



HAL
open science

Médecine légale, odontologie et ADN

Clément Lebeaud

► **To cite this version:**

Clément Lebeaud. Médecine légale, odontologie et ADN. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04220602

HAL Id: dumas-04220602

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04220602>

Submitted on 28 Sep 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

IMPORTANT : OBLIGATIONS DE LA PERSONNE CONSULTANT CE DOCUMENT

Conformément au *Code de la propriété intellectuelle*, nous rappelons que le document est destiné à un **usage strictement personnel**. Les "analyses et les courtes citations justifiées par le caractère critique, polémique, pédagogique, scientifique ou d'information" sont autorisées sous réserve de mentionner les noms de l'auteur et de la source (article L. 122-4 du *Code de la propriété intellectuelle*). Toute autre représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit, est illicite.

De ce fait, nous vous rappelons notamment que, **sauf accord explicite** de l'auteur de la thèse ou du mémoire, **vous n'êtes pas autorisé** à rediffuser ce document sous quelque forme que ce soit (impression papier, transfert par voie électronique, ou autre). Tout contrevenant s'expose aux peines prévues par la loi.

NANTES UNIVERSITÉ
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 2023

N°

Médecine légale, Odontologie et ADN

THESE POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée

et soutenue publiquement par

LEBEAUD Clément

Le 20 juin 2023 devant le jury ci-dessous

Président : Monsieur le Professeur Laurent LE GUEHENNEC

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Gilles AMADOR DEL VALLE

Co-Directeur de thèse : Madame le Docteur Isabelle HYON

Assesseur : Madame le Professeur Fabienne PEREZ

Invité : Madame Marie-Gaëlle LE PAJOLEC

 Nantes Université	Présidente - Pr BERNAULT Carine
 Pôle Santé UFR Odontologie	Doyen - Pr SOUEIDAN Assem
	Assesseurs Dr GAUDIN Alexis Pr LE GUEHENNEC Laurent Pr LESCLOUS Philippe

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers des C.S.E.R.D	
Mme ALLIOT-LICHT Brigitte M AMOURIQ Yves Mme CHAUX Anne-Gaëlle M. LABOUX Olivier	Mme LOPEZ Serena Mme PEREZ Fabienne M. WEISS Pierre

Professeur des Universités
M. BOULER Jean-Michel

Maitre de conférence des Universités
Mme VINATIER Claire

Professeur Emérite
M. GIUMELLI Bernard

Enseignants Associés	
M. GUIHARD Pierre (Professeur Associé)	M. MAITRE Yoann (Assistant Associé)
Mme LOLAH Aoula (Assistant Associé)	M. KOUADIO Ayepa Alain (Assistant Associé)
M. BANDIAKY Octave (Assistant Associé)	

Maitres de conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers des C.S.E.R.D	Assistants Hospitaliers Universitaires des C.S.E.R.D
M. AMADOR DEL VALLE Gilles	M. ALLIOT Charles
Mme ARMENGOL Valérie	Mme CLOUET Roselyne
Mme BLERY Pauline	M. EVRARD Lucas
M. BODIC François	M. GUILLEMIN Maxime
Mme CLOITRE Alexandra	Mme HASCOET Emilie
Mme DAJEAN-TRUTAUD Sylvie	Mme HEMMING Cécile
M. DENIS Frédéric	M. HIBON Charles
Mme ENKEL Bénédicte	Mme OYALLON Mathilde
M. HOORNAERT Alain	Mme QUINSAT Victoire Eugenie
Mme HOUCHMAND-CUNY Madline	M. REMAUD Matthieu
Mme JORDANA Fabienne	M. RETHORE Gildas
M. LE BARS Pierre	M. SERISIER Samuel
M. NIVET Marc-Henri	Mme TISSERAND Lise
M. PRUD'HOMME Tony	
Mme RENARD Emmanuelle	
M. RENAUDIN Stéphane	
M. STRUILLOU Xavier	
M. VERNER Christian	

Praticiens Hospitaliers	
Mme DUPAS Cécile	Mme HYON Isabelle

01/02/2022

Par délibération en date du 6 décembre 1972, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'il n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

Remerciements

A Monsieur le Professeur Laurent LE GUEHENNEC,

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Docteur de Nantes Université, habilité à diriger les recherches

Chef du Département de Prothèse

- NANTES -

*Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce travail de thèse,
Veuillez trouver ici l'expression de ma haute considération ainsi que tous mes
remerciements.*

A Monsieur le Docteur Gilles AMADOR DEL VALLE,

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Docteur de Nantes Université, habilité à diriger les recherches

Chef du département de Santé Publique

- NANTES –

*Pour avoir accepté de diriger ce travail de thèse,
Pour votre disponibilité et votre réactivité tout au long de ce projet,
Veuillez trouver ici l'expression de profonde considération et mes plus sincères
remerciements.*

A Madame le Docteur Isabelle Hyon,

Praticien Hospitalier

Service d'Odontologie Conservatrice et Pédiatrique

- NANTES -

*Pour avoir accepté de siéger dans ce jury,
Pour les connaissances théoriques et pratiques que vous m'avez transmises
durant les vacations de soins spécifiques,
Veuillez trouver ici l'expression de profonde considération ainsi que de mes
sincères remerciements.*

A Madame le Professeur Fabienne PEREZ,

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Docteur de l'Université de Toulouse 3, habilitée à diriger les recherches.

Chef du département d'Odontologie Conservatrice – Endodontie

Chef du service d'Odontologie Conservatrice et Pédiatrique

- NANTES –

*Pour avoir accepté de siéger dans ce jury,
Pour votre bienveillance ainsi que pour les connaissances et la rigueur que
vous m'avez transmis pendant mes études,
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et mes sincères
remerciements.*

A Madame Marie-Gaële LE PAJOLEC,

Directrice générale de l'Institut génétique Nantes Atlantique

- NANTES –

*Pour m'avoir accepté de siéger dans ce jury,
Pour votre gentillesse, le temps que vous m'avez consacré ainsi que l'aide
précieuse que vous m'avez fournie tout au long de ce travail,
Veuillez trouver ici l'expression de mon plus grand respect, merci infiniment
pour votre aide.*

Table des matières

I.	INTRODUCTION	15
II.	RAPPELS DE GENETIQUE	16
A.	ADN	16
B.	MINISATELLITES (VNTR)	18
C.	MICROSATELLITES (STR)	19
D.	SNP (SINGLE NUCLEOTID POLYMORPHISM)	21
E.	L'ADN MITOCHONDRIAL	23
F.	LE CHROMOSOME Y	24
III.	LES ANALYSES ADN	26
A.	PRELEVEMENTS	26
1.	<i>Sang</i>	26
2.	<i>Salive</i>	27
3.	<i>Sperme</i>	28
4.	<i>Cheveux</i>	30
5.	<i>Traces de contact</i>	30
6.	<i>Les dents</i>	31
a)	Le rôle des dents en médecine légale	31
b)	Prélèvement de l'ADN	33
B.	EXTRACTION DE L'ADN	34
1.	<i>Extraction au phénol – chloroforme</i>	34
2.	<i>Extraction par chromatographie sur colonne de silice</i>	36
C.	METHODES D'IDENTIFICATION	37
1.	<i>Southern Blot</i>	37
a)	Principe (50)	37
(1)	Enzymes de restriction	37
(2)	Electrophorèse sur gel d'agarose	37
(3)	Hybridation	38
b)	Limites	39
2.	<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	39
a)	Principe	39
b)	PCR standard (52)	40
c)	PCR en temps réel (qPCR) (54)	41
d)	PCR multiplex (52)	43
e)	Avantages et inconvénients	43
3.	<i>Réalisation des empreintes génétiques de nos jours</i>	44
a)	PCR	44
b)	Electrophorèse capillaire (58) (59)	45
4.	<i>Séquençage</i>	47
a)	Définition	47
b)	Intérêt	48
c)	Méthode de Maxam et Gilbert (65)	48
d)	Méthode de Sanger (65)	49
e)	Séquençage à haut débit	51
(1)	Principe (69)	52
(2)	Avantages et inconvénients	54
5.	<i>Cas particulier</i>	54
a)	Mélanges d'ADN	54
b)	Jumeaux monozygotes	55

IV.	L'ADN DANS LE CADRE JURIDIQUE.....	56
A.	APPLICATIONS DES TESTS ADN	56
1.	<i>Test de paternité.....</i>	57
2.	<i>Identification de traces sur scènes de crimes ou de délits</i>	58
3.	<i>Identifications de corps.....</i>	58
4.	<i>Etablissement d'un portrait-robot génétique</i>	60
5.	<i>Estimation de l'âge</i>	61
a)	Longueur des télomères.....	61
b)	Méthylation de l'ADN.....	62
6.	<i>Détermination de l'origine.....</i>	63
B.	FNAEG	63
1.	<i>Affaire Guy George et création du FNAEG.....</i>	63
2.	<i>Contenu</i>	64
3.	<i>L'accès au FNAEG.....</i>	66
4.	<i>Conservation des données</i>	66
C.	LA PREUVE ADN LORS D'UN PROCES.....	67
1.	<i>Fiabilité des tests ADN</i>	67
2.	<i>L'intime conviction face aux preuves génétiques</i>	71
V.	CONCLUSION	73
VI.	BIBLIOGRAPHIE.....	74

I. INTRODUCTION

L'ADN fut découvert en 1869 par le biologiste suisse Friedrich Miescher à partir de globules blancs issus du pus provenant de bandages de patients. Il appelle alors cette substance encore inconnue la « nucléine » du fait de sa localisation à l'intérieur du noyau des cellules.

Depuis la découverte de sa structure en double-hélice en 1953 ainsi qu'avec le développement des outils en biologie moléculaire, l'ADN revêt aujourd'hui une importance considérable en médecine, en criminologie ainsi qu'en anthropologie. Présente chez la plupart des êtres vivants et dans la plupart de nos cellules, cette molécule est à la base de la vie sur Terre.

En médecine légale, son importance réside dans son aspect unique et propre à chaque individu. L'étude de l'ADN possède aujourd'hui un large éventail d'applications : la réalisation de tests de filiation, la recherche de personnes disparues, l'identification de victimes de catastrophes ou encore d'auteurs de crimes et délits.

Les comparaisons ADN repose sur la réalisation d'empreintes génétiques. Ces dernières, également appelées profils ADN, correspondent à la « carte d'identité » génétique propre à chacun des individus. Elles sont aujourd'hui principalement établies en étudiant le polymorphisme de régions particulières de l'ADN appelées microsatellites.

Présent dans la plupart des tissus, le matériel génétique peut dans la pratique être extrait de nombreux tissus et fluides : sang, salive, sperme, cheveu, etc...

Nous passerons tout d'abord en revue les différentes connaissances actuelles concernant la structure de l'ADN, en détaillant plus précisément les éléments essentiels en médecine légale.

Puis, nous étudierons les différentes étapes et techniques des analyses ADN et de la réalisation des empreintes génétiques. Depuis sa première utilisation en médecine légale dans les années 1980, les méthodes ont rapidement évolué notamment grâce à l'invention de la PCR et du séquençage.

Enfin nous examinerons la législation concernant l'étude de l'ADN ainsi que les limites de son utilisation. En France, de nombreuses lois existent afin de règlementer et d'encadrer la réalisation de ces tests afin de garantir la protection de la vie privée des individus ainsi que de leurs données génétiques personnelles.

II. Rappels de génétique

A. ADN

L'ADN ou acide désoxyribonucléique constitue le support de l'information génétique de la plupart des êtres vivants. Il est constitué de deux brins enroulés l'un avec l'autre et possède une structure en double hélice, connue depuis 1953 grâce à la publication de Watson et Crick dans la revue scientifique Nature (1).

Cette molécule permet la synthèse des protéines, ainsi que le développement et la reproduction des êtres vivants.

La plus grande partie de l'ADN est localisée dans le noyau des cellules du corps humain. Une partie se trouve également dans les mitochondries, des organites présents dans le cytoplasme ayant pour fonction principale la production de l'énergie sous forme d'ATP.

Chacun des brins présente une succession de nucléotides, molécules organiques composées (2) :

- D'une base azotée
- D'un sucre, désoxyribose à 5 carbones
- D'une molécule d'acide phosphorique.

Les sucres ainsi que les molécules d'acide phosphorique permettent la liaison des nucléotides les uns aux autres via des liaisons phosphodiester (3).

Dans l'ADN, il existe 4 bases azotées différentes, l'adénine (A), la guanine (G), la thymine (T), la cytosine (C).

Deux d'entre elles sont dites puriques, l'adénine et la guanine, tandis que les deux autres, la thymine et la cytosine sont dites pyrimidiques.

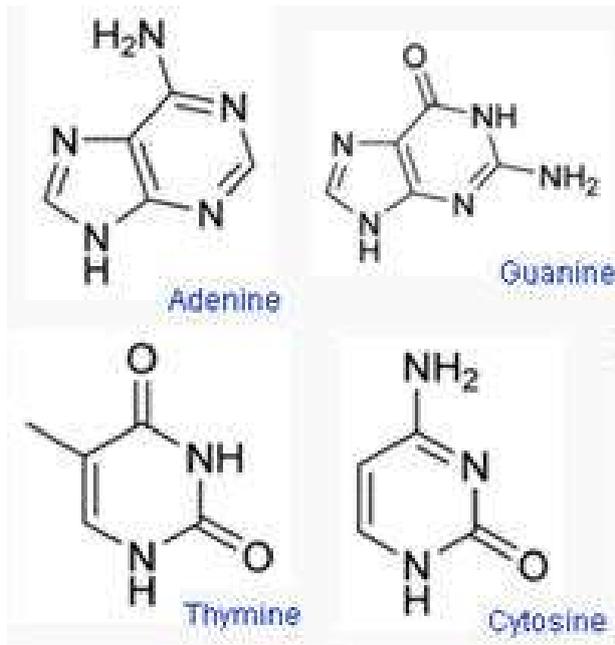


Figure 1 : Schéma des 4 bases azotées (4)

Les deux brins anti parallèles d'une molécule d'ADN sont reliés entre eux par ces bases azotées, via des liaisons hydrogènes (2), d'une façon précise :

- L'adénine est reliée à une thymine par 2 liaisons hydrogènes
- La guanine est reliée à une cytosine par 3 liaisons hydrogènes

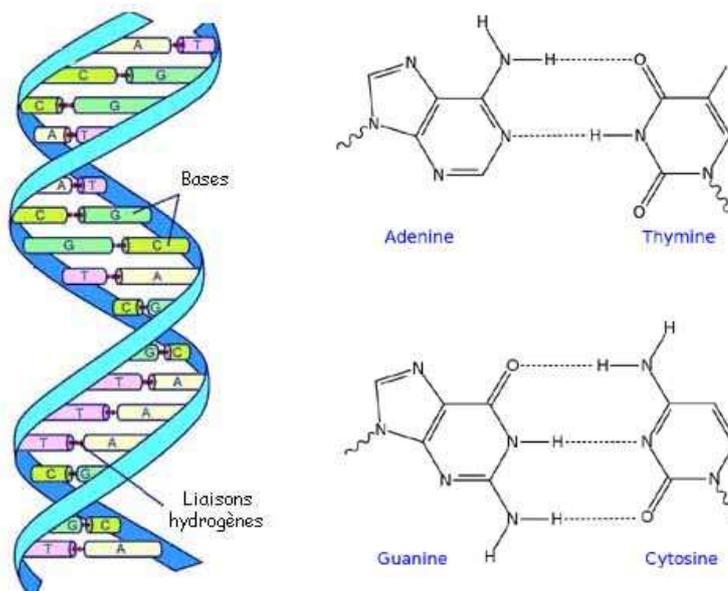


Figure 2 : Structure en double hélice et liaisons hydrogènes entre bases (5)

Chaque nucléotide relié à son homologue complémentaire formera une paire de bases. Les deux brins sont donc complémentaires. Cette correspondance permet leur réplication lors d'une mitose. Ainsi, l'information génétique sera identique dans chaque cellule d'un organisme vivant, à l'exception des gamètes, permettant sa transmission à la descendance.

Chez l'être humain, l'ADN est constitué d'environ 3 milliards de paires de bases. Cependant, seul 2% du génome est dit « ADN codant » et permet la synthèse de protéines. Les 98% restant sont appelés « ADN non codant » et ont pour but de réguler l'expression des gènes ainsi que d'autres fonctions encore méconnues (6).

B. Minisatellites (VNTR)

Découvert en 1985 par Alec Jeffreys (7), les minisatellites (ou VNTR pour Variable Number Tandem Repeat), sont des séquences répétées en tandem.

La taille de leur motif se situe entre 10 et 100 paires de bases (pb) ce qui donne selon le nombre de répétitions des zones génomiques dont la taille varie entre 500pb et 30000 pb (8).

Bien que leur utilisation en médecine légale soit progressivement remplacée par celles des STR et du séquençage, elle a été un élément important dans la réalisation des profils ADN.

L'utilisation des VNTR se faisait principalement via la technique des RFLP (Polymorphisme de Longueur de Fragments de Restriction) (9).

Cette technique utilise des enzymes de restriction provoquant les coupures d'un fragment d'ADN au niveau de sites de restriction.

Selon le nombre et les emplacements de ces derniers, les fragments produits seront de taille différente.

La réalisation d'un Southern Blot permet finalement de connaître la taille des différents fragments.

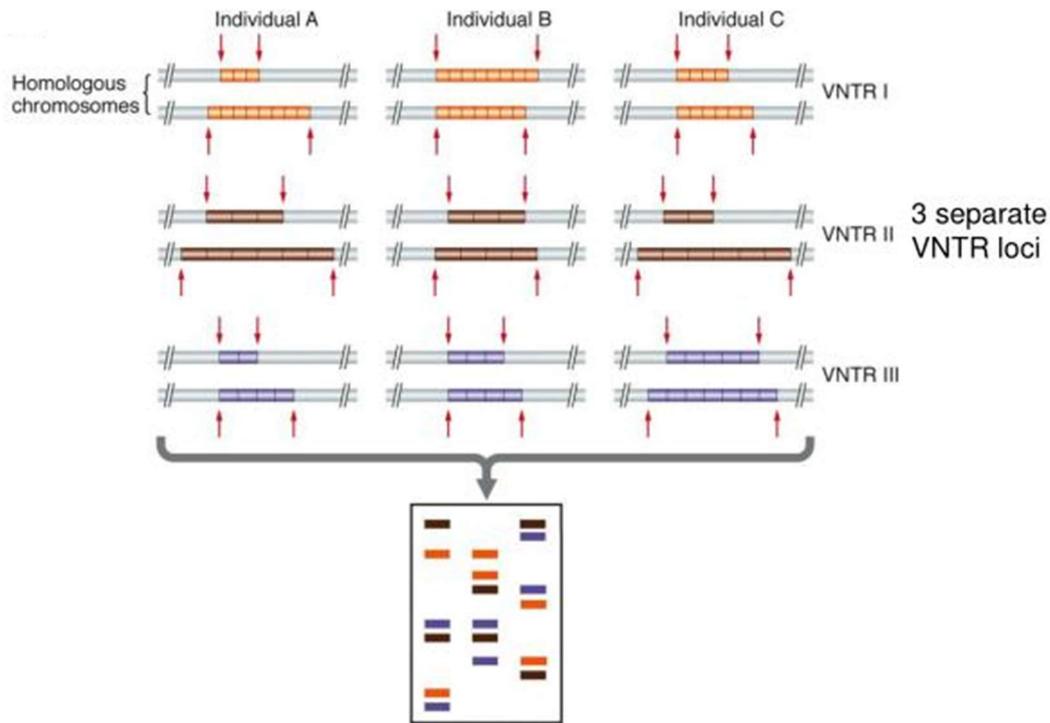


Figure 3 : Principe du RFLP (10)

De nos jours les empreintes génétiques se font majoritairement grâce à l'utilisation des STR, plus petits et donc plus facilement utilisables en présence d'ADN dégradé. La technique des RFLP a quant à elle progressivement laissée sa place aux techniques de PCR, plus rapides et moins coûteuses.

C. Microsatellites (STR)

Les microsatellites, autrement appelés STR (Short Tandem Repeat) ou SSR (Répétition de Séquences Simples) en français, sont à l'instar des VNTR des séquences répétées en tandem de nucléotides, entre 1 et 6 le plus souvent (11).

Ils sont abondamment présents dans les génomes eucaryotes que ce soit au niveau de l'ADN codant ou non codant.

Leur utilité en biologie moléculaire repose sur leur caractère très polymorphique.

En effet, de la même manière que pour les VNTR, la particularité des STR est que leur taille, due à la variation du nombre de répétitions, varie entre les individus, créant des allèles différents.

Ils sont représentés sous la forme $(X)_n$. X étant la séquence répétée et n le nombre de répétitions.

L'être humain étant diploïde (ayant deux jeux de chromosomes), chacun de nous peut donc avoir pour chaque locus deux allèles différents, l'hétérozygotie, ou deux allèles identiques, l'homozygotie.

De part et d'autre de chaque séquence répétée se trouve des régions flanquantes, des séquences de nucléotides identiques à chaque individu.

Ces séquences permettront l'appariement d'amorces lors de l'amplification par PCR des STR.

