

UE1 : Biochimie – Biologie moléculaire

Chapitre 4 :

Maintenance et variations du matériel génétique

Professeur Joël LUNARDI

Année universitaire 2011/2012

Université Joseph Fourier de Grenoble - Tous droits réservés.

Chapitre 4. Maintenance et variations du matériel génétique

I. Maintenance de l'ADN

- 1- Altération
- 2- Mécanismes de correction
- 3- Correction immédiate
- 4- Correction secondaire
- 5- Correction translésionnelle

II. Variations

- 1-Types de variations
- 2- Conséquences des variations
- 3- Principaux polymorphismes

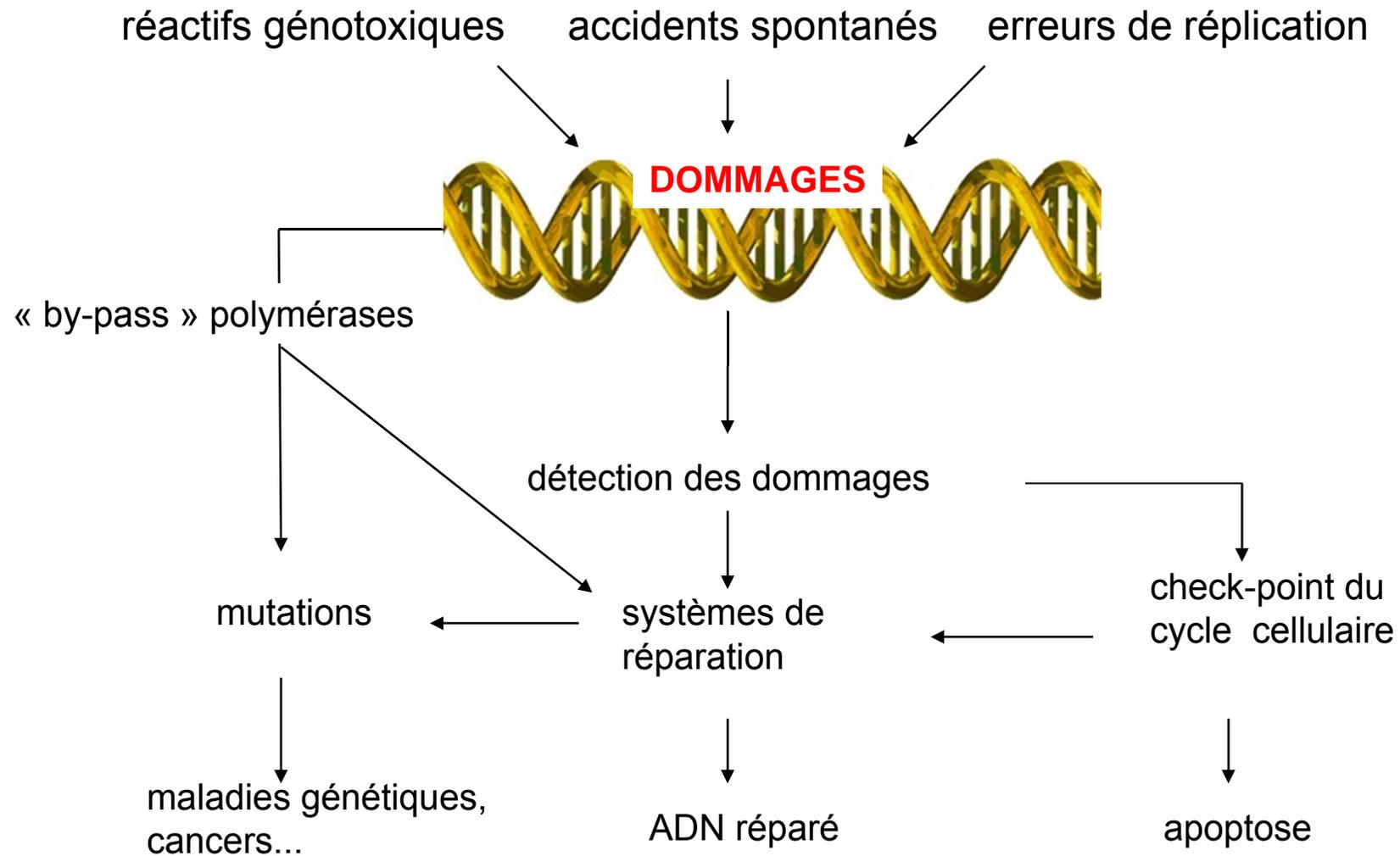
III. Recombinaisons

- 1- Modèle procaryote
- 2- Recombinaison homologue des eucaryotes
- 3- Recombinaison homologue et réparation
- 4- Recombinaison intra-brin

IV. Transpositions

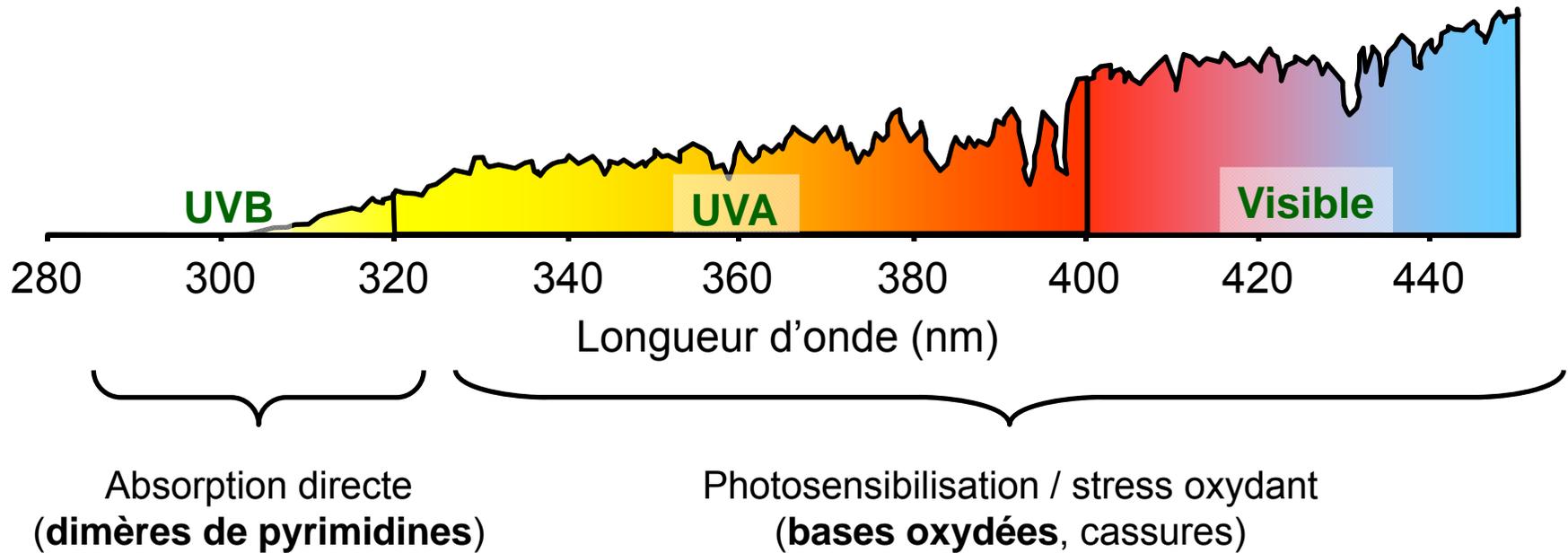
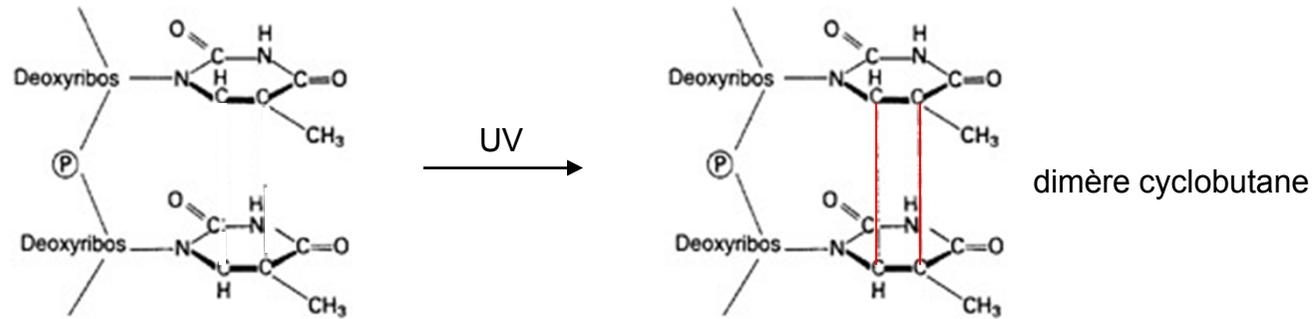
- 1- Transposition d'ADN
- 2- Rétrotransposition

I. Mécanismes de maintenance de l'ADN

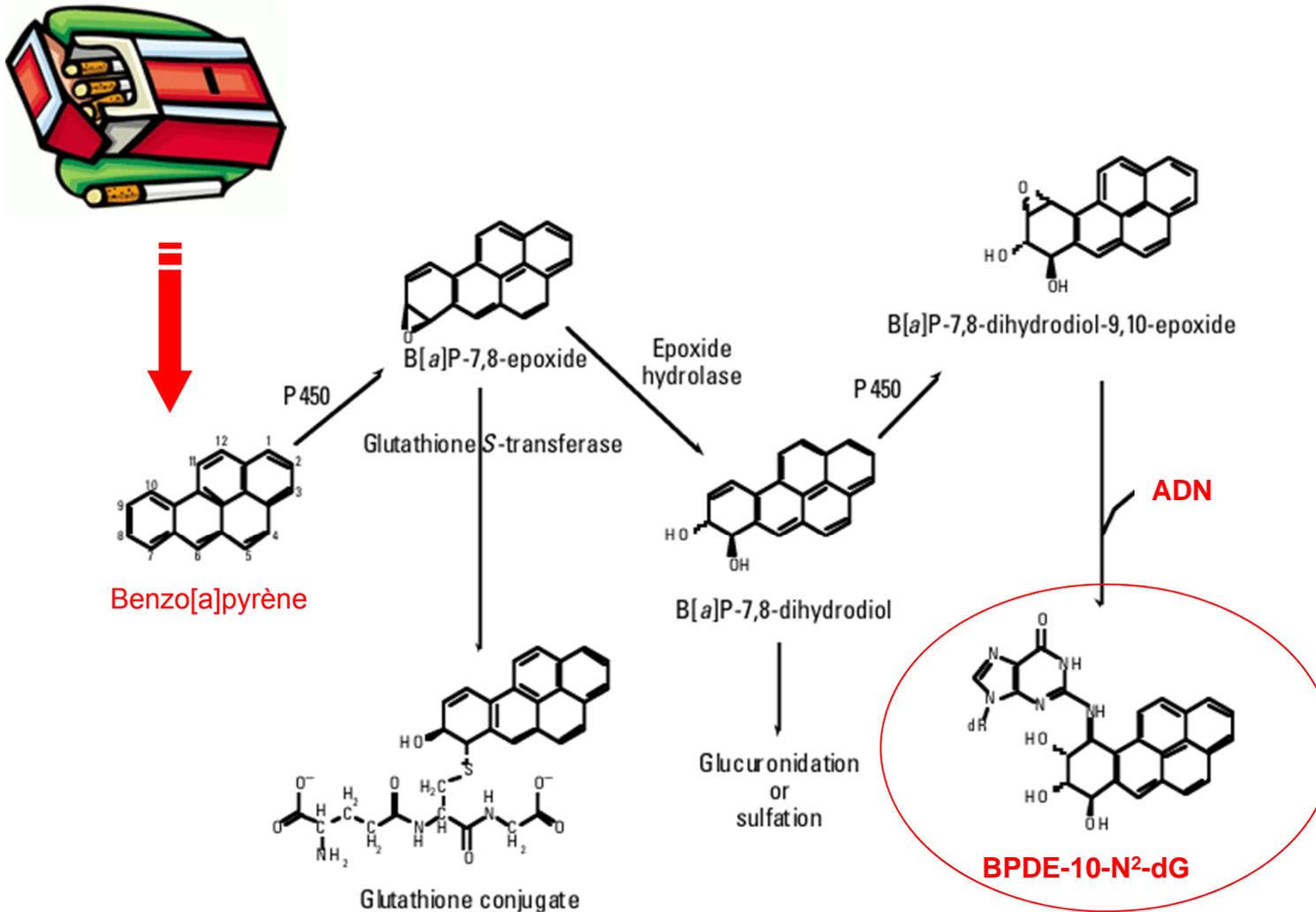


1. Altérations

❖ physiques : chaleur, rayonnement cosmique, radioactivité, UV ...



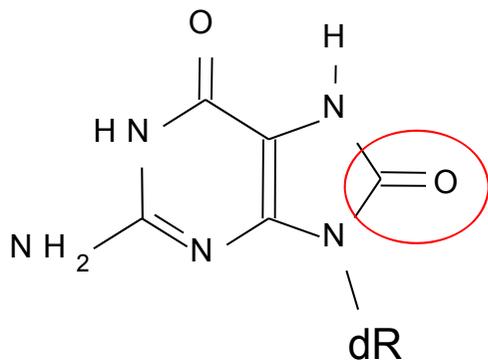
- ❖ chimiques : - réactifs alkylants (EMS, diméthylnitrosamine...)
- réactifs pontants interbrins (psoralène, cis-platine...)
- molécules intercalantes
- analogues de bases (5-bromouracile, 2-aminopurine....)



