

LÉCTURE 4A



Objectifs :

Connaître les types de **mutations** et leurs sources, les différents types de **polymorphismes** et les différences entre **mutations somatiques et germinales** et entre mutations **récessives** et dominantes.

Connaître la nature des **dommages de l'ADN** et les systèmes dédiés de **réparation** qui vont les prendre en charge.

Une **mutation** est un **changement** dans la séquence d'ADN du génome d'une cellule. On distingue les **mutations ponctuelles** telles que les **substitutions** et les **insertions** ou **délétions** de petite taille, et les **remaniements chromosomiques** comme les **délétions**, les **duplications**, les **insertions**, les **inversions** ou les **translocations chromosomiques**.

Certaines mutations sont liées aux **erreurs inévitables** de réplication, à **l'abondance de séquences répétées** dans le génome qui favorisent erreurs de réplication ou de crossing-over lors de la méiose, ou liées encore aux **modifications de bases**.

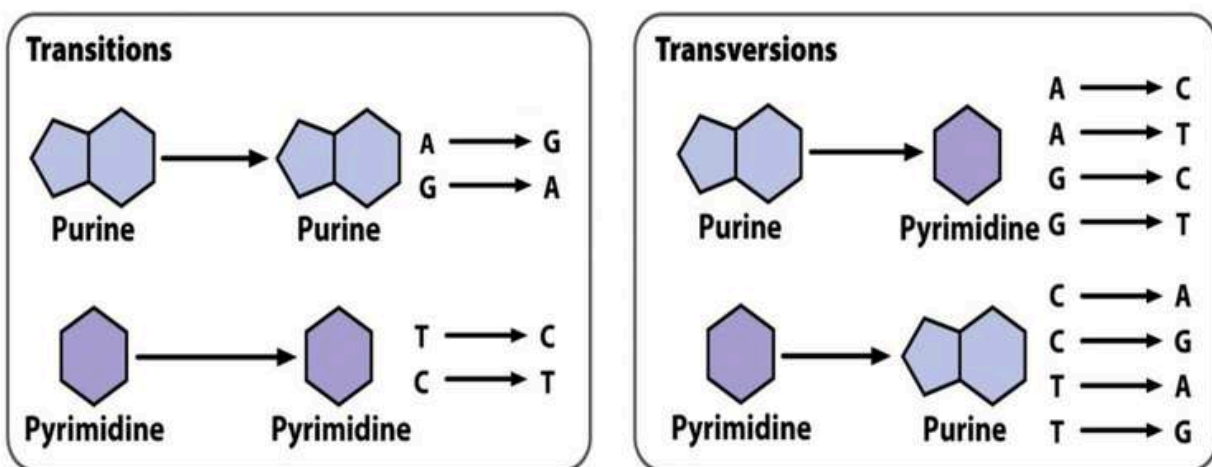
D'autres mutations sont induites et liées à une **exposition à un agent mutagène** qui peut être **physique** comme les **radiations** ou les **rayons ultraviolets**, qui peut être **chimique** comme les **agents intercalants** ou les **analogues de bases**, ou enfin qui peut être **pathogène** tels que les **virus** ou les **bactéries**.

Les conséquences des mutations sont variables selon qu'elles **perturbent ou non le message génétique**, constituant alors de simples **polymorphismes**, ou qu'elles sont situées dans les cellules **somatiques ou germinales**.

À une échelle **phylogénétique**, les mutations ont été **bénéfiques** et ont constitué un **moteur** de sélection naturelle et **favorisé l'évolution** et la **diversification** des espèces, dont l'homme.

Ainsi, la nature des mutations va être variable. Comme nous l'avons déjà vu, il existe des **substitutions** parmi lesquelles on va distinguer les **transitions** et les **transversions**.

Une **transition** est une mutation qui va **remplacer une purine ou une pyrimidine** par une base de **même nature** alors qu'une **transversion** va remplacer **une purine par une pyrimidine ou inversement**.



On distinguera ainsi **quatre types de transitions** et **huit types de transversions**. Les **transitions** sont les **plus fréquentes** et peuvent être entre autres causées par des agents **mutagènes** comme **l'acide nitreux** ou les **analogues de bases** tels que la **5-bromo-2-déoxyuridine (BrdU)**.

Lorsqu'elles affectent la **séquence codante** d'un gène, les mutations ponctuelles vont être classées en **trois catégories**, les mutations **silencieuses**, les mutations **faux sens** et les mutations **non-sens**. *(On les connaît déjà)*

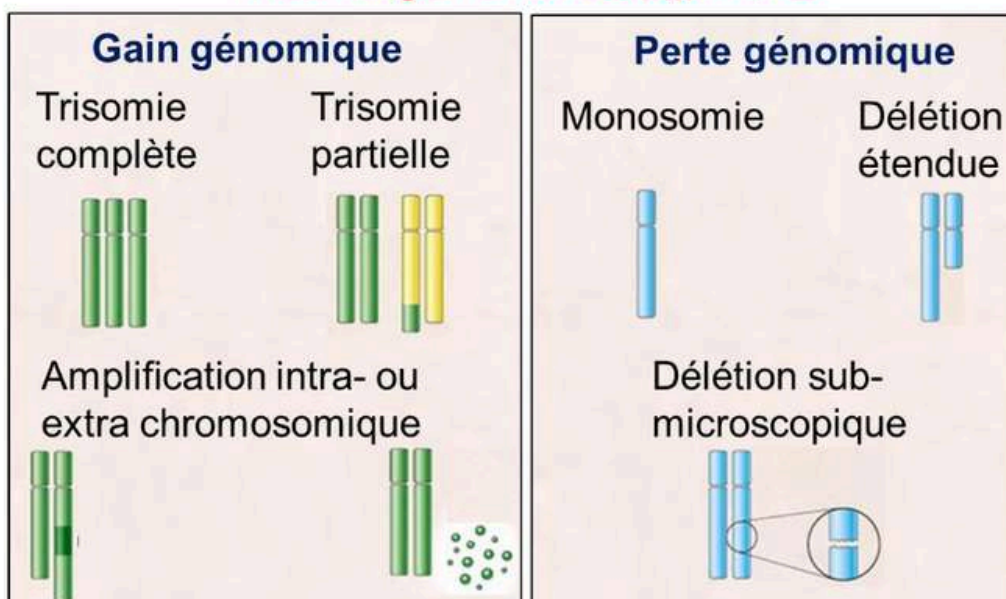
Les **insertions** et **délétions** peuvent entraîner un **décalage du cadre de lecture** de l'ARN messenger. Elles sont généralement **plus sévères** et sont notamment causées par des événements de **transposition** ou des **erreurs de réplication** au niveau de séquences répétées du génome.

Les **remaniements chromosomiques** vont quant à eux affecter le génome à une **large échelle**. Certains remaniements vont être dits **déséquilibrés**, car ils entraînent des **gains** ou des **pertes** de régions chromosomiques et donc des gènes que ces régions contiennent.

Ainsi, un **gain** génomique pourra être réalisé par une **trisomie** complète ou partielle, ou par **l'amplification intra- ou extra-chromosomique d'une région**.

Une **perte** génomique pourra quant à elle être réalisée par une **monosomie** ou une délétion étendue d'un fragment de chromosome, ou encore par une délétion de plus petite taille d'une région chromosomique appelée délétion submicroscopique.

Réarrangements déséquilibrés



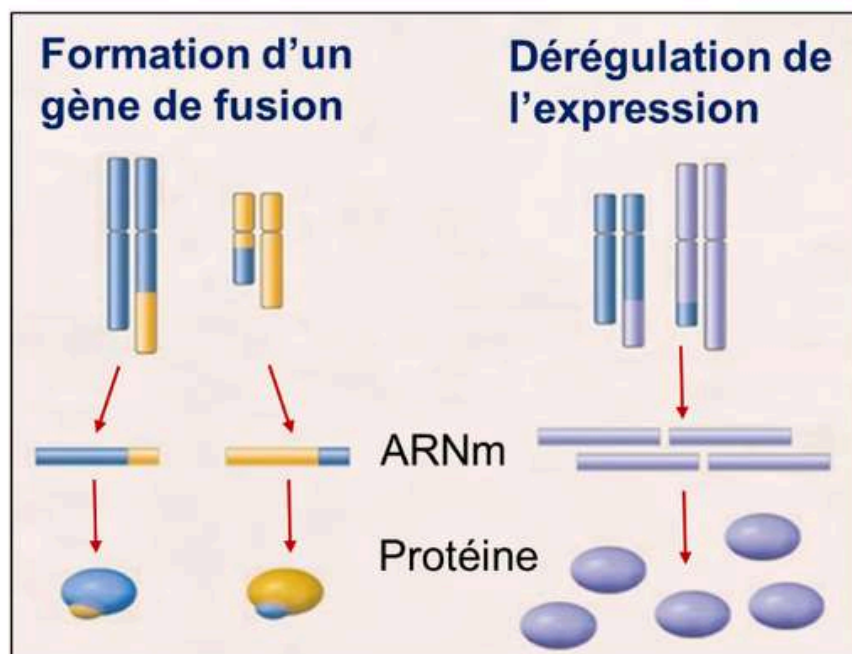
Enfin, d'autres **remaniements** n'entraînent ni perte ni gain chromosomique et sont dits **équilibrés**. C'est le cas notamment des **translocations équilibrées ou inversions**.

Mais ces remaniements vont avoir pour conséquence de **juxtaposer** des séquences d'ADN de gènes qui sont **distants**.

Cette juxtaposition pourra former un gène dit de **fusion** dont le produit possède des propriétés **oncogéniques** comme par exemple le gène de **fusion Bcr-Abl** que l'on retrouve dans certaines **leucémies**.

Dans d'autres cas, cette juxtaposition de séquences distantes pourra entraîner la **dérégulation de l'expression normale d'un gène**.

Réarrangements équilibrés



Comme indiqué précédemment, la source des mutations est également **variable**. Il peut tout d'abord s'agir d'erreurs de réplication liées à la polymérase ou liées aux séquences répétées du génome.

En effet, malgré la sélection stricte des bases par les polymérases et leur activité proofreading, la **fidélité de la réplication est imparfaite**. ++

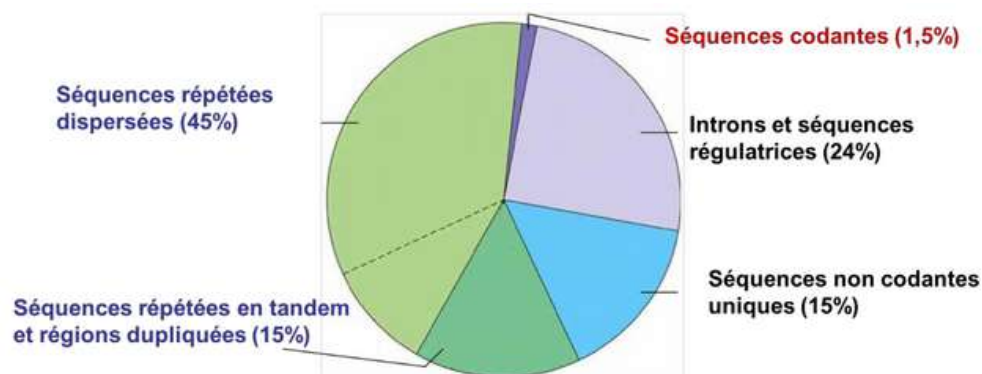
De plus, la nature des séquences du génome humain favorise en elle-même l'apparition de mutations, près de **60% du génome étant constitué par des séquences non codantes répétées**.

En effet, les **régions codantes** et **non codantes** des gènes ne représentent que **25%** de la totalité du génome, le reste étant constitué d'autres séquences non codantes ou de séquences répétées.

Les **séquences répétées** dites **dispersées** représentent **45%** du génome et correspondent aux **transposons** et aux **rétrotransposons** qui favorisent les remaniements du génome et sa dynamique.

Des **séquences répétées en tandem** représentent **5%** du génome, correspondent aux séquences **mini satellites** et aux séquences **microsatellites** et favorisent les mutations et les insertions ou délétions de petite taille.

Enfin, les **régions génomiques dupliquées** correspondent à des familles de gènes apparentés qui sont issus d'un gène ancestral ayant évolué par des mécanismes de duplication, de mutation et de transposition et témoignent de la dynamique passée du génome.

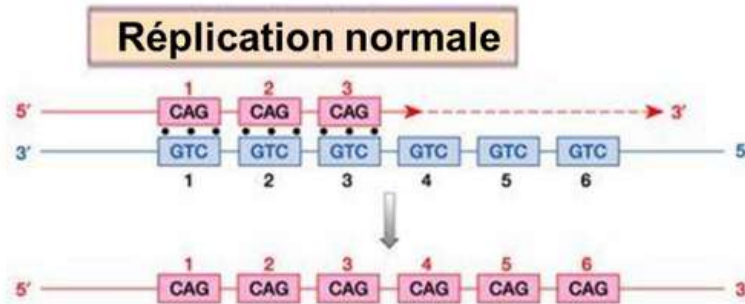


Les **séquences répétées en tandem** sont des séquences qui sont abondantes dans le génome et qui vont **favoriser les erreurs de réplication**.

