

# Génétique

J.-L. ROSSIGNOL

Sciences  
Techniques  
Informatique  
Génie  
Ingenierie  
Informatique  
Informatique

4<sup>e</sup> ÉDITION

MASSON 

# LISTE ALPHABÉTIQUE DES ABRÉGÉS

**A**cupuncture *Borsarello*  
Alcoologie *Malka*  
Allergologie pratique *Perrin*  
Anatomie dentaire *Lautrou*  
Anatomie générale *Chevrel*  
Anatomie pathologique générale *Jaubert*  
Anatomie et physiologie humaines T. 1 et 2 *Raoul*  
Anatomo-pathologie dentaire *Kaquier*  
Andrologie (illustré) *De Tourris*  
Anémies : notions fondamentales *Longpré*  
Anesthésie *Gauthier-Lafaye*  
Anesthésie loco-régionale *Auberger*  
Anesthésie en odonto-stomatologie *Machtens*  
Angéiologie *Devulder*  
Antibiothérapie *Duval*  
Articulation temporo-mandibulaire *Ogus*

**B**actériologie *Singleton*  
Biochimie alimentaire *Alais*  
Biochimie générale T. 1 et 2 *Percheron*  
Biochimie génétique *Étienne-Decant*  
Biochimie médicale T. 1 et 2 *Boulanger*  
Biochimie odonto-stomatologique *Pellerin*  
Biologie animale et humaine P.C.E.M. 1 *Lucotte*  
Biologie cellulaire *Maillet*  
Biologie du développement *Le Moigne*  
Biologie générale *Van Gansen*  
Biologie moléculaire *Lucotte*  
Biologie végétale : plantes supérieures T. 1 et 2 *Gorenflo*  
Biomatériaux dentaires *Burdairon*  
Biophysique T. 1 et 2 *Bertrand*  
Biophysique du neurone *Burgeat*  
Biophysique odontologique *Bouchier*  
Biophysique des radiations *Dutreix*  
Botanique *Guignard*

**C**ancérologie *Amiel*  
Cardiologie *Rullière*  
Chimie analytique T. 1 *Guernet*  
T. 2 *Mahuzier*  
T. 3 *Hamon*

Chimie générale *Germain*  
Chimie organique *Loppinet*  
Chimie organique T. 1 et 2 *Miocque*  
Chimiothérapie psychiatrique *Ginestet*  
Chirurgie digestive *Boissel*  
Conduites d'urgence *Arcadio*  
Constantes biologiques *Eastham*  
Cryptogamie *Bouchet*

**D**entisterie conservatrice T. 1 et 2 *Nitlich*  
Déontologie médicale *Villey*  
Dermato-allergologie de contact *Ducombs*  
Dermatologie clinique et vénérérologie *Touraine*  
Dermatologie pédiatrique *Larrègue*  
Dermatologie professionnelle *Lachapelle*  
Développement et maladies de l'enfant *Grenier*  
Développement psychomoteur de l'enfant *Illingworth*  
Diabétologie *Perlmuter*  
Diagnostic des douleurs abdominales aiguës *De Dombal*  
Diagnostic différentiel en médecine interne *Ferlinz*  
Diagnostic en parasitologie *Gentilini*  
Diagnostic prénatal et médecine fœtale *Henrion*  
Diététique de l'enfant *André*  
Diététique et nutrition *Apfelbaum*  
Dommage corporel et expertise médicale *Creusot*  
Droit et déontologie du laboratoire d'analyses de biologie médical *Tisseyre-Berry*

**E**cologie générale *Barbault*  
Ecologie de la végétation terrestre *Godron*  
Économie du médicament *Tisseyre-Berry*  
Éducation à domicile de l'enfant infime moteur cérébral *Finnie*  
Embryologie médicale *Langman*  
Endocrinologie *Hazard*  
Enfant normal *Illingworth*  
Épreuves fonctionnelles respiratoires *Brambilla*  
Équilibres acido-basiques en solution aqueuse, pH *Huntz*  
Ergonomie odontologique *Chovet*  
Ergothérapie *Pierquin*  
Ethologie *Guyomarc'h*

Évolution de l'organisation animale *Bailenger*  
Examen du traumatisé *Piganiol*

**F**iscalité des professions médicales et paramédicales *Gosserez*

**G**astro-entérologie *Fouet*  
Génétique *Rossignol*  
Génétique médicale *Emery*  
Gériatrie clinique *Collin de l'Hortet*  
Gérontologie *Martin*  
Gestion du cabinet médical *Robin*  
Graphologie *Bresard*  
Gynécologie *Giraud*  
Gynécologie et obstétrique (illustré) *De Tourris*  
Gynécologie pédiatrique *Sersiron*

**H**ématologie *Bernard*  
Hépatologie *Fouet*  
Histoire de la médecine *Rullière*  
Histologie *Poirier*  
Histologie dentaire *Triller*

**I**mmunogénétique fondamentale *Fudenberg*  
Immunologie dentaire *Faure*  
Immunologie générale *Letonturier*  
Intoxications aiguës *Roujas*  
Initiation à la connaissance du médicament *Aiache*

**L**égislation et déontologie pharmaceutiques *Tisseyre-Berry*  
Législation psychiatrique *Goumillox*

**M**aladies infectieuses *Cronberg*  
Maladies musculaires *Serratrice*  
Maladies des reins et des voies urinaires (illustré) *Patte*  
Maladies sexuellement transmissibles *Siboulet*  
Maladies tropicales *Bourré*  
Manipulations vertébrales *Le Corré*  
Mathématiques *Geller*  
Mathématiques pour biologistes - exercices et problèmes commentés *Legay*  
Matière médicale (pharmacognosie) T. 1 et 2 *Paris*  
Mécanismes de l'évolution animale *Devillers*  
Médecine de catastrophe *Noto*

# Génétique

## *CHEZ LE MÊME ÉDITEUR*

*Dans la même collection (voir liste complète page 2 et 3 de couverture)*

BIOCHIMIE GÉNÉTIQUE, par J. ÉTIENNE-DECANT, 1978, 240 pages.

BIOLOGIE MÉDICALE, par P. BOULANGER, J. POLONOVSKI, G. BISERTE et M. DAUTREVAUX.

Tome 1. — Les constituants des organismes vivants, 1989, 2<sup>e</sup> édition, 360 pages.

Tome 2. — Métabolismes et régulations, 1981, 352 pages.

BIOLOGIE CELLULAIRE, par M. MAILLET, préface de E. LEGAIT, 1989, 5<sup>e</sup> édition, 320 pages.

BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT, par A. LE MOIGNE, 1989, 2<sup>e</sup> édition, 256 pages.

GÉNÉTIQUE MÉDICALE, par A.E.H. EMERY, traduit de l'anglais par C. FORTIN, 1986, 304 pages.

### *Autres ouvrages*

BIOCHIMIE ILLUSTRÉE, par P.N. CAMPBELL et A.D. SMITH, traduit de l'anglais par G. HAMOIR et A. ADOUTTE, 1985, 240 pages.

PRINCIPES DE GÉNÉTIQUE, par A.J.F. GRIFFITHS et J. MCPHERSON, traduit de l'anglais par I. MÉNART et A. ABOUSSEKRA, environ 250 pages, à paraître.

BACTÉRIOLOGIE, par P. SINGLETON et D. SAINSBURY, traduit de l'anglais par G. HAMOIR, *collection Abrégés de sciences*, 1990, 2<sup>e</sup> tirage corrigé, 160 pages.

BIOCHIMIE GÉNÉRALE, par J.-H. WEIL et collaborateurs, préface de J.-P. EBEL, 1990, 6<sup>e</sup> édition, 576 pages.

BIOLOGIE MOLÉCULAIRE, par D. FREIFELDER, préface de A. ADOUTTE, traduit de l'anglais par T. Langin et M.-H. LEBRUN, 1990, 352 pages.

ATLAS DE BIOLOGIE CELLULAIRE, par J.-C. ROLAND, A. SZÖLLÖZI et D. SZÖLLÖZI, 1991, 3<sup>e</sup> édition, 4<sup>e</sup> tirage, 120 pages.

GÉNIE GÉNÉTIQUE. Réalités et promesses, par G.J.V. NOSSAL, traduit de l'anglais par O. POURQUIÉ, 1988, 232 pages.

# Génétique

Jean-Luc ROSSIGNOL

Professeur  
à l'université Paris-Sud

*Quatrième édition  
revue et augmentée*

MASSON 

Paris Milan Barcelone Bonn  
1992

Première édition en langue italienne réalisée par MASSON Italia Editori S.p.A. et parue en 1987 d'après la troisième édition française.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur, est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (loi du 11 mars 1957 art. 40 et 41 et Code pénal art. 425).

Des photocopies payantes peuvent être réalisées avec l'accord de l'éditeur.  
S'adresser au : Centre français d'exploitation du droit de copie, 6 bis, rue Gabriel-Laumain,  
75010 Paris, tél. : 48.24.98.30.

© Masson, Paris, 1975, 1992

ISBN : 2-225-82569-6

---

MASSON S.A.  
MASSON S.p.A.  
MASSON S.A.  
DÜRR und KESSLER

120, bd Saint-Germain, 75280 Paris Cedex 06  
Via Statuto 2/4, 20121 Milano  
Avenida Príncipe de Asturias 20, 08012 Barcelona  
Maarweg, 30, 5342 Rheinbreitbach b. Bonn

## Avant-propos

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants de médecine et de biologie du premier cycle des universités, ainsi qu'à ceux qui désiraient s'initier aux aspects essentiels de la génétique classique et actuelle. J'ai tenté, dans les divers chapitres, de justifier chaque nouvelle notion en présentant les arguments expérimentaux sur lesquels elle reposait. Plus que la connaissance des phénomènes génétiques, c'est leur intelligence qui me paraît en effet la plus importante. A plusieurs reprises, on rencontrera des questions non encore résolues : la génétique est une science jeune en continue évolution et au-delà des faits qui persistent, les interprétations peuvent se modifier. Pour plus de clarté et de compréhension, un choix a été nécessaire parmi un grand nombre d'expériences dont les résultats concourraient aux idées exposées. Dans ces conditions, les citations d'auteur des expériences relatées devenaient artificielles parce qu'incomplètes. On a préféré les éviter systématiquement. Le lecteur qui désirerait approfondir un point particulier trouvera dans la bibliographie la liste des ouvrages dans lesquels il pourrait trouver les précisions souhaitées.

J.-L. ROSSIGNOL



Digitized by the Internet Archive  
in 2023 with funding from  
Kahle/Austin Foundation

[https://archive.org/details/isbn\\_9782225825699](https://archive.org/details/isbn_9782225825699)

# Table des matières

AVANT-PROPOS .....	V
<b>CHAPITRE PREMIER. — Introduction. La notion de matériel génétique et ses propriétés .....</b>	1
Existence du matériel génétique .....	1
Reproduction conforme et mutation .....	3
Indépendance et réversibilité des mutations .....	7
Conclusions .....	8
<b>CHAPITRE 2. — Nature du matériel génétique .....</b>	11
Matériel génétique des virus .....	12
Caractères généraux des virus (12). Cycle d'un virus : le phage T2 (14). Matériel génétique du bactériophage T2 (15). Matériel génétique des virus à ARN (18).	
Matériel génétique des bactéries .....	21
Caractéristiques du pneumocoque (21). Transformation bactérienne (24).	
Cas des organismes eucaryotiques .....	27
Structure de l'ADN .....	30
Nucléotides (30). Chaîne polynucléotidique (31). Existence de deux chaînes complémentaires (32).	
Variation quantitative et qualitative de l'ADN selon les espèces ..	33
<b>CHAPITRE 3. — RéPLICATION du matériel génétique et division cellulaire chez les bactéries .....</b>	35
Vérification par marquage isotopique du mode semi-conservatif de réPLICATION de l'ADN .....	37
Marquage de l'ADN (37). Détermination de la densité de l'ADN (37). Variation de la quantité d'ADN parental au cours des générations cellulaires (38). Vérification de l'existence d'une chaîne parentale et d'une chaîne néosynthétisée à la suite de la duplication de l'ADN (41).	
RéPLICATION de l'ADN <i>in vitro</i> .....	41
RéPLICATION du chromosome bactérien .....	43
Autoradiographie du chromosome bactérien (43). Division de la bactérie (48). Les ADN-polymérases (48).	
<b>CHAPITRE 4. — Division cellulaire chez les eucaryotes .....</b>	51
Observation cytologique de la mitose .....	52
La prophase (52). La métaphase (54). L'anaphase (54). La télophase (55). Le cytoplasme pendant la mitose (55).	
Appareil mitotique .....	56
Les microtubules (57). Rôle de l'appareil mitotique (57).	
RéPLICATION de l'ADN pendant le cycle de division cellulaire .....	58

Moment de la duplication de l'ADN (58). Mode de duplication de l'ADN chromosomique (59). Existence de nombreux points de réPLICATION dans chaque chromosome (61).	
<b>Chromosomes .....</b>	<b>62</b>
L'ADN chromosomique (62). Organisation de l'ADN dans la chromatine (63). Nombre et morphologie des chromosomes (67). Chromosomes polytènes (70).	
<b>Conclusion .....</b>	<b>72</b>
<b>CAPITRE 5. — Mécanismes de transmission des gènes à travers la reproduction sexuée .....</b>	<b>73</b>
Signification biologique de la reproduction sexuée .....	73
Cycles de vie .....	75
Description cytologique de la méiose .....	77
Caractéristiques générales de la méiose (77). Première division méiotique : méiose I (ou division réductionnelle) (78). Seconde division méiotique : méiose II (ou division équationnelle) (81).	
Particularités de la méiose .....	82
Duplication de l'ADN pendant la méiose (82). Appariement des chromosomes et complexes synaptonémaux (83). Chiasmas (84).	
Conséquences génétiques de la méiose .....	87
<b>CAPITRE 6. — Passage des gènes à travers la reproduction sexuée : transmission d'un couple de caractères alléliques .....</b>	<b>89</b>
Lois générales .....	89
Transmission d'un couple de caractères alléliques chez le pois ....	93
Matériel et méthodes d'étude (94). Résultats (95). Interprétation (96). Confirmations expérimentales (97).	
Un cas d'absence de dominance : le système MN .....	98
Observation de la phase haploïde .....	101
Cycle d'un organisme haplobiontique : le champignon Neurospora (103). Répartition égale des allèles à l'intérieur de chaque asque (105). Moment de la ségrégation des allèles au cours de la méiose (105).	
Conclusions .....	108
<b>CAPITRE 7. — Passage des gènes à travers la reproduction sexuée : transmission de deux couples de caractères alléliques .....</b>	<b>109</b>
Définition de l'indépendance et la liaison génétique .....	109
Indépendance génétique .....	111
Observation de la phase haploïde (111). Observation de la phase diploïde (114). Interprétation de l'indépendance génétique (120).	
Liaison génétique .....	120
Mécanisme et définition de la distance génétique (120). Technique d'étude (122). Localisation des gènes liés (124). Cartes génétiques (127).	
Conclusion : théorie chromosomique de l'hérédité .....	128

<b>CAPITRE 8. — Chromosomes et hérédité . . . . .</b>	129
Chromosomes sexuels et hérédité liée au sexe . . . . .	129
Chromosomes sexuels (130). Hérédité liée au sexe (131).	
Variation quantitative des chromosomes . . . . .	135
Euploïdie (135). Aneuploïdie (137).	
Variation de la structure des chromosomes . . . . .	139
Localisation cytologique des gènes . . . . .	142
<b>CAPITRE 9. — Structure et définition du gène . . . . .</b>	147
Définition opérationnelle du gène chez Neurospora . . . . .	147
Le gène : unité de fonction (147). Mutants biochimiques (148).	
Fabrication d'hétérocaryons : test de complémentation (149).	
Localisation des diverses unités fonctionnelles (151).	
Possibilité de décomposer le gène en sous-unités : existence de recombinaisons intragéniques . . . . .	153
Test d'allélisme chez les organismes diploïdes . . . . .	155
La couleur rouge vif des yeux chez la drosophile (156). Le gène lozenge : historique du cistron (156).	
Structure du gène . . . . .	158
<b>CAPITRE 10. — Fonction du gène : contrôle génétique de la structure primaire des protéines . . . . .</b>	161
Perturbations génétiques du métabolisme . . . . .	162
Relation gène-réaction . . . . .	165
Détermination de la nature de la réaction déficiente (165).	
Chaîne de biosynthèse de l'arginine (167). Chaînes branchées et parallèles (169).	
Relation gène-protéine . . . . .	169
L'enzyme inactif existe toujours après la mutation (171). Nature chimique des altérations héréditaires des protéines (174).	
Colinéarité gène-chaîne polypeptidique . . . . .	178
<b>CAPITRE 11. — Fonction du gène : biosynthèse des protéines et code génétique . . . . .</b>	181
La synthèse des protéines ne se fait pas au niveau de l'ADN du gène . . . . .	181
Nature chimique de l'intermédiaire . . . . .	182
Acides ribonucléiques . . . . .	185
Structure chimique de l'ARN (185). L'ARN ribosomique (186).	
ARN messagers (187). ARN de transfert (189).	
Traduction de l'ARN messager . . . . .	191
Transcription et maturation de l'ARN . . . . .	193
Code génétique et mutations . . . . .	198
<b>CAPITRE 12. — Transferts de gènes : mécanismes de parasexualité chez les bactéries, ingénierie génétique et transposition . . . . .</b>	201
Processus de parasexualité chez les bactéries . . . . .	202
Transformation bactérienne (202). Transduction (205). Conjugaison (207).	

Ingénierie génétique .....	212
Intérêts (212). Méthodes (213).	
Génétique moléculaire .....	223
Séquencer l'ADN (223). Amplification de l'ADN in vitro (224).	
Éléments génétiques mobiles .....	224
Séquences d'insertion et transposons (224). Rétrotransposons, rétrovirus et pseudogènes (226).	
<b>CHAPITRE 13. — Éléments de génétique des populations .....</b>	<b>229</b>
Polymorphisme des populations .....	229
Fréquence des allèles et des génotypes .....	232
Facteurs influençant la fréquence des allèles .....	235
Influence de la sélection (237). Dérive génétique (240).	
Sources du polymorphisme génétique .....	241
Hypothèse d'une dérive aléatoire d'allèles sélectivement neutres (241). Sélection et polymorphismes génétique (242).	
Eugénique et races .....	243
Consanguinité .....	245
Homogamie et consanguinité (245). Coefficient de consanguinité (246).	
<b>CHAPITRE 14. — Phénomènes de régulation et différenciation cellulaire .....</b>	<b>249</b>
Existence de variations des fonctions cellulaires indépendantes d'une variation génétique .....	250
Niveaux de régulation .....	252
Régulation de l'activité des protéines (253). Régulation de la traduction (254). Régulation de la transcription (256).	
Régulation du métabolisme bactérien .....	256
Régulation du métabolisme du lactose chez le colibacille : un système inducible (256). Induction coordonnée (257). Génétique du « système lac » (257). Interprétation : notions d'opéron et de gène régulateur (259). Systèmes répressibles (261). Conclusions (262).	
Régulation séquentielle et lysogénisation chez le bactériophage lambda .....	263
Différenciation cellulaire .....	266
Les cellules différencierées semblent toutes contenir la même information (267). Les cellules d'un organisme adulte n'utilisent qu'une partie de leur information, différente d'un tissu à l'autre (267). C'est au niveau du fonctionnement des gènes que se situe essentiellement l'origine des différences entre les cellules spécialisées (269). Activité séquentielle des gènes pendant le développement embryonnaire (270). Éléments de réflexion sur la régulation pendant la différenciation cellulaire (273). Maintien de l'état différencié (276).	
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>278</b>
<b>INDEX ALPHABÉTIQUE .....</b>	<b>279</b>

# 1

## Introduction La notion de matériel génétique et ses propriétés

Chaque type d'être vivant donne naissance à des êtres vivants identiques. Les chats engendrent des chats, une graine de maïs redonnera un plant de maïs et les infusoires se divisent chacun pour donner deux infusoires strictement identiques à leur parent.

Il est facile de montrer que cette continuité à travers les générations des caractères spécifiques d'une espèce est régie par un centre d'information cellulaire. Celui-ci existe au sein de chaque cellule de chaque organisme et il est transmis aux cellules filles lorsque les cellules se divisent. La génétique est la science qui étudie la nature, le fonctionnement et la transmission de cette information à l'échelle des cellules, des individus ou des populations.

### Existence du matériel génétique

Voici une expérience très simple qui permet de mettre en évidence les propriétés fondamentales de la matière vivante et en particulier l'existence de ce centre d'information cellulaire (fig. 1-1). On choisira

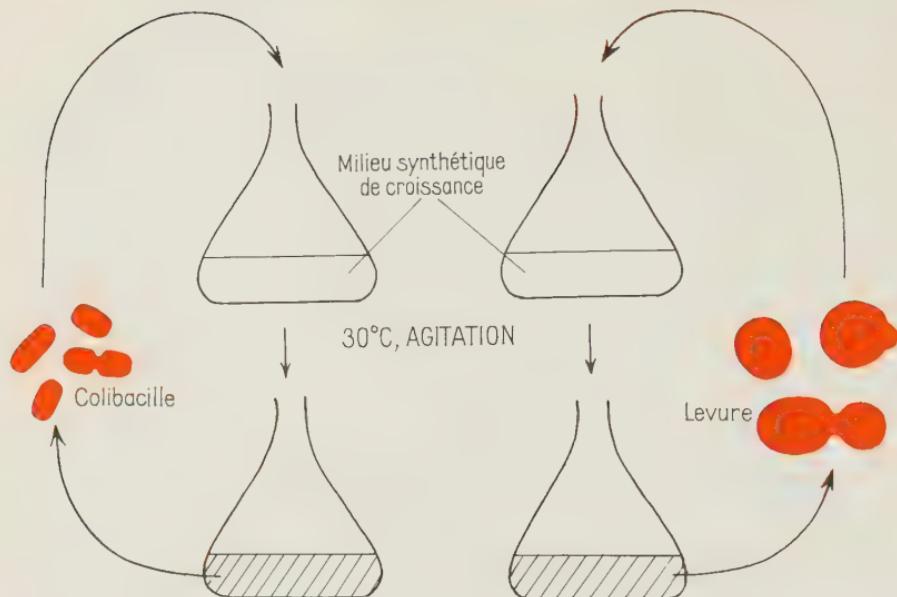


FIG. 1.1. — Existence d'un centre d'information cellulaire.

deux organismes unicellulaires les plus simples possible, mais néanmoins aisément distinguables l'un de l'autre. Il s'agit d'une bactérie, le colibacille : *Escherichia coli* et d'un champignon, la levure de boulangerie : *Saccharomyces cerevisiae*. Le colibacille est un commensal de l'intestin des mammifères. Il se présente au microscope sous la forme d'un bâtonnet d'environ 2 à 3 µm de long et 1 µm de diamètre. Dans les conditions optimales de nutrition et de température, la cellule de colibacille se divise toutes les 20 minutes environ. La cellule présente d'abord une phase d'élongation, puis se scinde par son milieu, donnant à nouveau naissance à deux cellules filles d'égale longueur. Les cellules de levure sont de forme ovoïde; leur taille avoisine 10 µm. Elles se divisent toutes les 90 minutes quand elles sont placées dans de bonnes conditions, c'est-à-dire dans un milieu nutritif, à la température de 30 °C. Cette division se fait par bourgeonnement.

On prépare deux erlenmayers contenant la même quantité d'un milieu synthétique de croissance simple, préalablement stérilisé et composé d'eau, de sels minéraux, d'un composé azoté et de glucose. L'un des erlenmayers estensemencé avec une petite quantité de cellules de colibacille et l'autre avec une quantité équivalente de cellules de levure. Les deux flacons sont ensuite placés à 30 °C sur un appareil destiné, en agitant le milieu, à assurer une bonne oxygénéation des cultures.

Après deux jours, le milieu dans chaque flacon est devenu trouble; ceci traduit la multiplication des colibacilles dans le premier et celle des levures dans le second. Cette multiplication a abouti, dans chaque erlenmayer, à des centaines de millions de cellules descendantes toutes identiques aux parents tant du point de vue morphologique (forme, taille) que du point de vue physiologique (modalités et durée du cycle de division). La seule différence entre les erlenmayers consiste dans la nature de l'espèce cellulaire qui y a été introduite; celles-ci sont ensuite reproduites dans des conditions physiques (température, agitation) et chimiques (composition du milieu synthétique de croissance) strictement identiques.

Les caractères spécifiques des cellules trouvent donc leur origine dans la cellule elle-même. Ceci implique l'existence, dans chaque cellule, d'un « centre de planification » qui dicte à celle-ci ses caractéristiques et qui est transmis sans modification apparente aux cellules filles, c'est-à-dire qui se dédouble exactement chaque fois que la cellule se divise.

Ce centre d'information cellulaire doit posséder un support matériel : on appellera celui-ci le matériel génétique.

## Reproduction conforme et mutation

Il est donc aisé d'établir que les caractères qui permettent de distinguer les espèces sont sous la dépendance d'un centre d'information dont les cellules héritent lorsqu'elles se divisent. Il est également vrai qu'à l'intérieur d'une espèce, il existe une grande variabilité des individus qui la constituent. Ainsi, dans l'espèce humaine, chaque individu peut être distingué de ses congénères par une multitude de caractères morphologiques, physiologiques ou psychologiques. Cette originalité de chaque individu n'est pas l'apanage de l'être humain. Quelle est la source de cette variabilité intraspécifique? Est-elle également régie par le matériel génétique, ou bien dépend-elle d'autres facteurs?

■ **Choix d'un organisme : le colibacille.** — Quelques éléments de réponse à cette question peuvent être fournis par l'étude de la transmission au cours des générations cellulaires de quelques caractères bien définis. Notre choix va à nouveau se porter sur le colibacille qui, comme la plupart des microorganismes, présente de grands avantages pour ce type d'étude. Il s'agit en effet d'un organisme unicellulaire dont la structure et le mode de reproduction sont relativement simples. Sa taille réduite et sa vitesse de division permettent de manipuler aisément des millions d'individus et d'obtenir en un temps très court un grand nombre de descendants.

■ **Les caractères étudiés.** — Chez des microorganismes unicellulaires tels que les bactéries, les caractères morphologiques sont peu

pratiques. Ils nécessitent l'observation individuelle de chaque cellule au microscope, ce qui limite considérablement le nombre des cellules observées. Au contraire, certains caractères physiologiques peuvent être utilisés avec profit car ils sont aisés à cribler. Ainsi, les bactéries peuvent être sensibles ou résistantes à un certain nombre d'antibiotiques lorsque ceux-ci dépassent un seuil limite de concentration dans le milieu de culture. On connaît également de nombreuses espèces de virus, les *bactériophages*, capables d'infecter les bactéries et de provoquer leur lyse. Ici aussi, les bactéries peuvent être sensibles ou résistantes à une espèce donnée de bactériophage. Enfin, on a vu que le colibacille utilise pour croître des éléments qui lui sont fournis par le milieu de culture; parmi ces éléments figure toujours un sucre, généralement le glucose. Ce sucre est utilisé comme source de carbone. Par une série de réactions intracellulaires, il est transformé en divers éléments constitutifs de molécules complexes qui composent la bactérie. Le glucose peut être remplacé dans le milieu synthétique par d'autres sucres : maltose, galactose, lactose, etc... On peut distinguer, là encore, plusieurs types de bactéries selon qu'elles sont capables ou non de métaboliser le sucre qui leur est fourni.

On choisira pour notre expérience une lignée de bactéries qui présente les caractères suivants :

— sensibilité à un antibiotique : l'érythromycine (ce caractère sera symbolisé ainsi : E<sup>S</sup>);

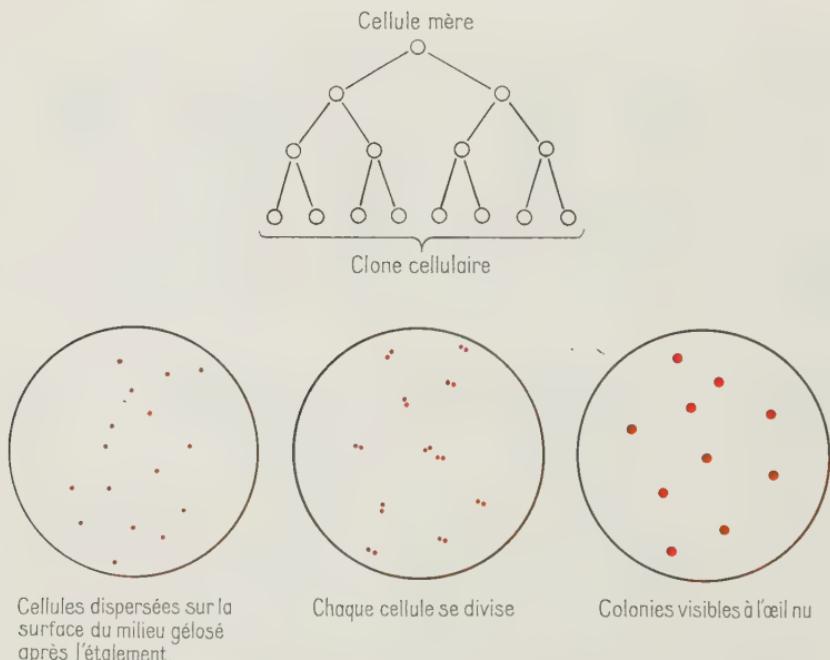


FIG. 1.2. — *Colonies bactériennes : réalisation de clones cellulaires.*

- sensibilité à un bactériophage : le phage T1 ( $T1^s$ );
- incapacité à métaboliser le lactose ( $lac^-$ ).

■ **Réalisation pratique d'un clone.** — Une cellule présentant les caractères  $EST1^S lac^-$  donnera-t-elle naissance à des cellules descendantes qui possèdent les mêmes caractéristiques? Pour le savoir, on va laisser effectuer à une cellule un certain nombre de divisions. On obtiendra ainsi un *clone* cellulaire, c'est-à-dire un ensemble de cellules toutes issues par division cellulaire de la même cellule parentale (fig. 1-2).

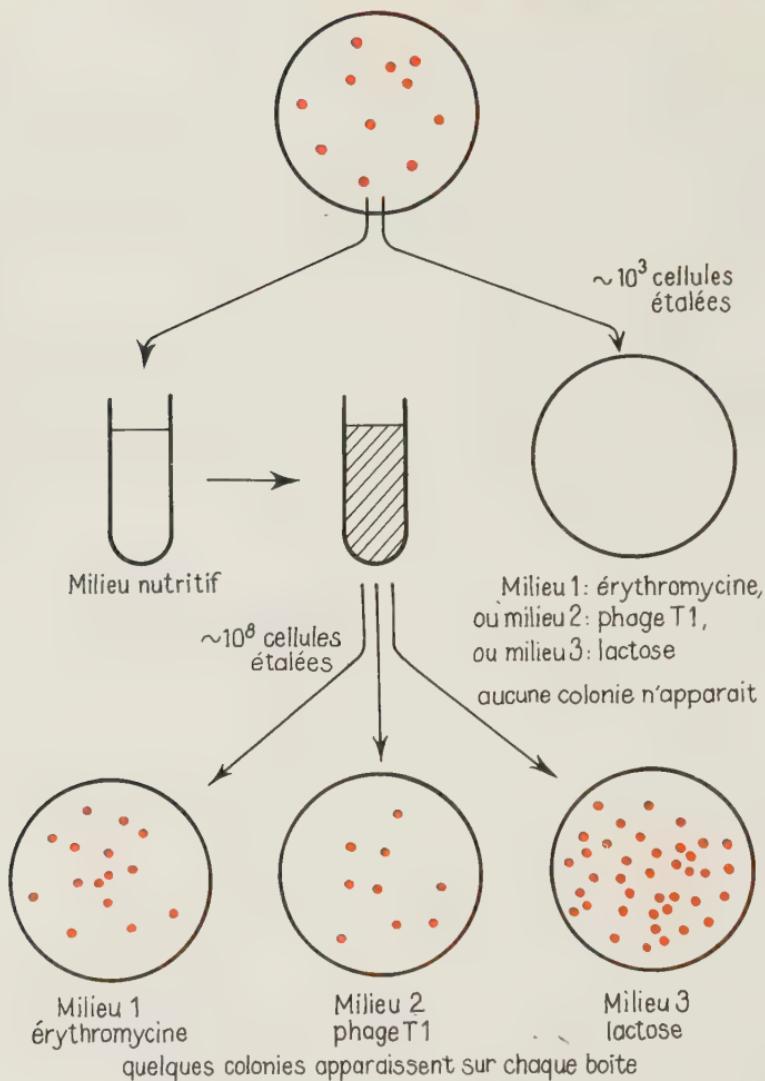
Pratiquement, on réalise autant de clones qu'on le désire en étalant un petit volume d'une suspension de bactéries sur la surface d'un milieu nutritif solide gélosé, en boîte de Pétri. Chaque cellule va ensuite se diviser sur place. On obtiendra ainsi, après quelques dizaines d'heures, autant d'amas, constitués de millions de cellules, qu'il se trouvait à l'origine de cellules étalées sur le milieu. Chaque amas est bien visible à l'œil nu : on l'appelle une colonie. Chaque colonie correspond à un clone cellulaire.

■ **Conservation des caractères et apparition de variants.** — On prélève, à partir d'une des colonies obtenues, 3 aliquotes d'environ 1 000 cellules chacune qui sont respectivement étalées sur :

- (1) milieu nutritif + érythrocymicine,
- (2) milieu nutritif + bactériophage T1,
- (3) milieu nutritif dans lequel le lactose remplace le glucose.

Aucune colonie n'apparaît sur aucun des trois milieux (fig. 1-3, B) : toutes les cellules étalées ont été tuées par l'antibiotique (milieu 1), ou lysées par le bactériophage (milieu 2), ou bien n'ont pu utiliser le lactose pour croître (milieu 3). Elles ont toutes gardé les mêmes caractéristiques que la cellule-mère.

Renouvelons cette expérience en étudiant cette fois-ci une descendance clonale beaucoup plus grande. On transfère le reste de la colonie à un tube à essai contenant du milieu nutritif liquide : la croissance va se poursuivre et on obtiendra ainsi plusieurs milliards de cellules toutes issues de la même cellule-mère à l'origine de la colonie. On prélève cette fois-ci, à partir du tube, 3 aliquotes représentant chacune environ  $10^8$  cellules et on les étale à nouveau sur trois milieux sélectifs (fig. 1-3, A). On observe alors l'apparition de quelques colonies sur chaque boîte de Pétri. Si on considère l'étalement effectué sur le milieu 1 (additionné d'érythromycine), l'existence de ces colonies montre que, parmi les  $10^8$  cellules étalées, quelques-unes ne sont plus sensibles à l'érythromycine. Elles ont acquis le caractère  $ER^r$  de résistance à l'érythromycine. Chacune de ces cellules est à l'origine d'une colonie. Ceci signifie que lorsqu'elle se divise, elle donne naissance à des cellules filles qui ont conservé le nouveau caractère  $ER^r$  et qui le transmettent elles-mêmes à leur descendance. On a montré expérimentalement que la mutation vers la résistance au bactériophage T1 se produisait fortuitement : elle n'est pas

FIG. 1.3. — *Sélection de mutants*

induite par le milieu sélectif, mais préexiste dans les cellules modifiées avant l'étalement. De même, le caractère modifié continue à être transmis aux descendants en l'absence de l'agent sélectif. Ainsi, si on transfère les cellules  $E^R$  sur milieu sans antibiotique, ces cellules conservent la potentialité de résister à l'érythromycine et les descendants continuent à manifester cette résistance.

De même, les colonies apparues sur les boîtes 2 et 3 résultent de l'apparition fortuite de variants ayant acquis le caractère  $T1^R$  de résistance au phage, ou la capacité  $lac^+$  de métaboliser le lactose. Ces variants transmettent la nouvelle propriété à tous leurs descendants.

■ **Conclusion.** — Ces observations peuvent être résumées ainsi : un caractère se transmet identique à lui-même de génération en génération ; il est pourtant susceptible de rares changements. Lorsque le caractère alternatif s'est installé, il se transmet à son tour tel quel à tous les descendants.

Dans les cas considérés, les caractères alternatifs sont mis en évidence dans des conditions identiques d'environnement correspondant au milieu sélectif ; néanmoins, la potentialité d'exprimer un caractère ou l'autre est transmise indépendamment du milieu de croissance utilisé. Ceci signifie que, pour chaque caractère considéré, il existe une information propre à la cellule qui dicte à celle-ci son comportement. Cette information est *héritaire* : elle est reproduite de manière conforme dans chaque cellule fille, à chaque division cellulaire. L'apparition aléatoire de variants montre qu'il existe très rarement des accidents à la reproduction conforme de l'information cellulaire. Ces accidents sont appelés *mutations*. Les cellules mutées transmettent le nouveau caractère à leurs descendants. Cette héritérité du nouveau caractère ne s'explique que si le matériel génétique a subi lors de la mutation un changement qui, une fois installé, va se transmettre lui-même de manière strictement conforme.

## Indépendance et réversibilité des mutations

L'expérience décrite précédemment soulève plusieurs questions.

■ **Les cellules mutées ayant acquis un nouveau caractère sont-elles également modifiées pour les autres caractères ?** — Il est facile de vérifier que les cellules ayant acquis le caractère  $E^R$  sont restées  $T1^S$  et  $lac^-$ . En effet, les cellules des colonies apparues sur le milieu 1 ne poussent pas quand elles sont transférées sur les milieux 2 et 3. De même, les cellules ayant acquis les caractères  $T1^R$  ou  $lac^+$  ont conservé les deux autres caractères d'origine. Les mutations peuvent affecter des caractères différents, mais le changement d'un caractère n'entraîne pas la modification des autres caractères. On peut démontrer que les mutations affectant des caractères distincts se produisent de manière strictement indépendante : la probabilité pour que deux mutations affectent simultanément deux caractères est égale au produit des probabilités simples.

■ **Quelle est la fréquence des mutations ?** — Le nombre de colonies apparues sur le milieu sélectif (par exemple 9 colonies sur le

milieu 2) permet de mesurer la *fréquence de cellules mutées* (ici  $9 \times 10^{-8}$ ), c'est-à-dire la fréquence dans le clone cellulaire étudié de cellules ayant muté pour le caractère considéré. La fréquence de cellules mutées ne reflète qu'indirectement la *fréquence de mutation* qui est définie comme la probabilité de mutation par *cellule* et par *génération*. En effet, la fréquence de cellules mutées ne sera égale à la fréquence de mutation que si toutes ces cellules ont subi la mutation après la division précédant l'étalement. Or, au moment où le clone est étudié, plusieurs cellules mutées peuvent correspondre à une seule mutation, si elles sont issues par division d'une même cellule qui a subi la mutation une ou plusieurs générations cellulaires auparavant. Plusieurs méthodes permettent de mesurer la fréquence de mutation. Celle-ci varie selon l'organisme et le caractère considéré. A titre indicatif, la fréquence de mutation  $T1^S \rightarrow T1^R$  chez *Escherichia coli* est de  $5 \cdot 10^{-8}$ . Elle est de  $2 \cdot 10^{-7}$  pour  $lac^- \rightarrow lac^+$ .

Si la probabilité pour que deux caractères distincts soient modifiés simultanément est pratiquement nulle, il est toutefois possible d'obtenir des variants différant par plusieurs caractères de la cellule d'origine. Si on isole des bactéries qui ont acquis le caractère  $ER^R$ , on peut les multiplier et rechercher dans le sous-clone des variants qui, à la suite d'une seconde mutation, auront acquis le caractère  $T1^R$ . Ainsi, par étapes successives, les mutations peuvent s'accumuler dans une même lignée cellulaire.

