



FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
UNIVERSITÉ HASSAN II DE CASABLANCA



Génétique fondamentale + Cytogénétique

Résumé

Module : Biologie - Génétique

Basé sur : Le cours

-> Ce résumé est un complément de cours, il contient suffisamment d'informations, mais ne remplace pas le polycopié du professeur.

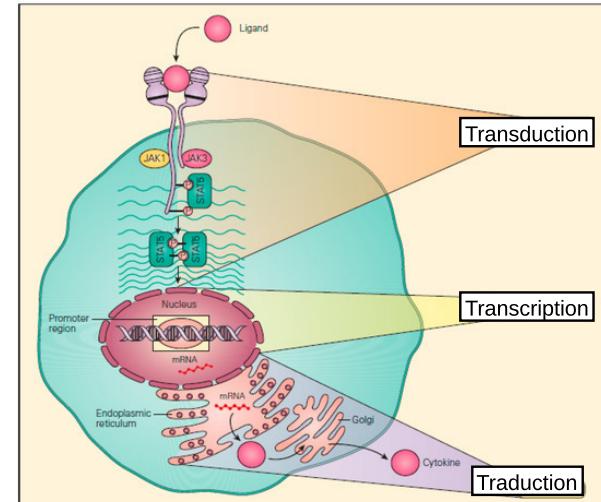
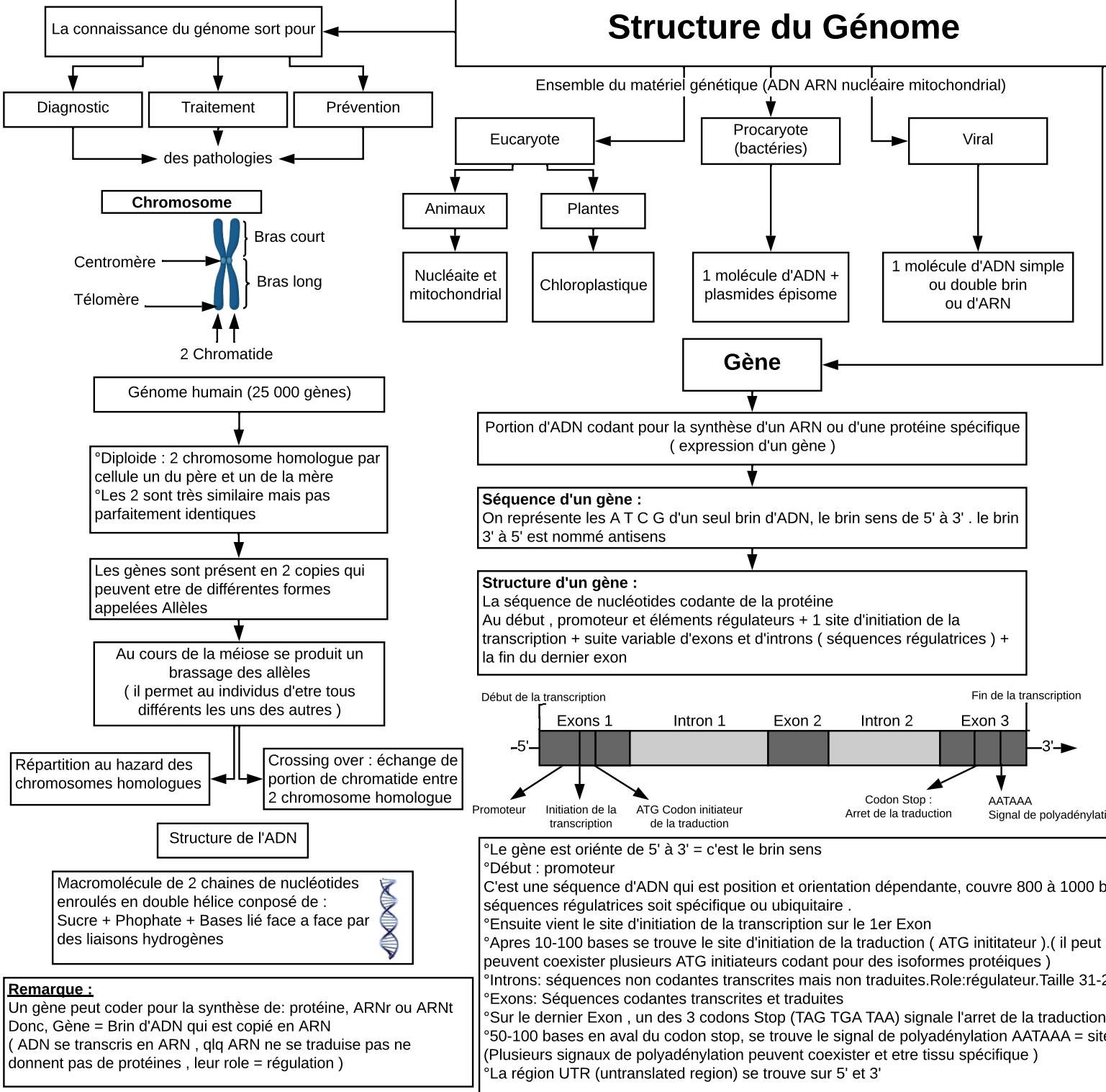
-> Merci d'envoyer toutes vos remarques via l'adresse mail suivante :
mahdikettani1@gmail.com

