



BIOLOGIE MOLECULAIRE

Génome, information, génétique et hérédité

Poly 3

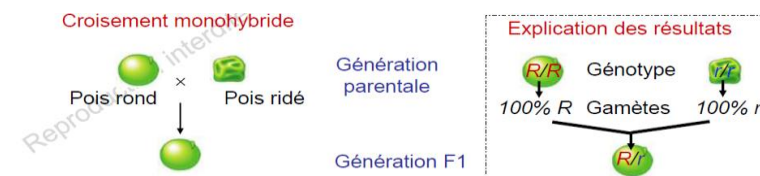
G- L'hérédité mendélienne et ses exceptions

• Les travaux de Gregor Mendel publiés en 1860

- Il formule la **première théorie correcte de l'hérédité**
 - Chaque caractère ou trait dépend de « particules » (=les gènes) dont il existe deux versions (allèles), héritées chacune de l'un des parents
- Il introduit différentes notions
 - Les notions d'homozygotie et d'hétérozygotie
 - un individu est **homozygote** pour un trait si **les allèles sont identiques**
 - un individu est **hétérozygote** pour un trait si **les allèles sont différents**
 - Les notions de **dominance** et **de récessivité**
 - Chez un **hétérozygote**, un allèle peut s'exprimer et l'autre rester masqué
 - Ils sont dits **dominant** et **récessif** et notés en majuscules et minuscules
- Il énonce des lois régissant la transmission des caractères
 - Il réalise des croisements entre les lignées de plantes ou de pois pures, c'est-à-dire **homozygotes**, et observe les résultats obtenus en 1ère et 2ème génération

• Les travaux de Gregor Mendel

- Il croise deux lignées pures de pois différent par leur forme ronde/ridée
 - Une lignée possède donc à l'état *homozygote* l'allèle codant pour la *forme ronde*
 - l'**autre** lignée possède à l'état *homozygote* l'allèle codant la *forme ridée*
- ⇒ Chacune donne **un type de gamète** (allèle codant la forme ronde ou ridée)
- A la **génération F1** issue du croisement après rétablissement de la diploïdie
 - ⇒ Les pois sont forcément *hétérozygotes* mais pourtant **tous de forme RONDE**
 - ⇒ Le caractère rond est dominant (R) et le caractère ridé est récessif (r)

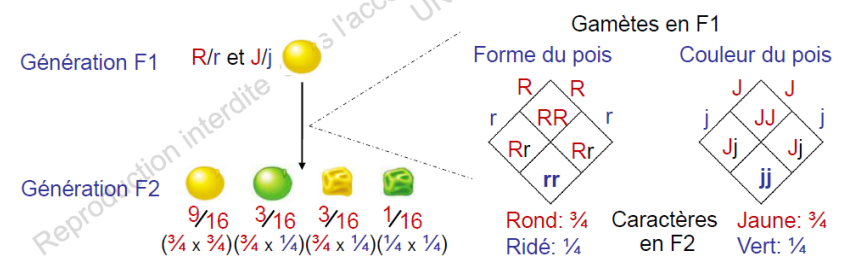
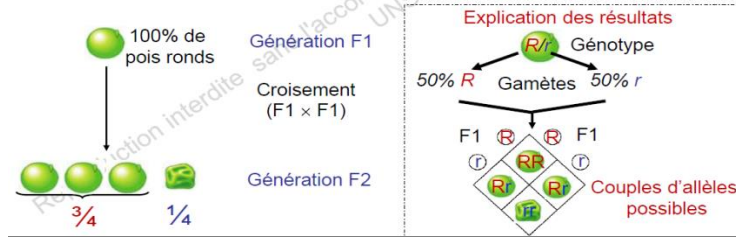


- A la **génération F2** (croisement des *hétérozygotes* F1 x F1)
 - ⇒ Caractère dominant/récessif réapparaissent toujours à la même probabilité

Cela l'amène à formuler **la loi de la ségrégation des caractères (1ère loi)**

En termes actuels :

▷ **les allèles de chaque gène sont séparés à la méiose et un couple d'allèles se reforme au hasard à la fécondation**



- Puis il croise des lignées pures de pois ronds et jaunes ou ridés et verts

→ Une lignée possède à l'état **homozygote** les allèles « **forme ronde** » et « **couleur jaune** », l'autre les allèles « **forme ridée** » et « **couleur verte** »

♦ Chacune donne un type de gamète (allèles **rond et jaune** ou **ridé et vert**)

→ A la **génération F1** issue du croisement après rétablissement de la diploïdie

♦ Les pois sont **forcément hétérozygotes** pour chaque caractère mais sont **POURTANT tous ronds ou jaunes**, caractères qui sont donc dominants

• Après Mendel naît une théorie chromosomique de l'hérédité

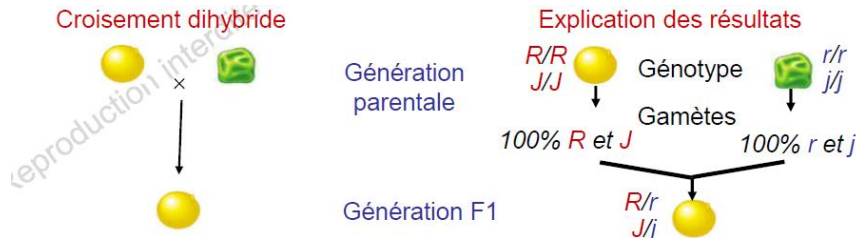
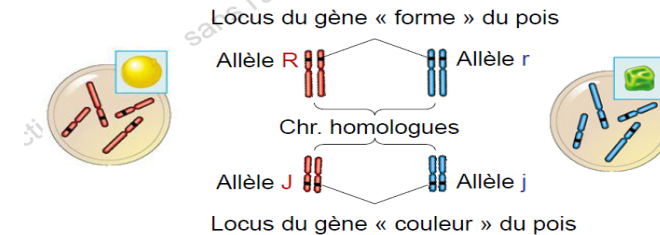
- Cette théorie est suggérée par l'observation de la méiose au microscope

→ Le comportement des chromosomes expliquerait les lois de Mendel

- Selon cette théorie émise vers 1903

→ Un gène aurait une position fixe appelée locus sur un chromosome

♦ Les allèles de ce gène seraient situés au même locus sur les chromosomes paternel et maternel de la même paire (homologues)



- En F2, chaque caractère réapparaît avec une probabilité (p) déterminée

→ Mendel remarque que $p(\text{caractère A et B}) = p(\text{caractère A}) \times p(\text{caractère B})$

♦ Il formule ainsi **la loi de l'assortiment indépendant des caractères (2ème loi)**:

▷ **les allèles de chaque gène sont séparés indépendamment des allèles de l'autre gène**, autrement dit **chaque gène étudié ici est indépendant**

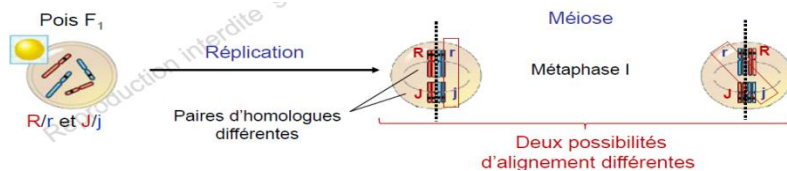
• **Rappels sur le comportement méiotique des chromosomes**

- Le brassage interchromosomique survient en métaphase de méiose 1

→ Il s'agit de l'alignement aléatoire des chromosomes paternels et maternels d'une paire d'homologues d'un côté ou de l'autre de l'équateur de la cellule, les allèles d'un gène occupant chacun leur locus sur l'un des homologues

→ Ceci explique **la loi de l'assortiment indépendant des caractères de Mendel**.

