subunit beta (LOC100976465) mRNA</td> <td>Pan paniscus</td> <td>1149</td> <td>1149</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>99.68%</td> <td>646</td> <td>XM_003819029.3</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin beta mRNA (cDNA clone MGC:14540 IMAGE:4292125) complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1142</td> <td>1142</td> <td>99%</td> <td>0.0</td> <td>99.52%</td> <td>658</td> <td>BC007075.1</td> </tr> <tr> <td>Human messenger RNA for beta-globin</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1140</td> <td>1140</td> <td>99%</td> <td>0.0</td> <td>99.52%</td> <td>626</td> <td>V00497.1</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Gorilla gorilla gorilla hemoglobin subunit beta (LOC101126932) mRNA</td> <td>Gorilla gorilla go</td> <td>1133</td> <td>1133</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>99.20%</td> <td>753</td> <td>XM_019036164.1</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin beta mRNA complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1133</td> <td>1133</td> <td>99%</td> <td>0.0</td> <td>99.36%</td> <td>647</td> <td>AY509193.1</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Pongo abelii hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA</td> <td>Pongo abelii</td> <td>1098</td> <td>1098</td> <td>99%</td> <td>0.0</td> <td>98.25%</td> <td>627</td> <td>XM_002822127.4</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Nomascus leucogenys hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA</td> <td>Nomascus leuc</td> <td>1088</td> <td>1088</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>97.93%</td> <td>753</td> <td>XM_004050649.3</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Hylobates moloch hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA</td> <td>Hylobates moloch</td> <td>1077</td> <td>1077</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>97.61%</td> <td>753</td> <td>XM_032166808.1</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin beta chain variant (HBB) mRNA, HBB-Dothan allele complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1064</td> <td>1064</td> <td>93%</td> <td>0.0</td> <td>99.32%</td> <td>507</td> <td>EU094432.1</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin beta subunit variant (HBB) mRNA complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1064</td> <td>1064</td> <td>92%</td> <td>0.0</td> <td>99.83%</td> <td>579</td> <td>AF181989.1</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens beta globin chain variant (HBB) mRNA complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1057</td> <td>1057</td> <td>92%</td> <td>0.0</td> <td>99.48%</td> <td>581</td> <td>AF349114.1</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Trachypithecus francoisi hemoglobin subunit beta (LOC117081249) mRNA</td> <td>Trachypithecus f</td> <td>1038</td> <td>1038</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>96.51%</td> <td>749</td> <td>XM_033207068.1</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Colobus angolensis palliatus hemoglobin beta (HBB) mRNA</td> <td>Colobus angole</td> <td>1038</td> <td>1038</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>96.50%</td> <td>753</td> <td>XM_010363344.2</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Rhinopithecus rooseana hemoglobin subunit beta (LOC104662339) mRNA</td> <td>Rhinopithecus r</td> <td>1033</td> <td>1033</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>96.96%</td> <td>749</td> <td>XM_010363344.2</td> </tr> <tr> <td>PREDICTED: Rhinopithecus bieti hemoglobin subunit beta (LOC108521654) mRNA</td> <td>Rhinopithecus b</td> <td>1033</td> <td>1033</td> <td>100%</td> <td>0.0</td> <td>96.35%</td> <td>749</td> <td>XM_017081627.1</td> </tr> <tr> <td>Homo sapiens hemoglobin beta chain (HBB) mRNA complete cds</td> <td>Homo sapiens</td> <td>1027</td> <td>1027</td> <td>89%</td> <td>0.0</td> <td>99.64%</td> <td>562</td> <td>AF117710.1</td> </tr> </tbody> </table>	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession	Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Homo sapiens	1160	1160	100%	0.0	100.00%	628	NM_000518.5	PREDICTED: Pan troglodytes hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Pan troglodytes	1155	1155	100%	0.0	99.84%	748	XM_538242.4	PREDICTED: Pan paniscus hemoglobin subunit beta (LOC100976465) mRNA	Pan paniscus	1149	1149	100%	0.0	99.68%	646	XM_003819029.3	Homo sapiens hemoglobin beta mRNA (cDNA clone MGC:14540 IMAGE:4292125) complete cds	Homo sapiens	1142	1142	99%	0.0	99.52%	658	BC007075.1	Human messenger RNA for beta-globin	Homo sapiens	1140	1140	99%	0.0	99.52%	626	V00497.1	PREDICTED: Gorilla gorilla gorilla hemoglobin subunit beta (LOC101126932) mRNA	Gorilla gorilla go	1133	1133	100%	0.0	99.20%	753	XM_019036164.1	Homo sapiens hemoglobin beta mRNA complete cds	Homo sapiens	1133	1133	99%	0.0	99.36%	647	AY509193.1	PREDICTED: Pongo abelii hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Pongo abelii	1098	1098	99%	0.0	98.25%	627	XM_002822127.4	PREDICTED: Nomascus leucogenys hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Nomascus leuc	1088	1088	100%	0.0	97.93%	753	XM_004050649.3	PREDICTED: Hylobates moloch hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Hylobates moloch	1077	1077	100%	0.0	97.61%	753	XM_032166808.1	Homo sapiens hemoglobin beta chain variant (HBB) mRNA, HBB-Dothan allele complete cds	Homo sapiens	1064	1064	93%	0.0	99.32%	507	EU094432.1	Homo sapiens hemoglobin beta subunit variant (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1064	1064	92%	0.0	99.83%	579	AF181989.1	Homo sapiens beta globin chain variant (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1057	1057	92%	0.0	99.48%	581	AF349114.1	PREDICTED: Trachypithecus francoisi hemoglobin subunit beta (LOC117081249) mRNA	Trachypithecus f	1038	1038	100%	0.0	96.51%	749	XM_033207068.1	PREDICTED: Colobus angolensis palliatus hemoglobin beta (HBB) mRNA	Colobus angole	1038	1038	100%	0.0	96.50%	753	XM_010363344.2	PREDICTED: Rhinopithecus rooseana hemoglobin subunit beta (LOC104662339) mRNA	Rhinopithecus r	1033	1033	100%	0.0	96.96%	749	XM_010363344.2	PREDICTED: Rhinopithecus bieti hemoglobin subunit beta (LOC108521654) mRNA	Rhinopithecus b	1033	1033	100%	0.0	96.35%	749	XM_017081627.1	Homo sapiens hemoglobin beta chain (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1027	1027	89%	0.0	99.64%	562	AF117710.1	<p>Représentation globale des résultats</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Chaque ligne correspond à la taille colorée la représentation graphique. -Une liste des séquences avec leur numéro d'accèsion, le score d'alignement et 1 E-Valu
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Homo sapiens	1160	1160	100%	0.0	100.00%	628	NM_000518.5																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Pan troglodytes hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Pan troglodytes	1155	1155	100%	0.0	99.84%	748	XM_538242.4																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Pan paniscus hemoglobin subunit beta (LOC100976465) mRNA	Pan paniscus	1149	1149	100%	0.0	99.68%	646	XM_003819029.3																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin beta mRNA (cDNA clone MGC:14540 IMAGE:4292125) complete cds	Homo sapiens	1142	1142	99%	0.0	99.52%	658	BC007075.1																																																																																																																																																																					
Human messenger RNA for beta-globin	Homo sapiens	1140	1140	99%	0.0	99.52%	626	V00497.1																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Gorilla gorilla gorilla hemoglobin subunit beta (LOC101126932) mRNA	Gorilla gorilla go	1133	1133	100%	0.0	99.20%	753	XM_019036164.1																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin beta mRNA complete cds	Homo sapiens	1133	1133	99%	0.0	99.36%	647	AY509193.1																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Pongo abelii hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Pongo abelii	1098	1098	99%	0.0	98.25%	627	XM_002822127.4																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Nomascus leucogenys hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Nomascus leuc	1088	1088	100%	0.0	97.93%	753	XM_004050649.3																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Hylobates moloch hemoglobin subunit beta (HBB) mRNA	Hylobates moloch	1077	1077	100%	0.0	97.61%	753	XM_032166808.1																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin beta chain variant (HBB) mRNA, HBB-Dothan allele complete cds	Homo sapiens	1064	1064	93%	0.0	99.32%	507	EU094432.1																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin beta subunit variant (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1064	1064	92%	0.0	99.83%	579	AF181989.1																																																																																																																																																																					
Homo sapiens beta globin chain variant (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1057	1057	92%	0.0	99.48%	581	AF349114.1																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Trachypithecus francoisi hemoglobin subunit beta (LOC117081249) mRNA	Trachypithecus f	1038	1038	100%	0.0	96.51%	749	XM_033207068.1																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Colobus angolensis palliatus hemoglobin beta (HBB) mRNA	Colobus angole	1038	1038	100%	0.0	96.50%	753	XM_010363344.2																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Rhinopithecus rooseana hemoglobin subunit beta (LOC104662339) mRNA	Rhinopithecus r	1033	1033	100%	0.0	96.96%	749	XM_010363344.2																																																																																																																																																																					
PREDICTED: Rhinopithecus bieti hemoglobin subunit beta (LOC108521654) mRNA	Rhinopithecus b	1033	1033	100%	0.0	96.35%	749	XM_017081627.1																																																																																																																																																																					
Homo sapiens hemoglobin beta chain (HBB) mRNA complete cds	Homo sapiens	1027	1027	89%	0.0	99.64%	562	AF117710.1																																																																																																																																																																					