-> Bon courage et bonne lecture !

Auteur : Kettani El Mahdi, étudiant de la promotion médecine 2019

اللهم أستودعك ما قرأت و ما حفظت و ما تعلمـت، فـردهـ عند حاجـتي إلـيـهـ، إـنـكـ عـلـىـ كـلـ شـيـءـ قـدـيرـ

Structure du Génome

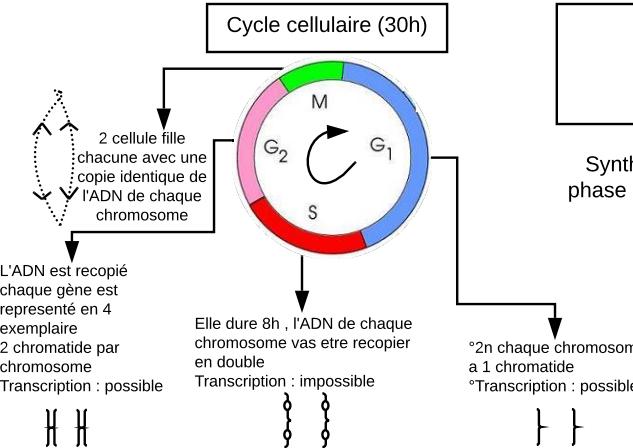


Pseudogène :

- Structure d'un gène fonctionnel mais n'aboutit pas à la formation d'une protéine
- Sa séquence est proche de l'ARNm codant pour le gène normal correspondant.
- Présente plusieurs mutations (addition, délétion, substitutions) codons stop ne permettant pas la transcription
- Rarement, il peut être transcrit mais non traduit

ADN Mitochondrial :

- ADN circulaire
- Double brin de 16,5K bases
- Codant pour des sous-unités protéiques et des ARN (r et t)
- Ces derniers sont indispensables à la traduction intra-mitochondriale des protéines
- Indépendant de l'ADN nucléaire (réplication transcription traduction indépendantes)
- L'ADN nucléaire code pour des protéines intervenant dans la phosphorylation oxydative et d'autres fonctions et structures mitochondrielles
- De transmission maternelle
- Ne recombine pas et présente beaucoup de mutations
- Chaque mitochondrie contient 2 à 10 copies moléculaires d'ADN avec coexistence (hétéroplasmie) ou non (homoplasme) de l'ADN muté et non muté



RéPLICATION

Synthèse d'ADN qui reproduit avec précision le génome d'une cellule au cours de la phase S du cycle cellulaire grâce à l'intervention de différents enzymes pour préparer la division cellulaire

L'ADN se présente en forme de chromatine, cette dernière est l'association de : l'ADN + l'ARN + protéine histones + protéine non histones

Il existe différents types d'ADN polymérase :

- 1) ADN polymérase α (associée à la primase) synthétise les amorces
- 2) ADN polymérase δ principale enzyme de réplication
- 3) D'autres ADN polymérase synthétise l'ADN mitochondrial ou répare l'ADN génomique

L'instabilité génétique cause des tumeurs. Elle se produit pendant la phase S en affectant le réplisome

^oLa réPLICATION peut être dérégulé aboutissant à un ralentissement arrêt temporaire ou un blocage complet qui dans certains cas évolue à un cancer.