🌸 Cette loi n'est pas valable pour des gènes situés sur la même paire de chromosomes homologues (gènes physiquement liés et non indépendants)

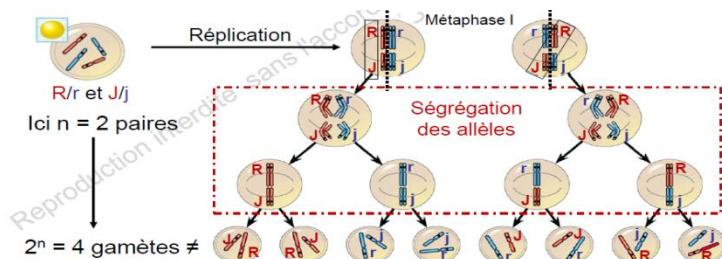


→ Les chromosomes de chaque paire sont ensuite attirés à un pôle opposé

♦ La future cellule contient soit le chromosome paternel, soit le maternel

→ Ceci explique la loi de la ségrégation des caractères de Mendel :

♦ Les allèles paternel et maternel de chaque gène sont séparés



• **La théorie chromosomique est prouvée par T.Lorgan (1910)**

- Etudie l'effet des rayons X sur l'apparition de mutations chez la mouche

→ Elle possède **4 paires de chromosomes dont une de gonosomes (XX ou XY)**

-> Il obtient une mutation de l'allèle sauvage codant pour les yeux rouges: le caractère mutant (yeux blancs) ne s'exprime que chez les mâles XY il doit donc être récessif et lié à un gène porté par le chromosome X Les mâles sont **HEMIZYGOTES (=une seule copie)** pour les **gènes liés à l'X**

• **L'allèle mutant est récessif et lié à l'X**

- La transmission du phénotype mutant confirme cette hypothèse

→ Il croise une femelle « pure » normale avec une mouche mâle mutante

♦ La ♀ ne produit qu'un type de gamète avec l'X portant l'allèle dominant R

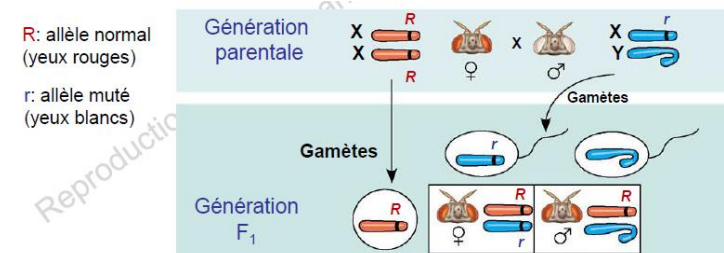
♦ Le ♂ produit un gamète avec l'X portant l'allèle récessif r ou avec l'Y

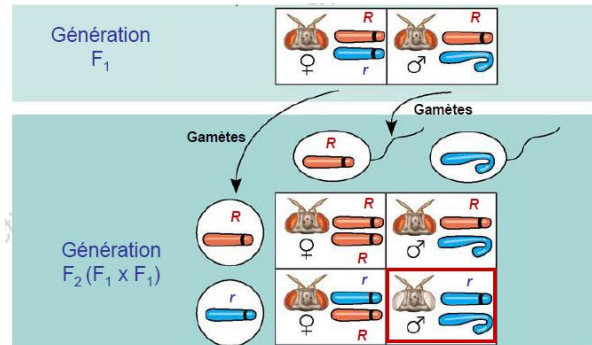
→ A la génération F1, toutes les mouches ont un phénotype normal

♦ Chez les ♀, la mutation récessive ne s'exprime pas

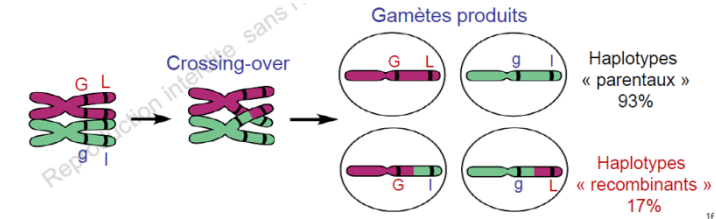
→ Les ♂ et les ♀ de la **génération F1** produisent deux types de gamètes

→ A la **génération F2**, le phénotype mutant réapparaît uniquement chez les ♂ Les 1/2 des ♀ **sont conductrices** - la 1/2 des ♂ présente le **phénotype muté**



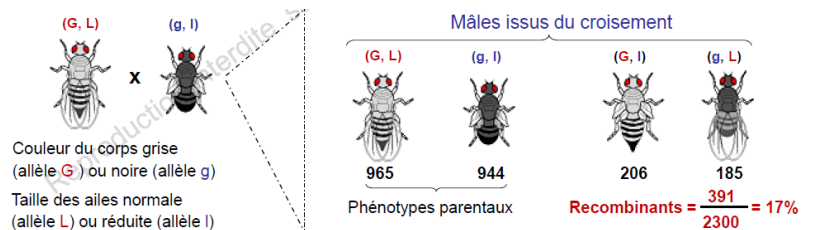


✦ Mais cet assortiment n'est pas totalement indépendant.
 ⇒ Il dépend de la fréquence de survenue d'un crossing-over entre gènes



• **Morgan obtient des mutations d'autres gènes liés à l'X**

- Il réalise des croisements dihybrides (couleur du corps, présence d'ailes)
- Il croise des ♀ normales et des ♂ mutants ayant deux caractères récessifs
- ✦ Ce sont uniquement les ♂ qui expriment les caractères mutants « couleur noire du corps » et « taille réduite des ailes » et ce, simultanément
- ✦ Parmi les ♂ obtenus, certains n'ont pourtant qu'un des caractères mutants, ⇒ Bien que physiquement liés à l'X, les deux gènes ont donc été séparés, ce qui a engendré de nouveaux **HAPLOTYPES (= combinaisons d'allèles)**



• **Des gènes physiquement liés peuvent être séparés**

- Morgan l'explique par l'existence des crossing-over déjà connus
- Il y a eu échange de matériel entre les chromatines des chromosomes homologues
- ✦ Ces échanges créent de nouveaux **HAPLOTYPES (= combinaisons d'allèles)**
- ✦ Ils permettent un assortiment d'allèles de gènes physiquement liés.

