

ANALYSE GÉNÉTIQUE
ET
HISTOIRE

Par Charlène CATALIFAUD

Directeur de mémoire : Thierry Lefèbvre

SOMMAIRE

INTRODUCTION	3
A - L'ANALYSE GÉNÉTIQUE	4
A.1 – LES DÉBUTS DE L'ANALYSE GÉNÉTIQUE	4
A.1 – Historique	4
A.2 – Technique	7
A.2 – LEGISLATION	8
A.3 – LES TECHNIQUES	9
A.3.1 – PCR	9
A.3.2 – Profil génétique	10
A.3.2.1 – Les différentes étapes	10
A.3.2.2 – Analyse de l'ADN nucléaire	11
A.3.2.3 – Analyse de l'ADN mitochondrial	12
A.3.3 – Séquençage	13
A.4 – LES APPLICATIONS	14
A.4.1 – Police scientifique	14
A.4.2 – Identification de victimes	15
A.4.3 – Médecine	17
A.4.4 – Test de paternité	19
A.4.5 – Migration et généalogie	20
A.4.6 – Paléogénétique	21
B – QUAND L'ANALYSE ADN SE MÊLE AUX ENQUÊTES HISTORIQUES	23
B.1 – HOMME DE DENISOVA	23
B.2 – TOUTANKHAMON	26
B.3 – LOUIS XVII	30
B.4 – LA DERNIERE FAMILLE ROMANOV	36
C – LES LIMITES DE L'ANALYSE DE L'ADN ANCIEN	42
C.1 – LES SPÉCIFICITÉS DE L'ADN ANCIEN	42
C.2. LES PRÉCAUTIONS À PRENDRE	43
C.3 – LES LIMITES : L'EXEMPLE DE LA TÊTE D'HENRI IV	45
CONCLUSION	50
SOURCES	51
ANNEXES	55

INTRODUCTION

La découverte de l'existence de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est relativement récente puisqu'elle remonte à la fin du XIX^{ème} siècle et qu'il faut attendre le XX^{ème} siècle pour comprendre une partie de la complexité de cette molécule. L'ADN, support de l'information génétique, a été entièrement séquencé chez l'Homme au cours d'un projet international intitulé *Projet génome humain*, terminé en 2003¹.

Une des spécificités de l'ADN est la présence de variations particulières, spécifiques à un individu. Cette découverte est le point de départ de l'analyse génétique à visée d'identification qui a révolutionné la police scientifique.

Avec les progrès de la biologie moléculaire, l'analyse de l'ADN s'est aussi associée à l'archéologie, ce qui a permis l'émergence d'une nouvelle science : la paléogénétique, également appelée archéogénétique, en d'autres termes l'analyse de l'ADN ancien. Et les techniques modernes permettent de remonter de plus en plus loin dans le passé et d'apporter un éclairage nouveau sur les vestiges du passé.

L'ADN est désormais une méthode couramment utilisée pour retracer l'Histoire sur une vaste échelle de temps, grâce aux méthodes d'identification mais également de séquençage.

La détermination d'une nouvelle lignée humaine, l'établissement de la généalogie du pharaon Toutankhamon, l'authentification du cœur de Louis XVII et l'identification de la dernière famille impériale des Romanov ont pu être effectués grâce à l'analyse ADN. Seuls ces cas sont présentés dans ce mémoire, il en existe bien d'autres, comme l'analyse de l'ADN de Christophe Colomb qui a notamment montré que sa dépouille se trouve bien à Séville ou de l'ADN des restes présumés de Jeanne d'Arc², qui n'étaient en fait pas les siens.

Cependant, si l'ADN semble parfois se positionner comme la réponse à de nombreux questionnements, son pouvoir n'est pas illimité et ses exploits parfois controversés.

1 Le site du Génoscope : <http://www.cns.fr/spip/Le-projet-Genome-humain.html>

2 *Nature* 446, 593 (5 Avril 2007) | doi:10.1038/446593a; publié en ligne le 4 Avril 2007

A - L'ANALYSE GÉNÉTIQUE

A.1 – LES DÉBUTS DE L'ANALYSE GÉNÉTIQUE

A.1.1 – Historique

Il est difficile de parler d'analyse génétique sans évoquer le généticien britannique Alec Jeffreys³ de l'Université de Leicester, célèbre pour avoir développé la technique de l'empreinte génétique en 1984.

Lorsqu'il est arrivé à l'Université de Leicester pour entreprendre des recherches sur la génétique moléculaire humaine, il s'est posé la question : « Si nous pouvons détecter les gènes dans l'ADN humain, pouvons nous détecter les différences héréditaires entre les personnes dans leurs gènes ? La réponse est oui. »⁴

Le but fut alors de rechercher des zones de l'ADN très variables d'un individu à l'autre. « La clé du problème est venue de façon totalement inattendue d'un projet complètement différent de mon laboratoire », explique Alec Jeffreys⁵. La première région d'ADN hautement variable fut ainsi trouvée. « Il s'agit de la même séquence d'ADN répétée plusieurs fois et dont le nombre de répétitions varie entre les individus. »



Alec Jeffreys © Alec Jeffreys

« Nous avons alors constaté que ces différentes régions répétées (nous les avons appelées minisatellites) montraient une similitude de séquence curieuse qui nous a permis de développer une méthode pour détecter de nombreuses régions minisatellites très variables en même temps : c'est le début de l'empreinte génétique », raconte Alec Jeffreys⁶.

³ Dr Alec Jeffreys, généticien à l'Université de Leicester, réponse par mail reçue le 14 mai 2012

⁴ Id.

⁵ Id.

⁶ Id.

Une approche dérivée de l'empreinte génétique est développée : le profilage de l'ADN. Néanmoins, le terme empreinte génétique reste encore largement utilisé. Rapidement, le potentiel de cette technique va être utilisé pour l'identification de personnes.

Le premier cas remonte à 1985. Il concernait une famille du Royaume-Uni originaire du Ghana mêlée à un différend sur l'immigration : le jeune fils de la famille, après un séjour au Ghana, était revenu à Londres avec un passeport falsifié. Les autorités ont immédiatement pensé qu'il ne s'agissait pas du fils en question, mais d'une personne qui n'avait rien à voir avec la famille ou éventuellement un neveu de la mère venu du Ghana. En tout cas, pour eux, il s'agissait d'une personne qui n'avait pas droit de séjour au Royaume-Uni. A partir d'échantillons de sang du garçon en question, de la mère et de ses trois autres fils, les scientifiques ont montré que la probabilité que le garçon soit bien le fils (et non pas un neveu) était de 99,997 %.

Shepherds Bush Gazette 17 May 1985

That's my boy

Mother turns to science in fight for son

A MOTHER is praying that a scientific breakthrough will mean she can stay in Britain with her son.

Mum Christiana Sarbah hopes the breakthrough will finally convince immigration officials she is the mother of Andrew, 15.

A scientist using the new technique has said the chance of Andrew not being her son is in the most one in 30 million.

Using the "genetic fingerprint" in blood cells from mother and son, the scientist at Leicester University has given hope to Christiana after a two-year fight to prove Andrew is her son.

The fight began the minute Andrew, who was born in England, arrived back in this country after a long stay in Ghana. Immigration officials held him at Heathrow, saying his passport had been forged.

He was allowed to stay at the family home in Fulham Palace Road with his three brothers and sisters after intervention by MP Martin Stevens.

Ever since, Christiana has been fighting the Home Office with the help of lawyers at Hammersmith Law Centre.

The **NEW** **GENETIC** **TEST** **OF** **THE** **SCIENTIST'S** **WORK** **AND** **CONTACTED** **HER** **IN** **ONE** **OF** **THE** **FIRST** **PRACTICAL** **USES** **OF** **THE**



Christiana Sarbah and son Andrew.

By John Millard

generic fingerprinting technique, he produced his startling evidence.

Now the law centre is to appeal to the Home Office armed with the findings.

This week Christiana, a nurse, said "It's terrific news. It's wonderful what technology can do. I'm lost for words."

"People who know me and know Andrew know he is my son. I have gone through hell."

"I don't know what else to give for the immigration authorities to believe me."

She said both Andrew and herself had had their health affected by the struggle. "I used to be a jolly person and enjoy life, but now I'm miserable," she said.

Christiana says she will go wherever Andrew goes.

She pressed workers at the law centre, which is threatened with the loss of its grant here this year. "It's not so much money, this case, but I can't pay them," she said. "But I've started doing the pools."

Article paru le 17 mai 1985 dans le Shepherds Bush gazette

En 1986, la technique de l'empreinte génétique est utilisée pour une enquête criminelle : un double meurtre. Deux jeunes filles ont été violée et assassinée, selon une procédure similaire, à trois ans d'intervalle. En 1986, lorsque le corps de la deuxième jeune fille est retrouvé à

Enderby, un jeune homme, Richard Buckland, avoue ce crime. Or le sperme de l'agresseur retrouvé sur les deux victimes correspond à la même personne. Et l'ADN n'est pas celui de Richard Buckland. A l'issue d'une chasse à l'homme lancée pour retrouver le vrai coupable, Colin Pitchfork est arrêté.

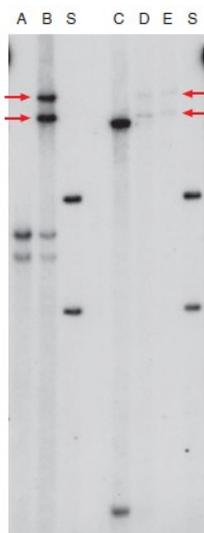


Figure 5 The first application of DNA profiling—the Enderby murder case. A single locus minisatellite probe was used to analyze the following DNAs: A, hair roots taken post-mortem from the first victim; B, mixed semen and vaginal fluid from the first victim; C, blood taken post-mortem from the second victim; D, vaginal swab from the second victim; E, semen stain on clothing from the second victim; S, blood from the prime suspect. Semen alleles (indicated by arrows) not attributable to the victims appear shared across both murders, but do not match the suspect¹⁴.

Résultats de l'analyse ADN de l'affaire Enderby © Alec Jeffreys (*Nature medicine*)

Dès lors, le recours à l'ADN dans le domaine judiciaire ne cessera d'augmenter. Mais ce qui révolutionnera le profilage génétique, c'est la technique de la PCR (*polymerase chain reaction*) mise au point notamment par Kary Mullis et Henry Erlich en 1988, une méthode qui permet d'amplifier l'ADN et donc d'établir des profils génétiques en disposant de peu d'ADN.

Des régions appelées microsatellites, séquences répétées plus courtes, peuvent ainsi être analysées avec cette technique. Leur petite taille les rend moins sensibles aux dégradations que les minisatellites, plus longues.

La PCR fut utilisée pour la première fois en 1989 sur les restes de Josef Mengele, médecin nazi allemand ayant travaillé dans le camp de concentration d'Auschwitz et connu sous le surnom d'« ange de la mort ». Il aurait été enterré au Brésil en 1979 et le corps a été exhumé dix ans après. Les analyses génétiques effectuées sur l'ADN prélevé sur le squelette ont permis d'apporter la preuve qu'il s'agissait bien du corps de ce criminel de guerre, grâce à des comparaisons avec ses descendants actuels. La correspondance de son crâne avec des photographies du médecin corrobore la preuve génétique. Déjà, l'analyse génétique se mettait au service de l'histoire.

A.1.2 – Technique

Le principe de l'établissement d'un profil génétique repose sur le polymorphisme génétique : ce sont les variations du génome d'un individu à l'autre.

Le polymorphisme se caractérise par l'existence de marqueurs au sein du génome. Ces marqueurs génétiques sont des variations particulières de l'ADN qui peuvent être facilement détectées par les méthodes de biologie moléculaire.

Les premières analyses génétiques ont commencé avec l'analyse des marqueurs RFLP⁷⁸ (*restriction fragments length polymorphism*). Ces variations de séquences entraînent la modification du site de reconnaissance d'une enzyme de restriction donnée, protéine qui a la capacité de couper l'ADN en un endroit précis appelé site de restriction. Un site de restriction peut donc se retrouver chez une personne mais pas chez une autre. « En faisant migrer les différents fragments obtenus sur gel d'électrophorèse, on obtient différentes bandes, caractéristiques d'un individu. On pouvait ainsi déterminer le profil génétique d'une personne et comparer la taille de ses bandes à celle des bandes d'une autre personne », explique le colonel Yvan Malgorn⁹, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale (IRCGN). Cependant cette méthode est très longue, elle n'est donc plus utilisée.

Ensuite, les scientifiques ont travaillé sur les marqueurs VNTR¹⁰¹¹ (*variable number of tandem repeat*). Ce sont des séquences nucléotidiques (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*) répétitives assez longues dont la longueur varie significativement d'un individu à l'autre. Le nombre de répétitions détermine la taille des fragments. Leur variabilité importante est un atout pour l'identification, mais ce sont des séquences longues (minisatellites) et donc sensibles à la dégradation.

7 Eberhard Passarge, *Atlas de poche de génétique*, Collection Médecine-Sciences, Editions Flammarion (1995) (p 64)

8 *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 49)

9 Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

10 Eberhard Passarge, *Atlas de poche de génétique*, Collection Médecine-Sciences, Editions Flammarion (1995) (p 64)

11 *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 49)

Désormais, ce sont les marqueurs de type microsatellites, les STR (*short tandem repeat*), qui sont principalement utilisés (*cf partie A.3 – LES TECHNIQUES*).

A.2 – LEGISLATION

Les articles 16-10 à 16-12 du code civil¹² définissent deux types d'analyses génétiques :

- l'analyse génétique dans le but de mettre en évidence des caractères

« L'étude génétique des caractéristiques d'une personne ne peut être entreprise qu'à des fins médicales ou de recherche scientifique. Le consentement de la personne doit être recueilli préalablement à la réalisation de l'étude. » Article 16-10

- l'analyse génétique dans le but d'identifier une personne par ses empreintes génétiques

« L'identification d'une personne par ses empreintes génétiques ne peut être recherchée que dans le cadre de mesures d'enquête ou d'instruction diligentées lors d'une procédure judiciaire ou à des fins médicales ou de recherche scientifique. En matière civile, cette identification ne peut être recherchée qu'en exécution d'une mesure d'instruction ordonnée par le juge saisi d'une action tendant soit à l'établissement ou la contestation d'un lien de filiation, soit à l'obtention ou la suppression de subsides. Le consentement de l'intéressé doit être préalablement et expressément recueilli. Lorsque l'identification est effectuée à des fins médicales ou de recherche scientifique, le consentement de la personne doit être au préalable recueilli. » Article 16-11

L'article 16-12 spécifie que *« sont seules habilitées à procéder à des identifications par empreintes génétiques les personnes ayant fait l'objet d'un agrément dans des conditions fixées par décret en Conseil d'État. Dans le cadre d'une procédure judiciaire, ces personnes doivent, en outre, être inscrites sur une liste d'experts judiciaires. »*

Évidemment, concernant les analyses génétiques d'individus connus ou non dans le cadre historique, ces textes ne peuvent être appliqués.

¹² Code civil Livre Ier : Des personnes, Titre Ier : Des droits civils, III : De l'étude génétique des caractéristiques d'une personne et de l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques.

