

Le Profil ADN.



**Attention !
Vous aussi un jour vous pourriez le rater !**

Table des Matières .

1° Introduction :

1. Pourquoi ce travail ?
2. La petite histoire des tests ADN .
3. Les tests ADN « aujourd'hui » .
4. Les tests ADN « demain » .



2° L'ADN et la médecine .

1. Le Chromosome : aspect général .
2. L'ADN, quelques données chiffrées .
3. L'ADN, comment ça marche ?
4. Contenu informatique de l'ADN versus protéine .
5. Un ADN particulier : l'ADN chromosomique Y.
6. Un ADN particulier : l'ADN mitochondrial .
7. Le bagage ADN de l'individu .
8. Le bagage ADN et les mutations .
9. L'Homozygote et l'hétérozygote .
10. Les séquences répétitives VNTR et SPR.
11. Les SNP et les puces à ADN .



3° L'ADN au laboratoire .

- Standardisation des tests et des labos .
- Les problèmes rencontrés au labo .
- Extraction de l'ADN .
- Découpe de l'ADN.
- Multiplication de l'ADN par la PCR .
- Marquage de l'ADN.
- Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse.
- Les ennemis de l'ADN .
- Qui sera chargé de l'analyse ADN ?
- L'analyse ADN et ses résultats .
- L'analyse ADN, comment présenter le rapport ?

4° L'ADN et les maths .

- 1. Les statistiques : comment ça marche ?**
- 2. Etude des populations .**
- 3. Les probabilités .**
- 4. Les erreurs d'interprétation des résultats .**



5° L'ADN et les traces :

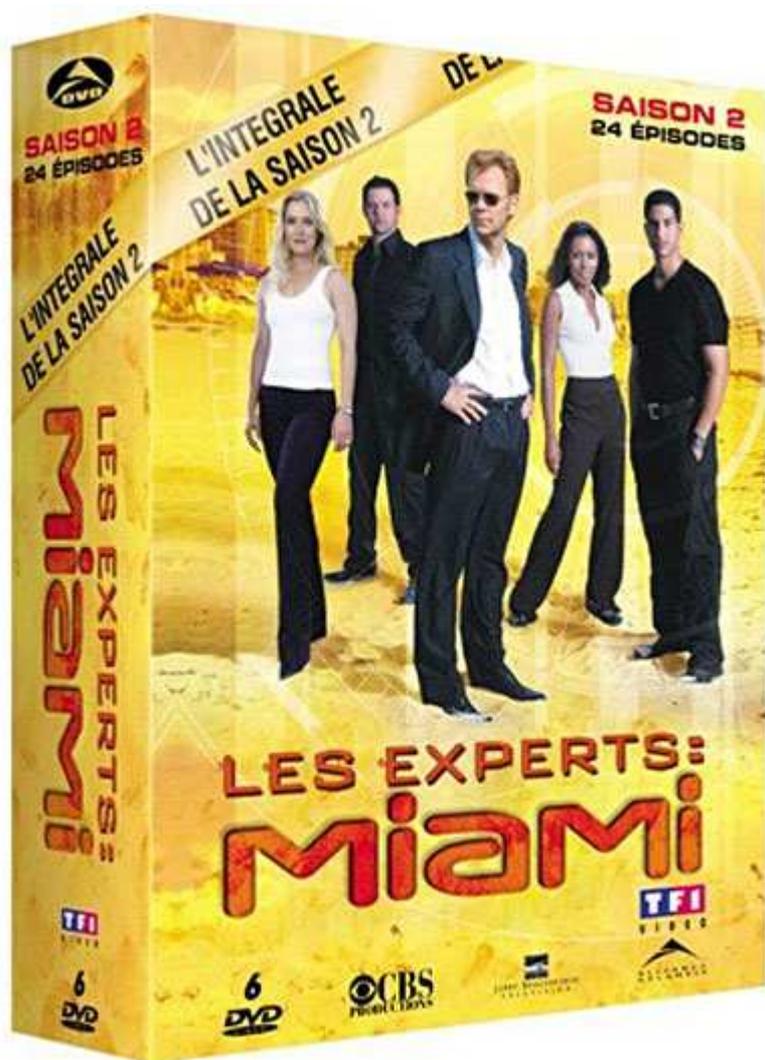
- 1. La recherche des traces : généralités .**
- 2. La recherche de quelques traces particulières .**
- 3. La recherche de traces : les problèmes .**
- 4. La prise d'échantillon sur le sujet .**
- 5. Comment se présente l'affaire ?**



6° L'ADN et les bases de Données .

- 1. L'analyse ADN d'un labo à l'autre .**
- 2. L'analyse ADN va dans une base de données .**
- 3. La base de données est interrogée .**
- 4. La base de données dans l'affaire en cours .**
- 5. La base de données et les vieilles affaires .**
- 6. L'analyse ADN entre et sort de la base de données .**
- 7. La base de données ? Quelle base de données ?**







Introduction :

- 1. Pourquoi ce travail ?**
- 2. La petite histoire des tests ADN .**
- 3. Les tests ADN « aujourd'hui » ?**
- 4. Les tests ADN « demain » .**

1-1° Pourquoi ce travail ?

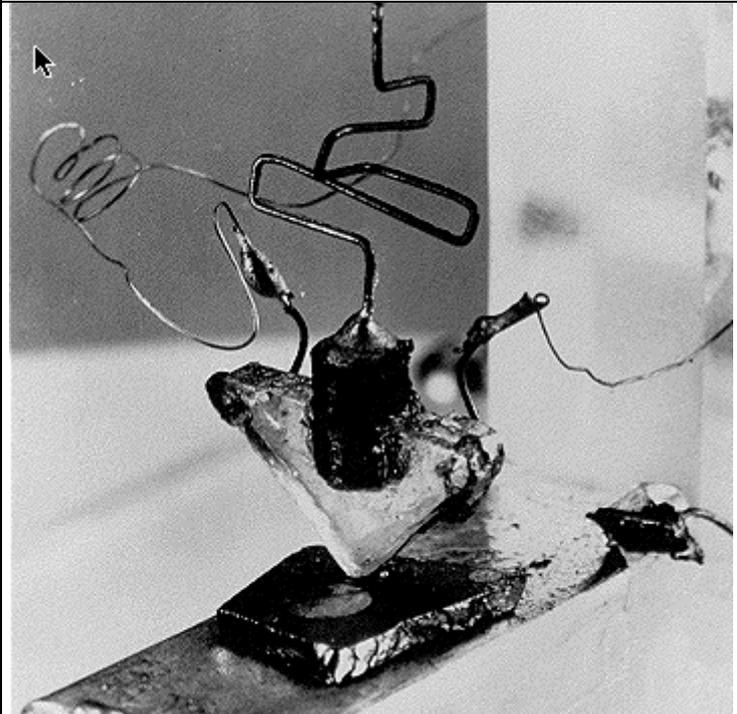
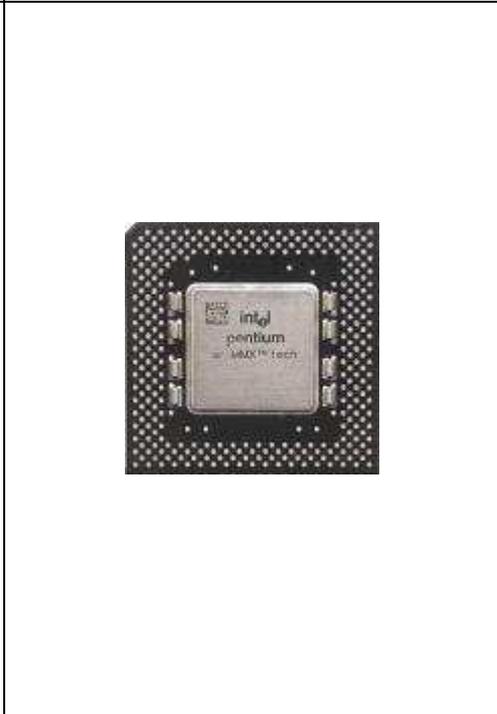
J'ai réalisé ce travail pour de multiples raisons :

- Tout « citoyen » est tenu de s'informer de ce qui se passe et de ce qui est susceptible d'influencer peu ou prou le caractère « démocratique » (relatif, mais néanmoins démocratique) de la société.
Les tests ADN deviennent très répandus, et même accessibles par tous .
- A l'heure actuelle, il est possible à tout un chacun via Internet, et moyennant une somme relativement réduite de réaliser un test de paternité.
- Demain il sera tout aussi possible (mais sans doute tout aussi interdit qu'il est aujourd'hui d'accéder aux sites pédophiles...) de faire passer un test d'embauche se basant sur des critères de santé et de probabilité de survenues de maladies .



1-2° La petite histoire des tests ADN .

Les tests ADN on une petite vingtaine d'années, et déjà ils ont une histoire ; comme toutes les nouvelles technologies, ils ne cessent de se développer, et ce qui était impossible techniquement ou économiquement hier devient d'une banalité déconcertante demain .

1 seul transistor (taille réelle) - 1947	15 milliards de transistors - 2007
	

En gros, le principe est toujours le même : on analyse non pas tout l'ADN , mais de petits fragments bien précis de l'ADN .

La différence essentielle entre les méthodes provient de la façon dont on obtient ces fragments .

Les premiers tests ADN reposaient sur une **découpe** de certains fragments d'ADN .

Les tests ADN actuels reposent sur une **multiplication** de certains fragments d'ADN

1-3° Les tests ADN « aujourd'hui » . .

Actuellement les tests ADN sont devenus très courants et relativement peu onéreux .
On les utilise à tout propos dans des domaines variés :

- Médecine légale :
 - Identification d'un corps,
 - Identification d'un coupable
 - Identification d'un témoin .
 - Identification d'une trace .
 - Tests de paternités .
 - Détermination d'une filiation dans le cadre de la police des étrangers .

- Médecine vétérinaire :
 - Preuve de race pure et de filiation dans le cadre des pedigrees .
 - Détermination de la race exacte d'un animal utilisé dans une préparation alimentaire : par exemple : un homard de Bretagne est d'une toute autre qualité et d'un tout autre prix qu'un homard de l'Alaska, mais dans une boîte de soupe, il est difficile sans test ADN de savoir d'où vient le homard ...).

- Etc , etc



1-4° Les tests ADN « demain » .

Dans l'avenir on recherchera toujours l'ADN ,car c'est une molécule stable, bien connue , inaltérable (si du moins elle survit dans l'échantillon ...) et discriminante .

Il y aura sans des modifications dans les méthodes de prises, de conservation et de transport des échantillons .

Il y aura sans doute des modifications sur les techniques de labo visant à isoler l'ADN et à le débarrasser des impuretés et des inhibiteurs arrivés là accidentellement ou délibérément (l'auteur du délit ayant délibérément tenté d'éliminer ses traces) .

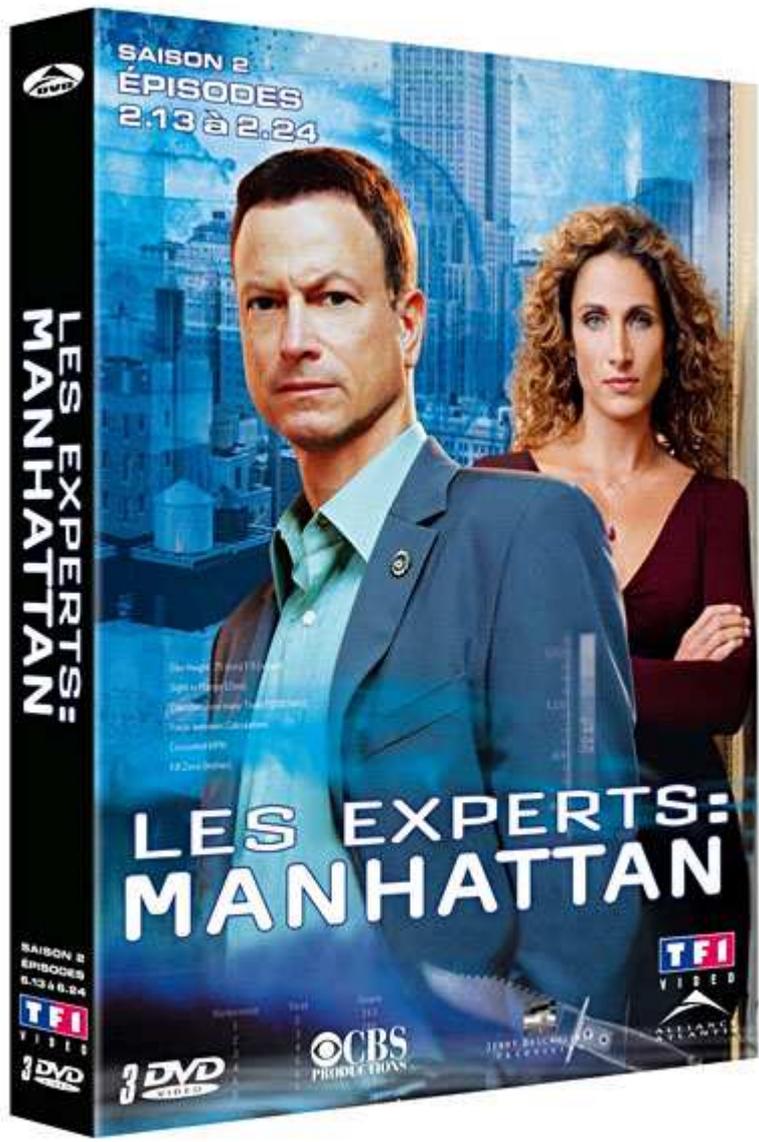
Il n'y aura par contre **pas** de grandes modifications **dans les techniques** de laboratoire portant sur l'identification de l'ADN proprement dit , **mais bien dans les méthodes de travail** de laboratoire lui même qui sera considérablement automatisé, et ce pour plusieurs raisons :

- Diminution du nombre de manipulations humaines qui, outre le coût augmentent toujours la probabilité d'erreurs de manipulation (confusion des échantillons, etc ...) .
- Augmentation de la rapidité des tests .
- Augmentation de la standardisation des tests.