• **La fréquence de recombinaison entre gènes est variable**

- Morgan assimile cette fréquence à la distance entre les gènes

→ Plus des gènes sont **éloignés** sur un chromosome, **plus la probabilité** qu'un crossing-over puisse venir les séparer **est élevée** et vice-versa

- ✦ Il crée ainsi une unité de distance génétique, le centiMorgan (cM)
- ⇒ Un cM correspond à une fréquence de recombinaison de 1%
- ✦ Il établit ainsi la 1ère carte génétique (position relative des gènes sur l'X)

• **Ces différents principes s'appliquent à l'hérédité humaine**

- Chaque gène existe sous deux versions ou allèles chez un individu

→ Chaque gène occupe un emplacement précis (locus) sur un chromosome

✦ Les chromosomes homologues portent les allèles des mêmes gènes

✦ L'allèle du père et de la mère peuvent être identique ou différents

⇒ L'individu est homozygote ou hétérozygote pour le gène

- Lorsqu'un individu est hétérozygote pour un gène

→ Généralement, un allèle s'exprime (dominant) et l'autre pas (récessif)

✦ Un caractère dominant s'exprime à l'état hétérozygote

✦ Un caractère récessif ne s'exprime qu'à l'état homozygote

✦ Par convention, ils sont notés en majuscules et minuscules respectivement.

• **Il existe différents modes d'hérédité chez l'homme**

- L'hérédité mendélienne, la plus simple

- Elle est caractérisée par certains principes énoncés par Mendel
- ♦ Elle obéit aux notions de dominance et de récessivité
- ♦ Chaque parent contribue de façon équivalente au génotype d'un individu
- ♦ Un gène est transmis de façon inchangée à la descendance
- ♦ Chaque caractère dépend d'un seul gène

- Et tous les autres modes

→ Constituent **des exceptions à l'un des principes de l'hérédité mendélienne**

• **On distingue dans l'hérédité mendélienne**

- L'hérédité autosomique, liée aux gènes portés par les AUTOSOMES

- Hérédité autosomique dominante (>60% des maladies mendéliennes)
- Hérédité autosomique récessive (30%)

- L'hérédité liée à l'X

- Hérédité dominante liée à l'X, rare
- Hérédité récessive liée à l'X, la plus fréquente (<10%)

- L'hérédité liée à l'Y (ou holandrique)

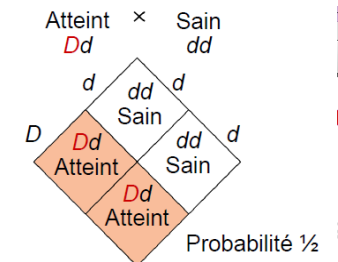
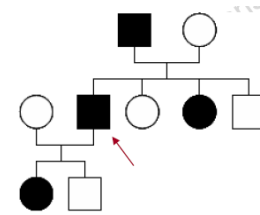
- Exceptionnelle

• **L'hérédité autosomique dominante**

- D'après les règles de transmission théoriques

- Les 2 sexes sont touchés avec la **même** probabilité
- La présence d'un allèle muté est suffisante pour développer la maladie
- ♦ Chaque individu atteint est (au moins) hétérozygote pour la mutation
- ♦ Il en a hérité de l'un de ses parents qui est aussi hétérozygote ET atteint
- ⇒ Il transmet à son tour l'allèle muté avec une **probabilité de ½**

LA TRANSMISSION DE LA MALADIE EST **VERTICALE**



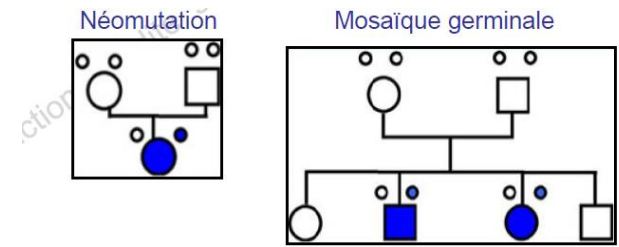
• **Exceptions aux règles de l'hérédité autosomique dominante**

- Parfois, un individu atteint a ses deux parents normaux

1) Soit la mutation est apparue dans les gamètes d'un parent (phénomène favorisé par l'âge paternel et fréquent pour certaines maladies)

→ Si elle n'est apparue que dans un seul gamète, on parle de **mutation de novo (néomutation)** : il n'y a **pas** de risque de récurrence

→ Si la mutation est présente dans un clone de cellules germinales (=mosaïque germinale) : **il existe** un **risque de récurrence**

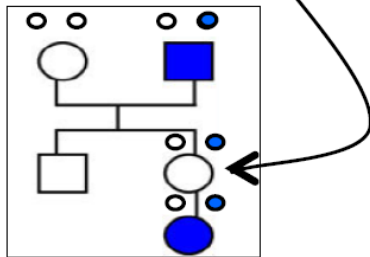


2) Soit la mutation ne s'exprime pas chez le parent porteur

♦ **Saut de génération** : un individu porteur d'une mutation dominante dans toutes ces cellules n'exprime pas la maladie alors que l'un de ces parents ET l'un de ces enfants sont porteurs et atteints

⇒ **LA PENETRANCE** (=proportion d'hétérozygotes développant la maladie) et **L'EXPRESSIVITE** (=intensité des symptômes) **peuvent varier entre individus**

Saut de génération



Exemples de caractères/pathologies autosomiques dominants

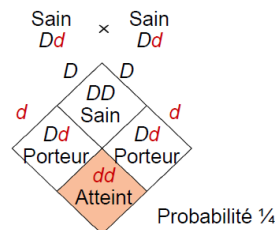
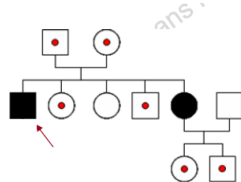
- Les mutations concernent souvent des gènes de structure : maladies du cartilage, osseuses, neurodégénératives ...

- polydactylie (1/500)
- achondroplasie (1/25 000)
- ostéogenèse imparfaite

L'hérédité autosomique RECESSIVE

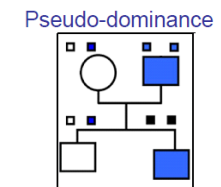
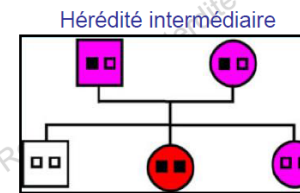
- D'après les règles de transmission théoriques
 - Les deux sexes sont touchés à la même probabilité
 - Deux allèles mutés sont nécessaires pour développer la maladie
 - ♦ Chaque individu atteint est homozygote (ou hétérozygote composite)
 - ♦ Il a hérité d'une mutation de chaque parent qui est porteur sain
 - ⇒ Les parents transmettent à chaque enfant avec une **probabilité de 1/4**.