A.3 – LES TECHNIQUES

A.3.1 – PCR

La PCR (*polymerase chain reaction*) ou réaction en chaîne par polymérase est une méthode de biologie moléculaire qui permet d'amplifier *in vitro* la quantité d'ADN initiale. En fait, elle amplifie une région donnée de l'ADN. Elle a révolutionné les techniques de l'analyse génétique, en offrant la possibilité de travailler sur de très faibles quantités d'ADN. Effectivement, « quelques nanogrammes d'ADN suffisent pour réaliser une PCR », affirme le colonel Yvan Malgorn¹³ de l'IRCGN. Désormais, tout type d'analyse est précédé de cette étape. Plusieurs réactifs sont nécessaires : la Taq polymérase (enzyme qui permet de synthétiser l'ADN), des amorces nucléotidiques (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*) qui vont permettre de borner les régions d'intérêt ainsi que des marqueurs colorés.



Appareil à PCR : analyse des plaques de 96 puits contenant de l'ADN © IRCGN

La PCR repose sur un cycle de réactions en trois étapes :

- Dénaturation de l'ADN : l'ADN initialement double brin se sépare en deux molécules simple brin.
- Hybridation : les amorces nucléotidiques viennent se fixer de chaque côté de la région d'intérêt.
- Élongation : la Taq polymérase va synthétiser l'ADN entre les deux amorces reconstituant ainsi un ADN double brin.

¹³ Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

Ce cycle est généralement répété une trentaine de fois, à partir des produits obtenus à la fin de chaque cycle. La quantité d'ADN augmente donc de façon exponentielle. Ainsi plusieurs millions de copies de la région d'intérêt de l'ADN sont synthétisées.

A.3.2 – Profil génétique (*Cf annexe 2 : Profil génétique*)

A.3.2.1 – Les différentes étapes



Séquenceur (électrophorèse) ©IRCGN

Avec les technologies actuelles, un profil génétique peut être établi en une dizaine d'heures.

Un profil génétique est établi à partir de l'analyse des marqueurs de l'ADN dans le but d'identifier une personne. Différentes étapes permettent d'y aboutir :

- Recherche de la trace biologique (liquide biologique, os, dents...)
- Extraction de l'ADN : les membranes des cellules et les noyaux sont dégradés pour libérer l'ADN
- Purification
- PCR (*cf partie A.3.1 – PCR*)
- Lavage (pour enlever les résidus de la PCR)
- Électrophorèse : l'ADN amplifié est visualisé grâce à un séquenceur.

A noter que lorsque les analyses sont faites à partir de prélèvements buccaux avec papier FTA

(un papier buvard spécifique qui capture l'ADN et qui peut être analysé de façon automatisée), les deux premières étapes (recherche de la trace biologique et extraction de l'ADN) ne se font pas.

Avant de procéder à la dernière étape, l'électrophorèse, des réactifs spécifiques sont ajoutés aux échantillons : des marqueurs de taille et un produit spécifique de la migration. Les fragments d'ADN peuvent alors migrer dans un gel d'agarose (le plus souvent) où ils sont séparés en fonction de leur taille, les fragments les plus petits étant les plus rapides. Ils ont préalablement été marqués par des nucléotides colorés lors de la PCR.

Le profil génétique peut être établi à partir de l'ADN nucléaire ou de l'ADN mitochondrial (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*). Dans tous les cas, les procédures sont les mêmes. D'ailleurs, lors de la phase d'extraction, les deux types d'ADN sont traités de la même façon, la différence se fait avec les marqueurs.

Il faut également préciser qu'à chaque génération, des mutations génétiques surviennent, du fait d'erreurs au moment de la réplication (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*). Chaque individu n'est donc pas un mélange exact de l'ADN de ses parents. Néanmoins, les spécialistes savent interpréter ces différences.

Par ailleurs, lorsque deux empreintes génétiques ne concordent pas, la conclusion est certaine : il s'agit de deux personnes distinctes. Au contraire, quand il y a concordance, on peut seulement parler de probabilité mais en aucun cas porter une conclusion définitive sur la seule base de l'ADN¹⁴.

A.3.2.2 – Analyse de l'ADN nucléaire

L'ADN nucléaire est présent dans chacune des cellules de notre organisme (à l'exception des globules rouges). Les marqueurs principalement utilisés sont les STR (*short tandem repeat*). Ces séquences sont appelées microsattellites, il s'agit de petites répétitions de motifs nucléotidiques très courts. Leur longueur et le nombre de nucléotides varient énormément d'un individu à l'autre. En général, quinze marqueurs STR non autosomaux (c'est-à-dire qu'ils

¹⁴ Rapport sur la valeur scientifique de l'utilisation des empreintes génétiques dans le domaine judiciaire de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques

sont présents sur les chromosomes non sexuels) sont utilisés pour un profil génétique. Ils ont été choisis car ils sont facilement amplifiables et à haute valeur discriminante¹⁵.

Un seizième marqueur STR est utilisé : il s'agit d'une région hypervariable du chromosome Y appelé STR-Y. De ce fait, il ne se retrouve pas chez les femmes. Comme il se transmet de père en fils, il permet d'identifier des lignées masculines.

Le gène de l'amélogénine, une protéine dentaire dont le gène se trouve sur les chromosomes X et Y, est également recherché afin de déterminer le sexe¹⁶.

Un autre type de polymorphisme peut également être utilisé : les SNP¹⁷ (*single nucleotide polymorphism*). Ce sont des mutations ponctuelles. Les SNP sont la forme la plus courante de variations génétiques dans le génome humain et ont l'avantage d'être moins sensibles à la dégradation de l'ADN que les autres marqueurs. Néanmoins, ils sont encore peu utilisés.

Les techniques ne cessent d'évoluer : rapidité, sensibilité... Actuellement, ce sont les puces à ADN qui sont en plein développement. « Ces nouvelles technologies sont déjà disponibles dans le domaine médical, elles le seront très prochainement dans celui de la criminalistique », estime le colonel Yvan Malgorn¹⁸. Le principe repose sur le fait de pouvoir réaliser des milliers de tests simultanément en une ou deux heures.

A.3.2.3 – Analyse de l'ADN mitochondrial

Lorsque l'ADN nucléaire est trop dégradé ou bien en quantité trop faible, les experts peuvent recourir à l'ADN mitochondrial. Comme son nom l'indique, cet ADN se trouve dans toutes les cellules au sein des mitochondries (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*). L'ADN mitochondrial a la particularité d'être circulaire et présent en milliers d'exemplaires. De ce fait, la probabilité d'en retrouver est plus grande. « Cela ne signifie pas pour autant qu'il est plus résistant »,

¹⁵Rapport sur la valeur scientifique de l'utilisation des empreintes génétiques dans le domaine judiciaire de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques

¹⁶ *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 50)

¹⁷ Id.

¹⁸ Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

estime Eva-Maria Geigl¹⁹, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod. Néanmoins, « la double membrane de la mitochondrie lui confère une protection supplémentaire », précise le colonel Yvan Malgorn²⁰.

Si l'ADN mitochondrial n'est pas plus utilisé, c'est parce qu'il fournit une information très partielle et ne permet pas d'identifier une personne de façon formelle. Effectivement, il est important de souligner que les mitochondries ne se transmettent que de mère à enfant, contrairement à l'ADN nucléaire qui vient de la mère et du père. De ce fait, l'analyse du génome mitochondrial permet uniquement d'identifier des lignées par voie maternelle.

L'analyse génétique de l'ADN mitochondrial permet d'élaborer un mitotype, autre type de profil génétique.

Vu l'évolution des autres méthodes, plus informatives, le colonel Yvan Malgorn²¹ affirme que « cette technologie sera de moins en moins employée. » L'analyse du génome mitochondrial reste néanmoins très utilisée dans le cadre de l'analyse de l'ADN ancien.

Par ailleurs, l'ADN mitochondrial est également utile pour les scènes de crime car certains tissus comme les cheveux (privés de leur racine) sont riches en mitochondries mais dépourvus d'ADN nucléaire.

A.3.3 – Séquençage

Les premières techniques de séquençage de l'ADN ont été développées à la fin des années 1970. Quand l'ADN est séquencé, la molécule est analysée du début à la fin, contrairement au profil génétique où l'on ne s'intéresse qu'à quelques régions. Néanmoins, la démarche est la même, les étapes décrites dans la partie précédente (*cf partie A.3.2 – Profil génétique*) sont identiques, à l'exception de la dernière.

19 Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

20 Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

21 Id.

Il existe de nombreuses méthodes de séquençage, elles ne seront pas décrites ici. En plus de l'électrophorèse, des techniques basées sur la spectrométrie de masse sont également employées. Dans les laboratoires spécialisés dans l'analyse de l'ADN ancien, les séquenceurs haut débit sont de plus en plus utilisés. Ils permettent d'analyser de très courts fragments d'ADN (inférieur à 50 paires de base).

A.4 – LES APPLICATIONS

A.4.1 – Police scientifique

La police scientifique utilise de manière systématique l'analyse des STR. La raison principale est que le Fichier national automatisé des empreintes génétiques (FNAEG) ne prend en compte que les profils génétiques établis à partir de cette méthode. Les marqueurs reconnus par le FNAEG sont spécifiés dans l'article 38 du code de procédure pénale.

Le FNAEG, commun à la police nationale française et à la gendarmerie nationale française, a été créé en 1998. Il se situe à Ecully (69). Il s'agit d'une base de données regroupant les profils génétiques élaborés au cours de différentes enquêtes, lesquels vont pouvoir être comparés à des personnes mises en cause dans une infraction ou bien à des personnes disparues. Il contient plus de 1,5 million de profils d'individus identifiés et environ 90 000 profils inconnus²² (janvier 2011). L'enregistrement des profils génétiques est encadré par la loi. Initialement, le FNAEG avait pour but d'enregistrer les profils génétiques des personnes mises en cause pour des infractions sexuelles. Au fil du temps, son champ d'application s'est élargi : « crimes contre l'humanité, crimes d'atteintes volontaires à la vie, actes de torture et de barbarie, violences volontaires, crimes constituant des actes de terrorisme mais aussi infractions de trafics de stupéfiants, de crimes et délits de vols, d'extorsions, de destructions, de dégradations et de détériorations, de menaces d'atteintes aux biens, d'associations de malfaiteurs, d'infractions sur les armes, de recel et de blanchiment du produit de l'une de ces infractions... »²³ Désormais sont donc enregistrés les profils génétiques de personnes condamnées ou mises en cause dans le cadre d'une enquête, des personnes non identifiées dont on a trouvé les traces sur une scène d'infraction mais également de personnes décédées ou disparues.

²² *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 51)

²³ Source : site du ministère de la justice

Le Service central de préservation des prélèvements biologiques (SCPPB) a été créé dans le cadre du décret relatif à la mise en œuvre du FNAEG (n° 2000-413 du 18 mai 2000). Situé à Cergy-Pontoise (95), il est rattaché à l'Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale (IRCGN). Son rôle est de conserver, pendant 40 ans, toutes les traces biologiques à partir desquelles les profils génétiques du fichier ont été établis, telles que des mégots de cigarette ou des mouchoirs.

Lorsque la trace biologique ne relève pas d'une scène de crime ou d'infraction, le prélèvement se fait grâce à des kits standards utilisés par l'ensemble des services en France. Ces kits permettent de relever des cellules buccales à l'intérieur de la joue grâce à une petite tige en mousse. Les cellules sont ensuite transférées sur un papier FTA. Ce support imprégné de produits spécifiques empêche la prolifération de micro-organismes. La présence de détergent permet de faire éclater les cellules et les noyaux pour libérer l'ADN, qui va diffuser sur le papier. Ce principe, en plus de permettre de sauter l'étape d'extraction de l'ADN, est également très pratique car l'ADN peut être récupéré par un personnel non médical, contrairement aux prises de sang.

« L'avantage d'un tel fichier [le FNAEG], c'est qu'il permet de relier des affaires entre elles, il met en évidence des liens qu'on n'aurait jamais soupçonnés autrement », indique le colonel Yvan Malgorn²⁴. Mais si les techniques sont de plus en plus sensibles et fiables, « le lien entre l'acte et le profil génétique doit être déterminé par l'enquête », précise le colonel.

A.4.2 – Identification de victimes

Les mêmes techniques que celles de la police scientifique sont utilisées pour identifier les victimes de catastrophes. Cela concerne les victimes de catastrophes naturelles ou accidentelles et celles de guerres ou de massacres. Le recours à l'ADN n'est pas systématique. Les autres procédés d'identification (relevé dentaire, empreintes digitales, etc.) sont d'abord mis en œuvre. Seul cas obligatoire : « lorsque le corps est polyfragmenté, comme dans un crash aérien très violent, car seule l'analyse génétique permet alors de remettre les différents fragments ensemble de façon à rendre un corps complet aux familles », indique le colonel

²⁴ Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

Yvan Malgorn²⁵. Sinon, le recours à l'ADN se fait souvent lorsque le corps a été incinéré ou qu'il a subi de fortes dégradations. L'analyse de l'ADN mitochondrial s'avère très intéressante lorsqu'il y a une liste bien définie de personnes à identifier, comme c'est le cas avec les crash aériens. Ainsi, on peut identifier des personnes par leur lignée maternelle.

Quelle que soit la situation, les profils génétiques doivent être comparés à ceux de leur parent, ascendant ou descendant, car la moitié du patrimoine génétique y est présent, ce qui n'est pas le cas entre frères et sœurs. Pour ce faire, les mêmes kits que ceux décrits précédemment pour le FNAEG (*cf* partie A.4.1 – *Police scientifique*) sont utilisés.

Généralement, les profils génétiques des personnes disparues ne sont pas enregistrés au FNAEG, car dans la majorité des cas les analyses sont faites rapidement. Mais dans les cas où, pour diverses raisons, l'analyse ne peut être effectuée, alors le profil est enregistré. Ainsi, une personne décédée ou disparue pourra être identifiée plusieurs années après, pour peu que le profil génétique de l'un de ses parents ait été réalisé pour procéder à la comparaison. Lorsqu'il s'agit de personnes disparues, le profil génétique peut être établi à partir d'objets personnels. Jusqu'à la loi LOPPSI (loi d'orientation et de programmation pour la performance de la sécurité intérieure) de mars 2011, il était impossible en France de procéder à l'identification de personnes disparues en dehors des procédures judiciaires. Cela posait problème pour identifier des personnes victimes de catastrophes naturelles. Désormais, la loi le permet.

Plusieurs années après, des victimes de dictature peuvent retrouver une identité avec l'analyse génétique. C'est le cas des victimes de la dictature argentine qui a sévi de 1976 à 1983. En 1984, une équipe argentine d'anthropologues, *Equipo Argentino de Antropología Forense* (EAAF), a été mise en place dans le but d'identifier les victimes qui ont disparu pendant cette dictature militaire. 1 200 corps ont été retrouvés. « En 1990, nous avons utilisé pour la première fois l'analyse génétique pour résoudre un cas, explique Luis Fondebrider²⁶, anthropologue et président de EAAF, les analyses ont été faites par des laboratoires de

25 Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

26 Luis Fondebrider, anthropologue et président de *Equipo Argentino de Antropología Forense*, réponse par mail reçue le 21 mai 2012

génétique américains et britanniques. »

Pour retrouver l'identité des victimes, l'équipe a fait appel aux familles de disparus pour établir leur profil. Ceci a permis de mettre en place une grande bases de données pour procéder aux comparaisons avec les victimes.