Homo sapiens hemoglobin subunit beta (HBB), mRNA					
Sequence ID: NM_000518.5 Length: 628 Number of Matches: 1					
Range 1: 1 to 628 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1160 bits(628)	0.0	628/628(100%)	0/628(0%)	Plus/Plus	
Query 1	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACCATGGTGATC	60			
Sbjct 1	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACCATGGTGATC	60			
Query 61	TGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAAG	120			
Sbjct 61	TGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAAG	120			
Query 121	TTGGTGGTGAAGCCCTGGGCAGGCTGCTGGTGGTCTACCCCTTGGACCCAGAGGTTCTTTTG	180			
Sbjct 121	TTGGTGGTGAAGCCCTGGGCAGGCTGCTGGTGGTCTACCCCTTGGACCCAGAGGTTCTTTTG	180			
Query 181	AGTCCCTTTGGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATGGGCAACCTAAGGTGAAGGCTC	240			
Sbjct 181	AGTCCCTTTGGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATGGGCAACCTAAGGTGAAGGCTC	240			
Query 241	ATGGCAAGAAAGTCTCGGTGCCCTTATGATGGCCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGG	300			
Sbjct 241	ATGGCAAGAAAGTCTCGGTGCCCTTATGATGGCCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGG	300			
Query 301	GCACCTTTGGCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACT	360			
Sbjct 301	GCACCTTTGGCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACT	360			
Query 361	TCAGGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTCTGTGTGCTGGCCATCACCTTGGCAAGAAATTC	420			
Sbjct 361	TCAGGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTCTGTGTGCTGGCCATCACCTTGGCAAGAAATTC	420			
Query 421	CCCCACCAGTGCAGGCTGCCATCAGAAAAGTGGTGGCTGGTGGCTAATGCCCTGGCCC	480			
Sbjct 421	CCCCACCAGTGCAGGCTGCCATCAGAAAAGTGGTGGCTGGTGGCTAATGCCCTGGCCC	480			

Description des résultats, des Alignement

-Query : la séquence soumise.
 -Subject : la séquence trouvée dans la base de données.
 -Les grandeurs propre à chaque alignement (Score, E- Valu, identité, positif, de gap)

IV.3. Les résultats de Swiss-model :

1) La structure tridimensionnelle de l'Hémoglobine :

L'hémoglobine est un tétramère possède une structure quaternaire. Le type d'hémoglobine le plus courant est l'hémoglobine A, constituée de deux sous-unité α et de deux sous-unités β , formées chacune de 141 et 146 résidus d'acides aminées respectivement (2).

Le tétramère d'hémoglobine adulte (HbA) normale constituée de 2 types de chaines polypeptidique, 2 chaines beta (HBB) et 2 chaines alpha (HBA) et la beta globine mutante (HBS) qui provoque la drépanocytose et d'autres pathologie.

