

# Partie 1 : Transmission, variation et expression du patrimoine génétique

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

Des erreurs peuvent se produire aléatoirement lors de la réplication de l'ADN. Leur fréquence est augmentée par l'action d'agents mutagènes. L'ADN peut également être endommagé en dehors de sa réplication. Les mutations sont à l'origine de la diversité des allèles au cours du temps. Selon leur nature elles ont des effets variés sur le phénotype. Les erreurs répliquatives et les altérations de l'ADN peuvent être réparées par des mécanismes spécialisés impliquant des enzymes. Si les réparations ne sont pas conformes, la mutation persiste à l'issue de la réplication et est transmise au moment de la division cellulaire. Chez les animaux dont l'être humain, une mutation survient soit dans une cellule somatique (elle sera présente dans le clone issu de cette cellule) soit dans une cellule germinale (elle devient potentiellement héréditaire). **Notions fondamentales** : allèles, mutations, nature et fréquence des mutations, mutations spontanées et induites, systèmes de réparation, ADN polymérase. **Objectifs** : les élèves acquièrent des connaissances fondamentales sur la formation des mutations. La notion d'allèles s'applique à tout segment d'ADN codant ou non.

**Capacités** - Concevoir et réaliser un protocole pour étudier l'action d'un agent mutagène (par exemple les UV) sur la survie des cellules et sur l'apparition de mutants. Quantifier. - Recenser et exploiter des informations permettant de montrer l'influence d'agents mutagènes physiques (rayonnements) ou chimiques (molécules). - Recenser et exploiter des informations permettant de caractériser des mutations. - Recenser et exploiter des informations sur la diversité allélique au sein des populations (par exemple humaine). - Recenser et exploiter des informations de recherche sur les génomes des trios (père, mère, enfant) afin de se faire une idée sur la fréquence et la nature des mutations spontanées chez l'être humain. - Exploiter des bases de données pour mettre en relation des mutations et leurs effets.

**Précisions** : on distinguera les mutations spontanées de l'ADN des modifications introduites volontairement par génie génétique conduisant par exemple à la création d'OGM, aux thérapies géniques, etc. L'action des agents mutagènes est étudiée à titre d'exemple mais le mécanisme n'est pas attendu. Aucune exhaustivité n'est attendue pour la présentation de ces agents. La liste des mutations possibles n'est pas attendue. Les mécanismes de réparation de l'ADN ne doivent pas être détaillés. Pour des expériences impliquant des micro-organismes, on respecte des protocoles stricts concernant à la fois la culture de micro-organismes et leur destruction systématique en fin de manipulation.

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.**

Nous étofferons les concepts qui s'y trouvent dans la partie mutations et santé.

### I.) Modifications spontanées ou provoquées de l'ADN [postTP 04] (nous y reviendrons...)

Il faut avant tout différencier deux phénomènes modifiant l'ADN :

--- Les mutations qui correspondent à une modification de la séquence des nucléotides par rapport à une référence et qui est donc répliquable.

Il en existe trois types :

la substitution (remplacement d'un nucléotide par un autre)  
 la délétion (perte d'un nucléotide dans la séquence)  
 et l'insertion (ajout d'un nucléotide dans la séquence).

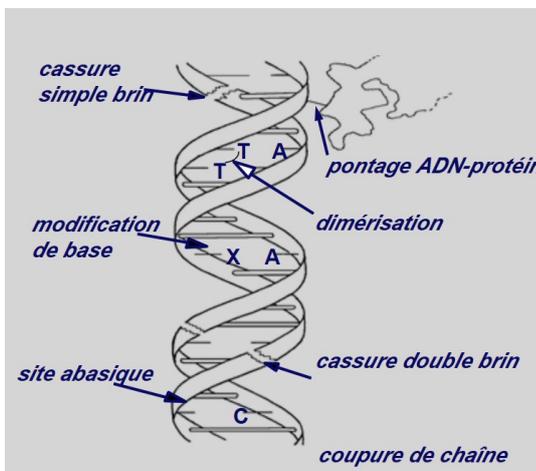
Ces mutations touchent la plupart du temps qu'un seul nucléotide et sont donc qualifiées de « ponctuelles ».

---Les lésions qui correspondent à une modification de la structure de l'ADN et qui n'est pas réplifiable. Elles sont cependant à l'origine des mutations. Ces lésions peuvent avoir lieu lors de la réplication ou en dehors et se faire de façon tout à fait endogène ou bien à cause d'un élément exogène.

Durant la réplication, l'ADN polymérase peut commettre des erreurs (par exemple intégrer dans la séquence, un nucléotide qui n'est pas le complémentaire du nucléotide du brin d'ADN « moule »). Cette erreur peut entraîner l'apparition d'une mutation (= changement de la séquence nucléotidique d'un allèle).