Avec l'augmentation des bases de données, et avec l'augmentation des zones ADN étudiées il sera possible d'obtenir des renseignements qui aujourd'hui ne sont pas possibles faute d'études et de base de données de références , et en particulier :

- Couleur de peau .
- Origine géographique pour une couleur de peau donnée : noir africain, noir américain, blanc Méditerranéen , blanc d'Europe de l'Est ...)
- Couleurs yeux .
- Couleurs des cheveux (la couleur rousse des cheveux est déjà identifiable) .
- Taille probable à l'âge adulte .





SAISON 2
ÉPISODES
2.13 à 2.24

LES EXPERTS:
MANHATTAN

LES EXPERTS: MANHATTAN

SAISON 2
ÉPISODES
2.13 à 2.24

TFI
VIDEO
3 DVD

3 DVD

CBS
PRODUCTIONS

TFI
VIDEO

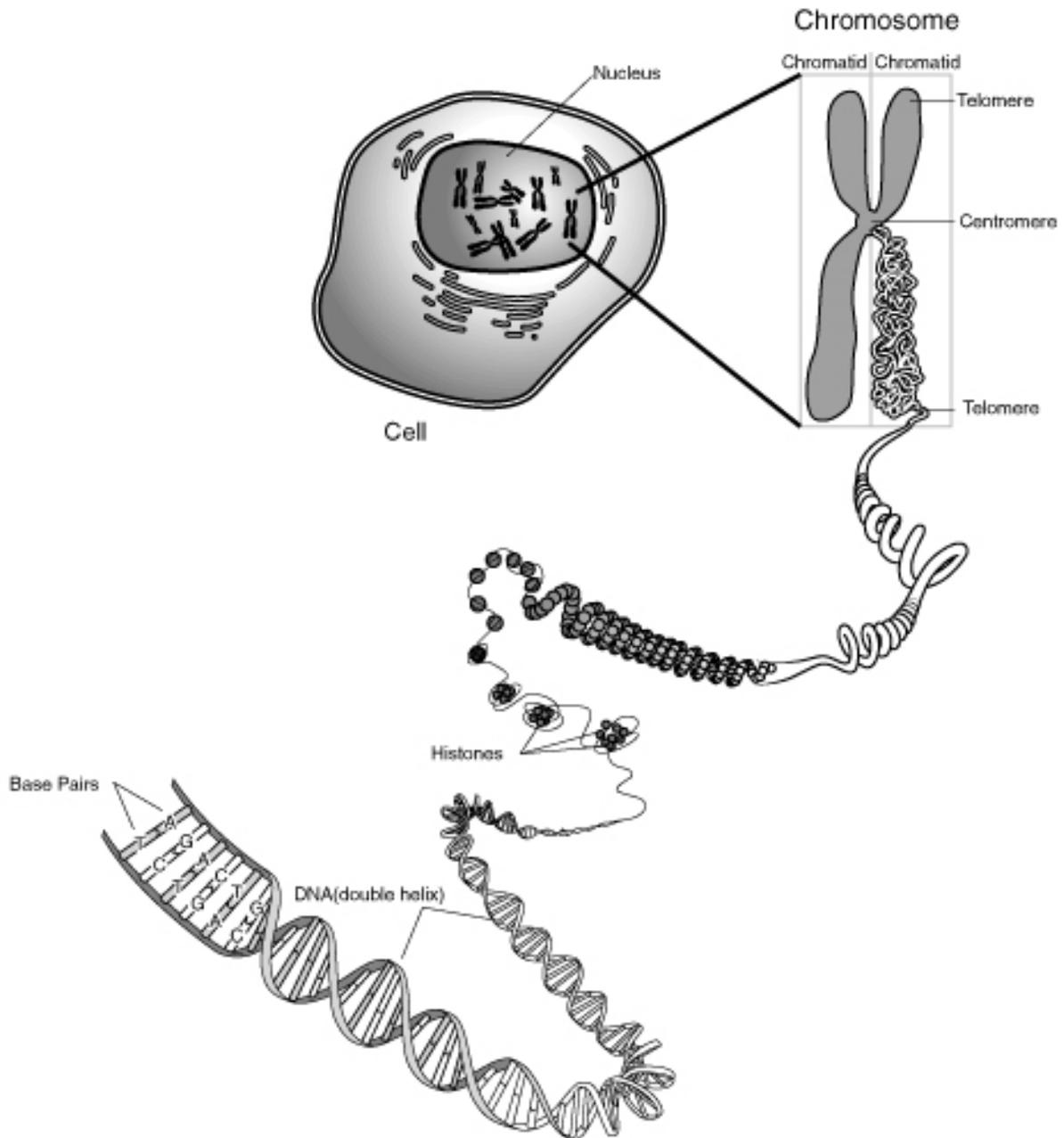
ATLANTIC



2 :L'ADN et la médecine .

- 1. Le Chromosome : aspect général .**
- 2. L'ADN, quelques données chiffrées .**
- 3. L'ADN, comment ça marche ?**
- 4. Contenu informatique de l'ADN versus protéine .**
- 5. Un ADN particulier : l'ADN chromosomique Y.**
- 6. Un ADN particulier : l'ADN mitochondrial .**
- 7. Le bagage ADN de l'individu .**
- 8. Le bagage ADN et les mutations .**
- 9. L'Homozygote et l'hétérozygote .**
- 10. Les séquences répétitives .**
- 11. Les SNP et les puces à ADN .**

2.1. Le chromosome : aspect général .



Nous voyons successivement sur ce schéma :

- La cellule .
- Le noyau
- Le chromosome .
- Le double brin d'ADN
- La composition de ce double brin d'ADN (à savoir 4 bases différentes : A,T,G,C).

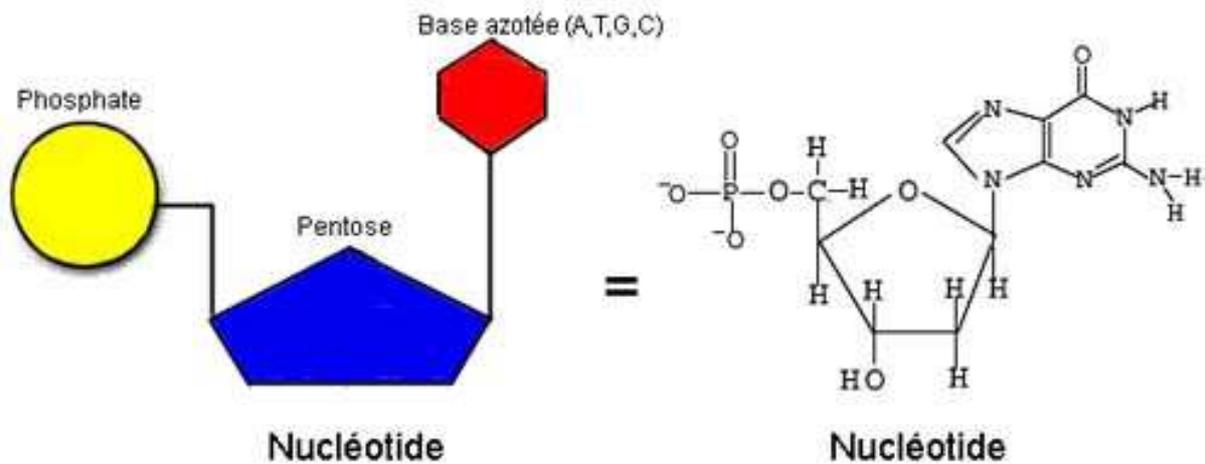
L'ADN est une double hélice de nucléotides.

Les nucléotides sont un assemblage de molécules : [sucre phosphate] + [une base] .

Il y a 4 bases différentes possibles .

- Adénine
- Guanine
- Thymine
- Cytosine .

.



Les 4 bases différentes .

Pyrimidines		Purines	
Cytosine (C)	Thymine (T)	Adénine (A)	Guanine (G)

2.2.L'ADN : quelques notions chiffrées .

L'ADN contient la totalité du bagage génétique de l'individu .

En première analyse, toute cellule contient tout le bagage génétique de l'individu ; que ce soit une cellule osseuse ou une cellule rétinienne, toute cellule a toujours tout le bagage génétique, et exactement le même bagage génétique .

Ce qui différencie une cellule osseuse d'une cellule rétinienne, ce n'est pas la base de donnée, qu'elle **contient**, mais uniquement la partie de la base de donnée qu'elle **utilise** (le segment d'ADN qui sera lu dans cette cellule) .

Pour fonctionner, cad pour produire des protéines, il faut une information .

Une protéine est formée d'une chaîne plus ou moins longue d'acides aminés .

Pour choisir « le bon » acide aminé qu'il faut ajouter, il faut lire 3 micro segments contigus de la chaîne d'ADN (cela se démontre mathématiquement très facilement) .

L'ADN est réparti sur 23 chromosomes .

98 % de l'ADN n'est pas codant et seuls 2 % de l'ADN portent une information codante pour la cellule .

Il ne faut pas s'étonner de cela : un livre qui pèse 500 grammes a sans doute 499 grammes de papier et 1 gramme d'encre .

Sans l'encre (l'information codante) le livre ne veut rien dire .

Sans le papier (l'information non codante), il est impossible de mettre l'encre ...

Sur les 23 chromosomes, il y a de l'ordre de 32.000 gènes cad 32.000 unités codantes autonomes .

Sur les 23 chromosomes, il y a 3 milliards de nucléotides, mais comme 2 % de ces nucléotides seulement portent une information « utile », l'information « utile » est donc stockée en fait sur 60 millions de nucléotides seulement .

Nous possédons une « carte » des chromosomes , et nous savons (depuis peu) où sont situés un grand nombre de gènes : sur quels chromosomes et à quelle place .

2.3. L'ADN :« Comment ça marche ? » .

Le principe de la lecture de l'ADN à la protéine .

L'ADN contient toute l'information pour créer une protéine .

L'ADN est une chaîne composée d'un très grand nombre de nucléotides.

Ces nucléotides n'appartiennent qu'à 4 variétés : A,T,G,C.

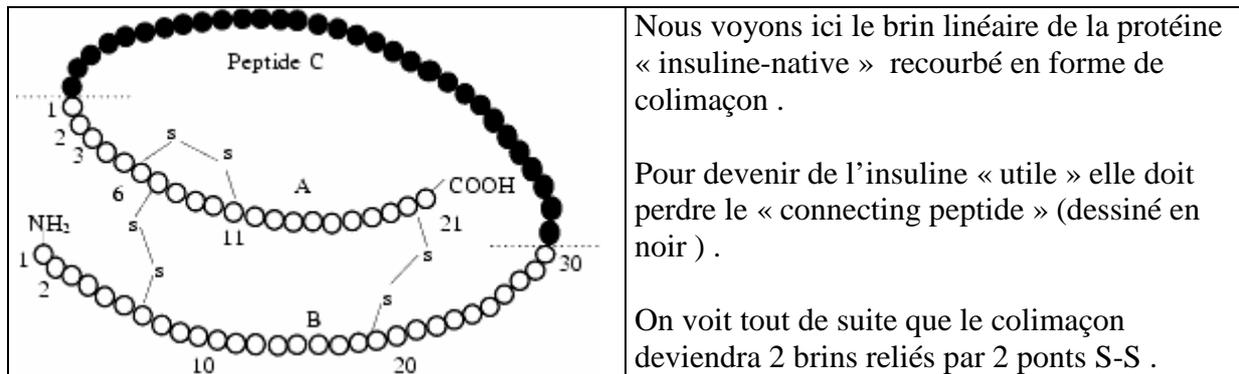
Sans rentrer dans la complexité de la synthèse des protéines, le principe du codage est simple ; l'information contenues dans 3 nucléotides successifs conduit à l'attachement d'un acide aminé de plus à la chaîne d'acides aminés en cours d'élaboration .

Quand la chaîne est terminée , elle porte le nom de « protéine » .

La protéine « utile » n'est pas nécessairement la protéine « fabriquée » ; une fois fabriquée, la protéine peut « perdre des morceaux » et se ré-assembler dans l'espace ,non pas au hasard, mais de façon bien précise .

L'insuline « produite » est un brin (comme toujours : une protéine est toujours un et un seul brin lors de sa synthèse) qui devient un colimaçon, qui devient ensuite, suite à une double coupure, deux brins attachés ensemble .

C'est sous la forme de 2 brins que l'insuline est « utile » .



Dans une cellule, une partie seulement du bagage génétique est lu .

La lecture se fait sur tous les chromosomes, mais pour 1 chromosome, sur des parties de ce chromosomes seulement .

Chacune de ces parties lue est autonome point de vue information, c'est un « gène » .

L'ensemble des gènes éparpillés sur tous les chromosomes forment « le génome » .