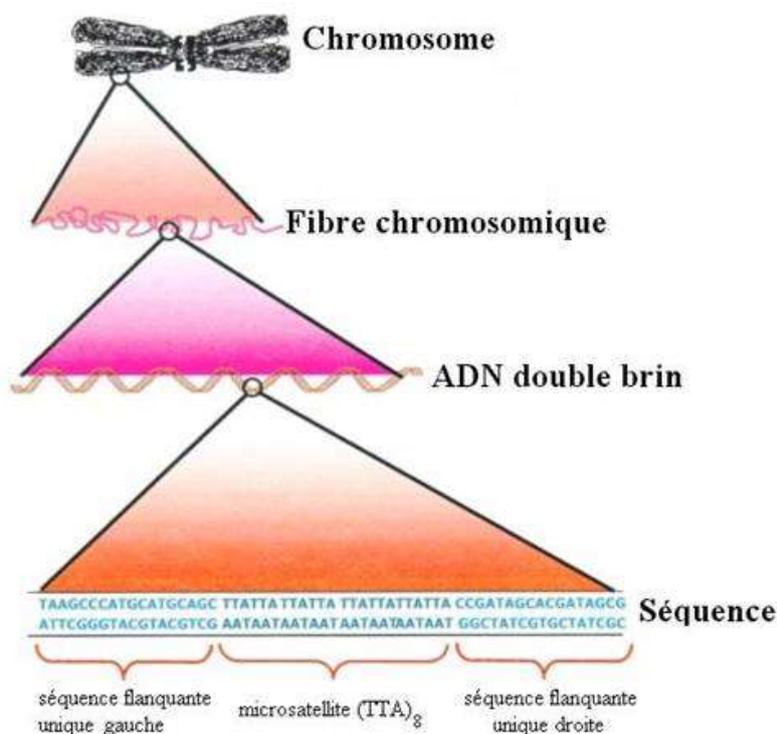


Figure 4 : Structure des microsatellites (12)

Bien que très polymorphe, le nombre d'allèles pour chacun des STR est relativement faible (une trentaine au maximum). Ainsi une comparaison ADN ne pourra se baser sur l'analyse d'un seul locus.

En France une analyse ADN s'effectue aujourd'hui sur un nombre de loci compris entre 21 et 26 (13) et la probabilité d'avoir une correspondance entre deux personnes différentes est d'une sur plusieurs milliards pour un profil génétique complet.

La nature multi-allélique des STR en fait donc des marqueurs génétiques de choix lors d'analyse ADN.

Pour des raisons légales, ces analyses ne concernent que des STR situés sur des régions non-codantes de l'ADN (hormis le marqueur du sexe).

Pour chaque microsatellite, la fréquence du nombre de répétitions varie dans la population, principalement en fonction de l'origine ethnique.

Il existe trois différents types de STR, classés en fonction du type de répétitions : simples, composés ou complexes (14).

Un STR simple est une répétition à l'identique d'un motif un certain nombre de fois.

Ex : (CA)₉.

Un STR composé est l'association de deux motifs répétés.

Ex : (GT)₂(TG)₁₀.

Un STR complexe n'a pas de modèle d'ordre défini.

Ex : (CAA)₈ + (TG)₂ + AC + (TTA)₄

La lecture de la longueur des microsatellites s'effectue le plus souvent par analyse PCR suivi d'une électrophorèse capillaire (15).

D. SNP (Single Nucleotid Polymorphism)

Les SNP sont des mutations ponctuelles au sein du génome caractérisées par la substitution d'un nucléotide par un autre.

Abondantes dans le génome, ces mutations se produisent en moyenne toutes les 1.000 paires de bases, ce qui représente environ 3.000.000 de SNP dans l'ensemble du génome.

Les SNP représentent donc le polymorphisme le plus courant chez l'homme.

Selon la localisation du SNP, le polymorphisme peut entraîner diverses conséquences au niveau phénotypique. Un polymorphisme au niveau d'une région codante de l'ADN peut provoquer l'altération de la synthèse d'une protéine, au niveau structurel ou fonctionnel.

Cependant, la plupart des SNP sont localisés dans des régions non codantes et n'ont donc pas d'impact au niveau phénotypique.

Ces derniers sont donc des marqueurs génétiques très utiles en médecine, pour étudier la susceptibilité d'un patient à développer certaines pathologies génétiques, en criminologie ainsi que pour la réalisation de test de paternité.

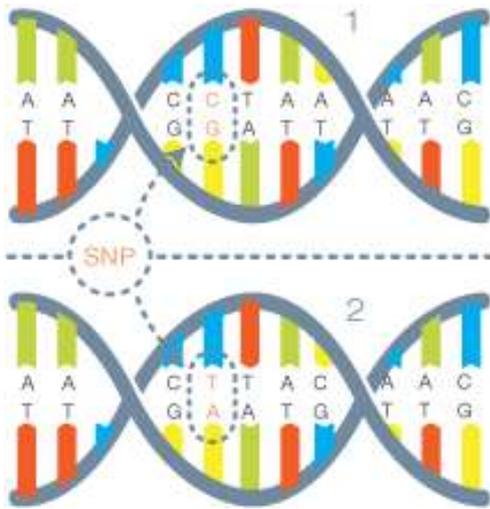


Figure 5 : Exemple de SNP (16)

Lors d'analyse sur des échantillons d'ADN dégradés, la longueur des fragments résiduels est très variable et peut n'être que d'une dizaine ou centaine de paires de bases, or celle des STR va jusqu'à 400pb. Ainsi, lorsque l'ADN est dégradé, les microsatellites ne pourront généralement pas tous être étudiés.

L'intérêt des SNP vis-à-vis des microsatellites et des minisatellites réside principalement dans le fait que la longueur des fragments d'ADN nécessaires est réduite.

Cependant, le principal inconvénient est que ce sont la plupart du temps des marqueurs bialléliques (17) fonctionnant selon un système binaire : soit le nucléotide de référence est présent, soit il est substitué par un autre nucléotide précis. Par exemple dans une séquence, une adénine peut être substituée par une cytosine, sans qu'il existe d'individus où l'adénine est substituée par une guanine ou une thymine. Dans de rares cas, les SNP peuvent être tétra-alléliques, où par exemple une cytosine peut être substituée aussi bien par une adénine, une thymine ou une guanine.

A l'inverse, le nombre d'allèles différents pour chaque microsatellite peut-être de plusieurs dizaines.

Cette propriété des SNP leur confère donc un pouvoir discriminant moindre comparé aux STR, palliée par l'analyse d'un nombre plus important de SNP. Avec une fréquence de 50% en moyenne pour chaque allèle, on considère qu'il faut environ 5 SNP pour obtenir un pouvoir discriminant équivalent à celui d'un STR.

Ce qui correspond à une étude de 50 à 100 SNP nécessaires par test génétique (9).

E. L'ADN mitochondrial

Les mitochondries sont de petits organites présents en centaine voire en plusieurs milliers d'exemplaires dans les cellules, leur nombre variant selon la fonction cellulaire. Leur rôle principal est de fournir l'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule dans laquelle elles se trouvent par la production de l'ATP (18).

Contenu dans les mitochondries, l'ADN mitochondrial (ou ADNmt) est beaucoup plus court que l'ADN nucléaire, avec une longueur de 16.569 paires de bases (19). Il est également bicaténaire mais de forme circulaire et non hélicoïdal.

La transmission de l'ADNmt ne se fait que par la mère, les mitochondries du spermatozoïde étant détruites lors de la fécondation.

La conséquence de ce mode de transmission non-mendélien est que les ADNmt de tous les membres d'une fratrie seront identiques.

Le génome mitochondrial ne contient que 37 gènes et ne code que 13 protéines (20).

La séquence étant très courte, elle ne possède pratiquement pas de région non-codante, à l'exception de la D-Loop (Displacement-Loop).

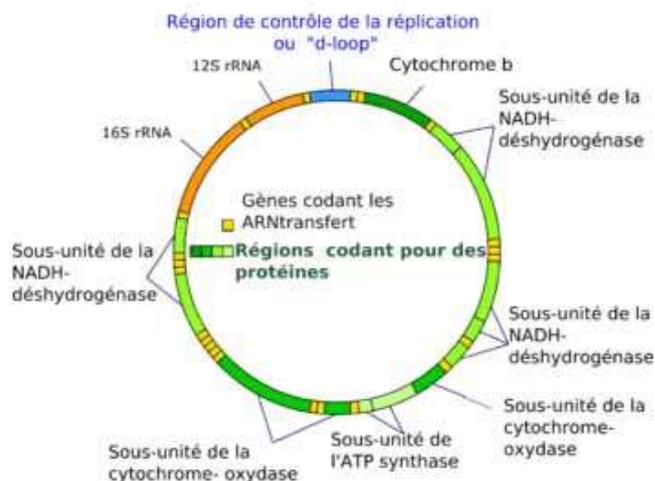


Figure 6 : Représentation de l'ADN mitochondrial (21)

Les analyses de l'ADN mitochondrial se basent essentiellement sur l'étude des SNP de la partie non codante (22).

La D-Loop possède trois portions hypervariables appelés HV1, HV2 et HV3 (19). Additionnées, elles sont d'une longueur d'environ 800pb et représentent les régions étudiées lors d'analyse d'ADNmt.

La particularité de l'ADNmt par rapport à l'ADN nucléaire est sa capacité à mieux résister aux différentes agressions environnementales et à persister durablement dans le temps grâce aux parois résistantes des mitochondries.

De plus, on dénombre plusieurs centaines de mitochondries par cellules en moyenne, chacune contenant plusieurs dizaines d'ADNmt.

A contrario, l'ADN nucléaire n'est présent qu'en deux exemplaires dans les cellules, l'être humain étant diploïde. Il peut également ne pas être présent dans le cas des cellules dépourvues de noyau (ex : les hématies) ou en un unique exemplaire dans les gamètes. Il sera davantage soumis aux dégradations enzymatiques ou à l'oxydation. Lors de découvertes de traces ADN infimes ou de corps trop anciens ou trop dégradés, l'analyse du génome mitochondrial sera parfois la seule solution possible .

L'analyse de l'ADNmt se fait exclusivement par PCR suivi d'un séquençage des trois portions hypervariables, c'est-à-dire par détermination de l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN (22).

Le mode de transmission exclusivement maternel de l'ADN mitochondrial ne permet qu'un nombre limité d'indications en médecine légale. Celui-ci a pour conséquence un ADN mitochondrial identique au sein d'une lignée maternelle et un faible polymorphisme exclusivement dû aux mutations pouvant se transmettre au fil des générations.

L'ADNmt permet par exemple l'identification d'un cadavre par comparaison avec celui d'un membre de sa famille issue de sa lignée maternelle.

F. Le chromosome Y

Le chromosome Y est à l'inverse du chromosome X et des chromosomes autosomaux, uniquement présent chez les individus masculins. Il est donc transmis de père en fils. A l'instar de l'ADNmt, il n'y a presque pas de recombinaisons au fil des générations et les seules modifications entre individus sont le résultat des différentes mutations en cours de l'évolution.

Seules des petites portions situées sur les télomères des chromosomes Y (également appelées régions pseudo-autosomiques) sont susceptibles d'être échangées avec celles des chromosomes X lors de la méiose (23).

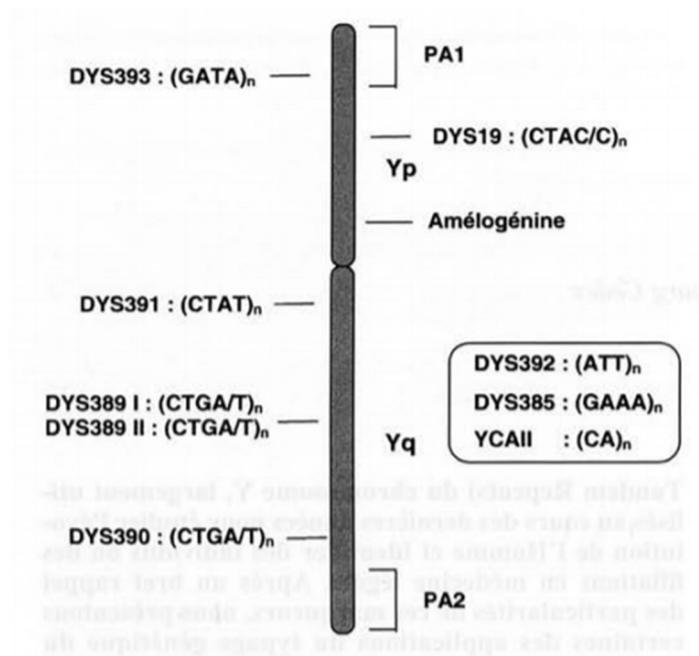


Figure 7 : Schéma du chromosome Y (23)

Jusqu'au début des années 90, la seule application de l'analyse du chromosome Y était la détermination du sexe d'un individu par étude de la longueur du premier intron du gène de l'amélogénine (106pb pour le Ch X contre 112pb pour le Ch Y) (24).

Depuis, il présente un plus grand intérêt, tout d'abord dans l'étude des populations et des migrations en généalogie, mais également en médecine légale via l'étude des marqueurs multi alléliques STR et des marqueurs bi alléliques SNP.

L'intérêt majeur en médecine légale réside dans les mélanges d'ADN. Par exemple lors d'un viol le sperme de l'homme se mélange aux cellules de la femme et il est assez difficile d'isoler les deux ADN. L'utilisation de marqueurs spécifiques aux STR du chromosome Y permet donc l'amplification exclusive des marqueurs de l'individu masculin lors de la PCR (25). Le chromosome Y permet également la réalisation de test de paternité ou de filiation avec un autre individu mâle de la famille.

L'analyse du chromosome Y a un pouvoir discriminant moindre comparé à celui des chromosomes autosomiaux. Ceci est la conséquence de l'absence de recombinaison au fil des générations.

Les analyses se portent généralement sur l'étude d'une vingtaine de microsatellites choisis par la communauté scientifique internationale qui permettent de déterminer un haplotype. Il possède un pouvoir discriminant supérieur à celui de l'ADNmt (26).

Tout comme l'ADNmt, les analyses portant sur le chromosome Y ont davantage un pouvoir d'exclusion que d'inclusion.

En effet, le profil génétique d'un individu issu du chromosome Y sera identique aux autres hommes d'une fratrie ainsi qu'à d'autres personnes de la population générale. Cependant, si l'haplotype du chromosome Y présent dans une trace retrouvée ne correspond pas à celui d'un suspect, il sera alors possible d'affirmer avec certitude que cette trace ne provient pas du suspect.

III. Les analyses ADN

A. Prélèvements

1. Sang

Le sang présente une phase liquide appelé plasma et une phase solide contenant entre autres les globules rouges (ou hématies), les globules blancs (ou leucocytes) et les plaquettes.

Il est généralement visible à l'œil nu mais peut également être latent dans le cas où il aurait été nettoyé.

Les prélèvements s'effectuent à l'aide d'écouvillons stériles placés au contact direct des traces.

Lorsque les traces ne sont pas visibles à l'œil les techniciens de polices scientifiques ont recours à des produits chimiques afin de mettre en évidence le sang par chimiluminescence.

Le système le plus utilisé est le BlueStar®, une solution à base de luminol et de peroxyde d'hydrogène que les enquêteurs pulvérisent sur les surfaces suspectées d'avoir été tachées de sang. L'hémoglobine présente dans le sang va alors catalyser une réaction d'oxydation entre le luminol et le peroxyde d'hydrogène. Cette réaction va produire différentes molécules dans un état excité qui vont émettre des photons visibles à l'œil nu avec une longueur d'onde proche de l'ultraviolet (23, 24).



Figure 8 : Photographies de taches de sang avant et après test au BlueStar® (27)

La quantité d'hémoglobine nécessaire pour catalyser cette oxydation étant très faible, il sera alors possible mettre en évidence des traces de sang nettoyées (28).

Le principal inconvénient du BlueStar® est l'apparition de faux positifs pouvant survenir lors de pulvérisation sur des surfaces contenant par exemple des traces de javel ou de produits détergents chlorés. Cela peut cependant mettre en évidence une tentative antérieure de nettoyage de sang.

Bien que la pulvérisation du produit provoque une dilution du sang, l'avantage du BlueStar® est de ne pas altérer l'ADN présent dans les taches de sang à condition que l'exposition ne soit pas trop prolongée (29).

2. Salive

La salive est un fluide sécrété par les glandes salivaires : les parotides, les glandes submandibulaires, les glandes sublinguales ainsi que les glandes accessoires.

Composée à 99% d'eau, elle contient de nombreux électrolytes et protéines. Elle a pour rôle la lubrification des muqueuses tapissant la cavité buccale, la digestion des aliments et possède des propriétés antibactériennes.

En médecine légale, la salive peut être prélevée en contact direct avec les muqueuses buccales d'un individu ou sur des surfaces ayant été en contact avec celle-ci telles que des aliments, des mégots ou des chewing-gums.

C'est le liquide biologique le plus couramment utilisé par la police pour établir le profil ADN d'un individu (30).

Lors d'un prélèvement de salive chez un individu, la police et la gendarmerie utilisent dans la majorité des cas un kit FTA (Fast Technology for Analysis).



Figure 9 : Photographie d'un kit FTA (31)

Le prélèvement d'ADN salivaire chez un suspect par kit FTA consiste en l'utilisation d'une tige stérile en coton frottée pendant plusieurs secondes sur la muqueuse interne des joues afin de racler et de recueillir les cellules superficielles de la muqueuse (32). La tige est ensuite posée en contact avec un papier cellulosique imbibé de réactif permettant ainsi la fragmentation des cellules et la libération de l'ADN.

Le papier est pour finir conditionné dans une enveloppe, sous scellé et envoyé dans un laboratoire afin d'établir l'empreinte génétique de l'individu.

Le principal avantage de cette technique est qu'elle permet d'éviter une étape ultérieure d'extraction et de purification de l'ADN en laboratoire ainsi qu'une conservation à température ambiante (33). Son faible coût et sa simplicité d'utilisation en fait donc une technique de choix pour les enquêteurs.

Concernant la salive à l'état de traces sur une surface, le test Phadebas® permet la mise en évidence de l'alpha-amylase contenue dans la salive via l'utilisation d'amidon auquel est rattaché un colorant bleu.

En cas de présence de salive, l'enzyme va digérer l'amidon, révélant une coloration bleue, la trace sera alors récupérée avec un écouvillon stérile (34).

3. Sperme

Le sperme est constitué du liquide séminal ainsi que de différentes cellules, telles que les spermatozoïdes, des polynucléaires, des cellules souches ou des cellules épithéliales.

Il présente également des éléments nourriciers pour les spermatozoïdes comme du Zinc, de la Vitamine C et B12 et des sels minéraux. On note aussi la présence de phosphatase acide, une hydrolase présente dans tous les fluides biologiques mais se trouvant en proportion nettement supérieure dans le sperme.

Cette enzyme présente un rôle majeur dans la détection du sperme à l'état de trace sur des éléments mis sous scellés.

Lorsque le sperme ne peut pas être mis en évidence par examen visuel direct, il est possible d'utiliser un produit chimique : l'alpha naphthylphosphate.

L'élément contenant une trace, un morceau de tissu par exemple, est pressé entre deux feuilles de papier absorbant humidifié afin d'y transférer la phosphatase acide. De l'alpha naphthylphosphate est ensuite vaporisé sur ces feuilles, en cas de présence de l'enzyme et donc de sperme, elles prendront une coloration violette (35).

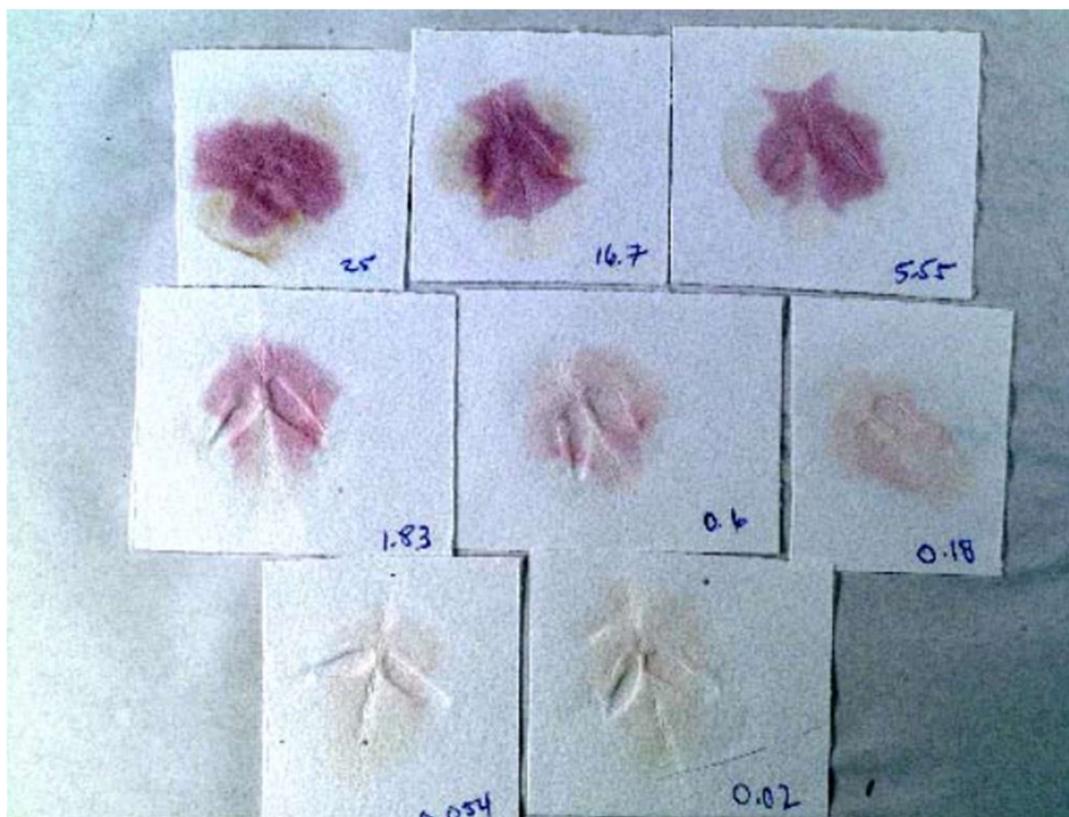


Figure 10 : Détection de la phosphatase acide à des concentrations différentes (36)

Cet examen d'orientation a cependant des limites. La présence d'éléments étrangers sur la pièce à étudier tels que certains jus de fruits peuvent entraîner des faux positifs (37). De même, des faux négatifs sont possibles, la phosphatase acide se dégradant rapidement.

