



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة وهران للعلوم والتكنولوجيا محمد بوضياف



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Génétique Moléculaire Appliquée

Polycopié de cours

# Génétique des eucaryotes

Cours destinés aux étudiants de troisième année Licence de Génétique

Elaboré par :

Dr LARDJAM- HETRAF Aicha Sarah

Année universitaire 2023/2024

## Avant-propos

La compréhension des principes génétiques et moléculaires régissant la structure et la fonction cellulaire éclaire les voies sur lesquelles les chercheurs et les cliniciens s'engagent. C'est ainsi que la génétique est devenue une plaque tournante de l'étude de la vie des espèces. L'afflux permanent d'informations nouvelles rend la génétique fascinante mais oblige les étudiants à assimiler une énorme quantité de connaissances. C'est la raison pour laquelle il existe de nombreuses disciplines enseignées aux étudiants en génétique. Le présent support de cours est destiné à présenter de façon simple, directe et largement illustrée, les principales connaissances de la **génétique des eucaryotes**. Il s'adresse aux étudiants en troisième année licence académique en Génétique, semestre 5 (Unité d'enseignement Fondamentale 1: Génétique des Procaryotes et des Eucaryotes, Coefficient: 3, Crédits: 6). La matière de génétique des eucaryotes est présentée sous forme de cours et de travaux dirigés. Ce module est enseigné selon le canevas ministériel avec un volume horaire semestriel de 67 heures et 30 minutes et qui s'étale sur 15 semaines d'enseignements avec un volume horaire hebdomadaire de 3 heures de cours et 1 heure 30 minutes de travaux dirigés.

L'un des buts essentiels dans l'écriture de ce polycopié a été d'insister sur la relation verticale qui intègre l'ADN, les protéines et les phénotypes ; allant de la structure de l'ADN selon le modèle de Watson et Crick, la structure chromosomique et génique chez les eucaryotes, passant par les mécanismes qui contrôlent la stabilité et l'instabilité du génome, arrivant à la structure et la dynamique des génomes extra-chromosomiques et enfin clôturant le programme avec les pathologies moléculaires et leurs modes de transmission.

Les étudiants pourront ainsi comprendre la façon dont la génétique des eucaryotes est abordée dans le « monde réel » où les approches classiques et moléculaires ne sont pas suivies séparément mais sont complémentaires l'une de l'autre.

## Résumé

L'impact de la génétique sur la recherche en biologie et sur ses applications a été énorme, aboutissant à ce que l'on a appelé «la révolution de la génétique ». Désormais, la génétique fait partie de presque tous les domaines de la biologie du moment où elle fournit de nombreuses informations fondamentales pour les principales questions qui ne trouvaient pas de réponse auparavant. L'afflux permanent d'informations nouvelles rend la génétique fascinante mais oblige les étudiants à assimiler une énorme quantité de connaissances. C'est la raison pour laquelle il existe de nombreuses disciplines enseignées aux étudiants en génétique. Le présent support de cours est destiné à présenter de façon simple, directe et largement illustrée, les principales connaissances de la génétique des eucaryotes. L'un des buts essentiels dans l'écriture de ce polycopié a été d'insister sur la relation verticale qui intègre l'ADN, les protéines et les phénotypes chez les eucaryotes. La génétique des eucaryotes intervient de manière essentielle en médecine puisqu'elle indique les gènes qui sont à l'origine de nombreuses maladies génétiques. Par conséquent, il est possible de déduire la structure et la fonction de la protéine codée par le gène responsable de la maladie et donc de comprendre le défaut physiologique provoqué par la mutation. Ainsi, une compréhension profonde de la génétique des eucaryotes est nécessaire pour permettre aux chercheurs et aux cliniciens de prendre des décisions sages.

**Mots clés** : Génétique des eucaryotes, ADN, gène, mutations, protéines, maladies génétiques.

## Abréviations

<b>5BU</b> : 5 Bromouracil	<b>G</b> : guanine
<b>A</b> : Adénine	<b>GTP</b> : guanosine triphosphate
<b>AA</b> : Acide aminé	<b>IR</b> : Inverted Repeat
<b>ADN</b> : Acide désoxyribonucléique	<b>IS</b> : insertion sequence
<b>ADNcp</b> : Chromosome chloroplastique	<b>LSC</b> : Long Sequence Copy area
<b>ADNmt</b> : Chromosome mitochondrial	<b>mARNmt</b> : ARN messenger mitochondrial
<b>ADN pol I</b> : ADN polymérase I	<b>MMR</b> : Réparation des mésappariements
<b>ADN pol II</b> : ADN polymérase II	<b>NG</b> : nitrososuanidine
<b>ADN pol III</b> : ADN polymérase III	<b>ORF</b> : Open Reading Frame « cadre de lecture ouvert »
<b>AP</b> : Site apurique/apyrimidique	<b>PARP</b> :Poly(ADP-ribose) Polymérase
<b>APE1</b> : Apurique/apyrimidique endonuclease	<b>Pb</b> : Paire de bases
<b>ARN</b> : Acide ribonucléique	<b>rARNmt</b> : ARN ribosomique mitochondrial
<b>ARNm</b> : Acide ribonucléique messenger	<b>RE</b> : Responsive Element
<b>ARNr</b> : Acide ribonucléique ribosomique	<b>RF-C</b> : Facteur de réplication C
<b>ARNt</b> : Acide ribonucléique de transfert	<b>SP1</b> : Specificity Protein 1
<b>ARNti<sup>Met</sup></b> : ARN de transfert initiateur methionine	<b>SSC</b> : Short Sequence Copy area
<b>BER</b> : Réparation par excision de bases	<b>T</b> : Thymines
<b>C</b> : cytosine	<b>TARNmt</b> : ARN de transfert mitochondrial
<b>C/EBP</b> : CAAT / Enhancer Binding Protein	<b>Tm</b> :température melting
<b>CTF</b> : CAAT Transcriptionnel Factor	<b>UTR</b> :UnTranslated Region
<b>EMS</b> :l'éthylméthanesulphonate	
<b>FEN-1</b> : flap endonuclease	



## Liste des figures

Figure 1 : Expérience de GRIFFITH (1928) (D'après Campbell et al., 2012) .....	5
Figure 2 : Découverte de la structure de l'ADN : Rosalinde Franklin (1920-1958), James D Watson (1928) et Francis H C Crick (1916-2004) (D'après Campbell, 2004). .....	5
Figure 3 : Différence entre ribose et désoxyribose (Pearson education, 2014). .....	6
Figure 4 : Groupements phosphate (D'après Alberts et al, 2004). .....	6
Figure 5 : Structure des bases azotées ( pearson education, 2014). .....	7
Figure 6.a. Nucléosides (D'après Peycru et al., 2013). .....	8
Figure 7 : Structure secondaire de l'ADN (D'après Raven et al, 2007) .....	9
Figure 8 Structure dans l'espace de la double hélice d'ADN (Kaplan &Delpech, 1993). .....	10
Figure 9: Forme B et Z de l'ADN (Kaplan &Delpech, 1993). .....	11
Figure 10: Mise en évidence de la séparation des deux brins d'ADN et mesure de la température de fusion (Kaplan & Delpech, 1993). .....	13
Figure 11: Cycle cellulaire mitotique (D'après Campbell et Reece 2004). .....	15
Figure 12: Evolution de la quantité d'ADN lors du cycle cellulaire [2]. .....	15
Figure 13: Expérience de Meselson et Stahl : résultats à gauche et interprétation à droite (D'après Peycru et al., 2010). .....	17
Figure 14: Réplication : principe fondamental. (D'après Campbell & Reece, 2004). .....	18
Figure 15: Polymérisation de l'ADN (D'après Campbell et al, 2012). .....	19
Figure 16: Fourche de réplication et œil de réplication [3]. .....	19
Figure 17: Réplication chez les eucaryotes : plusieurs yeux de réplifications simultanés (D'après Campbell & Reece 2004). .....	21
Figure 18: Brin précoce et brin retardé (D'après Campbell é Reece 2004). .....	23
Figure 19: Vision synthétique de la réplication (D'après Peycru et al, 2010). .....	24
Figure 20: Ensemble de protéines intervenant dans la réplication de l'ADN chez les eucaryotes (Dantzer & De Murcia, 1998). .....	27
Figure 21: Télomères et télomérase (D'après campbell & Reece, 2004). .....	28
Figure 22: Appariements standards de bases azotées et mésappariements (D'après Pray, 2006). .....	31
Figure 23: Dimérisation de thymine (D'après Poulizac, 1999). .....	32
Figure 24: Principe de fonctionnement de la photolyase (D'après Breuil, 2007). .....	35
Figure 25: Mécanisme de réparation par excision de base (BER) (Hoeijmakers, 2001). .....	36

Figure 26: Mécanisme de réparation par excision de nucléotide (NER) (Christmann et al., 2003).....	37
Figure 27: Représentation schématique de la réparation par excision de bases (BER) et de la réparation par excision de nucléotides (NER) chez les eucaryotes (D'après Friedberg, Wood 1996).....	38
Figure 28: Mécanisme de la réparation MMR. (Xiao et al., 2014). ....	39
Figure 29: Tailles des génomes d'organismes représentatifs (D'après Segarra, 2014). ....	41
Figure 30: Courbe de réassociation de l'ADN de mammifère et de E. coli (Kaplan & Delpuch, 1993).....	44
Figure 31: Résultats des expériences de dénaturation-renaturation de l'ADN de virus, d'E. coli et de l'Homme. (D'après Segarra et al., 2014).....	45
Figure 32: Schéma d'un gène codant pour une protéine (Kaplan & Delpuch, 1993). ....	48
Figure 33: : Séquences consensus du promoteur (Pearson Education, 2012). ....	49
Figure 34: Histones et nucléosomes (D'après Petit & Julien, 2007). ....	51
Figure 35: Chromosome métaphasique (D'après Breuil, 2007). ....	52
Figure 36: Structure de base de la chromatine « le nucléosome » (Hayes 2000).....	53
Figure 37: Différents niveaux de condensation de l'ADN (Hayes, 2000).....	54
Figure 38: Structure de l'ARN de transfert (ARNt). D'après Campbell & Reece (2004). ....	56
Figure 39 : Fonction d'une aminoacyl-ARNt synthétase (D'après Campbell & Reece, 2004). .....	57
Figure 40. a.: Maturation des ARN ribosomiques et assemblage des petites et grandes sous-unités du ribosome [4]. ....	58
Figure 41: Composition des ribosomes (D'après Breuil, 2007).....	59
Figure 42: Structure des promoteurs des gènes transcrits par les ARN polymérase I, II et III (Davidson et al., 2004). ....	61
Figure 43: : Modele simplifié d'activation de la transcription (Lunardi, 2010). ....	63
Figure 44: Complexe d'initiation de la transcription chez les eucaryotes (Lunardi, 2010). ....	64
Figure 45: Elongation de la transcription chez les eucaryotes : phosphorylation de la queue du domaine C-terminal de l'ARNpol II [6]. ....	64
Figure 46: Élongation de la transcription : polymérisation de l'ARN. (D'après Peycru et al., 2013).....	65
Figure 47: Addition de la coiffe à l'extrémité 5' de l'ARNm (Bouvet et al, 2012).....	66
Figure 48: Complexe de clivage impliqué dans la maturation en 3' du préARNm [7]. ....	67
Figure 49: Excision-épissage [6]. ....	69

Figure 50: Etapes de maturation de l'ARNm (D'après Campbell & Reece, 2004).	69
Figure 51: Epissage alternatif : gène de la Calcitonine (D'après Peyru et al, 2013).	70
Figure 52: Structure des gènes eucaryotes (D'après Segarra et al, 2014).	71
Figure 53: Organisation d'un ARNm eucaryote (D'après Peyru et al., 2013).	72
Figure 54: : Organisation fonctionnelle des ribosomes. D'après Campbell & Reece (2004).	75
Figure 55: Principe de la traduction. (D'après Campbell & Reece 2004).	76
Figure 56: Mécanismes d'initiation de la traduction (Lebreton, 2006).	77
Figure 57: Elongation de la traduction (D'après Campbell & Reece, 2004).	78
Figure 58: Terminaison de la traduction (D'après Campbell & Reece, 2004).	79
Figure 59: Régulation par méthylation des séquences CG (Lunardi, 2011).	82
Figure 60: Exemple d'activation de la transcription par les hormones ostrogéniques (D'après Lunardi, 2011).	84
Figure 61: Schéma illustre la structure d'une protéine trans régulatrice (D'après Lunardi, 2011).	85
Figure 62: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif Hélice-Tour-Hélice (D'après Lunardi, 2011).	86
Figure 63: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif doigt de zinc (D'après Lunardi, 2011).	86
Figure 64: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif glicière à leucine (D'après Lnardi, 2011).	87
Figure 65: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif HLH (D'après Lnardi, 2011).	87
Figure 66: : Epissage différentiel du gène de la calcitonine (D'après Lnardi, 2011).	88
Figure 67: Editing de l'ARNm de l'apolipoprotéine B48 (D'après Peyru et al., 2013).	89
Figure 68: : Régulation de l'expression des gènes de globine par l'hème (D'après Lunardi, 2011).	89
Figure 69: Caryotype humain.	91
Figure 70: Caryotype humain Modèle de bandes de Giemsa Conférence de Paris (1971, 1975) [8].	92
Figure 71: Trisomie 21 (syndrome de down) [9].	96
Figure 72: Délétion distale et délétion intercalaire [9].	97
Figure 73: Chromosome en anneau [9].	97
Figure 74: Inversion [9].	97
Figure 75: Duplication [9].	98
Figure 76: Isochromosome [9].	98

Figure 77: Translocation réciproque [9].....	98
Figure 78: Translocation robertsonienne [9]. .....	99
Figure 79: Insertion [9]. .....	99
Figure 80: Chromosomes dicentriques ou pseudodicentriques [9]. .....	99
Figure 81: Syndrome triplo 47,XXX (Hassan et <i>al.</i> , 2016). .....	100
Figure 82: Syndrome Le syndrome de Klinefelter (47, XXY) (Hassan et <i>al.</i> , 2016). .....	101
Figure 83: Syndrome du double Y (47, XYY) [10]. .....	101
Figure 84: Syndrome de Turner (Greenwood genetic center, 2020).....	101
Figure 85: Trisomie 21 Vue partielle du caryotype d'un homme de 47 ans atteint de trisomie 21 [11]. .....	102
Figure 86: Trisomie 13 [11]. .....	102
Figure 87: Trisomie 18 [12]. .....	103
Figure 88: Mitochondrie vs Chloroplaste (D'après Campbell et Reece, 2004). .....	104
Figure 89: ADN mitochondrial humain (Bietenhader, 2009). .....	106
Figure 90: Schéma illustrant la structure du chloroplaste. (D'après Campbell & Reece, 2004 et Breuil, 2007), adapté. ....	108
Figure 91: Chloroplaste et thylacoïde. (D'après Campbell & Reece, 2004 et Breuil, 2007), adapté. ....	109
Figure 92 : Symboles utilisés pour la réalisation d'an arbre généalogique [14]. .....	112
Figure 93: Mode de transmission de la maladie autosomique dominante [14]. .....	113
Figure 94: Mode de transmission de la maladie à pénétrance incomplète [14]. .....	114
Figure 95: Mode de t transmission de la neurofibromatose [14]. .....	115
Figure 96: Mode de transmission de la maladie récessive autosomique [14]. .....	115
Figure 97: Mode de transmission de la Mucoviscidose [14]. .....	116
Figure 98: Mode de transmission du Rachitisme vitamino-dépendant [14]. .....	117
Figure 99: Mode de transmission de l'Hémophilie [14]. .....	118
Figure 100: Mode de transmission des maladies mitochondriales [14]. .....	119
Figure 101: Mode de transmission de l'Atrophie optique de Leber [14]. .....	119
Figure 102: Carte génétique [15]. .....	120

## Liste des tableaux

Tableau I.a.: Comparaison des génomes de quelques organismes (en Kb) (D'après Petit et Julien, 2007).....	40
Tableau II: Code génétique (D'après Peycru et al., 2013).....	74
Tableau III: Principales propriétés biochimiques et fonctionnelles des bandes chromosomiques G/R (Bickmore et Sumner 1989, Gardiner 1995).....	93
Tableau IV: : Code génétique mitochondrial des Mammifères vs Code génétique universel (HLBE601– 2015-2016). .....	107

## Sommaire

Introduction générale.....	1
<b>Chapitre I: Constitution et dynamique du matériel génétique eucaryote</b>	
I.1. Généralités .....	4
I.2. Constitution et dynamique du matériel génétique eucaryote.....	4
I.2.1. Rappels sur la structure de l'ADN .....	5
I.2.1.1. Nucléotides et acides nucléiques .....	5
I.2.1.2. Liaisons reliant les nucléotides .....	7
I.2.1.3. Nomenclature des différents nucléotides.....	8
I.2.2. Structure secondaire de la molécule d'ADN :L'ADN est une double hélice.....	9
I.2.3. Formes alternatives de la double hélice .....	10
I.4. Dénaturation et hybridation de l'ADN : principes et applications:.....	12
I.4.1. Notion de température de fusion de l'ADN : .....	12
I.4.2. Hybridation de l'ADN.....	13
<b>Chapitre II: Constance et variation de l'ADN</b>	
II.1. Constance: Réplication et réparation.....	14
II.1.2. Aspect moléculaire de la réplication.....	16
II.1.2.1. Réplication : un processus semi-conservatif.....	16
II.1.2.2. Mise en évidence de la semi-conservativité de la réplication chez les Bactéries. 16	
II.1.2.3. Principe opératoire fondamental: une synthèse d'un brin néoformé par complémentarité de bases avec le brin matrice.....	18
II.1.2.4. Réplication, un processus qui suppose la polymérisation de nucléotides dans le sens 5' → 3' .....	18
II.1.2.5. Réplication, un processus bidirectionnel à plusieurs origines chez les Eucaryotes .....	19
II.1.3. Complexe enzymatique assurant la réplication.....	20

II.1.3.1. ADN polymérase	20
II.1.3.2. Ouverture de l'œil de réplication par une hélicase et un désenroulement par des topoisomérases	20
II.1.3.3. Protéines stabilisatrices empêchant le ré-appariement de la séquence d'ADN : les SSB	21
II.1.3.4. Rappel du principe de l'élongation de la réplication : modèle des procaryotes	22
II.1.3.5. Finition du brin répliqué	23
II.1.3.6. Correction immédiate des erreurs	24
<b>II.2. Réplication chez les eucaryotes</b>	<b>24</b>
II.2.1. Différents ADN polymérase chez les eucaryotes	25
II.2.1.1. Polymérase $\alpha$ /primase	25
II.2.1.2. Polymérase $\beta$	25
II.2.1.3. Polymérase $\gamma$	25
II.2.1.4. Polymérase $\delta$	25
II.2.1.5. Polymérase $\epsilon$	25
II.2.2. Déroulement de la réplication chez les eucaryotes	25
II.2.3. Réplication des télomères et l'intérêt des télomérases que l'on rencontre dans certaines cellules	27
<b>II.3. Mécanismes de réparation chez les eucaryotes :</b>	<b>28</b>
II.3.1. Variation: Mutations, recombinaison et transposition :	29
II.3.1.1. Définition de mutation et mutation ponctuelle :	29
II.3.1.1.2. Substitutions de bases :	29
II.3.1.2. Mutations ponctuelles qui peuvent apparaître lors de la réplication de l'ADN	30
II.3.2. Erreurs dues aux agents mutagènes	31
II.3.2.1. Dimérisation de thymine par rayonnement UV (ultra-violet)	31
II.3.2.2. Analogues de bases :	32
II.3.2.3. Modification des bases par des agents alkylants :	32
II.3.2.4. Agents intercalants	32

II.3.2.5. Recombinaison de l'ADN chez les eucaryotes .....	32
II.3.2.6. Transposons et rétrotransposons .....	33
II.3.2.7. Radiations ionisantes.....	33
II.4. Système de réparation :.....	34
II.4.1. Définition des systèmes de réparation : .....	34
II.4.2. Systèmes de réparation par excision .....	35
II.4.2.1. Réparation par excision de bases (BER):.....	35
II.4.2.2. Réparation par excision de nucléotides (NER) : .....	36
II.4.2.3. Réparation des mésappariements MMR : .....	38

### **Chapitre III : Organisation du Génome eucaryote**

III.1. Rappels sur la structure des génomes.....	40
III.2. Organisation du Génome eucaryote .....	41
III.2.1. Taille et constitution des génomes eucaryotes .....	41
III.2.1.1 Taille des génomes eucaryotes.....	41
III.2.1.2. Caractéristiques des génomes eucaryotes .....	42
III.2.2. Différents génomes des espèces .....	42
III.2.2.1. Valeur C .....	42
III.2.2.2. Valeur G.....	43
III.2.2.3. Paradox C et G .....	43
III.2.3. Différentes classes cinétiques de l'ADN .....	43
III.2.3.1. Définition de la cinétique de réassociation .....	45
III.2.3.2. Classes d'ADN chez les eucaryotes.....	46
III.2.3.2.1. ADN hautement répétitif.....	46
III.2.3.2.2. ADN moyennement répété.....	46
III.2.3.2.3. Séquences uniques : .....	47
III.2.3.3. Structure du gène eucaryote :Organisation générale des gènes eucaryotes codant pour des protéines .....	47



III.2.2.4. Notion de Famille de gènes : .....	49
III.2.2.5. Pseudogènes : .....	49
III.2.3. Localisation des gènes au niveau du génome eucaryote : .....	50
III.3. Architecture du génome eucaryote dans le noyau : .....	50
III.3.1. Structure de la chromatine : .....	50
III.3.2. Structure des chromosomes .....	51
III.3.3. Repliement de l'ADN dans les chromosomes : .....	52
III.3.4. Régions ou structures révélées par les techniques de marquage chromosomique ...	54
III.3.5. Mutations chromosomiques.....	55

## **Chapitre IV : Mécanismes de la transcription chez les eucaryotes**

IV.1. Définition de la transcription .....	56
IV.2. Structure des ARNs.....	56
IV.2.2. Structure des ARNt (16% de l'ensemble des ARNs) .....	56
IV.2.3. Structure des ARNr (82% de l'ensemble des ARNs).....	57
IV.2.4. Structure des ARMm.....	59
IV.3. Rôles des ARN polymérase I, II et III.....	60
IV.4. Structure de promoteurs des gènes de classe I, II et III .....	60
IV.5. Transcription des gènes de classe I, II et III .....	62
IV.5.1. Initiation de la transcription .....	62
IV.5.1.1. Promoteur .....	62
IV.5.1.2. Complexe d'initiation : .....	63
IV.5.2. Elongation .....	64
IV.5.3. Terminaison de la transcription .....	65
IV.5.4. Maturation du transcrit primaire.....	66
IV.5.4.1. Addition d'une coiffe en 5' .....	66
IV.5.4.2. Addition d'une queue polyA en 3' .....	67

IV.5.4.3. Excision-épissage : .....	68
IV.5.4.4. Epissage alternatif : .....	70

## **Chapitre V: Mécanismes de la traduction chez les eucaryotes**

V.1.Définition de la traduction.....	71
V.2.Organisation des gènes eucaryotes.....	71
V.3.Caractéristiques du code génétique .....	72
V.4.Acteurs de la traduction: ARNm, sous-unités ribosomiques et amino-acyl-ARNt .....	74
V.5. Mécanismes de la traduction .....	75
V.5.1. Principe général de la traduction .....	75
V.5.2. Traduction : un processus séquentiel : initiation, élongation, terminaison.....	76
V.5.2.1. Initiation de la traduction .....	76
V.5.2.2. Elongation de la traduction .....	77
V.5.2.3. Terminaison de la traduction.....	79

## **Chapitre VI: Régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes**

VI.1.Introduction .....	80
VI.2. Régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes : niveau chromatinien.....	80
VI.2.1.Environment chromatinien des gènes actifs .....	80
VI.2.1.1. Sites sensibles à l'ADNase I correspondent aux gènes actifs ou qui l'ont été ..	81
VI.2.1.2. Sites hypersensibles à l'ADNase I correspondent aux gènes très activement transcrits .....	81
VI.2.2. Certaines zones super enroulées et l'ADN Z pourraient jouer un rôle régulateur ...	81
VI.3. Contrôle épigénétique : Influence de la chromatine : Méthylation de l'ADN .....	82
VI.4. Régulation génétique.....	82

VI.4.1. Régulation transcriptionnelle .....	82
VI.4.1.1. Eléments agissant en <i>cis</i> .....	82
VI.4.1.2. Facteurs agissant en <i>trans</i> .....	84
VI.4.1.3. Structure des facteurs <i>trans</i> –régulateurs .....	84
VI.4.1.4. Familles des facteurs trans-régulateurs.....	85
VI.4.2. Régulation de l’expression des gènes chez les eucaryotes au niveau post- transcriptionnel .....	88
VI. 4.2. 1. Epissage alternatif.....	88
VI.4.2.2.RNA editing: modification de l’ARNm .....	88
VI.5. Régulation de l’expression des gènes chez les eucaryotes au niveau traductionnel .....	89
<b>Chapitre VII: Cytogénétique et mécaniques chromosomiques</b>	
VII.1. Généralités .....	90
VII.2. Cytogénétique .....	90
VII.3. Caryotype.....	91
VII.4. Marquages cytogénétiques .....	91
VII.4.1. Euchromatine .....	93
VII.4.2 : Hétérochromatine constitutive .....	93
VII.4. 3 : Centromères .....	94
VII.5. Anomalies chromosomiques.....	94
VII.5.1. Mécaniques chromosomiques .....	95
VII.5.2. Classification des anomalies chromosomiques selon leur nature .....	95
VII.5.2.1. Anomalies de nombre (affectent le nombre des chromosomes). .....	95
VII.5.2.2. Anomalies de structure .....	96
VII.5.3. Classification des anomalies chromosomiques selon leur répartition dans l’organisme .....	100

VII.5.4. Classification des anomalies chromosomiques selon les modifications apportées au phénotype.....	100
VII.6. Applications diagnostiques.....	100
VII.6.1. Aneuploïdies gonosomiques .....	100
VII.6.2. Effets phénotypiques des aneuploïdies autosomiques .....	102

### **Chapitre VIII: Génétique extra chromosomique**

VIII.1. Généralités.....	104
VIII.2. Mitochondrie .....	105
VIII.2.1. ADN mitochondrial (ADNmt).....	105
VIII.2.2. Expression des gènes mitochondriaux : .....	106
VIII.3.3. Génome chloroplastique .....	110
VIII.3.4. Expression des gènes chloroplastiques .....	110

### **Chapitre IX: Introduction à la génétique humaine**

IX. 1. Généralités.....	111
IX. 2. Modes de transmission des maladies génétiques.....	112
IX. 2.1. Hérité mendélienne.....	112
IX. 2.1.1. Maladies autosomiques dominantes : .....	113
IX. 2.1.2. Pénétrance incomplète : .....	114
IX.2.1.3. Expressivité variable : .....	114
IX.2.1.3. Maladies autosomiques récessives.....	115
IX.1.4. Maladies récessives liées à l'X.....	116
IX.1.4.1. Maladies dominantes liées à l'X.....	117
IX.2.1.4. Maladies récessives liées à l'X .....	117
IX.2.1.3. Hérité mitochondriale : .....	118
IX.3. Hérité multifactorielle : .....	119
IX.4. Utilité de la cartographie.....	120
IX.4.1. Cartes génétiques.....	121

IX.4.1.1. Centimorgan (cM).....	121
IX.4.1.2. Intérêt d'établissement d'une carte génétique: .....	121
IX.4.2. Cartographie physique.....	121
IX.5. Pathologies moléculaires .....	122
X. Références bibliographiques .....	123

## **Introduction générale**

Les phénomènes héréditaires ont intéressés l'homme longtemps avant la naissance de notre civilisation. Bien avant que la biologie ou la génétique ne constituent les disciplines scientifiques que nous connaissons aujourd'hui, les peuples anciens ont certainement été intrigués par la transmission des caractères chez l'homme. Aussi, ils amélioraient les plantes cultivées et les animaux domestiques en sélectionnant les individus qu'ils réservaient à la production. C'est donc dans les 70 dernières années que notre compréhension du monde vivant a subi une révolution. L'origine de cette révolution a été la découverte de la recherche en génétique. La plupart des questions essentielles de la biologie ont trouvé leurs réponses grâce à la génétique, essentiellement par la compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires basés sur l'ADN. La molécule **d'acide désoxyribonucléique (ADN)** est le principal sujet d'intérêt des généticiens, mais elle est devenue une sorte de logo pour toutes les sciences de la vie. Notre compréhension de la nature de l'ADN et de son fonctionnement a permis non seulement d'apporter des réponses élémentaires aux questions centrales de tous les domaines de la biologie, mais elle a également conduit à des applications spectaculaires dans de nombreux domaines d'intérêt pour l'homme tels que la médecine et l'agriculture. La structure moléculaire détaillée de l'ADN fut établie par James Watson et Francis Crick dans les années 1950. Ils déduisirent de cette structure que l'ADN contient l'information écrite sous la forme d'un code génétique. L'ADN est, donc, transmis sous forme intacte d'une génération à la suivante, de sorte que toutes les cellules de chaque génération contiennent un jeu identique d'ADN appelé « **génome** ».

Grossièrement la génétique est l'étude des **gènes** dans tous leurs aspects. À leur tour, les gènes sont définis comme les unités fondamentales de l'information biologique. Chaque gène code non seulement la structure d'une **protéine**, mais porte également des éléments de contrôle qui déterminent quand, où et combien de produits doit être synthétisé. Les **gènes** codent les protéines de façon indirecte et en plusieurs étapes. La première étape consiste à copier (transcrire) l'information codée dans l'ADN du gène, sous la forme d'une molécule simple brin appelée **ARN messager (ARNm)**. Ensuite l'information contenue dans l'**ARNm** est traduite (décodée) en une chaîne d'acides aminés appelée **polypeptide**. Les polypeptides, seuls ou en association avec d'autres polypeptides et constituants cellulaires, forment les **protéines** fonctionnelles de la cellule.

Une grande partie de la structure des gènes est globalement similaire entre eucaryotes et procaryotes. Ces éléments communs résultent en grande partie de l'ascendance commune de la vie cellulaire des organismes il y a plus de 2 milliards d'années. Cependant, les principales différences dans la structure des gènes entre les eucaryotes et les procaryotes reflètent leurs différences de transcription et de traduction ainsi que la fonction et la régulation de l'expression de ces gènes.

La génétique des eucaryotes n'est donc pas seulement importante en tant que discipline scientifique, mais elle l'est aussi parce qu'elle nous apprend énormément sur la nature du genre humain. En effet, beaucoup de maladies humaines ont une origine génétique. Les recherches actuelles montrent de plus en plus l'importance des prédispositions d'origine génétique dans les maladies graves aussi bien que dans les affections les plus bénignes, de telles sortes que ces chiffres sont presque certainement sous-estimés. La génétique des eucaryotes intervient également de manière essentielle en médecine lorsqu'elle indique les gènes qui sont à l'origine de nombreuses maladies (les maladies monogéniques tels que la mucoviscidose et la dystrophie musculaires, les maladies polygéniques tels que le diabète de type 2 et l'hypertension artérielle et aussi certains cancers tels que le cancer de sein et le mélanome malin), mais très souvent c'est elle aussi qui permet de soulager les souffrances. En fait, en découvrant la séquence nucléotidique d'un gène responsable d'une maladie, il est possible de déduire la structure et la fonction de la protéine codée par le gène et donc de comprendre le défaut physiologique provoqué par la mutation. C'est ainsi qu'une compréhension profonde de la génétique des eucaryotes est nécessaire pour permettre aux chercheurs et aux cliniciens de prendre des décisions sages.

Le programme de la matière génétique des eucaryotes est structuré en 9 chapitres :

Chapitre I « Constitution et dynamique du matériel génétique eucaryote », nous donnerons une vue d'ensemble de la structure primaire et secondaire de la molécule d'ADN les aspects cellulaires et moléculaires de la réplication de l'ADN ainsi que les différents types de mutations et les systèmes de réparation ;

Chapitre II « Organisation du Génome eucaryote » nous verrons dans ce second chapitre, Les différents génomes des espèces eucaryotes caractérisés par les valeurs G et C, le paradoxe G et C ainsi que les différentes classes cinétiques de l'ADN ;

Chapitre III « Architecture du génome eucaryote dans le noyau » nous détaillerons dans ce chapitre les différents niveaux d'empaquetage de l'ADN dans le noyau, la structure du chromosome et les mutations chromosomiques ;

Chapitre IV « Transcription chez les eucaryotes » ce chapitre présentera les différents ARNs, les différentes ARN polymérase et les étapes de transcription chez les eucaryotes ;

Chapitre V « Traduction chez les eucaryotes » ce chapitre présentera les différents partenaires de la traduction, les caractéristiques du code génétique et détaillera les différentes étapes de traduction chez les eucaryotes ;

Chapitre VI « Régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes » nous verrons dans ce chapitre la régulation de l'expression des gènes au niveau chromatinien, au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel et enfin la régulation au niveau traductionnel ;

Chapitre VII « Cytogénétique et mécaniques chromosomiques » nous donnerons dans ce chapitre une vue d'ensemble de marquages cytogénétiques, des anomalies chromosomiques, des mécaniques chromosomiques et les applications diagnostiques ;

Chapitre VIII « Génétique extra chromosomique » ce chapitre présentera principalement l'ADN mitochondriale et l'ADN chloroplastique ;

Chapitre IX « Introduction à la génétique humaine » dans ce chapitre, nous allons survoler les différents modes de transmission des maladies génétiques, nous présenterons la cartographie génétique et la cartographie physique et nous donnerons certaines pathologies moléculaires à titre d'exemples.



## **Chapitre I.**

### **Constitution et dynamique du matériel génétique eucaryote :**

#### I.1. Généralités

La variété des organismes vivants est extraordinaire, on estime qu'il ya de nos jours plus de 10 millions d'espèces. Chaque espèce est différente des autres. Cette différence est due au contenu en information génétique de chaque espèce. Les généticiens ont envisagé que des molécules spécifiques étaient porteuses de cette information génétique. Les êtres vivants sont subdivisés en deux groupes: les eucaryotes et les procaryotes, se différencient par la présence ou non d'un noyau.

#### I.2. Constitution et dynamique du matériel génétique eucaryote

En 1928, Frederick Griffith réussit à transformer de façon définitive une souche non virulente et non capsulée de la bactérie *Pneumococcus* en une souche virulente et encapsulée, en ajoutant un extrait de cellules mortes de ce dernier type. L'étape suivante consistait à découvrir le composant des des cellules mortes qui était « le principal transformant », car cette substance conférait des propriétés héréditaires à la souche bactérienne receveuse. Les résultats de Griffith sont reproduits par d'autres groupes de recherche au cours des années qui suivent. Ainsi, en 1944, les travaux d'Oswald Avery montrèrent que les protéines, les graisses et les acides ribonucléiques n'étaient pas le principe transformant. Cependant, l'ADN seul pouvait modifier le génotype et le phénotype de cellules bactériennes, démontrant ainsi de façon convaincante que l'ADN est le matériel génétique(Avery et al, 1944) (Figure 1).











Expériences	État de la souris	Analyse du sang de la souris
 Pneumocoques S vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants
 Pneumocoques R vivants	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués Pneumocoques R vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants

Figure 1 : Expérience de GRIFFITH (1928) (D'après Campbell et *al.*, 2012)

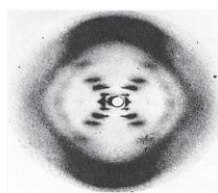
### I.2.1. Rappels sur la structure de l'ADN

#### I.2.1.1. Nucléotides et acides nucléiques

Les acides nucléiques représentent 0,5 à 1% du poids sec des cellules. Les cellules contiennent deux sortes d'acides nucléiques : l'acide ribonucléique (ARN) et l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces deux molécules diffèrent par la structure chimique des nucléotides qui les composent. L'ARN et l'ADN ont des fonctions intracellulaires très différentes et pourtant apparentées. Une molécule d'acide nucléique est composée d'un enchaînement de nucléotides, d'où le terme polynucléotide. Chaque nucléotide est composé : d'une base azotée, qui peut être une purine ou une pyrimidine ; d'un pentose (ose à 5 atomes de carbone) et un groupement phosphate (PO<sub>4</sub>). La structure de cette molécule a été identifiée suite aux travaux de Erwan Chargaff (1950), Rosalind Franklin (1953) et Watson et Crick (1953) [1](Figure 2).



Rosalind Franklin



Radiographie de l'ADN par diffraction de rayons X produite par Rosalind Franklin



Publication dans la revue Nature en 1953  
 Prix Nobel (ainsi que Wilkins, collaborateur de Franklin) en 1962

Figure 2 : Découverte de la structure de l'ADN : Rosalinde Franklin (1920-1958), James D Watson (1928) et Francis H C Crick (1916-2004) (D'après Campbell, 2004).

- *Pentose*: l'ADN est composé de désoxyribose alors que l'ARN contient du présent du ribose. Dans le ribose, le carbone C2' est lié à un groupement hydroxyle. Dans le désoxyribose, ce carbone est lié à un seul atome d'hydrogène plutôt qu'au groupement hydroxyle. On numérote les atomes du carbone du sucre avec des « primes » pour éviter la confusion avec les numéros des bases (Figure 3).

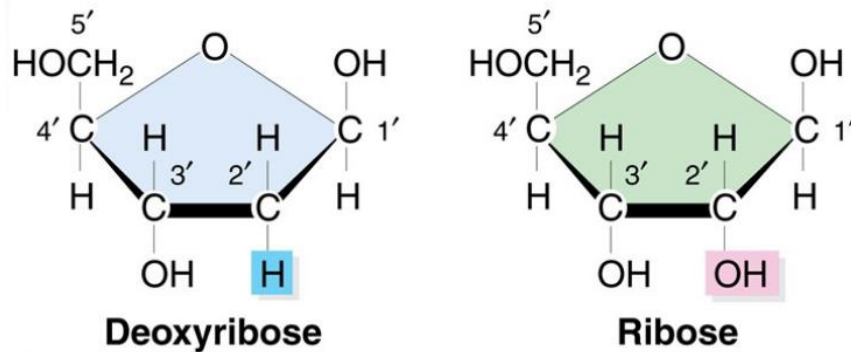


Figure 3 : Différence entre ribose et désoxyribose (Pearson education, 2014).

- *Acide phosphorique (H3PO4)*: L'acide phosphorique est un composé chimique de formule H3PO4. C'est un oxoacide trifonctionnel (triacide). Dans le nucléotide, le groupement phosphate se lie avec deux nucléotides via deux liens ester. Il s'agit donc de liaison phosphodiester qui correspond au lien entre deux nucléotides par leurs carbonnes 3' et 5' du désoxyribose (Figure 4).

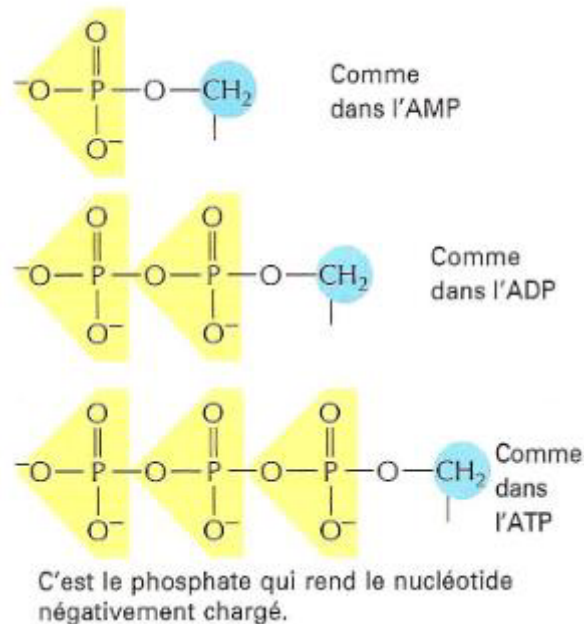
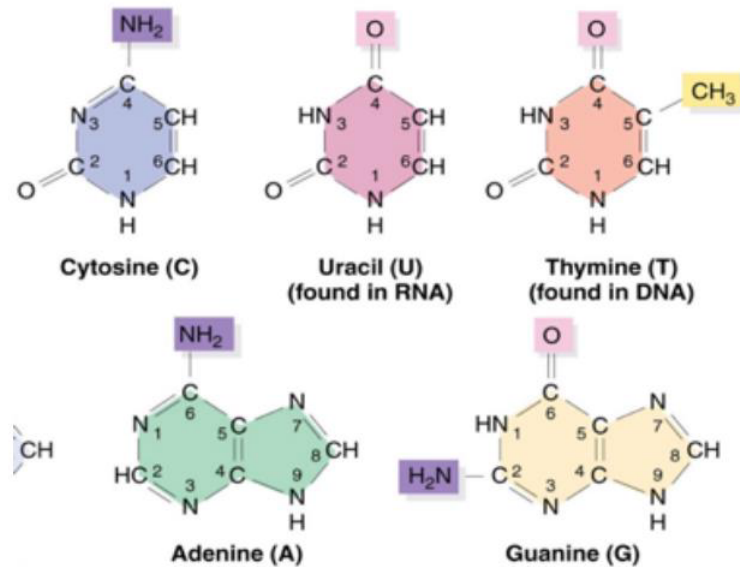


Figure 4 : Groupements phosphate (D'après Alberts et al, 2004).

**Base azotée** : L'ADN comporte quatre bases azotées : l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine. Deux de ces bases : l'adénine et la guanine possèdent une structure à deux cycles, caractéristiques d'une substance chimique appelée purine. Les deux autres bases : la cytosine et la thymine ont une structure à un seul cycle, d'un type appelé pyrimidine. Il est pratique de faire référence à chaque nucléotide par la première lettre de son nom : A, G, C et T (Griffiths *et al*, 2001) (Figure 5).



La thymine (T) est présente dans l'ADN. Dans l'ARN elle est remplacée par l'uracile.

Figure 5 : Structure des bases azotées ( pearsoneducation, 2014).

**-Nucléosides** : les nucléosides résultent de la liaison entre une base azotée et un pentose avec une liaison N-glycosidique ( $\beta$ -osidique). Cette liaison se fait par élimination d'une molécule d'eau entre l'OH en C1' du sucre et un H de l'azote N9 de la base purique ou bien l'azote N1 de la base pyrimidique. Le composé obtenu est un nucléoside.

**-Nucléotides** : les nucléotides résultent de la condensation d'un nucléoside avec 1, 2 ou 3 acides phosphoriques. Les nucléotides sont donc des nucléosides mono, di ou tri-phosphates. Le premier phosphate est lié au C5' (ou C3') du pentose.

### I.2.1.2. Liaisons reliant les nucléotides

Les acides nucléiques sont des polymères linéaires de nucléotides reliés de 3' en 5' par des ponts diester. Ainsi l'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans les liaisons dites phosphodiester (une liaison ester sert à former un nucléotide, la deuxième sert à relier

deux nucléotides entre eux). La 3ème fonction acide libre confère des propriétés acides aux acides nucléiques ADN et ARN.

### I.2.1.3. Nomenclature des différents nucléotides

Le nom du nucléoside dérive de celui de la base (radical) suivi d'un suffixe « osine » pour une base purique) ou « idine » (pour une base pyrimidine). Alors que la nomenclature du nucléotide dérive du radical (nom de la base) suivide«ylique » quand il s'agit d'une base purique) ou « idylique » dans le cas d'une base pyrimidique (Figure 6a et b).

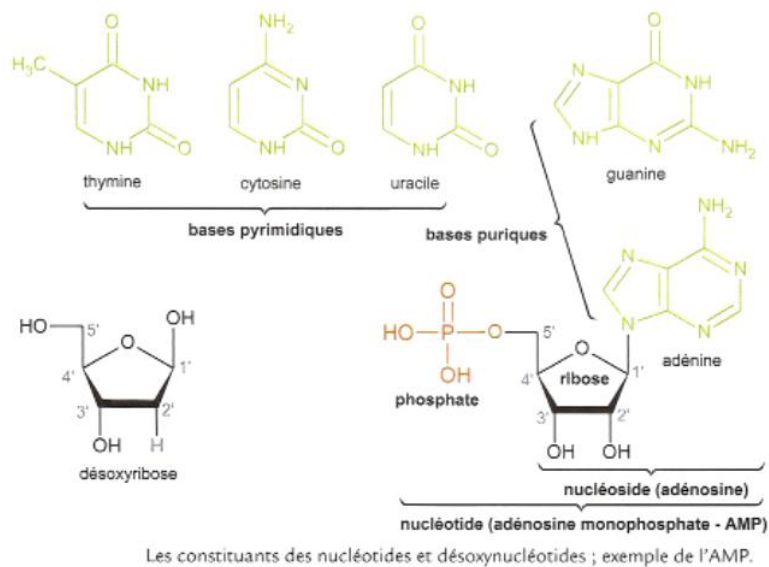


Figure 6.a. Nucléosides (D'après Peycru et *al.*, 2013).

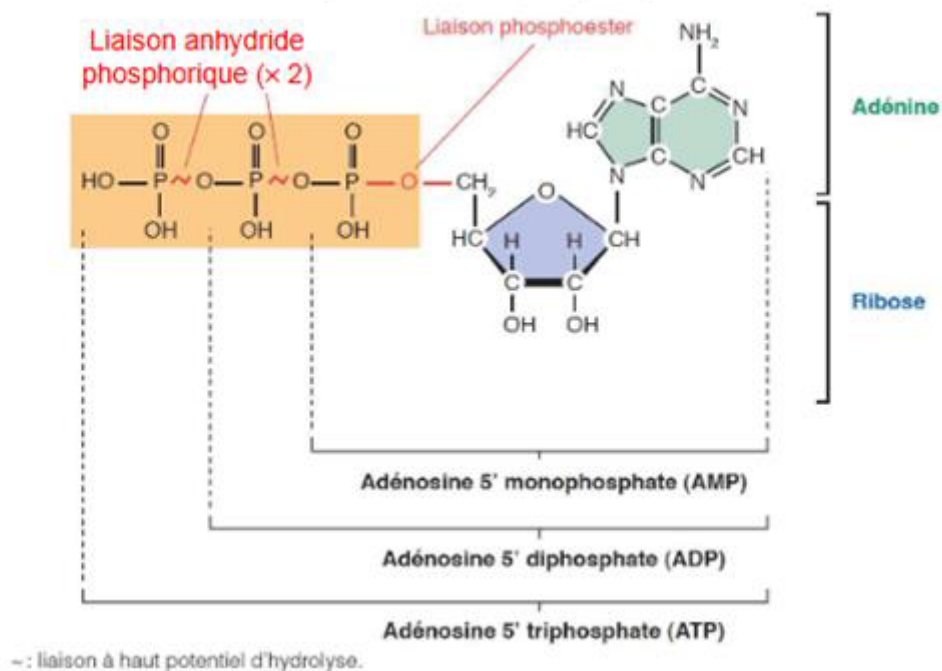


Figure : 6.b. Nucléosides vs nucléotides (D'après Segarra et *al.*, 2014).