■ ***Les mutations sont-elles réversibles?*** — Lorsque la mutation a abouti à un changement de caractère, celui-ci est transmis fidèlement aux cellules descendantes. Pourtant, si on isole un sous-clone muté et qu'on le laisse se multiplier, on observe quelquefois des retours au caractère d'origine. Cette réacquisition du caractère d'origine se fait également par mutation; elle apparaît brusquement et est d'emblée héréditaire. On traduit cette propriété en disant qu'une mutation est réversible : elle peut s'effectuer dans les deux directions.

## Conclusions

En résumé :

- le matériel génétique d'une bactérie peut subir des mutations variées;
- chacune de ces mutations altère une propriété spécifique de l'organisme et survient indépendamment des autres;
- les mutations sont réversibles, elles peuvent s'effectuer dans les deux directions.

■ ***Notion de gène.*** — Ces observations apportent des indications importantes sur les propriétés du matériel génétique. Celui-ci peut

être divisé en un certain nombre d'unités. Chaque unité, par l'intermédiaire d'une fonction cellulaire, est impliquée dans l'expression d'un caractère. La mutation n'affecte qu'une seule de ces unités à la fois. Celle-ci est alors modifiée et cette modification se traduit par un changement du caractère qu'elle contrôle. Ces unités héréditaires d'information sont appelées *gènes*.

Les gènes apparaissent donc comme des unités d'information dont l'ensemble constitue le *génome* de la cellule. Lors de la division cellulaire, c'est l'ensemble des gènes qui est fidèlement reproduit (sauf mutation) dans chaque cellule fille.

■ **Notion d'allèle.** — Le fait qu'une mutation soit réversible montre qu'elle n'aboutit pas à la perte du gène, mais seulement à un changement de sa structure. Un nouveau changement accidentel peut reconstituer la forme originelle du gène. Un gène peut donc exister sous plusieurs états, on dira : sous plusieurs *formes alléliques*. Par exemple, l'allèle  $e^R$  pour le caractère  $E^R$  et l'allèle  $e^S$  pour le caractère alternatif  $E^S$ .

■ **Notion de génotype.** — On n'a envisagé ici que trois caractères bien particuliers, mais le nombre de gènes chez *Escherichia coli* est naturellement bien plus élevé. Il est estimé à environ 2 000. Si chaque gène peut exister sous plusieurs formes alléliques, cela représente un nombre infiniment grand de combinaisons d'allèles possibles. On appelle *génotype* d'un individu la combinaison d'allèles portée par celui-ci.

■ **Notion de phénotype.** — On distingue le génotype du *phénotype* qui correspond aux caractères effectivement exprimés par l'individu considéré. Cette distinction est très importante. En effet :

— Des génotypes différents peuvent être indistinguables dans certaines conditions. C'est le cas, par exemple, des bactéries  $lac^-$  et  $lac^+$  cultivées sur milieu glucosé : le caractère  $lac^-$  ou  $lac^+$  ne s'exprime qu'en présence de lactose comme seule source de carbone.

— Au contraire, le même génotype peut aboutir à des phénotypes différents selon les conditions d'environnement. Par exemple, certaines lignées de bactéries sont incapables de croître sur lactose à 37 °C. Si on cultive ces bactéries à 28 °C, elles sont alors capables d'assimiler le lactose, mais elles s'arrêteront immédiatement de croître si on les place à nouveau à 37 °C. Bien que le génotype n'ait pas varié, le caractère exprimé par ces cellules est  $lac^+$  ou  $lac^-$  selon la température.

Le phénotype d'un individu résulte donc de l'interaction entre son génotype et l'environnement dans lequel il est situé.

■ **Généralisation.** — Les notions d'information cellulaire, de gène, d'allèle, de génotype, de reproduction conforme et de mutation peuvent être généralisées à l'ensemble des êtres vivants. Le nombre

des gènes varie selon les espèces en fonction de leur complexité. Chez les plus petits virus, le nombre des gènes se compte sur les doigts de la main; il s'élève à plus de 100 pour les virus les plus complexes. Ce chiffre est supérieur à 10 000 chez la drosophile, petit insecte diptère particulièrement bien connu sous l'aspect génétique. Il est de l'ordre de 100 000 dans l'espèce humaine où plusieurs milliers de gènes ont été répertoriés, ce nombre s'accroissant continuellement.

C'est dire que la variabilité génétique est le lot commun de tous les êtres vivants. Le génotype n'est pas une situation acquise une fois pour toutes qui se perpétue à travers les générations, mais il est au contraire en perpétuelle évolution. Si on envisage des populations suffisamment importantes, la mutation, qui se présente comme un accident exceptionnel à l'échelle du gène, joue néanmoins un rôle considérable dans cette variabilité des individus. Pour prendre un exemple, il est facile d'obtenir une densité de  $10^8$  cellules de colibacille par ml. Chacune de ces cellules possède 2 000 gènes; le chiffre de  $5 \times 10^{-8}$  est une estimation raisonnable de la probabilité moyenne de mutation d'un gène. Ceci donne 10 000 mutations ( $10^8 \times 2\,000 \times 5 \cdot 10^{-8}$ ) dans un seul ml de milieu de culture!

La mutation, au-delà de son importance biologique, est à la base de toute méthodologie génétique puisqu'un gène n'est identifié, au travers du caractère qu'il contrôle, que lorsque celui-ci est susceptible de subir des modifications héréditaires.

Cette méthodologie sera décrite lorsque sera abordé le problème de l'hérédité tel qu'il est conçu le plus communément: c'est-à-dire la transmission des caractères des parents aux enfants. A partir des lois de l'hérédité, c'est *l'organisation du matériel génétique*, c'est-à-dire la manière dont sont disposés et localisés les gènes dans la cellule qui pourra être précisée. Le cas des bactéries sera considéré à part: cela nous conduira à envisager les technologies récentes qui permettent d'effectuer des transferts de gènes d'une espèce à l'autre.

Auparavant, seront envisagés les problèmes de la *nature du matériel génétique*, c'est-à-dire quel est le support chimique de l'information cellulaire, et celui de la *reproduction* de ce matériel: par quel processus se duplique-t-il de manière à donner deux copies identiques à lui-même et comment celles-ci sont-elles réparties également dans les cellules filles?

On verra ensuite par quelle séquence d'événements l'information cellulaire entreposée dans chaque gène est traduite dans les caractères qu'elle commande. Cette question est celle du *fonctionnement du matériel génétique*. On verra également qu'une cellule est capable de moduler son activité en fonction de l'environnement ou de sa spécialisation dans les organismes pluricellulaires: cette modulation implique une *régulation* de l'activité des gènes ou de leurs produits d'activité.

Enfin, un chapitre particulier sera consacré à la génétique des populations. On y envisagera les divers facteurs qui déterminent le contenu génétique d'une population d'organismes de la même espèce.

# 2

## Nature du matériel génétique

Le chapitre précédent nous a appris que le matériel génétique est divisé en de très nombreux gènes et que chacun de ces gènes assure une double fonction : il se reproduit strictement identique à lui-même à chaque division cellulaire et il détermine un caractère spécifique.

Pour comprendre comment ces fonctions s'effectuent au niveau moléculaire, il est indispensable de savoir d'abord quelle est la nature de la substance chimique qui constitue ces gènes.

Avant de décrire l'approche expérimentale de ce problème, il est déjà possible de spéculer sur la nature de la substance chimique recherchée :

— Celle-ci doit être capable de s'autoreproduire. En effet, si l'information cellulaire est entreposée dans le matériel génétique, il faut bien que celui-ci, d'une manière ou d'une autre, soit sa propre matrice lors de sa reproduction.

— Elle doit également être susceptible d'expliquer les propriétés d'information des gènes. Sa structure doit correspondre à un code chimique comparable, de manière imagée, à une carte perforée ou à une suite significative de lettres; de même que l'ordinateur ou le cerveau sont capables de traduire le message qui leur est présenté, la cellule doit pouvoir lire celui qui est enfermé dans le matériel génétique.

— Enfin, dans la mesure où tous les êtres vivants manifestent les mêmes mécanismes fondamentaux de la vie et notamment les propriétés génétiques définies dans le chapitre précédent, l'hypothèse la plus simple revient à admettre que la substance chimique qui constitue le

matériel génétique est soit la même, soit très similaire chez tous les organismes.

Si cette hypothèse est exacte, elle va permettre de limiter considérablement le nombre des substances candidates au rôle de matériel génétique. En effet, il existe des êtres vivants dont la structure est extrêmement simple et qui sont composés d'un petit nombre de molécules différentes : il s'agit des virus.

## Matériel génétique des virus

### Caractères généraux des virus

Les virus trop petits pour être observés au microscope optique, étaient fort mal connus à l'origine. Ils étaient définis par deux critères : leur filtrabilité (ils n'étaient pas retenus par des filtres dont les pores étaient suffisamment petits pour arrêter les bactéries) et leur pathogénicité.

Ces critères n'ont plus de signification véritable à présent. La filtrabilité traduisait la petite taille des virus. Or, selon les espèces, cette taille est très variable : de moins de 20 nm (0,02 µm) à plus de 250 nm (0,25 µm). Cette dernière taille est supérieure à celle des plus petites bactéries. Le critère du pouvoir pathogène n'est pas non plus définitif car celui-ci peut être perdu par mutation et on connaît de plus certains virus dits « tempérés » qui se multiplient en synchronie avec la cellule qu'ils parasitent sans provoquer de dommage à celle-ci.

■ **Caractères communs.** — Les virus ne sont pas des cellules. Ils sont dépourvus des constituants élémentaires qui permettent de définir celles-ci. Ils ne possèdent ni membrane cellulaire, ni cytoplasme, ni noyau. Les virus représentent donc une catégorie exceptionnelle d'organismes définis par leur nature acellulaire. Ceci a pour conséquence un parasitisme cellulaire obligatoire. On peut opposer deux phases dans le cycle de vie d'un virus. L'une correspond à un état intracellulaire actif. L'information génétique du virus détourne le métabolisme de la cellule hôte à son profit; elle utilise les molécules organiques et les structures cellulaires de la cellule hôte pour réaliser la synthèse de nouvelles particules virales. Le virus se multiplie de cette manière aux dépens de la cellule dont il est l'hôte. Ceci explique les propriétés pathogènes des virus car la cellule hôte ne survit généralement pas à l'infection. L'autre phase correspond à l'état extracellulaire. Après sa libération, la particule virale qu'on appelle alors *virion* n'est qu'un assemblage inerte de molécules organiques. Le virion possède une information génétique, mais en l'absence de la cellule hôte, aucun outil ne peut traduire les ordres qu'elle contient.

Contrairement aux cellules, le virion ne possède pas à lui seul les éléments permettant sa propre reproduction. Il doit infecter une cellule pour se multiplier. Les virus présentent une certaine communauté dans leur constitution chimique. Ils sont toujours constitués d'un acide nucléique et un seul, soit l'ADN (acide désoxyribonucléique), soit l'ARN (acide ribonucléique) et de protéines.

■ **Differences.** — Il existe un grand nombre de types de virus et ils sont encore loin d'être tous connus.

- *La nature de l'acide nucléique* permet de classer les virus en deux catégories (à ADN ou à ARN). Du point de vue biochimique, on note chez certains virus l'existence de constituants chimiques autres que l'acide nucléique et les protéines : lipides et polysaccharides.

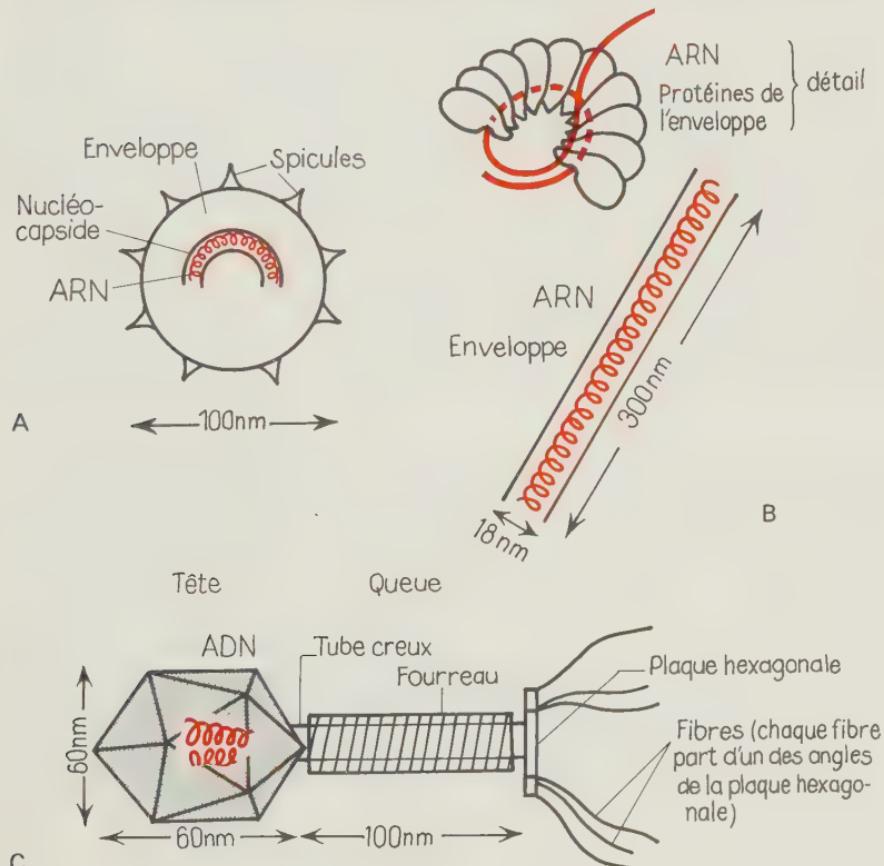


FIG. 2.1. — Morphologie de quelques virions. A. — Virus de la grippe.  
B. — Virus de la mosaïque du tabac. C. — Bactériophage T2.

Deux critères supplémentaires permettent une classification plus précise des virus.

- *Nature de l'hôte* : Les virus peuvent parasiter des cellules animales (*virus animaux*) ou végétales (*virus végétaux*) ou des bactéries (*bactériophages* ou *phages*). Un type de virus peut parasiter une espèce précise ou plusieurs espèces distinctes. On connaît souvent plusieurs types distincts de virus capables de parasiter la même espèce. Ainsi, chez l'être humain, les virus de la poliomyélite, de la grippe, de la variole, de l'hépatite, etc...; chez le colibacille on connaît également plusieurs dizaines d'espèces.
- *Morphologie* : L'utilisation du microscope électronique a permis de connaître la morphologie des virions. Celle-ci est très variable selon les types. Quelques exemples sont donnés dans la figure 2-1.

### Cycle d'un virus : le phage T2

Le cycle du phage T2 est relativement simple à étudier puisque l'organisme infecté est unicellulaire : il s'agit du colibacille.

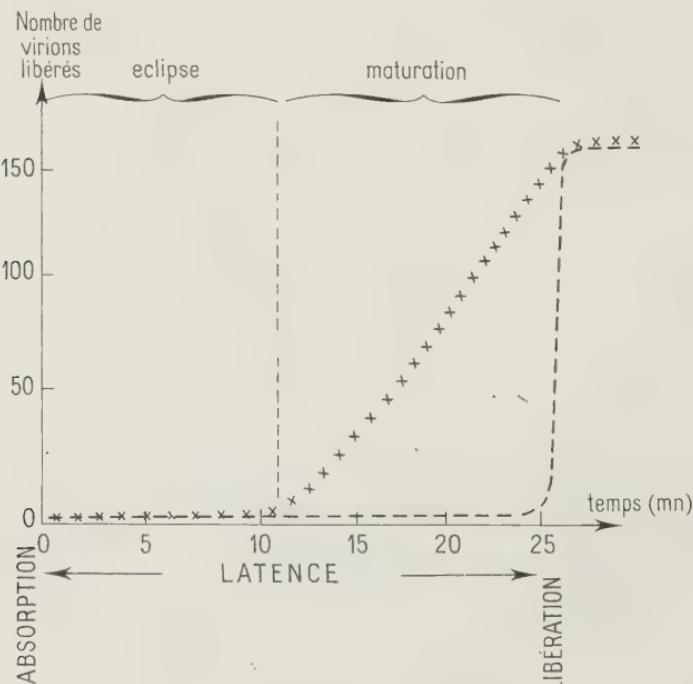


FIG. 2.2. — Cycle du bactériophage T2.

----- Virions libérés spontanément; × × × Virions dans la bactérie.

Pour se multiplier, le phage va infecter une cellule bactérienne et détourner à son profit le métabolisme de cette cellule pour constituer plus d'une centaine de virions. Ceux-ci seront libérés par la rupture de l'enveloppe de la cellule hôte moins de 30 mn après le début de l'infection. Ce processus se divise en trois phases principales : adsorption, latence, libération (fig. 2-2).

■ **Phase d'adsorption.** — Lorsqu'une cellule de colibacille et un phage T2 entrent en contact, ce dernier reconnaît à la surface de la bactérie des sites d'attachement spécifiques sur lesquels il s'adsorbe par l'intermédiaire de sa queue. Ces rencontres se font de manière passive, aucun des deux organismes ne se déplaçant activement. La plaque hexagonale et les fibres du phage jouent un rôle important dans le processus d'adsorption.

■ **Phase de latence.** — Très rapidement après l'adsorption débute la phase de latence : celle-ci dure environ 25 mn pendant lesquelles le phage a cessé d'exister en tant qu'entité indépendante : il est entré en phase végétative (on parle de *phage végétatif*). Pendant cette phase de latence, il y a multiplication du phage à l'intérieur de la cellule hôte. Il est possible de vérifier ceci en lysant artificiellement la bactérie à l'aide d'un produit qui rompt sa paroi et libère son contenu dans le milieu. On peut ainsi déterminer à chaque moment quel est le nombre de particules phagiques mûres présentes dans la bactérie. On constate alors que la phase de latence se divise en deux périodes :

— période d'éclipse : jusqu'à la douzième minute, on ne relève la présence d'aucune particule phagique mûre dans la bactérie infectée;

— période de maturation : à partir de la douzième minute, des particules phagiques mûres apparaissent; leur nombre augmente linéairement en fonction du temps.

■ **Phase de libération.** — Environ 25 mn après l'infection, la bactérie se lyse spontanément et libère environ 150 virions qui possèdent les mêmes caractéristiques que celui qui fut à l'origine de l'infection. Chacun de ces virions peut infecter une nouvelle cellule, initiant un nouveau cycle.

Ainsi, à la suite de l'adsorption, l'infection virale va conduire à la lyse de la bactérie hôte et à la libération d'une progéniture abondante de bactériophages. Cette multiplication doit résulter de la pénétration dans la bactérie du matériel génétique du bactériophage qui va assurer sa propre reproduction et le rôle informateur permettant la synthèse dans la bactérie hôte des molécules propres des nouveaux virions (en particulier les protéines de l'enveloppe).

## Matériel génétique du bactériophage T2

■ **Approche du problème.** — Il s'agit de savoir lequel des deux constituants moléculaires du bactériophage : l'ADN et les protéines,

est responsable du processus infectieux, c'est-à-dire lequel de ces deux constituants correspond au matériel génétique.

Une observation intéressante suggère une approche de ce problème. Pendant la phase de latence, on constate au microscope électronique qu'au moins une portion de l'enveloppe phagique reste attachée à la paroi de la bactérie et n'a pas pénétré dans celle-ci : il s'agit de la « dépouille » du phage. On est donc amené à la conclusion que seulement une partie des molécules qui constituent le phage a pénétré dans la bactérie où elle accomplit son rôle de matériel génétique.

Le problème revient à connaître la nature chimique des molécules phagiques qui ont pénétré dans la bactérie à la suite de l'adsorption.

■ **Démonstration de la pénétration de l'ADN phagique dans la cellule hôte.** — Le principe de l'expérience est simple : on utilise le marquage radioactif. A la suite de l'infection, on ne retrouvera la radioactivité dans la bactérie que dans la mesure où les molécules marquées ont pénétré dans celle-ci.

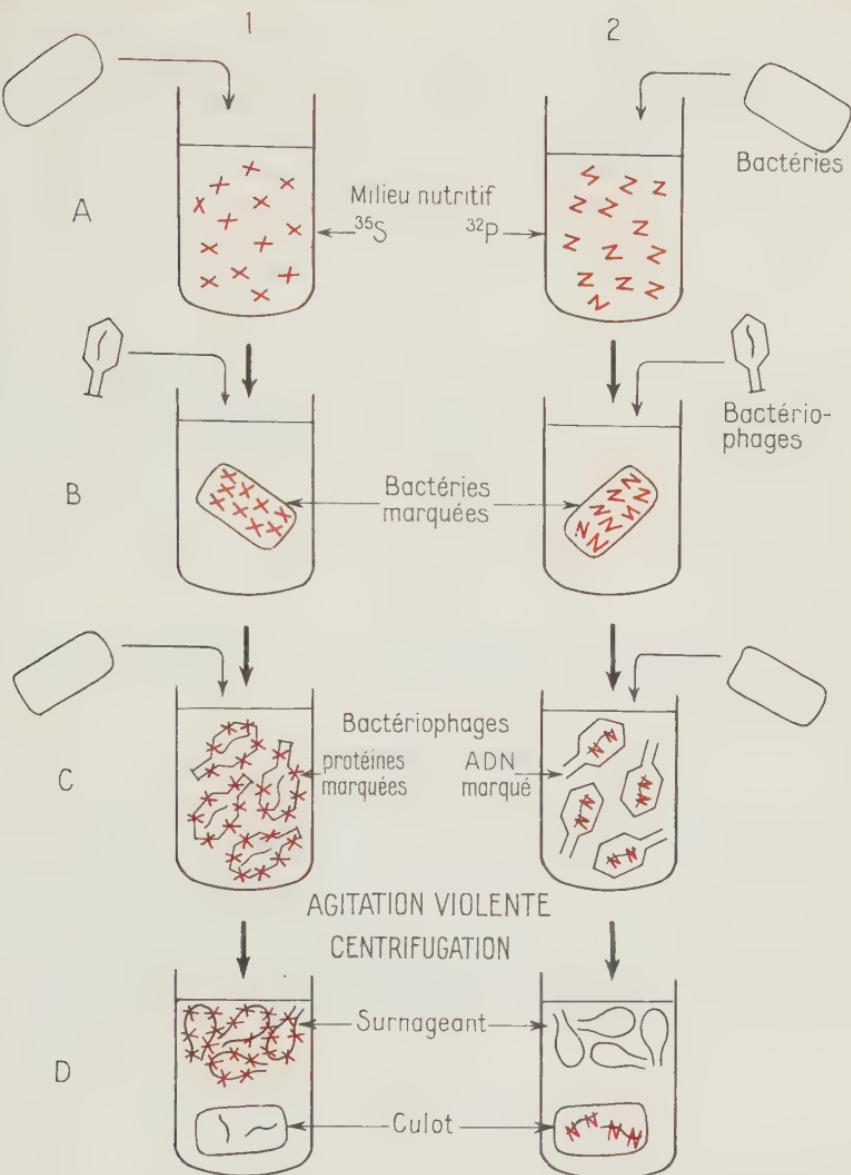
Il s'agit d'abord de marquer spécifiquement les deux types de molécules constitutantes. Pour cela, on utilise les isotopes  $^{35}\text{S}$  du soufre et  $^{32}\text{P}$  du phosphore. Le soufre est incorporé exclusivement dans les protéines et le phosphore exclusivement dans l'ADN.

On fabrique deux lots de bactériophages. L'un (1) à protéines radioactives et l'autre (2) à ADN radioactif (fig. 2-3). Un lot de bactéries non marquées est infecté par les phages du lot (1) et un autre par ceux du lot (2). A la suite de l'infection, on soumet les deux lots de bactéries à une agitation violente de manière à séparer les bactéries des dépouilles phagiques. Chaque lot est alors centrifugé : les cellules bactériennes descendent au fond du tube (culot) à la suite de la centrifugation, alors que les dépouilles phagiques restent dans le surnageant. Il reste alors à mesurer la radioactivité du culot (cellules) et du surnageant (dépouilles). Pour le premier lot (protéines radioactives), la radioactivité se trouve dans le surnageant; elle se trouve dans le culot pour le second lot (ADN radioactif).

C'est donc l'ADN des phages qui pénètre dans les bactéries et détermine le processus infectieux. Le matériel génétique du bactériophage T2 est constitué par son ADN.

■ **Le phage végétatif.** — A la lumière des résultats précédents, on peut maintenant décrire schématiquement ce qui se passe dans les bactéries à la suite de l'adsorption (fig. 2-4).

Un enzyme présent dans la queue du phage digère localement la paroi bactérienne. L'enveloppe joue le rôle d'une seringue : le fourreau se contracte, amenant le tube creux en contact avec le cytoplasme et l'ADN est injecté dans la bactérie. Tout le métabolisme propre à la bactérie va alors être arrêté : elle n'effectue plus de synthèse pour son propre compte et ne se divise plus. Au contraire, les éléments bactériens vont être utilisés pour la multiplication des phages. L'ADN viral va d'abord se multiplier, puis il va spécifier la



**FIG. 2.3. — Pénétration de l'ADN de T2 dans les cellules bactériennes.**  
**A.** — Des bactéries sont mises en croissance dans un milieu contenant le précurseur radioactif :  $^{35}\text{S}$  pour les protéines (1),  $^{32}\text{P}$  pour l'ADN (2).  
**B.** — Les bactéries, après intégration des précurseurs, sont infectées par les phages. **C.** — On obtient des phages marqués; chaque lot est mis en présence de bactéries non marquées. **D.** — Après adsorption des phages, les dépouilles phagiques sont détachées des parois bactériennes; après centrifugation, on décèle la radioactivité soit dans le surnageant (1) soit dans le culot (2).

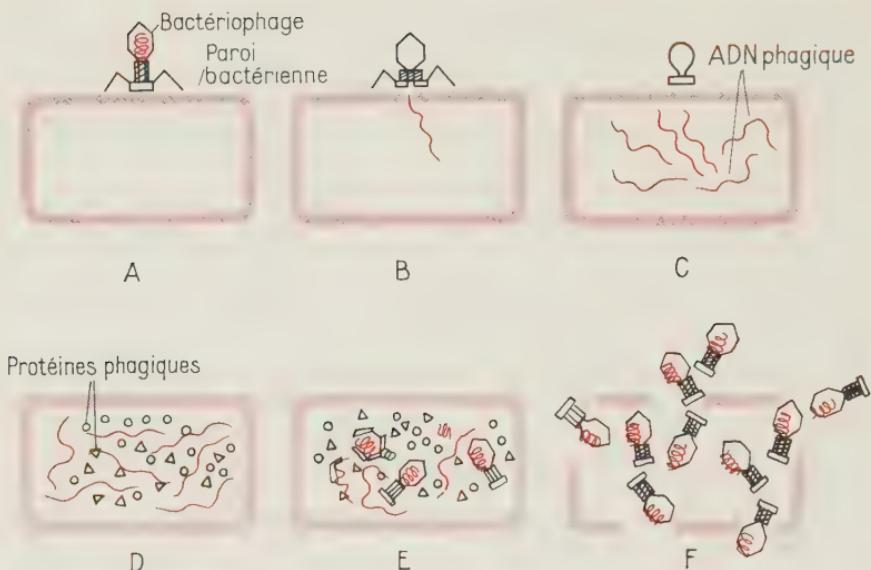


FIG. 2.4. — Cycle du bactériophage T2. A. — Adsorption. B. — Pénétration. C. — Multiplication de l'ADN phagique. D. — Élaboration des protéines virales. E. — Phase de maturation. F. — Libération.

formation des protéines de l'enveloppe du phage : celles-ci commencent à apparaître environ 9 mn après l'infection. Ces protéines vont s'assembler autour de chaque molécule d'ADN pour constituer des virions complets : c'est le début de la phase de maturation. Le nombre de virions mûrs augmente ensuite régulièrement jusqu'au moment où la paroi bactérienne se rompt, libérant ainsi les virions dans le milieu ambiant. La rupture de la paroi responsable de la lyse de la bactérie est due à un enzyme également spécifié par l'ADN phagique : le lysozyme.

### Matériel génétique des virus à ARN

On a montré chez les virus à ARN que le matériel génétique correspondait également à l'acide nucléique. Ces expériences intéressent notamment le virus de la mosaïque du tabac (VMT). Ce virus pénètre dans les cellules des feuilles de tabac et perturbe leur métabolisme. Les cellules infectées perdent leur chlorophylle. Les zones contaminées se présentent comme des taches jaunâtres.

L'enveloppe protéique des bâtonnets de VMT est constituée par plus de 2 000 molécules protéiques identiques qui présentent un

arrangement hélicoïdal autour de la molécule d'ARN centrale. Il est possible *in vitro* de dissocier les protéines de l'enveloppe et de séparer ainsi l'ARN des protéines. Dans les conditions propices, lorsqu'on remet en présence l'ARN et les protéines, celles-ci vont spontanément s'assembler autour de la molécule d'acide nucléique de manière à reconstituer un virion complet. Ces propriétés ont permis :

- d'éprouver le pouvoir infectieux de chacun des constituants isolément;
- de fabriquer *in vitro* des virions mixtes constitués d'un ARN et de protéines issus de lignées différentes de VMT.

■ **Pouvoir infectieux de l'ARN isolé.** — L'ARN pur est capable d'infecter les plants de tabac (avec un rendement faible), alors que les protéines pures en sont incapables (fig. 2-5). A partir des taches apparaues sur les feuilles de tabac infectées par l'ARN pur, on

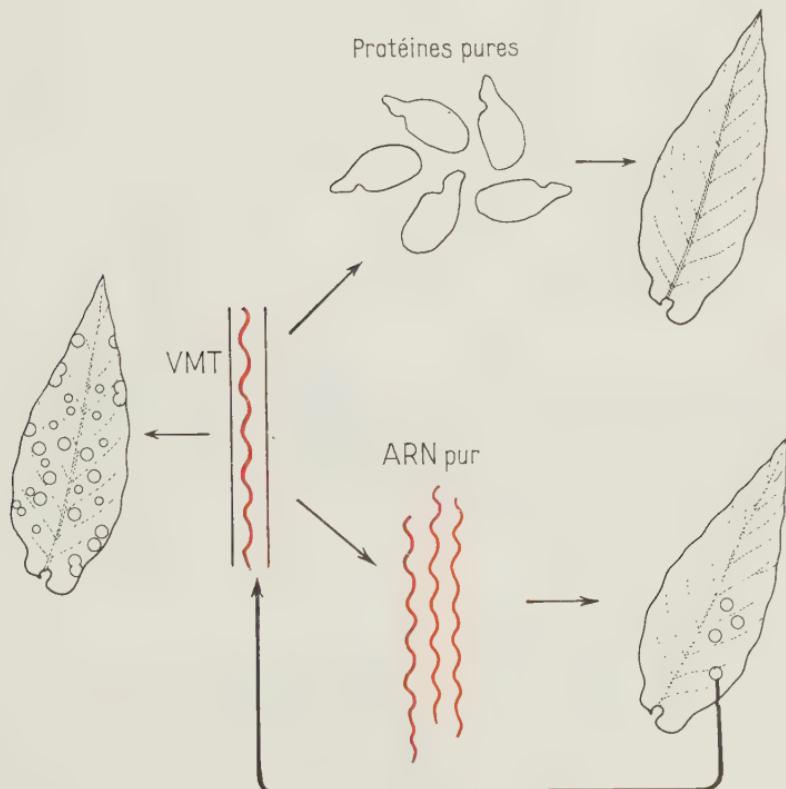


FIG. 2.5. — *Pouvoir infectieux de l'ARN purifié du virus de la mosaïque du tabac.*

retrouve des virions complets. L'ARN du VMT contient donc l'information nécessaire au processus d'infection et à la synthèse des protéines du virion.

■ **Propriétés des virus mixtes.** — La possibilité de reconstituer *in vitro* des virions complets à partir des deux constituants moléculaires du VMT a suggéré une expérience très élégante qui confirme la

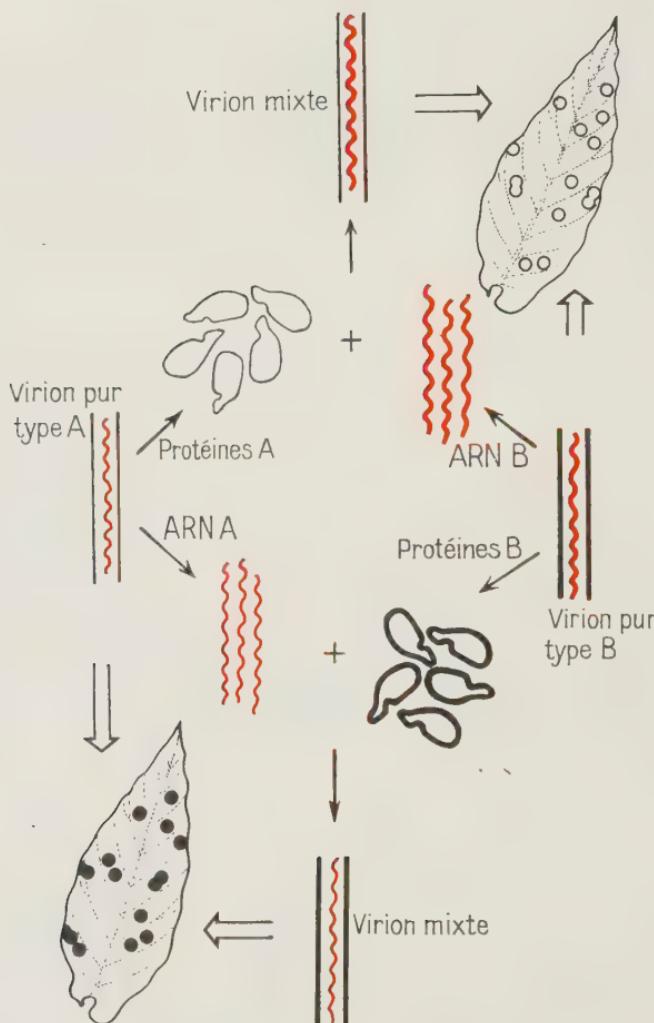


FIG. 2.6. — Spécificité de l'ARN dans les virions mixtes de la mosaïque du tabac.

conclusion précédente. Elle montre que si deux virus diffèrent pour un caractère particulier héréditaire, ce caractère est transmis par l'ARN.

Il existe chez le VMT des mutants qui produisent des taches dont la taille, la forme, ou l'intensité de coloration est différente. A partir de deux lots de virus qui fournissent des taches d'aspect différent, on constitue des virus mixtes : l'ARN de chaque lot est réassocié avec les protéines de l'autre lot (fig. 2-6). Lorsqu'on infecte des plants de tabac avec chacun de ces deux types de virus mixtes, on constate que les taches correspondent toujours à celles qui auraient été obtenues en infectant par le virus qui a fourni l'ARN.

Ainsi, chez les virus, le matériel génétique correspond toujours à l'acide nucléique. Les expériences citées ici ne constituent que quelques exemples parmi la somme des faits connus actuellement qui supportent tous cette conclusion. On peut signaler par exemple que chez plusieurs virus à ADN : le phage lambda du colibacille ou bien encore le virus du polyome de la souris, on a effectué des expériences du même type que celle décrite pour le VMT; l'ADN purifié de ces virus est capable de pénétrer dans une cellule hôte et d'y initier un cycle de reproduction virale. Les protéines virales ont donc essentiellement un rôle de protection de l'acide nucléique durant son séjour hors de la cellule hôte. Elles peuvent aussi faciliter éventuellement la pénétration de cet acide nucléique (comme cela est démontré pour le phage T2).

## Matériel génétique des bactéries

L'organisation des bactéries est infiniment plus complexe que celle des virus. Il s'agit de cellules qui possèdent tous les types de macromolécules caractéristiques de la matière vivante : protéines, lipides, polysaccharides et les deux acides nucléiques, ADN et ARN. C'est pourtant chez ces organismes que le problème de la nature du matériel génétique a été résolu le premier, et de manière très claire, grâce aux expériences de transformation bactérienne chez le pneumocoque, *Diplococcus pneumoniae*.

### Caractéristiques du pneumocoque

■ **Les types S et R.** — Le pneumocoque est l'agent responsable chez les mammifères de la pneumonie. Les pneumocoques peuvent être cultivés *in vitro*. En boîte de Pétri contenant un milieu nutritif gélosé, chaque cellule donne naissance à une colonie d'aspect lisse et luisant. On constate quelquefois l'apparition, à la suite d'une mutation, de colonies rugueuses et mates (fig. 2-7). L'observation au

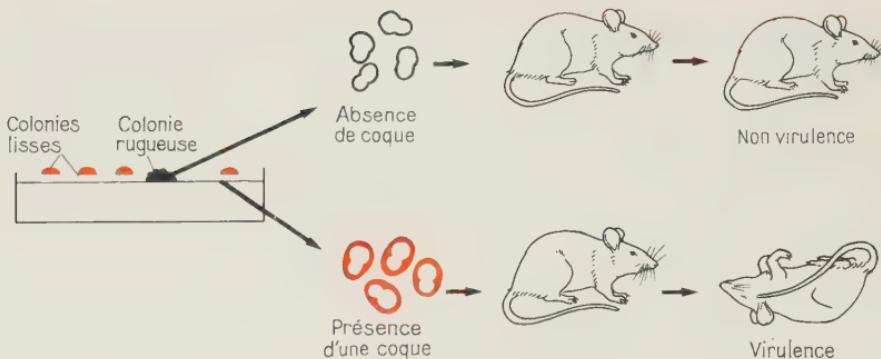


FIG. 2.7. — Différences entre les pneumocoques de types S et R.

microscope montre que les cellules qui constituent les colonies rugueuses diffèrent de celles qui sont à l'origine des colonies lisses. Ces dernières sont en effet entourées d'une coque épaisse, composée de polysaccharides; cette coque est perdue dans les cellules mutées. On appelle R les cellules dépourvues de coque (*rough*) et S (*smooth*) les cellules qui fournissent des colonies lisses. Si on injecte à une souris des pneumocoques mutés R, on constate que ceux-ci ne sont plus pathogènes, alors que les pneumocoques de type S déclenchent à court terme l'apparition de la pneumonie qui provoquera la mort de l'animal. Cette différence s'explique par les propriétés de la coque qui préviennent la phagocytose des pneumocoques de type S par les leucocytes.

■ **Les types antigéniques.** — Les pneumocoques de type S se distinguent par leur type antigénique. Leurs propriétés immunologiques permettent de les classer en souches SI, SII, SIII, etc...

On injecte par exemple des pneumocoques SII tués à un lapin. Après quelques jours, on prélève le sérum de ce lapin et on le met en présence de pneumocoques SII vivants : les cellules bactériennes sont agglutinées. Si on met ce sérum en présence de cellules d'un autre type (par exemple SIII), on n'observe pas d'agglutination (fig. 2-8). Réciproquement, le sérum d'un lapin auquel on aura injecté des cellules SIII tuées agglutinera les cellules SIII, mais sera sans effet sur les cellules SII. Le phénomène d'agglutination ne se produit que si les pneumocoques ont été mis en présence du sérum de lapins qui ont été traités au préalable par les bactéries du même type (tableau 2-1).

