



BIOLOGIE MOLECULAIRE

Cours n°3

I. L'hérédité mendélienne et exceptions

A. Historique

Les premières bases de l'hérédité par Mendel en 1860 :

- Chaque caractère ou trait dépend de « gènes » donc il existe deux versions (allèles) héritées de chaque parent.
- Un individu peut être homo (deux allèles identiques) ou hétérozygote (deux allèles différentes) pour un gène
- Un allèle peut être dominant ou récessif

2 lois sur la transmission des gènes :

Assortiment indépendant	Ségrégation des caractères
- Gène indépendant les uns des autres : allèles non liés	- Allèles séparés lors de la mitose - Couple reformé au hasard

Théorie chromosomique de l'hérédité

Observation de la méiose au microscope :

- Comportement des K expliquerait les lois de Mendel
- Chaque gène aurait une position fixe = locus sur un K
- Allèles de chaque gène situé au niveau du même locus sur les K paternels et maternels de la même paire

Rappel comportement K pendant la méiose

Alignement aléatoire de chaque paire de K	K homologues séparés
Explique la loi de l'assortiment indépendant des caractères	Cellule fille contient soit le K paternel soit maternel DONC les allèles paternel et maternel sont séparés
(Non valable pour des gènes d'un K car ils sont physiquement liés)	Explique la loi de ségrégation

Théorie chromosomique prouvée par Morgan (1910)

Mutation d'un gène (yeux blancs) chez la drosophile
Début d'expérience = **Hypothèse** que l'allèle du gène est lié à X et récessif. La mutation ne s'exprime que chez les mâles et leur descendance n'exprime jamais le caractère mutant.

Il conclut que **l'allèle mutant est récessif lié à l'X** car :
 Le phénotype mutant réapparaît seulement dans la **deuxième génération** chez la **moitié des mâles**. La moitié des **femelles** sont **conductrices** de la mutation.

B. Exceptions à l'hérédité mendélienne

Morgan obtient d'autres mutations récessives liées à l'X

- **Croisement de femelles non mutées avec des hommes mutants** (corps noir et petites ailes) : certains descendants n'expriment **qu'une seule des mutations** bizarrement ! → **Crossing-over qui sépare les gènes liés pour leur assortiment indépendant en créant de nouveaux haplotypes (combinaison d'allèles)**

Différents modes d'hérédité chez l'Homme

- Hérédité mendélienne la plus simple = dominance/récessivité + chaque parent contribue de façon équivalente au génotype d'un individu + gène transmis inchangé à la descendance + un caractère dépend d'un seul gène

Hérédité autosomique	Hérédité liée à l'X	Hérédité liée à l'Y
-Dominante (>60% maladies mendéliennes) -Récessive (30%)	-Dominante, RARE -Récessive, <10%	Exceptionnelle

• Hérité autosomique dominante d'après les règles de transmissions théoriques

- 2 sexe touchés avec la même proba
- Un allèle muté suffit pour développer la maladie = au moins hétérozygote. Il l'a hérité de l'un de ses parents qui est aussi hétérozygote et atteint.
- Cet individu transmettra l'allèle muté avec une proba de $\frac{1}{2}$

EXCEPTIONS à ces règles :

- Parfois un individu atteint à ses 2 parents normaux :
 - Mutation apparue dans les cellules germinales d'un parent (**néomutation**)
- Risque plus élevé d'apparition dans un clone de gamètes (**mosaïque**) que dans un seul gamète !
 - Mutation présente mais non exprimée chez le parent porteur :
- Saut de génération** (individu porter de la mutation dominante n'exprime pas la maladie alors qu'un de ces parents + de ces enfants sont atteints)
- Pénétrance** (proportion d'hétérozygote développant la maladie) **et expressivité** (intensité des symptômes) **varient entre individus**

Ces mutations touchent souvent des **gènes de structure** = maladie osseuse, neurodégénérative ...

Exemple polydactylie, achondroplasie, ostéogénèse imparfaite

• Hérité autosomique récessive d'après les règles de transmissions théoriques

- 2 sexes touchés avec la même proba
- Les 2 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 porteur sain (transmission avec une proba de $\frac{1}{4}$)

EXCEPTIONS à ces règles :

- Parfois les **hétérozygotes ont des symptômes mineurs** (**hérité intermédiaire**) qui peut permettre de dépister des couples à risque pour la descendance.
- Parfois la **transmission est verticale** (**pseudo-dominante**) : union d'un homozygote avec un hétéro ! Mutation fréquentes dans la population = risque de transmission d' $\frac{1}{2}$ à chaque naissance