I.2.2. Structure secondaire de la molécule d'ADN : L'ADN est une double hélice

L'ADN est une molécule fondamentalement bicaténaire, c'est-à-dire qu'il est fait de deux brins : rigoureusement, il s'agit donc d'un double polymère de nucléotides associés par des liaisons hydrogène formant une structure semblable à un escalier en colimaçon. Dans la molécule d'ADN double brin, les deux squelettes sont en sens opposé ou antiparallèles, comme le montre la figure (Figure 7). L'un des brins est orienté de 5' en 3' (5'→3') de gauche à droite. L'autre brin est orienté de 5' en 3' de droite à gauche, autrement dit de 3' en 5' de gauche à droite (3'→5').

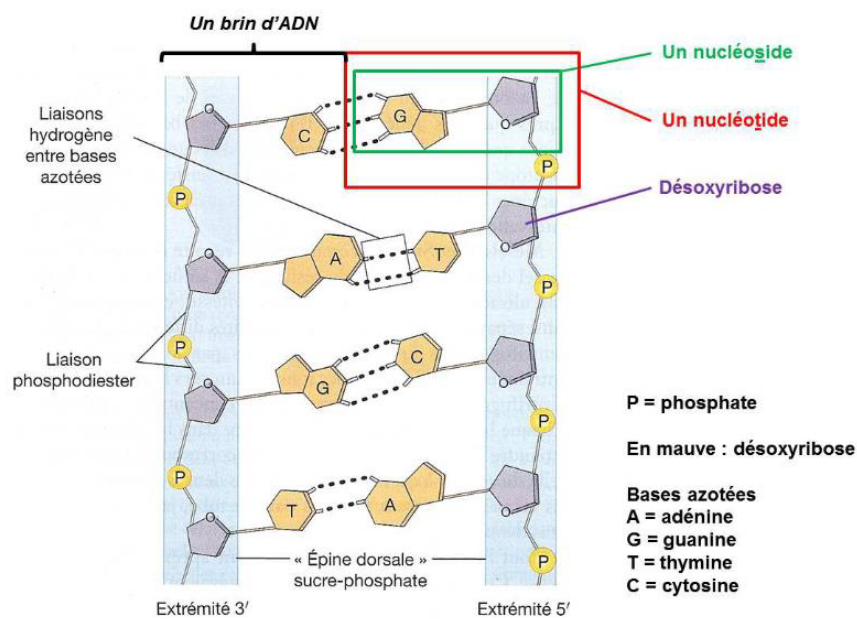


Figure 7 : Structure secondaire de l'ADN (D'après Raven et *al*, 2007)

Les interactions entre les paires de bases (une sur chaque brin), maintiennent les deux brins de la molécule d'ADN ensemble : il existe seulement deux paires de bases : A-T et G-C. Les bases de ces deux paires sont dites complémentaires l'une de l'autre. Cette donnée explique l'observation expérimentale que tout ADN quelle qu'en soit l'origine, possède des quantités équimolaires de thymine et d'adénine ainsi que de guanine et de cytosine « d'où l'équation de Chargaff  $A+G/C+T = 1$ , cependant, le rapport  $(A+T)/(G+C)$  est spécifique de chaque espèce ». Cette association dans la molécule résulte de liaison hydrogène contractées entre les bases. Elles sont au nombre de trois entre guanine et cytosine et de deux entre adénine et thymine (Kaplan & Delpech, 1993).



Il est à noter qu'un ADN contenant de nombreuses paires G-C serait plus stable qu'un ADN contenant de nombreuses paires A-T. Cette hypothèse est en effet confirmée. La chaleur entraîne la séparation de la double hélice d'ADN (un processus appelé fusion de l'ADN ou dénaturation de l'ADN). On peut montrer que les ADN ayant un contenu plus élevé en G+C requièrent des températures plus élevées pour être dénaturés (Griffiths et al., 2001).

### I.2.3. Formes alternatives de la double hélice

La structure globale de la molécule d'ADN est celle d'une double hélice droite. Les bases aussi bien puriques que pyrimidiques sont des molécules planes. Dans la double hélice les plans de chacune des bases d'un brin sont parallèles entre eux et perpendiculaires à l'axe de l'hélice. La distance entre les plans de chaque base est de  $3,4\text{\AA}$ . Il y a 10 paires de bases par tour d'hélice ; son pas est donc de  $34\text{\AA}$ . Les arêtes créées par l'enchaînement des groupements phosphates définissent deux sillons : le petit et le grand sillon (Figure 8). Les bases ne sont accessibles aux protéines qu'au niveau du grand sillon (Kaplan & Delpech, 1993).

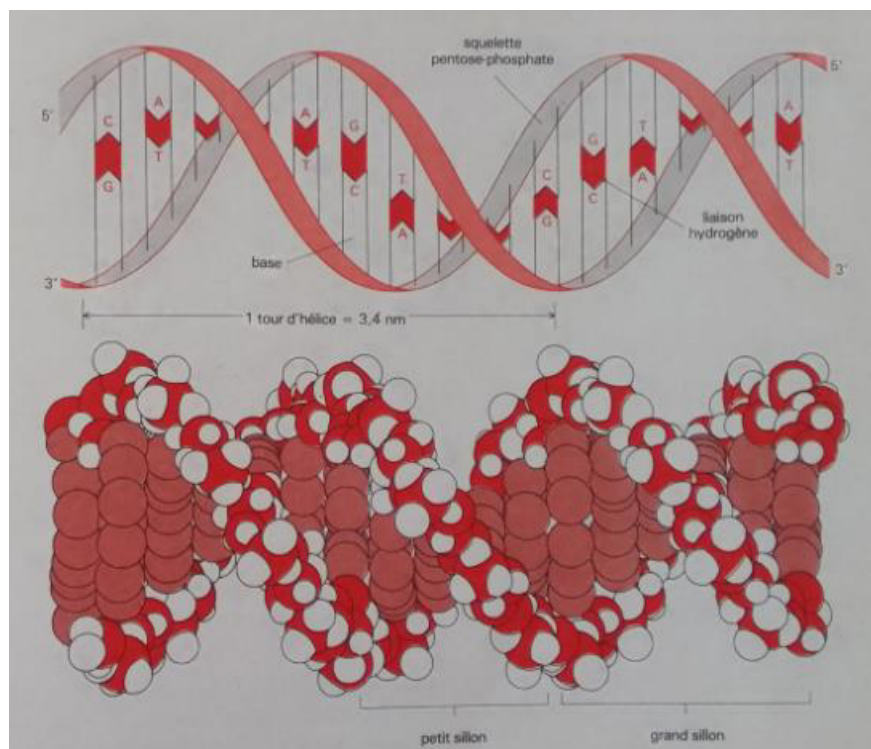


Figure 8 Structure dans l'espace de la double hélice d'ADN (Kaplan & Delpech, 1993).

Ce modèle sus-décrit correspond à la forme hydratée de la molécule d'ADN, dite forme B. Lorsque la molécule est déshydratée et cristallisée, la suppression des molécules

d'eau provoque une légère modification de la double hélice. Les bases ne sont plus exactement perpendiculaires à l'axe de l'hélice. Cette forme légèrement allongée correspond à la forme A qui n'a pas d'existence biologique.

Une autre structure de l'ADN a été proposée. Il s'agit de la forme Z. Expérimentalement, on observe que de courtes molécules d'ADN constituées exclusivement de G et de C prennent spontanément une forme différente de la forme B. la chaîne des phosphates dans cette conformation, prend une allure en zig-zag d'où le nom de cette forme (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 9).

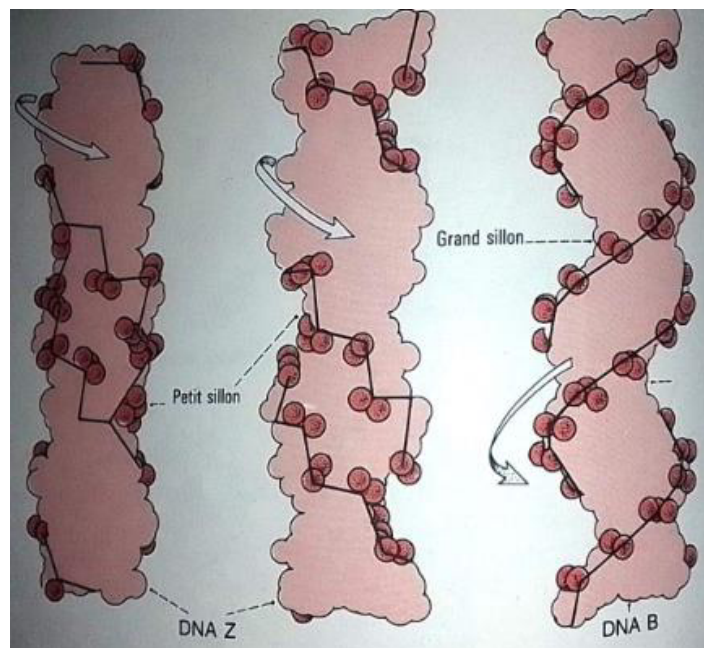


Figure 9: Forme B et Z de l'ADN (Kaplan & Delpech, 1993).

### I.3. Propriétés physicochimiques des acides nucléiques

- Stabilité : les liaisons hydrogènes, qui correspondent à des interactions hydrophobes et aromatiques, reposent sur la spécificité de l'appariement des bases.
- Solubilité : les acides nucléiques sont solubles dans le phénol ainsi que dans certaines solutions salines et alcalines.
- Absorption des UV et quantification: Les acides nucléiques ont la propriété d'absorber les U.V très fortement à une longueur d'onde de  $\lambda$  égale à 260 nm, ce qui permet de déterminer sa concentration. Sur une longueur de parcours de 10 mm avec une longueur d'onde de 260 nm, l'absorption  $A = 1$  correspond à environ 50  $\mu\text{g/ml}$  d'ADN double brin, 40  $\mu\text{g/ml}$  d'ARN.



- Détermination de la pureté de l'ADN : Le rapport  $R = A_{260nm} / A_{280nm}$  constitue un bon moyen pour apprécier une éventuelle contamination de la préparation d'ADN par les protéines ou par les ARN. Le ratio de l'absorbance à 260 nm sur 280 nm ( $A_{260nm}/A_{280nm}$ ) est entre 1,8 et 2. Un ratio inférieur à 1,8 indiquerait une contamination protéique. Les protéines, principaux contaminant des préparations absorbent aussi à 260 nm, mais avec maximum d'absorption qui se situe vers 280 nm à cause des acides aminés aromatiques. Une contamination par les ARN est indiquée par un ratio supérieur à 2. Les ARN étant en simple brin, le coefficient moyen d'absorption d'un nucléotide est supérieur à celui du même nucléotide dans la double hélice à cause de l'hypochromisme.  $R = A_{260nm}/A_{280nm}$  ADN pur :  $1,8 < R < 2$  ADN contaminé par les protéines :  $R < 1,8$  ADN contaminé par les ARN:  $R > 2$ .

#### I.4. Dénaturation et hybridation de l'ADN : principes et applications:

##### I.4.1. Notion de température de fusion de l'ADN :

Lorsqu'un ADN bicaténaire est progressivement chauffé, dans une cuve de spectrophotomètre, les deux brins de la molécule se séparent par suite de la rupture des liaisons hydrogène (liaisons faibles) qui les maintiennent appariés. Le passage de la forme bicaténaire à la forme simple brin est brutal pour une très faible variation de température autour de la température dite de fusion ( $T_m$  : température melting). Ce passage de la forme double-brin à la forme simple-brin se traduit par une augmentation de la densité optique. Le point d'inflexion correspond à ce que l'on appelle la température de fusion. (Figure 10).

La  $T_m$  peut être déterminée expérimentalement mais est également calculée à partir de la formule suivante :  $T_m = [4x (G+C) + 2x (A+T)]$  (Brown, 2010).

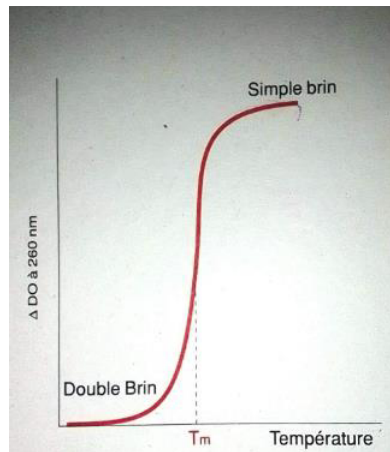


Figure 10: Mise en évidence de la séparation des deux brins d'ADN et mesure de la température de fusion (Kaplan & Delpech, 1993).

#### I.4.2. Hybridation de l'ADN

Après une séparation de brins par fusion, aucune réassociation de brins n'est observée si la température est abaissée brutalement ; l'ADN restant sous forme simple-brin et prenant une structure dans l'espace non ordonnée. Par contre si après séparation, l'ADN est refroidi lentement, une réassociation des brins est progressivement observée. Elle porte le nom d'hybridation. Cette réaction qui s'effectue entre deux séquences complémentaires est mesurée par une vitesse d'hybridation conditionnée par la concentration de l'ADN et le temps de la réaction. Le terme consacré pour définir cette vitesse de réassociation produit de la concentration par le temps est le  $Cot$ . La valeur du  $Cot_{1/2}$  pour une quantité de 50% de molécules hybrides est déterminée graphiquement.

## **Chapitre II**

### **Constance et variation de l'ADN**

#### II.1. Constance: Réplication et réparation

##### II.1.1. Aspect cellulaire de la réplication

La réplication est le processus au cours duquel des répliques ou copies sont fabriquées. Une molécule d'ADN peut se répliquer en deux molécules filles identiques, et c'est de cette façon que les chromosomes peuvent se dupliquer. Ce processus est un préalable à la division cellulaire qui se déroule pendant la phase S (de synthèse) de l'interphase. Comme pour tous les phénomènes qui impliquent les acides nucléiques, la machinerie élémentaire de la réplication de l'ADN dépend de la complémentarité des molécules d'ADN et de la compétence de certaines à établir les interactions spécifiques entre les composants de la molécule d'ADN.

Le cycle cellulaire se divise en interphase et mitose. L'interphase est la phase pendant laquelle la cellule croît et duplique son matériel génétique (se préparant ainsi à la mitose). Les chromosomes sont dans un état décondensé et forment la chromatine.

L'interphase est divisible en phases G1, S et G2 en lien avec l'évolution de la quantité d'ADN dans le noyau (Figures 11) :

- La phase G1 (G pour growth « croissance » ou gap « lacune » selon les auteurs) où les chromosomes sont simples (1 chromatide). La cellule croît et assure ses fonctions grâce à la synthèse de protéines.
- La phase S (S pour synthesis) où les chromosomes subissent une duplication.
- La phase G2 où les chromosomes sont doubles (2 chromatides). La cellule se prépare à la mitose grâce à la synthèse de protéines.
- Phase M (Mitose) : c'est la phase pendant laquelle la cellule se divise en deux cellules filles (génétiquement identiques entre elles et à la cellule mère). Les chromosomes sont condensés (Figure 12).

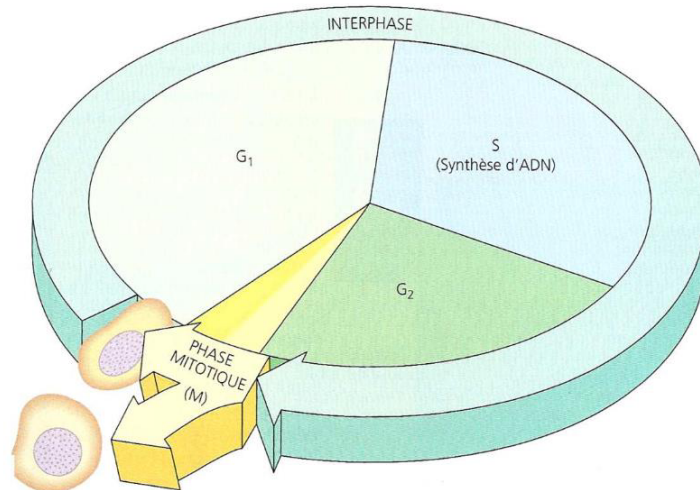


Figure 11: Cycle cellulaire mitotique (D'après Campbell et Reece 2004).

Remarque : Notons bien que le nombre de chromosomes est maintenu suite à la mitose : si la cellule-mère est diploïde, les cellules-filles obtenues par mitose seront diploïdes aussi.

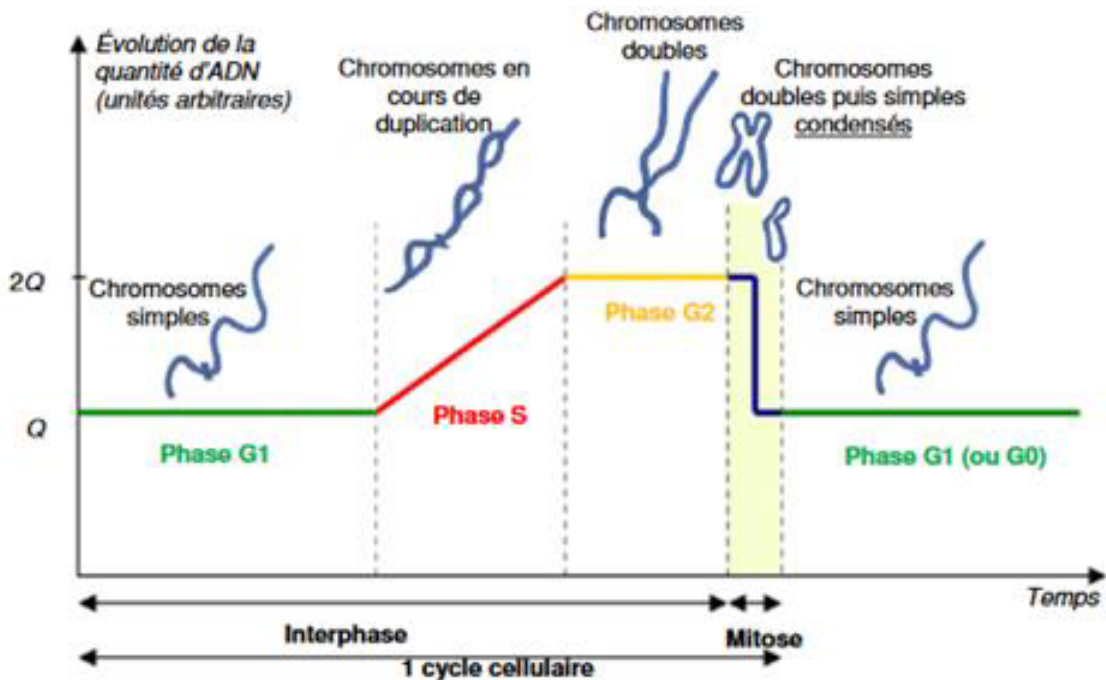


Figure 12: Evolution de la quantité d'ADN lors du cycle cellulaire [2].

## II.1.2. Aspect moléculaire de la réplication

Chez les organismes eucaryotes, une molécule d'ADN linéaire que l'on trouve dans le noyau s'appelle une chromatine. L'ADN y est associé avec des protéines variées comme les histones.

### II.1.2.1. Réplication : un processus semi-conservatif

Dans les années 1940-1950, on s'est demandé comment fonctionnait la réplication. De manière évidente, la production de deux molécules filles d'ADN identiques supposait l'utilisation de la molécule mère comme matrice mais trois modèles pouvaient alors être envisagés:

- Soit la molécule mère est intégralement conservée et une molécule fille est complètement néosynthétisée : c'est *le modèle conservatif*.
- Soit chaque molécule fille comprend un brin hérité de la molécule mère et un brin néoformé : c'est *le modèle semi-conservatif*.
- Soit chaque molécule fille comprend aléatoirement des tronçons hérités de la molécule mère et des tronçons néoformés : c'est *le modèle dispersif*.

### II.1.2.2. Mise en évidence de la semi-conservativité de la réplication chez les Bactéries (Meselson & Stahl 1958, Cairns 1963) :

Les scientifiques utilisent des colibacilles *E. coli* qu'ils cultivent initialement pendant de nombreuses générations sur un milieu nutritif où la seule source d'azote est lourde (isotope lourd  $N^{15}$ ). L'ADN qui s'y trouve est donc complètement lourd c'est-à-dire qu'il ne comprend que de l'azote  $N^{15}$ .

Les bactéries sont ensuite transférées sur un milieu nutritif léger où la source d'azote est légère (isotope léger  $N^{14}$ ). Désormais, les nouveaux nucléotides synthétisés et incorporés à l'ADN sont donc légers.

Les scientifiques étudient alors sur trois générations la nature de l'ADN obtenu à chaque cycle cellulaire (donc après chaque cycle répliatif) : ils sont capables par centrifugation de séparer l'ADN selon un gradient de densité lié à la quantité de nucléotides lourds présents (Figure 13).

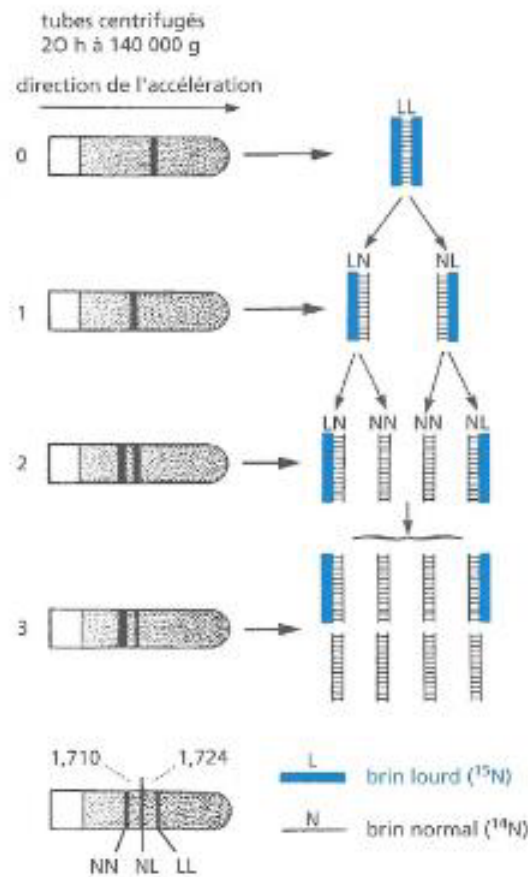


Figure 13: Expérience de Meselson et Stahl : résultats à gauche et interprétation à droite (D'après Peycru et *al.*, 2010).

Des densités différentes d'ADN peuvent être visualisées grâce aux positions que l'ADN prend dans un gradient de densité de chlorure de césium, formé lors d'une ultracentrifugation. (les forces gravitationnelles élevées créées dans l'ultracentrifugeuse par une rotation à haute vitesse sont nécessaires pour établir le gradient de densité. Le tube 0 est obtenu avec une population bactérienne cultivée pendant de nombreux cycles cellulaires sur un milieu riche en  $\text{N}^{15}$  lourd. Après avoir cultivé ces cellules dans du  $\text{N}^{14}$  pendant une génération, les chercheurs découvrirent que l'ADN était de densité intermédiaire et qu'après deux générations, on observait de l'ADN de densité intermédiaire et de l'ADN de faible densité, ce qui correspondait exactement à ce que prédisait le modèle de Watson et Crick (Griffiths et *al.*, 2001).

### II.1.2.3. Principe opératoire fondamental: une synthèse d'un brin néoformé par complémentarité de bases avec le brin matrice

Le nouveau brin est formé grâce aux nucléotides présents dans le noyau qui s'associent par complémentarité de base au brin matrice (= brin hérité de la molécule mère d'ADN). Finalement, ce sont bien deux molécules d'ADN identiques entre elles et identiques à la molécule mère qui sont obtenues (Figure 14).

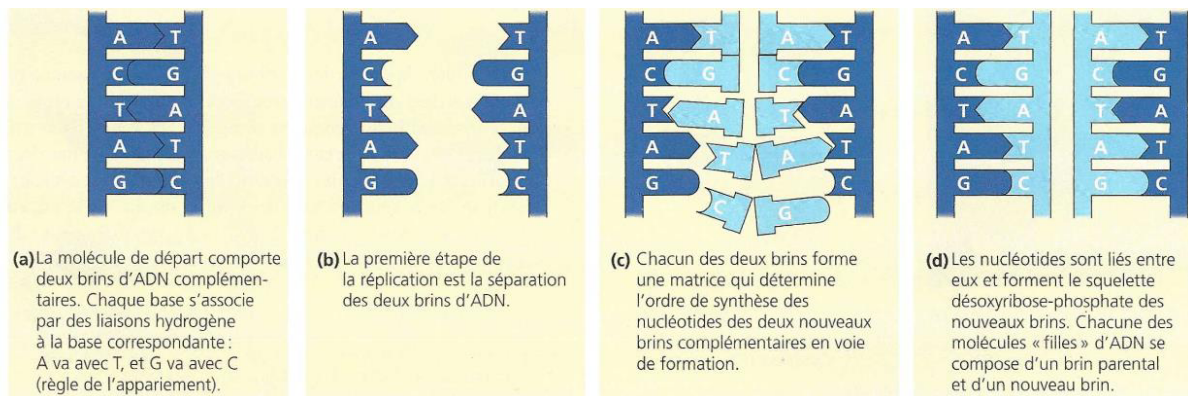


Figure 14: Réplication : principe fondamental. (D'après Campbell & Reece, 2004).

### II.1.2.4. Réplication, un processus qui suppose la polymérisation de nucléotides dans le sens 5' → 3'

La réplication d'ADN repose sur l'ajout de nucléotides qui sont initialement sous forme de nucléosides triphosphates: l'opération fait perdre deux phosphates (pyrophosphate) au nucléotide incorporé (Figure 15). La liaison formée entre nucléotides est une liaison phosphoester. Comme il y a deux liaisons phosphoesters de part et d'autre de chaque phosphate dans l'acide nucléique, on appelle souvent cet assemblage liaison phosphodiester. Il est important de noter que la polymérisation s'effectue dans le sens 5' → 3' du brin en cours d'élongation (à l'instar des autres processus de polymérisation d'acides nucléiques, comme la transcription qui produit les ARN) : l'ajout de nucléotides s'effectue en effet à l'extrémité 3' qui porte un groupement OH libre.

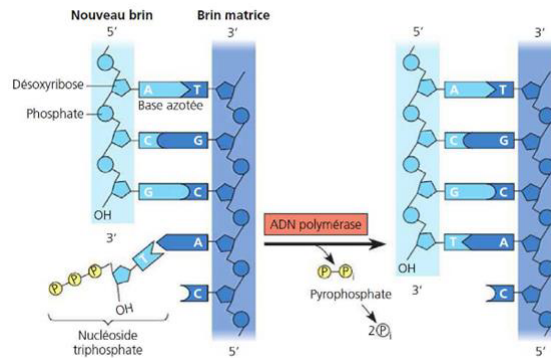


Figure 15: Polymérisation de l'ADN (D'après Campbell et al, 2012).

### II.1.2.5. Réplication, un processus bidirectionnel à plusieurs origines chez les Eucaryotes

Dans les génomes des procaryotes et des eucaryotes, la réplication débute au niveau de séquences reconnues par la machinerie de réplication. On les appelle des origines de réplication. Contrairement à ce qui se passe chez les procaryotes où l'on note une seule origine de réplication, chez les eucaryotes, chaque chromosome présente plusieurs origines de réplication. Chez l'homme il en existe entre 20 à 30000 origines de réplication par chromosome (Kaplan & Delpech, 1993).

- Une fourche de réplication : c'est le lieu où les deux brins d'une molécule d'ADN en cours de réplication sont en train de se séparer ; à partir d'une origine de réplication, on assiste à la progression dans des sens opposés de deux fourches de réplication. Le processus de la réplication est bidirectionnel: deux fourches de réplication progressent dans des sens opposés à partir d'une même origine de réplication.
- Un œil de réplication : il s'agit de la zone en cours de réplication située entre deux fourches de réplication provenant d'une même origine de réplication (Figure 16).

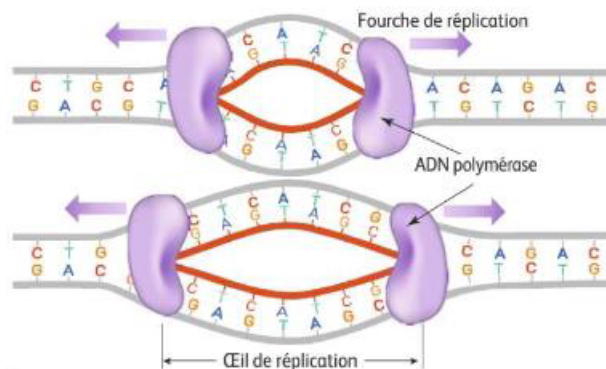


Figure 16: Fourche de réplication et œil de réplication [3].



### II.1.3. Complexe enzymatique assurant la réplication

On appelle réplisome ou complexe de réplication l'ensemble des enzymes qui coopèrent dans la réalisation de la réplication:

#### II.1.3.1. ADN polymérases

Les ADN polymérases sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN. Elles sont ADN dépendantes. Elles possèdent deux activités :

- a) Une activité polymérasique 5' vers 3' : qui est leur activité principale
- b) Une activité exonucléasique : qui peut être de 2 types (selon les polymérases) : de 3' vers 5' lors de la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié, ou de 5' vers 3' lors de la jonction des segments d'ADN synthétisés

#### II.1.3.2. Ouverture de l'œil de réplication par une hélicase et un désenroulement par des topoisomérases

La réplication de l'ADN commence par l'ouverture progressive de la molécule d'ADN (séparation des deux brins initialement associés par des liaisons H) à partir de l'origine de réplication. Cette dernière est reconnue par une protéine initiatrice. Ensuite, la protéine hélicase rompt les liaisons hydrogènes établies entre les bases appariées ce qui permet la progression de la fourche de réplication. Au fur et à mesure que la double hélice s'ouvre, il y a lieu d'apparition donc d'un super-enroulement de la molécule. Cela est empêché par l'action de topoisomérases qui agissent en amont de la fourche de réplication en désenroulant l'ADN. Elles y parviennent en coupant un des brins d'ADN, en lui faisant subir une rotation autour de l'autre brin dans un sens s'opposant à l'enroulement, puis en le ressoudant là où il avait été coupé (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 17).

*Remarque : la topoisomérase de type I coupe l'un des deux brins du DNA, le DNA peut se dérouler, puis survient une nouvelle ligature du DNA. Cependant, la topoisomérase de type II agit en coupant les deux brins du DNA (extrémité 3' du DNA) et retire le super enroulement.*

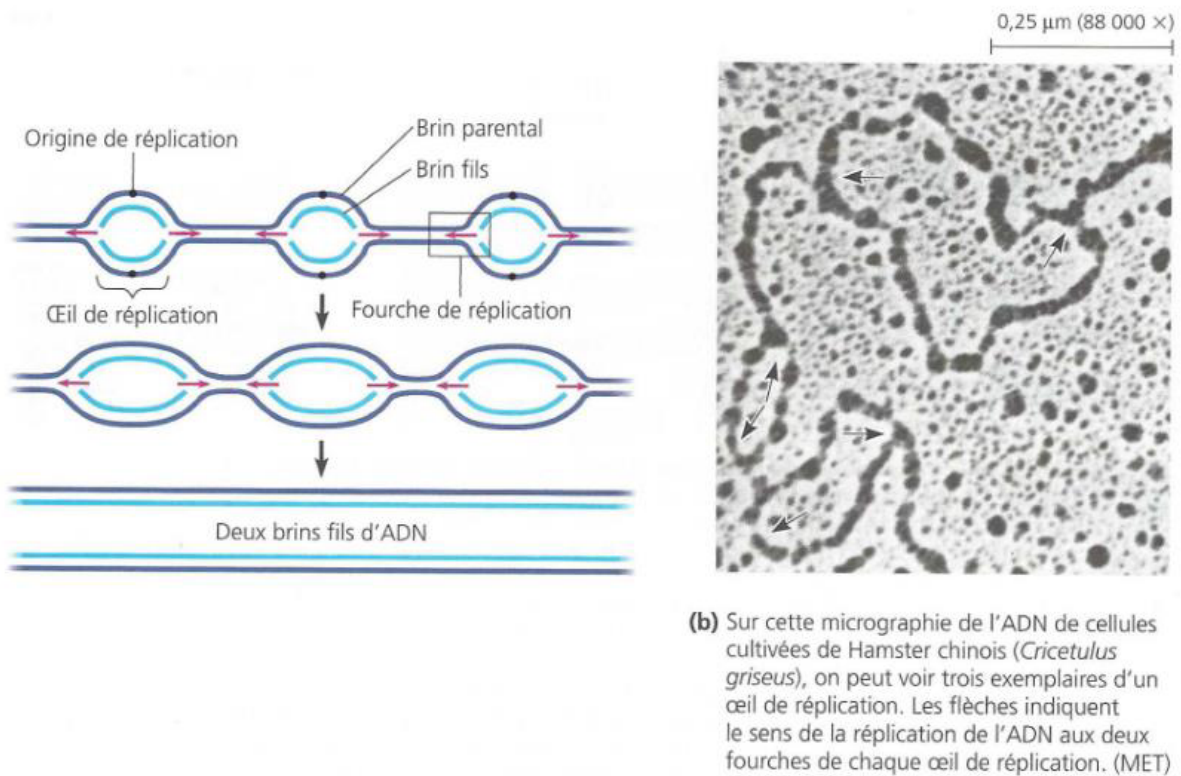


Figure 17: Réplication chez les eucaryotes : plusieurs yeux de réplifications simultanés (D'après Campbell & Reece 2004).

### II.1.3.3. Protéines stabilisatrices empêchant le ré-appariement de la séquence d'ADN : les SSB

Latéralement, le long de la molécule d'ADN ouverte, des protéines stabilisatrices nommées SSB (Single-Strand Binding Proteins, protéines se liant à un simple brin d'ADN) assurent le maintien en conformation ouverte des deux brins d'ADN et empêchent la réassociation des brins, laissant ainsi la possibilité aux autres enzymes d'agir. Ce processus permet à une ARN polymérase particulière appelée primase d'accéder aux deux brins de l'ADN qui servent de matrice pour la réplication. La primase synthétise une courte amorce d'ARN (oui oui ARN !!) comme le montre la (Figure 18). L'ADN polymérase prend ensuite le relais de la primase et allonge la chaîne en formation par addition de désoxyribonucléotides (Prescott, 1989).

#### II.1.3.4. Rappel du principe de l'élongation de la réplication : model des procaryotes

Chez les procaryotes, l'ADN polymérase III (ADN pol III) synthétise un brin complémentaire à partir de l'extrémité 3'OH libre de l'amorce ARN en utilisant l'ADN comme matrice, dans le sens 5'→3'. Les protéines SSB sont chassées au fur et à mesure de l'utilisation du brin matrice. Les deux brins sont donc synthétisés dans le sens 5'→3' ; mais la synthèse ne peut être continue que sur l'un des deux brins, le brin direct orienté 3'→5'. L'ADN pol III est une enzyme très complexe composée de sept sous unités. Il existe donc deux sous unités associées au niveau du point de réplication, chacune répliquant son brin. L'enzyme sur le brin matrice 3'→5' (brin direct) synthétise en continu au fur et à mesure du déroulement des brins de l'ADN. L'enzyme située sur l'autre brin (brin retardé) synthétise de l'ADN de manière discontinue sous forme de petits fragments (1000 à 2000 pb) appelés fragments d'Okazaki.

L'ADN à répliquer est ensuite ouvert sur une nouvelle longueur par les hélicases, une nouvelle amorce est synthétisée sur le brin 5'→3', les synthèses reprennent et ainsi de suite jusqu'à ce que la totalité du réplicon soit dupliquée (Figure 18).

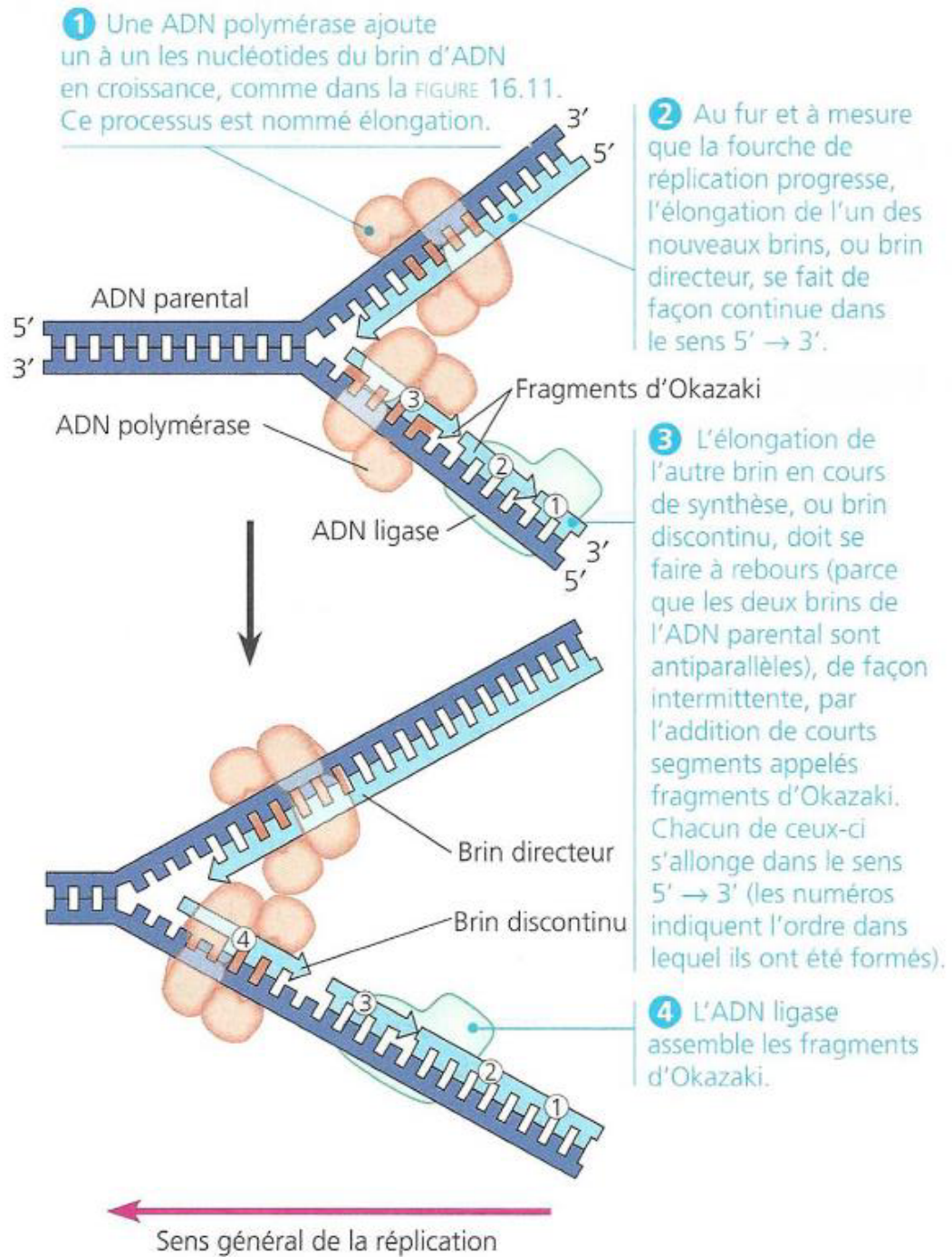


Figure 18: Brin précoce et brin retardé (D'après Campbell etReece 2004).

#### II.1.3.5. Finition du brin répliqué

Les amorces de l'ARN sont détruites par une RNase H qui a pour propriété de détruire spécifiquement l'ARN des hybrides ADN-ARN. La lacune engendrée par l'action de cette enzyme est comblée par l'action de l'ADN pol I. enfin une ligase effectuera la soudure du

brin, les ADN polymérases n'étant capables de créer une liaison phosphodiester qu'entre une extrémité 3' OH libre et un nucléotide triphosphate libre (Figure 19).

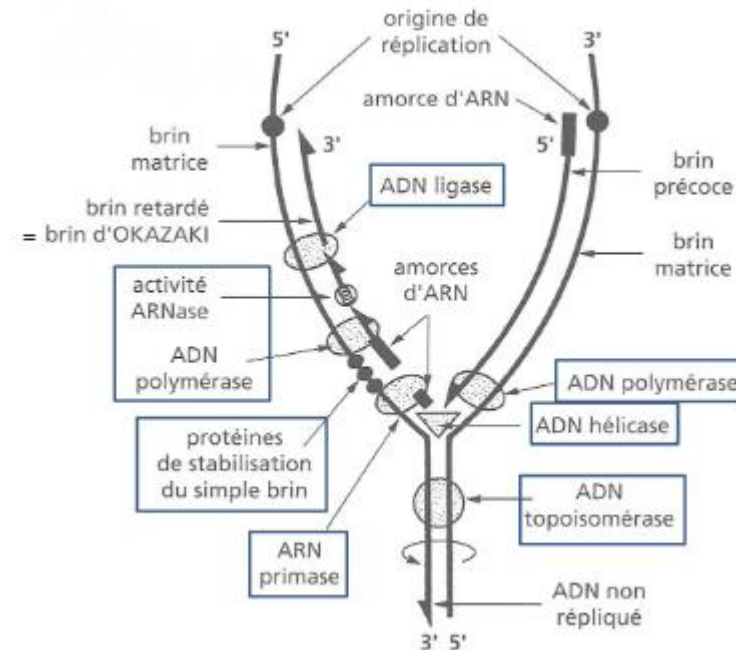


Figure 19: Vision synthétique de la réplication (D'après Peycru et *al*, 2010).

#### II.1.3.6. Correction immédiate des erreurs

Les ADN polymérases sont capables de détecter les erreurs qu'elles ont commises et de les corriger immédiatement. Cette activité de contrôle-correction d'épreuve (proofreading) des polymérases résulte d'une activité 3' exonucléasique que possèdent en plus ces polymérases. on pense aujourd'hui que le processus est le suivant : la polymérase en action entoure l'ADN comme un grand manchon. Si la base qui vient d'être ajoutée n'est pas la bonne, la structure dans l'espace de l'ADN est modifiée. Cette modification augmente le volume de l'ADN et bloque l'ADN polymérase. Cet arrêt permettrait à l'activité 3' exonucléasique de s'exercer, d'où excision de la base indûment incorporée, permettant ainsi la correction de l'erreur et redémarrage de la polymérase (Kaplan & Delpech, 1993).

#### II.2. Réplication chez les eucaryotes

Faute d'un nombre suffisant de mutants, les mécanismes y sont moins bien connus. Les données accumulées montrent cependant que le système est proche de celui des bactéries. Les différences connues portent principalement sur les polymérases.

## II.2.1. Différents ADN polymérase chez les eucaryotes

### II.2.1.1. Polymérase $\alpha$ /primase

Elle est composée de quatre sous unités : une grosse sous unité qui possède l'activité catalytique, deux sous unités possédant une activité de type primase (qui assure la synthèse des amorces) et une dernière sous unité à activité inconnue. Cette enzyme ne possède cependant pas d'activité exonucléasique 3'→5', elle n'est donc pas capable d'assurer la correction des épreuves (proofreading) et ne peut pas assurer à elle seule la répllication de l'ADN chez les eucaryotes.

### II.2.1.2. Polymérase $\beta$

Cette polymérase nucléaire assure un double rôle. Elle assure la synthèse couplée à la réparation de l'ADN, et la finition du brin retardé après excision des amorces ARN. Son rôle est donc le même que celui de l'ADN pol I des procaryotes.

### II.2.1.3. Polymérase $\gamma$

Il s'agit d'une polymérase à localisation mitochondriale, bien qu'elle soit codée par un gène nucléaire. Cette enzyme possède contrairement aux deux autres une activité 5' exonucléasique.

### II.2.1.4. Polymérase $\delta$

Cette enzyme n'a d'activité notable qu'en présence d'une protéine PCNA (ProliferatingCellNuclearAntigen : un puissant activateur de la pol  $\delta$ ). Elle possède une activité de type 3'→5' exonucléasique. Son rôle semble différent selon les espèces : synthèse du brin direct chez les virus et du brin retardé chez les levures et vraisemblablement les deux brins chez les eucaryotes, peut être en jonction avec la polymérase  $\epsilon$ .

### II.2.1.5. Polymérase $\epsilon$

Cette enzyme possède l'activité 3'→5' exonucléasique. On ne connaît pas encore son rôle exact. Elle se différencie de la polymérase  $\delta$  par le fait que physiologiquement elle est active, même en l'absence de PCNA. Elle semble impliquée aussi bien dans la répllication que dans la réparation de l'ADN.

## II.2.2. Déroulement de la répllication chez les eucaryotes

Selon le model basé sur les observations effectuées chez le virus SV40, la répllication in vitro de l'ADN, met en jeu principalement les ADN polymérase  $\alpha$ ,  $\delta$  et/ou  $\epsilon$ . Dans ce

modèle, un double hexamère formé par l'antigène T de SV40 (hélicase) se fixe sur la séquence palindromique qui correspond à l'origine de répllication du génome de SV40. Cette hélicase, en présence de la protéine auxiliaire RPA (protéine de répllication A), déroule l'ADN double-brin.