Un autre moyen de mettre les traces de sperme en évidence est le Bluestar® identi-PSA, permettant la détection de la PSA, une protéine synthétisée exclusivement par la prostate. Le Bluestar® PSA est composé d'anticorps monoclonaux, induisant la formation de complexes antigènes-anticorps. En cas de réaction positive, une bande colorée violette apparaît sur le boîtier de test (38).

4. Cheveux

Les cheveux sont des éléments fréquemment retrouvés sur les scènes de délits ou de crimes.

Un cheveu est constitué de deux parties principales :

- Le bulbe, partie invisible du cheveu et situé dans le derme. Celui-ci est relié à la vascularisation, permettant les apports en oxygène et nutriments nécessaires à sa croissance.
- La tige, élément constitué principalement de kératine. Cette kératine naît de la mort des kératinocytes, cellules qui en mourant vont perdre leur noyau mais conserver leurs mitochondries.

Lors d'une chute naturelle ou de la coupe d'un cheveu, il ne sera généralement pas possible d'extraire de l'ADN nucléaire de celui-ci, que le bulbe soit mort ou non présent. Dans les rares cas où de l'ADN nucléaire est encore présent, celui-ci est généralement trop dégradé ou en quantité trop faible pour permettre l'obtention d'un profil génétique (39).

Cependant, il sera souvent possible d'en extraire l'ADN mitochondrial.

Si un cheveu est arraché, une analyse de l'ADN nucléaire sera possiblement réalisable si le bulbe est toujours présent. Cela dépendra principalement du stade de croissance lors de l'arrachage du cheveu.

5. Traces de contact

Avec l'évolution rapide des techniques d'analyse et la quantité d'ADN nécessaire diminuant, les fluides corporels et les éléments pileux ne sont plus systématiquement indispensables afin d'établir un profil génétique.

Le nombre de scellés contenant de l'ADN de contact étant extrêmement important, cela a pour avantage de fournir des empreintes dans un nombre de cas croissant.

L'objectif est de recueillir des cellules, le plus souvent épithéliales, qu'un individu déposerait sur une surface avec laquelle il entre en contact via une partie de son corps telle que sa main, son pied, ou ses joues par exemple, dans le but d'établir un profil ADN (40).

La surface en question peut aussi bien être solide (poignée de porte, arme, etc...), plus souple (vêtement, oreiller) ou même être la peau d'un autre individu lors par exemple d'un coup porté.

La technique de prélèvement de ces traces de contact consiste en l'utilisation d'un écouvillon stérile humidifié, frotté directement en contact de la surface.

Une fois la collecte terminée, l'emballage des écouvillons est directement refermé afin d'éviter toute contamination par l'air ambiant et envoyé en laboratoire pour l'amplification PCR.

L'exploitation des traces de contact présente cependant différents risques. Le premier est la possible contamination du matériel génétique par l'environnement mais le principal risque est la possibilité de transfert d'ADN.

En cas de contact d'un objet ou d'une partie du corps, ayant préalablement été exposé à un autre ADN, avec une surface, il est possible d'y laisser des traces de cet ADN (41).

Par exemple, si un individu A serre la main à un individu B, puis que l'individu B touche une poignée de porte, il sera alors éventuellement possible de retrouver des traces sur cette poignée de l'ADN de l'individu A.

En effet, les techniques actuelles d'analyse étant de plus en plus sensibles, la présence d'un très faible nombre de cellules épithéliales suffit pour être amplifié par PCR puis détecté.

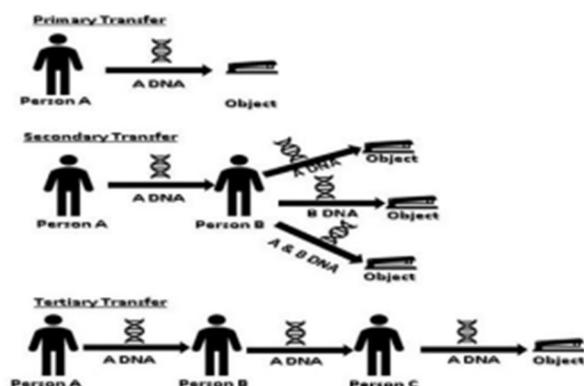


Figure 11 : Différents modes de transfert d'ADN (42)

6. Les dents
 - a) *Le rôle des dents en médecine légale*

L'odontologie a pris au fil des années une importance au sein de la médecine légale. Les dents sont parfois les derniers éléments d'un corps humain permettant son identification.

Bien que les traces d'ADN qu'elles contiennent peuvent permettre d'identifier un cadavre, il est également possible d'identifier un corps par une comparaison de son schéma dentaire avec celui d'un ou plusieurs individus connus via l'utilisation de dossiers médicaux.

Différents supports pourront être à la disposition de l'expert médico-légal avec les lesquels il sera capable d'affirmer ou non la correspondance entre les restes dentaires retrouvés et les éléments d'un dossier médical.

- Les éléments anatomiques
 - Anomalie de structure
 - Anomalie de nombre
 - Anomalie de position
- Les éléments pathologiques
 - Lésions carieuses
 - Traumatismes
 - Dents extraites
 - Parodontopathies
- Les restaurations
 - Restaurations conservatrices (composites, amalgames, CVI...)
 - Restaurations prothétiques fixes (couronnes métalliques ou céramiques, bridges...)
 - Restaurations prothétiques amovibles (prothèse amovible partielle résine ou avec châssis métallique, prothèse amovible complète)

En cas d'absence d'éléments ante-mortem permettant une analyse comparative, l'expert pourra être en mesure de réaliser une analyse estimative dans le but de récolter le maximum d'information sur la personne par l'analyse des dents et du parodonte (43).

- Estimation de l'âge
- Estimation du sexe
- Estimation de l'origine ethnique
- Estimation des habitudes de vie

b) Prélèvement de l'ADN

Le principal avantage de la dent en médecine légale est sa résistance aux conditions extrêmes, que ce soient les fortes températures, l'humidité ou les variations de pH.

Contrairement aux dents, l'os est un tissu certes très minéralisé mais également poreux ; il n'est donc pas à l'abri des contaminations par de l'ADN exogène ou des inhibiteurs de PCR pouvant être contenus dans les sols. Ainsi les dents sont un excellent outil dans la recherche d'ADN ancien (44).

Plusieurs méthodes existent afin d'extraire l'ADN pulpaire. Cependant, elles nécessitent toutes des conditions d'asepsie rigoureuses et une décontamination de la surface dentaire que ce soit par une exposition à des rayonnements UV, par l'utilisation d'hypochlorite de sodium ou en éliminant les couches les plus superficielles de la dent (33).

Dans le cas d'une dent sur laquelle un traitement endodontique a été réalisé, la persistante de débris cellulaires au sein des tubuli dentinaires permet dans certains cas une analyse de l'ADN.

La qualité et la quantité d'ADN pouvant être exploité dépendra donc de la technique d'extraction du matériel génétique.

- Le crushing ou broyage

Cette technique consiste à broyer entièrement la dent. Le broyat est ensuite décalcifié par EDTA puis rincé. La sensibilité fine de la PCR permet l'exploitation de l'ADN malgré le fait qu'il puisse être endommagé par cette méthode. Le principal inconvénient est la perte de toute la morphologie dentaire.

- Le cryo-broyage

Tout comme le crushing, cette méthode permet de réduire la dent en fine poudre. Cependant, elle est précédée d'un refroidissement de la dent via de l'azote liquide dans le but d'en faciliter le broyage. Cette technique est plus rapide mais n'écarte pas les risques de dégradation du matériel génétique.

- La fracture horizontale

La section horizontale de la dent permet un prélèvement direct de la pulpe camérale. On réalise pour cela une incision transversale en fonction de l'anatomie de la dent sans atteindre la cavité pulpaire.

Puis à l'aide d'un syndesmotome droit placé au niveau de l'incision, on effectue un mouvement luxation afin de fracturer la dent et d'accéder à la pulpe.

Le matériel génétique pouvant être recueilli est cependant moins important que pour une fracture verticale car cette méthode ne permet pas un accès à la pulpe radiculaire.

- La fracture verticale

Cette méthode est réalisée dans le but d'accéder à la fois à la pulpe camérale et radiculaire. Le trait d'incision dépendra de la morphologie de la dent étudiée.

Pour les dents monoradiculées et les prémolaires maxillaires, l'incision sera réalisée de la face vestibulaire à la face linguale ou palatine.

Pour les molaires maxillaires, le trait d'incision passera entre les deux racines vestibulaires et abordera la racine palatine par sa face vestibulaire.

Pour les molaires mandibulaires, l'incision débutera par la face mésiale, en passant entre les deux canaux de racine mésiale puis se prolongera jusqu'à la face distale.

Afin de préserver l'ADN, l'incision n'atteindra pas directement la cavité pulpaire. Elle sera suivie d'une étape de fracture réalisée à l'aide d'un syndesmotome introduit au niveau du trait de fracture avec lequel on exercera un mouvement de luxation.

La pulpe dentaire en ensuite récupérée à l'aide d'une curette.

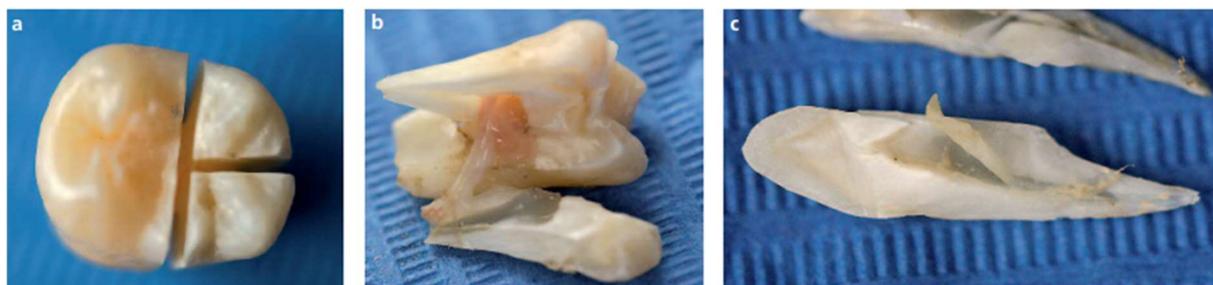


Figure 12 : Photographies d'une fracture d'une molaire maxillaire (33)

B. Extraction de l'ADN

1. Extraction au phénol – chloroforme

Une analyse génétique nécessite une étape indispensable d'extraction de l'ADN afin d'éliminer tous les composants d'un échantillon pouvant potentiellement contaminer et dégrader l'ADN et ainsi ne garder que celui-ci. La méthode utilisant le phénol et le chloroforme a initialement été développée en 1987 par Chomczynski et Sacchi (45) et est toujours fréquemment utilisée aujourd'hui.

L'échantillon est tout d'abord plongé dans un tube contenant une solution permettant la lyse des cellules et ainsi la libération de l'ADN du noyau et des mitochondries. On utilise le plus souvent pour cela un détergent (SDS) et un chélatant (EDTA) (46).

Deux étapes successives sont ensuite réalisées pour permettre l'extraction :

Ajout de phénol : Il est utilisé pour dissocier les acides nucléiques des protéines liées à l'ADN en dénaturant les protéines. L'étape de centrifugation qui suit permet de séparer de l'échantillon en 3 phases :

- Une phase aqueuse en surface contenant l'ADN
- Une interphase composée de protéines
- Une phase organique inférieure contenant le phénol et les lipides

Seule la phase aqueuse superficielle sera conservée.

Ajout de chloroforme : Afin d'éliminer les résidus de phénol présent dans la phase aqueuse.

De l'éthanol ou de l'isopropanol et du NaCl sont ensuite ajoutés à la phase aqueuse afin de précipiter l'ADN. Une nouvelle centrifugation est réalisée dans le but d'isoler l'ADN précipité dans le fond du tube et d'éliminer le surnageant.

L'ADN purifié est alors conservé à 4°C pour un stockage à court terme ou à -20°C pour un stockage à long terme.

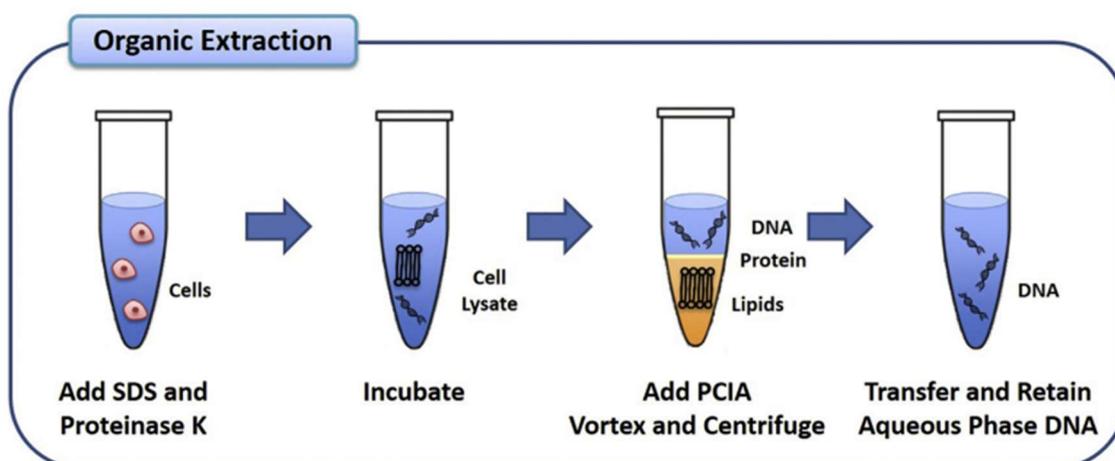


Figure 13 : Schéma des différentes étapes d'extraction d'ADN au phénol/chloroforme (47)

L'avantage de ce protocole est sa simplicité de réalisation ; de plus le phénol permet une dénaturation rapide des protéines. Cependant il existe un risque de contamination dû aux nombreuses manipulations et transferts de tubes.

L'utilisation de produits corrosifs et toxiques nécessite du matériel de travail adapté et des mesures de protections du personnel.

2. Extraction par chromatographie sur colonne de silice

L'extraction de l'ADN sur des colonnes en silice est une méthode d'extraction en phase solide.

La silice possède des propriétés permettant sa liaison à l'ADN. Elle est chargée positivement, lui procurant ainsi une grande affinité envers la charge négative du matériel génétique.

Comme dans la plupart des méthodes d'extraction de l'ADN, les cellules sont tout d'abord lysées, par utilisation d'un détergent tel que SDS ou Triton X-100.

Une fois les cellules lysées, l'échantillon est ajouté à l'intérieur du tube contenant la membrane de silice, celle-ci est ensuite nettoyée de ses impuretés par des lavages successifs à l'éthanol afin de ne pas décrocher l'ADN. Ce dernier est enfin élué par l'utilisation d'une solution tampon ou d'eau distillée stérile.

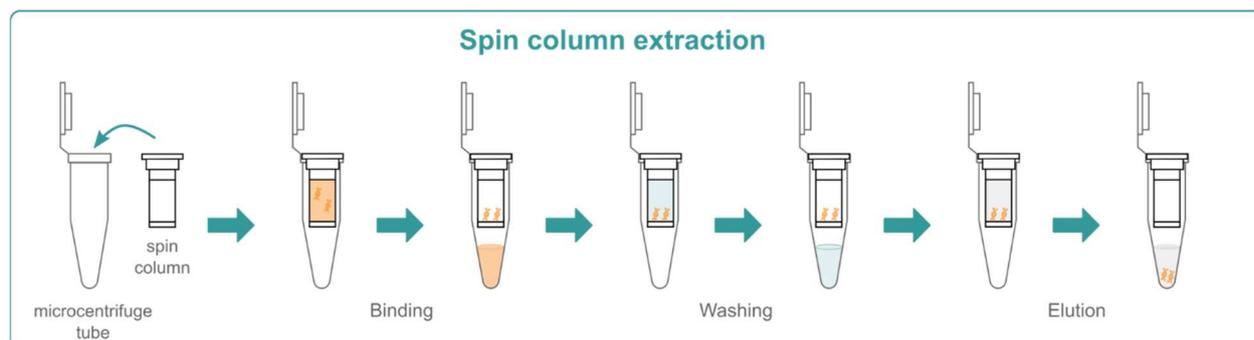


Figure 14 : Schéma d'extraction de l'ADN par chromatographie sur colonne de silice (48)

A l'inverse de la méthode phénol/chloroforme, cette technique ne nécessite pas l'utilisation de produits toxiques et présente un protocole beaucoup plus rapide (entre 40 minutes et 1 heure). Le risque de contamination est également moindre grâce au faible nombre de transferts des échantillons (49).

C. Méthodes d'identification

1. Southern Blot

La technique du Southern Blot a été inventé en 1975 en Angleterre par le Pr. Edwin Southern. Elle permet l'étude et la visualisation de fragments d'ADN par l'utilisation d'enzymes de restriction.

a) *Principe (50)*

(1) Enzymes de restriction

L'ADN extrait est tout d'abord fragmenté par des enzymes de restriction afin d'en obtenir plusieurs petites portions précises.

Les enzymes de restriction sont des protéines capables de cliver l'ADN au niveau de sites précis du génome correspondant à une succession de nucléotides spécifiques.

(2) Electrophorèse sur gel d'agarose

Dans une cuve contenant du gel d'agarose vont être plongées deux électrodes (une anode et une cathode) afin de produire un courant électrique. Les molécules déposées vont migrer dans le gel selon leur charge électrique.

Les fragments obtenus par clivage enzymatique vont être déposés dans des puits à l'extrémité du gel d'agarose au niveau de la cathode. L'ADN étant chargé négativement, ces fragments vont migrer vers l'anode.

Les échantillons vont alors se déplacer plus ou moins rapidement selon leur poids et donc selon leur taille, les petits échantillons migreront plus rapidement que les grands qui eux sont davantage retenus dans le gel d'agarose.

L'électrophorèse sur gel d'agarose nécessite l'utilisation d'une solution tampon afin de garder un pH optimal et de faciliter la migration des fragments d'ADN. Il sera possible de quantifier le nombre de paires de bases de ces derniers en faisant migrer en parallèle, dans un autre puit, un marqueur de taille dans un autre puit, c'est-à-dire un fragment d'ADN ayant une taille préalablement déterminée.

La migration de l'ADN est suivie d'une dénaturation par de la soude NaOH dans le but de séparer les deux brins formant la double hélice.

(3) Hybridation

L'électrophorèse est suivie d'un transfert de l'ADN du gel d'agarose vers une membrane en nitrocellulose ou en nylon, ce qui permet une manipulation plus aisée et facilite l'hybridation ultérieure.

Ce transfert se fait par phénomène de capillarité. Le gel d'agarose est recouvert par la membrane de nitrocellulose ou de nylon, qui sera elle-même recouverte de plusieurs couches de papier absorbant Whatman. La solution présente dans la cuve sera alors absorbé par le papier tandis que l'ADN sera retenu par la membrane.

