

# **Chapitre 3. Variabilité génétique et mutation de l'ADN**

Les mutations sont à l'origine de dysfonctionnements de l'organisme mais aussi de l'apparition d'une nouvelle biodiversité.

Ce chapitre a comme objectif de comprendre **les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de ces mutations mais aussi ceux qui permettent la limitation de leurs apparitions.**

# I.) Modifications spontanées ou provoquées de l'ADN [TP05]

## **Mutations :**

substitution

insertion (syn. ajout)

délétion (syn. perte)

# I.) Modifications spontanées ou provoquées de l'ADN [TP05]

Affichage des séquences

	1	10	20	30	40	50	60
betacod.adn	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAA						
betavar.adn	ATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAA						
drepcod.adn	ATGGTGCACCTGACTCCTGTGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAA						
tha1cod.adn	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCTAGGTGAACGTGGATGAA						
tha4cod.adn	ATGGTGCACCTGACTCCTGGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAAG						
tha7cod.adn	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGCTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGA						

Sélection : 6/6 lignes

# I.) Modifications spontanées ou provoquées de l'ADN [TP05]

## Mutations :

substitution

insertion (syn. ajout)

délétion (syn. perte)

Comparaison avec alignement

1 10 20 30 40 50 60

Alignement multiple de séquences d'ADN

Traitement	<	>	0	Alignement multiple de séquences d'ADN
Identités	<	>	0	*****
betacod.adn	<	>	0	ATGGTGAACCTGACTCCTGAGGAGAAG_TCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGA
betavar.adn	<	>	0	-----T-----
drepcod.adn	<	>	0	-----T-----
tha1cod.adn	<	>	0	-----T-----
tha4cod.adn	<	>	0	-----
tha7cod.adn	<	>	0	-----C-----

The screenshot shows a multiple sequence alignment of DNA sequences. The sequences are: betacod.adn, betavar.adn, drepcod.adn, tha1cod.adn, tha4cod.adn, and tha7cod.adn. The alignment is displayed with a scale from 1 to 60. Several mutations are circled in blue: a 'T' in betavar.adn at position 10, a 'T' in drepcod.adn at position 20, a '-' in tha4cod.adn at position 20, and a 'C' in tha7cod.adn at position 30.

# I.) Modifications spontanées ou provoquées de l'ADN [TP05]

Des **lésions** de l'ADN sont à l'origine des Mutations

Lors de la réplication, l'ADN polymérase peut réaliser une erreur d'appariement de façon spontanée → mutation si l'erreur n'est pas réparée.

L'ADN peut être endommagé avant la réplication, la réplication peut alors éventuellement entériner une erreur de ce fait...

L'origine de la lésion peut être endogène ou bien due à un élément exogène.

agent mutagène = augmente la fq des mutations par l'augmentation de la fréquence de lésions.

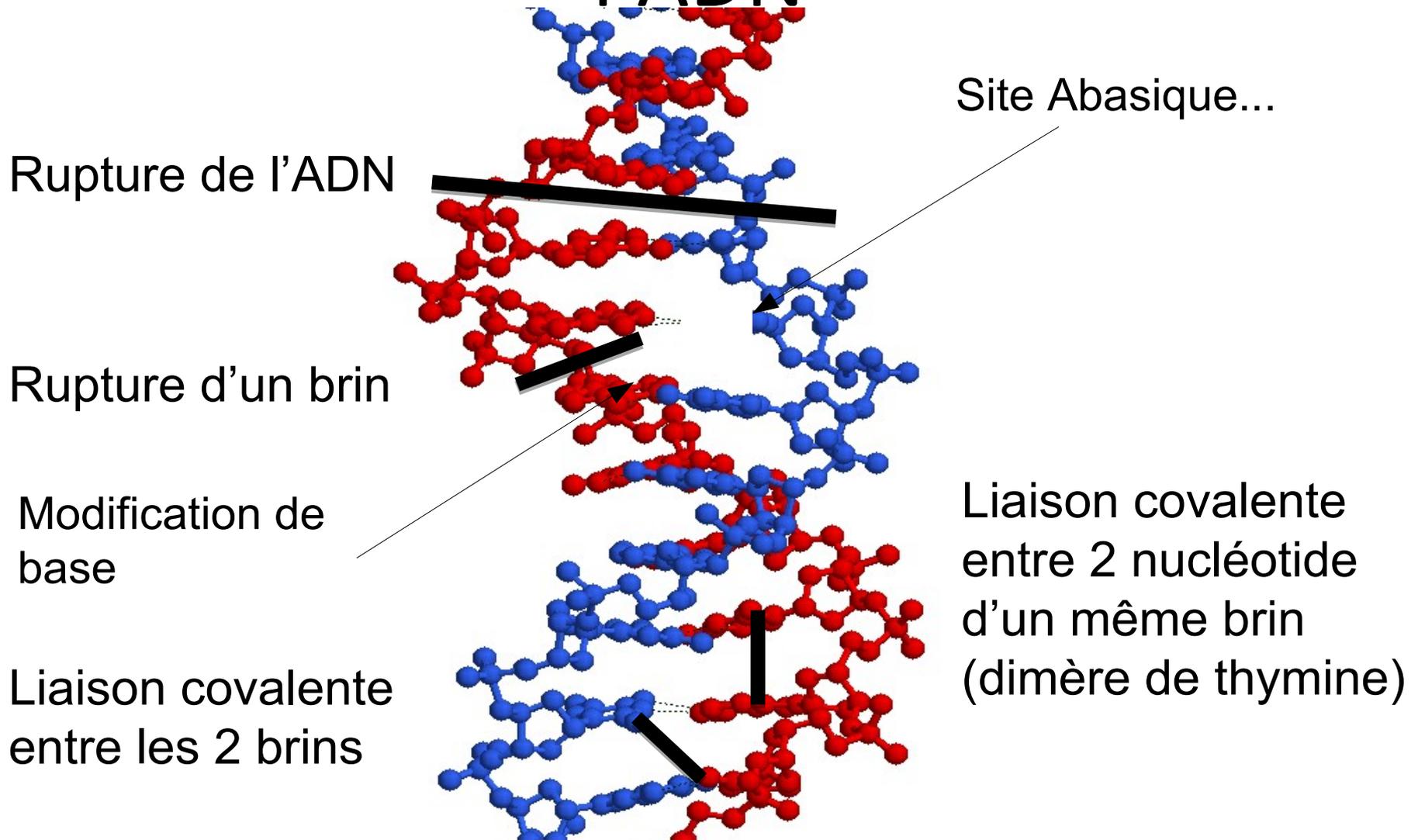
Principaux agents mutagènes :

Rayonnement, produits chimiques

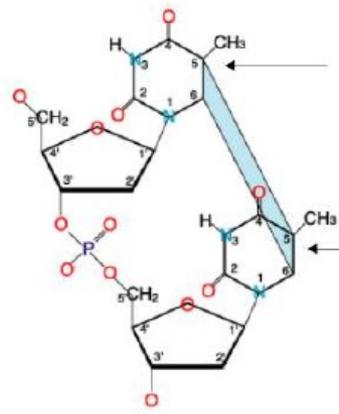
Espèce	Taille du génome (en kb)	Taux de mutation (par réplication d'un nucléotide)	Taux de mutation (par réplication du génome)
Virus	6,4	$7 \times 10^{-07}$	0,0045
Bactérie	4600	$5 \times 10^{-10}$	0,0023
ver	18 000	$10^{-09}$	0,02
souris	80 000	$6 \times 10^{-09}$	0,5
Espèce humaine	80 000	$3 \times 10^{-09}$	0,24

# Modifications provoquées de

## l'ADN



Toutes ces lésions n'engendrent pas forcément de mutations mais les processus de réparations qu'ils nécessitent peuvent en engendrer.

