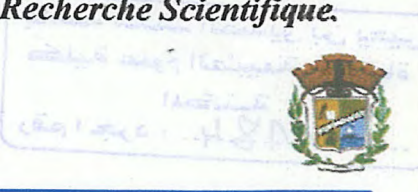




Université de Jijel



Faculté des Sciences

BC-28/08

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire 01

Mémoire

De fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures
(D.E.S) en biologie

Option : Biochimie

Thème

*La preuve par l'ADN : le
polymorphisme génétique au
service de la justice*

Membre de jury :

- ✓ Encadreur : Dr RECHRECHE Hocine
- ✓ Examineur : Melle BENSCHIER Salima

Avis favorable
vue de : 01-07-2008
Melle BENSCHIER S.

Présenté par :

- ✓ MEBARKI Amina
- ✓ BENAMEUR Linda
- ✓ ABDI Amel



Année universitaire : Juin 2008

Bc.29 2008

Remerciement

Nous remercions le bon dieu qui nous a donné le courage, la patience et la force pour continuer, et qui nous a aidé à élaborer cet humble travail.

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et notre gratitude pour tous ceux qui nous ont aidé et encouragé de près ou de loin à la Réalisation de ce mémoire
Plus particulièrement :*

Notre encadreur Dr Recherche Hocine, pour son, encadrement Précieux, sa patience, et ses conseils.

Les membres de jury qui ont bien accepté de juger notre travail Melle Bensagheir Salima.

Docteur Mekdad Samia spécialiste en Médecine légale à l'hôpital de JIJEL, pour l'aide qu'ils nous ont apporté, pour toutes les informations qui nous a données et ses encouragements.

Nous remercions le Commissariat central de JIJEL, avec ses responsables et ses agents pour leurs aides qui nous ont données, et leurs gentilles.

Sans oublier également nos enseignants de la Biologie de l'université de JIJEL.

Amel # Amina # Linda.

2008

Sommaire

Chapitre I. Introduction	1
---------------------------------------	---

Chapitre II. La Police scientifique

II.1. Technique d'identification de la victime et du meurtrier	4
II.1.1. Anthropométrie	4
II.1.2. Portrait-robot et reconstitution craniofaciale.....	4
II.1.3. Odontologie	5
II.1.4. Sérologie.....	5
II.1.5. Empreintes génétique	5
II.1.6. Dactyloscopie	5
II.2. Technique de reconstitution de la scène de crime	
II.2.1. Balistique	6
II.2.2. Noyade	6
II.2.3. Documents.....	6
II.2.4. Incendies et Explosion.....	6
II.2.5. Entomologie	7
II.2.6. Toxicologie.....	7

Chapitre III. ADN et le polymorphisme génétique

III.1. Généralités sur l'ADN	8
III.2. Quelques techniques de l'ADN recombinant.	8
III.2.1. Analyse électrophorétique	8
III.2.2. L'hybridation	9
III.2.3. Clonage d'ADN	9
III.2.4. La PCR.....	9
III.2.5. Séquençage	11
III.3. Le polymorphisme d'ADN	12
III.3.1. Polymorphisme de l'ADN nucléaire et l'ADN satellite	13
III.3.1.2. Les minisatellites.....	14
III.3.1.2. Les microsatellites	14
III.3.2. Polymorphisme d'ADN mitochondrial.....	15

Chapitre IV. Etablissement des empreintes génétiques

IV.1. Définition d'empreinte génétique	16
IV.2. Les prélèvements	16
IV.2.1. Prélèvement sur scène de crime	16
IV.2.1.1. Technique de prélèvement	16
IV.2.1.1.1. Traces de sang	17
IV.2.1.1.2. Traces du sperme	18
IV.2.1.1.3. Traces de salive	18
IV.2.1.1.4. Cheveux et les poils	18
IV.2.1.1.5. Prélèvement sur cadavre	19
IV.2.2. Prélèvement sur individus.....	19
IV.2.2.1. Prélèvement sanguin	19

IV.2.2.2. Prélèvement buccaux	19
IV.2.2.3. Prélèvement des cheveux	20
IV.2.2.4. Prélèvement des traces de sperme.....	20
IV.2.3. Conditionnement.....	20
IV.3. Préparation de l'ADN à analyser	21
IV.4. Conservation des échantillons.....	21
IV.5. Analyse de l'ADN nucléaire	22
IV.5.1. Sondes multilocus	22
IV.5.2. Sondes monolocus.....	23
IV.5.3. Analyse RFLP	23
IV.5.4. Analyse PCR / STR.....	24
IV.5.5. Analyse de l'ADN mitochondrial	25

Chapitre V. Les applications des empreintes génétiques

V.1. Identification des individus	26
V.1.1 Recherche d'identité	26
V.1.2. Identification à partir des cheveux	26
V.1.3. Identification des cadavres	27
V.1.4. Résolution des problèmes criminalistiques	27
V.2. En médecine légale	28
V.2.1. Recherche de paternité et maternité	28
V.2.2. Recherche de parenté biologique.....	29
V.3. Législation et bases de données à travers le monde	30
V.3.1. Algérie	30
V.3.2. France	30
V.3.3. Etats-Unis	31
V.3.4. Canada	31

Chapitre VI. Discussion et Conclusion.....

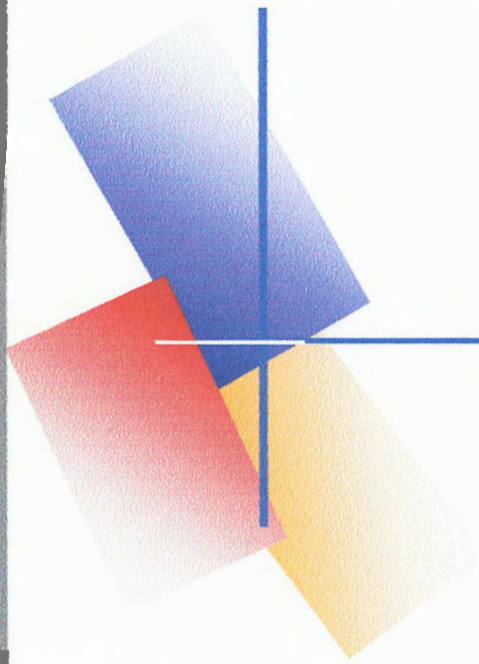
<i>Références</i>	38
--------------------------------	-----------

Liste des Abréviation

A : Adénine
ADN : Acide Disoxyribo Nucléique
ADNmt : ADN Mitochondrial
ARN : Acide Ribo Nucléique
ARNm : ARN messagé
ARNr : ARN ribosomique
ARNt : ARN transport
BNDG : Banque National des Données Génétique
C : Cytosine
dATP, dCTP, dGTP, dTTP : Désoxy Nucléique Tri Phosphate
ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP : didésoxy Nucléique Tri Phosphate
FAED : Un Fichier Automatisé des Empreintes Digitales
FNAEG : Fichier National Autorisé des Empreintes Génétique
G: Guanine
HLA: Human Leucocyte Antigene
Kb: kilo Base
Ng: Nanogramme
OH : Groupement Hydroxyle
P : Groupement Phosphate.
PCR : Réaction en Chaîne de Polymérase
QTL : Quantitative Trait Loci
RFLP : Polymorphisme de Longueur des Fragment de Restriction
SNP : Polymorphisme Simple de Nucléotide
SSR : Simple Séquence Repeats
STR : Séquence courte Répétée en Tandem
T : Thymine
Tm : Température de fusion
VNTR: Variation of Number Repeats

Chapitre I

Introduction



I. Introduction

Alors que le dernier tiers du XIXe siècle découvre avec appréhension que « ce sont toujours les mêmes criminels qui commettent les mêmes crimes » et que « la prison fabrique des criminels », les récidivistes qui représentent la moitié de la population pénale en France à la fin du siècle sont à l'origine d'une véritable obsession et le « criminel d'habitude » devient la préoccupation majeure des juristes, des pénalistes, et des médecins que l'on trouve aux origines de l'anthropologie criminelle et de la criminologie naissantes [Schnapper, 1983].

Les justiciables ont vite compris la nécessité de ne pas révéler leur véritable identité ou les identités sous lesquelles ils ont été précédemment condamnés. Le problème pour la justice tient donc à la nécessité d'identifier un même individu condamné sous des noms différents. Dans la pratique, distinguer les « chevaux de retour » des « délinquants primaires », supposait résolu deux problèmes différents : garder la mémoire des condamnations prononcées et identifier à coup sûr un individu déjà condamné. Pour savoir si un prévenu a déjà été condamné, la solution est relativement simple : il suffit de garder la trace de toutes les condamnations prononcées par la justice.

Depuis les années 80, plusieurs méthodes classiques ont été mises en évidence, comme par exemple « les sommiers judiciaires » sous forme de gros registres dans lesquels les affaires étaient notées (les condamnations) à la suite, de façon chronologique, il a dû s'adapter et répondre aux nécessités de classement alphabétique, malgré qu'il y a des différents changements pour développer ce système mais il est heurté à deux obstacles et défauts majeurs : l'inflation des fiches, 8 millions en 1893, rendait toute recherche lente, longue, difficile d'autant que ces difficultés étaient aggravées par les homonymies mais le vrai problème tenait au fait que les sommiers ne faisaient que compiler les condamnations prononcées par les tribunaux, la principale difficulté restait donc d'identifier de façon sûre les individus et de les reconnaître sous quelque identité que ce soit. C'est pour ça la police et la justice en était réduite à des systèmes rudimentaires reposant sur la mémoire des policiers et du personnel pénitentiaire ou sur la naïveté des intéressés.

La préfecture de police, toujours à la pointe de la modernité, employait des méthodes plus modernes telles que l'utilisation des fiches de signalement et des photographies. Cependant, les unes et les autres étaient parfaitement inutilisables, puis l'idée d'utiliser l'identité anthropométrique (mesure des squelettes) par Alphonse Bertillon qui put expérimenter sa méthode à la fin de 1882. Le monde scientifique informé de sa réussite par des articles parus dans les annales de démographie internationale et la revue politique et littéraire donna à sa découverte un grand retentissement. Mais cette méthode ne permettait pas l'obtention d'une garantie absolue de l'identité, elle n'aboutissait qu'à une probabilité. Ce moyen, ce fut la dactyloscopie qui l'apporta ou « empreinte digitale » avec une marge d'erreur de 1/68. En outre, ces techniques offrent un avantage considérable pour les enquêtes : celui de subsister sur les lieux du forfait après le passage d'un criminel, elles allaient bouleverser la police judiciaire en permettant d'identifier les auteurs de crimes mêmes insoupçonnés.

C'était en 1902 qu'un assassin fut identifié la première fois, convaincu de meurtre et condamné à l'aide de ses seules empreintes digitales (affaire Scheffer). L'événement a été présenté dans la légende dorée de la police technique et scientifique comme étant la première identification au monde par empreintes digitales d'un criminel duquel on n'avait aucune idée et sur lequel ne pesait aucun soupçon. Il n'en pose pas moins quelques problèmes, il n'est pas absolument certain que l'enquête « ordinaire » ne serait pas arrivée au même résultat ou même n'a pas orienté de façon décisive les recherches de Bertillon [Bertillon, 1912]. Elle apporta une considération supplémentaire aux limiers et en particulier aux policiers de laboratoires qui semblaient désormais en mesure de résoudre de façon « magique » toutes les énigmes criminelles avec l'aide de la science et de ces outils, elle sembla surtout annoncer une police désormais infaillible. L'affaire Scheffer présente un autre aspect plus inquiétant, il concerne le rôle de l'expert convoqué par la justice pour dire le vrai.

L'indice mis en lumière par les policiers de laboratoires ne constitue pas une preuve en soi : il s'inscrit dans l'enquête traditionnelle, mais ne la remplace pas. Il fournit des pièces, parfois essentielles, dans un puzzle dont la reconstruction incombe à l'enquêteur, mais il ne peut que rarement apporter une preuve décisive. S'il ne dit que la vérité, l'indice matériel ne dit pas toute la vérité et les empreintes d'un suspect retrouvées sur le lieu du crime ne prouvent pas sa culpabilité, en revanche, comme l'ont montré des affaires récentes, l'un des apports essentiels des techniques nouvelles d'identification comme l'ADN semble bien d'avoir permis, à défaut d'identification du coupable, d'innocenter des innocents accablés par les soupçons, les circonstances, voire leurs aveux [Berlière, 1996].

La criminalistique est une branche scientifique sur laquelle sont fondées les techniques d'identification des individus à partir d'indices divers ; de la caractérisation sur les scènes de crime, de traces biologiques ou chimiques, même les plus infimes, ou encore de l'établissement de la date du décès lors de la découverte d'un cadavre [Pol, 2001] comme la balistique, empreintes digitales, Noyade et l'anthropométrie...etc. Mais toutes ces techniques restent insuffisantes et perfectibles, surtout avec la complexité de la vie moderne (émigration, internet, ...). La recherche de nouvelles biotechnologies de l'identification des individus dans un cadre judiciaire ou criminel, nécessite la fructification des retombées technologiques des progrès spectaculaires et récents dans les Sciences de la vie, notamment en Biologie Moléculaire.

La Biologie Moléculaire est une discipline scientifique au croisement de la Génétique, de la Biochimie et de la Physique, dont l'objectif est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire. Elle est apparue au XX^e siècle, à la suite de l'élaboration des lois de la Génétique, la découverte des chromosomes et l'identification de l'ADN comme support chimique de la formation génétique. La Biologie Moléculaire désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques, appelées technique de génie génétique. Parmi ces techniques, on trouve le clonage, l'hybridation, l'électrophorèse et la PCR (Polymerase chain reaction). Après la découverte de la structure en double hélice de l'ADN en 1953 par James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin et les enzymes de restriction, la Biologie Moléculaire a connu un important développement

pour devenir un outil incontournable de la Biologie moderne à partir des années 1970 [Morange, 2003].

Les êtres humains sont identiques à 99,9% au niveau de leurs séquences d'ADN, cela veut dire qu'une base sur mille diffère d'un individu à l'autre. Sachant que le génome humain possède environ trois milliards de paires de bases, un simple calcul montre que notre génome est différent de celui de notre voisin pour 03 millions de bases [Sabatier et al, 2006]. Dès le début des années 1980, les premiers polymorphismes de l'ADN ont été mis en évidence. Il s'agissait de changement d'un seul nucléotide créant ou abolissant un site de coupure pour une enzyme dite de restriction. Ces enzymes issus de bactéries dont il existe une très grande variété, reconnaissent une courte séquence d'ADN de 4 à 8 bases généralement, et coupe l'ADN à ce niveau. On parle communément de polymorphisme de restriction. Ce polymorphisme est caractérisé par les deux formes ou allèles possible que peut prendre la séquence d'ADN considérée ; puisque les deux brins de l'ADN existe : un allèle sera reconnu est coupé par l'enzyme de restriction, l'autre ne le sera pas. L'existence du polymorphisme, peut être révélé par la technique du Southern blot mise au point par l'anglais Southern en 1975. Cependant ces marqueurs sont peu performants pour la réalisation d'empreintes génétiques.

Au milieu des années 80 d'autres marqueurs polymorphes, appelés des mini-satellites ont été découverts, c'est Alec Jeffreys de l'Université d'Oxford qui fut le premier à utiliser les mini-satellites pour créer des empreintes génétiques, il est désormais considéré comme le père des empreintes génétiques. Vers la fin des années 1980 la découverte d'un nouveau type de polymorphisme, les microsatellites, couplé à l'utilisation d'une nouvelle technique révolutionnaire la PCR qui permis une nette avancée pour la réalisation d'empreintes génétiques.

On appelle empreintes génétiques le profil génétique d'un individu. Ce profil permet d'établir l'identité génétique d'un individu à partir d'une tache de sang, d'un cheveu, de la salive, des traces de sueur sur un vêtement, a fortiori une goûte de sperme même si elle est de faible quantité qui se trouve sur scène de crime [Beuzelin Bourlier, 2003]. Les applications des empreintes génétiques sont diverses et nombreuses dont lesquelles on trouve la recherche de la paternité, la maternité et la parenté biologique qui peut être serviable dans les cas des accidents et catastrophe naturelles.

A travers ce rapport, nous ne prétendons pas répondre à toutes les questions que pose cette biotechnologie. Notre intention se limite à établir un constat et à tenter d'apporter quelques éléments de réponses concernant les aspects les plus pertinents. Ce manuscrit est organisé successivement en six chapitres : introduction, police scientifique, ADN et polymorphisme génétique, établissement d'empreintes génétiques, applications d'empreintes génétiques et conclusion.

Chapitre II

Police scientifique



L'activité policière a particulièrement profité des découvertes scientifiques, notamment dans le domaine criminel. La criminalistique, branche de la science sur laquelle sont fondées les techniques d'identification des individus et de recherche des preuves matérielles dont découlent les méthodes de la police scientifique, a tiré un bénéfice considérable des progrès scientifiques et techniques, notamment en biologie. Il est ainsi par exemple, de la recherche et de l'identification des personnes à partir d'indices divers, de l'identification de traces biologiques ou chimiques, même les plus infimes, sur les scènes de crimes, ou de l'établissement de la date du décès lors de la découverte d'un cadavre [Scherlocke et Dorozynki, 1996].

II.1. Techniques d'identification de la victime et du meurtrier

II.1.1. L'Anthropométrie

L'anthropométrie est une technique d'identification par mesure du corps humain et de ses parties. Surnommée le Bertillonnage, elle fut créée en 1879 par Alphonse Bertillon (1853-1914). Bertillon ajouta des données telles que la taille, la circonférence des crânes, la longueur des membres (en vergeure des pieds, des bras, des oreilles...), le taux de poitrine ainsi que des remarques inhabituelles telles que des cicatrices- cette technique réussit à mettre la main sur trois cents repris de justice la seule année 1884. Il fut nommé chef du service de l'identité judiciaire de la préfecture de police en 1893, où il contribua à faire progresser les techniques policières, exigeant notamment le relevé des indices sur le lieu du délit [Bertillon, 1912].

II.2.2. Portrait robot, reconstitution craniofaciale

C'est l'idée d'utiliser les différents éléments d'identification de l'assassin obtenus par plusieurs témoignages pour aboutir à un portrait du présumé meurtrier. Largement diffusé dans la presse, ce premier portrait robot permet rapidement l'arrestation d'un repris de justice qui avoue le crime. Le portraitiste utilise des centaines de gabarits de visages déjà dessinés, des épais classeurs contenant la banque de données d'innombrables visages humains. Aujourd'hui, des logiciels permettent d'obtenir le même résultat (à partir d'éléments dessinés ou photographiques) avec beaucoup plus de rapidité, et surtout avec possibilité de retouches instantanées. La technique du vieillissement par ordinateur (à partir d'une photo) est également utilisée pour certains dossiers. Cet outil a permis de résoudre des affaires criminelles importantes, pour lesquelles les services d'enquêtes avaient fort peu d'éléments matériels, mais il reste approximatif et faillible. La reconstitution craniofaciale a le même but que le portrait robot, c'est-à-dire de donner un visage à une personne inconnue [Pesnot, 1999].

II.1.3. Odontologie médico-légale

C'est l'étude et le traitement des dents ayant pour fonction d'éclairer la justice : elle sert essentiellement à identifier des cadavres. En effet, la dent étant le matériau le plus minéralisé de l'organisme Elle peut résister aux agressions qui détruisent les tissus biologiques, puisque l'élévation de la température ne l'altère qu'en atteignant des degrés extrêmes. A l'heure actuelle, chaque intervention médicale effectuée en bouche donne lieu à la conservation d'archives, et ce grâce au système social existant dans la plupart des pays industrialisés. En absence de schéma dentaire comme pour les enfants dont les dents parfaites ou non n'ont réclame aucune intervention dentaire, l'expert en odontologie légale peut même faire des comparaisons efficaces avec des documents photographiques pris avant la mort, à condition bien sur que le cliché offre une bonne vue des dents antérieures. Cette discipline ne peut évidemment, pas être prospective (comme l'est l'ADN qui, à partir d'un fragment d'individu, reconstitue son identité complète) mais simplement coopérative [Pesnot, 1999].

II.1.4. Sérologie

C'est l'étude des groupes sanguins et tissulaires, découverts en 1900. Il permet d'identifier pour la première fois le système ABO. En 1915, elle est développée le premier teste d'identification de ces groupes avec des anticorps et l'utilisa une affaire judiciaire. De même que pour les analyses d'ADN le prélèvement sanguin nécessaire à ce genre de technique n'est pas une obligation. Ce qui entraîne les mêmes conséquences sur les possibilités d'identification certaine des coupables. Les conditions de prélèvement et de transport ainsi que le facteur humain limitent cette méthode [Lebourg et al., 2002].

II.1.5. Empreintes génétiques

La caractérisation par empreintes génétiques permet d'exclure ou d'identifier un individu par comparaison. Les indices exploitables pour ce genre de caractérisation sont en générale du sang, du sperme, des cheveux et des poils, mais aussi des cellules de la muqueuse buccale, de la salive (retrouvé sur un mégot, un timbre, du chewing-gum, un goulot de bouteille, une cagoule ou un masque ...) ou des dents (et autres ossements). Il existe deux méthodes de traitement de l'ADN en laboratoire : La RFLP (l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restrictions), la PCR (réaction en chaîne de polymérase). De plus, puisqu'il n'existe aucune Banque de données qui regrouperait les empreintes génétiques (pour des raisons éthiques), et puisqu'un suspect présume a le droit de refuser une analyse génétique cette méthode reste assez limitée [Rouger, 2000].

II.2.6. Dactyloscopie

C'est l'étude des empreintes digitales ou (traces papillaires) que chaque individu laisse sur tous les objets qu'il touche directement. Ces traces sont différentes pour chacun d'entre nous, mais elles sont aussi immuable et inaltérable, ce qui en fait, au même titre que l'ADN un moyen d'identification très fiable et pratique. Il existe un fichier automatisé des empreintes digitales (FAED), qui est un fichier informatique d'aide à l'identification basé sur le traitement de l'image et sur une forte puissance de calcul. Le FAED détecte les empreintes d'identité et attribue ces traces à des personnes

déjà connues de ce fichier. A ce jour il contient plus de 900 000 fiches [Lebourg et al., 2002].