On distingue dans ces séquences répétées en tandem les **minisatellites** qui sont constitués par la répétition d'un motif de **10 à 100 paires de base** et les **microsatellites** plus petits qui sont constitués par la répétition d'un motif **d'une à dix paires de bases**.

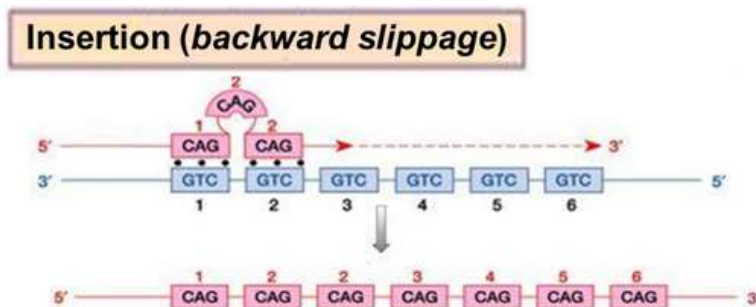
Les microsatellites sont des séquences formées de répétitions en tandem, dont le motif répété est le plus souvent constitué de di-, tri- ou tétranucléotides.

L'exemple ci-dessous montre la réplication normale d'un satellite contenant six répétitions du trinucleotide CAG.

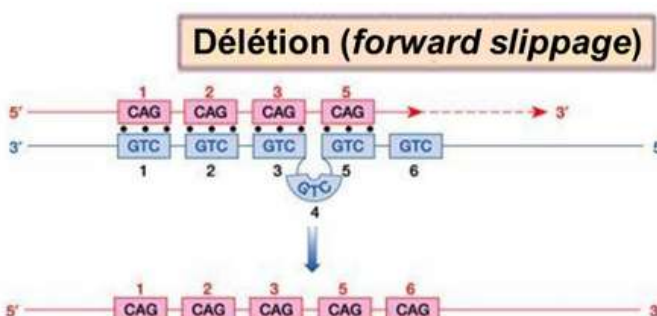


Dans certains cas, il peut se produire un **mauvais alignement du brin parental et du brin fils** en cours de réplication, qu'on appelle des **dérappages répliatifs**, par formation de **boucles** sur l'un ou l'autre des brins.

Sur la figure ci-dessous, le **glissement du brin fils** va former une boucle contenant une répétition, ce qui conduit à sa réplication en excès et, au final, à une **augmentation** du nombre de répétitions.



Sur celle-ci, le **glissement du brin parent** va former là aussi une boucle contenant une répétition, ce qui conduit à son défaut de réplication et, au final, à une **diminution** du nombre des répétitions.



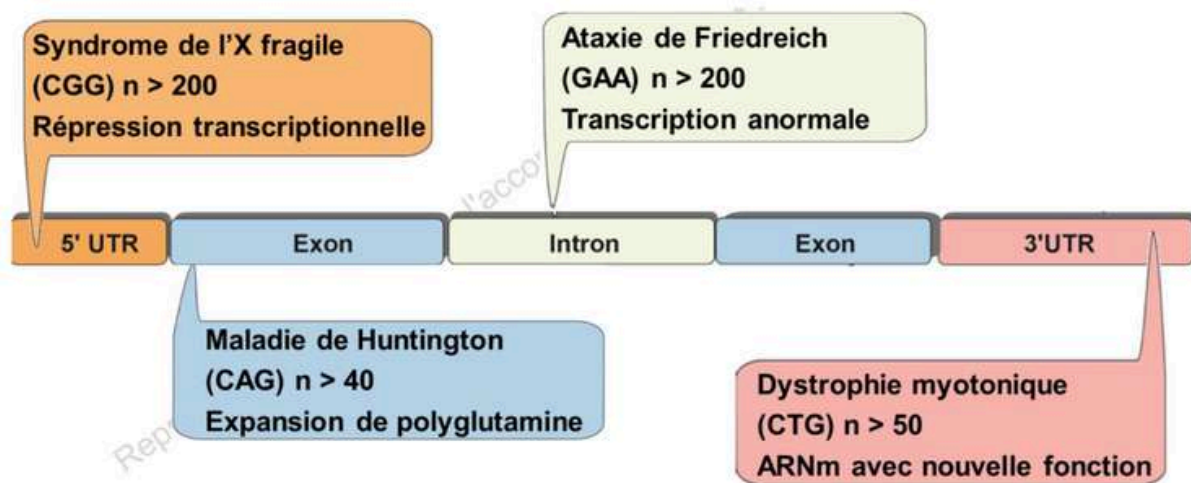
Ce phénomène est appelé **instabilité des microsatellites** ou **Micro Satellite Instability (MSI)** et peut conduire à l'apparition **d'insertions** ou de **délétions** (indels) d'un ou plusieurs nucléotides, selon le motif répété.

La conséquence de cette instabilité va être un **excès** ou au contraire, un **défaut** de réplication d'un nombre variable de motifs répétés, aboutissant ainsi à une **augmentation** ou à une **diminution du nombre de répétitions de ces séquences**.

Les **maladies dites par expansion** sont un groupe de maladies liées à l'augmentation de génération en génération du nombre de répétitions du motif formant la séquence répétée.

Certains gènes contiennent en effet, dans leur séquence codante ou non codante, des répétitions dont l'expansion va progressivement constituer une **prémutation**, et, au-delà d'un seuil critique, une mutation.

La figure ci-dessous montre, pour différentes maladies liées à ce phénomène d'expansion, la localisation du motif répété dans le gène en cause, le nombre seuil de répétitions qui constitue une mutation et la conséquence fonctionnelle de cette mutation.

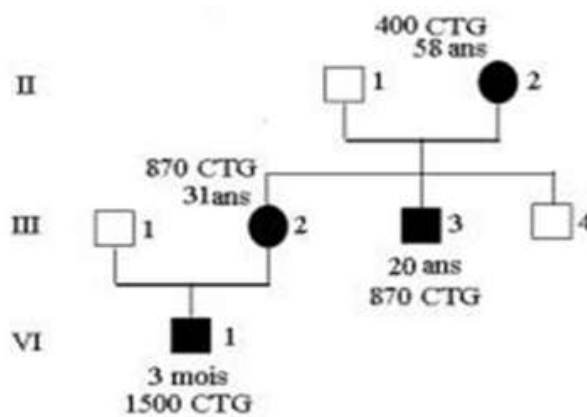


Comme la **probabilité** d'une erreur de réplication est de plus en plus élevée au fur et à mesure que le nombre de répétitions augmente, l'instabilité et l'expansion vont s'accroître d'une génération à l'autre.

Le phénomène d'anticipation traduit l'augmentation des répétitions à chaque génération, dont le nombre total est corrélé à la sévérité de la maladie ou à la précocité de son apparition.

Cet arbre généalogique d'une famille atteinte de **dystrophie myotonique de Steinert** illustre ce phénomène **d'anticipation**.

La maladie est apparue à l'âge de 58 ans chez la grand-mère maternelle, à l'âge de 31 ans chez la mère et à l'âge de trois mois chez son fils.



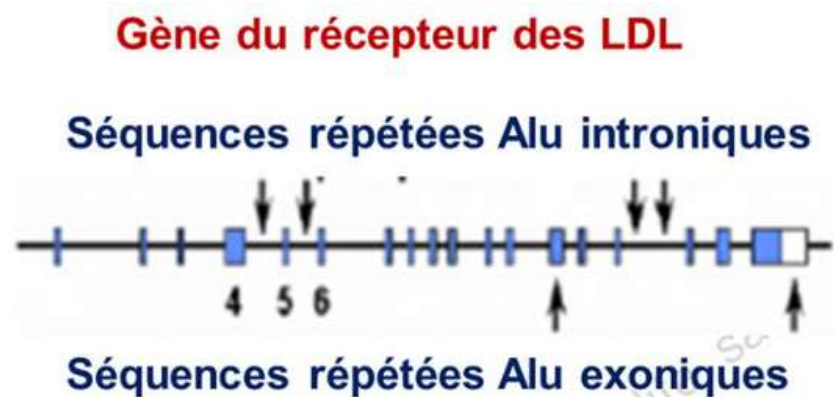
Certaines **mutations spontanées** sont également liées à des **crossing-over inégaux**, qui surviennent en méiose.

En méiose, les séquences répétées en tandem ou dispersées, comme par exemple les séquences **Alu**, vont favoriser **l'instabilité des microsatellites** ou les **duplications** ou **délétions** génomiques.

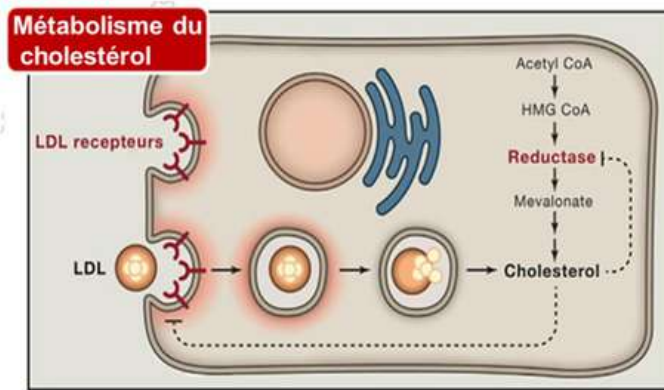
Les crossing-over inégaux résultant d'un mauvais alignement entre séquences répétées vont entraîner une **recombinaison** pouvant soit aboutir à une duplication, soit à une délétion.

A titre d'exemple, le gène qui code pour le récepteur des lipoprotéines de faible densité, appelé LDL-R pour Low Density Lipoprotein Receptor, contient de nombreuses séquences répétées dispersées de type Alu.

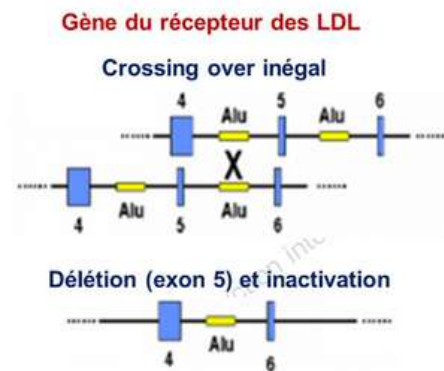
Le schéma ci-dessous montre les diverses séquences répétées Alu qui sont situées dans les introns ou dans les exons du gène du récepteur des LDL.



Ce récepteur permet notamment de capter les LDL circulantes et après internalisation, le cholestérol qui est abondant dans ces particules va être libéré et réduire sa propre synthèse endogène par rétrocontrôle négatif sur l'HMG-CoA réductase qui est impliquée dans sa synthèse, et ainsi va limiter le taux de cholesté

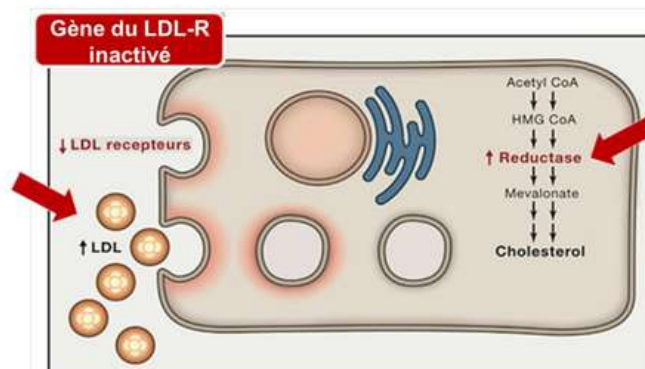


En cas d'alignement incorrect entre les séquences Alu encadrant, par exemple, l'exon 5 du gène du récepteur des LDL, le crossing-over inégal va entraîner la délétion de cet exon 5 et la formation d'un récepteur non fonctionnel.



Ainsi, certaines formes **d'hypercholestérolémie familiale** vont être liées à un crossing-over inégal qui inactive ce gène qui assure normalement la captation du cholestérol et la régulation de sa synthèse endogène.

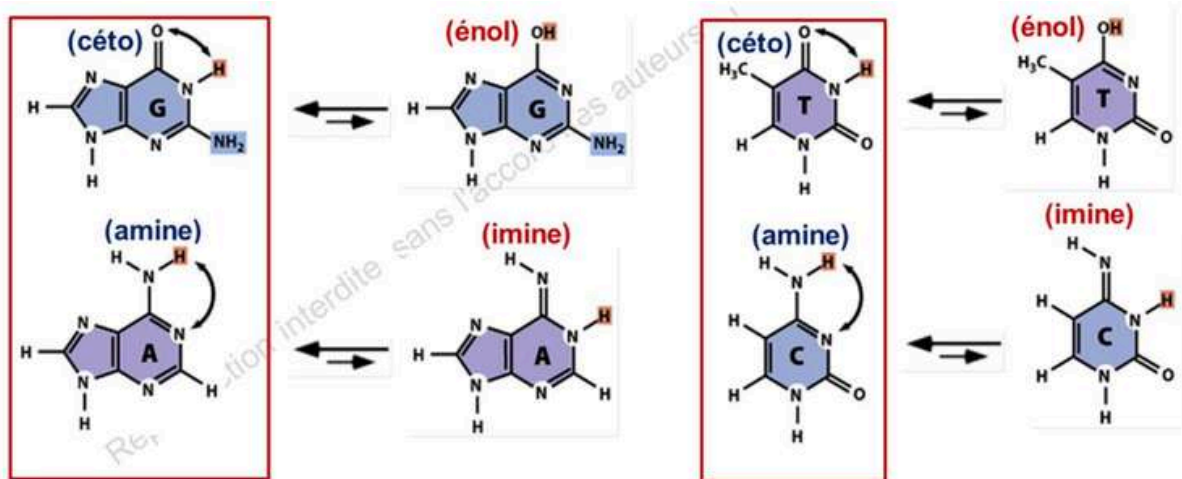
La figure ci-dessous illustre, dans le cas de l'inactivation du gène du récepteur des LDL, l'augmentation considérable des particules riches en cholestérol dans la circulation et l'absence d'inhibition de l'HMG-CoA réductase qui va entraîner une synthèse excessive de cholestérol.