Ce phénomène est dû aux polysaccharides qui constituent la coque des bactéries : ceux-ci agissent comme *antigènes*. Le lapin s'immunise contre ces antigènes en fabriquant des *anticorps* spécifiques qui

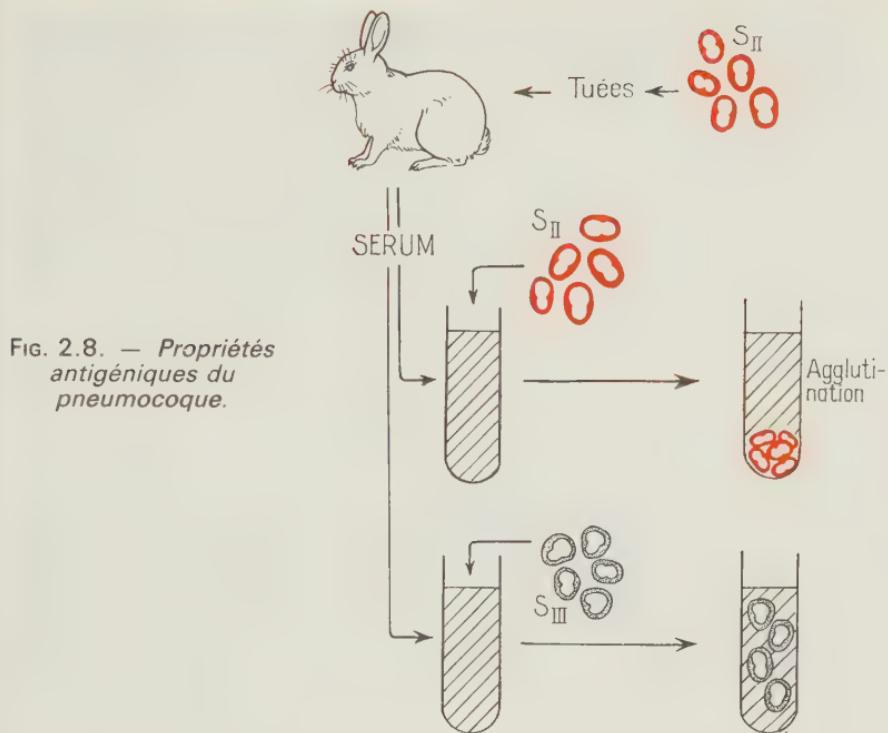


FIG. 2.8. — Propriétés antigéniques du pneumocoque.

TABLEAU 2-1. — Caractérisation d'un type antigénique chez le pneumocoque

Type de pneumocoque étudié	Origine de l'antisérum	Agglutination
SI	{ SI SII SIII R	{ + - - -
SII	{ SI SII SIII R	{ - + - -
SIII	{ SI SII SIII R	{ - - + -
R	{ SI SII SIII R	{ - - - -

s'associent aux polysaccharides et déterminent ainsi l'agglutination. Les types de polysaccharides des composants de la coque bactérienne varient selon les souches et ne sont sensibles qu'à l'anticorps qu'ils ont induit.

Les souches R n'ayant pas de coque sont à la fois incapables de provoquer la formation d'anticorps et insensibles à ceux induits par les souches S. On peut pourtant faire correspondre chaque souche R à un type immunologique de souche S. En effet lorsqu'une souche R est obtenue par mutation d'une souche S, elle peut subir une nouvelle mutation. Celle-ci rétablit toujours le type d'origine :

SII → RII → SII (jamais SII → R → SIII, par exemple).

### Transformation bactérienne

■ **Mise en évidence du phénomène.** — La découverte de la transformation a débuté par l'observation suivante. Deux échantillons de pneumocoques, composés l'un de bactéries RII, l'autre de bactéries SIII tuées par la chaleur, sont préparés. On injecte deux lots de souris avec chacune de ces préparations et un troisième lot avec un mélange des deux. Alors que les souris des deux premiers lots restent indemnes, celles du troisième meurent de pneumonie (fig. 2-9). On

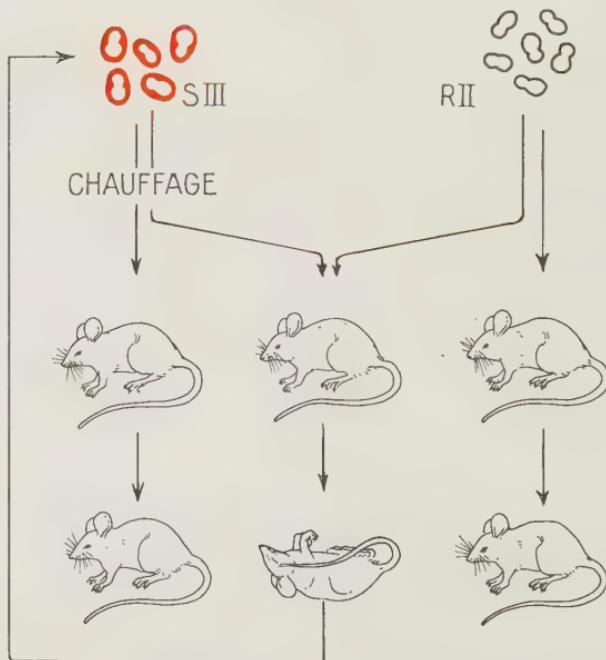


Fig. 2.9. — Transformation de pneumocoques RII en SIII.

peut extraire des souris contaminées des pneumocoques virulents bien vivants qui s'avèrent être du type SIII. La seule explication convenable est qu'il y a eu transfert du caractère de virulence et du type antigénique SIII de la souche de bactéries tuées par la chaleur à l'autre souche. Les bactéries RII ont été transformées en bactéries SIII.

On obtient le même phénomène *in vitro* : si on étale le mélange RII + SIII tuées sur une boîte de milieu gélosé, on voit apparaître à côté des colonies rugueuses RII un petit nombre de colonies lisses SIII. La fréquence d'apparition de ces colonies est largement supérieure à celle du contrôle (cellules RII étalées) et le fait que les colonies lisses soient constituées de cellules SIII et non SII exclut de toute manière l'hypothèse de mutations des cellules RII vers le type S.

■ **Purification du principe transformant.** — On a recherché quelle substance était responsable des transformations en réalisant des extraits de bactéries SIII et en recherchant quelle fraction conservait l'activité transformante au cours des purifications. On a montré que la coque des bactéries SIII ne jouait aucun rôle dans ce phénomène. Par purifications successives on a obtenu une fraction chimiquement pure qui avait conservé l'activité de l'extrait initial : il s'agissait de l'ADN.

L'expérience peut être renouvelée avec des résultats similaires en utilisant l'ADN extrait de bactéries S de types antigéniques variés. Deux faits principaux ressortent de cette étude :

— La capsule formée par les cellules modifiées est toujours constituée de polysaccharides spécifiques identiques à ceux synthétisés par la cellules d'où l'ADN a été extrait.

— Le caractère acquis est stable. Les bactéries une fois modifiées transmettent le nouveau caractère à tous leurs descendants. De plus, leur ADN a les mêmes caractéristiques que celui des souches dont elles ont acquis le caractère, c'est-à-dire qu'il est lui-même capable d'effectuer la transformation. Ceci peut être symbolisé ainsi :



L'ADN a donc les deux propriétés qui définissent le matériel génétique : c'est une substance douée de la capacité d'induire un caractère spécifique et de provoquer sa propre reproduction.

■ **Généralisation du phénomène de transformation.** — La transformation bactérienne ne se limite pas au seul caractère de virulence. Elle peut être généralisée chez le pneumocoque à l'ensemble des caractères héréditaires. De plus, elle s'effectue aussi bien dans les deux directions. Ceci est démontré dans les cas où l'on peut cribler des transformants pour chacun des deux caractères alternatifs. Ainsi, un caractère peut être avantage par rapport à son alternatif dans certaines conditions, mais désavantage dans des conditions diffé-

rentes. C'est le cas par exemple des caractères de résistance ou de sensibilité à l'aminoptérine chez le pneumocoque. Les bactéries possédant l'allèle muté *amiA<sup>R</sup>* sont plus résistantes à l'aminoptérine, mais plus sensibles à un excès d'isoleucine dans le milieu, que les bactéries possédant l'allèle *amiA<sup>S</sup>*. On peut ainsi sélectionner des transformants *amiA<sup>S</sup> → amiA<sup>R</sup>* en présence d'aminoptérine et des transformants *amiA<sup>R</sup> → amiA<sup>S</sup>* en présence d'isoleucine.

Au cours de la transformation, tout se passe donc comme si au moins une portion de l'ADN de la bactérie donatrice, correspondant au gène qui détermine le caractère étudié, allait remplacer une fraction équivalente portant l'allèle du gène dans l'ADN de la bactérie réceptrice. Des études détaillées du devenir de l'ADN transformant dans la cellule réceptrice ont permis d'établir la séquence des événements qui aboutissent à la transformation (fig. 2-10). Les fragments d'ADN extrait des bactéries donatrices pénètrent dans la réceptrice (la présence de la capsule ne fait pas obstacle à cette pénétration qui ne s'effectue que lorsque les cellules réceptrices sont dans un état physiologique favorable appelé *compétence*). L'ADN transformant va ensuite se placer en face de la portion homologue

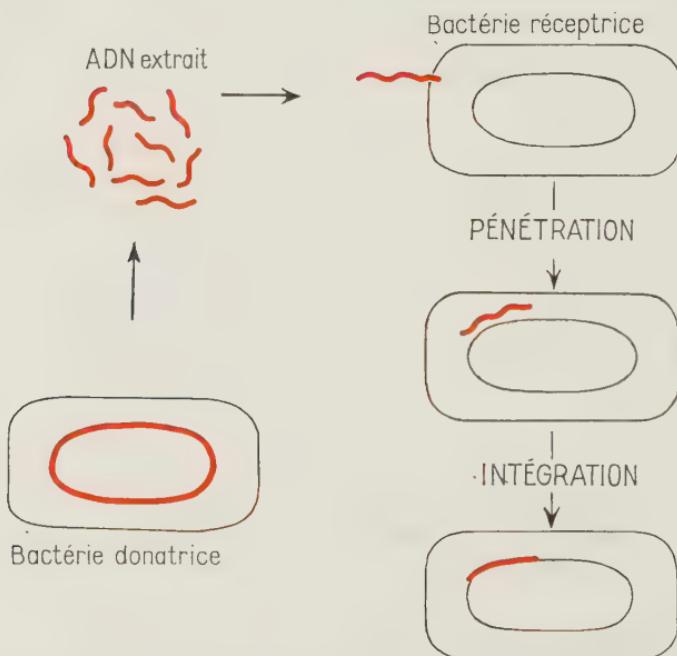


FIG. 2.10. — Mécanisme schématique de la transformation bactérienne. — ADN donneur — ADN récepteur. Un fragment d'ADN donneur pénètre dans la réceptrice; il s'apparie en face de la région homologue de l'ADN récepteur puis remplace celle-ci (intégration). Si le fragment donneur intégré porte le gène étudié (par exemple celui déterminant les caractères S ou R), la cellule bactérienne réceptrice est transformée.

d'ADN, puis un processus de recombinaison aboutit à l'intégration du fragment exogène : il remplace la portion équivalente dans l'ADN de la bactérie réceptrice. Celle-ci, en se multipliant, va dédoubler son ADN qui contient maintenant une portion d'information génétique différente, laquelle sera ainsi transmise héréditairement aux cellules descendantes.

La transformation existe dans d'autres espèces bactériennes (telles que *Bacillus subtilis*, *Hemophilus influenzae*). Dans certaines espèces, elle est très difficile (c'est le cas par exemple du colibacille), voire impossible à effectuer.

## Cas des organismes eucaryotiques

■ **Caractéristiques des eucaryotes.** — On distingue les virus et les bactéries, classés sous le nom de *procaryotes*, des autres organismes, appelés *eucaryotes* (fig. 2-11). Cette distinction est basée sur l'existence, dans les cellules eucaryotiques, d'un noyau clairement individualisé qui n'existe pas chez les bactéries. Alors que chez celles-ci, l'ADN est directement en contact avec le cytoplasme, une enveloppe nucléaire sépare l'intérieur du noyau du cytoplasme chez les eucaryotes. L'ADN des eucaryotes est étroitement associé à des protéines appelées *histones* pour constituer la *chromatine* qui forme un réseau diffus plus ou moins dense à l'intérieur du noyau. Au cours de la division cellulaire, la chromatine se condense en de petits bâtonnets qui correspondent aux *chromosomes*. La quasi-totalité de l'ADN cellulaire est localisée dans la chromatine.

■ **ADN : matériel génétique des eucaryotes.** — Un faisceau impressionnant d'arguments indique de manière certaine que l'ADN correspond au matériel génétique des eucaryotes :

- L'ADN est localisé dans les chromosomes. Or, les observations cytologiques et génétiques prouvent conjointement que les chromosomes sont les supports de l'hérédité (voir les chapitres 6 à 8). Signalons tout de suite qu'il existe également une petite quantité d'ADN cytoplasmique. Cet ADN est localisé dans certains organites cellulaires, tels que les chloroplastes et les mitochondries. On a montré précisément que ces organites possédaient une certaine autonomie liée à l'existence d'une information héréditaire propre.

- Les lois de reproduction conforme ne s'expliquent que si le matériel génétique est en quantité constante dans un même clone cellulaire, ou par extension à l'intérieur des cellules composant les organismes d'une même espèce. Si chaque gène est très exactement reproduit d'une génération cellulaire à la suivante, alors, la quantité de substance chimique qui correspond au matériel génétique est

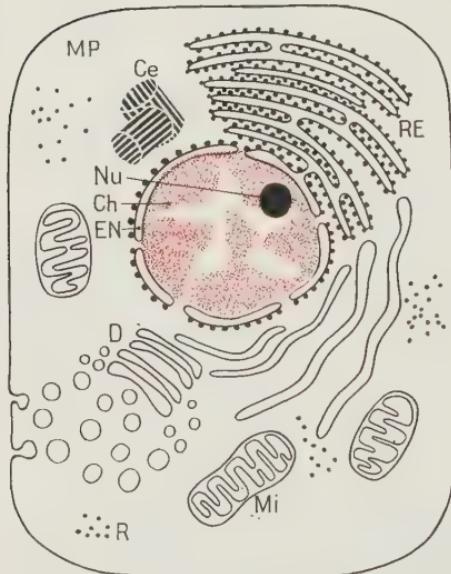
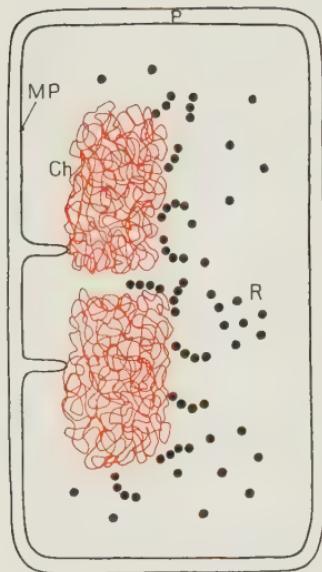


FIG. 2.11. — Portrait-robot d'une cellule procaryotique (A) et d'une cellule eucaryotique (B).

Ch	chromatine	}
Nu	nucréole	
EN	enveloppe nucléaire	
MP	membrane plasmique	
D	dictyosome	
Mi	mitochondrie	
R	ribosomes	
RE	reticulum endoplasmique	
Ce	centrosome	
P	paroi cellulaire	

L'échelle n'est pas respectée, la cellule bactérienne est beaucoup plus agrandie que la cellule eucaryotique.

elle-même constante. Ceci est précisément vérifié pour l'ADN, mais nullement pour les autres types de molécules.

- L'ADN est remarquablement stable. Le doublement d'ADN qui précède chaque division cellulaire correspond à la synthèse d'une quantité d'ADN équivalente à celle qui existait. En dehors de cela, les rares synthèses ou dégradations qui sont observées sont de très faible amplitude et s'expliquent par l'existence de processus de réparation destinés à remplacer certaines portions qui auraient pu être accidentellement lésées. Cette stabilité métabolique est conforme à ce qu'on attend du matériel génétique et ne s'applique pas aux autres types moléculaires qui sont constamment renouvelés.
- Des arguments directs ont été obtenus grâce à la possibilité de transférer des fragments d'ADN d'organismes donneurs eucaryotes variés à des cellules receveuses différentes correspondant soit à des bactéries, soit à des cellules eucaryotes (voir chapitre 12). Ces fragments d'ADN sont capables de conférer à la cellule receveuse de nouvelles propriétés, un nouveau phénotype. Une relation causale peut être établie entre le maintien (ou la perte) du fragment d'ADN dans les cellules descendantes et le maintien (ou la perte) de ces nouvelles propriétés. Dans certains cas, le fragment d'ADN s'intègre dans le chromosome de la cellule réceptrice. Le nouveau caractère est alors hérité comme le serait n'importe quel gène. Ces arguments sont de même nature que ceux s'appuyant sur la transformation chez les bactéries.

La mise au point d'une technologie de « transfert de gènes » a permis d'amplifier des fragments d'ADN responsables d'un caractère particulier : dans des cas de plus en plus nombreux, la séquence de nucléotides constituant ces gènes (voir *infra*) a été déterminée. On a même pu synthétiser *in vitro* des gènes fonctionnels en reconstituant leur séquence spécifique de nucléotides.

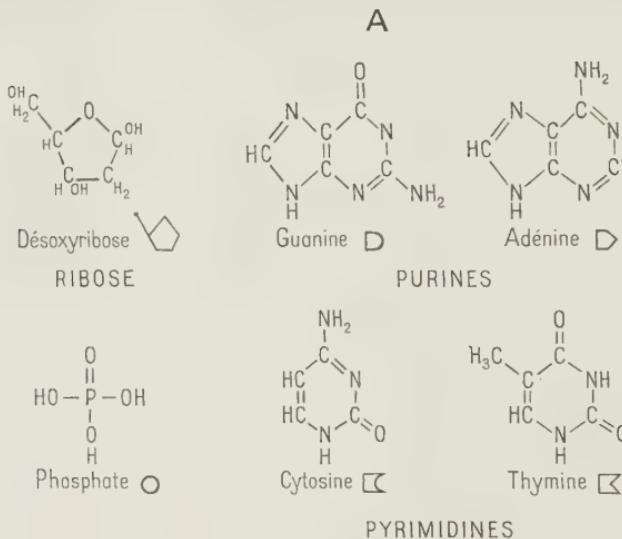
La structure chimique de l'ADN explique à la fois la reproduction et le rôle informatif du matériel génétique. Les processus par lesquels l'ADN accomplit ces fonctions sont maintenant assez bien connus. On a pu déterminer dans de nombreux cas, par l'analyse directe, quelle était l'altération chimique d'une mutation et comprendre comment cette altération était responsable du changement de phénotype.

Ainsi, l'ADN constitue le matériel génétique de tous les organismes cellulaires. Dans le cas des virus, celui-ci peut correspondre parfois à de l'ARN. Ce dernier cas constitue donc une exception parmi les organismes vivants. On verra par la suite que l'ARN joue lui-même un rôle très important dans l'expression des gènes, c'est-à-dire la séquence d'étapes qui permettent l'expression des gènes dans le caractère qu'ils contrôlent au niveau cellulaire. La structure de cette macromolécule sera alors décrite. Nous allons nous intéresser maintenant plus spécialement à la structure physico-chimique de l'ADN.

## Structure de l'ADN

### Nucléotides

La molécule d'ADN est un polymère d'unités appelées *nucléotides*. Chaque nucléotide est composé d'un sucre à 5 carbones (pentose) : le



**B**

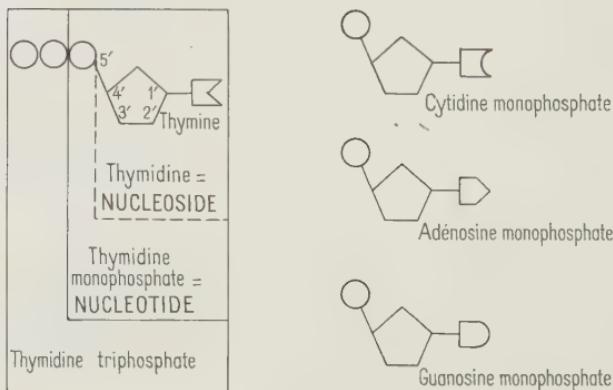


FIG. 2-12 (1). — Structure chimique de l'ADN.

A. — Les éléments composant les nucléotides. B. — Structure des nucléotides.

désoxyribose, d'un groupe phosphate et d'une base azotée. Le phosphate est attaché au carbone 5' du désoxyribose et la base au carbone 1'. Il existe quatre types de nucléotides distinguables par la nature de la base azotée. Celle-ci peut être une purine : adénine (A) ou guanine (G), ou une pyrimidine : thymine (T) ou cytosine (C). La molécule composée du sucre et d'une de ces bases est appelée *nucléoside* (fig. 2-12).

### Chaîne polynucléotidique

Les nucléotides sont attachés les uns aux autres par des liaisons covalentes ester-phosphate qui relient le 5' phosphate d'un nucléotide au 3' OH du suivant. La chaîne polynucléotidique est formée d'un squelette correspondant à une suite monotone sucre-phosphate avec une succession de bases azotées branchées latéralement. Comme il

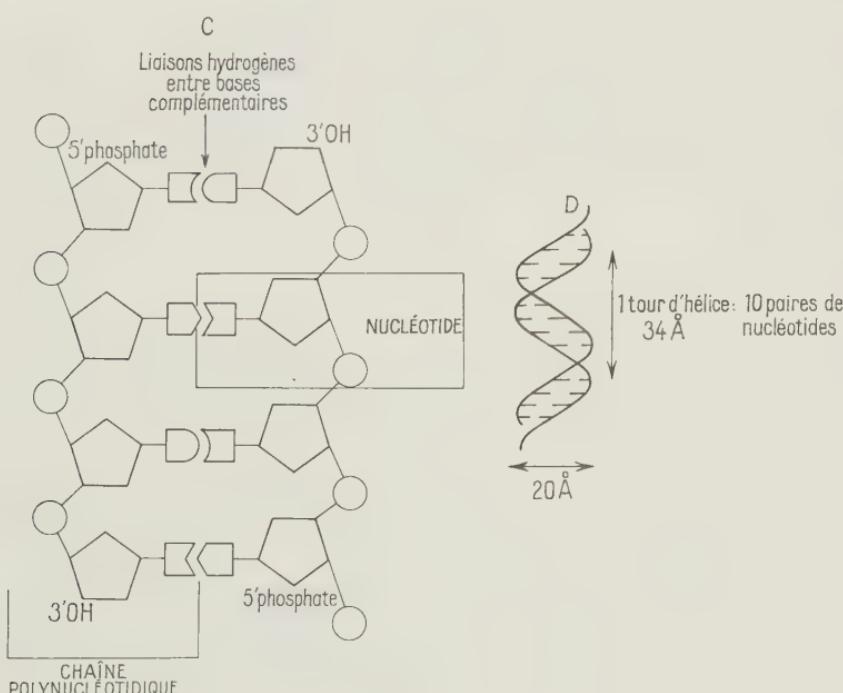


FIG. 2-12 (2). — Structure chimique de l'ADN.  
C. — Les chaînes polynucléotidiques: composition, complémentarité, antiparallélisme. D. — Structure spatiale de l'ADN.

existe 4 nucléotides différents, il y a un très grand nombre de séquences possibles de nucléotides. Ainsi, on peut théoriquement constituer  $4^{20}$  séquences différentes, soit mille milliards environ, avec 20 nucléotides. En réalité le nombre de nucléotides est bien plus élevé dans une molécule d'ADN. Par exemple, la molécule d'ADN du phage T2 comporte plus de 100 000 nucléotides successifs. Sachant que cette molécule correspond à une centaine de gènes, cela fait un nombre moyen de 1 000 nucléotides par gène.

Cette particularité rend compte du rôle informateur de l'ADN. Il est facile d'imaginer des milliers de gènes correspondant à des milliers de séquences et donc des milliers d'« ordres » différents.

### **Existence de deux chaînes complémentaires**

Une molécule d'ADN est en fait constituée par *deux* chaînes polynucléotidiques. Ces deux chaînes sont associées par des liaisons hydrogènes. Elles sont disposées de telle manière que les bases de chaque chaîne soient face à face, les liaisons hydrogènes s'effectuant entre chaque paire de bases.

■ **Complémentarité.** — L'appariement des bases ne se fait pas au hasard. Elles sont toujours disposées de telle manière qu'une purine soit en face d'une pyrimidine et, plus précisément, que l'adénine soit toujours associée à la thymine et la guanine à la cytosine. Par exemple, la séquence ATTACCGCT sur une chaîne impliquera toujours la séquence TAATGGCGA sur l'autre. Il y a donc contrainte totale entre les deux chaînes puisque la séquence de l'une détermine celle de l'autre.

■ **Antiparallélisme.** — Pour que les paires de bases soient face à face, dans une configuration propre à s'associer par les liaisons hydrogènes, il est nécessaire que les deux chaînes soient disposées « tête-bêche », c'est-à-dire que, partant d'une extrémité de la molécule, une chaîne ait une polarité  $5'P \rightarrow 3'OH$  et l'autre la polarité  $3'OH \rightarrow 5'P$ .

Cette organisation confère à l'ADN une structure spatiale en double hélice, les paires de bases complémentaires étant empilées avec un éspacement constant à l'intérieur du pas de cette hélice. Les liaisons hydrogènes, bien qu'à faible énergie, confèrent à l'ADN une grande stabilité à la température cellulaire du fait de leur nombre élevé. En effet, un peu plus d'une dizaine de paires de bases suffisent à assurer la cohésion entre les deux brins complémentaires de chaque molécule. Or, les plus petites molécules comportent plusieurs milliers de nucléotides. Les plus grandes molécules comportent des centaines de milliers de paires de nucléotides.

## Variation quantitative et qualitative de l'ADN selon les espèces

Le tableau 2-2 indique la quantité d'ADN par cellule (ou par virion) dans un certain nombre d'espèces. Cette quantité varie selon les organismes et augmente avec leur complexité : ceci est du moins vrai si on compare les bactéries, les champignons et les macroorganismes. Parmi ces derniers, on note pourtant de très grandes différences dans les quantités d'ADN qui ne semblent pas pouvoir s'expliquer par des différences équivalentes de complexité. A titre d'exemple, la longueur de l'ADN total du bactériophage T2 est de 50 µm,

TABLEAU 2-2. — Variation quantitative (en picogrammes par cellule) et qualitative de l'ADN selon les espèces

	<i>Espèce</i>	<i>Quantité d'ADN par cellule</i>	<i>purines (A + G) pyrimidines (T + C)</i>	<i>A + T G + C</i>
Virus .....	T2	0,0002	0,94	2,06
Bactéries .....	<i>Escherichia coli</i>	0,004	0,99	0,91
Champignons .	Levure	0,044	1	1,8
	<i>Neurospora crassa</i>	0,017	1	0,86
Protozoaires . .	<i>Euglena gracilis</i>	2,9	1,11	0,75
Arthropodes ..	<i>Drosophila melanogaster</i>	0,4	1,01	1,51
Vertébrés				
— batraciens . . .	<i>Xenopus laevis</i>	8,4	1,02	1,37
— oiseaux ..	<i>Gallus domesticus</i>	2,4	1,04	1,34
— mammifères . . .	Souris	6,6	1,04	1,42
	Homme	5,6	1,04	1,53
Plantes .....	<i>Allium cepa</i>	54,3	1,01	1,72

celle contenue dans une cellule humaine est proche de 2 m. On voit que pour contenir dans son enveloppe, que ce soit l'enveloppe virale, la cellule bactérienne ou le noyau cellulaire dont le diamètre est de quelques microns, l'ADN doit subir un repliement considérable. Si on s'intéresse à la composition en bases de l'ADN selon les espèces, on voit tout d'abord que les rapports entre les bases puriques et pyrimidiques sont toujours égaux à un (aux erreurs de mesure près). Ceci vérifie la complémentarité des bases dans la molécule d'ADN. Par contre, les rapports A + T/G + C varient sensiblement d'une espèce à l'autre, mais sont les mêmes dans les divers tissus des organismes d'une même espèce. Ceci n'est guère étonnant si l'information génétique est une conséquence de la composition en bases des molécules d'ADN.

# 3

## RéPLICATION du matériel génétique et division cellulaire chez les bactéries

La reproduction conforme du matériel génétique ne s'explique que si celui-ci est son propre modèle lors de la duplication de l'information cellulaire. La structure de l'ADN permet d'imaginer un mécanisme très simple de duplication de cette molécule qui aboutira à deux molécules filles identiques à la molécule parentale. En effet, les deux brins complémentaires qui constituent cette molécule peuvent être comparés formellement à un objet composé de deux moules complémentaires imbriqués : le « positif » et le « négatif » (fig. 3-1). Si les deux moules sont séparés, un nouveau négatif pourra se constituer au contact du positif d'origine et un nouveau positif pourra parallèlement se former au contact du négatif. Il en résultera deux objets chacun strictement identique à l'objet primitif et constitués chacun d'une moitié d'origine et d'une moitié complémentaire nouvellement formée.

Lors de la mise en évidence de la structure de l'ADN, les auteurs de cette découverte ont proposé un mécanisme comparable (fig. 3-2). La duplication de l'ADN débute par la séparation des deux brins complémentaires. Puis chaque chaîne joue le rôle de moule pour la formation à son contact d'une nouvelle chaîne complémentaire qui se met en place par le jeu de complémentarité des bases. De ce fait, on

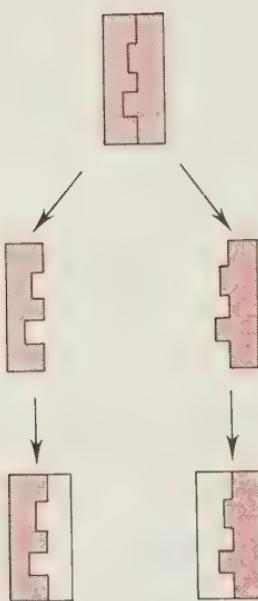


FIG. 3.1. — *Reproduction d'un objet composé d'un « positif » et d'un « négatif ».*

obtient deux paires de chaînes à la place de l'unique paire originelle et la séquence de bases a été exactement conservée au cours de la duplication.

Cette explication très élégante entraîne plusieurs prédictions qui ont été chacune vérifiée expérimentalement par la suite :

- A la suite de la duplication, les deux molécules filles doivent être constituées chacune d'une chaîne parentale et d'une chaîne néosynthétisée. Ce type de réplication est appelé « semi-conservatif ».
- Les molécules filles doivent avoir très exactement la même fréquence de nucléotides que la molécule parentale et, *a fortiori*, le même rapport de bases A + T/G + C.
- Si la réplication procède simultanément sur les deux chaînes, ceci doit se traduire par l'existence d'une fourche correspondant au point de réplication et dont chaque branche est composée d'une chaîne parentale et d'une chaîne néosynthétisée.



FIG. 3.2. — RéPLICATION de l'ADN. A. — Molécule d'ADN avant sa réplication. B. — Obtention des deux molécules filles.

## Vérification par marquage isotopique du mode semi-conservatif de réPLICATION de l'ADN

### Marquage de l'ADN

On peut différencier dans l'ADN le matériel parental du matériel néoformé en utilisant le marquage isotopique. On fait croître des bactéries dans un milieu nutritif dans lequel l'azote est fourni sous la forme isotopique lourde  $^{15}\text{N}$ . L'azote  $^{15}\text{N}$  est utilisé dans le métabolisme bactérien et est intégré dans les diverses macromolécules, en particulier dans l'ADN (au niveau des bases azotées puriques et pyrimidiques). L'ADN de ces bactéries aura donc une densité plus grande que celui des bactéries ayant poussé dans un milieu contenant l'azote normal  $^{14}\text{N}$ .

### Détermination de la densité de l'ADN

Cette différence de densité permet de reconnaître l'ADN « lourd » (extrait des bactéries ayant poussé en milieu  $^{15}\text{N}$ ) de l'ADN « léger » (extrait des bactéries ayant poussé en milieu  $^{14}\text{N}$ ). On centrifuge l'ADN dans une solution de chlorure de césium. Pendant une ultra-centrifugation à grande vitesse, le CICs va avoir tendance à migrer vers le fond du tube, établissant un gradient de concentration,

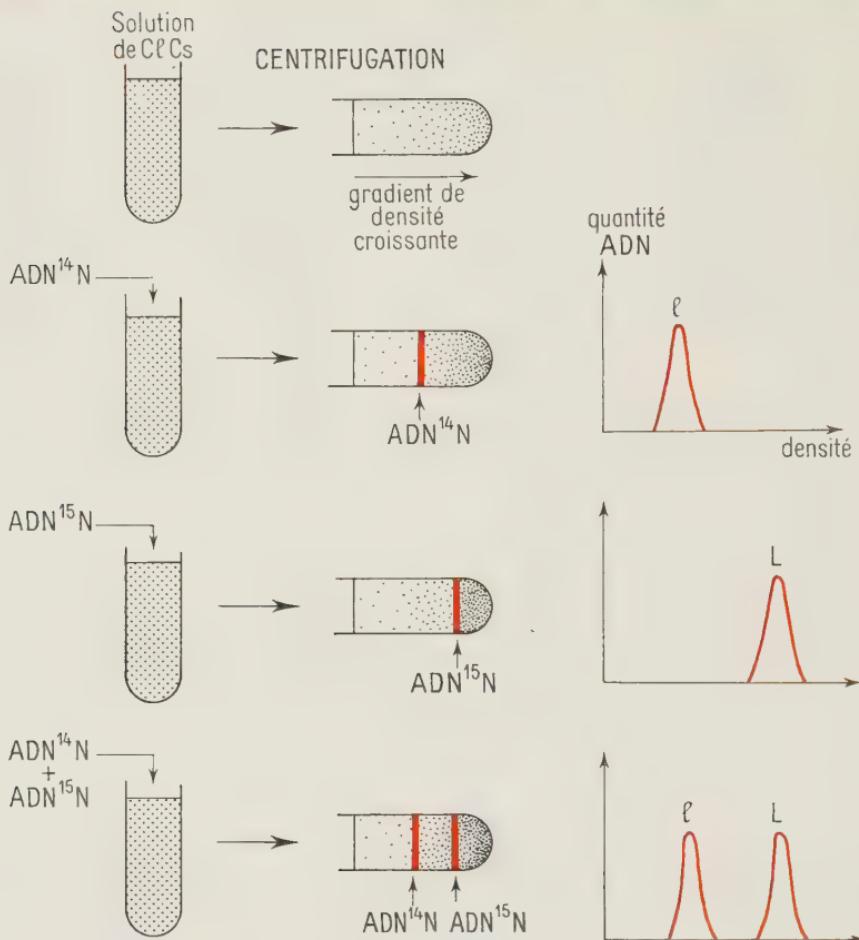


FIG. 3.3. — Séparation des  $\text{ADN}^{14}\text{N}$  et  $\text{ADN}^{15}\text{N}$  par ultracentrifugation en gradient de densité. L: pic lourd; l: pic léger.

et donc un gradient de densité de la solution. Si l'ADN est ajouté à cette solution avant la centrifugation, il migrera dans la région correspondant à sa densité propre. L'ADN lourd se localisera plus près du fond du tube que l'ADN léger (fig. 3-3).

### Variation de la quantité d'ADN parental au cours des générations cellulaires

Des bactéries sont mises en croissance dans un milieu  $^{15}\text{N}$  pendant un grand nombre de générations, de manière à ce que leur ADN soit lourd. Elles sont ensuite lavées, puis placées dans un milieu normal

$^{14}\text{N}$ . On prélève ensuite un échantillon de bactéries à des temps variés après leur transfert, correspondant à 1, 2, 3 générations cellulaires (c'est-à-dire 1, 2, 3 cycles de duplication de l'ADN bactérien) en milieu  $^{14}\text{N}$ . Pour chaque échantillon, l'ADN est isolé et sa densité est déterminée : les résultats sont schématisés dans la figure 3-4.

L'échantillon prélevé au temps 0 (au moment du transfert) sert de contrôle : il correspond à de l'ADN lourd qui sera considéré comme l'ADN parental de référence. Après un cycle de réPLICATION, tout l'ADN présente une densité intermédiaire correspondant au pic H (hybride). Après la seconde division, l'ADN se répartit en deux fractions de même importance : l'une correspond au pic H, l'autre au pic L (léger). A la troisième génération cellulaire, on retrouve les deux mêmes pics, mais la quantité d'ADN est trois fois plus grande dans le pic léger que dans le pic hybride.

Ces résultats sont conformes à l'hypothèse d'un mode semi-conservatif de réPLICATION de l'ADN. En première génération, si chaque molécule est composée d'un brin lourd et d'un brin léger, elle doit présenter une densité intermédiaire. En deuxième génération, une moitié des molécules se sera constituée à partir du brin léger et sera complètement légère, l'autre moitié se sera constituée à partir du brin lourd et sera de densité intermédiaire. Ensuite, chaque cycle de réPLICATION aboutira à une diminution de moitié de la quantité d'ADN « hybride » par rapport à la quantité d'ADN total. Le matériel lourd d'origine n'est pas perdu au cours de ces réPLICATIONS, mais il est simplement dilué par un facteur 2 à chaque génération cellulaire. Toutes les autres modalités possibles de duplication de l'ADN, indiquées dans la figure 3-5, sont en désaccord avec les faits expérimentaux.

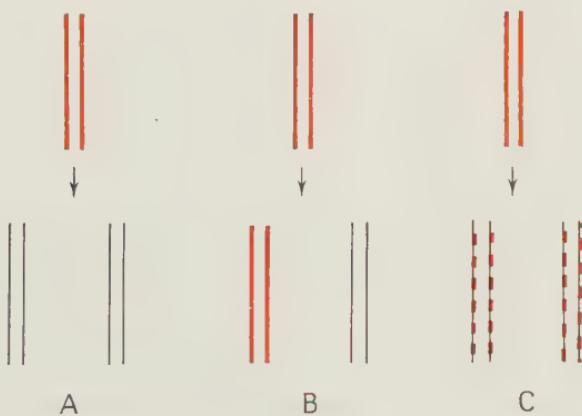


FIG. 3.5. — Modes possibles de duplication de l'ADN exclus par l'expérience. A. — Néoformation (ADN léger en première génération). B. — Conservatif (un pic léger et un pic lourd en première génération). C. — Dispersif (diminution progressive de la densité et un pic unique à chaque génération).