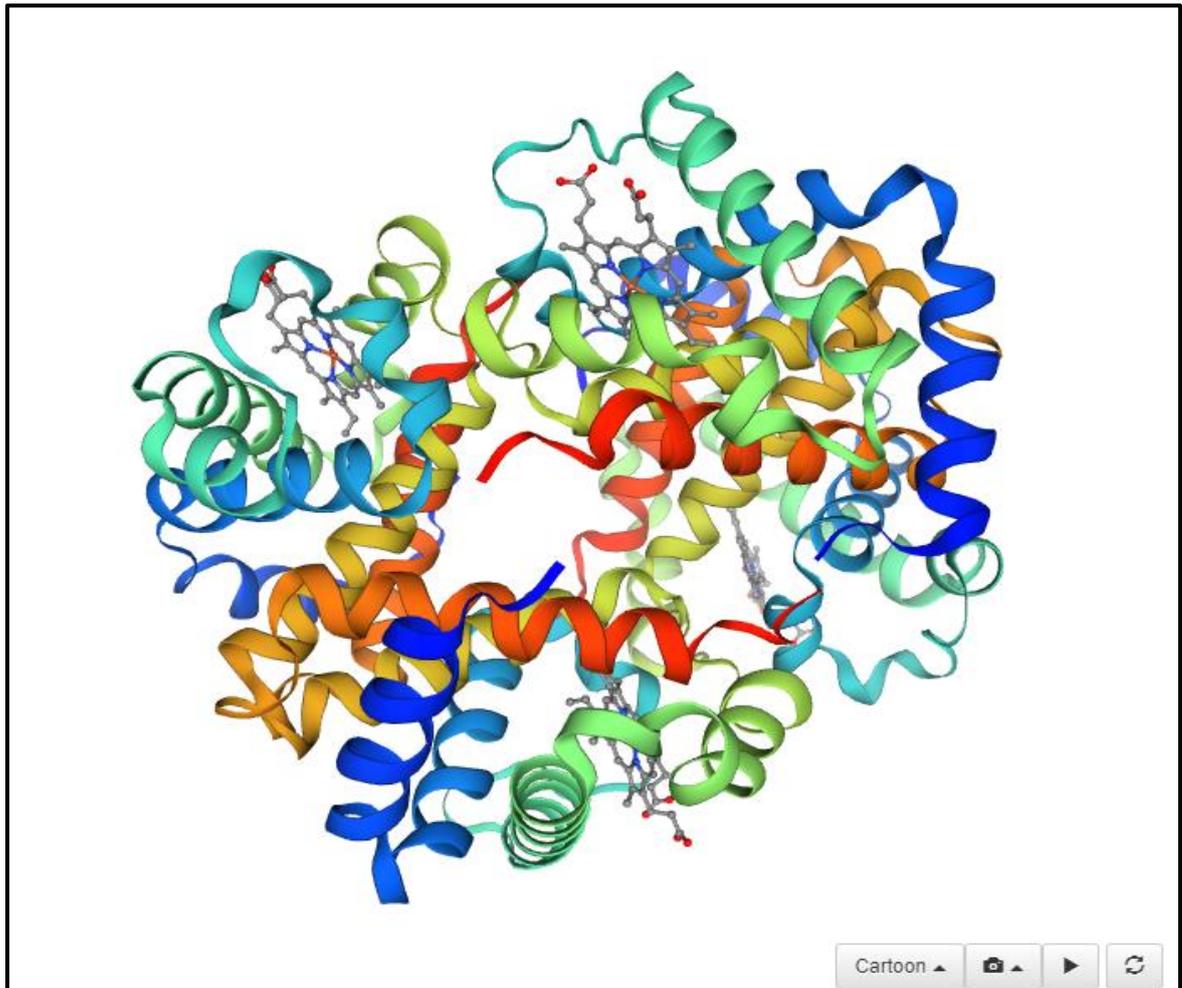


Figure 25 : la structure tridimensionnelle de l'hémoglobine (Original, 2022)

La figure 26 montre la structure de molécule de l'hème présente au niveau de la protéine de l'hémoglobine par utilisation de logiciel swiss-model

. L'hème est une molécule qui associe un atome de fer qui est relié par quatre valences à l'azote des noyaux pyrroles (28). Nous avons vu les ions d'oxygène, l'hème et l'atome de fer représentés dans la figure disponible sur cette base des données.

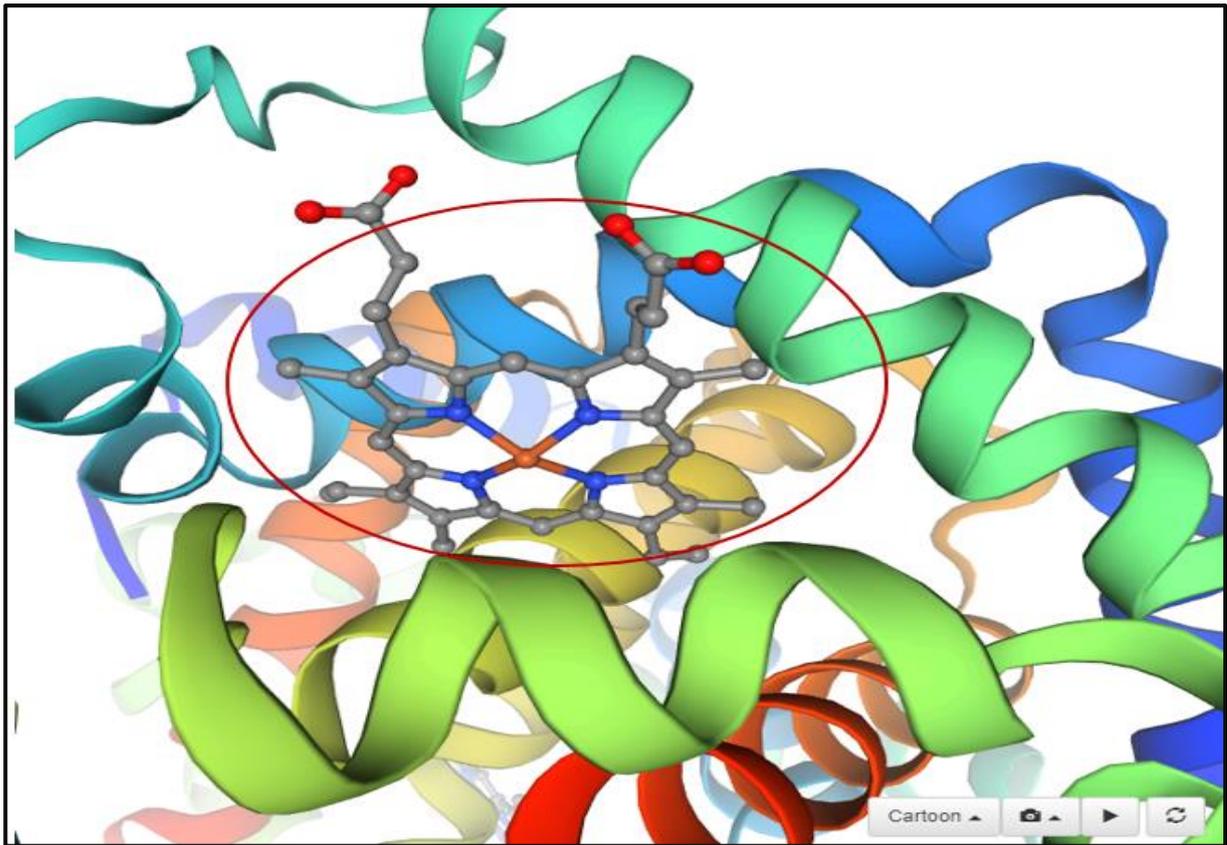


Figure 26 : Structure 3D de l'hème sur logiciel swiss-model. (Original, 2022)

2) La structure protéique du gène HBB :

⚙ Target	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLG	70
6kye.1.D	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLG	70
Target	AFSDGLAHLNLIKGTFFATLSELHCDKLVDPENFRLLGNVLVLCVLAHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVAN	140
6kye.1.D	AFSDGLAHLNLIKGTFFATLSELHCDKLVDPENFRLLGNVLVLCVLAHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVAN	140
Target	ALAHKYH	147
6kye.1.D	ALAHKYH	147

Figure 27 : séquence protéique du gène HBB (Original, 2022)

3) Structure tridimensionnelle de la protéine :