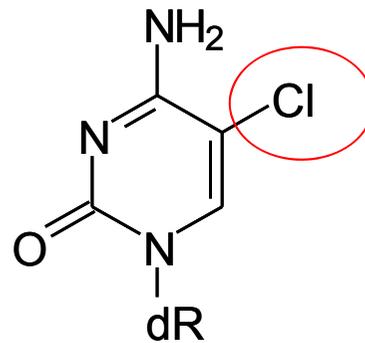
❖ physiologiques :

- erreurs de réplication
- phénomène de tautomérisation
- oxydation (ions superoxyde, 8-oxo guanine...)
- désamination: (cytosine → uracile; adénine → hypoxanthine)
- acidification cellulaire et dépurination

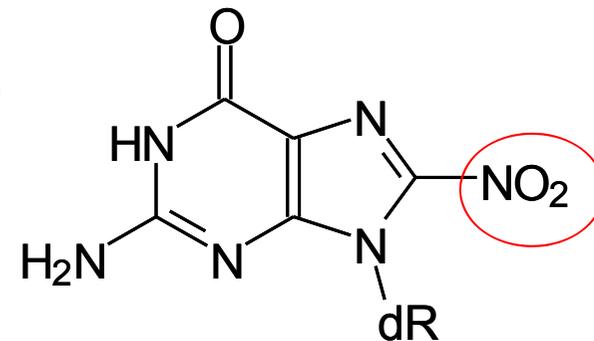
Exemple : l'inflammation est à l'origine d'espèces réactives de l'oxygène et d'espèces réactives du chlore et de l'azote elles aussi à l'origine de lésions de l'ADN



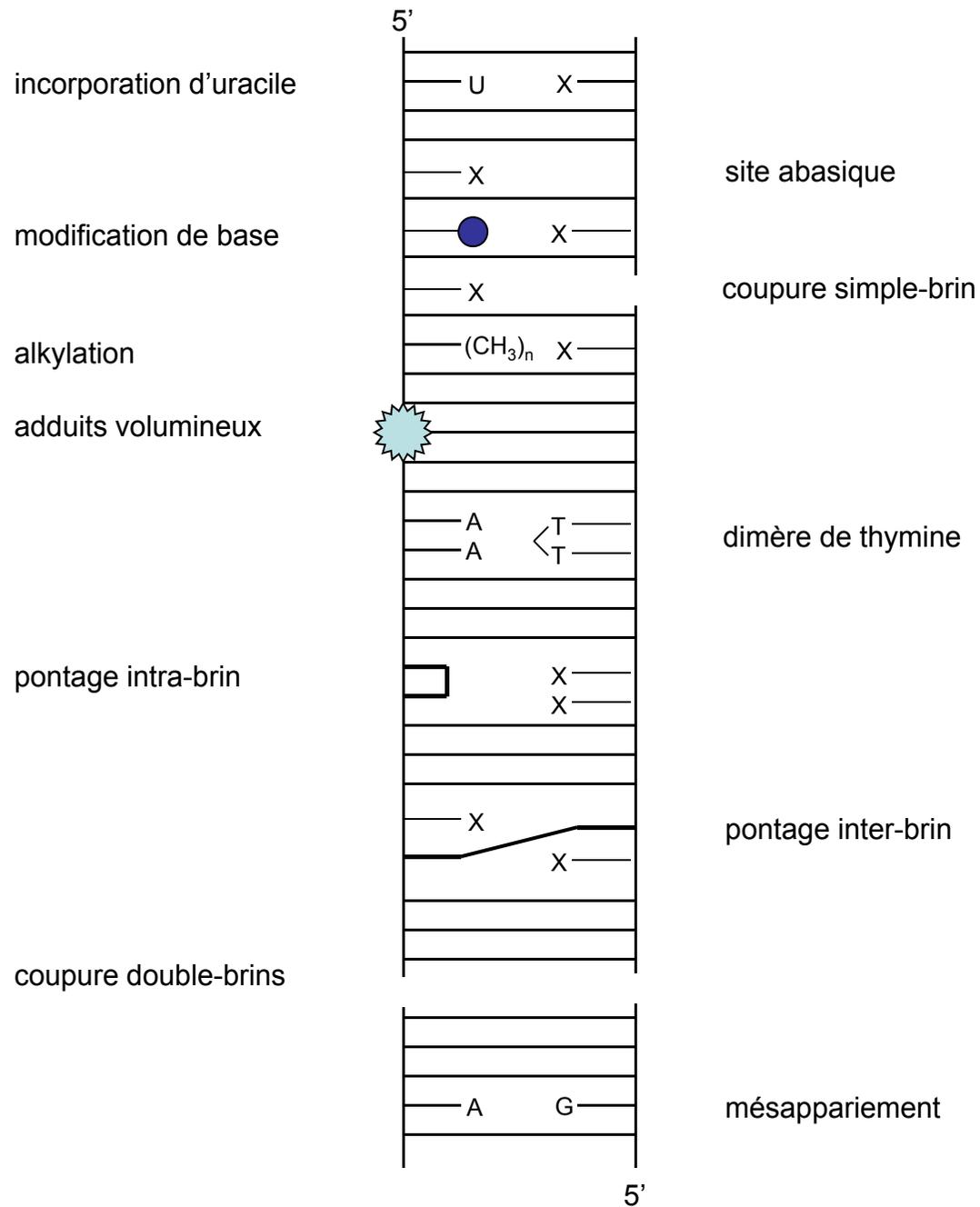
8-oxo G



5-chloro C



8-nitro G



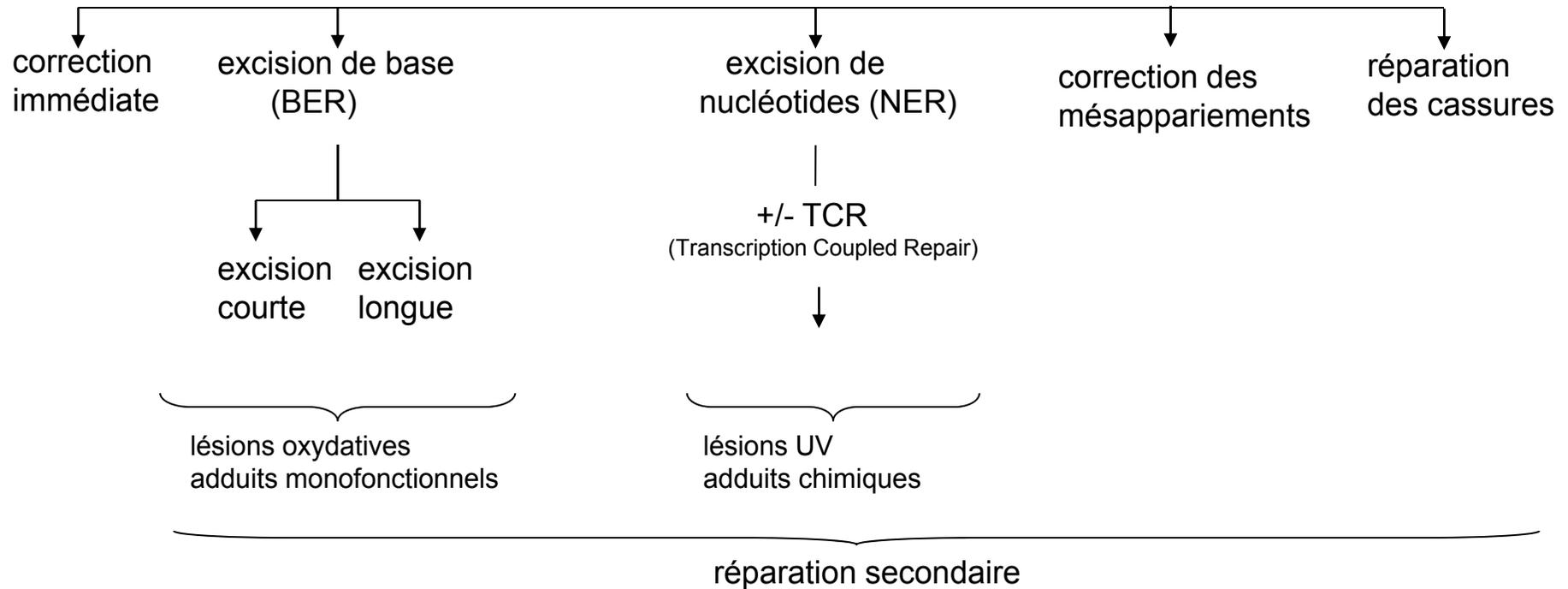
Principaux types de lésions de l'ADN

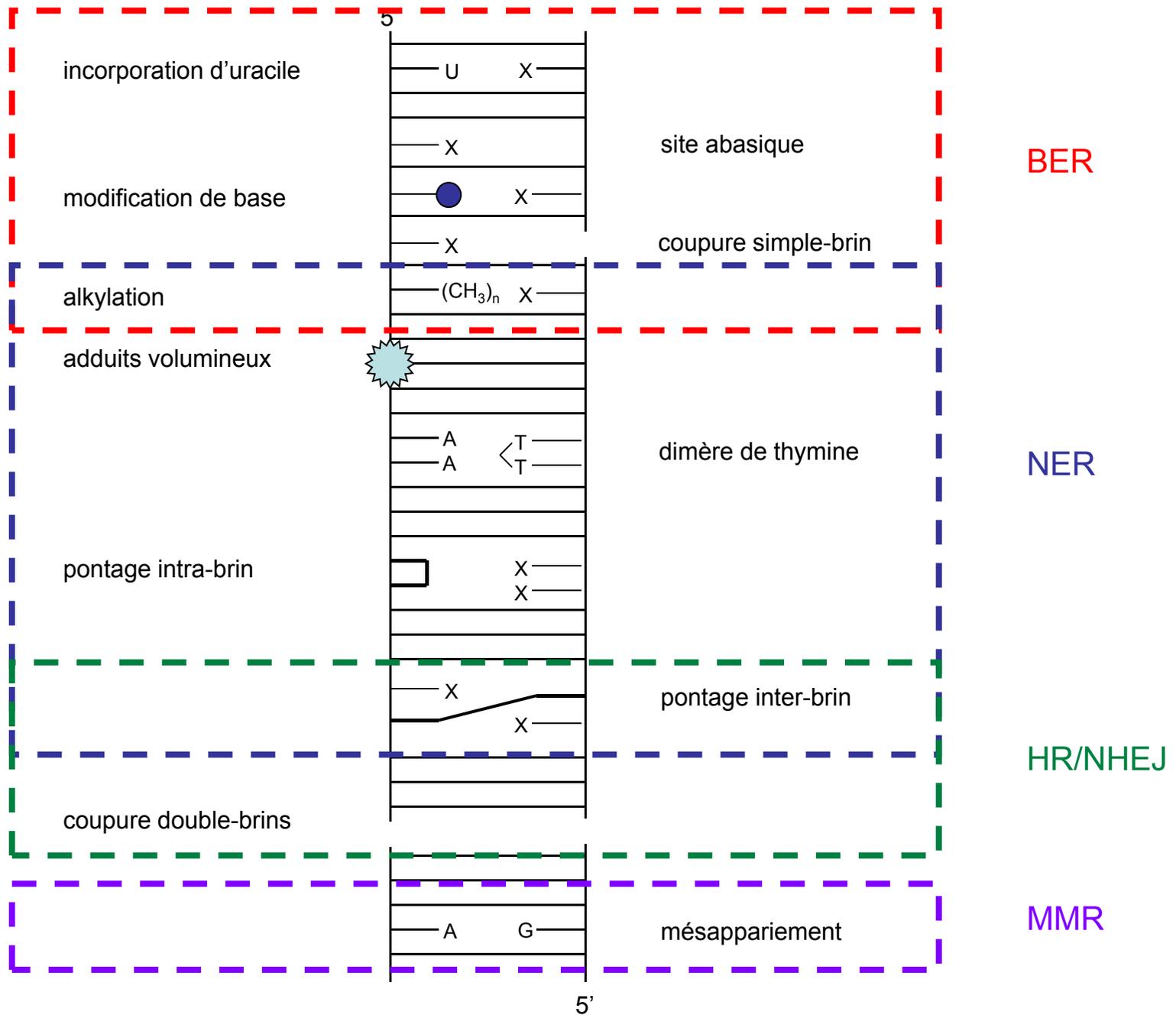
2. Correction des dommages

2.1. prévention

- superoxyde dismutase, catalase, peroxydases \longrightarrow $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , OH°
- antioxydants (NADPH, glutathion, vit E) \longrightarrow oxydation
- tampons physiologiques \longrightarrow acidification

2.2. mécanismes de correction

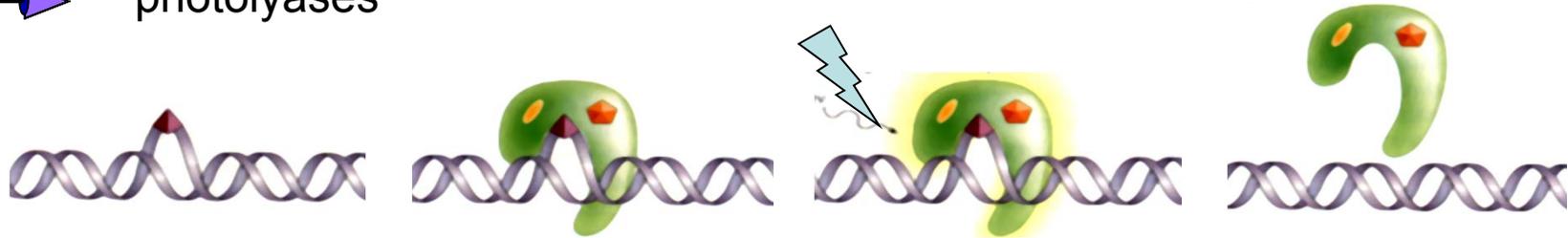




Principaux types de lésions de l'ADN

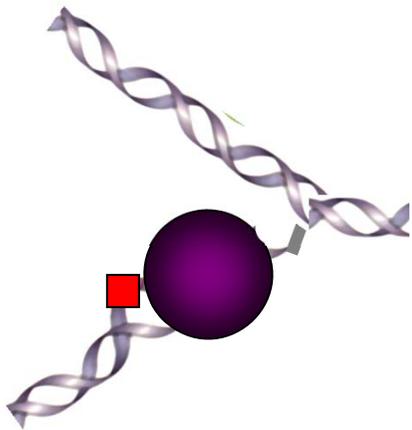
3. correction immédiate

→ photolyases

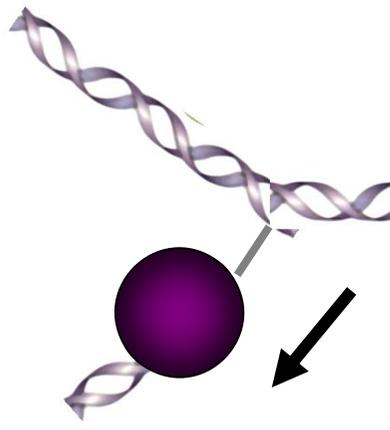


→ réversion directe par des alkyltransférases (ex: O⁶-méthylguanine- DNA méthyl transférase = MGMT)