Les bactéries sont placées en milieu  $^{15}\text{N}$

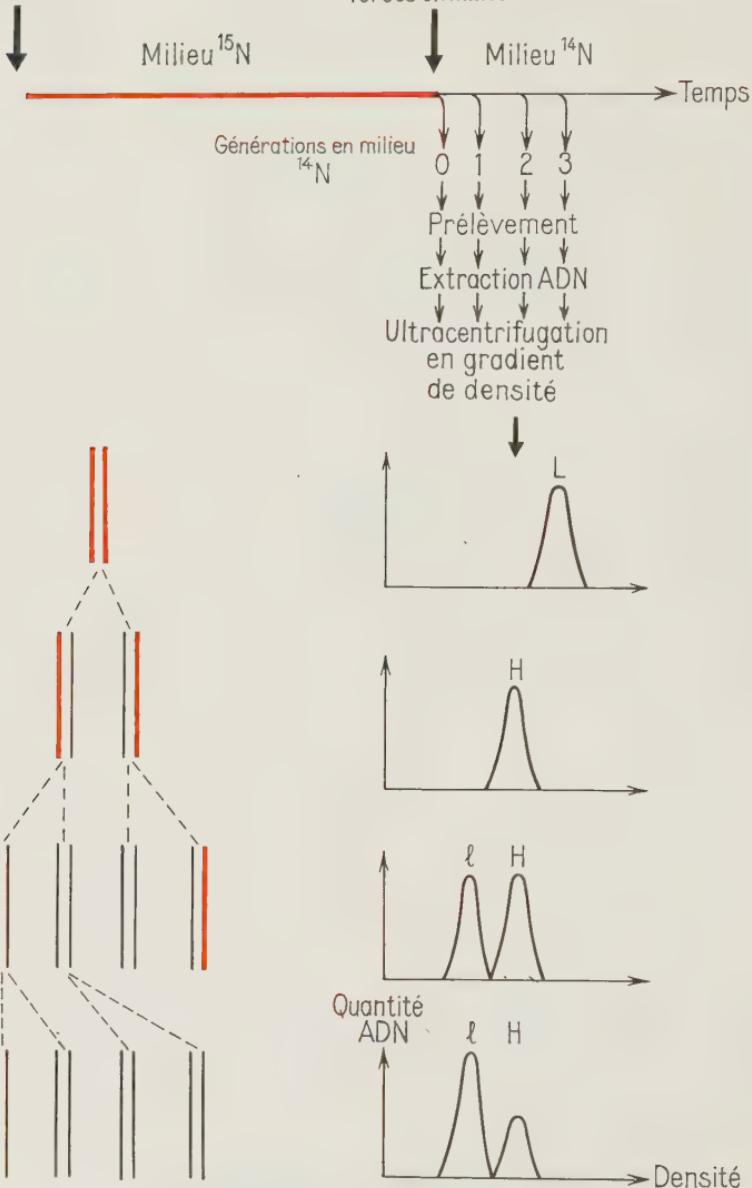


FIG. 3.4. — Démonstration de la réPLICATION semi-conservative de l'ADN.  
L : pic lourd; H : pic hybride;  $\ell$  : pic léger.

**Vérification de l'existence  
d'une chaîne parentale  
et d'une chaîne néosynthétisée  
à la suite de la duplication de l'ADN**

Le mode semi-conservatif de réPLICATION de l'ADN a été confirmé par l'expérience suivante. Par chauffage, il est possible de séparer les deux chaînes composantes de la molécules d'ADN; les liaisons hydrogène à faible énergie sont rompues par la chaleur. Si, à la suite du chauffage, on refroidit brusquement la solution, on obtient un ADN dénaturé stable composé uniquement de simples chaînes (fig. 3-6). Si on centrifuge en gradient de densité de l'ADN dénaturé lourd ou léger, on trouve des bandes caractéristiques de la densité de cet ADN dénaturé (ces bandes sont décalées vers le fond du tube par rapport à l'ADN natif équivalent).

Dans l'expérience précédente, l'ADN de première génération est soumis à la dénaturation puis centrifugé en gradient de densité. On observe alors deux bandes d'égale importance correspondant l'une à l'ADN dénaturé lourd, l'autre à l'ADN dénaturé léger. Cette expérience confirme l'existence, dans chaque molécule d'ADN, à la suite de la réPLICATION, d'une chaîne provenant de la molécule parentale et d'une chaîne néosynthétisée.

## RéPLICATION de l'ADN *in vitro*

■ **Conditions nécessaires à une synthèse d'ADN *in vitro*.** — La synthèse d'ADN peut être réalisée spontanément *in vitro*. Pour que celle-ci ait lieu, il est nécessaire de placer ensemble :

- un mélange des 4 nucléosides triphosphates;
- un enzyme purifié, l'ADN polymérase, qui catalyse la réACTION de liaison entre les nucléotides;
- de l'ADN qui agit comme amorce indispensable à la synthèse d'ADN.

Lorsqu'on mélange ces divers produits en présence d'ions  $Mg^{++}$ , une synthèse d'ADN a lieu. On peut obtenir jusqu'à 20 fois plus d'ADN que la quantité fournie originellement.

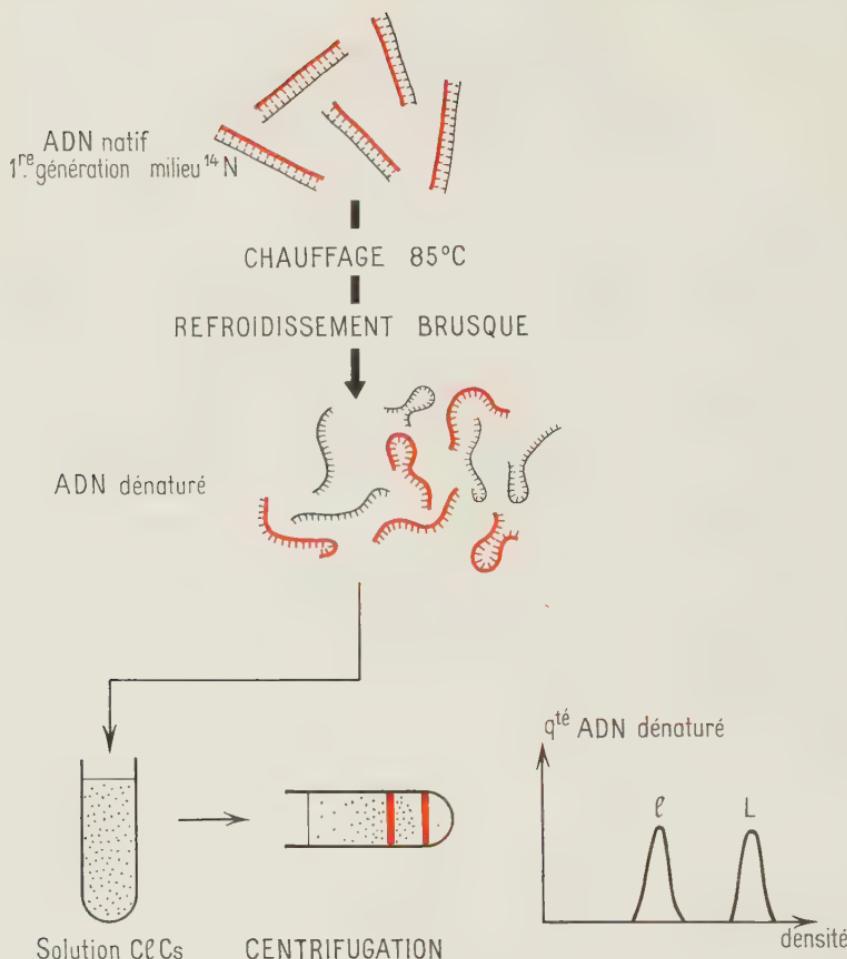


FIG. 3.6. — Séparation de l'ADN de 1<sup>re</sup> génération en milieu  $^{14}\text{N}$  en chaînes légères et lourdes.

■ **Rôle de l'ADN utilisé comme amorce.** — L'ADN utilisé comme amorce *sert de modèle* à l'ADN néosynthétisé. On a vu que le rapport  $\text{A} + \text{T}/\text{G} + \text{C}$  varie fortement selon l'espèce étudiée, alors que le rapport  $\text{A} + \text{G}/\text{T} + \text{C}$  est toujours très voisin de 1. On constate que l'ADN synthétisé *in vitro* possède toujours le rapport  $\text{A} + \text{G}/\text{T} + \text{C}$  proche de 1 caractéristique de tous les ADN, alors que le rapport  $\text{A} + \text{T}/\text{G} + \text{C}$  est très voisin de celui de l'ADN utilisé comme amorce. L'ADN synthétisé *in vitro* possède la même composition

quantitative en bases que l'amorce. D'autres expériences plus complexes indiquent que la séquence des bases est identique.

Ceci est conforme aux prédictions du modèle énoncé au début de ce chapitre.

## RéPLICATION DU CHROMOSOME BACTÉRIEN

Dans le cas des cellules bactériennes comme *Escherichia coli* où il n'existe pas de noyau différencié, on observe une masse de chromatine baignant directement dans le cytoplasme. Cet amas de chromatine correspond à une molécule d'ADN unique, circulaire, de grande taille, dont la longueur avoisine 1 000 µm lorsqu'elle est entièrement dépliée. Par analogie avec les cellules des organismes eucaryotiques, cette molécule d'ADN est assimilée au chromosome bactérien. Nous allons maintenant considérer comment celui-ci se réplique. Dans l'expérience décrite p. 39, les molécules d'ADN avaient été cassées en petits morceaux lors de l'extraction. On sait quelle est la composition en matériel parental et néoformé de petits fragments de l'ADN chromosomal. Il s'agit maintenant d'obtenir des informations plus directes sur la réPLICATION DU CHROMOSOME considéré dans son ensemble et qui correspond à la véritable structure biologique.

### AUTORADIOGRAPHIE DU CHROMOSOME BACTÉRIEN

Les expériences qui suivent sont basées sur la possibilité d'extraire, par des méthodes suffisamment douces, le chromosome presque intact.

■ **Existence de fourches réplicatives et confirmation du mode de réPLICATION SEMI-CONSERVATIF.** — Des cellules d'*Escherichia coli* en croissance active sont placées dans un milieu contenant de la thymidine tritiée radioactive (marquée par du tritium  $^3\text{H}$ ). La thymidine est un précurseur spécifique de l'ADN et sera donc incorporée dans l'ADN néosynthétisé. Après des périodes variables, les cellules sont lysées par des méthodes douces et l'ADN ainsi extrait est placé sur une émulsion photographique. La désintégration du tritium provoque un rayonnement qui impressionne l'émulsion au voisinage des atomes de tritium. La densité de grains d'argent permet de mesurer l'intensité de la radioactivité et d'apprécier la quantité de thymidine tritiée incorporée dans le chromosome.

Si un chromosome bactérien commence à se répliquer selon le mode semi-conservatif au moment de l'addition de la thymidine tritiée, on obtiendra à la fin du premier cycle de division deux molécules d'ADN filles ayant chacune un brin non radioactif « froid » et un brin radioactif « chaud ». Après le second cycle de réPLICATION, le brin « chaud » préexistant sera associé à un brin « chaud » complémentaire, de telle manière qu'une molécule petite-fille aura les deux brins marqués. Pourtant, l'autre molécule petite-fille héritera du brin froid et sera seulement à demi-marquée (fig. 3-7). Si l'hypothèse est correcte, on devrait distinguer les deux molécules petites-filles par autoradiographie, puisque l'une étant deux fois plus radioactive devrait présenter une densité en grains deux fois plus élevée.

Les images en autoradiographie donnent les résultats suivants :

a) Lorsque les bactéries ont été mises en présence de thymidine tritiée pendant un temps court (quelques minutes), on observe des figures en formes de V. Les deux branches du V sont également marquées. Le point de réunion des deux branches du V doit correspondre à l'emplacement de la fourche de réPLICATION au moment de l'extraction. Les deux branches du V représentent les portions des deux nouvelles molécules synthétisées en présence de thymidine tritiée et les deux extrémités du V à l'emplacement de la fourche de réPLICATION au moment où la bactérie a été placée dans le milieu radioactif (fig. 3-8).

Ceci est conforme à l'idée que la réPLICATION procède globalement dans la même direction sur les deux sous-unités de la molécule d'ADN parentale.

b) Lorsque les bactéries ont subi un peu plus d'un cycle de réPLICATION dans le milieu chaud, les figures observées au niveau des fourches présentent la forme d'un Y dont une des branches est plus marquée que l'autre. Le pied de l'Y doit correspondre à la molécule parentale dont une des sous-unités a été marquée au cours du cycle de réPLICATION précédent. Le point de convergence des deux bras de l'Y doit correspondre à l'emplacement de la fourche de réPLICATION au moment de l'extraction. Enfin, le bras le plus marqué de l'Y doit correspondre à la portion de molécule d'ADN nouvellement synthétisée dont le brin parental était déjà marqué et la branche la moins marquée de l'Y doit correspondre à la portion équivalente dont le brin parental n'était pas marqué (fig. 3-9).

FIG. 3.7. — Résultat attendu à la suite de la réplication d'un chromosome bactérien en présence de thymidine tritiée. Le chromosome est circulaire; les deux chaînes de la molécule d'ADN sont symbolisées par deux cercles concentriques. **xxxx** chaîne néosynthétisée radioactive.

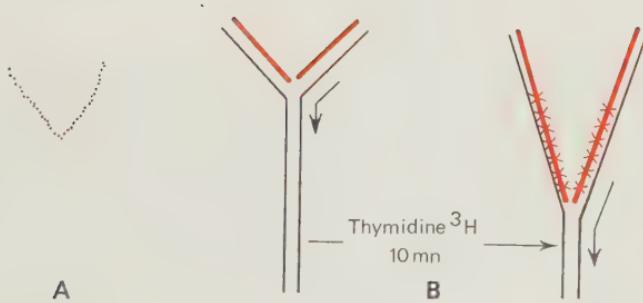
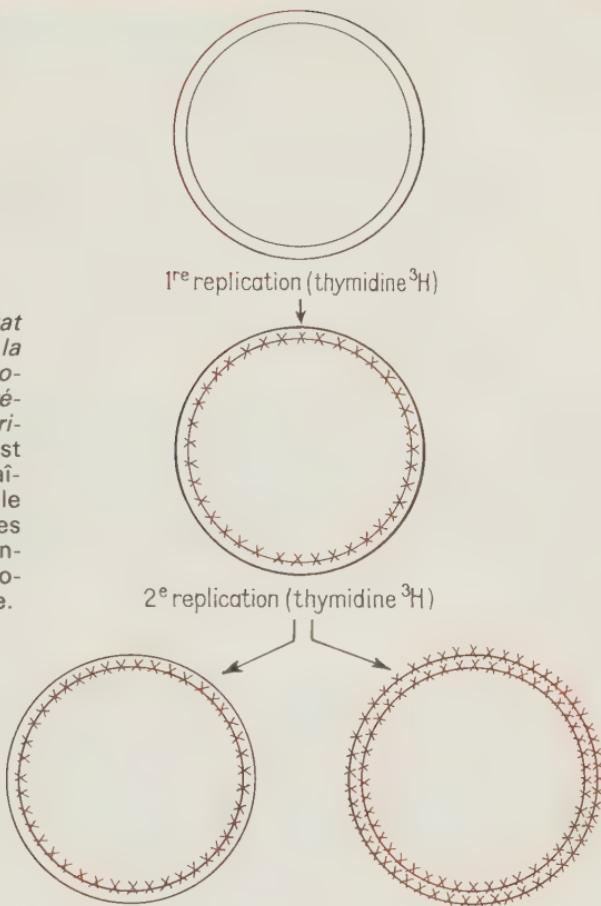


FIG. 3.8. — RéPLICATION DE COURTE DURÉE DU CHROMOSOME BACTÉRIEN EN PRÉSENCE DE THYMIDINE TRITIÉE. A. — Une image observée en autoradiographie; B. — Interprétation : — chaîne parentale; — chaîne néosynthétisée avant le transfert en milieu tritier; **xxxx** chaîne néosynthétisée radioactive; → direction de la réplication.

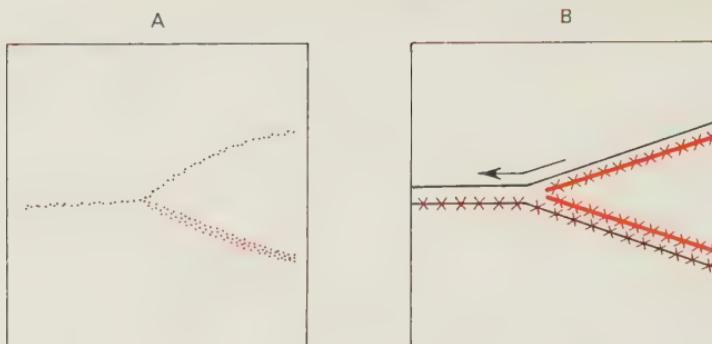


FIG. 3.9. — Deuxième cycle de réPLICATION du chromosome bactérien en présence de thymidine tritiée. A. — Une image observée en autoradiographie. B. — Interprétation : — chaîne parentale non marquée; ~~xxxx~~ chaîne parentale radioactive (synthétisée pendant le premier cycle de réPLICATION après transfert en thymidine tritiée); ~~xxxx~~ chaîne radioactive (synthétisée pendant le second cycle de réPLICATION); → direction de la réPLICATION.

Le fait que l'expérience ait été effectuée en l'absence de division synchrone des bactéries, et l'existence fréquente de ruptures du chromosome bactérien au cours de l'extraction rendent difficile une interprétation plus complète. Pourtant, certaines figures obtenues après plus d'un cycle de réPLICATION en milieu chaud montrent que le chromosome bactérien doit être circulaire.

■ **La réPLICATION procède bidirectionnellement à partir du point d'initiation.** — Une expérience du même type que la précédente a permis de montrer que la réPLICATION procédait dans les deux directions à partir du point d'initiation.

Les bactéries sont ici synchronisées de telle manière que l'on puisse contrôler le moment où la réPLICATION débute. Elles sont alors transférées sur un milieu contenant une faible concentration de thymidine tritiée. Après un temps suffisant pour que la duplication soit presque terminée, les bactéries sont transférées sur un milieu présentant une forte concentration de thymidine tritiée. On les laisse terminer dans ce milieu le premier cycle de réPLICATION et débuter un second cycle. L'ADN est alors extrait des cellules et préparé pour l'autoradiographie. Le marquage en milieu à forte concentration de thymidine tritiée se traduit par une densité plus grande de grains d'argent. Une image caractéristique obtenue en autoradiographie est représentée dans la figure 3-10 avec son interprétation : elle montre clairement que la réPLICATION se propage dans les deux directions de la molécule d'ADN à partir du point d'initiation.

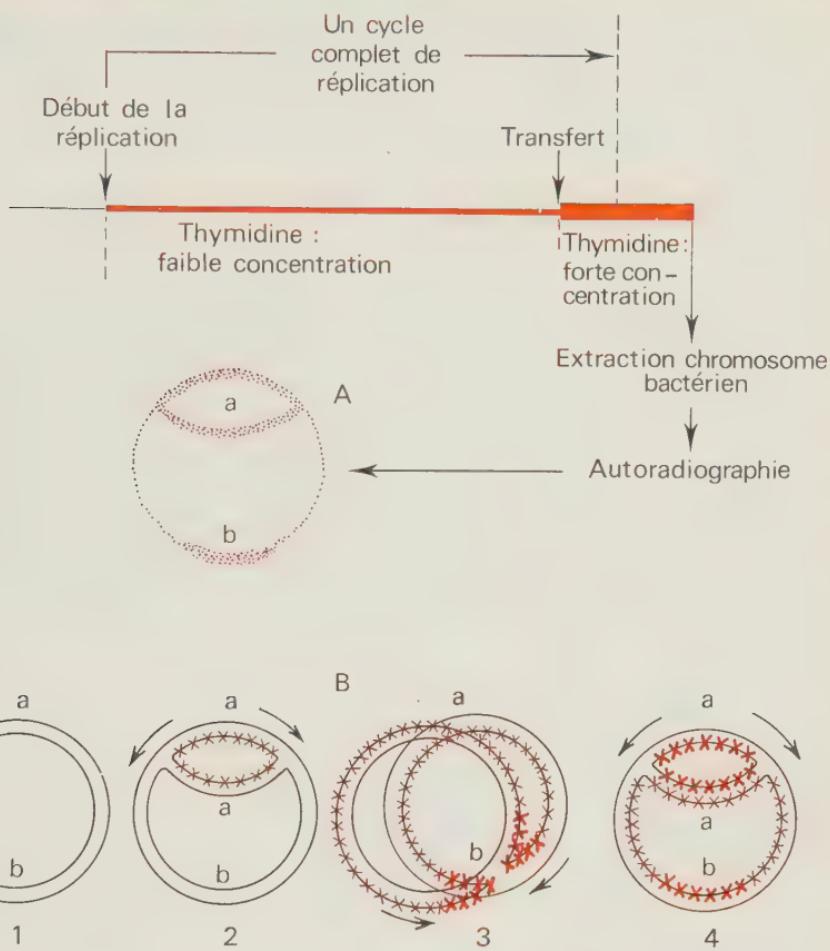


FIG. 3.10. — RéPLICATION BIDIRECTIONNELLE DU CHROMOSOME BACTÉRIEN.  
A. — Une image observée en autoradiographie; **xxxx** marquage faible; **xxxxx** marquage fort. B. — Interprétation : — chaîne parentale non marquée; **xxxx** chaîne faiblement marquée; **xxxxx** chaîne fortement marquée. 1) Chromosome parental; 2) Début de la réplication en milieu à faible concentration de thymidine tritiée; 3) Fin de la réplication en milieu à forte concentration de thymidine tritiée; 4) Début de la seconde réplication, juste avant l'extraction. *a* : site d'initiation de la réplication; *b* : fin de la réplication.

■ **Le point d'initiation de la réplication est fixe.** — Si la réplication procède à la même vitesse dans les deux directions, le point *b* dans la figure 3-10 indique que la réplication du premier cycle de division a débuté à l'opposé, c'est-à-dire précisément au point *a*.

correspondant au début du second cycle de réPLICATION. Ceci suggère que le point d'initiation est toujours le même. Ceci a en effet été démontré par d'autres expériences.

### Division de la bactérie

On ne sait pas encore clairement comment les nouveaux chromosomes bactériens sont répartis dans les cellules filles, pendant la division qui suit leur réPLICATION. Il semble qu'ils soient attachés à la membrane de la cellule bactérienne. Pendant la duplication, ce point d'attachement se scinderait de manière à donner deux points à chacun desquels serait attaché un chromosome fils (fig. 3.11). Ces points s'éloigneraient au fur et à mesure de l'accroissement de la taille du bacille. Lorsque se formera le sillon qui, en s'approfondissant, va aboutir à la séparation des deux cellules, les deux chromosomes seront ainsi disposés chacun dans une future bactérie fille. Il est à noter que la séparation physique des bactéries filles ne se fait pas toujours après la division cellulaire : elles forment alors des chapelets de cellules.

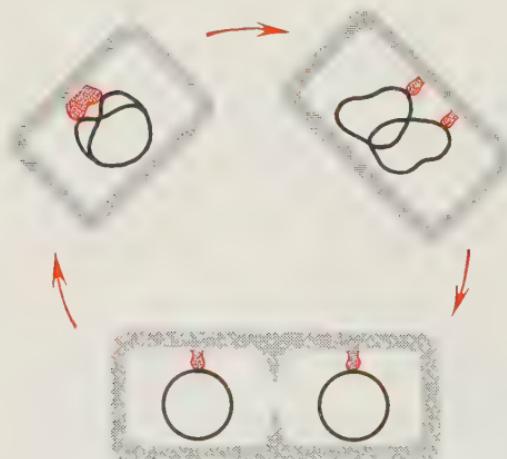


FIG. 3.11. — Cycle de division bactérien.

### Les ADN-polymérases

On a isolé récemment plusieurs ADN polymérasées chez le même organisme. Trois sont connues chez le colibacille. L'une d'entre elles intervient sûrement dans la duplication. Les autres pourraient jouer un

rôle dans des synthèses de réparation intéressant de petits segments de la molécule d'ADN, à la suite de lésions diverses. *In vivo*, au moins sept enzymes distincts, incluant l'ADN polymérase spécifique de la réplication sont nécessaires pour que celle-ci s'effectue : ce processus, simple dans ses grandes lignes, présente donc une certaine complexité dans ses détails.

Une propriété commune à toutes les ADN polymérases consiste dans le fait qu'elles allongent toujours le brin d'ADN néosynthétisé dans la direction  $5' \rightarrow 3'$ . En effet, l'allongement du brin nouveau s'effectue par la formation d'une liaison ester-phosphate qui implique le groupe  $3'OH$  du brin naissant et le groupe triphosphate du nouveau nucléotide.

Ceci apparaît en contradiction avec l'observation selon laquelle les deux branches de la fourche sont synthétisées dans la même direction. En effet, au niveau de la fourche, l'un des deux brins néosynthétisés a la polarité  $5' \rightarrow 3'$  et s'allonge donc dans la direction de progression de la fourche ; mais l'autre brin néosynthétisé a la polarité  $3' \rightarrow 5'$  et doit donc s'allonger dans la direction opposée à celle de migration de la fourche. Ce paradoxe est résolu de la manière suivante : contrairement à la synthèse du nouveau brin  $5' \rightarrow 3'$  qui s'effectue de manière continue, la synthèse du nouveau brin  $3' \rightarrow 5'$  s'effectue de manière discontinue : de petits fragments sont synthétisés successivement, à contresens de la progression générale de la fourche, puis sont secondairement associés les uns aux autres (fig. 3.12) pour former un grand brin continu.

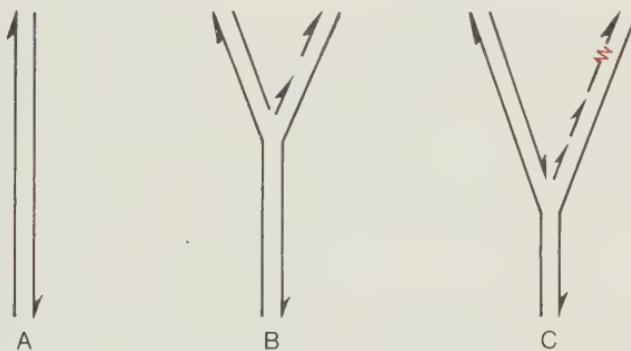


FIG. 3.12. — Direction de la synthèse d'ADN au niveau de chaque brin.  
A. — Molécule d'ADN parentale. Les flèches symbolisent les extrémités  $3'OH$  de chaque brin.

B. — On suppose que la synthèse débute à une extrémité de la molécule. Les deux brins sont synthétisés dans la direction  $5' \rightarrow 3'$ . La synthèse de l'un des brins s'effectue de manière continue, dans la même direction que celle de la fourche de réplication. L'autre brin est synthétisé de manière discontinue, à contresens de la fourche.

C. — Les courts fragments d'ADN synthétisés à contresens sont secondairement associés pour former un brin continu.



# 4

## Division cellulaire chez les eucaryotes

Les expériences précédentes fournissent une explication cohérente de la reproduction conforme chez les bactéries qui tient compte en particulier de la réPLICATION du matériel génétique et de sa répartition dans les cellules filles lors de la division cellulaire.

Chez les cellules animales et végétales (eucaryotes), la situation est plus complexe. Le cytoplasme comporte de nombreux organites différenciés (reticulum endoplasmique, dictyosomes, mitochondries, etc.). De plus, il existe dans chaque noyau *plusieurs* chromosomes dont la structure est complexe; si la quasi-totalité de l'ADN cellulaire est localisée à leur niveau, d'autres substances chimiques entrent également dans leur composition.

Si on se place d'un point de vue strictement mécanique, comment procède la cellule? De quelle manière les diverses structures cellulaires se répartissent-elles dans les cellules filles lors de la division cellulaire: est-ce que chaque structure dérive d'une structure préexistante, ou bien certaines peuvent-elles se reformer *de novo*?

D'après ce que l'on sait déjà, au moins une structure — un type moléculaire — doit dériver d'une molécule préexistante: il s'agit de l'ADN. C'est donc au niveau des structures cellulaires qui contiennent cet ADN, c'est-à-dire au niveau du noyau et plus précisément des chromosomes, que la division doit être le plus strictement équationnelle.

C'est effectivement ce qui est observé cytologiquement. A quelques variantes près, toutes les cellules eucaryotes présentent un mode de division extrêmement voisin qui a été appelé *mitose*. L'étude de la

mitose permet de comprendre comment, quel que soit le nombre des chromosomes, ceux-ci sont répartis également, après s'être dupliqués, dans les deux cellules filles.

## Observation cytologique de la mitose

L'exemple choisi ici concerne une cellule animale. Il existe en effet des différences mineures dans le déroulement de la mitose selon le type cellulaire observé. Pourtant, l'étude de la mitose est principalement celle de la division du noyau et surtout des chromosomes, or les observations qui concernent le devenir des chromosomes au cours de la mitose peuvent être généralisées à l'ensemble des cellules eucaryotes. Les transformations des autres structures seront également situées tout au long du processus mitotique, en particulier, la mise en place du fuseau de division qui permet la répartition des chromosomes dans les cellules filles.

Il est possible, grâce aux techniques de cinématographie et en utilisant le microscope à contraste de phases, de suivre de bout en bout une mitose. Celle-ci est un phénomène *continu*. Pourtant, les cytologistes ont été amenés à distinguer quatre phases, correspondant à des changements morphologiques des chromosomes dont les limites sont nécessairement arbitraires. Il s'agit de la *prophase*, la *métaphase*, l'*anaphase* et la *télophase*.

Entre deux divisions, c'est-à-dire entre la fin de la télophase et le début de la prophase suivante, la cellule est dite en *interphase* (on parle encore de noyau « quiescent », mais ce terme est inexact, car il existe pendant l'interphase une activité nucléaire intense liée à l'activité du matériel génétique).

### La prophase

Dans le noyau interphasique, on distingue dans le nucléoplasme, la *chromatine* et un ou plusieurs *nucléoles* qui apparaissent plus réfringents au microscope optique (fig. 4-1, A). La chromatine nucléaire va devenir de plus en plus visible au cours de la prophase : elle se différencie graduellement en fins bâtonnets qui correspondent aux *chromosomes* (fig. 4-1, B et C). Une observation attentive permet de constater dès le début de la prophase que chaque chromosome est en fait divisé longitudinalement sur toute sa longueur. Les deux éléments qui constituent chaque chromosome sont appelés *chromatides*. Celles-ci restent pourtant jointives en une région particulière du chromosome : le *centromère*. Ce clivage devient très net en fin de prophase, au stade de condensation maximale des chromosomes. Pendant toute la prophase, le ou les nucléoles persistent : ils sont toujours attachés à un (ou plusieurs) chromosome(s).

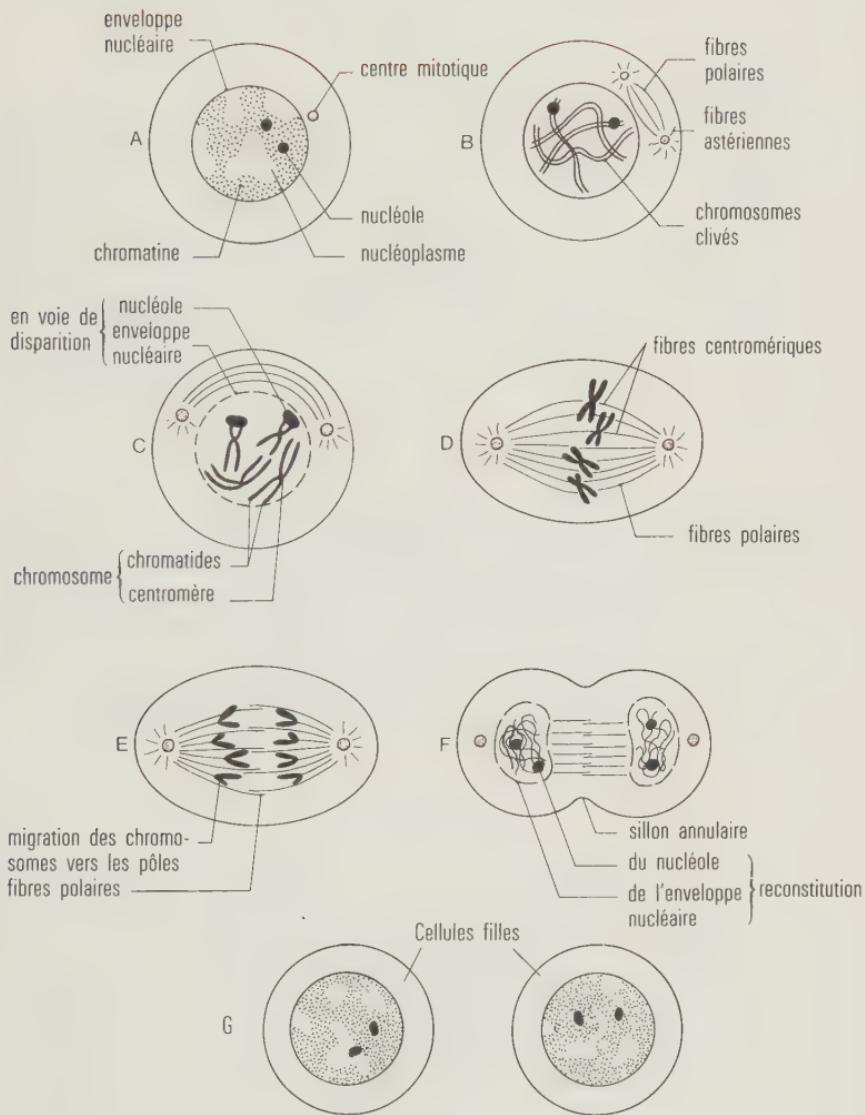


FIG. 4.1. — *La mitose.* A. — Interphase; B. — Début de prophase; C. — Fin de prophase; D. — Métaphase; E. — Anaphase; F. — Télophase; G. — Interphase.

A proximité du noyau interphasique, on observe au microscope optique une zone plus claire, qui correspond au *centre mitotique*. Ce centre mitotique qui se duplique en début de mitose jouera un rôle important dans l'assemblage du fuseau de division, constitué de différents types de fibres correspondant elles-mêmes à des faisceaux de microtubules. Dans les cellules animales, ce centre mitotique est usuellement associé aux *centrioles*. On a longtemps cru que les centrioles étaient les centres organisateurs de l'assemblage du fuseau de division. Deux arguments s'opposent à cette hypothèse. D'une part, la plupart des cellules de plantes possèdent un centre mitotique dépourvu de centriole. D'autre part, la destruction des centrioles par des microrayons laser n'empêche pas la formation du fuseau de division. Les deux centres mitotiques obtenus après duplication s'écartent et vont se disposer en deux points opposés par rapport au centre du noyau. On voit apparaître les *fibres polaires* qui partent de chaque centre mitotique, dans la direction de l'autre centre mitotique. Au niveau des pôles, se forment des fibres astériennes, plus ou moins développées (surtout dans les cellules animales) et qui rayonnent à partir de chaque centre mitotique.

A la fin de la prophase, l'enveloppe nucléaire se fragmente : le nucléoplasme entre en contact direct avec le hyaloplasme. Le nucléole disparaît également. Au niveau du centromère de chaque chromosome, une structure appelée *cinétochore* se différencie sur chacune des deux faces opposées du centromère. A partir de ces deux cinétochères, il apparaît une nouvelle catégorie de faisceaux de microtubules : les *fibres centrométriques*. Ces fibres irradient depuis les cinétochères en direction opposée vers les deux centres mitotiques qui définissent maintenant les deux futurs pôles de la division. On entre alors en métaphase.

## **La métaphase**

La séparation des chromosomes en chromatides est maintenant très visible. Seul le centromère assure la jointure. Les chromosomes se disposent (ou plus exactement leur centromère) selon un plan perpendiculaire à l'axe reliant les deux pôles, à égale distance de ceux-ci. Ce plan est appelé *plan équatorial* (ou plaque métaphasique). Le système du fuseau de division est en place les fibres polaires venant de chaque pôle se chevauchent dans la région équatoriale; à partir de chaque chromosome, deux faisceaux de fibres centrométriques partent vers chaque pôle (fig. 4-1, D).

## **L'anaphase**

L'anaphase débute par le clivage des centromères : les deux chromatides de chaque chromosome sont alors complètement séparées; elles constituent désormais chacune un chromosome. Les deux chromosomes fils migrent chacun vers un des pôles (fig. 4-1, E). On

obtient donc finalement à chaque pôle autant de chromosomes qu'il en existait, divisés en deux chromatides, à la prophase.

### La télophase

Les chromosomes sont maintenant répartis en deux lots identiques. Ils perdent progressivement leur individualité par un processus inverse à celui de la prophase. L'enveloppe nucléaire se reforme autour de chacun des deux lots de chromosomes, les nucléoles réapparaissent (fig. 4-1, F).

En même temps s'effectue la *cytodiérèse* : dans les cellules animales, la membrane plasmique s'invagine au niveau de son intersection avec le plan équatorial. Elle forme un sillon annulaire qui va en s'approfondissant, s'étrangle de plus en plus jusqu'à ce que les cellules filles se séparent (fig. 4-1, G).

### Le cytoplasme pendant la mitose

En dehors du noyau, un certain nombre de modifications cellulaires accompagnent la mitose. En effet, à la fin de la prophase, parallèlement à la formation du fuseau de division et à la disparition de l'enveloppe nucléaire, le cytoplasme subit plusieurs changements. Les mitochondries ralentissent leurs mouvements; elles sont repoussées vers la périphérie de la cellule et deviennent moins distinctes : ces phénomènes sont probablement en relation avec la rigidité du fuseau de division qui occupe une place très importante. Le reticulum endoplasmique perd en partie sa structure et forme un système discontinu de vésicules arrondies également repoussées vers la périphérie de la cellule. Le cytosquelette, formé de microtubules, d'actine et de filaments intermédiaires, qui joue un rôle dans la forme et l'ossature de la cellule, disparaît, et en particulier, les dimères de tubuline sont dépolymérisés et réutilisés pour la polymérisation des fibres du fuseau. Il est reformé en fin de télophase. À la télophase, ces phénomènes s'inversent. Au fur et à mesure que les chromosomes perdent progressivement leur individualité, l'enveloppe nucléaire se reconstitue à partir des vésicules qui subsistent du reticulum celles-ci viennent s'accorder à la masse chromosomique et se soudent les unes aux autres. Le fuseau disparaît. Les mitochondries deviennent plus nettes et reprennent leurs mouvements tandis que le reticulum se reconstitue. Il semble que la répartition de toutes ces structures se fasse au hasard dans les cellules filles, selon leur localisation par rapport au sillon annulaire.

Ainsi, au partage rigoureux des chromosomes qui aboutit, à partir d'une cellule à  $x$  chromosomes, à deux cellules contenant chacune un lot identique de  $x$  chromosomes, il faut opposer le partage approximatif des constituants cytoplasmiques, à l'exception près du centrosome.

Cette description de la mitose, valable pour les cellules animales, est un peu différente chez les végétaux supérieurs. Leurs cellules à paroi rigide (squelette pectocellulosique) ne se séparent pas par étranglement.

Des vésicules qui proviendraient de l'appareil de Golgi se placent sur le plan équatorial : elles fusionnent finalement en formant une lame, le *phragmoplaste*, qui séparera les deux cellules filles.

Chez les champignons filamentueux, où de nombreux noyaux baignent dans un cytoplasme commun, l'enveloppe nucléaire persiste et le fuseau de division est intranucléaire. C'est au niveau du noyau lui-même que s'effectue l'équivalent de la cytokinèse.

Ceci n'enlève rien aux résultats fondamentaux de la mitose : la répartition égale des chromosomes dans les deux noyaux fils, aboutissant au maintien du nombre des chromosomes. On verra plus loin dans ce chapitre que cela correspond à une répartition égale de l'ADN qu'ils contiennent à chaque génération cellulaire.

## Appareil mitotique

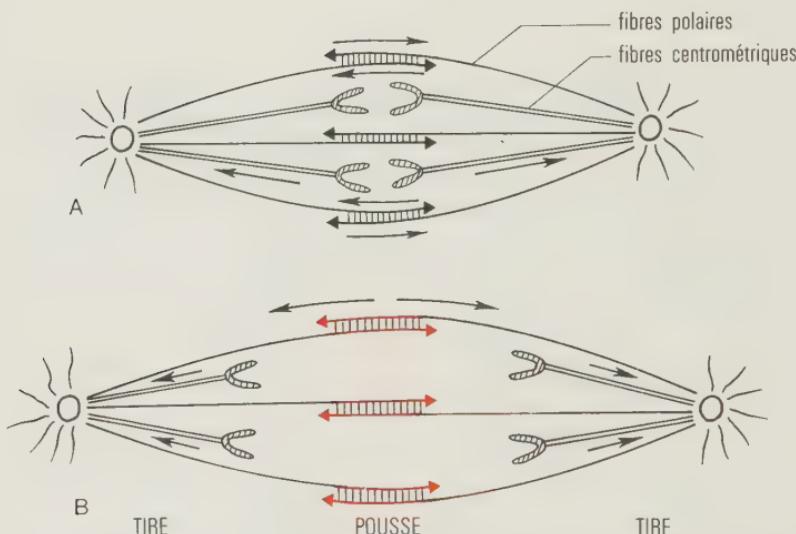


FIG. 4.2. — Rôle du fuseau de division dans la migration des chromosomes en mitose.