Si l'on pouvait regarder un chromosome au microscope, on verrait successivement :

- Un long ruban non codant .
- Le premier gène composé successivement de :
 - La zone « start »(composée elle même de sous unités de régularisation) .
 - La zone codante
 - La zone « fin » .
- Un long ruban non codant.
- Le deuxième gène, et ainsi de suite



2.4. Contenu informatique : ADN versus protéine.

Une réflexion simple conduit à penser que :

- Puisque la structure de la protéine provient de la lecture de l'ADN, alors absolument toute l'information de l'ADN se trouve forcément dans les protéines,
- Puisqu'il est de toute évidence plus facile d'étudier les protéines que l'ADN .
- Il est plus logique d'étudier les protéines que l'ADN

Ce raisonnement est faux à plusieurs titres :

- De très longues séquences d'ADN ne servent à rien , donc ne servent pas à faire des protéines, et dès lors rien qu'avec ce point on se rend compte que la masse d'informations contenue dans l'ensemble des protéines est inférieure (et de beaucoup) à la masse des informations contenue dans l'ADN total.
- Il y a une limite aux variations possibles d'une protéine ; passé un certain stade, elle n'est plus fonctionnelle, et donc soit il y aura une maladie soit la mort cellulaire. Il n'y a pas cette limitation dans les séquences « non codantes » de l'ADN puisqu'elles ne codent « rien » ...
- Des changements mineurs de l'ADN peuvent très bien n'avoir strictement aucune conséquence sur la protéine ou des conséquences indécélables du point de vue «moyens d' analyse » .
Deuxième énorme source de perte d'informations .



A ce stade ci déjà nous pouvons comprendre les grandes lignes du sujet :

- L'ADN contient infiniment plus d'informations utilisables que les protéines .
- Dans le passé on pouvait tenir le raisonnement suivant : L'ADN est sûrement « meilleur » , mais par contre, les protéines sont virtuellement « sous la main » (les groupes sanguins par exemple) , et l'ADN est (plutôt « était ») très très loin (entendre par là, très complexe et très cher à manipuler) .
- Actuellement la situation a complètement changé : l'ADN est devenu aussi accessible que la protéine (en termes de rapidités et de coût d'analyse), il n'y a plus aucune discussion possible sur l'utilité de l'un par rapport à l'utilité de l'autre dans une enquête ; l'ADN est infiniment plus précis . .



2.5.Un ADN Particulier : l'ADN Mitochondrial .

Particularités structurales :

L'ADN Mitochondrial a plusieurs particularités :

- Il est tout petit (de l'ordre de 16.000 nucléotides) .
- Il existe dans une seule cellule en des milliers de copies, en effet :
 - il y a des centaines de mitochondries par cellule
 - chaque mitochondrie contient des dizaines de copie d'ADN mitochondrial .
- Il est circulaire et non linéaire .
- Il est exclusivement d'origine maternelle (point très important) .
- Il ne contient que très peu de zones « non codantes » .
- Il ne contient pas de zone répétitives .
- Dans les zones « non codantes », les variations sont des variations de séquences et non de longueurs ..
Il existe 2 zones fort éloignées les unes des autres où les variations sont très fréquentes, ce sont les zones HV1 et HV2 ., mais ces variations de séquences sont très discrètes et donc très difficiles à mettre en évidence .
- En pratique, sur les 16.000 nucléotides existant 600 seulement sont intéressants point de vue police scientifique .



Particularités juridiques .

- Elles ne reprennent que l'ADN maternel .
- Elles sont très peu discriminantes : il est possible que 2 personnes sur 1000 voire sur 100 possèdent exactement le même ADN Mitochondrial ...
- Les variations sont si discrètes que les résultats doivent être absolument refaits pour confirmation .
- Le grand avantage est de les utiliser sur des traces dégradées , car :
 - elles existent naturellement à un grand nombre d'exemplaires , il est donc plus probable d'en retrouver au moins « un » qui soit « intact » .
 - l'ADN mitochondrial bénéficie à l'intérieur de sa mitochondrie d'une protection supplémentaire contre la dégradation .
 - l'ADN mitochondrial est déjà petit au départ, donc peut susceptible de s'altérer en cours de route ..

Nomenclature des ADN Mitochondriaux i

La totalité de la séquence d'un ADN Mitochondrial d'un individu inconnu a été établie en 1981 ,c'est ce que l'on appelle « l'échantillon Anderson » .

Cet échantillon sert de référence à tous les ADN mitochondriaux .

Sur la suite des 600 nucléotides étudiés, il peut y avoir 3 choses :

- substitution : numero de place +base modifiée ex : 218 C
- absence : numero de place + d (de « delete ») ex : 218d
- surnumeraire : numero de place + 1 + base ex : 218.1.T

Le rapport d'expertise doit

- toujours commencer par la localisation de la séquence étudiée :
ex : 70-350 et 15400-15800.
- ensuite marquer les substitutions, absences ou additions .



2.6. Un ADN particulier : L'ADN du chromo. « Y ».

L'ADN chromosomique « Y » est en quelques sortes un peu le pendant de l'ADN Mitochondrial :

- L'ADN chromosomique « Y » ne se retrouve que chez les sujets masculins et est exclusivement d'origine masculine ,donc de la lignée paternelle .
- L'ADN mitochondrial se retrouve tant chez les hommes que les femmes, mais ne contient que de l'ADN en provenance de la lignée maternelle .

Comme il n'y a que 2 allèles possibles (male ou femelle) l'ADN « Y »e devrait avoir que peu d'intérêts ,or il en a :

- Il permet de définir si une tâche appartient à un homme ou une femme .
- Il permet immédiatement d'exclure en théorie 50 % des suspects (en théorie seulement parce que dans les faits , la plupart des suspects sont des hommes, mais dans le cadre de lettres anonymes par exemple, cela aide déjà « pas mal ») .



Le chromosome Y au labo :

On se base sur le gène d'une protéine intervenant dans la formation de la dent .
Cette protéine est l'amélogénine .

Elle est commune aux chromosomes X et Y ,mais ce gène a 6 bases de plus sur le chromosome Y que sur le chromosome X .



Problèmes juridiques et déontologiques du chromosome « Y » .

La manipulation du chromosome « Y » n'est pas sans problèmes juridiques : c'est le seul chromosome qui « en lui même » possède une information « exploitable » :

- 999 fois sur 1000 quelqu'un sera XX ou XY ... théoriquement cela ne devrait pas poser de gros problèmes, mais il faut penser aux transsexuels, or ceux-ci peuvent appartenir à 2 groupes distincts :
 - Soit ils possèdent le bagage génétique de leur sexe de naissance, mais veulent changer de sexe, et en attendant l'opération, changent de physionomie (vêtements, seins...) de telles façons qu'ils sont perçus comme relevant sans discussion possible « de l'autre sexe » par leur entourage .
 - Soit ils possèdent à leur propre insu un bagage génétique différent de celui de leur sexe apparent .
Arrivés à l'âge adulte ces gens se marient mais n'ont pas d'enfant bien évidemment ...
On voit tout de suite la catastrophe que cette révélation peut créer à la fois pour le sujet et le conjoint , sans parler de la famille et du travail



2.7. Le bagage ADN de l'individu .

L'individu « normal » a 22 chromosomes « double » et un 23^e chromosome existant sous 2 variantes en fonction de son sexe : la variante X dans tous les cas et la variante Y en plus dans le cas des hommes (les femmes sont en effet XX et les hommes XY) .

Dans la théorie élémentaire ceci est vrai pour toutes les cellules du corps d'une personne, et cette personne a dans toutes les cellules de son corps , toute sa vie, exactement le même bagage génétique .

En réalité ce n'est pas tout à fait vrai , car plusieurs évènements peuvent se rencontrer au cours de la vie :

- On peut avoir 1 mutation dans une cellule quelconque (qui se reproduit « tranquillement », comme une cellule de cheveux, de peau, etc , sans être transmis à sa descendance, puisque seules les mutations dans les cellules germinales sont susceptible d'être transmises à la descendance) ..
- On peut avoir 1 mutation dans une cellule reproductrice (qui non seulement se reproduit « énergiquement », mais aussi transfère cette mutation à sa descendance) .
- On peut avoir 1 mutation à la base d'un cancer qui se reproduit « énergiquement » (mais sans être transmis à sa descendance) .
- On peut avoir reçu des cellules d'un « donneur » (par exemple les cellules d'un donneur de moelle en cas de leucémie), et donc on aura deux bagages génétiques distincts : celui de l'individu lui même et celui du donneur de moelle pour ce qui est des cellules du sang .
- Une femme enfin peut avoir reçu des cellules de son enfant durant la gestation (généralement il s'agira de cellules sanguine) , lesquelles cellules peuvent dans certains cas « survivre » assez longtemps chez la mère .



2.8. L'ADN et les mutations :

Quelles seront les conséquences de la modification d'un seul nucléotide de la chaîne d'ADN ?

Impossible de répondre à cette question ; en particulier tout dépendra de l'endroit où cette mutation a lieu ; sur une zone codante ou sur une zone non codante .

Si c'est sur une zone non codante elle n'aura aucune conséquence .

Si c'est sur une zone codante, cela peut aller de « rien du tout » à la mort cellulaire .

Théoriquement toute modification d'un nucléotide entraîne la modification de l'acide aminé correspondant , donc de la protéine, et théoriquement toujours cette protéine « différente » sera « repérable » en laboratoire tant par son comportement que par sa composition .

C'est totalement faux en pratique :

- Chaque cellule contient l'ensemble du code ADN
Toute partie du code ADN peut subir une mutation .
Mais tout le code ADN n'est pas lu dans une cellule puisque :
 - D'une part l'essentiel du code génétique ADN est « non codant » .
 - D'autre part, dans une cellule donnée une partie seulement du code génétique est lu. Tout ceci fait que toute cellule « mutante » ne libère pas nécessairement des protéines « mutantes » .
- Des combinaisons différentes des 3 nucléotides nécessaires peuvent parfois conduire à l'incorporation d'un même acide aminé (donc malgré que l'ADN soit différent, dans certains cas de mutation, la protéine sera exactement la même) .
- Le changement d'un seul acide aminé dans la protéine peut la rendre totalement inopérante ,un peu moins performante, ou ne rien changer du tout à son activité .
Le plus fréquemment ce changement d'un seul acide aminé ne changera virtuellement rien au comportement de la protéine et deux protéines pourtant différentes auront donc un même comportement .
Ensuite vouloir différencier par une analyse non plus fonctionnelle mais séquentielle 2 protéines qui ne diffèrent que par 1 seul acide aminé n'est certes pas « impossible » point de vue « labo » ,mais particulièrement difficile .(donc malgré une différence dans la protéine résultante ,la probabilité de découvrir que cette protéine est différente est faible la plupart du temps en tous les cas .



2.9. L'« Homozygote » et l'« Hétérozygote » .

Un individu homozygote a deux fois le même allèle d'un gène considéré .

Un individu hétérozygote a deux allèles différents du même gène considéré .

Remarquons que quelqu'un n'est pas homozygote ou hétérozygote « in toto »,il est autant de fois homozygote ou hétérozygote qu'il y a de gènes considérés ...

Mais réfléchissons à ce que cela veut dire d'être « homozygote » pour un gène après une analyse de labo...cela ne veut dire qu'une chose : 1 seul allèle a été détecté .

Cela ne veut pas dire qu'il n'y en a qu'un seul ,il peut y en avoir 2 mais que l'on en ait détecté qu'un seul ,soit parce que l'allèle en question est encore inconnu , soit parce que pour l'une ou l'autre raison technique le travail de labo n'a pas permis d'exprimer l'allèle en question .

Prenons un exemple d'allèle « non connu » :

- On connaît pour 1 gènes par exemple 27 allèles différents .
- Sur le profil on n'obtient que le seul allèle 15 .
- En première analyse on pourrait dire qu'il est homozygote allèle 15 .
- Mais en fait il pourrait tout aussi bien être hétérozygote avec l'allèle 15 (connu) et l'allèle 28 (encore inconnu) .

Prenons un exemple d'allèle « non détecté » :

- Des labos différents peuvent travailler avec des kits différents sur le même gène.
- Certains kits permettent l'expression d'un allèle, et d'autres non .



2.10. Les séquences répétitives .VNTR et STR.

Qu'est ce que les « séquences répétitives » ?

L'ADN est plein, archi plein (30 % du génome) de séquences sans signification, qui ont en outre la particularité d'être répétitives .

Ces séquences peuvent contenir de 2 à 100 nucléotides ,elles ne codent rien, et sont répétées plusieurs fois intégralement .



Quel intérêt ?

Ces séquences sont très intéressantes pour la police scientifique pour diverses raisons :

- On retrouve de telles séquences sur chaque gène .
- Sur chaque gènes, il y a beaucoup de telles séquences .
- D'individu à individu le texte de la séquence de base est le même .
- D'individu à individu la longueur de la séquence totale est fort variable .



Différents types de séquences répétitives :

Il y en a de deux types :

- Soit les séquences répétitives sont l'une à côté des autres ; ce sont des « séquences répétitives tandem » .
- Soit les séquences répétitives sont dispersées partout dans le génome, et se retrouvent sur plusieurs chromosomes différents, ce sont des « séquences répétitives dispersées ».



Comment les appelle-t-on ?

Dans le cas de séquences répétitives tandem ,si le texte répété est de :

- + de 6 nucléotides, on parle de VN TR (Variable Number Tandem Repeat) .
- - de 6 nucléotides ,on parle de S TR (Short Tandem Repeat) .



Dans le cas de séquences répétitives dispersées ,si le texte est de :

- + de 500 bp ,on parle de LINES (Long Interspersed Element) .
- - de 500 bp, on parle de SINES : Short Interspeared Element .:



Combien est ce qu'il y a de séquences répétitives dans l'ADN Humain ?