A côté de ces analyses scientifiques, l'identification de ces disparus a nécessité un véritable travail d'enquête, notamment pour localiser les corps des victimes. Certains n'ont d'ailleurs pas été retrouvés, ceux jetés à la mer par exemple. A ce jour, « 510 victimes ont été identifiées, dont la moitié grâce à l'analyse génétique, en complément d'autres techniques », estime Luis Fondebrider²⁷. Cela permet aux familles de faire leur deuil, après des années sans avoir de certitude sur le devenir de leur parent.

En France, c'est l'Unité nationale d'identification des victimes de catastrophes qui est en charge de l'identification des victimes. Elle est divisée en deux sections : l'Unité Police d'Identification des Victimes de Catastrophes (UPIVC) et l'Unité Gendarmerie d'Identification des Victimes de Catastrophes (UGIVC).

A.4.3 – Médecine

Le séquençage a permis d'identifier les gènes responsables de près de 2 000 maladies génétiques, telles que la myopathie, la mucoviscidose ou l'hémophilie.

Dans le domaine médical, « il y a deux circonstances pour lesquelles le recours à l'analyse génétique est primordial », indique le Pr Marc Delpech²⁸, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin de Paris. Le premier cas, c'est le conseil génétique en vue d'un diagnostic prénatal (DPN) ou d'un diagnostic pré-implantatoire (DPI), le second concerne le diagnostic chez l'enfant ou l'adulte.

Le conseil génétique se fait lorsqu'un cas de maladie particulièrement grave est retrouvé dans

²⁷ Luis Fondebrider, anthropologue et président de *Equipo Argentino de Antropología Forense*, réponse par mail reçue le 21 mai 2012

²⁸ Pr Marc Delpech, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin (Paris), rencontre le 2 mai 2012 (hôpital Cochin, Paris)

la famille. Les parents souhaitent alors savoir s'il y a un risque de transmettre la maladie à leur enfant. Si c'est le cas, alors ils peuvent demander un DPN ou un DPI. Les DPI concernent les maladies extrêmement graves, pour lesquelles l'espérance de vie est courte. Mais dans les deux cas, ce sont les mêmes techniques génétiques qui sont utilisées, excepté qu'elles sont plus sensibles pour le DPI. Il s'agit généralement du séquençage du génome, précédé d'une PCR.

Le DPI est réalisé sur l'embryon avant qu'il ne soit implanté dans l'utérus de la mère. Il se fait donc à la suite d'une fécondation *in vitro*. Dans ce cas, l'analyse génétique est effectuée sur deux cellules. Le choix de l'embryon implanté se porte alors sur un embryon sain. Le DPN est effectué bien plus tard, lorsque la grossesse est déjà commencée, aux environs de la neuvième semaine. L'analyse se fait alors sur du placenta d'origine fœtale. Les parents ont donc le choix de poursuivre la grossesse ou de procéder à une interruption volontaire de grossesse. Ce type de diagnostic est strictement encadré par la loi de bioéthique.

Actuellement, une nouvelle technique non invasive existe mais son application n'est pas encore généralisée. Elle est basée sur le fait que quelques cellules du fœtus circulent dans le sang de la mère. Ainsi une simple prise de sang permet de récupérer ces cellules. Du fait de l'extrême sensibilité des techniques de PCR, leur analyse est possible. Ainsi, une mutation spécifique d'une maladie peut être mise en évidence.

Cette méthode peut également permettre de déterminer le sexe de l'enfant et son facteur rhésus. Mais elle a encore besoin d'être perfectionnée pour que la distinction entre cellules de la mère et cellules du fœtus se fasse.

Le diagnostic de l'enfant ou de l'adulte se fait lorsqu'aucun autre moyen ne permet de confirmer le diagnostic de la maladie. Cela concerne par exemple la maladie périodique, autrement appelée fièvre méditerranéenne familiale. « Les symptômes sont fièvre, mal de ventre et mal aux articulations, mais aucun signe biologique ne permet de diagnostiquer cette maladie », explique le Pr Marc Delpech²⁹. Une complication de la maladie survient chez 20 % des personnes atteintes de cette pathologie : l'amylose. Il s'agit de dépôt qui détruisent les organes. Dès que l'amylose apparaît, l'espérance de vie des patients n'est plus que de cinq ans. « Le diagnostic de cette maladie est essentiel car il existe un traitement, la colchicine, qui

²⁹ Pr Marc Delpech, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin (Paris), rencontre le 2 mai 2012 (hôpital Cochin, Paris)

guérit le patient de l'amylose dans quasiment tous les cas, et qui la prévient systématiquement », affirme le Pr Marc Delpech³⁰.

L'analyse génétique semble également rendre possible la médecine prédictive. Le principe est basé sur le fait que chaque individu est unique et que, selon les circonstances, un caractère donné peut être soit un avantage soit un inconvénient. La médecine prédictive devrait concerner toutes les pathologies. L'objectif est de détecter des prédispositions génétiques pour telle ou telle maladie afin soit l'empêcher de se déclarer, soit de la retarder, soit de l'atténuer. Cela nécessite des outils de diagnostic précis avec un ou plusieurs tests génétiques. « Le risque doit être réel, mais ne doit pas toucher 90 % de la population. Il faut qu'il y ait une possibilité de traitement ensuite, mais aujourd'hui aucune maladie ne remplit ces critères », estime le Pr Marc Delpech. Néanmoins, la médecine prédictive fait de plus en plus parler d'elle et se pose comme l'avenir de la médecine. Certaines sociétés l'ont bien compris. Comme *23 and me*³¹ qui propose, moyennant 299 \$, d'analyser le code génétique de toute personne le souhaitant, à partir d'un échantillon salivaire. Leurs prédispositions génétiques à certaines maladies sont donc indiquées. De plus, les personnes sont informées régulièrement des dernières découvertes. « Ainsi, vous pouvez recevoir un mail vous informant que vous possédez le marqueur associé à telle maladie et que vous avez tel pourcentage de probabilité de la développer. Et cela affole les gens », s'inquiète le Pr Marc Delpech³².

A.4.4 – Test de paternité

Les tests de paternité reposent sur la méthode du profil génétique. Or l'établissement du profil génétique d'une personne est strictement encadré par la législation française (*cf partie A.2 – LEGISLATION*). En France, il est donc impossible de procéder à un test de paternité, à l'exception de deux situations particulières. La première dérogation possible peut être donnée par le juge d'instruction si une enquête judiciaire le justifie. Le test de paternité peut également être sollicité pour des raisons médicales.

30 Pr Marc Delpech, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin (Paris), rencontre le 2 mai 2012 (hôpital Cochin, Paris)

31 Le site de la société de biotechnologie : <https://www.23andme.com/>

32 Pr Marc Delpech, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin (Paris), rencontre le 2 mai 2012 (hôpital Cochin, Paris)

En dehors de ces cas, ceux qui souhaitent à tout prix effectuer ce test peuvent aisément contourner les lois françaises en passant par l'étranger. Effectivement, de nombreux pays l'autorisent dont des pays francophones tels que la Belgique ou la Suisse. De nombreux sites proposent ainsi d'effectuer un test de paternité, toujours à partir d'échantillons salivaires. Les conséquences psychologiques pour les enfants peuvent cependant être lourdes.

Les tests de paternité sont basés sur les STR (comme pour le FNAEG). Les profils de la mère, du père et de l'enfant sont établis pour être comparés. Effectivement, le profil génétique de la mère est nécessaire puisqu'il sert de témoin. La paternité ne peut être certifiée à 100 %, mais l'analyse peut montrer qu'elle est fortement probable.

A.4.5 – Migration et généalogie

23 and me ne se contente pas de prédire l'avenir, il donne également des informations sur les ancêtres. Effectivement, certains marqueurs de type SNP renseignent sur l'origine ethnogéographique des individus³³. Et comme vu précédemment, les marqueurs STR-Y et les marqueurs de l'ADN mitochondrial permettent respectivement de remonter les lignées paternelles et maternelles.

D'un point de vue législatif (*cf partie A.2 – LEGISLATION*), cela entre dans la catégorie « identifier des caractéristiques génétiques » et ne peut donc être mis en place que dans le cas de recherche scientifique ou médicale, mais pas judiciaire.

Connaître les origines de l'Homme, c'est l'objectif du projet Genographic mené par Spencer Wells, généticien, anthropologue et explorateur de National Geographic. Avec une équipe de scientifiques internationaux, le projet a pour but de « cartographier le voyage génétique de l'Homme à travers les âges. »³⁴ Les personnes du monde entier sont invitées à acheter un kit d'analyse pour faire parler leur ADN et également participer et aider un projet de grande envergure. Le projet lancé en avril 2005 devait durer cinq ans. « Le projet a été prolongé car plus nous avons travaillé, plus nous avons analysé de populations, plus de nouvelles questions sont apparues », explique le Dr Lluís Quintana-Murci³⁵, directeur de l'unité de Génétique

³³ *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 50)

³⁴ Le site Genographic: <https://genographic.nationalgeographic.com/genographic/index.html>

³⁵ Dr Lluís Quintana-Murci, directeur de l'unité de Génétique évolutive humaine de l'Institut Pasteur et directeur européen du projet Genographic, réponse reçue par mail le 2 juin 2012

évolutive humaine de l'Institut Pasteur et directeur du projet Genographic pour l'Europe de l'Ouest et du Centre. « Concernant mon laboratoire, nous avons tout particulièrement travaillé sur les populations basques. Les analyses ont été faites à partir de 908 échantillons d'ADN mitochondrial recueillis auprès d'individus dont les quatre grands-parents sont nés dans une même zone des Pyrénées occidentales. Cette étude a confirmé l'hypothèse d'une continuité génétique partielle entre les populations basques contemporaines et celles ayant occupé la région au mésolithique. Nous avons pu identifier six haplogroupes caractéristiques des populations concernées. Nous avons également pu dater la séparation de cette population avec l'ensemble génétique pan-européen : il y a environ 8 000 ans ».

A.4.6 – Paléogénétique

« La paléogénétique correspond à l'étude des organismes éteints et plus précisément à l'analyse des traces d'ADN préservées au cours du temps et qui sont les témoins d'une étape évolutionnaire », explique Eva-Maria Geigl³⁶, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod.

Les traces d'ADN sont souvent retrouvées dans les fossiles ou bien dans les os et les dents. Effectivement, l'ADN se conserve relativement bien dans les os et les dents car ils sont calcifiés. « Dans les tissus durs, on retrouve une molécule appelée l'hydroxyapatite, il s'agit d'un cristal de calcium qui est chargé positivement. Nous pensons que cela piège l'ADN, qui est chargé négativement et cela permet sa conservation », indique Christine Keyser³⁷ du laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg.

Par contre, des traces ADN ne sont retrouvées dans les tissus mous que dans des conditions bien particulières, du type permafrost et momie.

En paléogénétique, l'analyse du génome mitochondrial est plus courante que celle du génome nucléaire, du fait que l'ADN mitochondrial se retrouve plus facilement.

36 Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

37 Dr Christine Keyser, docteur en biologie moléculaire au laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg et à l'institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg, entretien téléphonique le 18 mai 2012

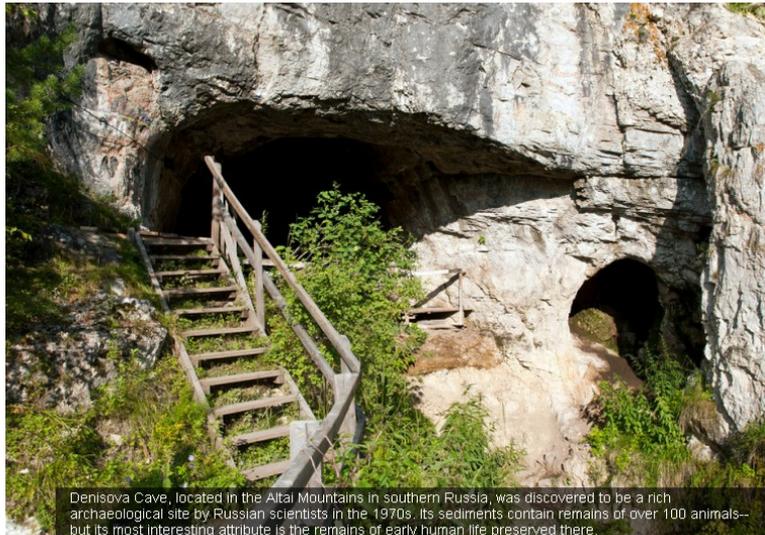
Les applications de ce domaine de recherche sont diverses : phylogénie, évolution biologique et culturelle, migration des populations et même domestication des animaux.

L'étude de l'ADN ancien nécessite des conditions particulières (*cf partie C – **LES LIMITES DE L'ANALYSE DE L'ADN ANCIEN***).

B- QUAND L'ANALYSE GENETIQUE SE MÊLE AUX ENQUÊTES HISTORIQUES

B.1 – HOMME DE DENISOVA³⁸³⁹

En 2008, un os correspondant à la phalange d'un auriculaire a été retrouvé dans la grotte de Denisova dans les montagnes de l'Altai, dans le sud de la Sibérie. Ce petit bout d'os a permis, pour la première fois, d'identifier une nouvelle espèce humaine uniquement à partir de l'analyse génétique. Il appartiendrait à une petite fille âgée de sept ans.



La grotte de Denisova © Lisa Raffensperger, National Science Foundation

La strate où l'os a été retrouvé date de 30 000 à 48 000 ans. A cette période, les scientifiques estiment que deux espèces vivaient : l'Homme de Néandertal et Homo Sapiens (en d'autres termes, l'Homme moderne).

Une équipe internationale menée par Johannes Krause de l'Institut Max Planck pour l'anthropologie évolutionniste de Leipzig (Allemagne) a procédé, dans un premier temps, au séquençage de l'ADN mitochondrial. Cette analyse a fait l'objet d'une publication dans la revue *Nature* le 8 avril 2010⁴⁰.

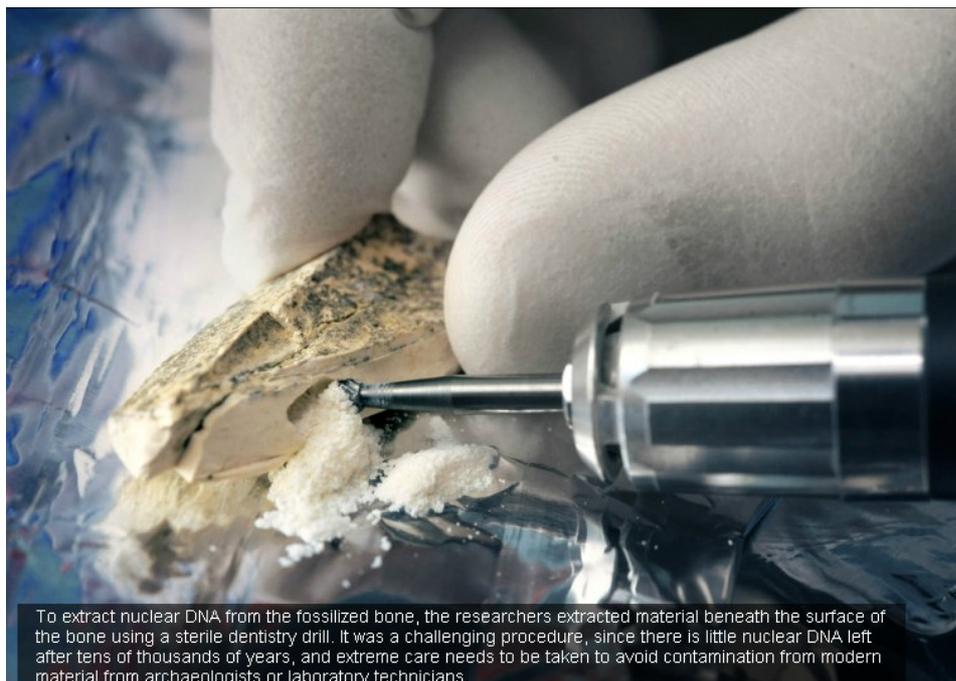
La phalange était extrêmement bien conservée et la quantité d'ADN retrouvée exceptionnelle.