A. — Début d'anaphase : les fibres polaires se chevauchent dans la région équatoriale. Elles vont glisser l'une sur l'autre, de manière à pousser les centres mitotiques. Les extrémités des fibres polaires vont simultanément s'allonger par polymérisation des tubulines, ce qui permettra au glissement de se poursuivre tandis que les pôles s'éloignent. Les fibres centrométriques vont se raccourcir en tirant les chromosomes vers les pôles.

B. — Fin d'anaphase : la conséquence de ces deux forces est un éloignement des pôles, résultant du glissement et de l'allongement simultané des fibres polaires et un rapprochement des chromosomes de leur pôle respectif, résultant du raccourcissement des fibres centromériques. Les deux effets contribuent, en s'additionnant, à éloigner les deux groupes de chromosomes fils, qui convergent chacun vers un pôle.

## Les microtubules

Les microtubules formant les fibres du fuseau ont un diamètre qui varie de 14 à plus de 20 nm selon les espèces.

Au fort grossissement, chaque microtubule apparaît constitué d'unités globulaires de 3,3 nm de diamètre. La structure de ces microtubules est identique à celle des microtubules cytoplasmiques et centriolaires ainsi qu'à celle des tubules externes des cils et flagelles qui pourraient avoir la même constitution.

L'isolement de l'appareil mitotique (en particulier chez l'oursin) a permis d'effectuer son analyse chimique : il est constitué pour plus de 90 % de protéines. Une analyse plus poussée montre qu'il s'agit en fait d'une protéine particulière : la *tubuline* qui existe sous deux formes différentes  $\alpha$  et  $\beta$ . Les tubulines  $\alpha$  et  $\beta$  peuvent s'associer en dimères. Ces dimères peuvent eux-mêmes par polymérisation former de longs filaments qui, en s'associant longitudinalement, constituent les microtubules.

Le fait que la viscosité du cytoplasme diminue au début de la mitose, pendant la formation de l'appareil mitotique, suggère que ces protéines préexistaient dans le cytoplasme où elles avaient été synthétisées auparavant. Elles représentent pendant la mitose, une part importante des protéines cellulaires : 10 % dans l'œuf d'oursin et jusqu'à 50 % dans des cellules plus petites.

## Rôle de l'appareil mitotique

L'observation des cellules en anaphase montre que les chromosomes sont tirés vers les pôles par l'intermédiaire de leur centromère : ce mécanisme donne aux chromosomes une forme caractéristique en forme de V lorsque le centromère est médian. Si, par accident, un fragment de bras chromosomique est cassé, celui-ci, dépourvu de centromère, ne subira pas l'ascension aux pôles. Si, encore par accident, un chromosome possède deux centromères, chacun pourra migrer vers un pôle différent et ce chromosome sera alors étiré jusqu'à ce qu'une cassure s'ensuive éventuellement.

Le fuseau de division joue un rôle actif dans ce processus de traction. La montée aux pôles des chromosomes résulte en fait d'un double mouvement. L'un, dû aux fibres polaires, repousse les pôles mitotiques en les éloignant. L'autre, dû aux fibres centromériques, tire les chromosomes vers chaque pôle. Le mouvement de poussée s'explique de la manière suivante : les fibres polaires reliées à chacun des deux centres mitotiques se chevauchent dans la région équatoriale. Pendant l'anaphase, ces portions de microtubules chevauchantes glissent l'une par rapport à l'autre de manière à éloigner les deux pôles l'un de l'autre. De manière concomitante, l'extrémité de ces microtubules située dans la région équatoriale s'allonge, permettant au glissement de se poursuivre (fig. 4.2). L'éloignement des pôles résultant de ce processus

s'accompagne naturellement d'un éloignement des chromosomes fils de part et d'autre de la plaque équatoriale. Les chromosomes anaphasiques sont soumis à un autre mouvement qui les rapproche de leur pôle respectif. Ce mouvement résulte d'un raccourcissement des fibres centromériques dû en grande partie à la dépolymérisation des tubulines constituant les faisceaux de microtubules au niveau des centres mitotiques (fig. 4.2).

## RéPLICATION de l'ADN pendant le cycle de division cellulaire

### Moment de la duplication de l'ADN

Les observations cytologiques des chromosomes en prophase montrent qu'ils sont déjà clivés. Qu'en est-il de l'ADN qu'ils contiennent? Des expériences, basées sur des études microspectrophotométriques (permettant la mesure de la quantité d'ADN aux diverses phases du cycle cellulaire) ou sur la mesure de l'incorporation de précurseurs radioactifs spécifiques de l'ADN, ont permis de montrer que la

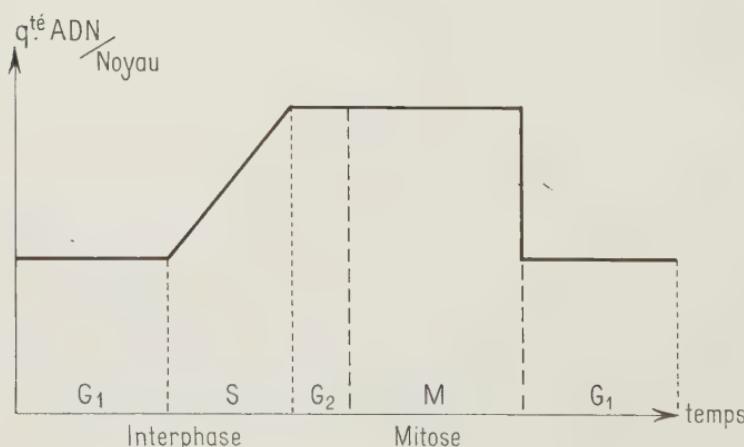


FIG. 4.3. — Variation de la quantité d'ADN pendant le cycle cellulaire.

synthèse d'ADN s'effectue effectivement pendant l'interphase. L'interphase peut ainsi être divisée en trois périodes : G<sub>1</sub>, entre la télophase précédente et le début de la synthèse d'ADN, S qui correspond à la synthèse d'ADN, et G<sub>2</sub> pendant laquelle la quantité d'ADN est exactement doublée par rapport à la phase G<sub>1</sub> et qui précède la mitose suivante (fig. 4-3). Les cellules qui ne sont pas en phase de prolifération sont normalement arrêtées en phase G<sub>1</sub>.

### Mode de duplication de l'ADN chromosomique

Les expériences de marquage de l'ADN chromosomique montrent que celui-ci se duplique selon un mode comparable à celui mis en évidence chez les bactéries (fig. 4-4). Le matériel utilisé dans l'expérience citée ici correspond à des racines de plantules de diverses espèces végétales (*Bellevalia*, *Vicia faba*). On observe les cellules des méristèmes de ces racines. Ces cellules se divisent activement. Elles possèdent un petit nombre de chromosomes. Ceux-ci sont assez gros pour être observés aisément.

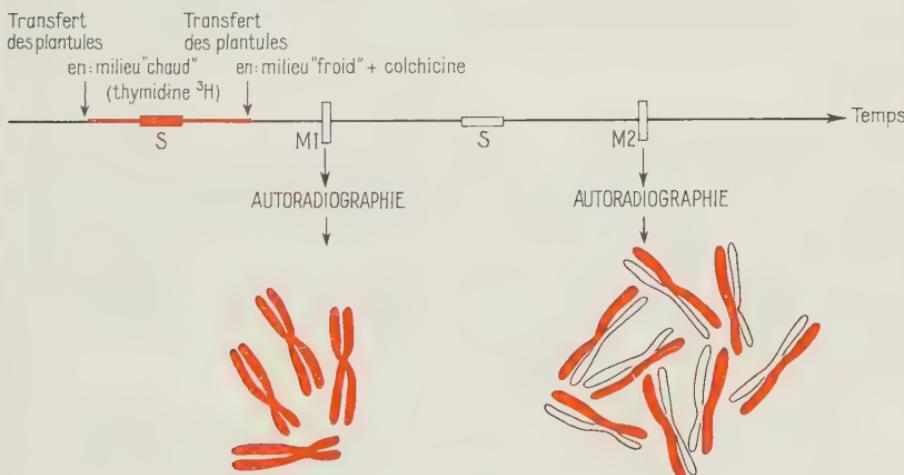


FIG. 4-4. — Marquage des chromosomes à la première et à la seconde division suivant leur duplication en présence de thymidine tritiée. S. — synthèse. M<sub>1</sub>. — 1<sup>re</sup> métaphase après la synthèse en milieu chaud. M<sub>2</sub>. — 2<sup>re</sup> métaphase après la synthèse en milieu chaud. Les chromatides radioactives sont indiquées en noir.

■ **Méthode expérimentale.** — Les plantules sont placées dans une solution radioactive de thymidine tritiée. La thymidine pénètre dans les racines. Elle est incorporée spécifiquement dans l'ADN au cours

de sa synthèse. Les plantules sont laissées dans la solution pendant un temps suffisant pour qu'il se produise *un cycle de réPLICATION* de l'ADN. Elles sont ensuite lavées, puis transportées dans une solution sans thymidine marquée. Des échantillons sont prélevés à des temps variés après le transfert et les cellules sont placées au contact d'une émulsion photographique. L'observation porte sur les cellules en métaphase : on recherche quels sont les chromosomes qui portent de la thymidine tritiée (repérables par la présence de grains d'argent).

Les cellules en métaphase peuvent correspondre à la division qui suit immédiatement la synthèse en milieu « chaud » ou bien encore à des cellules qui ont déjà subi une division, puis un nouveau cycle de réPLICATION en milieu « froid ». Afin de distinguer ces deux types de cellules, on ajoute au milieu « froid » de la colchicine. Cette substance a pour effet de prévenir la migration des chromosomes aux pôles cellulaires, lors de l'anaphase, en inhibant la formation de l'appareil mitotique; en présence de colchicine, les chromosomes restent face à face après le clivage du centromère et l'enveloppe nucléaire se reforme à la télophase autour d'un nombre double de chromosomes. Cette technique permet donc :

- de distinguer les cellules en première métaphase après la synthèse en milieu chaud des cellules en deuxième métaphase;
- d'observer dans la même cellule tous les chromosomes descendants du chromosome qui s'est dupliqué en présence de thymidine marquée.

■ **Résultats.** — A la première métaphase qui suit immédiatement la duplication en milieu chaud, les deux chromatides de chaque chromosome sont marquées. A la deuxième métaphase, après qu'un nouveau cycle de réPLICATION se soit accompli en milieu froid, on observe, pour chaque chromosome, une chromatide marquée et une chromatide non marquée : chaque chromosome marqué issu de la première division donne lui-même naissance à deux chromosomes dont l'un est marqué et l'autre pas.

■ **Interprétation.** — Ces résultats indiquent que chaque chromosome est constitué de deux sous-unités d'ADN. Lorsque les chromosomes fils se forment, les sous-unités se séparent et la synthèse de la sous-unité complémentaire s'effectue : si la duplication se produit en milieu chaud, les chromosomes fils possèderont une sous-unité chaude et une sous-unité froide, mais apparaîtront marqués. La duplication suivante aboutira par le même mécanisme, si elle se produit en milieu froid, à un chromosome marqué et un chromosome non marqué (fig. 4-5).

Les deux sous-unités d'ADN postulées dans cette interprétation font évidemment penser aux deux chaînes polynucléotidiques complémentaires qui constituent la molécule d'ADN. Aussi cette expérience suggère-t-elle que chaque chromosome (et chaque chromatide) pos-

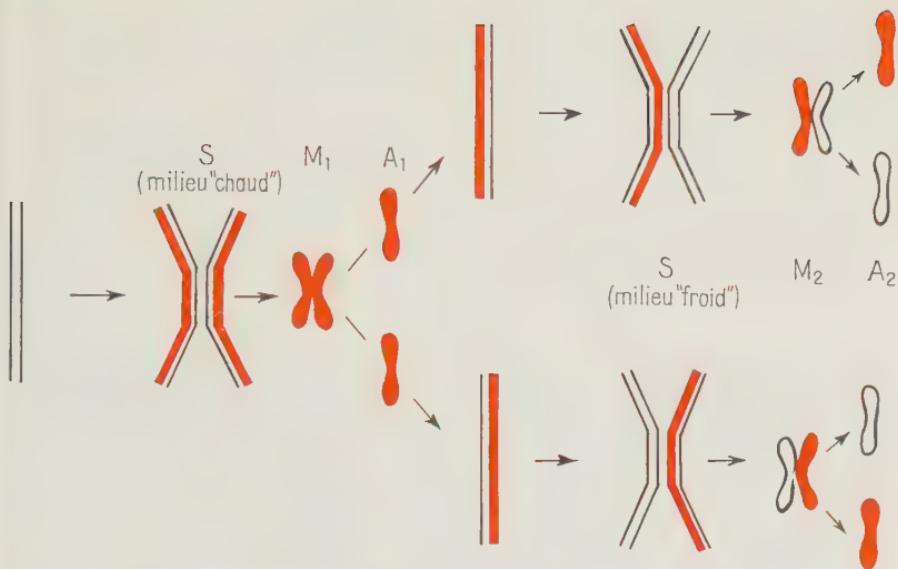


FIG. 4.5. — Interprétation de l'expérience schématisée dans la figure 4.4.  
S. — synthèse; M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>. — Métaphase (1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> division après la synthèse en milieu chaud); A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>. — Anaphase (1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> division après la synthèse en milieu chaud).

— sous unité d'ADN radioactive;  
— sous unité d'ADN non radioactive.

sème une molécule d'ADN qui se réplique selon le mode semi-conservatif comme cela est supposé dans la figure interprétable.

### Existence de nombreux points de réPLICATION dans chaque chromosome

L'existence de points de réPLICATION multiples le long de chaque chromosome a été montrée en particulier sur des cellules de mammifères.

Si on place des cellules en phase S dans un milieu contenant un précurseur radioactif de l'ADN pendant un temps court, chaque chromosome apparaît marqué en de nombreux sites distincts : indiquant l'existence d'autant de points de réPLICATION. La longueur des segments marqués permet d'estimer la vitesse de réPLICATION : celle-ci avoisine 1 µm/mn. Cette vitesse est beaucoup plus faible que chez les bactéries (environ 20 µm/mn).

Lorsqu'on effectue deux marquages successifs, l'un avec une faible concentration, l'autre avec une forte concentration de thymidine tritiée, puis que l'on traite les cellules de manière à conserver l'ADN

nu, on observe en autoradiographie des images qui indiquent que dans la grande majorité des cas la réPLICATION procède de manière bidirectionnelle (fig. 4-6).

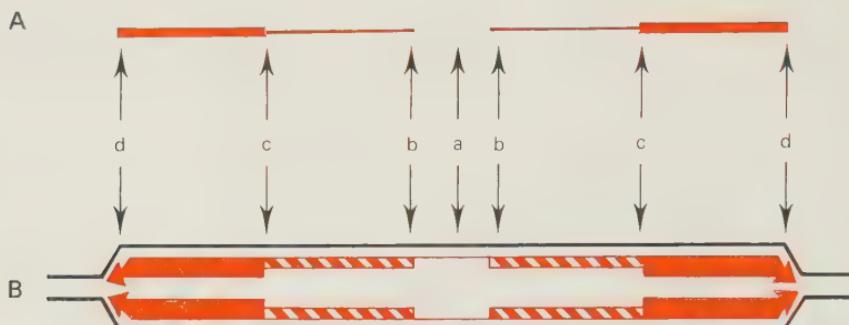


FIG. 4.6. — Démonstration de la réPLICATION bidirectionnelle de l'ADN chez les cellules eucaryotes. A. — Image observée en autoradiographie; — marquage faible; — marquage fort. B. — Interprétation : — chaîne non radioactive; ■ chaîne faiblement radioactive; ■■ chaîne fortement radioactive. a. — Point d'initiation de la réPLICATION. b. — Localisation des fourches de réPLICATION au moment du transfert en milieu faiblement radioactive. c. — Localisation des fourches de réPLICATION au moment du transfert en milieu fortement radioactive; d. — Localisation des fourches de réPLICATION au moment de la fixation; → direction de la réPLICATION.

## Chromosomes

### L'ADN chromosomique

Les chromosomes, bien qu'ils ne soient individualisables que pendant la mitose, persistent en fait pendant toute la durée du cycle cellulaire. C'est à leur niveau qu'est localisé l'ADN nucléaire. De nombreux arguments indiquent que chaque chromosome (lorsqu'il est non dupliqué) contient une seule molécule d'ADN, continue d'un bout à l'autre du chromosome et qui traverse notamment la région du centromère. Voici quelques-uns de ces arguments :

- Les expériences de marquage radioactif (voir p. 59) sont compatibles avec l'idée que, longitudinalement, il existe dans le chromosome deux sous-unités d'ADN comparables aux deux chaînes complémentaires de la molécule d'ADN.

- La digestion des chromosomes par les protéases (spécifiques des protéines) n'entraîne pas leur rupture : ceci est contraire à l'idée qu'il existe un arrangement en tandem de plusieurs molécules d'ADN réunies par des liens protéiques (-o-o-o-) dans le chromosome. Au contraire, la cinétique de cassure des chromosomes par la DNase est conforme à l'existence d'une seule molécule d'ADN longitudinalement. Si plusieurs molécules d'ADN identiques et disposées en parallèle constituaient chaque chromosome, chaque gène existerait en plusieurs exemplaires. Or, les études de génétique moléculaire montrent que la plupart des gènes n'existent qu'en un seul exemplaire par génome haploïde.
- Lorsque l'ADN de cellules de levures est extrait par des méthodes douces, puis soumis à un fractionnement selon la taille des molécules (par vitesse de sédimentation en ultracentrifugation, ou bien par électrophorèse en champ pulsé), on montre que le poids moléculaire de ces molécules est conforme à celui qu'on attendrait si une seule molécule d'ADN existait dans chaque chromosome.

Chez la levure, la quantité d'ADN par chromosome est du même ordre de grandeur que celle du chromosome bactérien. Dans le cas des macroorganismes, au contraire, cette quantité est beaucoup plus élevée (jusqu'à plus de 100 fois plus). Aussi, l'argument le plus impressionnant vient-il d'expériences effectuées chez diverses espèces de drosophiles. Par des méthodes basées sur la mesure de la viscoélasticité de l'ADN, le poids moléculaire des molécules d'ADN les plus grandes peut être estimé chez cet insecte : dans tous les cas, on trouve un accord très satisfaisant entre la quantité d'ADN dans le chromosome le plus long (estimée à partir de la longueur physique relative de ces chromosomes, leur nombre et la quantité d'ADN par noyau) et la taille de la molécule d'ADN la plus longue estimée par les mesures de viscoélasticité.

Le rapport entre la taille des chromosomes et celui de la molécule d'ADN qu'ils contiennent indique un degré de compaction énorme de l'ADN dans le chromosome. Ainsi, si on prend l'exemple du plus grand chromosome humain, une molécule d'ADN de 7 cm de long est contenue dans un chromosome dont le diamètre avoisine 0,6 µm et la longueur 8 µm.

Cette molécule a en fait subi des reploiemens successifs qui expliquent cette compaction.

### Organisation de l'ADN dans la chromatine

■ **Observation cytologique.** — Dans le noyau interphasique, la chromatine apparaît sous une forme plus ou moins condensée. Au microscope électronique, elle apparaît formée d'un réseau de filaments très longs et tellement enchevêtrés qu'il est impossible de les suivre d'un bout à l'autre et de les compter.

■ **Constitution chimique.** — La chromatine est constituée principalement d'ADN (environ 30 %) et de protéines; on constate aussi la

présence d'une faible quantité d'ARN. Les protéines correspondent en majeure partie à des histones : ceux-ci se caractérisent par une composition en acides aminés assez particulière (très riches en lysine, arginine et alanine) et leur association étroite avec l'ADN nucléaire. Les proportions de ces constituants peuvent varier d'une espèce à l'autre.

■ **Structure des nucléofilaments.** — La structure de base de la chromatine correspond au nucléofilament. Ce dernier se présente comme un filament d'environ 10 nm de diamètre. Après digestion à la trypsine (qui dégrade spécifiquement les protéines), les nucléofilaments persistent sous la forme d'un seul brin très fin de 2 nm de diamètre. Ce brin résiste à la trypsine, mais disparaît sous l'action de la DNase (qui dégrade spécifiquement l'ADN). Ces résultats indiquent que ces nucléofilaments correspondent à une molécule d'ADN associée à des protéines.

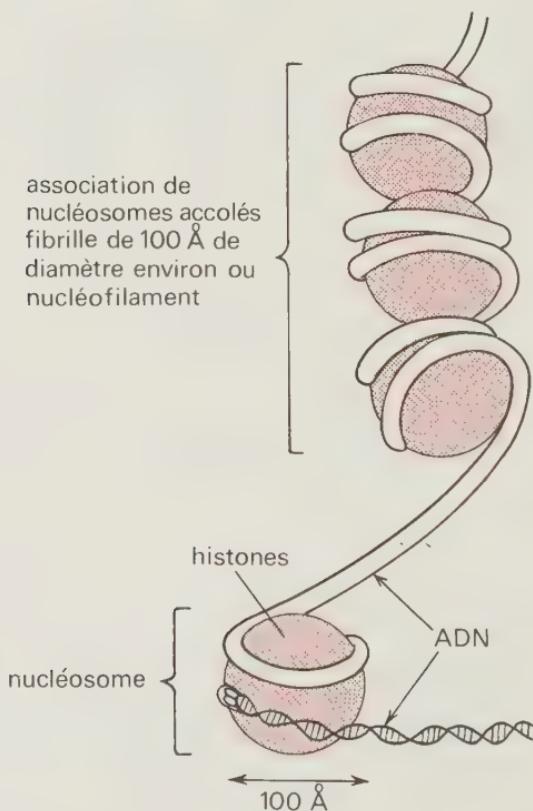


FIG. 4.7 — Structure des nucléosomes et fibre chromatinienne.  
(d'après WORCEL et BENYOJATI, *Cell*, vol. 12).

De nombreuses études biochimiques ont permis de se faire une idée assez précise de la structure des nucléofilaments (fig. 4-7). Chaque filament est composé par une molécule d'ADN enroulée en superhélice et associée avec des histones. Cette association aboutit à une structure comparable à un collier de perles dont chaque grain constitue un *nucléosome*. Chaque nucléosome a un diamètre de 10 nm. Il correspond à un segment d'ADN d'environ 200 paires de bases, associé avec 8 molécules d'histone. En effet, on dénombre dans le nucléosome 4 histones différents, chacun existant en deux exemplaires. Les histones comportent une portion basique, linéaire, qui a une grande affinité pour l'ADN et une portion globulaire qui a une affinité pour la portion globulaire des autres histones. Cette constitution entraîne un assemblage précis des molécules les unes par rapport aux autres et par rapport à l'ADN, qui aboutit au nucléosome. Au niveau du nucléosome, l'ADN est安排 de manière à effectuer deux tours de spire successifs. Le degré de compaction de l'ADN dans le nucléofilament y est de 7.

■ **La fibre chromosomique.** — Un cinquième type d'histone joue un rôle dans l'association des nucléosomes et permet un degré de repliement supplémentaire. La fibre chromosomique ainsi formée a un diamètre de 25 à 30 nm (fig. 4.8). Dans le noyau interphasique, selon les régions chromosomiques, les degrés de compaction varient. Les régions les plus compactées, qui correspondent aux portions d'ADN qui ne sont pas actives, constituent l'hétérochromatine.

■ **Organisation en boucles de la chromatine.** — Aussi bien dans la chromatine des noyaux interphasiques que dans les chromosomes des cellules en mitose, on a mis en évidence une organisation des fibres chromosomiques en une suite de domaines en boucles (fig. 4.8). La base de ces boucles correspond probablement à des séquences particulières de la molécule d'ADN qui sont reconnues par des protéines spécifiques qui maintiennent côte à côte les deux extrémités de chaque boucle. Un des constituants principaux des protéines associées aux pieds des boucles correspond à un enzyme dont la fonction est de contrôler le repliement de l'ADN et dont la présence est indispensable à l'accomplissement de la mitose. La taille des domaines ainsi définis est variable d'une boucle à l'autre (de quelques dizaines de milliers à une centaine de milliers de paires de bases). Ainsi, un chromosome humain de taille moyenne comporterait entre deux et trois mille domaines en boucle. La signification fonctionnelle de cette organisation en boucles n'est pas encore élucidée. Elle pourrait être en relation avec l'existence de multiples unités de réPLICATION, ou bien jouer un rôle dans les modalités d'expression des gènes.

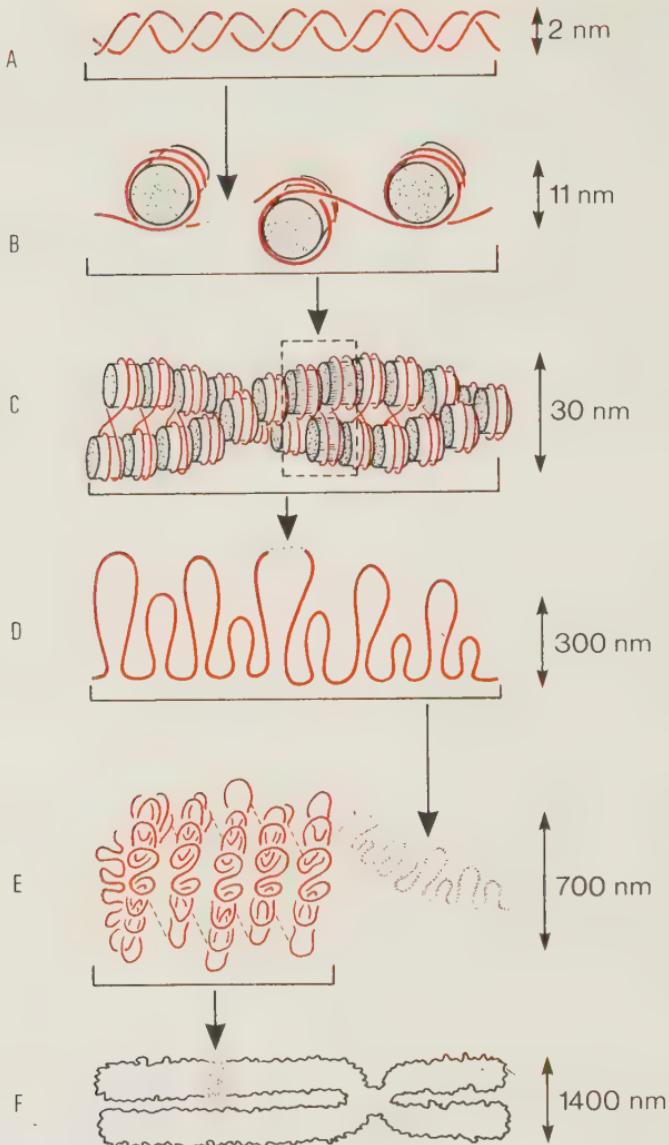


FIG. 4.8. — Niveaux d'enroulement de l'ADN dans la chromatine et les chromosomes. A. — Double-hélice d'ADN. B. — Enroulement par les nucléosomes : forme en « collier de perles ». C. — Fibre de chromatine avec les nucléosomes associés entre eux. D. — Section de chromosome décondensée. E. — Section de chromosome condensée. F. — Chromosome métaphasique. D'après B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*. Copyright © 1983 by Garland.)

■ **Le modèle chromosomique de la matrice protéique.** — L'observation en microscopie électronique de chromosomes métaphasiques préalablement soumis à un traitement qui élimine les histones montre l'existence d'une grande quantité de boucles d'ADN qui émergent d'un axe central de constitution protéique. Ce type d'observations a conduit au modèle chromosomique de la matrice protéique. Selon ce modèle, au cours de la condensation des chromosomes en prophase de mitose, les pieds des boucles consécutives s'attacheraient les uns aux autres, amenant les boucles successives côté à côté. L'axe protéique constitué par l'agglutination des constituants protéiques des pieds de boucle pourrait lui-même présenter un enroulement hélicoïdal à l'intérieur de chaque chromatide (fig. 4.8).

## Nombre et morphologie des chromosomes

■ **Nombre de chromosomes.** — Le nombre des chromosomes est caractéristique de chaque espèce et se retrouve dans les diverses cellules de cette espèce. On compte ainsi 8 chromosomes dans les cellules de *Drosophila melanogaster*, 14 chez le seigle, 20 chez le maïs, seulement 2 chez *Ascaris megalocephala univalens* mais plus de 200 chez certains crustacés et une espèce de fougère.

Le nombre de chromosomes ne semble guère corrélé avec la complexité génétique des organismes et il peut fortement varier entre deux espèces voisines; ainsi, alors qu'une espèce d'*Ascaris* ne compte que 2 chromosomes, une autre espèce du même genre en possède plus de 30.

■ **Morphologie des chromosomes.** — La mitose aboutit à la constance du nombre des chromosomes; à ceci s'ajoute une constance morphologique des chromosomes. En effet, les chromosomes ne sont

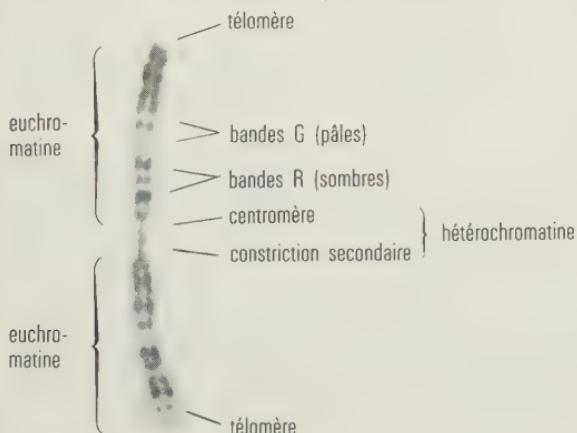


FIG. 4.9. — Chromosome 1 humain en proméタphase. Cliché fourni par B. Dutrillaux (Institut Curie, Paris)

pas tous semblables. Il est possible de les distinguer. Pour cela, on fait appel à plusieurs critères morphologiques (fig. 4-9) :

- La taille : ainsi, chez l'homme, le plus grand chromosome mesure environ 8  $\mu$  et le plus petit environ 1  $\mu$ .
- La place du centromère (ou *constriction primaire*) : celui-ci peut subdiviser le chromosome en deux bras égaux (*chromosome métacentrique*), en deux bras inégaux (*submétacentrique*) ou bien être terminal (*acrocentrique*).
- L'existence, en début de prophase, de régions plus intensément repliées correspondant aux chromomères se décèle dans certaines espèces : la séquence des chromomères (qui varient par leur forme) est caractéristique d'un chromosome.
- Le nucléole apparaît toujours attaché au même endroit sur un chromosome précis : ce point d'attachement est appelé *organisateur nucléolaire*.
- Certains chromosomes présentent des étranglements caractéristiques (*constrictions secondaires*) ou sont rattachés par un filament très fin à une petite sphère correspondant à l'extrémité d'un des bras : le *satellite*.
- L'ensemble des critères précédents n'éprouve pas toujours de reconnaître les chromosomes, par exemple lorsque leur taille et la position de leur centromère sont très similaires. Des traitements particuliers peuvent pourtant être appliqués aux préparations cytologiques : utilisation de composés fluorescents qui se fixent sur des régions précises des chromosomes, ou bien incubation dans des conditions qui perturbent localement et spécifiquement la structure des chromosomes, suivie d'une coloration au giemsa, qui révèle ces perturbations. De tels traitements font apparaître des bandes qui présentent des intensités de fluorescence ou de coloration variables. Ces bandes — qui reflètent des différences chimiques tout au long des chromatides — présentent des distributions caractéristiques pour chaque chromosome.

Tous ces critères permettent de distinguer les chromosomes les uns des autres.

■ **Notion de caryotype.** — La forme de chaque chromosome, tout comme leur nombre, est parfaitement définie dans chaque espèce : ces deux paramètres constituent le *caryotype* de l'espèce. Celui-ci peut être visualisé par la construction d'un *idiogramme*. On découpe les chromosomes photographiés en métaphase, après avoir été soigneusement étalés par une forte pression sur la lamelle, puis on les classe par ordre de taille décroissante en tenant compte de leur morphologie. A titre d'exemple, la figure 4-10 représente un idiogramme humain. Cet idiogramme appelle un certain nombre de commentaires :

— On compte au total 46 chromosomes : ce nombre est caractéristique de l'espèce humaine.

— Sur la figure, les chromosomes sont groupés par paires. Chaque chromosome, caractérisé par sa taille, sa forme et son motif de bandes, est en fait en double exemplaire. Les deux chromosomes appartenant à la même paire sont dits *homologues*. Il y a 4 paires chez la drosophile, 10 chez le maïs, 7 chez le seigle, etc. Chaque espèce possède  $n$  paires différentes,  $n$  correspond au nombre *haploïde* de chromosomes,  $2n$  est le nombre *diploïde*.



FIG. 4.10. — Caryotype humain féminin normal en bandes R.  
Cliché fourni par B. Dutrillaux (Institut Curie, Paris)

— Il existe en fait une exception à la règle des paires : il s'agit, dans la figure, des chromosomes appelés X. En effet, le chromosome X ne possède son homologue que dans un des deux sexes : le caryotype représenté ici est un caryotype de femme. Chez l'homme, l'X n'est présent qu'en un seul exemplaire ; à la place du second X manquant se trouve un chromosome beaucoup plus petit appelé chromosome Y. Du fait de leur répartition en fonction du sexe, ces chromosomes sont appelés *chromosomes sexuels* ou *hétérosomes*. Les autres chromosomes qui présentent la même répartition dans les deux sexes sont appelés *autosomes*. Selon les espèces, la paire homologue de chromosomes sexuels peut se rencontrer soit chez la femelle, soit chez le mâle.

### Chromosomes polytènes

Les chromosomes ne sont pas assez enroulés pendant l'interphase pour pouvoir être individualisés. Il existe cependant des situations particulières qui permettent d'identifier sans difficulté des chromosomes interphasiques. Il s'agit des chromosomes géants dans les tissus des larves de certains diptères. Ainsi, les noyaux des glandes salivaires de drosophile présentent des chromosomes dont la taille est plus de 100 fois supérieure à celle des chromosomes mitotiques observés dans d'autres tissus du même insecte (fig. 4-11). Leur taille est telle qu'une description très précise de ces chromosomes peut être effectuée. Chaque chromosome présente une succession de bandes sombres et d'interbandes claires. L'épaisseur de ces bandes est variable (entre 0,5 et 5  $\mu\text{m}$ ). On en compte au total environ 5 000 sur l'ensemble des chromosomes géants. La séquence de ces bandes est assez précise pour que chaque portion de chromosome puisse être définie et reconnue par son motif particulier. Cette possibilité d'observation précise des chromosomes a permis de confirmer la théorie chromosomique de l'hérédité (cf. chapitre 8).

Du point de vue théorique, l'existence de ces chromosomes a un autre intérêt, dû au fait que les cellules des glandes salivaires sont en interphase. Les chromosomes géants sont en fait constitués de plus de 1 000 nucléofilaments identiques associés longitudinalement et se correspondant spécifiquement point à point. Des réPLICATIONS successives de l'ADN aboutissent à cette structure qui résulte donc d'un doublement géométrique des filaments interphasiques initiaux (2, 4, 8, 16, etc.). Chaque bande correspond à la superposition des différentes copies d'un même domaine en boucle. Ces bandes n'ont pas la même signification que les bandes qui apparaissent après une coloration spécifique des chromosomes métaphasiques, puisque ces dernières comportent un grand nombre de domaines en boucle successifs. Ces chromosomes constitués de nombreuses unités parallèles sont appelés chromosomes *polytènes*. Ce phénomène de polyténie permet de visualiser

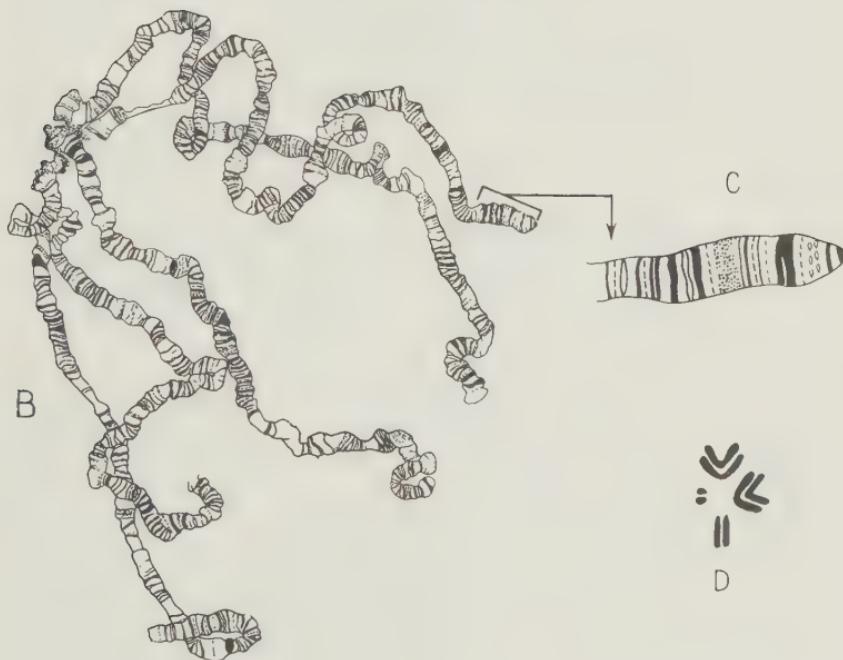
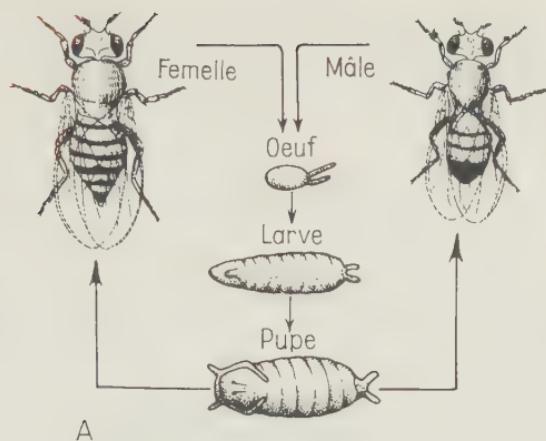


FIG. 4-11. — A. — Cycle de la drosophile. B. — Chromosomes géants d'une cellule de glande salivaire de larve de drosophile : les régions du centromère de chaque chromosome sont réunies au niveau du chromocentre d'où partent les divers bras chromosomiques. C. — Détail. D. — Chromosomes métaphasiques de drosophile dans une cellule ordinaire.

ser, en le grossissant par multiplication, chaque filament chromatinien, dans un état de déroulement probablement similaire à celui qu'il présente dans les noyaux interphasiques ordinaires.

## Conclusion

Si on compare les informations contenues dans ce chapitre avec celles apportées par l'étude de la réPLICATION du chromosome bactérien, on peut mettre en évidence un certain nombre de différences et de points communs.

Les différences portent sur le nombre et la structure des chromosomes. Chez les eucaryotes, la pluralité des chromosomes s'accompagne de modalités de division cellulaire plus complexes; l'existence fréquente dans chaque chromosome d'une très longue molécule d'ADN et son association étroite avec les nucléoprotéines (qui peut expliquer une vitesse de réPLICATION plus faible) nécessitent l'existence de nombreuses unités de réPLICATION par chromosome.