II.2. Technique de reconstitution de la scène de crime

II.2.1. Balistique

Chaque arme possède une marque spécifique et qu'elle la transmet à la balle projetée. L'idée est ensuite reprise que le premier principe de la balistique Cette spécificité pourra donc servir dans la reconnaissance de l'arme du crime à partir du projectile et donc peut être pour l'identification de tireur. Les policiers peuvent contrôler les déclarations d'une personne mise en cause en reconstituant la position du tireur et celle de la victime [Pesnot, 1999].

II.2.2. Noyades

Comment différencier une noyade accidentelle d'une noyade criminelle ? La question préoccupe les esprits depuis toujours. En 1630, un anatomisme découvre que c'est l'eau introduite dans les poumons qui est la cause de la mort. Au XV^{III}^e siècle, des savants y découvrent également un liquide aqueux et écumeux. Rien ne peut déterminer une noyade criminelle à part des marques de violence. Il est donc indispensable de procéder à une enquête [Pesnot, 1999].

II.2.3. Documents

Il existe deux types de documents à analyser, d'une part, la comparaison d'écriture : il s'agit de comparaison entre le document en question et un autre pour déterminer si les auteurs sont les mêmes. Pour cela on se base sur la mise en page, l'espace entre les mots ou la taille des lettres. C'est une technique fréquemment utilisée et très importante dans le cas d'envoi de lettres anonymes. On recherche également les foulages éventuels sur du papiers (par exemple un bloc not) c'est-à-dire restituer un texte à partir de traces en creux laissées sur une page. D'autre part, la comparaison des faux documents tels que la falsification de chèques, de testaments ; étude de l'encre, du papier et de l'imprimerie (par exemple caractéristique d'une machine à écrire) [Fombinne, 1996].

II.2.4. Incendies et Explosion

Le but est d'identifier le produit ayant pu par sa combustion, causer le sinistre. Dans le cas d'une explosion, on recherche le micro particules de l'explosif sur les matériaux ayant été touchés par le souffle. L'analyse par comparaison se fait par chromatographie afin d'identifier le produit utilisé. Dans le cas d'un incendie, l'enquête technique commence par la localisation du point de départ de l'incendie. Ensuite on recherche un liquide inflammable afin de savoir si l'incendie est du à un acte criminelle, pour cela il est important de prendre en compte les lieux de l'incendie car celui-ci aurait pu être déclenché involontairement par des produits s'y trouvant. L'analyse des produits calcinés se fait aussi par chromatographie en phase gazeuse (car les éléments sont volatils) puit par comparaison avec des produits inflammables témoins [fombinne, 1996].

II.2.5. L'entomologie

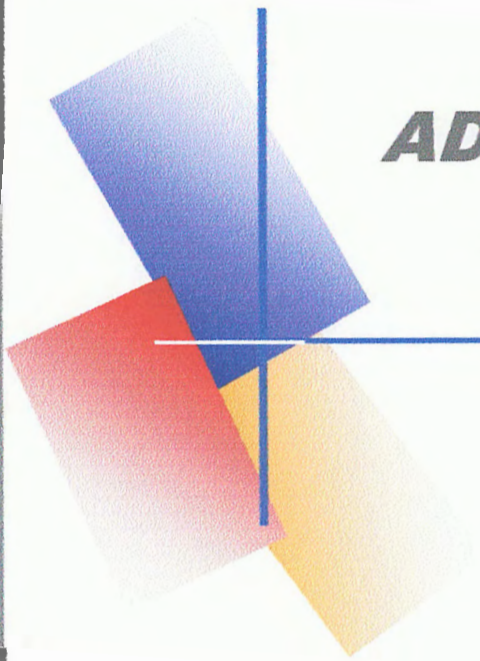
C'est l'étude des insectes nécrophages. Cette science va permettre de dater la mort ainsi que les éventuels déplacements du cadavre. L'intérêt de cette technique repose sur le fait que les insectes ne sont pas tous attirés par le cadavre au même stade de putréfaction. Une fois sur le cadavre, l'insecte pond ces œufs. Les enquêteurs auront donc à analyser le stade de développement des insectes pondus sur le cadavre pour évaluer depuis combien de temps ils y sont. Mais cette méthode n'est pas d'une précision absolue car les conditions climatiques viennent modifier la datation. En effet, un corps ne se décompose pas de la même manière selon qu'il fait chaud ou froid. De plus, les insectes ne pondent ni la nuit ni à une température inférieure à 14°C [Chauveau, 2000].

II.2.6. Toxicologie et stupéfiants

Dans le cas d'une mort suspecte, on recherche des traces de produits toxiques qui auraient pu provoquer la mort. On analyse les liquides biologiques (sang, urine), le contenu gastrique, les viscères ou les boissons et aliments que la victime a avalés, également les cheveux car ceux-ci gardent en mémoire les traces de drogues. Pour l'analyse, il est nécessaire de prendre en compte le fait que certains produits disparaissent très vite du sang mais restent environ 24 heures dans les urines. Mais cette analyse est très complexe car notre monde compte plus de dix millions de substances chimiques connues à ce jour. Pour cela, il est nécessaire que les enquêteurs connaissent le maximum d'informations concernant les circonstances du crime (meurtre par arme, viol, traitement suivi par la victime et accès de la victime à certains produits chimiques [Scherlocke et Dorozynki, 1996]).

Chapitre III

**ADN et polymorphisme
génétique**



III.1. Généralités sur l'ADN

Chez la plupart des organismes (végétaux, animaux, les bactéries), les molécules d'ADN sont les porteuses de l'information génétique. Ces molécules d'ADN sont des molécules linéaires formées par un enchaînement de nucléotides. Un nucléotide est composé d'un sucre (pentose à 5 carbones numérotés de 1' à 5') porteur d'un groupe phosphate sur son carbone 5' est d'une base azoté sur son carbone 1. Dans l'ADN, le désoxyribose est porteur d'une des 04 bases A (adénine), G (guanine), C (cytosine) ou T (thymine). Les nucléotides sont enchaînés les uns aux autres par une liaison phosphodiester qui lie le phosphate en 5' d'un nucléotide à l'hydroxyle en 3' du nucléotide qui le précède. La synthèse d'une molécule d'ADN est orienté dans un sens 5' → 3' de sorte que le brin final est lui-même orienté avec une extrémité 5' P est une extrémité 3' OH [Serre, 2002].

L'ADN existe dans la nature sous sa forme la plus connue, « double hélice ». Les aspects de base de cette structure ont été développés par James Watson et Francis Crick en 1953. Deux chaînes séparées d'ADN sont enroulées l'une autour de l'autre, chacune suite une allure hélicoïdale (enroulement), produisant une double hélice enroulée vers la droite les squelettes de sucre phosphorique se trouvent à l'extérieur et les bases planaires de chaque brins se déposent l'une au-dessus de l'autre au centre de l'hélice. Les brins sont liés de manière non covalente par une liaison hydrogène entre les bases sur des brins opposés pour former des paires de bases. La double hélice d'ADN contient environ 10 paires de bases par tour. Les deux brins sont orientés dans des directions opposés (antiparallèles), suivant leur direction 5' → 3' et le plus important et que les deux brins soit complémentaires en terme de séquence (fig. 1) [Turner et al., 2000].

III.2. Quelques techniques de l'ADN recombinant

III.2.1. Analyse électrophorétique

L'électrophorèse est un des principaux outils de biologie moléculaire. Le principe de base est consiste à faire migrer dans un certain milieu des molécules chargées en présence d'un champ électrique, date des années trente. Cependant, elle est devenue une Technique très répandue d'analyse et de séparation d'ADN (on l'utilisait initialement pour la migration de protéines) avec l'utilisation de gel d'agarose ou de polyacrylamide. L'ADN est déposé dans un gel d'agarose en présence d'un marqueur qui devient fluorescent lorsqu'il s'intercale dans l'ADN. L'ADN est migré vers l'électrode + (phosphates des molécules d'ADN sont chargés négativement), mais les mailles du gel d'agarose par exemple permettent de séparer les molécules en fonction de leur taille. Cette méthode permet de vérifier la taille de fragments d'ADN, et de les séparer ensuite. On peut aussi l'utiliser pour détecter la présence d'une séquence spécifique dans des fragments donnés. C'est la technique du Southern Blot : en 1975. Après l'électrophorèse d'ADN double brin, le gel est transféré sur une membrane et l'ADN double brin dénaturé en simple brin. Cette étape permet de réaliser l'hybridation de l'ADN cible avec la sonde [Alberts et al, 1994].

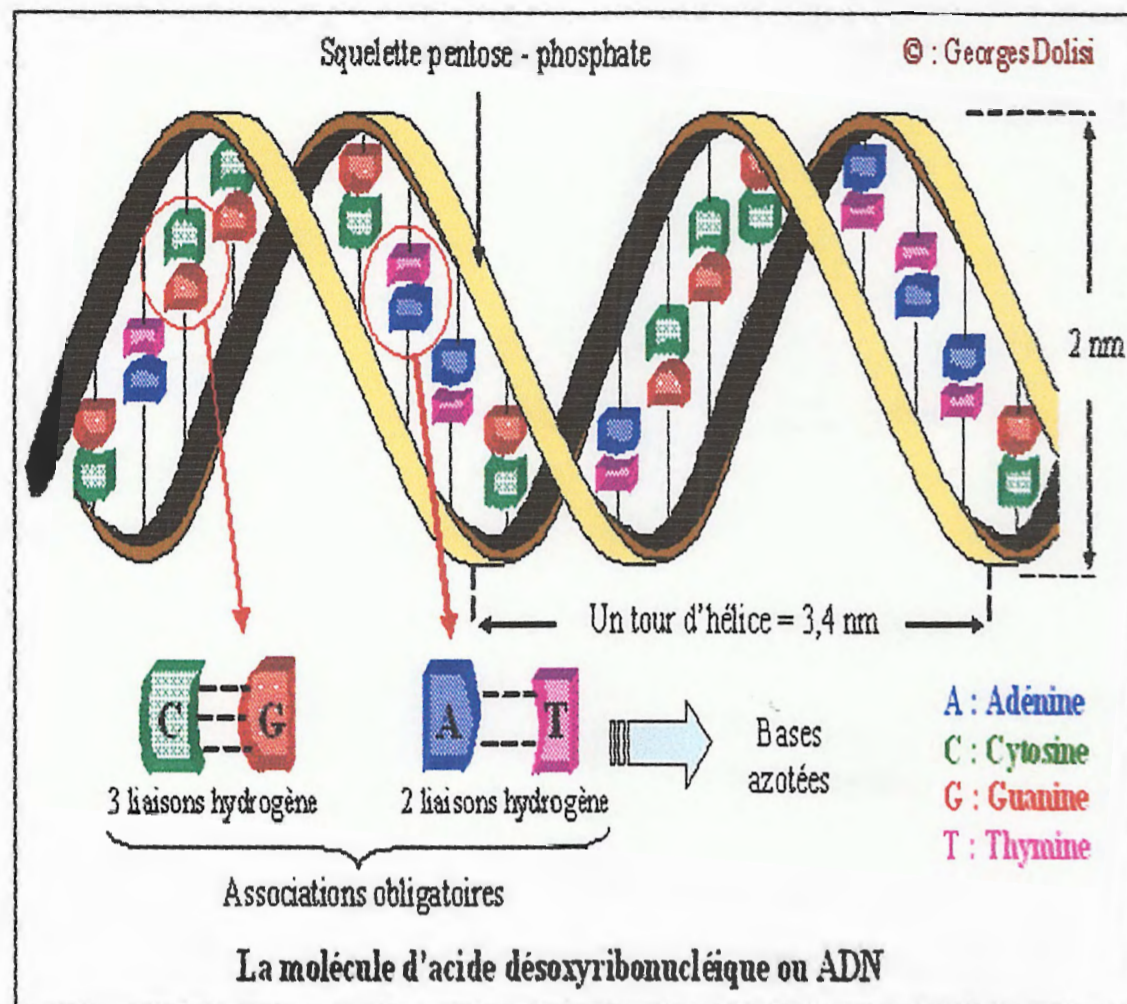


Fig 1. Représentation schématique de la structure d'ADN en double hélice [Watson et Crick., 1953].

III.2.2. L'hybridation

L'hybridation moléculaire est l'association de deux séquences nucléotidiques complémentaires. C'est une méthode d'une haute spécificité puisqu'elle permet de détecter une séquence parmi des milliards d'autres. Elle est utilisée pour identifier et éventuellement quantifier une cible (ou un ensemble de molécules) d'ARN ou d'ADN particulières. La molécule (ou l'ensemble de molécules) servant à la cible s'appelle la « sonde ». Elle est mélangée à une température légèrement inférieure au T_m , de manière à permettre l'association spécifique entre la sonde et la séquence d'acide nucléique cible. Trois méthodes d'hybridation principales sont utilisées : l'hybridation en milieu liquide, l'hybridation sur support solide et l'hybridation *in situ*. L'hybridation en milieu liquide est réalisée au cours de l'amplification enzymatique *in vitro*. L'hybridation sur support solide utilise des membranes de nitrocellulose, ou membranes synthétiques à base de nylon. L'immobilisation des séquences nucléotidiques (la cible ou la sonde) sur la membrane permet une séparation simple par lavage des séquences non hybridées. L'hybridation *in situ* est utilisée pour repérer une séquence donnée d'ARN ou d'ADN à l'intérieur d'une cellule. Dans le cas des cellules eucaryotes, l'hybridation *in situ* permet aussi la localisation des gènes sur les chromosomes [Devern- Euil, 2003].

III.2.3. Clonage d'ADN

Pour étudier une séquence d'ADN spécifique (par exemple un gène d'intérêt). Il est nécessaire d'en posséder une certaine quantité. Il est possible d'amplifier sélectivement une séquence d'ADN grâce au clonage. Cette technique permet d'obtenir une population homogène de fragments d'ADN à partir d'un mélange de molécules d'ADN très différentes les unes des autres, ou à partir de tout l'ADN d'un génome. Dans ce cas, des manipulations sont nécessaires pour identifier l'ADN d'intérêt, pour le séparer du reste de l'ADN et pour le multiplier (cloner) sélectivement. L'identification du fragment d'ADN correct fait appel à l'hybridation spécifique de molécules d'ADN simple brin complémentaires (hybridation moléculaire). Un court fragment d'ADN simple brin une sonde originaire de la séquence à étudier, hybride à ses séquences complémentaires après que celle-ci ont été dénaturées (rendues simple brin, analyse de Southern Blot). Ainsi que les séquences d'ADN clonées et amplifiées par deux manières : dans des cellules (clonage à l'aide de cellules) ou indépendamment de toute cellule (PCR) [Eberhard, 2003]

III.2.4. Technique de PCR

Plusieurs méthodes ont été mises au point pour amplifier de manière sélective, soit une séquence d'ADN, soit une séquence d'ARN. Toutes les techniques d'amplification sont des techniques de seconde génération qui supposent que le fragment d'intérêt a déjà été cloné et séquencé, au moins partiellement à ces extrémités. Dans ce cas il suffit d'un peu d'ADN génomique (ou plasmidique) contenant le fragment d'intérêt, ou de quelques molécules d'ARN dans un mélange, pour pouvoir amplifier *in vitro*, ce seul fragment et en obtenir d'importantes quantités afin d'un réaliser l'étude, les techniques de digestion,

de séparation, de transfert et d'analyse de première génération devenant alors inutiles. La plus célèbre et la plus utilisée des méthodes d'amplification sélective est la PCR (Polymérase Chain réaction) mise au point en 1985 par Kary Mullis (prix Nobel de chimie en 1993), elle a révolutionné la biologie Moléculaire et ses applications (simple, rapide et économique) [Serre, 2002].

La technologie PCR est particulièrement utile, lorsque les empreintes génétiques sont établies à l'aide de séquences courtes répétées en tandem (STR), c'est de cette technique précise dont nous traitons maintenant l'analyse génétique en criminalistique [Petkovski, 2006]. Aujourd'hui, les microsatellites sont détectés par amplification PCR grâce à des amorces marquées par les fluorophores et analysées par électrophorèse capillaire automatique. La technique PCR permet d'amplifier sélectivement des fragments d'ADN qui intéressent l'expert en criminalistique et de tirer profit de fragments qui comportent des différences courantes entre les individus [Petkovski, 2006].

Pour effectuer une PCR, l'ADN à amplifier est mélangé avec une solution de Taq polymérase, une paire de polynucléotides amorces et les 04 désoxy ribonucléotides Triphosphates, la quantité initiale d'ADN peut être très faible, car la PCR est une technique très sensible qui fonctionne même à partir d'une seule molécule, les amorces sont nécessaires à l'initiation de la polymérase. Elles doivent s'attacher à chacune des deux extrémités du fragment d'ADN à amplifier, ce qui sous-entend la connaissance des séquences de ces extrémités afin de pouvoir les synthétiser de manière appropriée.

La réaction démarre par le chauffage du mélange réactionnel jusqu'à 94°C. A cette température, les liaisons hydrogènes des molécules d'ADN bicaténaire sont rompues et l'ADN dénaturé sous forme de simple brin. La température est alors abaissée jusqu'à un palier de 50-60 °C où la quelle les amorces vont pouvoir créer des liaisons hydrogènes avec les bases complémentaires de la matrice et ce lier à l'ADN. La température optimale de la Taq polymérase, et la synthèse d'ADN peut commencer sur chacun des brins, les polynucléotides synthétisés auront tous une extrémité 5 terminale identique mais leurs extrémité 3 dépendra de la longueur de la chaîne polypeptidique synthétisée par la Taq polymérase, dont l'activité s'arrête au hasard, et on aura alors multiplié par deux matériel ADN de départ. Dans un second cycle de « dénaturation, hybridation, synthèse d'ADN » les produits serviront de matrice aux nouvelles synthèses en fixant à nouveau les amorces (fig. 2, 3). Les produits de la PCR peuvent être analysés de différentes façons mais, en général, on les analyse par électrophorèse sur gel d'agarose, une seule tache apparaît si la PCR a fonctionné correctement et n'a amplifié que le fragment d'ADN à étudier [Margaret et al., 2006].

La PCR a des limites qui sont : a) fin de synthétiser des amorces adéquates s'appariant correctement à chacun des deux brins, il est indispensable de connaître avec exactitude la séquence des extrémités de l'ADN bicaténaire que l'on veut amplifier. On ne peut donc pas utiliser cette méthode pour des fragments d'ADN ou des gènes non encore connus. La deuxième contrainte est celle de la limitation en longueur des séquences d'ADN qui peuvent ainsi être copiées et amplifiées, jusqu'à 5 Kb, l'ADN est amplifiable sans aucune difficulté, pour des fragments plus long jusqu'à 40Kb, on peut modifier la technique sans trop de difficulté, mais pour les fragments de taille supérieure (>100Kb) la technique de PCR n'est plus applicable [Brown, 2004].

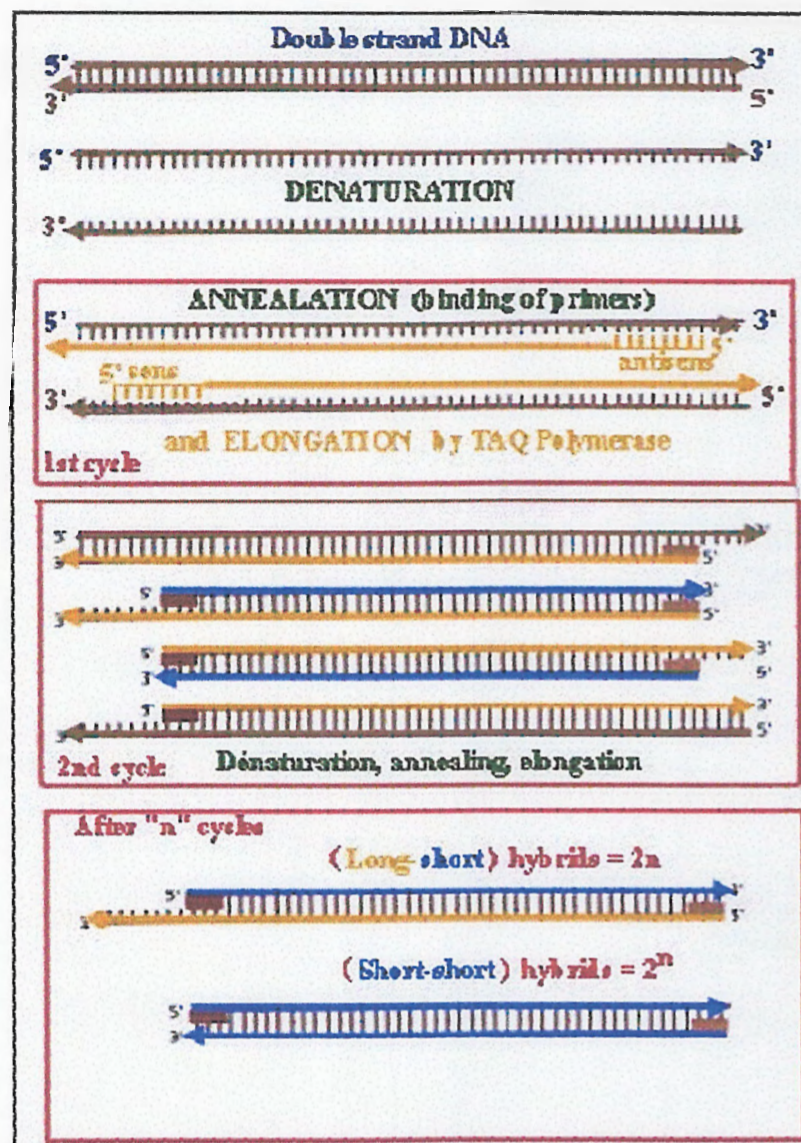


Fig 2. Schéma illustrant le mécanisme de la technique de PCR et ses Etapes [Margaret et al., 2006].