Une fois l'origine de la répllication localement dénaturée, le complexe ADN polymérase- $\alpha$ -primase se fixe sur le complexe ADN antigène T-RPA et synthétise l'amorce ARN d'une longueur d'une dizaine de nucléotides. Cette amorce est ensuite allongée grâce à l'activité polymérasique de ADN polymérase- $\alpha$ . Une amorce ARN-ADN est ainsi créée ; elle va permettre la synthèse du premier fragment d'Okazaki (Salas, et *al.*, 1996). Un complexe RF-C (facteur de répllication C)/PCNA se fixe sur l'extrémité 3' OH de cette amorce ARN/ADN néosynthétisée, dissocie l'ADN polymérase  $\alpha$  de la matrice d'ADN, laissant la place à l'ADN polymérase  $\delta$  et/ou  $\epsilon$  qui reconnaît le complexe RFC/PCNA et sera responsable de la synthèse du brin continu. Dans ce complexe, l'hétéropentamère RF-C permet de charger la protéine PCNA sur l'ADN (Jonsson & Hübscher, 1997) et PCNA interagit directement avec l'ADN polymérase  $\delta$  pour augmenter son efficacité (Jonsson & Hübscher, 1997).

Sur le brin à synthèse discontinue, l'ADN polymérase  $\alpha$ -primase préalablement dissociée remet en route la synthèse d'une nouvelle amorce d'ARN/ADN. L'ADN polymérase  $\alpha$ -primase est ensuite remplacée par l'ADN polymérase  $\delta$  qui complète la synthèse pour former un fragment d'Okazaki de 300 nucléotides de long (Dantzer & de Murcia, 1998).

Des fragments d'Okazaki sont ainsi synthétisés de manière discontinue et joints entre eux par l'ADN polymérase  $\delta$  dans le système de répllication de SV40 et/ou l'ADN polymérase  $\epsilon$  dans la répllication de l'ADN chromosomique (Dantzer & De Murcia, 1998). L'amorce d'ARN est progressivement dégradée par la nucléase FEN-1 (flapendonuclease) et/ou la RNase H1 et la lacune est comblée par l'ADN polymérase  $\delta$  et/ou  $\epsilon$  (Figure 20).

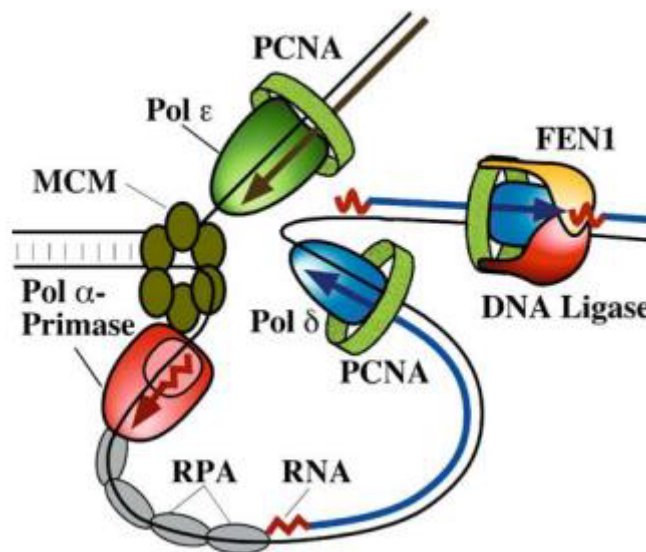


Figure 20: Ensemble de protéines intervenant dans la réplication de l'ADN chez les eucaryotes (Dantzer & De Murcia, 1998).

*Résultat de la réplication* : lorsque la réplication des deux brins est terminée, on obtient deux molécules filles identiques à l'ADN. Chez les eucaryotes, ces répliques sont appelées chromatides sœurs.

### II.2.3. Réplication des télomères et l'intérêt des télomérases que l'on rencontre dans certaines cellules

Les chromosomes eucaryotes étant linéaires, ils possèdent donc des extrémités qu'on appelle télomères. Ce sont des régions hautement répétitives généralement considérées comme non codantes. Il s'agit des répétitions en tandem de séquences simples d'ADN qui ne codent aucun ARN ni protéine. Chez l'homme le motif répété correspond à la séquence TTAGGG. Ces séquences télomériques ne sont pas entièrement répliquées par le réplisome. En effet, dans cet ADN linéaire, le retrait des amorces ARN aux extrémités des brins directs laisse un trou qui ne peut pas être comblé puisque les polymérases ne travaillent que dans le sens 5' → 3' : il s'ensuit que le brin néoformé est plus court que le brin matrice (Figure 21).

Au fil des générations de cellules, les chromosomes se raccourcissent légèrement et il se pourrait que certaines portions codantes ou du moins régulatrices finissent par être altérées, ce qui expliquerait par exemple en partie le vieillissement.



Dans certaines cellules, notamment les cellules embryonnaires ou encore dans les cellules germinales, des enzymes permettent toutefois de rallonger les télomères, ce qui évite le raccourcissement des chromosomes ou l'altération des séquences codantes. On peut citer une enzyme, la télomérase (Figure 21).

La protéine télomérase porte une petite molécule d'ARN dont une partie joue le rôle d'amorce pour la polymérisation de l'unité télomérique répétée, qui est ajoutée à l'extrémité 3'. L'ADN supplémentaire peut servir d'amorce pour la synthèse sur le brin retardé (Griffiths et al, 2001).

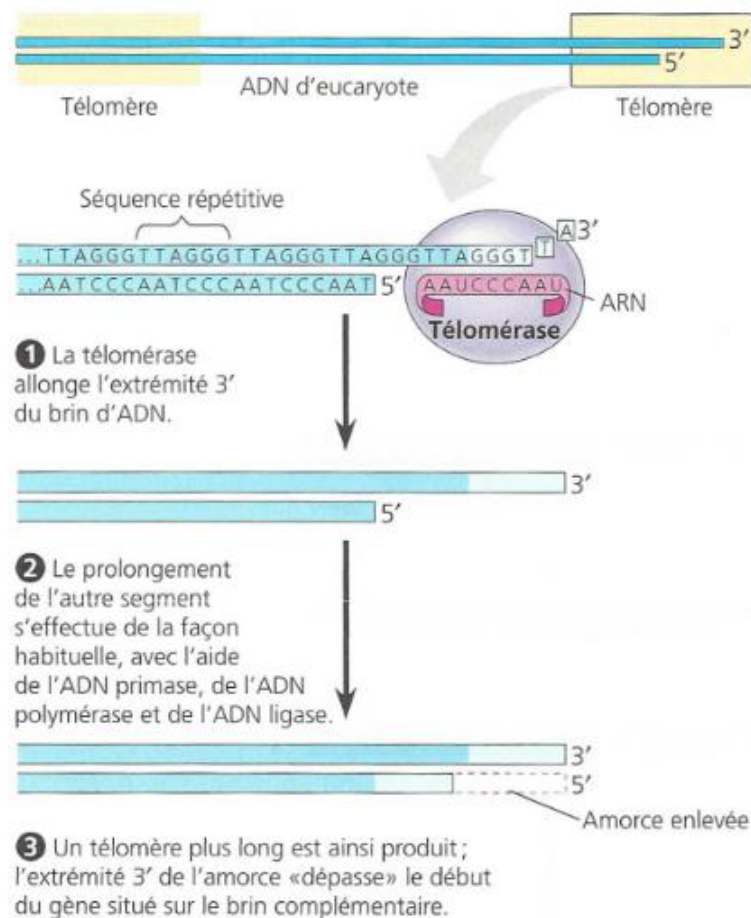


Figure 21: Télomères et télomérase (D'après Campbell & Reece, 2004).

### II.3. Mécanismes de réparation chez les eucaryotes :

Chez les bactéries comme chez les Eucaryotes, l'ADN polymérase fait des erreurs de réplication qui génèrent des mutations ponctuelles. Dans la majorité des cas, ces mutations sont corrigées soit sur épreuve par l'ADN polymérase elle-même qui possède une activité exonucléasique, soit après réplication, grâce à des systèmes variés de réparation de l'ADN qui balaient continuellement l'ADN à la recherche d'anomalies (Griffiths et al, 2001).

### II.3. 1. Variation: Mutations, recombinaison et transposition :

#### II.3.1.1. Définition de mutation et mutation ponctuelle :

Une mutation au sens le plus large désigne toute modification de l'information génétique d'une cellule ; c'est donc un synonyme – dans cette acception – de variation génétique. D'autre part, on appelle mutation ponctuelle (mutation génique) une modification locale de la séquence nucléotidique qui affecte une paire de base, ou quelques paires de bases.

#### II.3.1.1.2. Substitutions de bases :

Il s'agit des mutations dans lesquelles une paire de bases est remplacée par une autre. Les substitutions de bases peuvent être divisées en deux classes: les transitions et les transversions :

Transition: il s'agit d'un remplacement d'une base par l'autre base de la même catégorie chimique (une purine remplacée par une purine : soit A en G ou G en A ; une pyrimidine remplacée par une pyrimidine soit T en C ou C en T).

Transversion: c'est en fait l'opposé de la transition, il s'agit d'un remplacement d'une base appartenant à une catégorie chimique par une base appartenant à l'autre catégorie chimique (une pyrimidine remplacée par une purine : T en A, T en G ou C en A, C en G ou une purine remplacée par une pyrimidine : G en T, G en C ou A en G, A en T).

Les mutations qui perdurent produisent de nouveaux allèles. On peut classer les mutations selon leur effet sur l'expression génétique:

Mutations efficaces : il s'agit des mutations modifiant la fonctionnalité d'une protéine ou les séquences régulatrices.

a) Mutation faux-sens : changement d'un codon en un autre qui code pour un acide aminé différent, ce qui change la fonctionnalité de la protéine. Dans ce contexte on se trouve face à deux cas de figure : mutation perte de fonction : la protéine perd sa fonction ou mutation gain de fonction : la protéine acquiert une meilleure ou une nouvelle fonctionnalité (néofonction).

- Mutation non-sens : apparition d'un codon-stop qui aboutit à un polypeptide tronqué.
- Mutation touchant des zones non codantes du génome.
- Mutation silencieuse : le codon est remplacé par un codon équivalent (grâce à la redondance du code génétique), ce qui ne modifie pas le polypeptide.
- Mutation neutre avec modification d'acide aminé (AA) : un nouveau codon codant pour un nouvel AA apparaît mais cet AA ne modifie pas la fonctionnalité de la

protéine (raisons possibles : il est situé dans un domaine non stratégique de la protéine, ou bien c'est un AA avec des propriétés équivalentes à celui qu'il remplace...).

Mutation par addition ou délétion de base: ce phénomène concerne en réalité les paires de bases. Les mécanismes qui produisent sélectivement certaines sortes d'addition ou de délétions sont la cause de maladies génétiques humaines. En effet, l'addition ou la délétion d'une seule paire de bases dans l'ADN modifiera le cadre de lecture à partir de la position de cette addition ou délétion et cela jusqu'à l'extrémité carboxy-terminale de la protéine. On appelle donc ces lésions des mutations par décalage de cadre de lecture. Ces dernières entraînent généralement la perte intégrale de la structure et de la fonction de la protéine codée (Griffiths et al., 2001).

### II.3.1.2. Mutations ponctuelles qui peuvent apparaître lors de la réplication de l'ADN

Lors de la réplication, l'ADN polymérase peut effectuer des erreurs de réplication qui peuvent conduire à des mutations. La plupart des mutations sont corrigées lors de la réplication par l'ADN polymérase elle-même qui possède une activité autocorrectrice.

Exemple des mésappariements dus à la tautomérie des bases azotées :

Les bases azotées existent chimiquement sous deux formes isomères où un hydrogène peut se déplacer nommées formes tautomères. La forme *céto* de chaque base est celle que l'on trouve généralement dans l'ADN. Alors que les formes *énol* des bases sont rares. Supposant par exemple qu'une guanine dans l'ADN se change en sa forme *énol* au moment où elle est copiée lors de la réplication (elle revient à sa forme *céto* peu après). La forme *énol* se liera à une thymine entrante (Figure 22).

$G_{(c\acute{e}to)} - C \rightarrow G_{(\acute{e}nol)} - C \rightarrow \text{premier cycle de r\acute{e}plication} \rightarrow G-T \text{ et } G-C$

$G-T \rightarrow \text{deuxi\`eme cycle de r\acute{e}plication} \rightarrow G-C \text{ et } A-T$

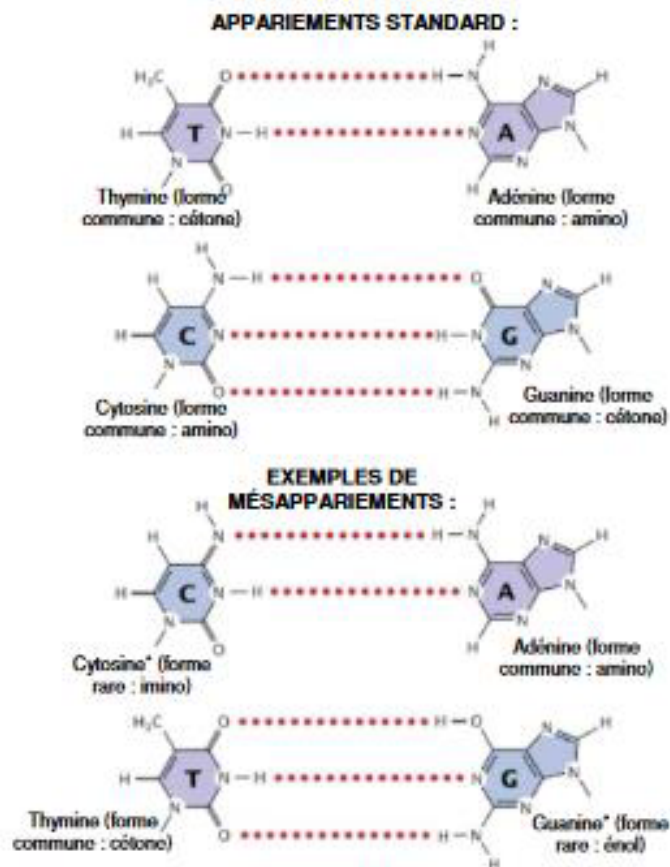


Figure 22: Appariements standards de bases azotées et mésappariements (D'après Pray, 2006).

### II.3.2. Erreurs dues aux agents mutagènes

Certains agents de l'environnement augmentent la fréquence des mutations, ils sont qualifiés d'agents mutagènes.

#### II.3.2.1. Dimérisation de thymines par rayonnement UV (ultra-violet)

Il existe de nombreux agents mutagènes qui sont des agents environnementaux capables d'augmenter la fréquence des mutations. Les rayons qui constituent un agent mutagène naturel, peuvent provoquer une dimérisation des bases pyrimidiques (notamment si deux thymines se suivent sur un brin) : il y a formation de liaisons covalentes entre les bases (Figure 23). Si la modification persiste, une substitution, une délétion ou un arrêt de la réplication peuvent s'ensuivre lors de réplication. Une maladie génétique appelée Xeroderma pigmentosum rend les personnes affectées très sensibles à la lumière solaire et celles-ci souffrent de lésions de peau, de cancer cutané. Cette maladie est due à la mutation des gènes permettant la synthèse des protéines qui vont éliminer les dimères de thymine ou de Thymine--cytosine provoquer par l'action des UV (Griffiths et *al*, 2001).

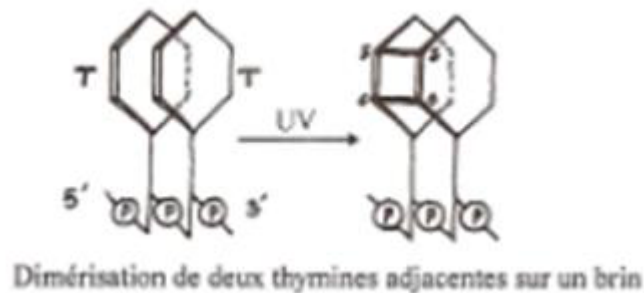


Figure 23: Dimérisation de thymine (D'après Poulizac, 1999).

### II.3. 2.2. Analogues de bases :

Les mésappariement peuvent aussi se produire lorsque des bases s'ionisent spontanément. L'agent mutagène 5 Bromouracil (5BU) est un analogue de thymine qui possède un brome au niveau du carbone 5 à la place du groupement CH<sub>3</sub> que l'on trouve dans la thymine. La forme céto du 5BU s'apparie avec l'adénine comme le ferait la thymine. Toutefois, sa forme ionisée peut s'apparier avec la guanine (Griffiths et *al*, 2001).

### II.3.2.3. Modification des bases par des agents alkylants :

Certains agents alkylants tel que l'éthylméthanesulphonate (EMS) et la nitrososuanidine (NG) sont des mutagènes qui modifient les bases en provoquant un mésappariement spécifique. En effet l'EMS ajoute un groupement éthyle et le NG ajoute un groupement méthyle en de nombreuses positions des bases. L'alkylation de la guanine et de la thymine conduit à un mésappariement respectivement avec la thymine et la guanine.

### II.3.2.4. Agents intercalants

Ce groupe de composés comprend la proflavine et l'acridine orange. Ces agents sont des molécules planes qui ressemblent aux paires de bases et sont capables de se glisser (s'intercaler) entre les bases azotées empliées au cœur de la double hélice d'ADN. Dans cette position, un agent peut provoquer des insertions ou des délétions d'une seule paire de nucléotides. Ou alors, ces agents peuvent s'intercaler entre les bases dans l'ADN simple brin.

### II.3.2.5. Recombinaison de l'ADN chez les eucaryotes

Il s'agit de la recombinaison meiotique, durant cette période, les chromosomes homologues s'associent en formant des synapses. Il est vraisemblable que les échanges entre séquences homologues qui s'effectuent sont à l'origine de larges brassages de l'information

génétique. Ce phénomène mène directement à la modification des assortiments des allèles dans la région considérée. Les conséquences de la recombinaison sont les suivants :

- L'augmentation du nombre de copies de gènes répétés : si un gène est répété sur un chromosome, il en résultera une recombinaison inégale au terme de laquelle l'un des chromosomes possédera un nombre plus élevé de copies avant recombinaison ; l'autre un nombre plus faible.
- Les recombinaisons peuvent provoquer des lésions : suivant les points de recombinaison choisis, il en résultera des délétions, des insertions ou des remaniements chromosomiques.
- Certains gènes peuvent exister initialement sous forme inactive par manque de promoteur. Une transposition ou une recombinaison en mettant bout à bout le gène de structure et le promoteur permettra l'expression.

#### II.3.2.6. Transposons et rétrotransposons

La caractérisation des séquences d'ADN « mobile » fut, comme celle des introns, une grande surprise. Les premiers éléments mobiles les IS (insertion séquence) furent mis en évidence chez les bactéries *E.coli.* (*Echerichia Coli*). Comme leur nom l'indique ces éléments sont capables de s'insérer à peu près n'importe où dans le génome. D'autres éléments possèdent des propriétés analogues, mais de structure plus complexe, ont été retrouvés aussi bien chez les bactéries que chez les végétaux et les animaux. Le nom d'éléments transposables ou transposon leur a été attribué. Le transposon possède dans sa structure les gènes codant pour les protéines nécessaires à son insertion notamment la transcriptase inverse. Il est important à noter que le phénomène de transposition est un événement rare. Ces séquences sont appelées séquences LINE (Long interspersed repeated sequences) ou séquences SINE (Short interspersed repeated sequences). Elles ont une structure qui permet de penser qu'elles résultent d'une rétrotranscription d'un ARN. Un rétrotransposon est transcrit en ARN dont la structure est analogue à celle d'un rétrovirus, puis cet ARN s'intègre ensuite dans le génome comme le ferait un rétrovirus (Kaplan & Delpech, 1993).

#### II.3.2.7. Radiations ionisantes

Les radiations ionisantes alpha et gamma provoquent le type de lésions les plus dangereuses pour l'ADN, c'est-à-dire la cassure des deux brins de la molécule provoquant ainsi la mort de la cellule si aucun mécanisme n'intervient. C'est cette propriété qui est

utilisée pour tuer les cellules cancéreuses dans le cas d'un cancer réactif au traitement ionisant (rayons X, gamma,...)

#### II.4. Système de réparation :

##### II.4.1. Définition des systèmes de réparation :

Toute cellule subit à tout moment des agressions physiques et chimiques de l'environnement susceptibles d'altérer différentes molécules cibles. Les altérations de la molécule d'ADN seront les plus graves puisqu'elles peuvent être pérennisées. Une série de système assure le maintien de l'intégrité de l'ADN face aux agressions. Les mécanismes de réparation ont été hautement conservés au cours de l'évolution : le mécanisme de réparation eucaryote a des analogies avec E-Coli. Chez l'Homme on identifie des gènes impliqués dans différents types de la réparation : réversion directe du dommage, le système BER, le système NER, la réparation des mésappariements, la réparation par recombinaison.

Nous pouvons séparer les systèmes de réparation en plusieurs catégories :

La prévention des erreurs : certains systèmes enzymatiques neutralisent les composés susceptibles d'endommager l'ADN avant même qu'ils réagissent avec celui-ci. C'est l'exemple de l'enzyme superoxyde dismutase qui détoxifie les radicaux superoxyde en catalysant leur conversion en peroxyde d'hydrogène.

Le retour à l'état antérieur : Il arrive que certaines mutations se corrigent: c'est typiquement le cas des dimérisations de thymine. L'enzyme *photolyase* se fixe au photodimère et le scinde en deux en présence de certaines longueurs d'ondes de la lumière visible pour redonner les bases d'origine (Figure 24).

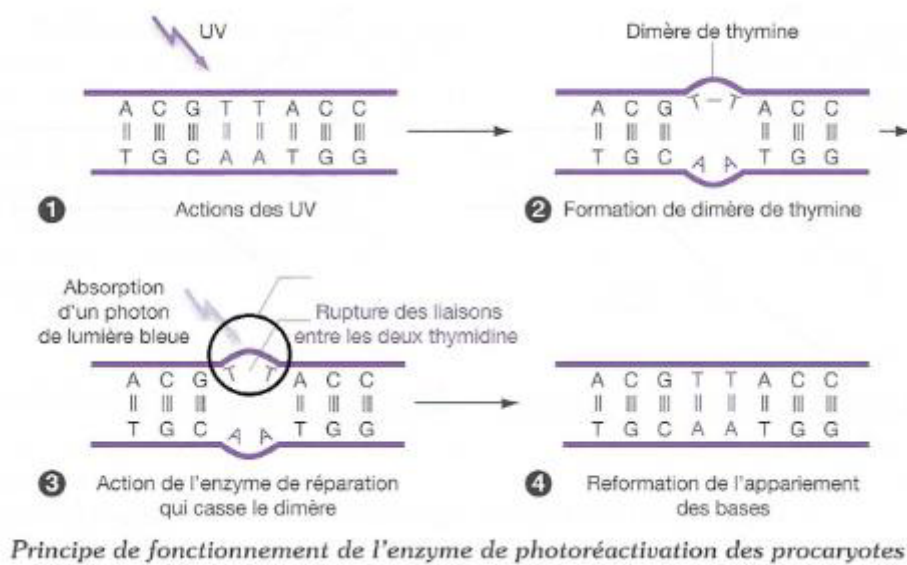


Figure 24: Principe de fonctionnement de la photolyase (D'après Breuil, 2007).

#### II.4.2. Systèmes de réparation par excision

Le système général de réparation par excision casse une liaison phosphodiester de part et d'autre de la lésion entraînant ainsi l'excision d'un oligonucléotide. Ceci laisse une brèche, remplie par une synthèse réparatrice ; une ligase ressoude ensuite les cassures. La réparation par excision de bases est réalisée par des ADN glycosylase :

##### II.4.2.1. Réparation par excision de bases (BER):

Les lésions réparées par le système BER regroupent des dépurinations spontanées de l'ADN, des désaminations de cytosine et méthylcytosine, des produits de réaction avec les radicaux libres et des méthylation de l'ADN(Seeberg et al., 1995 ; Wood, 1996). Dans ce système de réparation les ADN glycosylases y jouent un rôle crucial.Ces dernières sont responsables du clivage de la liaison N-glycosidique entre la base et le désoxyribose (Figure 25). Il en résulte un site apurique/aprimidique (AP) au niveau du quel l'endonuclease APE1 provoque une incision. Lorsqu'un seul nucléotide est excisé, la voie de « réparation par brèche courte »(short-patch) est activée. Cette voie majoritaire fait intervenir le complexe ADN polymérase  $\beta$ /XRCC1/ADN ligase III/PARP (poly [ADP-ribose] polymérase) dans lequel la PARP joue un rôle à la fois de détecteur du site AP incisé et de recrutement des autres protéines (Caldecott et al., 1996 ; Masson et al., 1998). Le résidu désoxyribose phosphate est ensuite excisé et le nucléotide resynthétisé par l'ADN pol  $\beta$ , s'en suit alors la ligation par le complexe XRCC1-ligase III. Alors que dans sa version plus complexe « réparation par brèche longue » (long-patch) plusieurs nucléotides viennentremplacer les



anciens. Les nucléotides déplacés, formant un petit oligonucléotide, sont éliminés par l'endonucléase FEN-1, fait intervenir l'ADNpol  $\beta$ , ADNpol  $\delta/\epsilon$  et PCNA pour la resynthèse et enfin, l'ADN ligase I pour la ligation (Hoeijmakers, 2001). (Figure 25 et Figure 27).

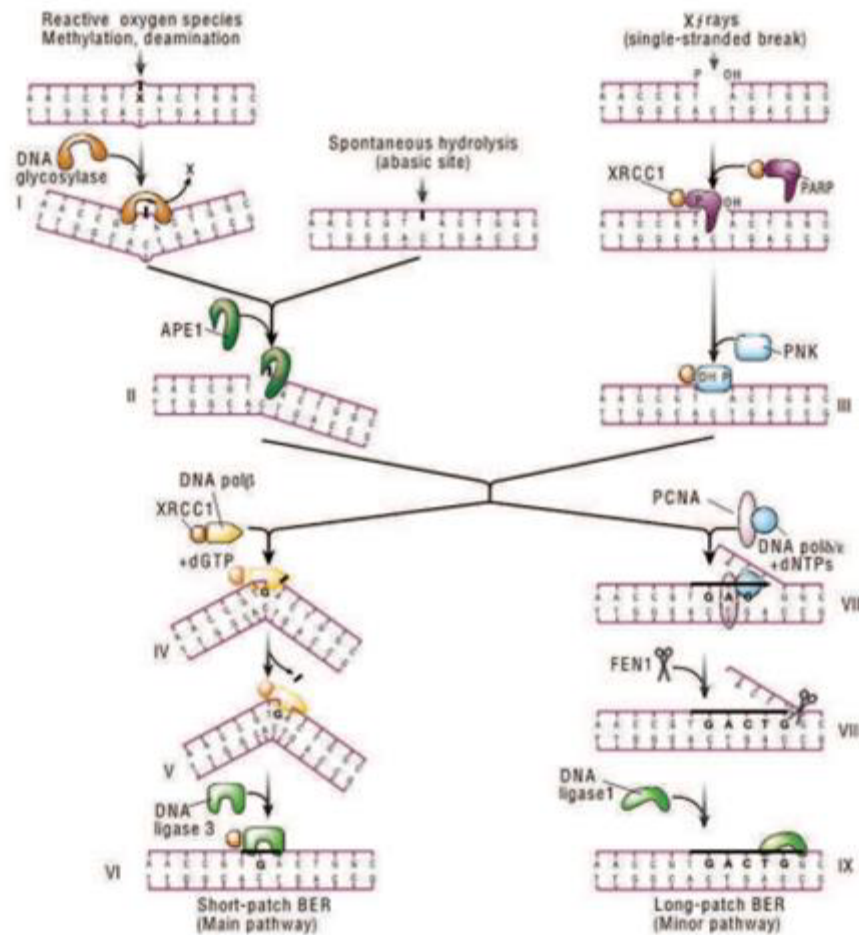


Figure 25: Mécanisme de réparation par excision de base (BER) (Hoeijmakers, 2001).

#### II.4.2.2. Réparation par excision de nucléotides (NER) :

La réparation par excision de nucléotides est efficace sur les lésions encombrantes ou provoquant une distorsion importante de l'hélice d'ADN. Elle élimine les adduits formés par l'action des carcinogènes chimiques comme le cisplatine et des photoproduits de l'ADN engendrés par les rayons UV-C (Wood R. 1996). Chez l'homme, le système de réparation par excision de nucléotides est le mécanisme principal impliqué dans la réparation des dommages produits par les UV. Des mutations dans les gènes codant pour les protéines XP qui participent au système NER sont responsables du xeroderma pigmentosum caractérisé par un

risque élevé de développer des cancers de la peau (Schaeffer L, Egly J. 1994). Le complexe RPA/XPA reconnaît la lésion sur l'ADN, l'activité hélicase portée par le facteur de transcription TFIIH permet la formation d'une structure ouverte au niveau du site du dommage. L'ADN est d'abord incisé à 2-9 nucléotides en 3' de la lésion par l'endonucléase XPG, puis à 16-25 nucléotides en 5' de la lésion par le complexe XP-F/ERCC1. Un oligonucléotide d'environ 30 nucléotides contenant la lésion est alors excisée. La lacune d'ADN doit ensuite être remplie par une ADN polymérase. Or ce système nécessite *in vitro* comme *in vivo* le facteur accessoire des ADN polymérases  $\delta$  et  $\epsilon$  : PCNA. Enfin, l'ADN ligase aide à fermer et à sceller la liaison (Bergink S *et al.*, 2012). (Figure 26 et Figure 27).

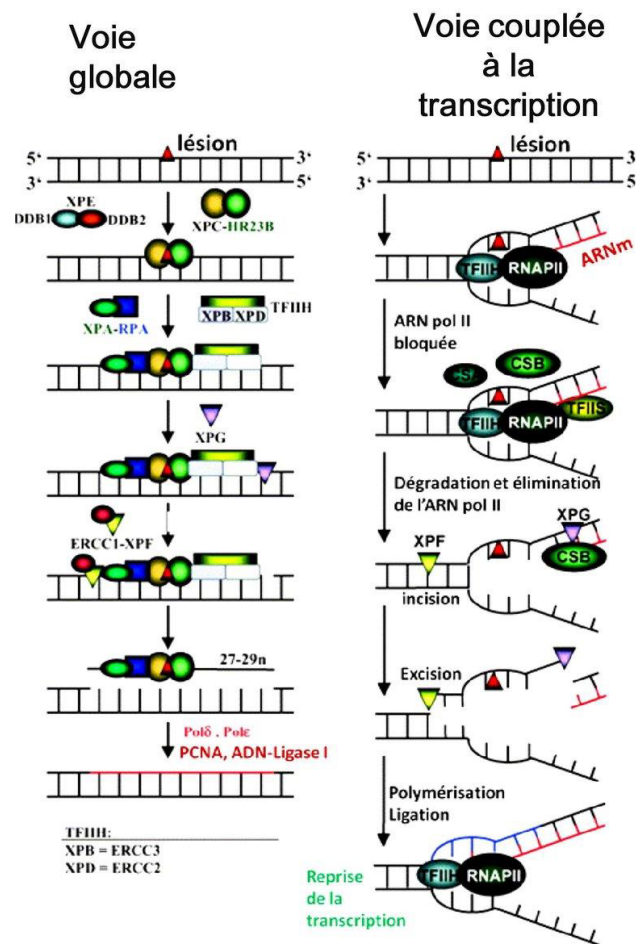


Figure 26: Mécanisme de réparation par excision de nucléotide (NER) (Christmann *et al.*, 2003).

Le mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER) peut avoir lieu lors de la réparation par voie globale ou celle couplée à la transcription.

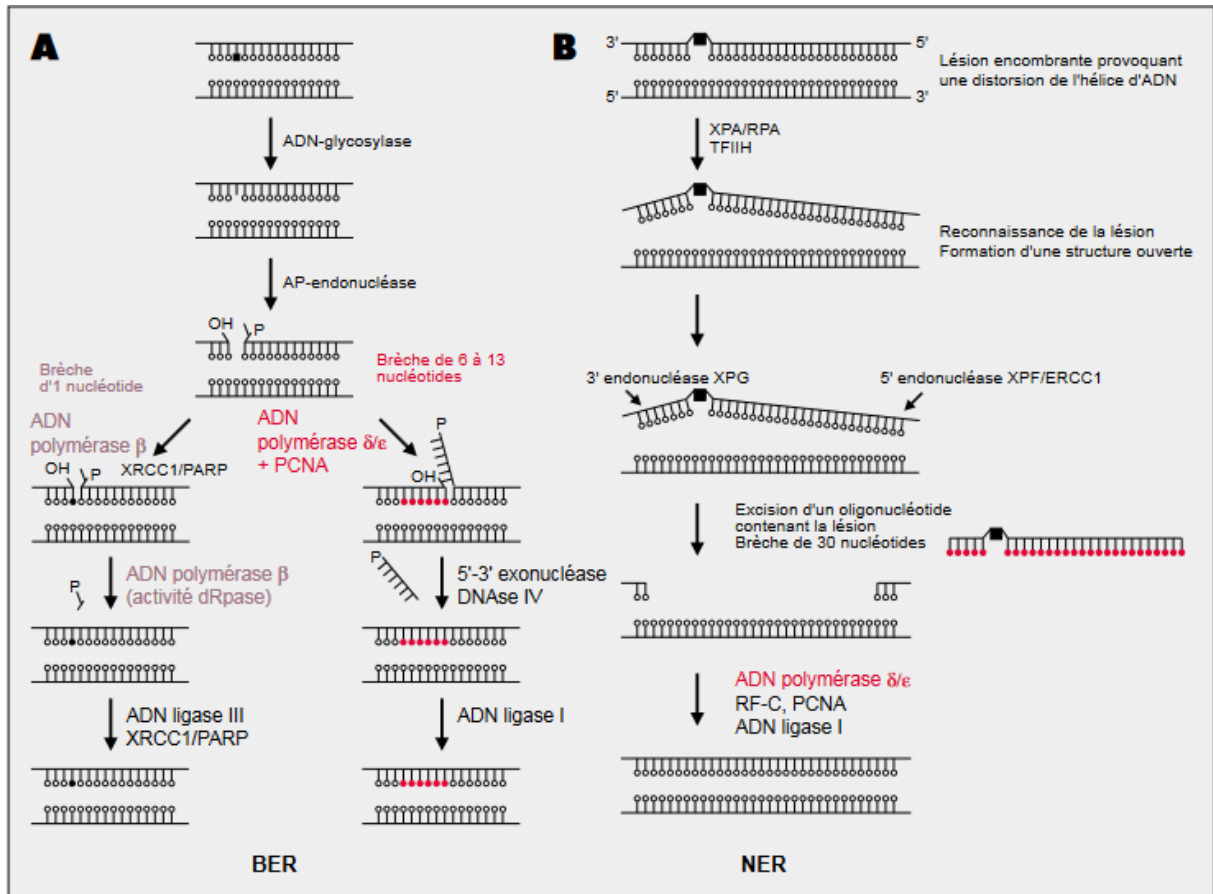


Figure 27: Représentation schématique de la réparation par excision de bases (BER) et de la réparation par excision de nucléotides (NER) chez les eucaryotes (D'après Friedberg, Wood 1996).

A. La réparation par excision de bases comprend deux voies parallèles : une voie de réparation à brèche courte (1 nucléotide) impliquant l'ADN polymérase  $\beta$ , associée au complexe XRCC1-ADN ligase III-poly[ADP-ribose] polymérase, et une voie de réparation à brèche longue (6 à 13 nucléotides) impliquant les ADN polymérases  $\delta$  et/ou  $\epsilon$ . B. La réparation par excision de nucléotides engendre une brèche de 30 nucléotides environ, remplie par les ADN polymérases  $\delta$  et/ou  $\epsilon$ . (D'après Friedberg, Wood 1996).

#### II.4.2.3. Réparation des mésappariements MMR :

Les protéines homologues de MutS de *E. coli* reconnaissent la lésion dans l'ADN : l'hétérodimère hMSH2/GTBP reconnaît un mésappariement d'un nucléotide ou une boucle de 1-2 nucléotides et l'hétérodimère hMSH2/hMSH3 reconnaît une boucle de plus de 2 nucléotides. Le complexe ADN- hMutS est reconnu à son tour par un autre hétérodimère composé de protéines homologues de MutL de *E. coli* : hMLH1/hPMS2. L'élimination du brin incorrect est réalisée par une exonucléase qui peut être la DNase IV/FEN1 (ou 5'-3' exonucléase) puis l'étape de resynthèse/ligation est similaire à celle de la réparation par

excision de nucléotides. Durant le processus de resynthèse, l'ADN polymérase  $\delta$  et/ou  $\epsilon$  dans ce processus et PCNA sont impliquées (Xiao et al., 2014) (Figure 28).

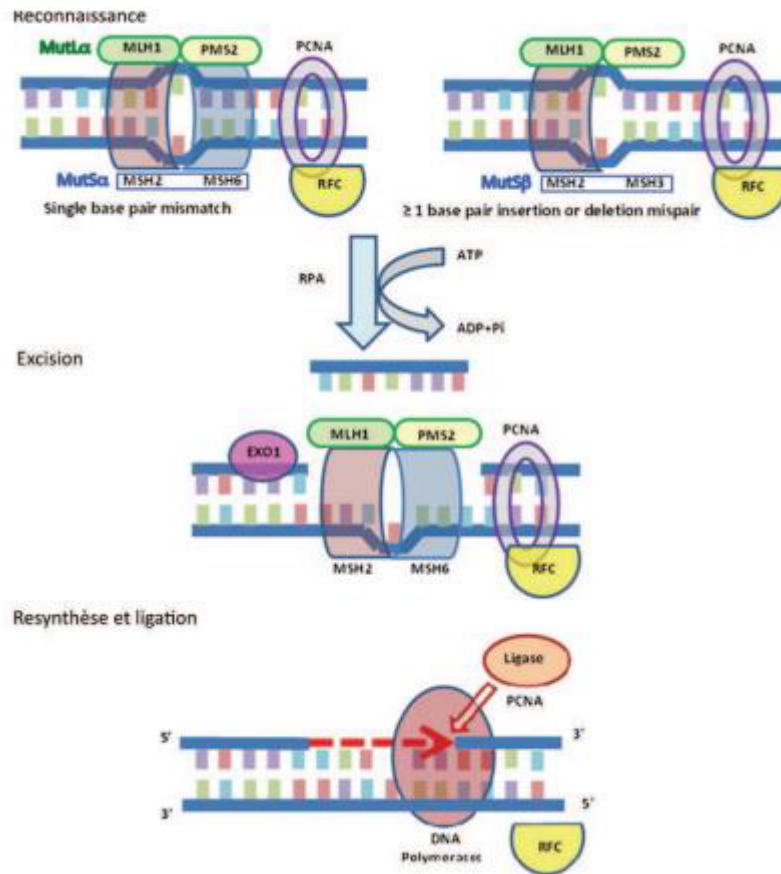


Figure 28: Mécanisme de la réparation MMR. (Xiao et al., 2014).

### Chapitre III : Organisation du Génome eucaryote

#### III.1.Rappels sur la structure des génomes

L'ADN est constitué de millions de nucléotides dont l'enchaînement précis détermine l'information génétique de chaque organisme. C'est uniquement au cours de la division cellulaire qu'il est possible d'observer au microscope des chromosomes individualisés dont le nombre, la taille et la forme sont constants et caractéristiques pour toutes les cellules somatiques d'une espèce donnée et qui se regroupent en paires de chromosomes homologues (à l'exception de la paire des chromosomes sexuels, souvent morphologiquement très différents) (Tableau I a et b).

Tableau I.a.: Comparaison des génomes de quelques organismes (en Kb) (D'après Petit et Julien, 2007).

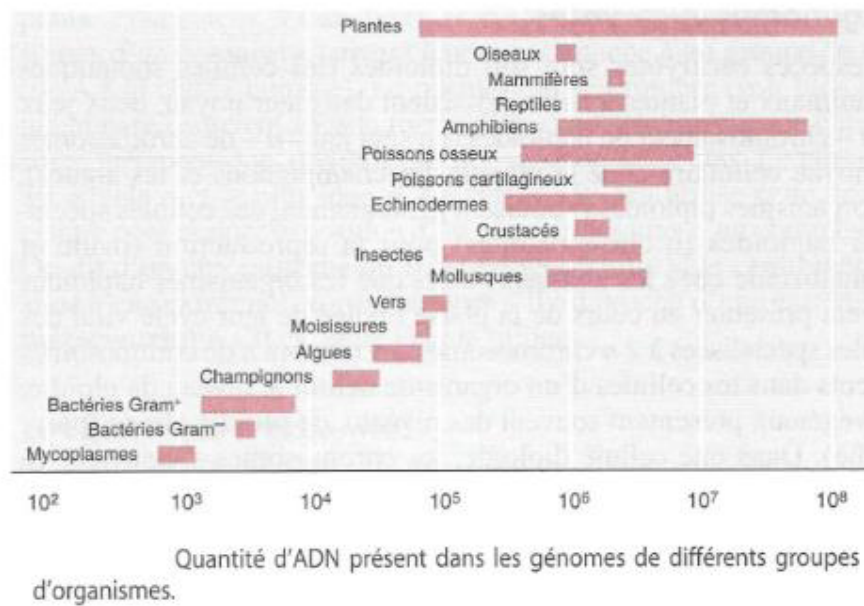


Tableau I b: Comparaison des génomes de quelques organismes (D'après Segarra, 2014)

Organisme	Nombre de paires de bases	Nombre de gènes estimés	Densité génique (Gènes/Mb)
<i>Mycoplasma</i>	0,6.10 <sup>5</sup>	450	860
<i>E. coli</i>	4.10 <sup>6</sup>	4 000	950
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.10 <sup>6</sup>	6 000	480
<i>Arabidopsis thaliana</i>	142.10 <sup>6</sup>	26 000	220
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97.10 <sup>6</sup>	19 000	190
<i>Drosophila melanogaster</i>	137.10 <sup>6</sup>	14 000	82
<i>Homo sapiens</i>	3.10 <sup>9</sup>	20 à 25 000	6.25

Taille des génomes de quelques êtres vivants procaryotes (*Mycoplasma* et *E. coli*) et eucaryotes (les autres)

### III.2. Organisation du Génome eucaryote

Le génome définit l'ensemble de l'information génétique d'un organisme contenu dans chacune de ses cellules sous la forme de chromosomes. Il correspond à l'ADN d'un lot haploïde de chromosome. Il contient les instructions nécessaires au développement, au fonctionnement, au maintien de l'intégrité et à la reproduction des cellules et de l'organisme.

#### III.2.1. Taille et constitution des génomes eucaryotes

##### III.2.1.1 Taille des génomes eucaryotes

Les tailles des génomes sont mesurées en unité de milliers de paires de bases (appelés kilobases Kb) ou en millions de paires de bases (mégabases Mb), qui valent respectivement 1 000 et 1 000 000 de paires de bases. Les tailles des génomes varient de quelques kilobases (10<sup>3</sup> nucléotides ou kb) dans le cas de petits virus à plusieurs milliers de mégabases (10<sup>6</sup> nucléotides ou Mb) (Figure 29). Tous ces génomes sont très fortement compactés *in vivo* (histones basiques organisées en nucléosomes chez les eucaryotes, protéines de type histone et polyamines chez les bactéries).

*In vivo*, tous les ADN présentent un degré défini de superhélicité. Les propriétés rappelées ci-dessous sont valables pour des molécules topologiquement fermées (c'est-à-dire circulaires comme les plasmides, ou organisées en boucles de 40 kb à 60 kb environ comme l'ADN des chromosomes bactériens ou eucaryotes).

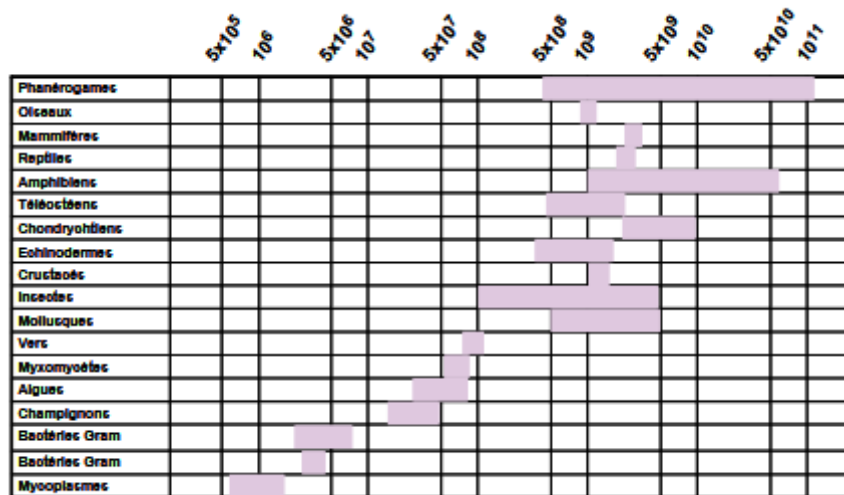


Figure 29: Tailles des génomes d'organismes représentatifs (D'après Segarra, 2014).

### III.2.1.2. Caractéristiques des génomes eucaryotes

Les molécules d'ADN du génome des eucaryotes sont en général plus grandes que les molécules des procaryotes et possèdent certaines caractéristiques que l'on ne trouve pas chez les procaryotes. Ces propriétés spécifiques des eucaryotes sont les suivantes :

- L'ADN de la plus part des génomes eucaryotes contient des séquences répétitive qui ne correspondent pas à des gènes.
- L'ADN des eucaryotes contient des copies imparfaites de certains gènes, qui sont apparemment non fonctionnelles, appelées pseudogènes.
- Les molécules linéaires d'ADN des chromosomes eucaryotes se terminent par des séquences particulières appelées télomères, sauf pour les chromosomes présents dans les mitochondries et les chloroplastes.
- Une grande partie de l'ADN des génomes eucaryotes forment de longs intervalles qui séparent les gènes successifs 5 (Prescott, 1989).

### III.2.2. Différents génomes des espèces

De manière générale, la taille du génome des Eucaryotes s'étend de 10 Mb (Saccharomyces :12 Mb) à 100 000 Mb (Fritillaire). Certains végétaux ont un génome plus important (Triticum : 17 000 Mb). Il est quand même intéressant de noter que la quantité d'ADN n'est pas proportionnelle à la complexité apparente d'un organisme. Les urodèles, les dipneustes, certaines fougères ou encore certains conifères comme les pins ont des génomes plus de 10 fois plus grands que le génome humain.

#### III.2.2.1. Valeur C

Les premiers biologistes qui mesurèrent la masse d'ADN dans les noyaux des cellules eucaryotes trouvèrent donc très remarquable que cette valeur soit constante, d'une part, entre les cellules des différents tissus d'un même organisme et d'autre part, entre les cellules des différents individus d'une même espèce. Ainsi, la masse de ce que l'on appelle aujourd'hui le génome a été désignée par la valeur C (pour valeur constante). La valeur C est donc utilisée pour désigner la taille du génome haploïde. La taille d'un génome haploïde, exprimée en nombre de paires de bases nucléotidiques (Mb ou million de bases), est constante pour une espèce déterminée.