38 Johannes Krause et al, *The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia*, *Nature*, 8 avril 2010, vol 464

39 David Reich et al, *Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia*, *Nature*, 23 / 30 décembre 2010, vol 468 n° 1053

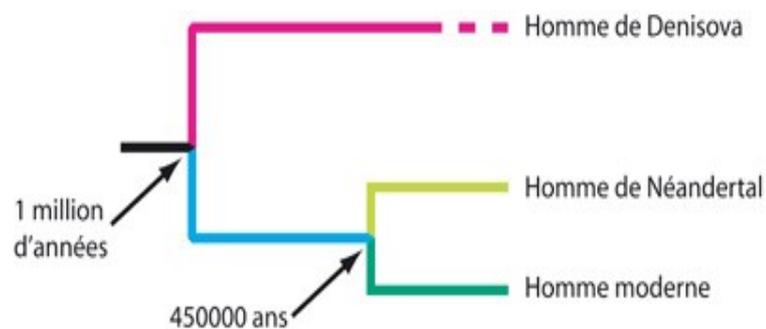
40 Johannes Krause et al, *The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia*, *Nature*, 8 avril 2010, vol 464

Effectivement, 70 % d'ADN a pu être récupéré.



Extraction de l'ADN à partir de l'os © Lisa Raffensperger, National Science Foundation

La séquence de l'ADN mitochondrial a été comparée à l'ADN mitochondrial de : 54 Hommes actuels, un Homme moderne de la fin du Pléistocène, six Hommes de Néandertal, un bonobo et un chimpanzé. La comparaison révèle des similitudes entre ADN dénisovien, néandertalien et celui de l'Homme moderne, mais également suffisamment de différences pour que les chercheurs envisagent sérieusement la découverte d'une nouvelle lignée humaine qui aurait cohabité avec l'Homme de Néandertal et l'Homme moderne. Ces « nouveaux Hommes » sont désignés sous le terme « dénisoviens », en référence à l'endroit où la phalange a été trouvée.



©François Savatier / Pour la science

Les scientifiques estiment que l'ancêtre commun à l'Homme de Denisova, à celui de Néandertal et à l'Homme moderne remonte à un million d'années. Par ailleurs, l'Homme

moderne et l'Homme de Néandertal ont divergé il y a 450 000 ans.

L'analyse de l'ADN mitochondrial d'une dent trouvée au même endroit que la phalange a été réalisée. Le génome de la dent est fortement similaire à celui de la phalange, suggérant qu'ils appartiennent à la même espèce. Cependant, seulement 0,17 % d'ADN a pu être récupéré sur la dent, alors qu'elle était conservée dans les mêmes conditions. Les chercheurs peinent à expliquer l'excellente conservation de la phalange.



La dent retrouvée sur le site de Denisova © Lisa Raffensperger, National Science Foundation

Par ailleurs, cette excellente conservation a permis aux scientifiques de procéder également à l'analyse du génome nucléaire et donc de compléter les informations données par l'ADN mitochondrial. Les résultats de cette seconde analyse ont été publiés dans la revue *Nature* le 23 décembre 2010⁴¹.

Par chance, l'analyse de l'ADN nucléaire confirme les conclusions de l'analyse du génome mitochondrial et apporte des précisions grâce à des comparaisons avec Hommes actuels et Néandertal. Les dénisoviens seraient plus proches de Néandertal du point de vue de l'ADN nucléaire que de Sapiens.

41 David Reich et al, *Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia*, *Nature*, 23 / 30 décembre 2010, vol 468 n° 1053

Les comparaisons avec le génome nucléaire d'Hommes actuels a permis de mettre en évidence le fait que 4 à 6 % du génome des mélanésiens vient du génome dénisovien, la Mélanésie étant l'un des trois grands groupes d'îles de l'Océan Pacifique, appartenant à l'Océanie. Par ailleurs, la même équipe de chercheurs avait précédemment montré que 1 à 4 % du génome de l'Homme actuel (à l'exception des populations subsahariennes) serait commun à l'Homme de Néandertal⁴² (une équipe avait d'abord annoncé en 1997⁴³ dans la revue *Cell* que le génome de l'Homme moderne ne portait aucune trace de celui de Néandertal, avant de reconnaître leur erreur due à des contaminations).

« Quand la population Homo Sapiens est partie d'Afrique, elle a rencontré Néandertal au proche Orient. Un premier métissage a eu lieu. Une population a ensuite migré vers l'Asie du sud et s'est mélangée aux dénisoviens. Deux mélanges sont donc à l'origine du génome des mélanésiens actuels », explique Eva-Maria Geigl⁴⁴, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod.

Elle ajoute : « c'est une histoire incroyable, on ne se doutait absolument pas de l'existence de cette lignée ». Elle concède cependant que « les anthropologues demeurent sceptiques car aucun autre os n'a été retrouvé. »

B.2 – TOUTANKHAMON⁴⁵

Le célèbre Toutankhamon est le onzième pharaon de la XVIII^{ème} dynastie d'Égypte (1550-1295 avant Jésus-Christ*). Il serait né aux alentours de 1345 et est mort à l'âge de 19 ans. Il ne succède pas directement à son père Akhenaton, probablement du fait de son trop jeune âge au moment de la mort de son père. Il accédera néanmoins au trône à l'âge de 9 ans, à la suite de la mort du successeur de son père, Smenkhkarê.

42 Green, R.E et al. *A draft sequence of the Neandertal genome*. *Science*, 328, 710-722 (2010)

43 Matthias Krings et al *Neandertal DNA sequences and the Origin of Modern Humans*. *Cell*, 50(2) pp. 311 – 317, 11 juillet 1997

44 Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

45 Zahi Hawass et al, *Ancestry and Pathology in King Tutankhamun's Family*, *JAMA*, 17 février 2010, Vol 303, n°7

* Tous les chiffres varient d'une source à l'autre.



Masque mortuaire de Toutankhamon ©Jon Bodsworth

La découverte de la tombe de Toutankhamon en 1922 par l'archéologue britannique Howard Carter ajoutera plus de questions que de réponses sur la vie du jeune pharaon. C'est cette découverte, dévoilant un sarcophage en or et un riche trésor de plus de 2 000 objets, qui le rendit célèbre, notamment par la supposée malédiction, en partie relayée par les journalistes, qui l'entoura. Effectivement, plusieurs personnes impliquées dans la découverte de la tombe sont mortes de façon étrange dans les années qui ont suivi. La première « victime » est Lord Carnarvon, égyptologue britannique, commanditaire des fouilles dans la vallée des rois. Il est mort au Caire en 1923 suite à des piqûres de moustique.

La mort de Toutankhamon marque la fin de son court règne et la fin de la XVIII^{ème} dynastie. Les raisons de sa mort feront l'objet de nombreuses hypothèses, et nombreuses sont celles qui suggéraient un assassinat, notamment depuis la découverte en 1969 d'un trou à l'arrière de son crâne. Puis en 2005, un scanner met en évidence une fracture non cicatrisée sur sa jambe gauche. L'hypothèse de l'accident de char est alors mise en avant.

De plus, à la fin de la XVIII^{ème} dynastie, règne un chaos dû à une crise politique majeure, à l'origine d'hypothèses diverses sur les liens de parenté au sein de la lignée royale ainsi que des

prétendues maladies de Akhenaton et de Toutankhamon⁴⁶.

Une récente étude égyptienne a, semble-t-il, mis fin à certaines interrogations. Menée par Zahi Hawass, alors secrétaire général du Conseil suprême des antiquités d'Égypte, une équipe de scientifiques a analysé pendant près de deux ans, de 2007 à 2009, seize momies grâce à des techniques d'imagerie et d'analyse génétique. Parmi ces seize momies : celle de Toutankhamon, dix censées lui être apparentées, et cinq autres, plus anciennes permettant une comparaison morphologique et génétique.

Zahi Hawass tenait à ce que les analyses soient effectuées en Égypte. Il a donc fallu attendre que le pays fasse l'acquisition d'un laboratoire d'analyse génétique, grâce à Discovery Channel⁴⁷. Les résultats de l'étude⁴⁸ ont été dévoilés le 17 février 2010 au musée du Caire par Zahi Hawass et ont été publiés dans la revue scientifique *The Journal of the American Medical Association*.

La plus grande surprise vient de la mère de Toutankhamon. Alors que nombre de spécialistes s'accordaient à dire que la mère du pharaon était Néfertiti, l'épouse d'Akhenaton, les résultats de l'analyse ADN révèlent de tout autres résultats. Sa mère serait en fait l'une des sœurs d'Akhenaton. Surnommée Young Lady, sa momie est identifiée sous le matricule KV35YL (pour King Valley (lieu de la découverte), tombe n°35, Young Lady).

Par ailleurs, deux fœtus de cinq et sept mois avaient été retrouvés dans la tombe de Toutankhamon. La comparaison de leur profil génétique avec celui du pharaon a mis en évidence sa paternité (probabilité de plus de 99 %). Cependant, les analyses n'ont pu identifier la mère des fœtus.

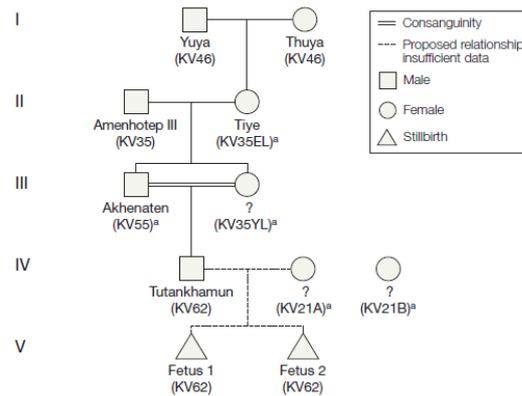
Pour établir la généalogie, les scientifiques ont utilisé la méthode de l'empreinte génétique par STR.

46 *Science & Vie*, avril 2010, n° 1111, Dossier Toutankhamon : ils ont fait parler son ADN ! (p 22)

47 *Id.*(p 24)

48 Zahi Hawass et al, *Ancestry and Pathology in King Tutankhamun's Family*, *JAMA* ,17 février 2010, Vol 303, n°7

Figure 2. Pedigree Showing the Genetic Relationships of the Tested 18th-Dynasty Mummies



La généalogie de Toutankhamon établie par l'analyse génétique © Zahi Hawass et al (*JAMA*)

Les analyses ont également mis fin aux différentes hypothèses concernant la mort du jeune Toutankhamon. Les représentations du pharaon montrent généralement des traits féminins, laissant à penser qu'il souffrait d'une maladie génétique telle que le syndrome de Marfan. Les données radiologiques ont apporté de nouveaux éléments : déformation de la colonne vertébrale, léger pied-bot à gauche... Aucun de ces signes ne suggère un syndrome de Marfan. En revanche, les traces de dégénérescence osseuse observées au niveau du pied gauche ont amené les spécialistes à supposer une maladie de Köhler II, maladie inflammatoire détruisant certains os. De plus, les nombreuses cannes retrouvées dans sa tombe appuient cette hypothèse. Quant aux analyses génétiques, elles ont mis en évidence le gène *Plasmodium falciparum* chez Toutankhamon, attestant qu'il souffrait du paludisme.

Sa fracture à la jambe associée à la maladie de Köhler et au paludisme aurait donc eu raison du célèbre pharaon.

Si ces résultats ont fait le tour du monde et ont apporté un regard nouveau sur la généalogie égyptienne, ils sont grandement contestés par la communauté scientifique spécialisée dans l'étude de l'ADN ancien.

Pour Eva-Maria Geigl⁴⁹, le manque de fiabilité des résultats ne fait aucun doute. « Je suis très sceptique concernant les résultats qu'ils ont trouvé compte tenu des techniques employées. La technique des STR nécessite un ADN bien conservé, alors que là, la momie était dans un

⁴⁹ Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

environnement chaud et sec. Cela n'a pu donner ces résultats. » Elle déplore également le fait que le séquençage à haut débit n'ait pas été utilisé. Christine Keyser⁵⁰ du laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg a également un avis sévère : « Déjà, je ne suis pas sûre qu'il n'y ait pas eu de contaminations et en plus, à partir des résultats qu'ils ont obtenus, ils ne peuvent absolument pas en tirer ces conclusions. » Morgane Ollivier⁵¹ du laboratoire de Paléogénomique et Evolution Moléculaire de Lyon, a un avis moins tranché, mais regrette le manque d'informations sur la méthodologie utilisée. « On ne sait même pas quels marqueurs ont été utilisés. On ne sait pas non plus quelles précautions ont été prises pour éviter les contaminations. Peut-être qu'elles ont été prises mais du coup on est amené à douter de l'authenticité des résultats. ».

Et si pour l'égyptologue Alain Zivie⁵² les résultats semblent tout à fait acceptables d'un point de vue historique, il parle volontiers d'un « show scientifico-archéologique et d'un coup médiatique. » Cependant, il n'est pas d'accord sur un point. Pour lui, il n'est pas impossible que Young lady soit Néfertiti. Effectivement, à cette époque, il était courant de changer de nom. « On ne peut donc pas garantir les noms associés aux momies à 100 % », estime-t-il.

B.3 – LOUIS XVII⁵³⁵⁴

Louis-Charles de France, alias Louis XVII, est né le 27 mars 1785 à Versailles et est mort le 8 juin 1795, victime de la Révolution française. Fils de Louis XVI et de Marie-Antoinette, il a deux aînés, un frère et une sœur, ainsi qu'une petite sœur, décédée avant l'âge d'un an.

50 Dr Christine Keyser, docteur en biologie moléculaire au laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse (Strasbourg), entretien téléphonique le 18 mai 2012

51 Morgane Ollivier, enseignant-chercheur (ATER) à l'Institut de Génétique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon), entretien téléphonique le 18 mai 2012

52 Alain Zivie, égyptologue, directeur de recherche (CNRS) et chef de la mission archéologique française de Bubasteion de Saqqara, rencontre le 27 avril 2012 (café de la mairie, place Saint Sulpice, Paris)

53 Els Jehaes et al, *Mitochondrial analysis on remain of a putative son of Louis XVI, King of France and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (1998) 6, 383-395

54 Els Jehaes et al, *Mitochondrial DNA analysis of the putative heart of Louis XVII, son of Louis XVI and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (2001) 9, 185-190



*Portrait de Louis-Charles de France,
par Alexandre Kucharski (1792), château de Versailles.*

Dès le mois d'août 1792, à la suite de l'abolition de la monarchie, la famille royale est enfermée dans la Tour du Temple. Le roi Louis XVI est guillotiné le 21 janvier 1793 et Marie-Antoinette sera exécutée à son tour le 16 octobre de la même année. Après la mort de son père, Louis XVI devient l'héritier de la couronne de France, son frère ayant succombé à une tuberculose osseuse en 1789.