LA TRANSMISSION DE LA MALADIE EST **HORIZONTALE**



Exceptions aux règles de l'hérédité autosomique récessive

- Parfois, les hétérozygotes présentent des symptômes mineurs (hérédité intermédiaire)
- Cela peut permettre de dépister des couples à risque pour la descendance
- Parfois la transmission semble être verticale (=pseudo-dominance)
- S'observe lors de l'union d'un homozygote et d'un hétérozygote
- ♦ Il s'agit en général de mutations fréquentes dans la population
- ⇒ risque de transmission de la maladie de **1/2** à chaque naissance



Exemples de caractères/pathologies autosomiques récessifs :

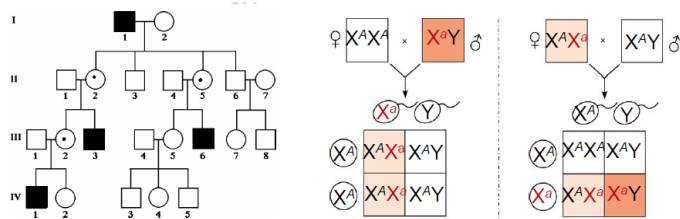
- Les mutations concernent très souvent des gènes codant des enzymes
- La plupart des maladies héréditaires METABOLIQUES sont **RECESSIVES** (ex: phénylcétonurie, tyrosinémie)
- *Drépanocytose* (1/2000 en France): hémoglobine anormale avec globules rouges rigides et occlusion des vaisseaux et infarctus
- *Albinisme* (1/20 000) : défaut de synthèse de mélanine avec vision déficiente et risque de cancer cutané

L'hérédité récessive liée à l'X

- D'après les règles de transmission théoriques

- Seuls les hommes sont atteints car ils sont **HEMIZYGOTES** (= ont un seul X)
- ♦ Ils transmettent l'X muté à toutes leurs filles
- ♦ Ils transmettent l'Y à tous leurs garçons (**PAS DE TRANSMISSION PERE-FILS**)

- Les femmes **hétérozygotes** sont dites porteuses (ou conductrices)
- ♦ Elles sont **généralement saines** mais il y'a des exceptions
- ♦ Elles ont la **1/2 de leurs garçons malades** et la **1/2 de leurs filles porteuses**



• Exceptions aux règles de l'hérédité récessive liée à l'X

- L'INACTIVATION DE L'X CHEZ LA FEMME (=phénomène de lyonisation)

- Dans chaque cellule, **un seul chromosome X est actif à la fois**
- ♦ L'autre est sous forme d'hétérochromatine (= corpuscule de Barr)
- Phénomène **précoce** et **aléatoire** (tantôt un chromosome X, tantôt l'autre)
- ♦ Se transmet de manière clonale et aboutit à un mosaïsme tissulaire

- Parfois, les conductrices présentent des symptômes mineurs

- Dépend du degré d'inactivation de l'X muté chez la femme
- ♦ A l'échelle cellulaire, sont hémizygotés pour l'X (un seul est actif à la fois)
- ♦ Phénomène aléatoire mais parfois biaisé en faveur de l'X muté

- Une femme/homme peut être atteint dans la descendance d'un malade

- S'observe lors de l'union d'une conductrice et d'un malade
- ♦ Il s'agit en général de mutations **fréquentes** dans la population

• Hérédité récessive liée à l'X

- Exemples de caractères ou maladies récessifs liés à l'X

- dystrophie musculaire de Duchenne (1/4000) : myopathie
- daltonisme (1/10) : défaut de vision des couleurs (dyschromatopsie rouge-vert)

• Les exceptions à l'hérédité mendélienne sont nombreuses

- A l'idée que chaque parent contribue de façon équivalente au génotype

- Hérédité mitochondriale (ou maternelle ou cytoplasmique)
- ♦ Le génome mitochondrial n'est transmis que par lignée maternelle
- Hérédité liée à l'empreinte génétique
- ♦ Un gène va s'exprimer ou non selon le sexe du parent transmetteur

- A la notion de dominance ou de récessivité

- Chez un **hétérozygote**, deux allèles peuvent s'exprimer **de façon équivalente** (ex: codominance dans le groupe sanguin ABO)

- A l'idée qu'un caractère dépend d'un seul gène

- Hérédité polygénique/polyfactorielle
- ♦ De nombreux caractères dépendent de plusieurs gènes, voire de l'interaction entre gènes et environnement (taille, poids, couleur de peau...)

• L'hérédité mitochondriale concerne uniquement l'ADNmt

- Les mitochondries hébergent nombre d'enzymes (cycle de Krebs)

- Seul un **défaut de la chaîne respiratoire** est appelée **maladie mitochondriale**

- Les protéines de la chaîne respiratoire, celles assurant son assemblage ou

son fonctionnement sont de plus codées par deux génomes

- ♦ L'ADN nucléaire (hérédité mendélienne) code la plupart de ces protéines
- ♦ L'ADNmt code uniquement 13 des sous-unités de la chaîne respiratoire

• La chaîne respiratoire dépend de deux génomes

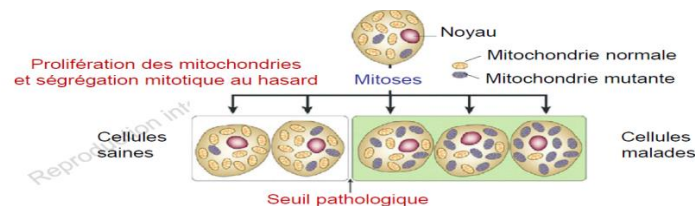
- Une maladie mitochondriale obéit à l'hérédité mendélienne ou maternelle

→ Seules les anomalies de l'ADNmt sont transmises selon un mode maternel

- ♦ Chaque mitochondrie peut contenir des milliers de molécules d'ADNmt
- ⇒ Elle peut contenir à la fois de l'ADNmt normal et muté (hétéroplasmie) ou un seul type d'ADNmt (homoplasmie), soit muté, soit normal

• L'hérédité mitochondriale possède plusieurs caractéristiques

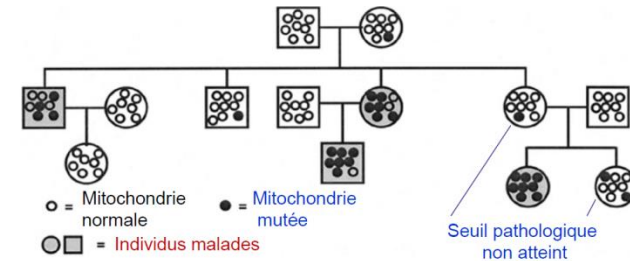
- La répartition variable de l'ADNmt à la mitose (ségrégation mitotique)
- Mitochondries (et ADNmt) se répartissent au hasard durant la mitose
- ♦ Dans chaque cellule (tissu), proportion variable d'ADNmt normal ou muté
- L'existence d'un seuil pathologique tissu-spécifique à partir duquel une mutation de l'ADNmt va pouvoir s'exprimer (hérédité à seuil)



• L'hérédité mitochondriale est dite maternelle

- L'ADNmt est transmis uniquement par la lignée maternelle

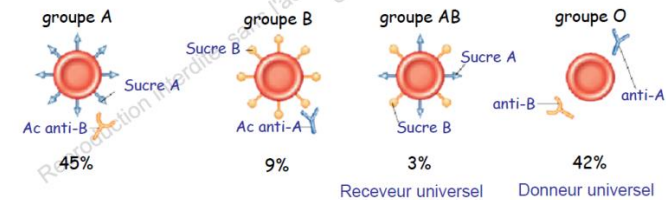
- Le zygote ne contient que des mitochondries d'origine maternelle
- ♦ Elles proviennent uniquement de l'ovocyte car les mitochondries du spermatozoïde, nécessaires à son déplacement, restent en dehors.
- ⇒ Seules les mères transmettent de l'ADNmt et les maladies liées à ce génome