### III.2.2.2. Valeur G

Quant à la valeur G, elle indique le nombre de gènes trouvés dans un génome haploïde. Ce nombre est une combinaison des gènes connus et des phases ouvertes de lectures prédites.

### III.2.2.3. Paradoxe C et G

Le paradoxe C est défini lorsque la taille des génomes ne corrèle pas avec la complexité des organismes. Ce paradoxe est largement dû à la présence de larges portions d'ADN non codant chez les eucaryotes. On cite à titre d'exemple le génome de la drosophile (*Drosophila melanogaster*) qui est de 180Mb tandis que celui de la sauterelle *Europeanbrown podisme pedestris* qui atteint 18000Mb, soit une différence de taille de 100 fois !. Cette différence est difficilement compréhensible compte tenu du niveau respectif de leur évolution.

Le paradoxe G correspond au nombre de gènes qui ne corrèle pas avec la complexité des organismes ; quand en 2001, paraît la séquence complète du génome humain, on décompte 30.000 gènes contre les 140.000 attendus. Il est intéressant de noter, également, que la drosophile (*Drosophila melanogaster*) a 40 fois plus d'ADN que *E.coli* mais seulement 3 fois plus de gènes.

Le paradoxe G et C correspond à la quantité d'ADN qui n'est pas proportionnelle à la complexité apparente d'un organisme. Les urodèles, les dipneustes, certaines fougères ou encore certains conifères comme les pins ont des génomes plus de 10 fois plus grands que le génome humain. Ce constat est fréquemment appelé le paradoxe de la valeur C (Griffiths et al, 2001).

### III.2.3. Différentes classes cinétiques de l'ADN

Comme décrit précédemment, il n'existe aucun lien entre le contenu en ADN et la taille d'un organisme. Les paradoxes C et G sont aujourd'hui attribués au fait que les gènes soient noyés dans une grande masse d'ADN apparemment non codant, mais dont certaines des séquences présentent une organisation particulière. Cette hétérogénéité des séquences d'ADN du génome des eucaryotes peut être mise en évidence par des expériences de cinétique de réassociation de brins d'ADN préalablement séparés par une élévation de la température au-dessus de la température de fusion de cet ADN. Avec de l'ADN des procaryotes la cinétique de réassociation est une sigmoïde presque parfaite. Cette cinétique parfaitement homogène indique que la vitesse de réassociation de toutes les séquences est la même, donc qu'elles ne sont pas répétées (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 30).



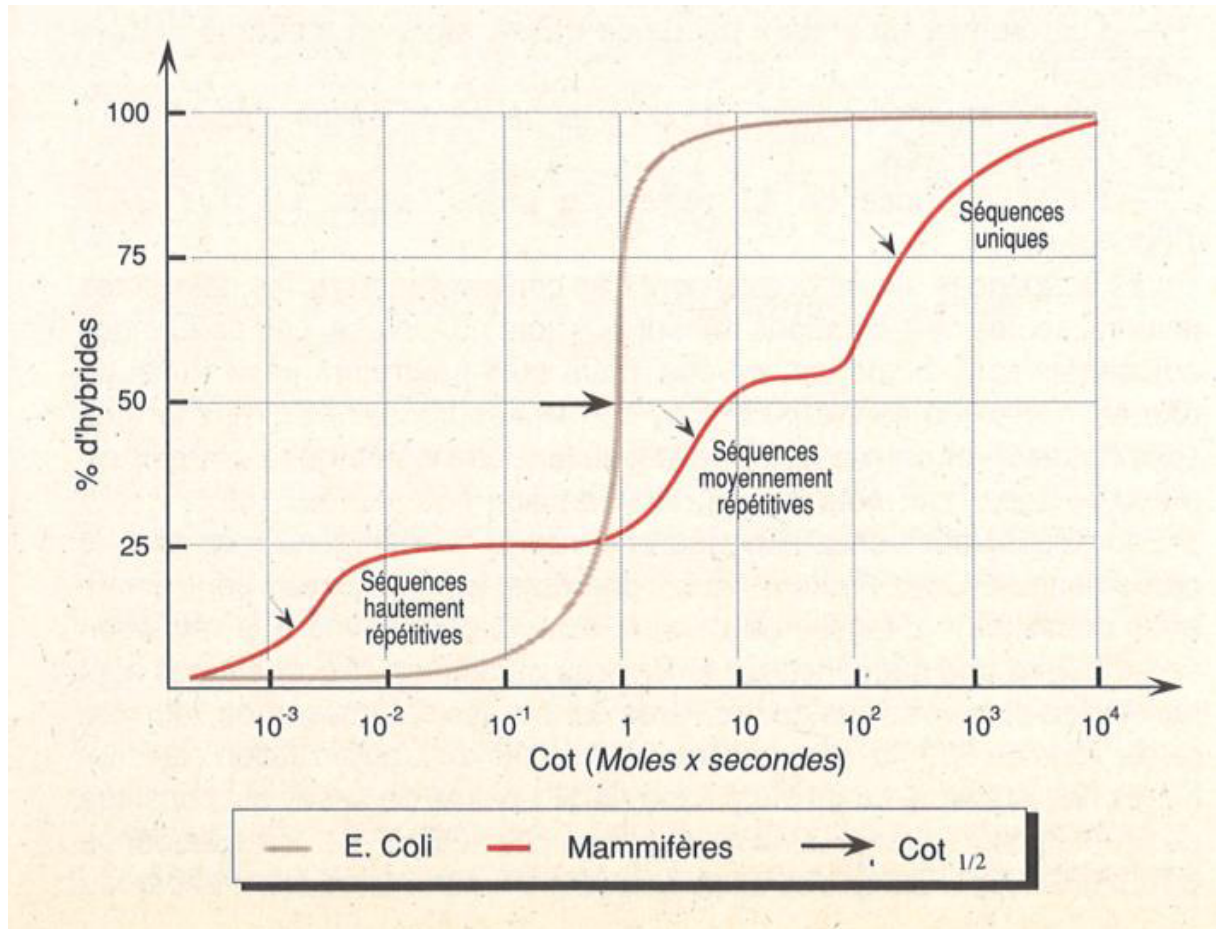


Figure 30: Courbe de réassociation de l'ADN de mammifère et de E. coli (Kaplan & Delpuch, 1993).

Quant à l'ADN des mammifères, la cinétique de réassociation est une courbe complexe résultant de la superposition de plusieurs sigmoïdes. Cette expérience permet de mettre en évidence l'existence de trois types d'ADN :

De l'ADN se réassociant quasi immédiatement ( $Cot_{1/2} < 0,01$ ) correspondant à de l'ADN hautement répétitif présent en un très grand nombre de copies ;

De l'ADN se réassociant un peu plus lentement ( $0,01 < Cot_{1/2} < 10$ ) correspondant à de l'ADN moyennement répétitif ;

De l'ADN ne se réassociant que très lentement ( $10 < Cot_{1/2} < 10000$ ) correspondant, pour les  $Cot$  les plus élevés, à des séquences uniques (Figure 31b).

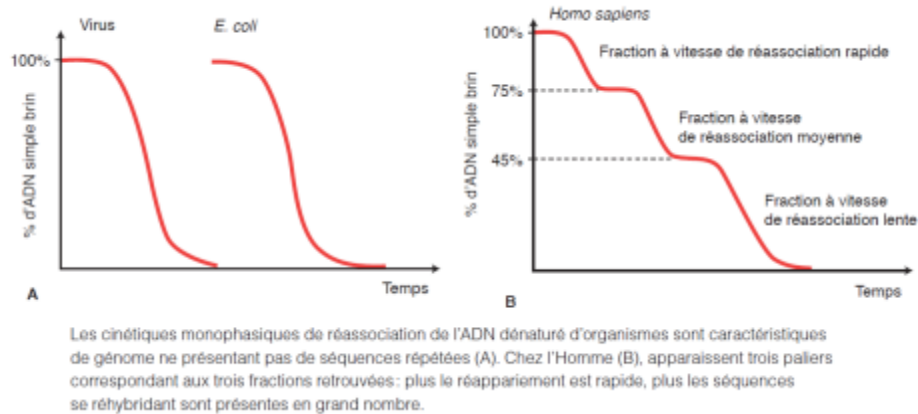


Figure 31: Résultats des expériences de dénaturation-renaturation de l'ADN de virus, d'E. coli et de l'Homme. (D'après Segarra et al., 2014).

### III.2.2.1. Définition de la cinétique de réassociation

Dans l'expérience suivante, après avoir dénaturé l'ADN génomique d'un organisme, on le place dans des conditions ménagées de refroidissement afin de favoriser la renaturation. On mesure la fraction d'ADN non encore renaturé en fonction du temps. Sur l'axe des Y on porte le pourcentage d'ADN qui reste simple brin par rapport à la concentration totale d'ADN. L'axe des X porte une échelle logarithmique du produit de la concentration initiale de l'ADN (en moles/litre) par le temps écoulé (en secondes).

Ces courbes sont appelées courbes de Cot. Une courbe lisse est l'indice d'une renaturation progressive et régulière de l'ADN. C'est ce qui est observé pour des virus, des bactéries et pour des cellules de levure. Par contre lorsque l'on prend de l'ADN d'organismes multicellulaires (Homo sapiens), l'aspect est totalement différent. La courbe observée semble le résultat de la mise bout à bout de trois courbes. Ce qui indique que dans le premier cas il y avait un seul type d'ADN alors que dans le second trois types d'ADN différents doivent coexister : le premier type se renature très rapidement, le second se renature nettement plus lentement, quant au troisième il ne se renature que très lentement. L'interprétation de cette observation, est que l'ADN qui se renature rapidement n'a aucun mal à retrouver un brin qui lui soit complémentaire parce qu'il contient une (ou des) séquence très fréquente, alors que le troisième type a beaucoup de mal à retrouver son complément parce que cette séquence est "unique" (Kaplan & Delpech, 1993).

### III.2.2.2. Classes d'ADN chez les eucaryotes

#### III.2.2.2.1. ADN hautement répétitif

L'ADN hautement répété n'est pas codant. Cet ADN à réassociation très rapide correspond à l'ADN satellite. Il représente 10 à 15% du génome des mammifères. Il est constitué de séquences hétérochromatiques donc localisées principalement autour des centromères. Cet ADN hautement répété comprend :

- ADN composé de motifs constitués de courtes séquences (5 à 10 paires de bases) disposés en tandem, il s'agit des microsatellites. Ces motifs sont répétés de très nombreuses fois (jusqu'à quelques centaines de milliers) ;
- ADN composé de motifs constitués de séquences plus longues (100 à 200 paires de bases) disposés en tandem. Ces motifs sont appelés les minisatellites.
- Les centromères dans la région desquels on reconnaît des séquences **CEN**. Chez l'homme ces séquences sont des motifs de 171 pb répétées en tandem dont la longueur varie de 300 kpb à 5 000 kbp ; on les rencontre identiques sur tous les chromosomes
- Les télomères situés à l'extrémité des chromosomes renferment les séquences **TEL** constitués de motifs répétés riches en C et A. Ces télomères auraient pour rôle de protéger l'extrémité des chromosomes de l'érosion au cours des réplifications successives et de l'attaque des nucléases intracellulaires (Kaplan & Delpech, 1993).

#### III.2.2.2.2. ADN moyennement répété

Il représente 25 à 40% du génome humain. Il est aussi constitué de séquences répétées mais plus longues soit 100 à 1000 pb. Au sein de cet ADN deux familles de séquences particulières ont été caractérisées : les séquences **SINE** (Short **IN**terspersed **re**petitive **E**lement) et les séquences **LINE** (Long **IN**terspersed **re**petitive **E**lement)

- Séquences **SINE** : (ou séquences **Alu** chez l'homme). La longueur des séquences de cette famille est d'environ 300 pb, il en existe environ 900000 copies par génome humain. Ces séquences **Alu** semblent résulter d'une rétrotransposition. Elles ont une structure grossièrement symétrique : une séquence de 130 pb en 5' est répétée en 3'. Ces séquences sont retrouvées tout au long du génome, même dans les introns des gènes. La fonction des séquences **Alu** est inconnue. Un rôle d'origine de répllication a été proposé mais aucune preuve n'a pu être apportée. Les séquences **Alu** bien que transcrites, ne possède aucun cadre de lecture ouvert ; la transcriptase inverse qui est

indispensable au processus provient donc de l'expression d'un autre gène (Kaplan & Delpech, 1993).

- Séquences LINE : elles sont composées des familles Line1 et THE1. Elles ont des longueurs comprises entre 6 et 7 kpb ; on en retrouve environ 5000 copies complètes et 100000 copies partielles par génome humain. Deux cadres de lecture ouverts (ORF1 et ORF2) sont retrouvés dans les séquences LINE1. La séquence polypeptidique codée par ORF2 est similaire à celle de la transcriptase reverse. Cependant, le produit de l'ORF1 est une protéine de 38kDa dont la fonction est inconnue (Kaplan & Delpech, 1993). En fait, Après transcription, l'ARN LINE s'assemble avec ses propres protéines et se déplace vers le noyau où l'ARN est reverse transcrit et s'insère dans le génome au niveau d'une coupure simple brin. La transcription inverse s'interrompt souvent avant terme, créant de nombreux inserts tronqués (la plupart). Il semble que la machinerie LINE est responsable également de la retrotranscription des éléments SINE (Kaplan & Delpech, 1993).
- ADN moyennement répétitif codant : Les principaux gènes de ce type sont les gènes ribosomiaux, les ARNt et les ARN 5S et 7SL. Les gènes ribosomiaux sont transcrits par l'ARN polymérase. Cette transcription donne un ARN précurseur unique de 45S qui donnera ensuite 3 ARNr de 28S, 18S et 5,8S. ces gènes ne sont pas dispersés au sein du génome mais rassemblés en batteries (clusters) qui peuvent dépasser 200 copies. Chez l'homme ces groupes sont retrouvés sur les brats courts des chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21 et 22. Les gènes pour ARNt. Ils sont aussi regroupés en Clusters avec des répétitions en tandem. Il y a environ 1.200 copies d'ADNt par génome humain (Kaplan & Delpech, 1993).

#### III.2.2.2.3. Séquences uniques :

*Cet ADN représente 2% du génome, il renferme les gènes codants pour des protéines et les pseudogènes.*

#### III.2.2.3. Structure du gène eucaryote : Organisation générale des gènes eucaryotes codant pour des protéines

Les gènes eucaryotes sont fondamentalement monocistroniques : ils sont composés d'une seule séquence codante de protéine. En revanche, cette séquence est fragmentée en exons entrecoupés de portions non codantes nommées introns (Figure 32). La transcription d'un ADN produit ainsi un ARN pré-messager (ARNpm) qui subit une maturation

caractérisée par l'élimination des introns (excision) et le raboutage des exons (épissage) : il y a alors obtention d'un ARN messager (ARNm).

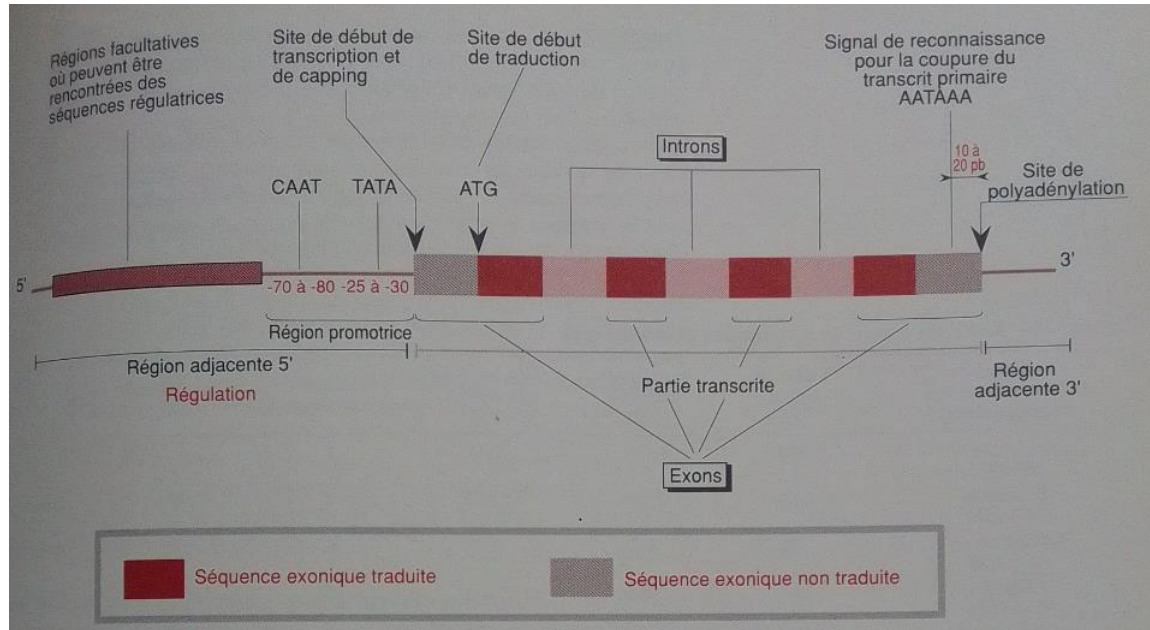


Figure 32: Schéma d'un gène codant pour une protéine (Kaplan & Delpech, 1993).

Le gène commence en 5' par une séquence non transcrite, dont la présence est nécessaire pour que la transcription se fasse quantitativement et qualitativement de manière normale (Figure 33).

- Vers -100 par rapport au site d'initiation de la transcription commence la région dite promotrice où se fixe l'ARN polymérase II.
- Vers -70 à -80 se trouve très souvent la séquence CAAT (très souvent retrouvée dans les promoteurs des gènes uniques),
- Vers -25 à -30 on retrouve, sauf dans de rares cas comme dans certains gènes domestiques, la séquence TATA appelée également Goldberg-Hogness box. Elle est l'équivalente de la « Pribnow box » chez les procaryotes; a séquence dite consensus (statistiquement la plus rencontrée) est TATAAA.
- vers -100 à -40 on retrouve la GC box (GGGGCGGG) (très souvent rencontrée dans les promoteurs des gènes uniques). Elle peut se présenter sous forme d'hexanucléotides: 5'-GGGCGG-3'. Le motif riche en bases G et C peut être répété plusieurs fois.

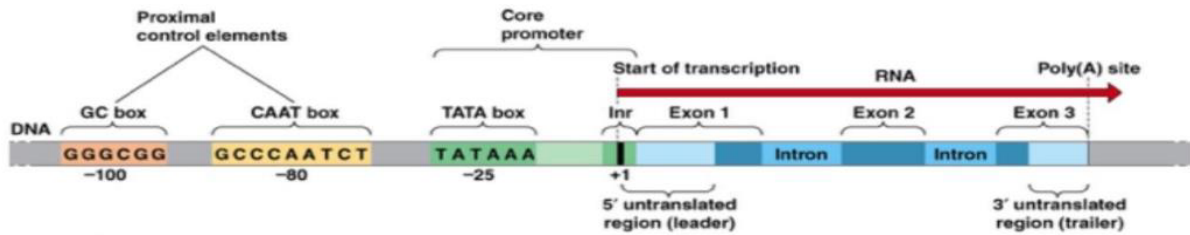


Figure 33: : Séquences consensus du promoteur (Pearson Education, 2012).

On peut classer les gènes codant pour des protéines selon le nombre de leurs copies :

Gènes uniques : la très grande majorité des gènes appartient à cette classe. La séquence CAAT est souvent absente.

#### III.2.2.4. Notion de Famille de gènes :

Il s'agit le plus souvent d'une extension du phénomène de duplication/divergence. Un gène peut avoir été plusieurs fois dupliqué tôt dans la phylogenèse, chaque copie ayant divergé indépendamment. Il en résulte toute une série de gènes codant pour des protéines grossièrement analogues. L'expression de chaque copie dépend du type ou de l'état cellulaire où ces gènes ne s'expriment pas au même moment de la vie de l'individu mais existent simultanément dans le génome. Parmi les exemples les mieux connus nous citons :

La famille des gènes d'actine

La famille des gènes de myosine

La famille des gènes de globine

#### III.2.2.5. Pseudogènes :

Ces séquences ne sont pas fonctionnelles, car elles ne sont ni transcrites ni traduites. Leur non fonctionnalité peut résulter soit de l'absence d'un cadre de lecture suffisant (excès de codons stop), soit de l'absence de codon méthionine initiateur ou de région promotrice. Il existe deux types de pseudogènes. Le premier correspond à des gènes dupliqués qui ont perdu leur fonctionnalité, soit au départ parce que la duplication n'est pas parfaite, soit au cours de l'évolution après apparition des mutations (perte d'ATG, de promoteur fonctionnel ou par apparition de codon stop). L'autre type correspond à des pseudogènes qui ont été créés par l'introduction dans le génome d'un rétrotranscrit. Ce type de gène par définition ne possède pas de promoteur, est sans introns et possède souvent une séquence poly A 3' terminale (Kaplan & Delpech, 1993).

### III.2.3. Localisation des gènes au niveau du génome eucaryote :

L'ADN, constitué de millions de nucléotides dont l'enchaînement précis détermine l'information génétique de chaque organisme, est localisé chez les mammifères en quasitotalité (3000 Mb pour un noyau haploïde humain) dans les chromosomes de chaque noyau cellulaire. Seule une petite molécule d'ADN circulaire (16,6 kb chez l'Homme) est située dans un autre organite cellulaire, la mitochondrie. C'est uniquement au cours de la division cellulaire qu'il est possible d'observer au microscope des chromosomes individualisés dont le nombre, la taille et la forme sont constants et caractéristiques pour toutes les cellules somatiques d'une espèce donnée et qui se regroupent en paires de chromosomes homologues (à l'exception de la paire des chromosomes sexuels, souvent morphologiquement très différents).

### III.3. Architecture du génome eucaryote dans le noyau :

Une cellule diploïde de mammifère contient en moyenne 6000 Mb d'ADN, soit une longueur d'environ 1,8 m contenue dans un noyau de 6  $\mu\text{m}$  de diamètre grâce à un empilage ordonné et efficace de l'ADN. Chaque chromosome contient une seule molécule d'ADN linéaire, continue, repliée de nombreuses fois sur elle-même et répartie de part et d'autre du centromère. Dans les noyaux, l'ADN n'est probablement jamais libre mais associé à d'autres molécules, principalement les histones.

#### III.3.1. Structure de la chromatine :

Le complexe ADN-protéines est appelé chromatine. Les protéines histones, dont la structure est très conservée à travers tous les organismes eucaryotes, ont un rôle essentiel dans le repliement des molécules d'ADN. La compaction (Gasser et Laemmli 1987) de la molécule d'ADN chromosomique (double hélice d'environ 2 nm de diamètre) associée aux histones et à l'ARN passe par différents niveaux d'empaquetage (Figure 34).

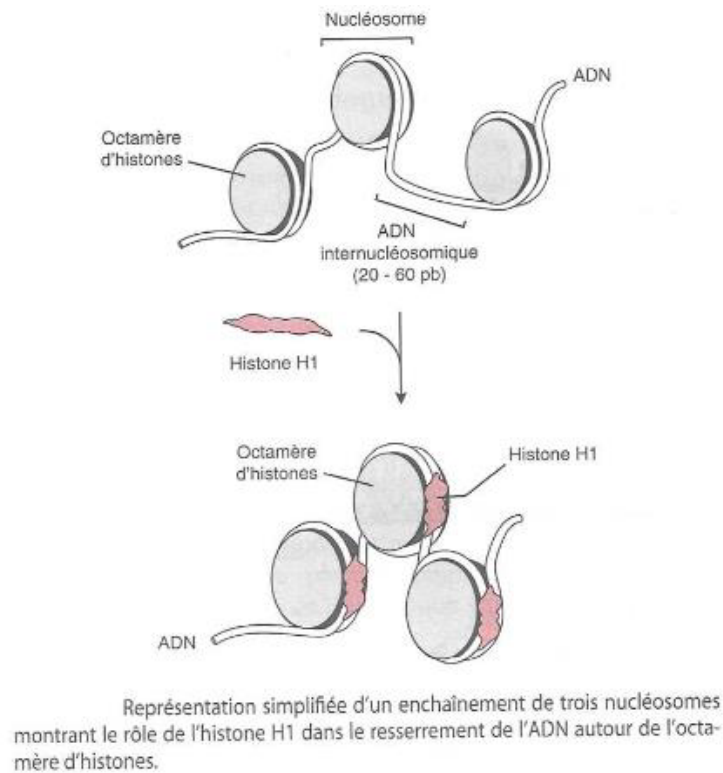


Figure 34: Histones et nucléosomes (D'après Petit & Julien, 2007).

### III.3.2. Structure des chromosomes

Dans un chromosome condensé (Figure 35), on constate que les deux chromatides sont associées par un centromère. Cette constriction primaire ou centromère les partageant en deux bras plus ou moins longs (p et q) et dont la position détermine leur forme, métacentrique si elle est médiane, acrocentrique si elle est proche d'une extrémité et submétacentrique si elle est intermédiaire.

On appelle télomères les extrémités chromosomiques. Le kinétochore est un complexe protéique où viennent s'attacher les fuseaux de division en prophase (Hayes, 2000).



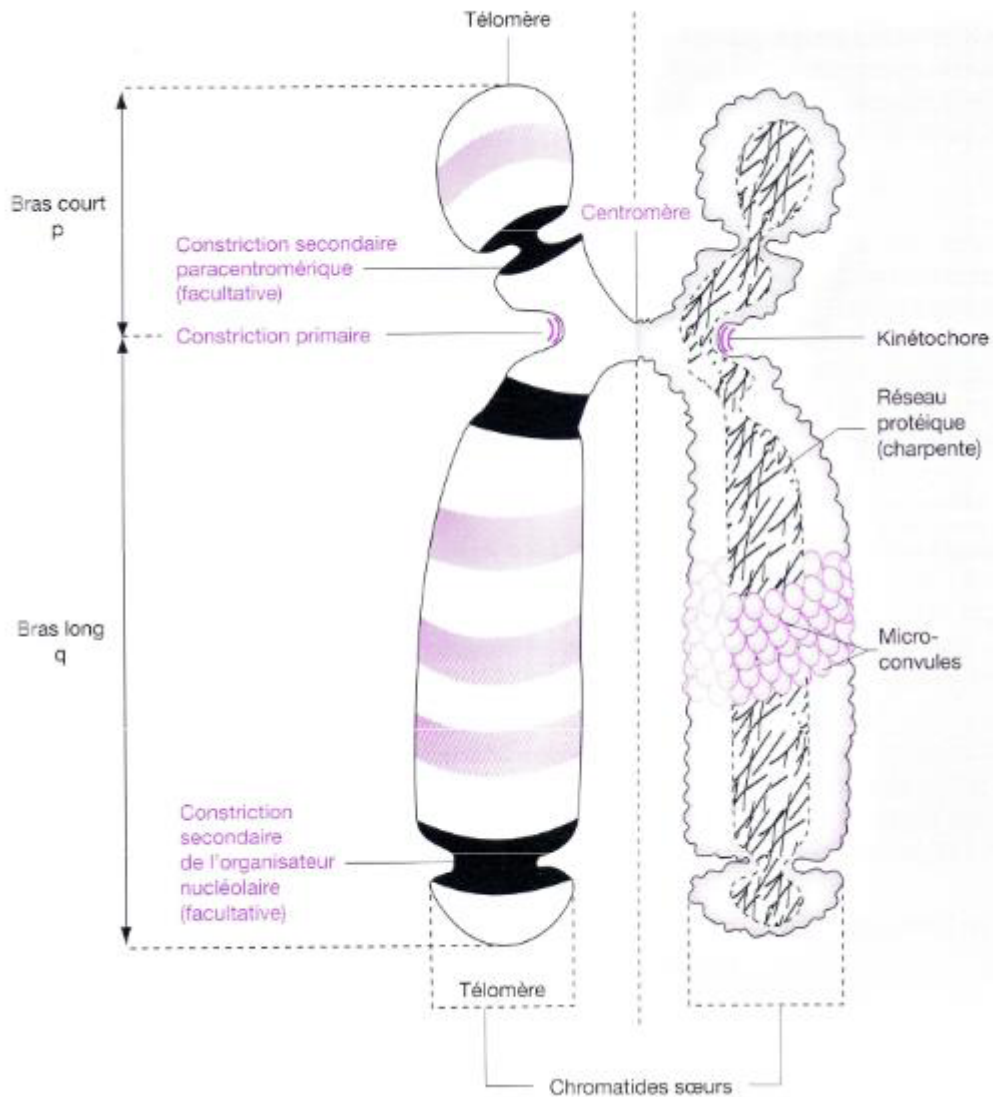


Figure 35: Chromosome métaphasique (D'après Breuil, 2007).

### III.3.3. Repliement de l'ADN dans les chromosomes :

L'unité structurale de base de la chromatine est le nucléosome (Figure 36), qui est formé d'un assemblage de 8 histones (2 fois : H2a, H2b, H3 et H4) autour duquel s'enroule une portion d'ADN double brin de 146 paires de bases et qui est répété indéfiniment, donnant un aspect en « chapelet de perles » à la fibre de chromatine d'environ 11 nm d'épaisseur (Hayes, 2000).

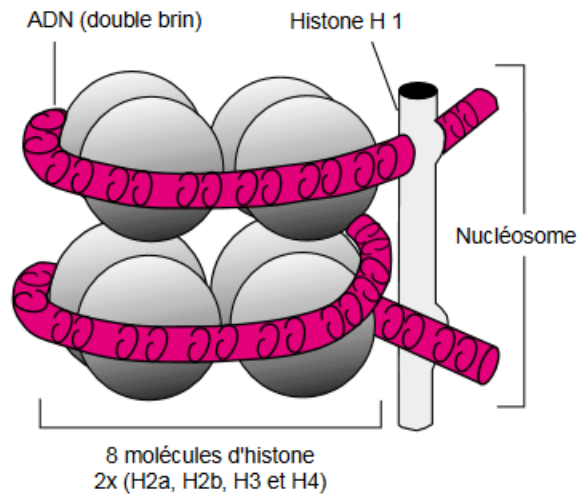


Figure 36: Structure de base de la chromatine « le nucléosome » (Hayes 2000).

Grâce aux histones H1, ce chapelet de nucléosomes se comprime en formant une super hélice de 30 nm de diamètre qui s'organise elle-même en boucles d'environ 300 à 400 nm de longueur le long d'une armature constituée en grande partie par la topoisomérase II (enzyme capable de couper les deux brins de l'ADN et qui, en plus d'un rôle architectural, intervient dans le relâchement des supertours de la chromatine lors de la réplication). Les boucles de chromatine sont attachées à l'armature au niveau de régions particulières de l'ADN appelées « SAR », de l'anglais « Scaffold Attachment Regions ». Enfin cette organisation boucles + armature s'enroule en une spirale plus ou moins resserrée selon le stade du cycle cellulaire :

- durant l'interphase, cette spirale est relâchée, les chromosomes ne peuvent pas être distingués car ils sont très étirés et emmêlés, l'ensemble ressemblant à une pelote de laine.
- durant la division cellulaire, la spirale de chromatine se condense encore beaucoup plus pour atteindre en métaphase un diamètre d'environ 700 nm et un degré de compaction maximal (plusieurs milliers de fois), rendant visible le chromosome (= 2 chromatides) comme une entité distincte (Hayes 2000) (Figure 37).

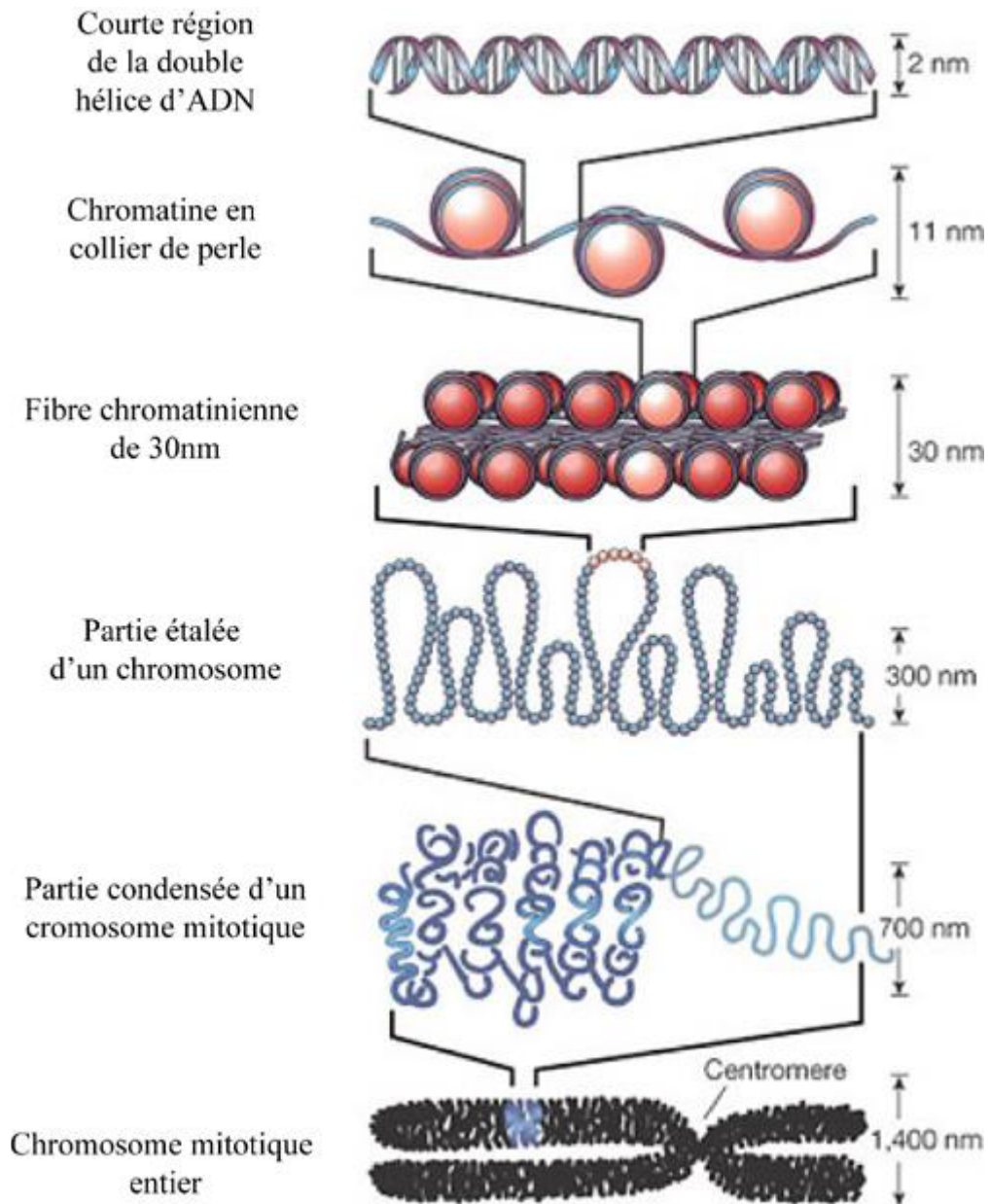


Figure 37: Différents niveaux de condensation de l'ADN (Hayes, 2000).

#### III.3.4. Régions ou structures révélées par les techniques de marquage chromosomique

Selon les traitements et colorations utilisés pour observer les chromosomes, on peut visualiser plusieurs types de régions ou de structures : l'euchromatine, l'hétérochromatine constitutive, les centromères et les régions organisatrices nucléolaires :

L'hétérochromatine a été définie comme une structure qui ne change pas d'état de condensation au cours du cycle cellulaire tandis que l'euchromatine apparaît décondensée pendant l'interphase. L'hétérochromatine est localisée principalement en périphérie du noyau et du nucléole tandis que l'euchromatine est répartie à l'intérieur du nucléoplasme. On distingue :

- L'hétérochromatine constitutive, formée principalement de séquences d'ADN satellite qui peuvent se replier sur elles-mêmes et pourraient jouer un rôle important dans la structure très compacte que présente l' hétérochromatine constitutive et dont les plus grandes régions sont situées à proximité des centromères et des télomères des chromosomes. L' hétérochromatine constitutive est stable et garde ses propriétés d'hétérochromatine à toutes les étapes du développement et dans tous les tissus (Hayes 2000).
- L'hétérochromatine facultative qui contient des régions codantes pouvant adopter les caractéristiques structurales et fonctionnelles de l'hétérochromatine, comme le chromosome X inactif chez la femelle des mammifères. L' hétérochromatine facultative est réversible, son « état hétérochromatique » dépendant du stade de développement ou du type cellulaire étudié. L'X inactif (Corps de Barr) dans les cellules somatiques femelles et la vésicule sexuelle (VS) inactive au stade pachytène de la méiose masculine sont deux exemples d' hétérochromatine facultative (Hayes 2000)

### III.3.5. Mutations chromosomiques

En raison de la forte affinité d'appariement entre les chromosomes homologues au cours de la méiose, les diploïdes qui possèdent un jeu standard de chromosome et un jeu réarrangé produisent des structures méiotiques appariées qui ont des formes et des propriétés spécifiques de cet arrangement : une délétion dans un jeu de chromosome est généralement nuisible, car elle entraîne un déséquilibre des gènes et démasque les allèles incorrects contenus dans l'autre jeu de chromosomes ; Les duplications peuvent conduire à un déséquilibre des gènes, mais elles fournissent également du matériel supplémentaire qui sert à la divergence des espèces au cours de l'évolution. Les inversions hétérozygotes entraînent une recombinaison réduite entre les gènes concernés par l'inversion, ainsi qu'une diminution de la fécondité ; Une translocation hétérozygote conduit à une stérilité de 50% et à une liaison génétique des gènes situés sur les chromosomes ayant subi cette translocation (Griffiths *et al*, 2001).

## Chapitre IV : Mécanismes de la transcription chez les eucaryotes

### IV.1. Définition de la transcription

La transcription est le processus de copie du matériel génétique en ARN. Chez les procaryotes une seule ARN-polymérase effectue la transcription pour tous les types d'ARN, tandis que chez les eucaryotes trois ARN-polymérases différentes interviennent selon qu'il s'agit de produire un ARN ribosomique, un ARN messager ou un petit ARN (ARN de transfert par exemple).

Les trois principaux types d'ARN connus sont:

- ARN messager (ARNm): Spécifie les codons
- ARN de transfert (ARNt): Spécifie les anticodons
- ARN ribosomique (ARNr): Constituant de ribosomes et est impliqué dans la synthèse des protéines.

### IV.2. Structure des ARNs

#### IV.2.2. Structure des ARNt (16% de l'ensemble des ARNs)

Ce sont des petits ARN présents dans le cytoplasme. Une molécule d'ARNt a la forme d'une feuille de trèfle composée de quatre tiges en double hélice et de trois boucles simple brin (Figure 38). La boucle du milieu porte un triplet de nucléotides appelé l'anticodon, dont la tâche consiste à se lier à un codon spécifique de l'ARNm grâce à un appariement spécifique ARN-ARN.

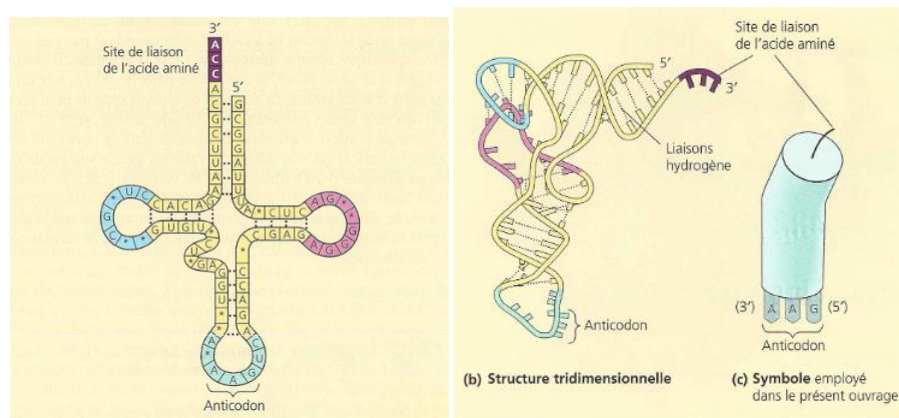


Figure 38: Structure de l'ARN de transfert (ARNt). D'après Campbell & Reece (2004).

Les ARNt transfèrent les acides aminés (AA) sur les chaînes protéiques en constitution au niveau du ribosome. Ils ont un rôle adaptateurs en amenant les AA à la bonne place de la séquence polypeptidique. Il existe environ 70 ARNt différents, mais il n'y a que 20 AA et 64 codons (dont 61 codons significatifs et 3 codons stop), il y a donc plus d'ARNt que d'AA ou de codons. Il se trouve qu'un seul AA possède plusieurs ARNt susceptibles de le prendre en charge. Ces ARNt associés au même acide aminé sont appelés ARNt isoaccepteurs. Cette flexibilité qui concerne la troisième base du codon (première de l'anticodon), en général, dégénérée est appelée « wobble » (Kaplan & Delpech, 1993).

Le problème de la multiplicité des ARNt se répercute sur celui d'une éventuelle multiplicité des enzymes aminoacyl-ARNt synthétase (Figure 39). Ces enzymes sont en nombre de 20 c'est-à-dire autant que d'AA. Les aminoacyl-ARNt synthétase sont capables de reconnaître d'une part l'AA et d'autre part les ARNt isoaccepteur correspondants (Kaplan & Delpech, 1993).

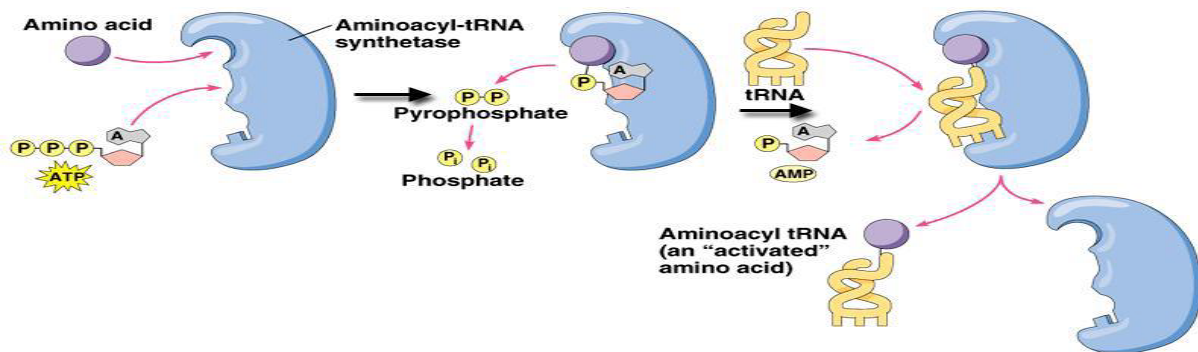


Figure 39 : Fonction d'une aminoacyl-ARNt synthétase (D'après Campbell & Reece, 2004).

#### IV.2.3. Structure des ARNr (82% de l'ensemble des ARNs)

Dans le noyau (plus précisément dans le nucléole), l'ADN est transcrit par l'ARN pol I en ARN ribosomique précurseur appelé ARN 45 S. Avant de quitter le noyau, l'ARN 45 S est d'abord méthylé au niveau des cytosines. En suite, les excisions des séquences non codantes sont nécessaires afin de donner des ARN fonctionnels : ARN 28 S, ARN 18 S et ARN 5,8 S. Il semble que ce mécanisme est similaire à celui de l'excision des introns des ARN messagers (Figure 40 a et b). Pendant la maturation de la molécule d'ARNr 45 S, des protéines synthétisées dans le cytoplasme, migrent vers le noyau et s'associent à cet ARN 45 S. Le tout (ARN 45 S + Protéines) lui est assemblée une molécule d'ARN 5 S, transcrite au niveau d'un site chromosomique extra-nucléolaire par l'ARN polymérase III (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 41).



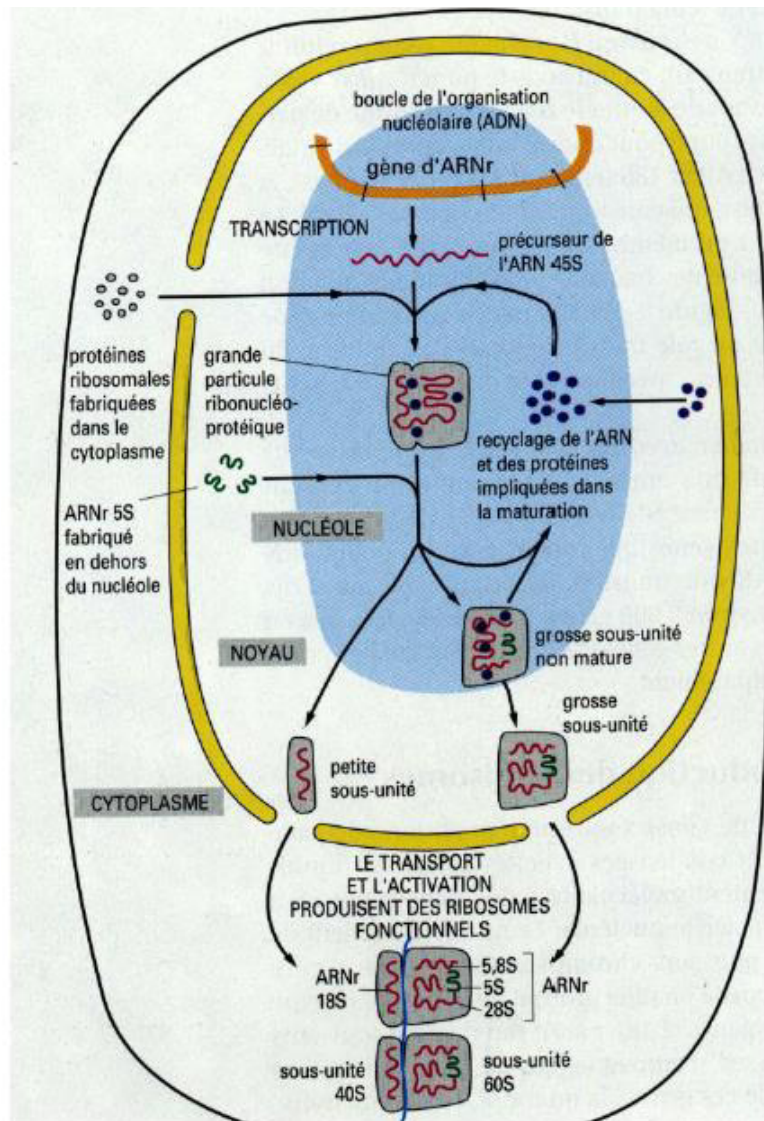


Figure 40. a.: Maturation des ARN ribosomiques et assemblage des petites et grandes sous-unités du ribosome [4].