Certaines lésions sont le fait d'erreurs de réplication, la machinerie installe un nucléotide non complémentaire à celui du brin matrice : c'est un mésappariement. (elle se déroule env. 1/100000 fois c'est donc assez fréquent!!).

En dehors de la réplication, des lésions peuvent survenir de façon spontanée ou bien du fait de l'action d'agents exogènes « mutagènes ». Certains types de rayonnements (ultraviolets, rayons gamma...), ainsi que certaines substances chimiques (benzène, toluène, cadmium...) peuvent altérer l'ADN. On qualifie ces « agents mutagène ». Ces facteurs environnementaux sont le plus souvent de nature chimique comme les radicaux libres de l'oxygène et les agents alkylants, ou physique, comme les radiations ultraviolettes et les rayonnements ionisants.

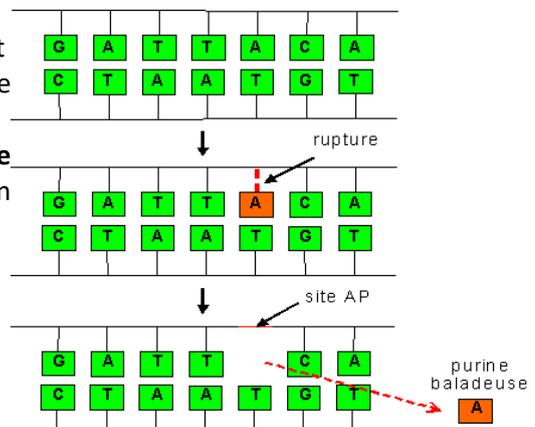


← Il existe donc de nombreux **types de lésions** :

→ **endogènes** (sans agents exogènes « mutagènes ») :

- **mauvaises incorporations de bases** : association de l'adénine avec la cytosine et de la thymine avec la guanine...

l'altération (perte de groupement amine), **perte des bases** d'un nucléotide (site abasique) →



→ **provoquées par des agents exogènes** (physiques correspondent aux rayonnements X ou  $\gamma$ , aux rayonnements UV et à la chaleur ou chimiques essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) :

Agents physiques :

- **Formation de dimères de Thymine** qui correspondent à la formation de liaisons covalentes entre deux Thymines. Ces dimères de Thymines créent des distorsions de l'hélice d'ADN et peuvent être fixés par action de l'UV.

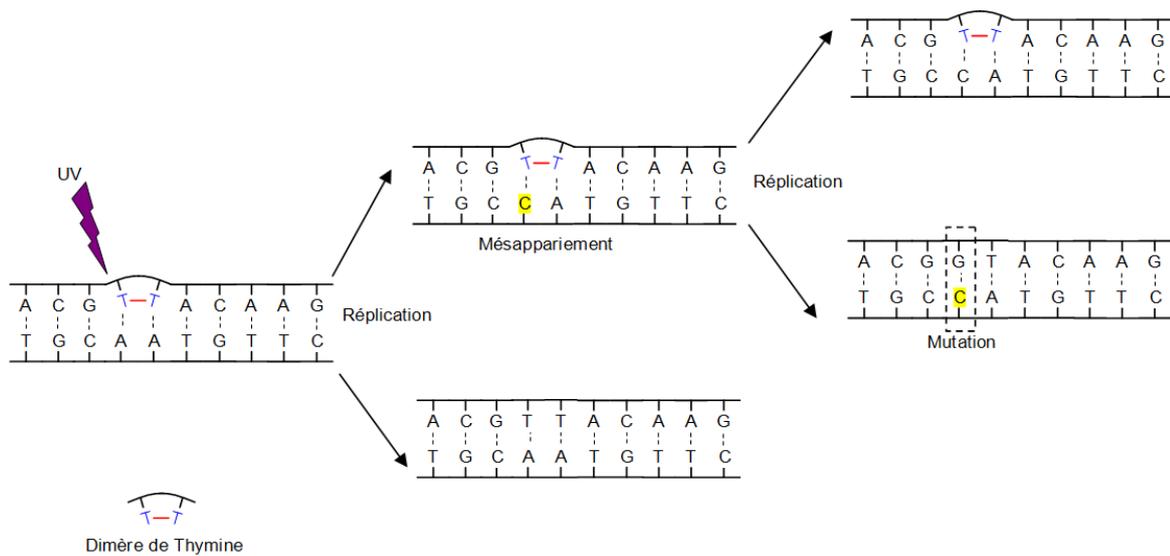
- **Ionisation de bases et coupures simple ou double brin de l'ADN par rupture du D-ribose** dus aux rayonnements ionisants : rayons X et rayons  $\gamma$ .