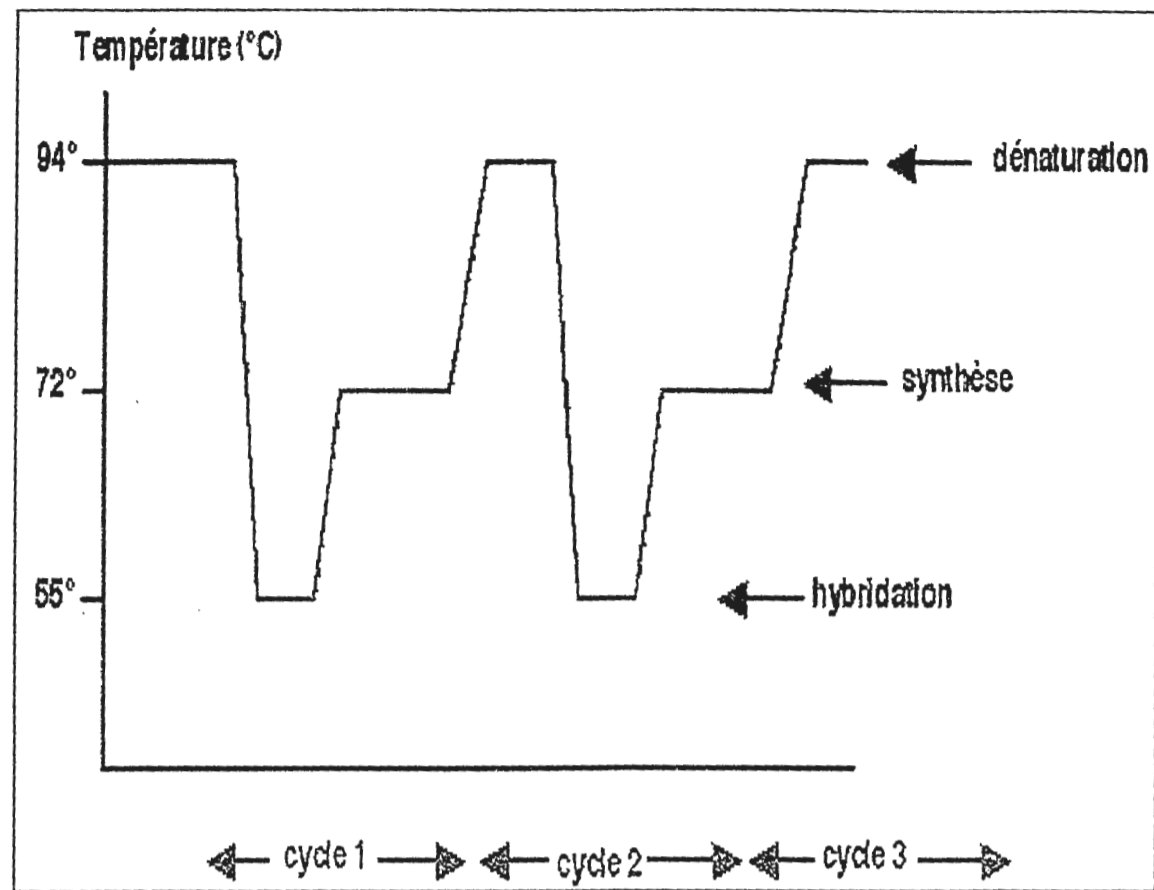


Fig 3. Evolution de la température et des différents types de brins d'ADN au cours des 4 premiers cycles de la PCR. La PCR est une technique basée sur une répétition de cycles de transition de température. Sauf pour certaines méthodologies (par exemple l'utilisation de sondes d'hydrolyse), chaque cycle contient trois étapes [Margaret et al., 2006].

III.2.5. Séquençage de l'ADN

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné. La séquence d'ADN contient l'information nécessaire pour la survie et la reproduction des êtres vivants. Déterminer cette séquence est donc utile aussi bien pour les recherches visant à savoir comment vivent les organismes que pour des sujets appliqués. En Médecine, elle peut être utilisée pour identifier, diagnostiquer et potentiellement trouver des traitements à des maladies génétiques. En Biologie l'étude des séquences d'ADN est devenue un outil important pour la classification des espèces. Cette technique a été inventée dans la deuxième moitié des années 1970. Deux méthodes ont été développées indépendamment, l'une par l'équipe de Walter Gilbert, au Etat-Unis en 1977, et l'autre pour celle de Frederik Sanger en Grande Bretagne [Sanger et al., 1977].

Ces deux méthodes sont fondées sur des principes diamétralement opposés. L'approche, de Maxam et Gilbert, une méthode qui utilise des réactions chimiques pour couper l'ADN à la hauteur de bases spécifiques, fut la méthode préférée [Dunnet et studier, 1983]. Le séquençage chimique peut réaliser en six étapes (marquage ; isolement du fragment d'ADN à séquencer, séparation de brins, modifications chimiques spécifiques, dégradation de l'ADN, analyse), mais cette technique est de moins au moins utilisée voir abandonner car elle est toxique, lourde et coûteuse.

A l'inverse la technique de Sanger est une méthode par synthèse enzymatique sélective, son principe consiste à initier la polymérisation de l'ADN à l'aide d'un petit oligonucléotide (amorce) complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer. L'élongation de l'amorce est réalisée par le fragment de klenow (une ADN polymérase I dépourvue d'activité exonucléase $5' \rightarrow 3'$) et maintenant par des ADN polymérases thermostable, celles qui sont utilisées pour la PCR. Les quatre désoxyribonucléotides (d'ATP, d'CTP, d'GTP, d'TTP) sont ajoutés, ainsi qu'une faible concentration de l'un des quatre didésoxynucléotides (ddATP, ddCTP, ddGTP ; ou ddTTP) [Sanger et al., 1977].

Ces didésoxynucléotides, agissent comme des « poisons » terminateurs de chaîne : une fois incorporés dans le nouveau brin synthétisé, ils empêchent la poursuite de l'élongation. Cette terminaison se fait spécifiquement au niveau des nucléotides correspondant au didésoxyribonucléotide incorporé dans la réaction. Pour le séquençage complet d'un même fragment d'ADN, on répète cette réaction quatre fois en parallèle, avec les quatre didésoxyribonucléotides différents par exemple, dans la réaction où on ajoute du ddGTP, la synthèse s'arrête au niveau des G. Le mélange réactionnel contenant, à la fois du dGTP et un peu du ddGTP, la terminaison se fait de manière statistique suivant que l'ADN polymérase utilise, l'un ou l'autre de ces nucléotides. Il en résulte un mélange de fragments d'ADN de tailles croissantes, qui se terminent tous au niveau d'un des G dans la séquence. Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide, ce qui permet ainsi de repérer la position des G dans la séquence (fig.4) [Sanger et al., 1977].

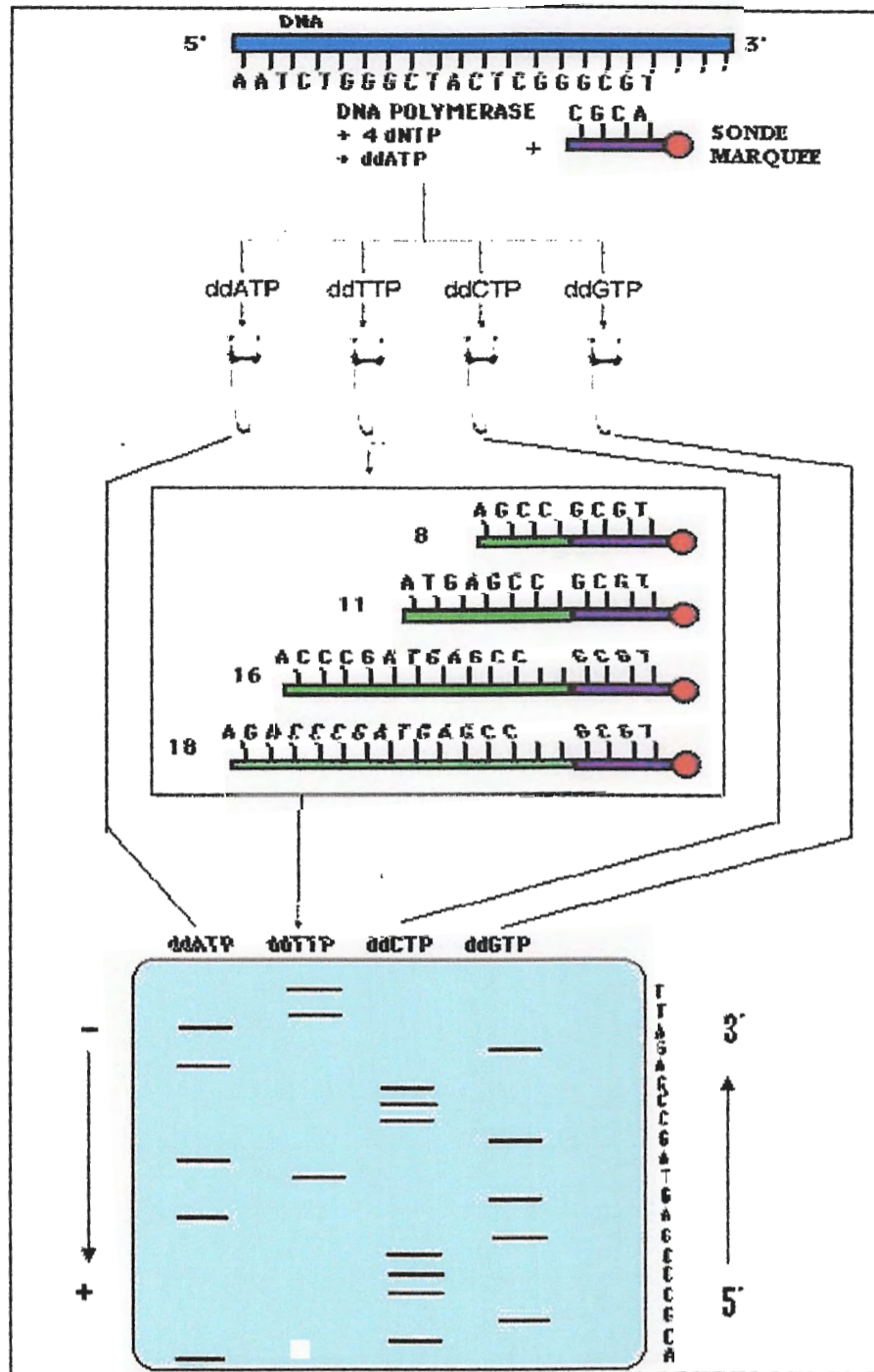


Fig 4. Représentation schématique de séquençage d'ADN (Méthode de Sanger) [Sanger et al., 1977].

La détection des fragments ainsi synthétisés se fait en incorporant un traceur dans l'ADN synthétisé. Initialement ce traceur était radioactif, aujourd'hui, on utilise des traceurs fluorescents, attachés soit à l'oligonucléotide, soit au didésoxyribonocléotide. [Stading, 1979]. La très grande majorité des séquences réalisées et publiées aujourd'hui sont réalisées sur des séquenceurs automatiques. Ceux-ci sont capables de réaliser les réactions de séquence, puis de les lire : pour cela, on marque les fragments d'ADN grâce à des marqueurs fluorescents. Une fois la réaction de séquence terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie, repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Les systèmes les plus modernes permettent même de lire les quatre nucléotides à partir d'une seule colonne de chromatographie. Le résultat est présenté par la machine sous forme de courbes présentant la fluorescence détectée, et l'interprétation qui en est faite en terme de nucléotides [Herbert, 2003].

III.3. Polymorphisme d'ADN

Le développement de la Biologie Moléculaire du gène et le séquençage de l'ADN, puis le séquençage du génome, ont permis de mettre en évidence l'existence de polymorphisme moléculaire d'ADN, une diversité génétique qui ne touche pas seulement les séquences des gènes mais se répartit sur l'ensemble du génome, aussi bien dans les séquences signifiantes (codantes ou non codantes) que dans les séquences inter-génique. De ce fait, ces polymorphismes sont très utiles dans nombres d'applications de la génétique de populations à la biodiversité, de l'étude de QTL (Quantitative Trait loci) ou de l'épidémiologie [Serre, 2006]. Un grand nombre de loci possèdent un certain nombre d'allèles relativement fréquents qui permettent de classer les membres d'une population dans des catégories phénotypiques distinctes. Le polymorphisme génétique est défini comme étant la présence d'allèles multiples à un même locus, lorsqu'au moins deux allèles présents ont une fréquence supérieure à 1%. Donc, des polymorphes sont des loci pour lesquels au moins 2 % de la population est hétérozygote [Margaret et al., 2006].

Un polymorphisme peut exister au minimum à trois niveaux : chromosome, gène ou longueur de fragment de restriction. Le polymorphisme de séquence d'ADN peut être aussi simple qu'une simple différence de nucléotide (comme sous le nom de SNP pour le polymorphisme simple de nucléotide), ou une insertion, ou une suppression d'un nombre des nucléotides. L'un ou l'autre de ces types de polymorphismes peut mener à des différences dans les capacités des enzymes de restriction de restreindre et de couper un site spécifique. Mais celui de longueur de fragment de restriction reste le plus utile dans l'établissement d'une empreinte d'ADN un système allélique est d'autant plus utile qu'il possède une information sur la transmission des allèles de génération en autre (tab.1) [Rossignol, 2000].



Tab.1 : Utilité des différents polymorphismes dans l'établissement des empreintes d'ADN [Rossignol, 2000].

	SNP (RFLP)	VNTR (Minisat) [Variable Number of Tandem Repeat]	STR (Microsat) [Short Tandem Repeat]
Polymorphisme	De substitution, Déletion/insertion	De répétition >10 nucléotides	De répétition à 5 nucléotides
Marqueur génétique	Biallélique	Multialléliques	Multialléliques
Informativité	+	+++	+++
Détection	Southern PCR (hybridation, RFLP)	PCR Southern	PCR uniquement

III.3.1. Polymorphisme de l'ADN nucléaire et ADN satellite

Pour 10 à 20 %, la molécule d'ADN est constituée par les gènes qui sont le support de l'information génétique. Ces unités codantes sont transcrites lors de la transcription en produits finaux (ARNt et ARNr) ou intermédiaire (ARNm) qui seront à leur tour traduits en polypeptides lors de traduction. En revanche, la plus grande partie (90 à 95%) de l'ADN nucléaire ne commande directement aucune synthèse protéique et l'on ignore actuellement sa fonction précise, dans cette partie non codante, l'analyse a mis en évidence des régions variables : il s'agit de segments d'ADN satellitaire [Etienne, 1999].

Le terme d'ADN satellite est justifié par le fait que celui-ci a été isolé pour la première fois ; par une technique de purification de l'ADN, qui consiste à procéder à une centrifugation à très grande vitesse (ultracentrifugation) dans une solution de chlorure de césium. Les fragments d'ADN présents dans la solution migrent jusqu'au niveau de région du tube qui correspond à leur propre densité. Celle-ci est d'autant plus forte que l'ADN est riche en C-G. On obtient un pic principal correspondant à la masse de l'ADN ordinaire et plusieurs petits pics de densités différentes du reste de l'ADN, en raison de leur faible teneur en C-G, appelées satellites [Rossignol, 2000]. Ces ADN satellites consistent en courtes séquences, de longues d'environ 5 à 100 paires de bases, répétées un grand nombre de fois pour former de grands ensembles qui contiennent jusqu'à 10 millions de paires de bases d'ADN. Les satellites sont dispersés dans le génome d'une espèce donnée et leur nombre varie selon l'espèce, par exemple, la *drosophila virilis* possède trois séquences satellites différentes, chacune d'elles est longue de sept nucléotides. Parallèlement, l'ADN génomique humain contient types différents de séquences satellitaires représentés par trois pics autour du pic principal lors de l'ultracentrifugation en gradient chlorure de césium, deux légers (I et III) et un lourd (II) comme le montre la (fig. 5). Il a été démontré maintes fois, en utilisant l'hybridation, que les ADN satellites sont localisés dans les centromères des chromosomes. Cependant, en dépit de plus de vingt ans de recherche, leur rôle n'est pas clarifié [Josué et al., 1998].

La taille de ces satellites, ou allèles, varie en fonction du nombre de répétitions, constituant une série. Ces zones se transmettent selon le mode mendélien : l'enfant reçoit un allèle de son père et un allèle de sa mère. Par exemple l'individu Xa, dans un locus, hérité de son père, une séquence satellite répétée trois fois ; et il a dans ce même locus hérité de sa mère la même séquence, mais elle sera répétée un nombre de fois différent, par exemple douze fois. Des études récentes considèrent que nous aurions 1500 zones de ce type, soit 1500 systèmes de polymorphisme. On distingue ainsi deux types de polymorphisme (tab.2) [Josué et al., 1998].

La quantification des satellites. L'absorbance à 260 nm, on constate la présence de trois pics principal, représentant trois types d'ADN satellites humains : deux pics satellitaire légers (I et III) et pic lourd (II) [Josué et al., 1998].

III.3.1.1. Les minisatellites

Les minisatellites sont constituées de séquences de 20 à 70 nucléotides, appelées cores, répétées selon les individus : (CAGCATCAGGTT) n . Ce sont des variables du nombre de répétitions en tandem qui justifient leur appellation de VNTR (variation of number repeats) [Salmon, 1998]. A titre d'exemple, la séquence correspondant à un allèle du minisatellite CEB310 (chromosome 22) est présentée dans la figure 6 avec les séquences flanquantes [kawchuk et al., 1996, Rossignol, 2000].

III.3.1.2. Les microsatellites (STR)

Les microsatellites sont des répétitions en tandem d'une très courte séquence de nucléotides (1 à 5), les plus fréquents sont les microsatellites de type (CA) n (fig. 7) [Etienne et al, 2001]. De nombreux microsatellites présentent un nombre variable de répétitions d'un membre à l'autre d'une même espèce. Ceci est dû au glissement qui peut se produire lors de la réplication de l'ADN, aboutissant à l'insertion ou plus rarement à la délétion d'une ou plusieurs unités de répétitions. Les mutations d'insertion ou de délétion peuvent survenir dans n'importe quelle partie du génome, mais, elles sont particulièrement fréquentes quand l'ADN contient des séquences répétées courtes comme celles qu'on trouve dans les microsatellites. Ceci parce que ces séquences répétées peuvent provoquer un glissement de réplication, dans lequel le brin matrice ou sa copie peuvent glisser de leur positions relatives de sorte qu'une partie de la matrice est copiée 2 fois ou bien omise. C'est la raison principale de la grande variabilité des séquences des microsatellites [Brown, 2004]. Les microsatellites ont un taux de mutation bien plus élevé que celui des autres séquences, jusqu'à 10^3 , et ont une haute probabilité de mutation inverse. Ils sont extrêmement utiles pour estimer les liens de parenté entre les populations d'une même espèce, mais ils évoluent généralement trop rapidement pour fournir des informations phylogénétiques entre les espèces [Muse, 2004].

Il n'existe pas aujourd'hui deux êtres humains avec exactement la même combinaison de microsatellites, si l'on examine un nombre suffisant de microsatellites on peut établir une carte d'identité génétique pour chaque personne. La seule exception étant les vrais jumeaux [Brown, 2004]. Ils sont de ce fait, devenus un outil précieux en médecine légale et en recherche de paternité. Le FBI utilise une série de 13 SSR (simple sequence repeats : microsatellites et minisatellites) pour typer chaque Américain de façon non redondante, bien que les problèmes relatifs à la déduction de l'identification individuelle devant les tribunaux fassent encore l'objet d'un débat [Muse, 2004].

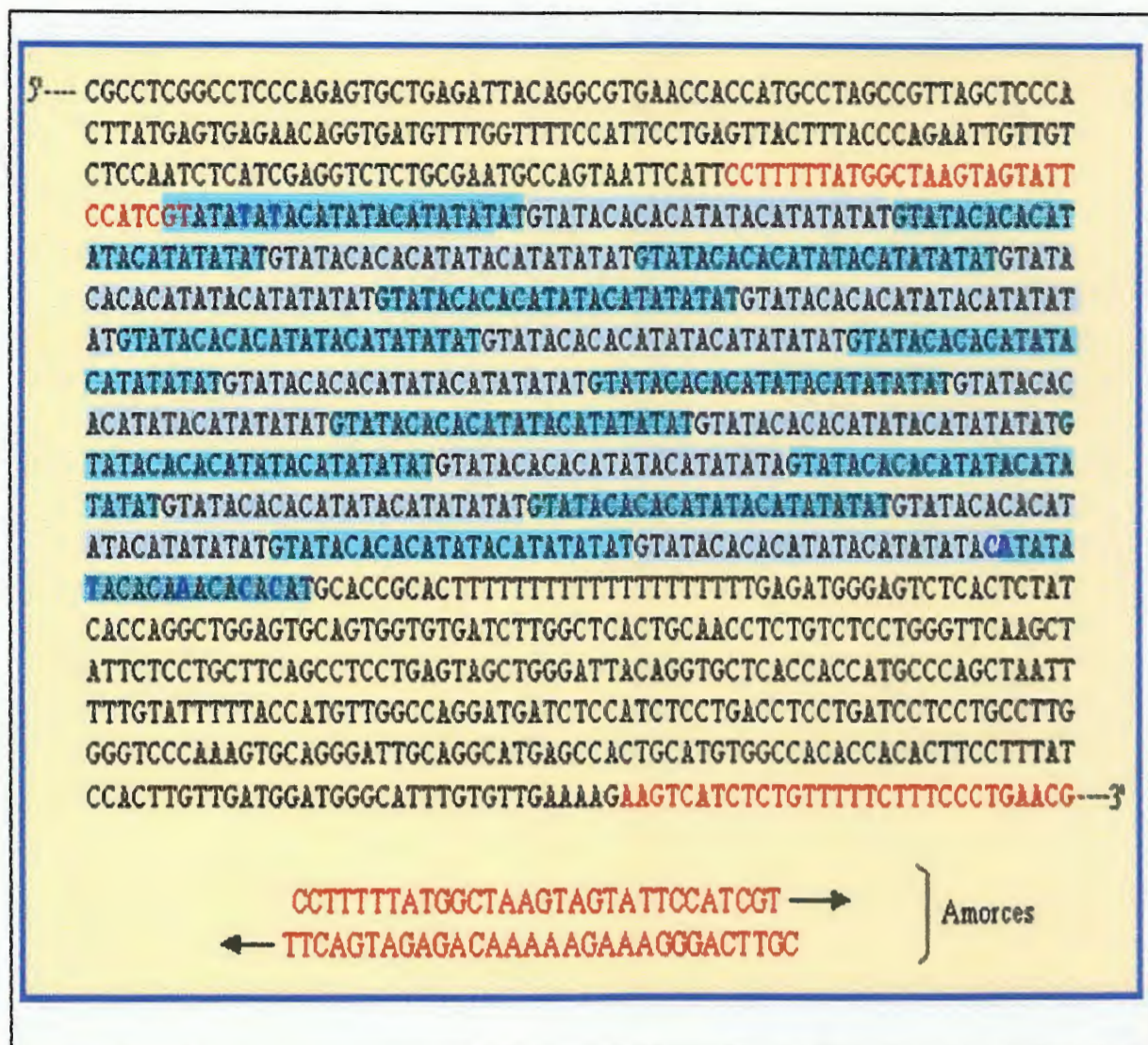


Fig 6. Localisation et dimension d'un minisatellite. Ce minisatellite est localisé sur le chromosome N°22 de l'homme, constitué par la répétition de 25 fois du motif de base de séquence consensus : GTATACACACATATACATATATAT(24 nucléotides) ; avec un très faible % de variation interne ou les substitutions sont en bleu foncé . Les séquences (30 nucléotides) utilisées pour le choix des amorces sont en rouge qui sert pour l'amplification de ce minisatellite ; et celles en noir sont des séquences flanquantes [Rossignol, 2000].