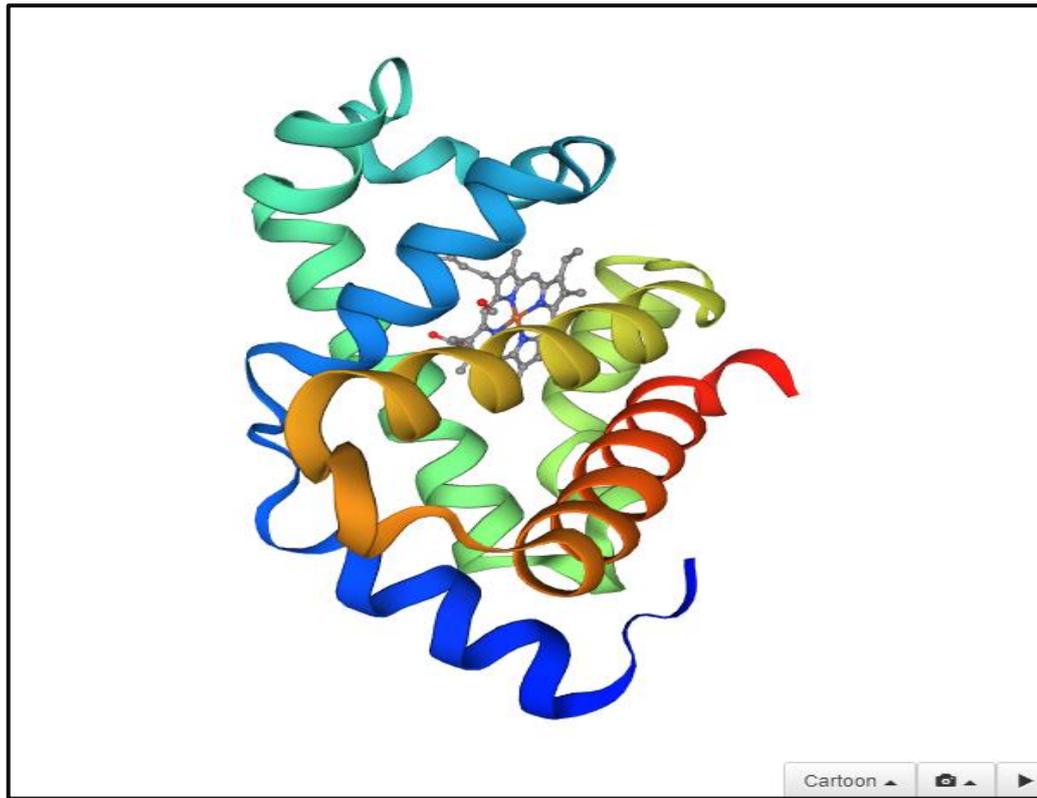


Figure 28 : Structure 3D de gène HBB la chaînes bêta globine (**Original, 2022**)

- Chaque couleur présent dans la séquence protéique (**Figure 27**) représente la même couleur dans la structure 3D (**Figure 28**)
- Pour savoir la position de n'importe quel acide amine sur la structure Tridimensionnel (**Figure 28**) on clique acide amine, il va apparaitre sur la structure (**Figure 27**)

IV.4. Les résultats de Uniprot :

A partir de la base de données Uniprot on a inséré le (Tableau VI) qui montre les différentes pathologies liées au gène d'HBB et les variants du gène (Tableau VII)

- **Les différentes pathologies liées au gène HBB :**

Tableau VI : Tableau des pathologies liées à l'hémoglobine bêta HBB.

Location	Gene/Locus	Gene/Locus nom	Gene/Locus Numéro MIM	Phénotype	Phénotype MIM Numéro
11 : 5,225,464 11P15.4	HBB, ECYT6	Hémoglobine beta	141900	Thalassémie delta-beta	141749
				Érythrocyte 6	617980
				Anémie corporelle de Heinz	140700
				Persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale	141749
				Méthémoglobinémie type beta	617971
				Anémie falciforme	603903
				Thalassémie, beta	613985
				Thalassémie-beta, corps d'inclusion dominant	603902
Paludisme, résistance	611162				

- **Les variantes du gène HBB :**

Tableur VII : les variant de HBB

Les variant du gène et leur mutation dans les outils bio-informatique et dans les articles (standard nomenclature)

ADN Nucléotide change	Protéine change (Standard Nomenclature)	HB Variant	Reference séquence
c.20A > T	P. Glu 6 Val (P. Glu 7 Val)	HbS	NM.000518.4 NP.000509.1
c.19 G > A	P. Glu 6 Lys (P. Glu 7 Lys)	HbC	
c.79 G > A	P. Glu 26 Lys (P. Glu 27 Lys)	HbE	
c.364 G > C	P. Glu 121 Gln (P. Glu 122 Lys)	HBD-punjab	
c.364G > A	P. Glu 121 Lys (P. Glu 122 Lys)	HbO- Arab	

Nous avons observé que la position de la mutation affectant le gène HBB qui provoque la drépanocytose n'assume pas la même position dans les bases des données et les article. Sachant que nous avons trouvées dans les articles qu'elle est positionnée au niveau de 6^{ème} codon. La mutation indique un changement de l'Acide Aminé en sixième position sur la protéine de l'hémoglobine (13). Par contre dans les bases des donnees, elle est positionnée en 7^{ème} codon. Cette différenciation due à la prise en considération du codon d'initiation la Met, non tenu en compte dans les articles.

IV.5. Les résultats d'alignement nucléotidique :

Utilisé logiciel d'Anagène pour l'objectif d'alignements est de disposer les composants (acide nucléotidique) pour identifier les zones de concordance et faire la comparaison entre les séquences que ça soit des séquences d'ADN ou ARNm ou protéiques.

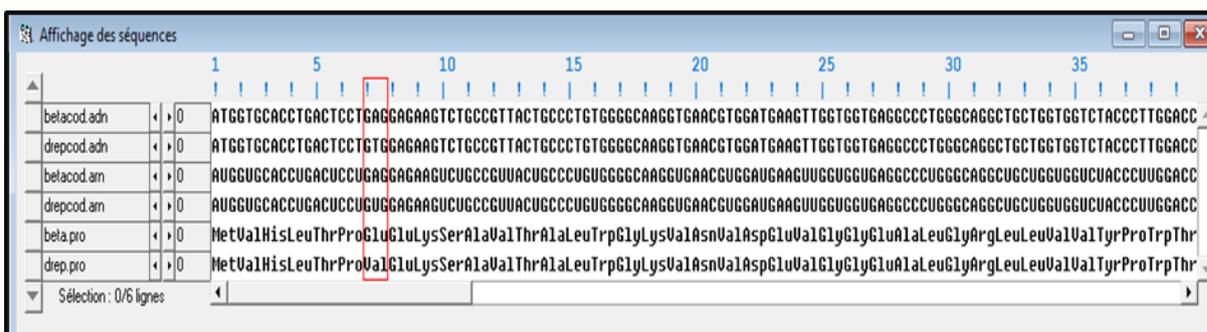


Figure 29 : Alignement des séquences par Anagène (Original, 2022)