Les points communs portent sur le mode de réPLICATION de l'ADN, très vraisemblablement identique chez tous les organismes, et sur l'agencement de l'ADN, dans la mesure où il paraît raisonnable d'assimiler le matériel génétique de chaque chromosome à une molécule d'ADN unique chez les eucaryotes comme chez les procaryotes.

Cette dernière remarque amène un certain nombre de questions. On sait que, chez le colibacille, il existe de nombreux gènes différents, contrôlant des caractères variés et qui mutent indépendamment. Puisqu'on a montré que l'ADN est le support de l'information génétique, il faut alors admettre qu'une seule molécule d'ADN doit correspondre à de nombreux gènes différents.

Dès lors, puisqu'il existe une structure chimique linéaire qui supporte l'information, on devrait s'attendre à ce que les gènes auxquels elle correspond soient arrangés linéairement. Comment peut-on les démontrer?

Chez les organismes supérieurs, les cellules sont diploïdes, chaque chromosome existant en double exemplaire. Il est tentant de penser que l'identité morphologique des chromosomes homologues recouvre l'identité de l'ADN qu'ils contiennent et donc qu'ils possèdent les mêmes gènes. Dès lors, un lot haploïde comporterait tous les gènes en un exemplaire et un lot diploïde les comporterait tous en deux exemplaires. Comment peut-on le prouver?

Si cela est vrai, que va-t-il se passer si l'ADN correspondant à un des deux gènes homologues est différent de l'autre, s'il a subi une mutation? Quelles vont être les conséquences de cet état au cours de la répartition des chromosomes dans les gamètes?

Il est possible d'aborder ces problèmes par l'étude des caractères que les gènes contrôlent, de leur répartition dans les gamètes, de leur transmission aux individus descendants.

# 5

## Mécanismes de transmission des gènes à travers la reproduction sexuée

### Signification biologique de la reproduction sexuée

Jusqu'ici, seule la *reproduction végétative* a été envisagée. Il faut distinguer ce processus de la *reproduction sexuée*.

La reproduction végétative correspond en effet à une simple multiplication cellulaire. C'est le cas lorsqu'on obtient, à partir d'une cellule, un clone bactérien ou bien une population de levures. De même, lorsqu'à partir d'un œuf fécondé, on obtient un embryon, puis un organisme pluricellulaire adulte : toutes les cellules sont issues de la même cellule originelle unique. L'obtention chez certains organismes — en particulier les végétaux — d'individus distincts par bouturage par exemple, relève encore de la reproduction végétative (fig. 5-1).

Dans tous les cas, on obtient un ensemble de cellules toutes issues de la même cellule originelle : il s'agit de clones cellulaires possédant tous (à l'exception des cellules mutées) les mêmes potentialités héréditaires.

L'existence de la reproduction végétative permet théoriquement la multiplication d'organismes même pluricellulaires. Pourtant, la reproduction sexuée est largement répandue dans la nature : on peut même

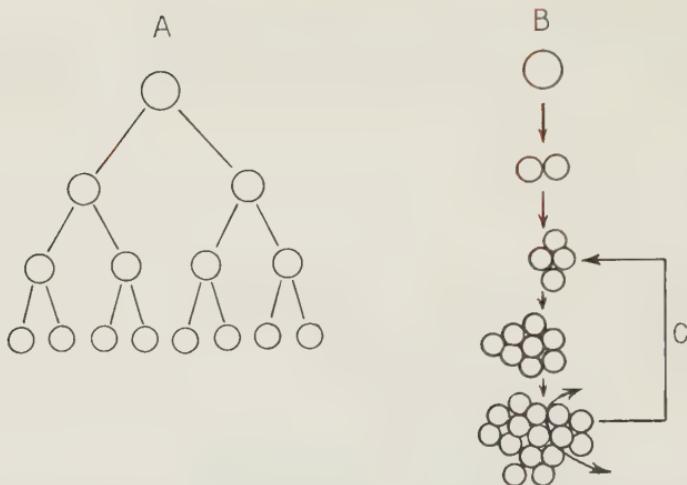


FIG. 5.1 — *Multiplication végétative*. A. — Organisme unicellulaire. B. — Organisme pluricellulaire (on ne tient pas compte de la différenciation des cellules en tissus spécialisés par souci de simplification). C. — Type de reproduction végétative : bouturage.

dire qu'elle est universelle. On la rencontre aussi bien chez l'homme ou les animaux que chez la grande majorité des végétaux.

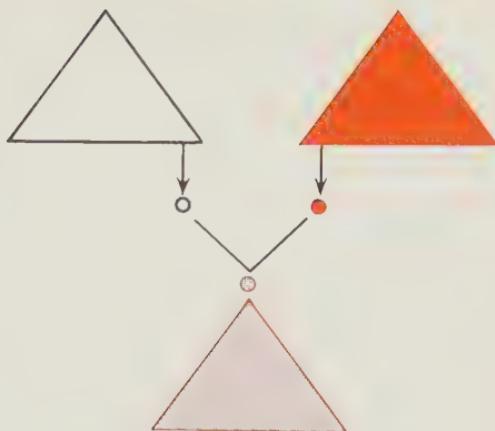
Ce mécanisme de reproduction doit présenter un grand avantage pour avoir été sélectionné et conservé chez pratiquement toutes les formes d'êtres vivants. En effet, imaginons que la reproduction sexuée n'existe pas. La reproduction végétative serait le seul mécanisme de multiplication. La biosphère serait alors la superposition d'un certain nombre de clones complètement séparés les uns des autres; chacun subirait indépendamment sa propre évolution sans autre possibilité d'acquérir les nouveaux caractères existant dans les clones voisins.

La reproduction sexuée permet au contraire un brassage constant entre les divers clones cellulaires. Dans la mesure où les deux individus parents diffèrent pour un certain nombre de potentialités héréditaires, celles-ci se trouvent réassociées dans l'individu descendant grâce à la reproduction sexuée.

Très schématiquement, on peut définir la reproduction sexuée — sous l'angle génétique — comme le mécanisme qui permet, à partir de deux clones cellulaires ou d'individus distincts, la formation d'une nouvelle cellule qui donne naissance à un clone ou à un individu descendant réunissant des caractères de chacun des parents (fig. 5-2).

La reproduction sexuée permet donc le brassage constant des potentialités héréditaires à l'intérieur d'une même espèce. Elle aboutit à des individus dans lesquels ces potentialités peuvent présenter toutes sortes de combinaisons.

FIG. 5.2. — Illustration schématique du rôle génétique de la reproduction sexuée. Le blanc et le rouge symbolisent un ensemble de caractères héréditaires qui diffèrent chez les deux clones parentaux.



Il est évident que la reproduction sexuée n'a d'intérêt que si les clones ainsi brassés diffèrent par un certain nombre de caractères héréditaires. Le brassage entre deux clones identiques n'aboutirait évidemment qu'à un troisième clone semblable aux précédents. En d'autres termes, sans la mutation, source de variabilité, la reproduction sexuée n'aurait pas d'intérêt biologique. Ces deux processus : reproduction sexuée et mutation sont complémentaires, leur effet combiné aboutissant à la diversification maximale des individus dans chaque espèce.

## Cycles de vie

Quels sont les mécanismes qui permettent ce brassage du matériel génétique? Cette question peut être abordée par la voie cytologique. En effet, dans la mesure où l'on sait que les chromosomes contiennent l'ADN cellulaire, lui-même porteur de l'information génétique, l'étude du devenir de ces chromosomes d'une génération à l'autre doit nous apporter des renseignements précieux.

Qu'implique la reproduction sexuée au niveau des chromosomes?

On sait que, dans une espèce donnée, le nombre de chromosomes est constant d'une génération à l'autre : toutes les cellules humaines contiennent 46 chromosomes, par exemple. Or, les cellules de l'adulte proviennent de la multiplication de la cellule œuf elle-même issue de la fusion de deux cellules (les gamètes) provenant chacune d'un parent. Les gamètes possèdent donc 46 chromosomes à eux deux. En fait, les gamètes humains possèdent 23 ( $n$ ) chromosomes chacun. Ces 23 chromosomes correspondent à un exemplaire de chacune des 23 paires de chromosomes des cellules somatiques de l'être humain. La fusion de ces deux cellules aboutit à la cellule œuf qui contient,

elle, 23 paires ( $2n$ ) de chromosomes et donnera naissance par mitoses successives à l'ensemble des cellules qui composent les tissus de l'adulte.

La reproduction sexuée implique donc obligatoirement deux processus qui correspondent l'un au passage de l'état diploïde ( $2n$  chromosomes) à l'état haploïde ( $n$  chromosomes) : il s'agit de la méiose, et l'autre au passage de l'état haploïde à l'état diploïde : la fécondation. Ces deux processus complémentaires sont indispensables au maintien de l'assortiment chromosomique de l'espèce au cours des générations sexuées. Ils ne sont pas restreints à l'homme, mais se rencontrent chez la quasi-totalité des eucaryotes : aussi bien les animaux que les champignons, les algues, les végétaux supérieurs. Seuls les procaryotes (bactéries et virus) font exception à cette règle : d'autres processus (tels que la transformation bactérienne) tiennent lieu de reproduction sexuée chez ces organismes.

Ces passages de l'état diploïde à l'état haploïde, puis de l'état haploïde à l'état diploïde peuvent être schématisés par un cercle fermé qui symbolise le passage perpétuel d'un état à l'autre au cours des générations sexuées (fig. 5-3).

Chez l'homme, l'état haploïde est extrêmement bref puisque les cellules haploïdes issues de la méiose vont se différencier en *gamètes* (*ovule* et *spermatozoïde*), sans subir aucune *division*. La fusion de l'ovule et du spermatozoïde, au cours de la fécondation, redonnera

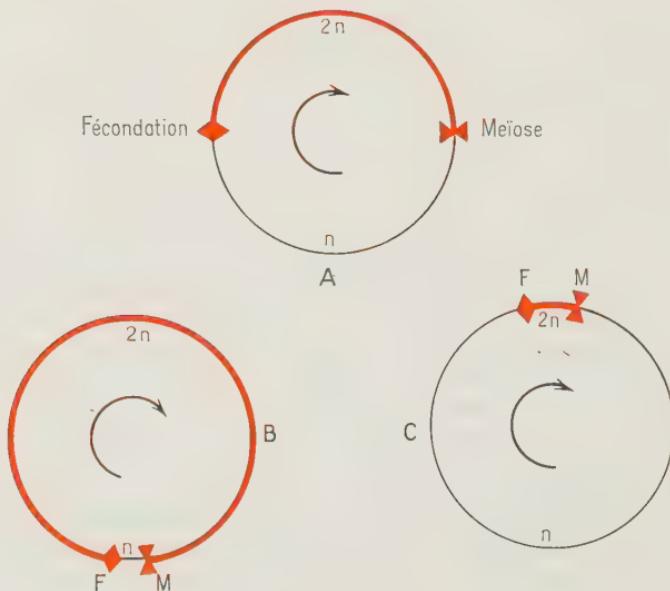


FIG. 5.3. — Cycle chromosomique.  
A. — Cycle général; B. — Cycle diplobiontique.  
C. — Cycle haplobiontique.

un œuf diploïde : le *zygote*. Celui-ci, par mitoses successives, conduira au nouvel individu. La plupart des cellules de l'adulte, correspondant aux divers tissus, vont se différencier (voir chapitre 13) et périront avec l'individu (*cellules somatiques*). Seules quelques cellules correspondant à la *ligne germinale* garderont la potentialité de subir la méiose et de fournir les gamètes.

Pourtant, bien que cette succession d'un état diploïde qui se termine à la méiose et d'un état haploïde qui se termine à la fécondation se retrouve chez la plupart des êtres vivants, il n'en existe pas moins des différences très grandes selon les organismes quant à l'importance relative des deux phases haploïde et diploïde. Ainsi, chez de nombreux champignons, à l'opposé de l'homme, c'est la phase diploïde qui est réduite au minimum : la cellule œuf diploïde, issue de la fécondation, ne se multiplie pas. Elle va subir immédiatement la méiose. Pendant la phase haploïde, les cellules issues de la méiose vont au contraire se multiplier activement par mitoses successives. Par opposition aux organismes *diplobiontiques* dont les cycles de vie sont similaires à celui de l'homme, le cycle de tels organismes est appelé *haplobiontique*.

Ces deux types de cycles correspondent aux cas extrêmes : il existe tous les intermédiaires quant à l'importance relative des deux phases.

## Description cytologique de la méiose

Pour comprendre comment les caractères héréditaires sont transmis des parents aux descendants, il est indispensable de connaître comment s'effectue le passage de l'état diploïde à l'état haploïde et inversement, puisque chacun de ces processus a pour résultat une modification du nombre de chromosomes porteurs de l'information héréditaire.

Du point de vue caryologique, la fécondation est un processus très simple : elle aboutit, à la suite de la fusion nucléaire, à la juxtaposition dans la même cellule de deux compléments haploïdes de chromosomes permettant la reconstitution du stock diploïde.

Au contraire, le processus de la méiose doit être extrêmement précis puisqu'il doit permettre l'obtention de cellules possédant juste la moitié du nombre de chromosomes, et, plus précisément, un exemplaire de chaque paire de chromosomes homologues. C'est pourquoi la mécanique de la méiose va maintenant être abordée plus en détail.

### Caractéristiques générales de la méiose

Avant de commencer l'étude de la méiose, il faut bien garder à l'esprit que ce type de division est essentiellement différent de la mitose :

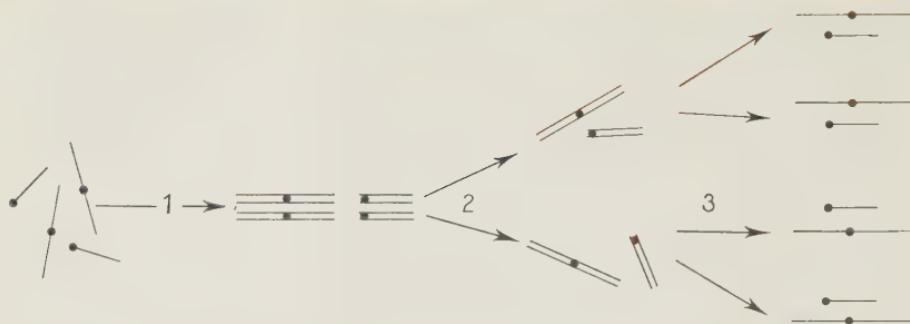


FIG. 5.4. — Caractéristiques essentielles de la méiose. 1. — Duplication et appariement des chromosomes. 2. — Séparation des chromosomes homologues (1<sup>re</sup> division). 3. — Pas de duplication, séparation des chromatides (2<sup>e</sup> division).

— La mitose est le mécanisme par lequel une cellule (haploïde ou diploïde) donne naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère et possédant le même nombre de chromosomes.

— La méiose est le mécanisme par lequel une *cellule diploïde* donne naissance à *4 cellules filles haploïdes*.

La méiose nécessite deux divisions successives habituellement désignées par les chiffres romains : méiose I et méiose II, ces divisions ne sont accompagnées que d'une seule duplication des chromosomes. Pendant la prophase I, les chromosomes s'associent par paires. Les deux membres de chaque paire migrent chacun vers un pôle au cours de l'anaphase I. Pendant l'interphase qui précède la seconde division, il n'y a pas de duplication des chromosomes : ceux-ci étaient déjà dupliqués à la fin de la prophase I. On aboutit ainsi à 4 cellules filles haploïdes possédant chacune un complément haploïde de chromosomes (fig. 5-4).

Chacune des deux divisions méiotiques peut être divisée en 4 phases (prophase, métaphase, anaphase, télophase). Au cours de la méiose I, ces phases sont très différentes de celles observées à la mitose.

### Première division méiotique : méiose I (ou division réductionnelle)

■ **Prophase I.** — Le début de la prophase de méiose rappelle le début de la mitose. On assiste à un épaissement et à un raccourcissement progressif des chromosomes qui deviennent de plus en plus visibles (fig. 5-5). Mais dès le début et encore plus par la suite, on observe des différences importantes avec la mitose. La prophase de méiose est beaucoup plus longue et plus complexe que la prophase mitotique. Cette complexité a mené les cytologistes à subdiviser la prophase I de méiose en plusieurs stades qui se succèdent de manière continue.

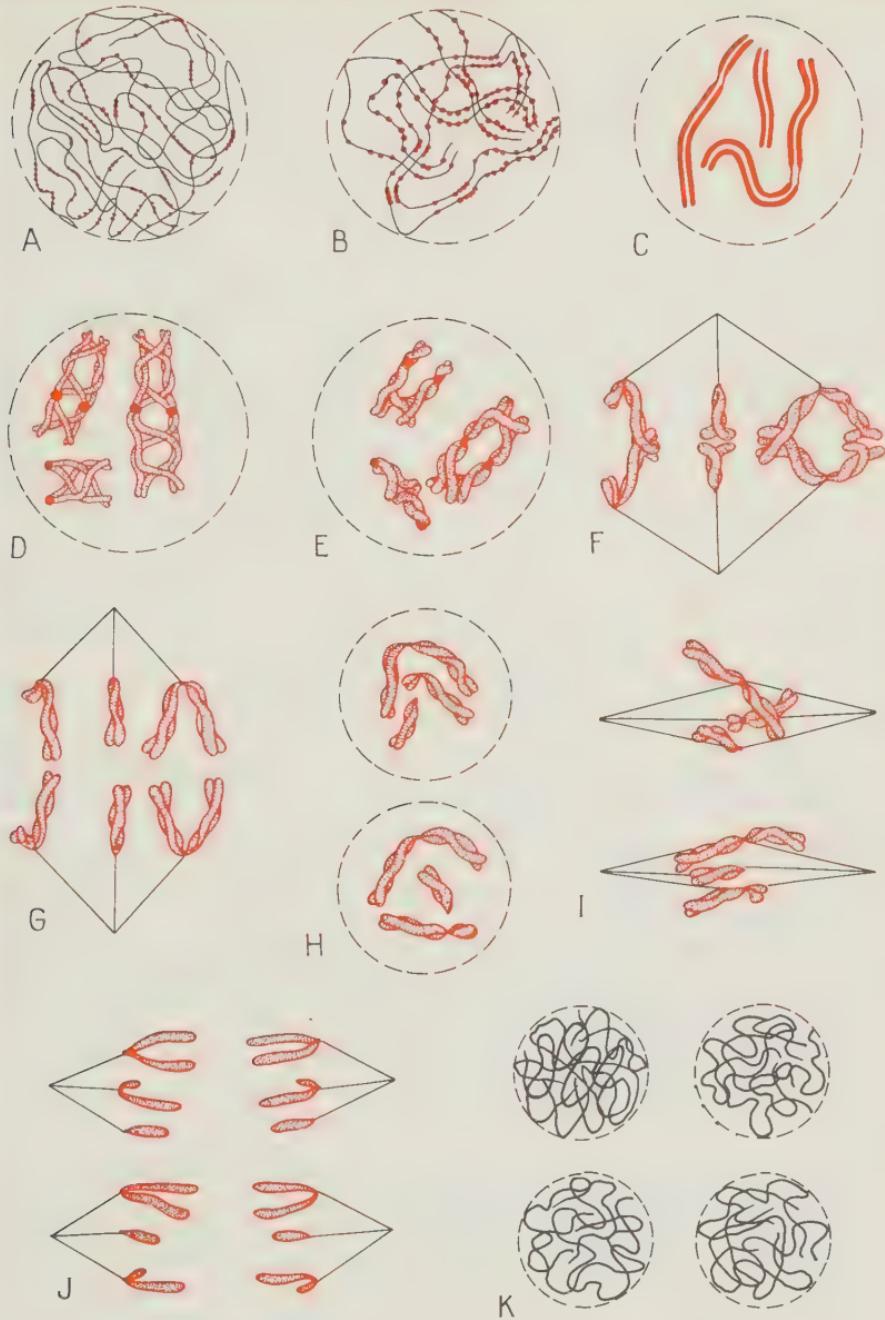


FIG. 5.5. — Principaux stades de la méiose. A. — Leptoné. B. — Zygotène. C. — Pachytène. D. — Diplotène. E. — Diacinese. F. — Métagamie I. G. — Anaphase I. H. — Prophase II. I. — Métagamie II. J. — Anaphase II. K. — Fin de télophase II. Seuls les chromosomes sont représentés.

► **LEPTOTÈNE.** — Les filaments chromosomiques commencent à devenir visibles au microscope optique. Ils sont encore très longs et enchevêtrés. Le long des chromosomes, on peut distinguer des régions plus ou moins épaisses, irrégulièrement espacées : les chromomères. La séquence des chromomères est caractéristique de chaque chromosome.

► **ZYGOTÈNE.** — Les chromosomes homologues de chaque paire s'apparentent en certains points. A partir de ces points, l'appariement se propage progressivement sur toute la longueur des chromosomes. Cet appariement est strictement homologue. Les chromomères équivalents de chaque paire se trouvent très exactement l'un en face de l'autre. Les paires de chromosomes appariés constituent des bivalents : on a donc, à ce stade,  $n$  bivalents correspondant à  $n$  paires de chromosomes appariés. Pendant cette phase, le processus d'épaisseur des chromosomes se poursuit. Ceux-ci paraissent de mieux en mieux individualisés : ce raccourcissement et cet épaissement des chromosomes se poursuivront pendant les stades suivants.

► **PACHYTÈNE.** — A ce stade, l'épaissement est tel qu'il devient possible de reconnaître et d'individualiser chaque bivalent d'après la disposition des chromomères et du centromère qui devient visible.

► **DIPILOTÈNE.** — Le début du diplotène se définit par un changement notable dans l'apparence des bivalents.

Dans certaines espèces, (criquet), on voit clairement à ce stade que chaque chromosome est formé de deux chromatides, qui restent associées au niveau du centromère. Chaque bivalent est donc composé de 2 chromosomes clivés, soit 4 chromatides. Il est à noter que le clivage se déclenche généralement en méiose en fin de pachytène — début de diplotène, alors qu'en mitose, les chromosomes apparaissent clivés dès le début de la prophase.

L'« attraction » mutuelle entre les chromosomes homologues se relâche de telle sorte que ceux-ci ne sont plus en contact étroit. Pourtant, les chromosomes homologues ne sont pas complètement séparés : ils restent associés en des points de contact qui persistent : les *chiasmas*. Ces chiasmas correspondent à des endroits où deux des quatre chromatides semblent changer mutuellement de partenaire (v. fig. 5-8).

► **DIACINÈSE.** — Pendant le diplotène, les chromosomes continuent à s'épaissir (on ne distingue plus de chromomère) et les chiasmas apparaissent maintenant cantonnés aux extrémités des bras. On aboutit à des figures caractéristiques de la diacinèse : en croix, en 8 ou en anneau.

■ **Métaphase I.** — A la fin de la diacinèse, l'enveloppe nucléaire et les nucléoles disparaissent. Les bivalents vont se disposer sur le plan équatorial; un fuseau de division analogue à l'appareil mitotique s'est mis en place. Pour chaque bivalent, les centromères homologues se

disposent de part et d'autre du plan équatorial à égale distance de celui-ci.

■ **Anaphase I.** — Les derniers chiasmas se séparent. Les deux homologues de chaque bivalent, maintenant libres, migrent chacun vers un pôle; soit vers chaque pôle,  $n$  centromères chacun associé à un chromosome formé de deux chromatides.

■ **Télophase I.** — On obtient finalement à chaque pôle  $n$  chromosomes déjà clivés. Selon les cas, il y a reconstitution d'un noyau interphasique selon un processus analogue à la télophase de mitose, ou bien amorce immédiate de la seconde division de la méiose. Mais, alors qu'en mitose les chromosomes qui donnent naissance au noyau interphasique sont simples, ils sont ici formés de deux chromatides. Alors que, pendant l'interphase mitotique, les chromosomes se dédoublent, ici le doublement préexistant se perpétue.

Le bilan de la première division de méiose est la réduction par deux du nombre de chromosomes.

### **Seconde division méiotique : méiose II (ou division équationnelle)**

Les mécanismes de cette méiose II sont ceux d'une mitose. Les deux noyaux issus de la première division subissent chacun une seconde division, parallèlement, de manière synchrone.

En fin de prophase II, les chromosomes sont à nouveau contractés : leur allure est identique à celle observée en fin de méiose I. A la métaphase II, les chromosomes se placent sur la plaque équatoriale (maintenant c'est le centromère de chaque chromosome qui est situé sur le plan équatorial). L'anaphase II débute par le clivage des centromères; comme en mitose, chaque chromosome fils monte vers un pôle. Les chromosomes sont finalement répartis en quatre groupes (deux pour chaque noyau issu de la première division). Ils vont devenir peu à peu indistincts. Les quatre cellules correspondant à ces quatre noyaux haploïdes sont appelées les quatre *produits* de la (même) méiose.

En résumé, à la première division qui est très différente de la mitose et qui se termine par une réduction de moitié du nombre de chromosomes dans chaque noyau fils, s'oppose la seconde division qui est très semblable à une mitose ordinaire, à la différence près que les chromosomes clivés ne se sont pas dupliqués à l'interphase précédente, mais au cours de la prophase de la première division.

*Note :* Chez les vertébrés, les quatre produits de la méiose correspondent à des cellules égales lors de la spermatogénèse. Pendant l'ovogénèse, les divisions méiotiques sont inégales : elles aboutissent à l'ovule et à trois globules polaires non viables.

## Particularités de la méiose

Malgré un certain nombre de points communs avec la mitose : condensation des chromosomes, existence d'un fuseau de division et enfin, division cellulaire, la méiose présente un certain nombre de particularités propres. Nous allons envisager successivement ici les problèmes de la duplication de l'ADN pendant la méiose, de l'appariement des chromosomes et des chiasmas.

### Duplication de l'ADN pendant la méiose

La duplication de l'ADN se fait pendant l'interphase qui précède la prophase I : aucune autre synthèse importante d'ADN ne s'effectuera ensuite jusqu'à la fin de la méiose (fig. 5-6).

On aboutit ainsi, à la fin de la méiose, à une diminution de moitié de la quantité d'ADN par noyau qui se superpose à l'haploïdisation du nombre des chromosomes.

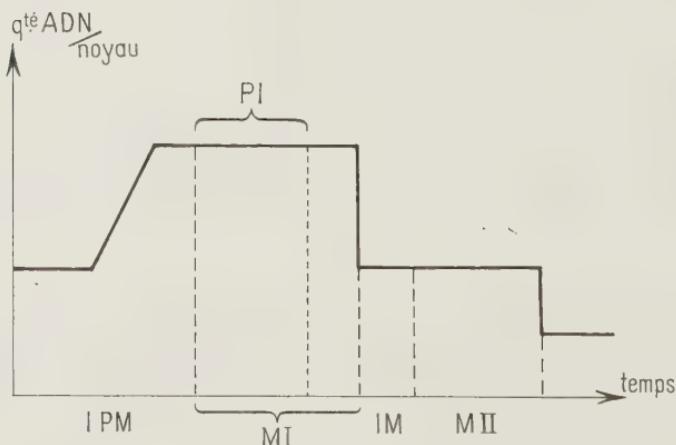


FIG. 5.6. — *Variation de la quantité d'ADN pendant la méiose.* IPM. — Interphase pré-méiotique. MI. — Méiose I. PI. — Prophase de méiose I. IM. — Interphase méiotique. MII. — Méiose II.

## Appariement des chromosomes et complexes synaptonémaux

Quels sont les facteurs qui déterminent la reconnaissance entre les chromosomes homologues, puis leur accollement rigoureux? Cette question reste encore mystérieuse, bien que la structure fine des chromosomes appariés commence à être connue avec précision grâce aux observations faites au microscope électronique.

Au stade pachytène, on constate en effet que les chromatides des deux chromosomes homologues appariés sont séparées sur toute leur longueur par une structure tripartite appelée *synapton* (ou complexe synaptonémal).

Cette structure est composée d'une *région centrale* d'un diamètre d'environ 100 nm et de *deux composants latéraux* à chacun desquels est rattachée la chromatine de chacun des deux homologues. Ces composants latéraux ont un diamètre de 30 à 50 nm selon les espèces (fig. 5-7). Les expériences de dégradation du synapton par des enzymes spécifiques montrent qu'ils sont en majeure partie constitués de protéines.

Dès le leptotène, alors que les homologues ne sont pas encore appariés, chaque chromosome est déjà associé à son élément latéral.

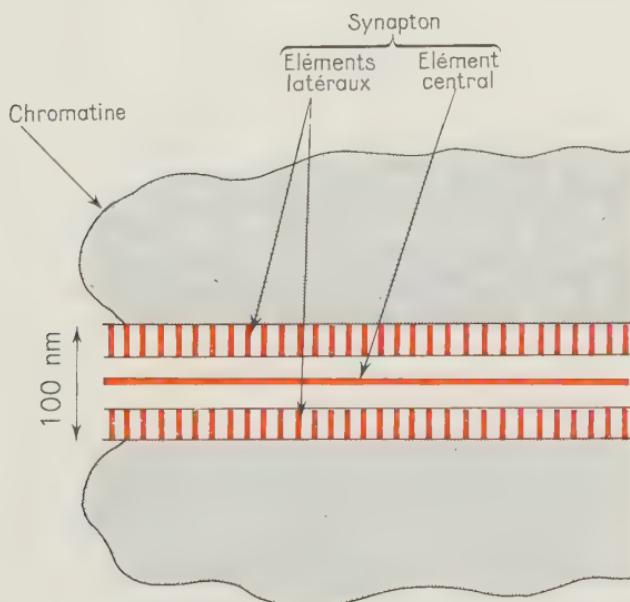


FIG. 5.7. — Ultrastructure d'un bivalent. De part et d'autre du synapton se trouve la chromatine correspondant aux chromosomes homologues.

Au début du zygotène, de courtes régions de synaptops apparaissent aux points où les deux homologues initient leur appariement. Ces régions s'agrandissent, vraisemblablement par la mise en place progressive de la région centrale, aboutissant finalement à l'appariement complet.

Le synapton joue donc un rôle important dans la propagation, puis le maintien de l'appariement chromosomique. Toutefois, ceci n'explique pas comment débute la reconnaissance entre les deux homologues. Des coupes sériées de noyaux au leptotène ou au pachytène permettent de reconstituer la localisation des chromosomes dans l'espace. On constate alors que tous les chromosomes sont attachés à l'enveloppe nucléaire par leurs deux extrémités. Les extrémités équivalentes des homologues seraient toutefois beaucoup plus éloignées au leptotène que lorsqu'ils sont appariés. D'autre part, l'appariement débute en plusieurs points espacés le long de chaque bivalent et pas spécialement à leurs extrémités. Aussi, l'attachement des chromosomes à l'enveloppe nucléaire ne semble-t-il pas pouvoir expliquer le problème de l'initiation de l'appariement. La longueur totale du synapton ne correspond qu'à une toute petite fraction de la longueur de l'ADN dans les chromatides (0,3 %).

De même, le mécanisme de répulsion entre les chromosomes qui débute au diplotène reste inconnu. On observe alors la disparition du synapton qui ne persiste qu'au niveau des chiasmas où les chromosomes homologues restent jointifs.

### Chiasmas

Les chiasmas sont caractéristiques de la méiose. Ils intéressent tous les bivalents de la presque totalité des espèces étudiées. On envisagera ici, après une description plus détaillée des chiasmas, leur origine et leur signification.

■ **Description.** — Au diplotène, chaque chromosome est nettement clivé en une paire de chromatides sœurs qui restent en contact étroit. Au niveau des chiasmas, une des chromatides de chaque paire semble

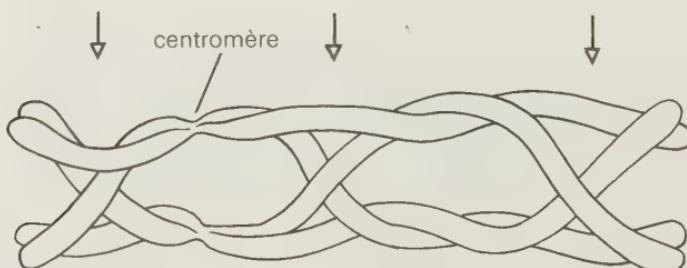


FIG. 5.8. — *Les chiasmas dans un bivalent, au diplotène.*

changer de partenaire pour aller s'apparier avec l'autre chromatide homologue (fig. 5-8).

Le nombre de chiasmas varie pour un même bivalent d'une cellule méiotique à l'autre. Pourtant, le nombre moyen de chiasmas est plus élevé pour les chromosomes les plus longs. Sur un même chromosome, les 4 chromatides du bivalent peuvent être impliquées dans des chiasmas successifs.

■ **Signification.** — L'explication classique des chiasmas est schématisée dans la figure 5-9, A : dans ce diagramme, les chromatides sœurs de chaque chromosome homologue sont accolées entre le centromère et le chiasma. A partir du chiasma, le changement de partenaire aboutit à l'accolement entre 2 chromatides homologues.

Une telle interprétation doit être écartée. Dans certains cas, il est possible de distinguer les 2 chromosomes homologues par leur morphologie (si, par exemple, l'un des deux a perdu accidentellement l'extrémité d'un bras (fig. 5-9, B). On peut alors différencier par leur taille les chromatides homologues. Dans l'hypothèse envisagée, on s'attendrait, lorsqu'un tel bivalent présente un chiasma, à ce que les chromatides appariées après le chiasma présentent une taille inégale. Or, l'observation montre que celles-ci présentent une taille identique. Ce type d'observation conduit à l'hypothèse que ce sont toujours les segments de chromatides sœurs qui sont appariés dans chaque mem-

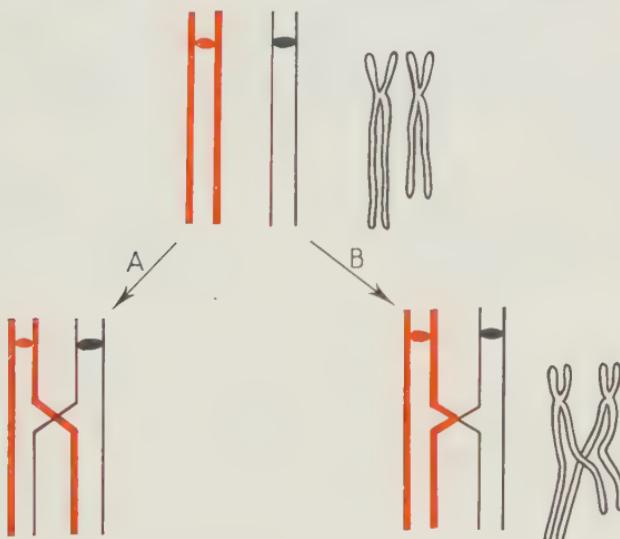


FIG. 5.9. — A. — Les chiasmas conduisent à un appariement entre segments de chromatides homologues. B. — Les chiasmas résultant d'un échange physique entre chromatides homologues; les segments de chromatides sœurs restent appariés.

L'intensité des traits est identique pour les chromatides sœurs; elle est différente pour les chromosomes homologues.

bre du bivalent et par conséquent que le *chiasma* résulte de l'occurrence d'un échange physique entre deux des quatre chromatides homologues.

■ **Relation entre le nombre de chiasmas et le nombre d'échanges physiques.** — Cette dernière interprétation est confirmée par des expériences de marquage radioactif de l'ADN chromosomique chez les criquets mâles. Un précurseur radioactif spécifique est fourni aux cellules germinales pendant la phase S qui précède la dernière mitose prémeiotique. Chaque chromosome possédera alors une chromatide radioactive et une chromatide non radioactive à la prophase I. L'observation des chromosomes à l'anaphase I permet de vérifier si les échanges physiques se sont produits entre les chromatides marquées et non marquées. En effet les chromatides apparaissent marquées de segments radioactifs alternant avec des segments non radioactifs; les chromatides homologues présentent une distribution exactement complémentaire de la radioactivité (fig. 5-10). On peut ainsi comparer les nombres moyens d'échanges physiques et de chiasmas par cellule. Une très bonne corrélation est trouvée entre ces deux chiffres qui sont très voisins.

Les échanges physiques entre chromatides homologues sont appelés *crossing-over*. Ceux-ci s'effectuent entre le moment où les chromosomes dupliqués en chromatides sont appariés et le moment où apparaissent les chiasmas, c'est-à-dire pendant le pachytène. Cet échange doit être très précis et exactement réciproque car il n'y a pas de perte de segment de chromosome (aussi petit soit-il) consécutif au *crossing-over*. Le *crossing-over* doit intéresser des points strictement homologues des deux molécules d'ADN qui composent les deux chromatides

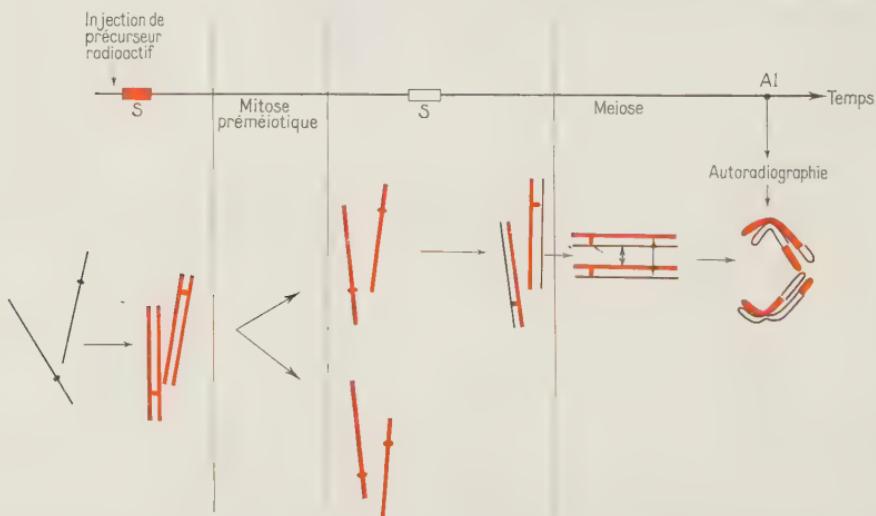


FIG. 5.10. — Preuve autoradiographique de l'existence d'échanges entre chromatides. S : Synthèse; Al : Anaphase I. Les chromatides radioactives sont représentées en rouge.

échangées. On a vu que ces chromatides sont séparées de plus de 100 nm par le synapton. Il est pourtant difficile d'imaginer que les deux portions homologues correspondant au point d'échange ne soient pas en contact étroit lorsque celui-ci s'effectue. Le synapton pourrait jouer un rôle dans ce contact qui n'intéresserait qu'une infime partie de l'ADN total. Le fait que dans de rares cas où des synaptops ne sont pas observés en méiose (par exemple, chez le mâle de la drosophile), on n'observe ni chiasma ni *crossing-over*, favorise cette interprétation.

## Conséquences génétiques de la méiose

La méiose aboutit à un brassage important des chromosomes.

Que signifie ce terme de « brassage » ? Tout organisme diploïde provient d'une cellule œuf issue de la fusion de deux gamètes paternel et maternel. Chacune de ses cellules, en particulier celles qui subissent la méiose, possède donc un complément de chromosomes paternels et un complément de chromosomes maternels. Plus précisément, chaque bivalent résulte de l'appariement d'un chromosome paternel avec son homologue maternel.

Si on compare la composition chromosomique des gamètes parentaux et celle des produits de la méiose qui fourniront à nouveau les gamètes de la génération sexuée suivante, on constate l'existence d'une redistribution complète de ces chromosomes : celle-ci aboutit à des produits de la méiose tous différents quant à leur composition en chromosomes paternels et maternels. Cette redistribution résulte de deux mécanismes qui jouent l'un au niveau intrachromosomique (fig. 5-11), l'autre au niveau interchromosomique (fig. 5-12).