- **désamination** du fait de la chaleur.

Agents chimiques :

- Addition de molécules exogènes qui **déforment la molécule d'ADN**.
- **oxydations des bases(perte d'électrons)**.

Exemple de lésion engendrant une mutation :



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

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.

Il existe heureusement une batterie de sondes capables de repérer ces anomalies afin qu'elles soient réparées. Si celle ci ne l'est pas elle peut alors engendrer une mutation.

## II.) Nécessité de systèmes de contrôle et de réparation (nous y reviendrons...)

Tout d'abord, il est important de souligner que les mécanismes de réparation peuvent agir sur les lésions mais pas sur les mutations...

Des mécanismes moléculaires interviennent au cours de la réplication pour détecter des anomalies et imposer l'arrêt du cycle laissant le temps, à la cellule, de réparer et/ou de terminer correctement la réplication. L'ADN polymérase vérifie elle même les éventuels mésappariements, la reconnaissance du brin matrice est possible (au moins chez les procaryote...) car il est méthylé alors que le brin tout neuf (et erroné) ne l'est pas encore...

D'autres sondes parcourent l'ADN à la recherche d'erreurs, les plus connus chez l'humain sont les enzymes MLH1, MSH2 et MSH6 (famille des gènes MisMatchRepair) spécialisées dans la reconnaissance des mésappariements : elles parcourent l'ADN, si un mésappariement est détecté, une endonucléase (enzyme qui

coupe un brin d'ADN) s'associe et coupe le brin erroné (l'excision), puis une ADN polymérase intervient pour combler le vide et enfin une ligase vient suturer les deux extrémités du « morceau » corrigé. On a alors deux cas de figure :

- c'est bien le brin matrice qui a servi de modèle : il n'y aura pas de mutation
- c'est le brin néoformé qui a servi de référence, le brin matrice a été « réparé... », une mutation s'installe.

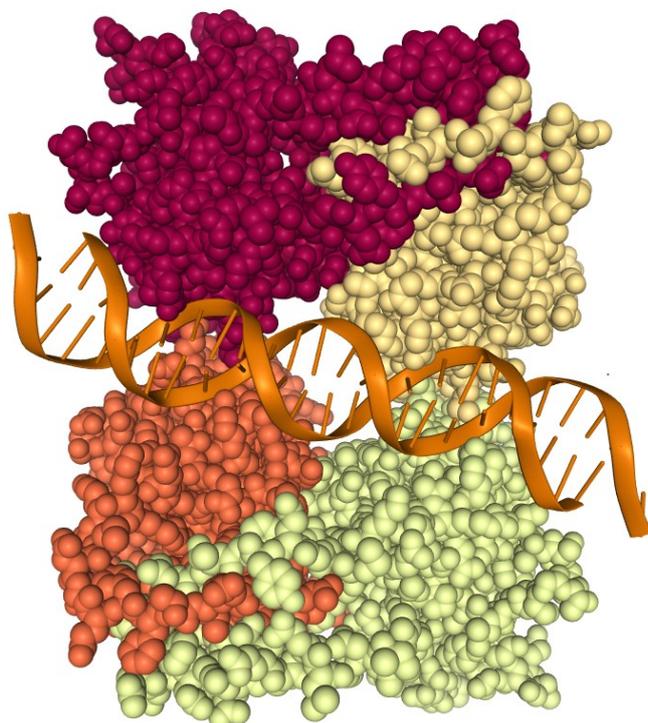
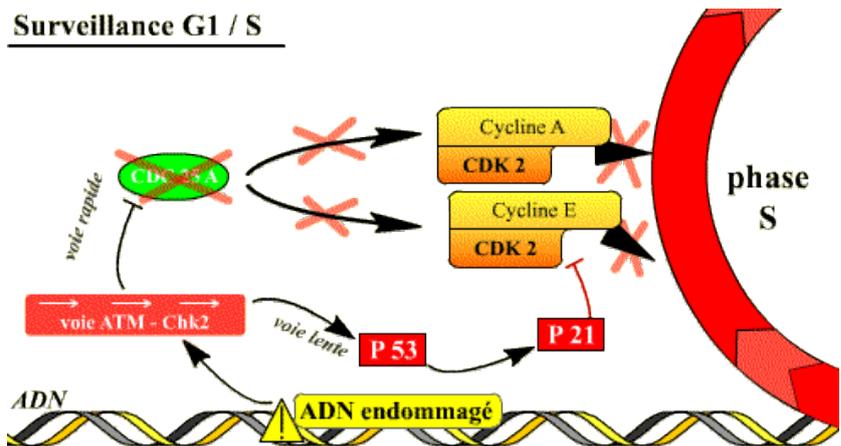
L'ancien brin est cependant reconnaissable par rapport au néoformé car il est méthylé, le système de réparation échoue donc rarement.