III.3.2. Polymorphisme d'ADN mitochondrial

L'ADN mitochondrial (ADN mt), présent dans le cytoplasme, peut également être utilisé pour l'expertise génétique: il s'agit d'une petite molécule circulaire et monocaténaire de 16569 paires de bases qui code pour des chaînes polypeptidiques nécessaires au fonctionnement de la mitochondrie et pour des ARN. Sa séquence est entièrement connue et elle présente 2 régions hypervariables. Le polymorphisme n'est pas lié ici à des variations de longueur mais à des variations dans la composition en nucléotides (polymorphisme de structure). Une autre caractéristique de l'ADN mt est son hérité maternelle. En effet, l'ovule est bien fourni en mitochondries (entre 100000 et 2000000) alors que le spermatozoïde n'en contient qu'un petit nombre qui ne persistent pas dans la descendance. La mère transmet donc son ADN mt à tous ses enfants mais seules les filles le transmettent à leur tour à leur progéniture.

Par ailleurs, le polymorphisme de l'ADN mt est moins marqué que celui de l'ADN nucléaire et l'analyse qui en est faite est donc moins discriminante. Il présente néanmoins un double intérêt. Premièrement, il est préservé de la haute résistance de la mitochondrie et présent à de nombreux exemplaires dans une cellule (de l'ordre de 50 génomes mitochondriaux pour un seul génome nucléaire) et donc il peut être analysé sur des traces anciennes ou fortement dégradées sur lesquelles l'ADN nucléaire n'est plus exploitable. Deuxièmement, il peut également permettre d'expertiser des tissus biologiques dépourvus d'ADN nucléaire, mais riche en mitochondries, qui sont prélevés sur une scène de crime. C'est notamment le cas des tiges de cheveux [Dermot, 1993].

Chapitre IV

Etablissement des empreintes génétiques



IV.1. Définition d'empreintes génétiques

Au cours de chacune des cellules de notre corps, exception faite des globules rouges, se trouve un noyau au sein duquel se trouvent toutes les informations de notre patrimoine génétique sous forme d'ADN (Acide désoxyribonucléiques). Pour un même individu, toutes les cellules nucléées, qu'elles soient contenues dans le sang (globules blancs), le sperme, les sécrétions vaginales, le bulbe des cheveux, la peau ou issues d'autres tissus et organes, contiennent le même ADN. L'identification d'un même individu, au moyen de ses empreintes génétiques, repose sur la mise en évidence et la comparaison d'éléments spécifiques inclus dans son ADN [Rouger, 2002].

Cette identification qui est appelée improprement : empreintes génétiques, cherche à différencier les individus par la mise en évidence de polymorphismes situés sur la molécule d'ADN. Il s'agit du progrès majeur réalisé en médecine légale durant cette dernière décennie. Les régions polymorphes peuvent être situées soit sur l'ADN non codant (séquences répétitives appelée micro- ou minisatellites en fonction de leur longueur) soit sur l'ADN codant (formes multialléliques d'un gène). Ces analyses effectuées sur l'ADN nucléaire et mitochondrial sont réalisées à partir de toutes les cellules de l'organisme et constituent un apport indispensable en criminalistique. [Bertrand et Magin, 1996].

IV.2. Prélèvements

IV.2.1. Prélèvements sur scène de crime

Au cours des prélèvements, il faut être très prudent. Pour être parfaitement fiables, les échantillons doivent être prélevés dans des conditions de sécurité extrêmement précises. Les enquêteurs doivent passer les lieux de crime au peigne fin. Il récupère l'arme bien sûr, mais aussi des traces de sang, de mégots, des cheveux ... et sous un faisceau de lumière très particulière, ils peuvent faire apparaître d'anciennes taches de sperme, de salive ou d'urine invisible à l'œil nu. Combinaisons jetables, gants en plastique, masque, lunettes, sur chaussures, tout est prévu pour que les enquêteurs ne laissent aucune trace de leur propre ADN [Dudept, 2000].

IV.2.1.1. Technique de prélèvement

Sur une scène de crime, beaucoup de traces peuvent être prélevées pour être exploitées ultérieurement dans un laboratoire. Il est impératif que les enquêteurs connaissent les différentes techniques utilisables sur les lieux du crime, mais aussi ultérieurement dans les laboratoires de la police scientifique afin de tirer le maximum d'information des indices prélevés. Le but principal de l'étude des indices est d'établir l'identité d'un suspect, d'une victime ou d'un objet. Certains indices permettent une identification individuelle est l'empreinte digitale, puisque elle se forme très tôt chez l'embryon, conserve les mêmes caractéristiques pendant toute la vie, elle est unique chez chacun d'entre nous, même chez les vrais jumeaux. Mais beaucoup d'autres traces sont à prendre en considération [Hebrard, 2005].

La phase de prélèvement est très critique car il faut prélever et mettre sous scellé tout ce qui l'être : ensuite, il sera trop tard. Seules quelques cellules peuvent suffire pour obtenir l'information nécessaire à l'identification. Par exemple voici le tableau 3 de quelques objets ou indices pouvant servir de pièces à conviction et sur lesquels il est possible de fournir de l'ADN [Hebrard, 2005].

IV.2.1.1.1. Traces de sang

Les traces de sang et leur répartition sur une scène d'infraction peuvent être en outre utilisées pour reconstituer les événements entourant le crime. L'examen de la taille, de la direction et de type de la tache peut donner des informations importantes susceptibles d'aider l'interprétation d'autres indices retrouvés sur les lieux (fig. 8) [Hebrard, 2005]. Il existe trois types des traces de sang, premièrement trace sèche qui peut facilement s'écailler et se détacher de son support : pour la recueillir, gratter un scalpel jetable stérile. Si non, prélever la tache avec, de préférence un écouvillon humecté d'un minimum d'eau stérile, ou à défaut un morceau de gaze dont la taille devra être proportionnelle à la tache à prélever afin d'éviter la diffusion du sang (le support utilisé, imprégné d'eau stérile, étant utilisé comme échantillon témoin) [Otmani et al, 2005].

Deuxièmement, la trace liquide dans ce cas si la trace est petite, utiliser la méthode citée précédemment mais avec un écouvillon sec. Si les traces de sang découvertes sont sur les supports amovibles elles ne doivent pas être prélevées sur place afin que l'ensemble puisse être examiné. Si non, découper largement autour de la tache. Dans tous les cas, prélèvement et support témoin doivent être conditionnés séparément, après avoir été séchés à l'air, loin d'une source de chaleur [Otmani et al, 2005]. Enfin et troisièmement la trace invisible, dans ce cas si le meurtrier essaye de nettoyer le sang et d'enlever le corps, quelques traces indicatrices de sang demeureront. Les particules minuscules de sang peuvent s'accrocher à la plupart des surfaces pendant des années sur l'extrémité, sans jamais être vu.

Le Luminol 3-Amino phthalhydrazide est efficace pour mettre en évidence ces traces. C'est un produit chimique qui rougeoie en émettant une lumière bleuâtre quand il constate le sang. Il réagit sur des traces de sang vieilles de plusieurs années. Il permet de détecter une goutte de sang dans 999999 gouttes d'eau. Il est typiquement employé au cours d'une scène de crime ou le carnage est suspecté pour s'être produit mais sans aucune trace de sang évidente à l'œil nu. La salle est obscurcie et le produit chimique est pulvérisé au-dessus d'un grand secteur. Si des traces de sang sont indiquées, les investigateurs prennent des photos.

En plus du sang, le luminol met en évidence d'autres substances tel que l'agent de blanchiment de ménage. Par conséquent, une lueur indique simplement aux techniciens la possibilité de sang dans le secteur. En observant la vitesse de la réaction chimique on peut juger si la substance était du sang ou autre chose. Mais afin d'être absolument sûr que c'était du sang, d'autres essais doivent être exécutés. Les principaux composés pouvant catalyser cette réaction d'émission de lumière sont les métaux de transition, l'hème et la peroxydase. L'hème est une structure biochimique qui fait partie intégrante

Tab 3. Quelques exemples de pièces à conviction servent à recueillir les différents échantillons d'ADN [Sabatier et al., 2006].

PIECES A CONVICTION	ENDROITS DU PRELEVEMENT	SOURCE DE L'ADN
Batte de base balle ou arme semblable	Poignet, extrémité	Sueur, peau, sang, tissu
Chapeau, bandana, masque	A l'intérieur	Sueur, cheveux, pellicules
Ongle, ongle partiel	Raclures	Sang, sueur, tissu
Marque de morsure	Peau ou habits	Salive
Couverture, oreiller	Superficie	Sueur, cheveux, sperme, Urine, salive
Préservatif utilisé	Surface interne et externe	Cellules vaginales, Rectales, sperme
Bouteille, verre, canette	Cotés embouchure	Salive, sueur
Bande ou ligature	Secteur léché	Peau, sueur
Timbre ou enveloppe	Secteur léché	Salive
Cigarette utilisée	Bouts de la cigarette	Salive
Cure dents	Bouts	Salive
Linge sale	Superficie	Sang, sueur, sperme
Balle	Surface extérieur	Sang, tissu
Coton tige, tampon, Hygiénique, coton	Superficie	Mucus, sang, sperme, Sueur, cire d'oreille

l'hémoglobine. Ainsi, la présence d'hémoglobine, donc de sang, peut être mise en évidence en exploitant l'aptitude de l'hème à catalyser la chimiluminescence du luminol. En d'autres termes, un mélange luminol + agent oxydant + agent alcalin mis au contact du sang émettra de la lumière.

En dépit d'être un outil investigateur principal, le luminol a un inconvénient : la réaction chimique peut détruire l'ADN. En 2000, Loïc BLUM cherchait une nouvelle formule à base de luminol permettant de pallier les inconvénients des anciennes formules.

IV.2.1.1.2. Traces de sperme

Le sperme peut ne pas être visible. Il existe divers moyens pour le mettre en évidence, parmi lesquels l'utilisation de lampes à lumière monochromatique et de tests chimiques. Si le sperme est sur les vêtements il faut saisir les vêtements, après les avoir fait sécher le cas échéant, et les emballer séparément, de préférence dans un sac en papier si le sperme est sur un support inamovible on applique les mêmes étapes que celles du sang (fig. 9) [Otmani et al., 2005].

IV.2.1.1.3. Traces de salive

L'ADN se trouve également dans les cellules de la paroi buccale, verres, goulots et bouteilles... Il est préférable de ne pas manipuler les verres ou les bouteilles, mais de les transmettre au laboratoire en prenant soin de protéger le haut du verre ou du goulot des bouteilles à l'aide d'un carton en évitant tout contact avec les zones utilisées pour boire. Ceci permettra de pouvoir réaliser à la fois un relevé d'empreintes digitales et une recherche génétique. Si la bouteille ne peut être vidée, elle doit être transmise au laboratoire en position verticale (pour éviter tout contact entre le liquide et le goulot). En cas de bouteille en plastique pleine, on peut percer la bouteille au niveau du fond pour la vider. Dans le cas de mégots de cigarettes, mettre des gants, et les saisir à l'aide d'une pince. Dans le cas de cagoule, mouchoirs usages, ils peuvent présenter des traces de salive ou de sécrétions nasales même si aucune tache n'est visible. Dans le cas des traces de morsure, doivent être photographiées en couleur, avec échelle centimétrique et nuancier en légende la zone concernée doit être essayée avec écouvillon légèrement humide afin de prélever les traces de salive [Otmani et al., 2005].

IV.2.1.1.4. Cheveux et les poils

Prélever les cheveux et les poils trouvés sur les lieux avec précaution sans toucher les racines et en utilisant des gants et des pinces afin d'éviter de les casser. Les mettre dans des enveloppes en papier de référence du papier cristal. Les cheveux et les poils arrachés ont plus d'intérêt que ceux tombés naturellement car ils contiennent de l'ADN nucléaire dans les cellules entourant les bulbes [Otmani et al., 2005].

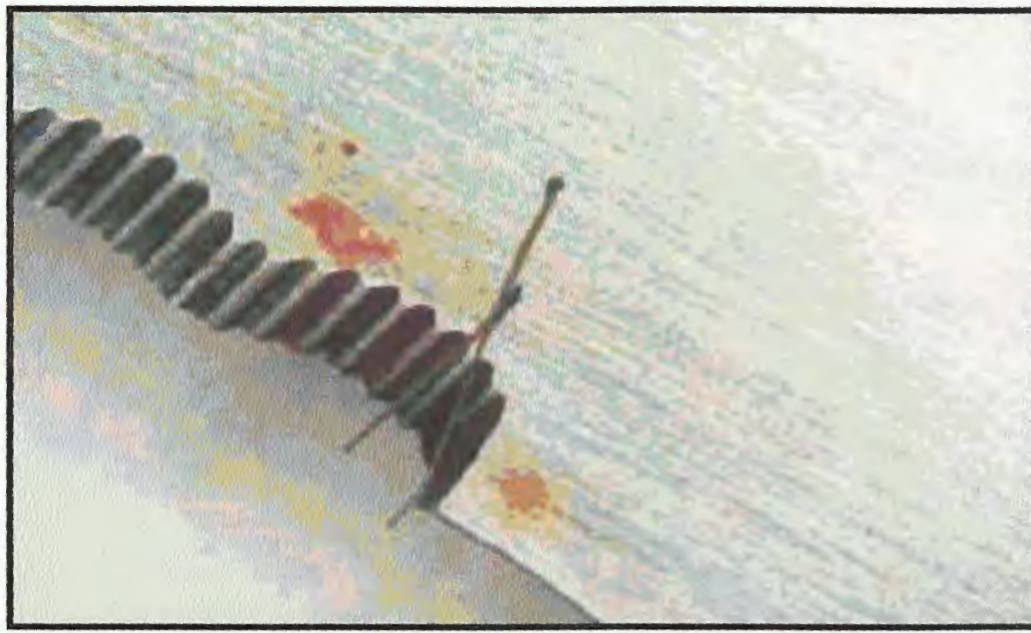


Figure 8. Exemple de source d'échantillon d'ADN (trace de sang) laissé dans une scène de Crime [Galloux, 1991].

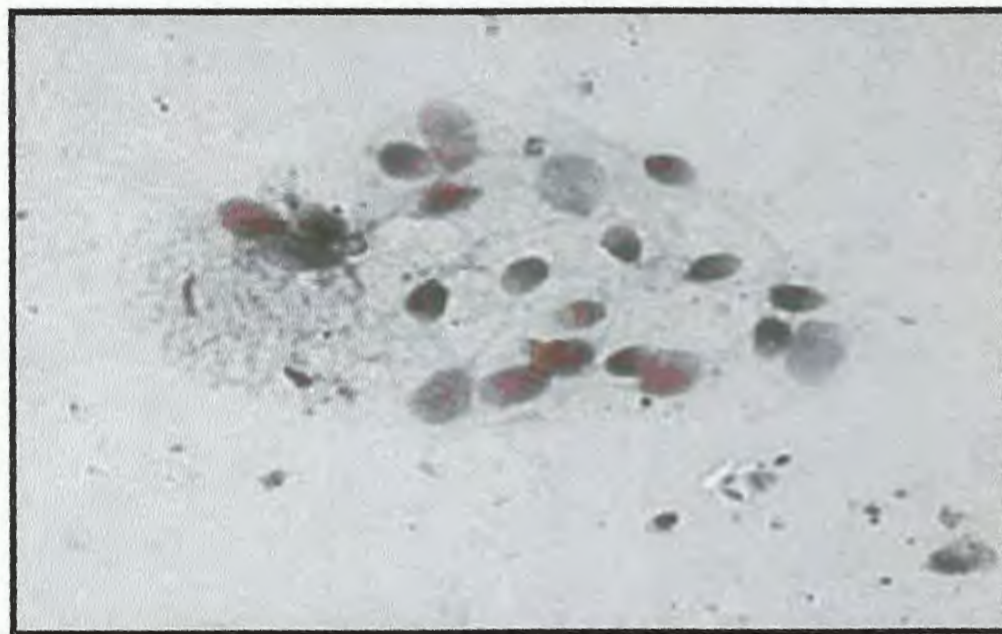


Figure 9. Image de spermatozoïdes obtenus par microscope optique récolté lors d'un viol sexuel [Galloux, 1991].

IV.2.1.1.5. Prélèvement sur cadavre**Prélèvement de tissus, organes ou os**

Des fragments de chair peuvent être découverts lorsque les personnes ont été blessées au cours de l'infraction. Par exemple, sous les ongles, lorsque la victime a griffé son agresseur assez profondément ; il est préférable d'effectuer un curage d'ongles plutôt que les couper. Les tissus, organes, doivent être congelés sans aucun adjuvant, avant d'être envoyés au laboratoire. Il est parfois possible d'établir un profil génétique à des os, même si le corps est en état de décomposition très avancée [Ganghan et Martin., 1998].

IV.2.2. Prélèvement sur individus

Avant n'importe quel type de prélèvement le policier doit toujours porter des gants et un masque jetable durant toute la procédure de prélèvement. Cette mesure assure la protection du policier et du suspect puisqu'elle empêche le contact entre les substances organiques étrangères et la peau du policier et protège aussi le suspect des maladies qu'ils pourraient avoir. De plus, le port des gants et du masque prévient la contamination de l'échantillon biologique prélevée et en assure la qualité [Ganghan et Martin., 1998].

IV.2.2.1. Prélèvement sanguin

En Algérie le prélèvement sanguin se fait par une ponction veineuse de 4 à 5 ml de sang mis dans deux tubes contenant l'anticoagulant EDTA et scellée séparément. Dans d'autres pays le prélèvement se fait en essuyant le doigt avec le tampon d'alcool et en demandant au suspect de secouer sa main pour permettre au sang de se rendre jusqu'au bout des doigts ainsi que pour permettre à l'alcool de sécher [Ganghan et Martin., 1998].

IV.2.2.2. Prélèvements buccaux

Le prélèvement buccal est facilité par l'utilisation de kits fournis par les laboratoires et ne soulève pas de problème technique particulier. Si le sujet a la bouche très sèche ou a mangé dans les derniers 10 minutes, lui demander de se rincer la bouche avec de l'eau. Retirer l'écouvillon buccal de son enveloppe stérile scellée. Insérer l'embout de caoutchouc mousse dans la bouche et le laisser s'humecter complètement de salive. La mousse doit être entièrement humide ou la procédure ne fonctionnera pas. Frotter l'intérieur des joues, la langue et les gencives avec l'embout de caoutchouc mousse en un mouvement de haut en bas. Appuyer fermement les deux côtés de l'embout de mousse sur l'un des cercles de la carte de prélèvement avec un mouvement d'oscillation pour assurer le dépôt de la plus grande quantité de matériel biologique possible. Si l'embout est suffisamment humide répéter procédure de dépôt sur un second cercle [Ganghan et Martin., 1998].

IV.2.2.3. Prélèvement des cheveux

Préparer la carte de prélèvement de cheveux en repliant le plastique transparent et en retirant le papier recouvrant la bande adhésive. Un échantillon adéquat comprend 6 à 8 cheveux. La gaine épithéliale de la racine doit être attachée au cheveu, puisque c'est là que se trouve l'ADN. Isoler quelques cheveux sur la tête et placer ses doigts le plus près possible du cuir chevelu. Avec deux doigts, appuyer sur le cuir chevelu de chaque côté de cheveux et de l'autre main, tirer rapidement sur les cheveux, près de cuir chevelu. Placer sur la bande adhésive de la carte de prélèvement de cheveux en s'assurant que les racines sont au dessus de la bande adhésive. Remplacer ensuite le plastique transparent pour couvrir la bande adhésive. Une fois le prélèvement est fait, sceller l'échantillon [Ganghan et Martin., 1998].