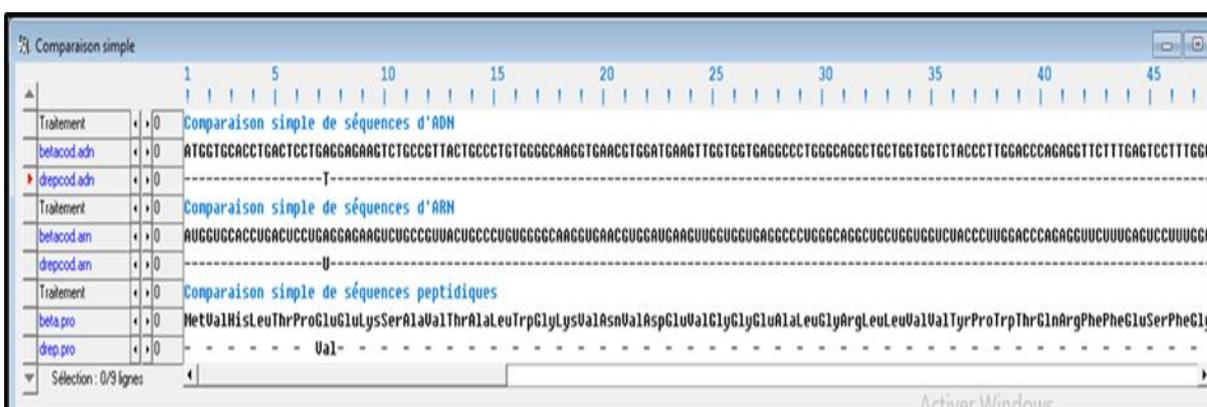


Figure 30 : comparaison de séquence nucléotidique d'ADN et d'ARN et peptidiques avec Anagène (Original, 2022)

Localisation de mutation :

Notre recherche est basée sur la localisation de mutation au niveau de la séquence nucléotidique à l'aide des outils bio-informatiques (BLAST ; Anagène), nous avons consulté que la mutation sont localisées sur le site 7 dans la chaîne nucléotidique du beta globine d'un remplacement de nucléotide A par T au niveau nucléotidique et d'un remplacement d'Acide Amine Glu par Val.

Le gène HBB muté contenant trois exons, une mutation homozygote dans l'exon 1 provoque la drépanocytose (SCD) (22)

Dans Anagène, un alignement avec discontinuités avec la molécule entière, permettra de retrouver leur position dans la séquence.

Le remplacement :



Le type de mutation : substitution faux-sens

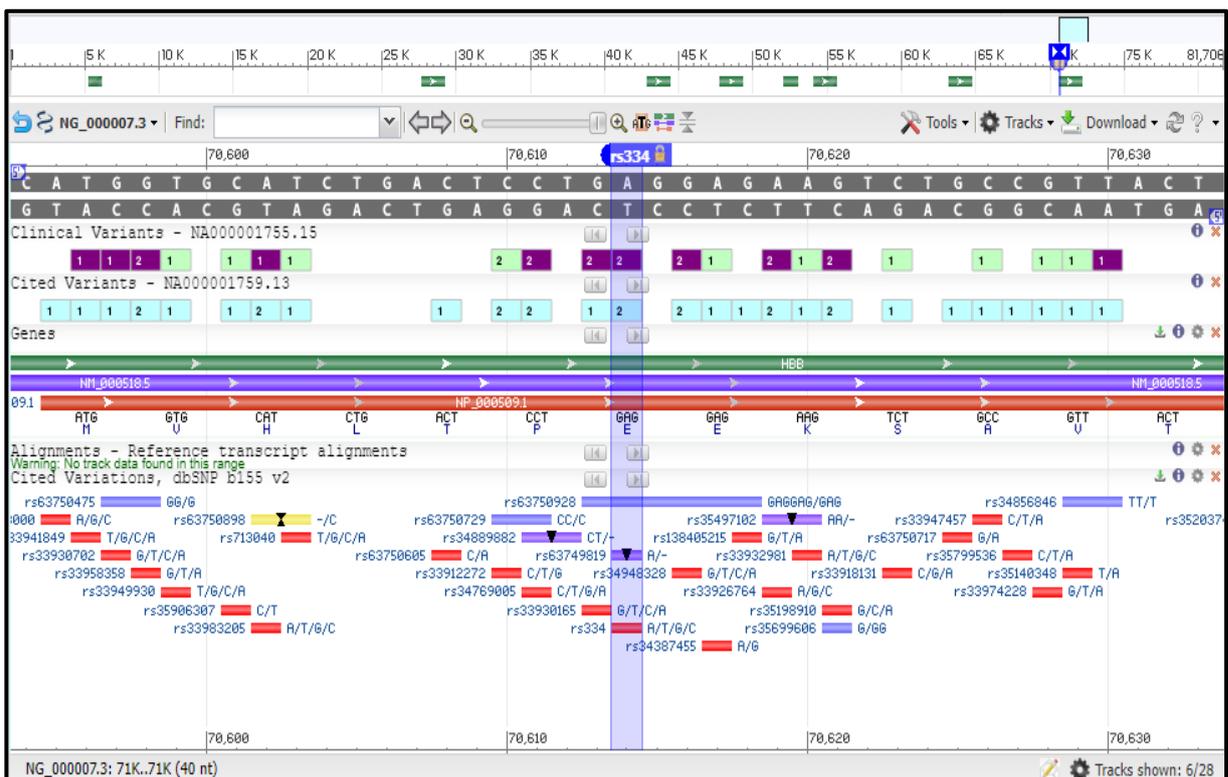
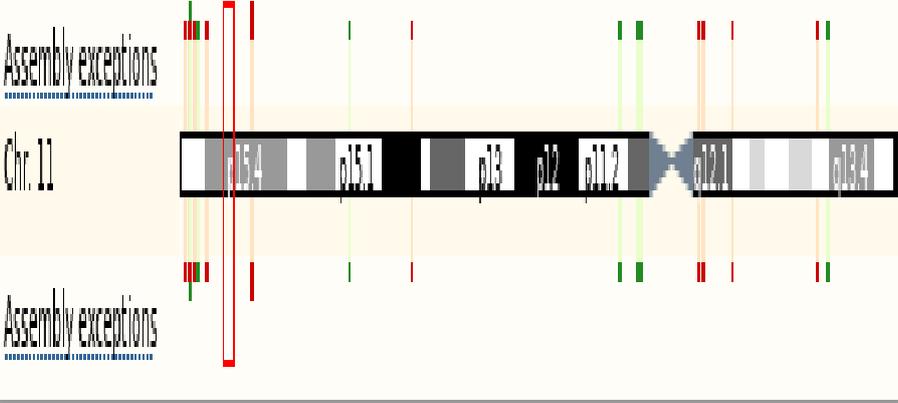
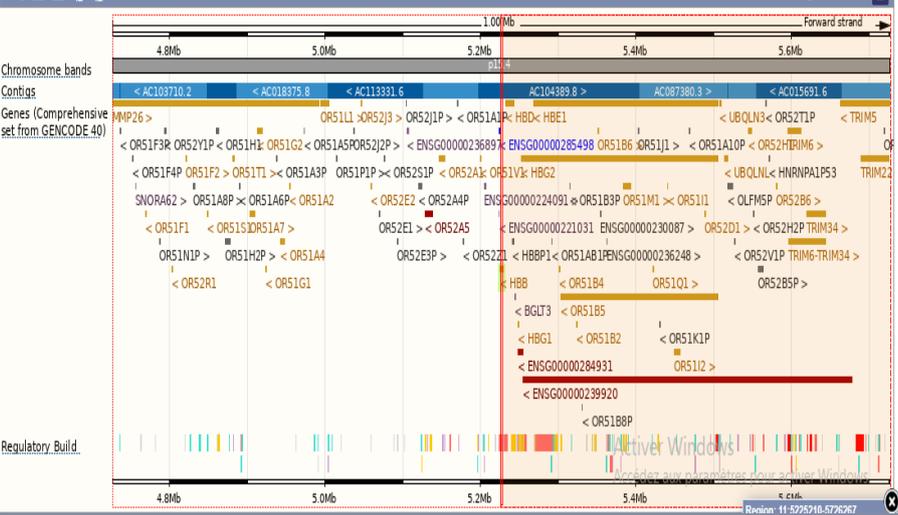
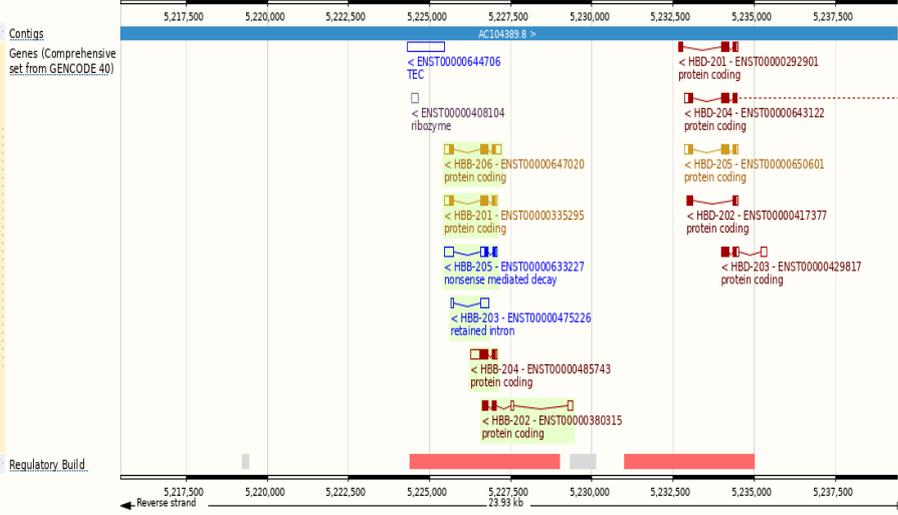