- Cela peut être dû à :
 - structure secondaire de l'ADN
 - Complexes d'ADN protéine
 - Modification de la chromatine
 - Lésions de l'ADN

Mécanisme de la réPLICATION

- 1) Hélicase : enzyme qui déspiralise l'ADN et coupe les liaisons H entre les bases azotées. Des protéines spécifiques fixatrices d'ADN monocaténaire (SSB) viennent se fixer sur chaque brin et les empêchent de se respiraser

2) Pour commencer la réPLICATION , des amores se mettent en place par des primases pour former des amores d'ARN (10 nucléotide)

3) et des ADN polymérases a pour former des amores d'ADN (20 nucleotides)

4) Le dernier nucléotide lié a l'amorce d'ADN servira de point d'initiation à l'activité de l'ADN polymérase δ (delta) qui lie des nucléotides libre de manière complémentaire au brin parental pour ainsi former un brin néoformé (avance de 3'->5' pour le brin parental et de 5'->3' pour le nv brin)
L'ajout de dNTP à l'extrémité 3' du OH libre
+ l'Hélicase avance + il despiralise l'ADN et coupe les liaisons H + l'ADN polymérase δ du brin direct continue a former le nv brin d'ADN, mais pour le brin retardé , vu qu'il est antiparallèle , alors du coté de l'Hélicase sera l'extremité 3' et puisque l'ADN polymérase n'avance que de 3'->5' pour le brin parental alors le réPLICATION vas se faire en discontinue

5) des amores se mettent en place par des primases pour former des amores d'ARN (10 nucléotide)

6) et des ADN polymérases a pour former des amores d'ADN (20 nucleotides)

7) Un ADN polymerase δ commence la réPLICATION et polymérise environ 200 nucléotides. Il s'arrete lorsqu'il atteint une autre amorce plus ancienne . Il forme alors les fraguements d'Okazaki

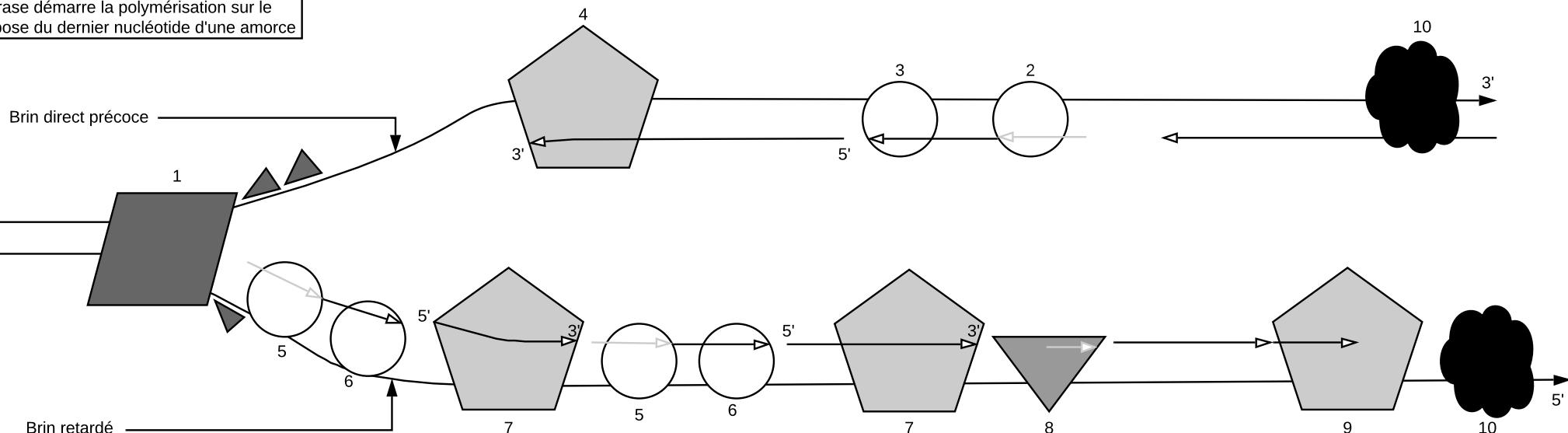
Notons que pour le brin direct l'ADN polymérase δ ne s'arrete pas pcq il ne rencontre jamais une amorce dans son chemin

8) Des ribonucléases (nucléases) (exonucléases) détruisent ou hydrolyse les amores d'ARN des 2 brin néoformé 3'->5' en cas de mésappariement hydrolyse le dernier nucléotide incorpoé

9) Des ADN polymérase δ viennent polymériser des nucléotides à la place ou était les amores d'ARN

10) Des ADN ligases viennent ensuite relier tous les fraguements d'ADN (Okazaki etc ...) des 2 brins néoformés