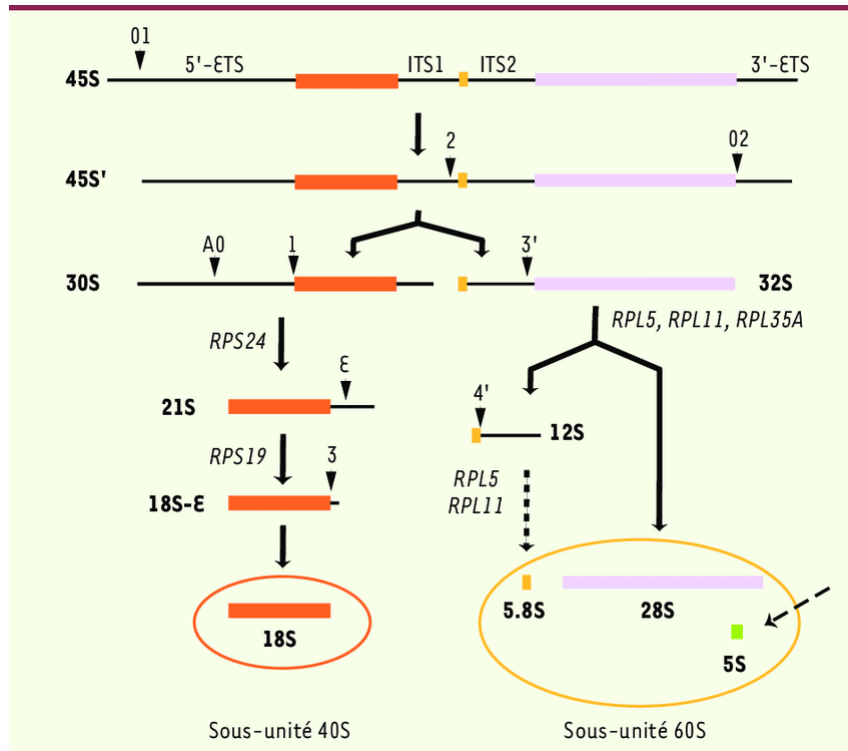


Figure 40b : Maturation du pré-ARN ribosomique chez l'homme. [5].

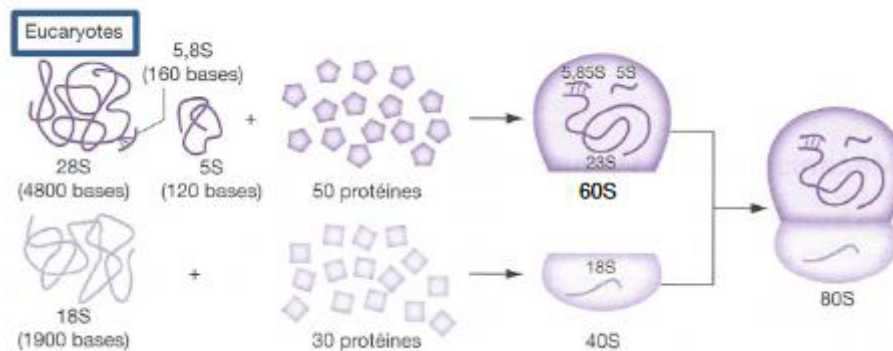


Figure 41: Composition des ribosomes (D'après Breuil, 2007).

#### IV.2.4. Structure des ARNm

Les ARNm sont minoritaires dans la cellule. Il s'agit de la « copie » de l'information génétique contenu dans l'ADN. Ils sont synthétisés rapidement et leur demi-vie est courte (quelques minutes chez les procaryotes et quelques heures chez les eucaryotes) ; et leurs tailles sont très hétérogènes. Les ARNm eucaryotes sont synthétisés sous forme d'un



précurseur. Ce dernier subira une série de maturation pour donner un ARNm actif. Cette maturation se fait au niveau du noyau.

#### IV.3. Rôles des ARN polymérases I, II et III

Une ARN polymérase (ARNpol) est une enzyme qui se lie aux promoteurs des gènes puis catalyse la synthèse des ARN lors de la transcription. Cet ensemble de protéines à caractère enzymatique est capable de former les ribonucléotides pour la synthèse d'ARN à partir d'une séquence d'ADN servant de standard ou de matrice. On distingue chez les eucaryotes, trois types d'ARNpol : l'ARNpol I ou A pour les ARN ribosomiques transcrits dans le nucléole (28S, 18S et 5,8S), l'ARNpol II ou B pour les ARNm, et l'ARNpol III ou C pour les petits ARN (ARNt, ARNr 5S, ARNsn). L'ARN polymérase catalyse la synthèse des ARN en polymérisant l'union de ribonucléotides triphosphate, d'adénosine triphosphate (ATP), d'uridine triphosphate (UTP), de guanosine triphosphate (GTP) et de cytidine triphosphate (CTP), en libérant les groupes phosphates et en les transformant en nucléotides.

- ARN polymérase I (ARN pol I) est responsable de la synthèse de la plupart des transcrits d'ARN ribosomique (ARNr). Ces transcrits sont produits dans le nucléole.
- ARN polymérase II (ARNpol II): transcrit les gènes codant pour les protéines en ARN messager (ARNm). Cette enzyme est en fait un complexe protéique composé de 12 sous-unités. Cette enzyme produit directement un transcrit pré-ARNm. Une fois que les pré-ARNm sont libérés par l'ARN polymérase II dans le noyau des modifications biochimiques préparent ces transcrits pour la traduction. L'ARN polymérase II produit également des molécules de micro-ARN (miARN). Ces transcrits non codants peuvent médier l'expression des gènes et l'activité des ARNm après transcription.
- ARN polymérase III (ARNpol III) : transcrit les gènes de l'ARNr et aussi les petits ARN comme l'ARN de transfert (ARNt) et l'ARNr 5S.

#### IV.4. Structure de promoteurs des gènes de classe I, II et III

La protéine TBP (TATA binding protein) est une sous-unité des complexes nécessaires à la transcription par les trois ARN polymérases. A) La transcription par l'ARN polymérase I (Pol I) des gènes codant pour les ARN ribosomiques (ARNr) nécessite la fixation de UBF (Upstream Binding Factor) à l'élément régulateur UE (Upstream Element) et la fixation du complexe SL1 (Selectivity factor 1), contenant TBP et trois TAF (TBP-associated factors), au promoteur proximal CE (corelement). B) La transcription par l'ARN

polymérase II (pol II) des ARNm peut faire intervenir le complexe TFIID (transcription factor IID), formé de TBP et de treize TAF (représentés ici par un seul disque). C) La transcription par pol II peut aussi se faire par l'intermédiaire du complexe B-TFIID formé de TBP et BTAF1. D) TRF3 (TBP-related factor) est un nouveau facteur impliqué dans la transcription par pol II. Son interaction avec les TAF reste à démontrer. E) La transcription par pol III fait intervenir les complexes TFIIA et TFIIC qui se fixent sur les éléments intragéniques, par exemple du gène codant pour les ARN ribosomiques 5S (ARN 5S) comme indiqué ici. Le complexe TFIIB contenant TBP se fixe en amont du gène. F) Dans le cas de la transcription du gène codant pour les petits ARN nucléaires U6 (ARN U6), TBP se fixe sur l'élément TATA et interagit avec le complexe SNAPc (smallnuclear RNA-activatingproteincomplex) fixé sur PSE (proximal sequenceelement) par l'intermédiaire de son domaine aminoterminale. L'activation du gène ARN U6 se fait par le facteur Oct1 (octamerbinding transcription factor 1) fixé à une séquence OCTA (octamer). Pour plus de clarté, les cinq sous-unités du complexe SNAPc sont représentées par un seul disque. BRF2: TFIIB-related factor, subunit of RNA polymerase III transcription initiation factor(Davidson et *al.*, 2004) (Figure42).

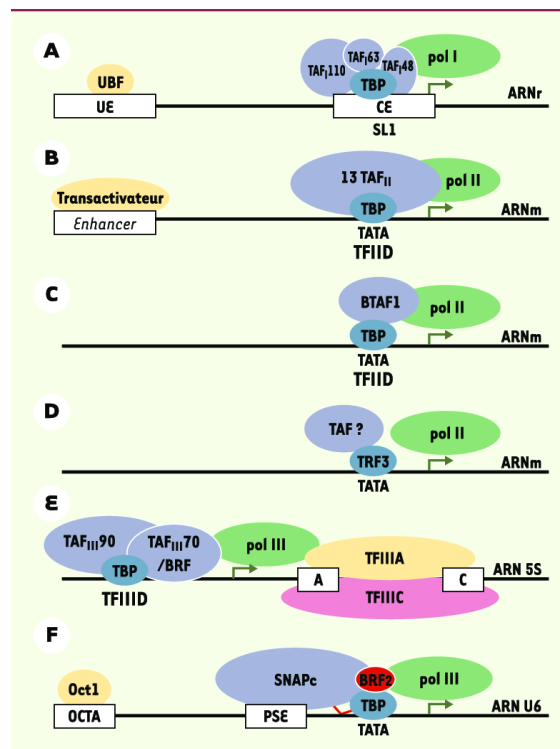


Figure 42: Structure des promoteurs des gènes transcrits par les ARN polymérase I, II et III (Davidson et *al.*, 2004).

#### IV.5. Transcription des gènes de classe I, II et III

Le cycle de transcription le plus intéressant est sans doute celui correspondant à la transcription des gènes codant pour les chaînes polypeptidiques chez les eucaryotes. Leur transcription se déroule en deux étapes : formation d'un ARN prémessager puis maturation de cet ARN prémessager pour former un ou plusieurs ARN messagers.

##### IV.5.1. Initiation de la transcription

Tout l'ADN n'est pas transcrit, seules les régions correspondant à des gènes le sont. Et encore, cette expression peut être régulée selon le stade de développement, le type cellulaire, l'environnement, etc. Dès lors, un acteur doit intervenir pour déterminer à quel endroit une région d'ADN doit commencer à être transcrite : c'est le rôle du promoteur. La biosynthèse d'ARN en l'occurrence la transcription repose sur, comme pour celle de l'ADN :

- la complémentarité des bases ;
- On donne par convention +1 au premier nucléotide transcrit très souvent A ou G;
- Le signal du départ de la transcription est appelé *promoteur*, situé dans la partie régulatrice en 5' du gène;
- Le promoteur n'est jamais transcrit;
- Le promoteur agit en cis
- La création de liaisons 3' à 5' phosphodiester ;
- L'énergie nécessaire est fournie par les groupements phosphates ;
- Présence d'une matrice d'ADN servant de modèle
- Brin non transcrit = brin +, brin codant, brin sens
- Brin transcrit = brin -, brin anti sens, brin non codant

##### IV.5.1.1. Promoteur

Le promoteur correspond à une région non transcrite de l'ADN, généralement située en amont de la région transcrite, dont la séquence permet le recrutement de l'ARNpol II. Certaines séquences du promoteur (séquences consensus) ont une importance particulière dans ce processus, essentiellement parce que ces séquences sont reconnues spécifiquement par différentes protéines appartenant au complexe d'initiation:

- la « boîte TATA » riche en thymine et adénine, la plus importante, est située vers -25 à -30 nucléotides du site de démarrage de la transcription (noté +1) ;

- la « boîte CAAT » (facultative), contenant de la cytosine, est située vers -120 à -80 nucléotides du site de démarrage de la transcription.
- la « boîte GC » (facultative également), riche en guanine et cytosine, peut être présente entre la boîte CAAT et la boîte TATA.

D'autres séquences cis régulatrices ont été mises en évidence, il s'agit des séquences stimulatrices de la transcription (enhancers). Le rôle de ces séquences consiste à augmenter le taux de transcription du gène. Elles agissent par l'intermédiaire de protéines (facteurs trans) et en modifiant la structure spatiale de l'ADN (Figure 43).

Enfin, des séquences du même type mais ayant un effet inverse sur la transcription ont été caractérisées, elles sont appelées séquences extincteurs (silencers).

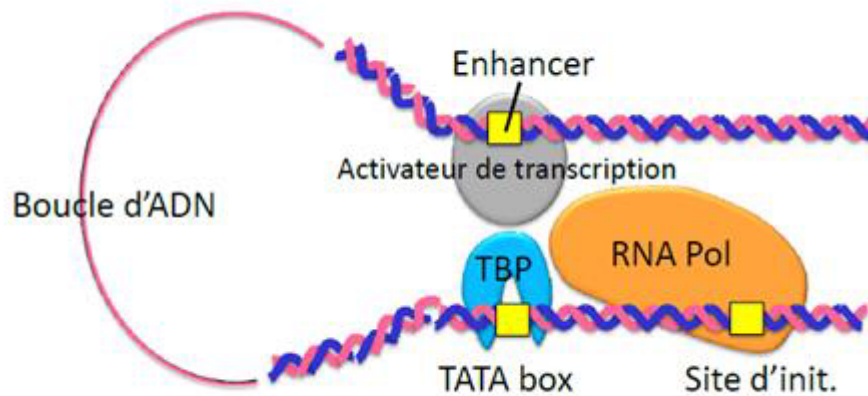


Figure 43: : Modele simplifié d'activation de la transcription (Lunardi, 2010).

#### IV.5.1.2.Complexe d'initiation :

Contrairement à ce qui se passe chez les procaryotes, l'ARNpol II des eucaryotes ne reconnaît pas seule le promoteur proximal. Elle effectue ce travail en compagnie de nombreux co-facteurs protéiques qui se recrutent les uns les autres et qui forment avec elle un complexe d'initiation. Ces facteurs sont notés TFIIA (pour Transcription Factor for RNA polymerase II A), TFIIB, ... etc. Ils correspondent aux facteurs généraux de la transcription, car ils s'assemblent sur tous les promoteurs utilisés par l'ARNpol II. La liaison du complexe de transcription au promoteur proximal provoque l'ouverture et le déroulement des deux brins deson ADN, tout en indiquant le brin qui va être transcrit (Figure 44).

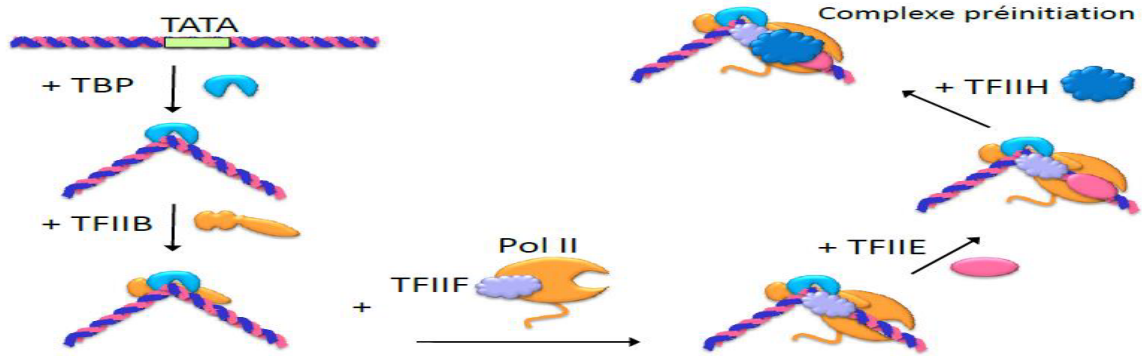


Figure 44: Complexe d'initiation de la transcription chez les eucaryotes (Lunardi, 2010).

#### IV.5.2. Elongation

Après activation de l'ARN pol II, le facteur TF II H phosphoryle l'extrémité C-terminale de l'ARN pol II « Domaine C-terminal » (CTD en anglais). Cette queue du CTD est une répétition d'une séquence de 7 acides aminés contenant des sérines qui se phosphorylent.

La phosphorylation de CTD permet à l'ARN Pol II de se dissocier des facteurs généraux de la transcription et par conséquent, de débiter la transcription et de faciliter la liaison de la polymérase avec des protéines intervenant dans l'élongation (Figure 45).

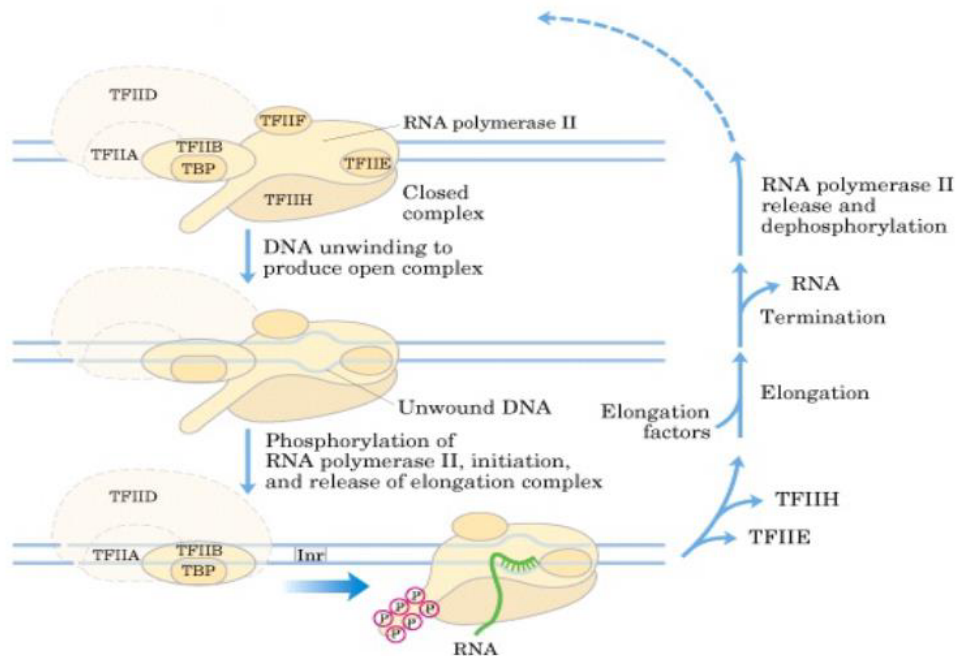


Figure 45: Elongation de la transcription chez les eucaryotes : phosphorylation de la queue du domaine C-terminal de l'ARNpol II [6].

Lorsque le site promoteur est libéré par la progression de l'ARN polymérase II sur l'ADN constituant la phase d'élongation. L'ARN polymérase II lit le brin patron (ou brin antisens) qui depuis son extrémité 3' vers son extrémité 5'. Le brin d'ARN néosynthétisé est donc identique au brin codant d'ADN. L'endroit dans laquelle les deux brins d'ADN ont été séparés s'appelle « bulle de transcription ». On y trouve l'hybride ADN-ARN qui mesure 12 bp. La molécule d'ARN n'est transcrite par l'ARN polymérase qu'à partir d'un seul des deux brins de la molécule d'ADN. Contrairement aux ADN polymérases, les ARN polymérases n'ont pas besoin d'une amorce pour initier cette transcription et elles sont incapables d'identifier et d'éliminer un nucléotide mal apparié dans une chaîne en synthèse (Figure 46).

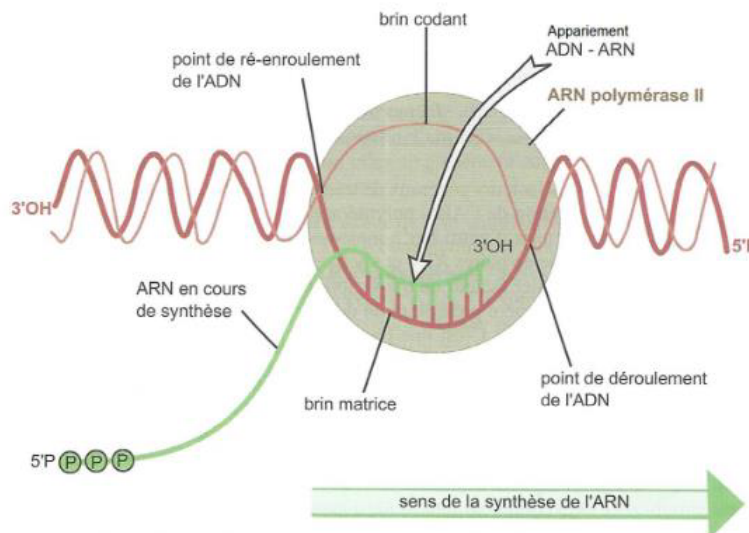


Figure 46: Élongation de la transcription : polymérisation de l'ARN. (D'après Peycru et *al.*, 2013).

#### IV.5.3. Terminaison de la transcription

La terminaison de la transcription se fait lorsque l'ARN pol II arrive à une séquence appelée *terminateur*. Ce dernier possède une séquence palindromique inversée. L'ARN pol II est équipée de facteurs protéiques de terminaison, et reconnaît ainsi un ou plusieurs signaux de terminaison portés par le brin progressivement parcouru et qui annoncent la fin de la transcription sur le brin d'ADN matrice (TTATTT par exemple, parfois aussi plus en aval ATACAAC...). L'ARN pol II arrête bientôt son travail de transcription et libère l'ARN<sub>pm</sub> qu'elle vient d'assembler (Griffiths et *al.*, 2001).

#### IV.5.4. Maturation du transcrit primaire

Le transcrit primaire (ARN pré-messager ou ARN nucléaire hétérogène) n'est pas utilisé tel quel pour la synthèse protéique (la traduction). Il doit subir des modifications qui répondent à plusieurs impératifs (augmentation de la demi-vie, modification de la séquence). Toutes ces modifications sont réalisées au fur et à mesure de la progression de la synthèse du pré-ARNm dans le nucléoplasme. Il existe trois grands types de modifications, catalysées chacune par des enzymes de nature protéique ou ribonucléique.

##### IV.5.4.1. Addition d'une coiffe en 5'

La coiffe est formée par addition d'une guanosine triphosphate : le premier nucléotide du messager est généralement une purine, A ou G et représente théoriquement l'extrémité 5' triphosphorylée de la molécule :

5'pppA-pN-pN-pN-pN ...

Diverses méthylations peuvent se produire ensuite notamment une en position 7 de la guanine et sur le ribose pour compléter cette structure que l'on retrouve dans tous les messagers eucaryotiques. La coiffe joue sans doute un rôle dans la protection de l'ARNm vis-à-vis de la dégradation par les nucléases et sert également de site de reconnaissance pour la machinerie de synthèse protéique (Figure 47).

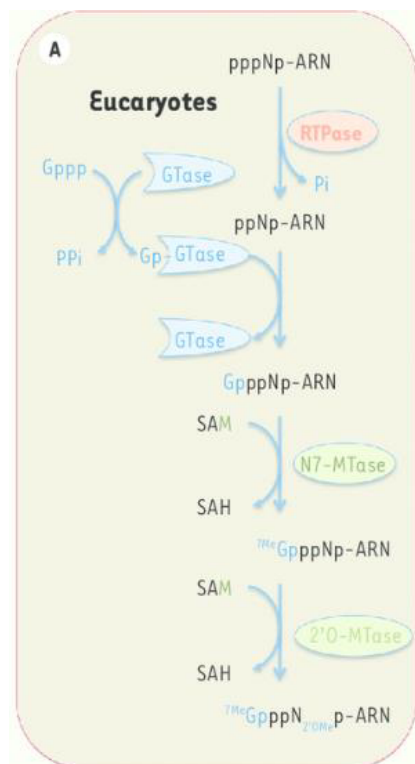


Figure 47: Addition de la coiffe à l'extrémité 5' de l'ARNm (Bouvet et al, 2012).

IV.5.4.2. Addition d'une queue polyA en 3'

Le site de polyadénylation est codé au niveau du gène. Le site de clivage déterminé par le dinucléotide CA est entouré par une séquence AAUAAA très conservée, située 10 à 30 nucléotides en amont du site de clivage, et par une séquence DSE (DownStreamElement) riche en U ou en GU, situé une trentaine de nucléotides en aval du site de clivage. La séquence AAUAAA est reconnue spécifiquement par un complexe protéique appelé CPSF (Cleavage and Polyadenylation Specific Factor), et la séquence DSE par un complexe CstF (Cleavage Stimulation Factor). Ces deux complexes et d'autres composants, comme l'ARN polymérase II et la poly(A) polymérase (PAP), vont interagir en formant le complexe de clivage qui va cliver la molécule de préARN au niveau du site de clivage (Griffiths et *al.*, 2001) (Figure 48).

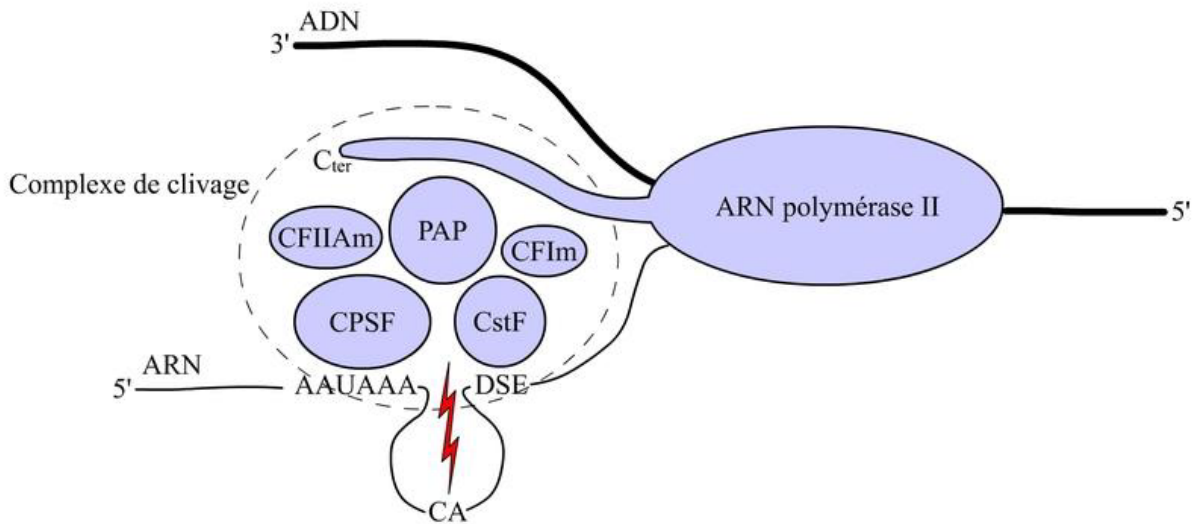


Figure 48: Complexe de clivage impliqué dans la maturation en 3' du préARNm [7].

CPSF = *Cleavage and Polyadenylation Specific Factor*  
CstF = *Cleavage Stimulation Factor*  
PAP = *Poly(A) Polymerase*  
CF = *Cleavage Factor*  
DSE = *Downstream Element*

La PAP va alors ajouter environ 200 nucléotides, une poly(A) binding protein II (PABP2) qui interagit avec la PAP se chargeant d'activer l'enzyme et de contrôler la longueur de cette queue poly(A). Il est intéressant de noter que cette polymérase n'utilise pas de matrice ADN pour créer cette séquence poly(A). La queue Poly(A) n'est donc pas codée par le génome. Notons que ce n'est pas un exemple isolé, d'autres mécanismes comme l'*éditing* ou la modification enzymatique de certaines bases (cytosine en uracile par exemple) étant encore beaucoup plus intrigants. Cette queue poly(A) confère de la stabilité au futur ARNm et se perd au fur et à mesure qu'il est traduit.



#### IV.5.4.3. Excision-épissage :

Après l'addition de la coiffe et la polyadénylation, le transcrit primaire est encore soumis à l'excision des introns et l'épissage des exons; les introns sont ainsi éliminés. L'analyse de nombreux introns de levure a fait apparaître deux séquences consensus que l'on a pu généraliser : la première, GU est appelée « site donneur d'épissage » ou consensus gauche car elle représente l'extrémité 5' de l'intron. La seconde correspond au « site accepteur d'épissage » ou consensus droite (AG) représente la jonction 3' intron - 5' exon suivant, Ces séquences sont reconnues par des ribonucléoprotéines qui vont former un complexe nécessaire à l'épissage, appelé splicéosome. Ce mécanisme de splicing implique cinq petits ARN nucléaires ou smallnuclear RNA (U1, U2, U4, U5 et U6) et une douzaine de protéines. U1 joue un rôle essentiel dans la reconnaissance du site donneur de splicing. U2, U5 et U6 sont les seuls snRNAs directement impliqués dans les réactions de splicing proprement dites. De ces 3 snRNAs, U6 est celui qui est le plus impliqué dans la catalyse de la réaction de splicing. U5 permet de retenir l'exon amont une fois qu'il a été détaché de l'intron suite au clivage du site donneur de splicing. Il permet aussi de conserver les exons alignés de manière à les lier l'un à l'autre au cours de la deuxième étape du splicing (Figure 49).

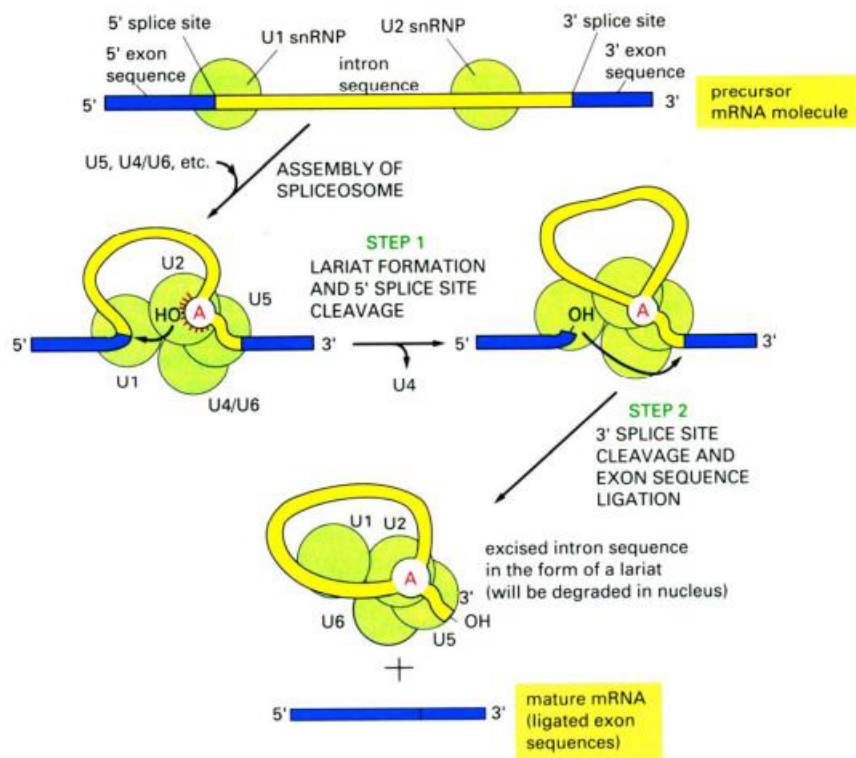


Figure 49: Excision-épissage [6].

On notera qu'en amont du premier nucléotide codant et en aval du dernier nucléotide codant, on trouve des séquences non traduites ou UTR (UnTranslatedRegions). On les appelle respectivement séquence 5' UTR (ou séquence guide) et séquence 3' UTR (ou séquence remorque). La première, notamment, permet le positionnement du ribosome et peut participer au contrôle de l'expression génétique (Figure 50).

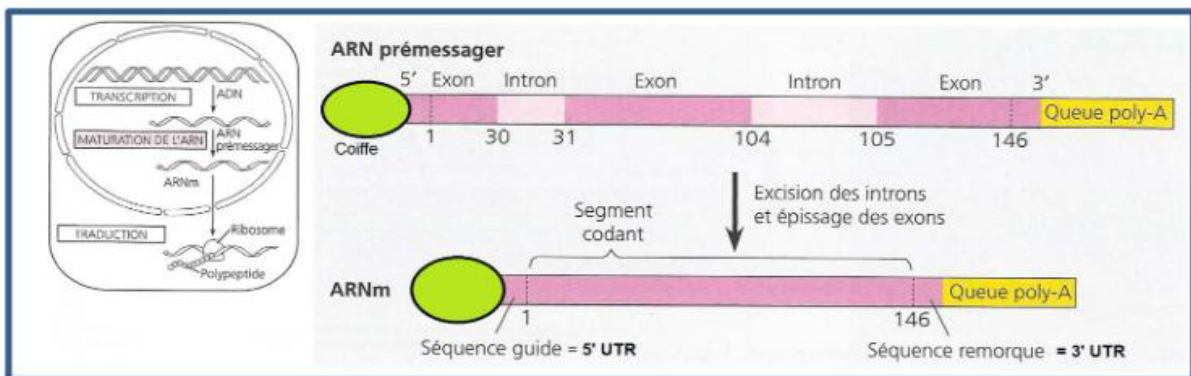


Figure 50: Etapes de maturation de l'ARNm (D'après Campbell & Reece, 2004).

IV.5.4.4. Epissage alternatif :

L'épissage n'est pas seulement constitutif : il existe également des épissages alternatifs où le pré-ARNm peut être épissé d'une manière alternative. En effet, il n'est pas obligatoire que tous les exons d'un gène soient inclus dans l'ARNm mature, certains exons sont donc considérés comme « alternatifs ». Ainsi un seul gène peut produire différents ARNm matures et par conséquent, plusieurs isoformes protéiques ayant des fonctions biologiques différentes.

Exemple :

Les transcrits primaires du gène de la CALCITONINE produisent, par épissage alternatif dans la glande thyroïdienne, la Calcitonine (CT), une hormone impliquée dans le métabolisme du phosphore et du calcium. En revanche, dans le système nerveux central, les transcrits CALCA produisent un peptide nommé Peptide Apparenté au Gène de la Calcitonine (CGRP), un vasodilatateur et médiateur de la douleur (Figure 51).

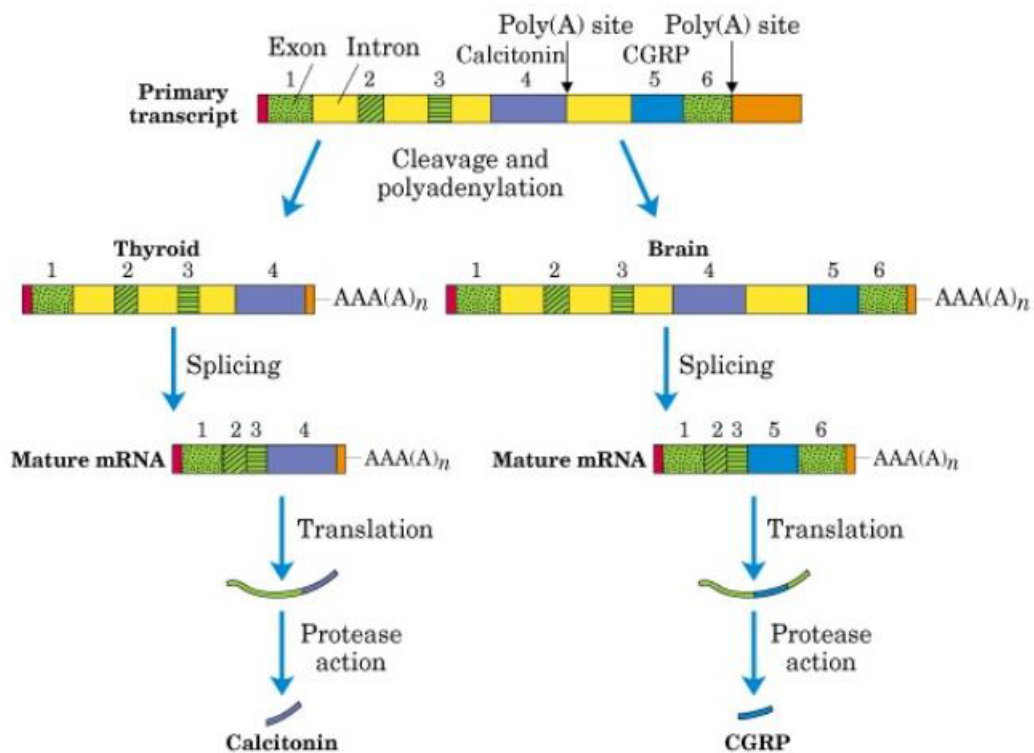


Figure 51: Epissage alternatif : gène de la Calcitonine (D'après Peyru et al, 2013).

## Chapitre V

### Mécanismes de la traduction chez les eucaryotes

#### V.1. Définition de la traduction

On appelle traduction le processus de polymérisation d'acides aminés en chaîne polypeptidique opéré par les ribosomes à partir de la lecture d'un ARNm. Donc il s'agit tout simplement du fait que l'ARNm est traduit en protéine : passage de séquences de nucléotides à des séquences d'acides aminés par respect du code génétique. Chez les Eucaryotes ce processus a lieu dans le cytosol.

#### V.2. Organisation des gènes eucaryotes

Les gènes eucaryotes sont fondamentalement monocistroniques : ils sont composés d'une seule séquence codante de protéine. En revanche, cette séquence est fragmentée en exons entrecoupés de portions non codantes nommées introns (Figure 52) ; on dit que ce sont des gènes mosaïques ou des gènes morcelés. La transcription d'un ADN produit ainsi un ARN pré-messager (ARNpm) qui subit une maturation caractérisée par l'élimination des introns (excision) et le raboutage des exons (épissage) : il y a alors obtention d'un ARN messager (ARNm).

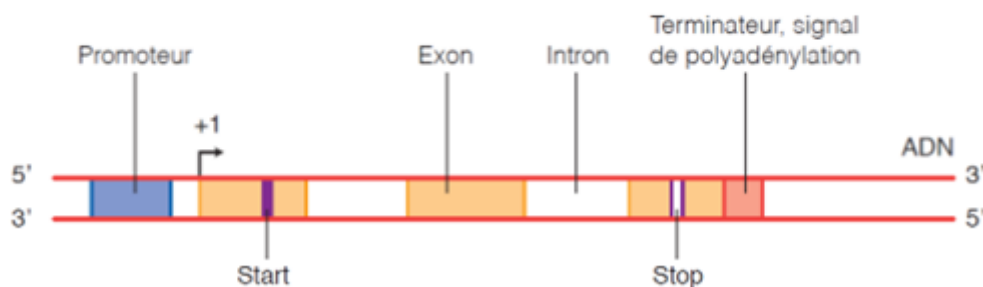


Figure 52: Structure des gènes eucaryotes (D'après Segarra et *al*, 2014).

Chaque gène comprend des séquences régulatrices (promoteur par exemple) généralement situé en amont du premier nucléotide transcrit (indiqué +1). On y trouve des

exons (la séquence transcrite commence toujours par un exon), des introns qui seront éliminés lors de l'épissage. Le gène se termine par un signal d'arrêt de la transcription contenant souvent un signal de polyadénylation qui assurera l'ajout d'une queue polyA sur le transcrit. On trouve toujours un codon de départ (start) et un codon stop dans les exons. Cette information sera décodée par les ribosomes (Figure 53) (Segarra et al., 2014).

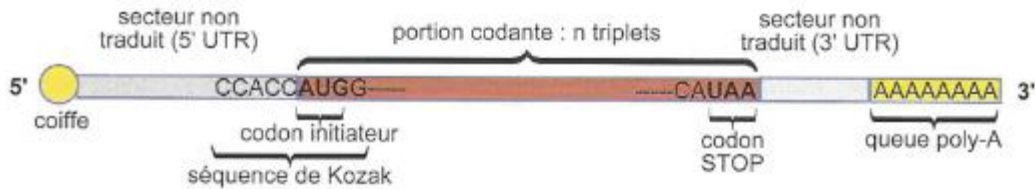


Figure 53: Organisation d'un ARNm eucaryote (D'après Peycru et al., 2013).

Après leur maturation, les ARNm sont ensuite exportés par le biais des pores nucléaires vers le cytosol où ils seront traduits en protéines. Ce processus d'exportation fait intervenir divers complexes protéiques capables de reconnaître les ARNm matures.

Au niveau de l'ARNm, l'information permettant la synthèse protéique est codée par des codons, ensembles de trois nucléotides successifs de l'ARNm. On appelle code génétique le système de correspondance entre les codons de l'ARNm et les acides aminés qui seront incorporés lors de la synthèse protéique.

Rappelons que chaque ARNt présente, au niveau de la foliole centrale, un anticodon: cet ensemble de 3 nucléotides est complémentaire d'un codon correspondant, dans le code génétique, à l'acide aminé porté par l'ARNt. Les ARNt sont ainsi des acteurs majeurs de décodage de l'information portée par l'ARNm.

### V.3. Caractéristiques du code génétique

Le code génétique est constitué de codons sous forme de triplets de nucléobases. Il existe 64 ( $4^3$  combinaisons possibles) : 61 correspondent à un acide aminé (codon sens) et 3 à une ponctuation (codons non sens ou codons stop) (Tableau II).

- Le code génétique est non chevauchant et contigu ; deux codons successifs ne se recroisent pas et il n'y a pas d'espacement entre codons.

- Le code génétique est ponctué ; le codon AUG, correspondant à l'AA Met, sert de codon d'initiation (début de la traduction) et les 3 codons stop de codons d'arrêt. Cette organisation définit le cadre de lecture.
- Il est dégénéré ou redondant : 61 triplets pour 20 AA font qu'à un AA correspondent en général plusieurs codons qualifiés de synonymes. Les 2 premiers nucléotides d'un codon (sur l'ARNm) sont rigoureusement complémentaires de l'anticodon (de l'ARNt) selon la règle d'appariement classique ; il n'en est pas de même pour la 3ème base, un appariement moins classique est possible : il y a alors du jeu (Wobble ou flottement) dans la liaison codon-anticodon qui admet une certaine « liberté stérique ». La liaison plus faible entre la 1ère base de l'anticodon et la 3ème base du codon entraîne une dissociation plus facile des ARNt fixés : la synthèse protéique est ainsi plus rapide. Enfin, Cette synonymie réduit l'impact des mutations ponctuelles.

Exemple : quel anticodon pour 5'AUA3'?

L'anticodon 3'UAI\*5' qui s'apparie aux codons 5'AUA3', 5'AUU3' et 5'AUC3' = 1 ARNt "ile"

Alors, quel anticodon pour 5'AUG3'?

L'anticodon 3'UAC5' qui s'apparie au codon 5'AUG3' spécifiquement = 1 ARNt "met«

\*I = inosine, ribonucléotide ayant l'hypoxanthine comme base (guanine désaminée en C2)

Il est quasiment universel. A quelques exceptions près. Il est le même chez les bactéries et les eucaryotes. Notons toutefois que le code mitochondrial des vertébrés, de la levure et de divers végétaux diffère par quelques triplets du code universel.

Tableau II: Code génétique (D'après Peycru et al., 2013).

		DEUXIÈME LETTRE										
		U	C	A	G							
PREMIÈRE LETTRE	U	UUU	Phe (G)	UCU	Ser (S)	UAU	Tyr (Y)	UGU	Cys (C)	U		
		UUC		UCC		UAC		UGC		C		
		UUA	Leu (L)	UCA	UAA	Stop	UGA	Stop	UAG	UGG	Trp (W)	A
		UUG		UCG								
C	CUU	Leu (L)	CCU	Pro (P)	CAU	His (H)	CGU	Arg (R)	U			
	CUC		CAC		CGC		C					
	CUA		CAA		Gln (Q)	CGA	A					
	CUG		CAG		CGG	CGG	G					
A	AUU	Ile (I)	ACU	Thr (T)	AAU	Asn (N)	AGU	Ser (S)	U			
	AUC		AAC		AGC		C					
	AUA		AAA		Lys (K)	AGA	A					
	AUG		AAG		AGG	Arg (R)	G					
G	GUU	Val (V)	GCU	Ala (A)	GAU	Asp (D)	GGU	Gly (G)	U			
	GUC		GAC		GGC		C					
	GUA		GAA		GGA	A						
	GUG		GAG		GGG	G						

Le code génétique universel.

- acides aminés apolaires (hydrophobes)
- acides aminés polaires non chargés
- acides aminés polaires anioniques
- acides aminés polaires cationiques

**Codon initiateur**

#### V.4. Acteurs de la traduction: ARNm, sous-unités ribosomiques et amino-acyl-ARNt

Les acteurs qui coopèrent dans la traduction sont :

- Les ARN messagers matures : après avoir quitter le noyau. Le recrutement de l'ARNm à la petite sous-unité du ribosome se fait via la séquence Shine-Dalgarno (SD) chez les bactéries et via la coiffe 7-méthyle-guanosine triphosphate (m7GpppX) chez les eucaryotes. Ensuite, l'ARNm sera balayé par la petite sous-unité eucaryote afin de trouver le codon AUG initiateur.
- Les amino-acyl ARNt ou AA « activés », c'est-à-dire les complexes entre ARNt et AA qui permettent l'apport des acides aminés lors de l'édification des protéines.
- Les ribosomes, structures composées de deux sous-unités constituées chacune d'un assemblage d'ARNr et de protéines. On rappelle que ce sont des ARN qui exercent l'activité catalytique dans le ribosome (ribozymes).

Un ribosome comprend :



- Le site A (pour amino-acyl ARNt) qui assure l'accueil d'un nouvel acide aminé transporté par un ARN de transfert.
- Le site P (pour peptidyl-ARNt) qui assure l'accrochage du nouvel acide aminé à la chaîne polypeptidique en cours de synthèse.
- Le site E (pour exit) (mis en évidence par les scientifiques plus tardivement que les deux autres) qui permet l'évacuation de l'ARNt libéré de son acide aminé.

Il est à noter que les ribosomes réalisant la traduction, possèdent une activité catalytique qui est (étonnamment) assurée, non par les protéines, mais par l'ARN ribosomique qu'on peut alors qualifier de ribozyme (= ARN à fonction catalytique). Notons aussi que la traduction consomme de l'énergie apportée par l'hydrolyse de GTP (guanosine triphosphate) et non d'ATP (Figure 54).