Certaines mutations spontanées vont également être liées à un phénomène appelé **tautométrie**. De façon spontanée, les bases peuvent subir une **isométrie de fonction**, qu'on appelle la **tautométrie**, par **déplacement d'un atome d'hydrogène et d'une double liaison**.

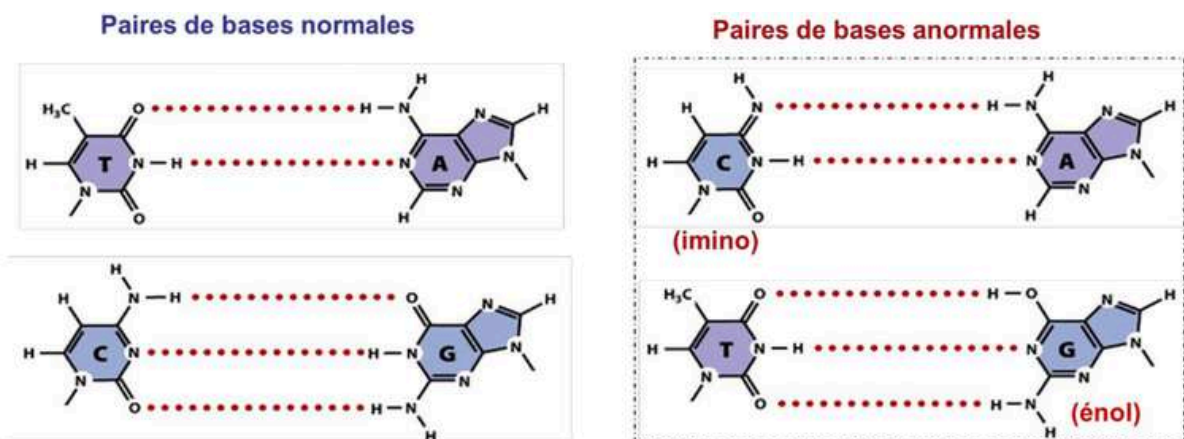
Cette isométrie a ainsi convertir les groupes fonctionnels céto ou amine des bases normales et créer des formes tautomériques mineures des bases.

Ce déplacement va ainsi convertir la **fonction céto de guanine** et de la **thymine** en une fonction **énol**, et la **fonction amine de l'adénine** et de la **cytosine** en une fonction dite **imine**.

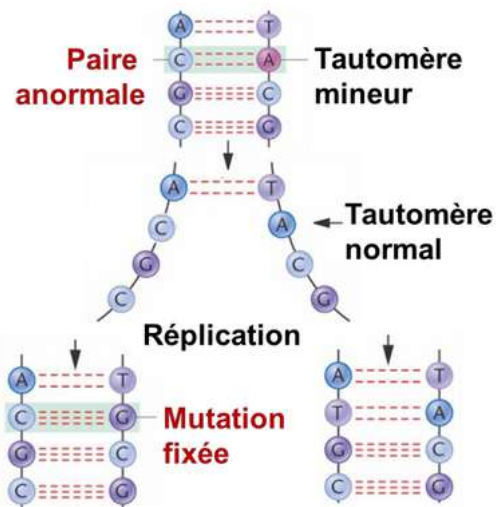
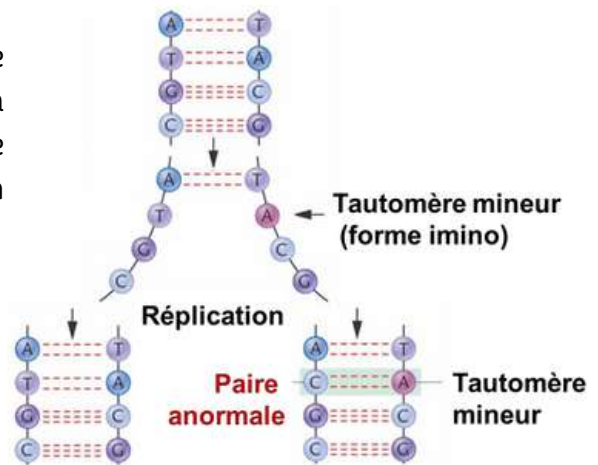


Ces changements de groupes fonctionnels vont ainsi modifier les **possibilités existantes de liaisons hydrogène** qui sont établies entre les bases et créer des **paires de bases AC ou GT non canoniques**.

Ainsi, une paire de bases AT sera, lorsque la cytosine est sous sa forme imino, convertie en une paire de bases AC, et une paire de bases CG sera convertie, lorsque la guanine est présente sous sa forme éno, en une paire de bases TG.



Si une base est présente dans l'ADN sous sa forme **tautomérique mineure** au moment de la réplication, un appariement anormal va alors se former et une mutation être introduite sur le brin fils.



En l'absence de détection et de réparation de cette paire de bases erronée, même si le tautomère normal réapparaît ensuite, la réplication de la base de l'autre brin entraînera la fixation définitive de la mutation.

Enfin, certaines mutations sont liées à la modification de bases par des réactions chimiques inévitables.

La **dépurination** correspond à la perte d'une adénine ou d'une guanine par rupture spontanée de sa liaison avec le désoxyribose et dont le remplacement au hasard pourra introduire une mutation.

La **désamination** correspond à la conversion spontanée ou parfois induite de la fonction amine d'une base en une fonction cétone, et qui peut également entraîner l'apparition d'une mutation.

Ce processus ne va concerner que l'adénine, la guanine, la cytosine et la cytosine lorsqu'elle est sous forme méthylée, la thymine ne possédant pas de fonction amine. ++

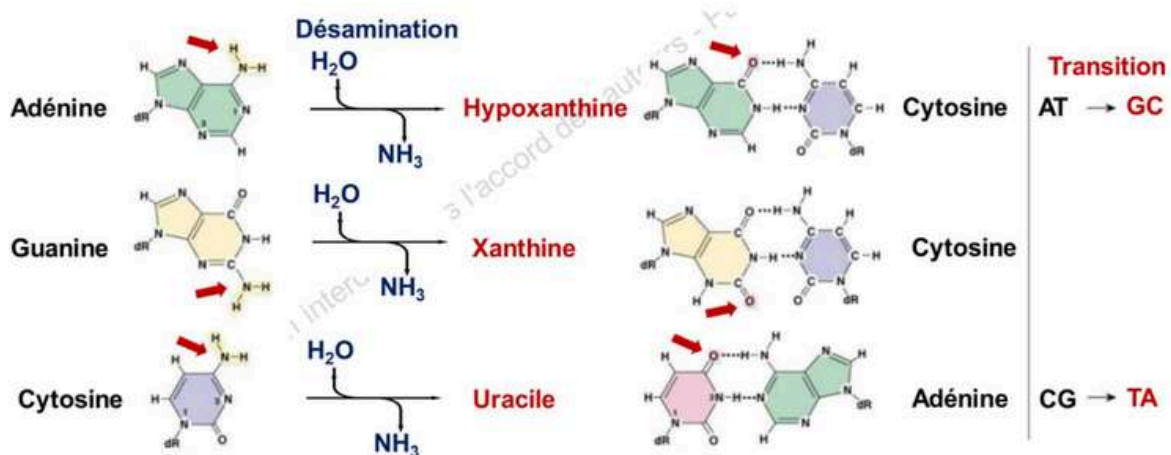
Ainsi, la désamination de **l'adénine** va former **l'hypoxanthine**, celle de la **guanine** va former la **xanthine** et celle de la **cytosine** va former **l'uracile**.

Lors de la réplication des bases ainsi désaminées, les nouvelles possibilités d'appariement entraînent la formation de paires de bases anormales, responsables **après réplication de l'apparition de mutations**.

Ainsi, l'appariement entre hypoxanthine et cytosine va entraîner la conversion d'une paire de bases AT en une paire de bases GC.

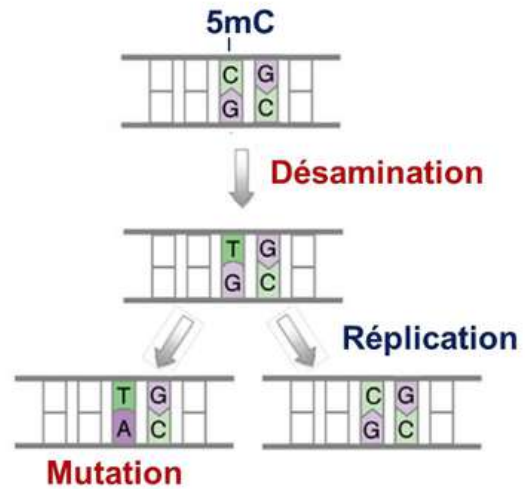
L'appariement de l'uracile avec l'adénine va entraîner la conversion d'une paire de bases CG en une paire de bases TA.

L'appariement de la xanthine et de la cytosine n'entraînera aucune apparition de mutation.



Le génome contient par ailleurs des **dinucléotides CG**, dont la cytosine peut être méthylée et désaminée, ce qui entraîne alors sa **conversion en thymine**.

Dans ce cas, la réplication de cette thymine produira une paire de bases **TA** et entraînera la **disparition définitive du dinucléotide de départ**.



En revanche, les **dinucléotides** des **régions non transcrites** contiennent fréquemment une cytosine méthylée dont la désamination entraîne progressivement leur **disparition**.

Ces différences de méthylation expliquent l'**abondance** relative des dinucléotides CG à **proximité des gènes** et leur rareté dans les régions non codantes, liée à leur disparition sélective dans ces régions.

Région codante

CATTCGGCCTTCTCTCCGGAGGTGGGGCTGGGA
 GGTGTTTTGCTGGTTCGTGAAGAATAGGCCAGG
 CAGCTTCCGGGATGCTCATCCCTCTGG
 GGTTCCCTCCACGGGCCTTGCAGTT
 CCGCCTGAGATGTTTTGACGACAATGATTC
 CACTCTGGCCCTCCCATGTTGATCCAGCTCCT
 CTGGGTCAGGACCCCTGGGCCCCCG
 CTCCACTCAGTCAATCTTTGTCCCATAAAGG
 GATTATGGGTGGCTGGGGGGCTGATTCAG
 AATGCCCTTGGGGGTCACCAGGAGGGAACTC
 GGCTCGCTTTGGCCAGCCCAACCCTGGT
 TGAGCGCCAGGGCCACCAGGGGGCTCG
 ATGTTCTGCAGCCCCCGCAGCAGCCCACTCC
 CGGCTCACCCCTAATTGGCTGGCCCCAG
 CTCTGTGCTGTGATTGGTCACAGCCGTGTCGT
 GCGGGCGGGGATAGGTGAAGCCCA
 GAGGCCAGCTGGGGTGTCCCGCGG
 ACTGGGAGTTCAGGGCCAAAG
 GGGCAGTGTGAGCAGGTCCTGGGAGGC
 CCGCCCGCTGAGCAGCTCCCCTCTCCCA
 GCCTCACCGCGCTCCCGCCCTGGCC
 TCCCACTCCCACTCCTGTCCCGCCAC
 CCCACCTCCACCTATGGTGCCTGGCTGC
 TGCTGATGGGGCTGGAGCGCCCTGGG
 CTGGCGCTGCTGCTGCTGAGGTGGT
 GTGCCCGCCCCCGCCCGCCCG
 GCTCCTGTTGACCAGTCCCTGTCTGC
 AGGGGCTGAGGTAAGGGGGGGCTGGC
 GTTGGCCCGGTGGGTTGGGGAGGG
 GGCCTTCCCGGGAGGAGCGCGCCGG
 GGTCGGGGTCTGAGGGGA