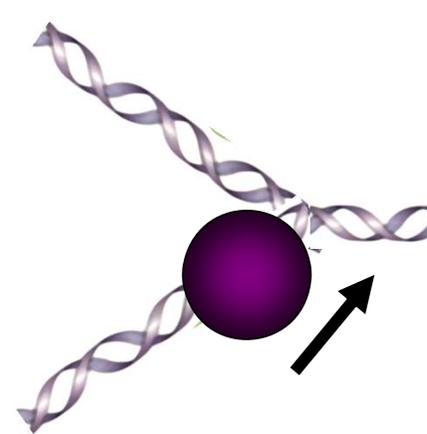
→ activité 3'-5' exonucléase des polymérase



erreurs d'incorporations
≈ 1/10⁴ pb vs 1/10⁸ pb final



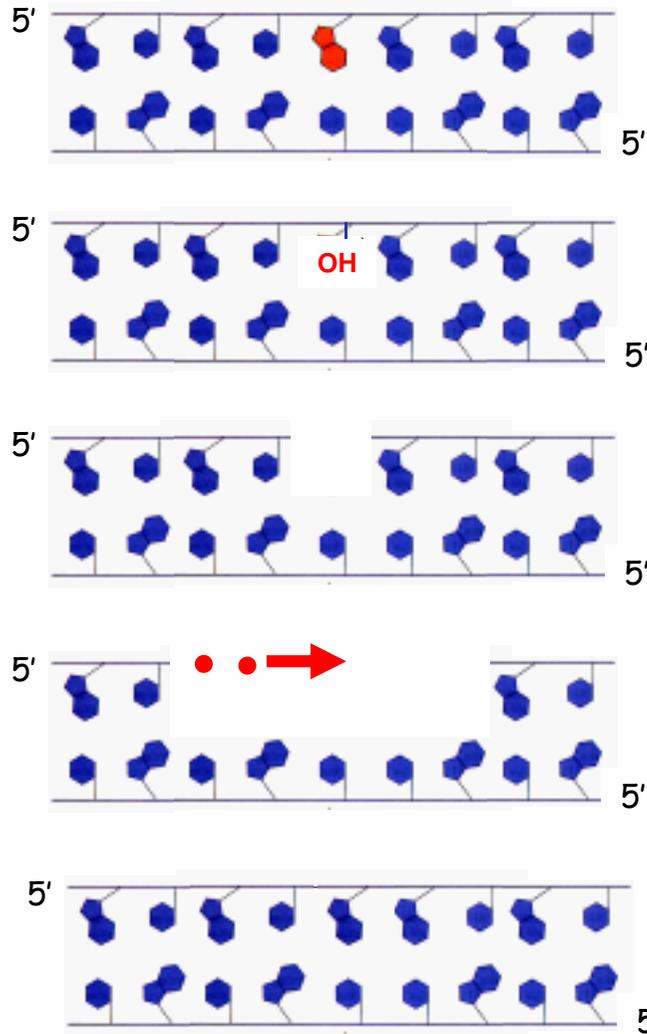
arrêt de la polymérase
activité 3'-5' exonucléase



reprise de synthèse 5'- 3'

4. correction secondaire

4.1. réparation par excision de bases (BER)



1. reconnaissance

- excision de la base par une glycosylase spécifique: formation d'un site AP (apurique/apyrimidique)
- coupure du brin d'ADN après reconnaissance du site AP par AP endonucléases

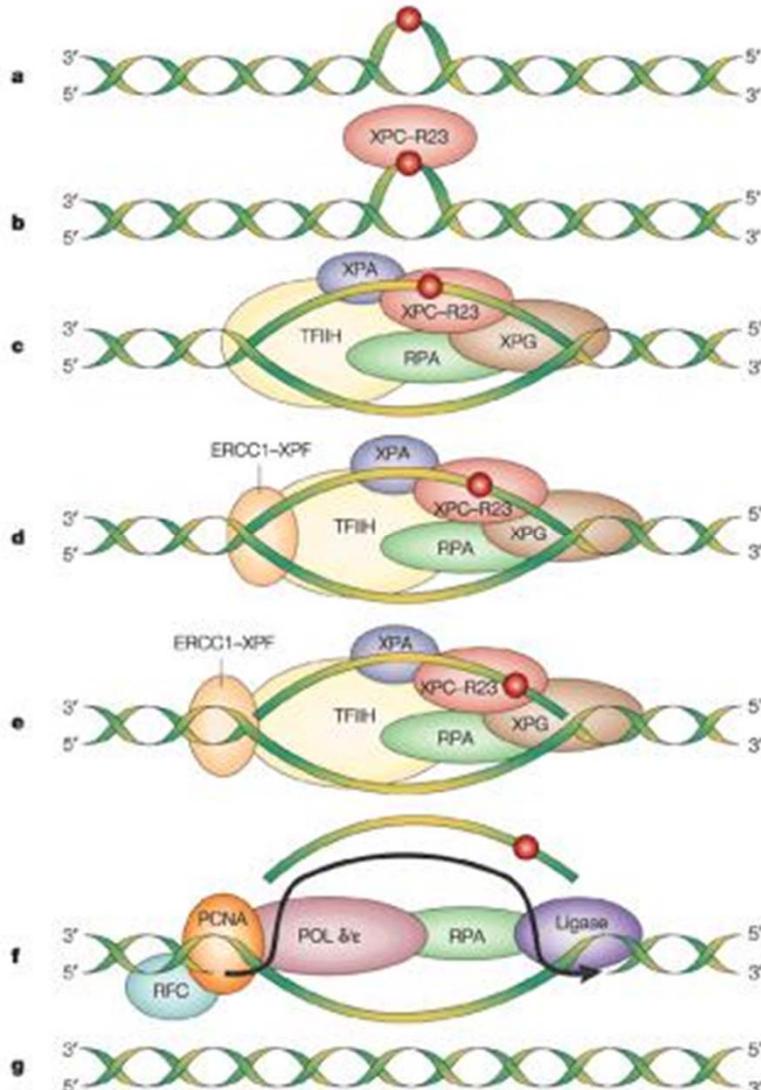
2.a - réparation « short patch » : ADN pol β , XRCC1

2.b - réparation « long patch » : exonucléases, ADN pol δ , PCNA, RF-C, FEN1 endonucléase

3. DNA ligase

4.2. réparation par excision de nucléotides (NER)

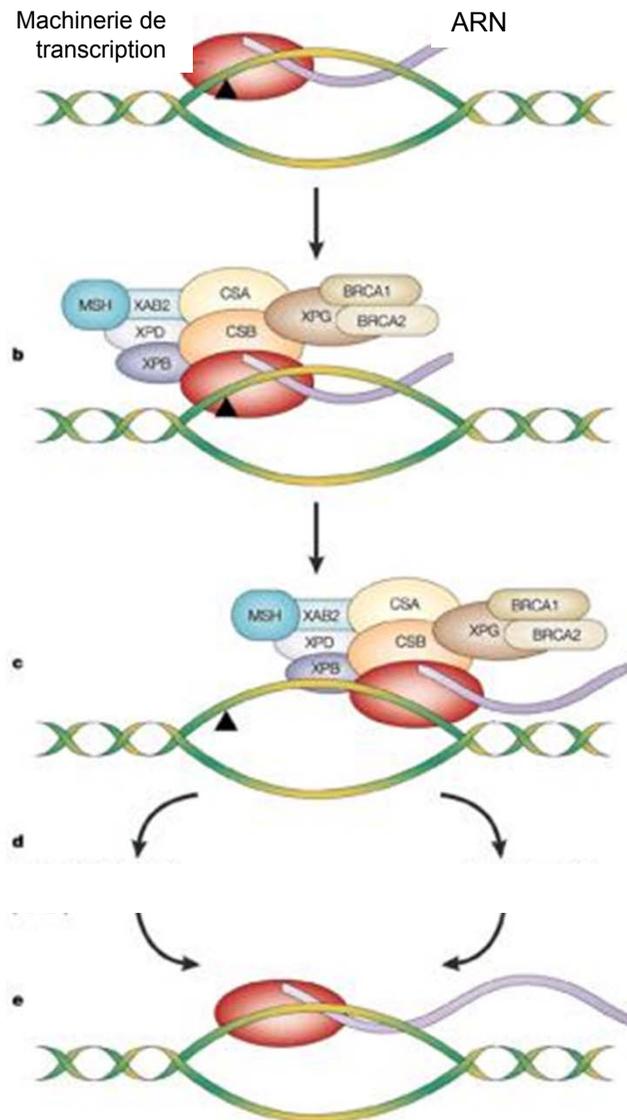
❖ *Global Genome Repair (GGR)*



1. phase de reconnaissance, d'ouverture du double brin et d'excision par le complexe excinuéase :
 - activité endonucléase ATP dépendante
 - ≈ 16 protéines chez l'homme (XPA---XPG, ERCC1---ERCC6, TFIIH...)

2. synthèse réparatrice et ligation (PCNA, DNA pol δ et ϵ , ligase)

❖ *Transcription Coupled Repair (TCR, réparation couplée à la transcription)*

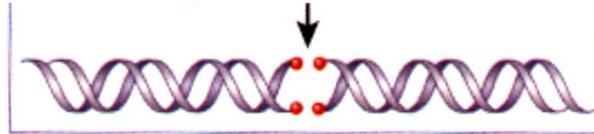


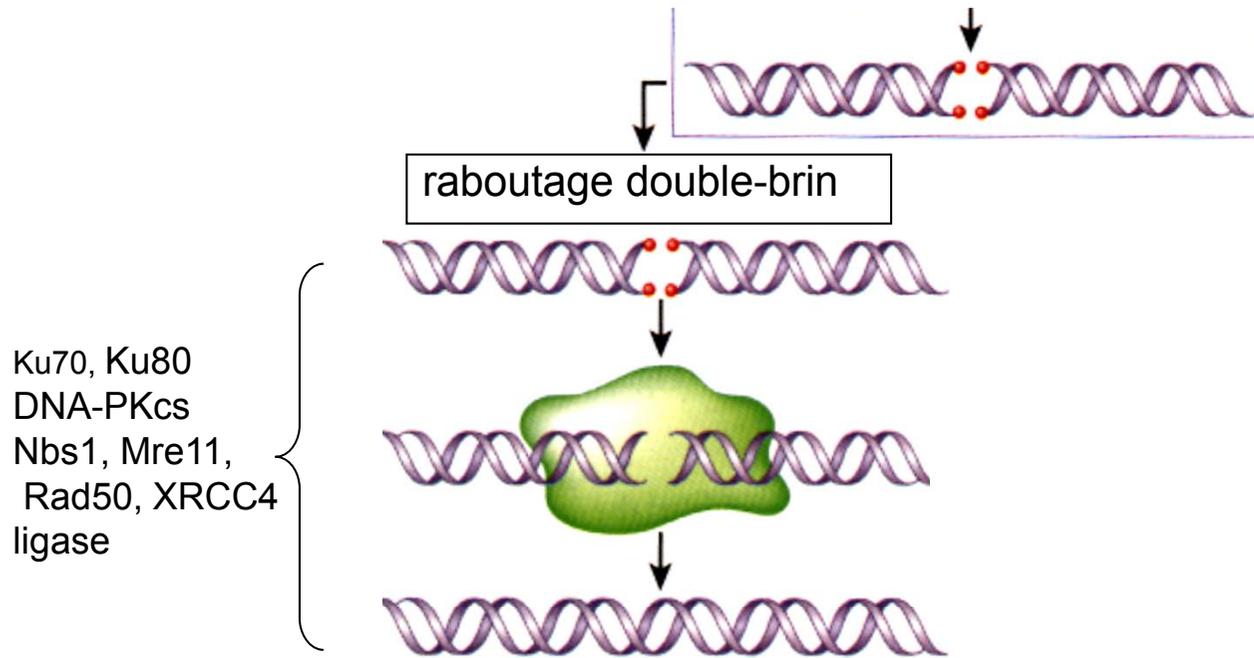
1. phase de reconnaissance de la lésion située sur le simple brin en cours de transcription par la machinerie de transcription

2. formation du complexe de réparation couplé à la transcription avec pause de la transcription

3. réparation avec mise en œuvre des facteurs protéiques responsables du NER puis synthèse réparatrice et ligation. reprise de la transcription