Ces mutations touchent souvent des **gènes codant des enzymes** = maladies héréditaires métaboliques souvent récessives

Exemple :

- *drépanocytose (1/2000 en France) : hémoglobine anormal donnant des GR rigides, occlusion des vsx et infarctus*
- *albinisme (1/20000) : défaut de synthèse de la mélanine donnant une vision déficiente et des risques de cancer cutané*

• Hérité récessive liée à l'X d'après les règles de transmissions théoriques

- Seuls les hommes sont atteints et **transmettent l'X muté à toutes leurs filles** : elles sont porteuses (**conductrices**) mais généralement **saines**.
- $\frac{1}{2}$ des garçons sont malades et $\frac{1}{2}$ des filles porteuses
- Ils transmettent l'Y à tous leurs garçons (pas de transmission père-fils)

EXCEPTIONS à ces règles :

- **L'inactivation de l'X chez la femme = lyonisation**
- Dans chaque cellule, un seul K X est actif à la fois, l'autre K X = hétérochromatine (**corpuscule de Barr**). A l'échelle cellulaire, elles sont donc hémizyotes.
- Phénomène précoce et aléatoire** (*un K X chacun son tour*) : se transmet de manière clonale et donne un mosaïsme tissulaire.
- Parfois les **conductrices présentent des symptômes mineurs**
- Dépend du degré d'inactivation de l'X muté, parfois l'inactivation de l'X est biaisée en faveur du muté. (*le non muté est inactif*)
- Une femme ou un homme peut être atteint dans la descendance d'un malade : union d'un malade avec une conductrice, mutations fréquentes dans la population

Exemple :

- *dystrophie musculaire de Duchenne (myopathie)*
- *daltonisme*

Exceptions à l'hérité mendélienne

- **Chaque parent contribue de façon équivalente au génotype :**
- Hérité mitochondrial** : ce génome est transmis que par la mère
- Hérité liée à l'empreinte génétique** : UNE seule copie d'un gène s'exprime selon le sexe du parent transmetteur

- **Notion de dominance et récessivité**

Deux allèles peuvent s'exprimer de façon équivalente parfois (*ex groupe sanguin ABO*)

- **Un caractère dépend d'un seul gène**

Hérédité polygénique/ polyfactorielle : bcp de caractères dépendent de plusieurs gènes voire de l'interaction entre gènes et environnement

L'hérédité maternelle concerne uniquement l'ADN mitochondrial (ADNmt)

→ **Les mitochondries hébergent beaucoup d'enzymes :**

- Seul un défaut de la chaîne respiratoire = **maladie mitochondriale**
- Protéines de la chaîne respiratoire (assurant assemblage ou fonctionnement) sont codées par **2 génomes** : **ADN nucléaire code la majorité / l'ADNmt code seulement 13 sous-unités de la chaîne respi**

→ **Répartition variable de l'ADNmt à la mitose (ségrégation mitotique)**

Les mitochondries se répartissent au hasard pendant la méiose : la proportion d'ADNmt normal ou muté peut changer

→ **Seuil pathologique tissu-spécifique à partir duquel il y a expression de la mutation de l'ADNmt (hérédité à seuil)**

→ **Le zygote ne contient que des mitochondries issues de l'ovocyte**

Les mitochondries du sperm restent en dehors

L'hérédité liée à l'empreinte

Génome paternel et maternel NON équivalents

→ Différentes régions sont soumises à empreinte = région où l'expression des gènes est différente du reste.

Dans celle-ci, existe des centres d'empreinte recrutent les régulateurs de l'expression des gènes avec une empreinte (imprimés)

Empreinte = modifications épigénétiques = méthylation de l'ADN différente entre papa et maman = **DMR**

→ Cette hérédité est transmise du zygote aux cellules filles au cours des divisions :

- Conservée dans les tissus somatiques (et certaines dans 1 seul tissu)
- Effacée et reprogrammée dans les gamètes (nvelle empreinte identique au genre du parent)

→ L'expression d'un gène soumis à empreinte est **monoallélique** (seulement l'allèle paternelle ou maternelle)

Absence d'expression ou expression biallélique = **pathologie**

Ces 2 génomes sont nécessaires à un développement normal

PATHO = **Syndrome de Prader-Willi (PWS) et d'Angelman (A)**

2 zones imprimées en 15q11-q13 (régions du K15), centromérique et télomérique :

- Délétion 15q11-q13 transmise par le père = syndrome **PWS**

Le gène PWS normalement exprimé chez le père est **absent**

- Délétion 15q11-q13 transmise par la mère = syndrome **A**

Le gène normalement exprimé chez la mère est absent

Multiallélisme et codominance

→ Exemple groupe sanguin ABO :