Il y a de l'ordre de 50.000 STR différents recensés

VNTR versus STR et l'électrophorèse .

Les VNTR sont longs et les STR sont courts .

L'électrophorèse sépare mieux les fragments longs que les fragments courts .



VNTR versus STR et valeur informatique .

Les VNTR sont longs, et possèdent plus de signification que les STR .

Mais on arrive aux mêmes résultats en testant plusieurs STR qu'en testant 1 seul VNTR.



VNTR versus STR et tâches dégradées .

Les VNTR qui sont des fragments longs survivent beaucoup moins bien dans les traces dégradées .



VNTR ou STR, qui utiliser ?

De toutes façons il faudra avoir un échantillon de départ « valable », cad possédant des milliers de copies .

Avec la méthode du PCR, on peut multiplier les grands fragments répétitifs (les VNTR) et les petits fragments répétitifs (les STR) .

Comme la méthode PCR multiplie beaucoup mieux, et beaucoup plus rapidement les STR que les VNTR, le choix de la méthode est vite fait

Le choix est d'autant plus vite fait que les STR survivent quasi toujours dans les traces et pas les VNTR qui sont beaucoup plus longs .



2.11. Les SNP (simple nucléotide polymorphisme) .

Les SNP sont sans doute en grande partie « l'avenir » :

Il s'agit de modification extrêmement discrète de la chaîne d'ADN qui se retrouve pratiquement 1 fois par 1200 nucléotides mais « n'importe où dans la chaîne ADN », et pas seulement dans les secteurs répétitifs ..

Comme chaque emplacement peut être tenu par 4 nucléotides différents (A,T,G,C),il est possible d'avoir à une place 4 allèles .

Dans la pratique il n'y a généralement que 2 allèles possibles .

On va donc se retrouver devant un individu avec ses 2 chromosomes appariés ,lesquels peuvent avoir sur la position considérée soit « a »,soit « b » .

On va donc avoir comme possibilités de résultats : aa, ab, bb.

Avec 3 variantes différentes, on ne va pas aller bien loin

Mais rien n'interdit de faire le même tests sur des centaines de séquences .

Et cette fois , 100 au cube, ça veut dire quelque chose ...

Les SNP flirtent avec les ennuis juridiques :

- quand on étudiait les chaînes répétitives, l'information obtenue ne servait « à rien » ,uniquement à l'identification de l'individu .
- Avec les SNP on peut étudier des séquences porteuses d'informations se traduisant par quelque chose de « visible » (couleur de peau, etc) .



Du SNP à la Puce ADN .

Les SNP permettent le développement de « puces à ADN » :

Le principe est toujours le même que précédemment, mais mis sur une puce :

- On multiplie le fragment d'ADN que l'on marque durant sa synthèse ..
- On le met sur une « puce » : une plaquette de plastique avec des centaines de trous qui possèdent pour les points considérés 1 des 3 allèles .
- Le test est « banal » : une fois le contact bien fait ,on chauffe et on rince .Seuls les Segments 100 % appariés restent accrochés sur la plaquette, et on obtient des points (plus des bandes d'électrophorèse, mais des points bien ronds, chaque point correspondant à un « puit » creusé dans la plaquette .



Les SNP et les bases de données .

Les SNP sont très faciles, très rapides, et pas chères .

Seulement elles sont totalement différentes des données recueillies actuellement dans les bases de données ADN .

Bref elles sont totalement incompatibles

On va donc se retrouver devant le même problème que, au début de la vidéo, entre les formats VHS ou Betamax ...

Une solution toute simple, vu la rapidité des tests et leurs faible coût serait de recommencer tous les profils génétiques (dont on a encore l'échantillon) .

Les SNP , la médecine , la loi, et la déontologie :

Les SNP sont à la limite de la criminalistique et de la médecine .
C'est un peu la situation des groupes sanguins qui servent à la transfusion, mais aussi à l'identification d'un individu .

Avec ce rapport intime à la médecine (découverte des gènes de certaines maladies) , il est plus que probable que l'étude des SNP va connaître un important avenir ., et aussi d'importants tracés juridiques



Les SNP et l'analyse de labo :

Pour être valable, il faut étudier des dizaines de SNP .

Le grand ennemi du SNP est « le mélange » .

Le mélange ne peut jamais être exclu (la simple contamination de l'échantillon est un « mélange ») ...

Il faut donc pour chaque SNP (et on étudie en une fois des dizaines de SNP) avoir en tête une contamination possible ...

Bref on ne saura s'en sortir qu'avec un ordinateur qui fait « tout » ,absolument « tout » .



Les SNP et l'ADN mitochondrial .

Un des gros avantages de l'ADN Mitochondrial est qu'il peut servir à identifier quelqu'un sur des traces très dégradées, tout simplement parce que les chaînes étudiées sont très courtes, donc que ces chaînes ont toutes les chances d'avoir survécu .

Le gros inconvénient de l'ADN mitochondrial est que son extraction est difficile (donc coûteuse) .

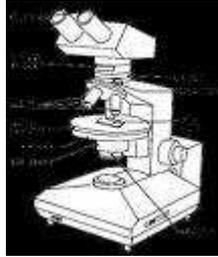
Ici, avec les SNP, on combine les 2 avantages : les chaînes étudiées sont très petites et l'extraction est très facile ...



Les SNP « sur le terrain » :

Les victimes du 11 septembre ont été identifiées pour la plupart par la méthode des puces ADN .





3 : L'ADN au Labo .

- 1. Standardisation des tests et des labos .**
- 2. Les problèmes rencontrés au labo .**
- 3. Extraction de l'ADN .**
- 4. Découpe de l'ADN.**
- 5. Multiplication de l'ADN par la PCR .**
- 6. Marquage de l'ADN.**
- 7. Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse.**
- 8. Les ennemis de l'ADN .**
- 9. Qui sera chargé de l'analyse ADN ?**
- 10.L'analyse ADN et ses résultats .**
- 11.L'analyse ADN,comment présenter le rapport ?**

3.1° Standardisation des tests et des labos :

Standardisation des tests .

La standardisation interlabo des tests est indispensable si l'on veut :

- Comparer les résultats obtenus sur une trace dans un labo et sur une autre trace dans un autre labo .
- .Pouvoir dresser des bases de données importantes .

Pour une fois,la standardisation sera facile, car les problèmes techniques et financiers rencontrés pour mettre actuellement au point chaque test (volume ,température, ph, colorants, marqueurs, etc ...) sont d'une telle complexité que la mise au point « maison » par un laboratoire isolé est devenu impossible commercialement parlant .

Un premier pas de standardisation est déjà accompli tout simplement , car obligatoire d'un point de vue économique ; les tests ne sont plus faits maisons,mais sont fournis « en kit » par des firmes spécialisées ...



Standardisation des labos :

Si la standardisation des tests ne pose aucun problème,vu qu'il est économiquement impossible de ne pas travailler avec des kits « tout faits » du commerce,il en va tout à fait différemment de la standardisation des labos eux même parce qu'il en va de la survie même de certains labos ...

Néanmoins un écrémage naturel c'est déjà fait spontanément :il faut avoir les reins solides pour un type de labo ,car l'investissement est énorme en personnel,en matériel,et en mise à niveau .

Idéalement , les labos devraient répondre à des labels de qualité et être soumis à des contrôles réguliers pour continuer à garder leur agréation .

Plusieurs points devraient être particulièrement surveillés :

- Utilisation des kits de réactifs « du commerce » ;
- Propreté du labo (contamination ADN) .
- Sécurité du labo (sécurité intrusion physique et aussi informatique) ;
- Vérification routinière de la qualité du travail par des contrôles « positifs et négatifs » .

Pour rappel :

- Contrôle positif : le labo doit reconnaître comme positif un échantillon positif .
- Contrôle négatif : le labo doit reconnaître comme négatif un échantillon négatif.

3.2° Les problèmes rencontrés au labo :

Les inhibiteurs de Polymérases – PCR .

Les inhibiteurs de polymérases peuvent se retrouver liés à l'échantillon à analyser pour des raisons diverses volontaires (dissimuler des preuves) ou involontaires (contamination) .

Pour s'en débarrasser plusieurs méthodes :

- Purifier plus encore l'échantillon à analyser .
- Ajouter plus de polymérases que nécessaire .
- Piéger les inhibiteurs par des protéines type « albumine de bœuf » .



Les contaminants génétiques :

Gros problèmes, du moins en théorie ,d'autant plus qu'avec les polymérases on travaille avec une sensibilité de 1 seule molécule d'ADN

Bref des traces d'ADN totalement étranger peuvent se retrouver dans l'échantillon à tout moment que ce soit « avant » la prise de l'échantillon, durant son transport, et au laboratoire même si le personnel n'est pas habillé de façon entièrement « étanche » : cheveux, squames cutanés, postillons de salive, etc ...).

En pratique la présence du contaminant ne gêne pas beaucoup car le contaminant est le plus souvent en quantité bien moindre que la trace elle même, si bien que très généralement l'analyse négligera les traces du contaminant ,ou son caractère quantitatif marginal apparaîtra nettement .

Si néanmoins les contaminants entrent en jeu, la plupart du temps il sera question du contaminant d'une personne « connue » (policier, laborantin,...) et il sera possible de l'écarter immédiatement .

3.3°. L'extraction de l'ADN

C'est une étape extrêmement importante, cela va sans dire ...

Le principe est le suivant :

- La trace est mise de en solution aqueuse avec des enzymes qui font « sauter » les liens qui lient l'ADN à la cellule .
- On se débarrasse « du gros » des contaminant en mettant le liquide obtenu dans un mélange de phénol et de chloroforme, ce qui va créer 2 phases ,l'une hydrosoluble et l'autre liposoluble .
- On ne reprend que la phase hydrosoluble.
- On fait précipiter l'ADN par une solution alcoolique .
- On centrifuge le tout .
- On met le culot de la centrifugation en solution aqueuse extrêmement salée, sur un support qui fixe préférentiellement l'ADN .
- On rince plusieurs fois ,toujours avec cette solution salée, ce qui débarrasse des derniers contaminants .
- On détache l'ADN du support avec une simple solution non salée .



3.4°.Découpe de l'ADN : le principe.

**Les analyses « historiques » de l'ADN .,
Les analyses sans multiplications de l'ADN .**

Dans ce cas-çi , l'histoire est récente elle a un peu plus de 20 ans ...
Mais c'est de l'histoire quand même

Le principe de base est toujours le même ; on étudie les séquences répétitives .
La méthode employée pour obtenir cette séquence répétitive diffère :

- « avant »,on coupait l'ADN qu'on avait .
- « actuellement »,on multiplie sans couper au préalable le segment d'ADN qu'on veut

Dans le premier cas ,on a découpé la chaîne d'ADN qu'on veut ,et on en a 1 exemplaire .
Dans le deuxième cas on a des millions de copies de la chaîne qu'on veut .

Les séquences répétitives peuvent varier énormément d'un individu à l'autre sans que cela ait pour lui la moindre conséquence (puisque les séquences répétitives ne codent « rien ») .

Les séquences répétitives peuvent varier de 2 façons :

- en longueur .
- en contenu .

Le principe de « la coupe » .

Certains enzymes de provenances bactériennes coupent de façon transversale l'ADN humain (présenté sous forme bifilaire) en des endroits bien précis .

Ces endroits bien précis sont constitués d'une répétition bien précises de nucléotides .

Dès que l'enzyme rencontre une telle séquence , il la coupe .

Il va donc y avoir tout plein de coupes en tout plein d'endroits dans tous les brins d'ADN possibles sur les divers chromosomes , mais une seule sera intéressante, celle qu'on veut étudier .

Après la coupe, il y aura donc obligatoirement la séparation -

La coupe n'est pas nécessairement « droite » ; elle peut être en zig-zag, cela dépend de l'enzyme .

Si la coupe est droite les 2 brins d'ADN sont exactement coupés au même endroit ,et une seule séquence sera reproduite .

Si la coupe se fait en zig-zag, l'un des brins aura quelques nucléotides en plus , et l'autre en aura quelques uns en moins .La reproduction se fera donc non pas sur une seule matrice, mais sur 2 matrices ,chacune différente de l'autre de quelques nucléotides .



Les problèmes de la coupe .

L'idéal serait de couper les séquences répétitives étudiées juste là où elles commencent ,et juste là où elles finissent .

Mais pour ça il faut avoir l'enzyme bien précis qui correspond à cet endroit .

Et on n'en dispose pas nécessairement, et pour tout dire, il est même possible qu'il n'existe tout simplement pas ...

Bref dans certains cas il faudra se contenter de ce qu'on a, cad d'un enzyme « qui coupe »,mais avec un petit bout en plus ou en moins

Quand on a pas l'idéal, et qu'on cherche « le meilleur compromis, il est clair que ce « compromis » sera différent de labo à labo ;et donc la séquence étudiée ne sera pas nécessairement la même .

Elles seront proches, mais néanmoins distinctes .



3.5° La multiplication de l'ADN par la PCR .

Le principe

Actuellement, l'étude de l'ADN passe par la multiplication des ADN .

Ceci est une façon de voir ; on ne multiplie pas tout l'ADN, mais certains fragments seulement , les fragments que l'on a décidé d'étudier et eux seuls . (généralement un secteur « non codant » et répétitif) .

Théoriquement la PCR peut multiplier l'ensemble de l'ADN, mais dans les faits, c'est sensiblement différent, et la PCR multiplie d'autant mieux un fragment d'ADN que ce fragment est petit .