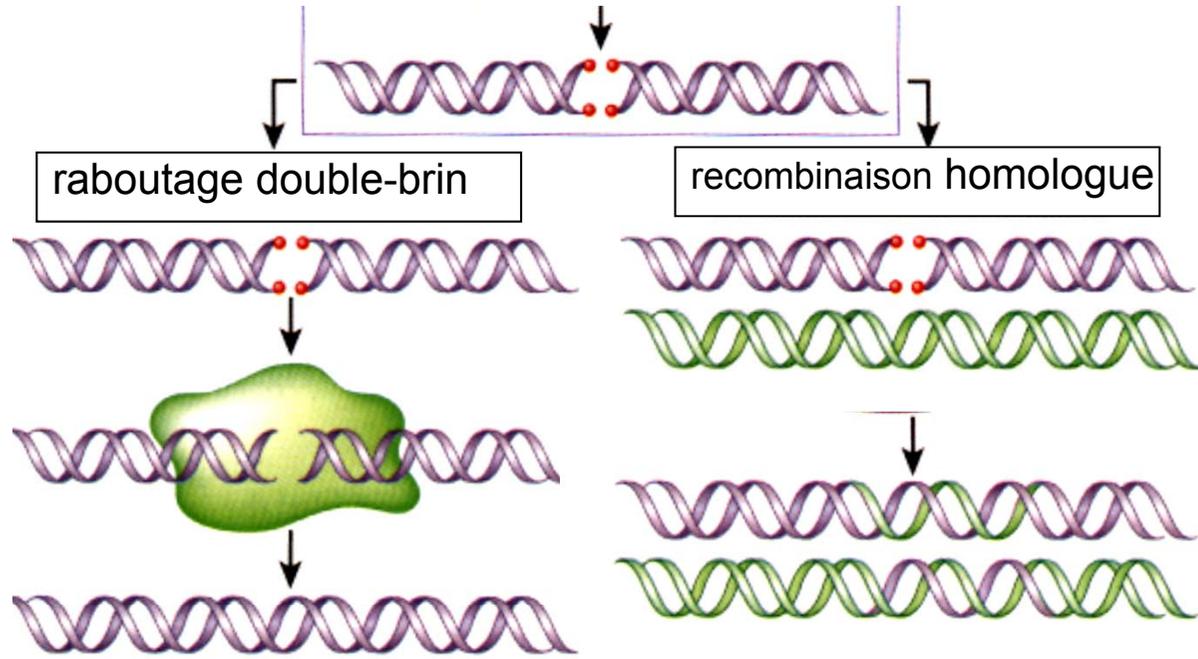
4.3. réparation des cassures double brin



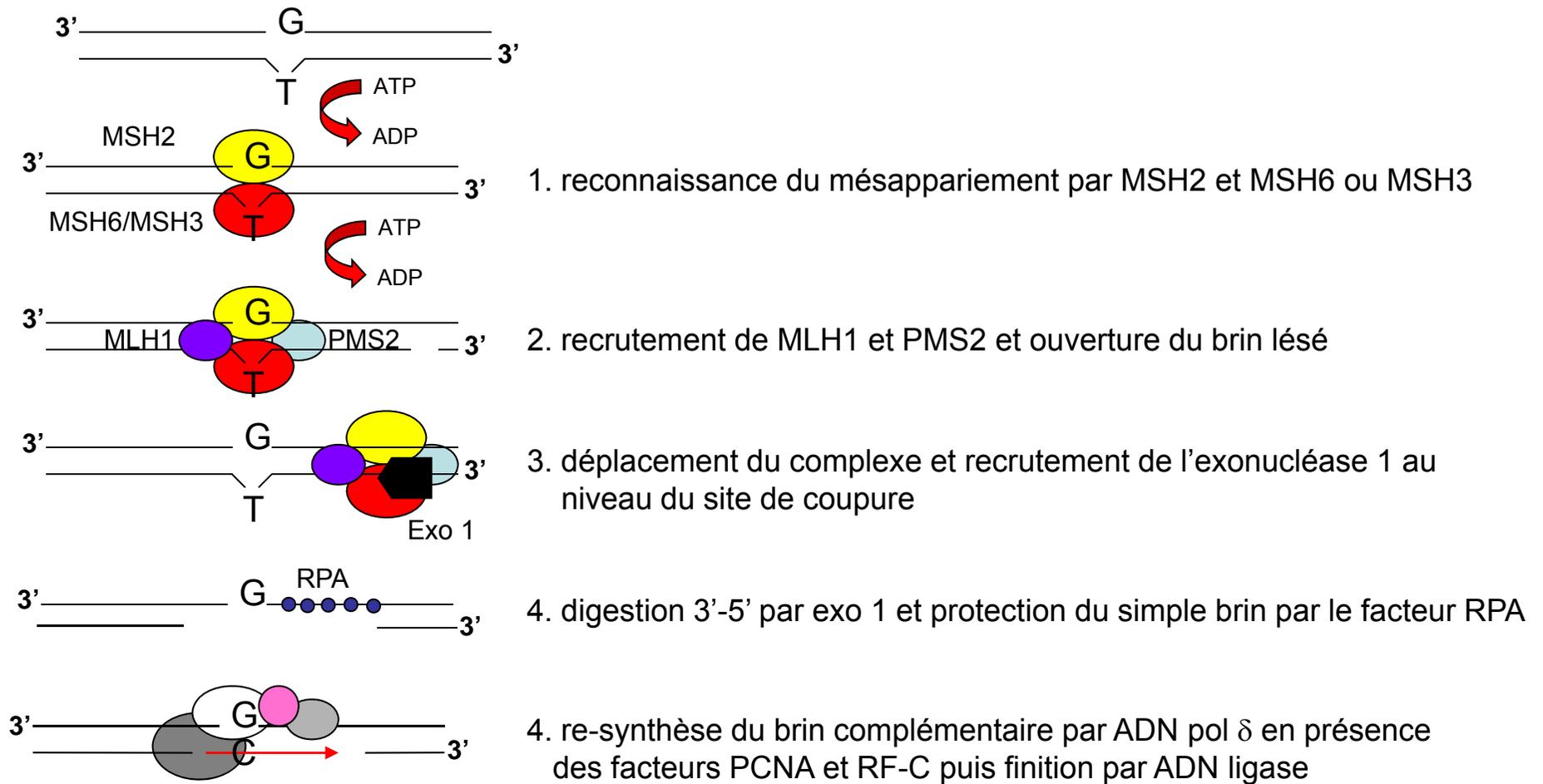


NHEJ: non homologous end joining

Ku70, Ku80
DNA-PKcs
Nbs1, Mre11,
Rad50, XRCC4
ligase

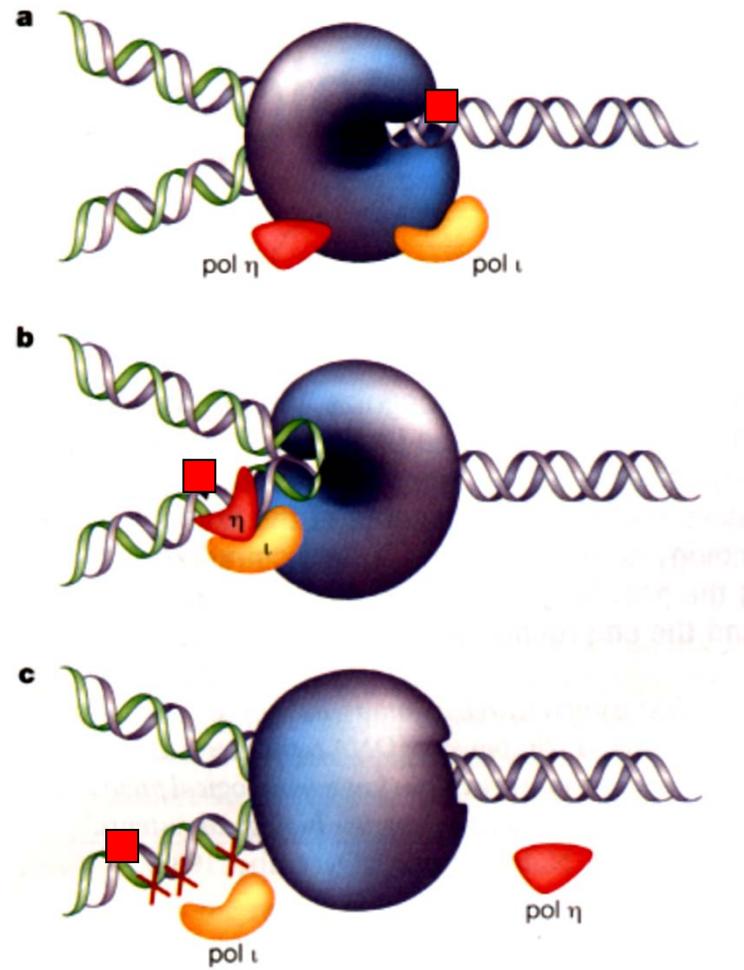


4.4. correction des mésappariements



Le mécanisme de correction des mésappariements avait été initialement décrit chez la bactérie (MutS = dimère MSH2-MSH6 Mut L = MLH1-PMS2) puis découvert chez les eucaryotes et l'homme

5. Polymérase translésionnelles ou « by pass » polymérase

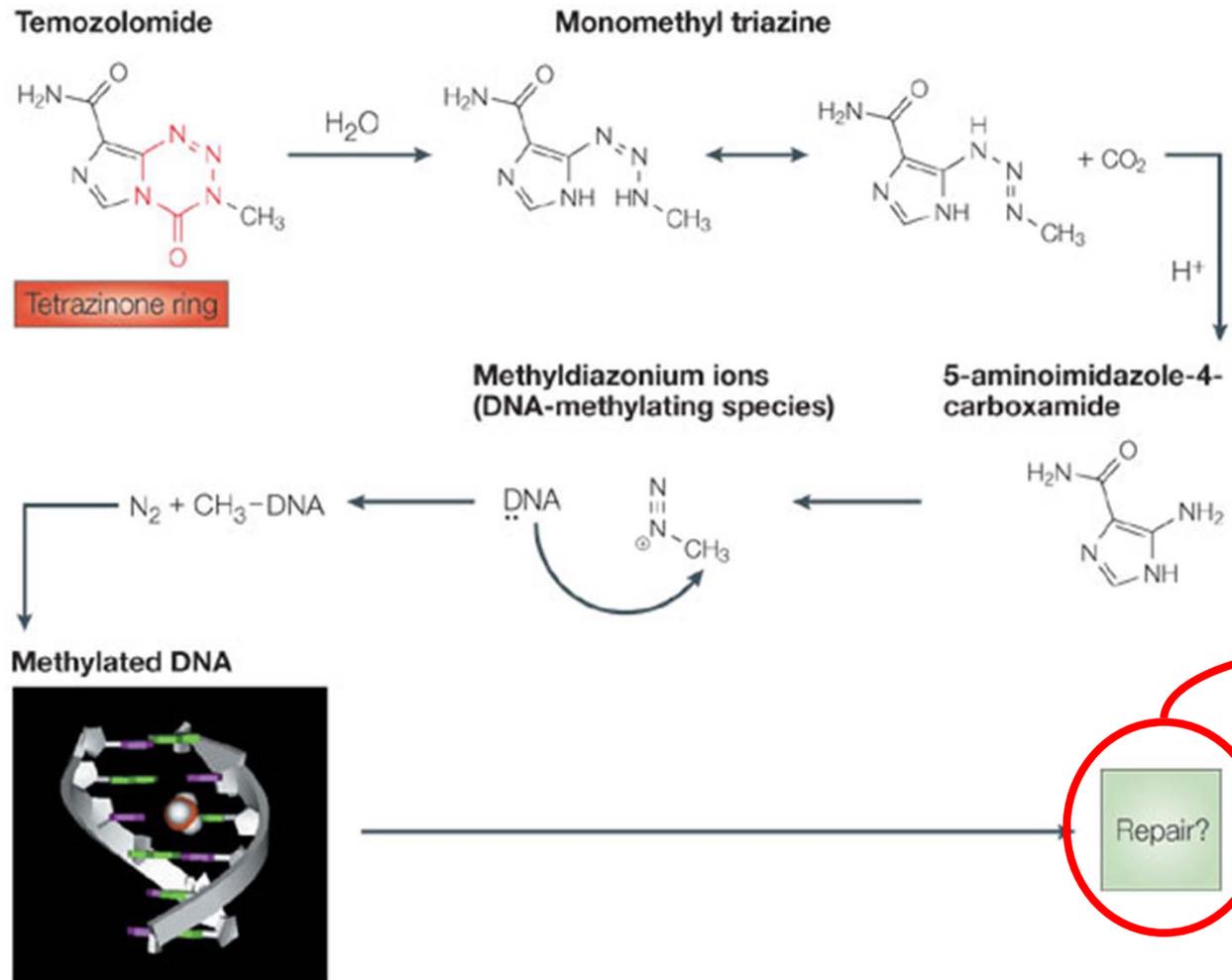




les déficits des systèmes de réparation sont à l'origine de prédispositions aux cancers

- mutation des gènes *XP* et sensibilité aux UV : xeroderma pigmentosum
- déficit du NER : syndrome de Cockaine, trichiodystrophie
- déficit des systèmes de réparation des cassures: syndrome de Bloom, syndrome de cassure de Nijmegen
- déficit des systèmes de réparation des mésappariements (gènes MLH1, MSH2, MSH6 ...) : HNPCC
- déficit des systèmes de reconnaissance:
 - gène ATM & ataxie téléangiectasique
 - mutation du gène *p53* & tumeurs multiples
- déficit du contrôle du cycle cellulaire : gènes BRCA1, BRCA2 & cancers du sein

+ La réparation de l'ADN : facteur de résistance vis-à-vis de certains anticancéreux



Une réparation trop importante peut diminuer l'efficacité du traitement

II. Variations de l'ADN

1. Type de variants moléculaires

❖ réarrangements chromosomiques : trisomies, translocations...