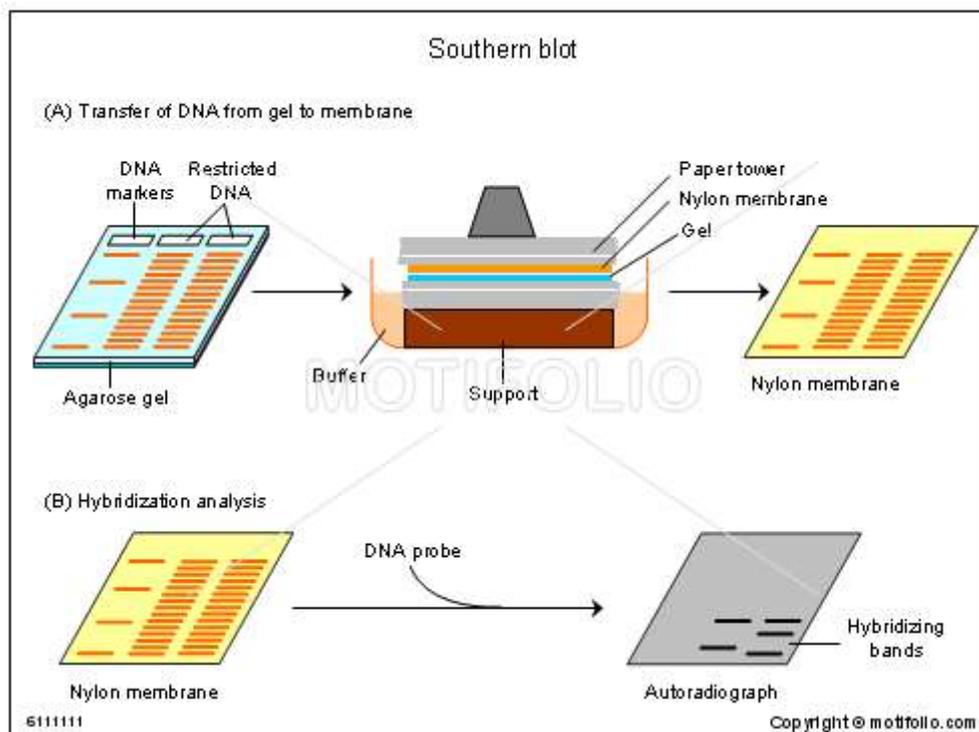


Figure 15 : Différentes étapes d'un Southern Blot (51)

La membrane supportant les fragments monocaténaire est récupérée et mise en contact avec des sondes complémentaires constituées de nucléotides marqués avec des radio-isotopes ou de fluorophores. Les sondes en excès seront éliminées par plusieurs lavages successifs.

En cas d'utilisation de radioisotopes, la visualisation se fait par autoradiographie.

Le Southern Blot présente un protocole relativement long. Utilisé dans les années 90, il a progressivement été remplacé par la PCR.

b) *Limites*

En médecine légale, le Southern Blot fut majoritairement utilisé dans les années 80 et 90 en étudiant les variations de longueurs des VNTR afin de réaliser des empreintes génétiques ou des tests de parenté. Il nécessite cependant une quantité d'ADN relativement importante, empêchant par exemple sa réalisation sur des dents anciennes.

Cette technique coûteuse fut progressivement remplacée par la PCR, bien plus rapide et nécessitant des quantités d'ADN beaucoup plus faibles.

2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

a) *Principe*

La PCR est une technique inventée en 1986 par Kary Mullis. Elle permet l'amplification in vitro de séquences d'ADN par réplifications successives dans le but d'en obtenir un nombre important de copies. Les fragments amplifiés par PCR sont nommés amplicons.

L'amplification nécessite l'utilisation d'un grand nombre de composants biologiques, dont des couples d'amorces nucléotidiques d'une taille comprise entre 15 et 25 nucléotides. Ces amorces doivent pouvoir s'hybrider aux extrémités des séquences d'ADN monocaténaire que l'on souhaite amplifier. Il est donc nécessaire de connaître les séquences nucléotidiques des régions flanquantes afin de pouvoir synthétiser les amorces correspondantes. Cela ne pose plus problème depuis le développement des techniques de séquençage.

À la suite de l'hybridation d'amorces sur les brins d'ADN, la synthèse du brin complémentaire est permise par la Taq polymérase, une ADN polymérase.

De nombreux nucléotides (sous forme de dNTP) devront également être présents dans le milieu réactionnel pour permettre la synthèse des nouveaux amplicons.

b) PCR standard (52)

La PCR est une technique constituée de trois étapes majeures répétées autant de fois que nécessaires :

- **La dénaturation** : A environ 95°C, permet le passage d'un ADN bicaténaire à des molécules d'ADN monocaténares.
- **L'hybridation** : Entre 40°C et 65°C, les amorces complémentaires des séquences spécifiques de l'ADN se fixent.
- **L'élongation** : A 72°C, la Taq polymérase synthétise le brin complémentaire à partir des amorces en utilisant les dNTP présents dans le milieu.

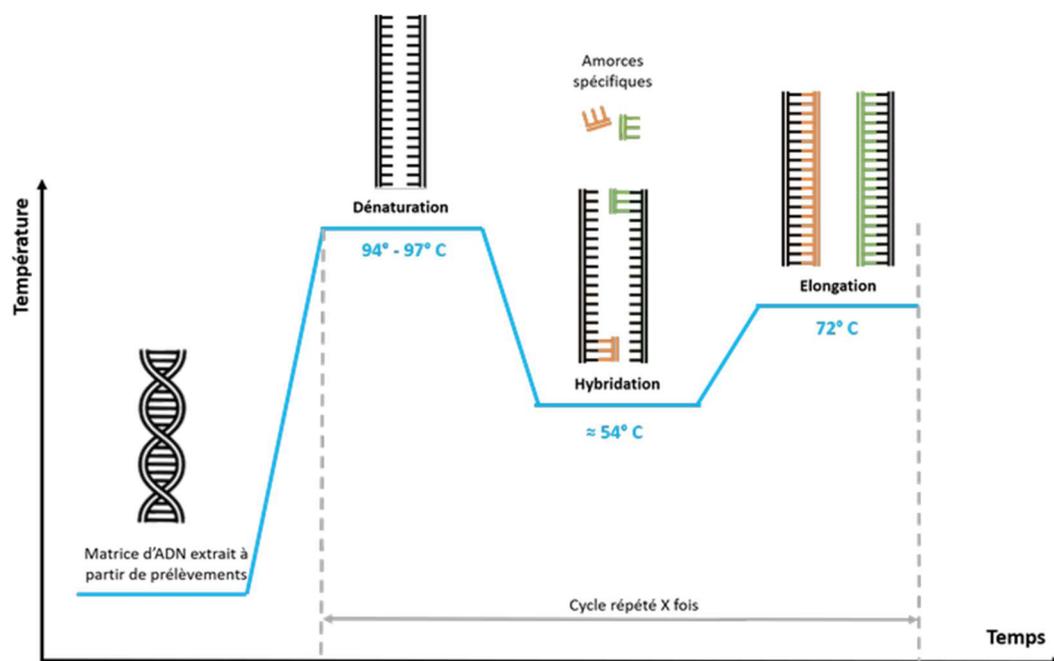


Figure 16 : Différentes étapes d'une PCR (53)

A chaque nouveau cycle, les brins d'ADN synthétisés lors du cycle précédent serviront de support pour la synthèse de nouveaux brins complémentaires.

Cette réaction en chaîne permet d'obtenir de façon rapide une grande quantité d'ADN à partir d'un petit échantillon en multipliant par deux le nombre de fragments d'ADN cibles présents à chaque cycle. On obtient donc une quantité d'ADN multipliée par 2^n , n étant le nombre de cycles réalisés. Par exemple, après une PCR de 25 cycles, la quantité d'ADN présente sera multipliée par 2^{25} , donc par 33.554.432.

Afin d'évaluer la présence ou l'absence d'amplicons synthétisés, une électrophorèse sur gel d'agarose suivie d'une visualisation au bromure d'éthidium peut être réalisée. Le risque d'une PCR est d'amplifier de l'ADN contaminant.

Lors du prélèvement ou lors de la réalisation de la PCR, il est possible que de l'ADN exogène (environnement, matériel ou technicien de laboratoire) se mélange à celui étudié. Il y aura alors l'apparition de pics indésirables au moment de la réalisation de l'empreinte génétique. Ainsi les conditions de travail du personnel de laboratoire sont très strictes (combinaisons intégrales, gants et matériel stérile, etc...).

c) *PCR en temps réel (qPCR) (54)*

La PCR en temps réel est une technique permettant le suivi de la quantité d'ADN amplifiée au cours de la réaction.

Elle est basée sur la détection de molécules fluorescences : l'intensité est proportionnelle au nombre d'amplicons générés durant la PCR. La mesure de la fluorescence à chaque cycle permet généralement l'obtention d'une courbe comprenant 4 phases :

- **Phase d'initiation** : la quantité de signal fluorescent est trop faible pour être visualisée
- **Phase exponentielle** : le seuil de détection de fluorescence est franchi
- **Phase linéaire** : un des réactifs utilisés est en nombre limitant et la quantité d'amplicons néoformée diminue
- **Phase de plateau** : La réaction s'arrête à cause de l'absence complète d'un des réactifs

Cycle seuil (Ct) :

Le cycle seuil (ou threshold cycle) correspond au nombre de cycles nécessaire pour que le signal de fluorescence sorte du bruit de fond et devienne significatif. Ce paramètre apparaît durant la phase exponentielle. Plus la quantité initiale d'ADN est faible, plus le Ct sera tardif et inversement.

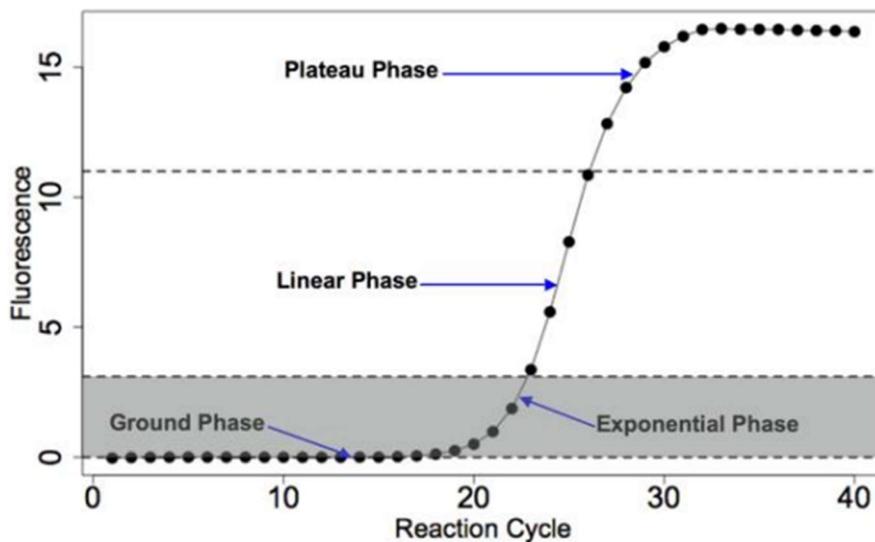


Figure 17 : Courbe d'amplification par PCR en temps réel (55)

Il existe deux grandes techniques permettant la quantification en temps réel du nombre de fragments d'ADN, le SYBR Green et le Taqman (56).

- Le SYBR Green

Le SYBR Green est un agent intercalant se liant aux molécules d'ADN double brin dont la fluorescence augmente lors de la liaison. L'obligation principale du SYBR Green est de ne pas interférer avec la réplication de l'ADN. L'augmentation de la fluorescence se produit lors de la phase d'élongation puis décroît à chaque étape de dénaturation. Ainsi, les mesures sont effectuées à la fin de chaque étape d'élongation.

- Le Taqman

Cette technique nécessite l'utilisation de sondes oligonucléotidiques d'hybridant avec une séquence cible de l'ADN dénaturé. Ces sondes sont constituées d'un fluorochrome émetteur à l'extrémité 5' et d'un fluorochrome suppresseur appelé Quencher à l'extrémité 3'. En l'absence d'hybridation, le Quencher absorbe l'énergie et provoque ainsi l'absence d'émission de fluorescence.

Lors de la phase d'élongation, la Taq polymérase va venir hydrolyser la sonde à son extrémité 5' et libérer ainsi le fluorochrome émetteur. Cette libération provoquera donc l'émission de la fluorescence.

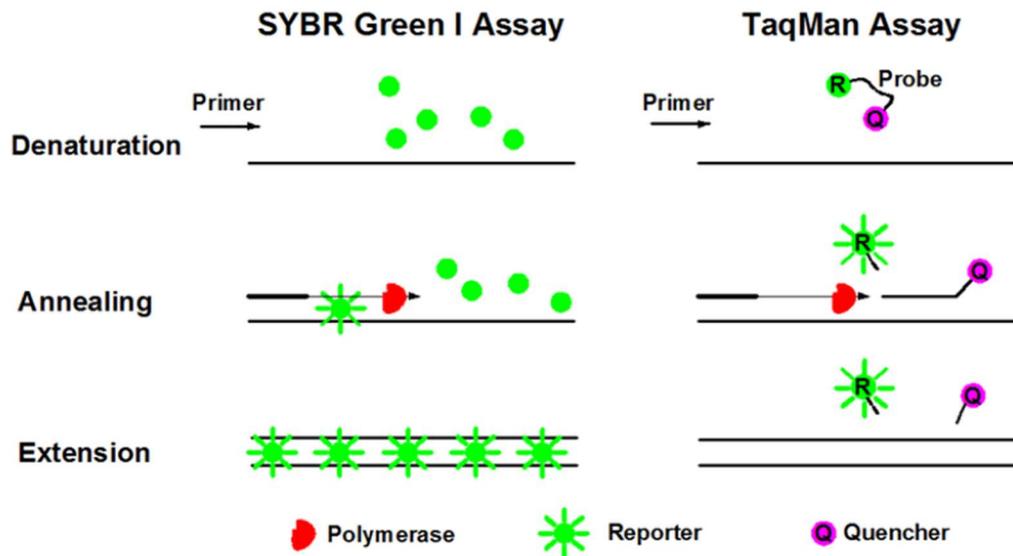


Figure 18 : Schémas d'un SYBR Green et d'un TaqMan (56)

La PCR en temps réel est donc intéressante car elle permet une quantification de l'ADN et d'éviter un traitement post-PCR à l'inverse de la PCR standard.

d) *PCR multiplex (52)*

La PCR multiplex est une technique de PCR permettant l'amplification de plusieurs fragments d'ADN simultanément. Elle nécessite donc la présence dans le milieu réactionnel de plusieurs couples d'amorces spécifiques de chacun des fragments étudiés. La PCR multiplexe permet donc un gain en temps et en coût important.

e) *Avantages et inconvénients*

Le développement de la PCR a marqué un tournant dans la réalisation des empreintes génétiques en médecine légale.

La quantité d'ADN minimale nécessaire pour être étudiée est d'environ 1ng pour une PCR et il n'y a pas de nécessité d'utilisation d'enzymes de restriction ou de sondes.

L'autre avantage est le gain de temps important. En effet une PCR ne dure en moyenne que 2 ou 3 heures selon le nombre de cycles réalisés.

Cependant, elle n'est pas à l'abri des contaminations, et tout ADN exogène peut venir interférer dans la réaction d'amplification et fausser l'analyse.

3. Réalisation des empreintes génétiques de nos jours

Aujourd'hui, la technique la plus couramment utilisée pour la réalisation des empreintes génétiques est celle de la PCR multiplex suivi d'une électrophorèse capillaire (57).

a) *PCR*

Un échantillon d'ADN est tout d'abord prélevé puis purifié si nécessaire.

Une PCR multiplex est ensuite réalisée afin d'amplifier les régions de l'ADN utiles pour la réalisation de l'empreinte génétique.

Ce sont les différentes amorces utilisées qui permettent une amplification de sites précis et non pas une amplification de l'ADN en totalité. Ces régions d'ADN contiennent des STR du génome dont le nombre et la localisation (locus) définis par la loi.

Depuis 2018, le nombre de loci pouvant être analysé compris entre 21 et 26.

La liste est établie par l'article A38 du code de procédure pénale (13).

Ce sont ensuite les laboratoires qui achètent des kits d'analyse auprès de fournisseurs.

A titre d'exemple, l'IGNA étudie 24 marqueurs génétiques.

Aux couples d'amorces sont associés des fluorochromes de différentes couleurs afin de détecter et de différencier plus facilement les amplicons lors de l'électrophorèse capillaire.

SEGMENT D'ADN OU "LOCUS" selon la nomenclature internationale	LOCALISATION		SEGMENT D'ADN OU "LOCUS" selon la nomenclature internationale	LOCALISATION
D3S1358	Chromosome 3			
VWA	Chromosome 12			
D8S1179	Chromosome 8			
D21S11	Chromosome 21			
D18S51	Chromosome 18			
TH01	Chromosome 11			
FGA	Chromosome 4			
D16S539	Chromosome 16			
D5S818	Chromosome 5			
D13S317	Chromosome 13			
D7S820	Chromosome 7			
CSF1PO	Chromosome 5			
TPOX	Chromosome 2			
D1S1656	Chromosome 1			
D2S441	Chromosome 2			
D10S1248	Chromosome 10			
D12S391	Chromosome 12		Penta E Penta D	Chromosome 15 Chromosome 21
D22S1045	Chromosome 22		SE33 (ACTBP2)	Chromosome 6
D2S1338	Chromosome 2		DYS391	Chromosome Y
D19S433	Chromosome 19		YINDEL	Chromosome Y
Amélogénine	Chromosomes X et Y			

Tableau 1 : Liste des loci analysés en France en médecine légale (13)

b) Electrophorèse capillaire (58,59)

À la suite de la PCR, une électrophorèse capillaire est réalisée. Cette technique permet à l'instar d'une électrophorèse sur gel d'agarose ou sur gel de polyacrylamide, de séparer des molécules selon leur charge électrique ou selon leur taille.

La différence majeure avec les autres techniques est qu'elle ne se déroule pas sur un gel à plat mais dans un capillaire très fin de 25 micromètres de diamètre.

A l'intérieur des capillaires se trouvent de la silice, et des électrodes sont placés de chaque côté, une borne négative et une borne positive.

Les fragments d'ADN obtenus par la PCR sont déposés au niveau de l'anode (borne positive). L'ADN étant chargé négativement, ceux-ci auront alors tendance en théorie à rester près de l'anode.

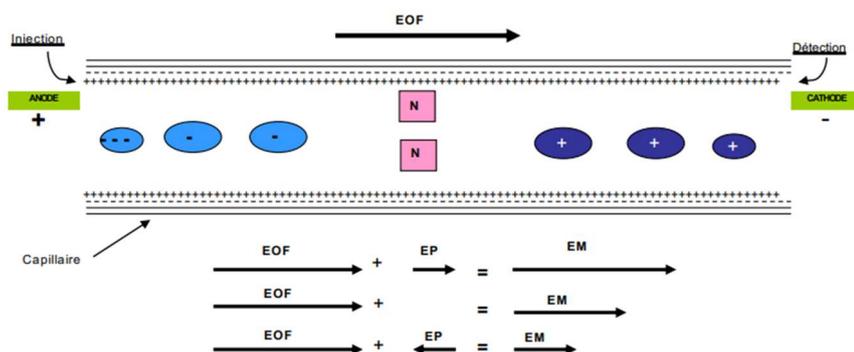
Le courant électrique ainsi que la paroi interne particulière des capillaires vont permettre la formation d'un flux électro-osmotique allant de l'anode (+) vers la cathode (-).

Ce flux étant plus puissant que la migration électrophorétique des fragments d'ADN, ces derniers vont progressivement se diriger vers la cathode.

Possédant une charge électrique égale, ceux-ci migreront plus ou moins rapidement selon leur taille, les plus petits fragments allant plus rapidement que les grands.

Les détections se font automatiquement par une caméra CCD à l'extrémité négative du capillaire, via l'excitation par un laser des fluorophores couplés à l'ADN permettant une quantification du signal émis.

L'utilisation de marqueurs de taille connue permet de déduire la longueur de chacun des fragments.



o **Ecoulement électro-osmotique (EOF) :**

- o Silice (SiO₂) : groupements silanols qui s'ionisent à pH>2 formation groupement O⁻
- o Réaction avec les cations en solution apportés par le tampon
- o Forte ddp ⇒ courant d'électroendosmose

o **Mobilité électrophorétique effective (EP) : dépendant de la charge des protéines**

o **Mobilité apparente (EM) = EOF + EP**

Figure 19 : Principe d'une électrophorèse capillaire (58)

L'ordinateur relié à la machine d'électrophorèse analyse les données obtenues et crée un électrophorégramme sur lequel est écrit le numéro de l'allèle pour chaque marqueur génétique.

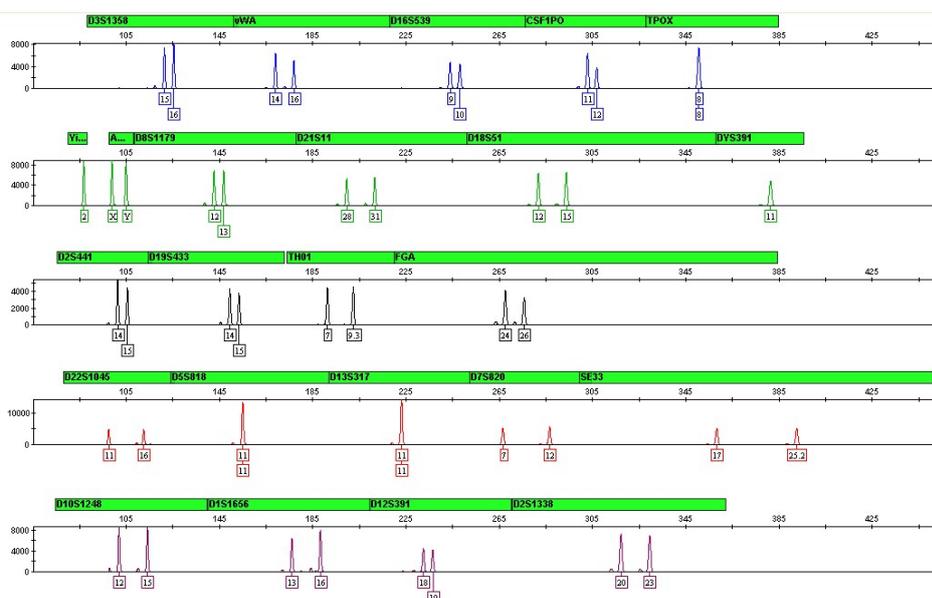


Figure 20 : Exemple d'électrophorégramme (57)

L'électrophorèse capillaire permet une analyse rapide d'un grand nombre d'échantillons simultanément. Cela induit un gain de temps important ainsi qu'un coût réduit. Elle permet également en médecine lors par exemple d'une électrophorèse des protéines urinaires, une analyse quantitative que l'on ne retrouve pas dans les électrophorèses sur gel.