Région non codante

CTCTTAGTTTTGGGTGCATTTGTCTGGTCTTCCAAA
 CTAGATTGAAAGCTCTGAAAAAAAACCTATCTTGT
 GTTCTATCTGTTGAGCTCATAGTAGGTATCCAGGA
 AGTAGTAGGGTTGACTGCATTGATTTGGGACTACAC
 TGGGAGTTTTCTCCCATCTCCCTTTAGTTTTCTCT
 TTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTT
 TTGAGATGCTCTTGTCTCAGTCCCCAGGCTGGA
 GTGCAGTGGTGATCTTGGCTCACTGTAGCCTCC
 ACCTCCAGGTTCAAGCAATCTACTGCCTTAGCCT
 CCGAGTAGCTGGGATTACAAGCACCACCAT
 TCCTGGCTAATTTTTTTTTTTGTAITTTTAGTTGAGA
 CAGGGTTTACCAGTGTGGTGTGCTGGTCTCAGA
 CTCTGGGGCCTAGATCCCCCTGCCTCAGCCT
 CCCAGAGTGTTAGGATTACAGGCATGAGCCACTGT
 ACCCGCCTCTCTCCAGTTTCCAGTTGGAATCCAA
 GGAAGTAAGTTAAGATAAAGTTAATTTTGAAT
 CTTTGGATTGAGAAGAATTTGTACCTTTAACACCT
 AGAGTTGAAATTCATACCTGGAGGCCTTAACATT
 AAGCCCTAGCCAGCCTCCAGCAAGTGGACATTGGT
 CAGGTTTGGCAGGATTTCCTGAAAGTGGACT
 GAGAGCCACACCCTGGCCTGTCACCATACCCATCC
 CCTATCCTTAGTGAAGCAAACTCCTTTGTTCCCTT
 CTCTTCTCCTAGTGACAGGAAATTTGTATCCTA
 AAGAATGAAATAGCTTGTACCTTGGCCTCAG
 GCCTCTGACTTCAGGTTCTGTTTAATCAAGT
 GACATCTTCCAGGCTCCCTGAATGTGGCAGATG
 AAAGAGACTAGTTCAACCCTGACCTGAGGGGAAAG
 CCTTTGTGAAGGTCAGGAG



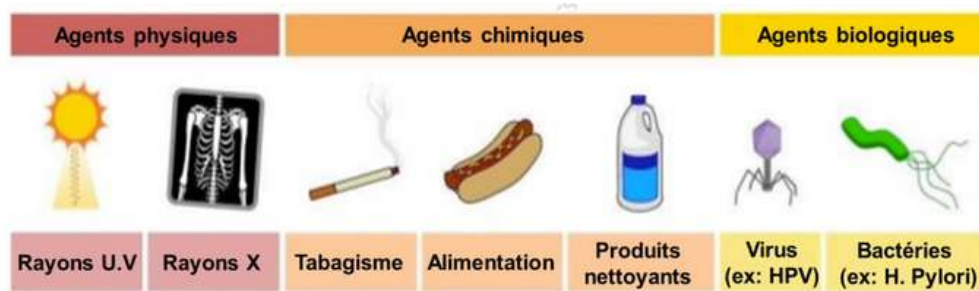
D'autres mutations sont induites par **l'exposition à des agents mutagènes**.

Certains de ces mutagènes vont exercer leur effet par le biais des **dommages de l'ADN** qu'ils provoquent, et d'autres induire **directement l'apparition des mutations**.

Ces mutagènes peuvent être d'origine **physique**, comme par exemple les **rayons ultraviolets**, les **rayons X** utilisés en **imagerie médicale** ou les **radiations** utilisées en radiothérapie.

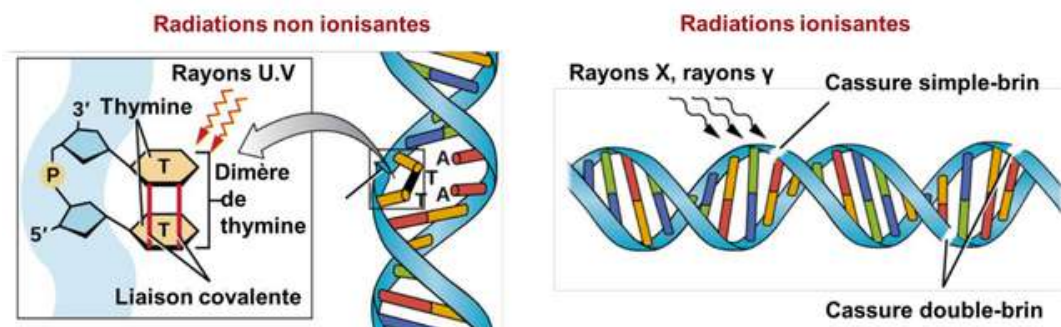
D'autres encore sont d'origine **chimique**, issus par exemple du **tabagisme**, d'agents conservateurs alimentaires comme les **nitrites** ou les **nitrites**, de la **cuisson** des aliments notamment au barbecue, ou de produits de nettoyage ou cosmétiques.

D'autres, enfin, sont d'origine **biologique**, comme les **papillomavirus** qui favorisent le cancer du col de l'utérus, la bactérie **Helicobacter Pylori** qui favorise le cancer gastrique, ou les **transposons**.



Les **rayons ultraviolets** exercent leur effet mutagène en induisant la formation de **dimère** entre thymine adjacentes de l'ADN, **ralentissant** ainsi la polymérase et **favorisant les erreurs de réplication**.

Les radiations plus énergétiques comme les **rayons X**, les rayons **gamma** ou les rayons **cosmiques** vont exercer leur effet **mutagène** en induisant des **cassures** simple-brin ou double-brin de l'ADN.



Il existe de nombreuses classes d'agents mutagènes chimiques, comme les **analogues de bases**, les **agents alkylants**, **intercalants** ou **favorisant la désamination** des bases et les radicaux libres.

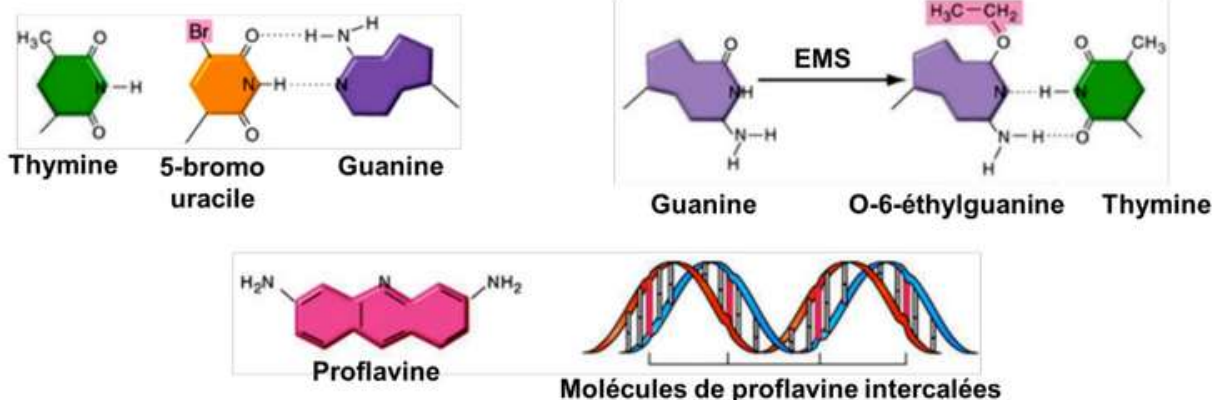
Les **analogues de base** sont des composés dont la structure chimique est similaire aux bases de l'ADN avec lesquelles ils entrent en **compétition lors de la réplication**, la polymérase ne pouvant les différencier.

La **5-bromouracile** est par exemple un analogue de la **thymine** qui peut être introduit à sa place lors de la réplication et qui s'appariera ensuite lors de la réplication suivante à la guanine, induisant ainsi une **transition** d'une paire de bases **TA** vers une paire de bases **CG**.

Les **agents alkylants** comme **l'éthylméthanesulfonate** ou EMS modifient les bases et leurs propriétés d'appariement en leur ajoutant des **groupements alkyle** tels que des groupes méthyle ou éthyle.

Ainsi, **l'alkylation** de la **guanine** par **l'éthylméthanesulfonate** va produire la **O-6-éthylguanine** qui peut alors **s'apparier** avec la **thymine**.

Enfin, les **agents intercalants** comme la **proflavine** ou le **bromure d'éthidium** sont des **mutagènes** qui s'insèrent dans l'ADN entre les paires de bases et peuvent entraîner des **insertions** ou des **délétions** de paires de bases.



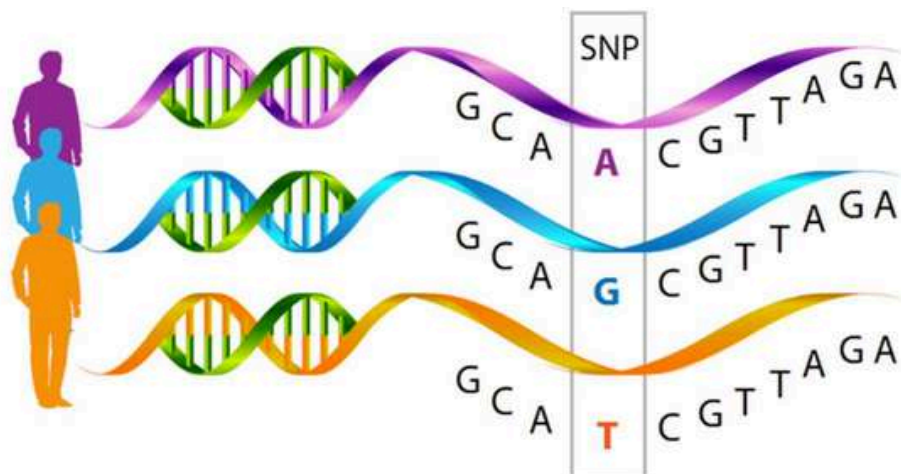
Les divers dommages induits par ces agents - remplacement ou modification de base, pontage entre brins de l'ADN, cassure de l'ADN - seront pris en charge par des **systèmes de réparation spécifiques**.

Concernant maintenant les conséquences des mutations, il faut bien comprendre que celles-ci sont variables. Parmi les différents types de variants nucléotidiques que l'on peut observer, **certaines n'ont aucune conséquence**.

Cette absence de conséquence d'un variant allélique fait parler de **polymorphisme**, ou encore **d'allèle polymorphe**, c'est à dire de variant existant de façon normale sous différentes formes dans la population générale.

On considère généralement qu'un variant est un **polymorphisme** lorsque sa fréquence dans la population est **supérieure à 6%** et qu'il peut s'agir d'une **mutation** si sa fréquence est **inférieure à 1%**.

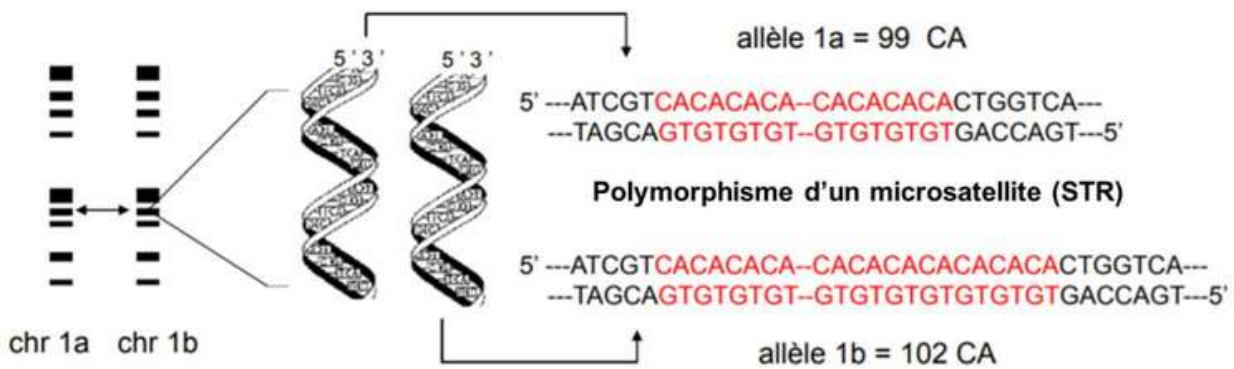
On va distinguer différents types de polymorphismes selon la structure du variant en question. Les variations de séquence ponctuelles entre individus sont désignées par l'abréviation **SNP** pour *Single Nucleotide Polymorphism* et sont présentes à une fréquence d'environ 1 tous les deux à trois mille nucléotides.



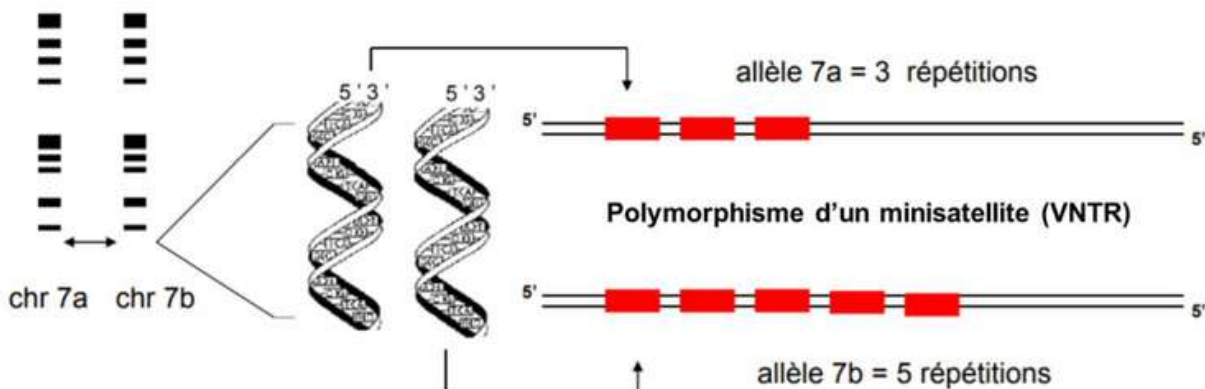
Un polymorphisme peut également être constitué par une variation du **nombre de répétitions** des séquences répétées en tandem comme les minisatellites ou les microsatellites, ou encore par une variation du nombre de copies d'un gène dans le génome.