Il existe également en dehors de la réplication, des mécanismes qui détectent la présence de dommage sur l'ADN et assurent leur réparation en commençant par bloquer le cycle cellulaire (rôle de p53). L'efficacité des mécanismes de correction est dépendante du type de dommage, de la cellule et de l'organisme touchés. Le plus souvent, l'erreur ou le dommage est réparé.

Si les anomalies détectées sont trop importantes ou si les mécanismes de réparation échouent, un programme de mort cellulaire par apoptose est mis en place.

**Exemple : Si l'ADN est lésé, l'activation de deux voies inhibitrices des complexes Cycline / Cdk de la phase S permet d'arrêter le déroulement de la phase S permettant soit d'engendrer un mort cellulaire soit une réparation de la lésion.**

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( cette protéine(qui est un tétramère protéique) intervient au contact de l'ADN, « surveillant » en permanence son état.

### III.) Le devenir des mutations

Chez les individus à reproduction asexuée, les mutations sont transmises lors des clonages des individus ou bien par transferts verticaux de matériel génétique (voir les plasmides de bactérie).

Chez les eucaryotes à reproduction sexuée (comme l'humain...), une mutation engendre l'apparition d'un nouvel allèle

Dans l'organisme, on nomme cellule germinale, les cellules à l'origine des gamètes et, cellule somatique, toutes les autres cellules.

Lorsqu'une mutation touche une cellule somatique, elle sera transmise à la lignée des cellules provenant par mitose de celle-ci, mais restera cantonnée à l'organisme.

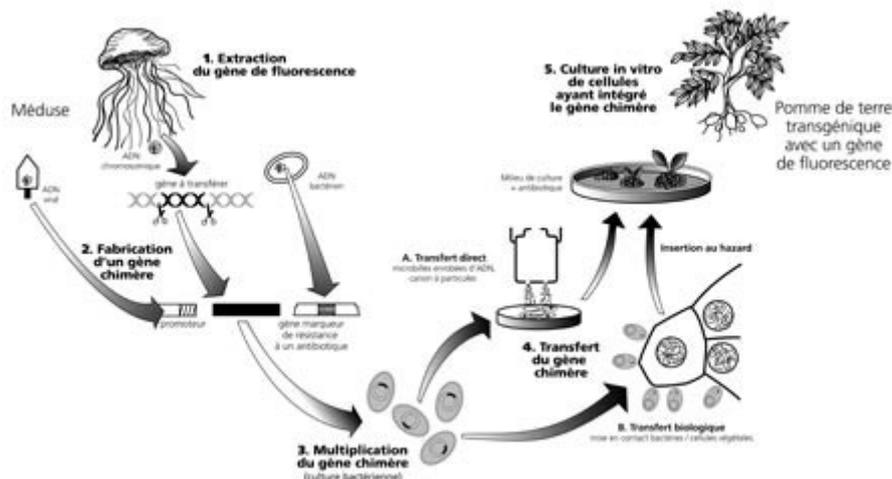
Lorsqu'une mutation intervient chez une cellule germinale, elle pourra être transmise à la descendance si celle-ci participe à une fécondation. La mutation deviendra alors héréditaire.

Les mutations sont à l'origine du polymorphisme des gènes (présence d'au moins deux allèles d'un même gène dans au moins un pour cent de la population de l'espèce considérée). Ce polymorphisme génétique est à l'origine de la biodiversité à l'échelle d'une population.

Ensuite, sous l'effet combiné de la dérive génétique et de la sélection naturelle, les populations d'une même espèce peuvent se transformer (=évoluer) au cours du temps.

#### Remarque :

Ces dernières décennies s'est développée la transgénèse, technique permettant d'introduire des gènes entiers au sein de l'ADN d'un individu receveur. → ce phénomène n'est pas considéré comme une mutation !!!



### IV.) Zoom sur la cancérisation d'une cellule (nous y reviendrons...)

La cancérisation correspond à la perte par une cellule et sa lignée 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 cancérisation 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 mutation. Par exemple, il faut souvent attendre que les deux allèles d'un proto-oncogène soient devenus oncogène pour que la cellule se cancérisse.

4 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)

→ le gène p53 (impliqué dans plus de 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).

→ 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.

- gènes MismatchRepair MLH1, MSH2... peuvent faciliter la survenue de cancer (notamment du colon) si ils sont mutés, la possession de gènes mutés engendre un risque accru.

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.

Remarque : Polymérase Chain Reaction (PCR) à aborder, permet d'identifier la présence de certains gènes de prédisposition. Ou d'oncogènes déjà présents voire de suivre l'efficacité d'un traitement en suivant l'évolution de la présence des oncogènes.