4. Séquençage a) Définition

Le séquençage consiste à déterminer la séquence de nucléotides qui compose un fragment d'ADN. Il existe pour cela différentes méthodes qui ont beaucoup évolué depuis leur invention dans la deuxième moitié des années 70.

Le prix et le temps nécessaire à un séquençage ne cesse de diminuer. En 2003, le « Projet génome humain » a permis pour la première de séquencer intégralement le génome humain. Ce projet fut lancé en 1988 et pris donc 15 ans pour un coût total estimé à 2,7 milliards de dollars, ce prix regroupant le développement technologique, la cartographie du génome humain ainsi que celui d'organismes modèles ainsi que le développement des programmes informatiques et la recherche en bioéthique (60).

Aujourd'hui, le prix pour séquencer entièrement le génome humain est passé sous la barre des 1.000\$.

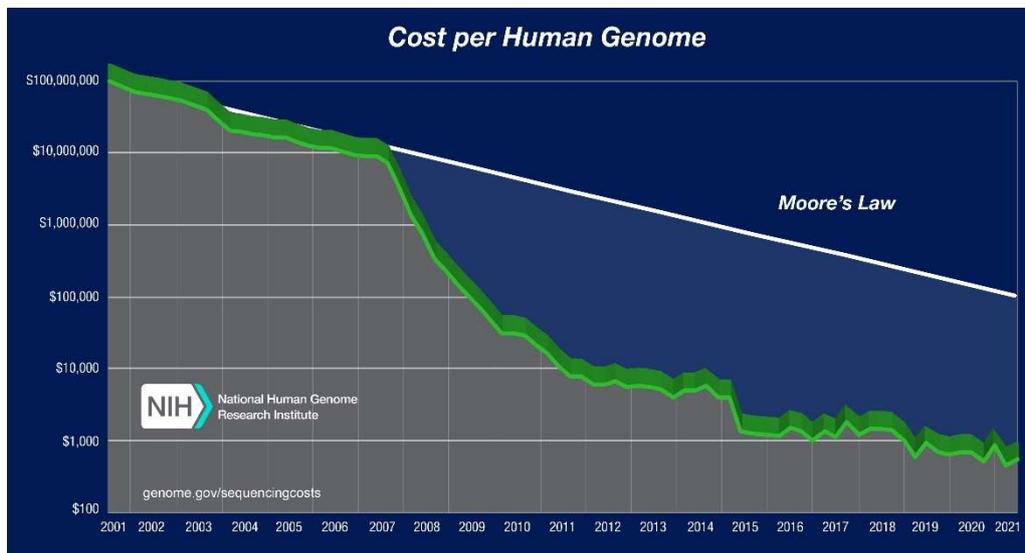


Figure 21 : Evolution du coût d'un séquençage du génome humain complet (60)

b) Intérêt

- **Médecine légale** : Utilisation du séquençage quand l'ADN nucléaire est absent ou en trop petite quantité et que seul l'ADN mitochondrial est exploitable (61).
- **Génétique** : Cela permet le diagnostic et le dépistage prénatal de nombreuses maladies héréditaires (Ex : mucoviscidose) (62).
- **Biologie moléculaire** : Permet la mise en évidence de mutations au sein de protéines responsables de cancer. Par exemple, une mutation du gène BRCA1 ou BRCA2 chez une femme augmente de façon importante le risque qu'elle a de développer un cancer du sein (63).
- **Anthropologie** : Il est possible de retracer les origines d'un individu d'après son ADN (64).

c) Méthode de Maxam et Gilbert (65)

Cette méthode fut inventée par Allan Maxam et Walter Gilbert en 1977. Bien qu'abandonnée aujourd'hui, elle fut considérée à cette époque comme une révolution. Pour cette technique, les fragments d'ADN monobrin ou double brin à étudier sont tout d'abord amplifiés par PCR puis répartis dans 4 tubes distincts. Les brins sont marqués à une de leurs extrémités par un traceur radioactif qui permettra la visualisation ultérieure.

Dans chacun des tubes est introduit un réactif permettant un clivage spécifique au niveau des bases : G, C, [A+G], [C+T].

Pour les réactifs clivant en A+G et C+T, la coupure en G et C étant connue, on pourra en déduire la coupure en A et T.

Les fragments obtenus sont ensuite séparés selon leur taille par électrophorèse dénaturante sur gel de polyacrylamide. Le principe est similaire à l'électrophorèse sur gel d'agarose, mais le pouvoir de résolution est plus précis, à la paire de base près.

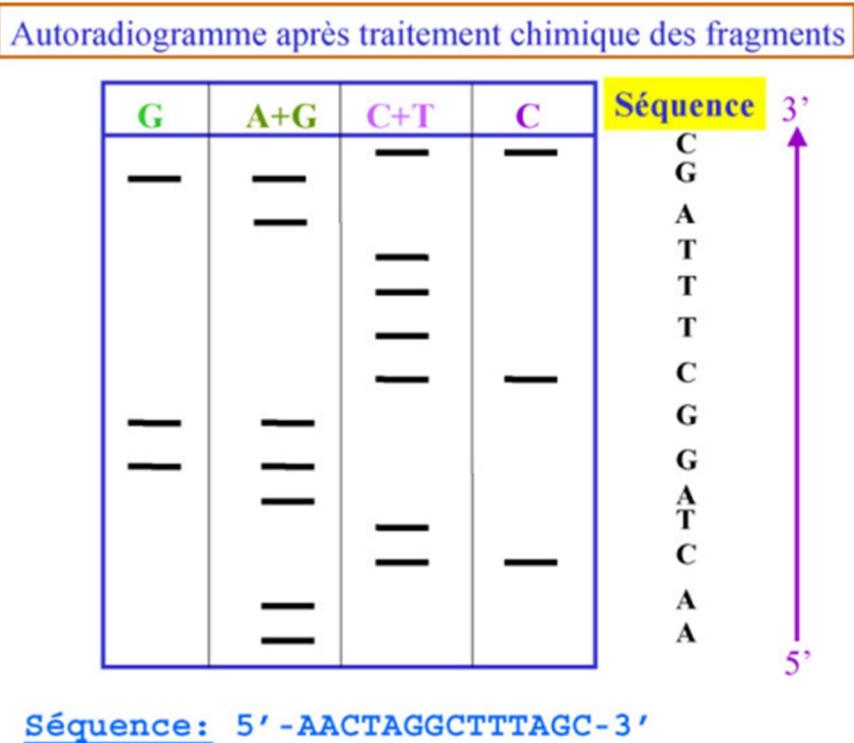


Figure 22 : Résultat d'un séquençage de Maxam et Gilbert (65)

La visualisation se fait ensuite par autoradiographie. La taille des fragments à analyser peut aller jusqu'à 500pb.

Cette technique fut rapidement abandonnée pour la méthode de Sanger.

d) Méthode de Sanger (65)

Elle fut inventée par Frederick Sanger en 1977 indépendamment de celle de Maxam et Gilbert.

Cette méthode nécessite des fragments d'ADN monobrin et deux types de nucléotides :

- Des **dNTP** : nucléotides classiques tels que dATP, dGTP, dCTP, dTTP.
- Des **ddNTP** : ces nucléotides ne possèdent pas l'hydroxyle au niveau du carbone en 3' qui permet normalement d'ajouter un autre nucléotide à la suite. De ce fait lorsqu'ils sont incorporés lors de la synthèse celle-ci s'arrête. De plus, ils sont associés à des marqueurs fluorescents de couleurs différentes pour chaque nucléotides (Ex : vert pour ddATP, rouge pour ddTTP ex...).

Une PCR est tout d'abord réalisée afin d'obtenir un grand nombre d'amplicon. Puis l'ADN obtenu est dénaturé afin d'obtenir de l'ADN simple brin.

On réalise ensuite de nouveaux cycles de PCR en ajoutant cette fois les ddNTP à la solution (en quantité inférieure par rapport au dNTP). Lors de l'élongation la Taq polymérase va synthétiser un nouveau fragment d'ADN et de façon aléatoire elle va parfois incorporer un ddNTP provoquant l'arrêt brutal de la synthèse. La couleur du fluorochrome nous permet de connaître la nature de ce ddNTP et donc la séquence à ce point.

Le hasard va ainsi entraîner la formation d'un très grand nombre de molécules possédant une taille aléatoire se terminant par un ddNTP associé à un fluorochrome donné.

L'ADN ayant été préalablement amplifié, le nombre de copies est extrêmement important. De ce fait statistiquement, chaque nucléotide aura été au moins une fois remplacé lors de l'élongation par un ddNTP et on aura des amplicons avec une taille et une couleur différente.

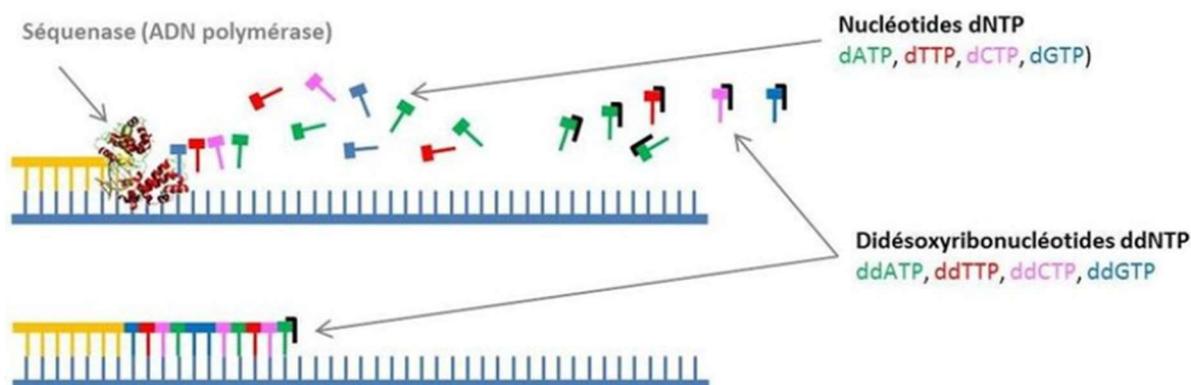


Figure 23 : Principe d'un séquençage de Sanger (66)

L'étape suivante est la réalisation d'une électrophorèse pour séparer les amplicons selon leur taille et mesurer la fluorescence afin d'en déduire la nature du dernier nucléotide. L'image obtenue est appelée un chromatogramme ou électrophorégramme.

Cette méthode étant toujours utilisée dans certains cas aujourd'hui, l'électrophorèse réalisée à la base sur gel de polyacrylamide, a été remplacé par l'électrophorèse capillaire.

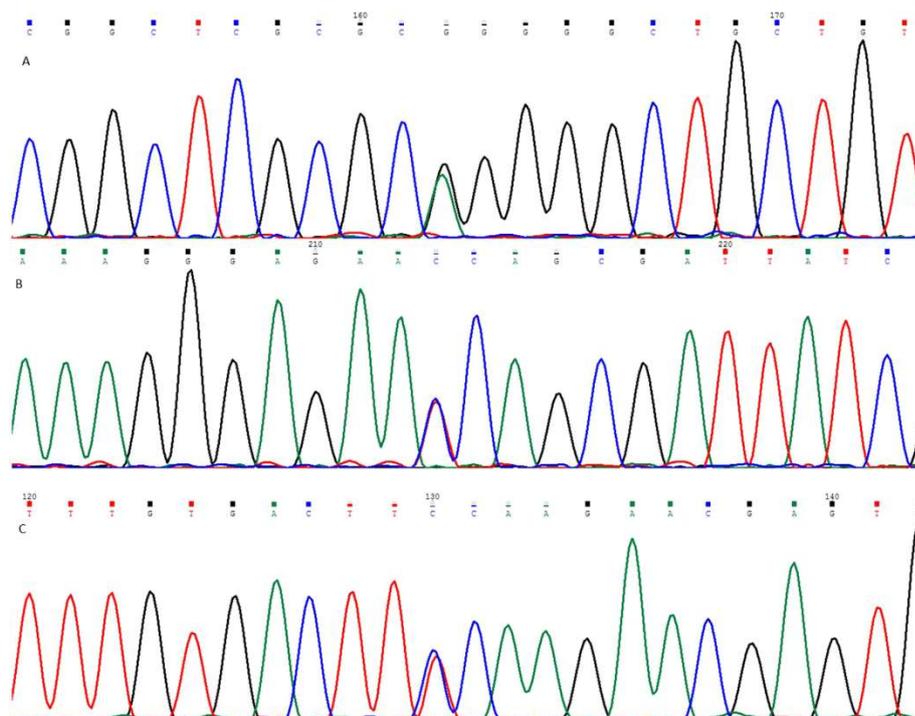


Figure 24 : Chromatogramme obtenu par séquençage de Sanger (67)

Tout comme la méthode de Maxam et Gilbert, le séquençage de Sanger ne permet l'étude que de petits fragments d'ADN, d'une taille maximale de 850pb.

e) *Séquençage à haut débit*

Le séquençage à haut débit (ou NGS : Séquençage de nouvelle génération) est un ensemble de techniques inventées à la fin des années 90 et au début des années 2000.

Remplaçant progressivement la méthode de Sanger, la plus répandue des méthodes de séquençage à haut débit est aujourd'hui celle du séquençage par synthèse. Cette dernière fut créée en 2006 par l'entreprise Solexa et rachetée en 2007 par Illumina (68).

C'est cette technique que l'on développera juste après.

(1) Principe (69)

Le séquençage par synthèse, souvent appelé Séquençage Illumina est capable de déterminer l'ordre des nucléotides du génome humain en entier en moins de 24h.

Lorsque l'ADN cible est isolé, il est fragmenté en de multiples brins d'une longueur comprise entre 100 et 500pb.

A chacune de leurs extrémités est ligaturé un adaptateur (une séquence d'oligonucléotides), puis les fragments sont dénaturés.

Ils sont ensuite liés au support solide de la machine, le flow cell, par le biais de séquences d'oligonucléotides ancrées dans la plaque et complémentaires aux deux adaptateurs précédemment ligaturés.

Une ADN polymérase va permettre de synthétiser la séquence complémentaire du fragment d'ADN. Ce processus se fait simultanément pour tous les fragments associés au flow cell.

Une fois la séquence synthétisée, l'ADN est de nouveau dénaturé et le brin d'origine, non ancré au support, est éliminé.

Le brin nouvellement synthétisé va alors se replier et l'adaptateur situé à la seconde extrémité va se fixer au deuxième type de séquence d'oligonucléotides présent sur la plaque pour former un pont sur le support.

Une ADN polymérase va de nouveau synthétiser le brin complémentaire et l'on obtient ainsi un pont d'ADN double brin.

L'ADN obtenu est une nouvelle fois dénaturé, mais cette fois-ci les deux brins obtenus vont être fixés au support. Ces derniers vont alors reformer un pont et de nouveaux cycles d'amplification vont être réalisés.

On obtient finalement des clusters, c'est-à-dire des regroupements de fragments d'ADN identiques.

Cette méthode d'amplification est appelée Bridge-PCR.

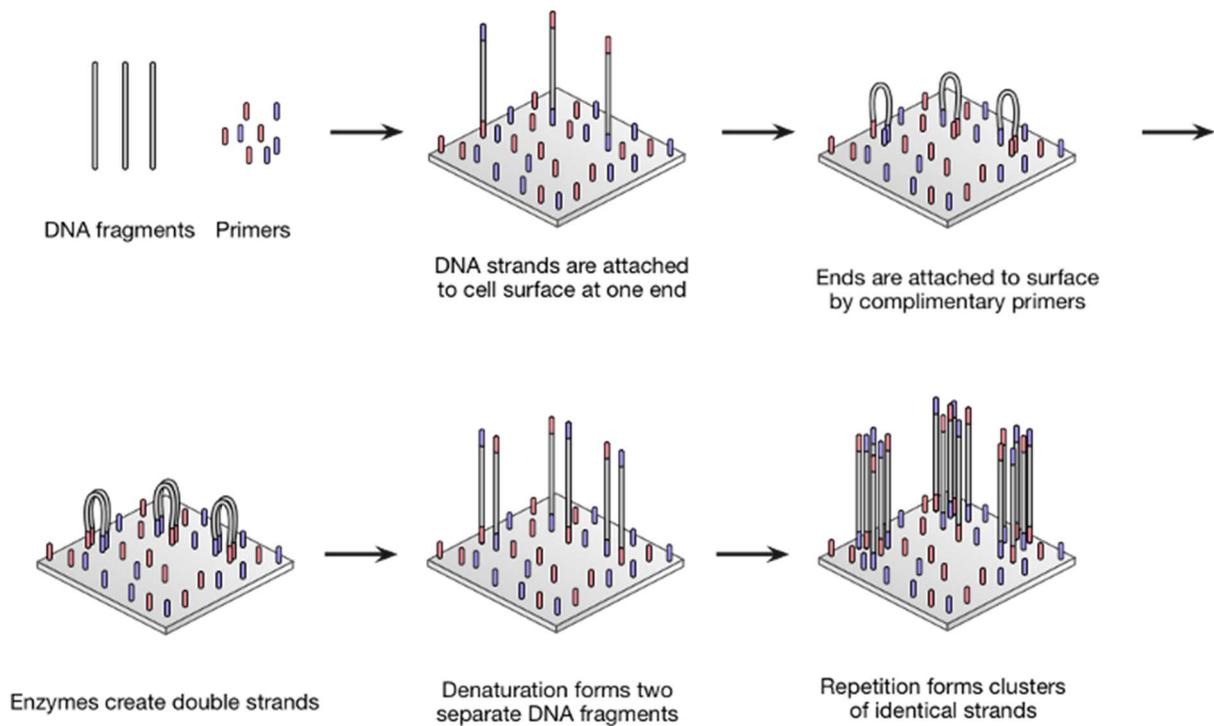


Figure 25 : Etapes d'un Bridge-PCR (70)

Une fois qu'un nombre suffisant de copies a été généré, le séquençage à proprement parler peut commencer.

Une amorce vient se lier à l'adaptateur du fragment d'ADN, puis le séquençage se fait base par base et de façon simultanée pour tous les clusters.

Le principe Illumina utilise pour le séquençage des nucléotides marqués d'un fluorochrome de couleur différente selon leur base et bloquant l'ajout d'autres nucléotides à la suite.

Ces nucléotides sont incorporés au milieu et le séquençage débute par l'extension au niveau de l'amorce. Suite à l'hybridation du premier nucléotide complémentaire, un laser va permettre de scanner le type de base ajouté et de libérer le fluorochrome associé, rendant ainsi possible l'hybridation d'un nouveau nucléotide et un nouveau scan par le laser.

Ce processus est répété autant de fois que nécessaire, jusqu'à ce que l'extension soit terminée.

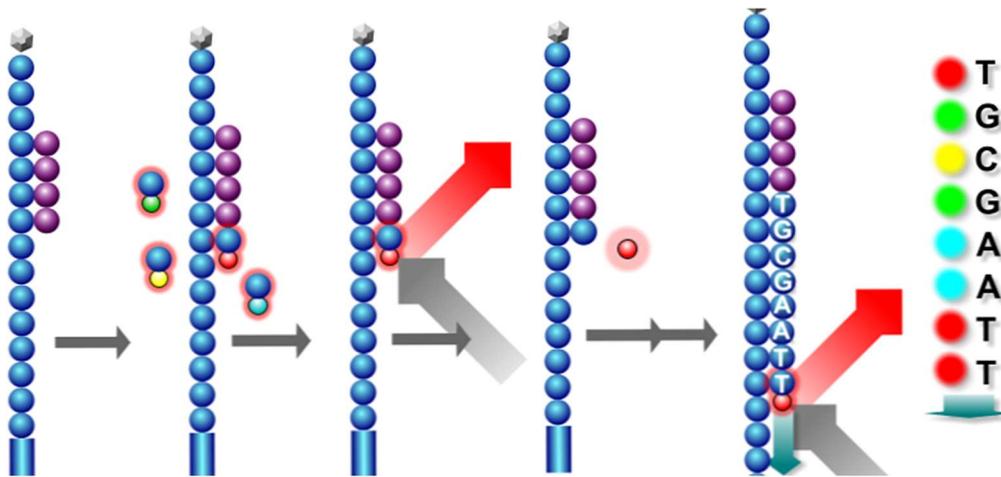


Figure 26 : Détermination de l'ordre nucléotidique (71)

(2) Avantages et inconvénients

Ces nouvelles techniques permettent un séquençage de plusieurs fragments d'ADN simultanément et à une vitesse beaucoup plus importante que pour la méthode de Sanger. Bien que le coût de ces machines soit important (plusieurs centaines de milliers d'euros), elles ont permis une forte baisse des prix des séquençages (moins de 1.000€ pour un génome entier).

Ces techniques possèdent de plus une fiabilité très importante.

Elles nécessitent cependant un espace de stockage de données important car la quantité de données d'un séquençage est très importante, de l'ordre du téraoctet.