Le principe de la multiplication de l'ADN est toujours le même :

1. On prend l'ADN (double brin) à étudier et on le met en solution liquide .
2. On le transforme en ADN mono brin (il suffit pour cela de chauffer la solution jusque 95 °) .
3. On ajoute les amorces (marquées) de début et de fin qui vont se coller aux endroits de début et de fin de lecture ; ces amorces ont en fait la séquence complémentaire exacte nécessaires (et pour qu'il n'y ait aucune erreur de localisation , les amorces ont une longueur d'une vingtaine de nucléotides environ, ce qui exclut la possibilité de séquences semblables « ailleurs », et on maintient la solution chaude , ce qui fait que seules les chaînes complètement (cad parfaitement) appariées survivent .
4. On ajoute de l'ADN Polymérase .
5. On ajoute ce qu'il faut pour que l'ADN polymérase soit dans de bonnes conditions de travail (T° de l'ordre de 50°, pH, ions, etc ...).
6. On ajoute des nucléotides en quantité .

A chaque cycle, on obtient pour 1 brin, une copie de l'ADN .

Au cycle suivant on part donc de 2 brins et on aura au final 4 copies .

Au cycle suivant on part des 4 copies et on aura 8 copies.

Au bout d'une trentaine de cycles, on a largement de quoi faire .



La multiplication des fragments d'ADN est une réaction explosive :

Le fragment d'ADN à copier sera copié plusieurs fois de suite.

Mais le fragment copié lui même peut être copié plusieurs fois de suite .

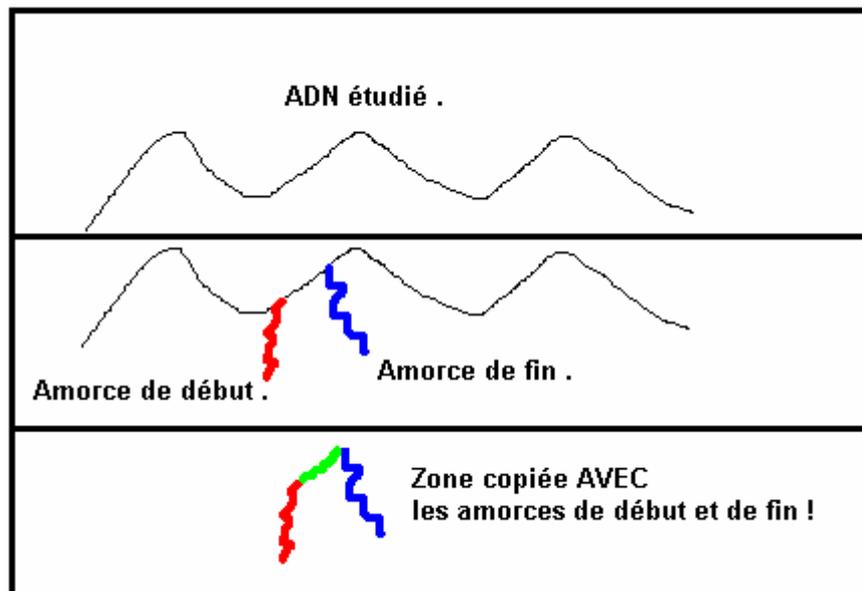
En fait cette réaction est donc explosive, et au départ d'une seule chaîne, on aura très rapidement des millions si pas des milliards de répliques toutes identiques (ou presque identiques) du tout petit morceau que l'on veut .



Le marquage différentiel de l'ADN pendant sa multiplication .

Comme la zone copiée que l'on obtient contient les amorces de début et de fin, il est très possible de marquer ces amorces de telles façons que la chaîne obtenue soit marquée elle aussi .

Il est très possible de marquer différemment des amorces différentes, ce qui fait que les copies obtenues seront elles aussi marquées différemment nous verrons tout l'intérêt de la chose plus loin .



La multiplication de l'ADN et le problème des faux positifs :

Si on part de « rien » comme ADN ,et qu'on multiplie les opérations de multiplication de l'ADN, on ne devrait rien obtenir à l'arrivée bien sur .

Or au-delà d'une trentaine de multiplications,on obtient généralement quelque chose ... on a multiplié le « bruit de fond » cad les traces inévitables d'ADN qui traînent « partout » .

La multiplication de l'ADN et les copies imparfaites .

Théoriquement, si on a un ADN au départ, on doit avoir une copie exacte à l'arrivée .
Théoriquement donc en fin de circuit on devrait avoir des sommes considérables mais toutes absolument identiques à un et un seul fragment d'ADN .
Mais ce n'est pas le cas ; en particulier il y a :

- Les stutters
- Les ajouts « non constants » d'adénine .

Les stutters :

Les stutters se rencontrent lors du recopiage des séquences répétitives .
L'essentiel des séquences répétitives sont recopiées « in toto » : si la longueur du fragment est de 30 nucléotides, on aura à la réception des fragments identiques de 30 nucléotides ..
Parfois cependant 1 séquence est oubliée et au lieu d'avoir 30 nucléotides en fin de processus de copiage on en a 29 .
Cela ne serait pas trop grave si cette chaîne était « en fin de circuit » .
Mais elle ne l'est pas : la chaîne réduite sera aussi recopiée ...
Bref on aura 2 pics : le pic principal (dans ce cas-çi à 30 nucléotides) et le pic secondaire (dans ce cas – çi à 29 nucléotides) .



Les Ajouts « non constants » d'adénine .

Théoriquement le recopiage de la séquence choisie se borne à recopier la séquence.
Dans la réalité , souvent (pas toujours), il y a attachement en fin de séquence d'une adénine en plus .

On obtient donc ainsi à l'électrophorèse 2 brins quasi similaires , mais néanmoins différents :

- un brin recopié pur
- un brin recopié pur + 1 adénine .

Il y a 2 solutions à ce problème : faire en sorte que

- toutes les chaînes produites aient toutes cette adénine supplémentaire .
- aucune des chaînes produites n'ait cette adénine supplémentaire .

Pour ce faire , il faut :

- soit choisir une séquence à reproduire telle que (par expérience) l'ajout de A est rare .
- soit choisir une séquence à reproduire telle que (par expérience) l'ajout de A est fréquent .



3.6°. Marquage de l'ADN.

Principe général du marquage .

Pour le marquage, il y a plusieurs possibilités, que l'on peut diviser en « radioactives » et « non radioactives » .

Les marquages « radioactifs » sont de plus en plus abandonnés au vu tant de ses difficultés de gestion pratiques que administratives et légales .

Les marquages « non radioactifs » reposent sur l'usage de différents colorants.

Les colorants sont capables de faire des centaines de marquages différents (l'œil humain ne sait discerner que quelques centaines de variantes de tonalité, mais la machine , plusieurs milliers, il est très possible de marquer ces fragments par des couleurs très proches voire identiques « dans le visible »,mais tout à fait distinctes « à la machine ») .



Marquage par brins d'ADN complémentaires :

Dans ce cas, la sonde ADN est constitué du « négatif » d'un fragment de sa cible, cad donc du fragment de brin d'ADN qui lui correspond dans son vis à vis lorsque les deux brins forment une double hélice.

La cible « réelle » est toute la séquence répétitive ,la cible « utile » est la seule partie de la séquence qui correspond à la séquence du marqueur .

Par analogie, la cible « réelle » du missile c'est « tout l'avion »,mais la cible « utile » c'est uniquement le point le plus chaud de sa tuyère . .

Quand on mélange la séquence étudiée et la sonde, la sonde va se fixer sur son « double-négatif » .

En réalité la sonde ne va pas se ruer sur sa cible ; elle va y aller « par hasard » .

Elle va se lier tout aussi « par hasard » à tout ce qui ressemble même de loin à sa cible .

Tant qu'on reste à température ambiante, du moment qu'il y a quelques points d'ancrage, la liaison « tient » .

Mais si on chauffe, toutes les molécules s'agitent ,et dans ce cas les chaînes mal appariées ne vont pas tenir bien longtemps .

Quand on arrive dans les 90 ° seuls les chaînes quasi complètement appariées survivent .



Marquage par inclusion d'un matériel en cours de synthèse .

Lorsque le test implique la synthèse de fragments d'ADN, on utilise des initiateurs et terminateurs de chaîne .

Quand la synthèse sur ce fragment est terminée, le fragment se détaché, avec ces deux extrémités qui ont pu être marquées .



3.7° La séparation des fragments d'ADN.

Le principe de la séparation des fragments d'ADN repose sur la différentielle de résistance à l'avancement de fragments d'ADN de longueurs différents ,pouvant se déplacer dans un milieu, et soumis au même champ électrique.

Stricto sensu, la différentielle à l'avancement des fragments d'ADN est fonction de deux choses :

- la longueur du brin
- la charge électrique de ce même brin (elle même fonction de la nature des 4 nucléotides qui la composent A,T,G,C) .

Mais la différentielle de charge est absolument insignifiante par rapport à la différentielle de longueur et donc la différentielle de charge peut être complètement ignorée .

En résumé , plus un fragment d'ADN est long, plus il est lourd, et moins vite il se déplace . L'électrophorèse usuelle se déroule de la façon suivante :

1. mise en solution des divers fragments à étudier .
2. prise d'une plaque de gélatine disposant de cuvettes pré taillées .
3. mise de chaque échantillon dans une des cuvettes pré taillée) et généralement mise en plus d'un étalon commun ou de 2 étalons communs (1 à chaque extrémité du test) pour rendre la lecture du test plus simple .
4. champ électrique.
5. transfert du résultat obtenu sur gélose sur un support plus utilisable

La séparation faite, il faut encore les étudier, etc....



3.8° Les ennemis de l'ADN .

L'ADN peut se dégrader (rendant l'expertise plus difficile voire impossible) , mais en aucun cas se modifier (si on obtient un profil, ce profil sera partiel mais toujours valable).

Les principaux ennemis de l'ADN sont :

- L'eau et l'humidité (surtout l'humidité résiduelle sur les pièces à conviction) .
- La chaleur.
- Le soleil .

Ils agissent soit directement soit par l'intermédiaire de prolifération bactériennes ou mycotique .

Comme autres ennemis « naturels » de l'ADN il y a les sécrétions salivaires et digestives (traces de lèvres, vomissements, etc ...)

Comme ennemis « délibérés » de l'ADN il y a surtout les substances interdisant le recopiage des séquences d'ADN ,plus que des substances susceptibles d'altérer l'ADN .
L'eau de Javel et les colorants textiles par exemple .



Dans certains cas l'altération de l'ADN est « en soi » un élément de l'enquête :

- L'état de l'ADN est-il suffisamment dégradé pour être susceptible de provenir d'une trace ancienne ?
- L'état de l'ADN est-il trop dégradé pour être susceptible de provenir d'une trace récente ?
- L'état de l'ADN est-il trop altéré pour une trace récente, et cela suggère-t-il une altération délibérée de l'ADN ?



Comment remarque t'on que l'ADN a été altéré ?

Très simplement : plus l'ADN est altéré, et moins il est probable de retrouver de longues séquences d'ADN .

Donc, sur un profil, on retrouvera d'autant moins les marqueurs que ce marqueur est long .
Le profil final est caractéristique : tous les pics d'électrophorèse vont en décroissant de la gauche vers la droite .



3.9° L'analyse ADN sera faite « par qui » ?.

Nouveau problème : qui va pouvoir analyser l'ADN ?

Une réponse évidente vient à l'esprit : « une personne compétente » .

Fort bien, mais encore ?

Dans certains pays, il n'y a pas de « médecin expert »,et tout médecin peut être désigné « expert » .

Dans d'autres pays il y a une liste officiellement officielle de « médecins experts » .

Dans d'autres pays enfin, les médecins experts doivent être officiellement reconnus comme tels .

Mais tout médecin, même médecin expert n'est pas pour autant capable de réaliser une analyse ADN .

Et à l'inverse, il ne faut pas être médecin expert pour savoir faire une analyse ADN ...

Donc un profond bouleversement dans les « chasses gardées » de l'expertise, qui plus est sur un sujet en plein développement technique et économique est en train de se réaliser .

Ce qui est certain c'est qu'on se dirige vers la notion de labo agréé devant répondre à un cahier de charge bien précis et régulièrement contrôlé .



3.10°L'analyse ADN et ses résultats?

Théoriquement, l'analyse ADN devrait n'aboutir à rien d'autre que la réponse à l'enquête ,et les données recueillies ne pourraient réellement ne servir qu'à cela ,cad ne contenir rien d'autre comme information pouvant être utilisées « par ailleurs » .

A première vue, c'est le cas actuellement : l'essentiel des tests est basé sur l'étude des séquences répétitives d'ADN ,lesquelles ne codent pour « rien » .

Donc ,du moins en théorie, et du moins actuellement, on ne peut rien tirer d'autre d'un test ADN que l'identification ou non de quelqu'un par rapport à une trace .

Mais l'avenir s'annonce sensiblement différemment ,et déjà pour 2 raisons dont actuellement on observe les prémices :

1. dans certains cas, la longueur des chaînes répétitives (actuellement utilisées dans les tests ADN, et qui ne codent pour rien) qui précèdent un gène « réel » (qui lui code pour quelque chose) pourrait renforcer ou atténuer l'expression de ce gène
2. dans l'avenir les recherches vont très certainement s'étendre vers le, phénotype probable au départ du génotype observé :
 - a. actuellement, tous les tests reprennent le sexe,
 - b. demain il est probable que l'on aura la couleur des cheveux (on a déjà le roux) ,des yeux, etc ...
 - c. demain ou après demain au plus tard, il est probable que l'on ait aussi la susceptibilité à certaines maladies (ceci existe déjà pour plusieurs maladies) , à certains traits de caractère, etc ...