❖ modifications « ponctuelles »

- substitutions : A ou G > T ou C = transversion

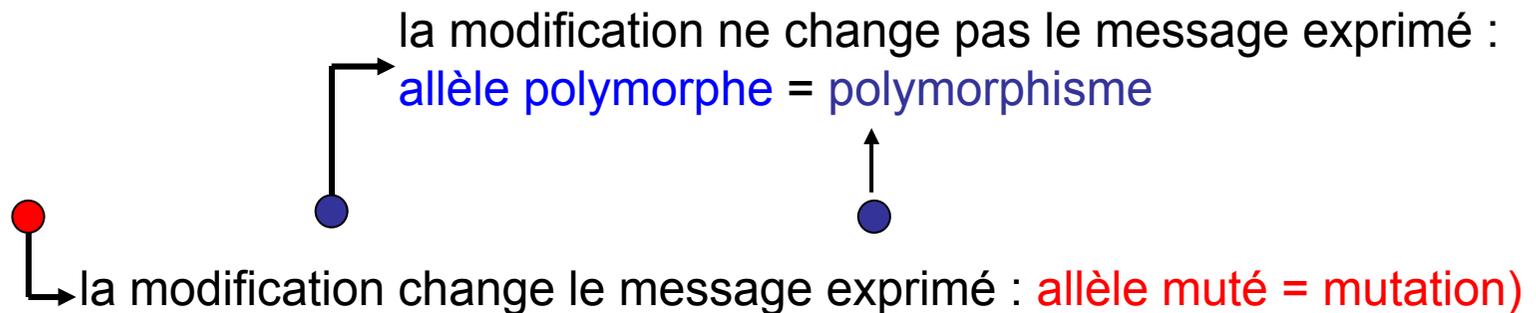
A > G, C > T = transition

- délétions (del) : 1 à plusieurs milliers de pb

- insertions (ins) : 1 à plusieurs milliers de pb

❖ population générale : ≈ 1 variation / 2000 pb soit $\approx 2\,000\,000$ au total par génome haploïde !

2. Conséquence d'une variation : mutation vs polymorphisme



3. Polymorphismes fréquents

3.1. Les SNPs (pour Single Nucleotide Polymorphism) : variation d'1 nucléotide
(\approx 1 tous les 2-3000 pb !)

5'--ATCGCTATC---
--TAGCGATAG--5'

ou

--ATCGATATC---
--TAGCTATAG--

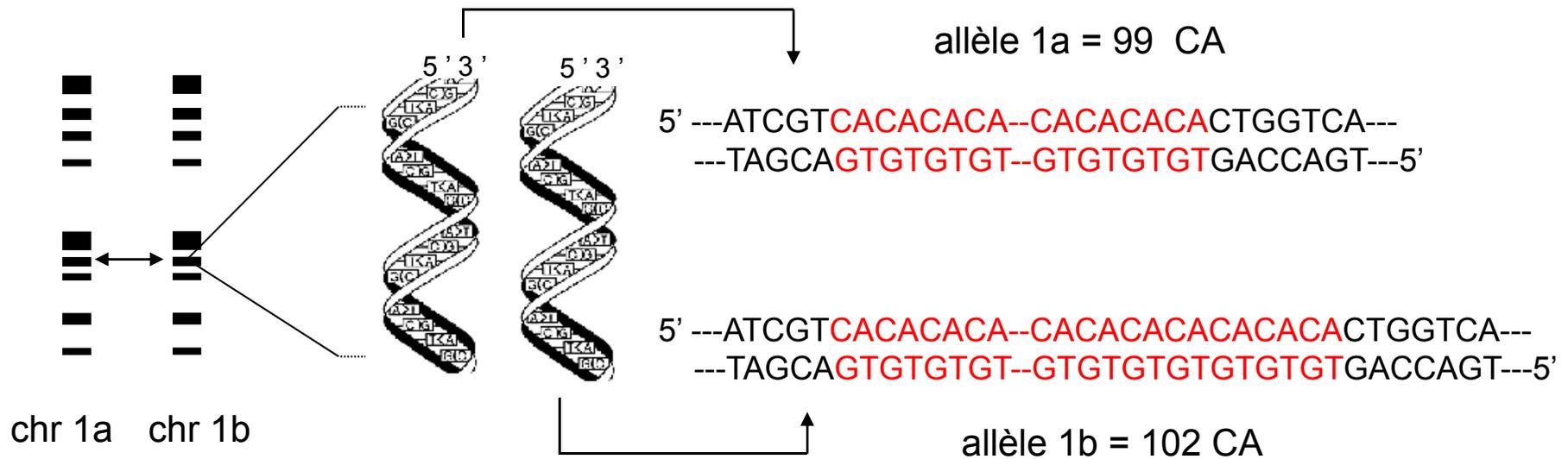
séquence de référence

séquence polymorphe C > A

La modification peut éventuellement altérer le site de reconnaissance d'un enzyme de restriction : polymorphisme de restriction (voir chapitre 8)

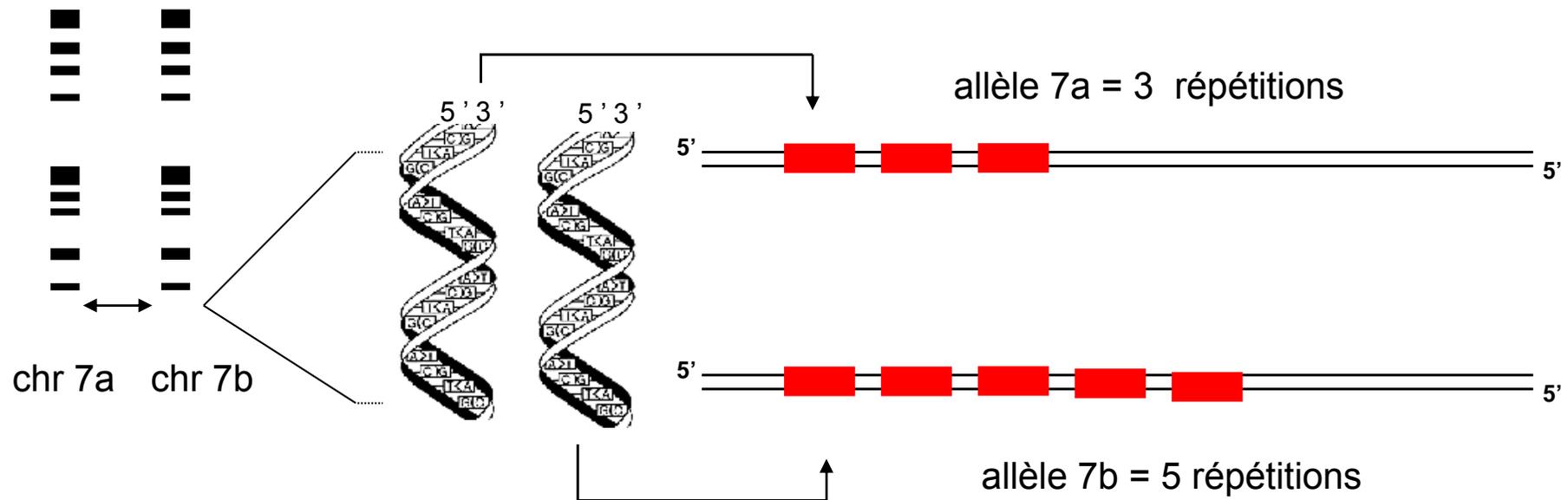
Si la présence d'un polymorphisme donné chez un individu se révèle sans conséquence sur l'expression du message génétique, la présence simultanée de plusieurs polymorphismes particuliers peut dans certains cas s'accompagner d'une modification de l'expression génétique: on parlera alors de polymorphismes modificateurs...

3.2. Les polymorphismes de répétitions de type microsatellites



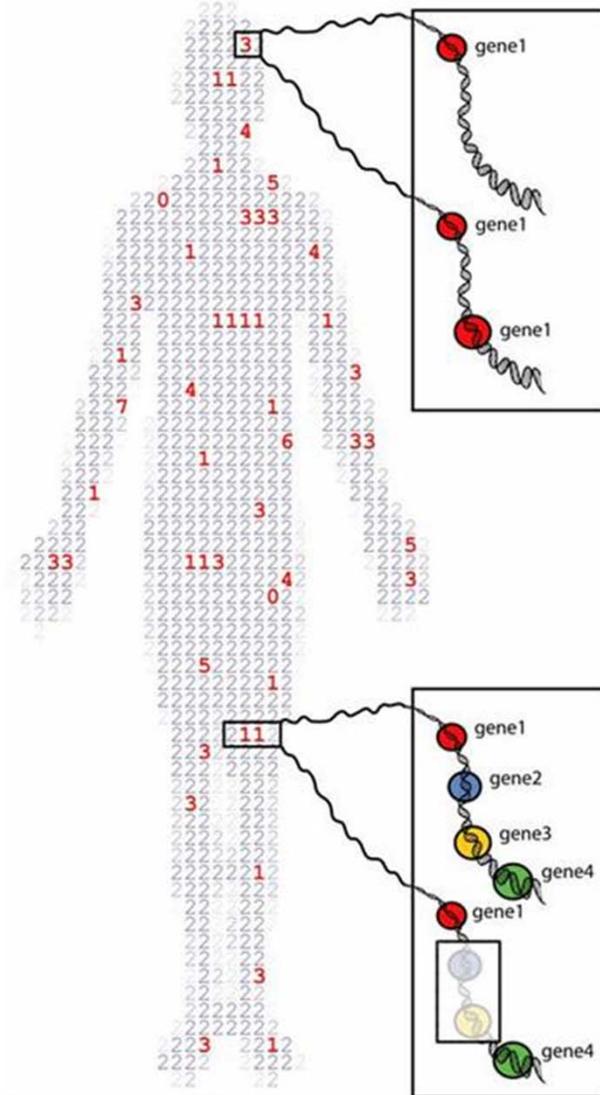
- groupe des VNTR courts (Variable Number Tandem Repeats)
- motifs de 2, 3 ou 4 nucléotides
- nombreux (> 50 000 dans le génome humain)
- le nombre de répétition varie suivant le microsatellite étudié
- le nombre d'allèles est généralement compris entre 2 et 10
- le nombre de répétitions ne varie généralement pas lors de la transmission
- les séquences de part et d'autre du microsatellite sont en principe identiques pour les différents allèles d'un microsatellite et permettent l'analyse du nombre de répétitions par amplification PCR et séquençage (voir chapitre 8)

3.3. Les polymorphismes de répétitions de type minisatellites



- groupe des VNTR longs (Variable Number Tandem Repeats)
- séquences de 9 à 80 de paires de bases
- un motif central récurrent riche en GC
- le nombre de répétition varie suivant le mini satellite étudié
- le nombre de répétitions ne varie généralement pas lors de la transmission entre 2 générations
- concentrés à 90% chez l'homme au niveau des extrémités télomériques et sub-télomériques

3.4. La variabilité du nombre de copies (ou CNV pour Copy Number Variation)

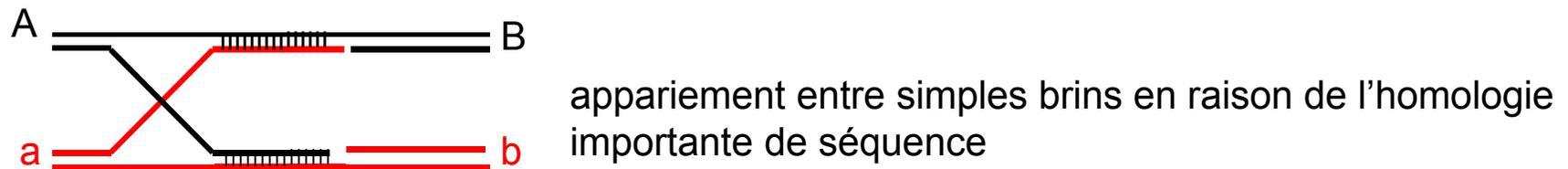
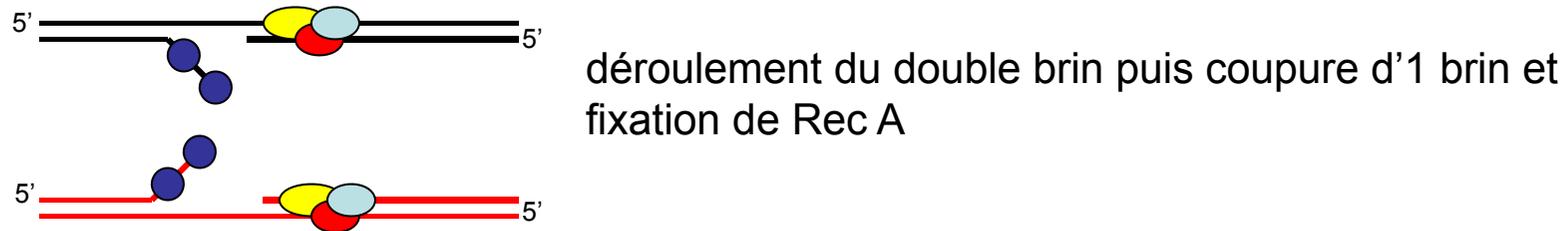
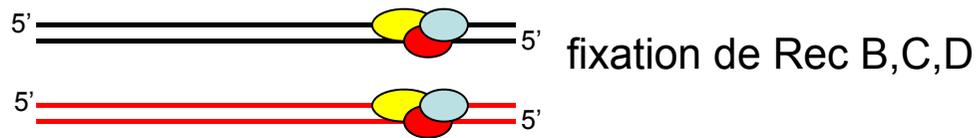
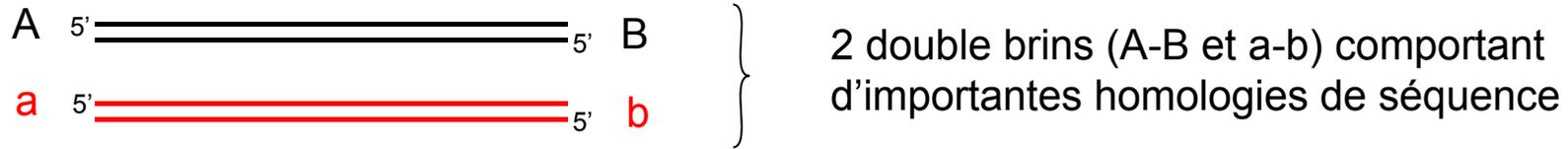


