

BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

PAES

2010-2011

Dr. NAÏMI

Reproduction interdite sans l'accord des auteurs - Faculté de Médecine - UNS

PLAN DU COURS

- Bases essentielles de la notion d'hérédité
- Structure et Organisation du Génome humain
- Réplication du génome
- Expression du génome
 - Transcription et Traduction
 - Régulation de l'expression génique
- Maintenance du génome
 - Mutations, Systèmes de réparation et Cancers

La Traduction chez les Eucaryotes

- **Généralités**
- **Les caractéristiques du code et ses « dessous »**
- **Les acteurs de la traduction**
 - Les ARNs de transfert et le Wobble
 - Les aminoacyl ARNt synthétases
 - Les ribosomes et ARNs ribosomiaux
- **Les étapes de la traduction**
- **Antibiotiques et traduction**
- **Maturation et adressage des protéines**

Généralités sur la traduction

- **Étape cytosolique de l'expression des gènes**
 - L'information nucléotidique de l'**ARN messager mature** est interprétée dans le langage des protéines (= Traduction)
- **Fait intervenir de nombreux (tr)a(du)cteurs**
 - Les **ARNt** et **enzymes** leur fixant les **acides aminés**
 - Les **ribosomes**, assemblages de protéines et d'**ARNr**
 - Des **facteurs d'initiation**, d'**élongation** et de **terminaison**

Le code génétique

= Clé de déchiffrement du message génétique

- **Utilise des triplets de nucléotides ou codons**
 - Quatre possibilités à chaque position: $4^3=64$ codons
 - Dont les **codons stop** UAA, UAG et UGA (fin de traduction)
- **Souvent représenté par un tableau à 3 entrées**
 - Le sens de chaque codon est à leur intersection

		2 ^{ème} lettre				
		U	C	A	G	
1 ^{ère} lettre	U	UUU } Phe	UGU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA	UGA	A
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG	UGG } Trp	G
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U	
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C	
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A	
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G	
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U	
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C	
	AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A	
	AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G	
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U	
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C	
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A	
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G	

Les caractéristiques du code génétique

- **Il est quasi-universel**
 - Toutes les espèces vivantes utilisent le même code
 - Les rares exceptions (mitochondries...) reposent sur un seul codon
- **Il est non chevauchant**
 - Chaque nucléotide de l'ARNm n'appartient qu'à un codon
 - La mutation d'un nucléotide ne change au max. qu'un acide aminé
 - L'ARNm est décodé selon un **cadre de lecture** fixe et précis
- **Il est non ambigu...**
 - Un codon donné correspond toujours au même acide aminé
- **...mais il est dégénéré: 61 codons pour 20 a.a**
 - Un acide aminé peut-être spécifié par plusieurs codons (excepté méthionine et tryptophane) = **Codons synonymes**
 - Souvent, ne \neq que / le dernier nucléotide (→ Théorie Wobble)

Le cadre de lecture des ARNm

- Trois cadres de lecture selon 1^{er} nucléotide choisi

- Le cadre ouvert de lecture (*Open Reading Frame*)

- Est celui qui permet la synthèse de la protéine entière
- Est spécifié par le codon AUG qui initie la traduction
- Est repéré grâce à la séquence dans laquelle il est inclut
 - Séquence de Kozak: 5'-A/GCCA/GCCA**AUG**A/G-3'

- Les deux autres cadres sont dits bloqués

- Sont généralement interrompus par un codon « stop »



Les « dessous » du code génétique

- **Le choix des codons ne s'est pas fait au hasard**
 - Biais de sélection exercé / mutations au cours de l'évolution
 - → Minimiser la conséquence mutation du 3^{ème} nucléotide
 - Pour les codons synonymes, **mutation souvent neutre**, sans effet
 - Pour d'autres, **mutation conservative**, c.à.d.. substitution d'un a.a par un a.a de même nature (acide, basique, hydrophile, hydrophobe)
 - Pour d'autre, **mutation non conservative** voire **non sens** (→ Stop)

Mutation neutre	PHE	SER	TYR	CYS	Mutation Non sens
	PHE	SER	TYR	CYS	
	LEU	SER	STOP	STOP	
	LEU	SER	STOP	TRP	
Mutation conservative	LEU	PRO	HIS	ARG	HYDROPHOBE HYDROPHILE BASIQUE ACIDE
	LEU	PRO	HIS	ARG	
	LEU	PRO	GLN	ARG	
	LEU	PRO	GLN	ARG	
Mutation conservative	ILE	THR	ASN	SER	HYDROPHOBE HYDROPHILE BASIQUE ACIDE
	ILE	THR	ASN	SER	
	ILE	THR	LYS	ARG	
	MET	THR	LYS	ARG	
Mutation conservative	VAL	ALA	ASP	GLY	HYDROPHOBE HYDROPHILE BASIQUE ACIDE
	VAL	ALA	ASP	GLY	
	VAL	ALA	GLU	GLY	
	VAL	ALA	GLU	GLY	

Les « dessous » du code génétique

- **Deux « codes » cachés dans le code génétique**
 - **1^{er} code, spécificité de l'appariement codon-anticodon**
 - Repose sur la **complémentarité des bases** (A–U / G–C)
 - **Orientation antiparallèle ARNm et ARNt**
 - Extrémité 5' codon ↔ Extrémité 3' anticodon et *vice-versa*
 - **Dégénérescence du code**: à priori, autant d'ARNt que de codons
 - Les 61 codons seraient reconnus chacun par un ARNt différent
 - **2^{ème} code, spécificité de l'association ARNt-acide aminé**
 - Assurée par les **aminoacyl-ARNt synthétases** (aaRs):
 - Chacune spécifique d'un acide aminé / plusieurs **ARNt isoaccepteurs**
 - Liés au même a. a, reconnaissent un ensemble de **codons synonymes**

Les ARNs de transfert

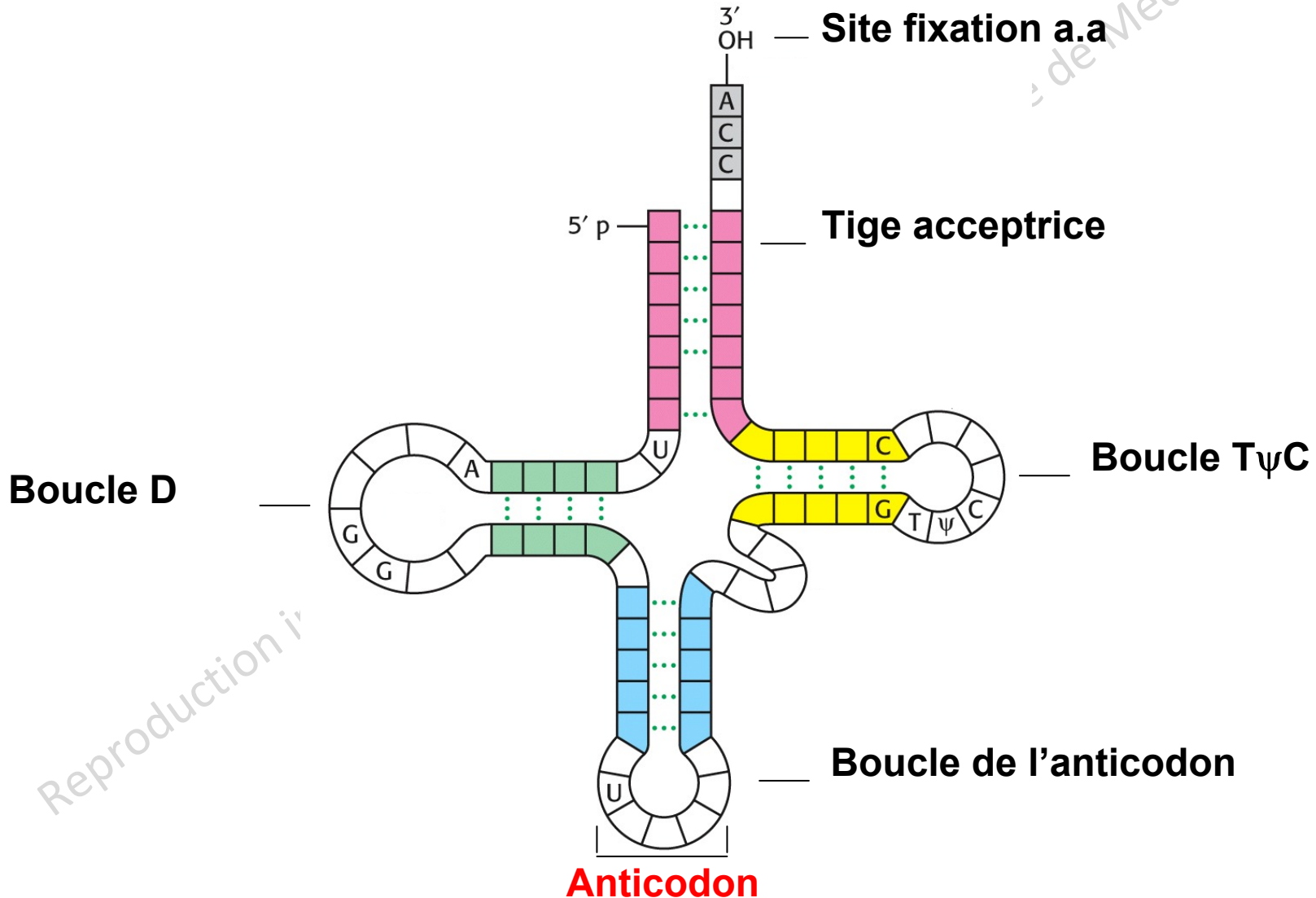
- **Nombre gènes et d'ARNt varie selon les espèces**
 - Homme: 497 gènes d'ARNt, 48 anticodons ≠ représentés
- **Séquence primaire des ARNt**
 - ~ 100nt de long, 13 nt invariants quelque soit l'ARNt
 - **Maturation** → Modification de 10-25% des bases
 - Très variées, se font après transcription ARNt primaire (pré-ARNt):
 - **Adénosine (A) → Inosine (I)** (→ Wobble)
 - » Enzyme: Adénosine Déaminase



- **Uridine → Pseudo-uridine (ψ), dihydrouridine (D)...**
 - » Mais aussi 5-méthyluridine ou 5-méthyl-thiouridine (→ Wobble)

Les ARNs de transfert

- **Séquence secondaire en feuille de trèfle**
 - Tige acceptrice et trois boucles (Boucle D, T ψ C, anticodon)



Le Wobble sert à économiser les ARNt

- Hypothèse formulée par F. Crick (1966)

- Repose sur l'idée suivante:

- Si les codons synonymes ne \neq que / la dernière base, un seul ARNt isoaccepteur pourrait suffire avec un appariement flexible 3^{ème} base
 - Reposerait sur base unique de l'anticodon: G pour U/C, I pour U/C/A
- Le choix entre Guanine et Inosine varie pour ne pas induire d'erreur
 - La guanine est obligatoire dans les boites ou U,C et A \rightarrow a.a \neq ou Stop (exception: boîte à Glycine), l'inosine est utilisée dans les autres cas

U	PHE	SER	TYR	CYS
C	PHE	SER	TYR	CYS
A	LEU	SER	STOP	STOP
G	LEU	SER	STOP	TRP
U	LEU	PRO	HIS	ARG
C	LEU	PRO	HIS	ARG
A	LEU	PRO	GLN	ARG
G	LEU	PRO	GLN	ARG
U	ILE	THR	ASN	SER
C	ILE	THR	ASN	SER
A	ILE	THR	LYS	ARG
G	MET	THR	LYS	ARG
U	VAL	ALA	ASP	GLY
C	VAL	ALA	ASP	GLY
A	VAL	ALA	GLU	GLY
G	VAL	ALA	GLU	GLY

Le Wobble sert à économiser les ARNt

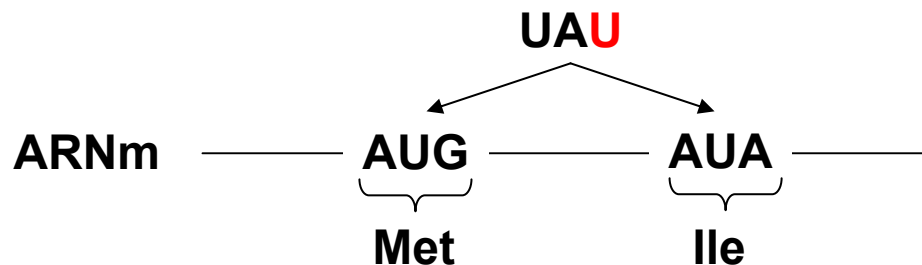
- Hypothèse formulée par F. Crick (1966)

- Règles proposées par F. Crick:

Codon	Base Anticodon	
	Normale	Wobble
U	A	G ou I
C	G	I
A	U	I
G	C	U

- L'uracile dans l'anticodon pose problème

- Si l'uracile codon est reconnue par Adénine et Guanine
- L'uracile anticodon reconnaît aussi Adénine et Guanine d'un codon
- → Ambiguïté pour décoder codon Méthionine et Isoleucine



Le Wobble sert à économiser les ARNt

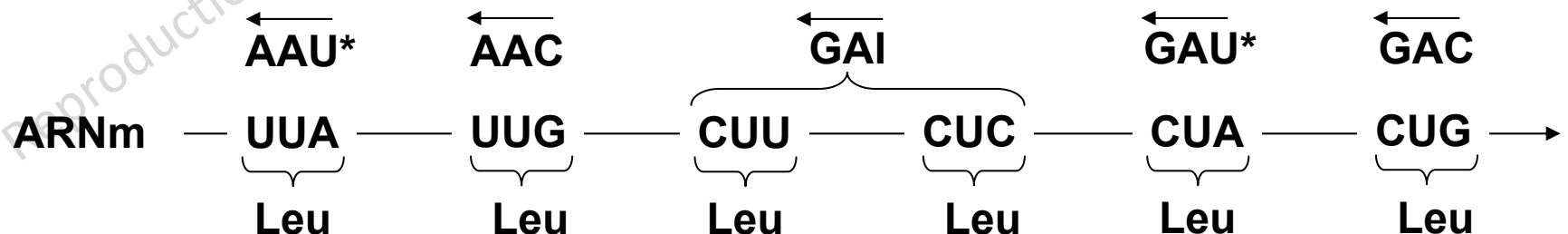
- **Hypothèse Wobble affinée par Guthrie (1982)**
 - La maturation des ARNt résout le problème
 - **Adénosine / uridine de l'anticodon sont toujours modifiées**
 - Modifications adénosine augmentent les possibilités du Wobble
 - » Adénosine → Inosine
 - Modifications uridine (U*) restreignent les possibilités du Wobble
 - » Uridine → 5-méthyluridine ou 5-méthyl-thiouridine
 - **Les règles réelles du Wobble:**

Codon	Anticodon	
	Crick (1966)	Guthrie (1982)
U	A, G, ou I	G ou I
C	G ou I	G ou I
A	U ou I	U*
G	C ou U	C

- U, C du codon sont reconnues par Guanine ou Inosine
- U modifiée de l'anticodon (U*) ne reconnaît que A

Les « dessous » du code génétique

- Deux « codes » cachés dans le code génétique
 - 1^{er} code, spécificité de l'appariement codon-anticodon
 - Dégénérescence du code: à priori, autant d'ARNt que de codons
 - Règles du Wobble: Les 61 codons sont reconnus par 48 anticodons ≠
 - 2^{ème} code, spécificité de l'association ARNt-acide aminé
 - Assurée par les **aminoacyl-ARNt synthétases** (aaRs):
 - Chacune spécifique d'un acide aminé / plusieurs **ARNt isoaccepteurs**
 - Liés au même a. a, reconnaissent un ensemble de **codons synonymes**
 - » ARNt isoaccepteurs ≠ entre eux par l'anticodon utilisé



Les aminoacyl ARNt synthétases

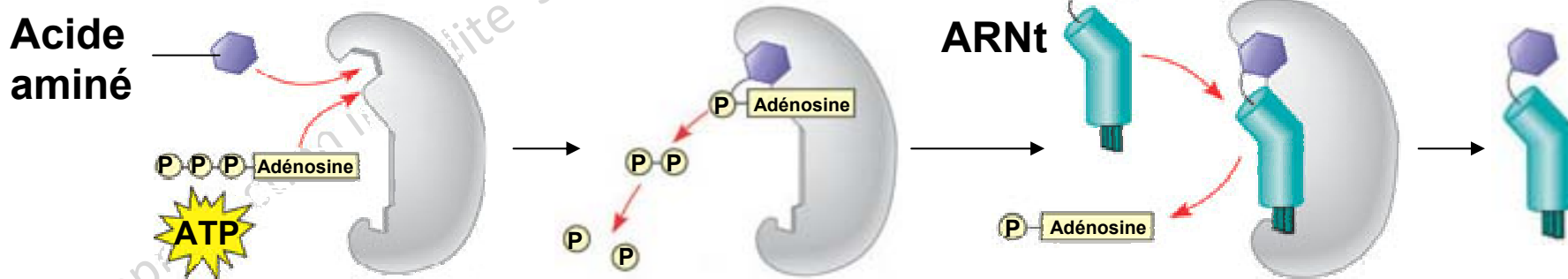
- Assurent la fiabilité de la traduction

- Il en existe autant que d'acides aminés différents

- Les protéines sont constituées de **21 a.a** ≠ donc à priori 21 aaRS
 - La sélénocystéine (a.a rare) est obtenue par modification de la sérine
 - Nécessite un ARNt spécifique mais utilise l'aaRS de la sérine
 - Il n'y a pourtant bien 21 aaRs ≠
 - Une pour fixer la **méthionine** à l'**ARNt initiateur**
 - Une autre pour fixer la **méthionine** à l'**ARNt non initiateur**

- **Chacune reconnaît plusieurs ARNt isoaccepteurs**

- Elle active l'acide aminé grâce à l'ATP puis le fixe aux ARNt isoaccepteurs



- Les aaRs possèdent une **activité de correction (proofreading)**
 - Leur permet d'éliminer un a.a fixé par erreur avant de libérer l'ARNt