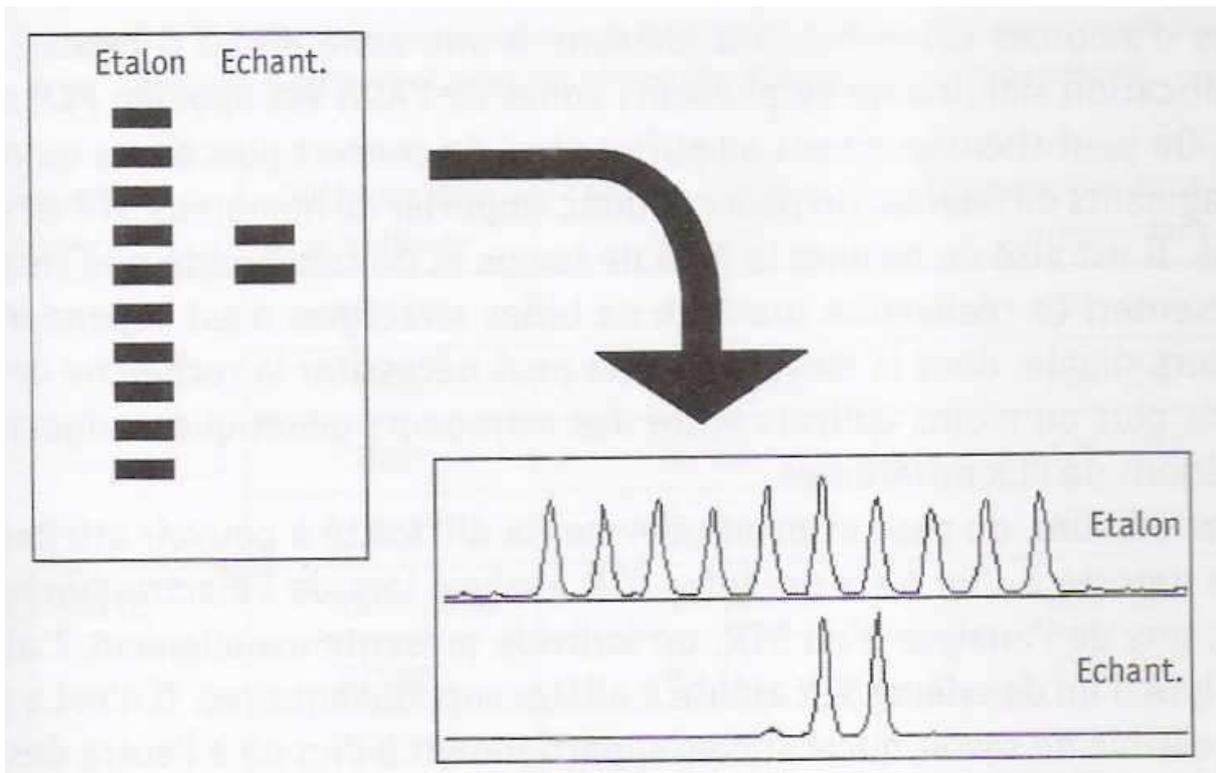


3.11° L'ADN comment la représenter au rapport ?

Comme dans tous les cas, il y aura une électrophorèse pour séparer les fragments d'ADN étudiés, la question se résume à savoir comment représenter l'électrophorèse .

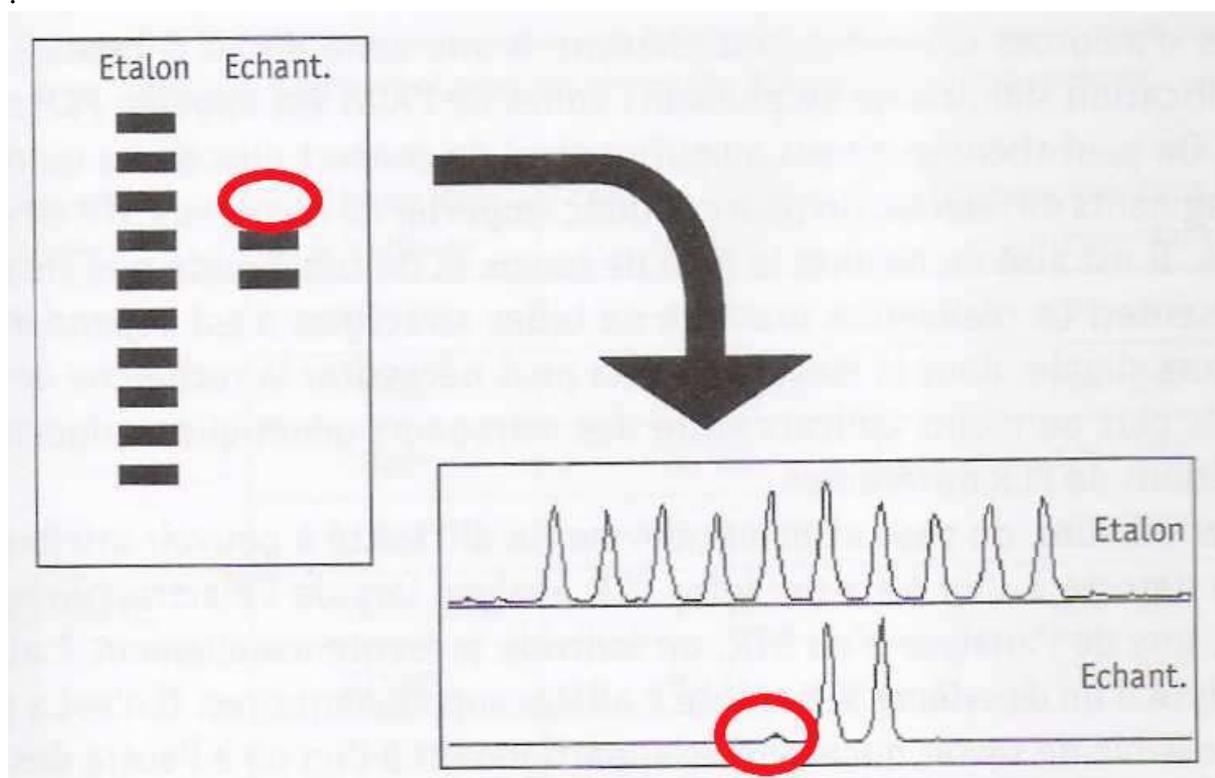
Après une électrophorèse il est possible de représenter les résultats de deux façons :

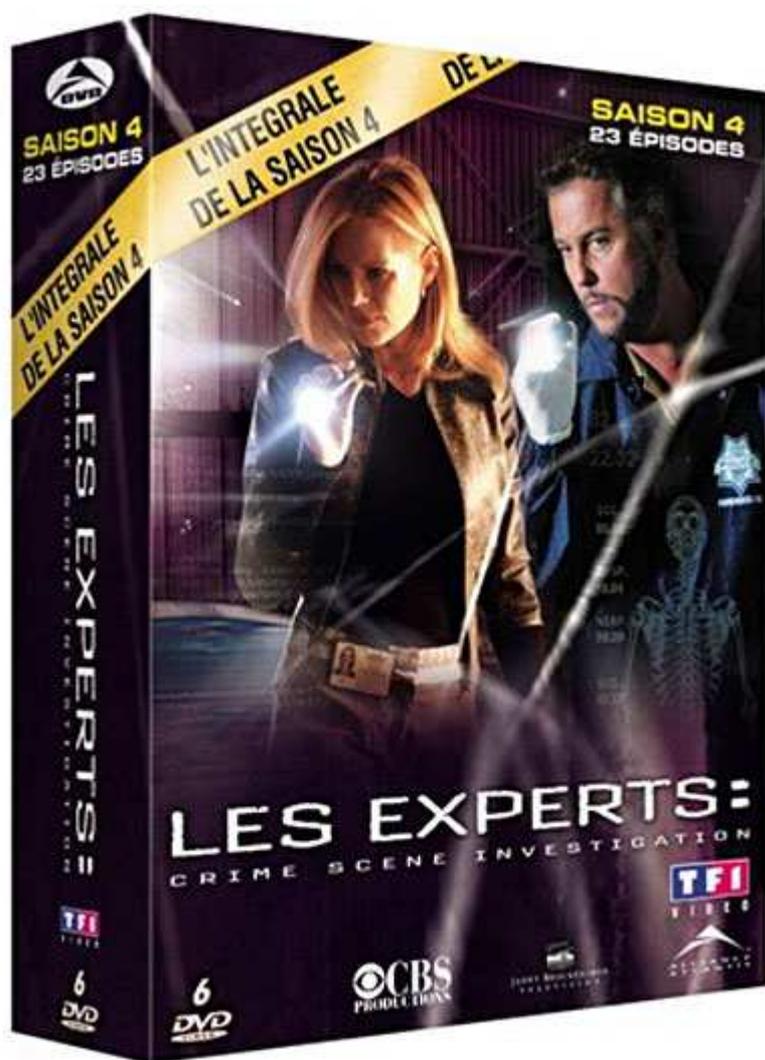
- soit sous la forme de spots d'électrophorèse .
- soit sous la forme de courbes .



- C'est la représentation sous forme de « spots » qui a médiatisé la technique .
- C'est la représentation sous forme de courbes qui est actuellement la plus utilisée, car les courbes donnent au départ d'exactly la même chose de meilleurs résultats , l'œil de la machine étant largement plus précis que l'œil humain comme nous pouvons le voir en comparant les deux types de résultats ci dessus (explications page suivante) ..

Nous voyons ici une trace supplémentaire mise en évidence par les courbes et qui serait passée inaperçue avec la méthode de représentation par les spots







4° L'ADN et les mathématiques .

1. Les statistiques : comment ça marche ?
2. Etude des populations .
3. Les probabilités .
4. Les erreurs d'interprétation des résultats .

4.1° Les statistiques : « Comment ça marche ? »



Je joue, ou je joue pas ?

**Un bon conseil ; si tu ne connais pas les statistiques,
tu ne joues pas**

Les grosses questions sont toujours les mêmes :

- Qui « est » ?
- Qui « n'est pas » ? .
- Qui est « par hasard » ?

Mais pour savoir répondre à ces questions là, il faut au départ savoir répondre à bien d'autres questions :

- La population de référence .
- La probabilité unique et la probabilité combinée .
- Les erreurs d'interprétation des résultats exacts.
- Etc ...



Qui « est », et qui « n'est pas » ?

Le pouvoir de discrimination – La probabilité d'identité :

- Le pouvoir de discrimination, c'est la probabilité que 2 personnes différentes puissent être reconnues comme différentes par ce seul procédé.
- La probabilité d'identité , c'est la probabilité que deux individus distincts soient reconnus comme « identiques » par ce seul procédé .



Qui est « par hasard » ?

Le risque de correspondance fortuite .

Le risque de correspondance fortuite, c'est le risque de correspondance dans une situation réelle donnée .

Un exemple est nécessaire :

- Le coupable n'a pas pu quitter l'endroit et en plus il possède un allèle bien précis que l'on retrouve 1 fois pour 10.000 sujets .
- Si le suspect se trouve à Paris, il y a 1000 personnes qui ont le même allèle
- Si le suspect se trouve dans un village isolé de montagne, la probabilité d'erreur est cette fois virtuellement nulle ...



4.2° Etude des populations :



La sous - population suspectable .

Tous les calculs doivent dans la mesure du possible se baser sur la population suspectable et non sur la population dans son ensemble .

Exemple si on sait que le suspect est forcément noir, il faut alors absolument rechercher les paramètres de fréquences des allèles dans la population noire et non dans la population locale (ou les noirs sont minoritaires) .

Mais plus on se spécialise dans une sous population, moins les chiffres de cette sous population sont « surs » car les statistiques reposent alors sur un nombre plus réduits de cas .

Exemple : si l'on sait que le coupable est « blanc », on prend les statistiques de toute la population, laquelle est en très grande majorité « blanche » .

Toute la population n'est pas blanche, mais l'erreur est petite .

Si on sait que le coupable est noir ,en toute logique il faut prendre les statistiques de la population noire .

Mais ça, c'est de la théorie : imaginons qu'il y ait une population noire totale de quelques centaines d'individus, et une population blanche de quelques centaines de milliers d'individus ; les statistiques sur « les blancs » seront convenables, mais les statistiques sur « les noirs » ne voudront rien dire parce qu'on ne fait pas de statistique sur un si petit nombre d'individus .

Et elles voudront d'autant moins dire qu'elles s'écartent sensiblement des statistiques de la population blanche qui sert de référence dans ce cas-ci .

Les choses deviennent évidemment toutes autres si la population noire devait représenter 10 ou 20 % de la population d'une grande ville.



L'évolution des populations :

Les statistiques d'une population sont représentatives de la population au moment où on fait cette statistique .

Elle reste en théorie valable éternellement si la population continue à se multiplier « au hasard » et vit « sans histoire » (vague d'immigration ou au contraire d'émigration, etc ...) .

Bref en pratique ,les statistiques bougent tout le temps ,d'autant plus que les mariages ne se font pas au hasard, pas plus que les immigrations ; dans les 2 cas des considérations sociales (et donc en partie génétiques) interviennent .



La « sur » et la « sous » représentativité des populations extrêmes :

Les statistiques sont basées non pas sur toute la population, mais sur toute la population qui est passée par le labo .