- Déterminé par les **sucre (= antigènes)** sur la surface des GR dont 2 types A et B existent

- Exprime l'un ou l'autre (A ou B), les deux (AB) ou aucun (O)

- Développe les anticorps contre les sucres absents (*exemple Ac anti-B quand groupe A*)

- Un gène peut avoir **+ de 2 allèles différents** : ABO avec les allèles I^A , I^B et i

- 2 allèles peuvent déterminer ensemble un phénotype : les allèles du groupes A et B sont **codominants** mais dominant i

Hérédité polygénique ou polyfactorielle

Caractères dépendant de plusieurs gènes voire de l'environnement :

TA, poids, couleur de peau (interaction gènes et exposition solaire)

II. Mutations et maintenance du génome : classification des mutations

Selon la taille et leur type

- **Mutations ponctuelles** = échelle nucléotidique
Non visibles sur un caryotype mais détectées en biomol
Deux types :
→ Substitution d'un nucléotide par un autre

Transition	Transversion
Nature purique ou pyrimidique conservée	Si la nature change (purine devient pyrimidique et inversement)

→ Addition ou délétion d'un ou plusieurs nucléotides

- **Remaniements chromosomiques** = échelle chromosomique
Visible sur un caryotype par cytogénétique (délétion/duplication, insertion, inversion, amplification, translocation)

Selon leurs conséquences

- Mutation perturbant le message génétique ou mutations neutres (polymorphismes)

Selon leur caractère transmissible ou non (somatique/germinale)

Selon leur cause

- **Mutations induites par une exposition**
Agents mutagènes physiques, chimiques ou biologiques
Exposition répétée = favorisation de cancers
- **Mutations spontanées inévitables** : 3 types détaillés

1) Réactivité chimique spontanée des bases

Isomérisation de fonction subit par les bases azotées :

Tautomérie = déplacement d'un hydrogène et d'une double liaison

Ex *cétone en énol / amine en imine*

Les tautomères majeurs normaux prédominent (ceux qui ne sont pas transformés = *cétone/amine*)

Un tautomère mineur peut favoriser une mutation pendant la réplication

L'isomérisation donne de nouvelles liaisons hydrogène → formation de paire de base anormale (A-C ou G-T)

Alan

2) Réactivité des bases liée au métabolisme

Désamination = conversion d'une amine en cétone
Détectée comme étrangère à l'ADN et remplacée

Adénine → Hypoxanthine, Guanine → Xanthine, Cytosine → Uracile

Par contre une *cytosine méthylée désaminée* = thymine = NON étrangère à l'ADN → fréquent dans les îlots CpG ce qui donne beaucoup de mutations :

POINT CHAUD

Dépurination : rupture d'une liaison désoxyribose-base, fréquente
Perte d'une adénine ou guanine remplacée au hasard

Oxydation : production de radicaux libres par le métabolisme

Guanine → 8-oxoguanine

Si non réparée, elle s'apparie avec l'adénine

3) Existence de séquences répétées du génome

Microsatellite = séquences de 10-100 paires de bases de motifs répétés

Souvent 2,3 ou 4 nucléotides répétés en tandem

Instable d'une génération à l'autre, augmentation des répétitions

Quand ces séquences sont dans un gène (codant ou non), patho peut apparaître

Ex : *maladies neuro par expansion de triplet*

- Mutations génétiquement programmées

Liée à l'inactivation d'un système de surveillance du génome ou un de contrôle du génome pendant le cycle cellulaire

Ex *inactivation d'un système de réparation des dimères de thymine*

LES MUTATIONS SPONTANÉES NE SONT NI DÉTECTÉES NI RÉPARÉES

Taux de mutations augmente, apparition précoce de cancers

Possibilité de formes familiales de cancer

Cancer = « maladie du génome » = acquisition progressive des caractéristiques cancéreuses (prolifération ++, immortalité ...) = lié à l'(in)activation de « gènes de cancers »

III. Biologie moléculaire et génomique comparative

A. Les outils de biologie moléculaire à partir des années 70

→ Manipuler l'ADN pour l'analyser

Couper = endonucléase de restriction (1968)

Copier = ADN polymérase, vecteur de clonage

Coller = ligase = relier entre eux 2 fragments d'ADN

Rechercher = sondes d'hybridation = courte séquence d'ADN/ARN marquée pour trouver une cible

→ Amplifier l'ADN pour l'analyser

- Clonage d'ADN dans un vecteur

- Technique de PCR

1) Clonage (1973)

- Molécule d'ADN permettant l'introduction + réplication (voire expression) d'ADN étranger dans une cellule

Gène d'intérêt ou insert introduit dans un plasmide après digestion des ADNs par des enzymes de restriction et ligation

Le plasmide recombinant est introduit dans des bactéries par **transformation**

Applications médicales =

- production de médicaments recombinants, vaccins (insuline, hormone de croissance ...)