Figure 31 : position de la mutation dans le gène HBB (Original, 2022)

IV.6. Les résultats d'Ensembl :

Tableau VIII : Les résultats de d'ensembl se présentât.

Résultat	Rôle	Descriptifs
 <p>Assembly exceptions Chr. 11 Assembly exceptions</p>	Image chromosomique	<ul style="list-style-type: none"> -Les région de chromosome -Le numéro de chromosome -Les région d'intérêt (rectangle en rouge)
 <p>Chromosome bands Contigs Genes (Comprehensive set from GENCODE 40) Regulatory Build</p>	Image vue d'ensembl	<ul style="list-style-type: none"> -Les bandas de chromosome -La séquence génomique -La position de gène
 <p>Contigs Genes (Comprehensive set from GENCODE 40) Regulatory Build</p>	Représentation de région	<p>La transcription de la région d'intérêt :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Les traits correspondent aux exons -Les lignes correspondent aux introns -La séquence de la région d'intérêt

IV.7. Les résultats dans OMIM :

Représentation graphique des relations phénotype /gène associées à cette entrée. Les séries phénotypiques (lorsqu'elles sont disponibles) sont affichées avec les gènes pertinents et les phénotypes suivants à une profondeur de 8 noeuds.

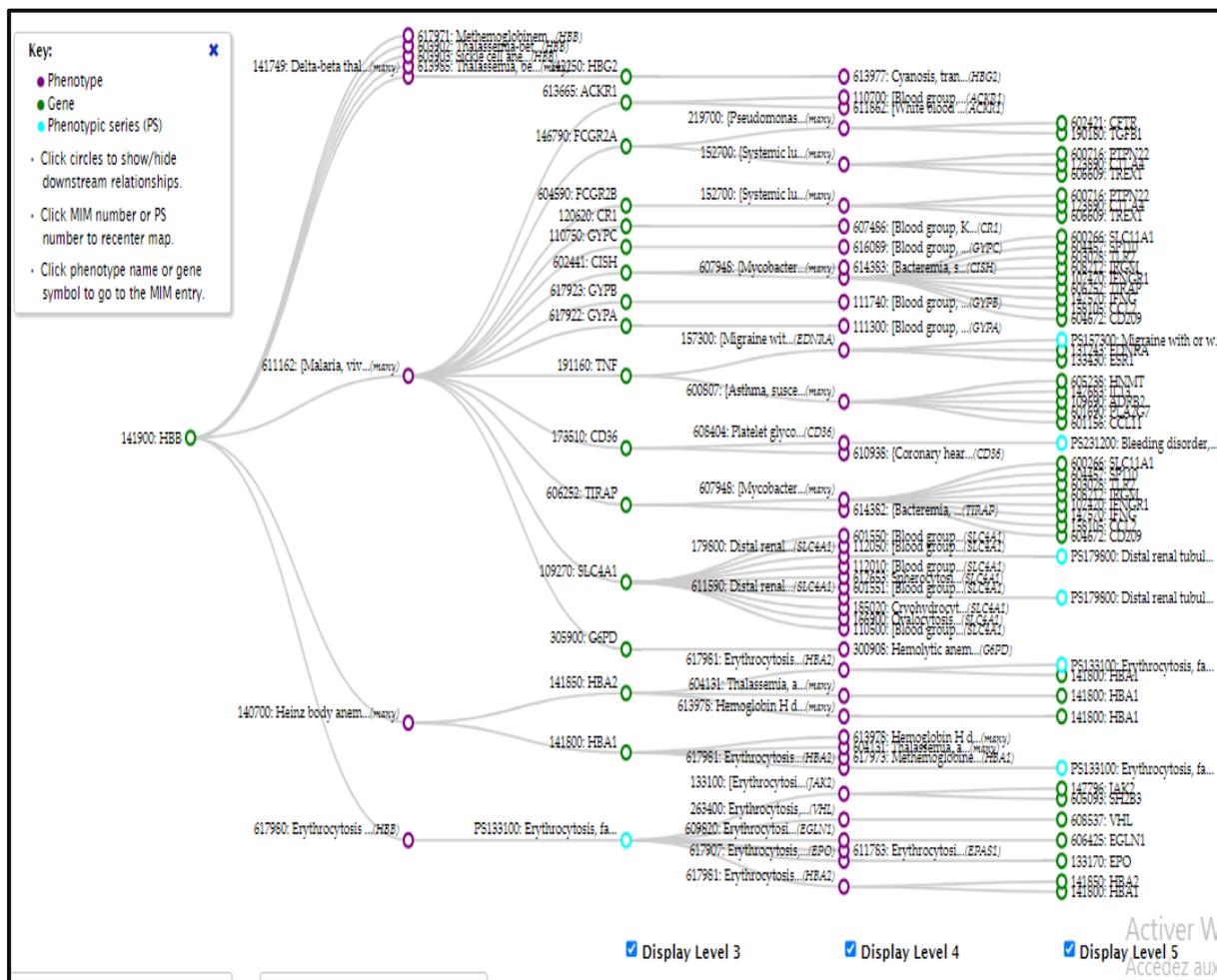


Figure 32 : Représentation graphique linéaire de la relation phénotype génotype de HBB. (Original, 2022)

On remarque à partir de la représentation graphique des différentes relations phénotypo-génotypique entre la HBB et l'expression d'autres maladies associées pour les quelles sont montrés la mutation de drépanocytose ainsi que leurs identifiants dans la base de données.