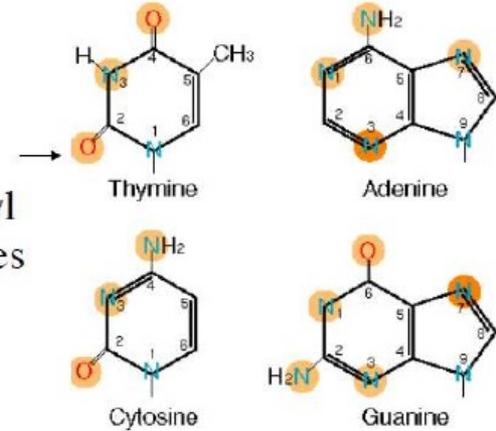


### Radiations UV (Soleil)

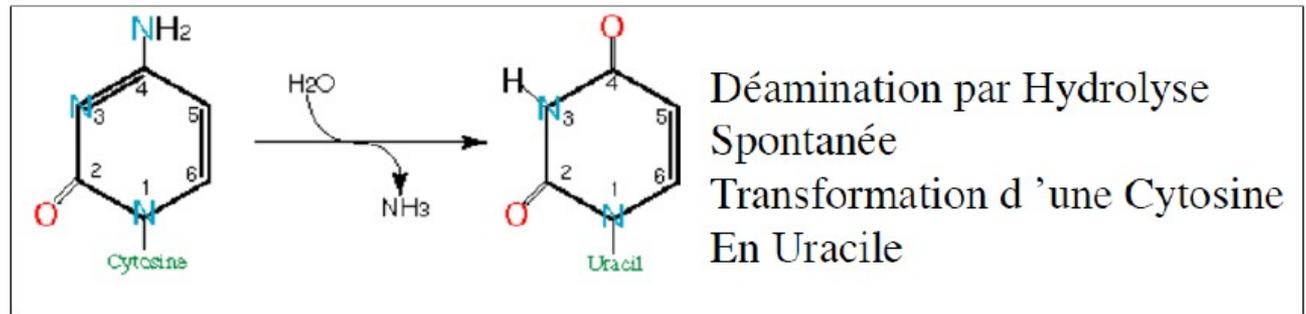
Les Irradiations Ultraviolet Induisent la Formation d'un Lien Covalent entre 2 Pyrimidines C ou T Adjacentes

### Modifications Chimiques

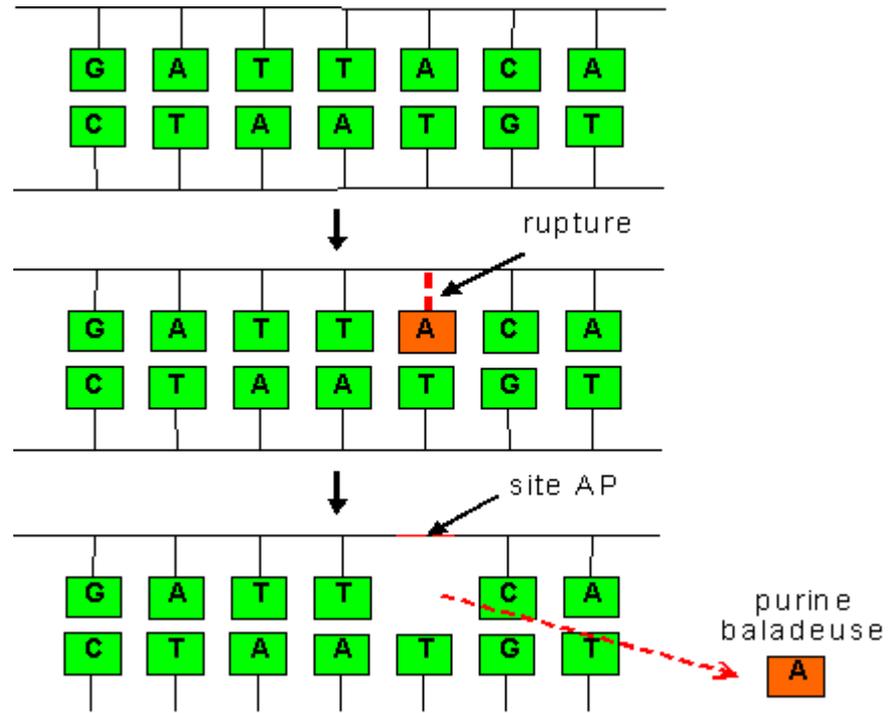
Ajout d'un Groupement Methyl Ou Alkyl sur des Sites Sensibles



<http://acces.ens-lyon.fr/biotic/genetic/mutation/html/mutation.htm>



Toutes ces lésions n'engendrent pas forcément de mutations mais les processus de réparations qu'ils nécessitent peuvent en engendrer.



<http://acces.ens-lyon.fr/biotic/genetic/mutation/html/mutation.htm>

Deux exemples de lésions qui peuvent engendrer ensuite une mutation lors de la réplication :

- Des altérations affectant les bases

Les bases de l'ADN sont l'objet d'altérations structurales spontanées appelées tautomérisations.

Chaque base peut exister sous deux formes : ainsi la guanine peut revêtir la forme « keto » ou la forme « enol ». Les différentes formes de tautomères ont des propriétés d'appariements différentes. Si durant la réplication, G est sous la forme « enol », la polymérase pourra positionner, en face, un T à la place d'un C parce que les modalités d'appariement ont changé (et ce n'est pas une erreur de la polymérase) . Le résultat est une transition du dinucléotide G-C en A-T.

- Un autre processus de mutagenèse est la dégradation spontanée d'une base. La désamination de C en U est fréquente. Elle peut être réparée par un processus qui détecte l'uracile. Dans le cas contraire, le U engendre en vis à vis l'insertion d'un A et entraîne une transition de G-C en T-A lors de la réplication.

## 2.) Nécessité de systèmes de contrôle et de réparation

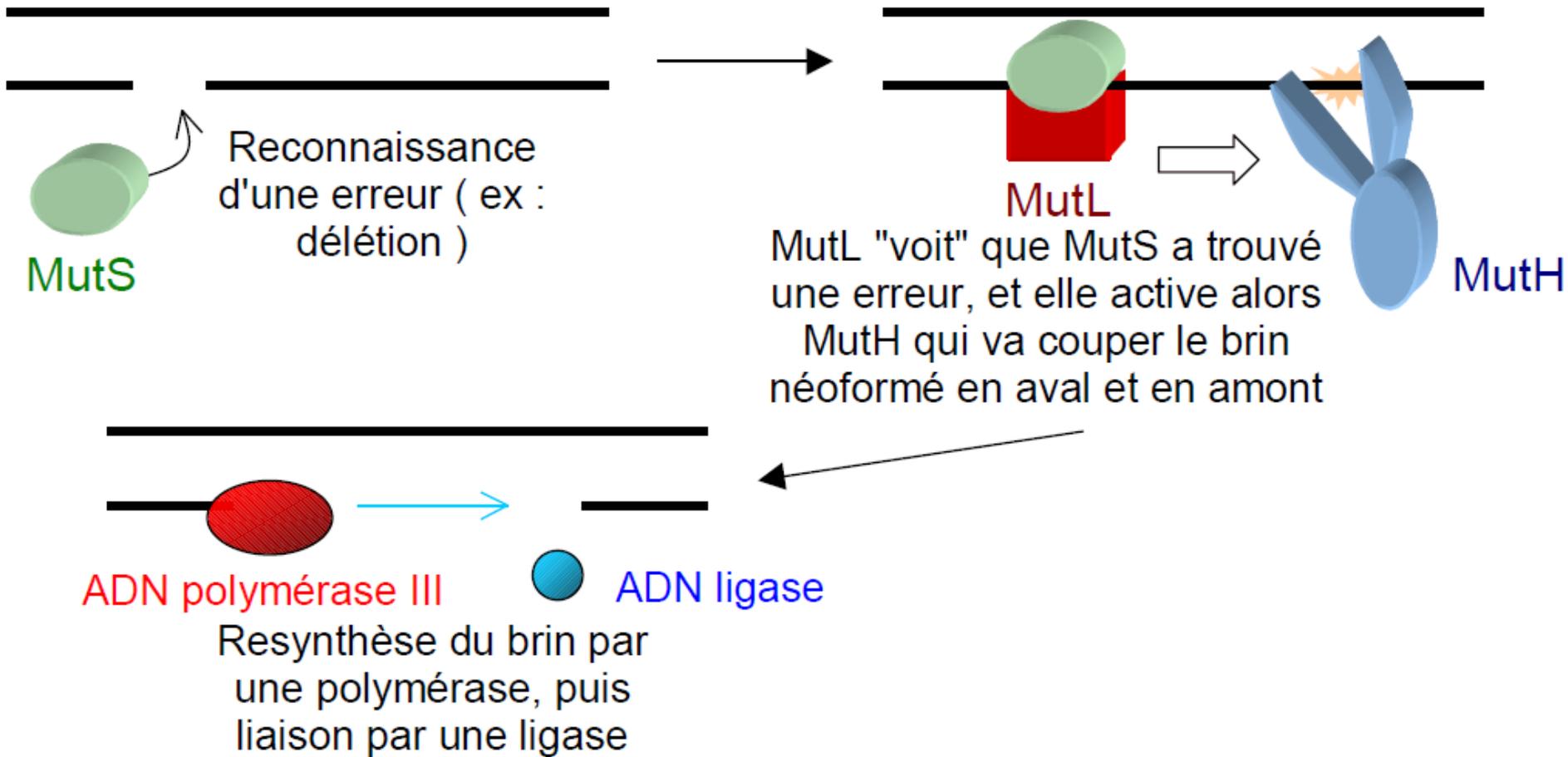
Le Xeroderma pigmentosum recouvre un ensemble de syndromes génétiques associés à des mutations dans les différentes protéines impliquées dans la réparation de l'ADN. Elles participent normalement aux différentes étapes de la réparation par excision de nucléotides, un mécanisme spécifique de correction des lésions encombrantes et/ou étendues sur l'ADN. Chez les mammifères placentaires, la réparation par excision de nucléotides est le seul mécanisme de réparation des dimères de pyrimidines, des lésions de l'ADN créées par l'exposition aux UV → La maladie est diagnostiquée assez tôt, en effet des brûlures apparaissent dès les premières expositions au soleil.