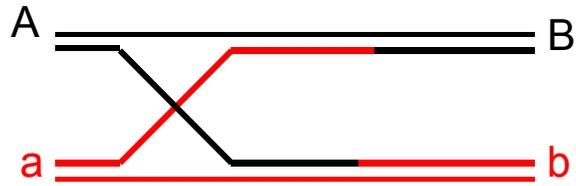
Copy number variation in the human genome

- polymorphisme dans lequel le nombre de copies d'un gène dans le génome est variable entre les individus de la même espèce
- les CNV ont pour origine des événements de duplication ou de délétion
- le nombre de copie d'un gène peut être soumis à la sélection et participer ainsi à l'évolution

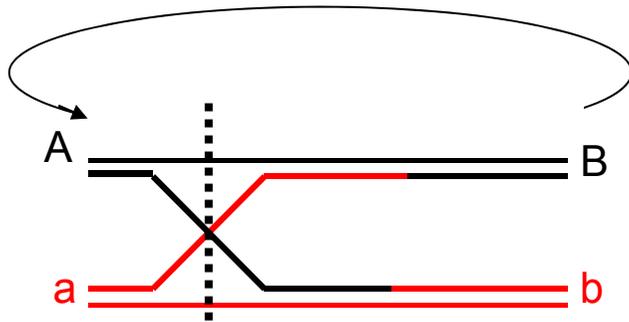
III. Recombinaison

1. Recombinaison générale : modèle procaryote

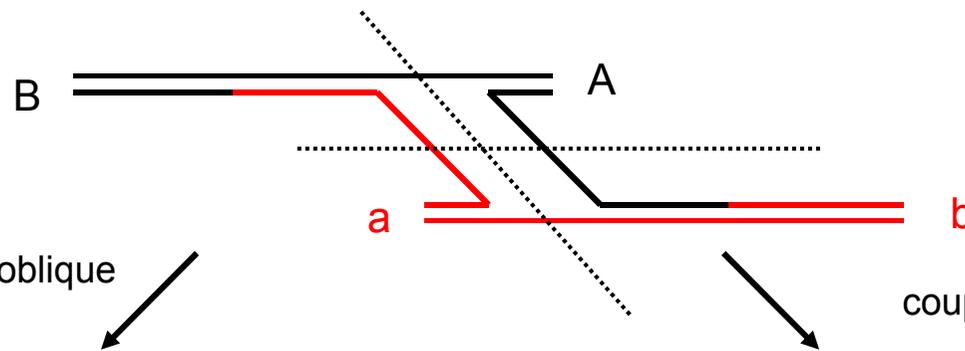




structure en
chi de Holliday



rotation de 180° de A-B



coupure dans le plan oblique

coupure dans le plan horizontal



ADN recombiné (a-B et A-b)



échange partiel d'une partie de simple brin

2. Modèle eucaryote de recombinaison homologue lors de la méiose

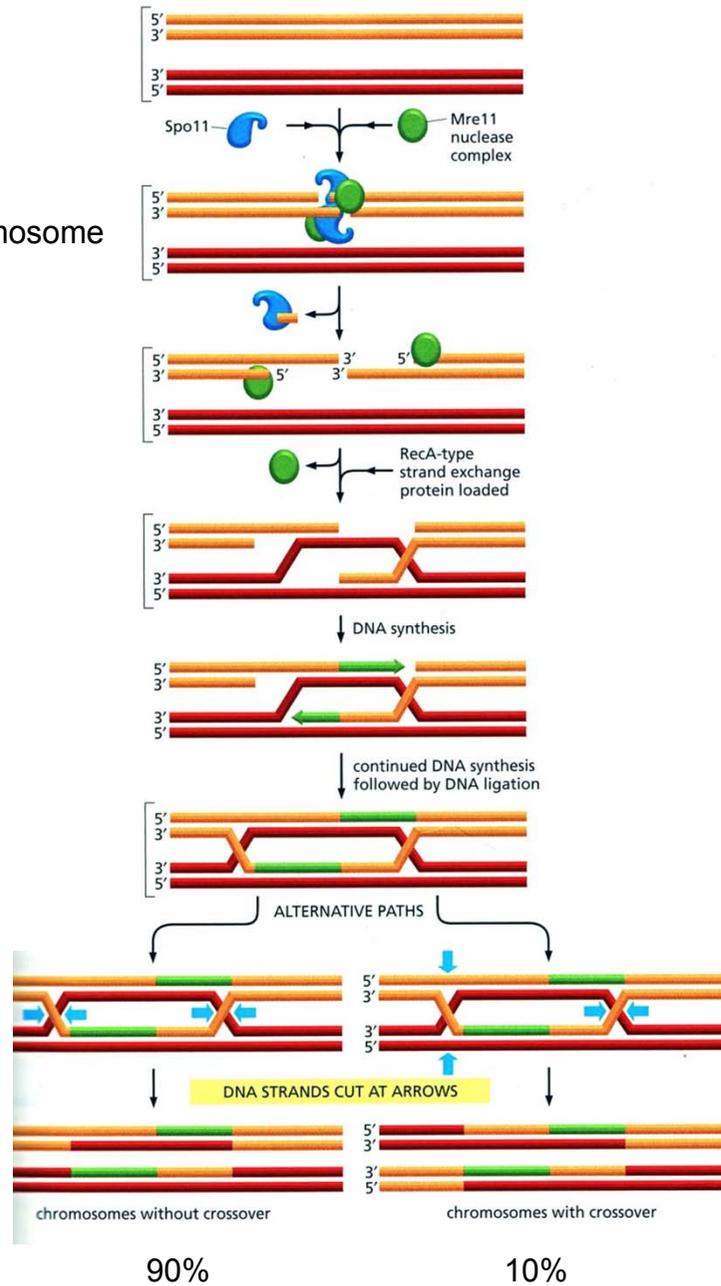
Chromosomes homologues appariés

Intervention de protéines spécifiques

Coupure des 2 brins au niveau d'un chromosome

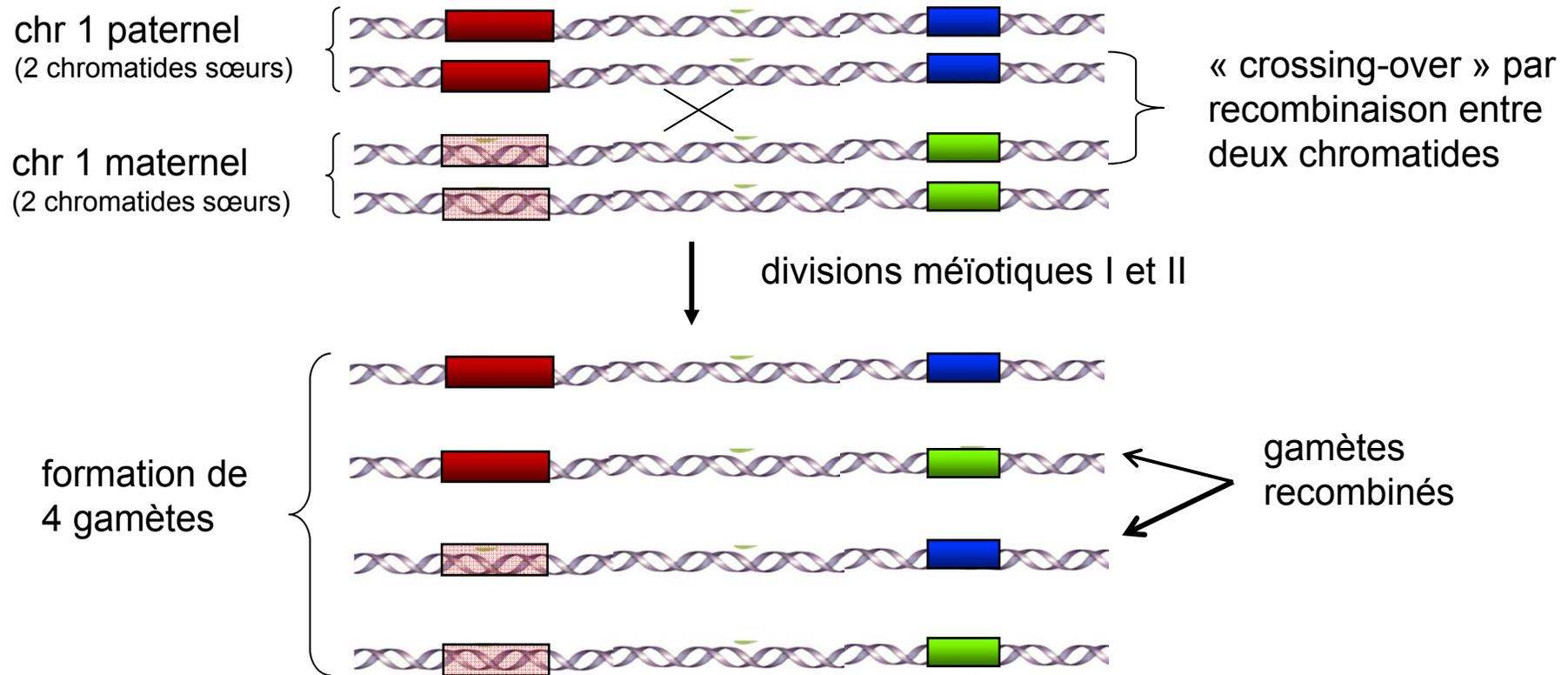
Activité exonucléase

Double jonction de Holliday



Chez l'homme :

❖ Recombinaison lors de la prophase méiotique chez l'homme



- ≈ 60 recombinaisons / méiose pour les $2n$ chromosomes
- existence de « points chauds » de recombinaison
- distance génétique : f (nb de recombinaisons vs nb de méioses)

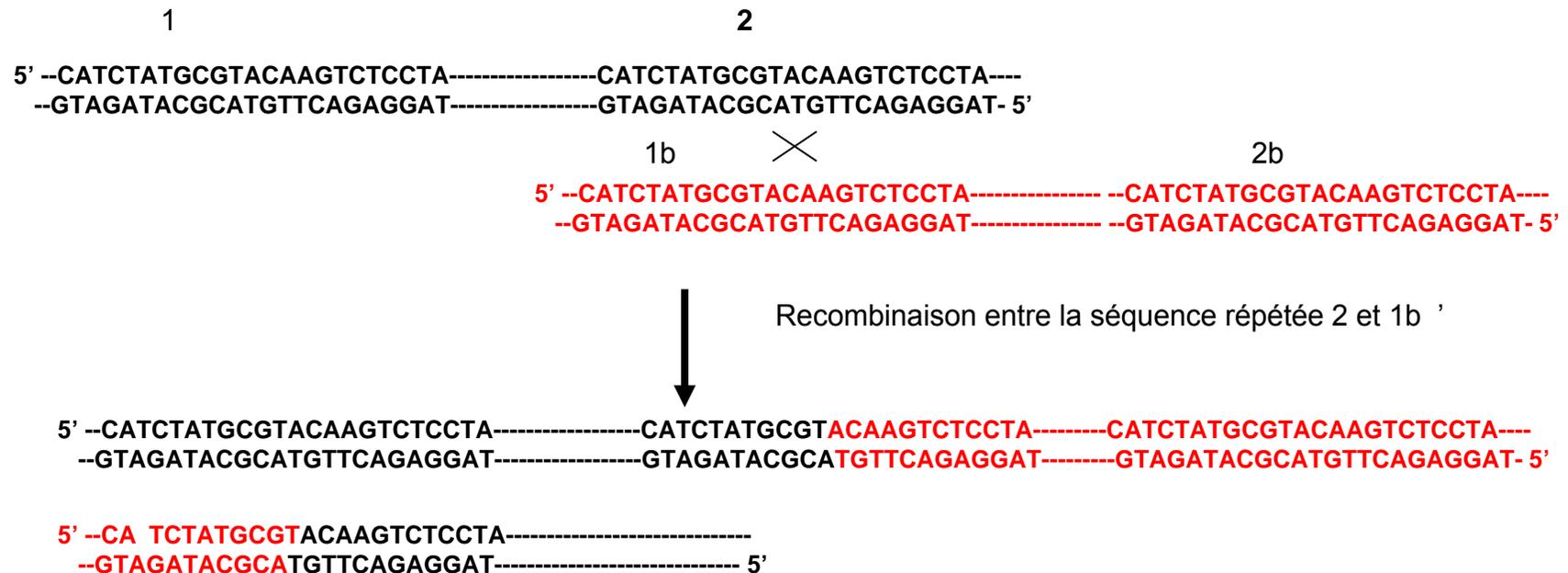
❖ recombinaison lors de la mitose: accidentelle, rare