Dès l'été 1793, le jeune Louis XVII est séparé de sa mère et confié au cordonnier Simon. « Il a été mis entre les mains de ce cordonnier, un révolutionnaire, pour en faire un républicain », explique l'historien et journaliste Philippe Delorme⁵⁵. Cependant, le cordonnier Simon est contraint de quitter le Temple et est lui-même guillotiné en 1794. Dès janvier de cette année-là commence une période d'« emmurement » pour le jeune roi. « Pendant six mois, personne ne s'est occupé de lui, il était livré à lui-même. Il va vivre dans la crasse et se laisser dépérir. On lui apporte à manger mais ni sa chambre ni ses vêtements ne sont nettoyés. Sa sœur aînée, également enfermée, s'est mieux prise en main du fait de ses sept ans de plus », raconte l'historien⁵⁶.

Dans ces conditions, la tuberculose dont souffre Louis XVII va s'aggraver considérablement. A partir de juillet 1794, il retrouve de meilleures conditions de vie, mais il restera fragilisé par cet isolement. « Il est brisé physiquement et psychologiquement, il va dépérir lentement jusqu'à sa mort le 8 juin 1795 », poursuit Philippe Delorme⁵⁷. Dès le lendemain, le corps du jeune Louis XVII tout juste âgé de dix ans est autopsié par un groupe de médecins mené par

⁵⁵ Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

⁵⁶ Id.

⁵⁷ Id.

le Dr Philippe-Jean Pelletan, chirurgien en chef de l'Hôtel Dieu. Le chirurgien a profité de ce moment pour prélever le cœur de Louis XVII, qu'il place ensuite dans un vase de cristal rempli d'éthanol. Après quelques années, l'évaporation de l'alcool laisse un cœur desséché. Après être passé de mains en mains, le cœur supposé de Louis XVII est confié au duc de Bauffremont, président du mémorial de France à Saint-Denis afin qu'il retrouve sa place dans la nécropole des rois de France de la basilique Saint-Denis.



Cœur de Louis XVII en 1999 avant les prélèvements ©Philippe Delorme

Cependant, de nombreuses rumeurs ont circulé sur la mort du jeune Louis XVII. « L'énigme du Temple est une des énigmes de la petite histoire de France, comme le Masque de fer. Elle a passionné des générations d'historiens », indique Philippe Delorme⁵⁸. L'historien Georges Bordonove estime que le jeune roi est mort en 1794 et qu'il aurait été échangé avec un autre enfant, mort en 1795. D'autres hypothèses suggèrent que Louis XVII ne serait pas mort au Temple. Là, encore, il aurait été échangé avec un autre enfant, qui, lui serait mort au Temple.

Cette rumeur eut la vie longue. Et nombre d'imposteurs ont prétendu être Louis XVII. Le plus célèbre d'entre eux est le prussien Karl-Wilhelm Naundorff. Il parvient à convaincre un certain nombre de personnes et laisse des descendants persuadés de sa légitimité. Il est enterré à Delft en 1845.

⁵⁸ Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

« Au moment du bicentenaire de la mort de Louis XVII, j'ai écrit un livre sur sa vie et sa mort. J'en arrivais déjà à la conclusion que, très certainement, il y avait une grande probabilité que c'était bien Louis XVII qui était mort au Temple. J'ai donc réalisé une enquête historique sur le parcours du cœur, explique Philippe Delorme⁵⁹. L'idée était ensuite d'utiliser l'analyse génétique pour apporter un point décisif à cette enquête. » Cette analyse historique et génétique a ainsi mis fin à deux siècles d'hypothèses diverses et variées.

Le duc de Bauffremont, alors propriétaire du cœur présumé de Louis XVII a donné son accord à Philippe Delorme pour procéder aux analyses. « Les analyses ont été effectuées par des laboratoires étrangers, afin qu'ils n'aient pas d'idées préconçues sur la question », affirme Philippe Delorme⁶⁰. Deux laboratoires ont donc été en charge de l'analyse : l'équipe de Jean-Jacques Cassiman du Centre de génétique humaine de l'Université de Louvain (Belgique) et l'équipe de Bernd Brinkmann de l'Institut de Médecine légale de l'université de Muenster (Allemagne).

Par ailleurs, l'équipe de Jean-Jacques Cassiman était toute désignée puisqu'elle avait déjà effectué des analyses génétiques sur Naundorff⁶¹, dont les résultats sont parus en 1998 dans la revue *European Journal of Human Genetics*. Pour cela son ADN – il avait été exhumé dans les années 50 et son humérus avait été prélevé - à celui des Habsburg (famille de Marie-Antoinette). L'ADN de Marie-Antoinette et de ses sœurs ainsi que celui de descendants actuels d'une de ses sœurs par lignée maternelle a permis la comparaison. Effectivement, les profils génétiques ont été établis à partir de l'analyse du génome mitochondrial. Au grand regret des descendants de Naundorff, l'analyse a montré formellement qu'il ne pouvait s'agir d'un descendant de Marie-Antoinette.

L'ADN de Marie-Antoinette a été prélevé sur des mèches de cheveux. Effectivement, « la mère de Marie-Antoinette avait seize enfants et elle gardait de chacun des mèches de cheveux dans un médaillon », explique Jean-Jacques Cassiman⁶². Ceux-ci ont été légué à un musée autrichien. Jean-Jacques Cassiman précise : « Les cheveux étaient sans racine donc nous ne

59 Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

60 Id.

61 Els Jehaes et al, *Mitochondrial analysis on remain of a putative son of Louis XVI, King of France and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (1998) 6, 383-395

62 Pr Jean-Jacques Cassiman, généticien au Centre de génétique humaine de l'Université de Louvain (Belgique), entretien téléphonique le 22 mai 2012

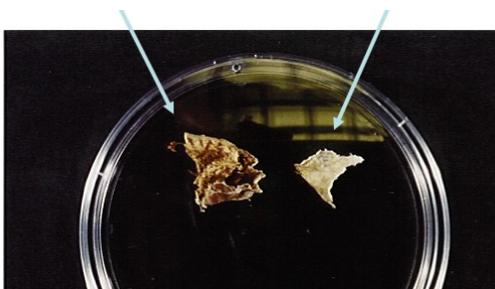
pouvions faire que l'analyse du génome mitochondrial. »



Rosaire avec les médailles contenant les cheveux de Johanna-Gabriela et Maria-Josepha, deux sœurs de Marie-Antoinette © Els Jehaes, Jean-Jacques Cassiman et al

Des échantillons de André de Bourbon-Parme (encore vivant au moment des analyses) et de sa sœur Anne de Roumanie, descendants en lignée féminine de la sœur de Marie-Antoinette, ont permis également la comparaison (aussi bien avec Naundorff qu'avec le cœur de Louis XVII) (cf *annexe 3 : généalogie des Habsburg*).

Les deux laboratoires ont donc effectué la comparaison de l'analyse du cœur de Louis XVII, de façon indépendante, avec ces échantillons. Les résultats ont été publiés dans la revue *European Journal of Human Genetics* en 2001⁶³. A chacun, il leur a été donné un échantillon de la pointe du cœur et un autre de l'aorte. Notons que l'analyse morphologique du cœur présumé était parfaitement cohérente avec la description qu'en avait faite le chirurgien Pelletan dans un document écrit. Il y mentionnait en effet le fait qu'il avait laissé une partie de l'aorte, ce qui est bien le cas.



A gauche, un morceau du cœur; à droite, un morceau de l'aorte

© Els Jehaes, Jean-Jacques Cassiman et al

⁶³ Els Jehaes et al, *Mitochondrial DNA analysis of the putative heart of Louis XVII, son of Louis XVI and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (2001) 9, 185-190

« Le cœur avait tellement durci qu'il a fallu utiliser une scie chirurgicale pour prélever les échantillons. C'était d'ailleurs très surprenant de voir qu'il y avait encore de l'ADN dedans », reconnaît Jean-Jacques Cassiman⁶⁴. Néanmoins, « nous avons pris toutes les précautions nécessaires et fait suffisamment de contrôles pour être certains des résultats qu'on a obtenu. » Et ils sont formels : le cœur est celui d'un descendant de Marie-Antoinette. L'analyse génétique ne permet pas d'en dire plus et ne peut identifier spécifiquement Louis XVII. Mais l'analyse morphologique permet également de dire qu'il s'agit du cœur d'un enfant. Le doute peut persister néanmoins. Peut-il s'agir du cœur du frère de Louis XVII, le jeune Louis-Joseph de France mort à l'âge de 8 ans ? Génétiquement parlant oui, mais l'enquête historique a montré que le cœur de Louis-Joseph avait subi un traitement bien différent. « Comme ceux des autres princes au Val de Grâce, son cœur a été embaumé selon les méthodes traditionnelles : fourré d'aromates, entouré de bandelettes... Rien à voir avec le mode de conservation de celui de Louis XVII », explique Philippe Delorme⁶⁵.

« Dans ce genre d'enquête, il est nécessaire qu'une enquête historique soit préalablement effectuée pour établir les faits. Dans le cas de Louis XVII, il fallait savoir ce qu'il s'était passé au Temple, comment il vivait, se demander si une évasion était plausible, et si oui, à quel moment, etc. Et là, j'arrivais déjà à la conclusion qu'il y a de très grande chance que le cœur soit bien celui de Louis XVII, précise l'historien⁶⁶. L'analyse ADN a apporté la pièce du puzzle qui manquait pour parvenir à cette conclusion quasiment définitive. »

Identifié, le cœur a été remis à l'État et a trouvé une place officielle à la Basilique Saint-Denis.

64 Pr Jean-Jacques Cassiman, généticien au Centre de génétique humaine de l'Université de Louvain (Belgique), entretien téléphonique le 22 mai 2012

65 Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

66 Id.

B.4 – LA DERNIERE FAMILLE ROMANOV⁶⁷



La famille Romanov : le tsar Nicolas II, entouré de son épouse Alexandra, de ses filles Olga, Tatiana, Maria et Anastasia et de son fils Alexeï

La Révolution russe de février 1917 conduit au renversement du régime tsariste. Le tsar Nicolas II de Russie se voit contraint d'abdiquer le 15 mars 1917 en faveur de son frère, le grand duc Michel. Celui-ci renonce au trône, ce qui marque la fin des Romanov au pouvoir. Plus tard, c'est la Révolution d'octobre 1917 qui amène les bolcheviks et Lénine au pouvoir.

Quant à la famille impériale, elle est emmenée à Tobolsk avant d'être séquestrée puis exécutée par les bolcheviks dans la villa Ipatiev à Iekaterinbourg dans la nuit du 16 au 17 juillet 1918. Le tsar et son épouse Alexandra Feodorovna avaient cinq enfants : Olga, Tatiana, Maria, Anastasia et Alexeï.

Lors du massacre, onze personnes ont été tuées de façon barbare : balles dans la tête, baïonnette... En plus des sept membres de la famille, le médecin de la famille, le Dr Botkine, et trois serviteurs ont également été assassinés. Pour masquer le crime, les corps sont transportés hors de la ville. Ils sont tout d'abord jetés dans un puits de mine. Le lendemain, ils sont enterrés, arrosés d'acide sulfurique et partiellement brûlés.

Dès lors, les rumeurs commencent à se propager sur le devenir des Romanov du fait que les

⁶⁷ Evgeny I. Rogayev et al, *Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family*, PNAS, 31 mars 2009, vol 106, n°13

corps n'ont pas été retrouvés. Durant quasiment un siècle, chacun ira de ses hypothèses, dont la plus récurrente est la survie de la jeune Anastasia. Cette énigme sera à l'origine de nombreuses fictions.

Plusieurs jeunes filles se feront passer pour Anastasia Nikolaïevna de Russie, telles qu'Eugénia Smith et Anna Anderson.

La première fera preuve de persévérance malgré un passage au détecteur de mensonge qui la discrédite tout autant que des tests anthropologiques et graphologiques. Elle refusa d'ailleurs les tests ADN.

La seconde, Anna Anderson⁶⁸⁶⁹, est la plus célèbre. Sa première apparition connue remonte à 1920, alors qu'elle tenta de se noyer à Berlin. Sans papier et refusant de donner son identité, elle est internée dans un asile, où elle finira par raconter qu'elle est la grande duchesse Anastasia et qu'elle a été sauvée du massacre par un garde du nom d'Alexander Tchaikovsky, dont elle aurait eu un enfant. Néanmoins, il ne semble pas y avoir de trace de ce Tchaikovsky. Elle se fait passer pour Anastasia jusqu'à sa mort en 1984. Durant sa vie, certains croiront en elle, du fait qu'elle aurait donné des éléments très précis de la vie d'Anastasia. Elle sera même identifiée par certaines personnes qui ont connu la grande duchesse Anastasia, comme la fille du Dr Botkine, mort avec la famille impériale. Mais elle ne fut jamais reconnue officiellement comme étant Anastasia. Le fait qu'elle ait été incinérée laissait penser qu'il serait impossible de récupérer son ADN pour procéder à des analyses.

Néanmoins, elle fut opérée en 1970 à l'hôpital Martha-Jefferson de Charlottesville. Des échantillons de tissus avaient été prélevés pour des analyses et auraient été retrouvés en 1994. L'analyse génétique de ces tissus mit définitivement fin aux affabulations d'Anna Anderson. Elle serait en fait une ouvrière polonaise du nom de Francisca Schanzkowska disparue en 1916.

En 1991, alors que le mystère des Romanov demeure, des fouilles officielles ordonnées par

68 James Watson, ADN, le secret de la vie, Editions Odile Jacob Sciences (2003), extraits disponibles sur Google livres (p 296)

69 Nicolas Ross, *La mort du dernier tsar : la fin d'un mystère*, Editions L'AGE D'HOMME (2001), extraits disponibles sur Google livres.(p 263)

Boris Eltsine, président de la Russie, sont entreprises. Des ossements sont retrouvés dans une fosse près de Iekaterinbourg dans l'Oural et sont exhumés. Neuf corps ont été identifiés. Des analyses génétiques sont effectuées par le laboratoire britannique de médecine légale d'Aldermaston dirigé par les Dr Peter Gill et Pavel Ivanov⁷⁰ (la même équipe qui a procédé aux analyses sur les tissus d'Anna Anderson) et un laboratoire américain. Nicolas II, sa femme et ses trois filles sont clairement identifiés. Les quatre autres corps sont ceux du médecin et des serviteurs.

La tsarine et ses filles ont pu être identifiées en comparant leur ADN mitochondrial⁷¹⁷² à celui du duc d'Edimbourg, le mari de la reine Elisabeth II du Royaume Uni. Effectivement, Alexandra Feodorovna et Philip Mountbatten sont tous les deux des descendants de la Reine Victoria. Alexandra est sa petite-fille et sa sœur Victoria de Hesse-Darmstadt est la grand-mère du duc d'Edimbourg (*cf annexe 4 : généalogie des Romanov*).