Les Ribosomes

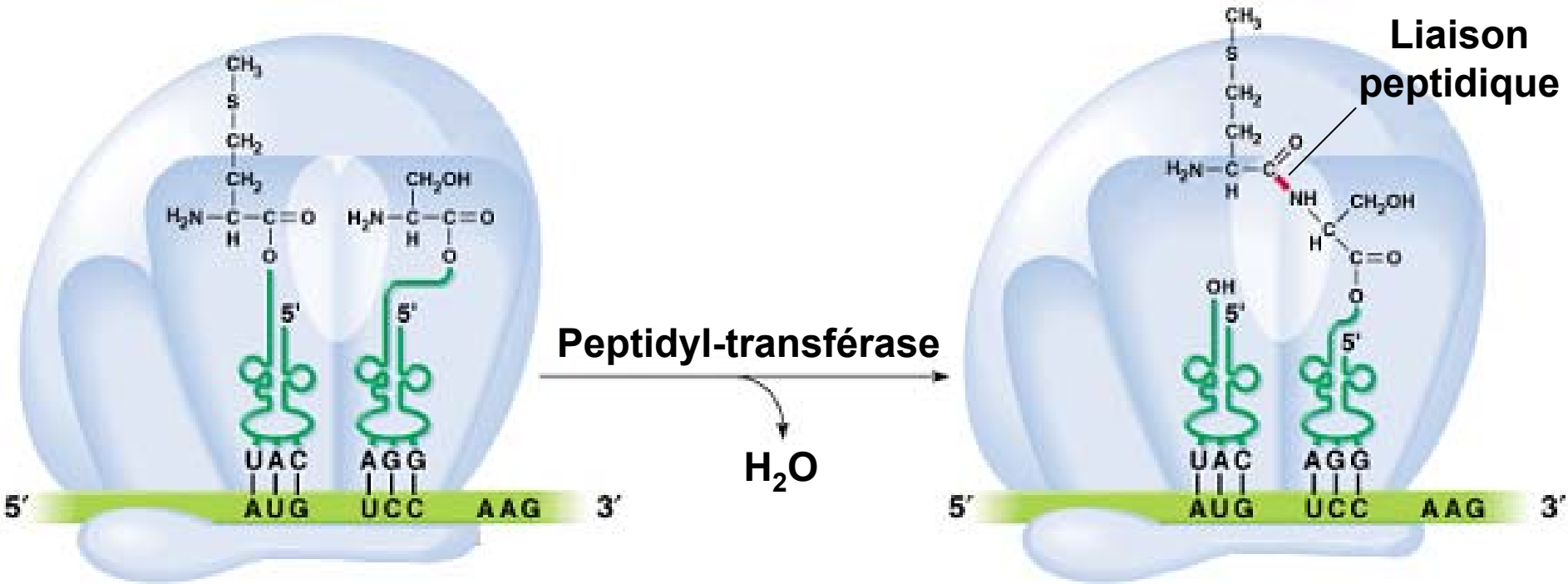
• Assemblage de protéines et d'ARNr

– Accueille l'appariement codon-anticodon

- Un site de liaison à l'ARNm, trois sites ≠ pour les ARNt
- Tunnel de sortie du peptide naissant

– Se déplace sur l'ARNm en respectant le cadre de lecture

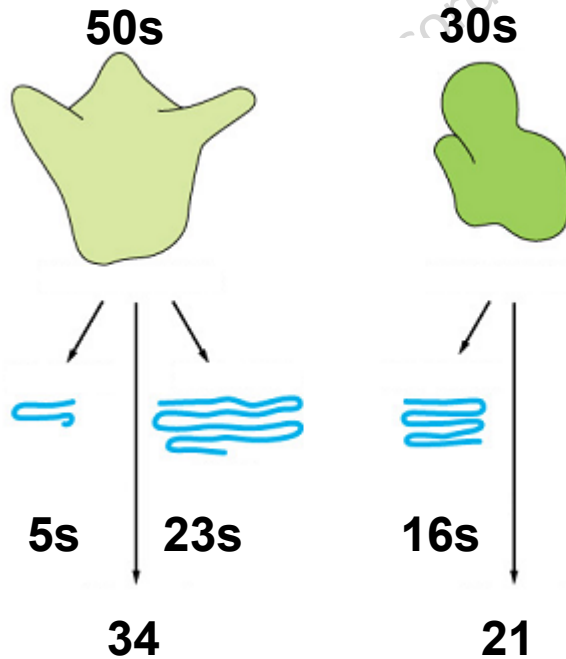
- Relie entre eux les a.a apportés au fur et à mesure par les ARNt
- Formation de liaisons peptidiques / activité peptidyltransférase



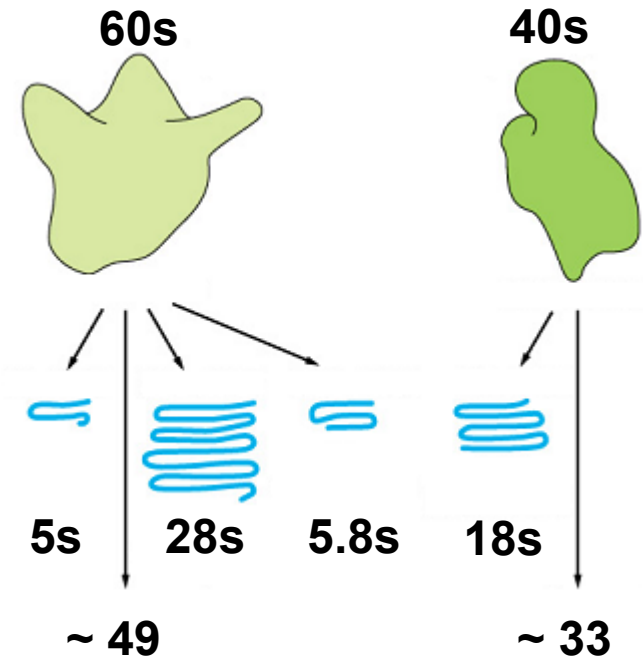
≠ entre Procaryotes / Eucaryotes

- Dans les deux sous-unités du ribosome
 - Caractérisées / coefficient sédimentation (Svedberg, s)
 - Petite sous-unité 30s (procaryotes) ou 40s (eucaryotes)
 - Assure la liaison à l'ARNm
 - Grosse sous-unité 50s (procaryotes) ou 60s (eucaryotes)
 - Assure l'activité peptidyl-transférase par un ARNr (= ribozyme)

Procaryotes



Eucaryotes



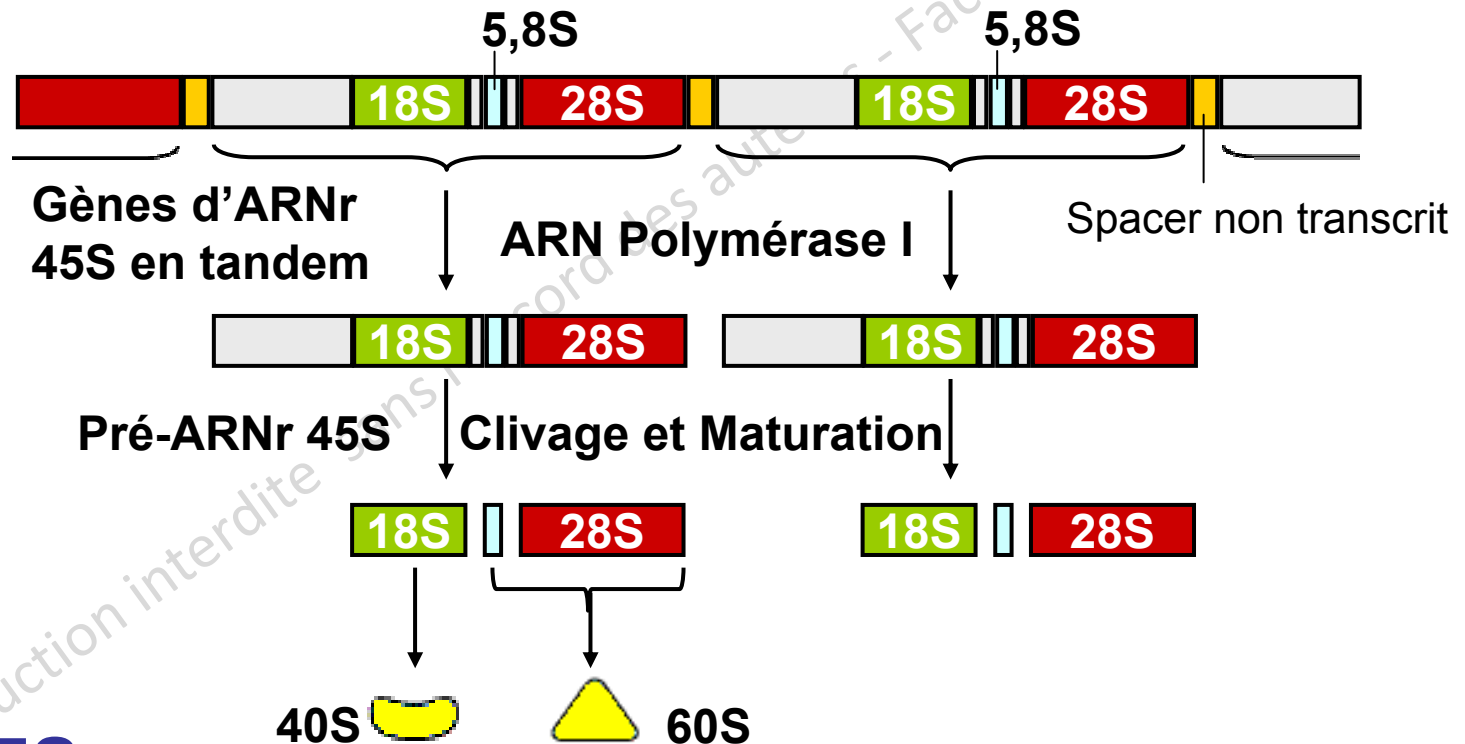
Reproductic
Protéines:

ARNs ribosomaux eucaryotes

- **ARNs 28S, 18S et 5,8S**

- Sont issus du gène d'un **ARN précurseur 45S**

- Plusieurs centaines de copies sur chromosomes 13, 14, 15, 20 et 21
- Maturation transcrit 45S → ARNr 28S, 18S et 5,8S



- **ARN 5S**

- Est issu d'un seul gène, aussi regroupé en batteries

L'initiation de la traduction

= Assemblage du Ribosome complet au codon AUG

• Formation du complexe de préinitiation

– Similaire chez procaryotes et eucaryotes

• Eucaryotes:

– Petite sous-unité + Facteurs d'initiation dont eIF-3 + Complexe ternaire (ARNt initiateur, méthionine et eIF-2 lié au GTP)

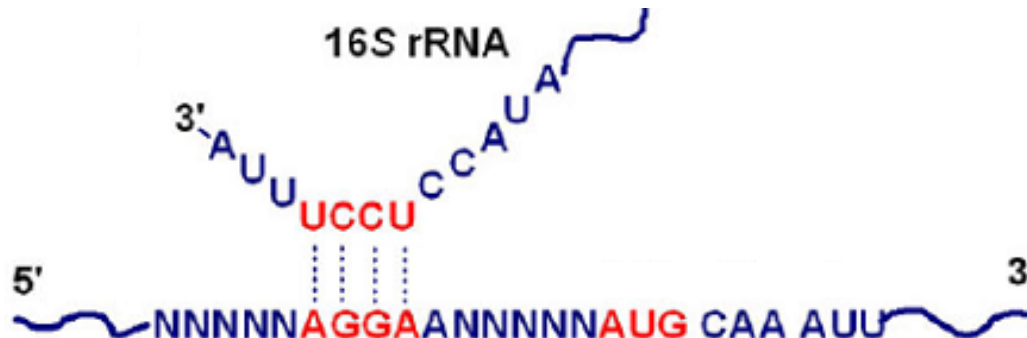
• Liaison du complexe de préinitiation à l'ARNm

– Procaryotes, assurée / séquence spécifique de l'ARNm

• → Liaison petite sous-unité / ARNm: Au niveau de l'AUG et directe

– **Séquence de Shine-Dalgarno**, située à proximité du codon AUG

– Cette séquence interagit avec l'ARNr 16s de la petite sous-unité 30s



L'initiation de la traduction

= Assemblage du Ribosome complet au codon AUG

- Liaison du complexe de préinitiation à l'ARNm

- Eucaryote, assurée par un complexe lié à la coiffe

- Liaison petite sous-unité / coiffe: Indirecte

- Complexe lié à la coiffe: eIF-4E, eIF-4G et eIF-4A, notamment

- Liaison complexe préinitiation/coiffe

- » Interaction entre eIF-4E (coiffe) et eIF3 (40s) grâce à eIF4G

- Régulation de la traduction: régulation de liaison eIF-4E à eIF4G

- Liaison petite sous-unité / coiffe de l'ARNm: À distance de l'AUG...



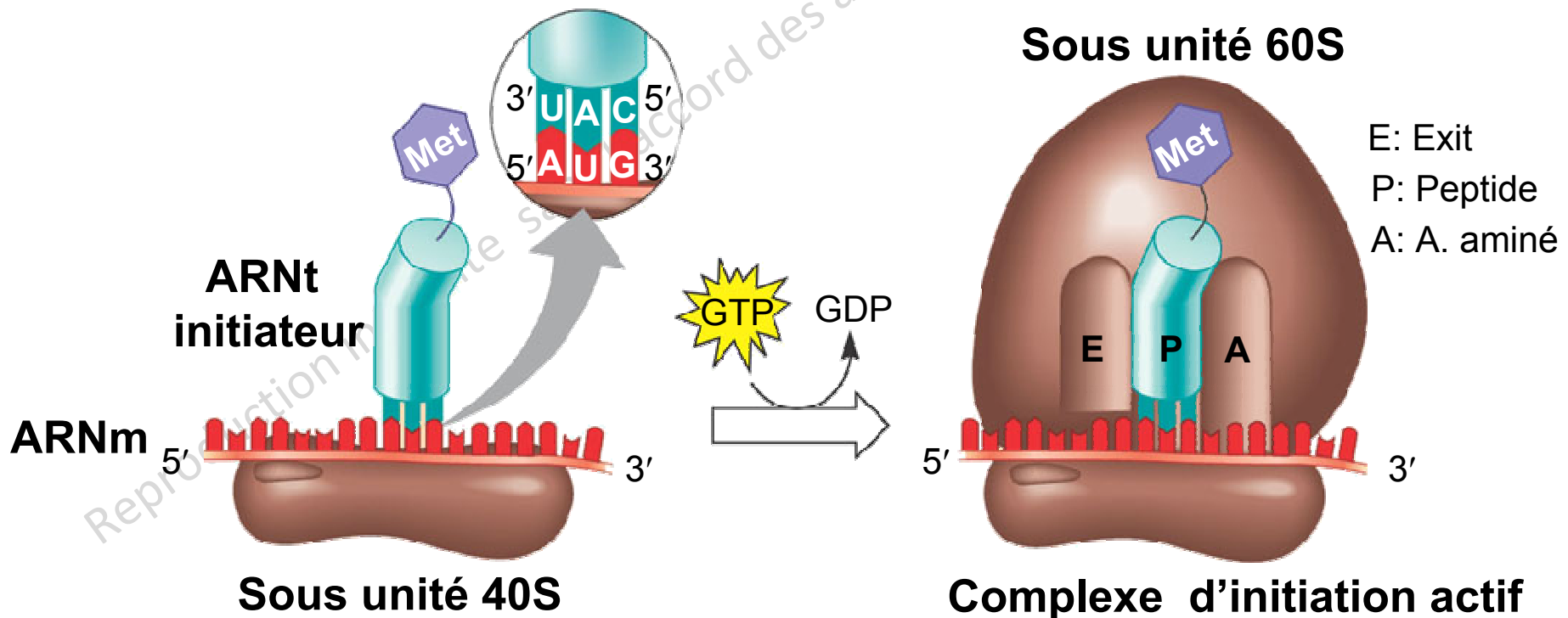
L'initiation de la traduction

= Assemblage du Ribosome complet au codon AUG

• Formation complexe d'initiation de la traduction

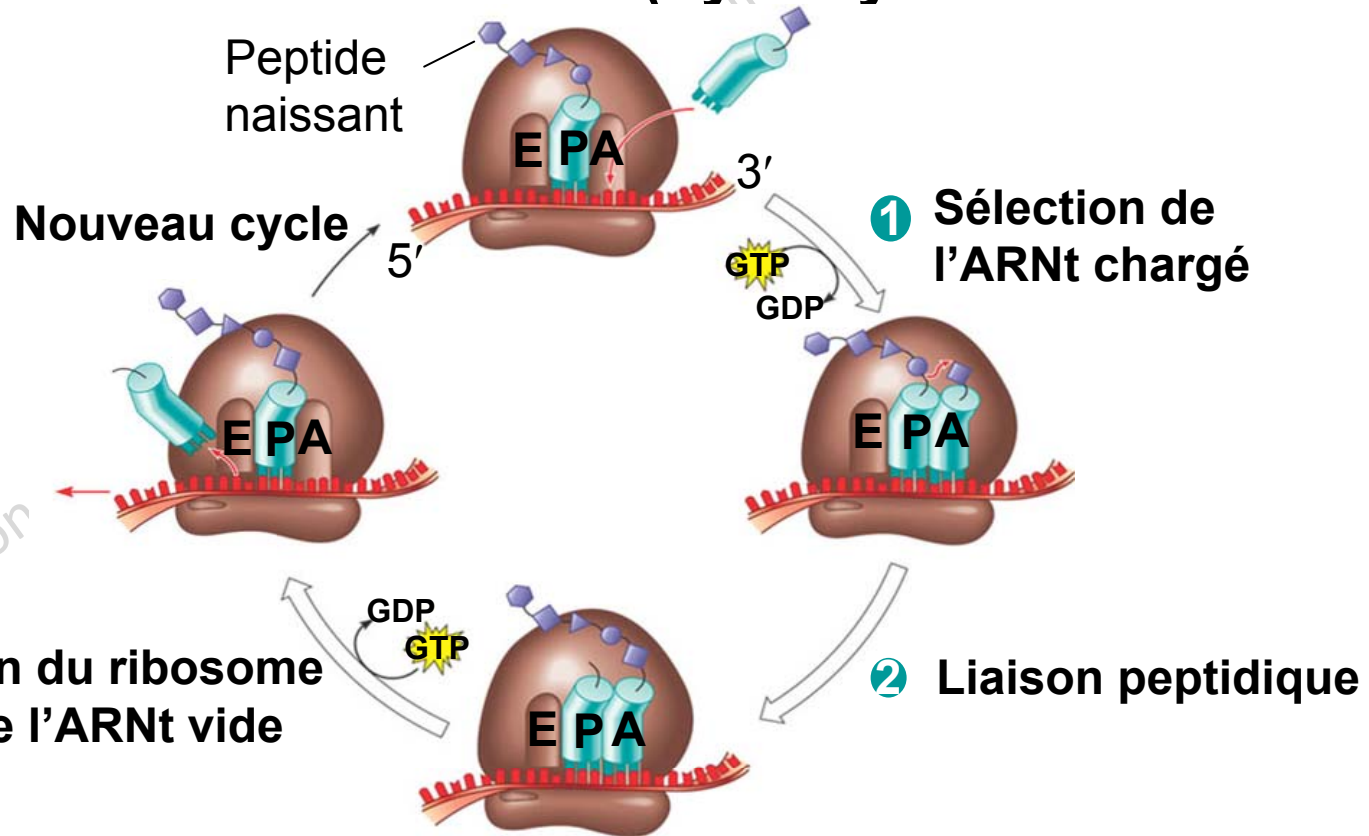
– Une fois la petite sous-unité fixée à la coiffe

- Elle quitte la coiffe avec l'ARNt^{MET} et eIF-2 lié au GTP
 - L'ensemble « scanne » l'ARNm jusqu'à l'AUG
- La reconnaissance de l'AUG (facilitée par la séquence de Kozak)
 - Induit l'hydrolyse du GTP et le recrutement de la grosse sous-unité