Type	fréquence	signes cutanés	clinique	gène	chromosome
A	25	OUI	signes neurologiques	XPA	9
B	RARE	PAS NECESSAIRE EMENT	croissance insuffisante	ERCC3	2
C	25	OUI	troubles des ongles et des cheveux	XPC	3
D	15	PAS NECESSAIRE EMENT	croissance insuffisante, troubles des ongles et des cheveux...	ERCC2	19
E	RARE	OUI	pas de signes neurologiques	DDB2	11
F	6	OUI	pas de signes neurologiques	ERCC4	16
G	6	OUI	troubles des ongles et des cheveux	ERCC5	13
VARIANT	21 Prévalence : env 1-4pers / 1000000	OUI	pas de signes neurologiques	POLH	6

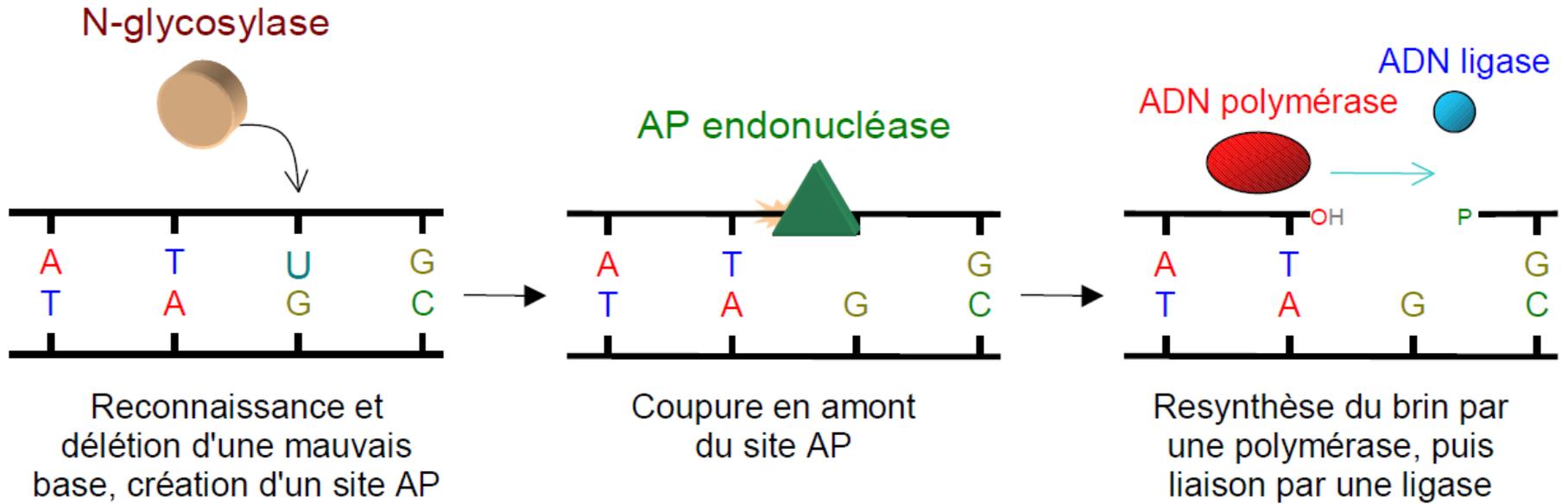
Bref....

De nombreuses protéines interviennent dans les réparations de l'ADN le manque d'une seule peut engendrer de grave défauts de réparation

Exemples chez les procaryotes : MutL et H sont remplacés par des gènes MRM chez l'humain (MLH1 MSH2...)



# Exemples :



**Des sondes moléculaires détectent les anomalies**



**Des enzymes nucléases dégradent les parties endommagées**

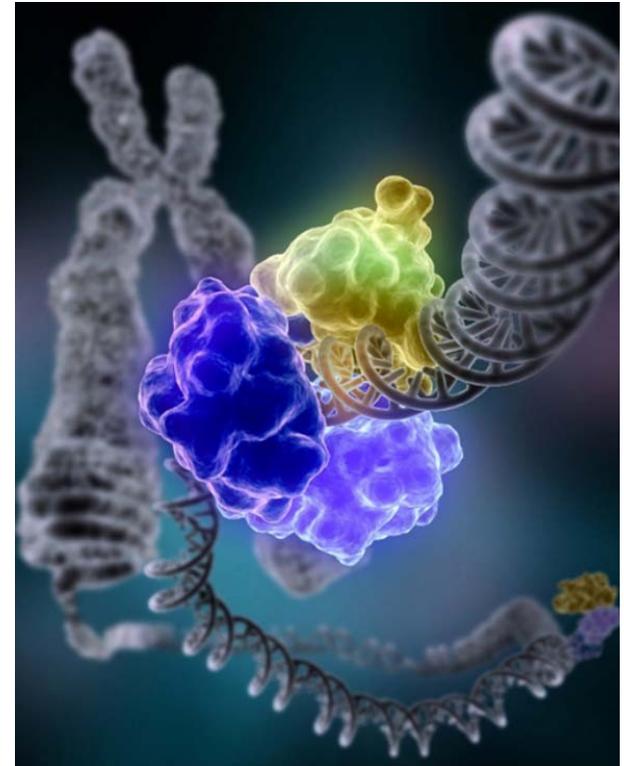
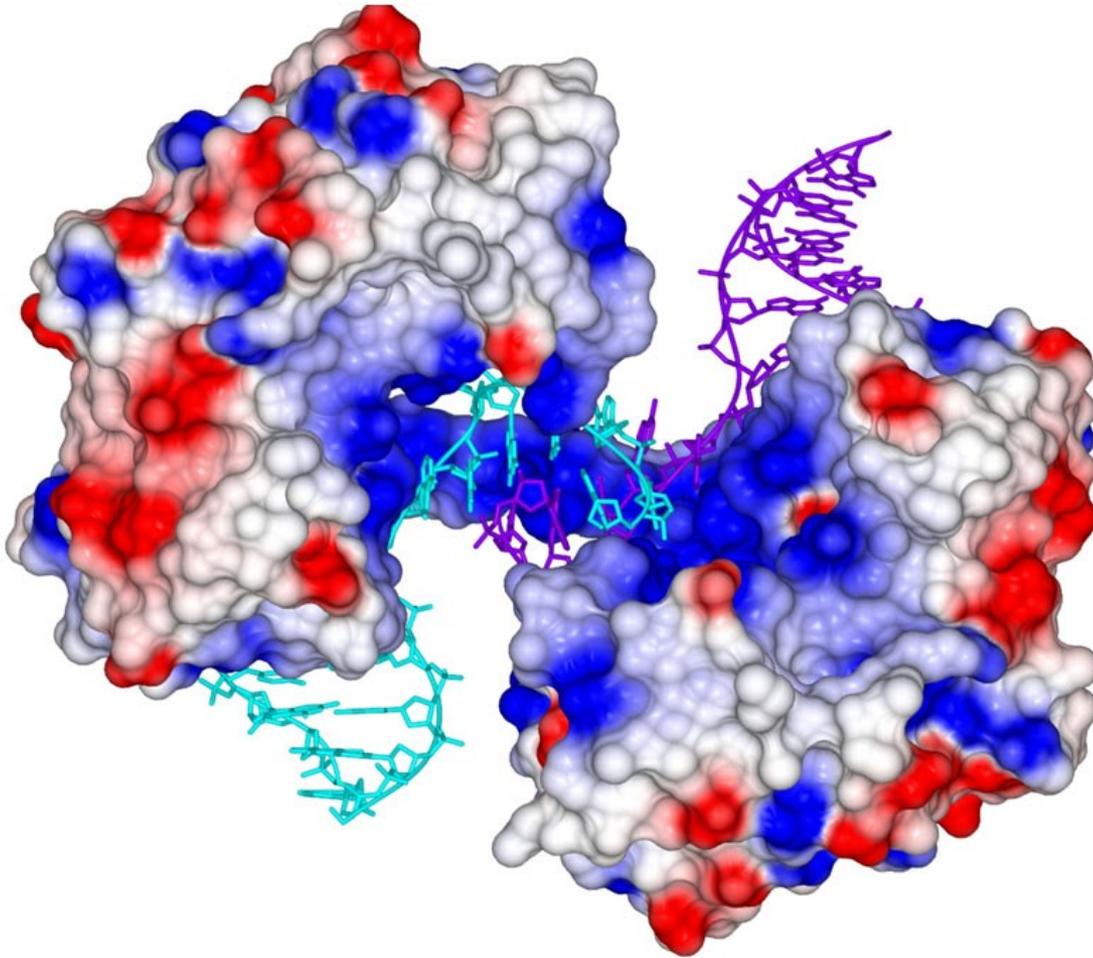