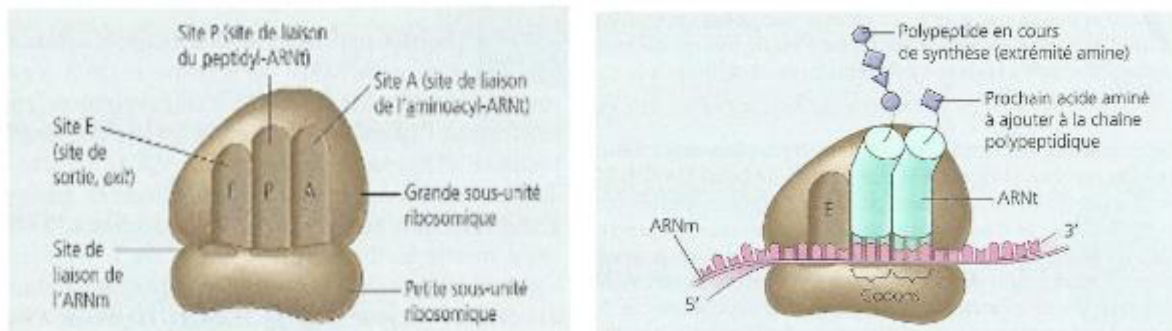


Figure 54: : Organisation fonctionnelle des ribosomes. D'après Campbell & Reece (2004).

## V.5. Mécanismes de la traduction

### V.5.1. Principe général de la traduction

Une lecture progressive de l'ARNm par le ribosome où des amino-acyl ARNt se succèdent en apportant les acides aminés incorporés (Figure 55). Lors de la traduction, l'ARNm est « pris en tenaille » entre les deux sous-unités du ribosome disposées en vis-à-vis. Le ribosome traduit les codons un à un, se déplaçant sur l'ARNm dans le sens 5' → 3' de codon en codon. Les acides aminés sont apportés sous forme activée (= amino-acyl ARNt) : ils pénètrent dans le ribosome par le site A où a également lieu la formation de la liaison peptidique avec la chaîne polypeptidique déjà édifiée ; au niveau du site P, l'acide aminé est détaché de l'ARNt qui le portait puis l'ARNt est évacué du ribosome par le site E.



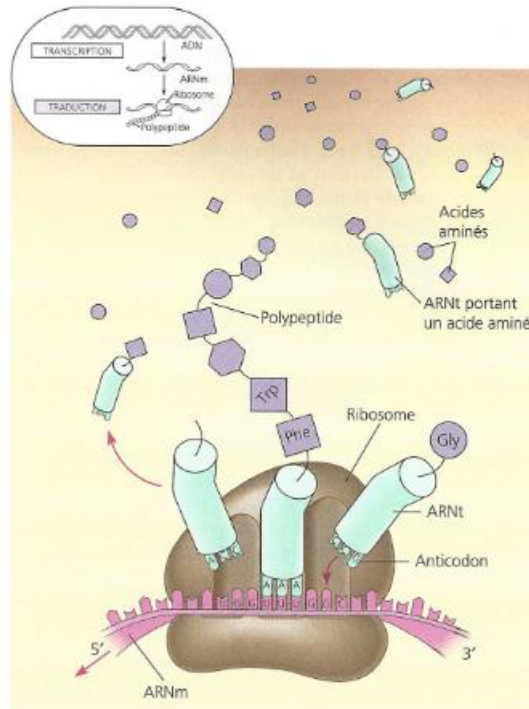


Figure 55: Principe de la traduction. (D'après Campbell & Reece 2004).

### V.5.2. Traduction : un processus séquentiel : initiation, élongation, terminaison

On divise classiquement la traduction en initiation, élongation et terminaison. Ainsi, durant chaque étape, on y notera l'intervention de nombreux facteurs protéiques: facteurs d'initiation (IF, Initiation Factors), facteurs d'élongation (EF, Elongation Factors), facteur de terminaison (RF, Release Factor).

#### V.5.2.1. Initiation de la traduction

Chez les eucaryotes, le complexe de démarrage est formé par l'assemblage de 12 facteurs protéiques de démarrage, d'un ARNt initiateur méthionylé (Met-ARNt<sup>i</sup>Met) non formylé, et de la petite sous-unité du ribosome. La reconnaissance du codon de démarrage n'est donc pas le fait d'un seul facteur, mais de plusieurs fonctionnant de façon coopérative, complexifiant ainsi la compréhension de ce mécanisme.(1) La sous-unité 40S en complexe avec le facteur d'initiation eIF3 (en vert) s'associe à eIF1A et au complexe ternaire Met-ARNt<sup>i</sup> i Met-eIF2-GTP (en bleu) pour former le complexe de pré-initiation 43S. (2) Le complexe eIF4 (en orange) se lie à la coiffe d'un ARNm à traduire ; l'ensemble est reconnu par le

complexe de pré-initiation et forme le complexe d'initiation 48S. (3) Le complexe d'initiation se déplace le long de l'ARNm dans le sens 5' vers 3' jusqu'à rencontrer un codon initiateur. Ce processus, appelé scanning, nécessite l'activité hélicase ATPdépandante de eIF4A pour dérouler les structures secondaires de l'ARNm. Au site d'initiation, après hydrolyse de la molécule de GTP, eIF1A, eIF3, eIF2-GDP et le complexe eIF4 sont libérés. (4) L'association de la grande sous-unité ribosomique permet la formation du ribosome 80S. Cette étape nécessite l'intervention de la GTPases eIF5. L'ARNt initiateur se retrouve positionné sur le codon initiateur, et au site P du ribosome (Lebreton, 2006) (Figure 56).

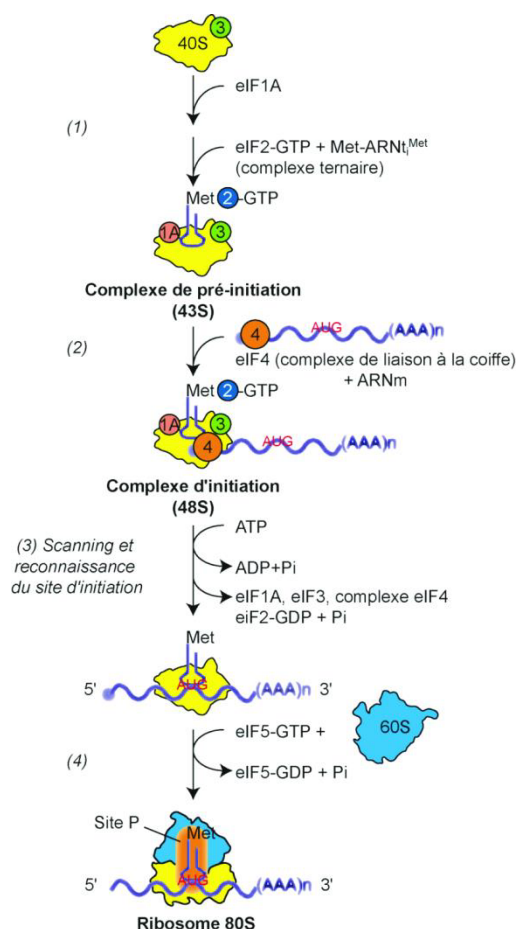


Figure 56: Mécanismes d'initiation de la traduction (Lebreton, 2006).

### V.5.2.2. Elongation de la traduction

L'élongation de la traduction suppose les phénomènes suivants : Le deuxième acide aminé activé (amino-acyl ARNt portant le deuxième AA de la future protéine) arrive sur le site A, se liant à l'ARNm par le biais de son anticodon de l'ARNt. L'amino-acyl ARNt étant associé à un facteur d'élongation lui-même porteur d'une GTP, cette fixation entraîne

l'hydrolyse de la GTP et la libération du facteur d'élongation désormais associé à une GDP. La grosse sous-unité (par ses ARNr) catalyse alors conjointement la formation d'une liaison peptidique entre les deux AA et la libération du premier AA avec son ARNt. L'énergie libérée par la dissociation entre l'AA1 et l'ARNt1 permet la formation (endergonique) de la liaison peptidique.

Le complexe se déplace d'un codon, ce qui consomme une autre GTP (apportée par un autre facteur d'élongation qu'on peut nommer facteur de translocation) : c'est la translocation du ribosome. L'ARNt qui portait l'AA1 se trouve sur le site E où il est alors spontanément évacué. L'ARNt qui porte désormais le jeune dipeptide se retrouve sur le site P. Le site A est vacant. Le troisième AA activé (amino-acyl ARNt portant le 3<sup>e</sup> AA de la future protéine) arrive sur le site A, de la même façon que le 2<sup>e</sup>. Il s'ensuit les mêmes phénomènes, et ainsi de suite jusqu'à l'incorporation du dernier AA (Figure 57).

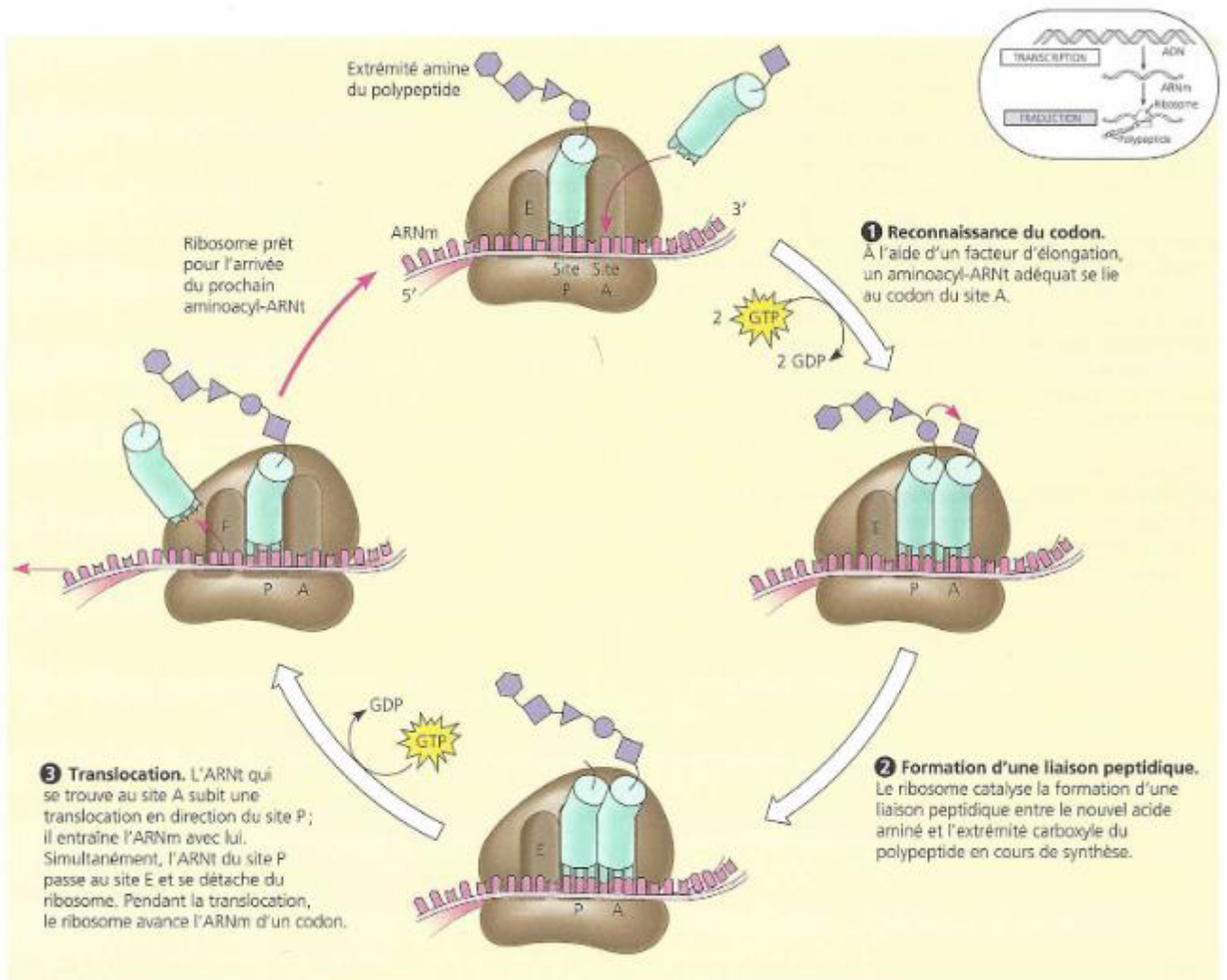


Figure 57: Elongation de la traduction (D'après Campbell & Reece, 2004).

V.5.2.3. Terminaison de la traduction

La terminaison de la traduction peut être présentée comme suit :

Elle s'opère lorsque le site A se retrouve au niveau d'un codon stop. Un facteur de terminaison lié à une GTP s'y fixe alors. Chez les eucaryotes, seul eRF1 (eukaryote *Release Factor*) est apte à reconnaître les trois codon stop, Sa fixation entraîne l'hydrolyse de la liaison entre le dernier AA et son ARNt, ce qui a pour conséquence la libération de la chaîne polypeptidique. eRF3 va ensuite séparer les différents composants du ribosome. L'hydrolyse de la GTP fournit l'énergie nécessaire à la dissociation du complexe (Figure 58).

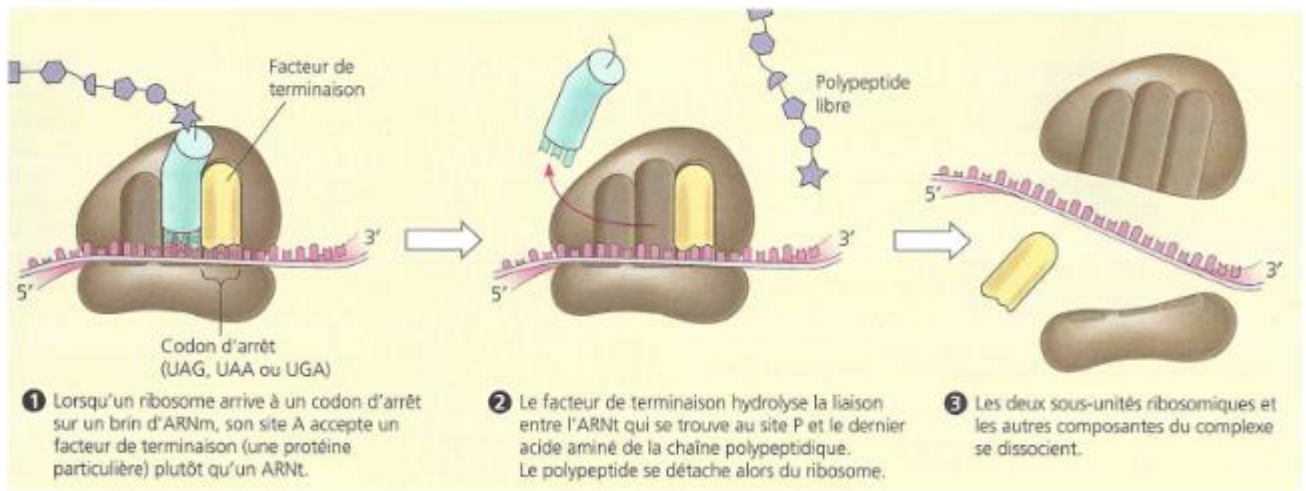


Figure 58: Terminaison de la traduction (D'après Campbell & Reece, 2004).

## **Chapitre VI: Régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes**

### VI.1.Introduction

Très tôt, il fut montré que la différenciation ne résultait ni d'une perte ni d'un gain d'information génétique. En première approximation la différenciation devrait donc résulter de « l'ouverture » ou de « la fermeture » de différents gènes. Mais il ne suffit pas pour obtenir un être humain « fonctionnel », que ses cellules se différencient ; il faut aussi que celles-ci répondent de manière adéquate à l'environnement. Pour cela, il convient que le taux de l'expression de chacun des gènes autorisés à s'exprimer par différenciation soit parfaitement régulé, et ce en fonction des stimuli et de leur intensité. Dans certaines circonstances la cellule est appelée à modifier son état de différenciation. Si les systèmes de régulation chez les procaryotes sont maintenant relativement bien connus, il s'est avéré qu'ils étaient complètement différents des systèmes eucaryotes. Les théories de l'information rendaient ces résultats prévisibles. En effet, le nombre de nucléotides du génome des cellules eucaryotes est considérablement plus élevé ; de plus, l'ADN n'est pas libre mais hautement compacté dans le noyau. Il n'y a donc pas de modèle général de régulation comme c'était le cas chez les procaryotes, mais toutes une série de possibilités s'enchaînent, depuis une structure particulière de la chromatine (niveau élevé de régulation) jusqu'à une régulation post-traductionnelle (dernier stade possible de régulation) (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 59).

### VI.2. Régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes : niveau chromatinien

#### VI.2.1. Environnement chromatinien des gènes actifs

L'ADNase I est utilisée pour explorer les zones « exposées » de l'ADN au sein de la chromatine. Une digestion partielle par de faibles quantités de l'ADNase I permet de définir des zones d'accessibilité préférentielle à l'enzyme. Il existe deux niveaux de sensibilité, d'où les notions de sites sensibles et de sites hypersensibles.

#### VI.2.1.1. Sites sensibles à l'ADNase I correspondent aux gènes actifs ou qui l'ont été

Si les noyaux intacts sont traités pendant un temps court à basse température par l'ADNase I très faiblement concentrée, seule une petite partie de l'ADN génomique est détruite. Ces sites sensibles correspondent aux gènes actifs. En fait, dans ces conditions expérimentales, sont détruits non seulement les gènes actifs, mais aussi ceux qui l'ont été dans le passé, comme par exemple les gènes codant pour les protéines fœtales (Kaplan & Delpech, 1993).

Cette sensibilité particulière des gènes actifs vis à vis de l'ADNase I démontre qu'ils se trouvent dans une conformation chromatinienne particulière qui les rend plus accessibles. Cette plus grande accessibilité n'est vraisemblablement pas limitée à l'ADNase I mais doit aussi s'exercer vis-à-vis d'autres protéines comme l'ARN pol ou les protéines régulatrices de transcription (Kaplan & Delpech, 1993).

#### VI.2.1.2. Sites hypersensibles à l'ADNase I correspondent aux gènes très activement transcrits

Si on utilise des quantités beaucoup plus faibles de l'ADNase I, seuls les gènes activement transcrits au moment où le noyau a été extrait sont touchés par l'ADNase I. Ces sites de coupure préférentiels sont appelés sites hypersensibles. Ils sont le plus souvent localisés au niveau des régions 5' non transcrites, c'est-à-dire dans les promoteurs des gènes actifs (Kaplan & Delpech, 1993).

#### VI.2.2. Certaines zones super enroulées et l'ADN Z pourraient jouer un rôle régulateur

Un certain nombre de résultats expérimentaux montrent que la variation du degré de torsion de l'ADN est utilisée comme moyen pour modifier l'accès des protéines au niveau du promoteur, aussi bien chez les procaryotes que chez les eucaryotes, régulant ainsi l'expression des gènes correspondants. L'ADN en structure Z est aussi soupçonné d'être un élément structural de régulation. Une protéine appelée PZse fixant spécifiquement sur l'ADN Z a pu être mise en évidence ; elle se fixe spécifiquement dans la région régulatrice du virus SV40 au niveau de la répétition de 72 pb en modifiant l'accessibilité de cette zone réputée régulatrice vis-à-vis d'autres protéines (Kaplan & Delpech, 1993).

### V.3. Contrôle épigénétique : Influence de la chromatine : Méthylation de l'ADN

Chez les eucaryotes, seules les cytosines appartenant à un doublet CG sont méthylables. Ces séquences CG sont relativement sous-représentées dans le génome humain puisque leur fréquence est 5 fois inférieure à ce que permet de prévoir un simple calcul statistique. Chez l'homme, 60 à 90% des cytosines des motifs CG sont méthylées. Une série de résultats convergents a montré que la méthylation des cytosines situées dans la région en 5' non transcrite des gènes est associée à une diminution de leur activité transcriptionnelle. Un argument supplémentaire est que l'ADN des cellules cancéreuses est largement hypométhylé. De manière globale, la méthylation semble donc être un signal de « fermeture » du gène. Le chromosome X inactivé en est un bon exemple puisqu'il est globalement hyperméthylé, sauf au niveau de quelques gènes comme celui de l'HPRT. La méthylation de l'ADN s'effectue immédiatement après la réplication ; les méthylases repèrent les cytosines méthylées sur le brin qui a servi de matrice pour déterminer sur quelles cytosines du brin néosynthétisé il convient qu'elles agissent (Kaplan & Delpech, 1993) (Figure 59).

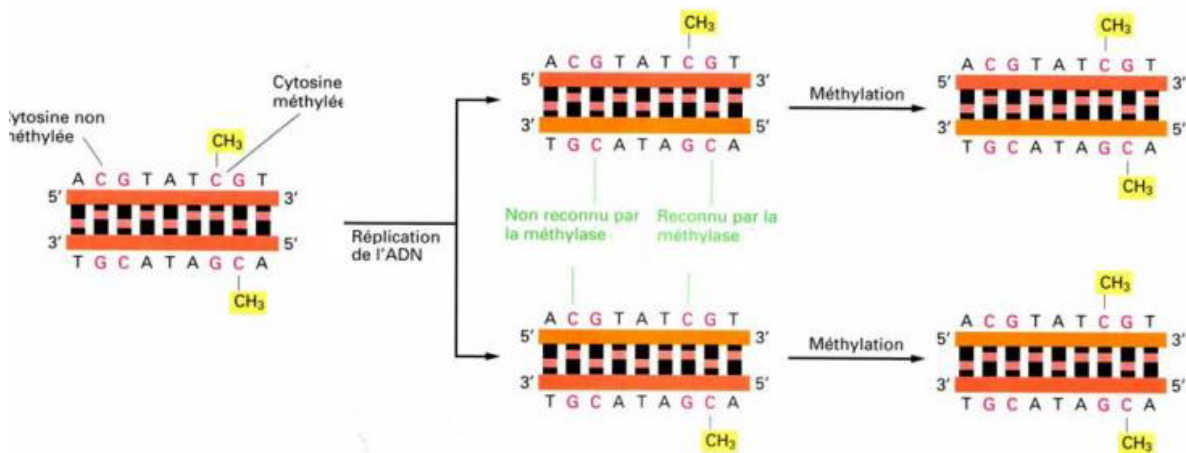


Figure 59: Régulation par méthylation des séquences CG (Lunardi, 2011).

### V.4. Régulation génétique

#### V.4.1. Régulation transcriptionnelle

##### V.4.1.1. Eléments agissant en *cis*

Les gènes des eucaryotes possèdent des séquences régulatrices souvent présentes plusieurs dizaines de Kb en amont des gènes. Ces séquences d'ADN (de 6 à 15 bases) sont appelées séquences *cis*-régulatrices. L'une des caractéristiques de ces séquences régulatrices



c'est qu'elles sont le plus souvent grossièrement symétriques et fixent des protéines spécifiques (trans-régulatrices).

Parmi les séquences de contrôle transcriptionnel actives en *cis* on retrouve :

a/ vers -30 à -25 on retrouve la séquence TATA appelée également Goldberg Hogness box (seuls certains gènes domestiques en sont dépourvus) sur laquelle se fixe le facteur TBP ou TFIID.

b/ vers -80 à -70 CAAT box (CCAAT) présente dans de nombreux gènes reconnue principalement par la protéine trans-régulatrice CTF (CAAT Transcriptionel Factor) et C/EBP (CAAT / Enhancer Binding Protein)

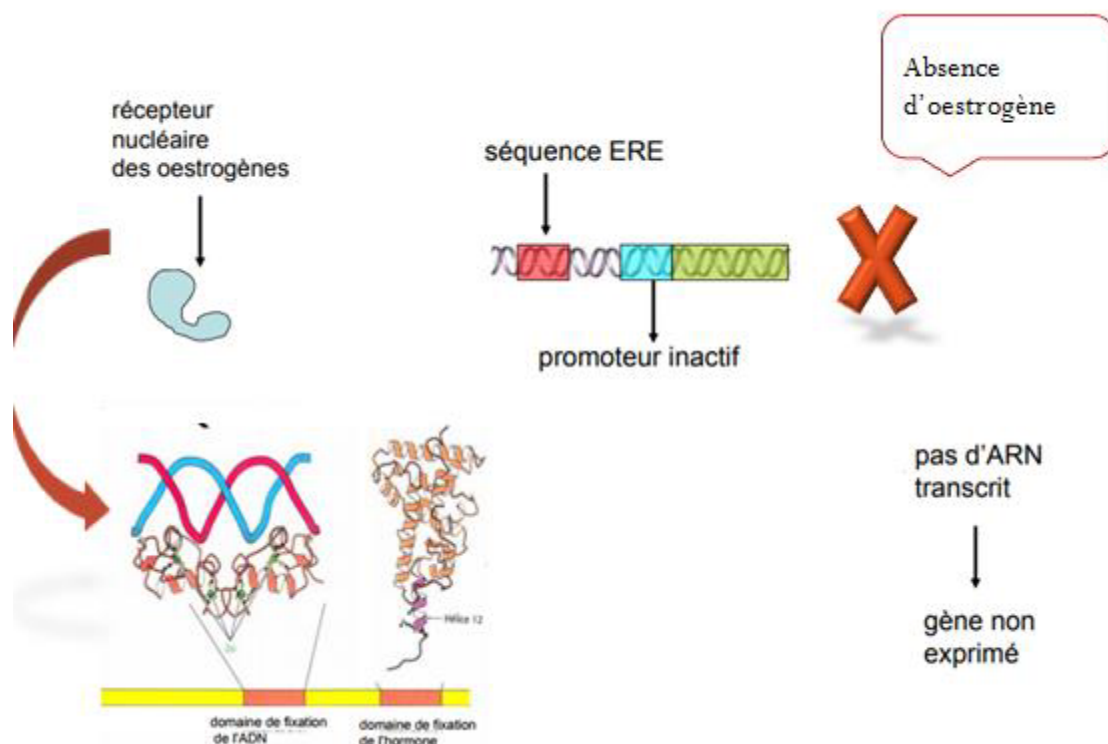
c/ la boîte GC (GGGCGG) très répandues chez les gènes domestiques (vers -100 à -40) sur laquelle se fixe le facteur SP1 (Specificity Protein 1).

D'autres séquences sont la cible de facteurs transcriptionnels dont la fixation ou l'activation sont sous le contrôle de stimulus extra ou intracellulaires (hormones, AMPcyclique, ions,...), il s'agit des séquences RE (Responsive Element) (Figure 60).

Exemples : GRE pour élément de réponse aux glucocorticoïdes

ERE pour élément de réponse aux Oeustrogenes

CRE pour élément de réponse à l'AMP cyclique.





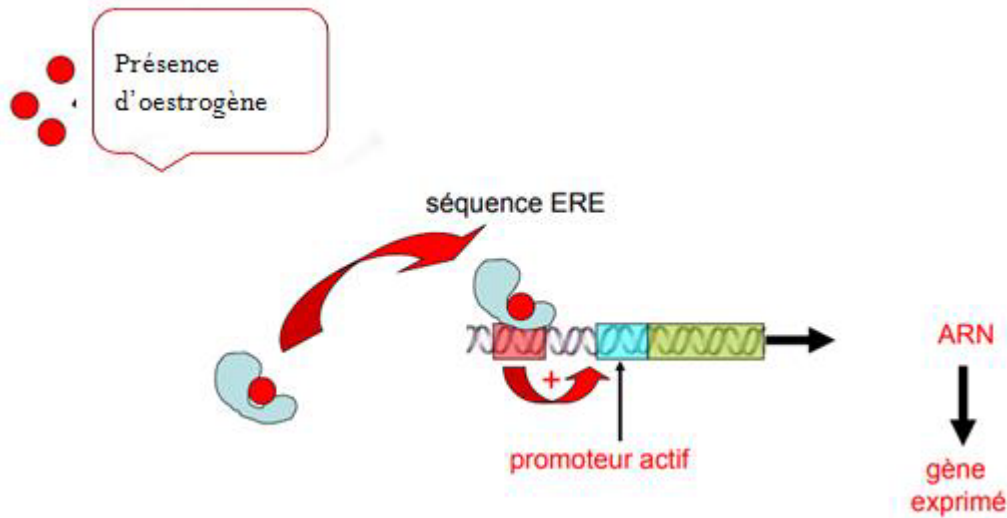


Figure 60: Exemple d'activation de la transcription par les hormones oestrogéniques (D'après Lunardi, 2011).

D'autres séquences *encorecis* régulatrices ont été mises en évidence, il s'agit des séquences stimulatrices de la transcription (enhancers). Le rôle de ces séquences consiste à augmenter le taux de transcription du gène. Elles agissent par l'intermédiaire de protéines (facteurs *trans*) et en modifiant la structure spatiale de l'ADN. Enfin, des séquences du même type mais ayant un effet inverse sur la transcription ont été caractérisées, elles sont appelées séquences extincteurs (silencers).

#### VI.4.1.2. Facteurs agissant en *trans*

L'ARN polymérase II ne peut pas initier la transcription par elle-même, pour cela, elle est dépendante de facteurs auxiliaires « facteurs agissant en *trans* » (appelés TFIIX, où X est une lettre identifiant des facteurs individuels). Par la suite, une phosphorylation de l'ARN polymérase est réalisée sur la plus grosse sous-unité de l'enzyme riche en sérine et en thréonine (partie C-terminale) pour déplacer l'enzyme du complexe déclenche, ainsi, le début de la transcription. Le facteur de transcription se fixant spécifiquement à la séquence *cis*-régulatrice de manière à activer ou inhiber l'expression du gène en question est appelée protéine *trans*-régulatrice.

#### VI.4.1.3. Structure des facteurs *trans* –régulateurs

Les facteurs de transcription dits *trans*-régulateurs sont des protéines particulières produites par d'autres gènes. L'interaction spécifique entre une protéine et un acide nucléique

résulte d'une série de liaisons faibles entre acides aminés et bases azotées, principalement au niveau du grand sillon de la double hélice d'ADN.

Ces protéines présentent des caractéristiques structurales communes, avec au moins deux domaines:

- Un domaine de fixation à l'ADN.
- Un autre domaine, dit d'action sur la transcription.
- Certains facteurs *trans*-régulateurs possèdent un troisième domaine qui permet de fixer un élément annexe permettant de réaliser l'action d'un message extérieur à la cellule, comme un message hormonal. On a pu ainsi définir la superfamille des récepteurs nucléaires (stéroïdes, vitamines D, hormones thyroïdiennes, acides rétinoïques, acides gras polyinsaturés...) (Figure 61).

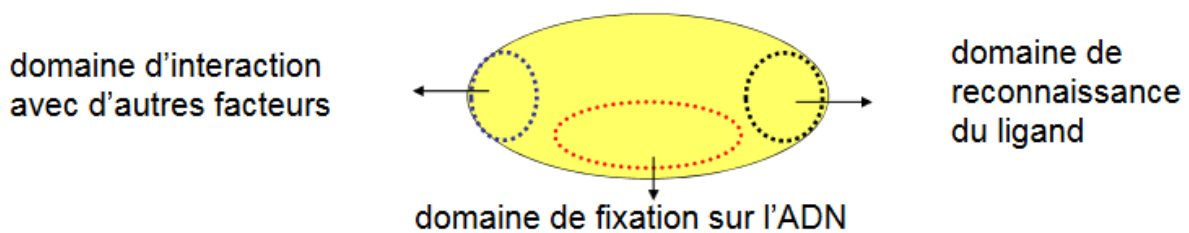


Figure 61: Schéma illustre la structure d'une protéine trans régulatrice (D'après Lunardi, 2011).

#### VI.4.1.4. Familles des facteurs trans-régulateurs

- Famille Hélice-Tour-Hélice

Constituée de deux hélices  $\alpha$  reliées entre elles par un coude  $\beta$ . L'une des deux hélices interagit avec les bases du DNA au niveau du grand sillon. La seconde interagit avec les desoxyriboses et les groupements phosphates. Elles agissent généralement en dimères. Exemple le répresseur de l'opéron lactose (Figure 62).

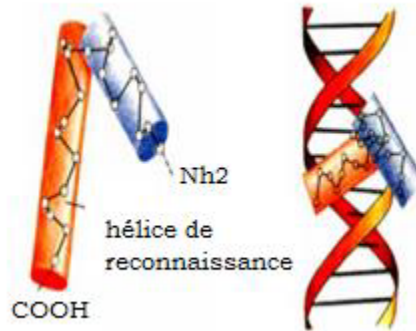


Figure 62: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif Hélice-Tour-Hélice (D'après Lunardi, 2011).

- Famille de protéines à doigts de zinc

Ce type de protéines est constitué d'une séquence d'une vingtaine d'acides aminés ayant dans l'espace une forme de doigt de gant. Il en existe deux types : ceux qui contiennent quatre cystéines et ceux qui contiennent deux cystéines et deux histidines. L'ion  $Zn^{2+}$  sert à stabiliser le motif sous forme de doigt. Il a été caractérisé dans un premier temps sur le facteur TFIIIA.

Ce motif est généralement répété, exemple : la protéine Sp1 qui se fixe sur les boîtes GC possède trois doigts de zinc (Figure 63).

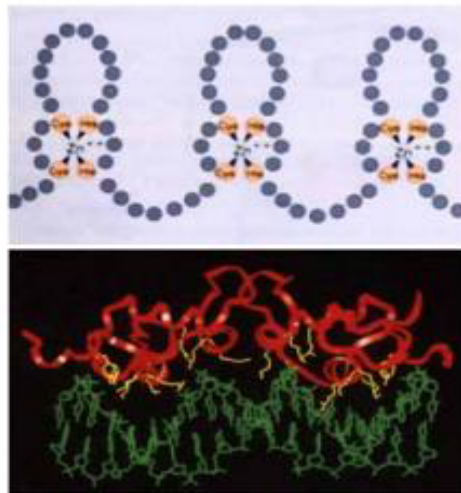


Figure 63: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif doigt de zinc (D'après Lunardi, 2011).

- Famille des facteurs à glissière à leucine

La glissière à leucine est constituée d'une hélice  $\alpha$  riche en acide aminé leucine. Ces protéines se fixent à l'ADN sous forme de dimères. Elles possèdent deux régions : Une région à base du dimère, constituée par deux hélices  $\alpha$  face à face riches en leucine et interagissant par des liaisons de type hydrophobe. Une autre région riche en charges positives se fixe sur les groupes phosphates de l'ADN. Les deux glissières à leucine forment une structure en Y, dans laquelle les glissières constituent la tige du Y et les deux régions basiques les deux branches du Y qui lient l'ADN. Exemple : le facteur C/EBP (qui lie sous forme de dimère la boîte CAAT) comporte 4 répétitions (Figure 64).

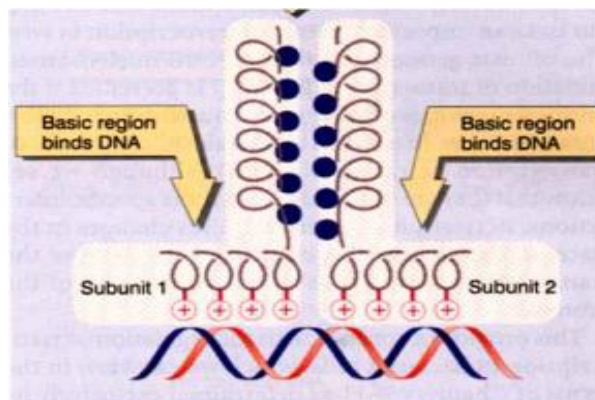


Figure 64: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif glissière à leucine (D'après Lunardi, 2011).

- Famille Hélice-Boucle-Hélice

Le motif Hélice-Boucle-Hélice ou Helix-Loop-Helix en anglais (HLH) se présente généralement en dimères. Ces protéines ont en commun un motif de 40-50 acides aminés comportant deux hélices alpha séparées par une région de longueur différente en forme de boucle. Ces protéines forment des dimères via l'interaction entre les résidus hydrophobes sur les 2 hélices alpha. De plus, elles contiennent un domaine basique adjacent au domaine HLH, ce domaine basique est nécessaire pour la liaison à l'ADN (Figure 65).

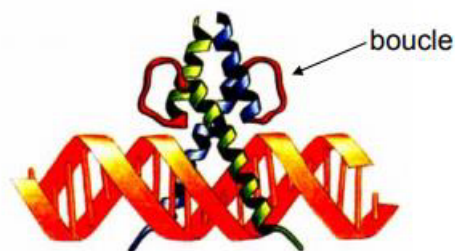


Figure 65: Structure d'une protéine trans régulatrice à motif HLH (D'après Lunardi, 2011).

## VI.4.2. Régulation de l'expression des gènes chez les eucaryotes au niveau post-transcriptionnel

### VI. 4.2. 1. Epissage alternatif

C'est le cas où au cours de l'épissage certains exons sont excisés (éliminés). Ainsi, à partir d'un ARN primaire unique, une série de messagers mûrs différents peuvent être obtenus. Il en résulte une série de protéines apparentées dérivant d'un même gène.

Epissage différentiel donnant des messagers différents codant pour des protéines à des fonctions analogues : C'est l'exemple des protéines de myéline suivant que les exons 1 et 7 sont excisés ou conservés, il en résultera 4 protéines possibles qui ne diffèrent les unes des autres que par leurs extrémités N et C terminales avec une conservation de la portion centrale. Ce mécanisme explique la présence des différents isoformes des protéines.

Epissage différentiel donnant des protéines entièrement différentes: Dans la cellule C de la thyroïde, le transcrite primaire est clivé puis subit un épissage qui conduira à un messenger traduit en précurseur de la calcitonine alors que le même transcrite primaire dans le cerveau subit une maturation différente qui conduit au Peptide Apparenté au Gene de la Calcitonine (CGRP) ayant une fonction de neuromédiateur (Figure 66).

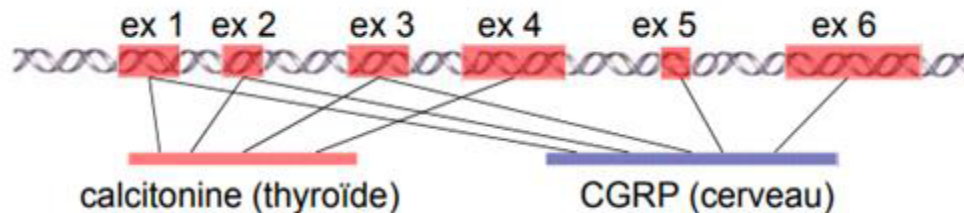


Figure 66: : Epissage différentiel du gène de la calcitonine (D'après Lunardi, 2011).

### VI.4.2.2.RNA editing: modification de l'ARNm

Deux types d'Apolipoprotéines B sont retrouvés sur les VLDL et Les LDL: une ApoB100 synthétisée par le foie, sa masse moléculaire est de 512 Kda et l'Apo B48 synthétisée dans l'intestin grêle, sa masse moléculaire est environ la moitié de celle de l'Apo B100. La séquence de l'ApoB48 ressemble à celle de l'extrémité N-terminale de l'Apo B100. Ces protéines sont codées par le même gène mais dans le messenger de l'Apo B48 la C du codon 2153 est remplacée par une U transformant ainsi un codon signifiant en un codon

stop. Cette modification est post-transcriptionnelle, il s'agit d'une sésamination de C (par la citidinesésaminase) qui conduit à l'apparition de U (Figure 67).

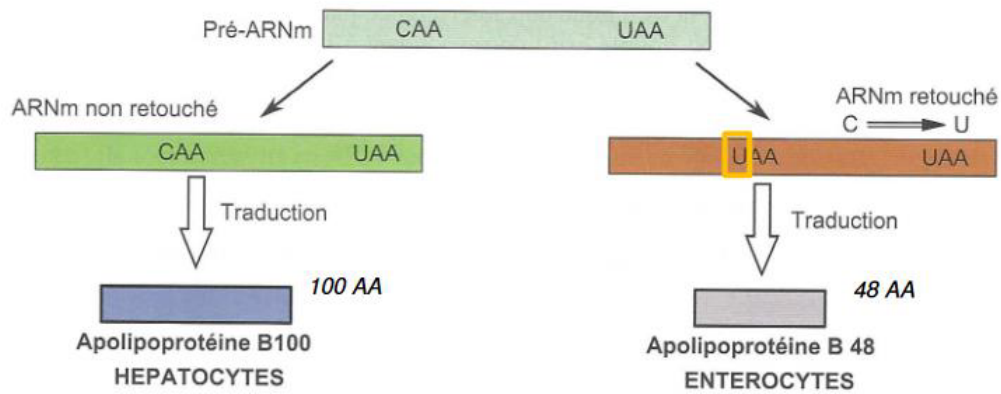


Figure 67: Editing de l'ARNm de l'apolipoprotéine B48 (D'après Peycru et *al.*, 2013).

### VI.5. Régulation de l'expression des gènes chez les eucaryotes au niveau traductionnel

Exemple : Régulation de l'expression des gènes de globine par l'hème:

La traduction des gènes de globine s'arrête une fois que l'hème est absent. L'hème agit par l'intermédiaire d'une protéine ayant un rôle inhibiteur contrôlée par l'hème (HCI). Cette dernière possède une activité de type kinase vis-à-vis de la sous unité de eIF2. Cette activité est bloquée par l'hème. En effet, le facteur eIF2 est inactif à l'état phosphorylé (Figure 68).

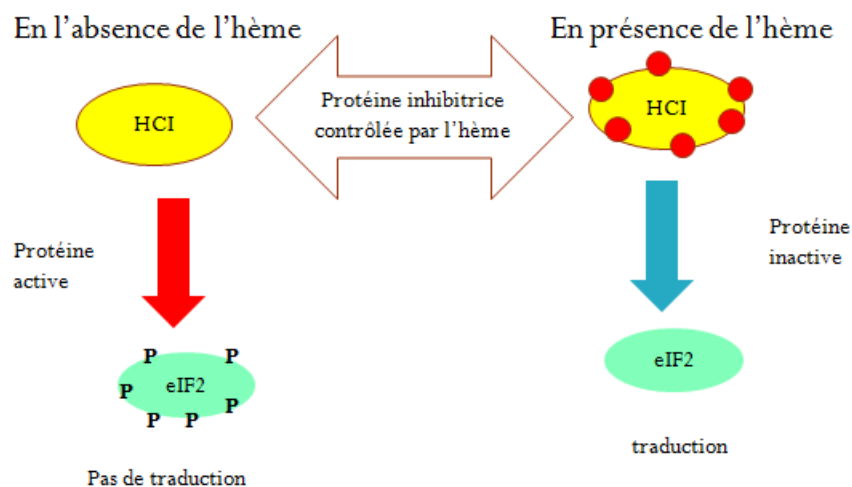


Figure 68: : Régulation de l'expression des gènes de globine par l'hème (D'après Lunardi, 2011).

## **Chapitre VII**

### **Cytogénétique et mécaniques chromosomiques**

#### VII.1. Généralités

Chaque chromosome contient une seule molécule d'ADN. L'ADN déroulé d'un noyau de cellule humaine mesurerait environ 1,8 m: chaque molécule d'ADN est enroulée et compactée en plusieurs étapes, grâce à l'association de différentes protéines, et loge dans le noyau de 6 µm de diamètre. C'est uniquement au cours de la division cellulaire qu'il est possible d'observer au microscope des chromosomes individualisés dont le nombre, la taille et la forme sont constants et caractéristiques pour toutes les cellules somatiques d'une espèce donnée et qui se regroupent en paires de chromosomes homologues (à l'exception de la paire des chromosomes sexuels, souvent morphologiquement très différents). Par exemple, l'homme a 23 paires de chromosomes, la vache et la chèvre 30, le porc 19 et le cheval 32. Tous les chromosomes métaphasiques (observés au grossissement 600) présentent une constriction primaire ou centromère les partageant en deux bras plus ou moins longs (p et q) et dont la position détermine leur forme, métacentrique si elle est médiane, acrocentrique si elle est proche d'une extrémité et submétacentrique si elle est intermédiaire (Hayes, 2000).

#### VII.2. Cytogénétique

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule, plus précisément au niveau des chromosomes sans la nécessité d'extraire l'ADN: C'est la discipline qui permet d'étudier la structure, la fonction et les anomalies structurales et numériques des chromosomes. Ces remaniements chromosomiques peuvent être constitutionnels ou acquis. Les remaniements constitutionnels sont présents dès la conception ou se forment lors des premières divisions du zygote. Les remaniements acquis, sont des remaniements qui vont apparaître au sein d'une cellule au cours de la vie. Dans la majorité des cas ces remaniements acquis sont trouvés dans les cellules tumorales. La cytogénétique a pour objet l'étude cytologique des chromosomes de différente manière :

- Cytogénétique Conventionnelle ou classique: Elle étudie le caryotype seul (rare car souvent accompagnée ou remplacée par des analyses moléculaires)



- Cytogénétique Moléculaire: Etudie les anomalies quantitatives ou structurales de l'ADN constituant les chromosomes: FISH
- Cytogénomique: Etudie quantitativement le génome entier après extraction de l'ADN: CGH « Array » (Hybridation Génomique Comparative Sur micro réseaux) ou puces ADN.

### VII.3. Caryotype

Il s'agit d'une technique qui permet l'étude d'équipement chromosomique caractéristique d'une espèce donnée, elle correspond à une analyse numérique et structurale de l'ensemble des chromosomes d'une cellule. Cette technique permet d'obtenir une image, en microscopie optique, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose (Figure 69).

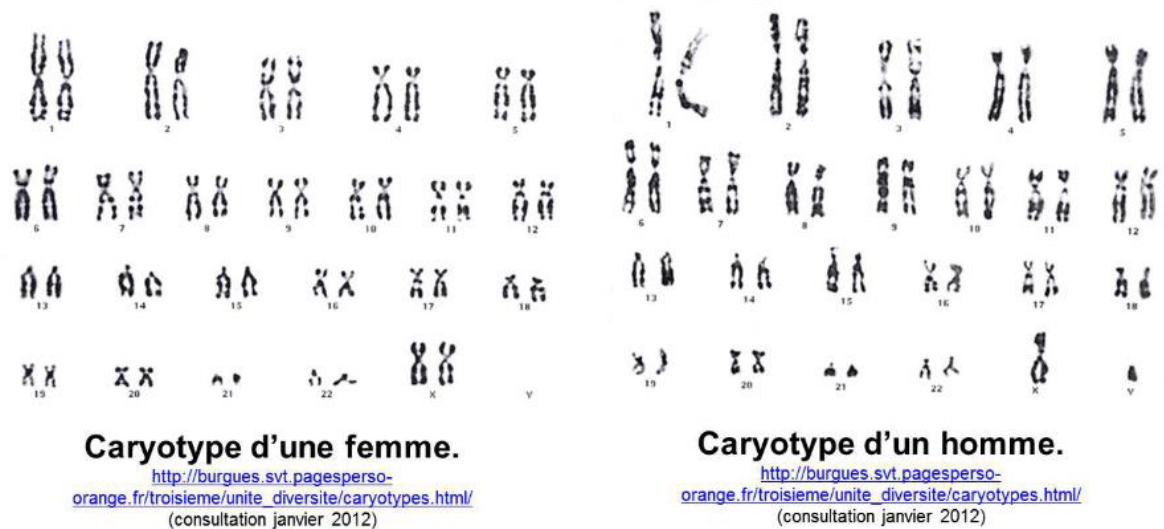


Figure 69: Caryotype humain.