Les microsatellites sont nombreux dans le génome humain et les variations du nombre de répétitions de leur motif sont appelés **STR** pour Short Tandem Repeat.

Dans l'exemple ci-dessous, au niveau d'un site polymorphe, un individu peut par exemple posséder la répétition du motif CA 99 fois sur un chromosome et la répétition de ce même motif 102 fois sur son autre chromosome.



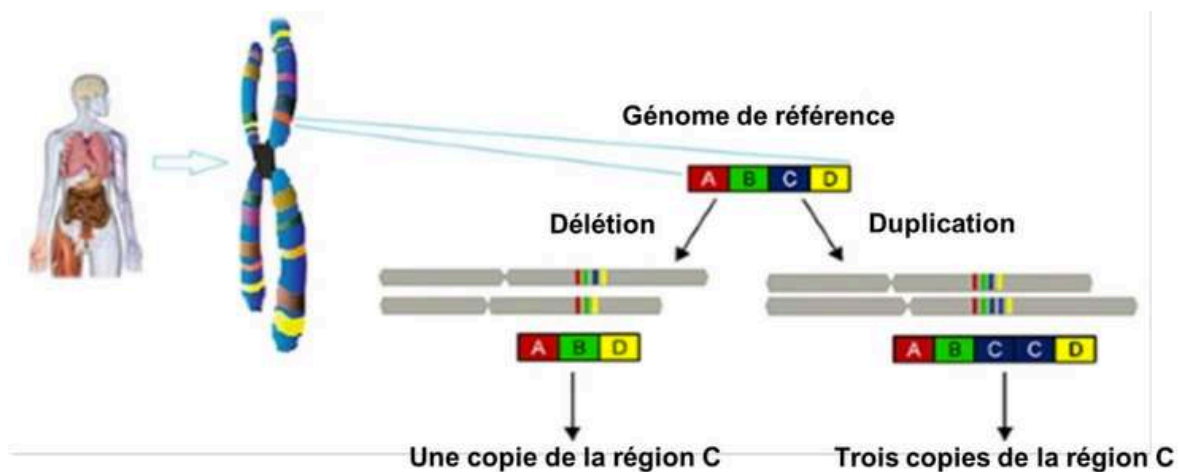
Les **minisatellites** sont concentrés quant à eux au niveau des **télomères** et les variations du nombre de répétitions de leur motif sont appelées **VNTR** pour Variable Number of Tandem Repeat. Au niveau d'un autre site polymorphe, un individu peut posséder la répétition du motif répété 3 fois sur un chromosome et la répétition du même motif 5 fois sur son autre chromosome.



Enfin, **les variations du nombre de copies** d'un gène ou d'une région chromosomique sont appelées **CNV** pour Copy Number Variation et ont pour origine des événements de délétion ou de duplication.

Dans l'exemple ci-dessous, le génome de référence contient quatre régions appelées A, B, C et D. Un événement de délétion sur un chromosome pourra aboutir chez un individu à la présence de la région C en une seule copie.

À l'inverse, chez un autre individu, la duplication de la région C pourra aboutir à la présence de trois copies de cette région.



La combinaison variable des différents polymorphismes entre individus constitue un moyen **unique d'identification** appelé **empreintes génétiques** et est utilisée en génétique médicale ou en médecine légale.

Sur la figure ci-dessous sont représentées les variations du nombre de répétitions de séquences répétées en tandem qui existent chez deux individus au niveau de deux sites polymorphes.

Au niveau du premier site, l'individu A possède sur un chromosome 4 répétitions et sur l'autre chromosome 6 répétitions. L'individu B possède quant à lui, au niveau du même site, sur un chromosome, 2 répétitions et sur l'autre chromosome, 3 répétitions.

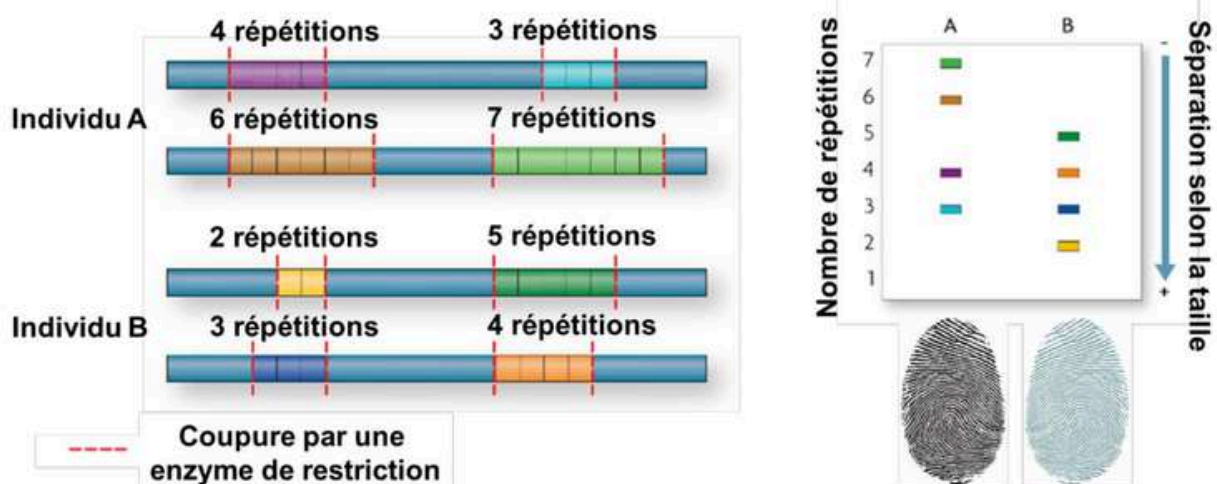
Au niveau du second site, l'individu A possède sur un chromosome 3 répétitions et sur l'autre chromosome 7 répétitions. L'individu B, quant à lui, possède au niveau de ce deuxième site sur un chromosome, 5 répétitions, et sur l'autre chromosome, 4 répétitions.

Les différences du nombre de répétitions de séquences répétées peuvent par exemple être mises en évidence par coupure de l'ADN au niveau de **séquences encadrant les sites polymorphes**.

Après coupure de l'ADN, les variations du nombre de répétitions se traduiront par des différences de longueur des fragments obtenus qu'on pourra ensuite séparer selon leur taille et visualiser.

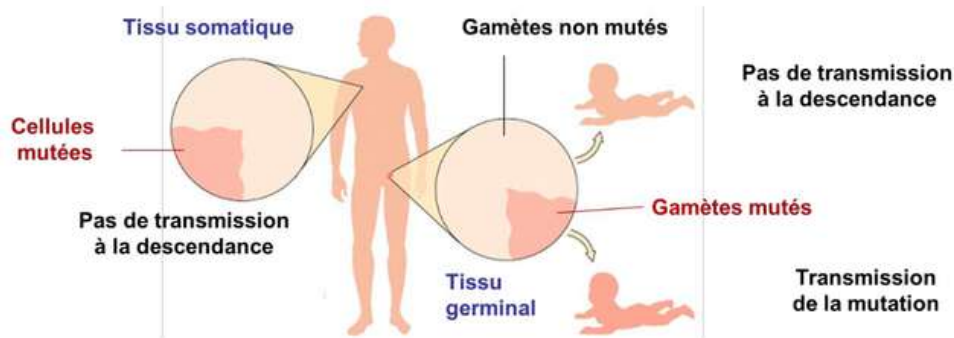
Lorsque des différences de longueur peuvent être mises en évidence par **digestion** de l'ADN à l'aide d'enzymes de restriction, on parle de polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou **RFLP**.

Dans l'exemple ci-dessous, le profil obtenu après digestion de l'ADN permet de distinguer de façon non ambiguë les deux individus.



Une mutation pourra par ailleurs être **transmise ou non à la descendance**.

Une mutation **somatique** n'affectera que l'individu qui en est porteur, entraînant éventuellement le développement d'un **cancer**, alors qu'une mutation **germinale** sera **transmise** à la descendance si un gamète muté participe à la fécondation.



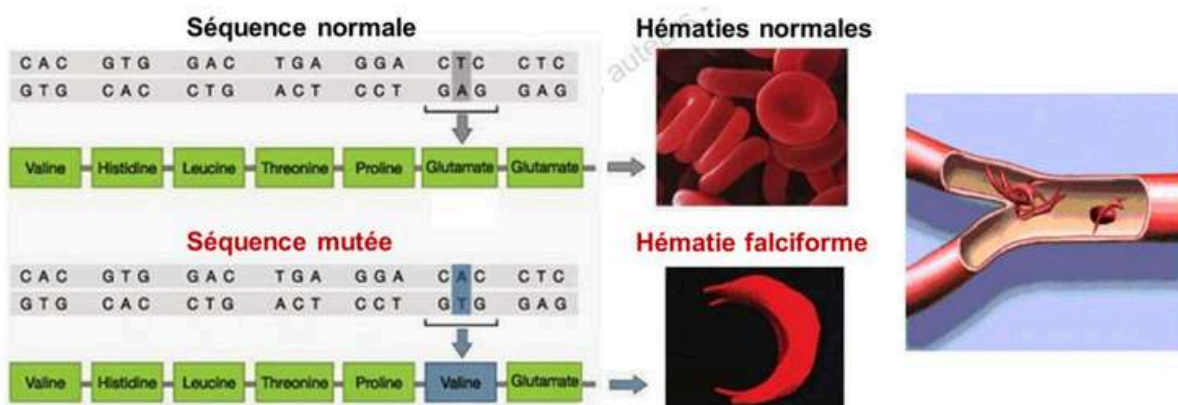
Pendant, une mutation peut être **délétère** pour l'individu ou parfois **bénéfique**.

La **drépanocytose** est la plus **fréquente** des maladies héréditaires et illustre bien cette variabilité des conséquences fonctionnelles des mutations.

Elle est liée à la présence d'une **mutation faux sens** du gène de la bêta-globine constituant l'hémoglobine, mutation qui remplace un résidu glutamate de la globine par une valine.

A l'état **homozygote**, cette mutation est responsable de la **polymérisation** de **l'hémoglobine**, donnant aux **hématies** une forme de **faucille** et entraîne une **diminution de leur durée de vie**, raison pour laquelle on appelle aussi cette pathologie anémie **falciforme**.

La **perte de déformabilité** de ces hématies entraîne leur **blocage** dans les capillaires et est notamment responsable d'accidents occlusifs et d'infarctus pouvant toucher tous les organes.



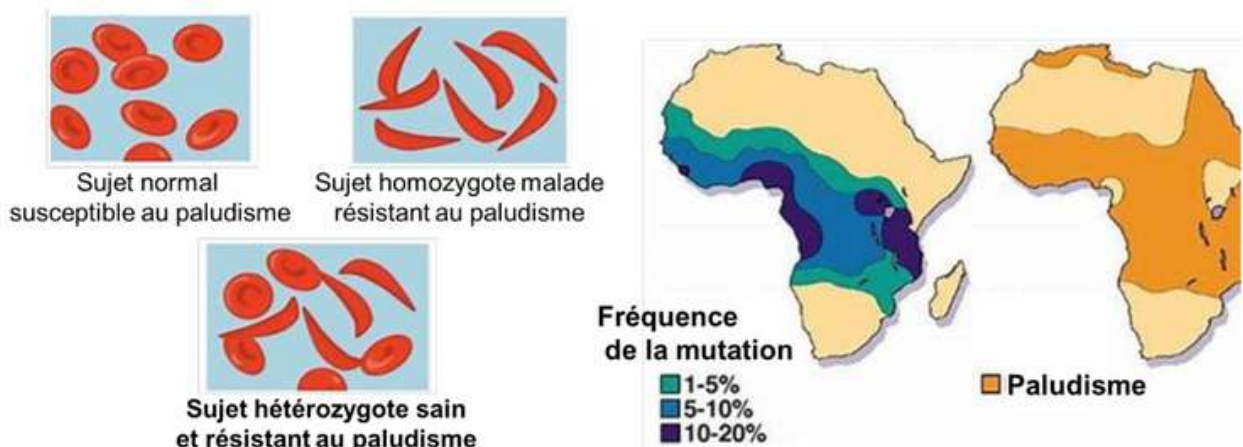
La mutation peut en revanche avoir un effet **bénéfique** protecteur contre le paludisme chez les sujets qui la portent à l'état hétérozygote ou homozygote.

En effet, les sujets normaux sont sensibles au paludisme, les sujets **homozygotes** malades sont **résistants** au paludisme et les sujets **hétérozygotes** sont à la fois **sains** et **résistants** au paludisme.