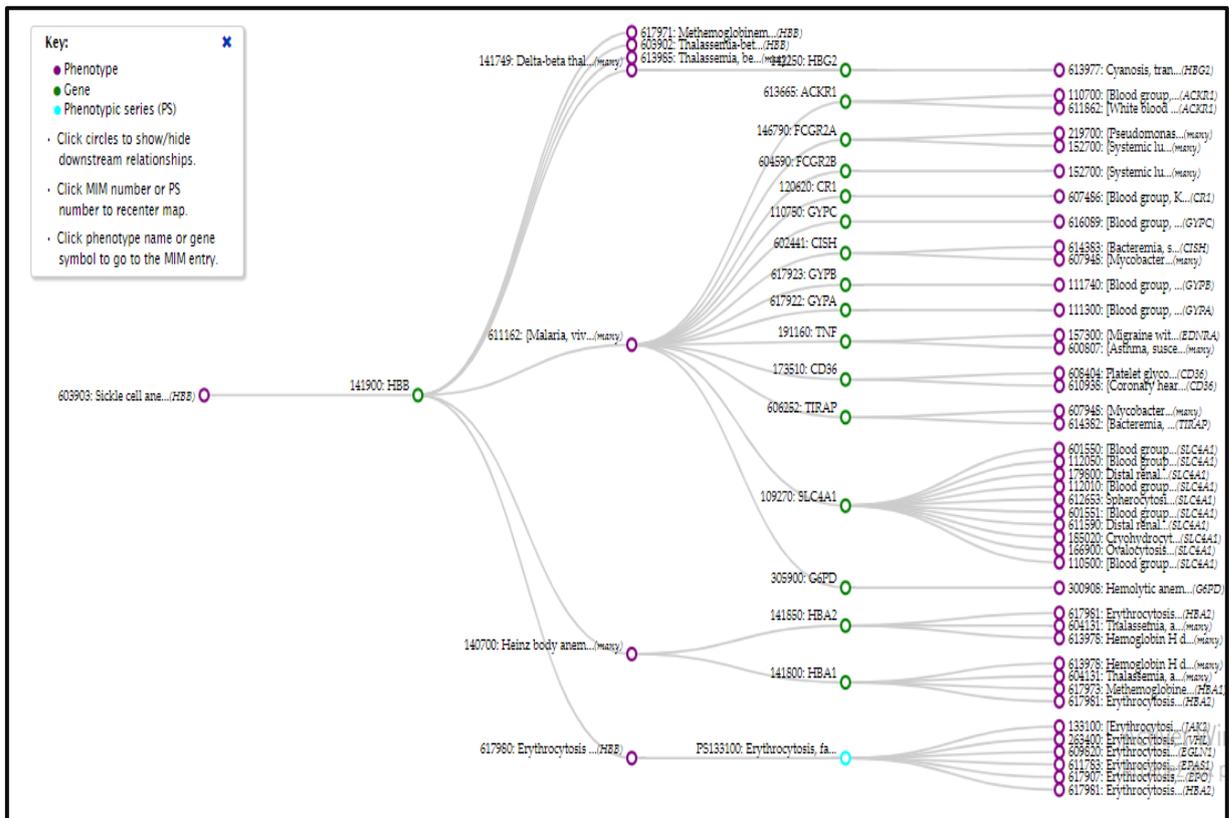


Figure 33 : Représentation graphique linéaire de la relation phénotype génotype de Drépanocytose (Original, 2022).

Conclusion

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente dans le monde, qui se transmet sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation ponctuelle du sixième codon du gène β globine, caractérisée par la synthèse d'une hémoglobine anormale S.

Cliniquement elle se manifeste souvent par un syndrome anémique et/ou infectieux ou bien par des crises vaso-occlusive. Ses complications évolutives font d'elle une pathologie pourvoyeuse de grande morbidité et mortalité, son traitement est symptomatique mais surtout préventif. Malgré les progrès thérapeutiques récents, la drépanocytose reste une maladie grave et sévère.

Dans ce travail, nous avons proposé de faire des études bio-informatique sur des séquences nucléotidiques prises d'une base de données spécialisé. Cette étude est basée sur la compréhension des mécanismes moléculaires responsable à l'origine de la maladie, et qui caractérisé par la substitution de l'acide GLU par Val est provoquée génétiquement par une mutation portant sur un gène codant pour la chaîne β de l'Hb, ont été étudiés en utilisant une combinaison de logiciels d'étude in silico et modélisation 3D.

Il ressort de ce travail qu'il existe une grande similarité entre les résultats sur terrain et les résultats de bio-informatique, et que la drépanocytose est une maladie fréquemment et grave avec des complications fâcheuses. Malgré les progrès thérapeutiques récents, la drépanocytose reste une maladie grave et sévère, mais elle reste une maladie évitable grâce au dépistage et conseil génétique.

Références bibliographiques

1. Abdaoui Wissem .(2020). Caractérisation biologique et moléculaire des hémoglobinopathies dans le Nord-est Algérien
2. Baudin, B. (2016). Les hémoglobines normales et pathologiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(481), 27-34.
3. Bessieres, B. (2010). Pathologie du placenta. Cas n° 8. Drépanocytose hétérozygote : Histoséminaire SFP. *Annales de pathologie (Print)*, 30(4), 310-312.
4. Bizot, F. (2018). *La thérapie génique : quel espoir pour les patients atteints de drépanocytose ?* (Doctoral dissertation, université de lorraine).
5. Cavazzana, M., Stanislas, A., Rémus, C., Duwez, P., Renoult, J., Cretet, J., ... & Girot, R. (2018). Dépistage néonatal de la drépanocytose-Des données en faveur de sa généralisation. *Médecine/sciences*, 34(4), 309-311.
6. Cohen-Boulakia, S., & Valduriez, P. (2016). *Traitement de données bioinformatiques massives (Big Data)* (Doctoral dissertation, Inria Sophia Antipolis ; LRI-CNRS, University Paris-Sud).
7. CREDOS : Module de formation à la prise en charge de la drépanocytose au Mali. Mars. (2005)
8. Damien Imbs, et Mohamed Sayed Hassan. (2017). Bioinformatique : Travail d'étude. Université Nice Sophia Antipolis.
9. Dardel, F., & Képès, F. (2002). *Bioinformatique : Génomique et post-génomique*. Editions Ecole Polytechnique.
10. Dennis A. Benson, Mark Cavanaugh, Karen Clark, Ilene Karsch-Mizrachi, David J. Lipman, James Ostell, Eric W. Sayers, GenBank, *Nucleic Acids Research*, Volume 45, Issue D1, January (2017), Pages D37–D42, <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1070>
11. Djeddi, Benameur, (2017). Dépistage des hémoglobinopathies au CHU Tlemcen. Pp 3-27.
12. EMBL.
13. Faure Antoine, Adam Guerriere, Max Belloq, (2011). Drépanocytose /paludisme., overblog.