5. Cas particulier a) *Mélanges d'ADN*

Les mélanges d'ADN représentent un défi important lors des enquêtes de police et sont loin d'être des cas exceptionnels.

Il existe plusieurs situations possibles en fonction du nombre de profils retrouvés dans un prélèvement ainsi que de leur proportion (25).

Le premier cas est celui où l'on retrouve dans une trace un ADN majoritaire et un ADN minoritaire. C'est-à-dire que lors de la réalisation de l'empreinte génétique, l'un des ADN induira une fluorescence significativement plus importante que l'autre. Isoler le profil génétique majoritaire sera donc plus aisé qu'en cas de proportion similaire des ADN des deux (ou plus) individus.

Le profil minoritaire, en cas de fluorescence très faible, peut même parfois être confondu avec le bruit de fond de la machine et ainsi passer inaperçu.

Dans un cas où l'on retrouverait deux ADN différents dans une trace en proportion similaire (c'est-à-dire que la quantité d'ADN minoritaire est supérieure à 25% de l'ADN majoritaire), il existera alors deux cas de figure, l'un des deux profils est connu, ou bien les deux profils sont inconnus.

Une situation fréquemment rencontrée est le mélange de l'ADN d'une victime et de son agresseur. Dans ce genre de situation, le profil génétique de la victime est recueilli dans la mesure du possible par les enquêteurs, il est ainsi possible d'en déduire celui de l'agresseur.

Cependant, dans un cas où les deux ADN retrouvés dans une trace sont en proportion équivalente et inconnus des fichiers, il faudra déterminer si l'ADN du suspect fait partie du mélange.

Si le profil génétique d'un suspect est réalisé, en cas d'absence de ses allèles dans le profil génétique réalisé à partir de la trace recueillie, sa présence dans le mélange pourra alors être exclue.

A l'inverse, si les allèles du suspect concordent avec ceux du profil réalisé, l'expert aura alors pour mission de déterminer de façon probabiliste si l'ADN du suspect est effectivement présent dans le mélange ou bien si il s'agit en fait de l'ADN d'un autre individu. Ceci passe par des calculs statistiques réalisés en fonction de différents critères (profil génétique partiel ou complet, nombre d'individus dont l'ADN est présent dans le mélange, etc...) (72).

b) Jumeaux monozygotes

La justice peut parfois se retrouver face à un cas particulier, les jumeaux monozygotes (ou vrais jumeaux).

Deux jumeaux monozygotes possèdent le même patrimoine génétique, ainsi lors d'une analyse ADN, leurs empreintes génétiques sont identiques. Cela peut poser problème aux enquêteurs lorsqu'une trace ADN est la seule preuve dont ils disposent.

Entre septembre 2012 et février 2013 se produit dans la région de Marseille une série de viols.

Les policiers retrouvent sur les lieux l'ADN d'un individu correspondant à celui de deux jumeaux monozygotes, Elvin et Yoan G., sans pour autant être capable de déterminer auquel des deux celui-ci appartient.

Face au manque de preuves, les deux frères sont placés en détention provisoire pendant 10 mois, jusqu'à ce que de nouvelles preuves et témoignages apparaissent, qu'Elvin soit relâché et que Yoan avoue les faits (73).

Face à ce genre de situation, il est toutefois possible de distinguer les deux individus par leurs empreintes digitales quand cela est possible. Ces dernières ne sont pas l'unique fruit de l'expression de gènes mais également celui de facteurs environnementaux lors de la vie intra-utérine, notamment des mouvements de la membrane basale embryonnaire entre la 10^{ème} et la 16^{ème} semaine de grossesse (74). Donc, bien que possédant de nombreuses similitudes, les empreintes digitales de deux jumeaux monozygotes seront différentes.

Au niveau purement génétique, des différences de méthylation au niveau des gènes Alu-E2F3 et Alu-SP ont pu être mis en évidence chez des jumeaux dans une étude de Leander et coll. en 2013 (75).

La méthylation est une modification chimique de l'ADN variant avec l'âge et les facteurs environnementaux.

Ainsi, selon leurs expositions et leurs habitudes de vie, des jumeaux peuvent avoir des niveaux de méthylation différents, ce qui pourrait permettre de les distinguer lors d'une analyse ADN.

Cependant, il existe certaines limites ; si les jumeaux monozygotes sont jeunes et possèdent des habitudes de vie similaires, la différence de méthylation peut ne pas être significative. De plus, ce type d'analyse est longue et coûteuse et l'étude réalisée ne porte que sur 5 couples de jumeaux monozygotes.

IV. L'ADN dans le cadre juridique

A. Applications des tests ADN

En France la réalisation d'une empreinte génétique est soumise à une réglementation stricte et les indications sont fixées par l'article 16-11 du code civil (76), soit :

- Lors d'une enquête ou d'une information judiciaire
- Pour la recherche scientifique ou une utilisation médicale
- Afin de découvrir l'identité d'une personne décédée inconnue
- Dans certaines conditions liées aux opérations militaires (selon l'article L2381-1 du Code de la Défense)

Ainsi l'utilisation de tests ADN commercialisés sur internet afin d'obtenir des informations sur sa propre personne ou sur ses origines est strictement interdite et toute utilisation est passible d'une amende de 3.750€ (77).

1. Test de paternité

Un test de paternité est une comparaison du matériel génétique de deux personnes afin d'en déduire la présence ou non d'un lien de parenté entre les deux.

En France, un test de paternité est possible uniquement lors d'une procédure judiciaire, et donc à la demande d'un juge, sous réserve du consentement de la personne. En cas de réalisation de ce test en dehors des procédures légales, la peine est d'un an de prison et d'une amende de 15.000€ (78).

La méthode d'analyse ADN lors d'un test de paternité varie en fonction des laboratoires.

Certains laboratoires se basent sur l'étude des SNP.

La moitié des chromosomes d'un enfant est issue de son père tandis que l'autre moitié provient de sa mère.

L'analyse se déroule donc en comparant les SNP de l'enfant avec ceux du père ou de la mère. En cas de parenté, la moitié des SNP de l'enfant sera identique avec ceux du parent.

La deuxième méthode utilisée par les laboratoires est celle des STR que nous avons détaillée précédemment.

L'analyse se fait par comparaison des empreintes génétiques de l'enfant et du parent. Ayant hérité de la moitié du patrimoine génétique de chacun de ses parents, pour que le test soit positif, l'enfant doit présenter pour chaque marqueur génétique étudié au moins un allèle identique à ceux de son père et de sa mère.

Cette méthode se basant sur les STR est la plus utilisée par les laboratoires, à l'exception des laboratoires privés vendant leurs services sur internet qui eux se basent sur les SNP.

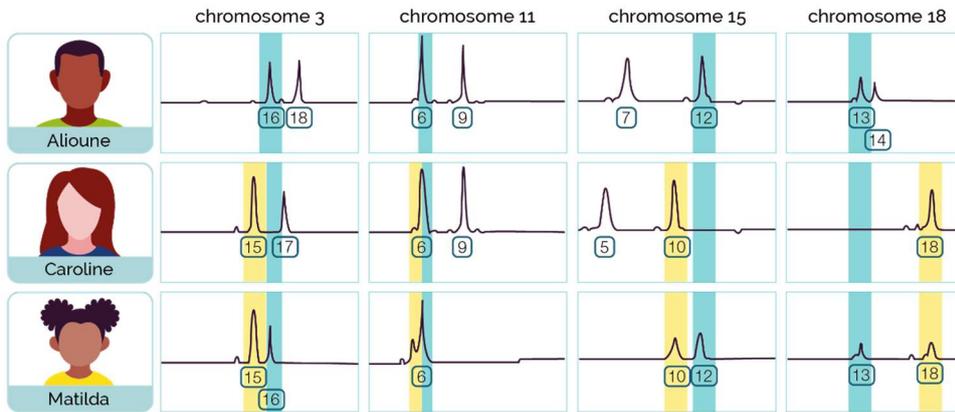


Figure 27 : Exemple de test de paternité (79)

2. Identification de traces sur scènes de crimes ou de délits

Il est de plus en plus fréquent pour des enquêteurs d'effectuer des prélèvements ADN sur des scènes de crimes ou de délits.

Lorsqu'un profil génétique est recueilli, il est alors comparé avec celui d'éventuels suspects de l'enquête mais également à ceux contenus dans la base de données du FNAEG (Fichier National Automatisé des Empreintes Génétiques).

La comparaison repose sur les différents marqueurs STR de l'individu et celle-ci permet l'obtention d'une probabilité de concordance établie par des calculs statistiques.

Cette probabilité de concordance s'oppose au risque de coïncidence fortuite qu'un autre individu possède le même profil génétique. Ce risque dépend du nombre de marqueurs ayant pu être analysés car en présence d'ADN dégradé, seule une empreinte partielle peut parfois être isolée. Une empreinte partielle augmente ainsi les probabilités d'une concordance avec une autre personne bien qu'une étude statistique ait calculé que la probabilité de posséder le même profil génétique sur une analyse de 10 loci est inférieure à une sur plusieurs milliards (80).

Au sein d'une population certains allèles apparaissent comme étant plus fréquents que d'autres. Ainsi des allèles avec une fréquence d'apparition plus faible tendent à diminuer le risque de coïncidence fortuite.

3. Identifications de corps

L'ADN peut parfois être le dernier recours afin d'identifier une personne décédée. Cela peut se produire dans plusieurs types de situations : découverte d'un cadavre en état de putréfaction avancée, catastrophe de masse, terrorisme etc...

En effet lorsqu'un cadavre n'est pas reconnaissable visuellement, l'identification repose alors sur l'étude de son dossier médical (schéma dentaire, prothèse etc...), ses empreintes digitales ou son ADN, et leur comparaison à un individu disparu.

Lorsqu'une analyse ADN est réalisée afin de déterminer l'identité d'un corps, l'échantillon servant de référence peut être de différentes natures (81).

L'idéal est d'utiliser un échantillon provenant directement de la personne décédée (brosse à dent ou rasoir par exemple), auquel cas la correspondance des deux ADN sera de 100%.

Si cela est impossible, un échantillon provenant d'un membre de la famille sera utilisé, la correspondance ne sera alors pas totale et dépendra du lien de parenté qui les unit.

Dans de rares cas, quand une comparaison avec un échantillon ante-mortem de la personne ou avec celui d'un membre de la famille n'est pas possible, une correspondance de l'ADN de la victime pourra être recherchée dans le FNAEG (ou autre banque d'empreinte génétique en fonction de la nationalité de la victime présumée). Ce dernier cas nécessite cependant une inscription préalable de la personne.

Rangs	Echantillons de référence	Utilisation réelle	Limites
1	Profil de la personne disponible dans la banque nationale de profils ADN	3%	La personne doit être suspectée d'avoir commis ou doit avoir commis un délit d'une certaine gravité
2	Matériel biologique prélevé sur la personne de son vivant (biopsie, sang pour alcoolémie, etc.)	4%	Ces référentiels sont peu accessibles. L'identité n'est pas toujours dûment vérifiée au moment du prélèvement
3	Lien maternel (mère ou enfant), dont 15 cas sur les 62 concernés pour lesquels un échantillon du père était également disponible	51%	Une fausse exclusion est possible si le parent civil, en particulier le père, n'est pas le parent biologique. Plus le lien de parenté est éloigné, moins la résolution des tests ADN est bonne. Attention, au cas où plusieurs disparus ont un même lien familial avec une personne de référence
4	Lien paternel (père ou enfant)	18%	
5	Parents plus éloignés (principalement sœurs/frères)	17%	
6	Objets personnels supposés avoir appartenu au défunt (brosse à dents, rasoir, etc.)	7%	Provenance incertaine de l'ADN déposé sur l'objet

Tableau 2 : Echantillons utilisés pour l'identification et leurs limites (81)

4. Etablissement d'un portrait-robot génétique

Le principe d'un portrait-robot génétique est d'estimer le visage d'une personne par le biais de son ADN. Cette méthode étant récente et encore en cours de développement, elle aurait pour but, lorsqu'une comparaison ADN avec les dossiers du FNAEG ne donne rien, de fournir une description objective du visage d'un délinquant comparé à une description subjective donnée par des témoins oculaires. Ces nouveaux portraits-robots auraient également la possibilité d'estimer le visage de cadavres retrouvés à l'état squelettique.

La méthode utilisée pour la réalisation d'un portrait-robot génétique est le séquençage de régions codantes de l'ADN. Ce sont des SNP localisés sur certains gènes qui déterminent certains phénotypes.

Aujourd'hui, il est facilement possible via cette méthode de déterminer certaines caractéristiques physiques d'un visage telles que :

- La couleur des yeux
- La couleur des cheveux
- La couleur de peau
- L'ascendance génétique

Le sexe de l'individu est quant à lui déterminé facilement par l'étude des STR des chromosomes gonosomiques.

D'autres études d'associations pangénomiques (GWAS), qui sont des études mettant en évidence des liens entre SNP et phénotypes, ont permis d'identifier 38 loci contenant 1.932 SNP pouvant avoir une influence sur la morphologie faciale (82).

Bien qu'influencée par d'autres facteurs tels que le sexe, l'âge, le poids et la taille, la morphologie faciale d'une personne pourrait donc un jour être estimée informatiquement à des fins d'utilisation en médecine légale, orthodontie, chirurgie maxillo-faciale ou pour le diagnostic prénatal de malformation.

Au niveau juridique, la légalité concernant la réalisation d'un portrait-robot génétique est relativement floue. L'article 16-10 du code civil indique que « l'examen des caractéristiques génétiques constitutionnelles d'une personne ne peut être entrepris qu'à des fins médicales ou de recherche scientifique » et avec le recueil préalable du consentement de la personne (83).

Or, le 25 juin 2014, un arrêt de la Cour de cassation a autorisé dans une affaire de viols l'utilisation de l'ADN d'un individu afin d'en connaître ses caractéristiques morphologiques apparentes.

Le juge d'instruction avait estimé dans cette affaire que seul l'aspect extérieur du suspect avait été recherché afin d'en faciliter son identification (84).

Aucun texte de loi ne règlemente donc concrètement la réalisation d'un portrait-robot génétique pour le moment. Ceci sera peut-être amené à changer dans les années à suivre compte tenu des évolutions en matière de réalisation de portrait-robot.

5. Estimation de l'âge

L'ADN peut occasionnellement être utilisé afin d'estimer l'âge d'un individu. Le diagnostic de l'âge peut se révéler important dans des affaires civiles ou pénales impliquant des personnes mineures ou des adultes sans papiers d'identité ainsi que dans des domaines différents tels que l'archéologie ou l'anthropologie.

L'étude du matériel génétique ne représente pas l'outil le plus fréquemment utilisé afin d'estimer l'âge d'un individu.

Les méthodes se basent le plus souvent sur l'étude des modifications physiologiques du corps humain avec l'âge, en particulier des os et des dents (85). Avant 20 ans, la détermination de l'âge est relativement fiable et davantage précise qu'à l'âge adulte compte tenu de l'évolution rapide de la denture. Les facteurs environnementaux exerçant une forte influence sur leur développement, estimer l'âge d'une personne avec précision devient de plus en plus difficile au fur et à mesure que la personne vieillit.

Afin de limiter ces imprécisions, de nouvelles techniques basées sur la biologie moléculaire ont peu à peu été développées. De nombreuses études ont tenté d'estimer avec le plus de précision possible l'âge d'individus en se basant sur leur ADN.

Les analyses de la méthylation de l'ADN ainsi que de la longueur des télomères sont les plus fréquemment retrouvées dans la littérature.

a) *Longueur des télomères*

Les télomères sont des nucléoprotéines situées aux extrémités des chromosomes afin d'en assurer la protection. Ils sont constitués de séquences répétées en tandem d'une longueur comprise entre 5kpb et 15kpb.

Lors de chaque réplication cellulaire, la longueur du télomère diminue légèrement en taille car l'ADN polymérase réalisant sa synthèse n'est pas capable de le synthétiser entièrement.

La taille des télomères est donc en constante diminution avec l'âge. Selon le type de cellule et selon la fréquence de leurs mitoses, la longueur des télomères sera ainsi différente.

Différents facteurs environnementaux ont également un impact sur ces derniers tels que le stress oxydatif et l'inflammation qui provoquent un raccourcissement accéléré (86).

De courts télomères seraient associés à un risque accru de développer des cancers ainsi que certaines maladies cardio-vasculaires. Leur longueur est généralement mesurée avec la méthode de Cawthon utilisant une PCR quantitative.

Une étude comparative a ainsi pu mettre en évidence que cette technique permettait une estimation de l'âge avec une précision allant jusqu'à +/- 7 ans (87).

b) Méthylation de l'ADN

Tout au long de la vie, l'ADN subit différentes modifications épigénétiques, dont la méthylation qui est l'ajout de groupements méthyles au niveau de bases azotées.

Elle permet une régulation de l'expression des gènes et possède donc un rôle important dans le développement embryonnaire ainsi que dans l'inactivation du chromosome X chez la femme (88).

Cette modification porte principalement sur les bases cytosines et adénines selon les espèces et est utilisée depuis peu comme outil permettant une estimation de l'âge.

Chez l'homme, la méthylation a principalement lieu au niveau des îlots CpG. Les îlots CpG qui sont des régions de l'ADN situées généralement au niveau de promoteurs de gènes contenant une proportion importante de dinucléotide CG (>55%).

Des études ont montré que lorsque l'âge augmente, certaines régions deviennent hyperméthylées et d'autres hypométhylées. Ainsi les chercheurs utilisent le séquençage de régions précises et connues de l'ADN (le plus souvent au niveau du gène ELOVL2) afin d'en déterminer le degré de méthylation. L'estimation de l'âge de la personne est alors rendue possible par calcul statistique (89).

Certaines de ces études ont permis une estimation de l'âge avec une marge d'erreur moyenne d'environ 4 ans.

6. Détermination de l'origine

De nombreuses entreprises proposent sur internet leurs services afin de pouvoir connaître, via un échantillon d'ADN, ses origines ethniques pour moins d'une centaine d'euros. Bien qu'interdit en France selon l'article 16-10 du code civil, de nombreuses personnes y ont recours car ces entreprises sont localisées à l'étranger.

Ces dernières utilisent pour cela des centaines de SNP contenus dans l'ADN. Après avoir déterminés les SNP de la personne par séquençage, ceux-ci sont comparés à une liste d'individus contenue dans une base de données de référence.

Lorsque la correspondance dépasse un certain seuil avec des ADN de référence, l'entreprise estime donc un certain pourcentage d'affiliation et donc une part d'origine ethnique commune avec celle de l'ADN de référence (90).

Cependant ces tests restent imprécis et dépendent en grande partie des profils contenus dans les bases de données sans tenir compte de l'importance des migrations de l'espèce humaine et ne délivrent donc que des valeurs statistiques avec une marge d'erreur que les entreprises ne communiquent pas forcément.

De plus ces tests soulèvent certaines questions éthiques concernant l'utilisation des données par ces entreprises. Par exemple l'une d'entre elles, 23andme, a été accusée en 2018 d'avoir vendu l'intégralité des données de ses clients à un laboratoire pharmaceutique pour 300 millions de dollars (91).

B. FNAEG

1. Affaire Guy George et création du FNAEG

Guy Georges est un tueur en série français, il commit 7 meurtres de jeunes femmes entre 1991 et 1997 et en a agressé une quinzaine d'autre. Confondu grâce à son ADN, c'est cette affaire qui permet en partie la création du fichier national automatisé des empreintes génétiques (FNAEG) en 1998.

Guy Georges débute sa série de meurtre en 1991 mais la police ne trouvant ni empreinte ni ADN l'enquête n'aboutit pas. Puis Guy George continue ses meurtres et ce n'est qu'en décembre 1994, après son 4^{ème} homicide, que la police réussie à isoler une trace ADN à partir du sperme recueilli sur la victime.

Il n'existe cependant pas de fichier à cette époque qui permettrait de comparer l'ADN, la loi l'interdisant au nom des libertés individuelles.

De plus, les enquêteurs ne font pas de liens entre les différents meurtres malgré un mode opératoire identique.

En 1997, après son 7^{ème} et dernier meurtre, la police commence à faire le rapprochement entre les différentes affaires.

Le juge d'instruction Gilbert Thiel décide alors le 24 novembre 1997 de demander aux laboratoires privés de France ainsi qu'à ceux de la police scientifique d'analyser l'ADN retrouvé sur les différentes scènes de crimes afin de trouver une correspondance.

Il reçut un appel d'un laboratoire privé de Nantes le 23 mars 1998 lui annonçant l'identité du tueur. Guy George avait en effet été soumis à un prélèvement d'ADN à la suite d'une agression qu'il avait commis en 1995.

Guy George fut arrêté trois jours plus tard puis fut condamné à la prison à perpétuité avec une peine de sûreté de 22 ans.

A la suite à cette affaire, la ministre de la Justice Elisabeth Guigou décida de faire voter la création du FNAEG dans le but de répertorier les empreintes génétiques des délinquants sexuels. Le FNAEG est officiellement créé le 17 juin 1998 (92).

2. Contenu

A la base créé pour lutter contre les crimes sexuels, le champ d'activité du FNAEG a progressivement été élargi.

Aujourd'hui le FNAEG contient les empreintes génétiques d'individus suspectés ou reconnus coupable de crimes ou délits graves mais également de cadavres non identifiés et de personnes disparues ainsi que leurs ascendants et descendants (93).