**L'ADN polymérase synthétise les manques en prenant comme appui le brin voisin le chromosome homologue restant**

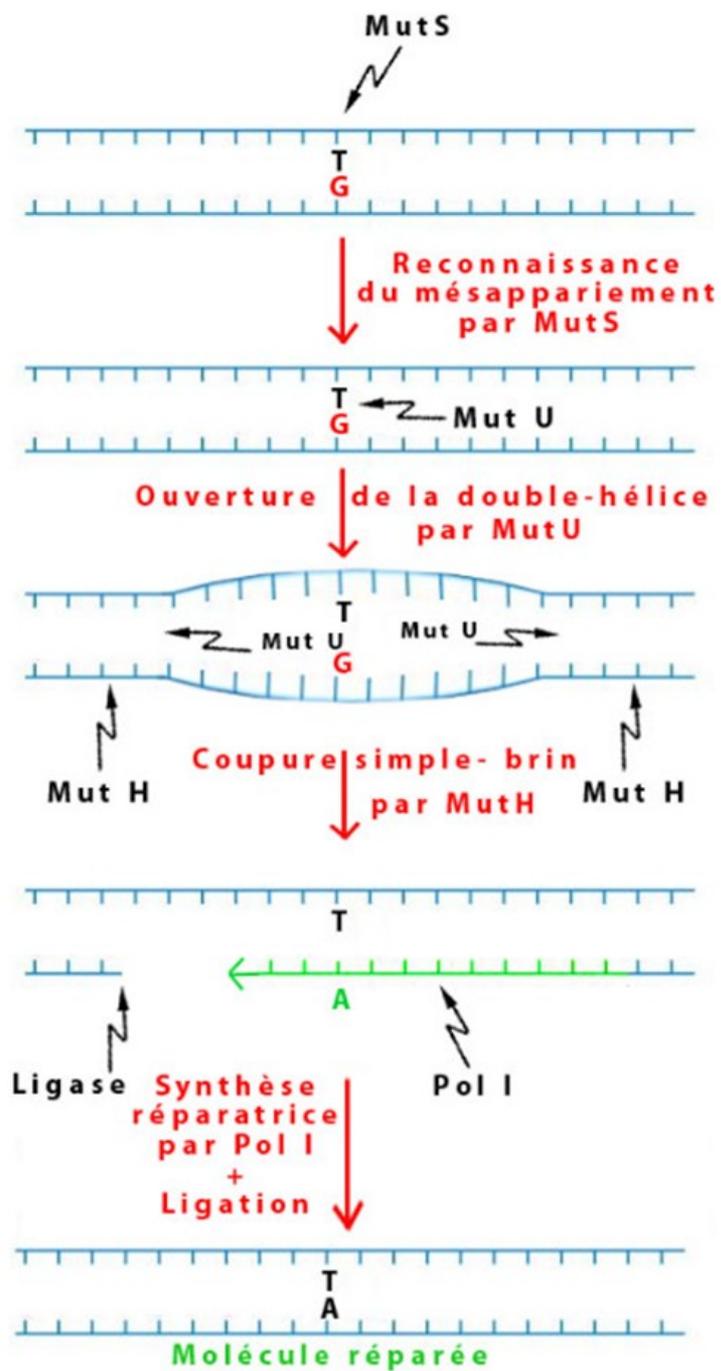


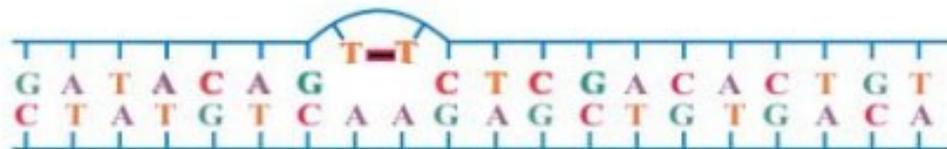
**L'ADN ligase suture la réparation avec le préexistant.**

# ADNligase



<b>Altération</b>	<b>Réparation</b>
Erreur d'appariement	Correction des erreurs
Modification chimique d'un nucléotide	Excision/réparation
Liaison covalente entre deux bases azotées	Excision/réparation
Perte d'une base azotée	Excision/réparation
Rupture d'un brin	Excision/réparation