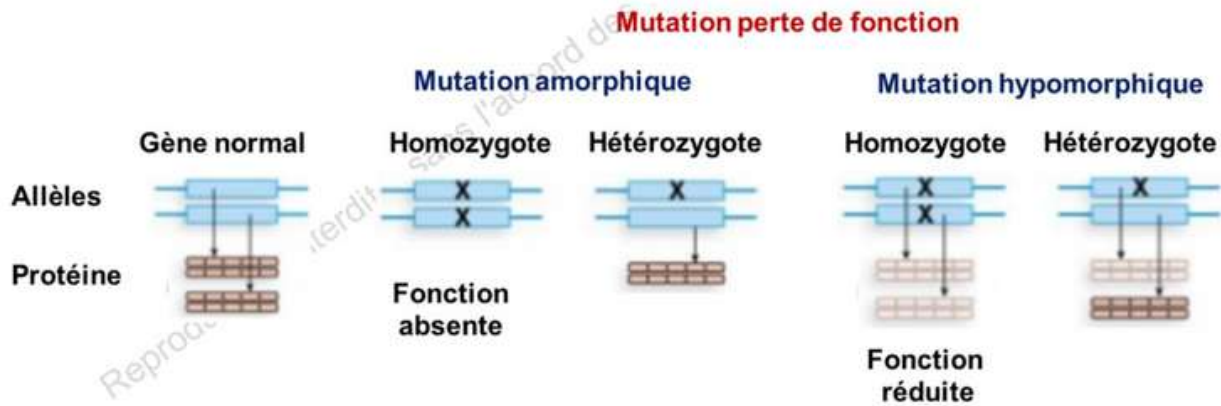
En effet, cette mutation, qu'elle soit à l'état hétéro- ou homozygote, réduit la durée de vie des globules rouges, ce qui perturbe le cycle de reproduction du parasite responsable du **paludisme**, celui-ci infectant les hématies pour se reproduire.

Au cours de l'évolution, le fait d'être hétérozygote a constitué un avantage sélectif permettant aux individus porteurs de survivre plus facilement dans les zones où le paludisme sévit le plus.

Ceci explique pourquoi la mutation est aussi **fréquente dans les zones où le paludisme sévit** de façon endémique.

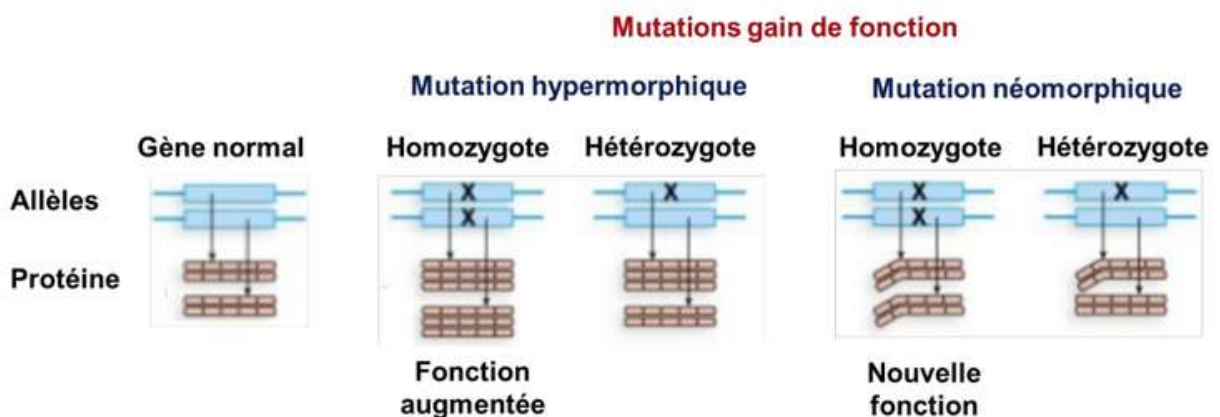


Les mutations peuvent être **classées** selon leur effet sur la fonction d'un gène et de sa protéine. Les mutations qu'on appelle **mutation perte de fonction** aboutissent soit à la formation d'une **protéine de fonction absente** - on parle de mutation **amorphique** - soit à une protéine de **fonction réduite** - on parle alors de **mutation hypomorphique**.



Ces mutations correspondent généralement à des **mutations récessives**, l'allèle restant compensant la perte de fonction, sauf s'il est insuffisant ou s'il est absent.

Les mutations dites gain de fonction vont quant à elles aboutir à la formation d'une protéine ayant soit une **fonction augmentée** - on parle alors de mutation **hypermorphique** - soit ayant une fonction **anormale** - et on parlera de mutation **néomorphique**.



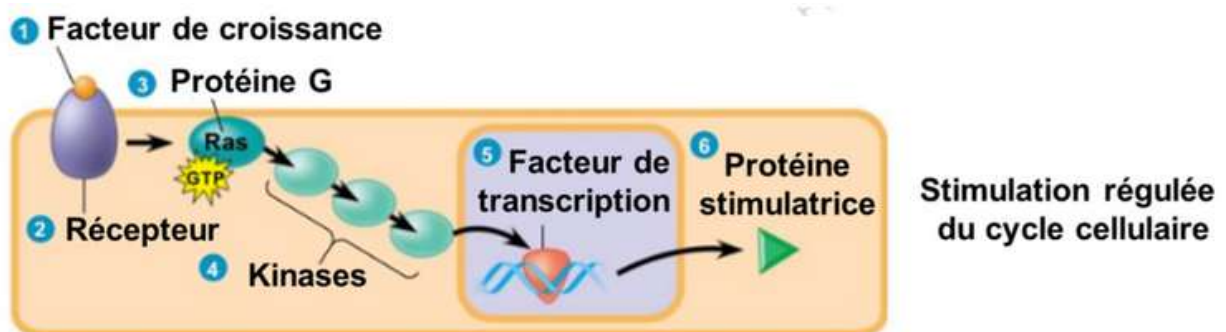
Ces mutations correspondent généralement à des mutations **dominantes**.

Le **cancer** est une pathologie liée à la fois à **l'accumulation à l'état hétérozygote de mutations dominantes gain de fonction** et à **l'accumulation à l'état homozygote de mutations récessives perte de fonction**.

Les mutations **gain de fonction** vont affecter des gènes codant pour des protéines stimulant la **prolifération cellulaire**, protéines auxquelles elles vont conférer une **augmentation de fonction** ou une fonction nouvelle.

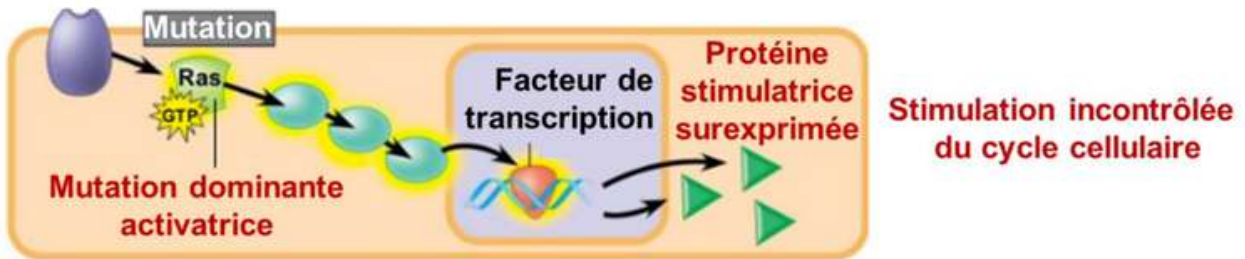
Les mutations **perte de fonction** vont affecter des gènes codant pour des protéines **inhibant** la prolifération cellulaire, protéines auxquelles elles vont conférer une **fonction diminuée ou absente**.

La stimulation normale du cycle cellulaire dépend de la liaison d'un **facteur de croissance** à son récepteur, liaison qui active une cascade de signalisation aboutissant à la transcription d'une protéine stimulant le cycle cellulaire.

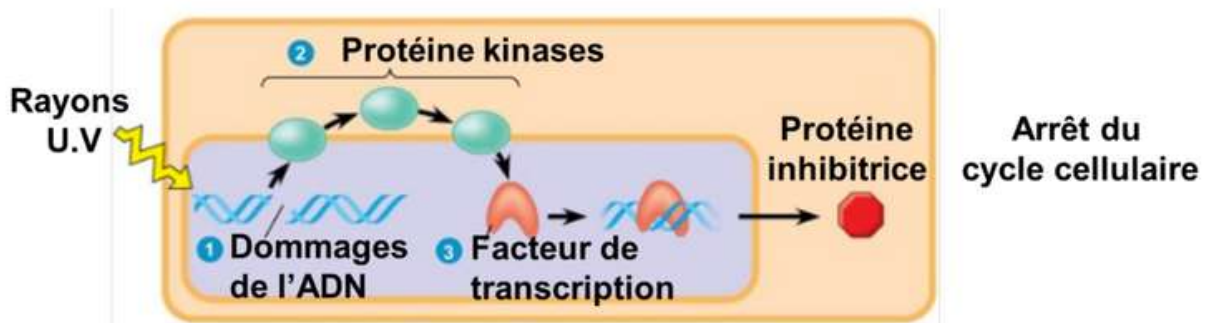


Ainsi, une stimulation régulée du cycle cellulaire dépend de l'activation d'une cascade de signalisation par un facteur de croissance.

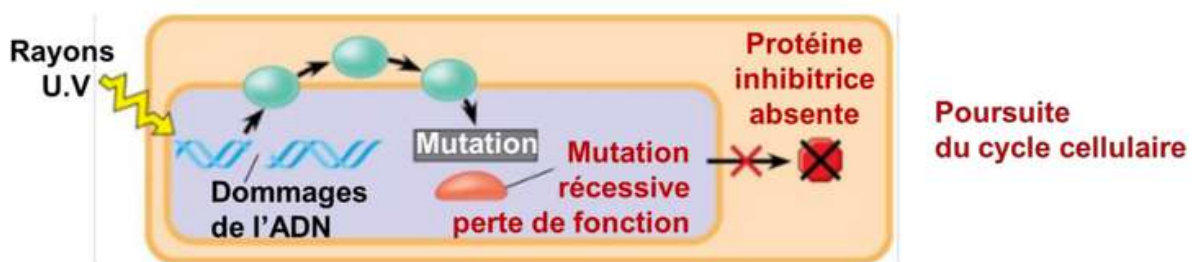
Une **mutation dominante** activant par exemple la **protéine Ras** en l'absence de facteur de croissance, entraînera l'activation incontrôlée du cycle cellulaire par surexpression de la protéine stimulatrice.



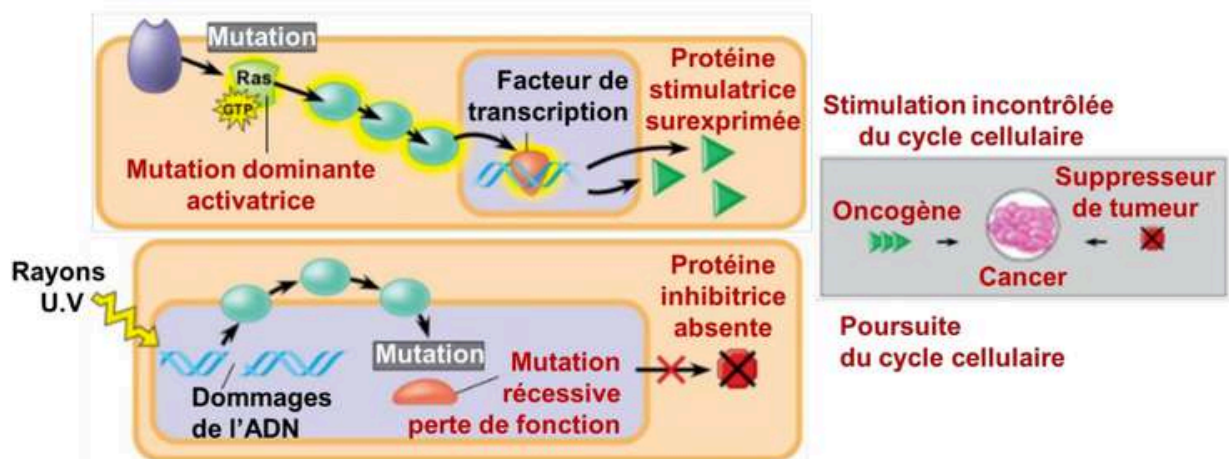
De même, en cas de dommages de l'ADN, certains facteurs de transcription comme la protéine **p53** assurent la production de protéines inhibitrices stoppant le cellulaire pour permettre la réparation des lésions.



Une mutation récessive perte de fonction à l'état homozygote inactivant la protéine p53 empêchera la synthèse de protéines inhibitrices et entraînera la poursuite du cycle cellulaire malgré les dommages de l'ADN.



En définitive, la **cancérogenèse est un processus multi-étapes** dépendant de la conjonction de l'activation de proto- oncogènes - les versions normales des oncogènes - et de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.