Le FNAEG enregistre également les empreintes génétiques établies à partir des traces retrouvées sur des scènes de crimes.

Les empreintes génétiques contenues dans le FNAEG portent uniquement sur l'analyse des microsatellites STR et non pas des SNP.

La liste des infractions entraînant pour la personne soupçonnée d'en être l'auteur une inscription dans le FNAEG est fixée par l'article 706-55 du code de procédure pénale (94) :

- Les infractions de nature sexuelle
- Les crimes contre l'humanité et les crimes et délits d'atteintes volontaires à la vie de la personne, de torture et actes de barbarie, de violences volontaires, de menaces d'atteintes aux personnes, de trafic de stupéfiants, d'atteintes aux libertés de la personne, de traite des êtres humains, de proxénétisme, d'exploitation de la mendicité et de mise en péril des mineurs
- Les crimes et délits de vols, d'extorsions, d'escroqueries, de destructions, de dégradations, de détériorations et de menaces d'atteintes aux biens
- Les atteintes aux intérêts fondamentaux de la Nation, les actes de terrorisme, la fausse monnaie, l'association de malfaiteurs et les crimes et délits de guerre
- Certaines infractions relatives à la sécurité intérieure telles que la fabrication ou le trafic d'armes
- Certaines infractions de recel ou de blanchiment

Lorsqu'une personne est fichée dans le FNAEG les informations suivantes sont enregistrées (95) :

- Son empreinte génétique
- Son nom, prénom, sexe, date et lieu de naissance et lien de filiation
- Le service ayant demandé l'enregistrement ainsi que la date et le lieu de création de la fiche
- Nature de l'affaire et référence

Le refus de se soumettre à un prélèvement ordonné par un officier de police judiciaire est interdit et passible d'un an d'emprisonnement et de 15.000€ d'amende (96).

La seule exception est pour les membres de la famille d'une personne disparue qui doivent donner leur accord par écrit.

Fin 2021, plus de 6 millions de personnes et traces sont fichées dans le FNAEG, soit environ 8% de la population.

3. L'accès au FNAEG

Les profils enregistrés dans le FNAEG ne sont pas ouverts au grand public.

L'accès est réservé aux membres habilités de la police judiciaire et scientifique, au magistrat en charge du contrôle du FNAEG, au personnel réalisant les prélèvements ou du service des préservations des prélèvements biologiques ainsi qu'à certains agents de police ou de justice de pays étrangers (97).

Toute personne peut cependant réaliser une demande auprès du service central de police technique et scientifique afin de savoir si elle est fichée.

4. Conservation des données

Selon la raison ayant entraîné un enregistrement d'une personne au FNAEG, la durée de conservation au sein de celui-ci varie.

Durée de conservation des empreintes génétiques au Fnaeg		
Personnes concernées	Durée maximale de conservation	Durée maximale de conservation
	personne majeure	Personne mineure
Personne définitivement déclarée coupable ou ayant fait l'objet d'une décision d'irresponsabilité pénale	De 25 à 40 ans selon la gravité des faits	De 15 à 25 ans selon la gravité des faits
Personne mise en cause pour certaines <i>infractions</i> Exemples : infraction de nature sexuelle, meurtre, vol, extorsion, escroquerie aggravée, destruction, <i>acte de terrorisme</i> .	De 15 à 25 ans, selon la gravité des faits	De 10 à 15 ans, selon la gravité des faits
Personne inconnue	De 25 à 40 ans	
Personne décédée non identifiée	Jusqu'à l'identification de la personne décédée ou pendant 40 ans	
Personne disparue	Jusqu'à la découverte de la personne disparue ou pendant 40 ans	
<i>Ascendant, descendant ou collatéral</i> d'une personne disparue ou d'une victime de catastrophe naturelle	Jusqu'à la découverte de la personne disparue ou pendant 40 ans	

Tableau 3 : Durée de conservation des profils dans le FNAEG (97)

Un effacement des données est toutefois possible dans certaines conditions :

- Lorsque l'individu a été acquitté ou relaxé
- Pour la famille d'une personne disparue
- Pour un condamné demandant une suppression anticipée de son dossier

Les demandes se font par écrit auprès du Procureur de la République.

C. La preuve ADN lors d'un procès

1. Fiabilité des tests ADN

La fiabilité des tests ADN varie grandement d'un cas à l'autre. Les calculs statistiques ont pour but d'estimer un « random match probability » (RMP), c'est-à-dire la probabilité que son empreinte génétique soit identique à celle d'un individu pris au hasard dans une population.

Ces calculs statistiques dépendent tout d'abord du nombre de marqueurs génétiques analysés.

Pour le cas des microsatellites, en France, les kits vendus par les laboratoires permettent une étude d'un nombre de STR compris entre 21 et 26. Pour les SNP le nombre de marqueurs étudiés est plus important que pour les STR car ils ont un pouvoir discriminant plus faible (multi-allélique pour les STR, bi-allélique pour les SNP).

Pour rappel, le FNAEG ne contient que les allèles des STR et non pas les SNP, ce qui fait que ces derniers sont moins fréquemment utilisés par les laboratoires.

Le nombre de marqueurs étudiés dépend également de la qualité du prélèvement ou de la trace ADN retrouvée. En cas de profil partiel, la valeur de la force probante peut fortement baissée.

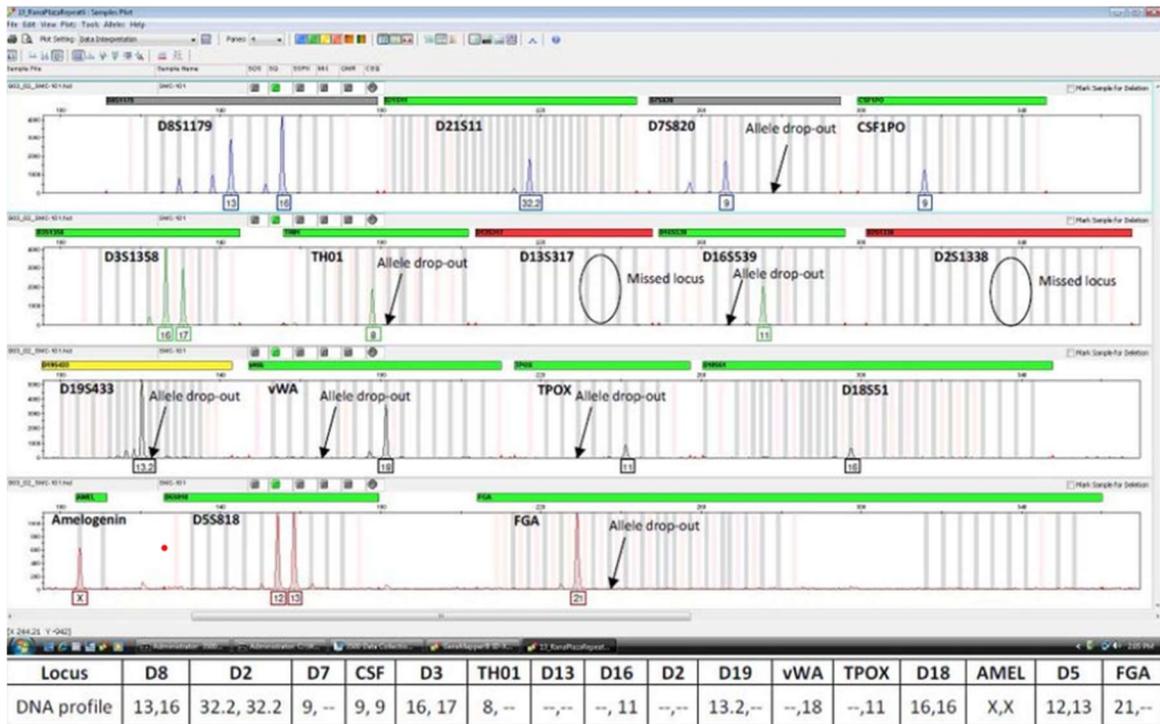


Figure 28 : Exemple d'empreinte génétique partielle (98)

Le deuxième facteur influençant le calcul du RMP est la fréquence d'apparition des allèles dans la population générale ou dans une population ethnique ou régionale.

La fréquence des allèles peut varier fortement selon les régions ou groupes ethniques et chacun d'entre eux sera plus ou moins représentés. Ainsi, un allèle rare chez un individu aura une force probante plus importante et diminuera donc le RMP.

No.	NCBI dbSNP ID	Chr.	Nucleotide Position	Amplicon Size (bp)	SNP Allele	African-American	Asian	European
1	rs1490413	1	4,037,521	68	A/G	0.59/0.41	0.46/0.54	0.47/0.53
2	rs876724	2	104,974	83	C/T	0.72/0.28	0.46/0.54	0.69/0.31
3	rs1357617	3	936,782	90	A/T	0.85/0.15	0.80/0.20	0.65/0.35
4	rs2046361	4	10,719,942	79	A/T	0.65/0.35	0.70/0.30	0.80/0.20
5	rs717302	5	2,932,133	86	A/G	0.92/0.08	0.83/0.17	0.45/0.55
6	rs1029047	6	1,080,939	100	A/T	0.61/0.39	0.27/0.73	0.37/0.63
7	rs917118	7	4,201,341	87	C/T	0.10/0.90	0.50/0.50	0.50/0.51
8	rs763869	8	1,363,017	100	C/T	0.48/0.52	-	0.56/0.44
9	rs1015250	9	1,813,774	95	C/G	0.55/0.45	0.40/0.60	0.15/0.85
10	rs735155	10	3,328,178	100	A/G	0.38/0.62	0.82/0.18	0.41/0.59
11	rs901398	11	11,060,530	70	C/T	0.39/0.61	0.29/0.71	0.34/0.66
12	rs2107612	12	741,262	93	A/G	0.64/0.36	0.75/0.25	0.70/0.30

Tableau 4 : Fréquence d'allèles de différents SNP selon l'origine (99)

African American Amended Allele Frequencies

Allele	D3S1358	VWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820	CSF1PO	TPOX	TH01	D16S539	D2S1338	D19S433	Allele
6												0.0861	0.1095			6
7							0.0028		0.0071	0.0429	0.0215	0.4405				7
8				0.0028			0.0500	0.0335	0.1738	0.0857	0.3684	0.1857	0.0359			8
9				0.0056			0.0139	0.0279	0.1571	0.0333	0.1818	0.1452	0.1986			9
9.3												0.1048				9.3
10				0.0250			0.0639	0.0503	0.3238	0.2714	0.0933	0.0143	0.1100		0.0150	10
<11						0.0056										<11
11		0.0028		0.0361		0.0056	0.2611	0.2374	0.2238	0.2048	0.2249		0.2943		0.0689	11
<12	0.0048															<12
12	0.0024			0.1083		0.0587	0.3556	0.4832	0.0905	0.3000	0.0239		0.1866		0.1138	12
12.2															0.0808	12.2
13	0.0119	0.0056		0.2222		0.0559	0.2444	0.1257	0.0190	0.0548			0.1651		0.2964	13
13.2						0.0056									0.0509	13.2
14	0.1214	0.0667		0.3333		0.0642	0.0056	0.0391	0.0048	0.0071			0.0096		0.1946	14
14.2															0.0539	14.2
15	0.2905	0.2361		0.2139		0.1676		0.0028							0.0419	15
15.2															0.0389	15.2
16	0.3071	0.2694		0.0444		0.1872								0.0449	0.0210	16
>16							0.0028									>16
16.2															0.0180	16.2
17	0.2000	0.1833		0.0083		0.1620								0.1018		17
17.2				0.0028											0.0030	17.2
18	0.0548	0.1361	0.0083			0.1313								0.0659		18
18.2			0.0083												0.0030	18.2
19	0.0048	0.0722	0.0528			0.0782								0.1377		19
>19	0.0024															>19
19.2			0.0028													19.2
20		0.0278	0.0722			0.0559								0.0629		20
21			0.1250			0.0112								0.1527		21
22			0.2250			0.0056								0.1377		22
22.2			0.0056													22.2
23			0.1250			0.0056								0.0988		23
24			0.1861											0.0928		24
24.2				0.0028												24.2
25			0.1000											0.0838		25
26			0.0361	0.0028										0.0210		26
27			0.0222	0.0615												27
28			0.0167	0.2151												28
29			0.0056	0.1899												29
29.3				0.0028												29.3
30			0.0028	0.1788												30
30.2			0.0028	0.0084												30.2
31				0.0922												31
31.2				0.0754												31.2
32				0.0084												32
32.2				0.0698												32.2
33				0.0084												33
33.2				0.0335												33.2
34				0.0084												34
34.2				0.0028												34.2
35				0.0279												35
36				0.0056												36
37				0.0056												37
Allele	D3S1358	VWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820	CSF1PO	TPOX	TH01	D16S539	D2S1338	D19S433	Allele
N	210	180	180	180	170	170	180	170	210	210	200	210	200	167	167	

Tableau 5 : Fréquence d'allèles de différents STR chez les afro-américains (100)

Le calcul du RMP se déroule de la façon suivante (101)

Pour un locus :

- Chez un individu hétérozygote :
 - Soit p la fréquence de son premier allèle
 - Soit q la fréquence de son deuxième allèle

P_i représente la probabilité pour un individu de posséder ces deux allèles sur le locus

Alors $P_i = 2pq$

- Chez un individu homozygote :
 - Soit p la fréquence de son allèle

P_i représente la probabilité pour un individu de posséder 2 fois cet allèle

Alors $P_i = p^2$

La probabilité P de posséder le même profil génétique est donc le produit des probabilités de tous les loci étudiés :

$$P = P_1 \times P_2 \times \dots \times P_n$$

	Allele 1	Allele 2	Allele 1 Frequency (p)	Allele 2 Frequency (q)	Formula	Expected Genotype Frequency
D13S317	11	14	0.30620	0.03488	2pq	0.0214
TH01	6	6	0.12403		p ²	0.0154
D18S51	14	16	0.07198	0.15759	2pq	0.0227
D21S11	28	30	0.25775	0.17442	2pq	0.0899
D3S1358	16	17	0.33527	0.20543	2pq	0.1377
D5S818	12	13	0.35271	0.23837	2pq	0.1682
D7S820	9	9	0.10853		p ²	0.0118
D8S1179	12	14	0.14147	0.30039	2pq	0.0850
CSF1PO	10	10	0.25681		p ²	0.0660
FGA	21	22	0.11628	0.31783	2pq	0.1244
D16S539	9	11	0.19574	0.32119	2pq	0.0723
TPOX	8	8	0.37209		p ²	0.1385
VWA	17	18	0.24225	0.15504	2pq	0.0751
AMEL	X	Y				
Product rule						6.04 × 10 ⁻¹⁷
Combined frequency						1 in 1.66 × 10 ¹⁶

Tableau 6 : Exemple de détermination du RMP chez un individu (101)

Le calcul du RMP permet par la suite dans une affaire de calculer la force probante de la preuve ADN, représentée par un rapport de vraisemblance (ou LR : Likelihood Ratio). Plus le rapport de vraisemblance est élevé, plus la probabilité que l'ADN retrouvé sur la scène de crime appartienne effectivement au suspect est élevée.

Dans le cas où une empreinte génétique isolée à partir d'une trace de scène de crime match avec celle d'un suspect, deux hypothèses apparaissent alors :

- L'hypothèse de l'accusation H_p : Les deux empreintes correspondent car le suspect est l'auteur des faits.
- L'hypothèse de la défense H_d : Le coupable est toujours en liberté, il possède effectivement la même empreinte génétique, et la correspondance entre la trace et le suspect n'est que le fruit du hasard.

Le rapport de vraisemblance se calcul alors de la façon suivante :

$$LR = H_p/H_d$$

H_p représente l'hypothèse de l'accusation et suppose donc que le suspect soit coupable (soit une probabilité de 100% = 1). H_d suppose quant à elle que la trace appartienne à quelqu'un d'autre au sein de la population et est donc égale au RMP dans le cas d'une affaire « simple » où la trace ne contient l'ADN que d'un seul et unique individu.

Dans ce cas : $LR = 1/RMP$

Dans les cas où une trace contient le matériel génétique de plusieurs individus, le calcul du rapport de vraisemblance prend alors en compte d'autres facteurs tels que des facteurs d'inclusion et d'exclusion.

Plus le rapport de vraisemblance est élevé, plus la probabilité que l'ADN retrouvé sur la scène de crime appartienne effectivement au suspect est élevée.

Les analyses ne sont cependant pas à l'abri d'erreurs humaines pouvant se produire lors de la manipulation du matériel génétique, de sa conservation ou de son analyse. C'est par exemple le cas dans l'affaire du fantôme d'Heilbronn, où l'ADN d'une mystérieuse femme avait soi-disant été retrouvé sur différentes scènes de crimes et de délits entre 1993 et 2007 en Allemagne, en Autriche et en France (102).

Cette affaire avait mobilisé plus d'une centaine de policiers avant que l'on ne découvre que la « tueuse en série » n'était en réalité qu'une employée confectionnant les cotons-tiges de prélèvement, qui avait maladroitement déposé son ADN dessus.

Il existe plusieurs dizaines d'autres affaires où des personnes condamnées car leur empreinte génétique concordait, ont fini par être été innocentées à la suite de la découverte d'une erreur lors de la manipulation ou de l'analyse de leur ADN.

2. L'intime conviction face aux preuves génétiques

Souvent qualifiée comme la reine des preuves, l'ADN doit cependant être considéré comme une preuve comme les autres. Au tribunal, il convient au juge ainsi qu'aux jurés d'en évaluer la force probante.

En effet, elle ne doit pas remplacer les autres éléments d'un dossier tels que les témoignages, l'exploitation des caméras de surveillance, bornage GPS, expertises médicales ou autre.

L'ADN ne représente qu'un moyen de supposer la présence d'une personne sur une scène d'investigation, sans pour autant pouvoir l'affirmer car l'ADN peut être transporté.

Très médiatisé, l'ADN est très souvent qualifié de vérité scientifique. Celui-ci permet généralement davantage, lors d'un procès, de confirmer des suspicions lorsqu'il va dans leurs sens que d'en créer des nouvelles. En effet, la preuve ADN ne possède dans la pratique qu'une utilité relative. Dans environ 98% des cas, le coupable est identifié avant même la réalisation de test ADN et dans les 2,25% restant, celui-ci n'est concluant que dans 29% des affaires (103).

C'est donc cette utilité relative qui rend l'ADN aussi médiatisé, car il ne permet l'identification d'un criminel non suspecté au départ de l'enquête que dans de rares cas.

Avec les nombreuses avancées techniques en matière d'exploitation de l'ADN, il n'est désormais pas rare d'isoler de nombreux profils sur une scène de crime.

Ceux-ci comprennent les individus ayant effectivement été présents sur la scène, mais également les profils d'individus ne s'étant jamais rendu sur les lieux et dont l'ADN a été déposé par l'intermédiaire de transferts.

Cela ajouté au nombre en constante augmentation des profils fichés au FNAEG, des dizaines de noms peuvent alors ressortir d'une scène de crime sans pour autant que ces derniers ne soient considérés comme suspects dans l'affaire.

L'idéalisation de la preuve ADN ne doit donc pas pour les magistrats et enquêteurs supplanter lors d'une enquête les techniques d'investigations plus classiques évoquées précédemment. La génétique doit davantage être considérée comme une preuve à contextualiser et permettant de d'affirmer ou d'infirmer des suspicions et ainsi forger l'intime conviction du juge comme tout autre élément du dossier.

V. Conclusion

L'ADN est une molécule très complexe, aux rôles multiples dont certains restent encore méconnus mais qui a permis de nombreuses avancées dans de nombreux domaines.

La découverte des minisatellites et des microsatellites a permis la réalisation des premières empreintes génétiques dans les années 1980.

Le développement des techniques de PCR suivies d'électrophorèse capillaire ainsi que celles de séquençage à haut débit dans les années 2000 a aujourd'hui détrôné le Southern Blot et le séquençage de Sanger jugées plus longues et difficiles d'utilisation. La sensibilité toujours grandissante des outils de biologie moléculaire permet aujourd'hui d'isoler et d'exploiter des quantités d'ADN de l'ordre du nanogramme.

L'étude des polymorphismes nucléotidiques (SNP) ainsi que la réalisation d'empreinte génétique permise par l'analyse d'une vingtaine de STR permettent aujourd'hui un grand nombre d'applications en médecine légale :

- Identification de cadavre
- Identification d'auteur de crimes et délits
- Réalisation de test de filiation
- Estimation de l'âge
- Estimation de l'origine

La réalisation de portraits-robots génétiques pourrait également évoluer au cours des prochaines années mais reste pour le moment peu utilisée et très encadrée.

La création du FNAEG permet en France de centraliser plusieurs millions de profils génétiques dans le but de faciliter les identifications lors des enquêtes.

De nombreuses lois permettent également d'encadrer l'utilisation de l'ADN afin d'éviter toute utilisation excessive ou malveillante.

L'ADN reste donc un outil très fiable d'un point de vue scientifique mais qu'il est indispensable de savoir interpréter correctement et d'utiliser à bon escient.