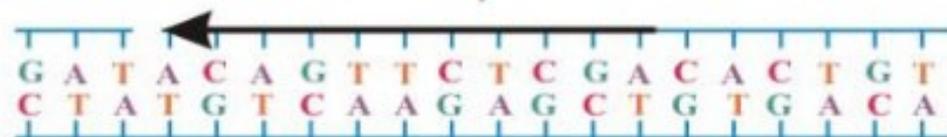




Endonucléase



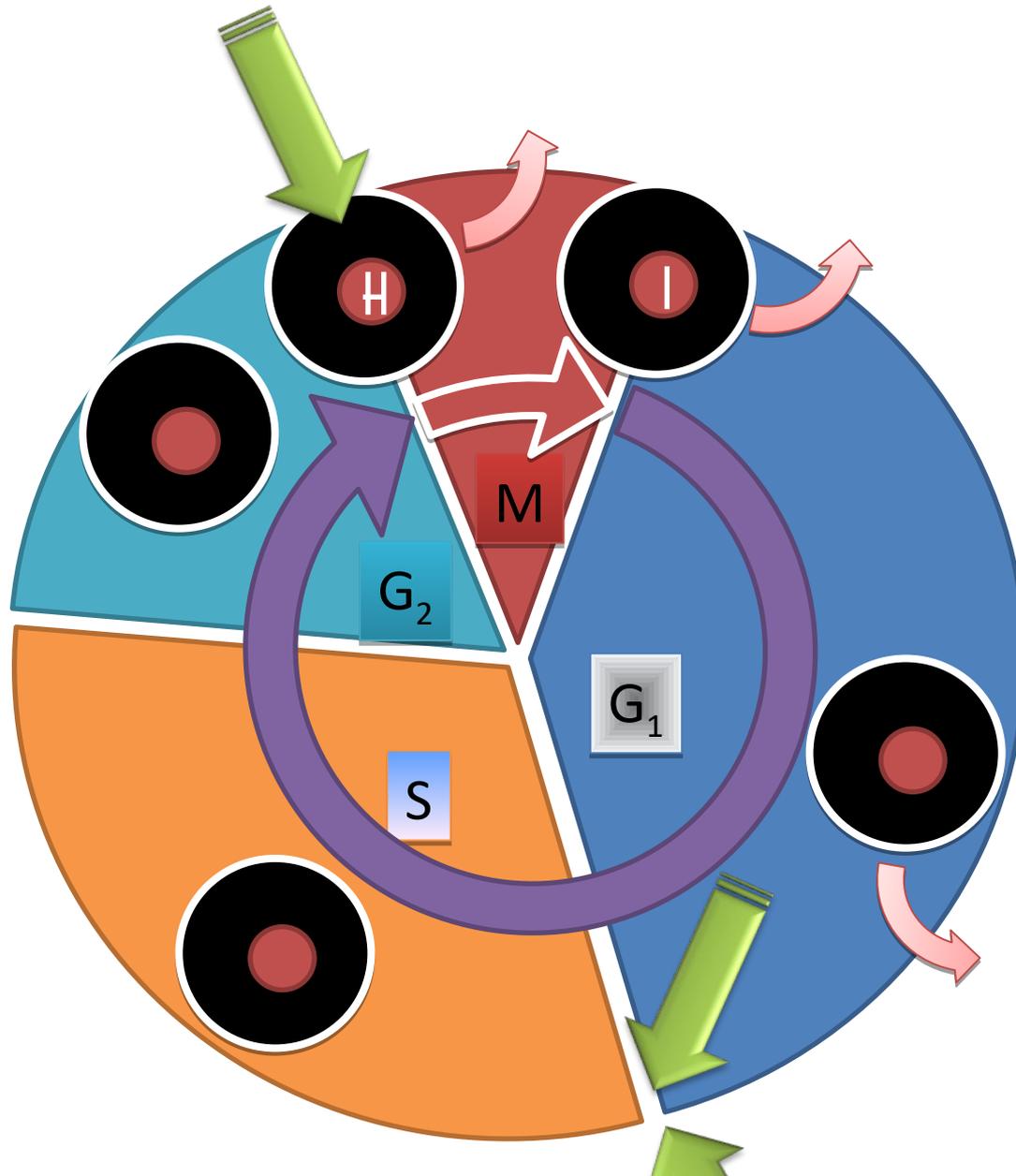
ADN pol I



Ligase



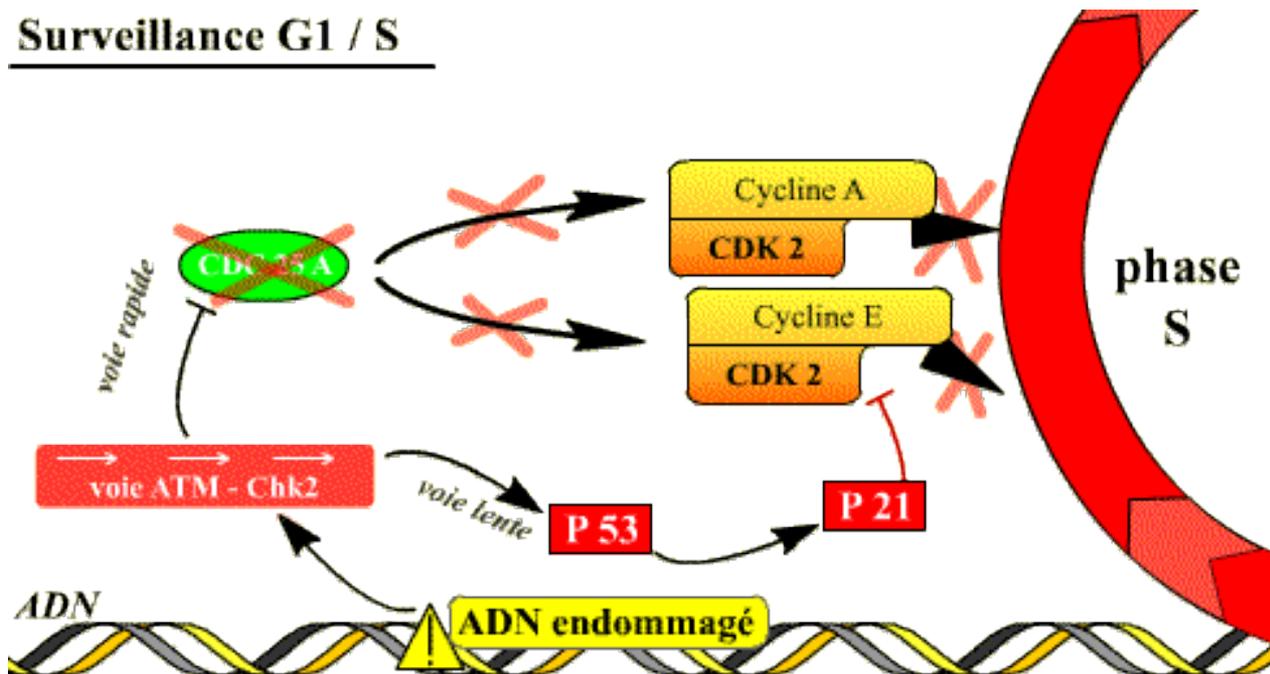
# Point de contrôle



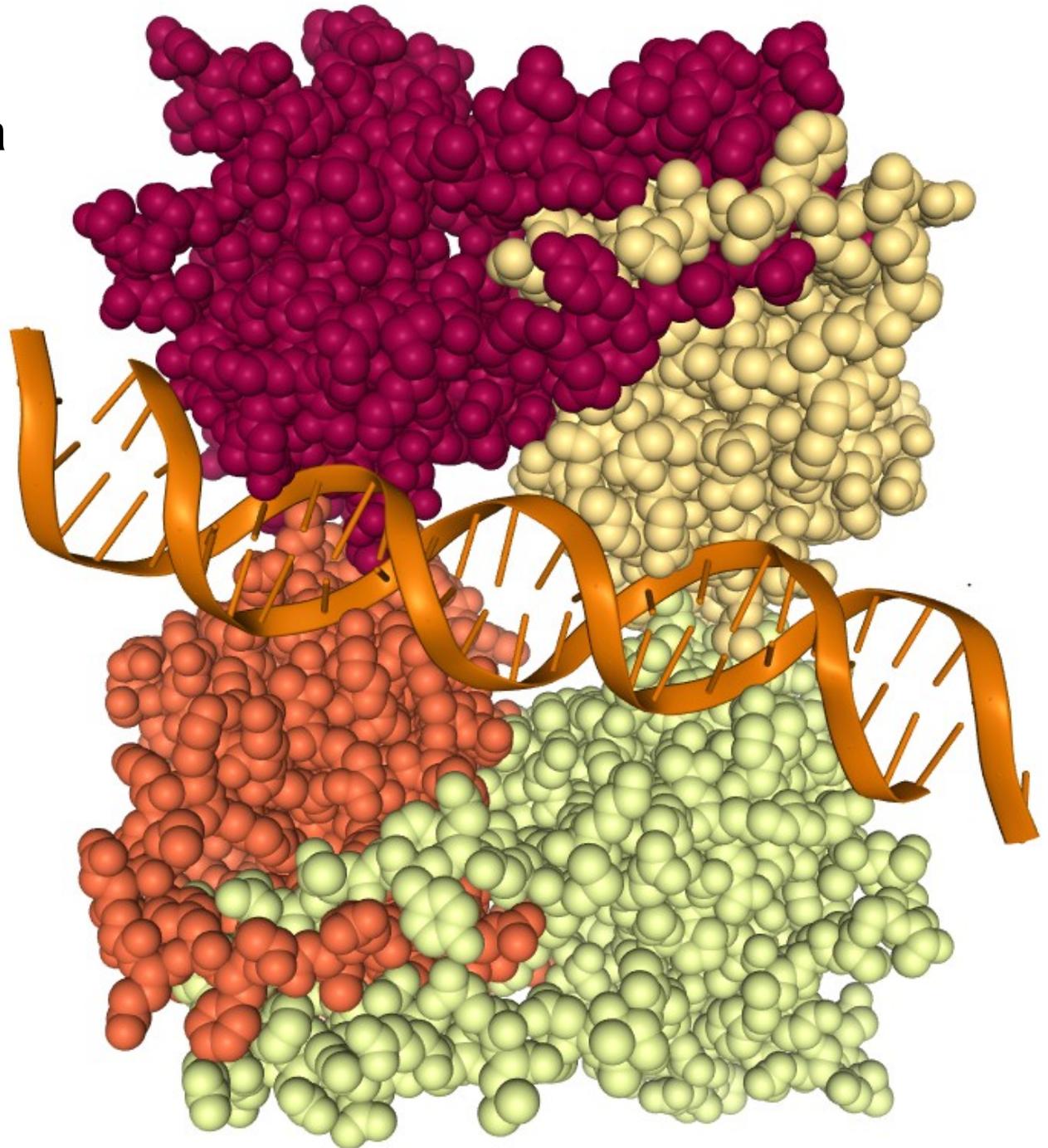
## Blocage de la transition G1-S

Si l'ADN est endommagé, la transition G1-S est bloquée par les mécanismes de surveillance de l'état de l'ADN (DDCP). Ces mécanismes aboutissent d'une part à la dégradation de Cdc25A, ce qui arrête le cycle puisque les complexes Cycline D / Cdk4 et Cyclines E, A / Cdk2 ne peuvent plus être activés par Cdc 25A, d'autre part à l'accumulation dans la cellule de p 53 qui induit l'expression de p 21, inhibiteur des complexes Cyclines E, A / Cdk2. La p 53 induit également la transcription d'enzymes de réparation de l'ADN