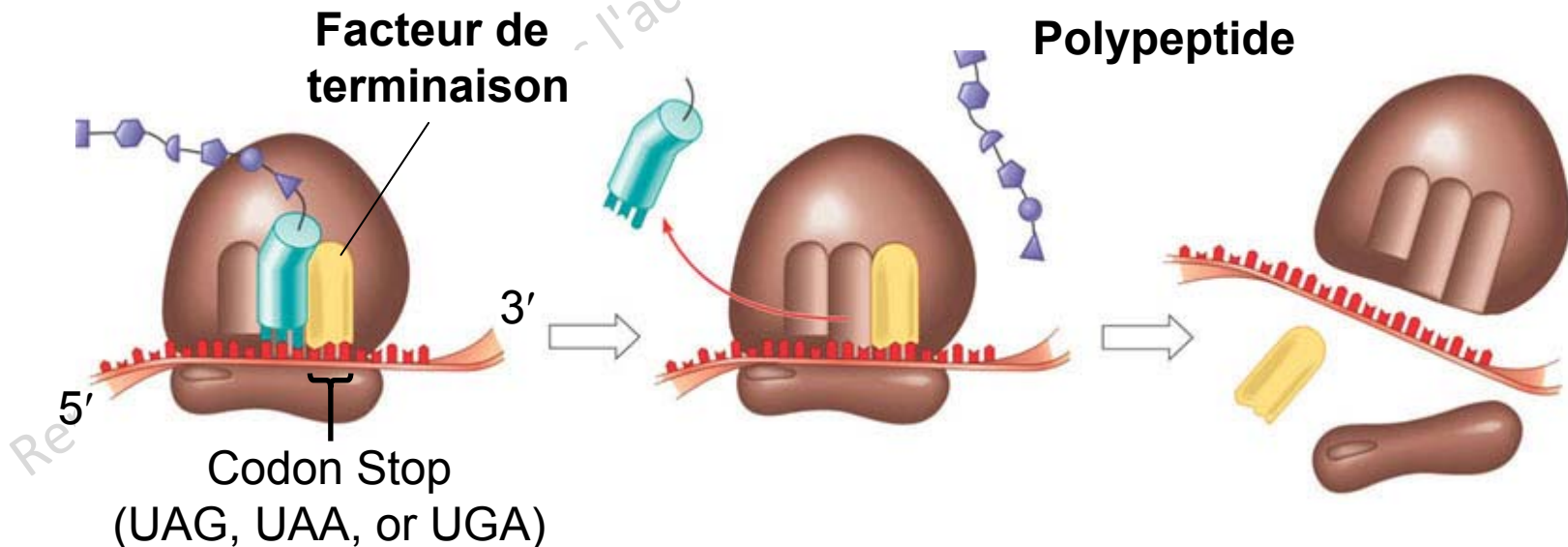
L'élongation de la traduction

- = Déplacement du ribosome sur l'ARNm
 - A chaque codon, fixation d'un ARNt chargé
 - Associé au facteur eEF-1 α (*eucaryotic Elongation Factor*) lié au GTP
 - S'il l'appariement codon-anticodon est spécifique, hydrolyse du GTP
 - → **Liaison peptidique** entre l'acide aminé et le peptide naissant
 - **Translocation du ribosome (hydrolyse GTP lié à eEF-2)**



La terminaison de la traduction

- = Libération du peptide à un codon stop
 - À la lecture d'un Stop, le facteur de terminaison eRF (*eucaryotic Release Factor*) se fixe au site A
 - Il n'existe pas d'ARNt pour les codons stop (UAA, UAG, UGA)
 - La peptidyltransférase libère le polypeptide
 - L'ARNt libre et eRF quittent le ribosome qui se dissocie
 - Les sous-unités sont prêtes pour un nouveau cycle de traduction



Antibiotiques (ATB) et traduction

- **ATB = Utilisés contre les infections bactériennes**
 - **Certains ATB agissent en inhibant la traduction**
 - En médecine, on utilise ATB spécifiques des ribosomes procaryotes
 - Tétracycline et streptomycine ciblent la sous-unité 30s
 - Chloramphénicol, érythromycine ciblent la sous-unité 50s ...
- **Inutiles contre les infections virales**
 - **Les virus utilisent notre machinerie de traduction**
 - Mais on ne peut pas inhiber nos propres ribosomes

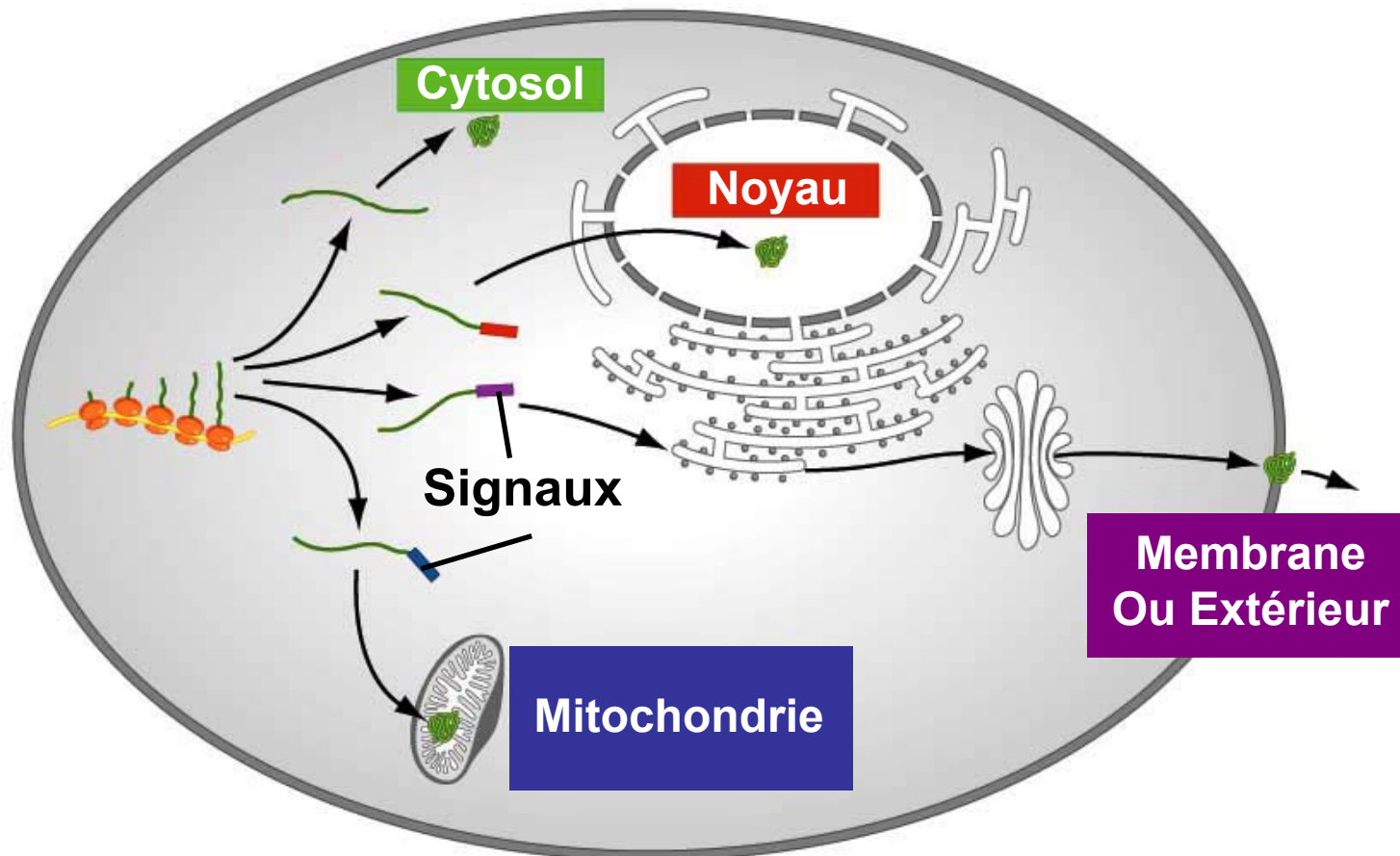


Maturation/Adressage des protéines

- L'adressage d'une protéine:

- = Tri sélectif vers son site d'action

- Compartiment cellulaire ou extracellulaire (protéine sécrétée)
- Fait intervenir un signal de sa séquence peptidique (**peptide signal**)

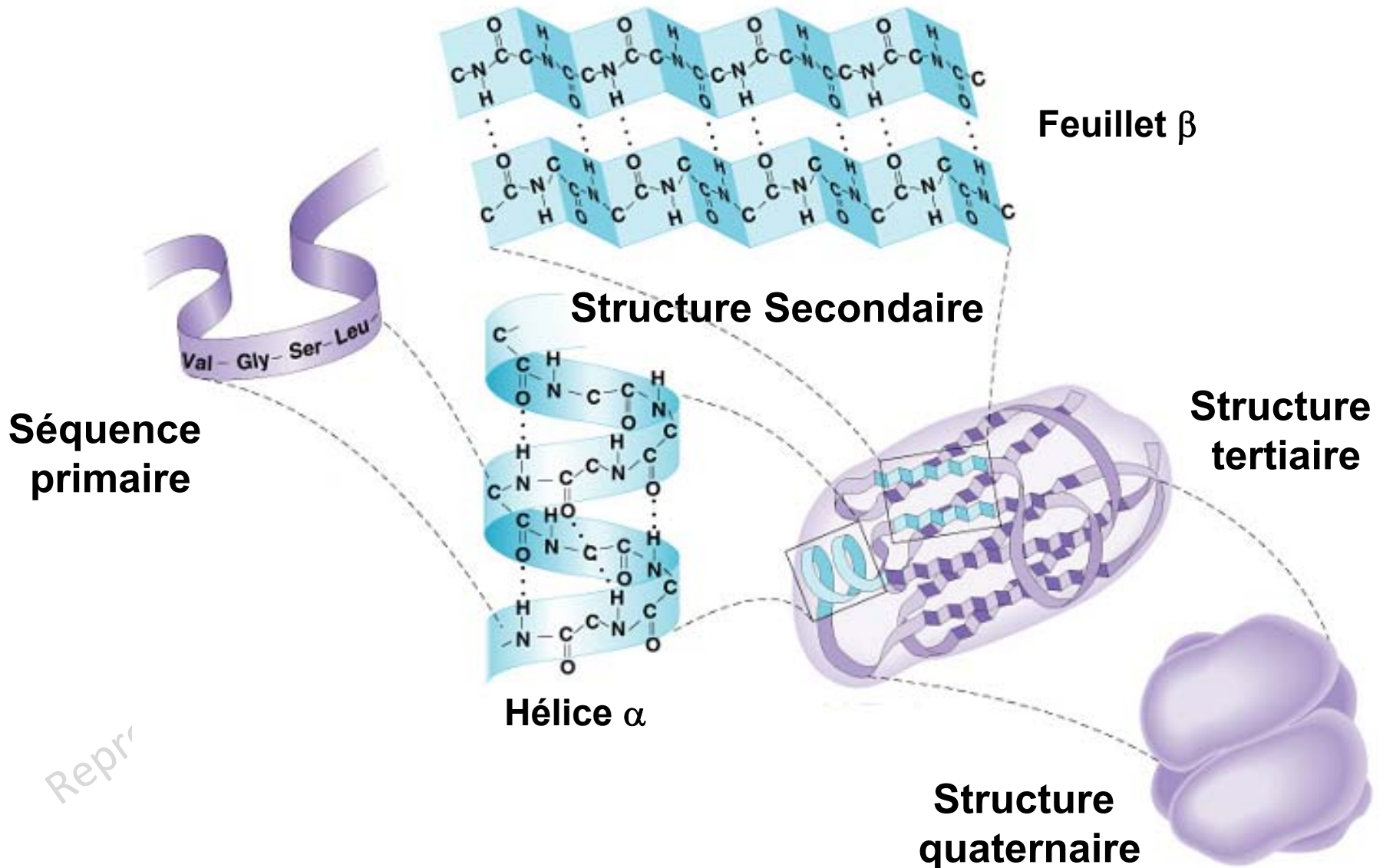


Maturation/Adressage des protéines

- **La maturation d'une protéine comprend:**
 - Étape de **clivage** de sa séquence primaire (facultative)
 - Clivage du peptide signal ou autre séquence
 - Étape de **Folding** (= repliement dans l'espace):
 - Structure secondaire (Hélice α ou Feuillet β)
 - Liaisons hydrogène entre groupes aminés et carboxyles des a.a
 - Structure tertiaire
 - Interactions variées entre radicaux R spécifiques des a.a
 - » Formation de ponts disulfures, liaisons hydrogène....
 - Structure quaternaire
 - Association à des protéines identiques ou \neq
 - Des modifications de type **phosphorylation ou autre** (facultatives)

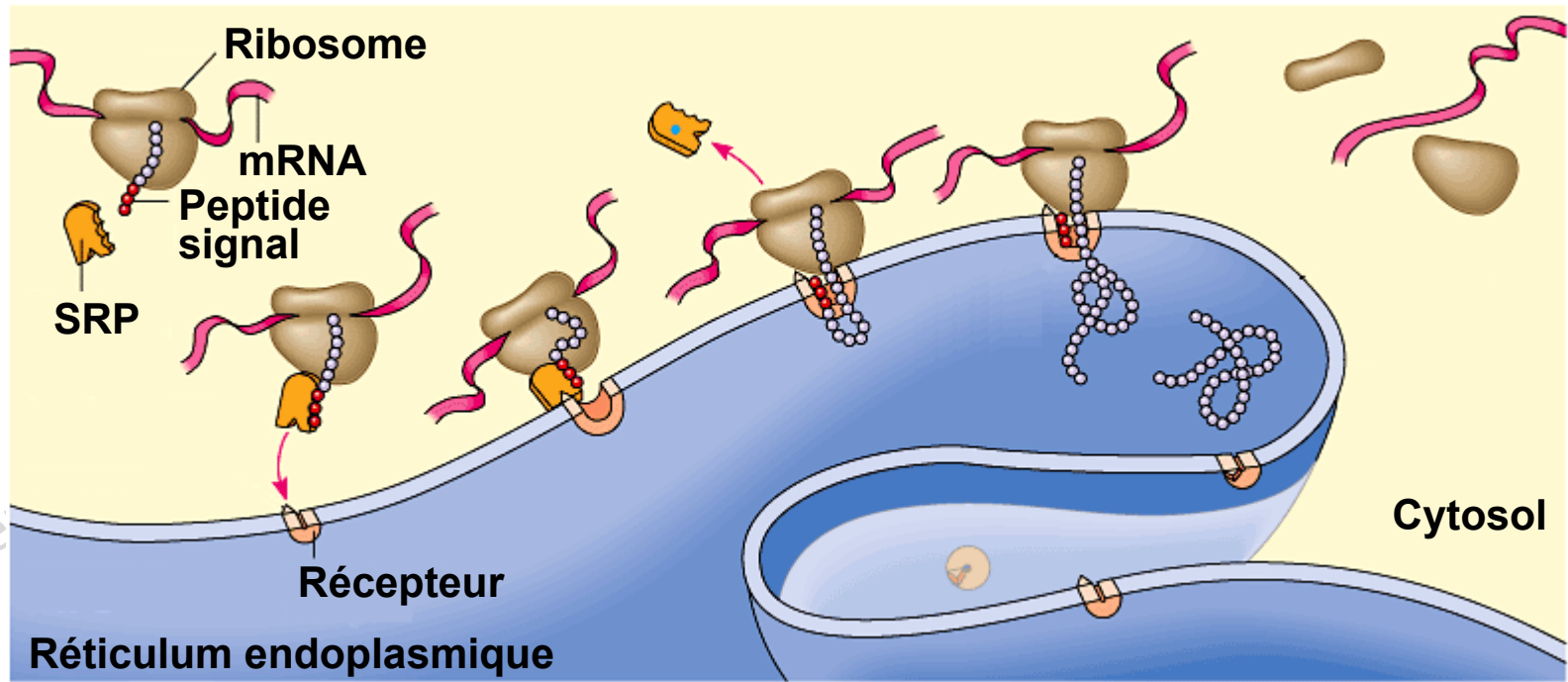
Maturation/Adressage des protéines

- La maturation d'une protéine:



Maturation/Adressage des protéines

- Exemple de l'insuline, hormone sécrétée
 - Synthèse débute dans le cytosol, s'achève dans le réticulum
 - En cours de traduction, le ribosome cytosolique qui synthétise l'insuline se fixe au réticulum endoplasmique lisse (→ granuleux)
 - Le peptide signal est reconnu par un récepteur du REG, via la particule SRP (*Signal Recognition Particule*)
 - → Translocation du peptide naissant dans la lumière du réticulum