14. Frenette, P. S., & Atweh, G. F. (2007). Sickle cell disease : old discoveries, new concepts, and future promise. *The Journal of clinical investigation*, 117(4), 850-858.
15. Huynh-Moynot, S., Moynot, J. C., Commandeur, D., Des Deserts, M. D., Montelescaut, É., Kenane, N., & Drouillard, I. (2011, November). Sickle cell disease : from molecular aspects to clinical practice. A case report and a literature analysis. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 69, No. 6, pp. 679-684).
16. Joly, P., Pondarre, C., & Badens, C. (2014, November). Les bêta-thalassémia: aspects moléculaires, épidémiologiques, diagnostiques et cliniques. In *Annales de biologie Clinique* (Vol. 72, No. 6, pp. 639-668).
17. Kato, G. J., Piel, F. B., Reid, C. D., Gaston, M. H., Ohene-Frempong, K., Krishnamurti, L., & Vichinsky, E. P. (2018). Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-22.
18. Kehaili I, Mahmoudi L (2020). Drépanocytose : génétique et épidémiologie.
19. Labie D., Elion J. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose in La Drépanocytose (dir. Girot R., Bégué P., Galacteros F.), éditions John LibbeyEurotext. (2003) ;1- 12
20. Libbey John, (2007). Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème. *Hématologie Revue* 13(4) : 251-264. Doi :10.1684/hma.2007.0163
21. Lionnet, F., Stankovic, K., & Girot, R. (2009). Drépanocytose de l'adulte. *EMC-Hématologie*, 4(2), 1-19.
22. Lihong C, Hao B, Vasiliki M, Yongxing G, Chaoxia H, Yanfei W, You-chuan J, You-wang, Rachel L. Armaan Q, Zhaohui Y, Zinzhaoh C. (2017). A Universal Approach to correct various HBB Gene cells for Gene therapy of bêta- thalassémia and Sickle cell disease.
23. Louali Soheib .(2016). Etude épidémiologique de la drépanocytose dans la région de Constantine.
24. Mashako, M. R., Bitwe, R. M., Nsibu, C. N., & Mashako, Y. K. (2019). Profil épidémiologique et clinique de la drépanocytose à l'hôpital provincial du Nord-Kivu. Epidemiological and clinic profile of sicklanemia at north-Kivu provincial hospital.
25. Matthie, N., Jenerette, C., & McMillan, S. (2015). Role of self-care in sickle cell disease. *Pain Management Nursing*, 16(3), 257-266.

26. Mattioni, S., Stojanovic, K. S., Girot, R., & Lionnet, F. (2016). La drépanocytose en France. *Revue francophone des laboratoires*, 2016(481), 61-66.
27. Medkour, T. (2008). *Modélisation mathématique et simulation numérique de la polymérisation de l'hémoglobine drépanocytaire* (Doctoral dissertation, Paris Est).
28. Mengual P, (2012). Biochimie, Structure et Fonction de l'Hémoglobine.
29. Modell, B., & Darr, A. (2002). Genetic counselling and customary consanguineous marriage. *Nature Reviews Genetics*, 3(3), 225-229.
30. Mueller, B. U., & Brugnara, C. (2001). Prevention of red cell dehydration : a possible new treatment for sickle cell disease. *Pediatric Pathology & Molecular Medicine*, 20(1), 15-25.
31. Negre, O., Bartholomae, C., Beuzard, Y., Cavazzana, M., Christiansen, L., Courne, C., & Veres, G. (2015). Preclinical evaluation of efficacy and safety of an improved lentiviral vector for the treatment of β -thalassemia and sickle cell disease. *Current gene therapy*, 15(1), 64-81.
32. Novelli, EM & Gladwin, MT (2016), 'Crises in Sickle Cell Disease', Chest. Elsevier, Vol. 149 No.4, pp. 1082-1093, consulté le 18 mai 2018.
33. OMS, (2014)
34. Orphenet (2011)
35. OUAKASSE, S. (2015). La drépanocytose homozygote chez l'enfant à l'hôpital provincial de Tanger, à propos de 10 cas (Doctoral dissertation).
36. Oukid S, Djouadi K, Hamladji R, Revue Algérienne d'Hématologie, XVI^{ème} Congrès Maghrébin et National D'HEMATOLOGIE, 24 AU 26 OCTOBRE 2019 HOTEL EL AURASSI, ALGER
37. Piel, F. B., Steinberg, M. H., & Rees, D. C. (2017). Sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 376(16), 1561-1573.
38. Ribeil, J. A., Blanche, S., & Cavazzana, M. (2017). Thérapie génique dans la drépanocytose. *Médecine/sciences*, 33(5), 463-465.
39. Rossi, A., & Salvetti, A. (2016). Intégration des vecteurs AAV et mutagenèse insertionnelle. *Médecine/sciences*, 32(2), 167-174.
40. Santin, A., & Renaud, B. (2013). Drépanocytose et complications aiguës. In *Maladies rares en médecine d'urgence* (pp. 279-301). Springer, Paris.

41. Schmugge, M., Speer, O., Hulya Ozsahin, A., & Martin, G. (2008, August). La drépanocytose en Suisse. Ire partie : Physiopathologie, Clinique. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 8, No. 33, pp. 582-586). EMH Media.
42. SCHOEFFLER, M. (2008). Anesthésie et drépanocytose. In *15 -ème CONGRES ICAR, NOVEMBRE 2008, LYON*.
43. Sherwood, L. (2006). Physiologie humaine : a Human Perspective (2 e éd.). *Bruxelles : De Boeck Université*.
44. Steiger. (2015). Hémoglobinopathies. mqzh (Verein fur medizinische qualitätskontrolle).
45. Steinberg, M. H. (2006). Pathophysiologically based drug treatment of sickle cell disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(4), 204-210.
46. Sylvain Legrand, BLAST basic Local alignment Search Tool, cour, université de Lille 1 science et technologie page 1-52, (septembre 2016)
47. Thoelen J, (2019). Impact d'une formation sur la drépanocytose et la patient controlled Analgesia auprès du personnel soignant
48. Tiendrebeogo T, (2013). Prise en charge des syndromes drépanocytaires majeurs chez les enfants de 0 à 15 ans au centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle et au centre médical saint Camille de Ouagadougou : marqueurs génétiques, caractéristiques cliniques et coût médical direct de la prise en charge.
49. Wajcman, H. (2005). Hémoglobines : structure et fonction. *EMC-Hématologie*, 2(3), 145-157.