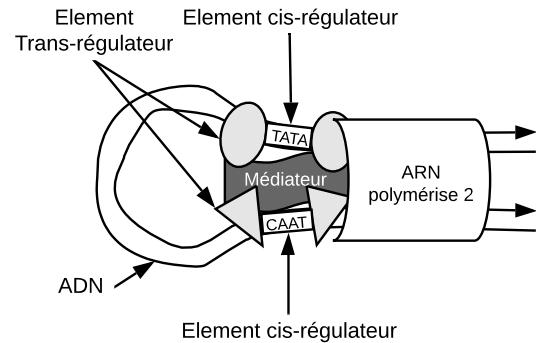
L'ADN polymérase démarre la polymérisation sur le OH en 3' du ribose du dernier nucléotide d'une amorce



La Transcription

1) Initiation de la Transcription :

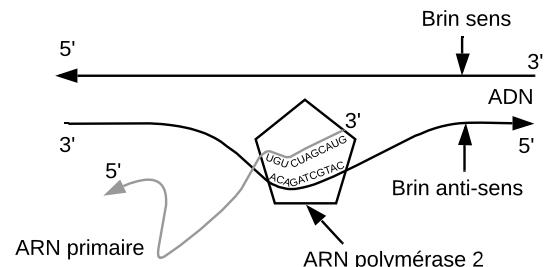
En amont du gène qui sera transcrit : promoteur . Il existe des élément (facteur) cis-régulateur : qui sont des séquences de nucléotides du promoteur (Exp : boite TATA ou boîte CAAT ou boîte GC ...) qui sont reconnues par les élément (facteur) trans-régulateur : des protéines spécifiques (Exp : OCT-1 , GATA-4 ...) qui serviront d'activateurs ou d'inhibiteurs de l'ARN polymérase 2, enzyme principale de la transcription par l'intermédiaire d'un médiateur (ensemble de protéines) qui relie le tout . Ces protéines qui se lient à l'ADN ont des configuration spéciales, parmi ces structures on retrouve :
-> Hélice-boucle-hélice
-> Doigt de Zinc
-> Basicité des acides aminés (fermeture <<Eclair>> à Leucine)
Une fois un signal d'activation est reçu et les facteurs trans-régulateurs sont liés au facteurs cis-régulateurs par l'intermédiaire du médiateur, l'ARN polymérase est activé, tous le complexe protéique se détache de l'ADN et la transcription peut alors commencer .



2) Elongation de la transcription :

ARN ← Complémentaire anti-sens
Similaire sens

La transcription commence au point d'initiation,+ l'ARN polymérase 2 avance + elle fait ouvrir la double hélice en avant de son chemin (boucle) et la referme en arrière tout en polymérisant avec soin les nucléotide de manière complémentaire au brin antisens (3'→5') pour ainsi former un nv brin cette fois ci d'ARN (5'→3') qui sera une copie presque identique au brin sens aussi appelé non transcrit ou codant (5'→3') à la différence de U au lieu de T et de ribonucléotides au lieu de désoxyribonucléotides
L'extrémité 5' du nv brin d'ARN se condense en diverses structures secondaires (épingles à cheveux)
Notons que pendant cette élongation, l'ARN polymérase est accompagné d'une série de facteurs qui modifient la chromatine pour faciliter l'avancée de l'enzyme et éviter des épingles à cheveux
Les substrats de l'ARN polymérase sont les 4 ribonucléosides triphosphates : ATP UTP GTP CTP



Coiffe d'un messager (Cap)

NB : A l'extremité 5' de l'ARN, se produit une coiffe du messager : c'est une modification du transcrit qui consiste en l'ajout d'un nucléotide G sur l'extrémité 5' de l'ARN (par l'E Guanylyl transférase) suivis de sa méthylation (par l'E methylase), cette modification limite la réactivité de cette extrémité et sa reconnaissance par les exonucléase qui pourront la dégrader. Donc elle a un rôle de protection mais également dans l'exportation de l'ARN vers le cytoplasme et la liaison de ce dernier avec le ribosome lors de l'initiation de la traduction

3) Fin de la transcription :

L'ARN polymérase continue son travail jusqu'à ce quelle rencontre les signaux de terminaisons (TTATTT séquence de nucléotides reconnu par des facteurs lié à l'ARN polymérase) ou elle se détache de l'ADN, libère le brin d'ARN formé et la double hélice se referme .