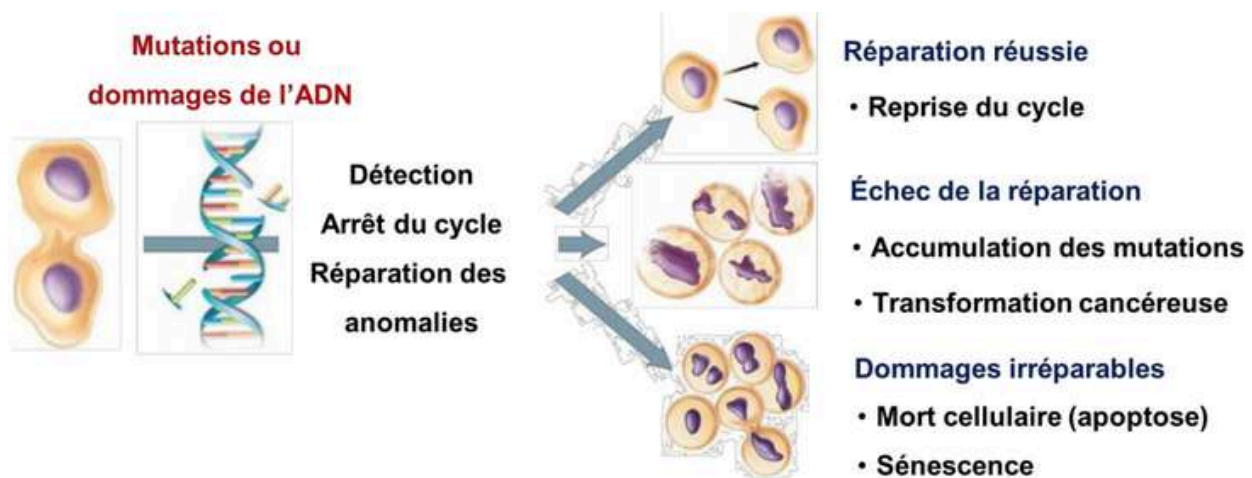
Pour éviter l'apparition de mutations délétères, il existe différents **systèmes de maintenance** du génome et de réparation de l'ADN. Ces systèmes vont permettre de **minimiser** l'apparition et l'accumulation des mutations.

En plus des mécanismes de correction immédiate des **erreurs de réplication**, d'autres mécanismes liés au cycle cellulaire vont assurer le **contrôle de l'intégrité du génome**.

Cette intégrité va dépendre de systèmes de **détection** des mutations ou des dommages de l'ADN, qui vont ensuite activer des systèmes d'interruption du cycle cellulaire et des systèmes de réparation des anomalies.

Si la réparation réussit, la cellule reprendra le cycle cellulaire et si elle échoue et que les dommages autorisent sa survie, elle accumulera des mutations favorisant sa transformation cancéreuse.

Enfin, si la réparation échoue et que les dommages sont incompatibles avec sa survie, elle déclenchera un programme de **mort cellulaire par apoptose** ou entrera en **sénescence**.



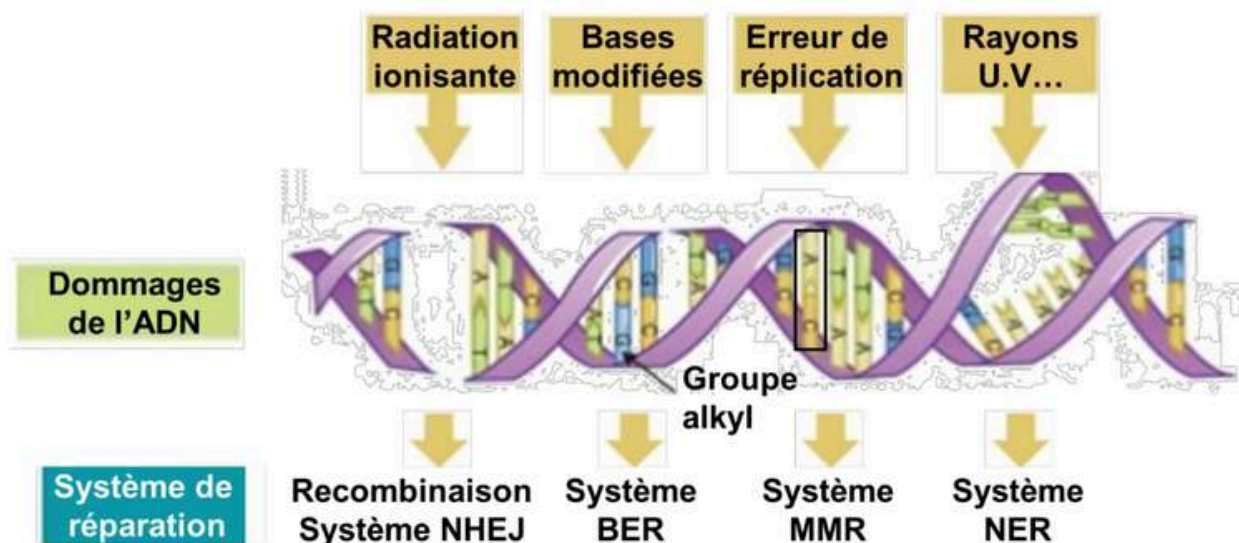
Les différents types de dommages de l'ADN que nous avons évoqué sont pris en charge chacun par un système de réparation spécifique.

Le système de réparation par **excision de base** (Base Excision Repair, BER) va prendre en charge les anomalies **ne modifiant pas la structure de l'ADN**, comme par exemple les bases modifiées par désamination ou par alkylation.

Le système de réparation des **mésappariements** liés aux mutations (Mutation Mismatch Repair, MMR) va prendre en charge notamment les mutations qui sont **induites par les erreurs de réplication**.

Le système de réparation par **excision de nucléotide** (Nucleotide Excision Repair, NER) va prendre en charge les **pontages** entre brins qui **modifient la structure de l'ADN** comme par exemple les dimères de thymine qui sont induits par les rayons U.V.

Enfin, les **cassures double-brin de l'ADN** vont faire intervenir soit la **recombinaison homologue**, soit le système de **réparation non homologue par ligation des extrémités** qu'on appelle Non Homologous End Joining (**NHEJ**).



Les systèmes **BER**, **MMR** et **NER** ont en commun de réparer les lésions de l'ADN en agissant sur **un seul brin**, chacun utilisant des mécanismes différents pour réparer des anomalies différentes.

Le système **BER** permet de restaurer les sites abasiques créés par l'hydrolyse spontanée de bases ou de réparer les cassures simple-brin de l'ADN créés par les rayons X.

Le système **BER** peut aussi créer lui-même un site abasique pour supprimer une base anormale, formée par exemple par désamination, alkylation, dépurination ou oxydation de base.

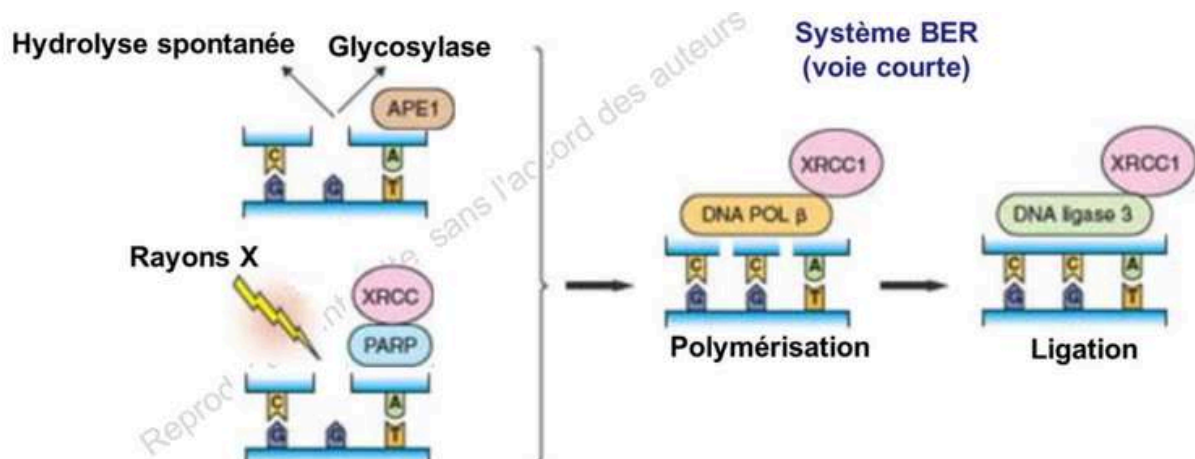
Dans ce cas, il utilise au préalable une glycosylase spécifique de cette base modifiée qui la bascule hors de l'hélice et la supprime, formant ainsi le site abasique.

Le site abasique, créé par hydrolyse spontanée ou par la glycosylase, est reconnu par une endonucléase APE1 qui supprime le sucre, formant elle-même une cassure simple-brin.

Les cassures simple-brin créées par les rayons X seront détectées par d'autres protéines comme la protéine XRCC (X-Ray Repair Cross-Complementing Protein) et la protéine PARP (Poly ADP-Ribose Polymerase).

Quelle que soit la lésion initiale et la voie impliquée, la réparation finale du brin fait intervenir une **ADN polymérase** et une **ligase** pour **réinsertion** et **ligation** du ou des nucléotides manquants.

La voie illustrée ici correspond à la voie **courte du système BER**, ce système possédant également une voie de réparation plus longue.



Le système **MMR** prend en charge les **mésappariements** formés par les erreurs de réplication et les **petites insertions ou délétions de nucléotides** qui surviennent notamment au niveau des microsatellites.

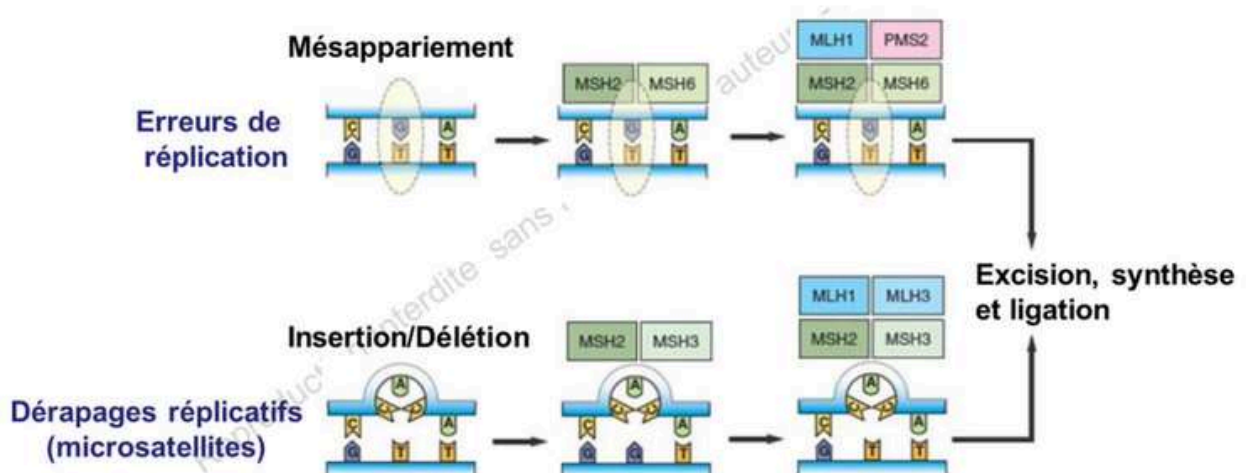
Ce système a été initialement décrit chez *Escherichia coli* où il est constitué des protéines **MutS**, **MutL** et **MutH** qui fonctionnent sous la forme de dimères. Chez les eucaryotes, le système s'est diversifié et spécialisé.

Il comprend des homologues de MutS (MSH2, MSH3, MSH6), de MutL (MLH1, MLH2, MLH3, PMS1 et PMS2), mais aucun homologue de MutH.

L'hétérodimère MSH2-MSH6, encore appelé MutS alpha, va reconnaître les substitutions, tandis que l'hétérodimère MSH2-MSH3, appelé aussi MutS bêta, va reconnaître les insertions et les délétions.

Le dimère MLH1-PMS2, appelé MutL alpha, va être recruté sur les substitutions, tandis que le dimère MLH1- MLH3, appelé MutL gamma, va être recruté sur les insertions ou délétions.

Ensuite, c'est un fragment d'environ 20 nucléotides contenant l'erreur qui va être excisé, puis il sera resynthétisé par une ADN polymérase en prenant l'autre brin comme modèle et enfin, une ligase restaurera la continuité du brin lésé.



L'inactivation de constituants du système MMR est responsable chez l'homme d'une **prédisposition héréditaire** au cancer appelé **syndrome de Lynch** ou encore syndrome **HNPCC** (Hereditary Non Polyposis Colon Cancer).

Ce syndrome est responsable d'un **défaut de réparation des erreurs de réplication** et d'une **instabilité des microsatellites** qui va prédisposer à l'apparition de diverses formes de **cancer**, dont le **cancer du côlon**.

L'augmentation du taux de mutation liée à l'inactivation du système va faciliter l'**apparition** de mutations activant des **proto-oncogènes** ou inactivant des suppresseurs de tumeur, faisant ainsi le lit du cancer.

Le système **NER** assure la réparation des lésions entraînant une **distorsion** de la double-hélice induite par les rayons UVB, comme les dimères de thymine, ou par d'autres agents mutagènes.