IV.2.2.4. Prélèvement des traces de sperme

Le sperme séché n'a aucune odeur caractéristique, mais le sperme frais en a une. Les taches sperme sur les vêtements ont un contour irrégulier dont la dimension varie suivant la quantité de sperme éjaculé. Les taches ont cependant un aspect particulier. Elles sont d'un blanc jaunâtre, parfois légèrement grisâtre, brillantes ou empesées. On peut détecter les endroits maculés de sperme au moyen de rayons ultraviolets à cause de la luminescence du sperme. Si l'on soupçonne la présence de sperme lors d'un attentat à caractère sexuel, il faut saisir le plus rapidement possible le vêtement et autres pièces de lingerie avant qu'ils ne soient lavés. En général les chemisiers, chemises de nuit, slips, pantalons, mouchoirs, etc. Peuvent être porteurs de traces de sperme. Lors de la saisie de ces pièces, on doit les emballer séparément et de façon à éviter toute friction qui pourrait causer le bris des spermatozoïdes. En présence de sperme frais, on utilise une éprouvette pour en recueillir un échantillon. Si la tache commence à sécher, il est alors préférable de la laisser sécher complètement avant son transport au laboratoire. Dans les cas d'agression sexuelle, afin de procéder le plus adéquatement possible aux prélèvements, on devra se servir de la trousse médico-légale accompagnée d'un protocole médical devant être complète par un médecin compétent qui a examiné la victime [Prévost, 1987].

IV.2.3. Conditionnements

Les prélèvements doivent être conditionnés séparément. Les sacs en papier permettant la circulation de l'air, constituent le matériel de conditionnement à privilégier car ils maintiennent les échantillons secs. Les prélèvements humides susceptibles de se dégrader et de devenir inexploitable, doivent être séchés à l'air et par conséquent les sacs en plastique empêchent les prélèvements humides de sécher ne doivent être utilisés que lorsque ces derniers sont totalement secs, sinon trouser les secs pour éviter toute macération. Les objets solides tels qu'armes à feu, morceaux de verre, récipients à boire, etc....doivent être soigneusement conditionnés dans des récipients rigides de manière à éviter toute friction susceptible d'entraîner la perte de matériel biologique exploitable. Les échantillons liquides potentiellement infectieux comme le sang et les fluides corporels ou des objets pointus souillés comme aiguilles et couteaux...doivent être placés dans des récipients étanches, incassables, et portant si possible une étiquette d'avertissement « risque infectieux » [Otmani et al., 2005].

IV.3. Préparation de l'ADN à analyser

La nature et l'origine de l'ADN, ainsi que le but recherché par son amplification conditionnement souvent un protocole rigoureux utilisé pour préparer l'ADN à amplifier ; au laboratoire, les échantillons prélevés sont traités de façon à extraire l'ADN présent sur les pièces. Les cellules sont lysées afin de libérer l'ADN de celle-ci, on élimine les protéines et les débris cellulaires du mélange et l'ADN est purifié. Une quantité de 1 à 2 ng d'ADN par échantillon suffit afin d'effectuer une analyse génétique. L'ADN extrait est généralement présent en quantité insuffisante à cause des pertes cellulaires au cours de chaque transfert, ou de sa qualité (état de dégradation). Ce qui empêche la réalisation d'une analyse génétique. Au temps réel, la PCR permet d'évaluer cette quantité restreinte, reproduit *in vitro* la réplication naturelle de l'ADN au cours de la division cellulaire et permet d'amplifier une séquence d'ADN en milliers de copies. Cette technique est extrêmement sensible ; il faut donc prendre d'extrêmes précautions pour ne pas contaminer les échantillons à analyser par l'ADN personnel de l'individu intervenant sur le lieu de crime ou bien au moment de manipulation dans les laboratoires [Androge et al, 2005].

IV.4. Conservation des échantillons

Dans les cellules vivantes, l'intégrité de l'ADN est continuellement maintenue par des processus de réparation enzymatique. Après la mort de l'organisme, les compartiments cellulaires qui normalement séquestrent les enzymes cataboliques éclatant, ce qui engendre la dégradation rapide de l'ADN par des enzymes telles les nucléases. De plus, la molécule d'ADN est alors exposée aux attaques bactériennes, fongiques et à celle des animaux saprophages qui se nourrissent en dégradant les molécules. Dans de rares circonstances, telle l'adsorption dans une matrice minérale, l'ADN peut échapper à la dégradation microbienne et enzymatique. Dans ces cas exceptionnels, l'ADN est cible de processus chimiques plus lents tels l'hydrolyse et l'oxydation. La plupart de ces processus est identique à ceux existant dans la cellule vivante, mais ne sont plus contrebalancés par les systèmes de réparation enzymatique après la mort. Ainsi, les lésions s'accumulent de manière irréversible jusqu'à la perte de l'information sur la séquence nucléotidique. Occasionnellement, si la désintégration de l'ADN n'est pas complète, la technique PCR permet de révéler une partie de l'information.

L'importance des processus de dégradation (enzymatique et chimique) touchent la molécule d'ADN est sous l'étroite dépendance des facteurs environnementaux (humidité, température, pH, etc). La préservation de la molécule d'ADN varie donc considérablement en fonction des conditions environnementales. Les acteurs et facteurs de dégradations mentionnés ci-dessous ne forment bien entendu pas une liste exhaustive. Le plus souvent, le degré de conservation d'un prélèvement biologique dépend de l'interaction de différentes conditions du milieu dans lequel il se trouve [Otmani et al., 2005].

IV.5. Analyse de l'ADN nucléaire

Cette analyse s'applique aux minisatellites et microsatellites, régions variables d'un individu à l'autre. Le nombre de répétition va induire une variation de la taille du fragment d'ADN. La tâche du biologiste consiste à mesurer la longueur de ces régions variables, le polymorphisme de taille ou RFLP pour 'Restriction fragment length polymorphism', en utilisant des enzymes de restriction et des sondes appropriées pour le mettre en évidence [Salmon, 1998]. Les enzymes de restriction sont des endonucléases qui coupent l'ADN en des sites spécifiques, appelés sites de restriction, comprenant le plus souvent un nombre paire de bases (4, 6 ou 8, parfois plus), arrangé en générale en palindromes.

Pour visualiser les empreintes génétiques il faut fixer les RFLP, (Par hybridation) et ensuite les révéler sous forme de bandes à l'aide de sondes marquées (fig. 10). Pour réaliser l'hybridation, on utilise des sondes moléculaires (ou sonde génétique) qui est une séquence d'au moins 15 nucléotides capable de s'hybrider de manière stable à une séquence d'ADN cible. L'hybridation entre la sonde et l'ADN cible se produit par réassociation spécifique des nucléotides complémentaires on distingue en fonction du nombre de loci reconnus les sondes uniloculaires qui ne se fixent que sur un locus, et les sondes multiloculaires qui se fixent sur plus de 60 loci ayant un motif central commun. En médecine légale, on préfère utiliser les sondes uniloculaires car elles sont plus précises, et sont spécifiques de l'espèce humaine (sondes multiloculaires peuvent s'hybrider avec l'ADN animal ce qui peut parasiter la bonne lecture des résultats). En pratique, l'utilisation combinée de 3 à 4 sondes uniloculaires est nécessaire pour la détermination d'une empreinte génétique.

Les sondes moléculaires sont marquées de manière radioactive ou non. Dans tous les cas le marquage doit être d'une sensibilité extrême car les quantités d'ADN cibles sont très faibles moins d'un picogramme, le marquage radioactif ou (sondes chaudes) peut utiliser les radio-isotopes suivantes : phosphore 32 ; soufre 35 ; Iode 125 ; tritium, et le marquage non radioactif ou (sondes froides), sont marquées à l'aide de biotine, après la phase d'hybridation on ajoute le ligand de biotine (avidine). Les bandes sont visualisées d'un système de lecture fixé à l'avidine : enzyme catalysant une réaction colorée, ou bien d'un corps chimique fluorescent-fluorochrome [Malek et al, 1996].

IV.5.1. Sondes Multilocus

Les premières sondes utilisées, en particulier en Angleterre par Alec Jeffreys. Dès 1985, des sondes oligonucléotidiques ont été utilisées pouvant reconnaître plusieurs sites dont les séquences d'ADN sont très voisines sur l'ensemble du génome, il est possible, en les rendant radioactives, de faire apparaître les fragments hybridés sur une autoradiographie. Le polymorphisme de taille, différent chez chaque individu, se traduit par la mise en évidence des bandes noires ressemblant à un code barre dont il faut définir avec précision la taille des fragments. Ces sondes peu spécifiques ont été appelées multi locus.

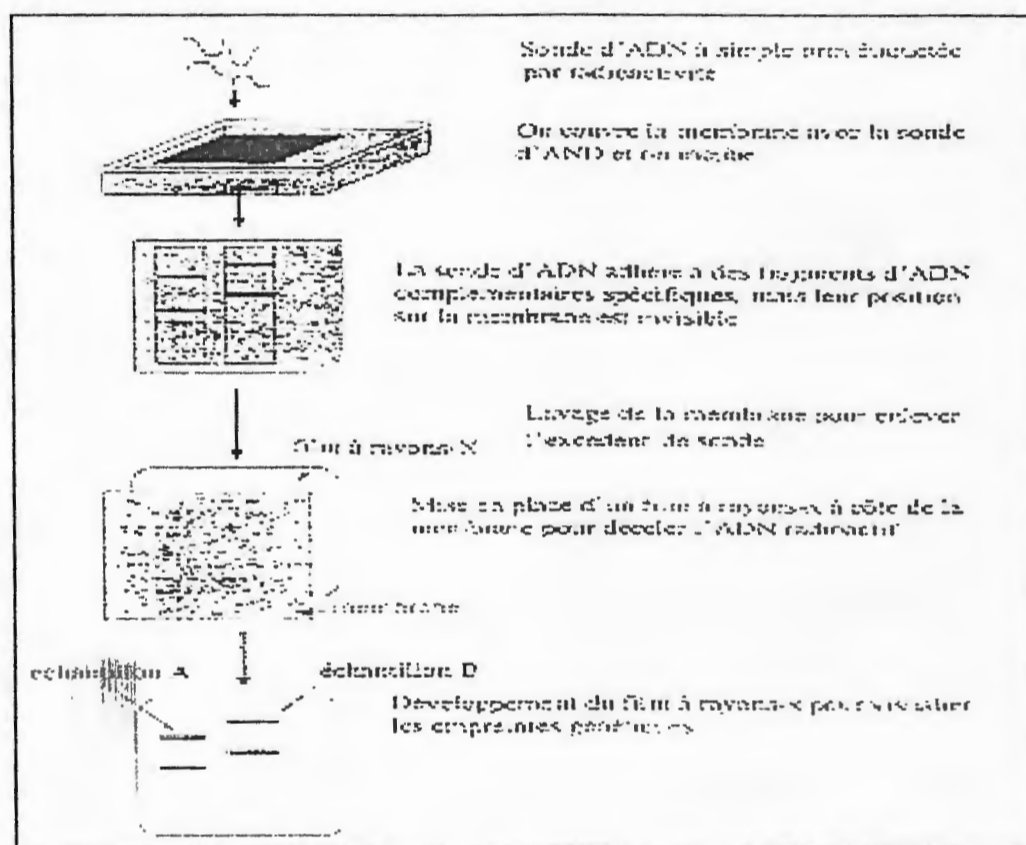
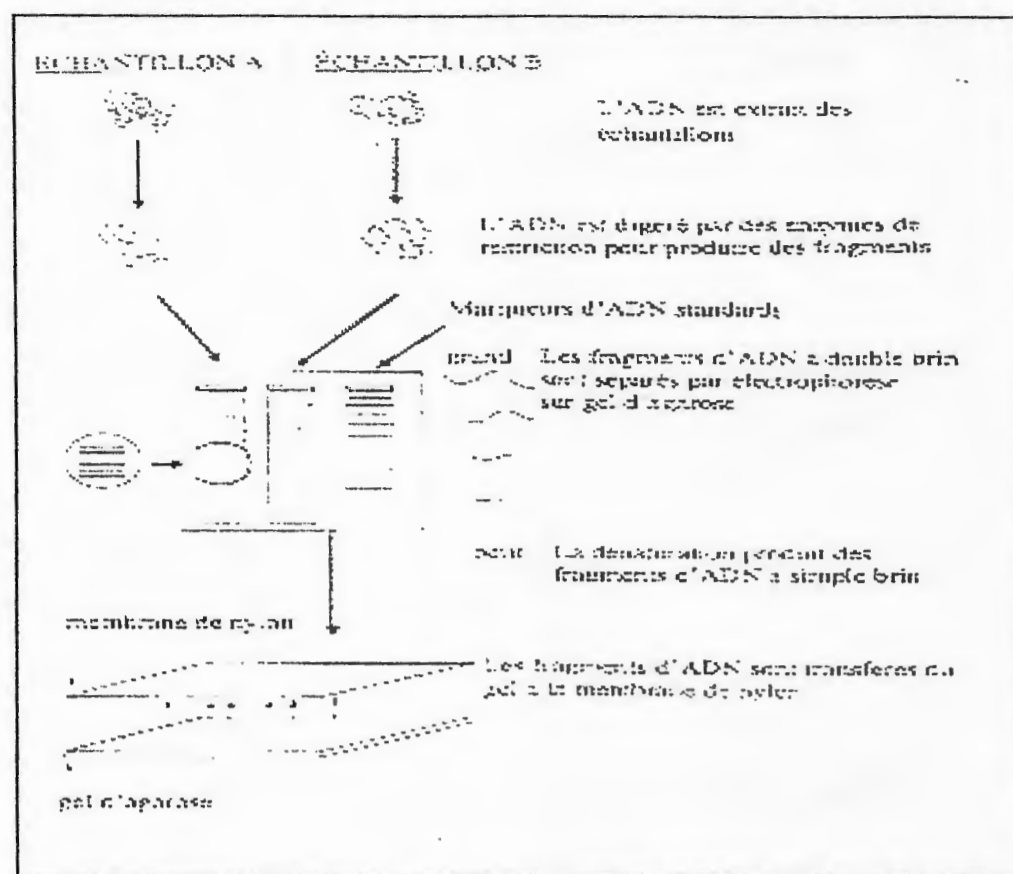


Fig.10. Etape d'un Southern blot pour l'obtention d'une empreinte Génétique [Malek et al., 1996].

Les premières sondes multi locus ou (poly locus) d'Alec Jeffreys, dénommées 33.15 et 33.6, sont restées célèbres, car elles ont permis d'identifier les auteurs d'agressions sexuels. La sonde 33.15 permet, à elle seule d'explorer une trentaine de locus chez un individu. Les empreintes génétiques correspondantes sont donc constituées par un très grand nombre de bandes, dont la lecture n'est pas toujours aisée [Salmon, 1998, Bernot, 1999].

IV.5.2. Sondes Monolocus

En 1989, cette méthode fut améliorée par l'usage des sondes monolocus qui utilisent, comme les précédentes, la technique du southern Blot et étudient le même type de variabilité mais se concentrent sur une seule localisation du génome. L'autoradiographie ne révèle donc qu'un locus représenté par un ou deux allèles selon que le sujet est homozygote ou hétérozygote, il est possible d'augmenter la puissance de ce test en multipliant les sondes spécifiques. Cette technologie robuste est peu sensible aux contaminations, très discriminante et d'une interprétation aisée. Elle présente d'autre part l'avantage de permettre un travail sur les mélanges d'ADN, mais elle demeure coûteuse en temps et en personnel et sa faible sensibilité requiert une quantité importante (500 mg au minimum) d'ADN non dégradé et bien purifié. Si elle reste encore employée, dans le domaine civil, pour les recherches de paternité, elle a été supplantée au pénal par la réaction de polymérase en chaîne (PCR) basée sur l'amplification génique [Salmon, 1998, Bernot, 1999].

IV.5.3. Analyse RFLP

On appelle polymorphismes de restriction des variations individuelles de la séquence d'ADN révélées par des modifications de la carte de restriction. Celle-ci sont mise en évidence par la méthode de southern qui montre des différences individuelles dans la taille des fragments de restriction obtenus avec une enzyme donnée et une sonde donnée (en 1975). D'où le nom anglais de restriction fragment length polymorphism, ou RFLP [Kaplan et Delpech, 1998].

En 1980 Botstein et coll. ont publié une carte génétique du génome humain, qui pour la première fois utilisait des marqueurs génétiques issus de cette technique de RFLP [Bernot, 1999]. Un RFLP est donc défini par couple sonde \ enzyme de restriction et correspond à un emplacement strictement défini sur le génome, c'est-à-dire à un locus génétique, les premiers RFLP ont été décelés chez l'homme dans des gènes de globine. En 1980 le premier RFLP anonyme extragénique était décrit (locus Dxs 14, Wyman et White). Il caractérise par sa variabilité d'un individu à l'autre et sa transmission mendélienne. C'est marqueur génétique les différences versions correspondant à un même emplacement sur le génome (locus) sont exclusives les unes des autres sur un même chromosome : ce sont des allèles. Chez un hétérozygote les deux allèles sont visibles : ce sont des marqueurs codominants, chaque système allélique de restriction définit un locus polymorphe. Un polymorphisme est arbitrairement défini comme une variation génétique détectable dans au moins 1 % des individus d'une population [Kaplan et Delpech, 1998].

Une digestion de l'ADN est soumise à une électrophorèse sur gel d'agarose et dénaturée en simples brins. L'ADN étant chargé négativement, migre de la cathode vers l'anode ; les fragments les petits sont les plus rapides. Par exemple, un fragment de 8 Kb est un fragment lourd, de migration lente. Un fragment de 2 Kb est un fragment léger ; de migration rapide. Les fragments sont alors transférés à partir du gel au papier de nitrocellulose ou le gel est placé sur le papier filtre normal, qu'à été imbibé dans la solution de sel concentrée. Le papier de nitrocellulose est placé sur le gel, avec une papier buvard sec et un poids, sur celui-ci la solution de sel se déplace dans le gel, portant les fragments d'ADN avec elle ou il deviennent emprisonnés ; le modèle du fragment sur le gel et de ce fait précisément transféré. Les fragments d'intérêt peuvent alors être situés sur la nitrocellulose par hybridation avec une sonde, suivie de l'autoradiographie (fig. 11). Une technique semblable, désignée sous le nom Northern Blot et une autre dite la technique des taches « DOT » [Salmon, 1998].

Afin d'augmenter la sensibilité, l'analyse par RFLP est améliorée par la PCR (réaction en chaîne de la polymérase). Ses tests perfectionnés permettent d'obtenir des empreintes digitales d'ADN à partir d'un seul cheveu, d'un petit échantillon de sperme prélevé sur la victime d'un viol ou à partir d'échantillons qui peuvent être conservés des mois ou même des années (fig. 12).

La technique RFLP est en voie d'être remplacée par la nouvelle technique PCR /STR (réaction en chaîne de la polymérase / séquence courte répétée en tandem). En 1997, le laboratoire judiciaire central de la GRC à Ottawa, de même que les laboratoires de Regina et de Vancouver, avaient abandonné la RFLP Pour adopter la PCR /STR. Les laboratoires de la GRC de Halifax et d'Edmonton utilisent encore la technique RFLP, tandis que le laboratoire de Winnipeg utilisait les deux. On prévoit que la GRC aura terminé dans tout son réseau de laboratoire de criminalistique l'adoption de la méthode PCR / STR au début de 1999. Le centre des sciences judiciaires situé à Toronto utilise lui aussi la technologie PCR / STR.

IV.5.4. Analyse PCR /STR

A certains points de vue fondamentaux, la technique PCR / STR est semblable à la technique RFLP. Le prélèvement et l'extraction de l'ADN se font de la même manière et les fragments choisis d'ADN sont placés dans un gel spécial et triés d'après leur taille par application d'un courant électrique. Toutefois, dans le cas de la PCR / STR, une quantité beaucoup plus restreinte d'ADN dans un échantillon suffit à obtenir l'empreinte génétique, et l'on peut même utiliser de l'ADN très dégradé comme celui que l'on pourrait extraire de corps décomposés ou brûlés. En fait, on peut extraire suffisamment d'ADN du follicule d'un seul cheveu, ou encore d'une trace de salive sur un mégot de cigarette ou sur une enveloppe, pour obtenir une empreinte génétique en appliquant cette technologie [National Research Council, 1996]. La technique PCR / STR comporte d'autres avantages : elle est moins susceptible d'être faussée par des contaminants et est « sensiblement meilleure pour ce qui d'élucider l'origine d'une empreinte génétique spécifique à partir d'un échantillon mélangé et complexe, par exemple dans le cas de taches de sang résultant du mélange du sang de plus d'une personne, dans les restes

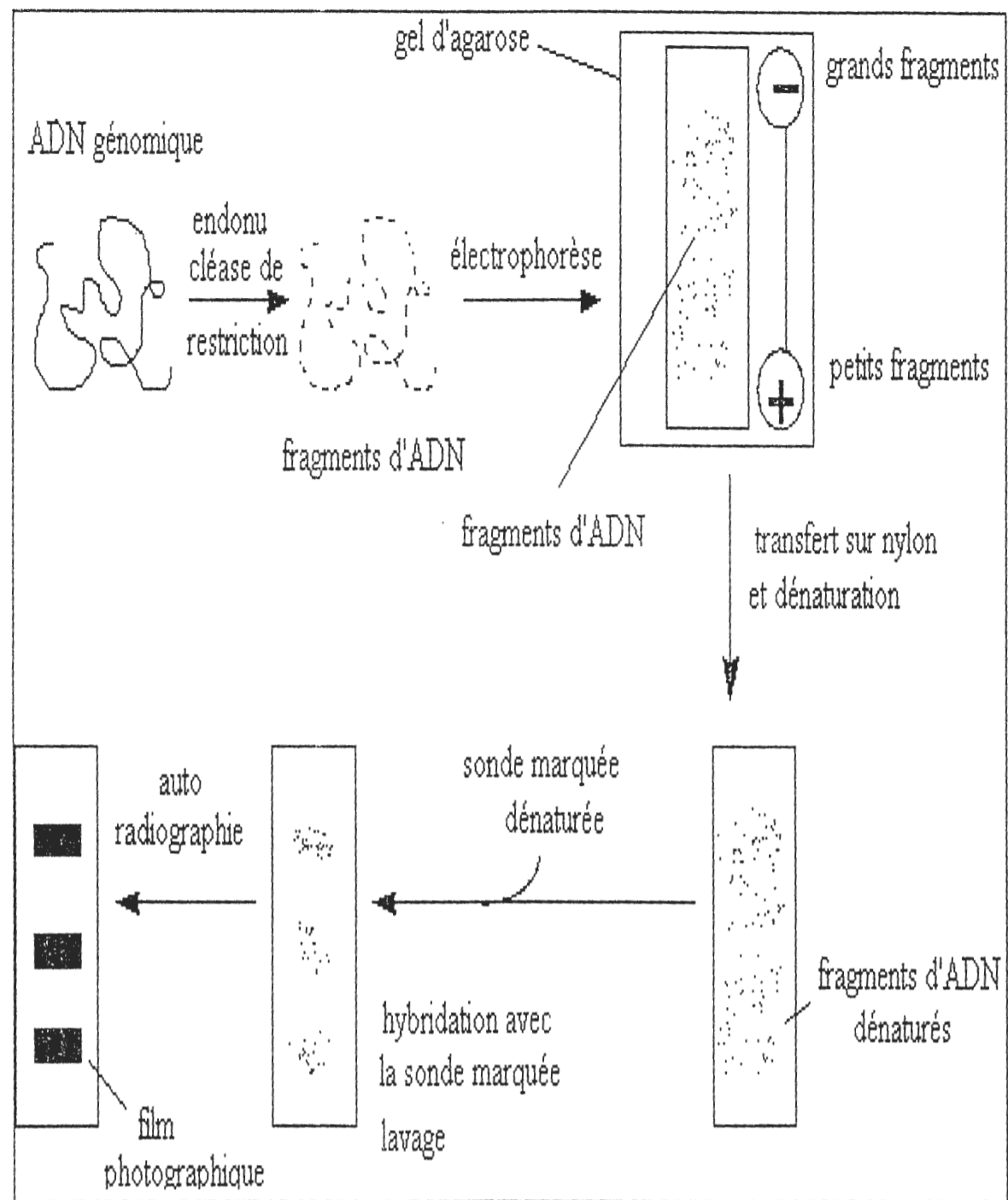


Fig 11. Schéma illustrant la technique de RFLP [Salmon, 1998].