• Multiallélisme et codominance

- L'exemple du groupe sanguin ABO

- Il est déterminé par les sucres (=antigènes) de la surface des globules rouges, dont il existe deux types, A et B
- ♦ On exprime l'un ou l'autre des sucres, les deux ou aucun
- ⇒ Un individu développe des anticorps contre le(s) sucre(s) absent(s) de la surface de ses propres globules rouges



- Un gène peut avoir plus de deux allèles différents dans la population
- ♦ Les allèles possibles du gène du groupe ABO sont **I^A**, **I^B** et **i**
- Deux allèles peuvent déterminer conjointement un phénotype
- Les allèles **I^A** et **I^B** sont codominants mais dominant **i**

Groupe sanguin	Génotype	Anticorps circulants	Réaction des anticorps correspondants avec le sang des autres groupes				
			O	A	B	AB	
O	ii	Anti-A Anti-B					Donneur universel
A	$I^A I^A$ ou $I^A i$	Anti-B					
B	$I^B I^B$ ou $I^B i$	Anti-A					
AB	$I^A I^B$	—					Receveur universel

• L'hérédité polygénique

- Certains caractères sont sous l'influence de plusieurs gènes

→ Caractères comme *la tension artérielle, le poids, la couleur de peau ...*

→ Ex d'interaction entre 3 gènes indépendants codant la couleur de peau

• L'hérédité polyfactorielle

- Le phénotype dépend à la fois du génotype et de l'environnement

→ Un caractère peut dépendre de l'interaction entre plusieurs gènes (gènes de susceptibilité ou facteurs de risque génétique) et l'environnement

♦ Couleur de peau ou des yeux

H- Mutations et maintenance du génome

• On peut classer les mutations de différentes façons

- Selon leur taille et leur type

→ On distingue les **MUTATIONS PONCTUELLES**, à l'échelle **nucléotidique**

Non visibles sur le caryotype **mais** détectées en Biologie Moléculaire

⇒ *substitutions et Insertions/Délétions*

→ Et les **REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES** à l'échelle **chromosomique**.

Parfois visibles sur le caryotype par les **techniques de cytogénétique**

⇒ *Délétion/Duplication, Insertion, Inversion, Amplification, Translocation*

- Selon leurs conséquences :

→ Mutations **perturbant** le message génétique ou neutres (=polymorphisme)

- Selon leur caractère transmissible ou non (somatique ou germinale)

- Selon leur cause

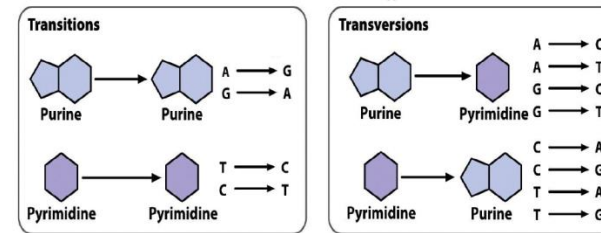
→ On distingue les **MUTATIONS SPONTANÉES** et les **MUTATIONS INDUITES**

• Les mutations ponctuelles sont de deux types

- Il peut s'agir d'une substitution d'un nucléotide par un autre

→ On parle **de transition** si la nature purique ou pyrimidique est **conservée**

→ On parle **de transversion** si **purine devient pyrimidine** et vice-versa



- Il peut s'agir de l'addition/délétion d'un ou plusieurs nucléotides

• Certaines mutations sont spontanées, inévitables

- Elles peuvent être liées à la réactivité chimique spontanée des bases

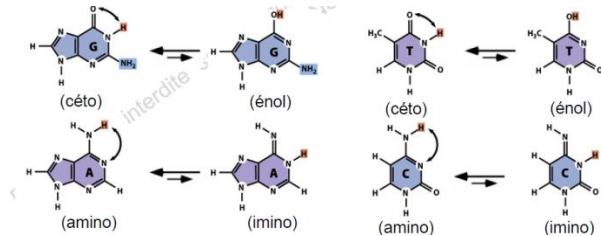
→ Les bases azotées peuvent subir spontanément une **isomérisation de fonction**

♦ **TAUTOMERIE** = déplacement d'un hydrogène et d'une double liaison

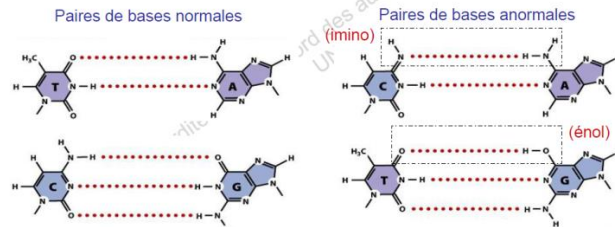
⇒ transformation d'une **fonction cétone** -C=O en **fonction éno**l =C-OH

⇒ transformation d'une **fonction amine** =C-NH₂ en **fonction imine** -C=NH

♦ Les tautomères majeurs « normaux » (fonction cétone/amine) prédominent

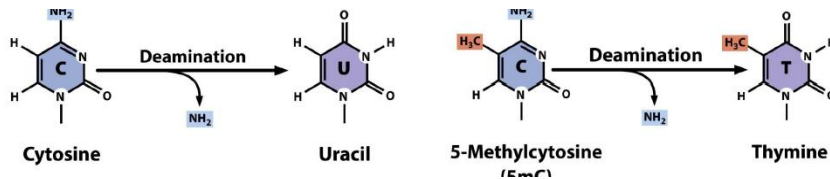


♦ Un tautomère mineur peut favoriser une mutation lors de réplication
 ⇒ Il va s'apparier de façon anormale (paire de base A-C ou G-T)



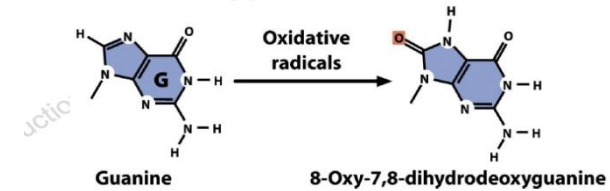
- Elles peuvent être liées à la réactivité des bases liée au métabolisme

→ La **désamination** est la conversion d'un groupe amine en groupe cétone.
 ♦ Elle peut concerner l'adénine, la guanine et la cytosine, méthylée ou non
 ⇒ Adénine → Hypoxanthine, Guanine → Xanthine, Cytosine → Uracile (généralement détectées comme étrangères à l'ADN et remplacées)
 ♦ En revanche, une cytosine méthylée désaminée produit la thymine non reconnue comme étrangère à l'ADN
 ⇒ Dans les régions du génome **riches en cytosines méthylées**, le taux de mutations **est plus élevé** que dans d'autres régions (=point chaud) 🔥



→ La **dépurination**, fréquente, est la *rupture d'une liaison désoxyribose-base*
 ♦ Elle aboutit à une **perte** d'une adénine ou guanine, **remplacée au hasard**
 → L'oxydation, liée à la production de radicaux libres par le métabolisme
 ♦ L'oxydation de la guanine produit la 8-oxoguanine

⇒ si elle n'est pas réparée, elle s'appariera avec l'adénine



- Elles peuvent être liées à l'existence de séquences répétées du génome

→ Les **microsatellites** = *séquences de 10-100pb constituées de motifs répétés*
 ♦ Le plus souvent, di- tri- ou tétranucléotides qui se répètent en tandem
 → Sont instables d'une génération à l'autre (augmentation du nombre de répétitions)
 ♦ Lorsque ces séquences sont dans un gène (séquence codante ou non), il peut y avoir des conséquences au-delà d'un seuil de répétitions.
 ⇒ Ex: *maladies neurologiques par expansion de triplet*