Quant à l'ADN du tsar⁷³⁷⁴, il a d'abord été comparé à deux échantillons d'ADN : l'un de Madame Ksenia Sfiris, arrière petite-fille de la princesse Irène, nièce de Nicolas II, l'autre de James Bannerman Carnegie, troisième duc de Fife, issu de la lignée maternelle de Louise de Hesse-Cassel, grand-mère maternelle de Nicolas II (*cf annexe 4 : généalogie des Romanov*). Cependant, si une concordance était évidente, des différences provoquent une polémique. L'ADN du tsar fut donc également comparé à celui de son frère, Georges Alexandrovitch de Russie. Il est décédé de la tuberculose en 1899 et son corps a été exhumé de la nécropole impériale de Saint-Pétersbourg pour qu'un prélèvement de son ADN puisse être effectué. Cette comparaison mit en évidence une particularité génétique au niveau de la séquence d'ADN mitochondrial des deux frères, héritée de leur mère. Il s'agit de l'hétéroplasmie⁷⁵. Cela

70 Nicolas Ross, *La mort du dernier tsar : la fin d'un mystère*, Editions L'AGE D'HOMME (2001), extraits disponibles sur Google livres.(p 64)

71 N. Lannoy et C. Hermans, *La maladie royale était-elle une hémophilie A ou B ?*, *Louvain Med.* 2010; 129 (4): 111-115.

72 James Watson, *ADN, le secret de la vie*, Editions Odile Jacob Sciences (2003), extraits disponibles sur Google livres (p 295)

73 Id.

74 N. Lannoy et C. Hermans, *La maladie royale était-elle une hémophilie A ou B ?*, *Louvain Med.* 2010; 129 (4): 111-115.

75 Eberhard Passarge, *Atlas de poche de génétique*, Collection Médecine-Sciences, Editions Flammarion (1995). (p122)

correspond à la présence de différents types de génomes au sein d'un même individu, due à des mutations. A l'époque méconnue chez l'Homme, l'hétéroplasmie s'avère en fait relativement courante.

Ces analyses génétiques, combinées aux études anatomo-morphologiques, ont donc permis d'identifier sept membres de la famille royale. Cependant, il manquait le corps du jeune tsarévitch Alexeï Nikolaïevitch de Russie et celui d'une de ses sœurs, ce qui contribua à alimenter les rumeurs selon lesquelles certains membres de la famille auraient survécu.

Mais en juillet 2007, une nouvelle découverte met fin aux élucubrations. Des ossements sont retrouvés dans une seconde fosse non loin de la première. Ils sont brûlés et probablement dégradés par de l'acide sulfurique. Quarante-quatre fragments d'os et des dents sont ainsi mis au jour.

Un examen anthropologique préliminaire permet de les attribuer à un garçon âgé de 10 à 14 ans et à une jeune femme âgée de 18 à 23 ans au moment de leur mort. Ce qui concorde avec Alexeï et une de ses sœurs.

Les analyses génétiques ont été réalisées par une équipe internationale composée de scientifiques russes, américains et canadiens, menée par Evgeny I. Rogaev de l'Institut Vasilov de génétique générale (Russie). Les résultats ont fait l'objet d'une publication dans la revue *PNAS* le 31 mars 2009⁷⁶.

Pour comparer les profils génétiques de la famille royale, plusieurs lignées ont été recherchées : deux lignées maternelles, celle de la reine Victoria (grand-mère de la tsarine Alexandra), celle de l'impératrice Maria Feodorovna (aussi connue sous le nom Princesse Dagmar, elle est l'épouse de Alexandre III et la mère de Nicolas II) et une lignée paternelle, celle issue du tsar Nicolas I (arrière-grand père de Nicolas II) (*cf annexe 4 : généalogie des Romanov*). Pour l'analyse génétique des descendants actuels, des cellules buccales ont été prélevées.

Les études ont porté sur trois os retrouvés dans la seconde tombe et sur un spécimen par

⁷⁶ Evgeny I. Rogaev et al, *Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family*, *PNAS*, 31 mars 2009, vol 106, n°13

personne de la première fosse.

Deux régions hypervariables de l'ADN mitochondrial ont pu être séquencées sur les os des trois enfants déjà identifiés, sur ceux de la tsarine et sur ceux des deux enfants présumés. « Nous avons trouvé que la séquence d'ADN mitochondrial de la seconde tombe correspond aux séquences des restes de la première tombe », affirment les auteurs de la publication⁷⁷.

Mais les scientifiques ne se sont pas arrêtés là. La quantité d'ADN retrouvé leur permettait effectivement d'aller plus loin. Ils ont ainsi fait une analyse complète du génome mitochondrial et se sont également intéressés au génome nucléaire.

Grâce à différentes méthodes d'amplification, les chercheurs ont déterminé la séquence de l'ADN mitochondrial des deux squelettes à identifier. Ils l'ont comparé aux descendants actuels par lignée maternelle : les arrière-petites-filles de la reine Victoria. Les séquences concordent parfaitement. Les chercheurs précisent que « ce mitotype « Reine Victoria » est très rare dans la population humaine. » L'ADN d'Alexandra et de ses trois autres filles correspond également.

Le génome mitochondrial complet de Nicolas II a également été analysé et comparé à un descendant par lignée maternelle de sa mère, Maria Feodorovna. La séquence diffère à un endroit, la raison étant l'hétéroplasmie, comme vu précédemment.

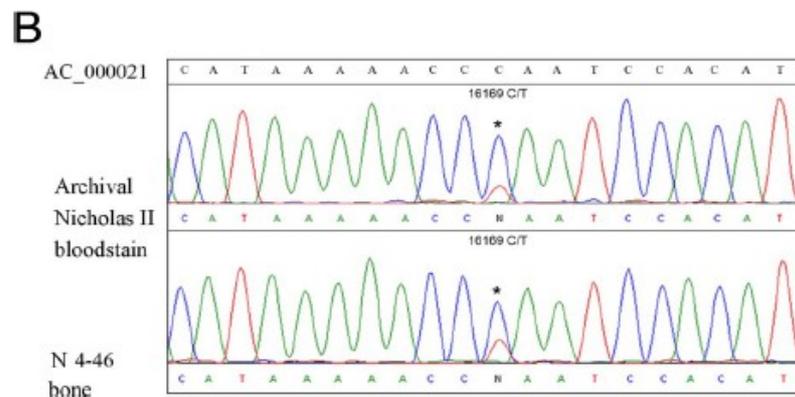
L'analyse du génome nucléaire, et en particulier du gène de l'amélogénine, a permis de confirmer que les restes appartenaient bien à un garçon et une fille. L'analyse du marqueur STR-Y montre une correspondance parfaite entre l'ADN récupéré sur l'os présumé d'Alexeï et sur celui de son père mais aussi avec l'ADN d'un descendant en lignée paternelle de Nicolas I, un cousin au deuxième degré de Nicolas II. Le marqueur identifié est unique et n'a pas été retrouvé dans la population générale.

« Ces données indiquent clairement que les os nouvellement trouvés appartiennent au prince Alexeï et à l'une de ses sœurs », attestent les auteurs⁷⁸. Vu l'âge estimé, il semblerait que ce soit les restes de Maria (et non d'Anastasia).

⁷⁷ Evgeny I. Rogaev et al, *Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family*, PNAS, 31 mars 2009, vol 106, n°13

⁷⁸ Id.

Par ailleurs, une chemise de Nicolas II maculée de tâches de sang et datant de 1891 a été conservée au Musée de l'Ermitage de Saint-Pétersbourg. Un élément de plus pour confirmer les résultats déjà obtenus. Si les contaminations ont été problématiques pour l'analyse, l'ADN mitochondrial et l'ADN nucléaire ont montré une concordance entre l'ADN du sang et l'ADN récupéré sur l'os.



Comparaison d'une région (hétéroplasmie) de l'ADN mitochondrial provenant de la chemise et d'un os

©Evgeny I. Rogaev et al (PNAS)

Ainsi tous les membres de la dernière famille impériale de Russie ont été clairement identifiés. Il ne fait aujourd'hui quasiment aucun doute quant à l'issue du massacre qui s'est déroulé il y a plus d'un siècle.

En 2000, le tsar et sa famille ont été canonisés et considérés comme martyrs par l'Église orthodoxe, bien qu'elle ait mis en cause à un moment les résultats de l'analyse ADN.

80 ans après l'assassinat de la famille Romanov, le 17 juillet 1998, le tsar Nicolas II, son épouse Alexandra Feodorovna et trois de leurs filles, Olga, Tatiana et Anastasia sont inhumés en présence de Boris Eltsine. Les restes de Alexeï et de Maria ont probablement rejoint le tombeau familial.

C – LES LIMITES DE L'ANALYSE DE L'ADN ANCIEN

C.1– LES SPÉCIFICITÉS DE L'ADN ANCIEN

L'ADN ancien présente trois particularités : il est généralement présent en faible quantité, fragmenté et chimiquement modifié.

De manière générale, la quantité d'ADN diminue au cours du temps. En cause : des réactions diverses que l'ADN subit. Effectivement, après la mort de la cellule, celle-ci s'autodégrade : c'est l'autolyse. Il y a ensuite une étape de putréfaction où les bactéries et les insectes vont venir dégrader l'organisme et donc son ADN.

Le processus d'autolyse comprend les réactions d'hydrolyse et d'oxydation. Si le milieu est humide, les molécules d'eau vont fragmenter et modifier les bases (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*), c'est l'hydrolyse. Elle touche les liaisons phosphodiester ce qui revient à casser la chaîne de l'ADN. La cassure d'autres liaisons (liaisons N-glycosidiques, liaisons hydrogène) va profondément affecter la structure de l'ADN (*cf annexe 1 : le point sur l'ADN*). Il va également y avoir une désamination (perte d'un groupement amine) des cytosines, à l'origine de transition des bases G et C vers les bases A et T. Par ailleurs, les guanines et les pyrimidines vont être oxydées, modifiant la structure des bases, également en favorisant des transitions vers A ou T plutôt que vers G ou C.

Un autre type de réaction (de type réactions de Maillard survenant pendant la cuisson des aliments) va favoriser la formation d'un agglomérat, car les sucres (désoxyribose) vont se coller aux bases. Dans ces conditions, la Taq polymérase ne va pas pouvoir agir et la PCR ne pourra se faire (*cf partie A.3.1 – PCR*).

Ces modifications chimiques se font de manière continue au cours du temps. Cependant, la dégradation est plus intense au cours de la putréfaction et au cours de la diagenèse (processus de transformation des os).

En fonction du temps et de l'environnement, ces processus de dégradation de l'ADN seront plus ou moins avancés. Dans les milieux secs et chauds, ces processus sont favorisés. A l'inverse, les milieux froids type permafrost et glacier sont favorables à une meilleure conservation de l'ADN. Effectivement, le froid bloque les réactions enzymatiques. De plus,

dans ces milieux, il n'y a pas d'organismes décomposeurs, source de contamination.

« Pour comprendre pourquoi dans certains cas aucune trace d'ADN n'est retrouvée, une modélisation cinétique de la disparition de l'ADN sur un papyrus, en milieu chaud et sec a été réalisée : théoriquement, en 700 ans, il ne reste plus de traces d'ADN dans cet environnement », explique Morgane Ollivier de l'Institut de Génomique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon)⁷⁹. Mais dans des conditions particulières et favorables à la conservation de l'ADN comme décrites ci-dessus, des traces d'ADN beaucoup plus anciennes peuvent être retrouvées. A ce jour, il semblerait que « la plus ancienne trace d'ADN analysée ait été récupérée sur un ours des cavernes, vieux de 500 000 ans », indique la scientifique⁸⁰. Il s'agit de l'analyse du génome mitochondrial de l'ours.

C.2 – LES PRÉCAUTIONS À PRENDRE

Les contaminations par de l'ADN exogène (tout ADN qui n'est pas celui de l'échantillon recherché) sont l'ennemi principal de l'ADN ancien. Depuis les débuts de la paléogénétique, les scientifiques ne cessent de mettre en œuvre des méthodes pour s'affranchir de ces contaminations. Ces méthodes font régulièrement l'objet de publications scientifiques.



Les scientifiques portent des tenues bien particulières pour manipuler l'ADN © Eva-Maria Geigl, CNRS

Dès le prélèvement de l'échantillon, des précautions doivent être prises pour lutter contre les

⁷⁹ Morgane Ollivier, enseignant-chercheur (ATER) à l'Institut de Génomique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon), entretien téléphonique le 18 mai 2012

⁸⁰ Id.

contaminations. Les fossiles sont donc manipulés avec des gants. Ensuite, l'ADN est analysé dans des laboratoires de haut confinement selon des procédures très strictes. Toute personne entrant dans ces laboratoires doit porter un équipement spécifique.

Tout d'abord, lorsque l'échantillon est un os, l'ADN va être récupéré au cœur de l'os pour limiter les contaminations probables à la surface.

Les analyses se font dans des salles en surpression avec un système de ventilation particulier afin d'éviter toute contamination extérieure. Ces salles sont également équipées de lampes à rayons ultra violets (UV). Effectivement, les UV ont la propriété de détruire l'ADN, purifiant ainsi la salle d'éventuelles traces. Bien évidemment, les UV ne sont pas activés durant les manipulations.

Par ailleurs, les salles où sont préparées les PCR ne sont pas les mêmes que celles où l'ADN est extrait. « Il y a un gradient à suivre bien spécifique, explique Morgane Ollivier⁸¹ de l'Institut de Génétique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon). On ne peut pas retourner dans une salle sans avoir pris de nouvelles précautions. »

Cependant, malgré toutes ces précautions, le risque de contamination est encore présent. Des méthodes enzymatiques ont été mises au point afin de réduire davantage ce risque. Il s'agit d'une méthode qui détruit toute trace d'ADN exogène dans le mélange de réactifs de la PCR, avant d'ajouter l'échantillon. « Le but est de se débarrasser des contaminations *carry over*, c'est-à-dire des contaminations des étapes précédentes, grâce à divers procédés enzymatiques », explique Eva-Maria Geigl⁸². Par exemple, un processus combiné DNase (enzyme dégradant l'ADN) et d'UV permet d'éliminer les traces d'ADN. Effectivement, « il suffit d'une molécule d'ADN intacte du technicien, pour que les réactifs de la PCR la choisissent de façon préférentielle par rapport aux molécules d'ADN dégradé », explique Morgane Ollivier⁸³.

81 Morgane Ollivier, enseignant-chercheur (ATER) à l'Institut de Génétique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon), entretien téléphonique le 18 mai 2012

82 Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

83 Morgane Ollivier, enseignant-chercheur (ATER) à l'Institut de Génétique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon), entretien téléphonique le 18 mai 2012

De nombreux autres moyens permettent de s'affranchir des contaminations.

A noter que l'ADN dégradé présente les mêmes caractéristiques que l'ADN ancien et nécessite donc les mêmes précautions.

C.3 – LES LIMITES : L' EXEMPLE DE LA TETE D'HENRI IV⁸⁴

L'identification de la tête d'Henri IV en 2010 a beaucoup fasciné le grand public. Les résultats de l'étude menée par Philippe Charlier, médecin légiste et paléopathologiste, ont été publiés dans le *British Medical Journal* du 14 décembre 2010⁸⁵.