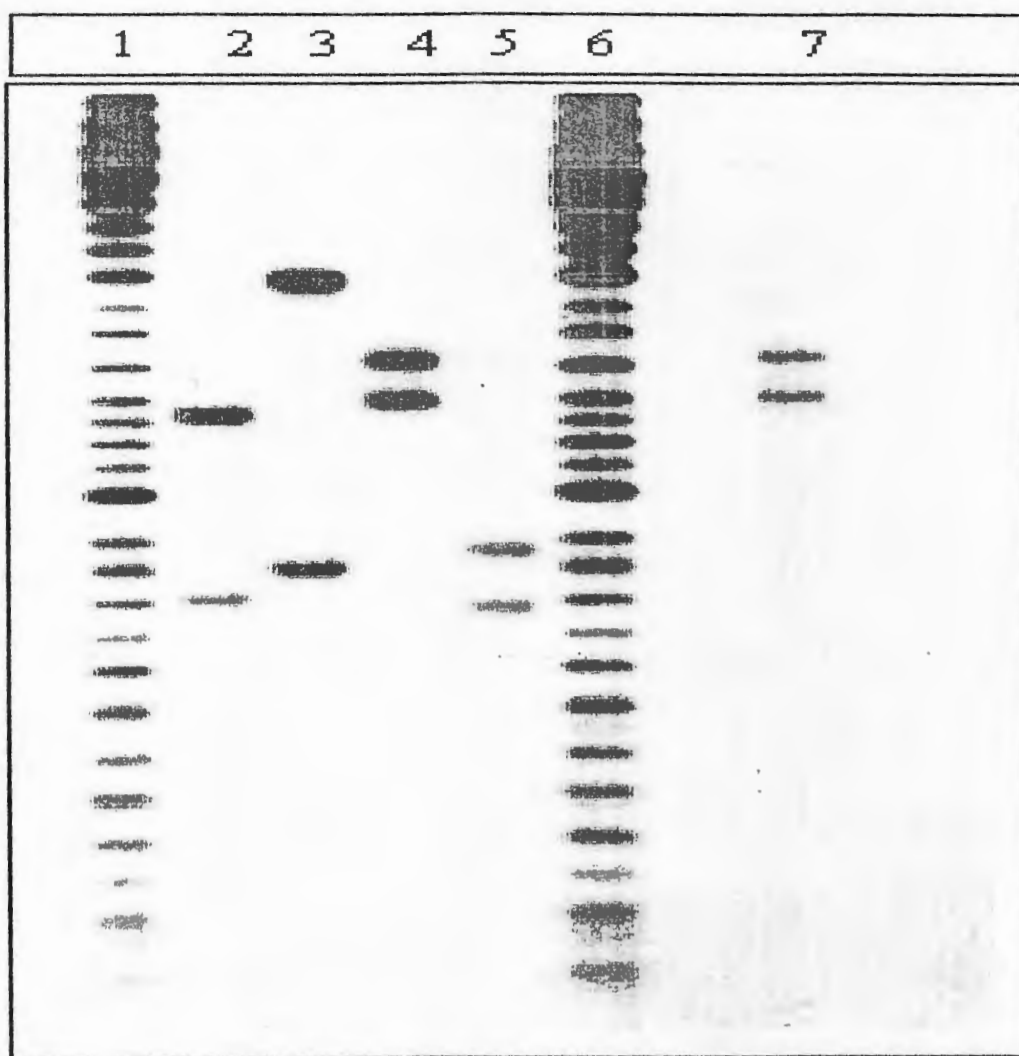


Fig 12. Résultat d'une analyse par RFLP d'une région polymorphe de l'ADN effectuée à partir d'un échantillon de sperme prélevé sur la victime (affaire de viol). Les pistes représentent : 1 et 6 marqueurs de poids moléculaire (référence afin d'évaluer la taille des fragments amplifiés), 2 : profil de l'ADN du technicien, afin de vérifier qu'il n'y a pas eu de contamination lors de la manipulation), 3 : profil de l'ADN de la victime, 4 et 5 : profils des deux suspects, 7 : profil de l'ADN contenu dans le prélèvement de sperme. Par comparaison on trouve que le profil de la piste 7 correspondant à celui de la piste 4 ; alors le suspect N°1 est l'agresseur accepté [Androge et al., 2005].

humains mélangés et aussi dans les échantillons prélevés à la suite d'agression sexuelle » (fig. 13) [Robertson et al., 1990].

IV.6. Analyse de l'ADN mitochondrial

Elle vise à mettre en évidence un polymorphisme de structure. La définition du mitotype porte sur la détermination d'environ 700 nucléotides par la technique du séquençage. L'utilisation d'un séquenceur automatique permet de raccourcir le délai de réponse. La séquence déterminée est comparée à une séquence de référence, les points de mutation sont mis en évidence et les mitotypes des pièces de question et des pièces de comparaison permettront, comme l'ADN nucléaire, d'affirmer soit une exclusion (si plus de trois différences sont observées entre les deux ADN) ; soit une affirmation d'identité, avec comme corollaire la fréquence du mitotype dans la banque de données et surtout l'indication que ce mitotype peut être trouvé chez tout individu de la même lignée maternelle [Jehaes et al., 1998]. Cette technologie est lourde et onéreuse. Comme il s'agit d'une méthode permettant l'analyse de micro-prélèvement, elle est très sensible aux contaminations. Plus encore que pour l'ADN nucléaire, la séparation des activités et la mise en place de nombreux contrôles (extraction-amplification) révèlent une importance particulière pour la validation des résultats [Josué et al., 1998].

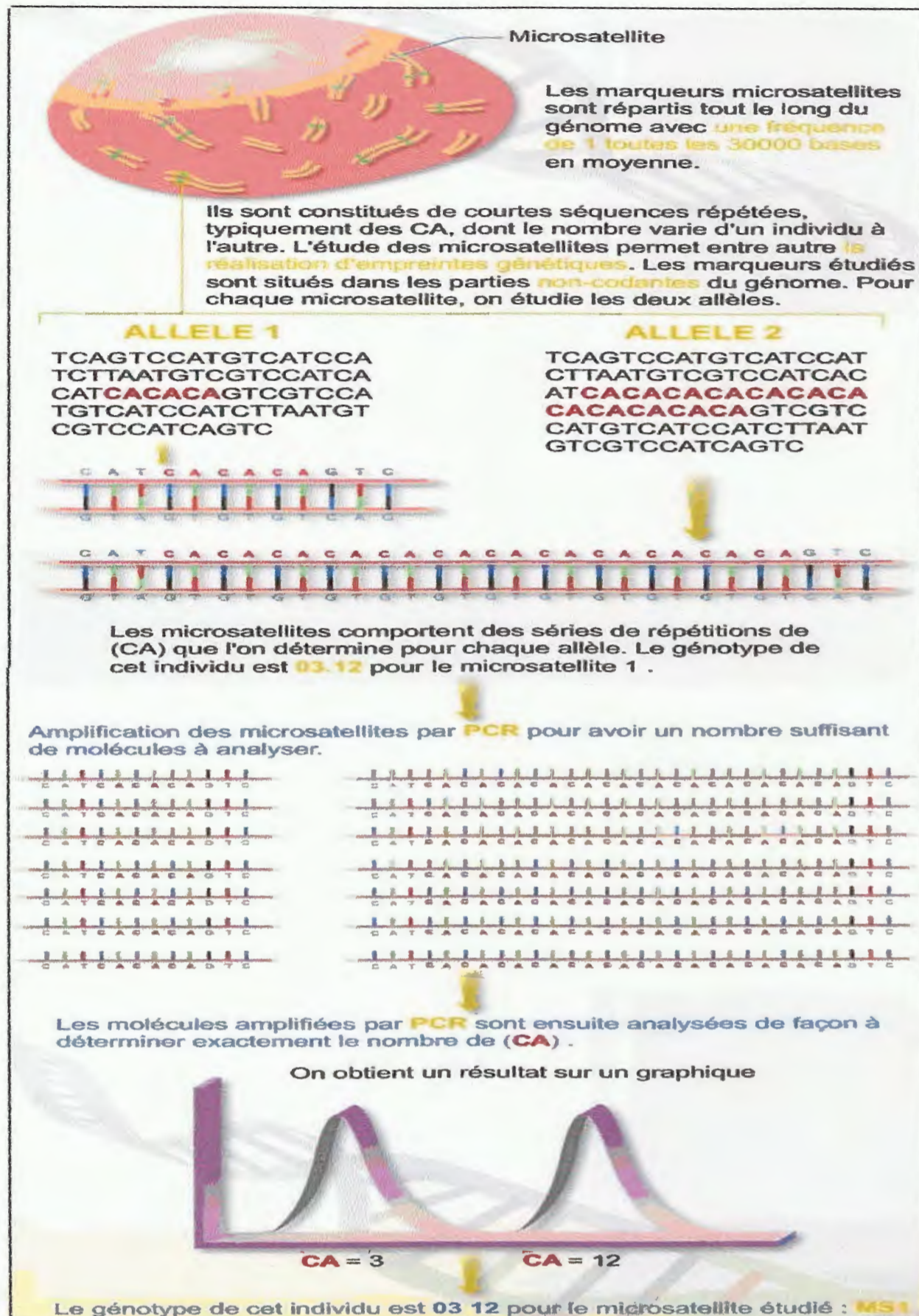
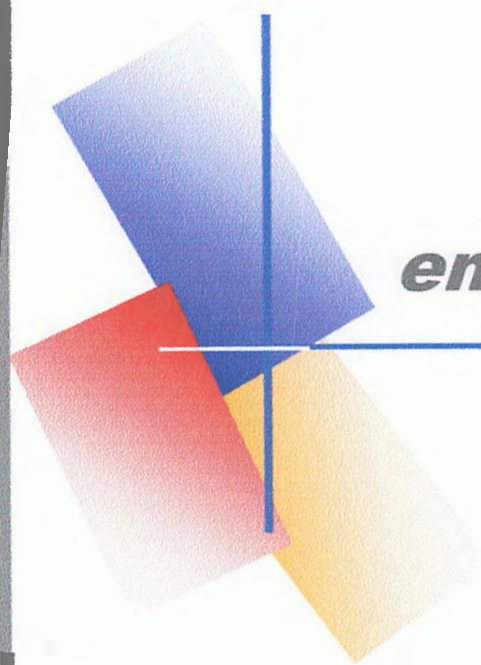


Fig 13. Etablissement d'une empreinte génétique à partir du couple Microsatellite-PCR [Men-Régnier., 2006].

Chapitre V

Applications des empreintes génétiques



V.1. Identification des individus

V.1.1. Recherche d'identité

C'est par recherche d'identité que les empreintes génétiques ont été connues du public. Dans ce domaine, les empreintes génétiques monolocus atteignent des performances que l'on avait peine à imaginer : naguère encore [Salmon, 1998]. Chacun d'entre nous est réellement un être unique. Cela peut être mathématiquement démontré en utilisant cette cinquantaine de système de marqueurs disponible. Le même calcul, utilisant les mêmes méthodes, montre que l'utilisation d'une dizaine seulement des systèmes d'empreintes génétiques monolocus suffit à garantir que l'on ne peut confondre un individu pris au hasard avec n'importe lequel des habitants actuels de la terre [Josué et al., 1998].

Pour analyser les empreintes génétiques, les laboratoires de la police scientifique ou de la gendarmerie utilisent de plus en plus l'amplification génique (PCR), de préférence à la technique enzyme sonde (RFLP), car elle permet de travailler à partir d'une très petite quantité de matériel. La condition indispensable pour l'utilisation des empreintes génétiques est, bien évidemment, que le prélèvement étudié contient des cellules dont le noyau soit resté intact. Le résultat final se présente sous la forme d'une série de taches colorées caractérisées par leur situation dans le gel ou elles ont migrés sous l'influence d'un champ électrique : elles constituent le profil génétique de l'individu. Bien entendu, l'expert ne peut que rendre compte de l'interprétation des résultats, il constate ou non l'identité entre deux profils, il n'est pas magistrat et n'a donc pas qualité pour conclure à une culpabilité [Salmon, 1998]. Cette recherche permet d'identifier un cadavre lors de catastrophes de trains, avion, etc., en comparant les empreintes génétiques du mort avec celles d'un descendant ou ascendant présumé. On imagine également les applications qui peuvent être actuellement faites pour lever certaines énigmes (comme celle de Louis XVII, un exemple...) [Etienne, 1999]

V.1.2. Identification des cheveux

L'analyse de l'ADN mitochondrial a permis une avancée extraordinaire pour l'identification des cheveux. Ce matériel est largement retrouvé dans les délits et crimes liés au vol (vol simples, vol à main armée, prise d'otage) et au terrorisme. Les cagoules, les vêtements et objets divers sont les dépositaires de ces éléments pileux. Le cheveu comporte deux parties : le bulbe, responsable de la croissance de l'élément pileux, contient des cellules renfermant à la fois de l'ADN nucléaire et de l'ADN mitochondrial. Malheureusement le cheveu retrouvé sur le lieu de crime est généralement tombé naturellement (on en perdant jusqu'à cinquante par jour), c'est-à-dire que son bulbe est mort. La quantité d'ADN nucléaire extraite est souvent insuffisante pour pouvoir utiliser la caractérisation par les STR nucléaires. La plupart du temps seul l'ADN mitochondrial reste accessible ; le tige composé de chératine, mais conservé de très nombreuses mitochondries. [Piercy et al., 1993].

L'analyse des cheveux au microscope à balayage permet aussi de mieux connaître les conditions du crime. On peut retrouver des microtraces d'arrachement permettant d'affirmer que le crime s'est accompagné de violences et de gestes brutaux. [Anonyme, 2007].

V.1.3. Identification des cadavres

(Utilité du recours aux empreintes génétiques sur ADN mitochondrial)

Si l'ADN nucléaire d'un cadavre frais est intègre, plus de temps passe, plus de phénomènes de destruction cellulaires sont importants. En conditions extrêmes, la chair aura totalement disparue et seule les ossements seront accessibles. Il est quelquefois possible de caractériser l'ADN nucléaire à partir d'ossements anciens (identification des restes du tsar et de sa famille, etc), mais il s'agit d'un exercice difficile et l'obtention d'un résultat est aléatoire. D'autre part, il n'est pas toujours possible d'avoir accès à des parents très proches (parents, enfants) pour la comparaison, alors que la plupart du temps, un apparenté par la lignée maternelle reste plus facile à retrouver (cousins, tantes, etc). Jusqu'à présent, tous les cadavres soumis à une étude d'identification par empreinte génétique (le plus ancien datant de 200 ans) ont pu être identifiés par la technique sur l'ADN mitochondrial. [Piercy et al., 1993].

V.1.4. Résolution des problèmes criminalistiques

L'utilisation la plus connue est celle qui en est fait en criminologie pour confondre un suspect ou identifier une personne décédée. Dans le domaine des enquêtes judiciaires de nombreuses raisons en conduit le service de police à recourir aux empreintes génétiques [Cabal et al., 2001] ; les techniques permettent d'innocenter certain suspect, parallèlement, d'en identifier d'autre, et d'autre part ; un enquêteur peut par conséquent ; exploiter cette technique d'analyse par des fins diverses : il peut également identifier une victime alors même une partie du corps seulement découverte ; identifier une victime designer un suspect lorsque, par exemple, l'ADN d'une partie du corps concorde avec celui des traces de sang prélevées sur un objet dont le suspect a été trouvé en possession ; identifier un suspect au moyen de substance que l'auteur du méfait a laissé sur les lieux du crime. Dans certain cas (analyse du sperme laissé dans le vagin d'une victime de viol) [Berry et Clément, 1987], la concordance des analyses fournira une forte présomption de culpabilité ; dans d'autre (frottis de salive prévenant d'une morsure ou morceau de peau découvert sur des ongles de la victime), la valeur de la concordance devra être appréciée, plus encore que dans le premier cas, en fonction des autres éléments de l'enquête ; comme le cas lorsque le profil ADN de la victime d'un meurtre correspondre à celui du sang trouvée sur les vêtements du suspect ; reconnaître les crimes en séries et les distingués des crimes par imitation [Barinage, 1998].

Un suspect peut être innocenté si l'empreinte génétique obtenue avec son sang est différente de l'empreinte donnée par leur spermatozoïde recueilli chez la victime. Les spermatozoïdes donnent, deux bandes, car bien que l'ADN d'une spermatozoïde ne comprenne que n chromosome, et non de $2n$ comme un cellule du sang ; il s'agit d'une population mixte constituée des spermatozoïdes type x et de type y (fig.14) [Etienne, 1999].

Pour les viols, outre l'écouvillon, tout portant du sperme est utilisable ; le slip est un excellent matériel s'il resté bien sec, et conserver à l'abri de la lumière (un tel matériel a permis de caractériser, après plusieurs années, l'empreintes génétiques d'un auteur de viol en série), les lames utilisées par les biologistes pour la recherche de sperme, les mouchoirs, les vêtements. La quantité minimale de spermatozoïdes qui peut être mise en

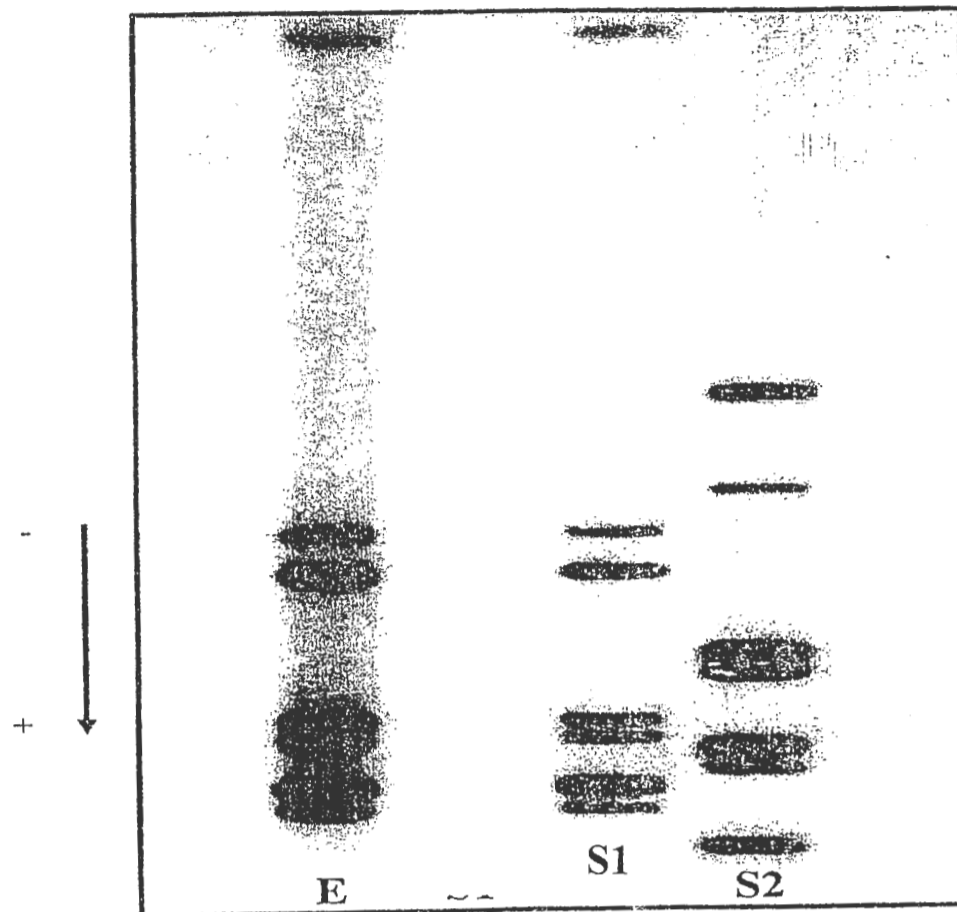


Fig 14. Résultat de migration des fragments d'ADN sur électrophorèse, utilisant la méthode RFLP au cours d'une affaire judiciaire. L'identification du criminel est effectuée le polymorphisme de longueur de fragment de restriction utilisant l'enzyme *HinfI* et la sonde polylocus YNH24. Cette technique est appliquée sur une goutte de sang trouvée sur scène de crime (E), ainsi sur le sang prélevé du suspect 1 et 2, le résultat montre que l'empreinte génétique d'échantillon E est correspondante de celle du suspect S1 [Etienne, 1999].