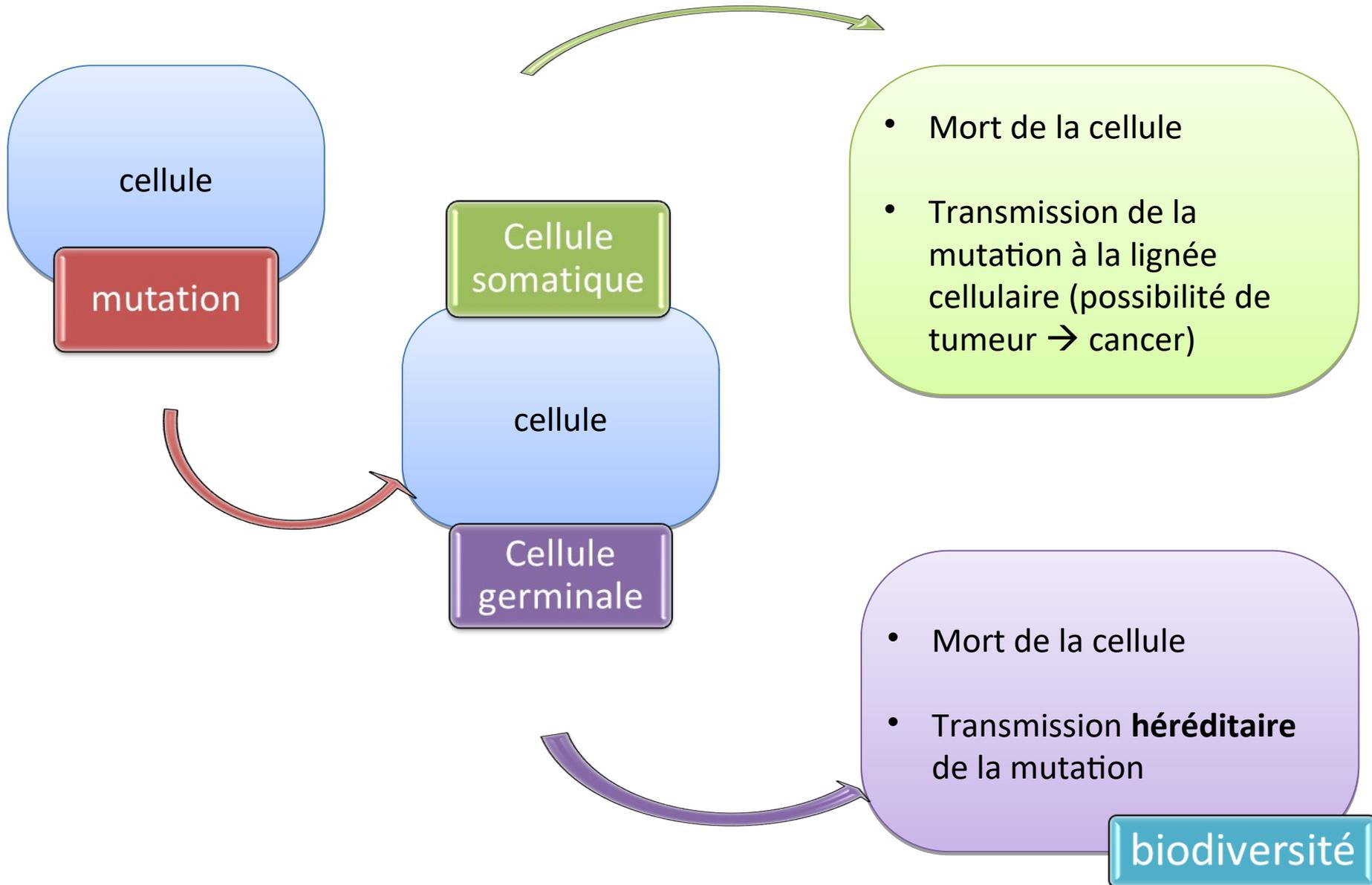
### Surveillance G1 / S



Interaction entre la protéine p53 (tétramère) et la molécule d'ADN permet la surveillance de l'état de cette Dernière.



# 3.) Le devenir des mutations



## 4.) Zoom sur la cancérisation d'une cellule

La cancérisation correspond à l'acquisition par une cellule et sa lignée de la perte de sa fonction initiale (associée à l'organe dans lequel elle se trouve) et de l'acquisition de l'aptitude à se diviser très rapidement et d'être dénuée de système de contrôle d'inhibition du cycle cellulaire lors d'erreurs de réplication ou de mutations spontanées de l'ADN.