Tout commence par un documentaire sur Henri IV pour les 400 ans de sa mort que souhaite réaliser deux journalistes passionnés d'histoire : Stéphane Gabet et Pierre Belet. Mais à ce moment là, personne n'imaginait retrouver la trace de cette tête. C'est l'historien spécialiste d'Henri IV, Jean-Pierre Babelon, qui donnera le premier élément pour y parvenir : une lettre d'un certain Jacques Bellanger. Il y demandait des renseignements sur l'antiquaire Joseph-Emile Bourdais, qui au début du XX^{ème} siècle prétendait posséder la fameuse tête d'Henri IV. Il l'aurait acquis pour cinq francs lors d'une vente à l'Hôtel Drouot en 1919 où étaient vendues les affaires d'une peintre de Montmartre, Emma Nallet-Poussin.



84 Philippe Charlier et al, *Multidisciplinary medical identification of a French king's dead (Henri IV)*, *BMJ*, 14 décembre 2010, 341:c6805

85 Id.

Jacques Bellanger, lui, en a fait l'acquisition en 1955 en l'achetant à la sœur de Joseph-Emile Bourdais, mort quelques années auparavant. Les deux journalistes sont donc allés à sa rencontre. Jacques Bellanger, convaincu d'être en possession de la tête d'Henri IV accepte de la céder pour qu'elle soit soumise à diverses analyses. La tête momifiée est en parfait état.

Mais pour comprendre pourquoi la tête d'Henri IV n'est pas avec son corps, il faut remonter à la Révolution française. Henri IV était, à ce moment-là, enterré à la basilique Saint-Denis depuis plus d'un siècle, puisqu'il fut assassiné par Ravailac en 1610. En 1793, les révolutionnaires ne se contentent pas de s'en prendre à leur roi actuel, Louis XVI, ils vont également profaner et exhumer les cadavres des précédents rois. La momie du roi Henri IV, bien conservée, est alors exposée au peuple pendant trois jours. Et c'est à cette occasion qu'Henri IV aurait été décapité. Son corps est jeté dans une fosse commune. Quant à sa tête, le comte Erbach, un allemand l'aurait récupéré. Mais ensuite, plus de trace jusqu'en 1919.

Pour l'authentifier, il a fallu une équipe pluridisciplinaire composée de vingt scientifiques (anthropologues, toxicologues, généticiens et même des nez (parfumeurs)) venus d'Europe et des Etats-Unis. Les chercheurs ont réalisé de nombreuses analyses sur la tête supposée d'Henri IV. Une analyse anatomique a permis de mettre en évidence des caractéristiques du roi de France : un grain de beauté sur le nez, une lésion sur la mâchoire (trace de la tentative d'assassinat par Jean Chatel en 1594), un trou à l'oreille montrant la présence d'une boucle d'oreille, la couleur des cheveux et de quelques poils de barbe restant, une dentition en mauvais état et les traces de mutilation de 1793. Une reconstitution numérique du crâne a été faite par tomographie assistée par ordinateur. Elle correspond au moulage du masque mortuaire du roi, conservé à la Bibliothèque Sainte-Geneviève. La datation au carbone 14 a daté le crâne entre 1450 et 1650, ce qui est cohérent avec la mort d'Henri IV en 1610. Une analyse toxicologique a révélé « des traces de plomb typiques de la composition des sarcophages en plomb utilisée pour une certaine élite à cette époque », explique Joël Poupon⁸⁶ du service de toxicologie biologique de l'hôpital Lariboisière. Effectivement, les traces correspondent à celles retrouvées sur le cercueil du roi.

⁸⁶ Dr Joël Poupon du service de toxicologie biologique de l'hôpital Lariboisière, rencontre le 24 avril 2012 (service de toxicologie biologique, hôpital Lariboisière, Paris)



Le crâne présumé d'Henri IV © Philippe Charlier et al (BMJ)

Malgré tous ces éléments qui allaient dans le sens de l'authentification de la tête d'Henri IV, quelques zones d'ombre subsistent. Effectivement, à l'époque d'Henri IV, il était habituel que les crânes soient trépanés pour être embaumés, c'est-à-dire vidés et remplis d'aromates. Or aucun de ces traitements n'a été subi par ce crâne. Par hasard, les journalistes tombent sur une phrase d'un livre de Lamartine, *Histoire des Girondins*, écrit en 1848 : « Henri IV, embaumé selon la méthode des italiens. » Marie de Médicis, l'épouse du roi, étant italienne, les journalistes et Philippe Charlier explorent cette piste en se rendant en Italie. Ils y découvrent le grimoire de Pierre Pigray, le chirurgien qui a procédé à l'embaumement du roi, où sa méthode semble correspondre au crâne supposé d'Henri IV. Même la présence de charbon sur le crâne s'explique : cela permettait une meilleure conservation.

Ainsi, grâce à tous ces éléments, l'équipe de Philippe Charlier a affirmé avoir authentifié la tête d'Henri IV à 99,9 %, du fait qu'elle ait réuni plus de trente preuves scientifiques. Néanmoins, cette identification a été controversée par certains historiens, tel que Philippe Delorme⁸⁷ qui déplore qu'une enquête historique plus poussée n'ait pas été réalisée. Pour lui, « ils ont pris le problème à l'envers. » Par ailleurs, « Philippe Charlier affirme que l'art des italiens serait la méthode utilisée pour les Médicis, or aucun document ne le prouve. De plus, Pigray n'écrit pas qu'il ne faut pas ouvrir les crânes. Il est écrit d'ouvrir les trois ventres, ce qui correspond au ventre, au thorax et au crâne. Pour moi, leur conclusion est tirée par les cheveux. » Par ailleurs, « l'un des principaux témoins de l'ouverture des tombes des rois, Alexandre Lenoir, fondateur du musée des monuments historiques, a affirmé que le crâne d'Henri IV était ouvert et rempli d'étoupes. Pourquoi Alexandre Lenoir aurait-il menti ? », s'interroge Philippe Delorme⁸⁸.

⁸⁷ Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

⁸⁸ Id.

L'analyse de l'ADN du crâne aurait pu mettre fin à la controverse, en apportant un élément de preuve supplémentaire. Malheureusement, les spécialistes ont été confrontés aux limites imposées par l'ADN ancien. Les deux laboratoires en charge de l'analyse génétique, l'Institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg et le Centre de Géogénétique du muséum d'histoire naturelle du Danemark de l'Université de Copenhague, n'ont pu récupérer de l'ADN, ni nucléaire ni mitochondrial, à partir des échantillons.

« L'ADN est une molécule fragile qui se dégrade rapidement au cours du temps, ce n'est pas anormal de ne pas avoir trouvé d'ADN dans les échantillons, justifie Christine Keyser⁸⁹ de l'Institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg. Il faut savoir que pour ce type d'étude, les résultats que nous publions représentent 10 à 20 % de ce que nous analysons. Le reste ne marche pas. Nous sommes confrontés à ces limites au quotidien. » Par ailleurs, « il ne faut pas confondre l'aspect extérieur et la présence d'ADN. Il y a des momies très bien conservées où l'on ne retrouve pas d'ADN. C'est la même chose pour la tête d'Henri IV », précise-t-elle.

ADN en trop faible quantité, voire disparu, contaminations, telles sont les limites majeures de l'analyse de l'ADN ancien ou dégradé. « Lorsqu'il y a très peu d'ADN, le risque de contamination est très important. On peut pousser le système et finalement prendre le risque de donner un résultat susceptible d'être faux. Mais nous avons préféré être prudent et dire que l'ADN était inexploitable », indique la chercheuse⁹⁰. Les progrès des techniques dans le domaine de l'analyse génétique évoluent très vite, les techniques sont de plus en plus sensibles, de ce fait, Christine Keyser n'exclut pas que des analyses futures pourraient donner des résultats.

Par ailleurs, elle⁹¹ souligne que « l'équipe de Copenhague est mondialement reconnue. Ils disposent d'un matériel à la pointe de la technologie. Mais eux non plus ne sont pas parvenus à obtenir de l'ADN. » Si l'analyse génétique avait été réalisable, le profil génétique établi à partir de l'ADN mitochondrial aurait pu être comparé à des descendants du roi par voie

89 Dr Christine Keyser, docteur en biologie moléculaire au laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg et à l'institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg, entretien téléphonique le 18 mai 2012

90 Id.

91 Id.

maternelle. Si l'analyse du génome nucléaire avait été également possible, les scientifiques se seraient intéressés au chromosome Y pour comparer le profil à la lignée paternelle. « Nous aurions également réalisé le profil génétique avec les STR pour vérifier qu'il n'y aurait pas eu de contaminations », ajoute Christine Keyser⁹².

Quoi qu'il en soit, le crâne a été remis au descendant actuel d'Henri IV, Louis de Bourbon, selon le souhait de Jacques Bellanger, son dernier possesseur. Il devrait retrouver sa place à la basilique Saint-Denis.

⁹² Dr Christine Keyser, docteur en biologie moléculaire au laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg et à l'institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg, entretien téléphonique le 18 mai 2012

CONCLUSION

L'analyse ADN s'est donc mise au service de l'Histoire. Néanmoins, encore peu de laboratoires sont spécialisés dans l'ADN ancien. En cas de mise en doute de la fiabilité des résultats, il est difficile de refaire l'analyse dans un autre laboratoire. Des conflits d'intérêts peuvent entrer en compte également. Le cas Toutankhamon en est un exemple typique.

L'association de l'analyse génétique et de l'Histoire conduit parfois à l'opposition entre les scientifiques et les historiens ou archéologues. Chacun défend ses arguments selon sa spécialité. En tant que non spécialiste, il est difficile de se faire une opinion objective.

Dans le domaine judiciaire, la preuve par l'ADN n'est pas considérée comme une preuve ultime⁹³. Elle doit être couplée à d'autres éléments pour avoir un sens. Il devrait en être de même dans le domaine de la paléogénétique. Cependant, cela n'est pas toujours possible car le temps fait disparaître les preuves. La question se pose alors de la crédibilité de ces résultats uniquement basés sur l'analyse génétique.

Néanmoins quand il s'agit de procéder à des identifications à l'échelle d'un individu et lorsque l'ADN est bien conservé, les résultats sont fiables et permettent de plus en plus à des victimes de l'Histoire moderne de retrouver une identité. C'est le cas pour les victimes de la dictature argentine. Mais c'est également vrai pour des personnes encore vivantes, pour lesquelles les tests ADN vont changer leur vie. En Espagne, près de 300 000 bébés auraient été volés à la naissance de 1940 à 1987. Récemment, les autorités espagnoles ont organisé une opération d'analyse ADN afin de permettre à ces enfants volés sous le régime de Franco, et bien après, de connaître leurs parents biologiques⁹⁴. Certains les ont déjà retrouvés. C'est à cela aussi que sert l'analyse génétique.

93 *Dossier Pour la Science*, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (p 54)

94 *Spécial Investigation : l'incroyable scandale*, magazine (2011), présenté par Stéphane Haumant, enquête de Marie Brunerie et Claude Ardid, Production Capa. (diffusé sur Canal + le 6 mai 2012)

SOURCES

Interviews :

Eva-Maria Geigl, paléogénéticienne à l'Institut Jacques Monod (Épigénome et paléogénome), rencontre le 6 avril 2012 (Institut Jacques Monod, Paris)

Philippe Delorme, historien et journaliste, rencontre le 20 avril 2012, (café rue de Chateaudun, Paris)

Dr Joël Poupon du service de toxicologie biologique de l'hôpital Lariboisière, rencontre le 24 avril 2012 (service de toxicologie biologique, hôpital Lariboisière, Paris)

Colonel Yvan Malgorn, chef de la division criminalistique identification humaine de l'Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale (IRCGN), rencontre le 25 avril 2012 (Fort de Rosny, IRCGN, Rosny-sous-Bois)

Alain Zivie, égyptologue, directeur de recherche (CNRS) et chef de la mission archéologique française de Bubasteion de Saqqara, rencontre le 27 avril 2012 (café de la mairie, place Saint Sulpice, Paris)

Pr Marc Delpech, chef du service biochimie et génétique moléculaire de l'hôpital Cochin (Paris), rencontre le 2 mai 2012 (hôpital Cochin, Paris)

Dr Alec Jeffreys, généticien à l'Université de Leicester, réponse par mail reçue le 14 mai 2012

Dr Christine Keyser, docteur en biologie moléculaire au laboratoire d'anthropologie moléculaire et imagerie de synthèse de Strasbourg et à l'institut médico-légal de la faculté de médecine de Strasbourg, entretien téléphonique le 18 mai 2012

Morgane Ollivier, enseignant-chercheur (ATER) à l'Institut de Génomique Fonctionnelle, Paléogénomique et Evolution Moléculaire (Lyon), entretien téléphonique le 18 mai 2012

Pr Jean-Jacques Cassiman, généticien au Centre de génétique humaine de l'Université de Louvain (Belgique), entretien téléphonique le 22 mai 2012

Luis Fondebrider, anthropologiste et président de *Equipo Argentino de Antropología Forense*, réponse par mail reçue le 21 mai 2012

Pr Lluís Quintana-Murci, directeur de l'unité de Génétique évolutive humaine de l'Institut Pasteur et directeur du projet Genographic pour l'Europe de l'Ouest et du Centre, réponse reçue par mail le 2 juin 2012

Publications scientifiques

Alec J Jeffreys, Genetic fingerprinting (Commentaire), *Nature Medicine*, vol 11, n°10, octobre 2005

Johannes Krause et al, *The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia*, *Nature*, 8 avril 2010, vol 464

David Reich et al, *Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia*, *Nature*, 23 / 30 décembre 2010, vol 468 n° 1053

Zahi Hawass et al, *Ancestry and Pathology in King Tutankhamun's Family*, *JAMA*, 17 février 2010, Vol 303, n°7

Els Jhaes et al, *Mitochondrial analysis on remain of a putative son of Louis XVI, King of France and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (1998) 6, 383-395

Els Jhaes et al, *Mitochondrial DNA analysis of the putative heart of Louis XVII, son of Louis XVI and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (2001) 9, 185-190

Evgeny I. Rogaev et al, *Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family*, *PNAS*, 31 mars 2009, vol 106, n°13

N. Lannoy et C. Hermans, *La maladie royale était-elle une hémophilie A ou B ?*, *Louvain Med.* 2010; 129 (4): 111-115.

Philippe Charlier et al, *Multidisciplinary medical identification of a French king's dead (Henri IV)*, *BMJ*, 14 décembre 2010, 341:c6805

Livres

Eberhard Passarge, *Atlas de poche de génétique*, Collection Médecine-Sciences, Editions Flammarion (1995). Ouvrage publié en allemand sous le titre : *Taschenatlas der Gentik*. Traduit par Diane Farkas, docteur en médecine, rattachée à l'Unité de Génétique épidémiologique (INSERM U155), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris.

Peter N. Campbell, Anthony D. Smith, *Biochimie illustrée*, Collection « Sciences fondamentales », Editions Maloine (2002). Ouvrage publié en anglais sous le titre : *Biochemistry illustrated* (fourth edition). Traduit par le Dr Jenny Vaisse et le Dr Michel Pontet, maîtres de conférences à l'Université Paris-Nord et praticiens hospitaliers à l'hôpital Jean-Verdier.

Nicolas Ross, *La mort du dernier tsar : la fin d'un mystère*, Editions L'AGE D'HOMME (2001), extraits disponibles sur Google livres.