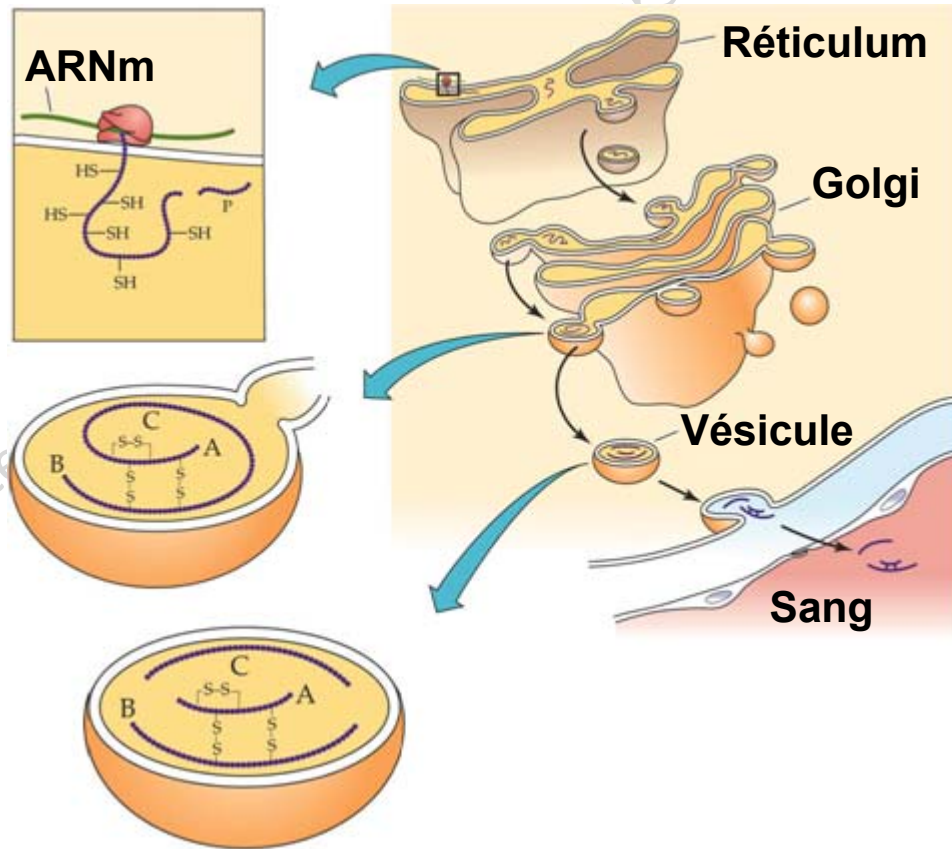


Maturation/Adressage des protéines

- Exemple de l'insuline, hormone sécrétée

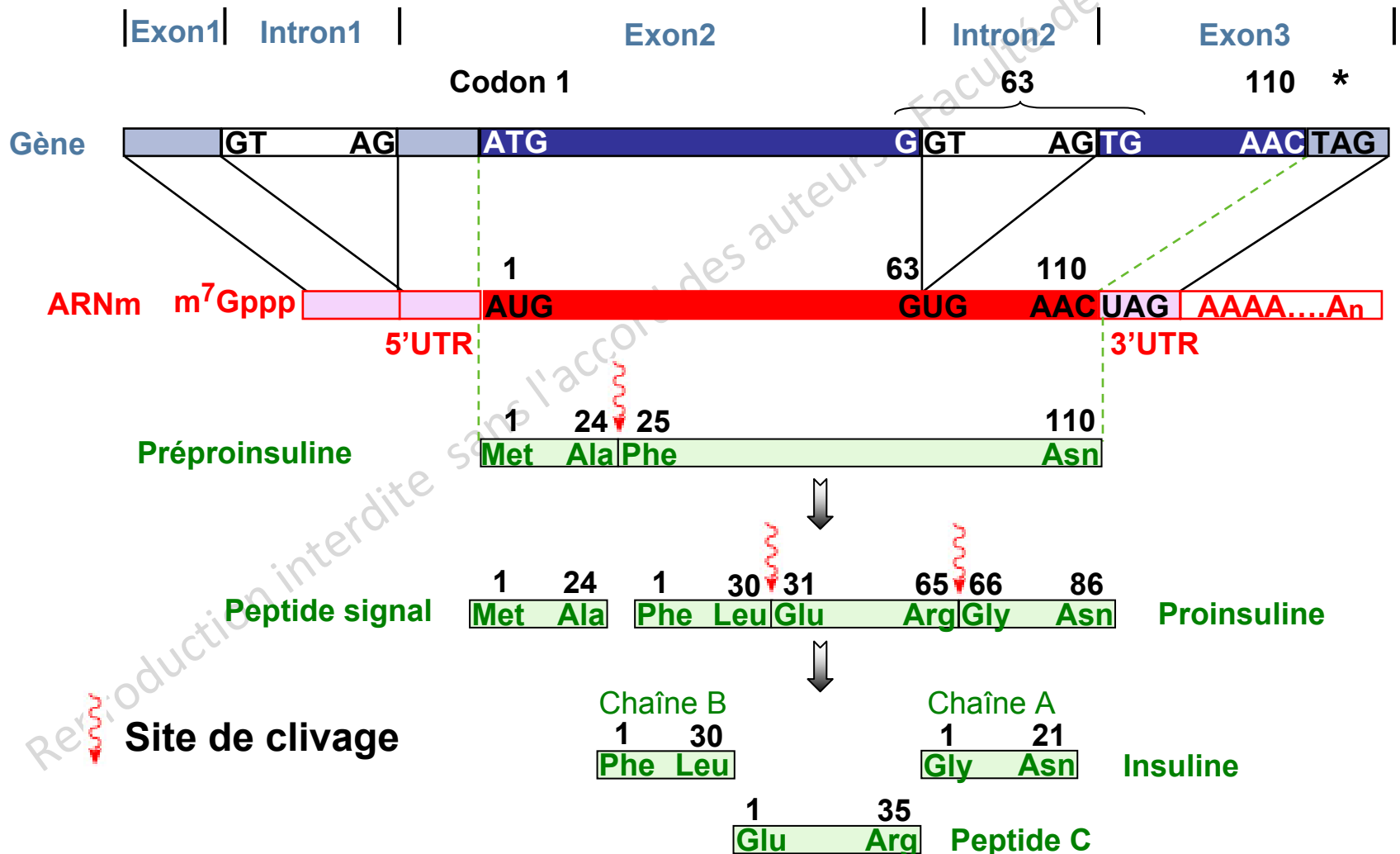
- Maturation en insuline mature

- Réticulum: Clivage du peptide signal (préproinsuline → proinsuline) et formation de ponts disulfures entre futures chaînes A et B
- Vésicules de sécrétion: Deux clivages → Insuline + peptide C



Maturation/Adressage des protéines

- Exemple de l'insuline, hormone sécrétée
 - Du gène de l'insuline à la forme mature de l'hormone...



Régulation de l'expression génique

- **Généralités**

- Notion d'hormone et de voies de signalisation
- Différents niveaux de régulation

- **Régulation de la transcription**

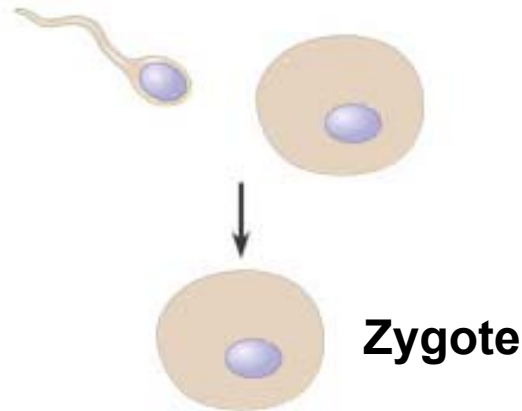
- Le modèle procaryote de l'opéron lactose
- Rôle des facteurs de transcription spécifiques
- Rôle des co-régulateurs transcriptionnels

- **Régulation de la traduction**

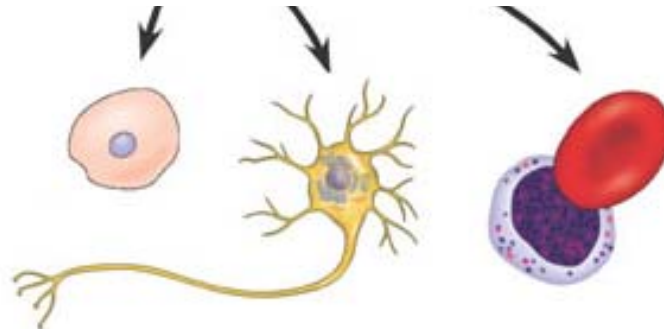
- Rôle des facteurs d'initiation de la traduction
- Rôle des micro-ARNs

Régulation de l'expression des gènes

- **Joue un rôle clé au cours du développement**
 - Un organisme adulte est constitué de divers types de cellules qui assurent des fonctions spécialisées
 - Elles sont toutes issues d'une unique cellule indifférenciée, le zygote, et possèdent donc le même patrimoine génétique



Activation/Répression de l'expression de gènes

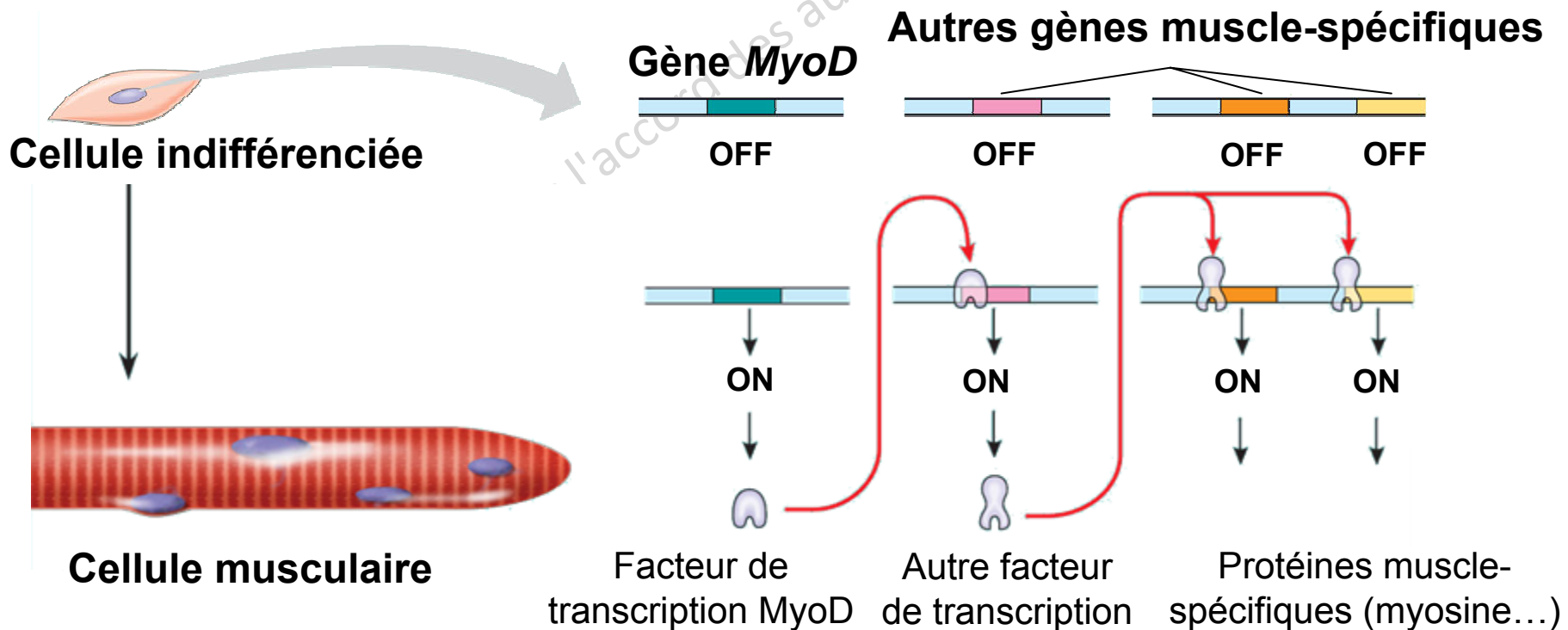


Cellules différenciées

Reproduction

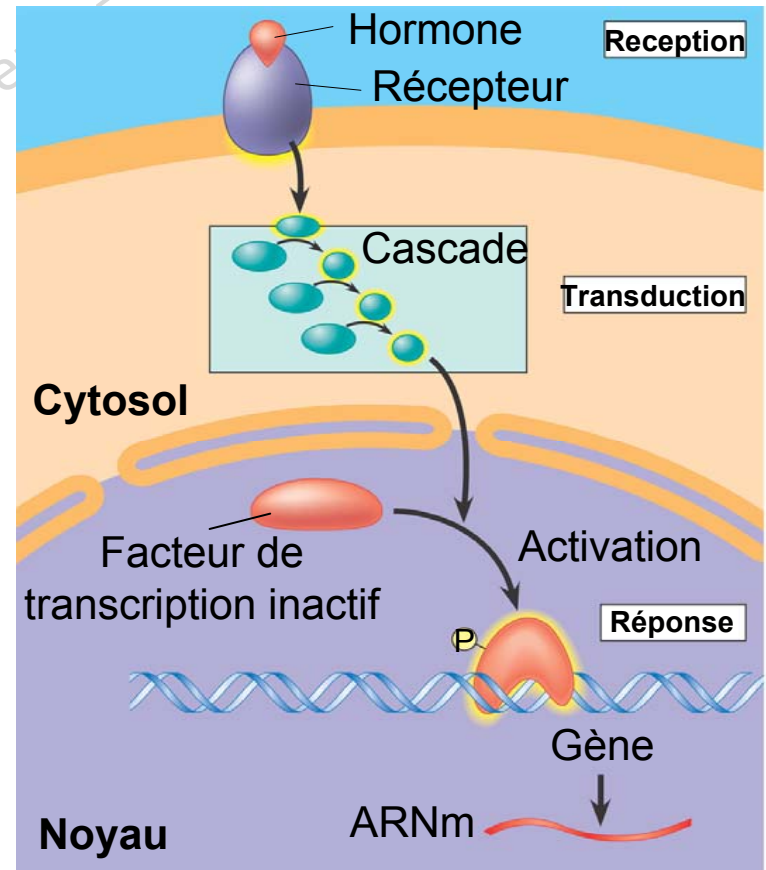
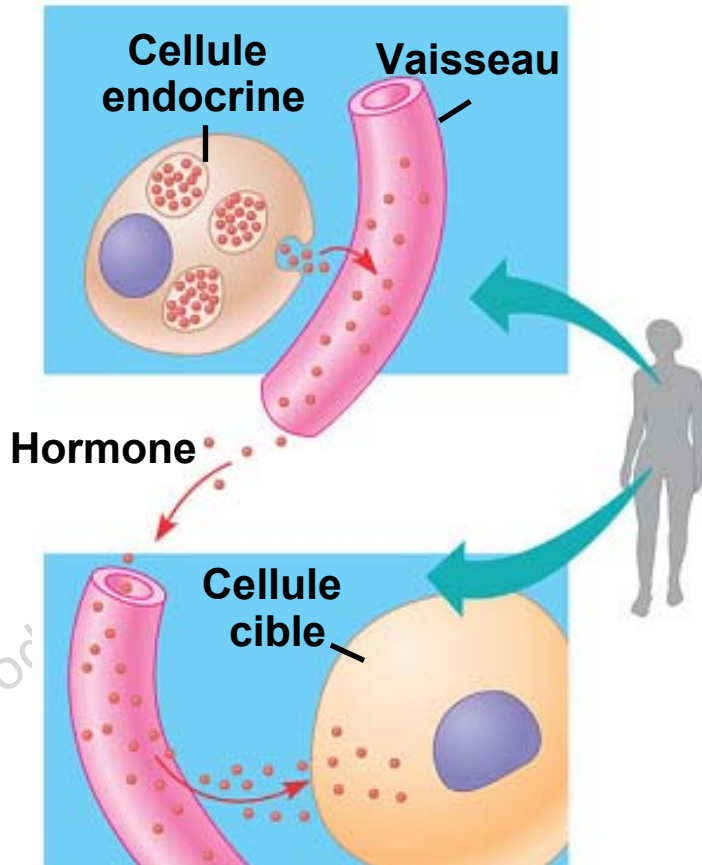
Régulation de l'expression des gènes

- **Joue un rôle clé au cours du développement**
 - Les fonctions spécifiques d'une cellule différenciée reposent sur l'expression sélective de gènes qui lui sont nécessaires
 - Ex: Pour transformer cellule souche → cellule musculaire, il suffit du facteur de transcription Myo D



Régulation de l'expression des gènes

- ➔ **Adaptation aux variations du milieu ext. ou int.**
 - Cellules endocrines assurent constance du milieu intérieur
 - Répondent à ses variations en libérant des hormones (=messagers)
 - Agissent en se fixant sur un récepteur de leur cible, déclenchant une voie de signalisation qui régule entre autres l'expression des gènes



Régulation de l'expression des gènes

- Elle peut se faire à différents niveaux

- À un niveau transcriptionnel

- **Compaction chromatine** ou **Machinerie basale de transcription**

- Régulation assurée par les FT spécifiques et co-régulateurs

- Induisent des modifications épigénétiques ou facilitent son assemblage

- Au niveau de l'épissage (épissage alternatif)

- À un niveau traductionnel

- Au niveau de l'**initiation de la traduction**

- Régulation assurée par inhibition de la fixation de l'ARNm à la coiffe

- » En empêchant interaction entre eIF-4E (coiffe) et eIF-3 (40s)

- Ou de la **durée de vie d'un ARNm**

- Régulation assurée par les micro-ARNs

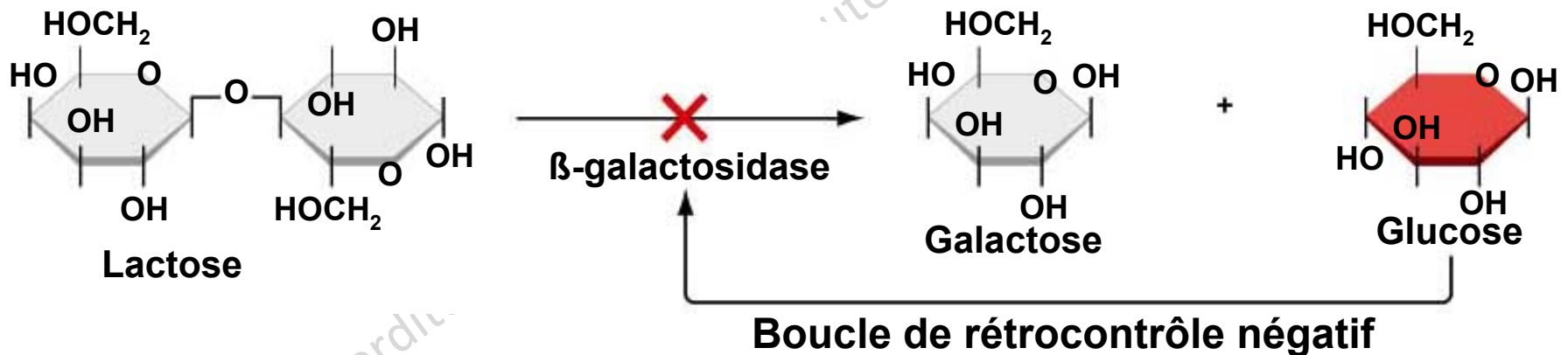
- À un niveau post-traductionnel

- Au niveau de la protéine (modifications, dégradation)

Régulation de la transcription

- L'opéron lactose: F. Jacob et J. Monod (1962) 🏆
 - 1^{er} Modèle de régulation de la transcription des gènes

- E. Coli est capable d'utiliser le glucose ou le lactose
 - Préférence pour l'utilisation du glucose
 - » Le glucose inhibe les enzymes d'utilisation du lactose

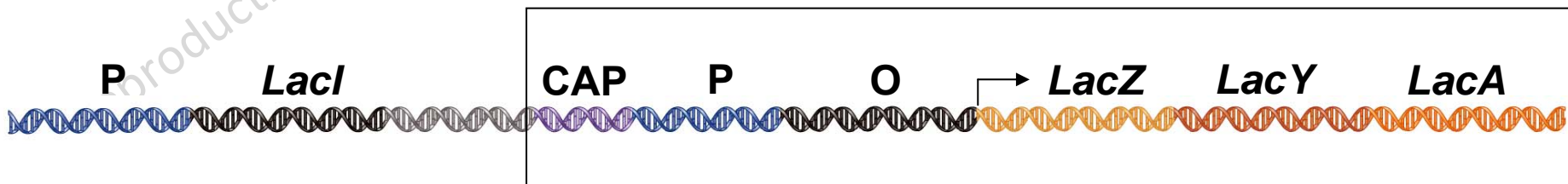


» L'inhibition se fait au niveau de la transcription des gènes

- Opéron lactose = Ensemble gènes → Utilisation lactose
 - Transcription max. en présence de lactose et absence de glucose
 - → Régulation positive par le lactose et négative par le glucose