Après la fin de la transcription, vient ensuite une suite de modification du transcrit lui permettant d'être transporter jusqu'au cytoplasme et être traduit en protéine

Queue poly A

Indispensable, une enzyme coupe l'ARN environ 10-20 nucléotide au delà de la séquence de terminaison AAUAAA et synthétise sur l'extrémité 3' une chaîne de 500-2000 nucléotides de A . Cette modification du transcrit joue un rôle de protection contre les ribonucléases qui peuvent le détruire et aussi dans la maturation de l'ARNm qui la porte

Édition

Des enzymes peuvent modifier certaines bases par d'autres (Exp: C-->U)

Excision

La coupe des introns parties non codantes des gènes par des E endoribonucléase. Pour cela il faut que 3 séquence de l'intron soit mis en contact :

- 1) la séquence du début de l'intron (extrémité 5' ou site donneur)
 - 2) la séquence de la fin de l'intron (extrémité 3' ou site accepteur)
 - 3) 1 nucléotide A (A du branchement) environ 40 nucléotides avant le site accepteur
- L'intron est libéré sous forme de lasso puis détruit par des nucléases

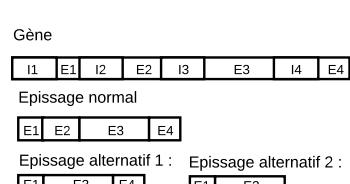
Epissage

Une fois les introns coupés par l'excision, les exons, parties codantes des gènes, sont liés entre eux. Cela se fait grâce à des E, ARN ligases
NB: 20% des maladies génétiques sont dues à des erreurs d'épissage

L'excision-Epissage fait appel à des facteurs spécifiques: ribonucléoprotéine, ribozyme, Enzyme spécifique (maturase ...)
L'excision-Epissage constitue donc l'étape la plus importante de la maturation de l'ARN primaire

Epissage alternatif

Quelque fois, au lieu de couper que les introns et lier les exons, la cellule choisit en fonction du signal qu'il lui a été reçu de couper 1 ou quelque exons en + pendant l'excision et lier les exons qui reste pour former une nouvelle protéine semblable à la protéine normale (qui à tous les exons) mais dont la nature ou la fonction diffère légèrement . Ainsi avec un seul gène nous pouvons former plusieurs variantes de protéines. C'est d'ailleurs pourquoi l'humain compte près de 50 000 gènes mais + de 100 000 protéines différentes



Régulation :

Elle se fait principalement à la première réaction pour ne pas synthétiser d'intermédiaires inutiles. Dans l'expression d'un gène elle se fait à 4 niveaux :
1) transcription (point de contrôle principal. l'ARN polymérase est l'E clé) 2) La maturation du transcrit 3) La traduction 4) L'activation de la protéine mature

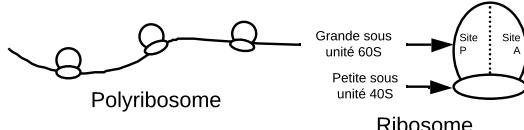
-> ARN polymérase 1 synthétise l'ARN cytoplasmique ou ribosomique, réalise la transcription de l'ADN en ARN dans le noyau, synthétise les petits ARN
-> ARN polymérase 3 présente dans la cellule eucaryote

Code génétique

Tableau où sont reunis tous les codons (suite de 3 nucléotide) et leurs acides aminés correspondants
Notons qu'il existe 64 codons, mais que 20 acide aminés, donc il y a plusieurs codons qui donne le même acide aminé : codons homonymes
Qlq acide AA ont 6/5/4/3/2 codons différents

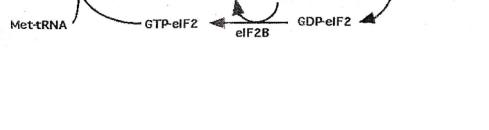
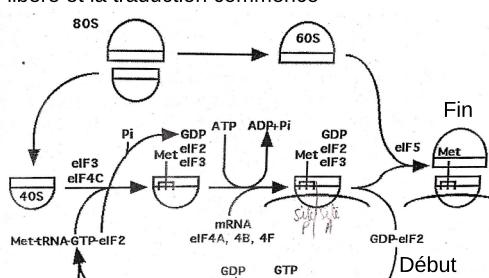
Le code génétique :

- >Dégénéré: perte d'information (64 codons 20 AA ?)
- >Universel (permet le transfert de gène d'une espèce à une autre sans problème génie génétique)
- >N'est pas chevauchant