❖ recombinaison équilibrée et recombinaison non équilibrée

- recombinaison équilibrée : la quantité de matériel échangé est la même

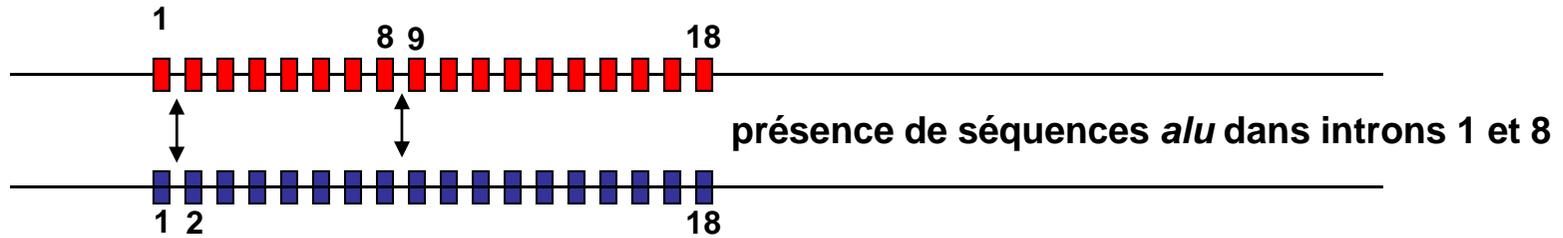


- recombinaison non-équilibrée

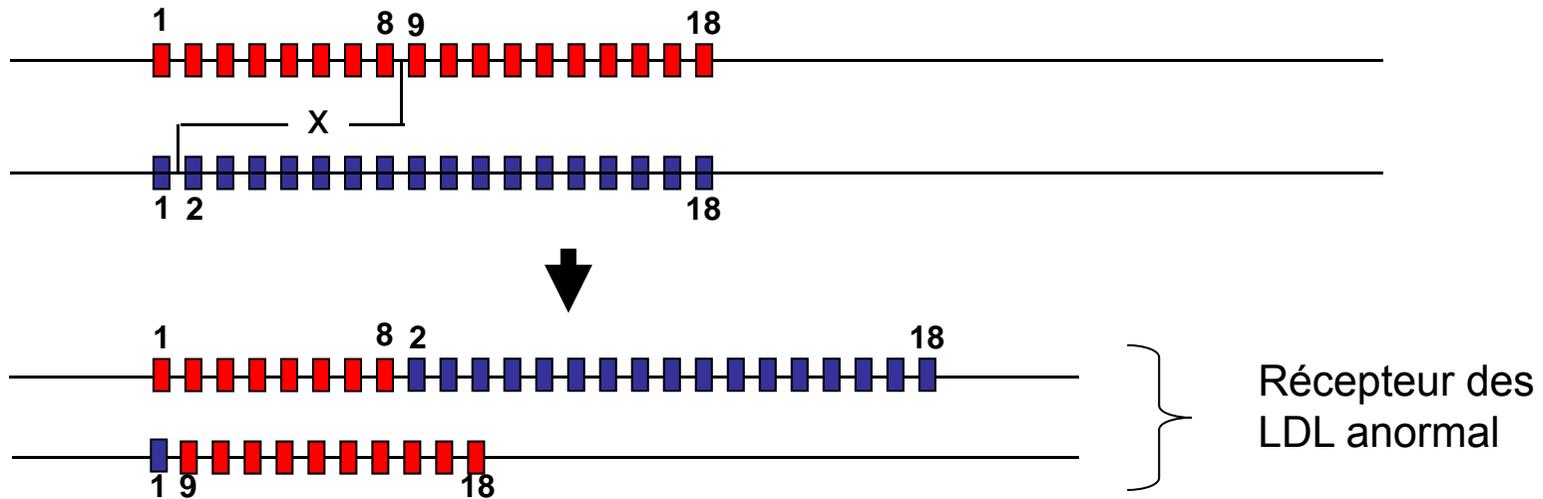




Une recombinaison non équilibrée au niveau du gène du récepteur des LDL est à l'origine de certaines formes d'hypercholestérolémie familiale :

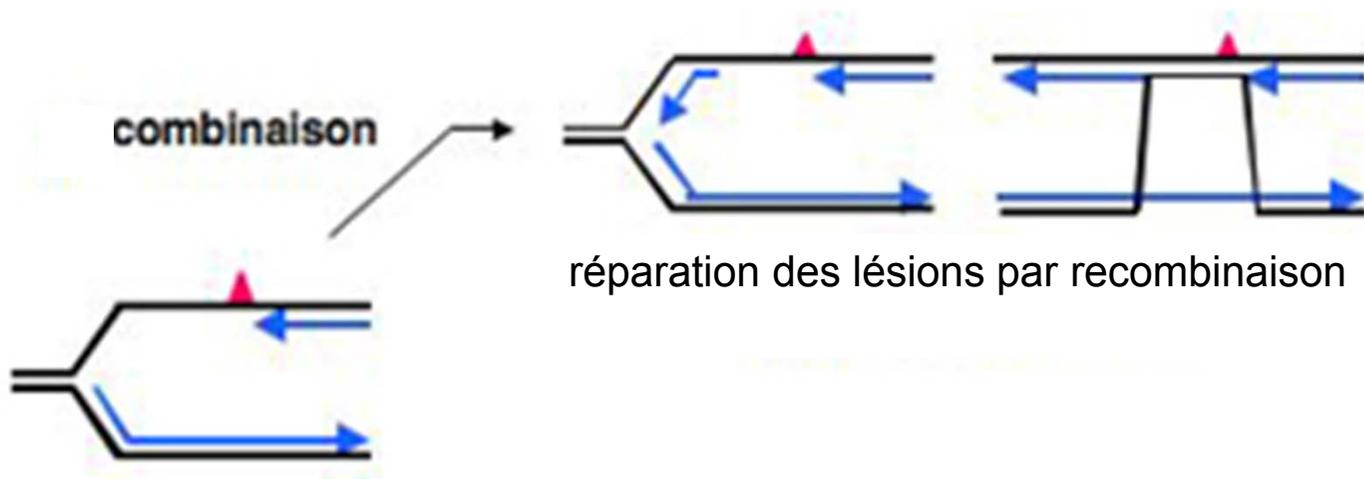


si une recombinaison survient entre la séquence *alu* de l'intron 8 et celle de l'intron 1:



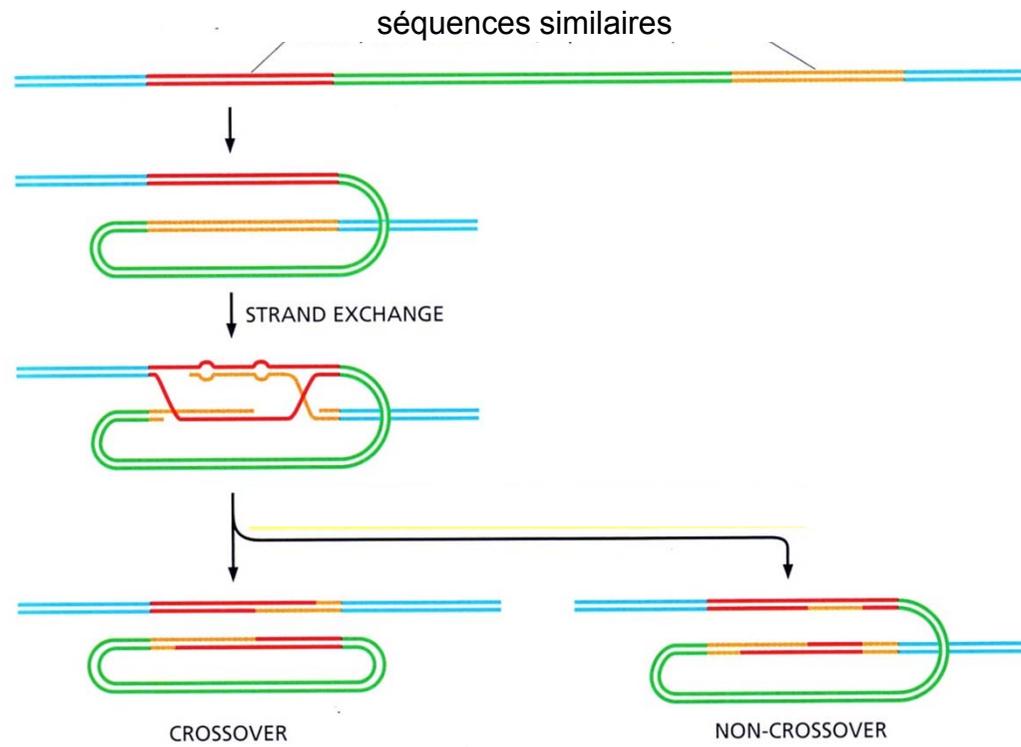
3. Recombinaison homologue et mécanismes de réparation

- cassures double brin, pontages inter brins
- nombreux facteurs impliqués : Mre11, BRCA2, Dmc1, Rad 50,51,52,54, Hop2, Mnd1 ...

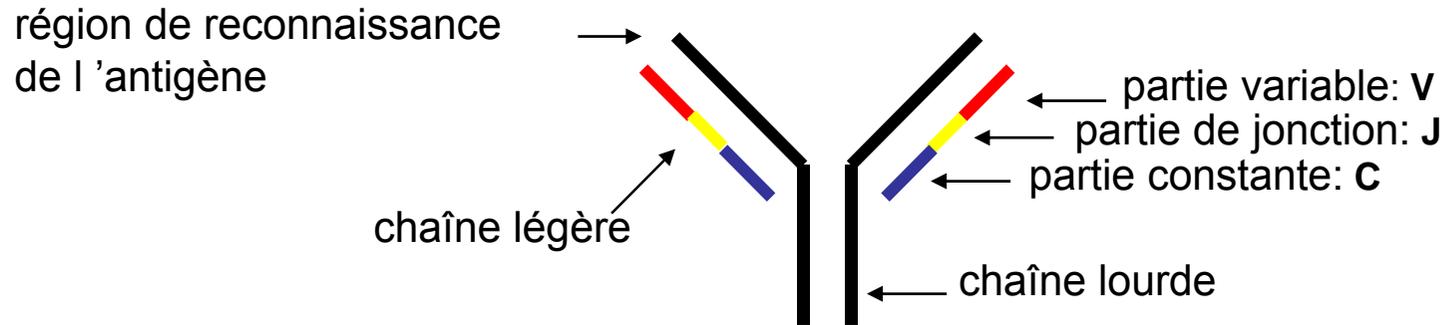


recombinaison réparative post-réplicationnelle

4. Recombinaison sur le même double brin d'ADN

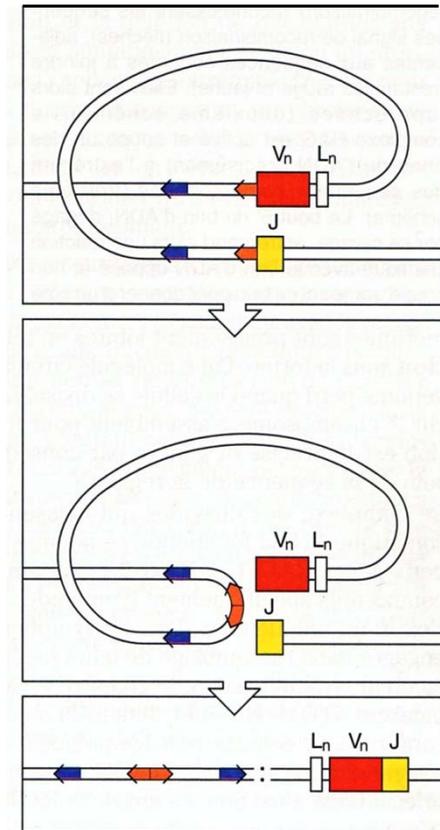
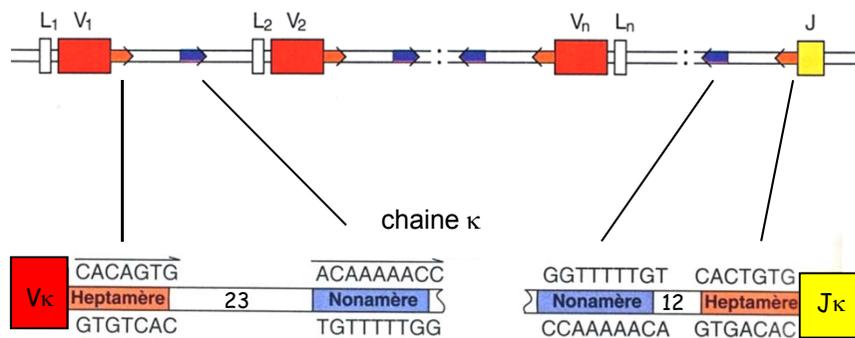
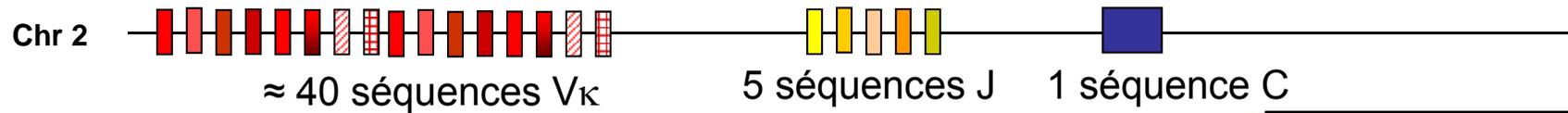


❖ Une recombinaison spécialisée est à l'origine de la grande diversité des immunoglobulines nécessaire à la reconnaissance des nombreux antigènes auxquels est confronté l'organisme

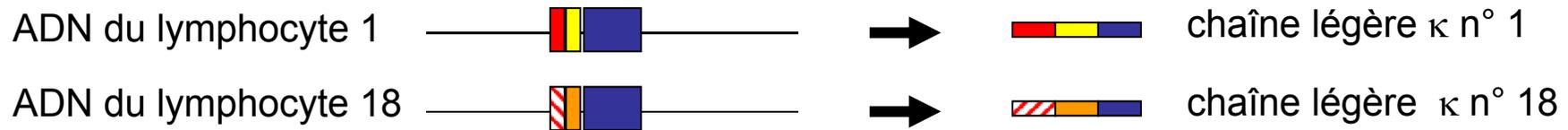


nombreux antigènes → nécessité de nombreux anticorps → nombre de gènes ?