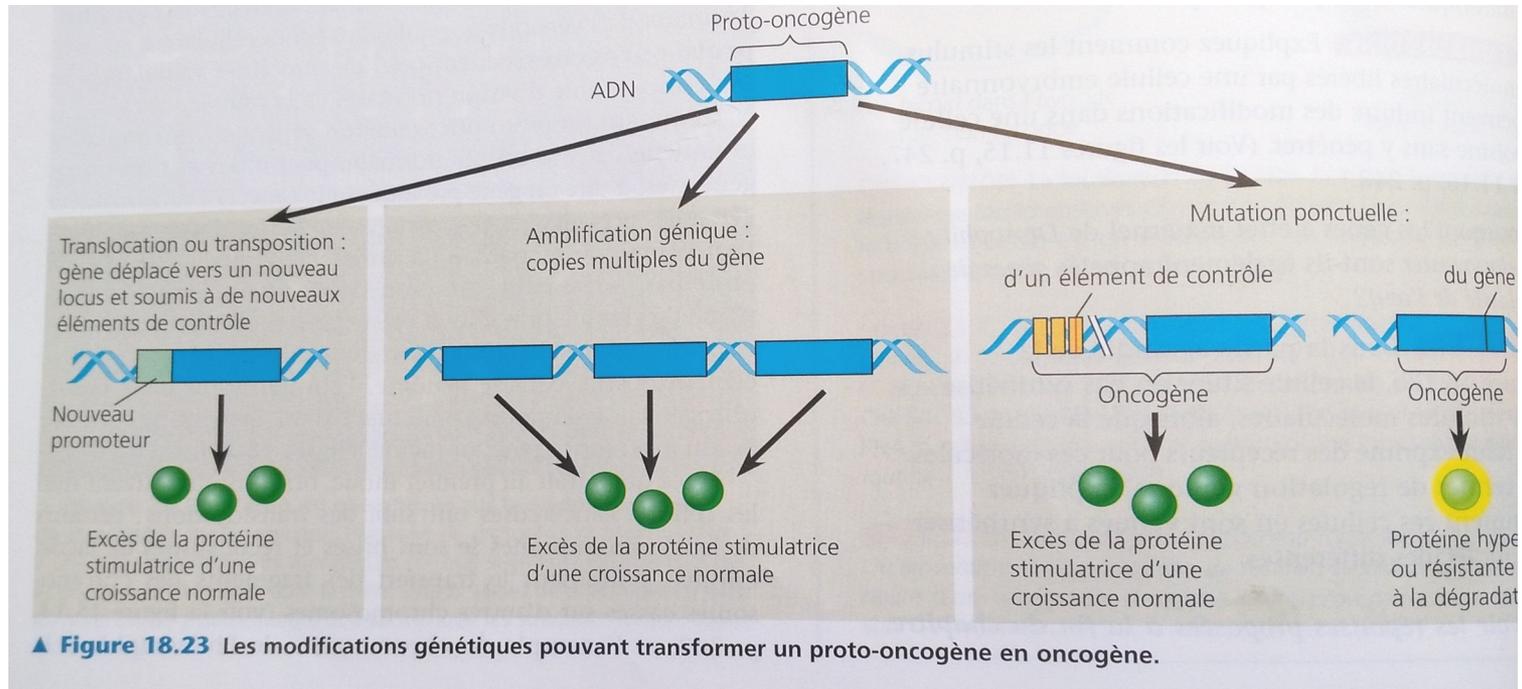
Il existe dans le génome des gènes dont les mutations sont susceptibles de provoquer la cancerisation d'une cellule. : on les nomme des proto-oncogènes. L'altération de leur expression peut les transformer en oncogène à l'origine de la cancérisation.

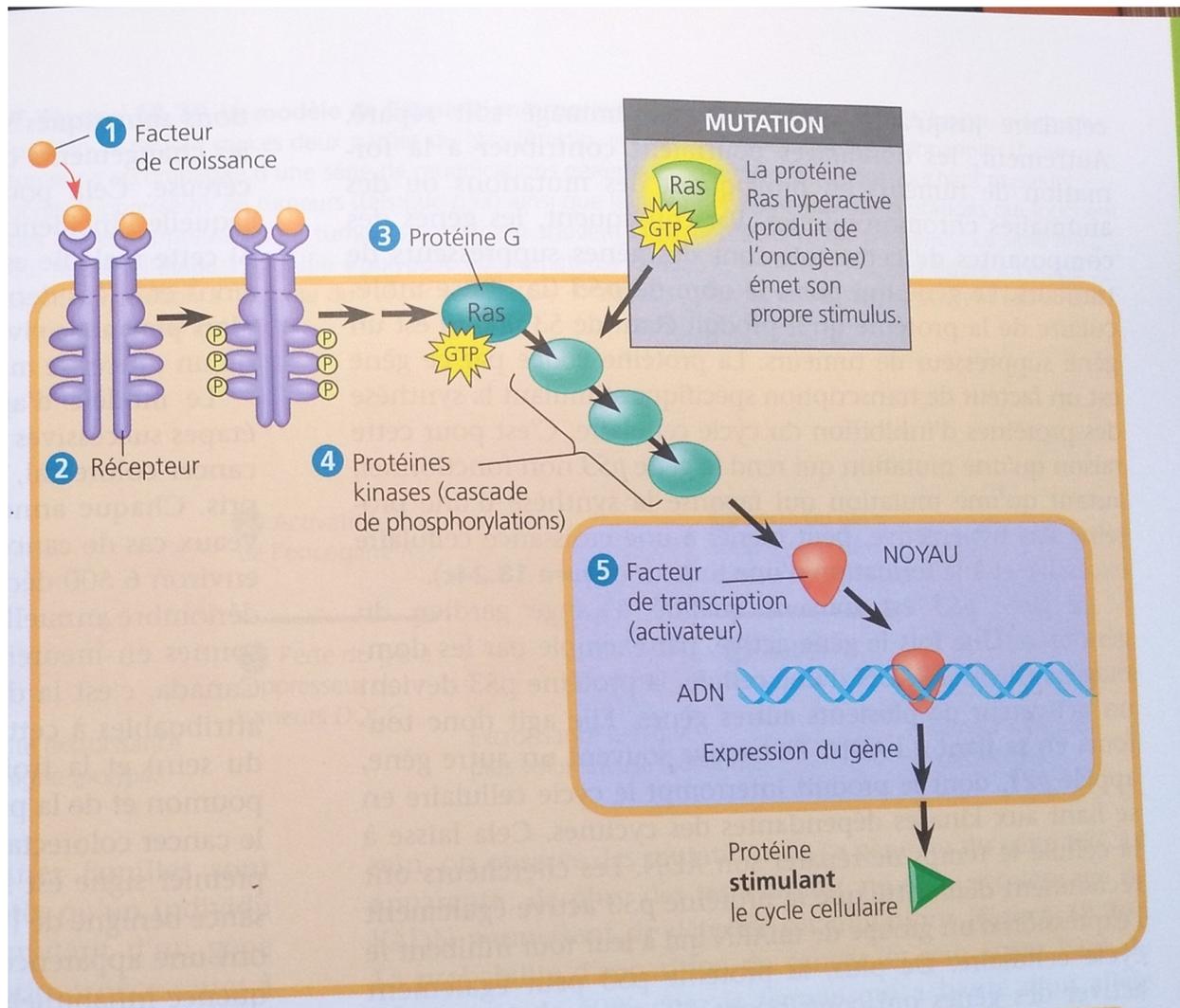
Chez l'humain, un cancer se développe par accumulation de l'apparition des oncogènes dans des lignées de cellules, ce n'est pas une mutation qui crée un cancer mais l'accumulation de mutations. Par exemple , il faut souvent attendre que les deux allèles d'un proto-oncogène soient devenus oncogène pour que la cellule se cancérisse.

TROIS exemples de proto-oncogènes permettent de comprendre le phénomène de cancérisation :

→ les gènes RAS (impliqué dans 30 % des cancers) interviennent dans les régulations des cycles cellulaires en les stimulant. Ils peuvent devenir oncogènes et sur-stimuler le cycle de division cellulaire en étant :

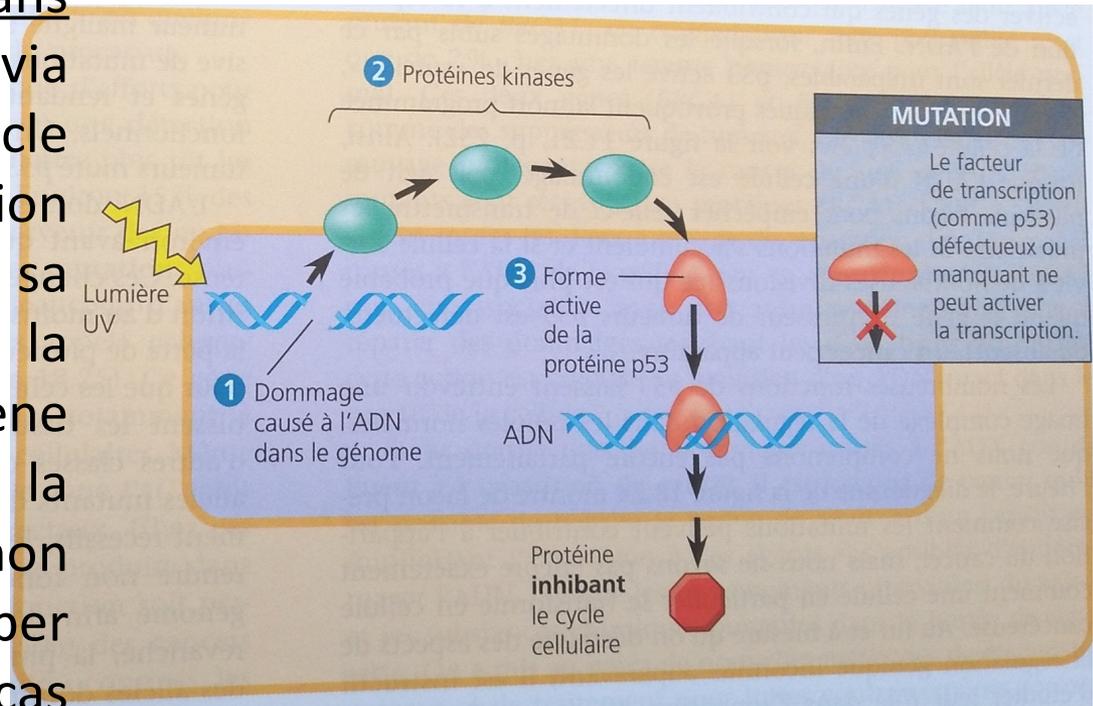
- transloquer vers une zone hyper transcrite
- dupliquer de nombreuses fois
- subir une mutation d'une partie de contrôle (inhibiteur le rendant inactif) ou d'une partie codante (rend la protéine superactive ou moins facilement dégradable)