évidence est de 100 à 200. Ce seuil de détection a été volontairement fixé assez haut. La lecture de certaine publication montre que des équipes travaillent sur une seule cellule. Elle se situe dans un contexte particulier où les conditions de stérilités peuvent être contrôlées du début à la fin des manipulations [Serre, 2002].

En Médecine légale, il n'y a aucune maîtrise des opérations en amont (prélèvement sur la victime) et de nombreuses contaminations peuvent être introduites. L'abaissement du seuil de sensibilité obligerait à augmenter le nombre de cycle de la PCR et multiplierait les risques d'amplification d'ADN étranger au prélèvement initiale (ADN apporté par l'enquêteur ou introduit au cours des manipulations dans le laboratoire), ce qui conduirait à rendre un résultat sans, cependant pouvoir certifier de son exactitude. Ainsi, le préservatif est un excellent support pourvu que son utilisateur veuille bien l'abandonner sur le lieu du crime. Cet objet présente un avantage énorme, outre qu'il protège la victime de toute maladies sexuellement transmissibles, il va apporter un double information : à l'intérieur se trouvent les spermatozoïdes de l'agresseur et à l'extérieur, il est possible de mettre en évidence l'ADN de la victime. On outre, certains violeurs prétendant avoir utilisé le préservatif avec une de leurs amies de rencontre ont été confondus par l'ADN de la victime présent sur la face externe [Cabal et al., 2001].

V.2. En médecine légale

V.2.1. Recherche de paternité et maternité

Les empreintes génétiques sont également utilisée pour vérifier les liens de paternité. La comparaison de l'ADN de la mère avec celui de l'enfant et celui du père présumé permet de clarifier de façon presque certaine la question de la paternité. On considère aujourd'hui qu'un enfant sur trente (2 à 5 % des enfants) n'est pas engendré par l'homme considéré comme étant son père, des différences considérables étant toute fois observées selon les populations. Des laboratoires privés offrent en suisse également, leur service pour la vérification de liens de paternité. Ces laboratoires travaillent à partir d'échantillons salivaires recueillis par les personnes concernées elles même et envoyées par la poste pour analyse. Certain prestataires essaient de passer par les médecins pour fournir des testes aux clients potentiels. Cette attention est discutable du point de vue médical autant qu'éthique. L'exécution des testes de paternité ne faisant guère partie des devoirs médicaux. De plus les personnes concernées se trouvent souvent dans des situations psychologiques délicates. Elles ont besoin d'un soutien spécialisée et souvent également d'une médiation juridique. Des dispositions légales à ce sujet sont fournies par la loi fédérale sur l'analyse scientifique humaine [Hansjakob et al, 2005].

Dans la recherche de paternité, il ne s'agit plus de comparer entre eux des profils génétiques de deux individus (fig. 15), mais de confronté ce d'une mère et de son enfant avec celui d'un homme susceptible d'être le père et que l'on dénomme le (père présumé), on applique aux données observées les règles de la génétique et on recherche se père présumé peut ou ne peut pas être le père biologique c'est-à-dire le père réel de l'enfant. Il s'agit d'une recherche d'exclusion de paternité, dans la quelle on admet que la mère est toujours la mère. Si l'exclusion du père présumé est démontrée, l'expertise s'arrête à ce stade et on conclut que l'individu étudié n'est pas le père de l'enfant, les empreintes génétiques monolocus améliorent encore les performances et la probabilité d'exclusion

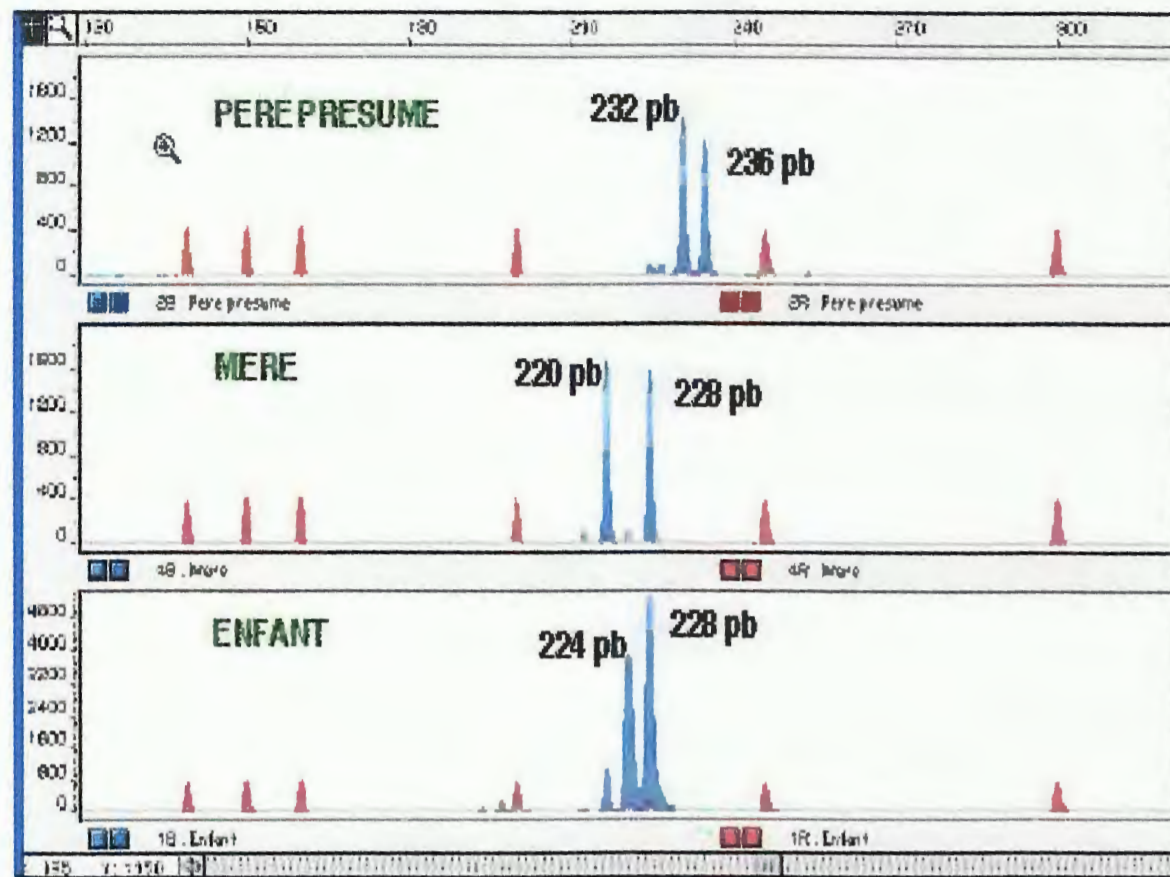


Figure 15. Résultat d'un test de paternité. Un locus microsatellite de type $(CA)_n$ est amplifié par PCR pour chacun des individus testés. Chaque produit de PCR est ensuite analysé sur un séquenceur automatique. L'un des oligonucléotides ayant servi à la PCR est marqué par fluorescence, ce qui rend le produit de PCR détectable sur un séquenceur automatique (pics de couleur bleue). Les pics de couleur rouge correspondent à un marqueur de poids moléculaire. Un fragment de taille 232 pb correspond à 12 répétitions du motif CA. Génotype : père présumé 12 / 24 ; enfant 8 / 10 [Salmon, 1998].

tend à ce rapproche de 1. La valeur d'une probabilité se situent entre 0 et 1. La valeur 0 signifie l'impossibilité, la valeur 1 signifie la certitude. Une probabilité aura donc d'autant plus de valeur, pour affirmer un résultat, qu'elle se rapproche de 1, mais elle ne pourra jamais atteindre cette valeur. Chacun des systèmes d'empreintes génétique monolocus donne, à lui seul, une probabilité d'exclusion située entre 0,7 et 0,9. Un ensemble d'une dizaine de système atteindra donc sans difficulté des valeurs de l'ordre de 0,99, ce qui est tellement proche de la certitude que l'on est alors pratiquement assuré de découvrir une exclusion de paternité quand elle existe, quand le père présumé n'est pas le père réel [Salmon, 1998].

Si l'on dispose des profils du père présumé, et de l'enfant, la méthode d'identification de la mère est similaire à celle du père : on retire du profil génétique de l'enfant tous les éléments en provenance du père présumé, il reste alors les caractéristiques qui proviennent de la mère ; on peut déterminer alors un lien avec plusieurs générations en particulier on s'appuyant sur l'analyse de l'ADNmt qui permet de tracer d'une génération à l'autre par la lignée maternelle. Plus précisément, tous les individus de la même lignée maternelle auront le même ADNmt, de même, on aura des fréquences spécifiques de caractéristiques sur les chromosomes Y qui vont se retrouver de père en fils, la pertinence de rapprochement de deux profils génétiques à l'aide de l'ADNmt est beaucoup plus faible que dans le cas de l'ADN nucléaire, par ailleurs si on a des suspects qui sont de la même lignée maternelle, on aura plus de difficulté à les repérer à l'aide de l'ADN mitochondriale, par conséquent, le recours à cet ADNmt peut être utile quand on ne dispose pas d'autre indice [Cabal et al., 2001].

V.2.2. Recherche de parenté biologique

La précision des testes de parenté biologique va répondre du niveau de rapprochement de la relation parentèle sur laquelle on veut enquêter (plus la parenté est éloignée, plus la probabilité est faible), de l'information génétique additionnelle dont on dispose (plus on analyse de membre de famille, plus la probabilité est élevée) et les marqueurs génétique analysés (plus il y a des marqueurs, plus la probabilité est élevée) [Cabal et al., 2001].

Par ailleurs, il faut, dans certains cas, avoir recours à l'étude de l'ADN mitochondrial ou chromosome Y, pour pouvoir atteindre un niveau de probabilité suffisant. En principe il suffit d'étudier deux individus pour réaliser un test de parenté (oncle, grand père, petit fils). Cependant, dans la plupart des cas, si l'on étudie d'avantage (la mère, un autre oncle, la grande mère) on obtient plus d'informations génétiques, ce qui a des conséquences sur l'évaluation statistique du test, et les probabilités sont plus élevées. Quand il s'agit de frère jumeaux univitellins monozygotes, ils partagent la même information génétique ce sont en quelque sorte des clones et il est donc impossible de les distinguer par le test d'ADN. En revanche, les jumeaux bivitellins dizygotes, peuvent être eux distingués par la voie génétique car ils sont aussi ressemblants que des frères normaux, le test ADN peut servir à les distinguer [Egusquiza, 1995, Salmon, 1998].

V.3. Législation et bases de données à travers le monde

V.3.1. Algérie

En Algérie, il n'y a pas encore de textes législatifs, autorisant la création d'une base de données nationale, cependant l'utilisation d'empreintes génétiques comme indice en criminalistique est permise. Ainsi l'article 49 du code des procédures pénales autorise l'examen des lieux et la recherche des traces biologiques ADN.

V.3.2. France

Les empreintes génétiques trouvent des applications en matière civile et pénale dans les conditions fixées par la loi n°94-653 du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain. [Cabal et al., 2001]. Pour identifier les individus par comparaison des profils le gouvernement français a créé le fichier national autorisé des empreintes génétiques (F.N.A.E.G.). Le FNAEG consistera en une collection de profils génétiques issus. Des indices recueillis sur les scènes d'infraction dont l'auteur n'a pu être identifié profils dits de « traces non résolues », d'individus définitivement condamnés pour les infractions sexuelles énumérées à l'article 706-47 du code de procédure pénale (meurtre ou assassinat d'un mineur précédé ou accompagné d'un viol, de tortures ou d'actes de barbarie, viol, agression sexuelle, exhibition sexuelle, corruption de mineur, pornographie infantine, atteintes sexuelles sur mineur)[Cabal et al., 2001].

Le législateur français s'est montré extrêmement prudent dans la mise en place du fichier national autorisé des empreintes génétiques (F.N.A.E.G.) et ce afin de garantir le respect des libertés individuelles. Il est vrai que la mise en place d'une banque de données ne pouvait être envisageable que dans la mesure où les profils génétiques qu'elle contenait présentaient toute garantie [François, 2002]. Le (F.N.A.E.G.) a été créé par loi du 17 Juin 1998 loi N° 98-468 relative à la protection et à la répression des infractions sexuelles ainsi qu'à la protection des mineurs. [François, 2002]. Les techniques d'identification par analyse de l'ADN sont réservées à quelques laboratoires spécialement agréés en raison de leurs compétences et de leurs qualifications reconnues à la suite de contrôle de qualité [François, 2002]. Le fichage, initialement réservé aux seuls auteurs de crimes sexuels, est aujourd'hui étendu à la quasi-totalité des auteurs et suspects de crimes et délits d'atteinte aux personnes et aux biens [Manach, 2003].

En Janvier 2003 Nicolas Sarkozy, annonçait de 400.00 prélèvements à la même année mais, malgré la récente prise d'empreintes de plus d'un millier de personnes, cet objectif a depuis été repoussé à la fin 2004 [Manach, 2003]. Trois grands types de comparaison pourront être effectués :

- Traces/traces : des empreintes génétiques ont été laissées par un même individu en des lieux différents. Des enquêteurs peuvent ainsi établir des liens entre des affaires.
- Individu/ traces : un individu est ou non – à l'origine du profil de la trace non résolue auquel il est comparé.
- Individu /individu : les profils génétiques susceptibles d'appartenir à un même individu (emprunt d'identité) [Cabal et al, 2001].

Les informations enregistrées ne peuvent être conservées au-delà d'une durée de quarante ans, soit à compter de l'analyse d'identification lorsqu'il s'agit des traces de matériel biologique issu de personnes inconnues, soit, lorsqu'il s'agit d'une personne condamnée, à compter du jour où la condamnation est devenue définitive sans que cette durée puisse dépasser la date du quatre-vingtième anniversaire du condamné [Cabal et al., 2001].

V.3.3. Etats-Unis

La technique des empreintes génétiques mise au point par Alec Jeffreys a été utilisée pour la première fois en 1986 dans une affaire jugée par un tribunal de Pennsylvanie. Son usage s'est rapidement développé, expert et juges ayant immédiatement apprécié l'intérêt qu'elle pouvait présenter pour forger la conviction d'un jury criminel [Cabal et al., 2001].

Cependant, il est tout aussi rapidement apparu que la valeur probatrice de l'analyse d'ADN dépendait très étroitement de la rigueur méthodologique avec laquelle elle était pratiquée, le cas Castro, jugé en 1989, fournissant à cet exemple topique. Dans cette affaire examinée par un tribunal du Bronx, on avait fait analyser par le laboratoire Life codes une tache de sang retrouvée sur la montre du suspect d'un double meurtre. Les experts ayant conclu à l'identité des caractères génétiques fournis par cet indice avec ceux du sang d'une des victimes, les avocats de la défense firent appel à des biologistes de renommée mondiale. Le contre examen révéla que la concordance des deux empreintes ne pouvait être établie avec certitude, les bandes provenant de l'ADN de la tache de sang étant légèrement décalées par rapport à celles qui fournissent l'ADN de la victime [Cabal et al., 2001].

L'objectif visé par les autorités américaines dans les années 90 a donc été d'établir des standards de qualité qui permettraient d'éviter de tels événements et dont le respect conditionneraient l'octroi de fonds publics fédéraux aux laboratoires pratiquant l'analyse d'ADN dans un cadre judiciaire. C'est imposée parallèlement la nécessité d'un système informatisé pour rassembler les empreintes génétiques prélevées sur les délinquants et sur les scènes des crimes afin de faciliter l'échange d'informations et la coordination des recherches entre les services de police. Cette double démarche a trouvé sa traduction législative dans le DNA Identification Acte adopté par le Congrès en 1994 [Cabal et al., 2001].

V.3.4. Canada

La loi d'identification par les empreintes génétiques promulguée le 30 Juin 2000 a prévu la création d'une banque nationale de données génétiques qui sera administrée par la gendarmerie royale du Canada. Elle vient compléter la stratégie législative du Gouvernement fédéral en matière d'identification par l'ADN qui avait débute en Juillet 1995 par la modification du code criminel afin d'habiliter les juges à décerner des mandats autorisant le prélèvement d'échantillons de substances corporelles sur des suspects [Cabal et al., 2001].

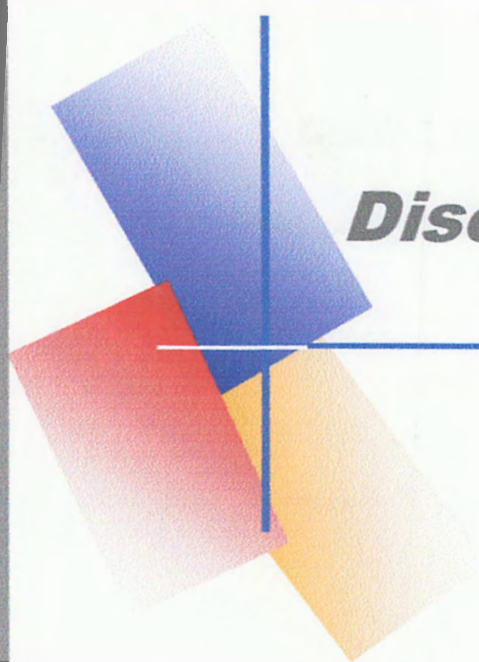
La banque nationale de données génétiques contiendra des profils génétiques provenant de contrevenants condamnés pour des infractions graves. Le code criminel distingue les infractions primaires pour lesquels le prélèvement sera automatique (crimes sexuels, meurtre, enlèvements, agressions à main armée...) et les infractions secondaires qui pourront justifier un prélèvement si le procureur l'estime nécessaire dans l'intérêt de la sécurité publique [Cabal et al., 2001].

D'autre part, un fichier de criminalistiques conservera les profils génétiques recueillis sur les lieux de crimes non résolus. Les renseignements se recouperont afin de jumeler les profils correspondants dans le système, ce qui permettra d'identifier les récidivistes. La banque aidera à établir des liens entre les divers secteurs de compétence de la police et à faciliter ainsi la résolution des cas. Le Canada a repris ici le système CODIS et, par conséquent, le système des 13 marqueurs génétiques imposés par le FBI. Vingt-huit mille échantillons biologiques devraient être recueillis pendant la première année suivant la création de la banque [Cabal et al., 2001].

Les profils génétiques et les prélèvements de substances corporelles seront conservés dans la banque de données pendant une période indéterminée, ce qui permettra de traiter les données selon les nouvelles technologies sans devoir obtenir de nouveaux échantillons, si les analyses initiales devenaient dénuées. La loi prévoit la destruction des échantillons en cas d'annulation de la déclaration de culpabilité et, après un certain temps, dans les cas d'absolution inconditionnelle et d'absolution sous condition [Cabal et al., 2001]. Des échantillons peuvent être prélevés sur des délinquants condamnés avant l'entrée en vigueur de la loi, s'agissant soit de « délinquants dangereux » aux termes du Code criminel, soit de délinquants sexuels condamnés à deux ans minimum d'emprisonnement, soit de coupables de plus d'un meurtre. Environ 2100 délinquants répondent à ces critères (250 délinquants dangereux, 1 690 délinquants sexuels et 130 tueurs en série) [Cabal et al., 2001]. Par ailleurs, la loi autorise le Canada à échanger des renseignements sur des profils d'identification génétique avec des pays étrangers à des fins d'enquête et de poursuites criminelles, pourvu qu'une entente ait été conclue [Cabal et al., 2001].

Chapitre VI

Discussion et Conclusion



Donc l'ADN est une molécule de choix pour identifier les individus, toute trace de matériel biologique peut faire aujourd'hui l'objet d'une étude détaillée permettant l'exclusion ou l'identification d'un individu, la nature des traces (sang, sperme, salive, éléments pileux, ...) est d'abord déterminée par des techniques simples et rapides, ces traces sont obtenues à partir de différentes sources (prélèvements biologiques sur individus, mégot, timbre, enveloppe, goulot de bouteille, chewing-gum, cagoule, masque, vêtements divers...), les traces biologiques contiennent des cellules à partir desquelles sont extraites l'acide désoxyribonucléique (ADN), support de l'information génétique, des séquences particulières de l'ADN extrait sont ensuite amplifiées et leur étude permet de différencier les individus entre eux avec une grande précision, à l'exception des jumeaux vrais, ces techniques « d'empreintes génétiques » sont maintenant couramment employées dans les cas de viols et d'analyses de traces biologiques provenant de lieux de vols et de meurtres, elles sont également utilisées pour l'identification de cadavres par comparaison avec celles de parents présumés ainsi que pour des études de filiation.

En 1983, la police de Narborough (GB) est confrontée au viol suivi du meurtre d'une adolescente de 15 ans, les moyens d'identification biologique ont disposition de la police scientifique sous typage protéique ou sérologique de tissus biologiques sont alors peu discriminants. Les 4 groupes sanguins utilisés avant l'ADN : érythrocytaires (ABO et Rh), les systèmes Lewis et MNSs, sériques Gm et Km, enzymatiques phosphoglucomutase, estérase, 6-phospho-gluconate-déhydrogénase, adénosine-désaminase, adénylate-kinase, phosphatase-acide érythrocytaire-, et tissulaires- système HLA (Human Leucocyte Antigen). De fait, l'analyse du sperme retrouvé sur la victime permet d'identifier l'agresseur comme ayant le statut de sécréteur de groupe A, phosphoglucomutase (GPM+1), ce qui correspond approximativement à dix pour cent de la population de la Grande-Bretagne.