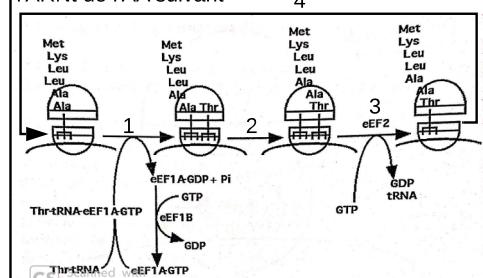
Initiation de la traduction

La traduction commence de l'extrémité 5' de l'ARNm
Au début les 2 sous-unités sont séparé dans le cytoplasme
Ensuite une cascade de réaction vas former le complexe d'initiation
Une fois la grande sous-unité se lie à la petite en présence de l'ARNt dans le site P qui porte la Met et l'anticodon CAU est enface du codon AUG (initiateur) à l'extrémité 5' de l'ARNm , les cofacteurs d'initiation se libère et la traduction commence



Elongation de la traduction

- 1) Un nouvel ARNt dont la séquence est complémentaire au codon succédant le codon initiateur vient se fixer dans le site A avec le bon acide aminé correspondant , il s'y lie à l'aide d'une liaison peptidique
- 2) Puis toute la chaîne polypeptidique est transférée sur le site A ,
- 3) L'ARNt du site P étant alors sans AA se libère pour laisser place à l'ARNt restant et la chaîne polypeptidique en cours de synthèse qui vont se déplacer du site A au le site site P : translocation sans qu'il y ait de séparation entre le codon et l'anticodon.
- 4) Le site A est à nouveau libre pret à recevoir l'ARNt de l'AA suivant



Terminaison de la traduction

Lorsque le site A se trouve en regard d'un codon Stop annonçant la fin de la traduction, a l'aide d'un cofacteur eRF, les 2 sous-unités du ribosome se dissocient, la protéine synthétisée est libérée ainsi que le dernier ARNt

Modification co et post-traductionnelles

Pendant et après la Traduction la protéine subit plusieurs modifications pour devenir mature :

- °Glycosylation
- °Acylation
- °Hydroxylation méthylation carboxylation
- °Désamination
- °Phosphorylation
- °Liason d'un cofacteur
- °Blocage des extrémité
- °Protéolyse : **signal-peptide**, fragmentation

hydrophobe, c'est un peptide d'adressage (sert d'adresse pour être transporter à un endroit précis) de 15-20 AA de l'extrême N-terminal d'une protéine qui doit être excretée hors de la cellule .

Mutation

Substitution

Remplacement d'un nucléotide par un autre . 2 types :
Transition (+ fréquent)
purine -> purine A<->G
pyrimidine -> pyrimidine C<->T

Transversion :
purine <-> pyrimidine

Synonyme

Faux-sens

Non-sens

Engendre le même AA

Engendre un AA différent

Engendre un codon STOP. La protéine est donc tronquée

Délétion

1 ou 2 nucléotides

3 nucléotide = 1 codon

Grande longueur

Décale le cadre de lecture : tous les nucléotides sont décalé on assiste à une traduction d'une protéine complètement différente à partir de la mutation avec des AA différents, très souvent entraîne un codon Stop -> protéine tronquée

Ne décale pas le cadre de lecture, et aboutit à la suppression d'1 AA NB: ceci est dans le cas d'une suppression des 3 nucléotides d'un seul codon, si on supprime des nucléotides de codons différent on revient au 1er cas de délétion

Peut supprimer l'expression d'1 ou plusieurs exons voir d'un gène entier Entraine souvent l'inactivation du gène

Addition

1 ou 2 nucléotides

3 nucléotides

Grande longueur

Décale le cadre de lecture (codons)

Aboutit à l'addition d'1 AA

Peut modifier complètement la traduction des exons

NB:

Dans les introns ou les exons non-traduits, on rencontre souvent de longues insertions qui sont sans effet apparent sur l'expression du gène

NB 1:

Si une mutation se fait dans une cellule :

- > somatique : apparition de nouveaux caractères chez la personne qui a la mutation mais n'est pas transmise à la descendance
- > germinale : sera transmise à la descendance par les gamètes : mutation héréditaire

NB 2: Marqueur génétique :

Lorsqu'on trouve un marqueur génétique (amplification d'une séquence répétitive - polymorphisme de fragementation de restriction ...) chez l'ADN d'une population malade d'une pathologie donné ou qui présente un phénotype différent , nous pouvons conclure une relation entre le marqueur génétique et la pathologie ou la mutation de cette population, toutefois c'est un facteur de risque ce n'est pas sur à 100%

La Traduction

Synthèse de protéine grâce au ribosome qui lie la séquence d'ARNm contenant le gène codant pour cette protéine Pour synthétiser une protéine il faut : ARNm, ARNt, Ribosome et les acides aminés