Exemple de la synthèse des chaînes légères de type κ



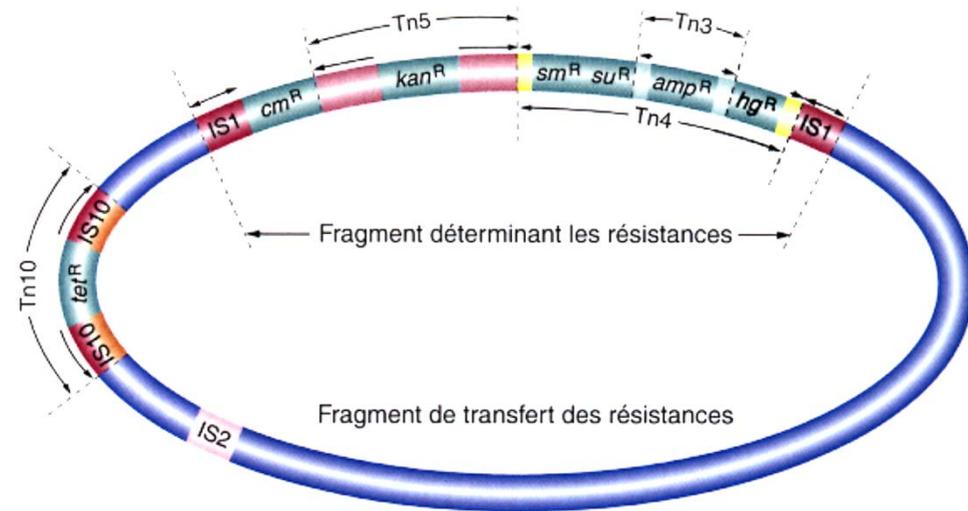
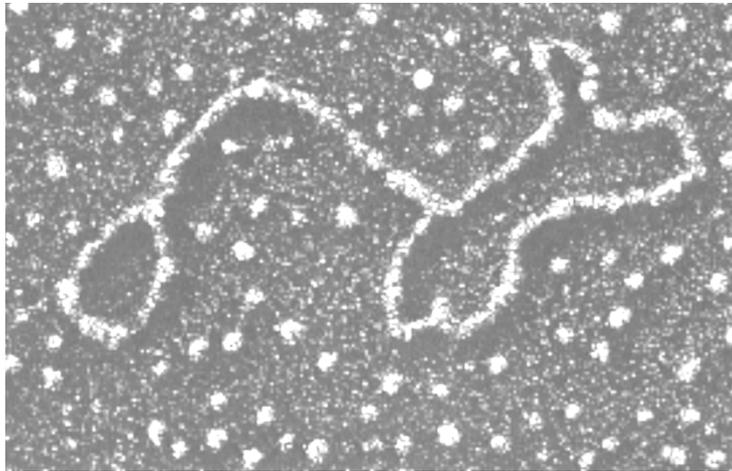
réarrangement somatique dans les lymphocytes par recombinaison



➡ nombreuses combinaisons possibles ...

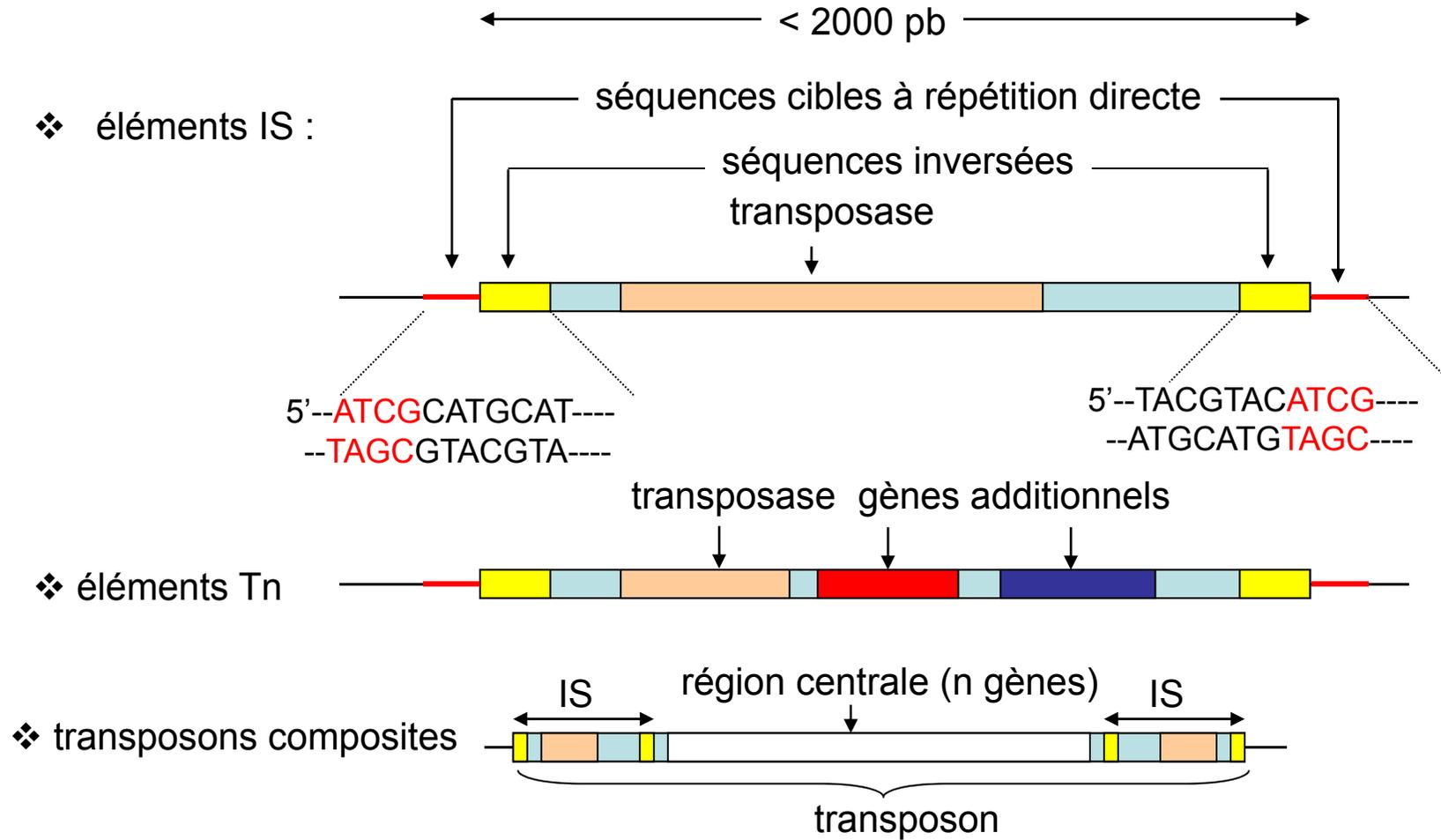
IV. Transposition

- ❖ éléments mobiles de contrôle chez le maïs
- ❖ transposons procaryotes et résistance aux antibiotiques



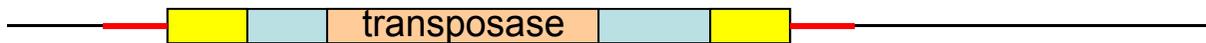
- ❖ transposons des cellules eucaryotes
 - éléments P
 - transposons d'ADN, rétrotransposons

1. Transposition d'ADN



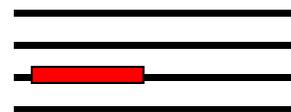


Position A

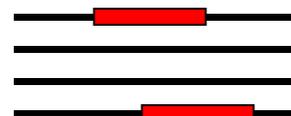


Position B

 type de transposition

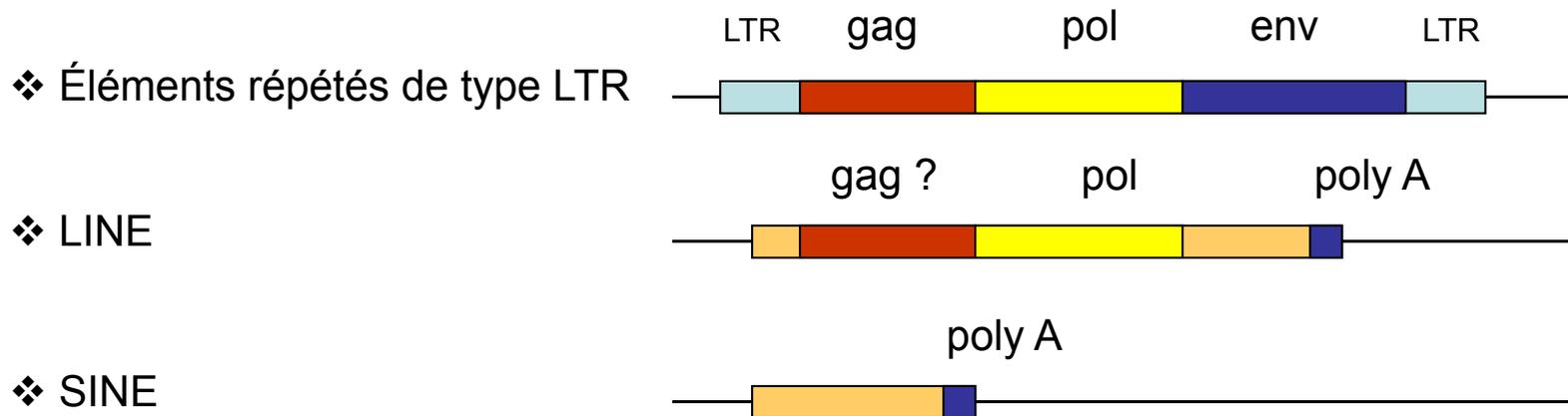
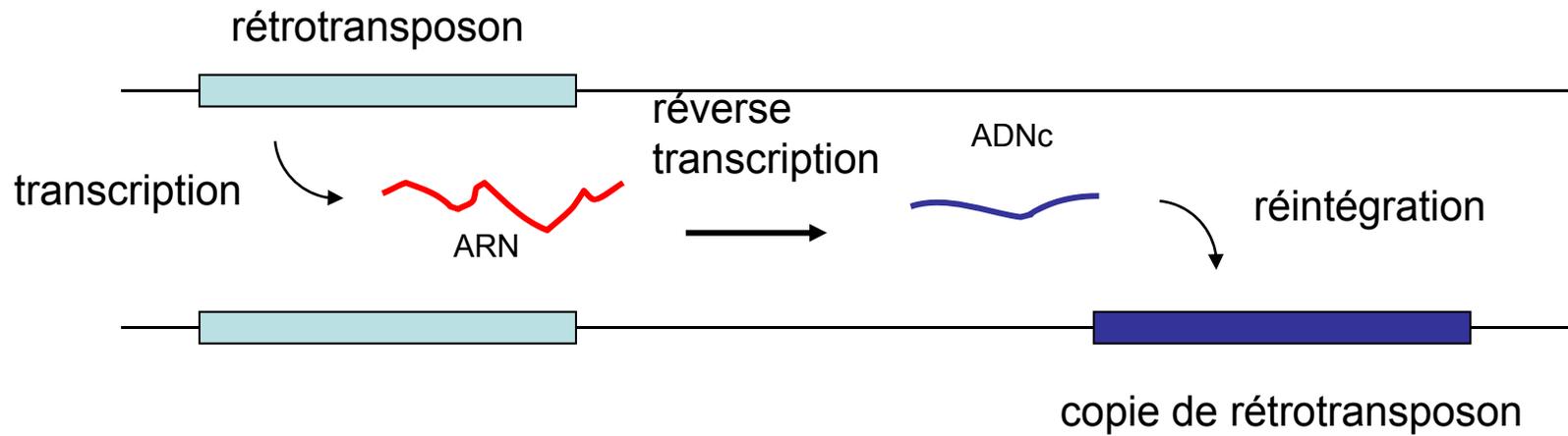


conservative



réplicative

2. Rétrotransposition



L'activation et la rétrotransposition d'une séquence de type rétrotransposon peut être à l'origine de mutations lorsque l'insertion se fait dans un gène

Que faut il retenir ^a :

- retenir que le génome est susceptible de variations en raison de modifications qui sont soit le résultat d'une agression par des processus physiques ou des agents chimiques, soit le fruit d'évènements physiologiques de la cellule.
- connaître l'intérêt de l'activité exonucléase des polymérases, connaître les différents mécanismes de réparation : il n'est pas demandé de savoir le nom des différentes protéines impliquées (ERCC1, XPA...) mais plutôt de savoir quelle peut être la fonction d'une glycosylase, d'une nucléase (endo ou exo), d'une ligase ou quelle est la séquence des évènements des différents mécanismes (ex pour la BER: reconnaissance et excision de la base, synthèse et réparation, ligation).
- savoir à quoi correspondent les termes SNP, polymorphisme microsatellite, polymorphisme minisatellite.
- connaître le principe général de la recombinaison, savoir expliquer la différence entre recombinaison équilibrée et recombinaison non-équilibrée, savoir ce que signifie recombinaison homologue.
- connaître le principe de la transposition et de la rétrotransposition, ce qu'est un élément IS, un élément Tn ou un transposon composite, connaître la différence entre transposition conservative et répllicative.

^a : *les exemples numériques et de pathologies sont destinés à illustrer le cours et à permettre une meilleure intégration des connaissances, de même les détails des séquences ou des protéines ainsi que les noms des médicaments cités à titre d'exemples ne sont pas à apprendre systématiquement*

Mentions légales

L'ensemble de cette œuvre relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle, littéraire et artistique ou toute autre loi applicable.

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

Cette œuvre est interdite à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1 et ses affiliés.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1, et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.