[Rappel : 23 paires de chromosomes : 22 paires d'autosomes, 1 paire de gonosomes]  
Notation du caryotype humain diploïde :  $2n = 46$  [si c'était un gamète haploïde :  $n = 23$ ].

### VII.4. Marquages cytogénétiques

Selon les traitements et colorations utilisés pour observer les chromosomes, on peut visualiser plusieurs types de régions ou de structures : l'euchromatine, l'hétérochromatine constitutive, les centromères et les régions organisatrices nucléolaires. Il existe deux



principales techniques de marquage en bandes des chromosomes (banding), utilisées en routine :

Les bandes G: obtenues par digestion trypsinique modérée des chromosomes suivie d'une coloration au Giemsa. Elles sont les plus utilisées en raison de leur facilité d'obtention (Figure 70).

Les bandes R : obtenues par dénaturation thermique ménagée.

Dans les deux cas, les bandes ne deviennent visibles qu'après une coloration avec le Giemsa. Ces deux techniques donnent un marquage réciproque, c'est à dire que là où l'on obtient une bande sombre avec l'une des deux techniques, on observe une bande claire avec l'autre.

D'autres techniques de marquage complémentaires existent qui permettent d'analyser certaines régions particulières du génome :

Les Bandes C: cette coloration par le Sulfate de Baryum permet de mettre en évidence l'hétérochromatine constitutive, qui correspond à des régions non codantes du génome comme les régions centromériques.

Les Bandes Q: obtenues après coloration par la moutarde de Quinacrine. Sous UV les chromosomes présentent des bandes fluorescentes, de même que les bandes G.

Les Bandes T: une dénaturation thermique poussée ne laisse persister le marquage qu'au niveau des télomères (Hayes, 2000).

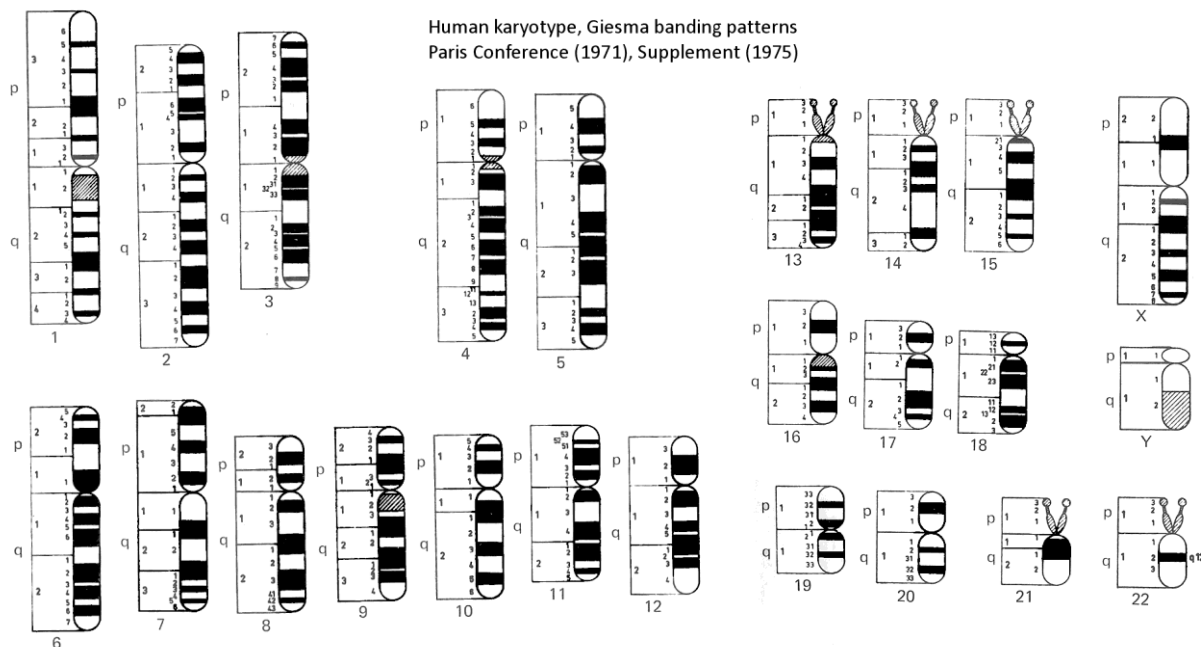


Figure 70: Caryotype humain Modèle de bandes de Giemsa Conférence de Paris (1971, 1975) [8].

Les zones hachurées sur les chromosomes 1, 9, 16 et Y sont des régions hétérochromatiques génétiquement inactives. La plupart des chromosomes présentent également une hétérochromatine centromérique

#### VII.4.1. Euchromatine

L'euchromatine est révélée par les méthodes de marquage chromosomique produisant des motifs de bandes appelées Q (de quinacrine)/G (de Giemsa), R (de reverse) et T (de terminale) et contenant, entreautres, presque tout l'ADN transcrit.

On distingue les bandes Q, G, R et T dites « structurales » parce qu'elles dépendent de la nature intrinsèque du chromosome et les bandes G et R dites « dynamiques » qui sont révélées par l'incorporation d'une base modifiée dans l'ADN de la cellule vivante et dépendent donc de la réplication. Dans tous les cas, on obtient une succession de bandes intensément colorées ou légèrement colorées.

L'euchromatine de tous les chromosomes des mammifères se subdivise en deux fractions à peu près égales de leur génome, les bandes G et les bandes R. A chacune de ces fractions est associée une série de propriétés biochimiques et fonctionnelles opposées ; les principales sont regroupées dans le tableau III (Bickmore et Sumner 1989, Gardiner 1995).

Tableau III: Principales propriétés biochimiques et fonctionnelles des bandes chromosomiques G/R (Bickmore et Sumner 1989, Gardiner 1995).

<b>Bandes G</b>	<b>Bandes R (+T)</b>
bandes G+ colorées	bandes G- claires
bandes Q+ fluorescentes	bandes Q- non fluorescentes
bandes R- et T- claires	bandes R+ et T+ colorées
régions chromomériques au stade pachytène de la méiose	régions interchromomériques
réplication tardive durant phase S	réplication précoce
riches en AT	riches en GC
pauvres en méthylcytosine	riches en méthylcytosine
peu de gènes	majorité des gènes de ménage et de spécificité tissulaire
séquences LINEs	séquences SINEs

#### VII.4.2 : Hétérochromatine constitutive

Elle est colorée de manière sélective et intense par les méthodes de marquage dites de « bandes C » (de centromère) et, pour le moment, n'a pas de fonction connue. C'est une fraction de la chromatine qui ne se décondense pas durant l'interphase et qui se situe dans les régions

juxtacentromériques de tous les chromosomes chez presque toutes les espèces, mais parfois dans d'autres régions aussi, par exemple sur le chromosome Y. Elle contient des séquences hautement répétées d'ADN riches en paires de bases AT ou GC selon les sites et les espèces et elle se réplique très tardivement durant la phase de synthèse S de l'ADN. Cependant, l'hétérochromatine n'est pas totalement dépourvue d'activité génétique puisque, chez la drosophile, on a pu isoler des mutations létales dans des gènes localisés dans l'hétérochromatine (Eberl et *al.*, 1993). La cartographie génétique indique que l'hétérochromatine contient 100 fois moins de gènes que l'euchromatine (Eberl et *al.*, 1993).

#### VII.4. 3 : Centromères

Les centromères sont visibles comme une constriction dite primaire sur chaque chromosome après coloration au Giemsa et sur laquelle on peut révéler, par des techniques d'immunofluorescence, les kinétochores qui sont des structures spécialisées par lesquelles les chromosomes se fixent aux fuseaux nucléaires mitotiques et méiotiques et migrent vers le plan équatorial de la cellule. Les centromères sont compris dans l'hétérochromatine constitutive.

#### VII.5. Anomalies chromosomiques

Les anomalies chromosomiques sont des mutations rares qui entraînent des changements du nombre ou de la structure des chromosomes. Les anomalies chromosomiques constitutionnelles sont des maladies génétiques fréquentes en pathologie humaine. Elles se produisent avant la fécondation, dans l'un des gamètes des parents, ou bien lors des premières divisions du zygote. Contrairement aux anomalies acquises dont l'anomalie chromosomique se produit au cours de la vie d'un individu qui est né avec un caryotype normal.

Les anomalies chromosomiques constitutionnelles peuvent être responsables de troubles de la reproduction (avortements spontanés, hypo- ou infertilité), de malformations congénitales associées ou non à une déficience intellectuelle et/ou à des troubles du comportement.

Ces anomalies chromosomiques sont dites déséquilibrées quand elles s'accompagnent de perte ou de gain en matériel génétique codant ; elles sont dites équilibrées quand tous les gènes sont présents en deux exemplaires, il s'agit alors d'une anomalie de la distribution des gènes dans ou entre les chromosomes.

### VII.5.1. Mécaniques chromosomiques

Les chromosomes peuvent subir des cassures suivies de recollement des extrémités libres: on en distingue deux cas de figure : ou bien le chromosome se recolle comme il était: *reditus ad integrum* ; ou bien il existe plusieurs cassures et le recollement erronés ce qui peut être à l'origine d'apparition d'une aberration.

Le plus souvent le site de cassure ne se trouve pas dans une séquence codante et ne provoque pas de mutation. De plus, ce qui compte pour un individu, c'est de posséder une double copie du message de l'espèce, pas plus et pas moins. Cependant, de nombreux déséquilibres, qui ne touchent pourtant qu'un petit nombre de gènes, sont très délétères). Ceci est également vrai en génétique des processus malins o la perte (ou la mutation) d'un gène suppresseur du cancer (antioncogène) est un événement primordial (perte d'hétérozygotie; modèle rétinoblastome, voir Cancers héréditaires).

### VII.5.2. Classification des anomalies chromosomiques selon leur nature

#### VII.5.2.1. Anomalies de nombre (affectent le nombre des chromosomes).

On en distingue l'aneuploïdie et l'euploïdie

- Aneuploïdie : caractérisée par la présence de chromosomes en plus ou en moins dans une paire de chromosomes. Le nombre de chromosomes dans les autres paires reste inchangé.

On distingue:

- L'aneuploïdie par excès: qui correspond à un gain de chromosomes, exemple : la trisomie  $[2n + 1]$  tels que : la trisomie 21 (syndrome de Down) (Figure 71), la trisomie 18 (syndrome d'Edward) et la trisomie 13 (syndrome de Patau).

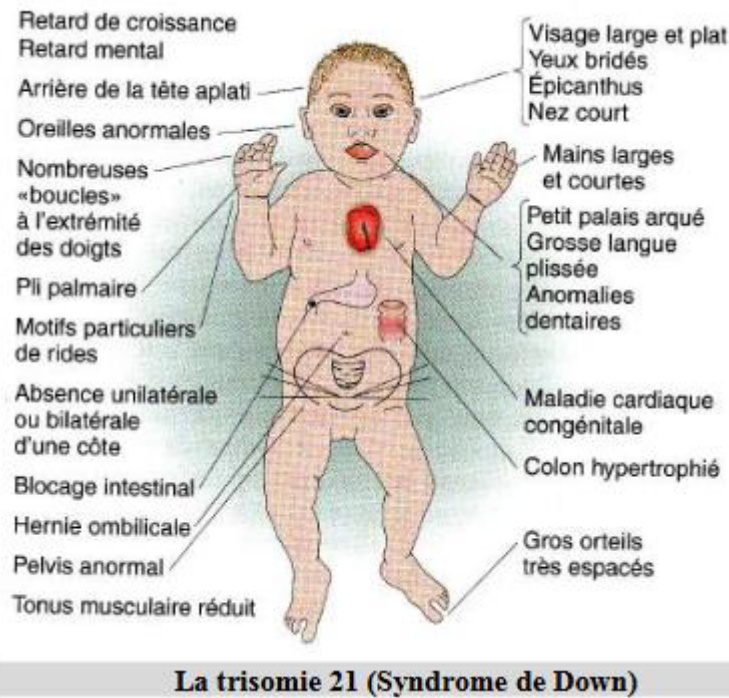


Figure 71: Trisomie 21 (syndrome de down) [9].

- L'aneuploïdie par défaut: qui correspond à une perte de chromosomes tels que : la monosomie [ $2n - 1$ ].

• Euploïdie : On parle d'euploïdie, lorsque le nombre de chromosomes est augmenté ou diminué, mais l'équilibre entre lots de chromosomes homologues est conservé. On peut théoriquement rencontrer des individus monoploïdes ou polyplloïdes.

- Monoploïdie ( $1n$ ) : état d'une cellule ou d'un organisme possédant le lot chromosomique de base où chaque chromosome est présent en un seul exemplaire.

- Polyplloïdie : état d'une cellule ou d'un organisme possédant plus de deux chromosomes dans chacun de ses lots de chromosomes homologues. On peut rencontrer des individus : Triploïde ( $3n$ ) [ $2n + n$ ], Tétraploïde ( $4n$ ) [ $2n + 2n$ ], ... etc.

#### VII.5.2.2. Anomalies de structure

Impliquent une ou plusieurs cassures chromosomiques suivies d'une perte ou d'un réarrangement (recollement anormal) d'une partie du matériel génétique.

• Anomalies portant sur un seul chromosome

- Délétion (del) : elle peut être terminale lorsqu'elle résulte d'un seul point de cassure entraînant la perte d'un segment distal du chromosome. Comme elle peut être intercalaire :

lorsqu'elle résulte de deux points de cassures sur un même bras chromosomique entraînant la perte d'un segment intercalaire (Figure 72).

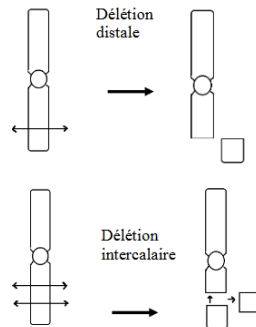


Figure 72: Délétion distale et délétion intercalaire [9].

- 
- Chromosome en anneau (r) (*ring en anglais*) : Il s'agit d'un chromosome anormal de forme circulaire qui résulte de la délétion des segments distaux du chromosome, suivi d'une fusion des extrémités libres du bras court et du bras long (par absence de télomères) (Figure 73).

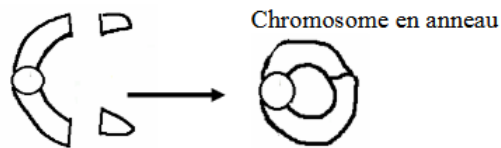


Figure 73: Chromosome en anneau [9].

- Inversion (inv) : Elle est due à deux cassures sur un même chromosome, suivies du recollement après inversion du segment intermédiaire. L'inversion peut être péricentrique où les deux cassures se produisent de part et d'autre du centromère. Comme elle peut être paracentrique : les deux cassures se produisent sur le même bras chromosomique (Figure 74).

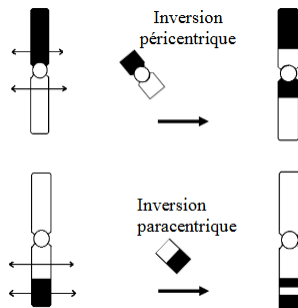


Figure 74: Inversion [9].

- Duplication intrachromosomique (dup) : Il s'agit de la duplication d'un segment de chromosome une ou plusieurs fois (Figure 75).

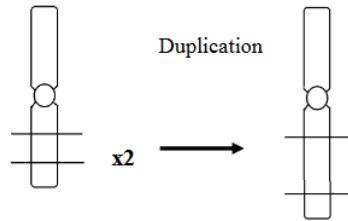


Figure 75: Duplication [9].

- Isochromosome (i) : Il s'agit d'un chromosome qui a perdu l'un de ses bras qui sera "remplacé" par la duplication de l'autre bras. Ainsi un isochromosome est un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome (Figure 76).

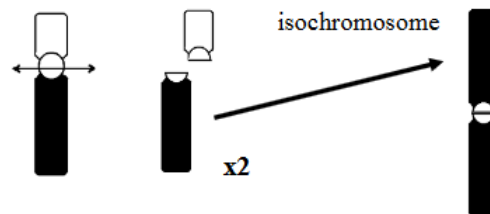


Figure 76: Isochromosome [9].

- Anomalies portant sur deux chromosomes

On distingue deux formes majeures de translocations :

- Translocation réciproque qui correspond aux échanges de segments distaux entre deux chromosomes non homologues (Figure 77).

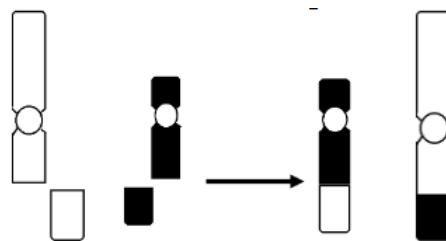


Figure 77: Translocation réciproque [9].

- Translocation robertsonienne (rob) : Elle correspond à la fusion de deux chromosomes acrocentriques à proximité des centromères. Le chromosome qui en résulte comporte les bras longs des 2 acrocentriques fusionnés, alors que leurs bras courts sont perdus. On obtient alors un chromosome dicentrique (dic), possédant 2 centromères. L'un des 2 centromères est généralement inactivé afin d'éviter les problèmes de ségrégation lors de l'anaphase. Les

bras courts des chromosomes acrocentrique sont de très petite taille, et ils ne codent que pour des gènes répétés. Leur perte au cours de la translocation robertsonienne n'entraîne aucune conséquence clinique directe pour l'individu porteur (Figure 78).

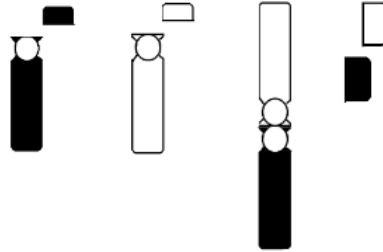


Figure 78: Translocation robertsonienne [9].

- Insertion (ins) :Lorsqu'un fragment de chromosome se casse ensuite se réinsère à un autre endroit, soit sur le même chromosome (insertion intrachromosomique), soit sur un autre chromosome (Figure79)

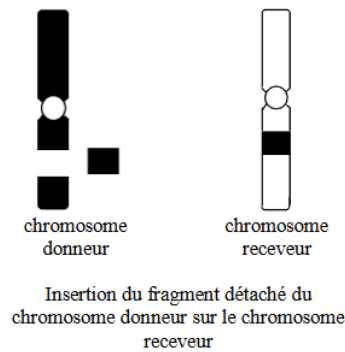


Figure 79: Insertion [9].

- Chromosomes dicentriques ou pseudodicentriquesse sont des chromosomes possédant deux centromères qui résultent le plus souvent de la fusion, entre deux chromosomes au niveau de leurs régions télomériques. Lorsque les deux centromères sont suffisamment éloignés, l'un d'entre eux perd sa fonction (Figure 80).

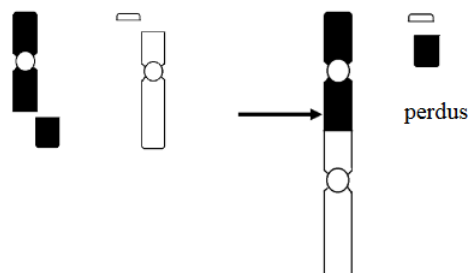


Figure 80: Chromosomes dicentriques ou pseudodicentriques [9].



### VII.5.3. Classification des anomalies chromosomiques selon leur répartition dans l'organisme

Les anomalies homogènes sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme. Cependant, les anomalies en mosaïque ne touchent qu'une partie des cellules de l'individu.

### VI.5.4. Classification des anomalies chromosomiques selon les modifications apportées au phénotype

Il peut s'agir d'anomalies «non équilibrées» lorsque la conséquence se traduit par une perte ou un gain de matériel génétique (visible au caryotype classique). Aussi, il peut s'agir d'anomalies équilibrées où on ne constate ni une perte ni un gain de matériel génétique. Habituellement, ces anomalies n'ont pas d'effet phénotypique; sauf lorsqu'il s'agit d'une anomalie de structure, qui entraîne la cassure du chromosome au niveau d'un gène indispensable au développement normal.

## VII.6. Applications diagnostiques

### VII.6.1. Aneuploïdies gonosomiques

Elles sont beaucoup plus fréquentes que les aneuploïdies autosomiques, elles peuvent concerner aussi bien le chromosome X que le chromosome Y. Chez les humains, les principales anomalies rencontrées à la naissance sont :

- Le syndrome Triplo X (47, XXX) : L'individu atteint est une femme présentant un chromosome X supplémentaire (Figure 81)

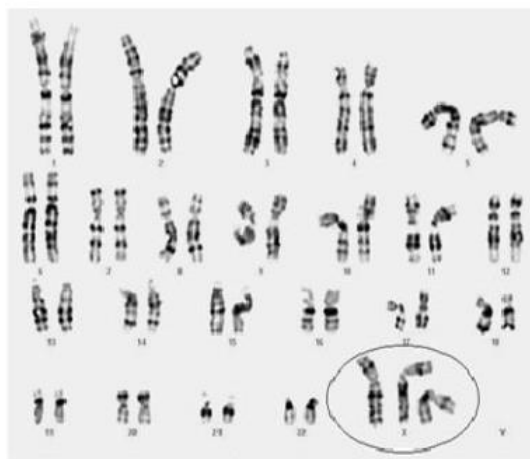


Figure 81: Syndrome triplo 47,XXX (Hassan et al., 2016).

- Le syndrome de Klinefelter (47, XXY) : l'individu atteint est un homme présentant un chromosome X supplémentaire (Figure 82)

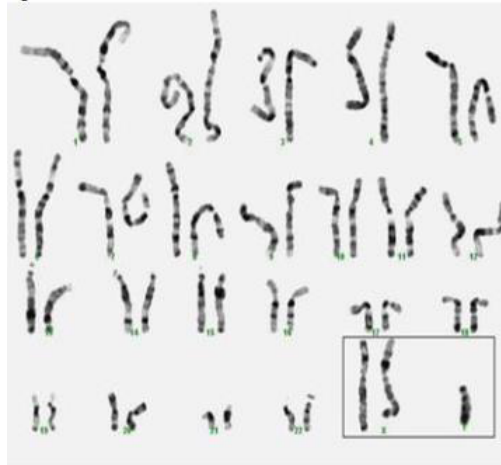


Figure 82: Syndrome Le syndrome de Klinefelter (47, XXY) (Hassan et *al.*, 2016).

- Le syndrome du double Y (47, XYY) : l'individu atteint est un homme, présentant un chromosome Y supplémentaire (Figure 83)

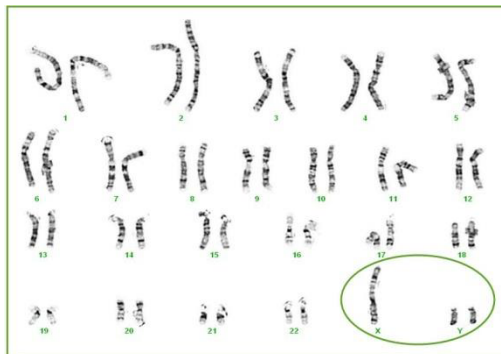


Figure 83: Syndrome du double Y (47, XYY) [10].

- La monosomie X est responsable du syndrome de Turner (45, XO), la personne atteinte est une femme ne possédant qu'un seul chromosome X (Figure 84).



Figure 84: Syndrome de Turner (Greenwood genetic center, 2020).

VII.6.2. Effets phénotypiques des aneuploïdies autosomiques

Les aneuploïdies autosomiques ont toujours un effet grave sur le phénotype ; elles entraînent des malformations importantes. Chez les humains, les seules trisomies observables à la naissance (13; 18; 21) concernent des chromosomes de petite taille. Les trisomies impliquant des chromosomes de grandes tailles entraînent la mort précoce de leurs porteurs ; car un chromosome de grande taille est porteur d'un grand nombre de gènes, dont l'expression entraîne d'importants déséquilibres dans l'organisme. Néanmoins, les monosomies autosomiques complètes sont incompatibles avec la vie, elles sont éliminées très tôt dans la vie embryonnaire (Figure 85, 86 et 87)



Figure 85: Trisomie 21 Vue partielle du caryotype d'un homme de 47 ans atteint de trisomie 21 [11].



Figure 86: Trisomie 13 [11].

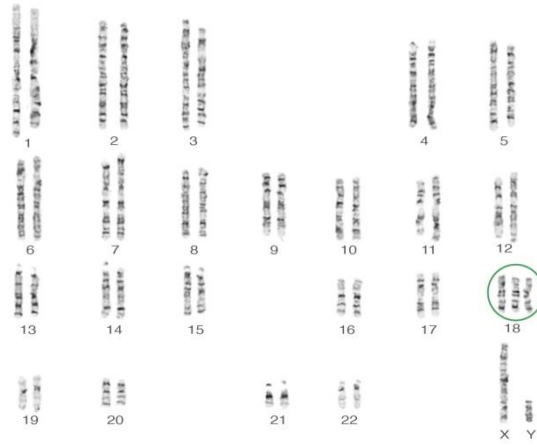


Figure 87: Trisomie 18 [12].

## Chapitre VIII. Génétique extra chromosomique

### VIII.1. Généralités

La majeure partie du génome eucaryote est contenue dans les chromosomes du noyau. Cependant, en plus de l'ADN nucléaire, certains organites cellulaires: Mitochondries et Chloroplastes contiennent également un type de chromosome qui leur est «spécifique». Les chromosomes mitochondriaux et chloroplastiques sont des molécules d'ADN double-brin. Les mitochondries et les chloroplastes contiennent de multiples copies de leurs chromosomes, et, dans chaque cellule, ces organites sont présents en nombre variable. On appelle le chromosome mitochondrial : ADNmt et le chromosome chloroplastique:ADNcp

Dès le début du 20ème siècle les chercheurs ont pensé que les plastes et les mitochondries pouvaient provenir de bactéries. Celles-ci auraient été ingérées par des cellules primitives et vivaient à l'intérieur d'elles en symbiose. Cette théorie endosymbiotique de l'origine des plastes et des mitochondries est devenue parfaitement plausible lorsque l'on a découvert (1950-1960) que ces organites contenaient de l'ADN et des ribosomes. De nombreux éléments indiquent que les mitochondries et les chloroplastes ont évolué à partir de bactéries ayant subi une endocytose dans les cellules eucaryotes ancestrales, formant des endosymbiotes (théorie d'endosymbiose). Au cours de leur adaptation intracellulaire, ces bactéries ont perdu progressivement une grande partie de leurs gènes qui ont fusionnés avec le génome nucléaire. Néanmoins, les mitochondries et les chloroplastes des eucaryotes actuels, conservent de l'ADN codant des protéines essentielles à la fonction des organites ainsi que l'ARN ribosomal et l'ARN de transfert nécessaires à leur traduction (Figure 88).

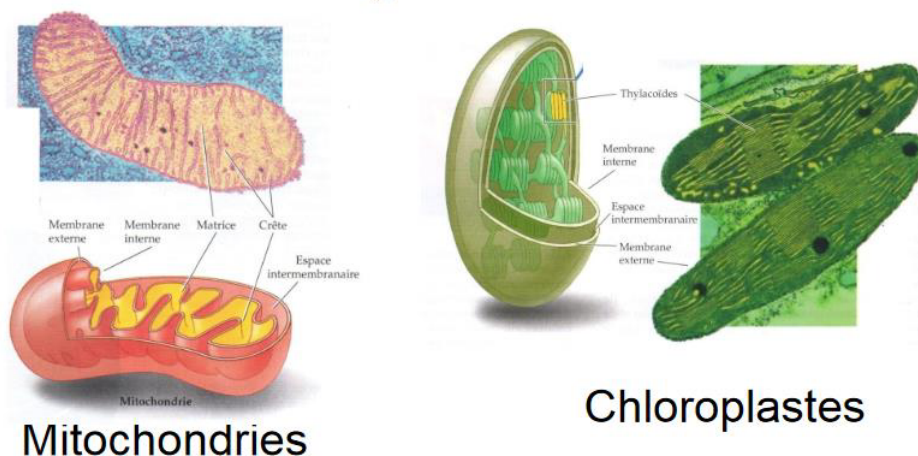


Figure 88: Mitochondrie vs Chloroplaste (D'après Campbell et Reece, 2004).

## VIII.2. Mitochondrie

Les mitochondries sont des organites pluricompartimentés limités par une enveloppe et qui produisent l'essentiel de l'adénosine triphosphate (ATP) utilisée dans la plupart des activités cellulaires consommatrices d'énergie chimique. Leur nombre au sein de la cellule, est variable selon l'activité métabolique. Cette ATP est produite par une voie métabolique nommée respiration cellulaire. La structure de la mitochondrie est caractérisée par :

- Une membrane interne qui présente de nombreux replis (crêtes mitochondriales) et une quantité importante d'ATP synthétases (enzymes qui produisent l'ATP) ;
- Un espace intermembranaire très étroit, ce qui permet d'y concentrer facilement des protons H<sup>+</sup> .
- Un compartiment plus interne appelé matrice mitochondriale ; il contient des inclusions et des ribosomes ;

Cet organite possède son propre ADN dans la matrice ainsi que des ribosomes (production de quelques protéines ou sous-unités de protéines: la plupart des polypeptides mitochondriaux sont toutefois codés par le génome nucléaire).

### VIII.2.1. ADN mitochondrial (ADNmt)

La taille du génome mitochondrial varie beaucoup entre les organismes: de 6 Kpb chez certains parasites, à plus de 700 Kpb, ainsi que leur composition. Ce sont les plantes qui ont les plus grands génomes mitochondriaux, en terme de taille mais aussi en nombre de gènes. Un certain nombre de gènes de l'ADNmt codent la synthèse de nombreux ARN messagers (mARNmt), de plus d'une vingtaine d'ARNt (tARNmt) et de trois catégories d'ARN ribosomiaux (rARNmt 26S, 18S et 5S) spécifiques aux mitochondries. La relation taille du génome et nombre de gènes ne s'applique pas aux génomes mitochondriaux, puisqu'ils peuvent présenter une quantité différente de séquences non-codantes ou d'introns. Par exemple, 75% du génome mitochondrial de *Podospiraanserina* est composé d'introns (Cummings, et *al.*, 1990). L'ADNmt est présent à raison de 50 à 100 copies par cellule de levure (quelques milliers dans les cellules de mammifères) et n'est pas distribué de manière homogène dans la mitochondrie : il se concentre en structures particulières, les nucléoïdes, dont le nombre et la taille varient en fonction des conditions physiologiques. Ces structures sont des unités dynamiques, transmises à la cellule fille lors de la division cellulaire. Contrairement aux cellules de mammifères dans lesquelles il a été montré que les ADNmt étaient circulaires (Sinclair & Stevens 1966), la question reste encore ouverte concernant

l'ADNmt de *Saccharomyces cerevisiae*, certains travaux penchent plutôt pour un ADNmt linéaire; les boucles seraient des formes de répllication du génome (Maleszka, et *al.*, 1991; Williamson, 2002) (Figure 89).

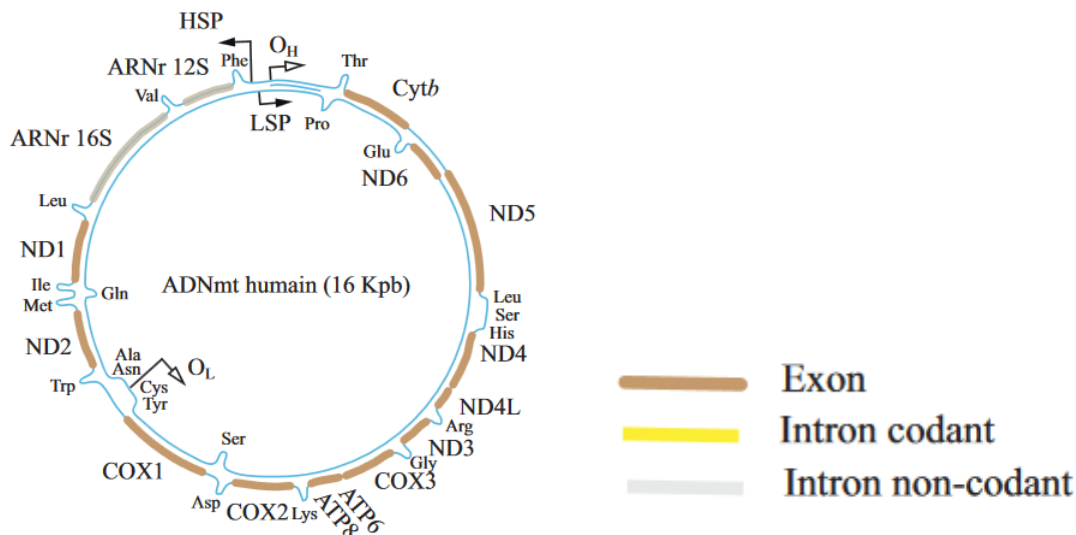


Figure 89:ADN mitochondrial humain (Bietenhader, 2009).

#### VIII.2.2. Expression des gènes mitochondriaux :

Chaque brin d'ADNmt est transcrit en un grand ARN poly-cistronique, à la manière des procaryotes. Ce grand transcrit est ensuite clivé par des ARNase spécifiques, au niveau des ARNt, qui ponctuent les gènes structuraux. Puis les Acides Ribo-Nucléiques messagers (ARNm) sont poly-adenylés. Ces ARN sont ensuite traduits suivant un code génétique propre à la mitochondrie (Tableau IV). L'ensemble de ces étapes est en grande partie assuré par des protéines nucléaires.

La traduction des ARNm est associée à la membrane interne de la mitochondrie. Bien qu'elle débute par une N-formyl-méthionine et est inhibée par le chloramphénicol (traits typiquement bactériens). Une autre particularité de la traduction mitochondriale vient de son ribosome. En effet, le ribosome des mitochondries de mammifères est composé d'une petite sous-unité 28S et d'une grande sous-unité 39S. Il est caractérisé par une composition plus faible en ARNr (seulement 33 % contre 66 % dans le ribosome bactérien) et notamment par la perte de certaines régions structurales composées d'ARN. Il est, cependant, intéressant de noter que l'initiation de la traduction ne repose ni sur une séquence de type Shine-Dalgarno (bactéries), ni sur la coiffe en 5' (eucaryotes)(Bietenhader, 2009).

Tableau IV: : Code génétique mitochondrial des Mammifères vs Code génétique universel (HLBE601– 2015-2016).

**Code génétique mitochondrial des Mammifères**

**Code génétique universel**

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

### VIII.3. Chloroplastes

#### VIII.3.1. Généralités

Une plante verte contient trois types d'organites, le noyau, les mitochondries et les plastes qui répliquent, transcrivent et expriment leur information génétique de manière coordonnée. Les chloroplastes sont des organites cellulaires présents dans le cytoplasme des végétaux qui sont exposés à la lumière. Ils sont le siège de la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique. Ils participent également à la biosynthèse des acides aminés, des nucléotides, des lipides et de l'amidon. Dans les années 70, il a été démontré que ces organites possèdent leur propre génome, ce qui a mené à des études intensives sur la structure et l'expression de l'ADN chloroplastique (ADNcp) [13].

Les chloroplastes possèdent des structures membranaires lamellaires, les thylakoïdes, qui portent des molécules de pigment vert: la chlorophylle. Ces chloroplastes évoluent également selon la présence ou l'absence de lumière dans leur environnement (Figure 90).

Une plante qui pousse à l'obscurité a des feuilles de couleur jaune et ses chloroplastes ne contiennent pas de chlorophylle. En présence de lumière, les chloroplastes évoluent: la synthèse de la chlorophylle démarre, les membranes prennent leur forme lamellaire et les thylakoïdes apparaissent. Cette transformation est réversible en l'absence de lumière.



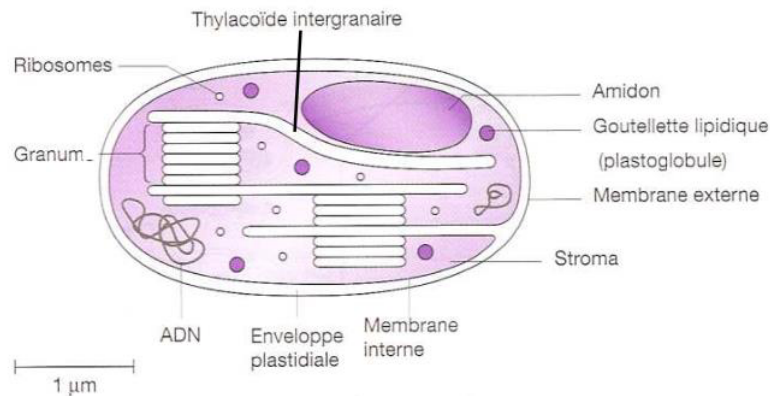


Figure 90: Schéma illustrant la structure du chloroplaste. (D'après Campbell & Reece, 2004 et Breuil, 2007), adapté.

### VIII.3.2. Structure du chloroplaste

Le plaste est en général entouré par deux membranes séparant un espace intermembranaire, le tout mesurant 5 à 10µm et régulant les échanges avec le cytosol. La membrane externe est peu sélective car elle contient des porines au contraire de la membrane interne qui observe une régulation stricte des échanges. Cette double membrane entoure le stroma (lumière du plaste) qui est plus acide que le cytosol. Ce dernier contient les enzymes de fixation du CO<sub>2</sub> pour la synthèse des molécules organiques; on y observe aussi des grains d'amidon qui sont le résultat de cette synthèse. Il contient aussi de l'ADN et des ribosomes. A l'intérieur du stroma des chloroplastes, se trouve un autre réseau membranaire organisé en sacs aplatis, les thylakoïdes. Dans certaines régions du chloroplaste, les thylakoïdes sont empilés comme des jetons de poker et forment des structures appelées grana (granum au singulier). Les thylakoïdes sont le siège de la phase photochimique de la photosynthèse. Elle contient les chlorophylles A et B essentielles à la photolyse de l'eau :  $H_2O \rightarrow O + H^+ + e^-$ . L'O issu de cette réaction est rejeté sous forme d'O<sub>2</sub>. Les thylakoïdes peuvent s'entasser (thylakoïdes granaires) ou rester seuls (intergranaires) [1] (Figure 91).

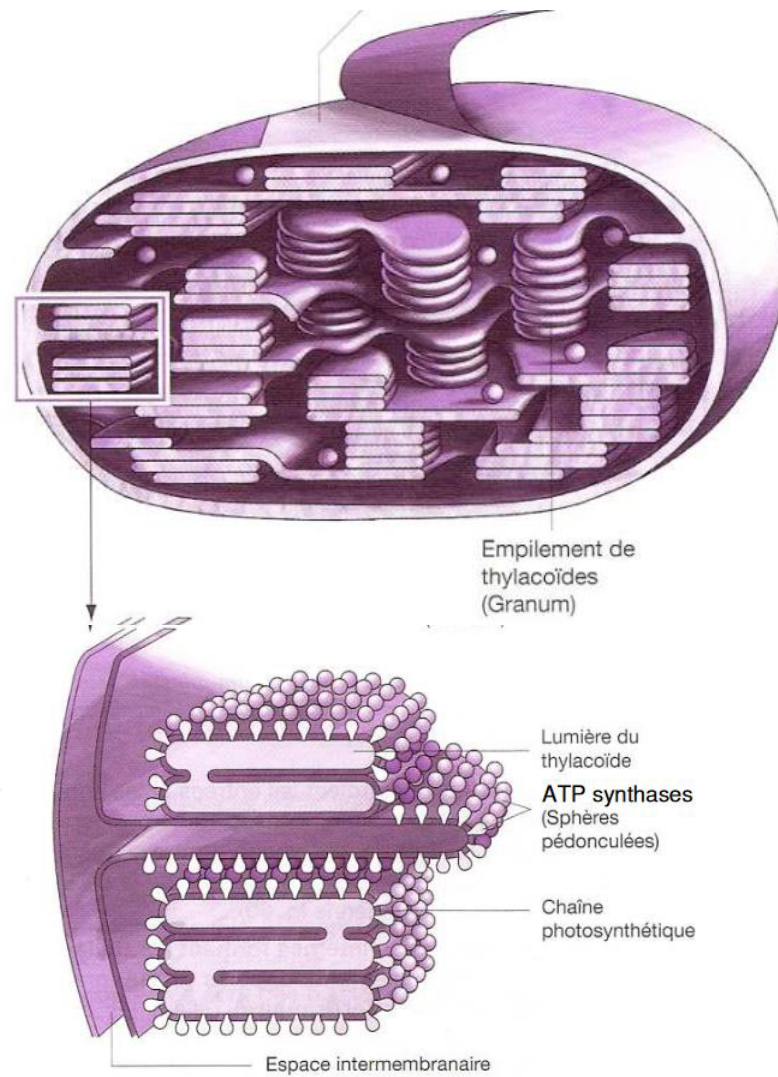


Figure 91: Chloroplaste et thylacoïde. (D'après Campbell & Reece, 2004 et Breuil, 2007), adapté.

### VIII.3.3. Génome chloroplastique

En règle générale, la taille des génomes chloroplastiques varie peu d'une plante à l'autre. La structure et la quantité d'ADN chloroplastique peuvent varier en fonction des tissus et des stades de développement des chloroplastes. Ainsi, L'ADN chloroplastique, d'une longueur de 120-160kb, est circulaire et ne contient pas d'histones et (3 à 5) code pour environ 120 à 130 gènes dont les photosystèmes I et II, l'ARNpol, l'ARN ribosomique et L'ARNt (environ 30). Chez la plupart des organismes, le génome chloroplastique comporte 2 régions répétées et inversées (IR, InvertedRepeat) encadrant une région longue (LSC) et une région courte (SSC). Les séquences IR chloroplastiques portent les gènes pour les ARNr. Le génome chloroplastique en comporte 120 copies. Les introns présents dans les gènes chloroplastiques sont classés en deux familles : les introns du groupe I et ceux du groupe II. Cette classification se fait en fonction de la structure primaire et secondaire de l'intron, mais aussi en fonction du mécanisme d'épissage. Les génomes chloroplastiques des végétaux supérieurs contiennent une vingtaine d'introns du groupe II et un intron du groupe I [<https://www.svt-tanguy-jean.com>].

### VIII.3.4. Expression des gènes chloroplastiques

Les gènes des chloroplastes sont souvent organisés en «cluster», et sont transcrits en pré-ARN polycistroniques qui sont ensuite maturés en ARN plus petits. La transcription dépend de deux ARN polymérase d'origine et de fonctionnement différents, ARN polymérase chloroplastique et ARN polymérase nucléaire. L'expression des gènes chloroplastiques peut aussi nécessiter la fixation de facteurs de transcription, codés par le noyau et adressés à des séquences promotrices spécifiques dans le génome chloroplastique.

Exemple :

La séquence comprise entre -16 et -102 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription du gène *rbcL* (gène qui code la grande sous-unité de la Rubisco) est un site de fixation pour un facteur de transcription chloroplastique (CDF1) codé par le génome nucléaire. Suite à la transcription, différents processus post-transcriptionnels interviennent pour maturer les transcrits. Parmi les étapes de maturation du transcrit primaire, il existe l'édition, l'épissage des introns et la maturation des extrémités 5' et 3'.

## **Chapitre IX**

### **Introduction à la génétique humaine**

#### **IX. 1. Généralités**

La génétique humaine est une branche qui étudie la transmission des caractères héréditaires, chez l'homme, d'une génération à la suivante. Elle vise à déterminer les modes de transmissions et à documenter les variations dans les gènes entre les individus. Une maladie génétique est causée par un ou plusieurs défauts génétiques (mutations) ou encore par une anomalie chromosomique. Il existe plusieurs types de maladies génétiques.

Certaines maladies génétiques, dites maladies chromosomiques, sont causées par des défauts au niveau des chromosomes. Ces défauts peuvent survenir en raison du nombre inexact des chromosomes ou de la structure de ceux-ci. Par exemple, la trisomie 21 est causée par la présence d'un troisième chromosome 21.

D'autres maladies génétiques sont causées par l'interaction de facteurs environnementaux et de facteurs génétiques, il s'agit de maladies multifactorielles. C'est-à-dire qu'un gène à lui seul ne peut pas causer la maladie, cependant il augmente le risque d'un individu à développer la maladie. Si ce gène est combiné avec d'autres facteurs génétiques ou environnementaux, il est possible que la maladie se développe. C'est le cas de plusieurs maladies fréquentes telles que l'asthme, le diabète de type 1 et 2, certains types de cancer, les maladies cardiovasculaires, l'obésité, la schizophrénie, l'Alzheimer et la sclérose en plaques pour en nommer que quelques-uns.

L'homme est particulièrement difficile à étudier du point de vue génétique pour différentes raisons: d'abord, on ne peut pas imposer un accouplement pour étudier la transmission d'un caractère. En vue de la longue durée d'une génération, le nombre de descendants d'une même famille est faible. Afin d'augmenter la significativité des études statistiques, il faut que ces études portent sur plusieurs familles de mêmes caractéristiques. Enfin, l'environnement et ses facteurs sont impossibles à contrôler.

La méthode la plus utilisée pour étudier le mode de transmission d'un caractère héréditaire chez l'homme, est l'arbre généalogique. Ce dernier permet de suivre le caractère envisagé sur plusieurs générations. Les mâles sont symbolisés par des carrés et les femmes par des cercles. Une ligne horizontale entre deux individus représente un croisement. Les

descendants sont reliés au croisement par une ligne verticale. Chaque génération reçoit un numéro d'ordre en chiffre romain et les individus d'une génération reçoivent un numéro en chiffre arabe. On désigne sous le nom de fratrie, l'ensemble des frères et des sœurs dont un membre s'appelle germain quel que soit son sexe (Figure 92).



Figure 92 : Symboles utilisés pour la réalisation d'un arbre généalogique [14].