Ribosome

Ce sont des organites cellulaires composé de 2 sous unité 40S (ou s'incruste l'ARNm) et 60S (ou est synthétisé la protéine) cette dernière est composée à son tour en 2 sites P (peptidique) et A (acide aminé) Les ribosomes ont des sites de fixation pour : L'ARNt qui porte l'AA sur site A et le peptide site P / L'ARNm / Former les liaisons peptidiques / La fixation des cofacteurs protéiques / La régulation

Polyribosome

Sur le même ARNm, plusieurs ribosomes, séparés tous les 100 nucléotides, effectuent la traduction de la même protéine de manière successive (le 1 commence finit puis commence le 2 ième)
+ l'initiation est active + les ribosomes sont nombreux sur l'ARN

Codon

Ensemble de 3 nucléotides portant l'information génétique d'incorporer 1 acide aminé déterminé dans la structure primaire d'une protéine NB : il existe 3 codons Stop qui arrête la synthèse de protéine et ne code pour aucun acide aminé : UAA UAG UGA

Intérêt :

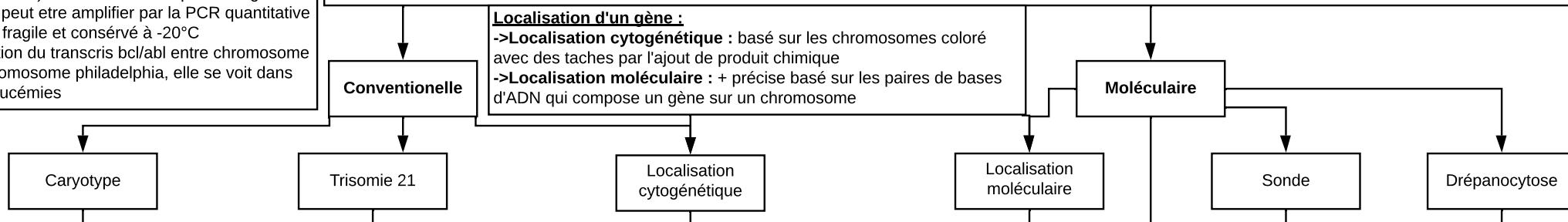
- Détecter séquences d'ADN polymorphiques = STR
- Détecter anomalies chromosomiques (Trisomie 21...)
- Détecter les aneuploidies (nombre anormal de chromosome sexuels)
 - Amplification d'ADNc (complémentaire)
 - La transcription inverse permet d'obtenir à partir d'un ARN un ADNc (E transcriptase inverse isolé de retrovirus à ARN) ce dernier codant pour des gènes recherchés peut être amplifié par la PCR quantitative
 - Molécule - fragile et conservé à -20°C
 - Quantification du transcris bclabl entre chromosome 9 et 22, chromosome philadelphie, elle se voit dans certaines leucémies

Cytogénétique

Isochromosome :

Chromosome anormal formé de 2 bras long ou 2 bras court d'un même chromosome avec perte de l'autre bras

Cytogénétique: Science qui étudie les chromosomes, leur structure, leur fonctionnement normal et pathologique, et leurs anomalies (nombre, structure, réparation)
Cytogénétique médicale: cherche anomalie chromosomique constitutionnelle (avant/après naissance) ou acquise (acquise au cours de la vie, exp: cancer) pour assurer un conseil génétique



1) On utilise certains types spécifiques de cellule pour les cultiver et faire le caryotype :
 -> Lymphocytes sanguins +++
 -> Cellule du liquide amniotique
 -> Cellule trophoblastique
 -> Fibroblastes cutanés
 2) On bloque les cellules en métaphase par la colchicine.
 ° Dispersion des chromosomes dans cytoplasme par solution hypotonique.
 ° Fixation (conserver les cellules dans un état proche du physiologique).
 3) On fait une coloration au Giemsa pour identifier les chromosomes (les compter les classer en fonction de leur taille indice centromérique)

° Les chromosomes deviennent rose avec une succession de taches horizontales + ou - colorées
 -> Bande G (Giemsa) : ADN riche en A-T = centre de condensation précoce = pauvre en gène actif. Inconvénient : téloïdème mal coloré
 -> Bande R (5 Brd Giemsa) : ADN riche en C-G = gène actif réplication précoce.
 Avantage : Téloïdème bien coloré
 ° Les bandes G et R sont complémentaires, elles révèlent l'euchromatine
 -> Bande T : marqueur de téloïdème
 -> Bande C : marqueur de : Centromère (constriction primaire) Constriction secondaire Partie distale du chromosome Y ° Ces régions possèdent de l'ADN répétitif (ADN satellite) réplication tardive représente 10% à 15% du génome avec haute polymérisation