Régulation de la transcription

- **Éléments de régulation de l'opéron lactose**
 - Un promoteur et un gène qui code pour la protéine LacI
 - L'opéron lui-même
 - *Ensemble de régions régulatrices*
 - **Région CAP**, fixe la protéine CAP (*Catabolism Activator Protein*)
 - » Facilite la fixation ou l'activation de l'ARN polymérase
 - **Cœur du promoteur (P)** qui fixe l'ARN polymérase
 - **Région opératrice (O)**, fixe la protéine LacI inhibitrice
 - » Bloque le passage de l'ARN polymérase
 - *Le polycistron* comprenant gènes *LacZ*, *LacY* et *LacA*
 - Codent pour la β -galactosidase, la perméase et la transacétylase

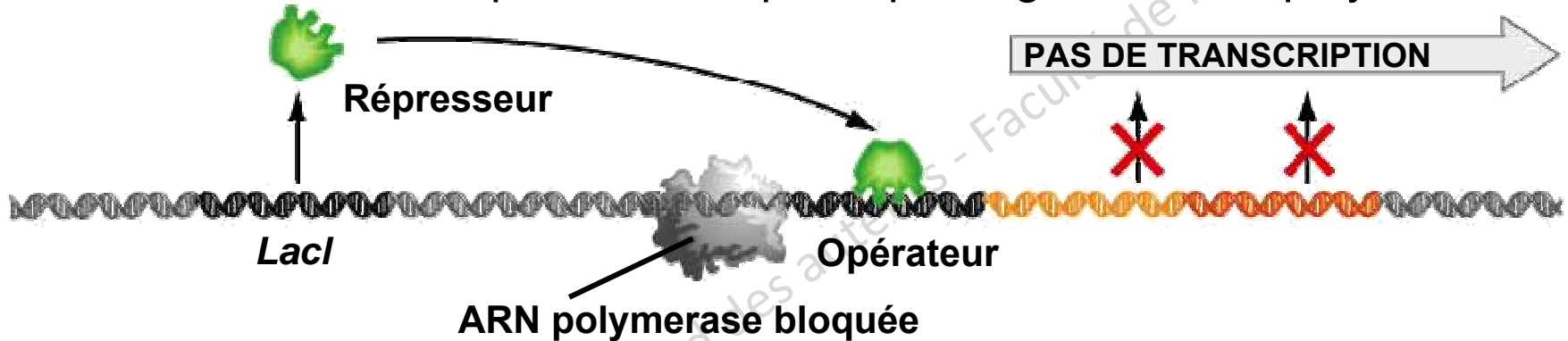


Régulation de la transcription

• Régulation de l'opéron

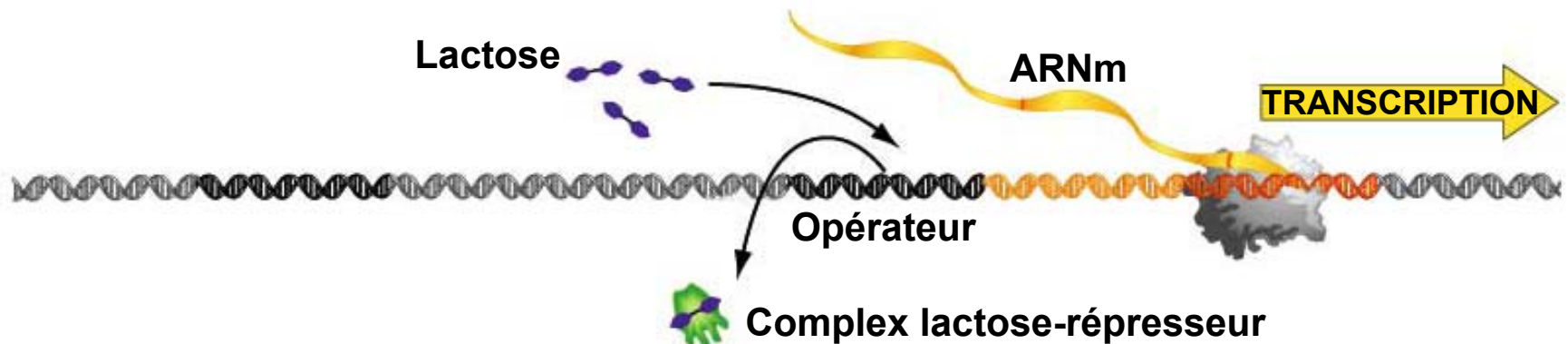
– Absence de lactose: Gènes réprimés

- Lacl fixée sur l'opérateur bloque le passage de l'ARN polymérase



– Présence lactose + glucose: Gènes faiblement induits

- → Rôle inducteur du lactose + répresseur du glucose
 - Le lactose empêche fixation de Lacl sur l'opérateur
 - Le glucose empêche la production d'AMPc nécessaire pour fixer CAP

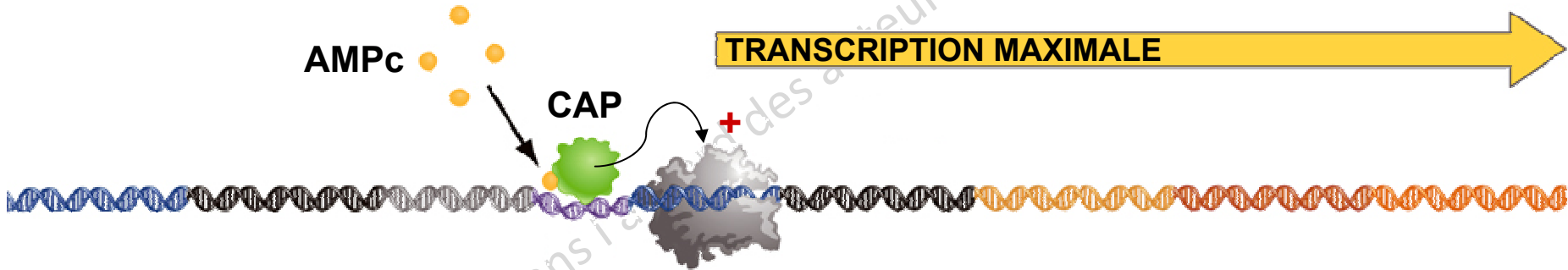


Régulation de la transcription

• Régulation de l'opéron

– Présence lactose seul: Gènes fortement induits

- → Rôle inducteur du lactose sans effet répresseur du glucose
 - Le lactose empêche la fixation de LacI sur l'opérateur
 - L'absence de glucose permet production d'AMPc et fixation de CAP



– Ces principes de régulation s'appliquent aux eucaryotes

- Niveau de transcription d'un gène dépend promoteur proximal/distal
 - Séquences « enhancer » servent à fixer des inducteurs
 - » Facilitent l'assemblage ou l'activation machinerie basale
 - Séquences « silencer » servent à fixer des répresseurs
 - » Répriment l'assemblage ou l'activation machinerie basale

Régulation de la transcription eucaryote

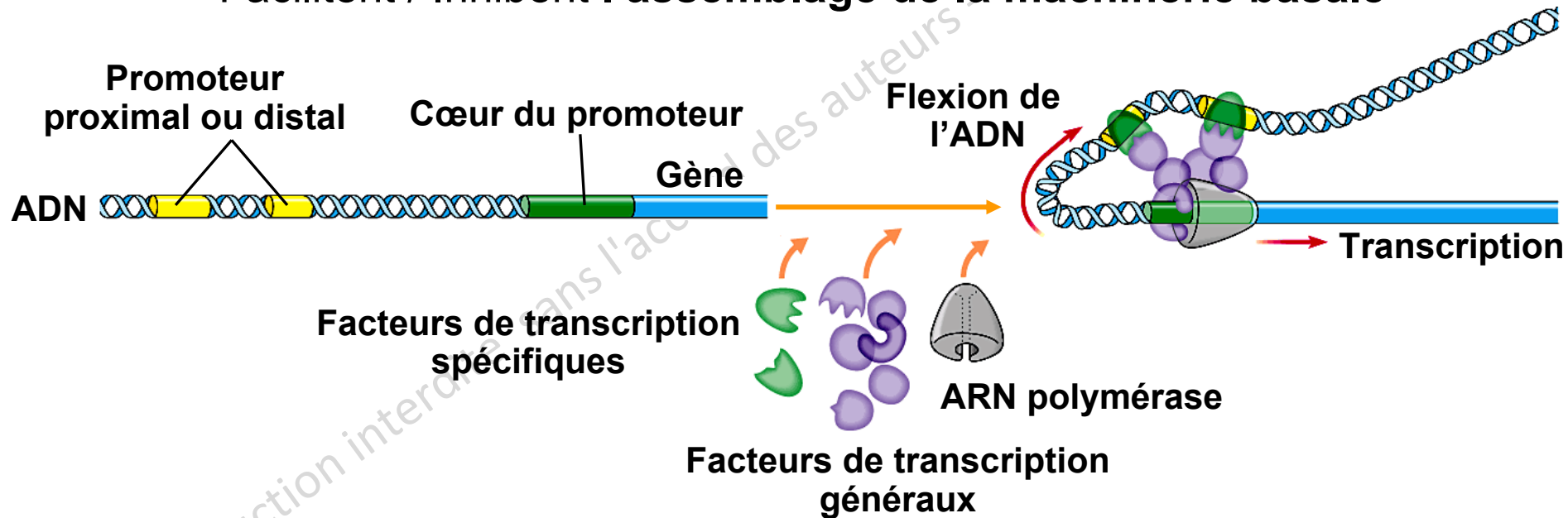
- Elle repose sur:

- Les éléments du promoteur proximal et distal

- Chaque gène en possède une combinaison particulière

- Et sur les facteurs de transcription qui s'y fixent

- Facilitent / Inhibent l'assemblage de la machinerie basale



- Facilitent / Inhibent **modif. épigénétiques** locales (→ **chromatine**)
 - Effets indirects, liés aux corégulateurs transcriptionnels qu'ils recrutent

Régulation de la transcription eucaryote

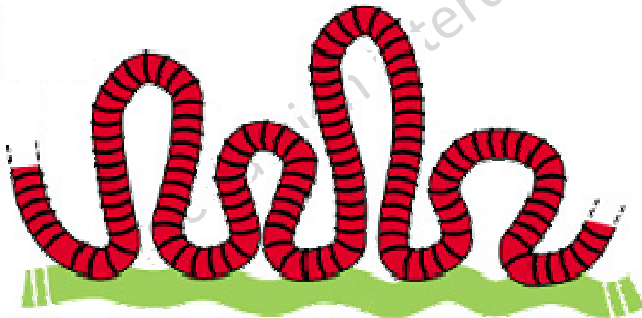
- **Les corégulateurs transcriptionnels**

- **Sont dénués de domaine de liaison à l'ADN**

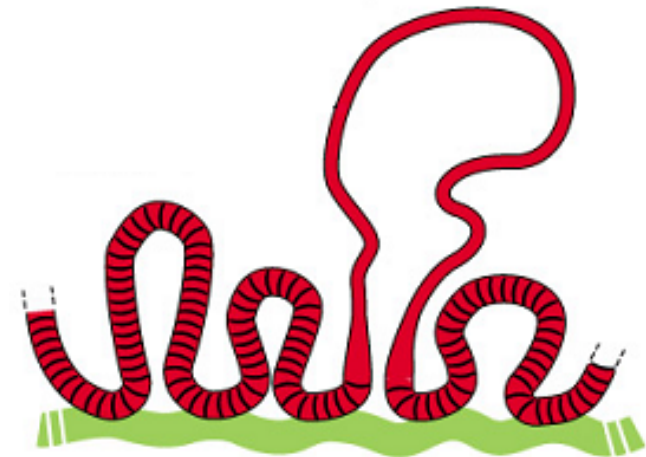
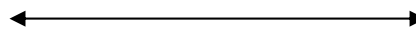
- Sont recrutés au niveau d'un gène grâce aux FT spécifiques

- **Ce sont des enzymes ciblant les histones ou l'ADN**

- Ex. de **coactivateurs**: Les histones acétyltransférases (HAT) qui favorisent la décompaction de la chromatine et la transcription
- Ex. de **corépresseurs**: Les histones déacétylases (HDAC) qui inhibent la décompaction de la chromatine et la transcription

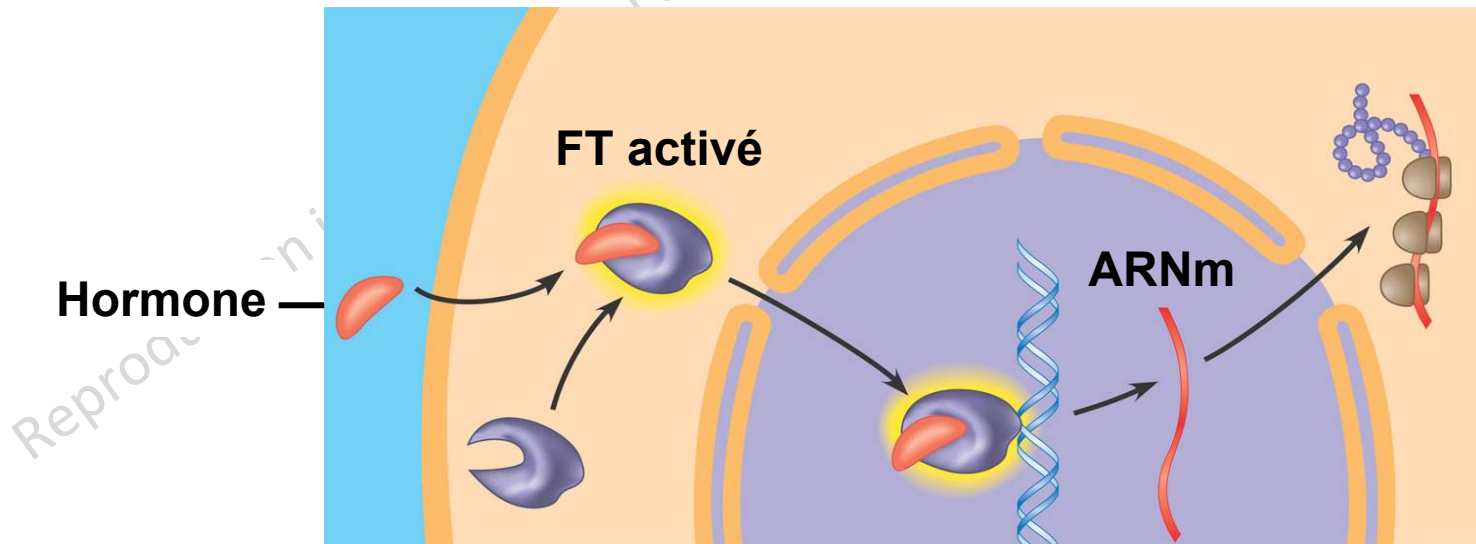


**Modifications
épigénétiques**



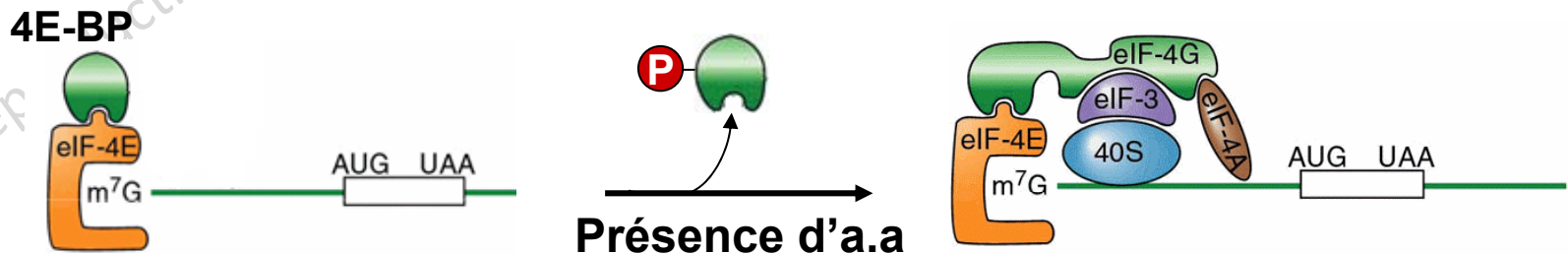
Régulation de la transcription eucaryote

- Elle repose sur les signaux régulant les FT
 - Mécanismes de régulation nombreux et variés
 - Ex: FT régulés par les signaux hormonaux
 - Régulation indirecte par les hormones hydrosolubles (récepteur)
 - L'hormone induit une **cascade de signalisation** qui régule le FT
 - Régulation directe par les hormones liposolubles (→ mb plasmique)
 - Le FT est lui-même le récepteur de l'hormone qui le régule
 - » Ex. des récepteurs nucléaires aux hormones (RNH)



Régulation de la traduction eucaryote

- Mécanisme d'inhibition générale de la traduction
 - Repose sur l'inhibition de son initiation
 - Et sur la fixation de la petite sous-unité 40S à la coiffe
 - Nécessite le facteur eIF-4E qui est fixé à la coiffe
 - En l'absence d'acides aminés / facteurs de croissance
 - Le facteur eIF-4E ne peut pas recruter la petite sous-unité
 - Il est fixé à la coiffe mais interagit avec 4E-BP (*eIF-4E Binding Protein*)
 - » Ce qui l'empêche d'interagir avec la protéine eIF-4G
 - En présence d'acides aminés / facteurs de croissance
 - Le facteur eIF-4E peut recruter la petite sous-unité
 - La protéine 4E-BP est phosphorylée et n'interagit plus avec lui

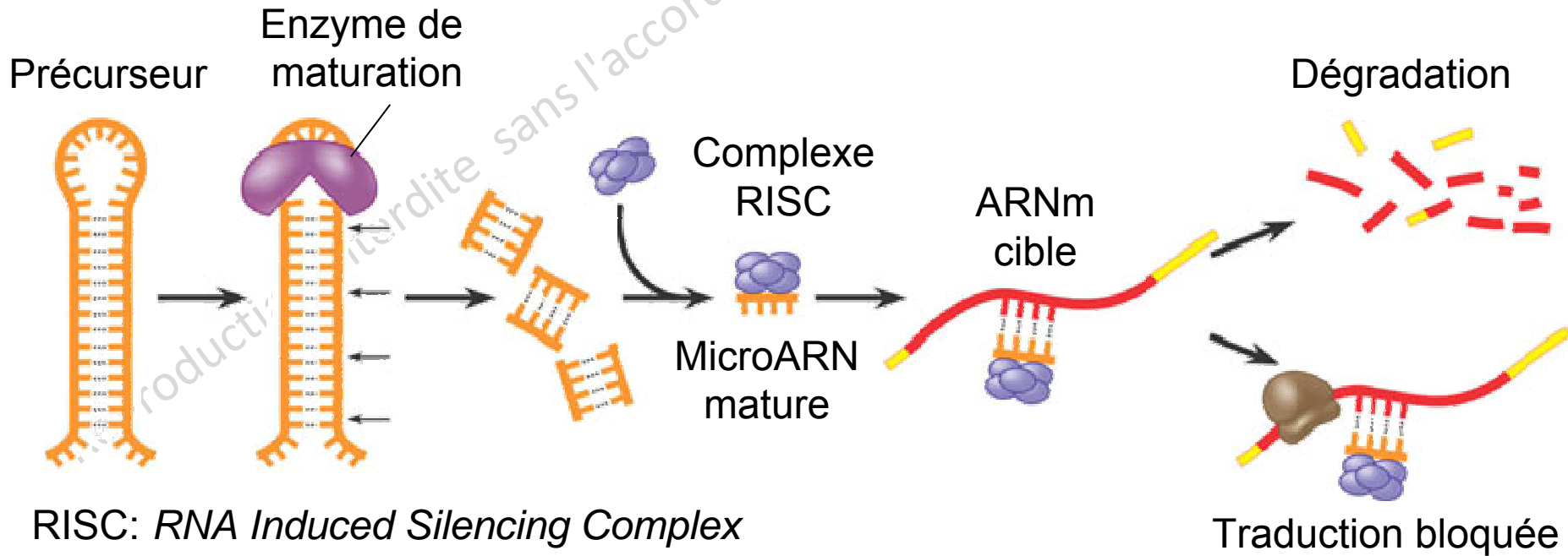


Régulation de la traduction eucaryote

• Mécanisme d'inhibition spécifique de la traduction

– Repose sur l'utilisation d'un microARN (400 gènes ≠)