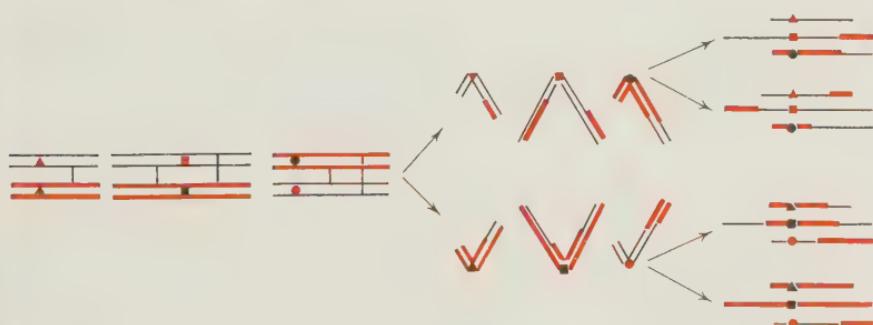


FIG. 5.11. — Brassage intrachromosomique.

■ **Brassage intrachromosomique.** — Le brassage intrachromosomique est dû aux *crossing-over*: il aboutit, pour une même paire de chromosomes, à des produits de la méiose tous différents quant à leur constitution paternelle et maternelle (fig. 5-11).

■ **Brassage interchromosomique.** — A ce premier phénomène se superpose le brassage interchromosomique. Lors de la première métaphase, les centromères de chaque bivalent se placent au hasard de part et d'autre du plan équatorial. Si on considère l'origine paternelle ou maternelle de ces centromères, toutes les combinaisons possibles se produiront avec une probabilité égale: ainsi, chez l'homme où il existe 23 paires de chromosomes, il existe  $2^{23}$  associations possibles. La figure 5-12 indique un exemple théorique où  $2n = 6$ ; les 8 associations possibles sont indiquées.

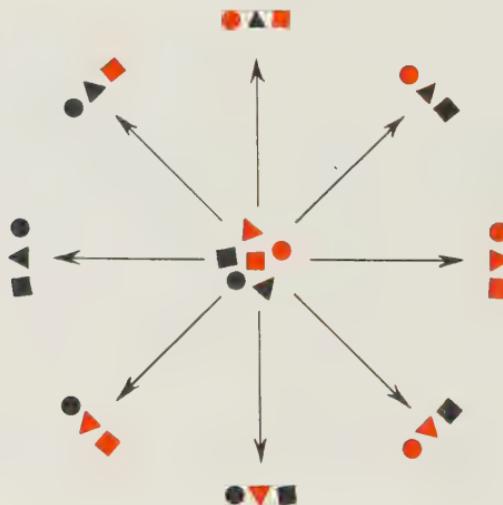


FIG. 5.12. — *Brassage interchromosomique.* Les figures ● ○ ■ □ et ▲ △ symbolisent chaque paire de chromosomes : elles représentent en fait leur centromère, puisque les chromatides peuvent s'interchanger. Les 8 combinaisons possibles sont représentées. Les combinaisons complémentaires se font face.

# 6

## Passage des gènes à travers la reproduction sexuée : transmission d'un couple de caractères alléliques

### Lois générales

Sachant comment les chromosomes se dupliquent puis se répartissent dans les cellules haploïdes qui donneront les gamètes, il est maintenant possible de prévoir comment s'effectue la transmission des gènes à travers la reproduction sexuée.

Nous envisagerons d'abord la situation la plus simple en ne considérant qu'un seul gène.

Prévoir le génotype d'un descendant, pour le gène considéré est chose assez simple si l'on connaît le génotype des parents. En effet, cela revient à prévoir le génotype de la cellule œuf (le *zygote* issu de la fusion des gamètes paternel et maternel) qui sera à son origine. Cette cellule se divise par mitoses successives et l'ensemble des cellules descendantes possédera donc, du fait de la reproduction conforme, un génotype identique à cette cellule œuf. On peut donc — en considérant comme négligeables les mutations qui pourraient se produire au cours du développement — symboliser le génotype d'un organisme par celui de la cellule œuf dont il dérive.

Prévoir le génotype du zygote revient à savoir quel est le génotype des deux gamètes qui sont à son origine. La connaissance de la méiose permet une telle prédiction.

■ **Le locus d'un gène.** — Si les gènes se succèdent – comme on l'a supposé – le long de la molécule d'ADN, chacun doit occuper une position déterminée sur un des chromosomes du complément haploïde : cette position peut être définie par la distance du gène au centromère et le bras sur lequel il se trouve; elle correspond au *locus* du gène.

■ **Chaque gène existe en deux exemplaires dans les cellules diploïdes.** — Il s'ensuit que chaque gène existe en deux exemplaires dans les cellules diploïdes. On parle alors de *couple d'allèles*. Chaque allèle est porté par un des chromosomes homologues, au même locus (fig. 6-1). Chacun des deux allèles peut être affecté de l'indice P ou M selon son origine (paternelle ou maternelle).

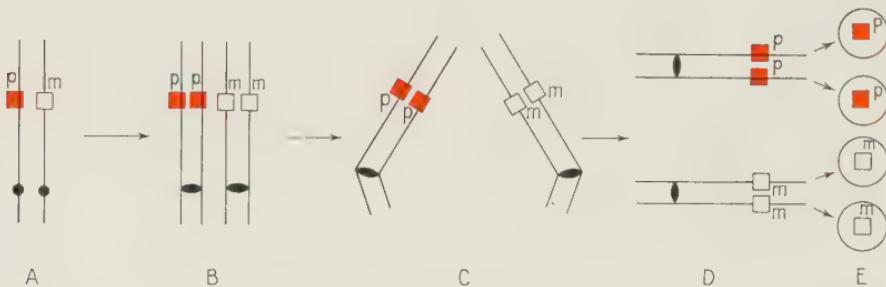


FIG. 6.1. — Devenir d'un couple d'allèles au cours de la méiose.  
A. — Cellule diploïde (seule la paire de chromosomes homologues portant le gène considéré — symbolisé par un carré — est représentée); en rouge, l'allèle paternel; en blanc, l'allèle maternel. B. — Appariement et duplication des chromosomes homologues. C. — Anaphase I. D. — Les deux noyaux issus de la méiose I. E. — Les quatre produits de la méiose (seul le gène est représenté).

■ **A l'issue de chaque méiose, deux des quatre produits possèdent une copie de l'allèle paternel et deux celle de l'allèle maternel.** — La duplication prémeiotique de l'ADN doit aboutir à celle de chacun des deux allèles. Au total, chaque gène existe alors en quatre exemplaires, un sur chacune des quatre chromatides constituant le bivalent. La répartition égale des compléments haploïdes de chromosomes dans les quatre produits de la méiose correspond donc à la distribution dans chacun de ces produits d'un exemplaire de chaque gène. Deux de ces produits emportent une copie identique à l'allèle paternel et deux emportent une copie de l'allèle maternel.

Au total, la moitié des gamètes produits par un organisme diploïde doit posséder une copie de l'allèle paternel et l'autre moitié une copie de l'allèle maternel.

■ **Une cellule diploïde peut être homozygote ou hétérozygote.** — Un gène ne peut être mis en évidence que s'il existe sous au moins deux formes alléliques. On parle souvent d'allèle *sauvage* et d'allèle *mutant*. Cette terminologie est arbitraire puisque la mutation peut s'effectuer dans les deux directions. On appelle, par définition, allèle sauvage celui qui est le plus fréquent dans la population naturelle de l'espèce. Ainsi on appellera  $a^+$  et  $a^m$  les allèles sauvage et mutant du gène  $a$ . Si les allèles paternel et maternel sont identiques, la cellule — et par extension l'organisme — est dite *homozygote* (par exemple  $a^+a^+$  : homozygote sauvage et  $a^ma^m$  : homozygote mutant). Si les allèles paternel et maternel sont différents, la cellule est dite *hétérozygote* ( $a^+a^m$ ).

■ **Conséquence au niveau des gamètes.** — L'organisme, s'il est homozygote, donnera des gamètes homogènes pour le gène considéré : ils porteront tous le même allèle. S'il est hétérozygote, la moitié des gamètes portera un allèle et la moitié portera l'autre (fig. 6-2).

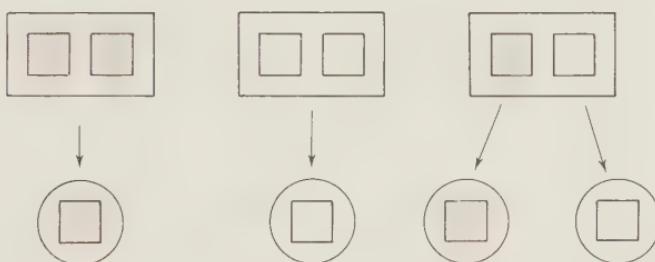


FIG. 6.2. — Obtention de gamètes homogène (organisme homozygote) et hétérogène (organisme hétérozygote).

■ **Conséquence au niveau du génotype des descendants diploïdes.** — Trois types de croisements sont possibles :

► **CROISEMENTS ENTRE HOMOZYGOTES.** — Chaque parent ne donne alors qu'un seul type de gamète. On obtient dans chacun des trois cas possibles une descendance homogène (fig. 6-3).

► **CROISEMENT ENTRE UN HOMOZYGOTE ET UN HÉTÉROZYGOTE.** — Si les gamètes se rencontrent au hasard, on obtient dans les deux situations possibles une moitié de descendants homozygotes (identiques au parent homozygote) et une moitié de descendants hétérozygotes (fig. 6-4).

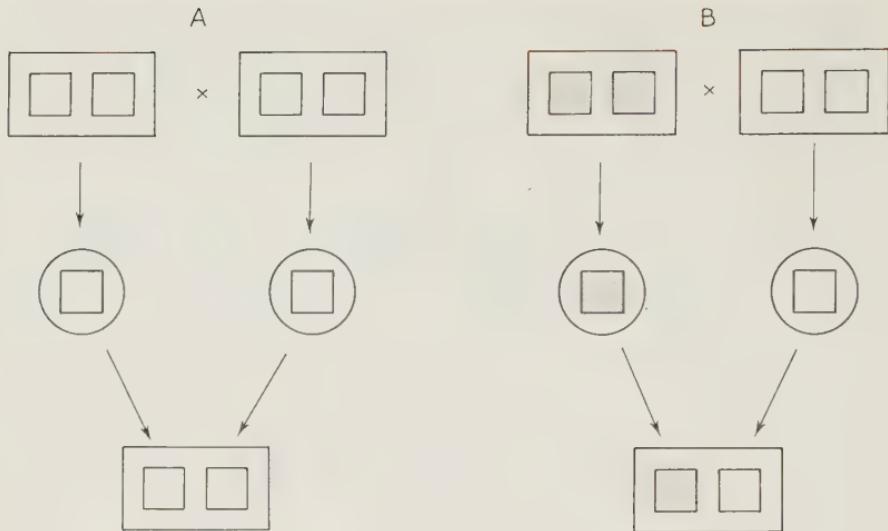


FIG. 6.3. — Croisement entre homozygotes :  
A. — identiques. B. — différents.

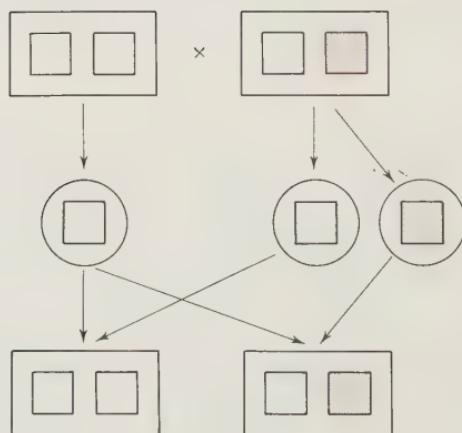


FIG. 6.4. — Croisement entre un homozygote et un hétérozygote.

► CROISEMENTS ENTRE HÉTÉROZYGOTES. — La rencontre des gamètes au hasard aboutit, comme le montre l'échiquier de la figure 6-5, à une moitié de descendants hétérozygotes et un quart d'homozygotes de chaque type.

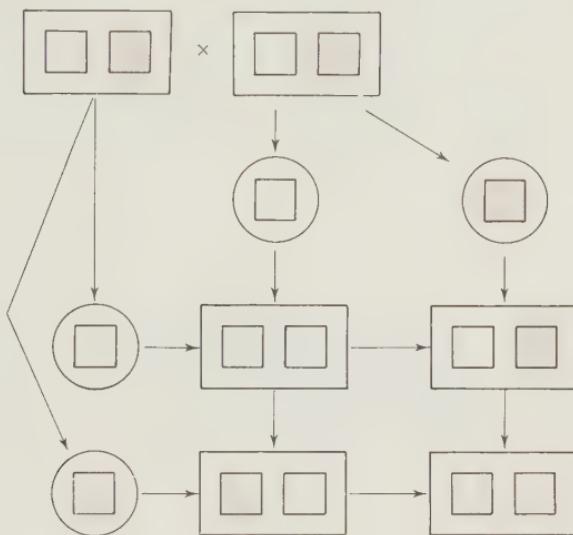


FIG. 6-5. — Croisement entre deux hétérozygotes.

## Transmission d'un couple de caractères alléliques chez le pois

Ces prédictions nécessitent, pour être formulées, la connaissance de l'ADN, de sa structure, de son rôle, de sa localisation dans les chromosomes, de sa duplication et du devenir des chromosomes pendant la méiose. Historiquement, on a pourtant abouti aux mêmes conclusions à une époque où ces diverses notions n'étaient pas encore connues. Les expériences qui suivent ont permis de dégager l'essentiel des lois que nous venons de développer, c'est-à-dire que chaque gamète a une chance sur deux d'emporter l'un ou l'autre allèle présent dans le diploïde dont il est issu.

## Matériel et méthodes d'étude

■ **Cycle du pois.** — L'organisme utilisé est le pois. Chez cette plante, chaque fleur est hermaphrodite (fig. 6-6) : elle porte à la fois les organes mâles (les étamines) et les organes femelles (les pistils). C'est exclusivement dans ces organes que s'effectue la méiose qui aboutit à la formation de gamètes. Au sommet des étamines se trouvent les anthères dans lesquels se forment les gamètes mâles, les *grains de pollen*. A la base du pistil, l'*ovaire* contient plusieurs *ovules*. Dans chacun, une cellule diploïde subit la méiose. Parmi les quatre produits de la méiose, un seul aboutira à la cellule œuf haploïde, accompagnée de cellules nourricières et qui sera fécondée par le grain de pollen.

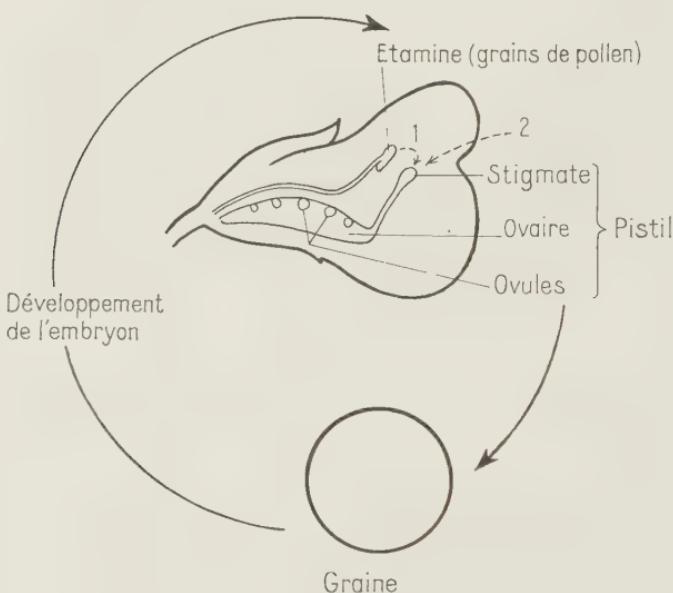
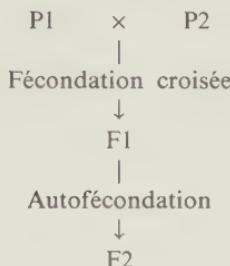


FIG. 6.6. — Cycle du pois.

Ces plantes peuvent ainsi se reproduire soit par *autofécondation* (les ovules sont fertilisés par du pollen de la même plante), soit par *fécondation croisée* (la fécondation implique deux gamètes provenant de plantes différentes).

■ **Méthodologie.** — On possède un certain nombre de *lignées pures*. Ces plantes donnent entre elles par autofécondation des descendants identiques aux parents. Ces lignées diffèrent les unes des autres par un certain nombre de caractères alternatifs : couleur des fleurs, forme des graines, longueur du pistil, etc.

On choisit des lignées qui diffèrent pour un seul de ces caractères alternatifs, dont la distinction est toujours aisée. Par fécondation croisée entre ces deux lignées parentales (P1 et P2), on obtient des descendants (F1) appelés *hybrides*. L'autofécondation des hybrides F1 fournit les descendants de seconde génération (F2) :



On observe lequel des caractères alternatifs portés par P1 et P2 est exprimé par les descendants F1 et F2. Si les descendants de la même génération diffèrent pour le caractère considéré, on recherche par dénombrement quelle est la proportion de chaque type.

## Résultats

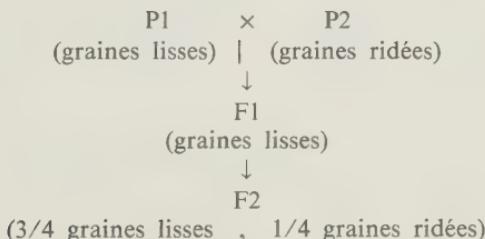
Dans tous les cas, on obtient des résultats analogues qui peuvent être résumés ainsi :

1° En F1, seulement un des caractères alternatifs qui différencient les deux lignées parentales apparaît.

2° En F2, les deux caractères alternatifs apparaissent.

3° En F2, le caractère qui apparaît en F1 à l'exclusion de son alternatif est trouvé chez les 3/4 des individus, l'autre chez 1/4.

Voici un exemple : deux lignées parentales différant par la forme de graines (lisses ou ridées) sont croisées entre elles :



### Interprétation (fig. 6-7).

Le plus simple est d'admettre que chacun des caractères alternatifs qui diffèrent les deux lignées est contrôlé par un élément héréditaire. Appelons *R* celui qui est responsable du caractère « graines lisses » exprimé en  $F_1$ , et *r* celui qui est responsable du caractère « graines ridées » qui n'est pas exprimé en  $F_1$ .

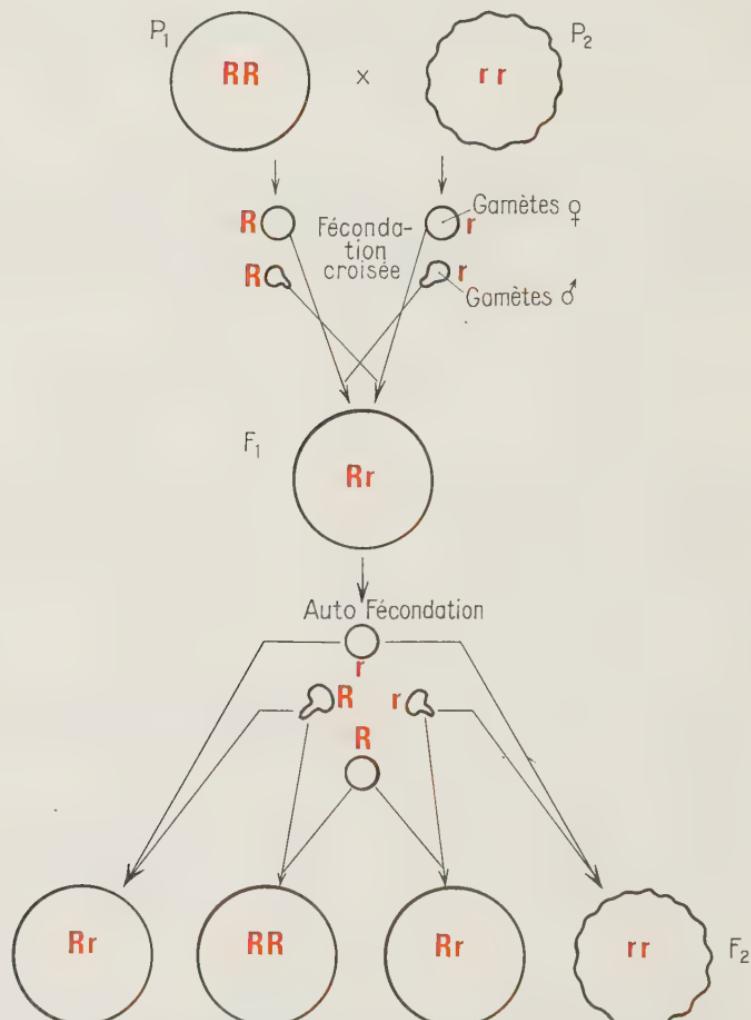


FIG. 6.7. — Interprétation du croisement entre pois à graines lisses et pois à graines ridées.

Puisque les deux caractères apparaissent en F<sub>2</sub>, on peut déduire que les deux éléments héréditaires dérivés de chaque parent ont persisté à travers les croisements successifs. En particulier, les individus F<sub>1</sub> ont forcément reçu l'élément *R* (dont ils expriment le caractère) et l'élément *r* (qu'ils transmettent à certains descendants F<sub>2</sub>). On peut admettre que les individus F<sub>1</sub> ont reçu un élément *R* de P<sub>1</sub> et un élément *r* de P<sub>2</sub> : on les désignera donc *Rr*.

Ceci implique que les individus F<sub>1</sub> possèdent deux éléments qui ont été transmis chacun par un gamète parental. Supposons maintenant que les individus F<sub>1</sub> transmettent également seulement un élément (*R* ou *r*) à leurs gamètes et que ces éléments soient représentés en *nombre égal* parmi ceux-ci. Si les deux sortes de gamètes mâles fertilisent les deux sortes de gamètes femelles avec une probabilité égale, les diverses combinaisons obtenues en F<sub>2</sub> peuvent être prédites. On s'attend à trouver les trois combinaisons possibles d'éléments génétiques dans les proportions : 1 *RR*, 2 *Rr*, 1 *rr*. Si les relations entre *R* et *r* sont identiques en F<sub>2</sub> à celles qui existaient en F<sub>1</sub>, les individus *Rr* doivent exprimer le caractère « graines lisses » observé chez les individus F<sub>1</sub>. Ceci signifie qu'en F<sub>2</sub> on s'attend à ce que seuls les individus *rr* manifestent le caractère alternatif « graines ridées ». Ainsi, les individus F<sub>2</sub> doivent apparaître dans les proportions de 3 (1*RR* + 2*Rr*) à 1 (1*rr*).

Cette interprétation peut maintenant être résumée en adoptant la terminologie génétique usuelle. Le couple de caractères correspondant à la forme des graines est contrôlé par un *gène* qui existe sous les deux formes alléliques « *R* » et « *r* ».

Chez les individus diploïdes, les gènes sont en double exemplaire : les deux parents sont homozygotes soit *RR* (P<sub>1</sub>), soit *rr* (P<sub>2</sub>) (ce qui explique leur comportement de lignée pure : par autofécondation, le même allèle étant transmis à tous les gamètes, les descendants sont également homozygotes pour le gène considéré et expriment le même caractère).

Les individus F<sub>1</sub> sont hétérozygotes *Rr* : seulement l'un des deux allèles s'exprime à l'exclusion de l'autre. L'allèle (ici *R*) qui s'exprime dans l'hétérozygote est appelé *dominant*. L'allèle (ici *r*) qui est masqué chez l'hétérozygote est appelé *récessif*.

Ainsi, deux individus de *génotype* distinct (l'homozygote dominant, ici *RR* et l'hétérozygote, ici *Rr*) peuvent avoir, du fait du phénomène de dominance, le même *phénotype*.

Enfin, seulement un exemplaire de chaque gène est transmis aux gamètes. Lorsque les deux allèles sont différents, la moitié des gamètes reçoit un allèle et l'autre moitié reçoit l'autre.

## Confirmations expérimentales

■ **Autofécondation de la F<sub>2</sub>.** — Si l'interprétation proposée est correcte, 2/3 des descendants F<sub>2</sub> de phénotype dominant doivent être hétérozygotes. Ils doivent fournir par autofécondation 3/4 d'indi-

vidus à phénotype dominant et 1/4 à phénotype récessif (tout comme les descendants F1). Le dernier tiers ne doit fournir que des descendants de phénotype dominant. Enfin, tous les descendants F2 à phénotype récessif doivent donner une descendance homogène identique (fig. 6-8).

Les résultats sont conformes à ces prévisions.

■ **Test-cross.** — On peut confirmer de manière plus directe que la moitié des gamètes provenant de l'hétérozygote emporte l'allèle dominant et l'autre moitié l'allèle récessif en effectuant un « *test-cross* ». Ceci revient à croiser l'hybride F1 hétérozygote par l'homozygote récessif. Comme le parent homozygote récessif ne fournit que des gamètes portant l'allèle récessif, le phénotype des descendants sera déterminé par la nature de l'allèle fourni par le parent hétérozygote. On constate en effet que la moitié des descendants a bien le phénotype dominant et la moitié le phénotype récessif (fig. 6-9).

## Un cas d'absence de dominance : le système MN

L'existence d'une ségrégation 3 : 1 en F2 résulte du phénomène de dominance : on ne peut pas distinguer phénotypiquement l'hétérozygote de l'homozygote dominant. Il existe pourtant certaines situations où les 3 génotypes possibles sont reconnaissables. Il s'agit des cas de semi-dominance dans lesquels l'hétérozygote présente un phénotype intermédiaire, ou bien des cas de codominance dans lesquels les deux caractères présentés par chacun des homozygotes sont tous les deux présents chez l'hétérozygote.

On connaît des cas similaires dans l'espèce humaine. Nous prendrons pour exemple le système MN des groupes sanguins.

■ **Système MN.** — Il existe plusieurs systèmes de groupes sanguins chez l'homme : ABO (responsable d'accidents possibles au cours de transfusions sanguines), rhésus (responsable de la maladie hémolytique du nouveau-né), MN, etc... Chacun de ces systèmes est gouverné par un gène différent et correspond à l'existence d'antigènes localisés à la surface des hématies. Dans le cas du système MN, il existe 2 antigènes appelés M et N. Injecté à des lapins, chacun de ces antigènes induit la formation d'anticorps spécifiques. On peut donc obtenir les 2 antisérum anti-M et anti-N. Lorsque les hématies sont mises en présence de l'antisérum spécifique de l'antigène qu'elles portent, elles sont agglutinées par celui-ci (fig. 6-10). Deux gouttes de sang sur une lame de verre, mélangées à chacun des 2 antisérum, suffisent donc pour caractériser le groupe d'un individu. On distingue

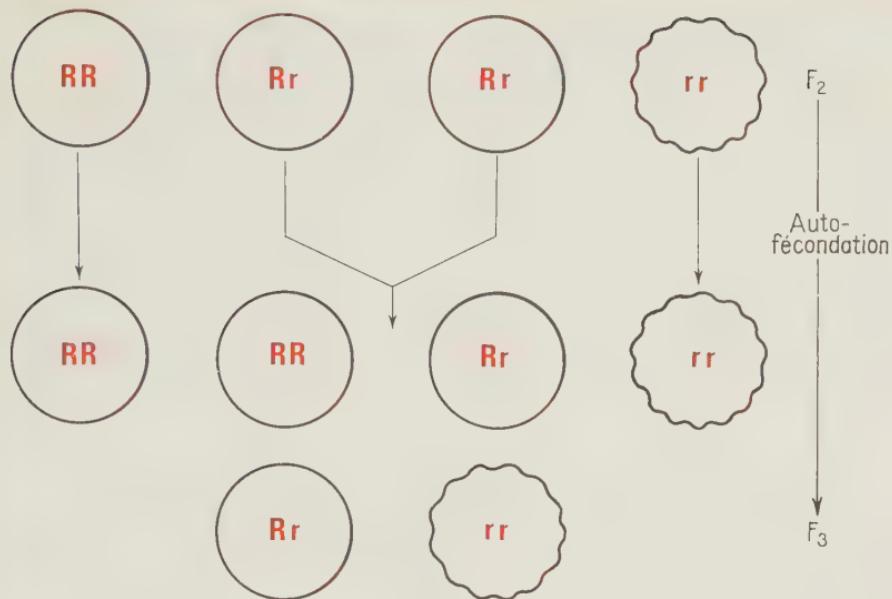


FIG. 6.8. — Résultats de l'autofécondation des plants F<sub>2</sub> issus du croisement graines lisses et graines ridées.

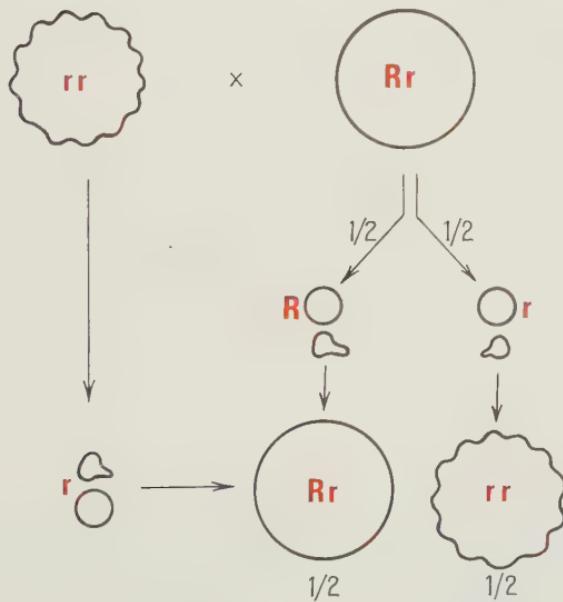


FIG. 6.9. — Résultat du test-cross impliquant la forme des graines chez le pois.

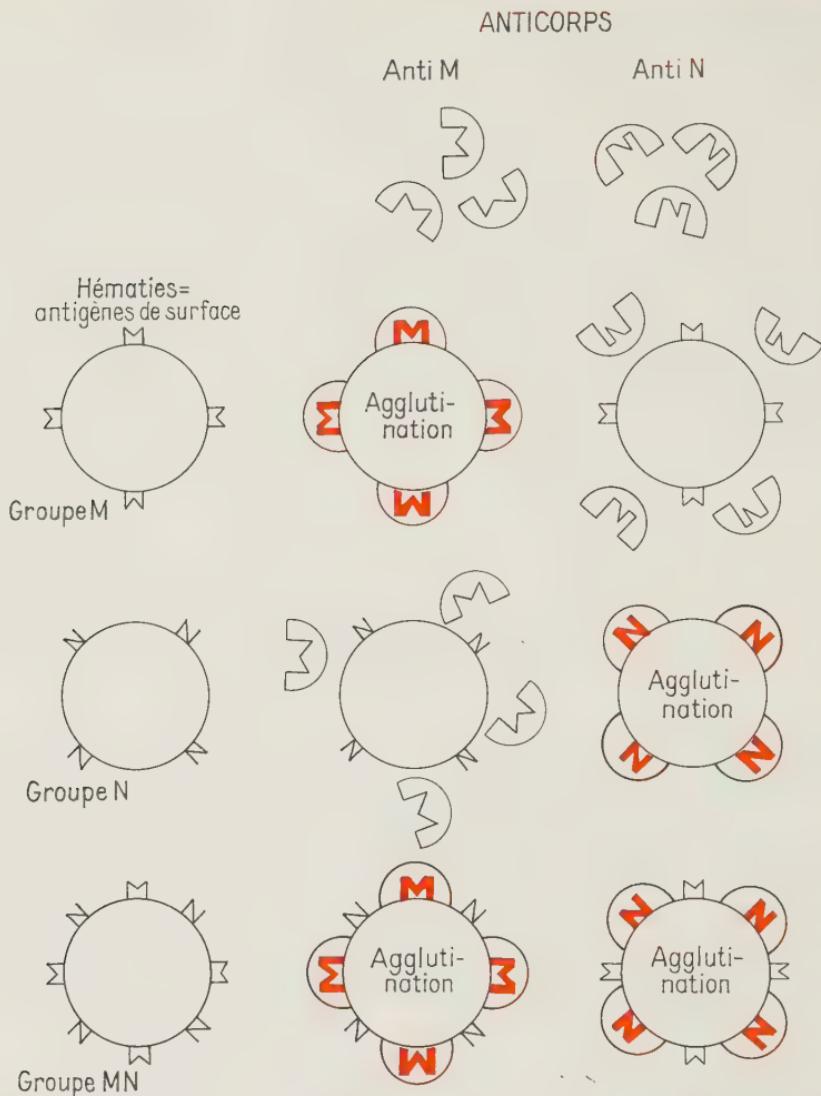


FIG. 6.10. — *Mise en évidence des antigènes sanguins M et N.*

au total 3 catégories de personnes que l'on désigne par l'antigène qu'elles possèdent : M, N et MN. On a montré que l'existence de chacun de ces antigènes est gouvernée par un allèle du gène  $L$  : les allèles  $L^M$  et  $L^N$  gouvernent respectivement la présence de l'antigène M et celle de l'antigène N. Les homozygotes  $L^M L^M$  et  $L^N L^N$  correspondent aux groupes M et N et l'hétérozygote  $L^M L^N$  correspond au groupe MN.

■ **Hérédité du système MN.** — On a regroupé dans chaque ligne du tableau 6-1 les couples présentant le même phénotype. Le nombre d'enfants de chaque phénotype est indiqué également. Les résultats inscrits dans ce tableau confirment totalement les prévisions du début de ce chapitre. Les deux premières lignes correspondent aux croisements entre deux homozygotes identiques; ils donnent une descendance homogène, identique aux parents. La troisième ligne correspond aux croisements entre les deux homozygotes différents : tous les descendants sont hétérozygotes. Dans les quatrième et cinquième lignes, où un parent est homozygote et un parent hétérozygote, on obtient comme prévu moitié de descendants identiques au parent homozygote et moitié de descendants hétérozygotes. Enfin, dans la dernière ligne, comparable à un croisement  $F_1 \times F_1$  (entre deux hétérozygotes), on obtient bien  $1/4 L^M L^M$ ,  $1/2 L^M L^N$  et  $1/4 L^N L^N$ .

TABLEAU 6-1. — Hérédité du système MN de groupes sanguins dans 286 familles (d'après Wiener)

Phénotype des parents	Nombre de familles observées	Phénotype des descendants		
		M	MN	N
M × M	24	98	0	1
N × N	6	0	1	27
M × N	30	0	43	0
M × MN	86	183	196	0
N × MN	71	0	156	167
MN × MN	69	71	141	63

Il existe deux exceptions dans ce tableau. Elles peuvent s'interpréter soit comme provenant de mutations, soit — plus vraisemblablement — par une erreur.

## Observation de la phase haploïde

Si on admet que les gamètes à l'origine du zygote se rencontrent au hasard, indépendamment de leur génotype, toutes les lois de transmission d'un couple d'allèles découlent de leur ségrégation et de leur répartition égale dans les produits de la méiose. Chez les organismes supérieurs comme le pois ou l'homme, seule la phase diploïde est observable et le génotype des gamètes est déduit de l'observation des caractères au niveau de cette phase diploïde.

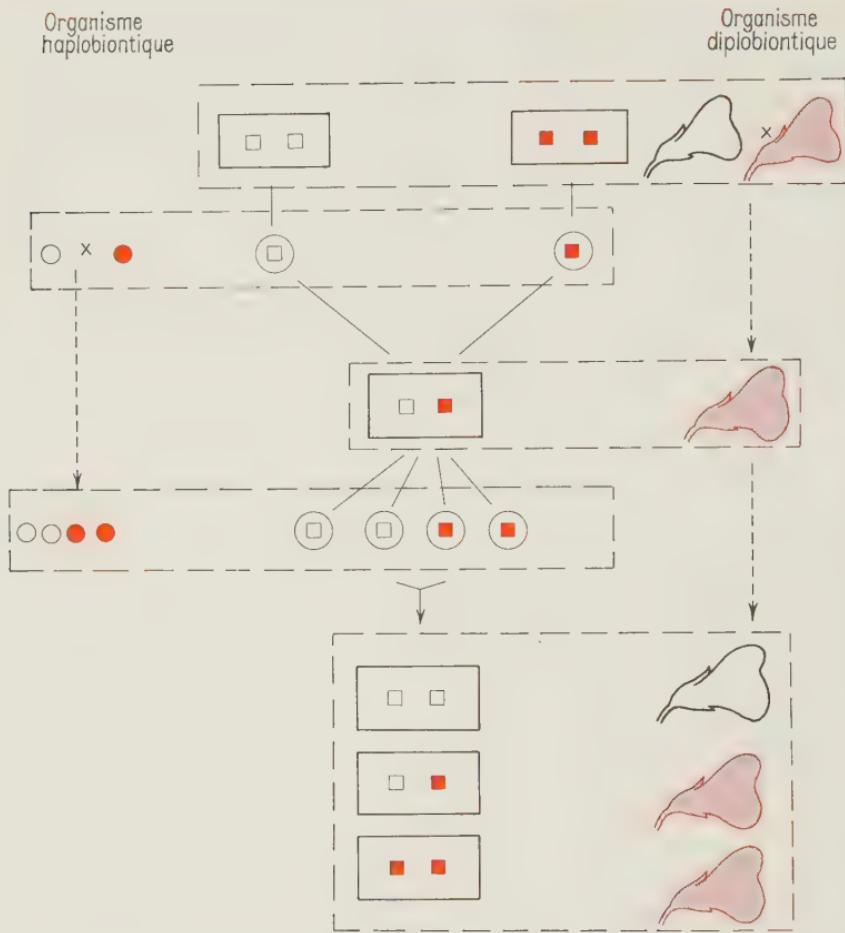


FIG. 6.11. — Avantage de l'utilisation d'organismes haplobiontiques en génétique. Les deux caractères alternatifs sont symbolisés dans chaque type d'organisme par leur couleur. Une fleur symbolise l'organisme diplobiontique; une spore symbolise l'organisme-haplobiontique.

Une confirmation directe des expériences précédentes reviendrait à utiliser des organismes sur lesquels les caractères sont observables au niveau de la phase haploïde. Du fait de l'absence du phénomène de dominance (chaque gène n'est présent qu'en un seul exemplaire), le génotype peut alors être déduit directement du phénotype (fig. 6.11). De plus, une seule génération sexuée est nécessaire puisqu'il suffit de croiser deux souches haploïdes différant pour le gène étudié et d'observer directement les produits de la méiose issus des cellules diploïdes obtenues après la fécondation.