Plus un allèle est fréquent, plus il est probable que des personnes avec cet allèle ont fréquenté le labo .

On peut déjà en déduire que

- la valeur obtenue avec les allèles fréquents (valeur qui sera haute) sera « sérieuse » , car elle repose sur un grand nombre de cas .
- la valeur obtenue avec les allèles « rares » (valeur qui sera basse) sera douteuse car reposant sur un petit nombre de cas .

Mais on peut aussi en déduire autre chose (puisque si on a pas un allèle ,alors c'est qu'on en un autre),c'est que :

- si un allèle est très fréquent, il est fort possible que « par hasard » l'essentiel de la population ayant cet allèle fréquent soit passé par ce labo et donc les probabilités déjà hautes seront « gonflées » .
- si un allèle est très rare, il est très possible que par hasard presque personne ayant cet allèle ait fréquenté ce labo, et donc les probabilités déjà basse seront encore « plus basses » .



4.3° Les probabilités combinées :



Les probabilités indépendantes combinées .

Les probabilités que 2 évènements se produisent impliquent une multiplication des probabilités .

Encore faut-il ne pas se tromper de probabilités

Un petit exemple est nécessaire :

- La probabilité de rencontrer une voiture rouge décapotable, c'est quoi ?
- La probabilité de rencontrer une voiture rouge multipliée par la probabilité que cette voiture rouge soit décapotable ?.
- Et non la probabilité de rencontrer une voiture rouge décapotable, c'est la probabilité de rencontrer une voiture rouge multipliée par le % de voiture rouge qui sont décapotables (il est très possible qu'une marque de voiture fasse des décapotables pour plusieurs couleurs, mais pas pour le rouge par exemple, et dans ce cas la probabilité de rencontrer une voiture rouge décapotable est tout à fait nulle, même si il y a 25 % de voitures qui sont décapotables dans ce pays là) ..



Les probabilités non indépendantes combinées .

Certaines probabilités sont tout à fait indépendante : celle d'avoir des cheveux blonds et une voiture rouge par exemple .

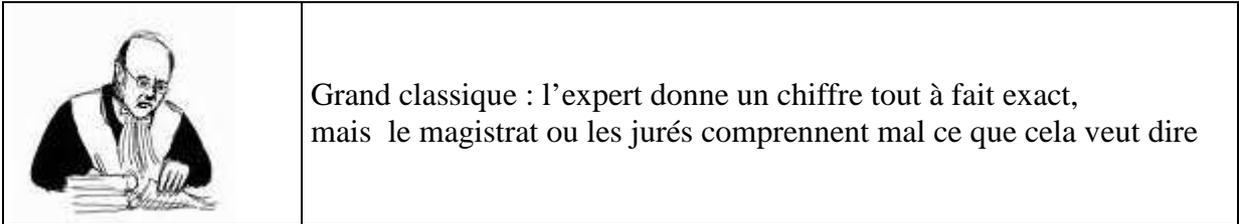
Certaines probabilités sont pratiquement tout à fait liées : celle d'être un « noir » et d'avoir les cheveux crépus par exemple .

Certaines probabilités par contre sont apparemment indépendantes mais sont en réalité liées d'une certaine façon : celle d'avoir les cheveux blonds et les yeux bleu par exemple .

La multiplication simple des probabilités élémentaires conduit alors à des erreurs monumentales ...



4.5° Les erreurs d'interprétation des résultats :

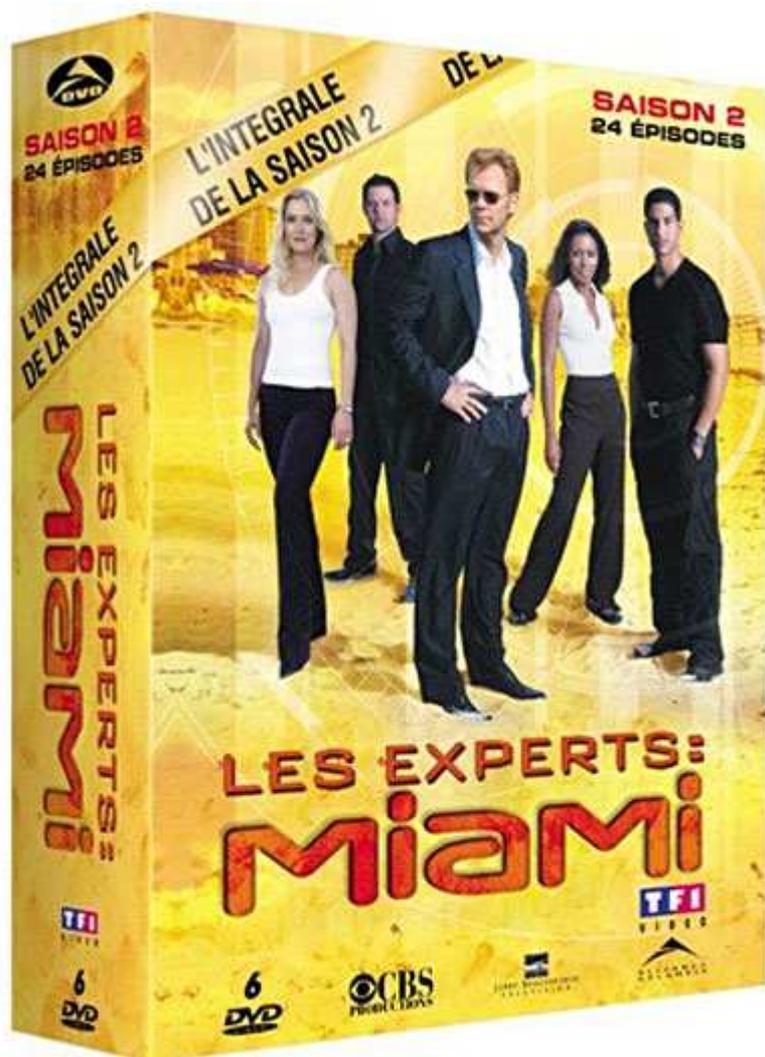


Le grand classique de l'erreurc'est l'erreur qui transforme la probabilité d'un allèle dans la population et la probabilité d'un allèle dans le crime .

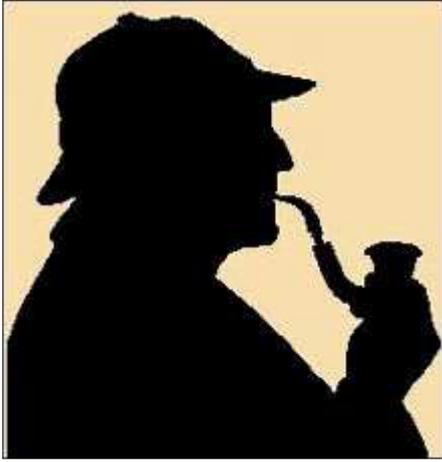
Exemple : si quelqu'un porte un allèle qui existe dans la population à une fréquence de 1/1000 et que l'on trouve par ailleurs du sang sur les lieux du délit avec ce même allèle , il est tout à fait faux de dire que cette personne a forcément commis le crime avec 1 chance sur 1000 de se tromper

En fait la seule chose qu'on peut dire est que cette personne ne peut être exclue de la liste des suspects (puisque au moins 1 allèle correspond) ,mais 1 allèle seul,c'est beaucoup trop peu pour accuser quelqu'un





5° Etude des traces :



- 1. La recherche des traces : généralités .**
- 2. La recherche de quelques traces particulières .**
- 3. La recherche de traces : les problèmes .**
- 4. La prise d'échantillon sur le sujet .**
- 5. Comment se présente l'affaire ?**
- 6. Les résultats réellement obtenus**

5.1° La recherche de traces : Généralités .

La recherche d'échantillons convenables est bien évidemment la base du travail .
Plusieurs points doivent être pris en considération :

- Eviter de prendre des fausses traces pour des traces (temps perdu, coût des analyses) .
- Recherche des petites traces ,ce qui implique parfois l'utilisation de réactifs de recherche .
- Eviter d'altérer les traces par les réactifs de recherche : par exemple certains réactifs de recherche mettent très bien en évidence les protéines d'une empreinte digitale, mais par contre font « fondre » l'empreinte digitale tant et si bien que l'empreinte elle même est « perdue » ...
- Eviter de contaminer les échantillons pris .

Dans la pratique le gros danger n'est pas la contamination, mais bien la destruction de la trace par le réactif de recherche employé de façon « maladroite » .

Il ne faut jamais utiliser le réactif de recherche sur la surface suspecte, mais toujours sur une petite partie de la surface suspecte ,le reste devant servir aux analyses ultérieures éventuelles .



5.2 ° La recherche de quelques traces particulières :

Des taches de sang .

La recherche de sang peut paraître aisée, et elle l'est généralement. Mais dans certains cas elle est assez difficile :

- Petite quantité de sang
- Absorption sur des surfaces colorées .
- Dilutions parfois importantes (quelques gouttes dans l'eau d'une baignoire, etc ...).



Des taches de sperme .

Le sperme pour des raisons encore non établies peut (il ne l'est pas toujours) être luminescent .

Pour voir cette luminescence, il faut utiliser de la lumière UV et porter des lunettes jaunes .

L'absence de fluorescence n'autorise pas d'exclure la présence de sperme, il faut le rechercher avec des réactifs .

Les cibles sont :

- La phosphatase acide
- La choline
- Le PSA (Prostate Specific Antigen)



5.3° La recherche des traces : les problèmes :

Les 2 grands classiques :

- L'ADN. est irréversiblement fixé à son support et inexaminable donc .
- L'ADN. est irréversiblement neutralisé par un inhibiteur quelconque .



Cas rare mais pas exceptionnel : l'ADN ou l'empreinte digitale ?

L'empreinte digitale, si on la voit, on est sûr qu'elle sera recueillie .

Cette empreinte peut contenir de l'ADN, mais ce n'est pas certain :

- Si il n'y a que l'empreinte, c'est « possible », mais loin d'être certain .
- Si il y a du sang, c'est quasi certain .

Le problème est que souvent il faudra choisir entre l'empreinte ou l'ADN

Dans certains cas on préférera l'une ou l'autre parce que l'on possède un fichier de référence pour l'une et pas pour l'autre (par exemple il est fréquent de disposer de vieux fichiers d'empreintes digitales, mais pas (bien évidemment) d'empreintes génétiques ...

Dans certains cas l'empreinte digitale est au même endroit que l'endroit où on cherche l'ADN, dans d'autres cas l'empreinte digitale est à un endroit distinct de celui où on cherche l'ADN par exemple un verre avec d'une part des traces probables de salives et d'autre part (mais « ailleurs ») des traces probables de doigts .

Dans certains cas une trace est plus importante que l'autre pour le dossier : par exemple si on trouve un couteau avec sans doute du sang de la victime et sans doute des empreintes du meurtrier chez un suspect, il est plus intéressant de prouver que le couteau contient le sang de la victime que l'empreinte du criminel, car la possession du couteau en elle-même (si bien sûr il contient le sang de la victime) est déjà assez « embarrassante » ...

Dans certains cas on doit faire un « pari » sur ce qu'on va trouver parce qu'on ne peut pas gagner à tous les coups ...

L'exemple type est la crosse de pistolet :

- Si elle est lisse il est probable qu'on retrouve des traces d'empreintes digitales .
- Si elle est crénelée ou rugueuse, il est possible de retrouver de l'ADN .



5.4° La prise d'échantillon ADN sur le sujet .

La prise d'échantillon est d'une grande simplicité pratique ; il suffit de réaliser un frottis buccal .

C'est simple, rapide, sans problème, bien plus qu'une prise de sang pour alcoolémie .

Mais dans la réalité il en va totalement différemment :

- On ne donne légalement son consentement à quelque chose (et donc à la prise d'un échantillon ADN de sa personne) que si ce consentement est « éclairé », cad dans le cas présent que l'on sait à l'avance que ce prélèvement servira à faire un test d'ADN dont les résultats seront ensuite stockés dans une base de donnée pour une durée prévisible assez longue .
Pas question donc de faire une prise de sang pour alcoolémie et ensuite de « profiter » de l'échantillon pour faire une recherche ADN ...
- Suivant le pays, les personnes autorisées à demander un test ADN varient .
Dans certains pays, le policier chargé de faire l'enquête peut décider de sa propre initiative de demander un échantillon ADN de quelqu'un , dans d'autres pays, seul un magistrat instructeur peut le faire , indépendamment du fait que la personne elle même accepterait d'emblée ce prélèvement .
- Suivant les pays certains tests ADN sont totalement interdits sans l'accord d'un magistrat , même si les personnes concernées sont toutes d'accord pour la réalisation de ce test .
L'exemple classique est celui des tests de paternité .
- La prise d'ADN « par ruse » : le donneur d'échantillon n'a pas donné l'échantillon volontairement, mais on le lui a pris « par ruse ».
Gros sujet de discussion juridique : est -ce bien « légal » ?
Le cas classique : les traces de salive sur le verre qu'il a bu au commissariat de police .



5.5° Comment se présente l'affaire ?

Les tests qui se présentent « bien » et ceux qui se présentent « mal »

Il y a des tests qui se présentent très très bien : l'exemple type est le test de paternité, si on a devant soi l'enfant, la mère et le père suspecté. Ils sont tous vivants et on peut prendre l'échantillon de sang dans les meilleures conditions qui soient en quantité nécessaire.

Il y a d'autres tests qui par contre se présentent très mal exemple type cadavre ayant longuement séjourné dans l'eau d'un égout industriel après un viol collectif ...