- Transcrit par l'ARN Pol II sous forme d'un précurseur ~ 100 nt
 - Forme une épingle à cheveu, clivé en fragments ~18-25 nt (maturation)
- Parmi les fragments, un dont un brin est complémentaire d'un ARNm
 - Le complexe RISC guide ce brin vers l'ARNm cible qui est détruit ou dont la traduction est inhibée



Mutations / Maintenance du génome

- **Les différentes classifications des mutations**
 - Mutations spontanées, induites ou programmées
- **Classification selon le type de mutations**
 - Causes et conséquences en fonction du type de mutations
- **Détail des mécanismes des mutations**
 - Réactivité des bases et dérapages réplicatifs
 - Lésions induites par les mutagènes
- **Les systèmes de réparation**
- **Le cancer, une maladie du génome liée aux mutations**
 - Les propriétés des cellules cancéreuses
 - Onco(gènes), gènes supresseurs de tumeurs et gènes mutateurs

Classifications des mutations

- **Selon leur cause**
 - Mutations spontanées ou induites
- **Selon leur taille et leur type**
 - **Mutations ponctuelles**
 - Taille limitée, à l'échelle nucléotidique
 - Non visibles sur le caryotype mais détectées en Biologie moléculaire
 - Deux types:
 - Substitutions et Insertions/délétions
 - **Réarrangements chromosomiques**
 - Taille importante, à l'échelle chromosomique
 - Visibles sur un caryotype par les techniques de cytogénétique
 - Plusieurs types
 - Délétion/Duplication, Insertion, Inversion, Amplification, Translocation

Classifications des mutations

- Selon leur caractère transmissible ou non

- Mutations somatiques

- Ne seront pas transmises à la descendance

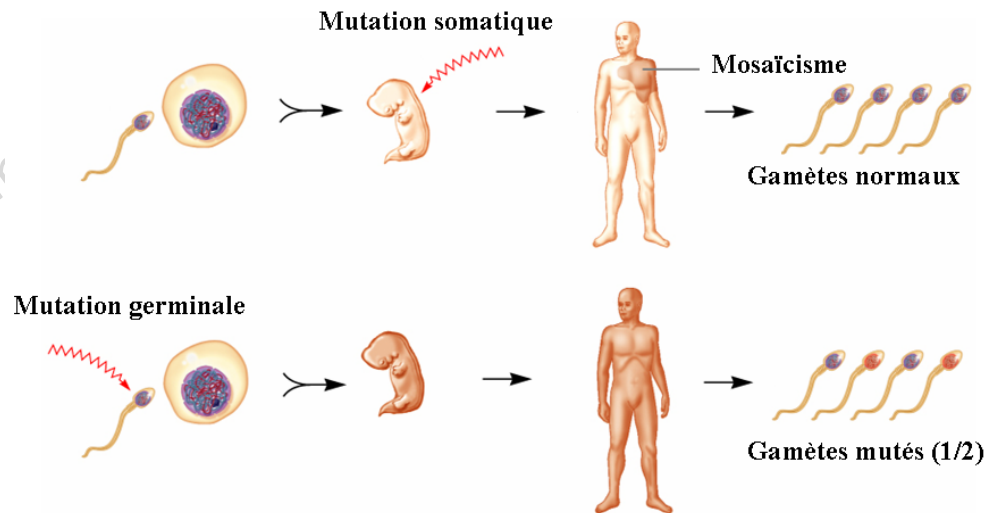
- L'individu est une mosaïque pour la mutation

- » Certaines cellules sont mutées et d'autres pas

- Mutations germinales

- Transmises à la descendance une fois sur deux (cf. Mendel)

- Toutes les cellules du nouvel individu en seront alors porteuses



Causes générales des mutations

- **Certaines mutations sont spontanées, inévitables**
 - **Réactivité chimique des bases**
 - Spontanée (**tautomérie**) ou liée au **métabolisme cellulaire**
 - Facilite la formation de paires de bases anormales lors de la réplication
 - **Séquences répétées du génome**
 - Événement de **transposition**
 - Parfois, inactivation d'un gène au point d'insertion
 - Événement de crossing-over entre séquences non homologues
 - **Recombinaison non homologue (→ Délétions/duplications)**
 - Répétitions des microsatellites, favorisent les **dérapages réplicatifs**
 - Instabilité de ces séquences → Maladies par expansion de triplets
 - **Vieillesse des cellules germinales**
 - Chez la femme ou chez l'homme
 - Accidents de **non disjonction chromosomique** de la méiose femelle
 - Taux élevé de mutations ponctuelles dans les spermatozoïdes

Causes générales des mutations

- **D'autres sont induites par une exposition**
 - Agents mutagènes chimiques ou physiques
 - Ex: Alimentation, Tabac / Soleil
 - Peuvent être évitées en supprimant cette exposition
 - L'exposition est parfois souhaitée
 - Drogues anticancéreuses (chimiothérapie) ou armes chimiques
- **D'autres enfin sont génétiquement programmées**
 - Rares syndromes de prédisposition génétiques au cancer
 - Liés à inactivation d'un système de surveillance du génome
 - Système de réparation des mutations
 - » Ex: Inactivation du système MMR
 - Système de contrôle du génome au cours du cycle cellulaire
 - L'absence de détection/réparation des mutations spontanées →
Augmentation considérable du taux de mutations
 - L'apparition d'un cancer est quasi-systématique

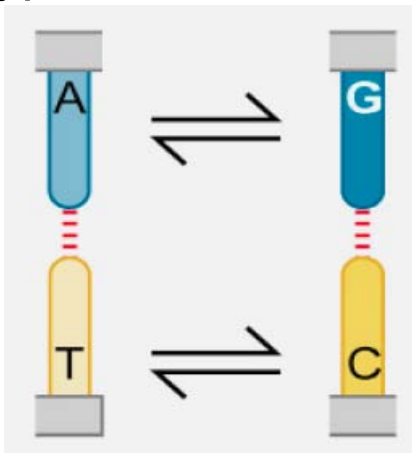
Les mutations ponctuelles

- Les types et causes des mutations ponctuelles

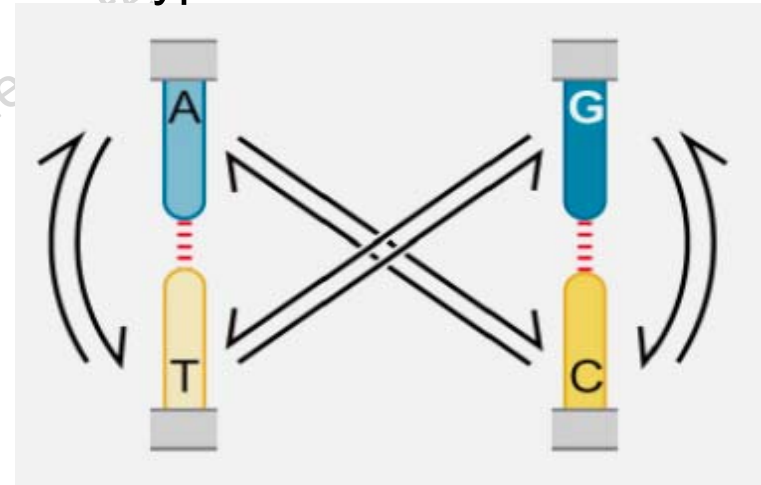
- Substitution d'un nucléotide par un autre

- Transition si la nature purique ou pyrimidique est conservée
- Transversion si purine \leftrightarrow pyrimidine et *vice-versa*

4 types de Transitions



8 types de Transversions



- Peuvent être liées à la **réactivité des bases** ou à des **mutagènes**

- **Additions/délétions d'un ou plusieurs nucléotides**

- Peuvent être liées aux **dérappages réplicatifs** ou à des **mutagènes**

Les mutations ponctuelles

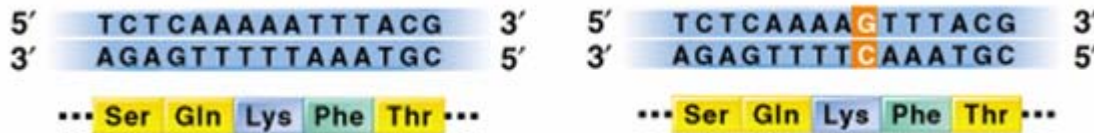
- Les conséquences des mutations ponctuelles

- Région codante, altèrent ou non le code génétique

- Substitutions

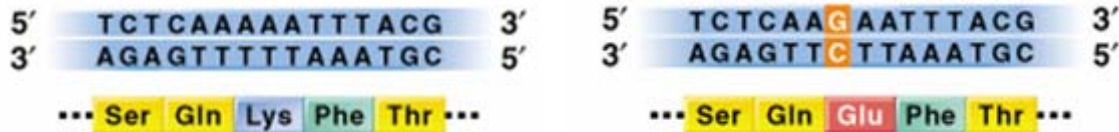
- Mutations silencieuses/synonymes (→ polymorphismes)

- » Ne changent pas l'acide aminé (dégénérescence du code)

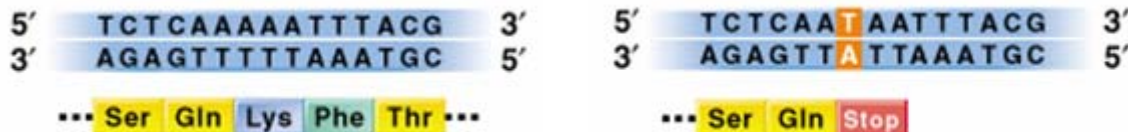


- Mutations faux sens = Changement d'acide aminé

- » Conservatives (même classe d'a.a) ou non conservatives



- Mutations non sens = Changement pour un codon Stop prématuré



Les mutations ponctuelles

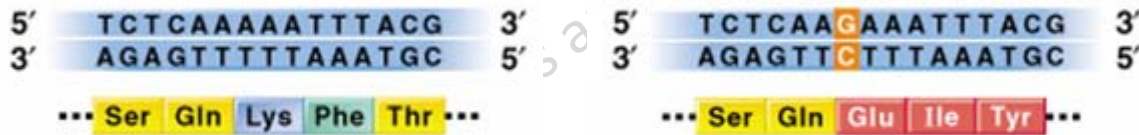
- **Les conséquences des mutations ponctuelles**

- **Région codante, altèrent ou non le code génétique**

- **Insertions ou délétions**

- **Décalant le cadre de lecture:** non multiples de 3 nucléotides

» Altèrent le sens de tous les codons suivants (Stop possible en aval)



- **Sans décalage du cadre de lecture:** multiples de 3 nucléotides

» Insèrent ou suppriment des codons (signifiants ou codon stop)

- **Dans une région non codante**

- **Peuvent affecter des régions régulatrices (→ effet quantitatif)**

- Promoteur, sites d'épissage, de polyadénylation....

- **Ou des régions dénuées de fonction**

- Constituent également des polymorphismes

Les réarrangements chromosomiques

• Délétion ou duplication d'une région



– Liées à l'existence de séquences répétées

- → Erreurs d'alignement et crossing-over inégaux durant la méiose

– → Possibles pathologies par effet de dosage génique

- Liées à la modification du nombre de copie des gènes de la région

• Inversion d'une région

– Changement d'orientation tête-bêche d'une séquence

- Peut interrompre un gène si se fait au travers d'une région transcrite



• Insertion d'une région

– Ex: Déplacement d'un transposon

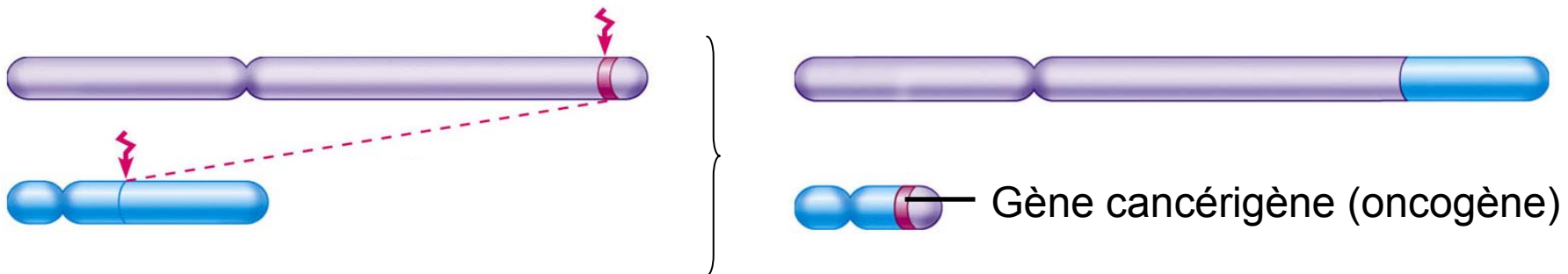
Les réarrangements chromosomiques

• Amplification

- Multiplication d'une séquence normalement unique
 - Type d'anomalie fréquent dans les cellules cancéreuses
 - La région contient souvent un oncogène, c.à.d favorisant la prolifération

• Translocation

- Cassure et déplacement d'un fragment de chromosome
 - Peut se faire sur le même chromosome ou sur un autre
 - Translocation réciproque: Échange de deux fragments de chromosomes
 - → Effet quantitatif (dérégulation de l'expression génique) ou qualitatif (fusion de séquences codantes et formation d'un gène chimère)

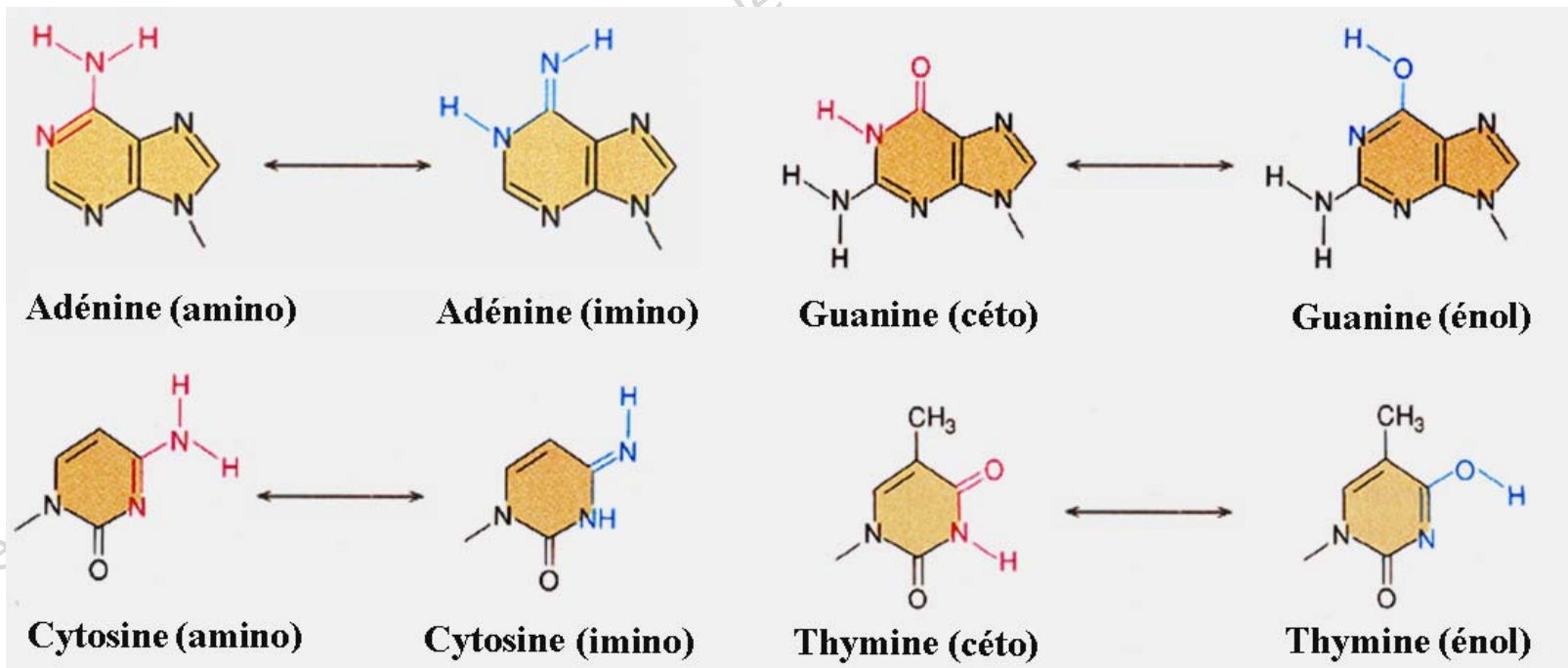


La réactivité spontanée des bases

- La tautomérie des bases

- Tautomère = Isomère de fonction

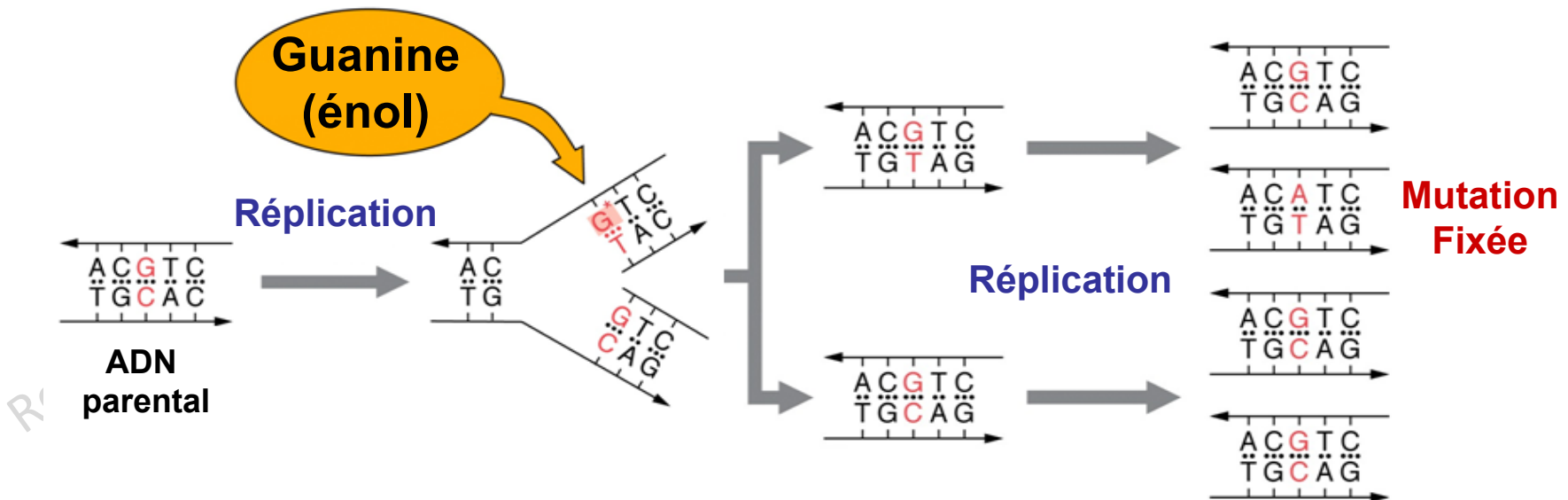
- Déplacement d'un atome d'hydrogène et d'une double liaison
 - Transformation **fonction cétone** >C=O en **fonction éno** >C-OH
 - » Concerne la thymine et la guanine
 - Transformation **fonction amine** >C-NH_2 en **fonction imine** >C=NH
 - » Concerne l'adénine et la cytosine