Trois ans plus tard, une adolescente est tuée dans le même secteur, le mode opératoire est similaire et le résultat des analyses identique, un suspect Richard Buckland correspond à ces résultats mais nie absolument être l'auteur des faits, l'un des policiers chargé de l'enquête se souvient alors d'avoir entendu parler des travaux sur le polymorphisme de l'ADN d'un certain Dr Alec Jeffreys, il le sollicite donc pour analyser les différents prélèvements biologiques, la comparaison des profils ADN de Richard Buckland avec ceux issus des prélèvements de sperme retrouvés sur les victimes le disculpe radicalement, plus tard, après une enquête à grande échelle et le prélèvement de nombreux échantillons sérologiques (4,583) d'habitants mâles des villages avoisinants, le véritable auteur : Colin Pitchfork sera identifié.

Cette affaire est la première application de l'identification par l'ADN, depuis, la technique a évolué, mais le principe reste le même. Le polymorphisme étudié peut être un polymorphisme de taille (variation du nombre de répétition ex : VNTR, STR, ...) qui sont aisément amplifiables avec une expression simple des allèles, présentent un fort taux d'hétérozygotie et expriment un nombre d'allèles suffisamment élevé, donc il y a deux points importants doivent être soulignés à propos de cet examen des zones variables, une de ces points, plus nombreux sont les sites polymorphes qui font apparaître une concordance entre un échantillon recueilli sur le lieu d'une infraction et un échantillon

VII. Discussion et conclusion

Chaque être humain se distingue de ses semblables par un ensemble de caractéristiques morphologiques et biologiques qui rendent son identification possible. La recherche de tels éléments spécifiques et propres à un individu donné a, de longue date, stimulé la progression de la criminalistique. Cette science a d'abord employé des méthodes descriptives conduisant à l'établissement d'un signalement, puis des techniques de mesures plus objectives : l'anthropométrie développée par Alphonse Bertillon à partir de 1880 utilisait une vingtaine de mensuration fournissant une description unique et infalsifiable d'une personne. Le « bertillonnage » sera détrôné dans les premières années du XXe siècle par l'empreinte digitale, moins onéreuse et plus facile à manier. Ces techniques restent encore approximatif, faillible et pas être prospective, mais simplement coopérative.

En 1910, Edmond Locard crée à Lyon le premier laboratoire de police scientifique et y met en application le principe selon lequel « tout individu, à l'occasion de ses actions criminelles en un lieu donnée, dépose et emporte à son insu des traces et des indices : sueur, sang, poussière, fibres, sperme, salive, poils, squames, terre, etc...qu'ils soient de nature physique, chimique ou biologique, ces indices, une fois passés au crible d'examen de plus en plus sophistiqués, parlent et livrent le récit du crime avant de permettre au lecteur-enquêteur de déchiffrer la signature de l'auteur coupable » [Durupt, 2000].

Le domaine des traces biologiques indiciaires a donné lieu à des recherches intensives au cours de ces dernières décennies afin de trouver, dans les traces de sang ou de sperme, dans les cheveux ou dans d'autres échantillons biologiques, des caractéristiques individuelles spécifiques qui renferment un potentiel de différenciation assez grand, tout en étant suffisamment stables par rapport aux influences environnementales auxquelles ces traces, de par leur nature, peuvent être exposées. Jusqu'au milieu des années 80, la criminalistique avait essentiellement recours à l'analyse de substances faisant partie des groupes sanguins et des polymorphismes enzymatiques et protéiques. Les performances étaient médiocres du fait, notamment, de la nature des échantillons biologiques à analyser et ne permettaient pas d'identifier une personne avec certitude.

Une étape décisive a été franchie en 1985 grâce à l'introduction d'une technique d'analyse de l'ADN, développée par Alec Jeffreys et ses collaborateurs : elle permet d'établir, à partir du patrimoine génétique, une combinaison alphanumérique individuelle spécifique. Comme la substance ADN, porteuse de ce patrimoine, est présente dans chaque noyau cellulaire d'un individu, il est possible d'établir un profil génétique à partir de toute sécrétion ou tissu du corps humain. Cependant, on choisit des régions non codantes de l'ADN extrêmement variable d'une personne à l'autre. Il y a donc très peu de chance que deux personnes (autre que des vrais jumeaux) portent exactement les mêmes. Séquences et présentent la même empreinte génétique pour les régions que l'on soumet au test le développement des techniques d'hybridation moléculaire (Southern Blotting) puis de l'amplification génique in vitro (PCR) a permis de travailler au niveau du génome et de s'affranchir des problèmes d'identification des individus.

connu (prélevé sur un suspect), moins il est probable que l'échantillon provient d'un individu différent, la deuxième point est la non concordance constatée sur un seul site polymorphe conduit à écarter de façon absolue l'individu dont le profil ADN est confronté à celui de l'échantillon recueilli. La certitude de l'identification s'apprécie en termes de probabilité, l'exclusion en termes de certitude.

Un autre type de polymorphisme existe c'est le polymorphisme de séquence (SNP (HLA DQ? polymarker²²..)), l'accès à ces polymorphisme a également évolué, les enzymes de restriction historiquement utilisées ont été remplacées par la PCR permettant du coup de travailler sur des quantités infimes de matériel biologique. Par la suite, les analyses se bornant à comparer l'ADN de question (trouvé sur la scène d'infraction) avec l'ADN de comparaison (prélevé par exemple sur un suspect), ont été renforcées par la mise en place de fichiers automatisés permettant la comparaison d'échantillons en grand nombre, et ce, à un échelon national voire international [Gallou, 1991].

On le voit à travers cette affaire et plusieurs d'autres, que les analyses génétiques jouent un rôle sans cesse plus important dans les enquêtes criminelles, que les enquêteurs concluent leurs investigations, notamment quand elles permettent d'éviter des erreurs judiciaires, mais il faut être très prudent dans l'utilisation de la génétique. En effet, les analyses génétiques constituent des preuves permettant d'innocenter un suspect, cependant elles ne suffisent pas pour en condamner un autre, de plus, nous avons vu que le taux de fiabilité des prélèvements ainsi que des analyses n'atteint jamais 100%, pour cela, les analyses génétiques ne peuvent pas constituer la seule preuve pour juger une personne et la condamner.

En effet, prenons l'exemple du tribunal fédéral de Karlsruhe (Allemagne) qui en 1992, a refusé de condamner un homme accusé de viol sur la seule « preuve » d'une analyse génétique établissant qu'il y avait 99,986% de chance que le sperme trouvé sur la victime fut le sien. Rapporté au nombre d'habitants de Hanovre, ville où le viol avait été perpétré, ce pourcentage signifiait que 35 hommes pouvaient avoir les mêmes empreintes, les laboratoires de police scientifique ont pour mission d'effectuer les examens, recherches et analyses des traces et indices relevés au cours d'une enquête en vue de rechercher des éléments concernant des crimes et des délits, et ce à la demande des services de police, de gendarmerie ou encore des magistrats.

À notre grande surprise, nous nous sommes rendus compte que les analyses génétiques constituent de très bons indices mais pas des preuves irréfutables, pour cette raison, il faut tenir compte de beaucoup d'autres facteurs (déclarations de témoins,...) qui viendront compléter les résultats obtenus par les laboratoires, pour permettre une identification plus rapide des individus concernés par une enquête policière, certains préconisent la mise en place d'un fichier contenant la « carte d'identité génétique » de chacun, cette dernière étant établie dès la naissance. En effet, il est toujours très difficile de se faire un avis sur les questions éthiques que la génétique pose, surtout face au sentiment d'être manipulées par les médias et à une confidentialité parfois des informations traitées [Scherlock et Dorozynski, 1996].

D'après notre point de vue générale, la méthode des empreintes génétiques a fut développée plusieurs domaines : judiciaire, médicale, microbiologique ... dont l'expert peut identifier une personne à partir d'une trace de sang par exemple, à fin de pouvoir admettre son identité comme dans le cas de meurtre, identifier un cadavre, ou dans une recherche de paternité c'est lors de cette recherche la discussion porte sur le comportement des médecins généticiens face à la découverte fortuite d'une fausse paternité. Tout d'abord, il est important de rappeler, des examens des caractéristiques d'un individu présentent des particularités puisqu'elles sont à la fois des éléments constitutifs de l'individu en tant qu'être unique et des éléments qui relient l'individu à sa famille, passé, présent, et avenir. Leurs examens et leurs révélations touchent l'individu dans sa nature biologique intime, et dans ses attaches avec les siens. Ainsi, l'analyse éthique doit tenir compte de ce double rapport de l'individu à lui-même, et à sa famille. La recherche de paternité est un acte grave, dont les conséquences psychologiques, sociales, juridiques, peuvent être considérable. Cependant elle constitue une démarche courante dans la recherche génétique humaine. Le père biologique, l'étude d'une famille humaine à des fins scientifiques commence toujours par une étape pudiquement appelées : « validation des données », il s'agit en fait de vérifier la paternité, ce qui peut entraîner des surprises, mais une exclusion découverte dans ces conditions demeure un secret médical.

L'analyse de l'ADN mitochondrial, malgré une automatisation importante reste longue et coûteuse. Son pouvoir discriminant n'atteindra jamais celui de l'ADN nucléaire. Cependant sa détermination apporte des indications précieuses sur des éléments qu'il était impossible jusqu'à présent d'analyser comme les cheveux, et les ossements. L'interprétation des résultats doit être extrêmement prudente et les limites de l'analyse doivent être expliquées au magistrat. (DIAG.GENE), c'est aux U.S.A. et en grand Bretagne que les premiers fichiers d'empreintes génétiques apparaissent. Les anglais prennent de l'avance en caractérisant tout individu ayant commis un crime ou un délit. Mais à quel prix ! Un investissement intellectuel et financier énorme, mais un fichier d'une puissance extraordinaire. La base de données est gérée par le Forensic science service, organisme privé sous contrat avec l'état anglais. Dans le reste de l'Europe, les gouvernements sont plutôt fil eux et peu ont passé le pas.

Les techniques d'empreintes génétiques en values un grand succès et intérêt, surtout dans les pays Européens ; par contre, ici en Algérie, on n'a pas les moyennes pour l'utiliser, et même si on les avez, elle est complètement refusée, surtout dans les tribunaux, on l'apprend pas comme un vrais indice qui pourrait innocenter ou accuser des suspects, ainsi, on trouve que cette technique est moderne, utilisable et efficace, malgré sa nouvelle apparition, et les risques d'erreurs qu'on rencontre au moment des prélèvements ou de manipulation. Le domaine de la justice en bénéficie pleinement par les empreintes génétiques qui sont, sans être la reine des preuves, une aide énorme pour la protection de notre société dans la recherche de la variété en minimisant le risque d'erreurs.

En fin, la technique d'empreinte génétique est extraordinaire, qui continue à se développer de façon rapide et constante. Récemment, des chercheurs qui travaillent dans des grands laboratoires, ont pu réaliser des puces spécifiques qui correspondent au profil

génétique de chaque individu, ou chaque scientifiques au le droit d'entrer à ces grands laboratoires de recherche.



Références

Références

- Alberts B, Bary D, Lowis T, Raff M, Pobert K and Watson JD. (1994) Molecular Biology of the cell, 3rd edition, New-York, Garland Publishing Inc.
- Androge C, Bostan A, Delacroise A et Steuves S. (2005) Printemps des sciences, inforsciences, Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- Anonyme. (2007) Magazine l'internaute. Rien n'échappe à la police scientifique, bruno fay, France.
- Barinage. (1998) DNA finger printing database to finger criminal, p. 203-331.
- Benzelin-Bourlier S. (2003) Les fichiers d'empreintes génétiques, DESS Droit de l'informatique et du Multimédia, Université de Lille.
- Berlière J. M. (1996) Le monde des polices de France aux XIXe et XXe siècle, Bruxelles, complexe, p. 41-53.
- Bernot A. (1999) L'analyse des génomes, 2^{ème} édition, collection : Antiq. Scian. Exa, p. 9-10.
- Berry J et Clément JL. (1987) Science légale et police scientifique, Paris, 2^{ème} édition, P. 31-32.
- Bertillon A. (1912) Note technique sur le nouveau portrait Anthropométrique au 1/5^{me}, AAC, Lyon-France, Siret édition.
- Bertrand L et Magin P. (1996) Médecine légale/toxicologie, Paris, p. 1875.
- Brown TA. (2004) Le génome, 2^{ème} édition, Garland science, Strasbourg, p. 7-18.
- Cabal C, Deaut JY et Revol H. (2001) Rapport sur la valeur scientifique de l'utilisation des empreintes génétiques dans le domaine judiciaire. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, n°3121. Assemblée nationale.
- Chauveau L. (2000) Sur les traces du crime, édition calman Lévy.
- Curran T, (1997) Analyse génétique en criminalistique : technologie et applications, Direction de la recherche parlementaire. Bibliothèque du parlement.
- Dannet et Studier. (1983) complete nucleotide sequence of bacteriophage DNA and the location of genetic elements, J Mol Biol, p. 166-477-535.
- Dermot O S. (1993) DNA tests Identify Bones of Czar and family, U.S.A, chemical and engineering news, p. 6-7.

- Devern-Euil H. (2003) Biochimie et Biologie Moléculaire, 3ème partie. Le génome et son expression, France, édition Flammarion, p. 121-122.
- Durupt B. (2000) La police judiciaire, la scène de crime, édition Gallimard, p. 23.
- Eberhard P. (2003) Atlas de poche de génétique, 2ème édition, p. 56-62.
- Egurquisa M (1998) The legal role of Biological proof and refusal toudengo testing in investigation of paternity, lawand human gen, p. 8-67.
- Etienne J. (1999) Biochimie Génétique et Biologie Moléculaire, Paris, 5^{ème} édition, Masson, p. 22.
- Fombinne J. (1996) La criminalistique, Paris, édition presses Universitaires.
- François C. (2002) Le fichier national des empreintes génétiques, Mémoire de DEA droit et justice. Université de lille-droit et santé.
- Gallou JC. (1991) L'empreinte génétique : La preuve parfaite ? , la semaine juridique, n 12, Vol.1, p. 104-110.
- Gaughan P et Martin PD. (1998) Banque de donnée d'ADN en grande Bretagn, les empreintes génétiques en pratique judiciaire.
- Hansjakob M, Imhasly P et Lenthold M. (2005) Schweiz Med Forum, Académie suisse des sciences médicales petersphatz 13 CH-4051-Bâle.
- Harbert DE. (2003) Biochimie et Biologie Moléculaire, 3 ème partie, le génome et son expression. Edition Flammarion, France, p. 121-122.
- Hebrard CJ. (2005) L'apport de la science dans la preuve pénal, France.
- Jehaes E, Decorte R, Pertrie JH, Biory PA, Gilisen A, Moisin JP, Van Den Bery H, Pascal O et Cassian JJ. (1998) mitochondrial analysis of remains of a putative son of Louis XVI, King of France and Marie-antoinette. Eur. J. Haman Genet, p. 383-395.
- Josué F, Fellous M et Solignac M. (1998) Principe de génétique humaine, Paris 5^{ème} édition, Hermann, p. 586.
- Kaplan JC et Delpéck M. (1998) Biologie moléculaire et médecine, Paris, Flammarion, p. 169.
- Kawchuk L, Lynch D, Thomas J, Penner B, Sillito D et Kulkesar F. (1996) Characterisation of solanum tuberosum simple sequence repeats and application cultivar identification, p. 73-335.
- Lebourg A, Merle J, Mirabaud A et Pattou C. (2002) Police scientifique, Université de Versailles st-quentin. Projet profssionnel.

- Malek K, Christoph J et Lacombe MK. (1996) Santé publique .Médecine Légale Médecine de travail, Edition Estem et Med Line, p. 160-162.
- Manach JM. (2003) Les limites des fichiers génétiques de la police, Journal le monde.
- Margaret W, Thompson P, Roderick R, McInnes S, Huntingtonf M et Willard. (2006) Génétique médicales, 5eme édition, paris, p. 120-121.
- Morange M. (2003) Histoire de la Biologie Moléculaire, éditions la découverte, p. 55-67.
- Muse G. (2004) Précis de génomique: le séquençage des génomes et leur annotation, édition de boeck, p. 85-98.
- Otmani AH, Benlatrache T et Lemhane. (2005) Méthodologie des prélèvements pour empreinte génétique. Journée médico-judiciaire, Alger.
- Pesnot P. (1999) Les détectives de l'impossible, Paris, édition Denoël, p. 102-104.
- Petkovski E. (2006) Polymorphismes ponctuels de séquence et identification génétique, thèse doctorat de l'université Luis Pasteur Strasbourg.
- Piercy R, Sullivan KM, Benson N et Gill P. (1993) The application of matochondrial DNA typing to the stady of the white caucasian genetic identification". Int. J. Leg. Med; 106, p. 85-90.
- Pol D. (2001) La police scientifique, Biologie amusante, Bayerd édition, Paris, Vol. 28, p. 82-94.
- Prevost L. (1987) Eléments de criminalistique appliquée, Odulo, Mont-Royal, p. 218.
- Robertson J, Ross AM et Burgoyne LA. (1990) DNA in forensic Science, Ellishorwood Publiher, p. 24.
- Rossignol JL. (2000) Génétique- gène et génome, cours et questions de révision, Dunod, Sciences Sup Nature et vie, p. 40.
- Rouger PH. (2000) Les empreintes génétiques, Paris, P.U.F, p.40.
- Sabatier M, Aeveiler B et Men-Régner M. (2006) Justice et Génétique. Police scientifique de Toulouse.
- Salmon C. (1998) Des groupes sanguins aux empreintes génétiques, Paris 2^{ème} édition, p.43-52.
- Sanger F, Air GM et Barrell BG. (1977) Nucleotide sequence of bacteriophage Q, 174 DNA, Nature, p. 265-687...95.

Scherlock H et Dorozynski A. (1996) Science de vie, mensuel n°943.

Schnapper B. (1983) La récidive, une obsession créatrice au XIXe siècle, Paris, P.U.F, p. 25-64.

Serre JL. (2002) Les diagnostics génétiques, Paris, Dunod / Biotech info, univ. Sciences, p. 5-7-20.

Serre JL. (2006) Génétique des populations, Paris, Dunod, p. 8.

Stading. (1979) Strategy of DNA sequencing employing compacter programs, Nucleic Acids Res, p. 2001-2610.

Turner PC, Melennan AG, Bates AD et Hwhite MR. (2002) L'essentiel en Biologie Moléculaire, Berti 3ème édition, p. 52.

Watson JD et Crick FHC. (1953) Molecular Structure of Nucleic Acids, Nature, Vol. 171, p. 737-738.

Présenté par ABDI Amel MEBARKI Amina BENAMEUR Linda.	Thème La preuve par l'ADN : Le polymorphisme génétique au service de la justice.	Date de soutenance 22 / 06 / 2008
--	---	---

Résumé

La Biologie Moléculaire a donné naissance à une invention importante, appelée empreintes génétiques ; qui a été développée en 1985 par Alec Jeffreys. L'établissement des empreintes génétiques est réalisable en appliquant un protocole bien précis d'analyse du polymorphisme de l'ADN, c'est-à-dire des régions de l'ADN non codantes et variable d'un individu à l'autre, appelées : minisatellites et microsatellites. Il y a deux principales techniques employées pour analyser l'ADN. La RFLP qui consiste à une digestion de l'ADN par une enzyme de restriction, suivie par une électrophorèse et la révélation des bandes d'ADN spécifiques. La PCR assure une amplification en plusieurs copies d'une région ciblée à l'aide d'une amorce et une enzyme polymérase, pour effectuer les profils génétiques. Les applications des empreintes génétiques sont multiples et diverses dans différents domaines, notamment en la justice et la Médecine légale (Etablissement d'identité, recherche de paternité, ..).

Mots clés : ADN, Empreinte génétique, Polymorphisme génétique.

Abstract

Molecular biology has given birth to an important invention, called: genetic profiling; which has been developed in 1985 by the pioneer Alec Jeffreys. The establishment of genetic fingerprints can be carried out by applying a quite precise protocol to the DNA samples. This technique is based on the analysis of polymorphic DNA, which are non-coding and variable DNA regions, named: microsatellites and minisatellites. There are two principal techniques used to analyze DNA: the RFLP which consists to digestion of DNA by restriction enzyme, followed by electrophoresis and detection of specific DNA bands corresponding to the different fragments of DNA. The PCR is the second technique, it ensures an amplification of target DNA area and carry out the genetic profiles. The applications of genetic fingerprints are numerous and varied in different areas, especially the justice (identification of individuals, finding fatherhood, motherhood and parenthood).

Key words: DNA, Genetic fingerprint, Genetic polymorphic.

المخلص

إن تطور البيولوجيا الجزيئية أعطى دفعا لابتكار مهم يدعى البصمات الوراثية والتي يرجع الفضل في اكتشافها إلى العالم أليك جيفرس سنة 1985. إن الحصول على البصمات الوراثية يعتمد على معالجة جد محددة لنماذج من الـ ADN المدروس، تحليل هذا الأخير يرتكز على مناطق متغيرة من شخص لآخر، متعددة المظهر وغير مثفرة تدعى مينيساتيليت و ميكروساتيليت. توجد تقنيتان أساسيتان للحصول على البصمات الوراثية. تقنية الـ RFLP تستدعي كسر الـ ADN بواسطة إنزيم القطع متنوع بتطبيق للهجرة الكهربائية وكشف يعكس هذه البصمات على شكل أشرطة مميزة لمنتج تجاري خاصة بالـ ADN المدروس. تقنية الـ PCR التي تضمن تضاعف عدة نسخ من مناطق مستهدفة من الـ ADN اعتمادا على بادئات وإنزيم بوليميراز، تطبيقات البصمة الوراثية كثيرة ومختلفة في العديد من المجالات خاصة القضاء و الطب الشرعي (تحديد الشخصية، تحديد الأبوة...).