Les tests qui se présentent « entre les deux » :

Dans une enquête criminelle ou un test de paternité, la personne qui passe le test n'est pas n'importe qui ; c'est quelqu'un sur lequel pèsent déjà de gros soupçons

Dans un screening de toute une population pour savoir qui aurait fait le délit (exemple type ; toute la population mâle de 14 à 75 ans d'un gros bourg qui doit passer le test pour suspicion de viol), c'est sensiblement différent et à plus d'un titre :

- Une personne noyée dans la masse peut très bien se faire passer pour une autre si elle lui ressemble physiquement, et le « coup classique » à envisager est celui d'un frère qui passe le test à la place d'un autre ...
- Les erreurs de manipulation des kits de prélèvements ou d'analyse sont très possibles ; on referme un flacon avec l'étiquette du précédent ou du suivant, ce qui se conçoit d'autant mieux qu'il faut imaginer le labo croulant sous les échantillons collectés, etc
- La pertinence du test elle-même est fort discutable : ce n'est pas un test positif chez quelqu'un de déjà suspect (risque d'erreur minime), mais un test positif chez quelqu'un qui se trouve dans la population générale (risque d'erreur petit mais pas minime)



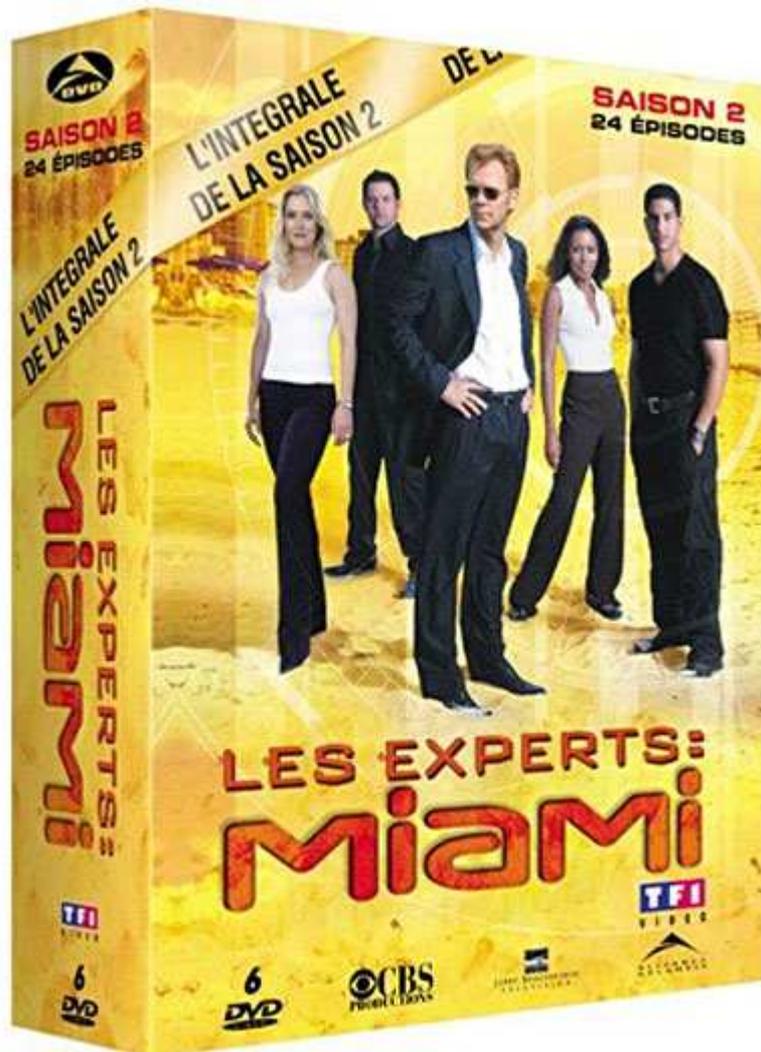
5.6. Les résultats réellement obtenus :

Comme toujours il y a ce qu'on peut espérer avoir et ce qu'on a réellement, ce qui peut être assez différent ...

Les motifs de « mauvais résultats » sont nombreux :

- Traces anciennes, minuscules, dégradées (spontanément ou délibérément) ou encore « polluées » accidentellement par des tiers : passants, témoins, policiers, laborantins ...
- Impossibilité de discriminer 2 individus génétiquement trop proches (père-fils par exemple) .
- Impossibilité de définir une personne génétiquement « trop banale » de façon statistiquement suffisamment crédible ; l'équivalent anthropométrique serait celui-ci : « C'est un blanc, il n'est ni grand ni petit, ni gros ni maigre »







6°.L'ADN et les bases de données .

- 1. L'analyse ADN d'un labo à l'autre .**
- 2. L'analyse ADN va dans une base de données .**
- 3. La base de données est interrogée .**
- 4. La base de données dans l'affaire en cours .**
- 5. La base de données et les vieilles affaires .**
- 6. L'analyse ADN entre et sort de la base de données .**
- 7. La base de données ? ... Quelle base de données ?**

6.1° L'analyse ADN d'un labo à l'autre .

Les exigences lourdes actuelles et les besoins de réduire les coûts ont fait disparaître les labos « amateurs » .

Restent les « gros labos »entre lesquels il n'y a virtuellement aucune différence de qualité quand à l'obtention de l'analyse ADN correcte .

Des différences existent cependant toujours entre labos pour ce qui est des traces « sur le terrain » :

- repérage des traces,
- prise des traces,
- stabilisation des traces pour le transport,
- extraction correcte des traces d'ADN du support.

En fin de parcours ,les données vont se retrouver dans une base de données .

Si c'est dans la base de donnée du seul labo,,c'est « sans problème »,mais cela n'a pas grand sens, puisque l'élément de comparaison ce sera les profils existant dans ce même labo .

Si c'est dans des bases de données plus générales, les ennuis commencent .

Il faut en effet que les données soient équivalentes

- Même allèles étudiés .
- Mêmes conditions de labo .

A défaut si les conditions de labos sont distinctes cad si un labo travaille avec une méthode et un autre avec une autre méthode, il faut au moins que ces différences figurent dans la base de données



6.2° L'analyse ADN entre dans une base de données .

La réalisation de bases de données semble en théorie assez simple .

Il en est tout à fait différemment en réalité ,car plusieurs problèmes vont se poser immédiatement :

- **Législation :**

De pays à pays les législations changent concernant l'archivage de ces données ,tant en termes de données pouvant être archivées qu'en termes de durées d'archivages, de motifs de consultations, et de maintien ou non de l'échantillon aillant servi à réaliser le test .

D'un point de vue juridique , une pareille base de données est un casse – tête .

- **Valeur :**

Toutes les bases de données n'ont pas les mêmes valeurs point de vue conformité de leurs contenus ; certaines sont 100 % sûres ,et donc on peut dire avec certitude que tel individu a bien tel profil, tandis que pour d'autres bases de données, la probabilité de conformité est toujours fort probable, mais pas certaine pour autant (le cas évident est celui du screening de masse de toute une population dans le cadre d'une enquête judiciaire pour rechercher un suspect ,comme cela c'est déjà passé en France et en Angleterre où des milliers d'individus masculins ont du donner un échantillon de salive dans le cadre de la recherche d'un violeur local .Dans de telles enquêtes les erreurs d'archivages surviennent et en outre les possibilités de substitution volontaire d'un individu par un autre ne sont pas à écarter .

Ce serait donc une catastrophe de rassembler les bases de données certaines et moins certaines en un seul grand fichier .

- **Universalité du contenu .**

Un profil ADN n'est utile que si il est comparable à un autre profil reprenant les mêmes paramètres .

Avec les empreintes digitales, il n'y a aucun problème pour la réalisation d'un fichier : tous les fichiers reprennent les empreintes des 10 doigts .

Avec les profils génétiques, c'est impossible à faire ; il y a des millions de tests différents possible à réaliser et forcément donc il faut « se mettre d'accord » sur les tests qui seront et ceux qui ne seront pas réalisés dans un test « standard » .

- **Coût :**

La rationalisation du travail impose nous venons de le voir des tests standards .

Pour que ces profils standards aient une « valeur » en termes de recherche, il faut qu'ils concernent plusieurs paramètres simultanément.

Pour que le coût de ces tests soit réduit au maximum, il faut faire sur un seul échantillon des tests simultanés ,ce qui implique une « cuisine » difficile à mettre au point (réactifs, t°,durée d'incubation, marqueurs, etc ...) ce qui aboutit à des tests « clefs en main »,mais grevés d'un brevet d'exploitation et donc d'une quasi exclusivité de distribution au niveau mondial

- **Etendue :**

Qui mettre dans cette base de données ? Toute la population ? Le maximum de gens quelles qu'en soient les raisons ? Uniquement les coupables de n'importe quels délits ? Uniquement les coupables de seulement quelques types de délits ?



6.3° La base de donnée est interrogée .

Une fois la base de donnée faite ,correctement gérée, etc, va se poser la question de l'accès à la base de données .

Qui va avoir accès à cette base de données, quand, comment et pourquoi ?

Déjà des politiques différentes voient le jour dans divers pays .

Pour certains ,ces bases de données ne peuvent être consultées que dans le cadre de délits importants : meurtres, viols, attentats .

Pour d'autres, dans tout ce qui tourne autour de ces affaires de meurtre de viols ou d'attentats par exemple pour identifier des témoins qui ne se seraient pas faits connaître , ou résoudre des questions périphériques à ces délits comme par exemple le vol d'une voiture ayant ensuite servi à faire un meurtre .

Pour d'autres enfin, cette base sert « à tout » ,et par exemple à retrouver la mob volée non pas de Mollah Omar, mais du fils à Sarko ...



6.4° La base de données dans l'affaire en cours .

Lorsque l'on ne dispose pas de bases de données convenables , l'analyse ADN est utilisée en fin d'enquête , lorsque l'enquête traditionnelle a déjà trouvé des suspects .
L'analyse ADN sert alors à désigner le coupable parmi les rares suspects .



Lorsque l'on dispose d'une base de données convenables et étendues, là par contre « tout change » ; l'analyse ADN sert en début d'enquête pour savoir si le suspect ne se trouve pas déjà dans la base de données (et plus elle est grande, plus il y a de chances qu'il s'y retrouve) .
ce qui bien évidemment inversera complètement le travail de l'enquête .

A titre d'exemple ,prenons un viol, il est certain que si on trouve les traces ADN d'un violeur connu sur les vêtements de la victime ça ne veut pas pour autant dire charrette ; il pourrait s'agir d'un contact fortuit dans la rue, un moyen de transport ou autres, mais déjà c'est « peu probable »,pour ne pas dire « très suspect »

Si maintenant la trace ADN provient non pas d'une source « non significative » comme des cheveux ou des squames, mais d'une tache de sperme recueillie sur les vêtements de la victime ... ça change assez fort les données du problème ...



6.5° La base de données et les « vieilles affaires »

L'analyse ADN est susceptible de remettre en cause bien des affaires anciennes ,que ce soit dans un sens : innocenter un faux coupable ,ou au contraire accuser un faux innocent .

Des problèmes multiples sont bien évidemment susceptibles de se poser , en particulier la question de la reprise d'un dossier pour lequel quelqu'un a déjà été jugé et reconnu à tort comme « innocent » .

Dans certains pays il est possible de rouvrir en justice de tels dossiers puisqu'il y a un élément neuf .

Dans d'autres au contraire, élément neuf ou pas, il est interdit de rejuger quelqu'un pour la même affaire ...



6.6° La base de données : on y entre et on en sort .

Une base de données doit être « gérée », elle ne peut pas se résumer à un empilement de données sans fin .

Il faudra la nettoyer régulièrement, c'est-à-dire effacer les données qui ne sont plus pertinentes comme par exemple les données d'un délinquant décédé (à traiter au cas par cas) ou encore d'un délinquant devenu trop âgé pour pouvoir encore commettre un délit (à traiter avec une « routine » d'effacement) .

Il faudra aussi faire le nettoyage des suspects jugés « innocents » ... ce qui implique d'effacer (ou non) des « suspects » que l'on sait pertinemment « coupables » ,mais qui ont été reconnus « innocents » pour l'une ou l'autre raison juridique....

Il est clair que la police fera « tout » pour ne pas effacer ces données, même si elle y est juridiquement contrainte ...



6.7. La base de donnée ? ...Quelle base de données ?

Pour ce qui est des empreintes digitales, il n'y a aucune discussion possible : il n'y a qu'un seul fichier possible celui reprenant les 10 empreintes digitales .

Pour les empreintes génétiques, on a le choix sur des milliards de possibilités d'études .
Mais il faut bien se limiter à quelques tests si on veut avoir des données échangeables de labo à labo .

Ce point a été obtenu, nous l'avons vu ; de labo à labo on peut dire que l'un dans l'autre les résultats sont comparables .

Mais de nouvelles techniques apparaissent ,en particulier la « puce ADN » qui interroge de tout autres fragments d'ADN, très rapidement et à très bas prix

La question est donc : va-t-on :

- continuer les fichiers actuels ?
- va-t-on leurs ajouter les résultats « à puce » .
- va-t-on les remplacer par les fichiers « à puce » (bref, va-t-on « tout recommencer » ?

L'idée de « tout recommencer » n'est pas impossible techniquement parlant ni économiquement parlant : les nouvelles méthodes sont à ce point rapide et bon marché .
Mais « pratiquement » ce n'est pas possible : la plupart du temps il n'y a plus l'échantillon de départ, donc on ne sait plus faire de nouveaux tests ...