La réactivité spontanée des bases

• La tautomérie des bases

- Équilibre réactionnel très en faveur du tautomère normal
 - Tautomère normal 10 000 x plus fréquent que le tautomère mineur
- Si tautomère mineur sur le brin parent lors de la réplication
 - Formation possible de paires de bases anormales (A–C) ou (G–T)
 - La base du brin parent peut reprendre sa forme tautomérique normale
 - La mutation sera fixée à la 2nde réplication en l'absence de réparation
 - Elle correspond toujours à une transition: (G–C) ↔ (A–T) et *vice-versa*



La réactivité spontanée des bases

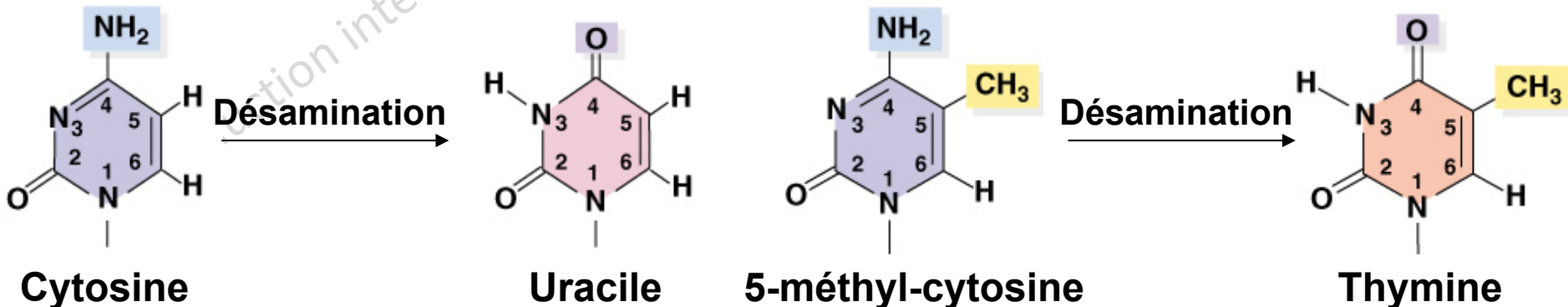
• La désamination des bases

– Conversion d'un groupe amine en groupe cétone

- Peut concerner l'adénine, la guanine ou la cytosine
 - Guanine → Xanthine, Adénine → hypoxanthine, Cytosine → Uracile
 - Sont généralement détectées et remplacées

– Cas particulier des cytosines méthylées

- Fréquentes dans les promoteurs des gènes (Îlots CpG)
- Constituent un point chaud de mutations
 - Désamination → Thymine, non reconnue comme étrangère à l'ADN (pas de réparation)
 - Aboutit toujours à une transition: (G–C) ↔ (A–T)



La réactivité spontanée des bases

- **La dépurination**

- **Fréquente, rupture de la liaison désoxyribose/base**

- Aboutit à la perte d'une adénine ou guanine, remplacée au hasard

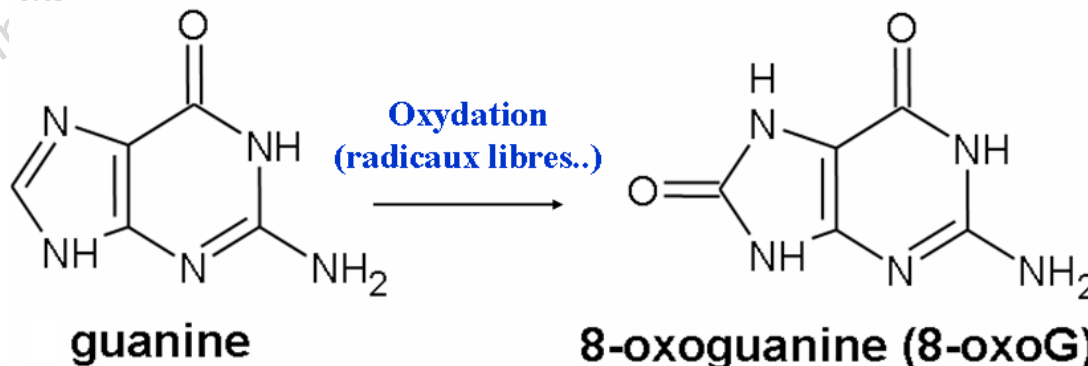
- **L'oxydation des bases**

- **Liée au métabolisme cellulaire normal**

- Génère des agents mutagènes appelés radicaux libres
- Oxydent les constituants cellulaires (ADN, protéines, lipides...)

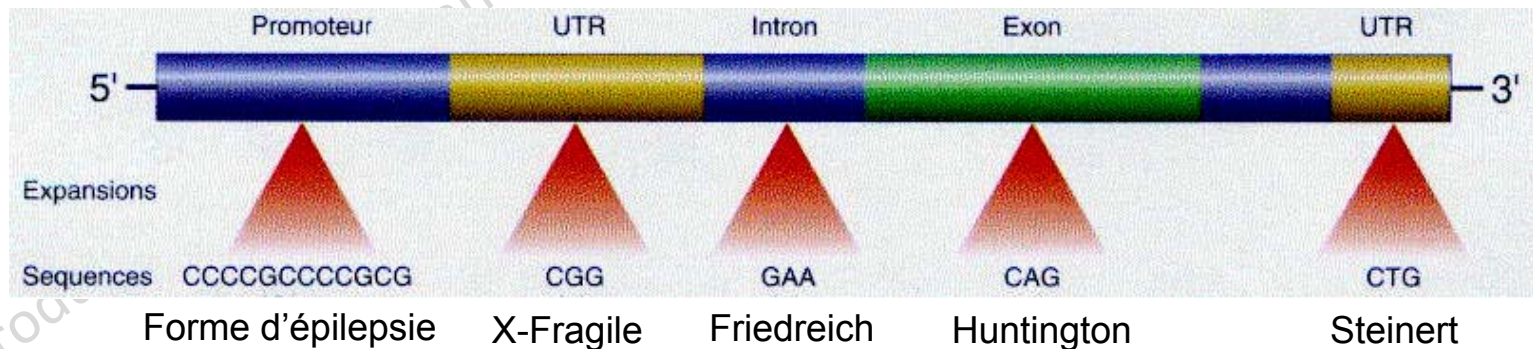
- **L'oxydation de la guanine donne la 8-oxo-guanine**

- La 8-oxo-guanine s'apparie avec la cytosine et l'adénine
 - Il en résulte une transversion de la guanine en thymine (GC → TA)



Les dérapages réplcatifs

- Ces séquences microsatellites sont instables
 - D'une génération à l'autre,
 - Le nombre de répétitions peut diminuer ou augmenter
 - Mais tendance générale à l'augmentation progressive
 - Lorsqu'elles sont contenues dans un gène
 - Conséquences possibles au-delà d'un nombre de répétitions seuil
 - → Maladies neurologiques héréditaires
 - La plupart sont liées à une **expansion de triplets**
 - » Localisation variable dans les ≠ gènes de ces maladies



- Expansion à chaque génération → Maladie de + en + sévère/précoce (phénomène d'anticipation)

Lésions induites par les mutagènes

• Les agents mutagènes chimiques

– Composés nombreux

- Action directe (carcinogènes) ou > métabolisation (procarcinogènes)
 - Exposition volontaire: chimiothérapie, armes chimiques, tabac..
 - Exposition involontaire: professionnelle, liée aux aliments, tabac

– Analogues de bases

- ~ bases normales, incorporés dans l'ADN lors de la réplication
 - mais avec appariements parfois différents

– Agents modifiant les bases et leurs appariements

- → Désamination, hydroxylation, alkylation
 - Ex: Nitrosamines (alimentation, tabac...)

– Agents intercalants

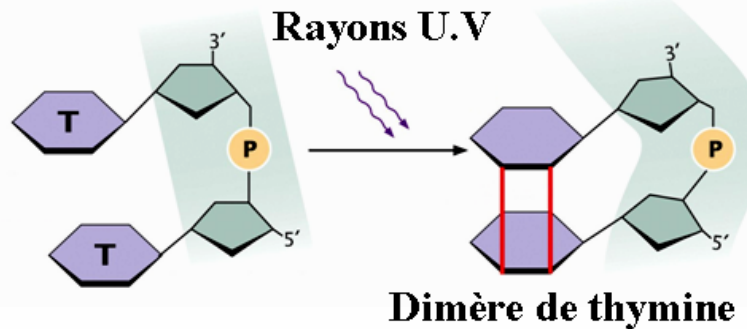
- Favorisent insertions ou délétions et décalage du cadre de lecture
 - » Ex: Bromure d'éthidium, encore très utilisé en Biologie moléculaire
 - » Ex: Aflatoxine B1 (aliments), benzopyrènes (barbecue, tabac...)

Lésions induites par les mutagènes

• Les agents mutagènes physiques

– Rayons U.V

- → Formation de dimères entre thymine adjacentes
 - Distorsion de l'ADN qui ralentit la polymérase et favorise les mutations



– Radiations ionisantes

- Rayons X ou gamma, rayons cosmiques, encore plus énergétiques
 - Favorisent la survenue de **cassures double brin de l'ADN** et les réarrangements chromosomiques ou la mort cellulaire

• Les agents mutagènes biologiques

– Certains virus favorisent les mutations et le cancer

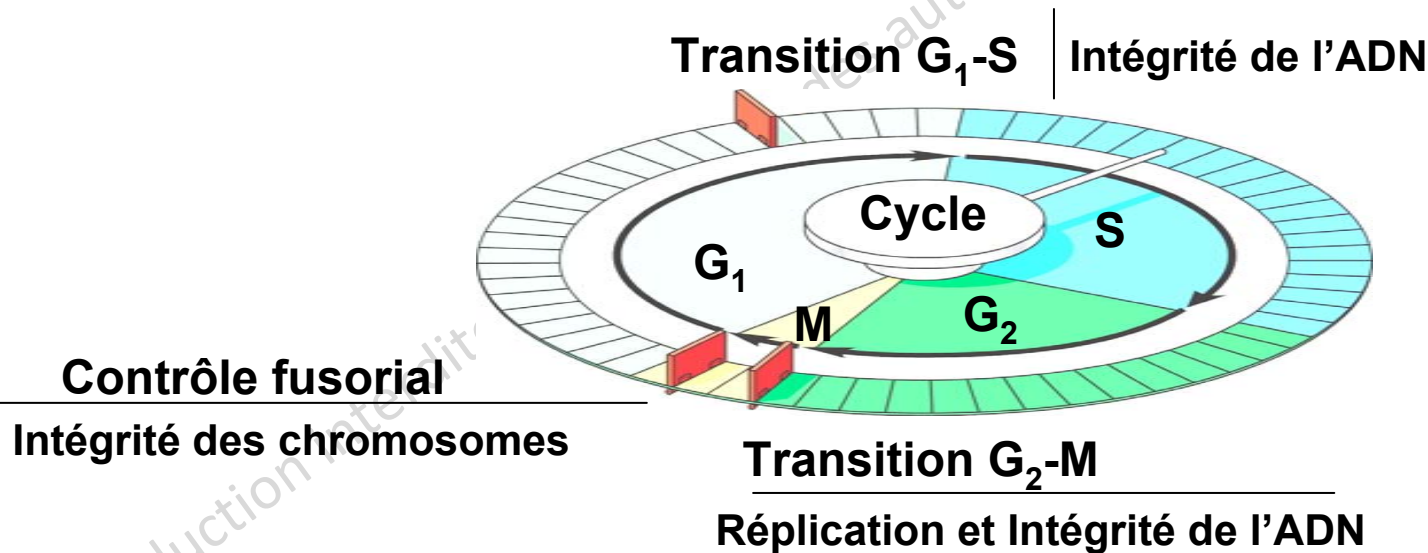
- Ex: Papillomavirus → Cancer du col de l'utérus

Les systèmes de réparation

- Sont liés aux cycle cellulaire

- Trois points de contrôle de l'intégrité de l'ADN (checkpoints)

- En cas d'anomalie, la progression dans le cycle est bloquée
 - Soit l'anomalie peut-être réparée, soit la cellule entre en apoptose (mort cellulaire programmée ~ suicide cellulaire)



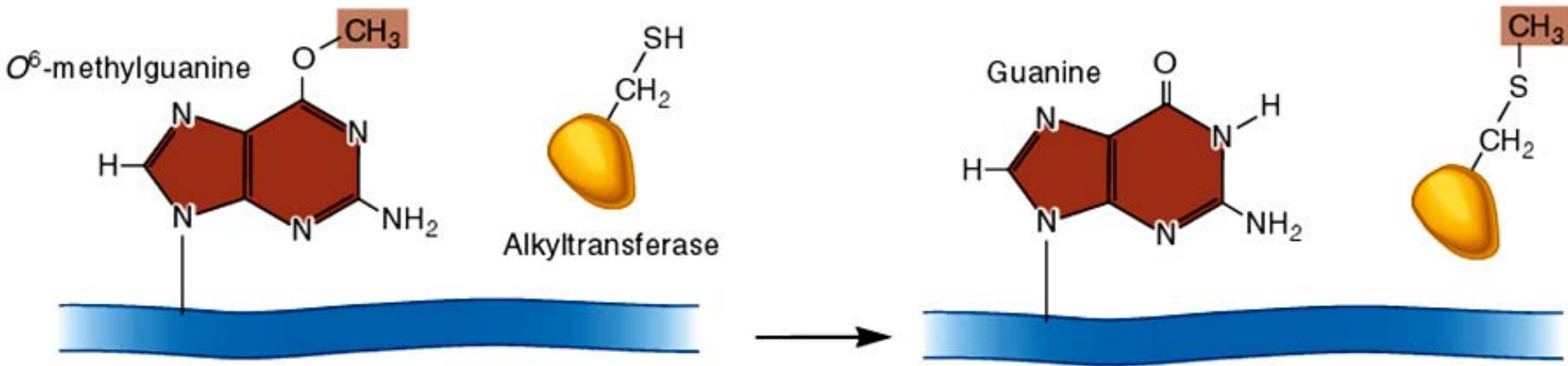
- Pour devenir cancéreuse, une cellule doit, entre autres
 - Inactiver ces points de contrôle et les mécanismes d'apoptose

Les systèmes de réparation

• Système de réparation directe

– Réparation d'une base modifiée sans excision d'ADN

- Concerne les bases modifiées par les agents alkylants
- Sont reconnues par des alkyltransférases, enzymes « suicide »
 - Transfèrent le résidu alkyl sur un de leurs acides aminés



• Système de réparation indirecte

– Systèmes BER et NER

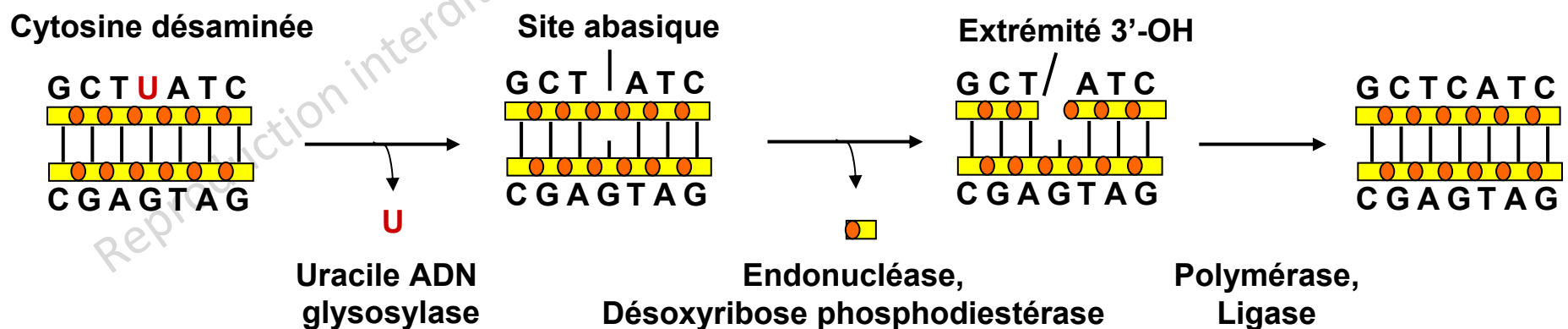
- Réparent les modifications par excision d'une région d'ADN

Les systèmes de réparation

• Système BER (*Base Excision Repair*)

– Intervient dans la réparation des autres bases modifiées

- Uracile, hypoxanthine, 8-oxoguanine, 3-méthyl-adénine...
- une ADN glycosylase clive la liaison sucre-base défectueuse
 - Elle est spécifique de la lésion (uracile-ADN glycosylase,...)
 - » Formation d'un site abasique (apurique/apyrimidique)
- L'endonucléase APE1 clive la liaison 3'-5' phosphodiester en amont et le désoxyribose phosphate est excisé
 - → Extrémité 3'-OH libre
- Le nucléotide est remplacé et relié au suivant



Les systèmes de réparation

- **Système NER (*Nucleotide Excision Repair*)**
 - Intervient dans la réparation des dimères de thymines
 - Utilise de nombreux facteurs
 - Dont le facteur de transcription général TFIIH
 - **Peut être inactivé de façon héréditaire**
 - Trois syndromes distincts
 - Dont le *Xeroderma Pigmentosum*
 - » → Sensibilité extrême aux U.V, avec cancers cutanés précoces

Xeroderma Pigmentosum (1/250 000)



**Cancer cutané avant 10 ans
(risque x 1000)**

Taches de rousseur

Conjonctivites et kératites solaires.