Il comprend une **voix active en permanence appelée GG-NER** (Global Genome NER) et une autre **activée spécifiquement** par des lésions qui bloquent la transcription et qui est appelée **TC-NER** (Transcription Coupled NER).

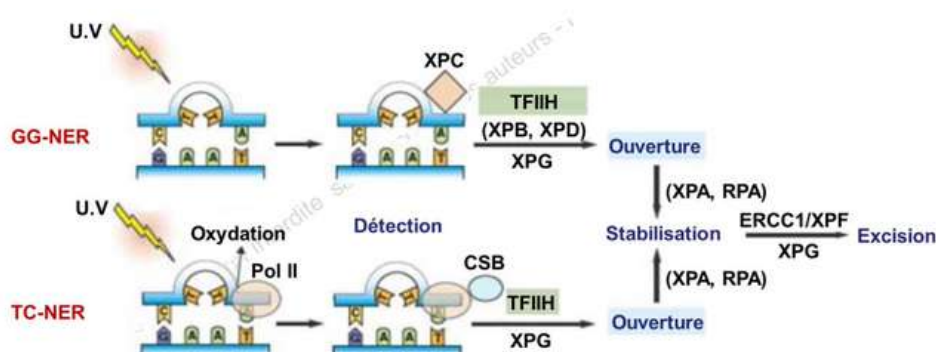
Les deux voies comprennent quatre étapes comprenant **détection** de l'anomalie, **ouverture** de la double hélice autour de la lésion, **incision** de l'ADN de part et d'autre, **resynthèse** de l'ADN et ligation.

Elles débutent respectivement par la reconnaissance de la lésion par la protéine appelée XPC (Xeroderma Pigmentosum C) ou par l'ARN polymérase associée à la protéine CSB (Cockayne Syndrome B).

Elles font ensuite intervenir le complexe formant le facteur de transcription TFIIF dont les sous unités XPB et XPD possèdent une activité hélicase, ainsi que l'endonucléase XPG.

Une fois l'hélice ouverte et les brins stabilisés par les protéines XPA et RPA, un court fragment contenant l'anomalie va être excisé de part et d'autre par les nucléases ERCC1/XPF et XPG.

La réparation va s'achever par la resynthèse d'un fragment d'ADN et sa ligation.



La maladie appelée **Xeroderma Pigmentosum** est liée à l'inactivation de la voie globale de ce système et est caractérisée par une **hypersensibilité aux rayons ultraviolets** favorisant l'apparition précoce de **cancers cutanés**.

La maladie appelée syndrome de **Cockayne** est liée à l'inactivation de la voie du système liée à la transcription et entraîne généralement un **décès précoce** des enfants qui sont atteints.

Défauts du système NER (Hypersensibilité aux U.V)

Xeroderma Pigmentosum



Syndrome de Cockayne



Les cassures double-brin de l'ADN représentent un danger sérieux pour l'intégrité du génome, dont la réaction cellulaire va être d'activer un point de contrôle (check-point) du cycle cellulaire.

En effet, ces cassures peuvent être responsables **d'anomalies cytogénétiques majeures**, comme des **translocations** chromosomiques, des **amplifications** ou des **délétions** chromosomiques.

Les cassures double-brin de l'ADN peuvent être comme on l'a vu induites par les radiations ionisantes, les agents oxydants ou survenir au niveau d'une fourche de réplication bloquée.

Ces cassures seront détectées par une cascade de protéines aboutissant soit à l'activation de la recombinaison homologue, soit à l'activation du système de ligation non homologue des extrémités chromosomiques (NHEJ).

L'**avantage** et le principe de la **recombinaison homologue** par rapport au système NHEJ va être d'utiliser en mitose l'**hélice d'ADN** de la chromatide sœur comme **matrice** pour la reconstruction intégrale du segment d'ADN endommagé.

La recombinaison va débuter par la **reconnaissance** de la lésion par le complexe **MRN** qui est formé des protéines Mre11 (Meiotic Recombination Protein 11), Rad50 (Radiation Sensitive 50) et NBS (Nijmegen Breakage Syndrome).

Des extrémités simple-brin 3'-sortantes vont ensuite être créées grâce à une activité 5'-3' exonucléasique et ces extrémités vont être recouvertes par les protéines RPA (Replication Protein A).

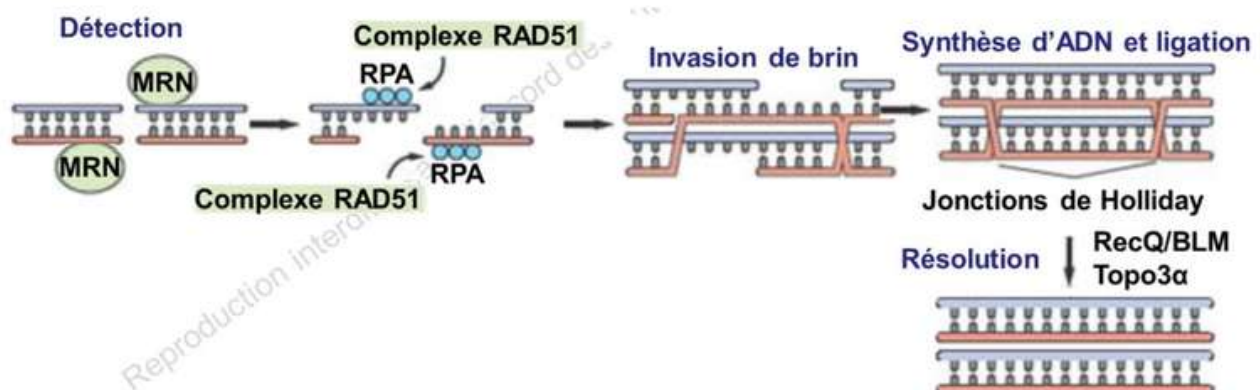
Les protéines BRCA2 (Breast Cancer 2) et Rad52 vont entraîner la formation d'un complexe comprenant Rad51 et qui va venir remplacer les protéines RPA sur les fragments d'ADN simple-brin.

Le complexe Rad51 va ensuite initier et guider un processus de recherche d'homologie entre brins et un brin de chaque duplex va envahir l'autre duplex pour s'apparier avec son brin complémentaire.

Une **polymérase va ensuite assurer la synthèse d'ADN** par complémentarité et permettre de restaurer les brins lésés à partir de leurs extrémités 3' puis une ligase va rejoindre leurs extrémités.

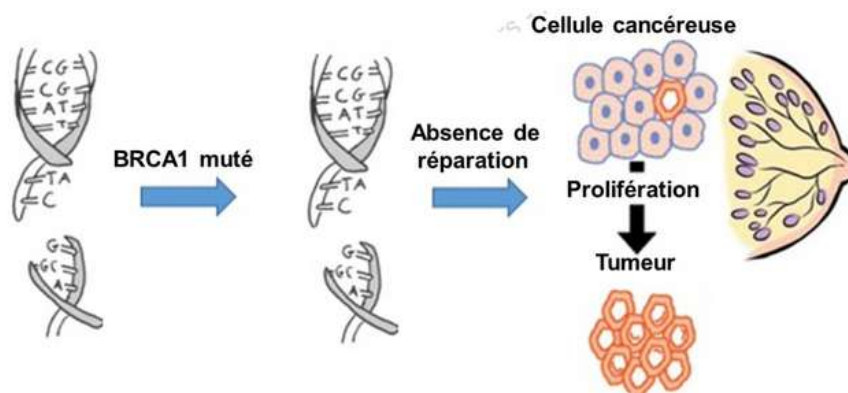
Au cours du processus, deux structures appelées **jonctions de Holliday** se sont formées au croisement des brins ayant envahi la chromatide homologue.

L'étape finale de la recombinaison, appelée **résolution des jonctions**, va permettre de **dénouer** ces d'intersections grâce à des **hélicases** comme RecQ et BLM (Bloom Syndrome), en conjonction avec la topoisomérase 3 alpha.

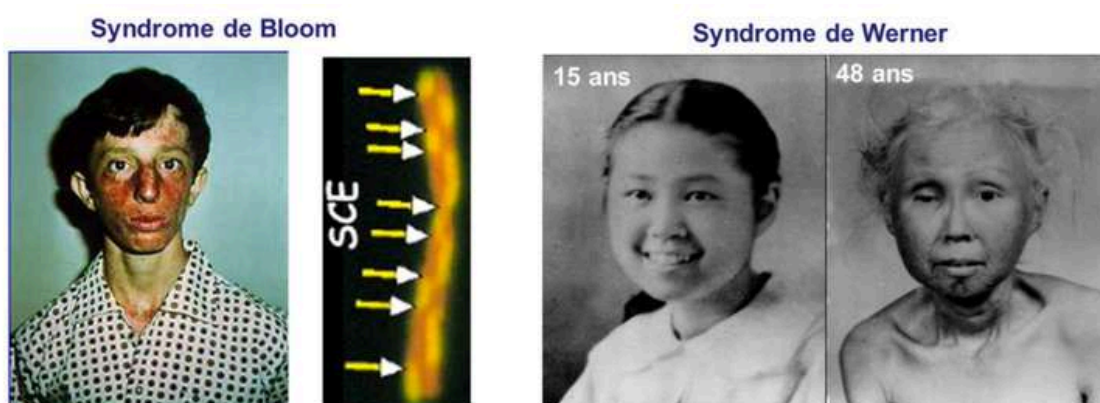


L'importance de la réparation par recombinaison homologue est illustrée par l'existence de syndromes de **prédisposition** au cancer ou au vieillissement qui sont liés à l'inactivation de protéines de ce système.

Le plus connu de ces syndromes est celui qui est lié à l'inactivation des protéines **BRCA1** et **BRCA2** et qui se traduit par une prédisposition héréditaire au développement précoce du cancer du sein et de l'ovaire.



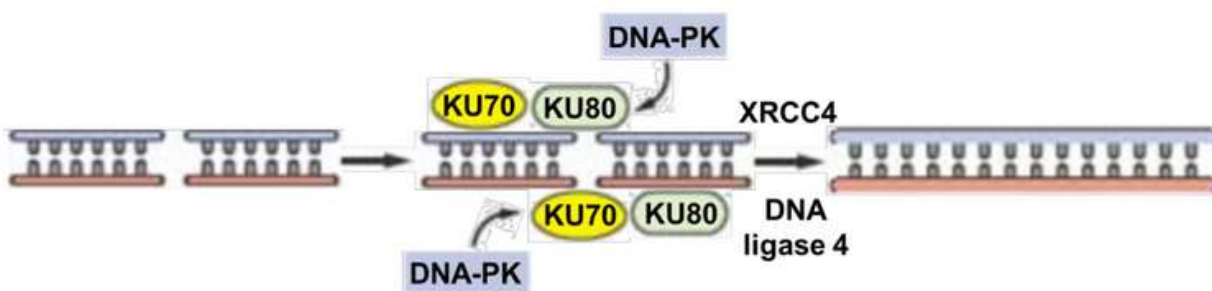
Enfin, l'inactivation des hélicases RecQ4 ou **BLM** se traduit par divers types de **cancers** et celle de **l'hélicase WRN** (Werner Syndrome) entraîne un **vieillissement accéléré** et l'apparition de pathologies associées à l'âge.



Le système **NHEJ** est un système de réparation **non fidèle** qui consiste simplement à rejoindre bout à bout les fragments formés par la cassure double-brin, sans tenir compte des éventuelles pertes de matériel génétique.

Les extrémités double-brin vont tout d'abord être reconnues par l'hétérodimère formé des protéines Ku70 et Ku80. Puis, la protéine kinase dépendante de l'ADN, appelée DNA-PK (DNA-Dependent Proteine Kinase), va être recrutée par ces hétérodimères.

Les extrémités de l'ADN vont enfin être directement reliées sans synthèse d'ADN après recrutement de la protéine XRCC4 (X-Ray Repair Cross-Complementing Protein 4) et de l'ADN ligase 4.



Conclusion :

En résumé, le type, la source et les conséquences des mutations sont variables. Certaines mutations sont **spontanées**, liées aux **erreurs de réplication**, aux **séquences répétées** du génome, à la **tautomérie** ou aux **modifications spontanées des bases**, et d'autres sont induites par des **mutagènes**.

Les mutations peuvent être **neutres**, **bénéfiques** ou **délétères**, être transmises ou non et être responsables d'une **perte** ou d'un **gain** de fonction d'une protéine.

Selon leur type et leur source, les mutations sont réparées par différents systèmes.

Les systèmes **BER**, **MMR** et **NER** assurent respectivement la réparation des **modifications spontanées des bases**, celle des **mésappariements** ou **insertions/délections** et celle de lésions induisant une **distorsion de l'ADN**.

La **recombinaison homologue** et le **système de ligation** des extrémités assurent respectivement de façon **fidèle** ou **incomplète** la réparation des cassures double-brin de l'ADN. ++

Et chez l'homme, **l'intégrité** du génome est **compromise** dans différents syndromes qui sont liés à l'inactivation de protéines de l'un des systèmes de réparation des mutations et des dommages de l'ADN.