D'autres mutations sont induites par une exposition

- Il peut s'agir d'agents mutagènes physiques, chimiques ou biologiques dont l'exposition répétée favorise l'apparition de cancers divers

→ Les **U.V** entraînent la formation de dimères entre thymines adjacentes
 ♦ Distorsions de l'ADN qui ralentit la polymérase et favorise les mutations
 ⇒ *cancers cutanés*

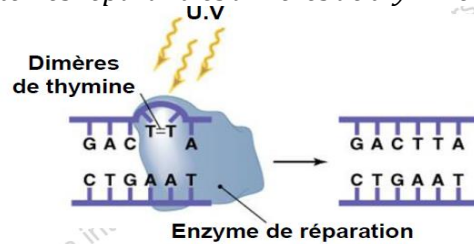
→ Parmi les **agents chimiques**, le **tabac** qui favorise l'apparition de mutations
 ♦ *Cancers de l'oesophage, pulmonaires, de la vessie, etc ...*

→ Parmi les **agents biologiques**, certains **virus** favorisent les mutations et l'apparition de cancers
 ♦ Ex: *Papillomavirus -> Cancer du col de l'utérus*

• **Parmi les systèmes détectant et réparant ces mutations, certains agissent de façon directe**

- Les bases modifiées sont réparées sans excision d'ADN

Exemple d'un des systèmes réparant les dimères de thymine



• **D'autres systèmes agissent indirectement**

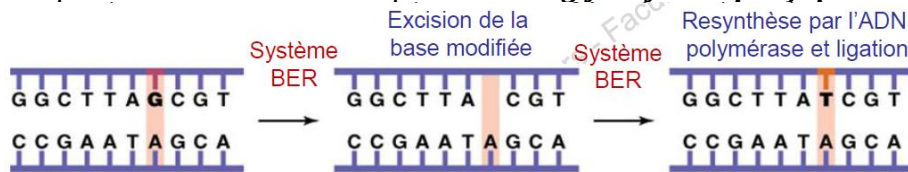
- Réparation par excision d'une base ou région d'ADN et sa resynthèse

Ex: des systèmes BER, NER et MMR

• **Le système BER (Base Excision Repair)**

- Il existe diverses bases modifiées (uracile, hypoxanthine ...)

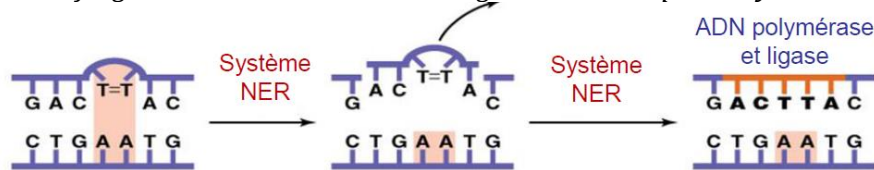
→ Chaque anomalie est reconnue par une *ADN-glycosylase spécifique*



• **Le système NER (Nucléotide Excision Repair)**

- Il répare la plupart des anomalies dont les dimères de thymine

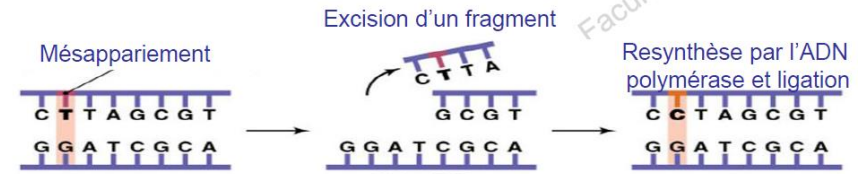
Ex: un fragment de brin contenant le digère est excisé puis resynthétisé



• **Le système MMR (Mutation Mismatch Repair)**

- Il détecte et répare substitutions/insertions échappant à la polymérase

→ Il reconnaît le brin fils erroné et dégrade un fragment contenant l'erreur



→ Son inactivation favorise le développement du syndrome HNPCC
→ Forme familiale de cancers du colon sans polypes et autres cancers

• **La réparation des cassures double-brin de l'ADN**

- Le système NHEJ (Non Homologous End Joining)

→ C'est un système imparfait qui rejoint bout à bout les fragments d'ADN

- La recombinaison homologue

→ Elle utilise le chromosome homologue pour réparer intégralement la lésion

• **D'autres mutations enfin sont génétiquement programmées**

- Elles sont liées à l'inactivation d'un système de surveillance du génome

→ Il peut s'agir d'un des systèmes de réparation des mutations

Ex: inactivation d'un des systèmes de réparation des dimères de thymine

→ Ou d'un système de contrôle du génome au cours du cycle cellulaire

- Les mutations spontanées ne sont ni détectées ni réparées

→ Le taux de mutations augmente et favorise l'apparition des cancers

♦ Si l'inactivation est **transmise**, on observe des **formes familiales de cancer**

• **Le cancer, une « maladie du génome »**

- Lié à l'accumulation de mutations spontanées / induites ou programmées

→ Elle permet l'acquisition progressive des caractéristiques cancéreuses

- ◆ Prolifération incontrôlée, sans facteurs de croissance, immortalité, etc ...
- Caractéristiques liées à l'inactivation de deux types de gènes de cancer
- ⇒ Oncogènes (augmentation prolifération) et suppresseurs de tumeurs (diminution prolifération)

I- BIOLOGIE MOLECULAIRE ET COMPARAISON DE GENOMES

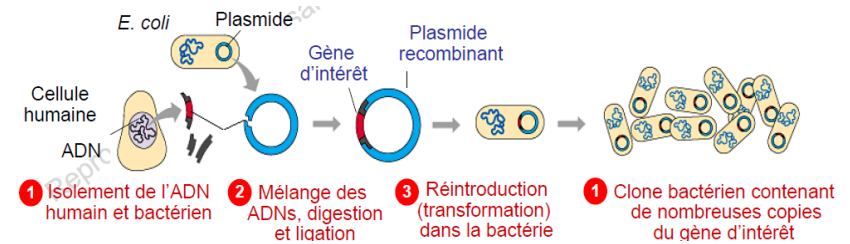
• Les outils de la biologie moléculaire apparaissent vers 1970

- Ils vont permettre de manipuler l'ADN pour l'analyser
- > Fonction « couper, copier, coller, rechercher »
- ◆ Couper : endonucléases de restriction (1968)
- ⇒ Coupent l'ADN au niveau de séquences spécifiques
- ◆ Copier : ADN polymérase, vecteur de clonage
- ◆ Coller : Ligases
- ⇒ Relient entre eux deux fragments d'ADN
- ◆ Fonction « rechercher » : sondes d'hybridation
- ⇒ Courte séquence d'ADN/ARN marquée permettant de repérer une cible
- Ils vont permettre d'amplifier l'ADN pour pouvoir l'analyser
- Grâce à la technique de **clonage d'ADN dans un vecteur** (ex: plasmide)
- Grâce à la **technique de PCR** (Polymerase Chain Reaction)