+/- Anomalies neurologiques

Les systèmes de réparation

- Réparation des cassures double-brin de l'ADN
 - Le système NHEJ (*Non Homologous End Joining*)
 - Système imparfait, rejoint bout à bout les fragments d'ADN
 - Pas de resynthèse des éventuels fragments perdus
 - » Intervient en phase G1 avant la réplication, lorsqu'il n'y a pas de chromatide sœur pour réparer
 - La recombinaison homologue
 - Utilise la chromatide sœur pour réparer intégralement la lésion
 - Intervient en phase S ou G2
 - Nombreuses protéines dans le système, dont BRCA1 et BRCA2 (*Breast Cancer*)
 - Comme pour les gènes du système MMR,
 - » On peut hériter d'une mutation du 1^{er} allèle
 - » Mutation somatique du 2^{ème} allèle → Cancer du sein familial

Le cancer, une « maladie du génome »

- **Liée à une accumulation de mutations**
 - **Accumulation spontanée, induite ou programmée**
 - **Mutations spontanées** nombre faible mais ↑ avec l'âge
 - Explique l'augmentation des cancers sporadiques avec l'âge
 - **Mutations induites**, liés à une exposition
 - Ex: Cancers professionnels, d'origine virale ou liés au tabac
 - **Mutations programmées** / défaut système de réparation du génome
 - Syndromes de prédisposition génétique au cancer (1-10% des cancers)
- **→ Transformation cellule normale → cancéreuse**
 - **Inactivation gènes contrôlant l'équilibre prolifération/mort**
 - Inactivation multi-étape, combinée de « **Gènes de cancer** »
 - Combinaison → Acquisition des **caractéristiques cancéreuses**

Trois catégories de « gènes de cancer »

• (1) Les (proto)oncogènes

– → Gènes ayant pour rôle de stimuler la prolifération

- Proto-oncogène:

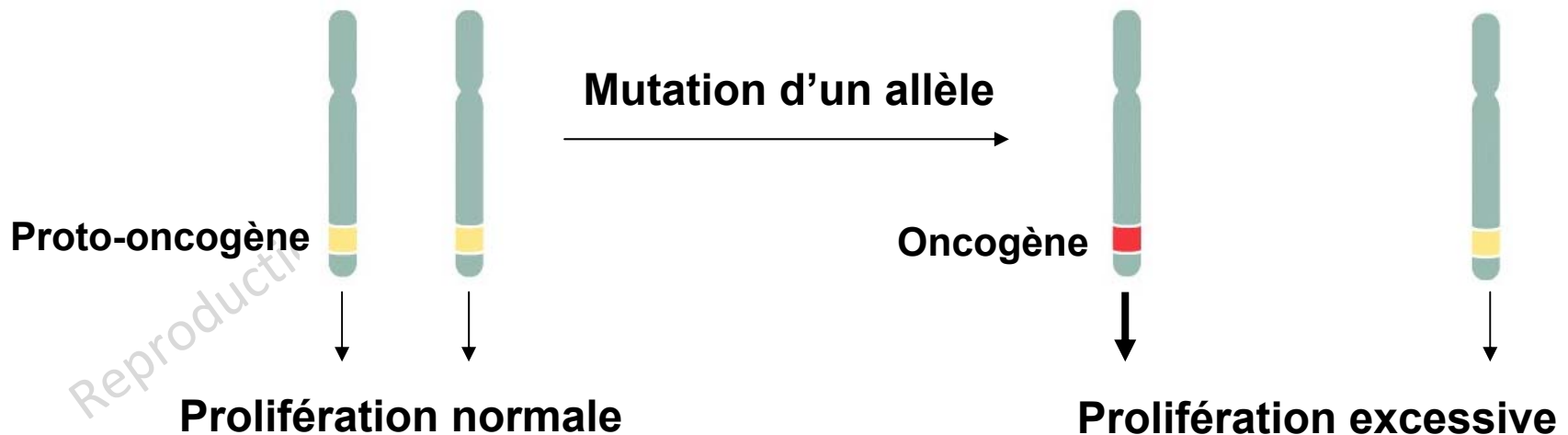
- Version normale d'un gène favorisant une prolifération sous contrôle

- Oncogène

- Version mutée d'un proto-oncogène → prolifération incontrôlée

- Mutations fonctionnent sur un **mode dominant**

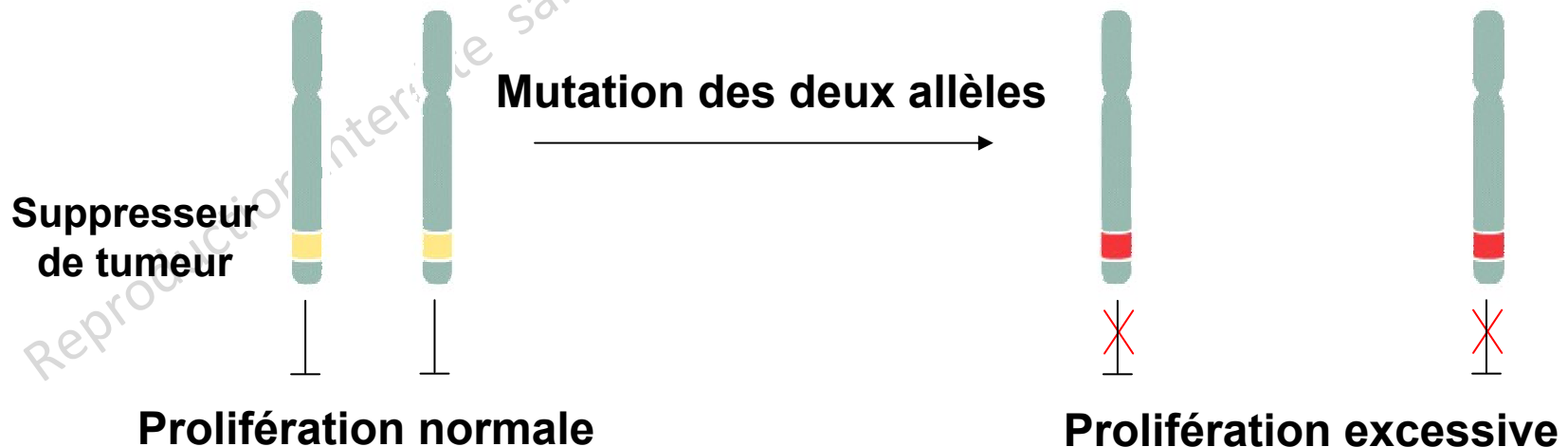
- » Une seule mutation suffit pour favoriser la prolifération



Trois catégories de « gènes de cancer »

• Les suppresseurs de tumeurs

- → **Gènes ayant pour rôle de limiter la prolifération**
 - **(2) Les gènes de contrôle du cycle (Gatekeepers)**
 - Inhibent la croissance ou induisent l'apoptose
 - **(3) Les gènes de réparation de l'ADN (Caretakers)**
 - Assurent la stabilité du génome (système MMR, BER, NER...)
- Pour ces deux catégories
 - Mutations fonctionnent sur un **mode récessif** à l'échelle cellulaire
 - » Les deux copies doivent être inactivées

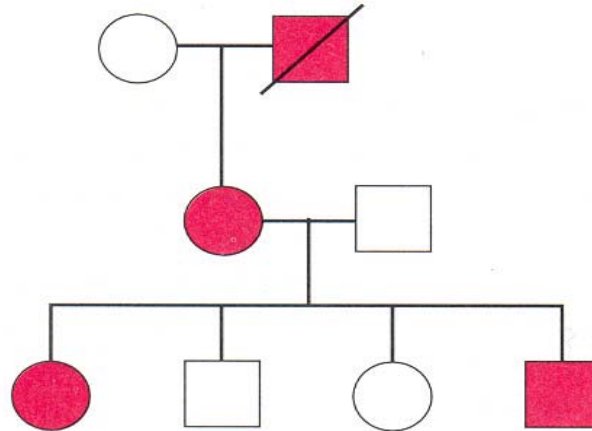


Trois catégories de « gènes de cancer »

- Les suppresseurs de tumeurs

- Dans le cadre des syndromes prédisposant au cancer

- Si la 1^{ère} mutation est héritée sur plusieurs générations,
 - La seconde étant quasi-systématique chez un individu prédisposé
 - Cancers apparaissent selon un **mode dominant à l'échelle familiale**
 - » Transmission verticale des cancers



Reproduction interdite

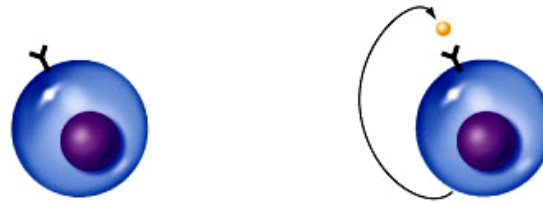
Caractères d'une cellule cancéreuse

- (1) Prolifération incontrôlée, indépendante

- Vis-à-vis des facteurs de croissance (FC)

- Autoproduction de FC, stimulation de la vascularisation...

Autoproduction de FC



- Vis-à-vis des cellules/structures avoisinantes

- Perte de l'inhibition de contact, capacité d'envahissement...

Perte de l'inhibition de contact



- Cette augmentation du nombre de cellules

- Augmente probabilité d'apparition de nouvelles mutations

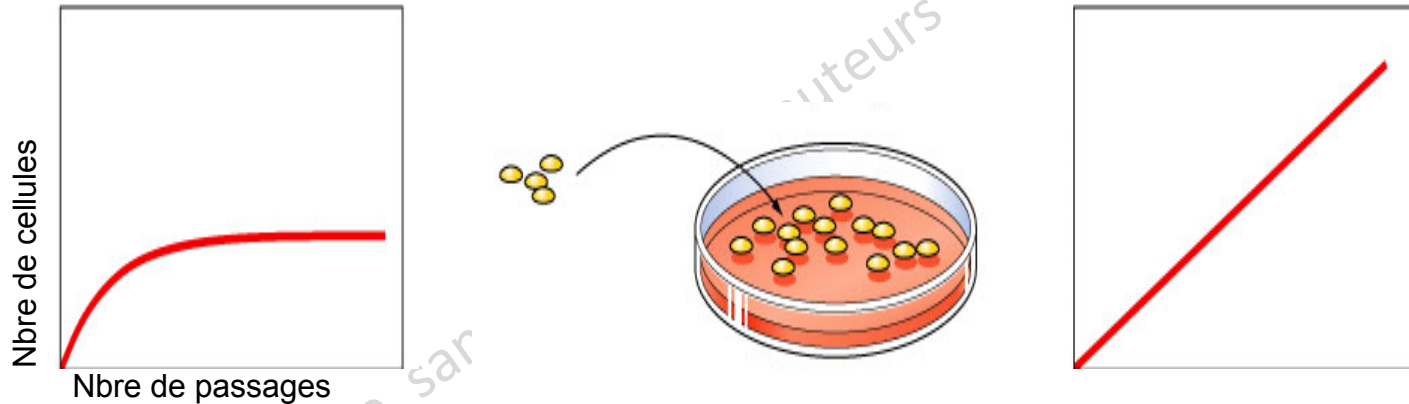
- → Cercle vicieux

Caractères d'une cellule cancéreuse

• (2) Immortalité

- Ne vieillissent plus et ne meurent pas
 - Surexpression de la télomérase, Inactivation de l'apoptose...

Surexpression de la télomérase



- Facilite l'apparition de nouvelles mutations
 - Puisque cette probabilité augmente avec le temps
 - → Cercle vicieux

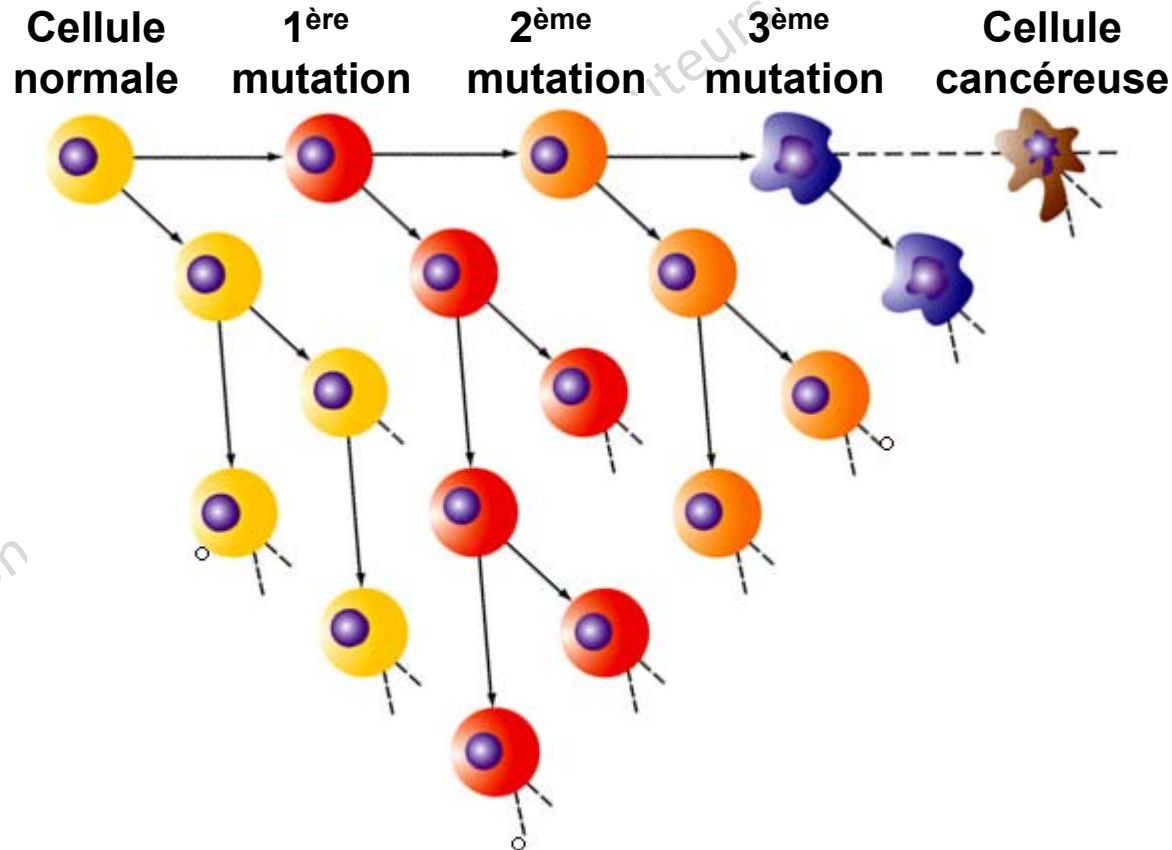
Caractères d'une cellule cancéreuse

- **Trois caractéristiques principales**

- L'acquisition de l'une pouvant favoriser celle des autres

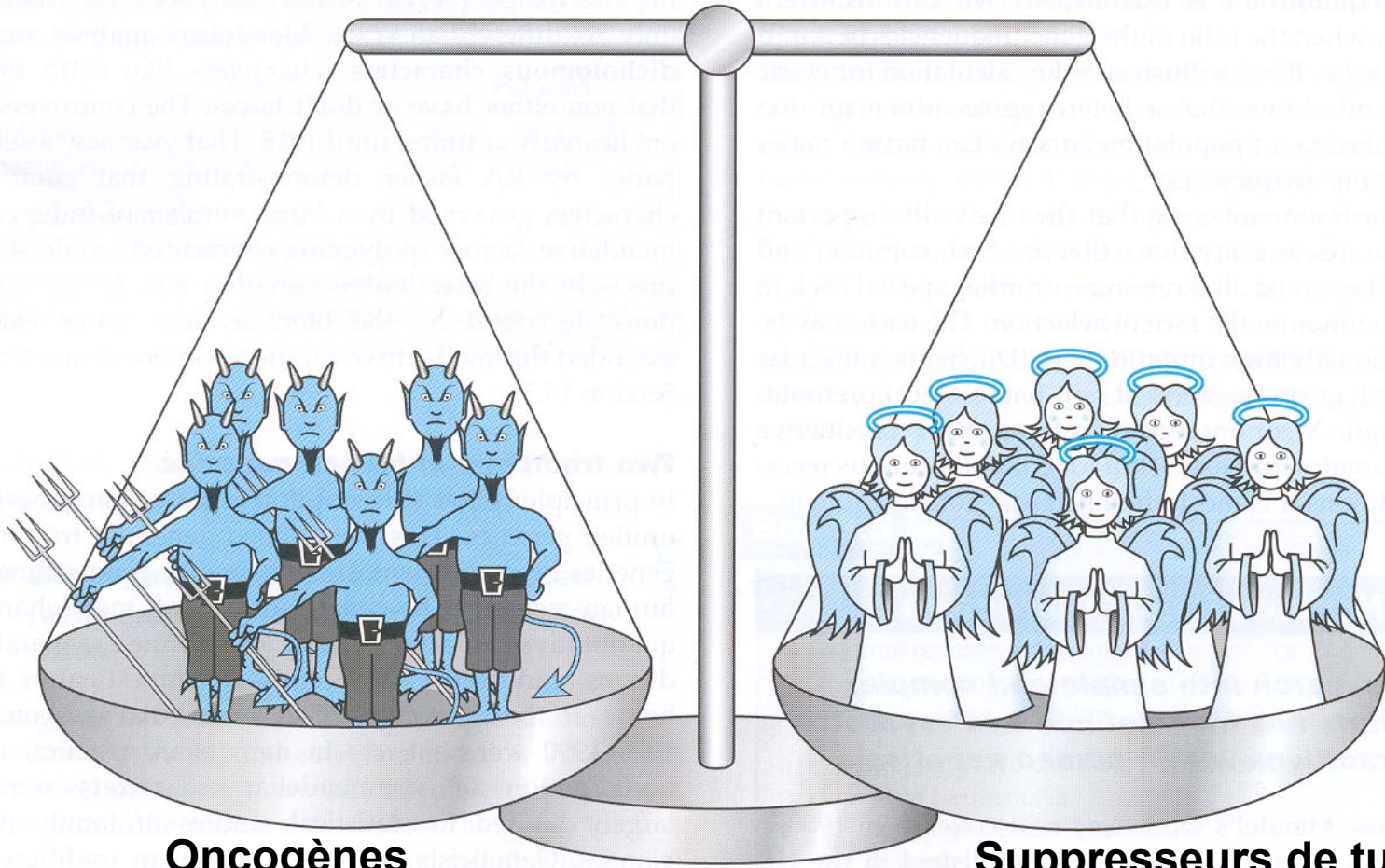
- Le cancer est un **processus multigénique et multi-étapes**

- 1^{ère} mutation facilite la 2^{ème} qui facilite la 3^{ème} etc....



Reproduction

Fin des cours



Oncogènes

Suppresseurs de tumeurs

Repro

UNIVERS

Mentions légales

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle.

Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location par un tiers autre que l'Université de Nice-Sophia Antipolis.

La diffusion, la duplication, la mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), la mise en réseau, de tout ou partie de ce document, sont strictement réservées à l'Université de Nice-Sophia Antipolis.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits aux cours et au tutorat organisés par l'UFR de Médecine de l'Université de Nice-Sophia Antipolis, et non destinée à toute autre utilisation privée ou collective, gratuite ou payante.