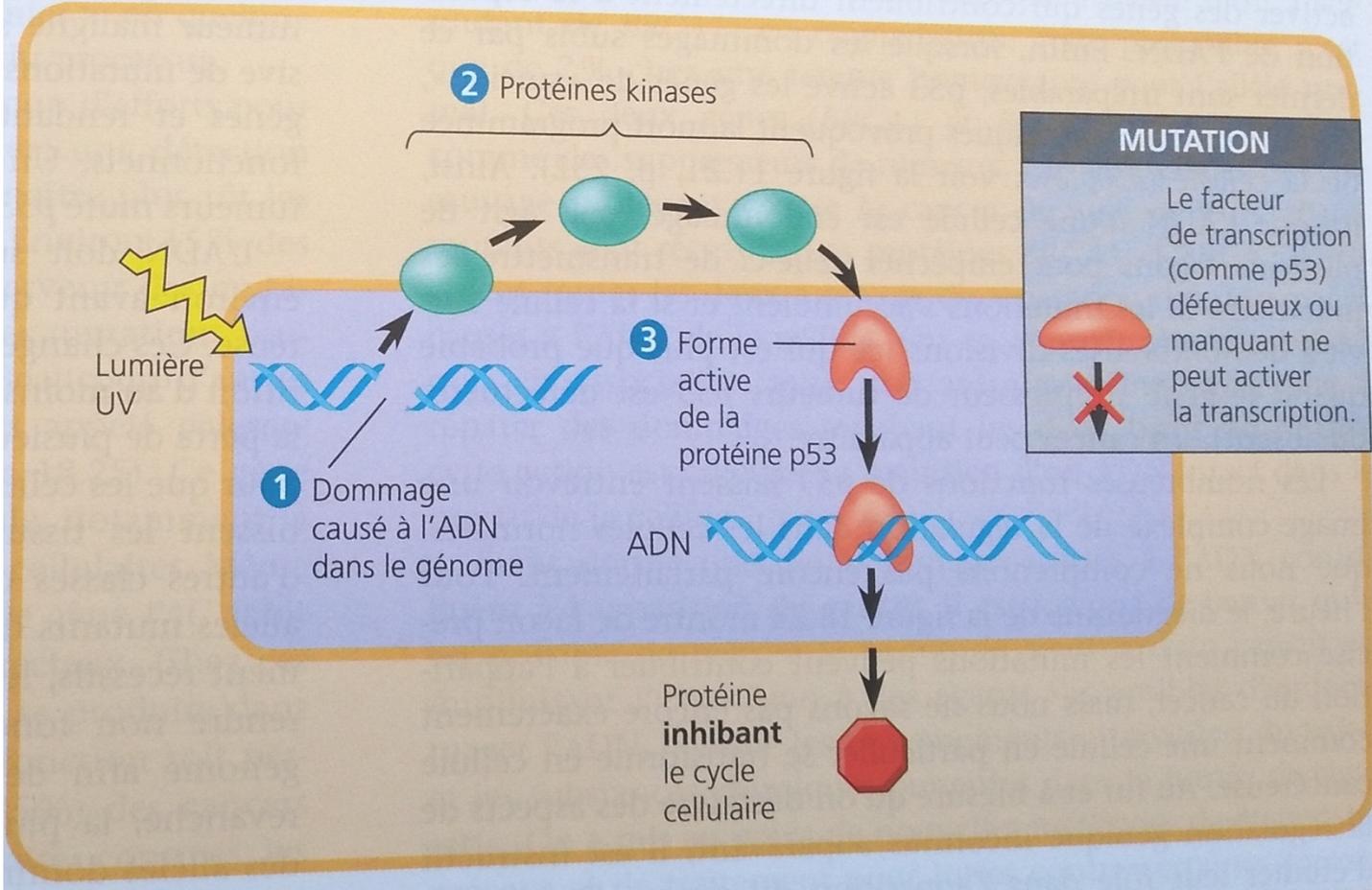


TROIS exemples de proto-oncogènes permettent de comprendre le phénomène de cancérisation :

→ le gène p53 (impliqué dans 50 % des cancers) intervient (via sa protéine) pour stopper le cycle cellulaire lorsqu'une mutation survient en attendant sa réparation ou l'apoptose de la cellule. Il peut devenir oncogène si une mutation engendre la création d'une protéine non fonctionnelle pour stopper indirectement le cycle en cas d'erreur décelée.



(soit car n'interagit plus avec les protéines kinases, soit car elle n'est plus facteur stimulant la transcription des agents stoppant la réplication).

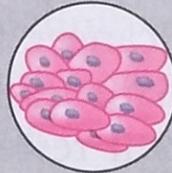


## EFFETS DES MUTATIONS

Surproduction  
de la protéine



Stimulation excessive  
du cycle cellulaire



Accélération  
du rythme  
des divisions cellulaires



Protéine absente



Absence d'inhibition  
du cycle cellulaire

TROIS exemples de proto-oncogènes permettent de comprendre le phénomène de cancérisation :

→ gène PAC : intervient dans l'adhésion entre les cellules... Si la protéine issue n'est plus active, les cellules touchées ne sont plus adhérentes : métastases favorisées.

Une tumeur présente plusieurs types cellulaires dont le seul point commun est d'avoir perdu leur fonction de base(associée à l'organe dont elles sont issues). Certaines cellules se divisent activement et les traitements les ciblent de façon privilégiée, d'autres sont en dormance et peuvent donc passer au travers du traitement... D'où le risque de rechute après une apparente guérison.

# Exercice n°7 p 31

## 7 Une expérience pour déterminer le mode de réplication

- Le BrdU est un nucléotide modifié qui peut être utilisé par la cellule à la place d'un nucléotide à thymine (appelé thymidine).
- Des cellules de mammifère sont cultivées pendant deux cycles cellulaires et de façon synchrone dans un milieu contenant du BrdU. Les cellules sont prélevées pendant la métaphase de la deuxième division cellulaire puis les chromosomes sont colorés à l'acridine orange et observés en microscopie optique à fluorescence. Les chromatides qui contiennent du BrdU dans un seul des deux brins de la molécule d'ADN apparaissent jaune tandis que les chromatides dont la totalité de la double hélice d'ADN contient du BrdU apparaissent très orangés.

### QUESTIONS

- Rappelez quelles sont les différentes hypothèses concernant le mode de réplication de l'ADN.
- Expliquez à l'aide de schémas quelle hypothèse est validée par cette expérience.
- On cultive ces cellules pendant un cycle supplémentaire sans BrdU et on observe les chromosomes au cours de la troisième division cellulaire. Observerait-on la même coloration des chromosomes dans toutes les cellules ? Justifiez votre réponse.



Résultats expérimentaux : chromosomes après traitement au BrdU (MO).

# 1 Reproduction cellulaire

---

- Dans un organisme pluricellulaire, les cellules qui meurent sont en permanence renouvelées afin d'assurer le fonctionnement de l'organisme.

**Expliquez comment les différentes étapes du cycle cellulaire permettent d'assurer la reproduction conforme d'une cellule.**

*Votre exposé devra être structuré par une introduction, un développement et une conclusion. Il devra être accompagné de schémas explicatifs en choisissant pour simplifier  $2n = 6$ .*