• Mise au point de la technique de clonage d'ADN (1973)

- Vecteur de clonage
- *Molécule d'ADN qui permet l'introduction d'ADN étranger dans une cellule, sa réplication voire son expression (Ex: clonage dans un plasmide)*

- ◆ Le gène d'intérêt, ou insert (rouge) est introduit dans un plasmide après digestion (=coupure) des ADNs par des enzymes de destruction et ligation
- ◆ Le plasmide recombinant est introduit dans des bactéries / transformation
- ⇒ Les bactéries prolifèrent et « amplifient » le plasmide et le gène d'intérêt

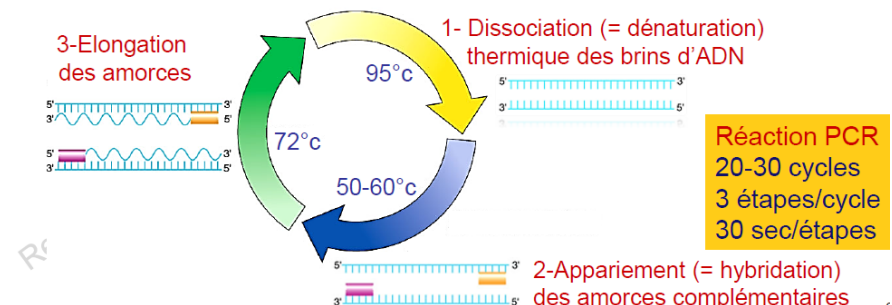


• Les applications sont nombreuses dans tous les domaines

- Applications médicales du clonage
- Production de médicaments recombinants, de vaccins ...
- ◆ Insuline, hormone de croissance, facteurs de coagulation...
- Thérapie génique ...
- ◆ Utilisation d'un vecteur de clonage pour remplacer un gène défectueux ou rendre une cellule sensible à un médicament

• Mise au point de la technique de PCR (1983)

- Permet l'amplification exponentielle d'une séquence spécifique d'ADN
- Répétition in vitro de la réplication sur n cycles -> 2n copies de la cible
- ◆ Thermocycleur : appareil faisant varier la température de façon cyclique
- ◆ Réactifs : ADN contenant la cible (2 copies), ADN polymérase thermostable (Taq), dNTPs, primers (=amorces de synthèse) encadrant la cible (synthèse nécessitant de connaître la séquence complémentaire)



• L'analyse d'ADN après PCR à de multiples applications

- Diagnostic génétique des maladies héréditaires

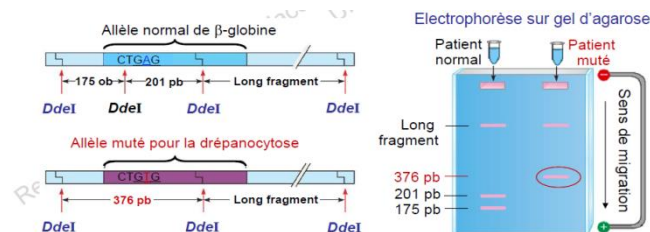
→ Diagnostic post-natal, prénatal (interruption de grossesse), préimplantatoire (fécondation in vitro) avec analyse sur quelques cellules seulement

- Diagnostic en virologie, parasitologie, bactériologie, criminologie, etc...

→ Détection et quantification de virus, parasites ou bactéries
→ Identification de coupables par l'ADN retrouvé sur les scènes de crime

- Ex: diagnostic indirect de la drépanocytose par PCR-RFLP

→ Après amplification d'un fragment du gène de la Beta-globine, on soumet les produits PCR à l'action de l'enzyme de restriction DdeI
♦ Elle coupe l'ADN lorsqu'elle trouve la séquence
⇒ Chez les malades, il y a perte d'un site de coupure (codon GAG → GTG) mise en évidence par séparation en taille des fragments digérés



- Ex : Diagnostic direct de la drépanocytose par PCR-séquençage

→ Utilise des terminateurs de chaîne (désoxynucléotide, ddNTP) fluorescents

♦ La réaction de PCR s'arrête à chaque incorporation possible d'un ddNTP
⇒ Mélange de fragments dont la taille indique chaque position d'un dNTP
♦ Séparation en taille par électrophorèse capillaire et lecture de la séquence

• Le génome complet de l'homme a été séquence (1990-2003)

- Le génome humain haploïde contient 3 milliards de bases

→ Le nombre de gènes est estimé entre 20 - 30 000
♦ La fonction de plus de **50%** de ces gènes est **inconnue**

→ Les séquences codantes représente <5% du génome
♦ La fonction de **95%** du génome est **non / mal connue**

- Le génome de deux individus est identique à 99,9 %

→ Les différences apparemment neutres sont appelées polymorphismes
♦ Ces polymorphismes expliqueraient certaines différences entre individus
⇒ Leur connaissance est déjà à la base d'une Médecine personnalisée

♦ D'autres différences entre individus pourraient s'expliquer par des différences de modifications épigénétiques

• Le génome d'autres organismes est séquence

- Le génome de l'homme et du chimpanzé est identique à 98,6%

→ Des différences de génome expliquent-elles les différences entre procaryotes et eucaryotes ? Et entre eucaryotes monocellulaires et pluricellulaires ?

• Les questions fondamentales de la génomique comparative

- Quelle(s) différence(s) fondamentale(s) entre procaryotes / eucaryotes ?

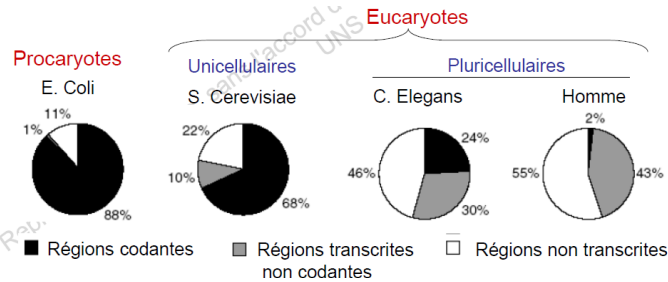
→ Le **nombre de gènes** est à peu près **similaire**

♦ Il est donc **sans rapport avec la complexité d'un organisme**

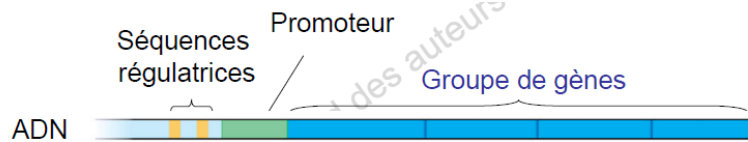
	Taille du génome (10 ⁹ bases)	Nombre Gènes	Nombre gènes / Taille du génome
Procaryotes (<i>E. coli</i>)	4.6	~ 4000	~ 1/1000 pb
Eucaryote monocellulaire (<i>S. cerevisiae</i>)	12	~ 6,000	~ 1/2000 pb
Eucaryote pluricellulaire (<i>C. elegans</i>)	100	~ 14,000	~ 1/7000 pb
Homme	3 000	~ 30,000	~ 1/100 000 pb

→ Cette différence réside dans la **proportion du génome codant pour la taille du génome**