VI. Bibliographie

1. Watson JD, Crick FH. The structure of DNA. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1953;18:123-31.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th éd. Garland Science; 2002.
3. Yang W. Nucleases: Diversity of Structure, Function and Mechanism. Q Rev Biophys. févr 2011;44(1):1-93.
4. ADN : 3 lettres devenues stars, structure en double hélice [Internet]. L'internaute. Disponible sur: <http://www.linternaute.com/science/biologie/dossiers/06/0609-adn/adn1/3.shtml>
5. Structure et principe de base de l'ADN [Internet]. 2013. Disponible sur: <https://www.police-scientifique.com/adn/structure-et-principe-de-base>
6. Qiu GH, Zheng X, Fu M, Huang C, Yang X. The protective function of non-coding DNA in DNA damage accumulation with age and its roles in age-related diseases. Biogerontology. déc 2019;20(6):741-61.
7. Zagorski N. Profile of Alec J. Jeffreys. Proc Natl Acad Sci U S A. 13 juin 2006;103(24):8918-20.
8. Aggrawal A. APC Textbook of Forensic Medicine and Toxicology - Avichal Publishing Company. Avichal Publishing Company; 816 p.
9. Morling N. Forensic genetics. Ugeskr Laeger. 24 févr 2003;165(9):922-5.
10. Griffiths AJF, Gelbart WM, Miller JH. Analyse génétique moderne. De Boeck Université; 2001. 676 p.
11. Balaesque P. Les microsatellites des génomes eucaryotes: De leur cycle de vie et de leur neutralité. médecine/sciences. août 2007;23(8-9):729-34.
12. KHOUAJA F. ANALYSES GENETIQUES [Internet]. Support de cours présenté à; 2018; Université de la Manouba. Disponible sur: https://isbst.rnu.tn/useruploads/cours/115483323650_support-de-cours-analyse-genetique-lf2-2018-2019.pdf
13. Article A38 [Internet]. Code de procédure pénale août 10, 2015. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000031094125/
14. Butler JM. Chapter 5 - Short Tandem Repeat (STR) Loci and Kits. In: Butler JM, éditeur. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology [Internet]. San Diego: Academic Press; 2012. p. 99-139. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123745132000051>
15. Cornelis S, Fauvart M, Gansemans Y, Vander Plaetsen AS, Colle F, Wiederkehr RS, et al. Multiplex STR amplification sensitivity in a silicon microchip. Sci Rep. 29 juin 2018;8:9853.

16. Police-Scientifique.com. Evolution des techniques d'analyse de l'ADN [Internet]. Police Scientifique. 2013 [cité 11 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.police-scientifique.com/adn/evolutions/>
17. Garafutdinov RR, Sakhabutdinova AR, Slominsky PA, Aminev FG, Chemeris AV. A new digital approach to SNP encoding for DNA identification. *Forensic Sci Int.* 1 déc 2020;317:110520.
18. Quintana-Murci L, Veitia R, Santachiara-Benerecetti S, McElreavey K, Fellous M, Bourgeron T. L'ADN mitochondrial, le chromosome Y et l'histoire des populations humaines. *médecine/sciences.* 1999;15(8-9):974.
19. Goodwin WH. DNA: Mitochondrial DNA. In: *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine.*
20. Wallace DC. Mitochondrial genetic medicine. *Nat Genet.* déc 2018;50(12):1642-9.
21. Police-Scientifique.com. ADN Mitochondrial [Internet]. Police Scientifique. 2013. Disponible sur: <https://www.police-scientifique.com/adn/adn-mitochondrial/>
22. Andréasson H, Asp A, Alderborn A, Gyllensten U, Allen M. Mitochondrial Sequence Analysis for Forensic Identification Using Pyrosequencing Technology. *BioTechniques.* janv 2002;32(1):124-33.
23. Keyser-Tracqui C, Ludes B. L'analyse du chromosome Y. *J Société Biol.* 2003;197(4):333-6.
24. Álvarez-Sandoval BA, Manzanilla LR, Montiel R. Sex Determination in Highly Fragmented Human DNA by High-Resolution Melting (HRM) Analysis. *PLoS ONE.* 6 août 2014;9(8):e104629.
25. Laurent FX, Vibrac G, Rubio A, Thévenot MT, Pène L. Les nouvelles technologies d'analyses ADN au service des enquêtes judiciaires. *médecine/sciences.* nov 2017;33(11):971-8.
26. Kayser M. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. *Hum Genet.* 2017;136(5):621-35.
27. Photographier les taches de sang [Internet]. Bluestar Forensic. 2016. Disponible sur: <https://www.bluestar-forensic.com/fr/articles-de-presse/photographier-les-taches-de-sang-reactif-bluestar/>
28. Adams JL, Rancourt ED, Christensen AM. The Effect of Household Oxidizing Cleaners on Chemiluminescence of Blood Using Bluestar®. *J Forensic Sci.* 2019;64(3):869-72.
29. Seashols SJ, Cross HD, Shrader DL, Rief A. A comparison of chemical enhancements for the detection of latent blood. *J Forensic Sci.* janv 2013;58(1):130-3.
30. Police-Scientifique.com. Les prélèvements ADN sur une scène de crime [Internet]. 2013 [cité 10 août 2022]. Disponible sur: <https://www.police-scientifique.com/adn/prelevements>

31. FTA® Cards, Qiagen [Internet]. VWR. [cité 25 août 2022]. Disponible sur: <https://ca.vwr.com/store/product/en/13665380/fta-cards-qiagen>
32. Corradini B, Alù M, Magnanini E, Galinier ME, Silingardi E. The importance of forensic storage support: DNA quality from 11-year-old saliva on FTA cards. *Int J Legal Med.* nov 2019;133(6):1743-50.
33. Bou C, Bénali L, Samot J, Glock N. Le recueil des indices pour les empreintes génétiques en odontologie légale. *Actual Odonto-Stomatol.* déc 2010;(252):393-404.
34. Warnes DJ, Speers SJ, Murakami JA. The evaluation and validation of Phadebas® paper as a presumptive screening tool for saliva on forensic exhibits. *Forensic Sci Int.* juill 2018;288:81-8.
35. Coquoz R, Comte J, Hall D, Hicks T, Taroni F. Preuve par l'ADN: La génétique au service de la justice. PPUR Presses polytechniques; 2013. 472 p.
36. Laux DL, M.S. Forensic Detection of Semen I. The Acid Phosphatase Test [Internet]. [cité 25 août 2022]. Disponible sur: http://courseresources.mit.usf.edu/other/forensics/ang6515_dewitt/readings/m4/Laux.%20Forensic%20Detection%20of%20Semen%20I.%20The%20AP%20Test.pdf
37. Raju PS, Iyengar NK. Acid Phosphatase Reaction as a Specific Test for the Identification of Seminal Stains. *J Crim Law Criminol Police Sci.* déc 1964;55(4):522.
38. Identi-PSA® [Internet]. Bluestar Forensic. [cité 28 août 2022]. Disponible sur: <https://www.bluestar-forensic.com/fr/produits/bluestar-identi-psa/>
39. Bengtsson CF, Olsen ME, Brandt LØ, Bertelsen MF, Willerslev E, Tobin DJ, et al. DNA from keratinous tissue. Part I: hair and nail. *Ann Anat Anat Anz Off Organ Anat Ges.* 20 janv 2012;194(1):17-25.
40. Yudianto A, Nuraini M I, Furqoni AH, Nzilibili SMM, Harjanto P. The use of touch DNA analysis in forensic identification focusing on Short Tandem Repeat- Combined DNA Index System loci THO1, CSF1PO and TPOX. *Infect Dis Rep.* 6 juill 2020;12(Suppl 1):8716.
41. van Oorschot RAH, Szkuta B, Meakin GE, Kokshoorn B, Goray M. DNA transfer in forensic science: A review. *Forensic Sci Int Genet.* janv 2019;38:140-66.
42. Evans J, Hadi S. Low Template DNA: Tad, Touch and Traces. 2018;3(1):5.
43. Sapanet M, Collet G, Georget C, Fronty P. L'identification estimative - 1re partie,.
44. Calvo L, Ricaut F, Keyser C, Grimoud AM, Ludes B, Crubezy E, et al. Etude d'ADN ancien au niveau de la pulpe dentaire de la série ostéologique de Saint Côme et Damien. :9.
45. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* avr 1987;162(1):156-9.
46. Koshy L, Anju AL, Harikrishnan S, Kutty VR, Jissa VT, Kurikesu I, et al. Evaluating genomic DNA extraction methods from human whole blood using endpoint and real-time PCR assays. *Mol Biol Rep.* 1 févr 2017;44(1):97-108.

47. McKiernan HE, Danielson PB. Chapter 21 - Molecular Diagnostic Applications in Forensic Science. In: Patrinos GP, éditeur. Molecular Diagnostics (Third Edition). Academic Press; 2017. p. 371-94.
48. INTEGRA, MACHEREY-NAGEL. Extraction et purification automatisées d'ADN et ARN [Internet]. 2022 [cité 12 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.integra-biosciences.com/canada/fr/articles/purification-automatisee-des-acides-nucleiques-avec-le-robot-de-pipetage-assist-plus>
49. Griffiths L, Chacon-Cortes D. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. J Biorepository Sci Appl Med. mai 2014;1.
50. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J Mol Biol. 5 nov 1975;98(3):503-17.
51. AKBAR DA. Chapitre 10 : Transfert de Southern ou hybridation de Southern. BORZUYA UNIVERSITY.
52. Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. BioTechniques. sept 1997;23(3):504-11.
53. PCR [Internet]. Biomnigene. [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://www.biomnigene.fr/fr/nos-solutions/pcr.html>
54. Singh C, Roy-Chowdhuri S. Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. Methods Mol Biol Clifton NJ. 2016;1392:161-76.
55. Page RB, Stromberg AJ. Linear Methods for Analysis and Quality Control of Relative Expression Ratios from Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction Experiments. Sci World J. 7 juill 2011;11:1383-93.
56. Cao Y, Yu M, Dong G, Chen B, Zhang B. Digital PCR as an Emerging Tool for Monitoring of Microbial Biodegradation. Mol Basel Switz. 6 févr 2020;25(3):E706.
57. Fourni par l'IGNA. Empreintes génétiques et criminalistiques.
58. Cours du Dr Denis M. Exploration des protéines sériques : Electrophorèse et Immunoélectrophorèse. 2022.
59. Trivin F, Le Bricon T. Nouvelles techniques d'électrophorèse : applications aux protéines et à l'ADN. Immuno-Anal Biol Spéc. 1 févr 2003;18(1):11-22.
60. The Cost of Sequencing a Human Genome [Internet]. Genome.gov. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost>
61. Mardis ER. Next-Generation DNA Sequencing Methods. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2008;9(1):387-402.
62. Costain G, Cohn RD, Scherer SW, Marshall CR. Séquençage du génome comme test diagnostique. CMAJ Can Med Assoc J. 7 févr 2022;194(5):E174-8.

63. Abu-Helalah M, Azab B, Mubaidin R, Ali D, Jafar H, Alshraideh H, et al. BRCA1 and BRCA2 genes mutations among high risk breast cancer patients in Jordan. *Sci Rep.* 16 oct 2020;10(1):17573.
64. Jordan B. ADN et portait-robot : où en est-on ? médecine/sciences. août 2020;36(8-9):813-6.
65. Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. *Immuno-Anal Biol Spéc.* oct 2008;23(5):260-79.
66. Grzych G. Evaluation of in silico prediction tools and interest of functional tests in the interpretation of identified variants by next-generation sequencing in human genetics. 2018.
67. Xu X, Zhang X, Cui Y, Yang H, Ping X, Wu J, et al. Three novel variants identified within ECM-related genes in Chinese Han keratoconus patients. *Sci Rep.* 3 avr 2020;10(1):5844.
68. History of Illumina Sequencing & Solexa Technology [Internet]. Emea Illumina. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://emea.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/illumina-sequencing-history.html>
69. Sequencing Technology | Sequencing by synthesis [Internet]. Emea Illumina. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://emea.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology.html>
70. ATDBio - Next generation sequencing [Internet]. Disponible sur: <https://atdbio.com/nucleic-acids-book/Next-generation-sequencing>
71. NGS - Illumina | GeneTiCA [Internet]. [cité 11 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.genetica.sk/next-generation-sequencing>
72. Slooten K. Accurate assessment of the weight of evidence for DNA mixtures by integrating the likelihood ratio. *Forensic Sci Int Genet.* mars 2017;27:1-16.
73. Les ADN identiques de jumeaux au cœur d'un procès pour viol [Internet]. Le Figaro. 2015. Disponible sur: <https://www.lefigaro.fr/actualite-france/2015/09/08/01016-20150908ARTFIG00158-les-adn-identiques-de-jumeaux-au-coeur-d-un-proces-pour-viol.php>
74. Kücken M, Newell AC. Fingerprint formation. *J Theor Biol.* 7 juill 2005;235(1):71-83.
75. Stewart L, Evans N, Bexon KJ, van der Meer DJ, Williams GA. Differentiating between monozygotic twins through DNA methylation-specific high-resolution melt curve analysis. *Anal Biochem.* 1 mai 2015;476:36-9.
76. Article 16-11 - Code civil [Internet]. legifrance.gouv.fr. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000039367698/
77. Article 226-28-1 - Code pénal [Internet]. legifrance.gouv.fr. Disponible sur: 18/08/2022

78. Section 6 : Des atteintes à la personne résultant de l'examen de ses caractéristiques génétiques ou de l'identification par ses empreintes génétiques (Articles 226-25 à 226-30) - Légifrance.
79. Les empreintes génétiques [Internet]. Maxicours.com. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.maxicours.com/se/cours/les-empreintes-genetiques/>
80. Foreman LA, Evett IW. Statistical analyses to support forensic interpretation for a new ten-locus STR profiling system. *Int J Legal Med.* 2001;114(3):147-55.
81. Jean-Luc Gremaud, Gehrig C, Sabatasso S, Castella V. Identification génétique de personnes défuntées : quel échantillon de référence choisir ? *Revue Medicale Suisse.* 2008.
82. Stephan CN, Caple JM, Guyomarc'h P, Claes P. An overview of the latest developments in facial imaging. *Forensic Sci Res.* 29 oct 2018;4(1):10-28.
83. Article 16-10 - Code civil [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000043895858
84. Cour de cassation, criminelle, Chambre criminelle, 25 juin 2014, 13-87.493, Publié au bulletin [Internet]. Publié au bulletin. 2014 [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/juri/id/JURITEXT000029152345/>
85. Schmitt A. Estimation de l'âge au décès des sujets adultes à partir du squelette : des raisons d'espérer. *Bull Mém Société D'Anthropologie Paris BMSAP.* 1 juin 2002;14(1-2).
86. Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget.* 30 mars 2017;8(27):45008-19.
87. Márquez-Ruiz AB, González-Herrera L, Valenzuela A. Usefulness of telomere length in DNA from human teeth for age estimation. *Int J Legal Med.* mars 2018;132(2):353-9.
88. Maulani C, Auerkari EI. Age estimation using DNA methylation technique in forensics: a systematic review. *Egypt J Forensic Sci.* 3 déc 2020;10(1):38.
89. Montesanto A, D'Aquila P, Lagani V, Paparazzo E, Geracitano S, Formentini L, et al. A New Robust Epigenetic Model for Forensic Age Prediction. *J Forensic Sci.* 1 mai 2020;65.
90. Sampson J, Kidd KK, Kidd JR, Zhao H. Selecting SNPs to Identify Ancestry. *Ann Hum Genet.* juill 2011;75(4):539-53.
91. Tests ADN : une vente de données crée la polémique. *Les Echos* [Internet]. 8 août 2018 [cité 18 août 2022]; Disponible sur: <https://www.lesechos.fr/industrie-services/pharmacie-sante/tests-adn-une-vente-de-donnees-cree-la-polemique-136412>
92. Gendarmerie Nationale. 1998 : La création du FNAEG et du Service Central de Préservation des Prélèvements Biologiques [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.gendarmerie.interieur.gouv.fr/pjgn/ircgn/evenements-cles/1998-la-creation-du-fnaeg-et-du-service-central-de-preservation-des-prelevements-biologiques>

93. CNIL. FNAEG (Fichier national des empreintes génétiques) : c'est quoi ? [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.cnil.fr/fr/cnil-direct/question/fnaeg-fichier-national-des-empreintes-genetiques-cest-quoi>
94. Article 706-55 - Code de procédure pénale [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000045071113/2022-07-11
95. CNIL. FNAEG : Fichier national des empreintes génétiques [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.service-public.fr/particuliers/vosdroits/F34834>
96. Article 706-56 - Code de procédure pénale [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006577741/2009-11-10/
97. service-public.fr. Fichier national automatisé des empreintes génétiques (Fnaeg) [Internet]. Disponible sur: <https://www.service-public.fr/particuliers/vosdroits/F34834>
98. Hasan MM, Hossain T, Majumder AK, Momtaz P, Sharmin T, Sufian A, et al. An efficient DNA extraction method from bone and tooth samples by complete demineralization followed by the use of silica-based columns. *Dhaka Univ J Biol Sci.* 20 août 2014;23(2):101-7.
99. Butler JM. Chapter 12 - Single Nucleotide Polymorphisms and Applications. In: Butler JM, éditeur. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2012 [cité 25 oct 2022]. p. 347-69. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123745132000129>
100. Notice of Amendment of the FBI's STR Population Data [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://ucr.fbi.gov/lab/biometric-analysis/codis/amended-fbi-str-final-6-16-15.pdf>
101. Butler JM. Chapter 11 - Statistical Interpretation: Evaluating the Strength of Forensic DNA Evidence. In: Butler JM, éditeur. *Fundamentals of Forensic DNA Typing* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2010 [cité 25 oct 2022]. p. 229-58. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123749994000114>
102. Allemagne: pas de tueuse « fantôme », mais une erreur monstre... *L'Express* [Internet]. 30 mars 2009 [cité 20 août 2022]; Disponible sur: https://www.lexpress.fr/actualite/monde/europe/allemande-pas-de-tueuse-fantome-mais-une-erreur-monstre_750266.html
103. L'ADN, la reine des preuves imparfaites. *Médecine Droit.* 1 oct 2020;2020(164):129-33.

ANNEXES

Figure 1 : Schéma des 4 bases azotées

Figure 2 : Structure en double hélice et liaisons hydrogènes entre bases

Figure 3 : Principe du RFLP

Figure 4 : Structure des microsatellites

Figure 5 : Exemple de SNP

Figure 6 : Représentation de l'ADN mitochondrial

Figure 7 : Schéma du chromosome Y

Figure 8 : Photographies de taches de sang avant et après test au BlueStar

Figure 9 : Photographie d'un kit FTA

Figure 10 : Détection de l'acide phosphate à des concentrations différentes

Figure 11 : Différents modes de transfert d'ADN

Figure 12 : Photographies d'une fracture d'une molaire maxillaire

Figure 13 : Schéma des différentes étapes d'extraction d'ADN au phénol/chloroforme

Figure 14 : Schéma d'extraction de l'ADN par chromatographie sur colonne de silice

Figure 15 : Différentes étapes d'un Southern Blot

Figure 16 : Différentes étapes d'une PCR

Figure 17 : Courbe d'amplification par PCR en temps réel

Figure 18 : Schémas d'un SYBR Green et d'un TaqMan

Figure 19 : Principe d'une électrophorèse capillaire

Figure 20 : Exemple d'électrophorégramme

Figure 21 : Evolution du cout d'un séquençage du génome humain complet

Figure 22 : Résultat d'un séquençage de Maxam et Gilbert

Figure 23 : Principe d'un séquençage de Sanger

Figure 24 : Etapes d'un Bridge-PCR

Figure 25 : Chromatogramme obtenu par séquençage de Sanger

Figure 26 : Détermination de l'ordre nucléotidique

Figure 27 : Exemple de test de paternité

Figure 28 : Exemple d'empreinte génétique partielle

Tableau 1 : Liste des loci analysés en France en médecine légale

Tableau 2 : Types d'échantillons utilisés pour l'identification et leurs limites

Tableau 3 : Durée de conservation des profils dans le FNAEG

Tableau 4 : Fréquence d'allèles de différents SNP selon l'origine

Tableau 5 : Fréquence d'allèles de différents STR chez les afro-américains

Tableau 6 : Exemple de détermination du RMP chez un individu

NANTES UNIVERSITÉ
UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Vu le Président du Jury,

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Vu le Doyen,

Pr Assem SOUEIDAN

LEBEAUD (Clément). – Médecine légale, odontologie et ADN – 81 f. ; iil. ; tabl. ; 103 réf. ; 30 cm. (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2023)

RESUME

L'ADN possède aujourd'hui un rôle indispensable en médecine et odontologie légale.

Certaines régions non codantes polymorphiques de l'ADN, appelées microsattellites, permettent la réalisation d'empreinte génétique propre à chaque individu.

Les techniques de réalisation de ces empreintes génétiques ont énormément évolué au cours des dernières décennies. Elles permettent entre autres l'identification de cadavre, la recherche de personnes disparues et la réalisation de tests de filiations.

Leur réalisation est soumise à une réglementation stricte et des indications fixées par la loi.

Bien que statistiquement fiable, la preuve ADN ne constitue cependant pas une preuve irréfutable et possède certaines limites.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : Médecine et odontologie légales.

MOTS CLEFS MESH

ADN – DNA

Microsatellite – Microsatellite

Empreinte génétique – DNA profiling

Réglementation – Regulation

JURY

Président : Pr. LE GUEHENNEC

Assesseur : Pr. PEREZ

Directeur : Dr. AMADOR DEL VALLE

Co-directeur : Dr HYON

Invité : Mme LE PAJOLEC