James Watson, *ADN, le secret de la vie*, Editions Odile Jacob Sciences (2003), extraits disponibles sur Google livres

Revue scientifique :

Science & Vie, avril 2010, n° 1111, Dossier Toutankhamon : ils ont fait parler son ADN ! (pp 20 à 29)

Dossier Pour la Science, Janvier-Mars 2011, n°70, Police scientifique : les experts mènent l'enquête (pp 48 à 57)

Internet :

Le site Légifrance : <http://www.legifrance.gouv.fr/>

Le site du ministère de la Justice : <http://www.justice.gouv.fr/>

Le site du projet Genographic : <https://genographic.nationalgeographic.com/>

Le site du Génomoscope : <http://www.cns.fr/spip/Le-projet-Genome-humain.html>

Le site de la société 23 and me : <https://www.23andme.com/>

Autres :

Rapport sur la valeur scientifique de l'utilisation des empreintes génétiques dans le domaine judiciaire de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques

Spécial Investigation : l'incroyable scandale, magazine (2011), présenté par Stéphane Haumant, enquête de Marie Brunerie et Claude Ardid, Production Capa (diffusé sur Canal + le 6 mai 2012)

ANNEXE 1 : LE POINT SUR L'ADN

ADN : acide désoxyribonucléique, support de l'information génétique.

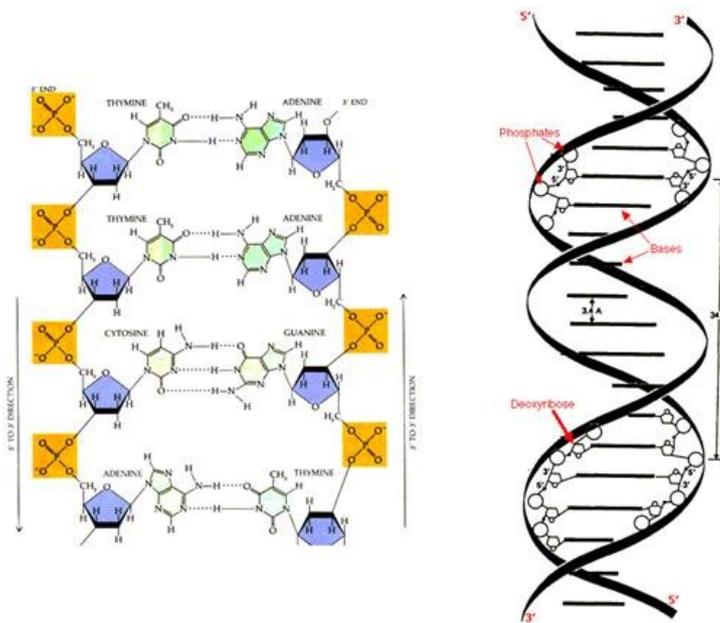
ADN nucléaire : présent sous forme de 23 paires de chromosomes (chez l'Homme) dans toutes les cellules de l'organisme (à l'exception des globules rouges). Il est composé de 3 milliards de paires de bases.

ADN mitochondrial : ADN circulaire de 16 000 paire de bases présent dans les mitochondries (organites producteurs d'énergie pour les cellules) en milliers d'exemplaires. Il code pour des protéines spécifiques des mitochondries.

Génome : ensemble du matériel génétique d'un organisme.

Structure de l'ADN : découverte par James Watson et Francis Crick (*cf schéma ci-après*)

- structure en double hélice : deux chaînes (brins) de polymères de nucléotides qui s'enroulent autour d'un même axe
- nucléotide : ensemble formé par un sucre (désoxyribose), une base azotée et un groupement phosphate. Deux nucléotides sont reliés par une liaison phosphodiester.
- bases : il en existe deux types, les pyrimidiques (cytosine (C) et thymine (T)) et les purines (adénine (A) et guanine (G)). A et T sont complémentaires, comme C et G, c'est ce qui permet la complémentarité entre les deux chaînes (liaisons hydrogène).



La double hélice de l'ADN © Université Pierre et Marie Curie

Réplication : c'est la biosynthèse de nouveaux brins d'ADN. Les deux brins se séparent et servent de modèles pour la synthèse de nouveaux brins complémentaires.

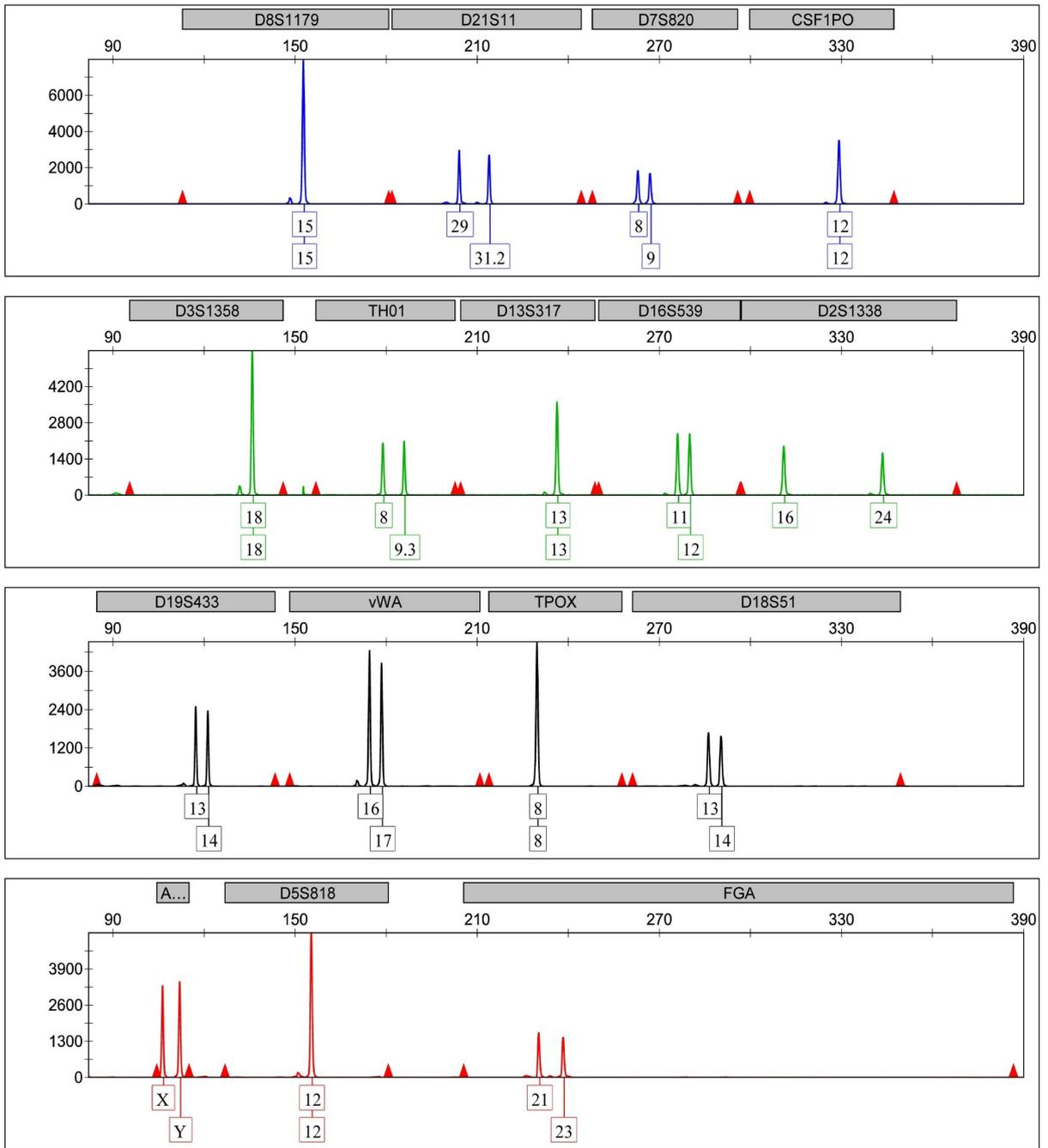
Transcription : c'est la synthèse d'ARNm (acide ribonucléique messager) à partir d'un des brins de l'ADN. L'ARNm est l'intermédiaire qui va coder pour les protéines.

Sources :

Eberhard Passarge, *Atlas de poche de génétique*, Collection Médecine-Sciences, Editions Flammarion (1995). Ouvrage publié en allemand sous le titre : *Taschenatlas der Gentik*. Traduit par Diane Farkas, docteur en médecine, rattachée à l'Unité de Génétique épidémiologique (INSERM U155), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris.

Peter N. Campbell, Anthony D. Smith, *Biochimie illustrée*, Collection « Sciences fondamentales », Editions Maloine (2002). Ouvrage publié en anglais sous le titre : *Biochemistry illustrated* (fourth edition). Traduit par le Dr Jenny Vaisse et le Dr Michel Pontet, maîtres de conférences à l'Université Paris-Nord et praticiens hospitaliers à l'hôpital Jean-Verdier.

ANNEXE 2 : PROFIL GENETIQUE



Source : IRCGN

ANNEXE 3 : GENEALOGIE DES HABSBURG

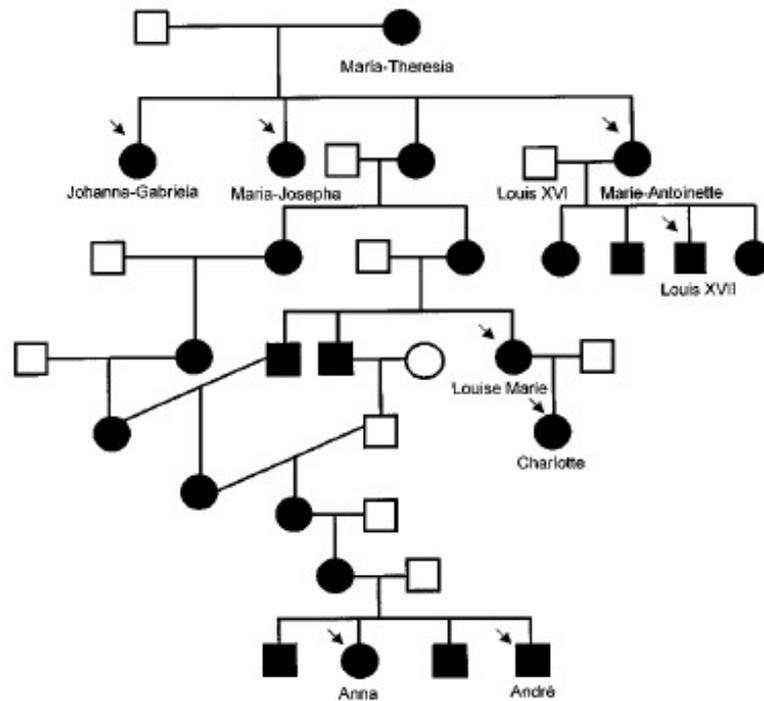


Figure 1 Pedigree of the Habsburg family. The maternal lineages are marked in black. Louis XVII and the maternal relatives analysed in the Naundorff study are indicated by arrows.

Source :

Els Jehaes et al, *Mitochondrial DNA analysis of the putative heart of Louis XVII, son of Louis XVI and Marie-Antoinette*, *European Journal of Human Genetics* (2001) 9, 185-190

ANNEXE 4 : GENEALOGIE DES ROMANOV

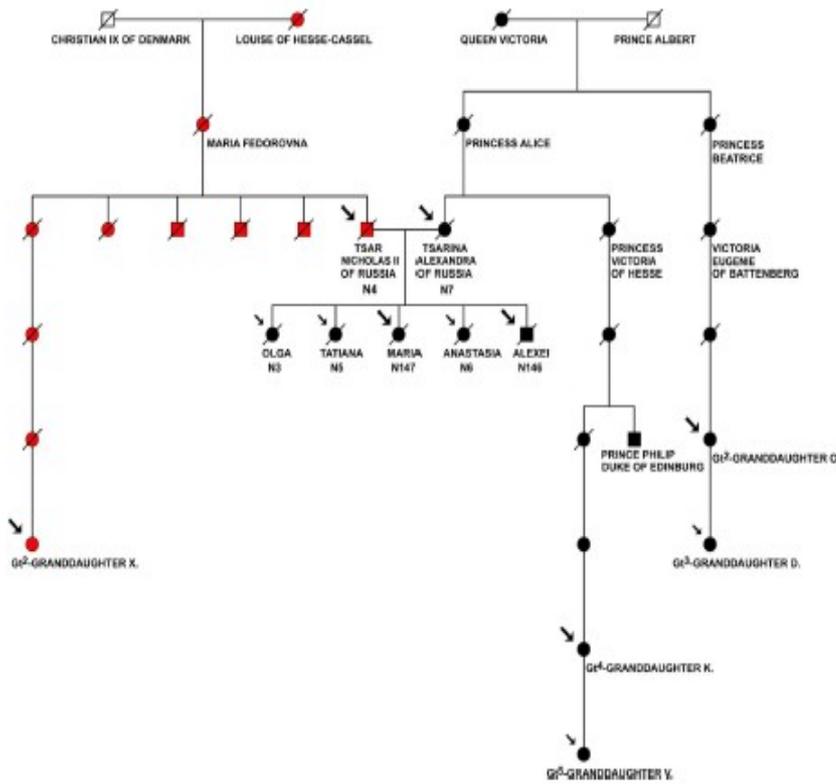


Fig. 2. Analysis of maternal lineages of Romanov family. Pedigree represents 2 maternal lineages of Romanov family. The mt haplotype of Nicholas II Romanov is inherited from Empress Maria Feodorovna (Princess Dagmar, the daughter of Louise of Hesse-Cassel and Christian IX, King of Denmark). The haplotype of Empress Alexandra Feodorovna is inherited from Princess Alice, the daughter of Queen Victoria. The complete mitochondrial genome sequences were retrieved from the bone fragments from the second grave: N146, putative Prince (Tsarevich) Alexei, and N147, putative Grand Duchess Maria; and from the first grave: skeleton N7, putative Empress (Tsarina) Alexandra Feodorovna, and skeleton N4, putative Emperor (Tsar) Nicholas II. Complete mt genome sequences or HVR sequences were also determined for the maternal relatives. Large arrows denote individuals with complete mtDNA sequences and small arrows show individuals with HVR sequences determined in this study.

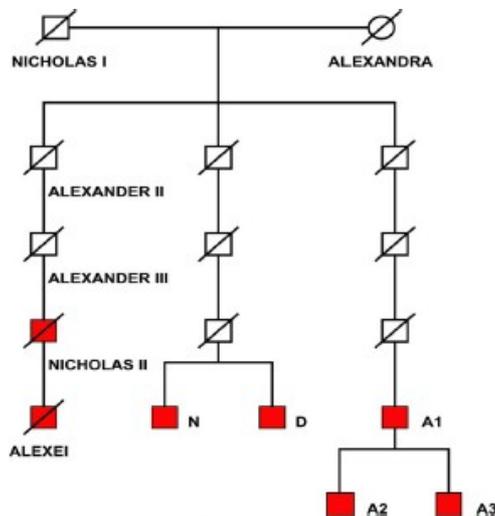


Fig. 3. Analysis of paternal lineages of Romanov family. Y profiles were determined for putative remains of Alexei and Nicholas II and their living cousins of unbroken male lineages of Nicholas I (shown in red) (*SI Materials and Methods*).

Source :

Evgeny I. Rogaev et al, *Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family*, PNAS, 31 mars 2009, vol 106, n°13