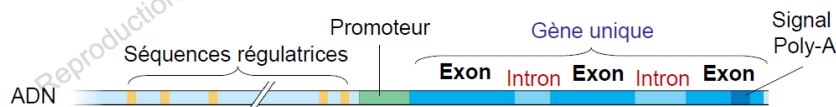
- ◆ **Plus** un organisme est **complexe** :
- ⇒ **moins** son génome contient de séquences codantes
- ⇒ **plus** il contient de séquences non codantes, transcrites ou non



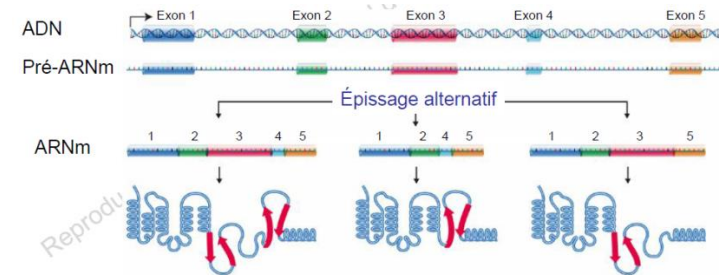
- Les séquences non codantes transcrites correspondent aux introns
- ◆ Les gènes **PROCARYOTES** sont regroupés et dénués d'introns



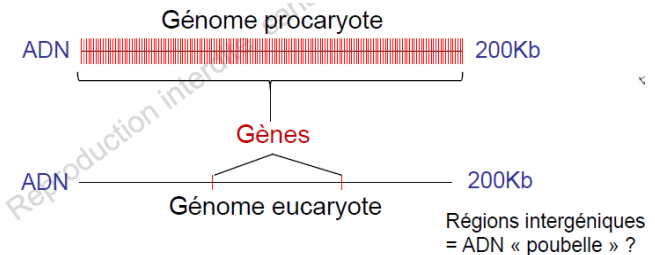
- ◆ Les gènes **EUCARYOTES** sont régulés individuellement et morcelés (introns)
- ⇒ Les **introns** sont transcrits (pré-ARNm) *avant d'être éliminés* ce qui explique **l'abondance de séquences non codantes transcrites par gène**



- Les **INTRONS** ont participé à l'évolution et à la complexification des organismes
- Ils permettent de produire **plusieurs protéines à partir d'un gène**
- ◆ Chez l'homme, 20-30 000 gènes → 200 000 protéines différentes
- ⇒ **C'est le nombre de protéines d'un organisme qui reflète sa complexité**

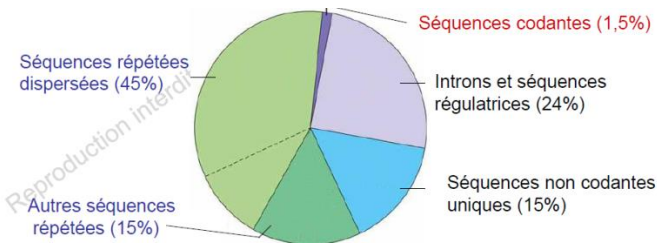


- Les **séquences non-codantes** non transcrites sont les **régions intergéniques**
- ◆ Le génome **PROCARYOTE** contient **peu** de régions intergéniques (compact)
- ⇒ La densité de gènes est élevée (un gène toutes les 1000 bases)
- ◆ Le génome **EUCARYOTE** contient de vastes **régions intergéniques** (« désert »)
- ⇒ **La densité de gènes est faible** (un gène toutes les 100 000 bases)



- Les **régions intergéniques** sont en majorité des séquences répétées dont :
- ◆ Les séquences répétées dispersées (45% du génome humain)
- ⇒ **Transposons** et **rétrotransposons** (séquences L1 ou Alu)

♦ D'autres séquences répétées (15%) dont les séquences répétées en tandem (5%) et les duplications de larges séquences génomiques (5%)



- Et entre eucaryotes **MONOcellulaires** et **PLURIcellulaires** ?

→ En proportion, le nombre de gène dans le génome décroît

♦ Plus un organisme est **complexe**, moins son génome est **riche** en gènes ! 🌸*

• **Les séquences répétées favorisent l'évolution**

- Un transposon peut se déplacer et se multiplier dans le génome

→ En se déplaçant dans un gène, un transposon l'inactive

→ La découverte des transposons chez le maïs (Barbara McClintock, 1947) à permis d'expliquer les variations de couleur des grains (voir diapo 75)

• **Les séquences répétées favorisent les duplications ou délétions de régions et des gènes qu'elles contiennent**

- Les transposons favorisent les crossing-over inégaux entre chromatides

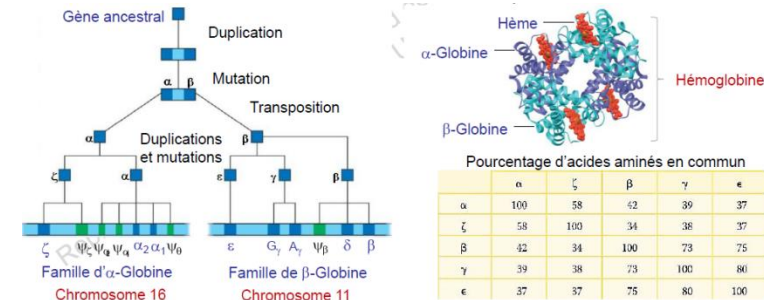
→ Le résultat est un chromosome avec délétion d'une région et un autre chromosome avec duplication de cette région

• **Les séquences répétées ont favorisé l'évolution**

- Certains gènes identiques ou similaires se répètent en tandem et forment des familles multigéniques

→ Elles sont issues de **duplications** et **mutations** à partir d'un gène ancestral

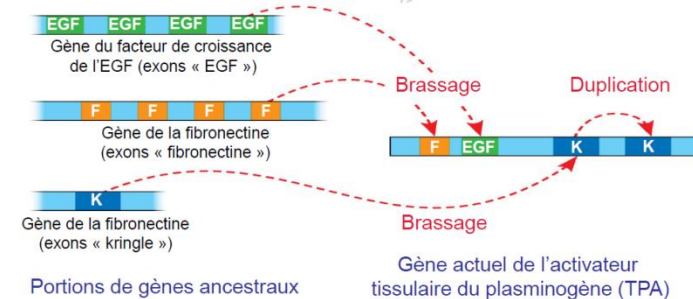
♦ Ex: famille de gènes codant les chaînes de globine de l'hémoglobine (trois gènes de la famille alpha, 5 de la famille Beta et 5 pseudo-gènes)



• **Les séquences répétées favorisent les réarrangements de portions de gènes et d'exons (duplications, brassage d'exon)**

- Ces réarrangements favorisent la création de nouveaux gènes

♦ Un exon peut, par exemple, être déplacé d'un gène à un autre par l'intermédiaire des transposons qui l'encadrent



- **Duplications/réarrangements/ mutations sont à l'origine de l'évolution des espèces**

- A partir des premières formes de vie (nombre minimal de gènes), l'évolution des génomes a contribué à l'apparition de nouvelles espèces

- **En conclusion, séquences répétées et non codantes**

- Seraient à la base de l'évolution des espèces

→ Grâce aux duplications, réarrangements, mutations, épilage alternatif...

→ En contrepartie, elles peuvent favoriser l'apparition de maladies génétiques