- thérapie génique : remplacement d'un gène défectueux ou rendre une cellule sensible à un médicament

2) PCR (1983)

Amplification exponentielle d'une séquence spécifique d'ADN

Réplication in vitro d'une copie sur n cycles = 2^n copies

Thermocycleur + réactifs (ADN contenant la cible, Taq, dNTP et primers)

Applications =

- Diagnostic génétique de maladies héréditaires : diagnostic post et pré-natal, pré-implantatoire avec analyse sur quelques cellules

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

Détection et quantif de virus, parasites ou bactéries

Identification de coupables par l'ADN retrouvé sur les scènes de crime

- Exemple : Diagnostic indirect de la drépanocytose par PRC-RFLP

• Amplification d'un fragment de gène de la beta-globuline

• Soumission des produits PCR) l'enzyme de restriction Ddel (coupe l'ADN quand elle trouve une séquence spécifique)

Chez les malades, il y aura coupure par cette enzyme (car mutation présente)

DONC **taille de fragments différents**

- Exemple : Diagnostic direct de la drépanocytose par PCR Séquençage

• Terminateurs de chaîne fluorescents

Réaction PCR s'arrête à chaque incorporation d'un ddNTP

• Séparation en taille par électrophorèse capillaire et lecture de séquence

3) Génome complet séquencé (1990-2003)

- **Génome humain haploïde = 3 milliards de bases**

20 à 30 000 gènes dont plus de la moitié ont une fonction inconnue

Séquences codantes <5% du génome (la fonction de 95% du génome est non ou mal connue)

- **Génome de 2 individus identique à 99,9%**

Les différences apparemment neutres sont nommées polymorphismes

Ces derniers expliquent quelques différences entre individus (→ médecine personnalisée)

Les autres différences s'expliquent par des modifications épigénétiques différentes.

Génome de l'homme et du chimpanzé identique à 98,6%

B. les questions fondamentales entre procaryote et eucaryote

- **Quelle(s) différence(s) fondamentale(s) entre procaryotes et eucaryotes ?**

Nb de gènes similaire donc

Le nombre de gènes est sans rapport avec la **complexité d'un organisme**

- **Et entre eucaryotes monocellulaires et pluricellulaires ?**

Rapport taille du génome / nb de gènes décroît

+ un organisme est complexe, - son génome est riches en gènes

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

+ un organisme est complexe, + il contient de séquences non codantes

(transcrites ou non)

Séquences non codantes transcrites = introns

Les introns sont transcrits avant d'être éliminés ce qui explique l'abondance de séquences non codantes transcrites par gène.

Ces séquences favorisent le réarrangement de portions de gènes et d'exon.

Les introns ont participé à l'évolution + complexification des organismes

→ Plusieurs protéines à partir d'un gène. 20-30 000 gènes donne 200 000 protéines différentes

C'est le nombre de protéines d'un organisme qui reflète sa complexité

- Séquences non codantes non transcrites = régions intergéniques

Génome procaryote compact (peu d'intergénique)	Génome eucaryote vaste régions intergéniques (désert)
Densité de gènes élevée	Densité de gènes faible

Régions intergéniques = séquences répétées de 2 types

- **dispersées** (45% du génome) transposons et rétrotransposons
- **en tandem** ou **duplications de large séquence génomique**

Un transposon peut se déplacer et se multiplier dans le génome, il inactive le gène : à l'origine des variations de couleur des grains de maïs, nouveaux gènes.

Il peut aussi favoriser les crossing-over inégaux entre chromatides : K avec délétion d'une région et autre K avec duplication de cette même région

Gène ancestral → duplication/mutation (séquences répétées) → famille multigénique

Duplication, réarrangements, mutations sont à l'origine de l'évolution des espèces : à partir des premières formes de vie, l'évolution des génomes a contribué à l'apparition de nouvelles espèces

→ **les séquences répétées et non codantes sont à la base de l'évolution des espèces mais peuvent favoriser l'apparition de maladies génétiques**

THE END

Désolée pour la longueur de la fiche, j'ai fait au mieux ☺
Bon courage à tous et n'oubliez pas la biomol jusqu'en décembre