° C'est la première anomalie chromosomique décrite chez l'homme
 ° Elle cause :
 -> Un retard mental
 -> Une dysmorphie : Brachycephalie Cou court Exces de peau Face ronde
 -> Hypotonie axiale (baisse masse musculaire)
 -> Malformation cardiaque, digestive
 -> Risque tumoral: leucémie

-> Le 1er nombre désigne le numéro du chromosome 1 à 22 autosomaux X et Y sexuel
 -> La 2ème lettre désigne le bras du chromosome : Bras long q
 Bras court p
 -> Le 3ème nombre désigne la position du gène sur le bras
 Exp : 14q21 est + proche du centromère que 14q22
 -> Au lieu du nombre on peut avoir "Cen" qui signifie près du centromère et "ter" qui signifie près des extrémités ou "tel" qui signifie sur les téloïdèmes.
 "ter" = "tel"

° Appariement base à base
 °+ précise que la localisation cytogénétique car elle permet de déterminer la taille exacte d'un gène et son emplacement sur le chromosome étant donné qu'elle se base sur les paires de bases de l'ADN.
 ° Tous le génome a été localisé moléculairement en 2003

° Pour détecter spécifiquement une séquence d'ADN, on utilise une sonde qui est un morceau d'ADN synthétisé complémentaire soit totalement soit en partie à l'un des 2 brins d'ADN du gène étudié
 -> On marque la sonde par un atome radioactif ou par une molécule fluorescente on peut alors détecter la sonde et ainsi déterminer l'emplacement et la taille du gène sur le chromosome

-> Aussi appelé anémie falciforme, maladie des globules rouges (déformé)
 -> Mutation de A--> T dans le 6ème codon = Glu-> Val de la chaîne Beta de la globine
 -> L'électrophorèse de l'ADN du gène HB se fait par 2 sondes : une pour séquence normal une pour séquence mutée

Techniques

Hybridation in situ fluorescent FISH

° Résolution de 50 kb à 2 Mb
 ° Se fait grâce à une sonde spécifique du gène étudié marqué par une molécule fluorescente ou une molécule qui sera reconnue par un anticorps fluorescent

CGH-Array (Caryotype moléculaire)

° Résolution pangénomique de 1 Mb à quelque kb. C'est une résolution 100 à 1000 fois > à celle du caryotype. La résolution de la puce dépend du nombre de sondes et de leur localisation sur le génome. Exp: technologie Agilent = résolution 180k sondes
 ° Constitue l'examen de diagnostic pangénomique en génétique clinique
 ° Technique :
 On met sur lame de verre (puce à ADN) contenant des sondes de séquences d'ADN, la même quantité d'ADN une de l'ADN patient et l'autre l'ADN Témoin chacune marqué par un fluorescent différent. Après hybridation, on fait un rapport de fluorescence sous forme de graphique
 ° Cette technique permet de mettre en évidence les micromutations

PCR

Qualitative ou classique

1) Dénaturation : (95°C) Cassure de liaisons H et dissociation des 2 brins d'ADN
 2) L'hybridation : (45-60°C) Fixation amorce sur brins d'ADN
 3) Polymérisation : (72°C) Polymérisation des nucléotides grâce à l'ADN polymérase
 ° Ce cycle est répété plusieurs fois
 ° Le nombre de copies croît exponentiellement

Définition : Succession de réplications ciblées invitro, elle permet d'obtenir à partir d'un échantillon peu abondant des milliers de quantités d'ADN spécifiques et de longueur définies.
 ° On mélange : séquence d'ADN voulant répliquer / amorce oligonucléotidique dans les extrémités 3' pointant l'une vers l'autre (on utilise 2 types d'amorces : une similaire à 5' et une complémentaire à 3') / ADN polymérase résistante à haute température
 Exp: Taq polymérase / Nucléotides ATCG

Quantitative ou en temps réel

On utilise des intercalants = composé qui fluoresce seulement quand l'ADN est en 2 brins, à la fin de chaque phase d'elongation. On mesure la fluorescence et on construit une courbe de variation de fluorescence
 2 techniques : sonde fluorescente ou agent se liant à l'ADN

Quantitative est meilleure car :
 °+ rapide (1h qualitative 2h 30)
 ° Sensibilité
 ° Qlq g d'ADN suffisent
 ° Quantification précise grâce aux logiciels d'analyse