## IX. 2. Modes de transmission des maladies génétiques

Une maladie génétique résulte du dysfonctionnement d'un ou plusieurs gènes. Quand une maladie résulte du dysfonctionnement d'un seul gène, elle est dite monofactorielle ou monogénique. Cependant, une maladie génétique peut ne pas être héréditaire : par exemple, la plupart des cancers qui résultent de mutations affectant des gènes dans les cellules tumorales, cellules somatiques qui ne participent pas à la reproduction sexuée.

### IX. 2.1. Hérité mendélienne

Le mode de transmission d'une maladie génétique monofactorielle, ou monogénique, suit les lois de Mendel, ce qui explique l'usage du terme "maladie mendélienne", exemple : mucoviscidose, myopathie de Duchenne, phénylcétonurie ...

Les modes de transmission d'une maladie mendélienne se distinguent par des probabilités de risque très caractéristiques. On définit pour les maladies mendéliennes quatre modes de transmission, autosomique ou lié à l'X, selon que le gène impliqué est localisé sur un autosome ou sur le chromosome X ; dominant ou récessif, selon que la maladie est dominante ou récessive. Néanmoins, il existe des cas particuliers ; on dit qu'une maladie mendélienne présente:

- Une pénétrance incomplète quand on peut avoir le génotype à risque sans être atteint de la maladie,
- Une expressivité variable quand, pour un même génotype à risque, la maladie peut prendre différentes formes,
- Une empreinte parentale quand la maladie dépend du fait que la mutation responsable a été transmise par le père ou par la mère.

#### IX. 2.1.1. Maladies autosomiques dominantes :

Une maladie est transmise selon le mode autosomique dominant si le gène en cause est porté par un autosome et si la présence d'un seul allèle muté suffit pour que la maladie se manifeste. Les individus hétérozygotes ( $A/a$ ) pour le gène en cause sont malades. Généralement, les individus homozygotes ( $A/A$ ), s'ils sont viables, sont plus sévèrement atteints par la maladie (Figure 93).

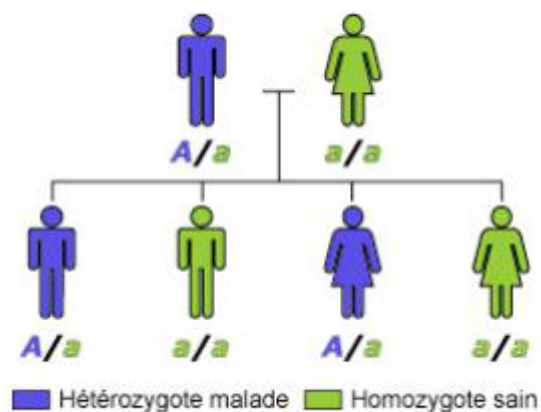


Figure 93: Mode de transmission de la maladie autosomique dominante [14].

Parmi les caractéristiques de la transmission des maladies autosomiques dominantes : il y a autant de filles que de garçons atteints parce que le gène impliqué est sur un autosome qui peut aussi bien se trouver chez un garçon que chez une fille. Une personne malade a un de ses deux parents atteint. Une personne malade a un risque de 50% de "transmettre" la maladie à chacun de ses enfants. Le fait d'avoir un premier enfant sain ne signifie pas que le deuxième enfant sera malade. A chaque grossesse, le risque que l'enfant soit malade est de 50%, parce qu'à chaque fois, l'individu atteint a un risque sur deux de transmettre l'allèle muté ( $A$ ) et une chance sur deux de transmettre l'allèle normal ( $a$ ). •La transmission des maladies autosomiques dominantes s'effectue sans saut de génération (transmission verticale), si la pénétrance est complète (voir particularités). Une personne qui n'a pas l'allèle pathologique ne peut pas "transmettre" la maladie à ses enfants.

IX. 2.1.2. Pénétrance incomplète :

La pénétrance de la maladie est définie par la probabilité d'être atteint par la maladie quand on a le génotype à risque. La pénétrance d'une maladie est complète (égale à 1) quand tous les individus porteurs de l'allèle muté (génotype à risque) sont malades. On parle de pénétrance incomplète ( $< 1$ ) lorsque tous les porteurs du génotype à risque ne sont pas malades. La pénétrance peut être incomplète si la maladie dépend de l'environnement, de l'expression d'un autre gène, ou d'une expression inégale des deux copies du gène. Les syndromes de prédisposition au cancer présentent fréquemment une pénétrance incomplète.

Dans certaines maladies, la pénétrance incomplète est due à l'expression tardive de la maladie. L'âge d'apparition des premiers symptômes est variable d'un malade à l'autre, et parfois des personnes décèdent avant d'avoir eu des manifestations cliniques. Dans une maladie à pénétrance incomplète, il peut y avoir des sauts de génération. Ainsi, la transmission peut ressembler à une transmission autosomique récessive dans certaines familles.

Exemple : Rétinoblastome

Plusieurs membres de la famille ci-dessous ont développé un rétinoblastome (tumeur embryonnaire de la rétine). Il s'agit d'une maladie autosomique dominante dont la pénétrance est de 90% (Figure 94).

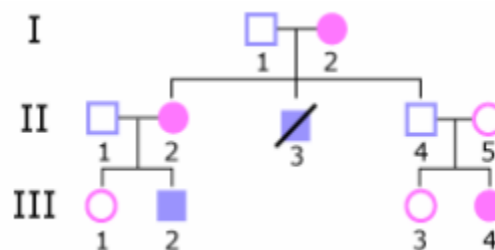


Figure 94: Mode de transmission de la maladie à pénétrance incomplète [14].

IX.2.1.3. Expressivité variable :

Dans une même famille, des personnes ayant hérité de la même mutation peuvent parfois présenter des symptômes cliniques différents, touchant éventuellement des organes ou des tissus différents. On dit alors que la maladie a une expressivité variable. Ce phénomène est surtout observable dans les maladies dominantes. La pénétrance incomplète est une des formes possibles de l'expressivité variable, correspondant à un génotype à risque où la maladie serait sans signes cliniques observables.

Exemple Neurofibromatose :

La neurofibromatose est une maladie dont les signes cliniques sont de nature et de gravité variables. Presque tous les patients présentent des taches cutanées café au lait. Associées à ces taches, les patients présentent selon les cas des tumeurs de la peau bénignes (nodules de Lisch), des tumeurs des nerfs (neurofibromes, gliome du nerf optique) et des malformations du squelette (Figure 95).

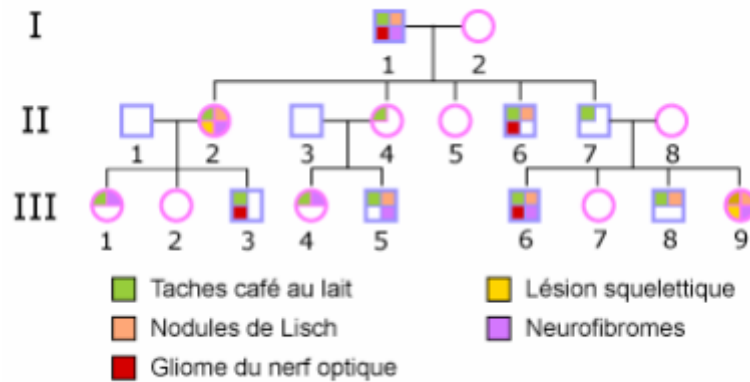


Figure 95: Mode de transmission de la neurofibromatose [14].

### IX.2.1.3. Maladies autosomiques récessives

Une maladie est transmise selon le mode autosomique récessif si le gène en cause est porté par un autosome et si la présence de deux allèles mutés du gène est nécessaire pour que la maladie se manifeste. Les malades sont homozygotes pour le gène en cause (Figure 96).

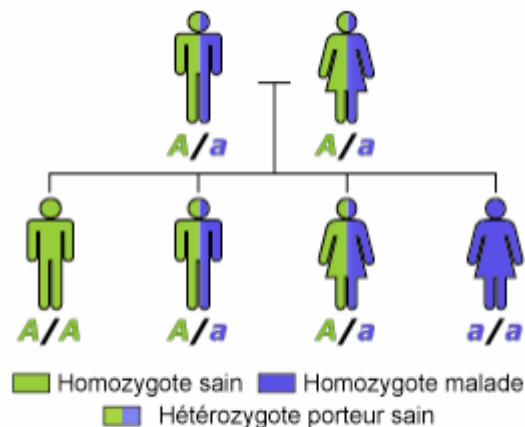


Figure 96: Mode de transmission de la maladie récessive autosomique [14].

Dans l'arbre généalogique de la famille porteuse d'une maladie à transmission autosomique récessive, il y a autant de filles que de garçons atteints parce que le gène impliqué est sur un autosome. Il n'y a pas de personnes malades à toutes les générations, car la plupart du temps, les sujets atteints naissent de parents hétérozygotes, porteurs sains (A/a). Un



couple à risque est formé par deux conjoints porteurs sains hétérozygotes (A/a). Il a, à chaque grossesse :

- Un risque de 25% d'avoir un enfant atteint (homozygote a/a).
- Une probabilité de 50% d'avoir un enfant porteur sain (hétérozygote A/a) qui peut avoir un enfant atteint si, et seulement si, son conjoint est lui-même porteur sain (avec un risque de 1/4).
- Une probabilité de 25% de donner naissance à un enfant sain (homozygote A/A) qui ne peut pas avoir d'enfant atteint.

Un sujet malade qui se marie à un sujet normal donne habituellement naissance à des enfants normaux car les porteurs sains (A/a) sont beaucoup plus rares que les individus sains homozygotes (A/A).

Exemple de la Mucoviscidose :

Dans la famille ci-dessous, III-7 et III-8 sont atteints de mucoviscidose. Ils sont porteurs de deux allèles pathologiques, et leurs parents II-5 et II-6 sont hétérozygotes porteurs sains.

Aucun des parents d'un malade n'est atteint par la maladie. Il n'y a pas de personnes malades à toutes les générations. Les hommes et les femmes sont également atteints. (Figure 97).

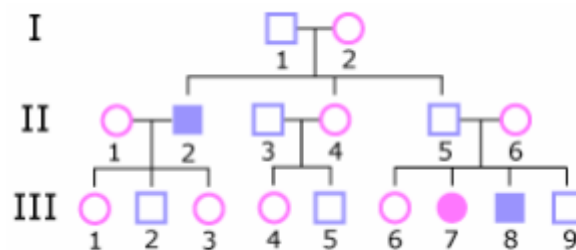


Figure 97: Mode de transmission de la Mucoviscidose [14].

#### IX.1.4. Maladies récessives liées à l’X

Les individus de sexe masculin n'ont qu'un seul chromosome X: ils sont hémizygotés et ne possèdent qu'un seul exemplaire des gènes du chromosome X. Par contre, les femmes possèdent deux chromosomes X. La question de la dominance ou de la récessivité ne se pose pas chez les individus de sexe masculin :

- Soit le gène est muté : ils sont atteints,
- Soit le gène est normal : ils sont sains.

La question de la dominance ou de la récessivité ne se pose que chez les individus de sexe féminin:

Si la maladie survient quand un seul gène est muté, elle est dominante,

Si la maladie survient seulement quand les deux exemplaires sont mutés, elle est récessive.

Dans la transmission de la maladie liées à l’X les deux sexes peuvent être touchés par la maladie. Mais en général, les filles hétérozygotes sont moins sévèrement malades que les garçons hémizyotes. Il y a plus de femmes atteintes que d'hommes. La transmission est verticale (si la maladie est compatible avec la fécondité, il y a des malades à toutes les générations). Elle diffère de l'hérédité autosomique dominante car il n'y a jamais de transmission père-fils. Comme pour l'hérédité autosomique dominante, la pénétrance peut être incomplète et l'expressivité peut être variable.

#### IX.1.4.1. Maladies dominantes liées à l’X

Exemple du Rachitisme vitamino-dépendant :

Dans la famille suivante, plusieurs personnes sont atteintes de rachitisme vitamino-résistant, une maladie qui se traduit par un déficit en phosphate à l'origine de fragilités osseuses (Figure 98).

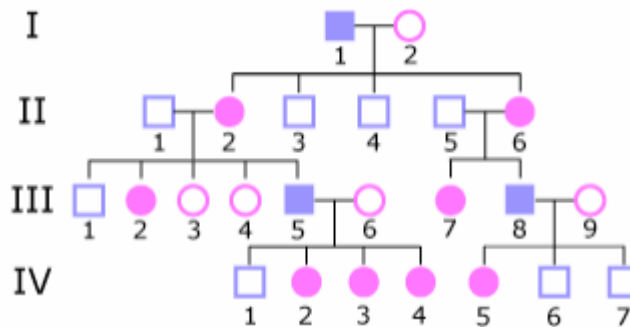


Figure 98: Mode de transmission du Rachitisme vitamino-dépendant [14].

On constate que toutes les filles d'un homme atteint sont atteintes, mais qu'il n'y a pas de transmission père-fils. Par contre, tous les enfants d'une femme atteinte ne sont pas malades. Il y a plus de femmes atteintes que d'hommes atteints.

#### IX.2.1.4. Maladies récessives liées à l’X

Exemple de l’Hémophilie

Quatre membres de la famille suivante sont atteints d'hémophilie, une maladie caractérisée par une absence de coagulation sanguine due à la mutation d'un gène codant pour un facteur de coagulation (Figure 99).

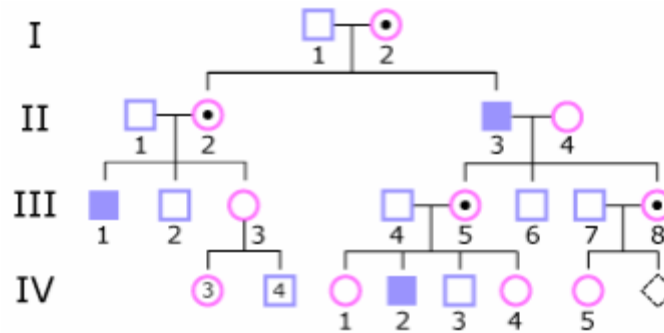


Figure 99: Mode de transmission de l'Hémophilie [14].

Dans cette famille, on constate que seuls les hommes sont atteints. Il n'y a aucune transmission père-fils. Toutes les filles d'un homme malade sont conductrices. La moitié environ des fils d'une femme conductrice sont malades. Toutes les filles d'une femme conductrice ne sont pas conductrices.

#### IX.2.1.3. Hérité mitochondriale :

Les cellules possèdent, outre le génome nucléaire, un deuxième système génétique constitué par les génomes mitochondriaux. Les mitochondries sont des petits compartiments cellulaires où la consommation d'oxygène permet à la cellule de trouver sa source d'énergie. Chaque cellule renferme, dans son cytoplasme, plusieurs dizaines ou centaines de mitochondries qui se divisent indépendamment du noyau et sont réparties au hasard lors des divisions cellulaires. Lors de la fécondation, le spermatozoïde apporte un noyau d'origine paternelle qui va fusionner avec le noyau de l'ovule, d'origine maternelle, mais le cytoplasme de l'oeuf ainsi réalisé est exclusivement d'origine maternelle. Par conséquent les maladies mitochondriales sont des maladies à transmission maternelle exclusive (mode de transmission non mendélien).

Les gènes localisés dans la mitochondrie sont peu nombreux, mais les mutations de ces gènes sont fréquentes. La transmission des maladies dues à un gène mitochondrial obéit donc à un schéma particulier (Figure 100):

Les maladies d'origine mitochondriale touchent les hommes et les femmes de façon comparable.

- Une personne malade a sa mère malade.
- Les femmes malades transmettent la maladie à tous leurs enfants quel que soit leur sexe.
- Les hommes malades ne transmettent la maladie à aucun de leurs enfants.

- La maladie peut présenter des formes modérées ou graves.

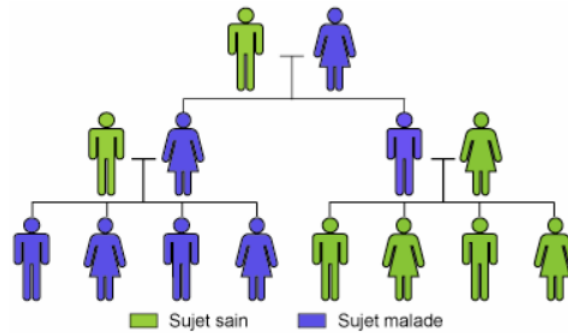


Figure 100: Mode de transmission des maladies mitochondriales [14].

#### Exemple de l'Atrophie optique de Leber

Dans la famille suivante, plusieurs personnes sont atteintes de l'atrophie optique de Leber, une maladie qui touche le nerf optique (Figure 101).

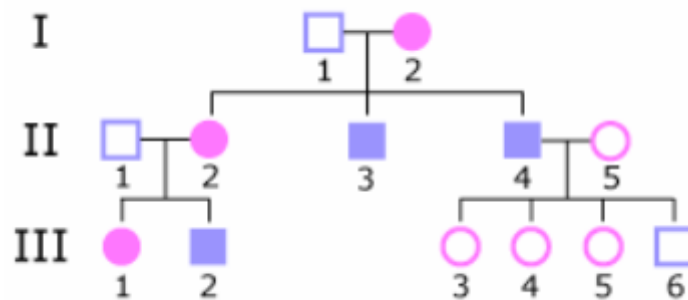


Figure 101: Mode de transmission de l'Atrophie optique de Leber [14].

#### IX.3. Hérité multifactorielle :

Une maladie multifactorielle n'est pas mendélienne parce qu'elle dépend à la fois de plusieurs gènes simultanément et de facteurs de l'environnement. Sa transmission ne présente donc pas les probabilités de risque observables chez les maladies mendéliennes. De plus, contrairement aux maladies mendéliennes où il y a dysfonctionnement d'un gène, il n'y a pas, à proprement parler de dysfonctionnement des gènes impliqués dans une maladie multifactorielle (il n'y a pas de mutation délétère ou pathologique). Dans une maladie multifactorielle, c'est la combinaison particulière d'allèles « normaux » de certains gènes qui est pathologique (comme peut être pathologique l'association de plusieurs médicaments, sans danger pris isolément).

IX.4. Utilité de la cartographie

La cartographie permet de positionner des gènes sur les chromosomes. A l'issue de mutagenèse, cette méthode permet d'analyser le contenu en mutation(s) des souches obtenues (en effet, à l'issue de la mutagenèse, il n'est pas rare qu'un mutant contiennent plusieurs mutations). Elle permet aussi de ranger les différentes mutations dans des locus (ou loci) sur les chromosomes et donc d'estimer le nombre de ces locus et par extension donc le nombre de gènes. Contrairement à la complémentation, cette méthode fonctionne avec les allèles récessifs ou dominants. Toutefois, elle a aussi ses limites en particulier, elle ne permet pas de différencier si des mutations proches sont effectivement dans un même gène ou deux gènes proches. De même, deux mutations situées aux deux extrémités d'un grand gène peuvent recombinier. Cette méthode doit donc s'utiliser si possible en association avec un test de complémentation et l'interprétation des deux tests simultanément permet généralement de conclure avec grande certitude sur le nombre de gènes et leurs positions dans le génome (Figure 102).

**La cartographie des marqueurs moléculaires**

Exemple de carte génétique de marqueurs RFLP chez la pomme de terre diploïde

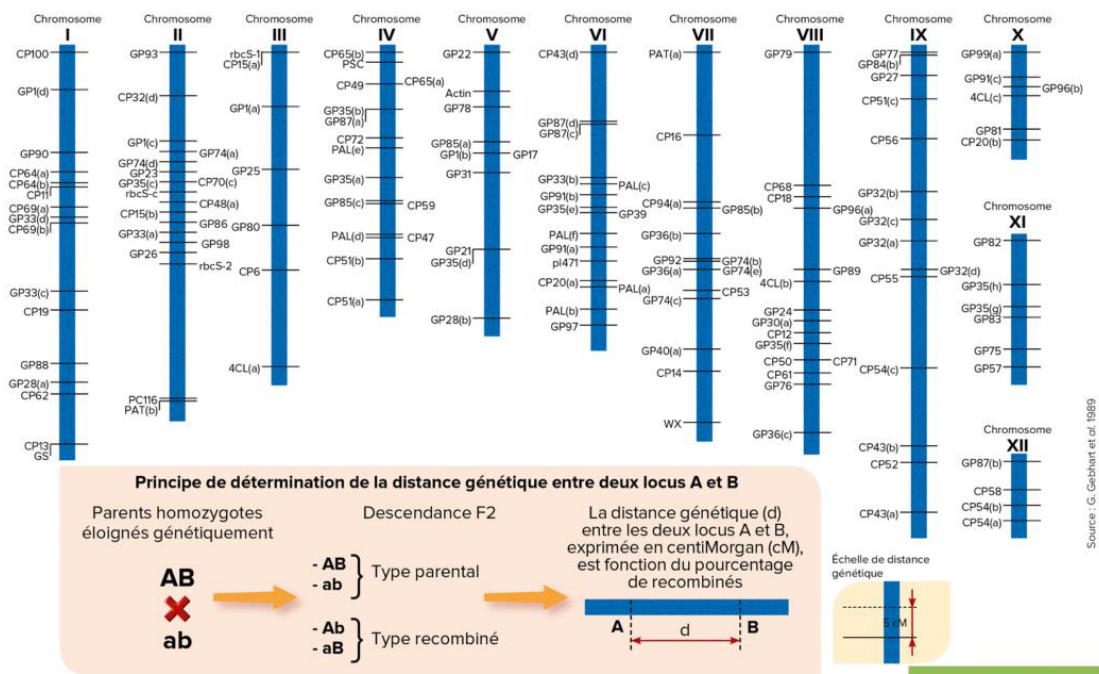


Figure 102: Carte génétique [15].

#### IX.4.1. Cartes génétiques

La carte génétique est l'ordonnement de marqueurs grâce à l'analyse statistique de leur ségrégation au cours des générations. Ces marqueurs doivent donc être polymorphes (présenter différents allèles identifiables) et peuvent être localisés dans un exon ou dans un intron. Les distances se mesurent en centimorgans (cM).

##### IX.4.1.1. Centimorgan (cM)

Utilisé pour la 1ère fois par Morgan et Sturtevant en 1913. Le centimorgan correspond à l'unité de mesure de la distance sur la carte génétique. Lors de la méiose, des marqueurs situés sur un même chromosome peuvent être séparés s'il se produit un crossing-over dans la région qui les sépare. La probabilité qu'un tel événement se produise est proportionnelle à la distance qui sépare ces marqueurs. La fréquence de recombinaison reflète donc des distances entre marqueurs et l'unité de distance est le centiMorgan (cM): 1 cM est égal à 1% de crossing-over (1 crossing-over pour 100 méioses).

##### IX.4.1.2. Intérêt d'établissement d'une carte génétique:

L'établissement d'une carte génétique permet :

- D'établir des ponts d'ancrage pour la carte physique.
- D'identifier la région et le gène responsables d'une maladie monogénique donnée (par clonage positionnel). La densité des marqueurs sur la carte peut également permettre de localiser les régions impliquées dans les maladies multifactorielles.

#### IX.4.2. Cartographie physique

La carte physique est l'ordonnement de fragments clonés chevauchants reconstituant la molécule d'ADN de départ. C'est à partir de cette carte que sera choisi l'ensemble minimal de fragments assurant la couverture complète du génome à séquencer. Les distances, mesurées en paires de bases (pb), entre les différents marqueurs sont dites absolues. L'établissement d'une carte physique utilise les données des cartes de liaison et des informations de recouvrement partiel entre les fragments clonés permettant de définir des groupes de chevauchements.

L'objet de la cartographie physique est de localiser les gènes sur les chromosomes. Pour cela, des techniques d'hybridations in situ ou d'analyses de lignées cellulaires hybrides peuvent être utilisées. Ces méthodes permettent d'assigner à leur chromosome, des gènes

placés sur la carte génétique. Beaucoup de gènes peuvent être localisés physiquement alors qu'ils ne le sont pas génétiquement. Ceci car les méthodes d'hybridation ne se limitent pas aux gènes polymorphes comme c'est le cas pour les méthodes de cartographie génétique par croisement. Notons que l'ordre est toujours le même sur une carte génétique et une carte physique. Seules les distances relatives changent.

#### IX.5. Pathologies moléculaires

Avant que les outils de génie génétique aient permis d'accéder à l'analyse de l'ADN des eucaryotes, l'essentiel des efforts avait porté sur la recherche de facteurs éthologiques. Celles-ci c'était concentré sur trois modèles distincts : le modèle viral, le modèle mutagène physico-chimique et le modèle des cancers héréditaire.

- De nombreux virus étaient utilisés pour induire des cancers chez certains animaux mais aussi chez l'humain, exemple le virus d'Epstein-Barr.
- De nombreux agents mutagènes physique (radiations ionisantes) et chimiques (dérivés d'hydrocarbures aromatiques) étaient couramment utilisés pour induire des cancers expérimentaux.
- Enfin, en pathologie humaine, outre les cancers produits par les radiations, l'attention avait été attirée sur les rares cas de cancers héréditaires (polypose colique familiale, néoplasies endocriniennes multiples, tumeur de Wilms), ainsi que sur une maladie génétique, le Xerodermapigmentosum, caractérisée par le développement de cancer cutané produit par le simple effet des rayons ultraviolets de la lumière solaire. Ces observations attiraient bien entendu l'attention vers l'ADN, mais les outils manquaient pour apporter la preuve de son implication et en montrer les modalités (Kaplan & Delpech, 1993).

## Références bibliographiques

### A

ALBERTS B., JOHNSON A.; LEWIS J.; RAFF M.; ROBERTS K., WALTER P.. Moléculaire biology of the cell, New York Garland publishing, 1983.

ALBERTS, B., A. JOHNSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS & P. WALTER (2004). Biologie moléculaire de la cellule. Quatrième édition. Traduction de la quatrième édition américaine (2002) par F. LE SUEUR-ALMOSNI. Flammarion, Paris. Première édition américaine 1983 (1986 1e édition française).

### B

BERGINK S, TOUSSAINT W, LUIJSTERBURG MS, DINANT C, ALEKSEEV S, HOEIJMAKERS JH, DANTUMA NP, HOUTSMULLER AB, VERMEULEN W, 2012. La reconnaissance des dommages à l'ADN par XPC coïncide avec la perturbation du complexe XPC-RAD23.

BERNARD, J.-J., J. BESSON, S. FUMAT, H. LE GUYADER & B. MARTY (1992). Génétique. 1. Les premières bases. Hachette, Paris.

BERTHET, J. (2006). Dictionnaire de Biologie. De Boeck Université, Bruxelles (Belgique).

BICKMORE W.A., SUMNER A.T., 1989. Mammalian chromosome banding - an expression of genome organisation. Trends in Genetics, 5, 144-148.

- BIETENHADER M. (2009). Relocalisation nucléaire du gène mitochondrial Atp9 chez la levure *saccharomyces cerevisiae*. Thèse de Doctorat. Université Bordeaux 2. <https://www.theses.fr/2009BOR21691>.

BOUJARD, D. (dir). B. ANSELME, C. CULLIN & RAGUÉNÈS-NICOL C (2015). Biologie cellulaire et moléculaire. Tout le cours en fiches. Licence. PACES. CAPES. 2e édition (1e édition 2012), Dunod, Paris.

BOUVET M., FERRON F., IMBERT I., GLUAIS L., SELISKO B., COUTARD B., CANARD B., DECROLY E.. Stratégies de formation de la structure coiffée chez les virus à ARN. m/s n° 4, vol. 28, avril 2012 DOI : 10.1051/medsci/2012284021. médecine/sciences 2012 ; 28 : 423-9

BREUIL, M. (2007). Biologie 1re année BCPST-véto. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

BREUIL, M. (2009). Biologie 2e année BCPST-véto. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

BROWN T. A. (2010). Gene cloning and DNA analysis : an introduction. 6<sup>th</sup> Ed, *Wiley-Blackwell*. University of Manchester, London, 376p



**C**

CALDECOTT KW, AOUFOUCHI S, JOHNSON P, SHALL S. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase  $\beta$  and possibly (ADP-ribose) polymerase, and DNA ligase III is a novel molecular « nick sensor » in vitro. *NucleicAcidsRes* 1996 ; 24 : 4387-94.

CALLEN, J.-C. (2005). *Biologie cellulaire. Des molécules aux organismes*. Dunod, Paris, 2e édition (1e édition 1999).

CAMPBELL, N. A. & J. B. REECE (2004). *Biologie*. De Boeck Université, Bruxelles, 2e édition (1e édition 1995).

CAMPBELL, N. A. & J. B. REECE (2004). *Biologie*. De Boeck Université, Bruxelles, 2e édition (1e édition 1995).

CAMPBELL, N. A., J. B. REECE, L. A. URY, M. L. CAIN, S. A. WASSERAMN, P. V. MINORSKY, R. B. JACKSON (2012). *Campbell Biologie. Adaptation française* J. FAUCHER & R. LACHAÎNE. Pearson, Paris (4e edition).

- CUMMINGS D.J., MCNALLY K. L., DOMENICO J., MATSUURA E. T.(1990). La séquence complète d'ADN du génome mitochondrial de *Podosporaanserina*. *Génétique actuelle*17(5):375-402. 10.1007/BF00334517.

• **D**

DANTZER FRANÇOISE & DE MURCIA GILBERT. Quelles sont les ADN polymérase requises pour la réplication et la réparation de l'ADN chez les eucaryotes ? *médecine/sciences* 1998 ; 14 : 704-12.

DAUTEL, O. (dir.), A. PROUST, M. ALGRAIN, C. BORDI, A. HELME-GUIZON, F. SAINTPIERRE, M. VABRE & C. BOGGIO (2017). *Biologie Géologie BCPST 1re année*. Vuibert, Paris.

TAGU D, JAUBERT-POSSAMAI S, MEREAU A, COORD. 2018. *Principe des techniques de biologie moléculaire et génomique*, 3ème édition, Quae, France, page 47.

DENŒUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2013). *Biologie-Géologie BCPST-véto 1e année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

DENŒUD, J., C. GODINOT, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON, M.-L. PONS & F. TEJEDOR (2014). *Biologie-Géologie BCPST-véto 2e année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

DENŒUD, J., T. FERROIR, O. GUIPPONI, H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON, M.-L. PONS & F. TEJEDOR (2011). *Biologie-Géologie BCPST-véto 2e année*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

**E**

EBERL D.F., DUYF B.J., HILLIKER A.J., 1993. The role of heterochromatin in the expression of a heterochromatic gene, the rolled locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 134, 277-292.

ELROD, S. & W. STANSFIELD (2003). Génétique. « Schaum's », ÉdiScience (Dunod), Paris, 4e édition.

**F**

FRIEDBERG EC, WOOD RD. DNA excision repair pathways. In : De Pamphilis ML, ed. DNA replication in eukaryotic cells. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996 : 249-69.

**G**

GARDINER K., 1995. Human genome organization. *Current Opinion in Genetics and Development*, 5, 315-322.

GARDINER K., 1996. Base composition and gene distribution: critical patterns in mammalian genome organization. *Trends in Genetics*, 12, 519-523.

GARG P. AND BURGERS P. M. J. DNA Polymerases that Propagate the Eukaryotic DNA Replication Fork. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 40:115–128, 2005.

GILBERT, S. F. (coll. S. R. SINGER) (2004). Biologie du développement. Traduction de la 7e édition américaine par S. Rolin & É. Brachet (2003). De Boeck, Bruxelles, 2e édition (1e édition 1996).

GILLET LC, SCHÄRER OD (2006). Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chem Rev* 106: 253–276

GODINOT, C., H. MOREAU, M. PAULHIAC-PISON & F. TEJEDOR (2010). Biologie-Géologie 1re année BCPST-véto. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

GREENWOOD GENETIC CENTER. LA 7E EDITION DES AIDES AU CONSEIL GENETIQUE (2020)

GRIFFITHS, F., (1928). The Significance of Pneumococcal Types. *J Hyg (Lond)* 27, 113–159.

GRIFFITHS A.J.F, GELBART WM, MILLER J. H. ET X LEWONTIN R. C.. Analyse génétique moderne. 1ere édition, De Boeck Université s. a., 2001.

## **H**

HARRY, M. (2008). Génétique moléculaire et évolutive. Maloine, Paris, 2e édition (1e édition 2001)

HARTL, D. L. & E. W. JONES (2003). Génétique. Les grands principes. Traduction E. DEQUIER, S. DUHARCOURT, D. JUTIER, A. LE ROUZIC, G. PAHLAVAN & N. SERRANO. Dunod, Paris, 3e édition.

HASSAN M.A., ALNABAWY A. AND ABDELMALIK PESSAR S.. Diagnostic value of conventional cytogenetic analysis in selected children with attention-deficit hyperactivity disorder.international journal of advanced research.(2016) Int. J. Adv. Res. 5(1), 639-646. Article DOI: 10.21474/IJAR01/2792 DOI URL: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/2792>

HAYES H. 1 - Notions de base de génétique ADN et génétique. INRA Prod. Anim., numérohors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 2000, 13-20

HLBE601– 2015-2016. Chap7 Hérité extra-nucléaire. Faculté des sciences mont pellier. Departementbiologieecologie.

HOEIJMAKERS, J.H.J., (2001). Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nature 411, 366374. doi:10.1038/35077232.

## **I**

IRWIN DAVIDSON, IGOR MARTIANOV, STEPHANE VIVILLE. TBP, un facteur de transcription universel ? MEDECINE/SCIENCES 2004 ; 20 : 575-9.

## **J**

JOËLLE BRODEUR, MARTIN TOUSSAINT. 2007. Biologie moléculaire concepts. Technique. Application. CCDMD, Canada, Chapitre: 6.

JONSSON ZO, HÜBSCHER U. Proliferating cell nuclear antigen : more than a clamp for DNA polymerases. BioEssays 1997 ; 19 : 967-75.

## **K**

KAPLAN J.C. ET DELPECH M. biologie moléculaire et medecine. 2eme édition. Médecine Sciences Flammarion. 1993.

KLEIMAN, C. (2001). La reproduction des Angiospermes. Belin, Paris.

## **L**

LAFON, C. (2003). La biologie autrement. 100 questions de synthèse. Ellipses, Paris.

LATRUFFE, N. (dir.), F. BLEICHER-BARDETTI, B. DUCLOS & J. VAMECQ (2014). Biochimie. Tout le cours en fiches. Licence. PACES-UE1. CAPES. Dunod, Paris.

- LEBRETON.A. ( May 2006) Dynamique des facteurs pré-ribosomiques au cours de la biogenèse de la grande sous-unité ribosomique chez *S. cerevisiae*.Thèse de Doctorat. Unité de Génétique des Interactions Macromoléculaires – URA CNRS 2171 Institut Pasteur. <https://theses.hal.science/tel-00100381>.

LIZEAUX, C., D. BAUDE (dir.), V. AUDEBERT, C. BRUNET, G. GUTJAHR, Y. JUSSERAND, A. MATHEVET, P. PILLOT, S. RABOUIN & A. VAREILLE, 2008. SVT Sciences de la Vie et de la Terre Terminale S. Enseignement obligatoire. Bordas, Paris.

LUCHETTA, P. (2009). Biologie moléculaire en 30 fiches. Dunod, Paris.

LUNARDI J. Chapitre 7 : Régulation de l'expression du message génétique. UE1 : Biochimie - Biologie moléculaire. Année universitaire 2010/2011 Université Joseph Fourier de Grenoble [[www.medatice-grenoble.fr](http://www.medatice-grenoble.fr)].

## **M**

MAFTAH, A., J.-M. PETIT & R. JULIEN (2007). Mini-manuel de Biologie moléculaire. Dunod, Paris.

BIETENHADER M. Relocalisation nucléaire du gène mitochondrial *atp9* chez la levure *saccharomyces cerevisiae*. Thèsedoctorat n°1691. Le 22 decembre 2009. Université bordeaux 2. P20-p24.

MALESZKA R., SKELLY P.J. AND CLARK-WALKER G.D. Rolling circle replication of DNA in yeast mitochondria. The EMBO Journal vol.10 no.12 pp.3923-3929, 1991

MASSON M, NIEDERGANG C, SCHREIBER V, MÉNISSIER-DE MURCIA J, DE MURCIA G. XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. Mol Cell Biol 1998 (sous presse).

MEYER, S., C. REEB & R. BOSDEVEIX (2008). Botanique. Biologie et physiologie végétales. Maloine, Paris, 2e édition (1e édition 2004).

MEYER, S., C. REEB & R. BOSDEVEIX (2008). Botanique. Biologie et physiologie végétales. Maloine, Paris, 2e édition (1e édition 2004).

MORÈRE, J.-L., R. PUJOL (coord.), J.-C. CALLEN, L. CHESNOY, J.-P. DUPONT, A.-M. GIBERT-TANGAPREGASSOM, G. RICOU, N. TOUZET (dir.) et collaborateurs (2003). Dictionnaire raisonné de Biologie. Frison-Roche, Paris.

MORÈRE, J.-L., R. PUJOL (coord.), J.-C. CALLEN, L. CHESNOY, J.-P. DUPONT, A.-M. GIBERT-TANGAPREGASSOM, G. RICOU, N. TOUZET (dir.) et collaborateurs (2003). Dictionnaire raisonné de Biologie. Frison-Roche, Paris.

MORÈRE, J.-L., R. PUJOL (coord.), J.-C. CALLEN, L. CHESNOY, J.-P. DUPONT, A.-M. GIBERT-TANGAPREGASSOM, G. RICOU, N. TOUZET (dir.) et collaborateurs (2003). Dictionnaire raisonné de Biologie. Frison-Roche, Paris.

## **P**

PETIT, J.-M. & R. JULIEN (2007). Mini-manuel de Génétique. Dunod, Paris.

PEYCRU, P. (dir.), J.-C. BAEHR, F. CARIOU, D. GRANDPERRIN, C. PERRIER, J.-F. FOGELGESANG & J.-M. DUPIN (2010b). Biologie tout-en-un BCPST 2e année. Dunod, Paris, 2e édition (1e édition 2007).

PEYCRU, P. (dir.), J.-F. FOGELGESANG, D. GRANDPERRIN, B. AUGÈRE, J.-C. BAEHR, C. PERRIER, J.-M. DUPIN & C. VAN DER REST (2010a). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 2e édition (2009), réimpression corrigée (2010) (1e édition 2006).

PEYCRU, P. (dir.), J.-F. FOGELGESANG, D. GRANDPERRIN, B. AUGÈRE, J.-C. BAEHR, C. PERRIER, J.-M. DUPIN & C. VAN DER REST (2010a). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 2e édition (2009), réimpression corrigée (2010) (1e édition 2006).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, J.-F. BEAUX, F. CARIOU, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, S. MAURY, É. QUÉINNEC, E. SALGUEIRO & C. VAN DER REST (2014). Biologie tout-en-un BCPST 2e année. Dunod, Paris, 3e édition (1e édition 2007).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, J.-F. BEAUX, F. CARIOU, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, S. MAURY, É. QUÉINNEC, E. SALGUEIRO & C. VAN DER REST (2014). Biologie tout-en-un BCPST 2e année. Dunod, Paris, 3e édition (1e édition 2007).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, J.-F. BEAUX, F. CARIOU, P. CARRÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, S. MAURY, É. QUÉINNEC, E. SALGUEIRO & C. VAN DER REST (2018). Biologie tout-en-un BCPST 2e année. Dunod, Paris, 3e édition (1e édition 2007).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2013). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 3e édition (1<sup>e</sup> édition 2006).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2013). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 3e édition (1<sup>e</sup> édition 2006).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2013). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 3e édition (1<sup>e</sup> édition 2006).

PEYCRU, P., D. GRANDPERRIN, C. PERRIER (dir.), B. AUGÈRE, T. DARRIBÈRE, J.-M. DUPIN, C. ESCUYER, J.-F. FOGELGESANG, & C. VAN DER REST (2017). Biologie tout-en-un BCPST 1re année. Dunod, Paris, 4e édition (1<sup>e</sup> édition 2006).

POULIZAC, J.-A. (1999). La variabilité génétique. Ellipses, Paris.

PRAY, L. (2008). DNA replication and causes of mutation. Nature Education, 1 (1) : 214.

PRESCOTT D.M. La cellule. Medecine-Sciences. Flammarion. octobre 1989.

## **R**

RAVEN, P. H., G. B. JOHNSON, J. B. LOSOS, S. S. SINGER (2007). Biologie. De Boeck, Bruxelles. RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2012). Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas. Dunod, Paris, 2e édition (1e édition 2010).

RAVEN, P. H., G. B. JOHNSON, J. B. LOSOS, S. S. SINGER (2007). Biologie. De Boeck, Bruxelles.

RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2015). Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas. Dunod, Paris, 3e édition (1e édition 2010).

RICHARD, D. (dir.), P. CHEVALET, S. FOURNEL, N. GIRAUD, F. GROS, P. LAURENTI, F. PRADÈRE & T. SOUBAYA (2012). Biologie. Tout le cours en fiches. Licence. CAPES. Prépas. Dunod, Paris, 2e édition (1e édition 2010).

**S**

SAINTPIERRE, F., C. BORDI (dir.), M. ALGRAIN, Y. KRAUSS, I. MOLLIÈRE & H. CLAUCE (2017). *Mémento Biologie BCPST 1re et 2e années*. Vuibert, Paris.

SALAS M, MILLER JT, LEIS J, DE PAMPHILIS ML. Mechanisms for priming DNA synthesis. In : De Pamphilis ML, ed. *DNA replication in eukaryotic cells*. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996 : 131-76.

SCHAEFFER L, EGLY J. BTF2/TFIIH, un facteur de transcription et réparation impliqué dans des maladies de la réparation de l'ADN. *Med Sci* 1994 ; 10 : 973-8.

SEEBERG E, EIDE L, BJORAS M. The base excision repair pathway. *Trends BiochemSci* 1995 ; 20 : 391-7.

SEGARRA, J. (dir.), É. CHAUVET, C. COLSON-PROCH, M. HUILLE, M. LABROUSSE, F. LOUET, F. METZ & E. PIÈTRE (2014). *Biologie BCPST 1re année*. Ellipses, Paris.

SEGARRA, J., E. PIÈTRE (dir.), G. BAILLY, O. CHASSAING, D. FAVRE, T. JEAN, F. METZ & C. MEUNIER (2015). *Biologie BCPST 2e année*. Ellipses, Paris.

SERRE, J.-L. (2006a). *Génétique*. Dunod, Paris, 3e édition (1e édition 2001). SERRE, J.-L. (2006b). *Génétique des populations*. Dunod, Paris.

SINCLAIR J H. & STEVENS D. B. J. (1996). Circular DNA filaments from mouse mitochondria. *Actes de l'Académie nationale des sciences* : 56 (2) 508-514. <https://doi.org/10.1073/pnas.56.2.508>

SOLIGNAC, M., G. PERIQUET, D. ANXOLABÈHÈRE & C. PETIT (1995a). *Génétique et évolution. Tome I. La variation, les gènes dans les populations*. Hermann, Paris.

STRACHAN Tom, READ Andrew. *Génétique moléculaire humaine*. Médecine Sciences publication. 2012.

**V**

VIGNAIS, P. (2001). *La Biologie des origines à nos jours. Une Histoire des idées et des hommes*. « Grenoble Sciences », EDP Sciences, Les Ulis.

VIGNAIS, P. (2006). *Science expérimentale et connaissance du Vivant. La Méthode et les concepts*. « Grenoble Sciences », EDP Sciences, Les Ulis.

**W**

WATSON J.D. & CRICK F.H. . Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge. Article soumis le 2 avril 1953 ; publié le 25 avril 1953 (Nature 171, page 737).

WATSON, J.D., BAKER T., BELL S., GANNA., LEVINEM., LOSICKR. Molecular Biology of the Gene. 3ème éd. Benjamin / Cummings Publishing Co., Menlo Park, Californie, 1987.

WILKINSON, L. S., W. DAVIES & A. R. ISLES (2007). Genomic imprinting effects on brain development and function. Nature Reviews Neuroscience, 8 : 832-843. doi:10.1038/nrn2235

WILLIAMSON D..La curieuse histoire de l'ADN mitochondrial de levure. Nature Reviews Genetics, 2002 - nature.com

WOOD R. DNA repair in eukaryotes. Annu Rev Biochem 1996 ; 65 : 136-60.

**X**

XIAO, X., MELTON, D.W., GOURLEY, C., (2014). Mismatch repair deficiency in ovarian cancer Molecular characteristics and clinical implications. Gynecol. Oncol. 132, 506-512. doi:10.1016/j.ygyno.2013.12.003



## Liste des liens de sites web

- [1] <https://www.svt-tanguy-jean.com>
- [2] <http://cancerdesos.ndreze.free.fr>
- [3] <http://svt-survostraces.blogspot.fr/2011/09/schemas-des-mecanismes-de-la.html>
- [4] <http://rssf.i2bc.paris-saclay.fr/gautheret/cours/L2-6.pdf>
- [5] [https://www.researchgate.net/figure/Maturation-du-pre-ARN-ribosomique-chez-lhomme-La-transcription-des-genes-ribosomiques\\_fig1\\_23802554](https://www.researchgate.net/figure/Maturation-du-pre-ARN-ribosomique-chez-lhomme-La-transcription-des-genes-ribosomiques_fig1_23802554)
- [6] <http://www.fsr.ac.ma/DOC/cours/biologie/maltouf/Transcription3.pdf>
- [7] <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/physiologie-cellulaire/la-transcription-chez-les-eucaryotes>
- [8] <http://www.mun.ca/biology/scarr/Directory.htm>
- [9] [https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours\\_Ligne/cours\\_22\\_23/Cytogenetique\\_A1/Chap\\_6.pdf](https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/cours_22_23/Cytogenetique_A1/Chap_6.pdf)
- [10] <https://mydoctor.kaiserpermanente.org/ncal/specialty/genetics/resources/conditions/xyy.jp>
- [11] <http://svtmarcq.over-blog.com/article-les-anomalies-de-la-meiose-term-s-62723308.html>
- [12] <https://www.bornontario.ca/fr/pso/what-we-screen-for/trisomy-18.aspx>
  
- [13] <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/becol/2021/Pr-LABBANI-Biosyst%C3%A9matique%20mol%C3%A9culaire-%20Cours%204.pdf>
- [14] <https://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/ExternData/InfoTransmission-Dreamweaver/Transmission.pdf>
- [15] <https://www.semae-pedagogie.org/sujet/cartes-genetiques>