Les études effectuées sur des organismes haplobiontiques ont permis non seulement de confirmer les lois de ségrégation des allèles, mais aussi :

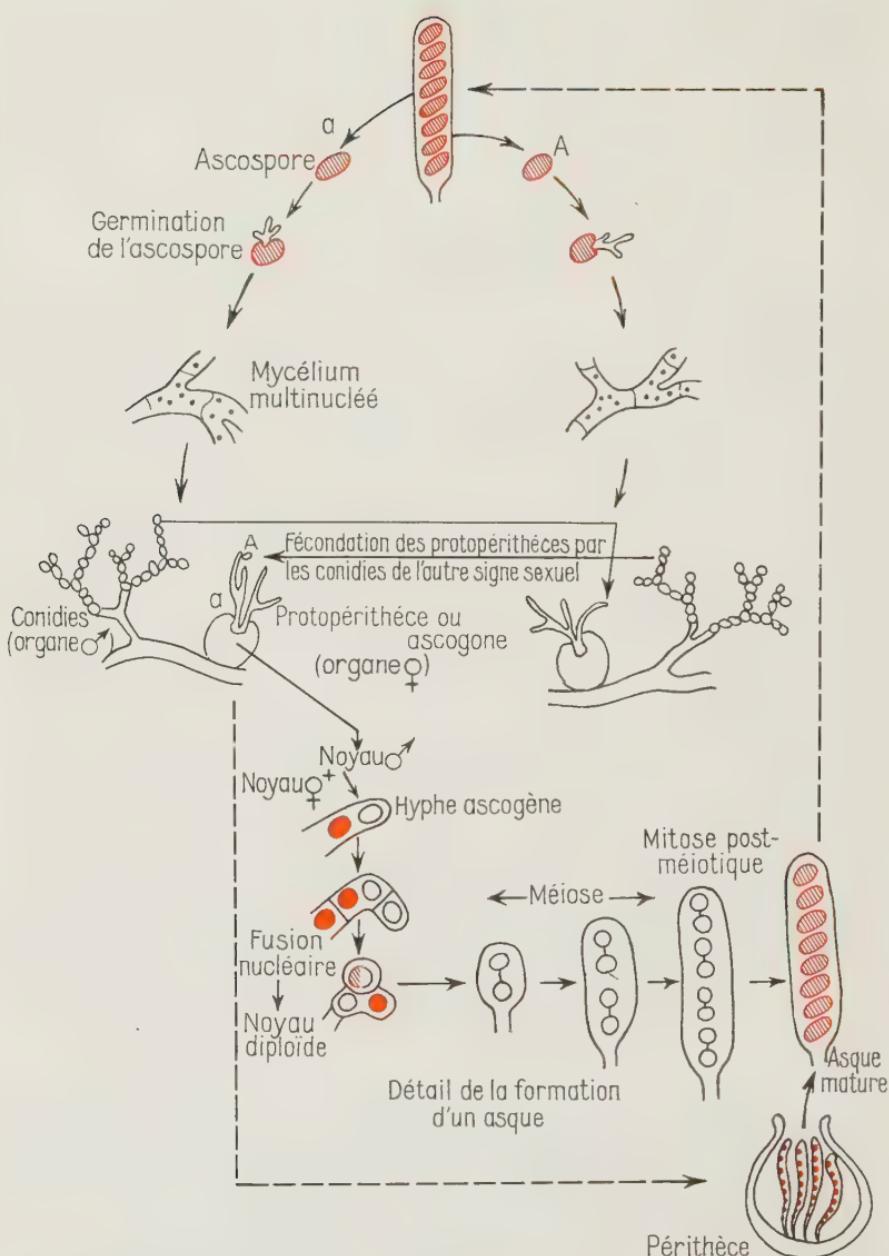
- de préciser qu'au niveau de chaque tétrade (les 4 produits d'une même méiose), 2 produits héritent de l'un des allèles et 2 héritent de l'autre;
- de savoir à quel moment de la méiose s'effectue la ségrégation des allèles (c'est-à-dire l'obtention de noyaux ne comportant que le même type allélique).

### Cycle d'un organisme haplobiontique : le champignon *Neurospora*

Le champignon *Neurospora* (fig. 6-12) a été utilisé pour les études génétiques. C'est un ascomycète qui pousse dans la nature sous forme d'une moisissure de couleur rose. On peut recueillir des fragments de mycélium et les transplanter sur un milieu permettant la fructification. Si celle-ci se produit, les fructifications se présentent sous forme de petits sacs en forme d'amphore : les *périthèces*. En dilacérant ces périthèces, on observe au microscope des paquets de sacs plus petits, transparents et allongés, qui se trouvent à l'intérieur : les *asques*. Chaque asque renferme 8 spores asexuées, haploïdes, disposées en file.

Par microdissection, les spores peuvent être isolées. Mise sur un milieu convenable chaque spore germe et donne un mycélium dont les noyaux sont haploïdes : ces noyaux sont issus par mitoses du noyau unique qui se trouvait originellement dans la spore. Sur le même mycélium se différencient des organes mâles : les *conidies* et des organes femelles : les *ascogones*. Si le mycélium issu d'une spore reste isolé, il n'y a pas de formation de périthèces. Au contraire, si on confronte 2 mycéliums issus de spores distinctes, dans certains cas, les fructifications apparaissent. Les conidies fertilisent réciproquement les ascogones de l'autre mycélium. Il y a alors formation dans l'ascogone de cellules binucléées contenant un noyau de provenance mâle et un noyau de provenance femelle. Ces cellules binucléées résultent de la multiplication synchrone des noyaux issus de la conidie et des noyaux issus de l'ascogone. Dans chacune de ces cellules binucléées se produit ensuite la fusion des 2 noyaux : on aboutit à des cellules diploïdes qui vont subir immédiatement la méiose.

Lors de la méiose, les fuseaux de division sont orientés sur un axe unique, sans chevauchement, de telle sorte que les 4 produits haploïdes sont alignés. Une division supplémentaire (*mitose post-méiotique*) donne naissance à 8 noyaux. Chacun est à l'origine d'une spore. Les fuseaux de la division postméiotique sont également situés sur le même axe, sans chevauchement. Les 8 spores sont alignées dans l'enveloppe correspondant à l'ancienne cellule diploïde : le tout constitue l'asque. Pendant ce temps, l'ascogone s'est développé, son enveloppe s'est épaisse et pigmentée : il est devenu un périthèce.

FIG. 6.12. — Cycle de *Neurospora*.

Le cycle peut alors recommencer. Il dure environ 10 jours.

La fertilité dépend d'un facteur génétique : le « signe sexuel ». Les spores sont soit de signe A, soit de signe *a*. La confrontation entre 2 mycéliums n'est fertile que si l'un est issu d'une spore A et l'autre d'une spore *a*.

### Répartition égale des allèles à l'intérieur de chaque asque

Les spores sauvages de *Neurospora* sont pigmentées en brun foncé. Par mutation, on peut obtenir des lignées dont les spores blanches sont dépourvues de pigment.

La confrontation entre 2 mycéliums de signe compatible issus l'un d'une spore sauvage, l'autre d'une spore blanche, donne des asques contenant chacun 4 spores brunes et 4 spores blanches. On vérifie ainsi directement que la ségrégation au niveau des gamètes résulte de la répartition égale des caractères alléliques dans chaque méiose.

### Moment de la ségrégation des allèles au cours de la méiose

L'observation des diploïdes et les résultats précédents montrent que les allèles se trouvent finalement séparés dans les divers produits haploïdes à l'issue de la méiose. À quel moment s'effectue cette ségrégation ?

■ ***Il existe 6 catégories d'asques quant à l'ordonnancement des spores.*** — L'ordonnancement des spores dans les asques permet de répondre à cette question. En effet, si, dans le croisement précédent, on observe plus attentivement les spores, on constate que celles-ci ne sont pas disposées au hasard (fig. 6-13) :

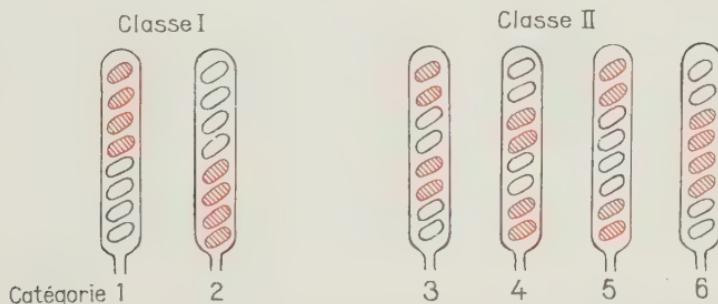


FIG. 6.13. — Catégories d'asques obtenues dans la descendance d'un croisement entre deux souches de *Neurospora* différant pour un couple d'allèles.

- Chaque paire de spores, en partant d'une extrémité de l'asque, manifeste toujours le même phénotype.
- En partant de la base de l'asque, reconnaissable à son pédoncule, les six séquences possibles sont observées.
- Ces six catégories peuvent être divisées en deux groupes selon que les demi-asques (les 4 premières spores en partant de la base, ou les 4 dernières) ont ou non un phénotype homogène. Les catégories à demi-asques homogènes (classe I) sont en nombre égal. Les quatre catégories à demi-asques hétérogènes (classe II) sont aussi en nombre égal.

■ **Les allèles peuvent ségrégérer à la première ou à la seconde division méiotique.** — Que signifient ces observations?

La disposition des fuseaux de division lors de la méiose permet de reconstituer à rebours les diverses étapes de celle-ci et de situer le moment de la ségrégation des allèles.

Prenons par exemple un asque de la classe II correspondant à la catégorie n° 3 (fig. 6-14) :

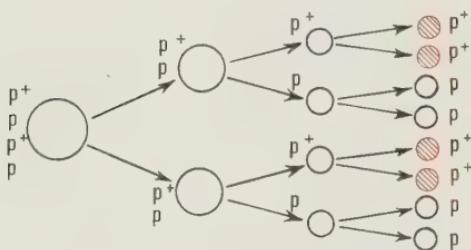


FIG. 6.14. — Ségrégation des allèles à la méiose II.

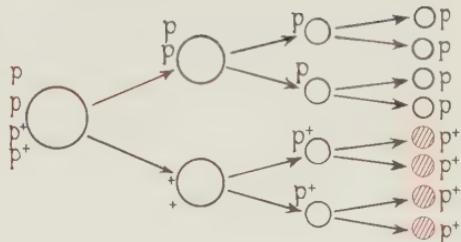
- Chaque paire de spores est issue par mitose d'un des quatre produits de la méiose : le génotype  $p^+$  ou  $p^-$  d'une paire de spores reflète le génotype du produit de la méiose dont elle est issue.
- Les deux produits situés dans le même demi-asque manifestent des génotypes différents. Ceci signifie que le noyau dont ils sont issus (provenant lui-même de la méiose I) contenait les allèles  $p^+$  et  $p^-$ . La ségrégation des allèles (obtention de noyaux contenant un ou des allèles identiques) s'est donc effectuée à la *seconde division de méiose*.
- Quant au noyau originel, il faut admettre qu'il contenait, avant sa division, chacun des deux allèles en *double exemplaire*.

La même interprétation s'applique à toutes les catégories de la classe II.

Prenons maintenant un asque de la classe I correspondant à la catégorie 1 (fig. 6-15).

On aboutit par le même type de raisonnement, à la conclusion qu'à l'issue de la méiose I, un noyau comporte une paire d'allèles  $p^+$  et

FIG. 6.15. — Ségrégation des allèles à la méiose I.



l'autre noyau une paire d'allèles  $p^m$ . La ségrégation des allèles s'est donc effectuée à la *première division de méiose*.

Comment peut-on expliquer que la ségrégation des allèles puisse s'effectuer soit à la première, soit à la seconde division de la méiose? Si on se réfère aux observations cytologiques de la prophase I, on s'aperçoit que ce phénomène était tout à fait prévisible. En effet :

— On sait que les chromosomes sont nettement dupliqués au pachytène, avant la fin de la prophase I. Si les gènes sont portés par les chromosomes, chaque allèle doit alors exister en double exemplaire.

— Il se produit des *crossing-over* entre chromatides homologues. Chaque fois qu'un *crossing-over* s'effectue entre le centromère et le locus du gène étudié, on doit obtenir deux chromosomes qui portent chacun les deux allèles différents, un sur chaque chromatide. Dans ce cas, la ségrégation des allèles ne se produira qu'à la méiose II, à la suite de la séparation des deux chromatides. Si au contraire aucun *crossing-over* ne s'effectue entre le centromère et le locus du gène, chaque paire d'allèles restera associée à son centromère d'origine et migrera simultanément au cours de la méiose I (fig. 6-16).

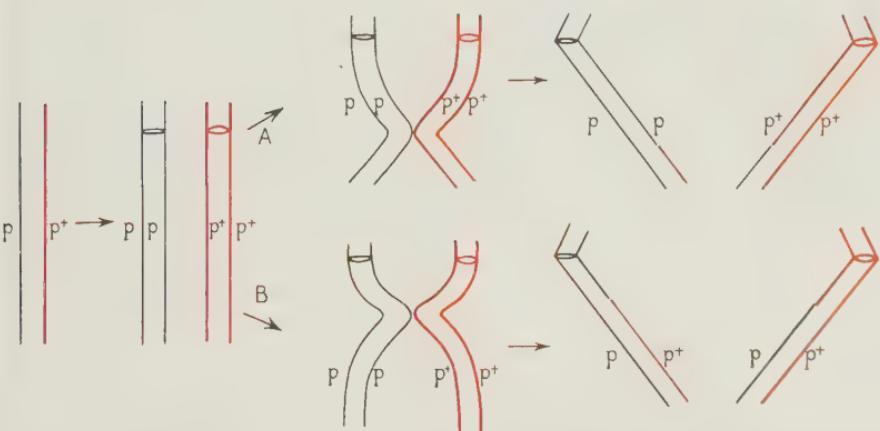


FIG. 6.16. — Interprétation chromosomique des ségrégations à la première division de méiose (A) et à la seconde division de méiose (B).

— Lors d'une ségrégation dès la première division, l'apparition de la catégorie 1 ou 2 dépendra de l'orientation des chromosomes homologues par rapport au plan équatorial en métaphase I. Si cette orientation se fait au hasard, la probabilité d'obtention de deux produits sauvages au sommet ou à la base de l'asque sera la même : les catégories 1 et 2 doivent avoir une fréquence égale.

— Lorsque la ségrégation s'effectue à la seconde division, si la migration des chromosomes à l'anaphase II s'effectue au hasard, on aura autant de chance de trouver dans chaque demi-asque la séquence  $p^+ - p^m$  ou  $p^m - p^+$ . Au total, en combinant les deux demi-asques dont l'histoire est indépendante à la méiose II, on obtient les quatre catégories possibles avec une probabilité égale.

— Selon que le locus du gène considéré est plus ou moins loin de son centromère, la probabilité d'obtention d'asques de la classe II sera plus ou moins grande. Ainsi, la fréquence de la classe II doit refléter la distance du gène étudié à son centromère. En effet, chacun des nombreux gènes étudiés chez *Neurospora* présente une fréquence caractéristique de la classe II qui permet de calculer sa distance au centromère.

## Conclusions

Les faits relatifs au moment de la ségrégation des allèles confirment donc la localisation des gènes sur les chromosomes : les observations cytologiques (existence d'échanges entre chromatides homologues) et génétiques (ségrégation des allèles à la méiose II) sont en effet en parfaite concordance.

De telles observations confirment également la notion de locus. Le fait que la fréquence de ségrégations à la seconde division soit caractéristique de chaque gène montre que ceux-ci ont une localisation précise sur le chromosome.

Il faut pourtant garder à l'esprit que seuls des organismes privilégiés dans lesquels on peut observer les produits ordonnés d'une même méiose, permettent une analyse génétique aussi poussée. L'observation des organismes diploïdes ne permet que des interprétations indirectes et, dans les cas de dominance, seul le *test-cross* permet de matérialiser directement, à l'échelle des caractères observés, la répartition égale des allèles dans les gamètes.

# 7

## Passage des gènes à travers la reproduction sexuée : transmission de deux couples de caractères alléliques

### Définition de l'indépendance et de la liaison génétique

Si l'on s'intéresse maintenant simultanément à deux couples de caractères alternatifs, dont on sait que chacun est transmis selon les lois mises en évidence dans le chapitre précédent, c'est-à-dire à deux gènes distincts, la question suivante se pose :

La transmission d'une paire d'allèles affecte-t-elle le mode de transmission de l'autre? En d'autres termes, la transmission d'un couple d'allèles se fait-elle ou non indépendamment de celle d'un autre couple?

■ **Associations parentales et recombinées.** — Considérons, chez un individu diploïde, deux gènes quelconques A et B. Cet individu possède un allèle de chaque :  $A^P$  et  $B^P$  issus du gamète paternel et les deux allèles correspondants  $A^m$  et  $B^m$  issus du gamète maternel. Lorsque les cellules germinales de cet individu subissent la méiose, elles donnent naissance à des gamètes qui emportent chacun un exemplaire de A et un exemplaire de B. Ces deux gènes pourront être associés de quatre manières possibles :  $A^P B^P$ ,  $A^m B^m$ ,  $A^P B^m$ ,  $A^m B^P$ .

Les associations  $A^P B^P$  et  $A^m B^m$  sont identiques à celles apportées par les gamètes à l'origine de l'individu; les deux copies des deux gènes issus du même parent restent associées. On parle alors d'*associations parentales* d'allèles. Au contraire, les associations  $A^P B^m$  et  $A^m B^P$  présentent une nouvelle combinaison par rapport à celles apportées par les gamètes : elles correspondent à des *associations recombinées* d'allèles (fig. 7-1).

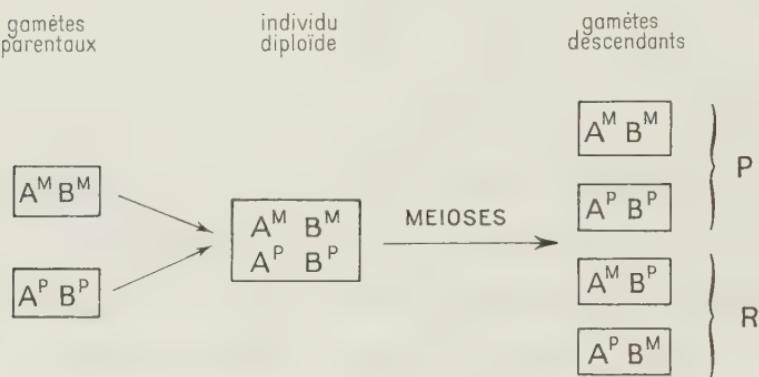


FIG. 7.1. — Diverses combinaisons possibles d'allèles entre deux gènes A et B.

P. — Associations parentales. R. — Associations recombinées.

■ **Définition de l'indépendance génétique.** — Si les deux couples d'allèles se répartissent de manière indépendante dans les produits de la méiose, les produits qui recevront  $A^P$  auront autant de chance de recevoir  $B^P$  ou  $B^m$  et de même pour ceux qui recevront  $A^m$ . On aboutira donc à un nombre égal de chacune des quatre associations possibles d'allèles :

$$\underbrace{A^m B^m = A^P B^P}_{P} \quad = \quad \underbrace{A^m B^P = A^P B^m}_{R}$$

en particulier, il y aura égalité entre les associations parentales (P) et les associations recombinées (R).

Dans une telle situation, on dit que les deux gènes sont *génétiquement indépendants*.

■ **Définition de la liaison génétique.** — Dans certains cas, les combinaisons parentales ont une tendance plus ou moins grande à se maintenir. Le fait qu'un produit reçoive  $A^P$  (ou  $A^m$ ) augmente sa chance qu'il reçoive  $B^P$  (ou  $B^m$ ). Conséquemment, les associations

parentales seront plus nombreuses que les associations recombinées :

$$\underbrace{A^m B^m + A^p B^p}_{P} > \underbrace{A^m B^p + A^p B^m}_{R}$$

On dit alors que les deux gènes sont *génétiquement liés*.

## Indépendance génétique

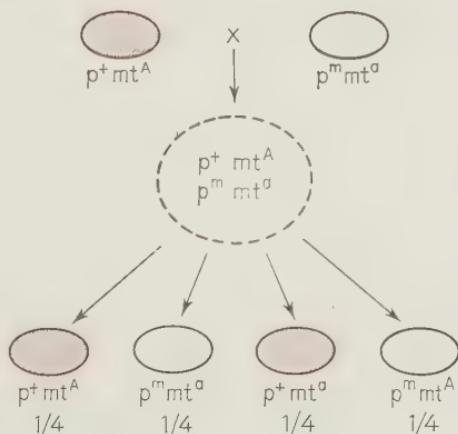
### Observation de la phase haploïde

■ **Cas de deux gènes contrôlant des caractères distincts.** — La démonstration de l'indépendance génétique est très simple chez les organismes à phase haploïde observable, tels que Neurospora.

Le « marquage » génétique des gènes considérés est évidemment nécessaire pour distinguer les associations parentales des associations recombinées au niveau des caractères : chacun des deux gènes étudiés doit donc exister chez les deux parents sous des états alléliques différents, conduisant à des caractères alternatifs distinguables.

Ainsi, on connaît déjà chez Neurospora les gènes de pigmentation des spores conduisant aux spores brunes ( $p^+$ ) ou blanches ( $p^m$ ). Le signe sexuel est également déterminé par un gène : selon que les spores portent l'allèle  $mt^A$  ou  $mt^a$ , elles donnent naissance à des souches de signe sexuel A ou a. Celui-ci est déterminé par confrontation avec des souches de référence de signe connu. Si la confrontation est fertile avec A et stérile avec a, la souche est de signe a. Dans le cas inverse, elle est de signe A. On vérifie ainsi que dans chaque asque, deux couples de spores sont de génotype  $mt^A$  et deux de génotype  $mt^a$ .

FIG. 7.2. — Indépendance génétique entre le gène du signe sexuel et le gène de coloration des spores chez Neurospora.



Lorsqu'on effectue un croisement entre deux mycéliums  $p^+mt^A$  (spore brune, signe sexuel A) et  $p^mmt^a$  (spore blanche, signe sexuel a), on recueille dans la descendance les quatre types possibles en proportions égales (fig. 7-2) : il y a autant d'associations parentales que recombinées; les gènes  $mt$  et  $p$  sont indépendants. Il va de soi que le croisement  $p^+mt^a \times p^mmt^A$  donne les mêmes résultats : dans les cas d'indépendance génétique, les proportions obtenues dans la descendance ne dépendent pas des combinaisons d'allèles portées par les parents.

■ **Quelques cas particuliers.** — Les quatre génotypes possibles ne sont pas toujours distinguables au niveau des phénotypes. En voici deux exemples.

► **L'EXPRESSION DES CARACTÈRES D'UN COUPLE EST MASQUÉE PAR L'UN DES CARACTÈRES ALTERNATIFS DE L'AUTRE COUPLE.** — On prendra ici pour exemple un autre champignon Ascomycètes haplobiontique : Ascobolus. Le cycle de ce champignon est assez semblable à celui de Neurospora, à l'exception près qu'il ne fournit pas d'asques ordonnés : les 8 spores sont réparties au hasard dans l'asque.

La souche sauvage présente également des spores brunes. Par mutation, on peut obtenir des souches présentant des spores granuleuses dont le pigment est réparti dans des sphérides disposées alentour de la paroi de la spore, et des souches à spores blanches. Appelons  $gr^+/gr^m$  le couple d'allèles responsable du caractère granuleux et  $bl^+/bl^m$  celui responsable de la pigmentation. Les génotypes s'écrivent donc  $bl^+gr^+$  pour la souche sauvage,  $bl^+gr^m$  pour la souche à spores granuleuses et  $bl^mgr^+$  pour la souche à spores blanches.

Lorsqu'on croise une souche à spores granuleuses par une souche à spores blanches :  $bl^+gr^m \times bl^mgr^+$ , on obtient quatre types de descendants :  $bl^+gr^m$ ,  $bl^mgr^+$ ,  $bl^+gr^+$  et  $bl^mgr^m$ . On n'observe

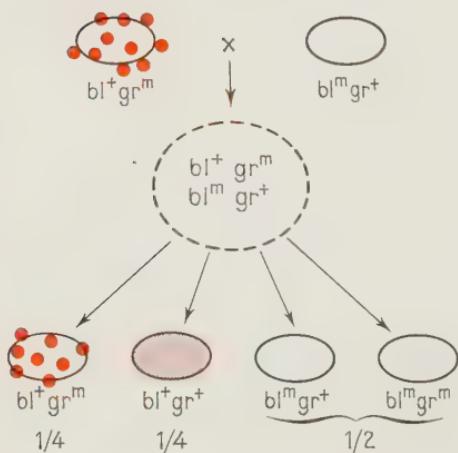


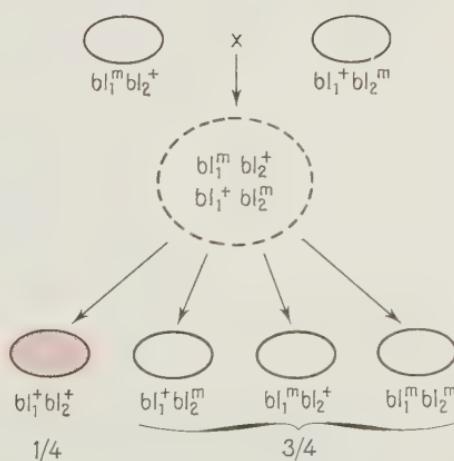
Fig. 7.3. — Croisement impliquant un gène de coloration des spores et un gène de répartition du pigment génétiquement indépendants chez Ascobolus.

pourtant que trois phénotypes, dans les proportions suivantes : 1/4 spores granuleuses, 1/4 spores brunes, 1/2 spores blanches (fig. 7-3).

L'explication est simple : puisqu'en présence de l'allèle  $bl^m$ , le pigment n'est pas formé, le caractère granuleux est indistinguables du caractère normal. Les génotypes  $bl^m gr^+$  et  $bl^m gr^m$  sont groupés dans la même classe phénotypique correspondant aux spores blanches. Dans une telle situation, on parle d'épistasie. Le gène dont un allèle masque l'expression phénotypique d'un autre gène est dit *épistatique*. Ici, le gène *bl* est épistatique sur le gène *gr*. L'épistasie — qui correspond à un cas d'interaction entre deux gènes — ne doit pas être confondue avec la dominance qui résulte de l'interaction entre deux allèles d'un même gène.

► DEUX GÈNES DISTINCTS CONTRÔLENT LE MÊME CARACTÈRE. — On connaît chez *Ascobolus* plusieurs gènes contrôlant la pigmentation des spores ; ils sont appelés *bl1*, *bl2*, etc... La mutation de *l'un ou l'autre* de ces gènes peut conduire à des spores blanches. Par exemple, à partir de la souche sauvage à spores brunes  $bl1^+ bl2^+$ , on peut obtenir par mutation des souches à spores blanches  $bl1^m bl2^+$  ou  $bl1^+ bl2^m$ . Le croisement entre deux souches portant la même mutation (par exemple,  $bl1^m bl2^+ \times bl1^m bl2^+$ ) ne fournit évidemment que des spores descendantes blanches de même génotype que celui des parents. Pourtant, si on effectue un croisement  $bl1^m bl2^+ \times bl1^+ bl2^m$  (c'est-à-dire entre deux souches mutées pour des gènes différents), on obtient parmi des descendants : 3/4 « spores blanches » et 1/4 « spores brunes » (fig. 7-4). En effet, les trois génotypes  $bl1^m bl2^+$ ,  $bl1^+ bl2^m$  et  $bl1^m bl2^m$  sont regroupés dans la même catégorie phénotypique « spore blanche » ; seuls les descendants  $bl1^+ bl2^+$ , présentant des spores brunes, peuvent être distingués. Puisque cette dernière catégorie représente 25 % des descendants, on en déduit que chaque autre génotype apparaît avec la même fréquence : il y a bien indépendance entre *bl1* et *bl2*.

Fig. 7.4. — Croisement impliquant deux gènes de coloration des spores génétiquement indépendants chez *Ascobolus*.



Évidemment, la proportion 3-1 obtenue dans ce cas particulier a une signification toute différente de celle résultant du phénomène de dominance dans la F<sub>2</sub> d'un croisement impliquant un seul couple d'allèles.

Ces cas particuliers nous mènent à la conclusion suivante : dans le cas des haploïdes, bien que le phénomène de dominance n'intervienne pas (chaque gène n'existe qu'en un seul exemplaire), des génotypes distincts peuvent pourtant aboutir au même phénotype. Dans ce cas, les proportions théoriques ne sont pas observées puisque plusieurs classes génotypiques se trouvent alors regroupées dans une classe phénotypique unique.

### Observation de la phase diploïde

■ **Analyse d'une F<sub>2</sub> obtenue par autofécondation chez le pois.** — Plusieurs croisements ont été effectués chez le pois entre deux lignées pures qui différaient entre elles pour deux paires de caractères alternatifs. Voici l'un d'entre eux.

Une lignée qui fournit des graines jaunes et lisses est croisée par une lignée qui donne des graines vertes et ridées. Les deux couples de caractères alternatifs intéressent l'un la couleur des graines (jaune ou verte), l'autre leur forme (lisse ou ridée). Chacun de ces deux couples de caractères alternatifs fournit une ségrégation 3-1 en F<sub>2</sub>, après autofécondation : il est donc contrôlé par un gène.

Le gène contrôlant la couleur des graines possède les deux allèles *J* (dominant), responsable de la couleur jaune et *j* (récessif), responsable de la couleur verte.

Le gène contrôlant la forme des graines (que nous avons déjà étudié) possède les deux allèles *R* et *r*.

Les résultats du croisement entre la lignée « jaune-lisse » et la lignée « vert-ridé » sont les suivants :

P1 jaune-lisse	$\times$	P2 vert-ridé	
	↓		
F1 jaune-lisse			
(autofécondation)			
	↓		
F2			
9/16 jaune-lisse	3/16 jaune-ridé	3/16 vert-lisse	1/16 vert-ridé

Ces résultats s'interprètent facilement si on tient compte :

- des relations de dominance entre les allèles;
- de l'assortiment indépendant des allèles de chaque gène dans les gamètes issus du parent F<sub>1</sub>;

— de la rencontre au hasard des gamètes ♂ et ♀ lors de la formation des zygotes qui aboutiront aux individus F<sub>2</sub>.

L'interprétation des résultats obtenus est schématisée dans la figure 7-5 qui symbolise les divers génotypes et phénotypes obtenus à partir des quatre catégories égales de gamètes F<sub>1</sub>.

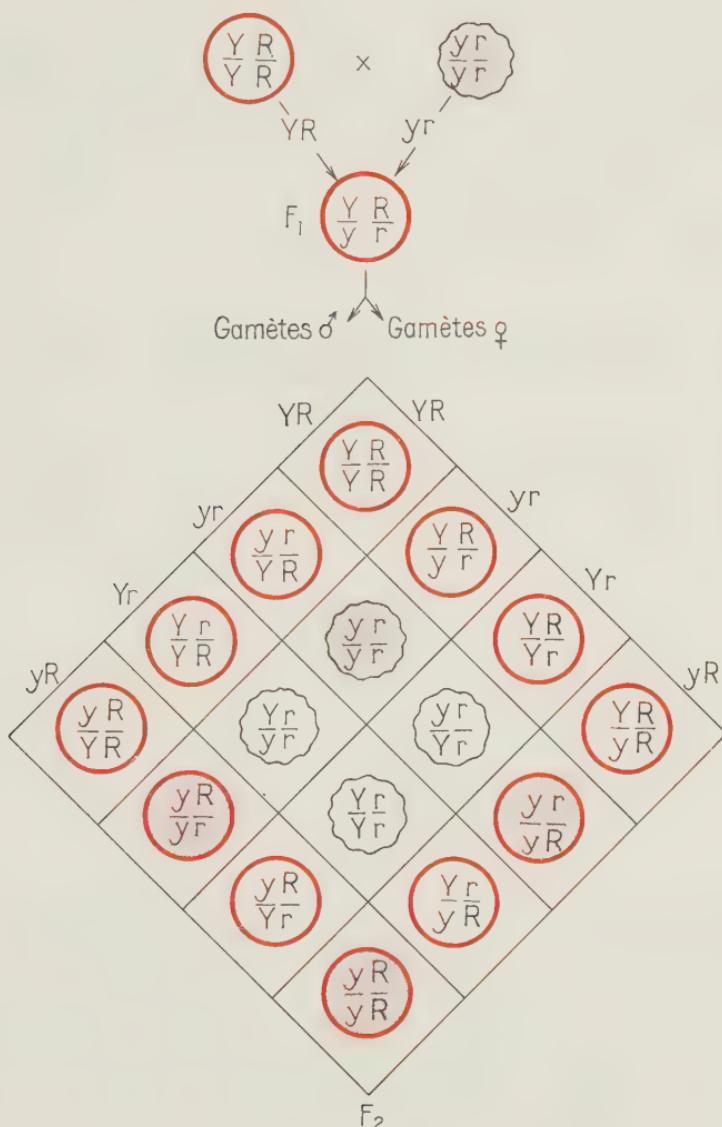


FIG. 7.5. — Interprétation d'un croisement impliquant un gène de forme et un gène de coloration des graines chez le pois.

Une analyse plus détaillée de ce croisement nécessite un examen des conséquences de l'indépendance génétique tout d'abord au niveau du génotype des descendants F<sub>2</sub>, puis au niveau de leur phénotype.

► LES GÉNOTYPES F<sub>2</sub>. — Envisageons tout d'abord séparément le génotype F<sub>2</sub> pour chacun des deux couples d'allèles. On retrouve en F<sub>2</sub> les proportions suivantes pour le gène de forme des graines : 1/4 *RR*, 1/2 *Rr* et 1/4 *rr*; de même les proportions pour le gène de couleur des graines sont : 1/4 *JJ*, 1/2 *Jj*, 1/4 *jj*. L'indépendance génétique a pour conséquence que les génotypes pour la forme et pour la coloration des graines sont acquis indépendamment : les proportions des 9 génotypes F<sub>2</sub> possibles pour les deux gènes envisagés simultanément sont donc données par l'opération :

$$(1/4 \text{ } JJ + 1/2 \text{ } Jj + 1/4 \text{ } jj) \times (1/4 \text{ } RR + 1/2 \text{ } Rr + 1/4 \text{ } rr).$$

Le résultat est symbolisé dans le *tableau 7-1*.

TABLEAU 7-1. — Proportion des 9 génotypes F<sub>2</sub>  
pour deux gènes indépendants.

		Génotypes F <sub>2</sub> pour le gène de forme des graines		
		1/4 <i>RR</i>	1/2 <i>Rr</i>	1/4 <i>rr</i>
Génotypes F <sub>2</sub> pour le gène de couleur des graines	1/4 <i>JJ</i>	1/16 <i>JJRR</i>	2/16 <i>JJrr</i>	1/16 <i>JJrr</i>
	1/2 <i>Jj</i>	2/16 <i>JjRR</i>	4/16 <i>JjRr</i>	2/16 <i>Jjrr</i>
	1/4 <i>jj</i>	1/16 <i>jjRR</i>	2/16 <i>jjRr</i>	1/16 <i>jjrr</i>

► LES PHÉNOTYPES F<sub>2</sub>. — Le même type de raisonnement est applicable au niveau des phénotypes. En effet, si on considère les couples de caractères alternatifs séparément, on obtient en F<sub>2</sub> : 3/4 « lisse », 1/4 « ridé » pour le caractère de forme et 3/4 « jaune », 1/4 « vert » pour le caractère de couleur. Puisque les phénotypes reflètent des groupes de génotypes et que ceux-ci sont distribués indépendamment pour les caractères de forme et de couleur, les proportions des phénotypes F<sub>2</sub> pour les deux caractères envisagés simultanément résultent de l'opération :

$$(3/4 \text{ } « \text{lisse} » + 1/4 \text{ } « \text{ridé} ») \times (3/4 \text{ } « \text{jaune} » + 1/4 \text{ } « \text{vert} »).$$

Le résultat est symbolisé dans le *tableau 7-2*.

TABLEAU 7-2. — Proportion des phénotypes F2 pour deux gènes indépendants.

Phénotypes F2 pour le caractère de forme des graines

	3/4 lisse	1/4 ridé
3/4 jaune	9/16 jaune-lisse	3/16 jaune-ridé
1/4 vert	3/16 vert-lisse	1/16 vert-ridé

Une telle ségrégation 9-3-3-1 au niveau des phénotypes F2 issus d'un croisement F1 × F1 est caractéristique de deux couples d'allèles génétiquement indépendants.

■ **Test-cross.** — Dans l'exemple précédent, effectuer un « test-cross » revient à croiser les descendants F1 (doubles hétérozygotes) par le double récessif, c'est-à-dire – ici – le parent de phénotype « vert-ridé ». Dans ce cas, le phénotype exprimé par les descendants

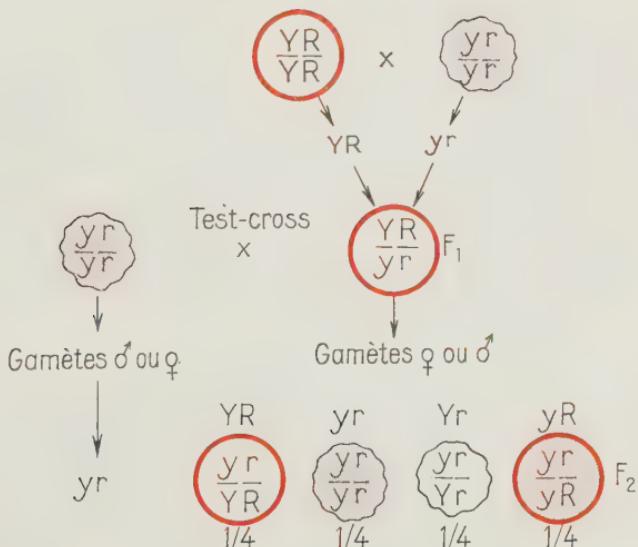


FIG. 7.6. — Test-cross impliquant des plants de pois hétérozygotes pour les gènes de forme et de coloration des graines.

correspond au génotype des gamètes issus de l'hétérozygote F1 (fig. 7-6). En effet, chaque fois que ceux-ci fournissent un allèle dominant pour l'un ou l'autre gène, le descendant sera de phénotype dominant pour le caractère correspondant; chaque fois qu'ils fournissent un allèle récessif, le descendant sera homozygote récessif et exprimera le caractère récessif correspondant.

On retrouve alors en F2 les 4 phénotypes possibles en proportions égales.

Dans l'exemple discuté ici, on aurait pu effectuer un croisement entre deux lignées pures de pois, l'une à graines « vert-lisse », l'autre à graines « jaune-ridé ». Évidemment, du fait de l'indépendance génétique entre les deux gènes correspondants, le croisement F1 × F1 aurait donné les mêmes proportions 9 jaune-lisse, 3 jaune-ridé, 3 vert-lisse, 1 vert-ridé en F2. Le « test-cross » aurait consisté à croiser les descendants F1 par le double homozygote récessif (dans ce cas différent des deux parents) et les résultats auraient été également identiques. Cette identité des résultats, quelles que soient les associations parentales pour les gènes considérés, est caractéristique de l'indépendance génétique.

■ **Variations sur le thème 9-3-3-1.** — Le contrôle d'un même caractère par deux gènes différents a déjà été envisagé dans le cas des haploïdes. La même situation se rencontre chez les diploïdes, mais elle y est rendue plus complexe par les phénomènes de dominance.

Voici, à titre d'exemple, deux cas d'interaction de gènes.

► **COULEUR DE L'ŒIL CHEZ LES DROSOPHILES.** — On a vu chez *Asco-bolus* que si la mutation de deux gènes distincts *a* et *b* aboutit au même changement de caractère, on ne pourra distinguer au niveau des phénotypes les 3 génotypes  $a^+b^m$ ,  $a^mb^+$  et  $a^mb^m$ . Chez les diploïdes, une situation similaire aboutira en F2 à une ségrégation 9-7 si les allèles mutants sont récessifs; en effet, tous les descendants homozygotes récessifs pour l'un ou l'autre, ou l'un et l'autre gène présenteront alors le même phénotype mutant.

Ce cas se rencontre chez la drosophile. La souche sauvage présente des yeux rouge sombre; on connaît chez cet insecte plusieurs gènes dont les allèles récessifs mutants se manifestent par une coloration rouge vif des yeux. Le cas des gènes indépendants *scarlet* (*sc*) et *cinnabar* (*cn*) est illustré dans la figure 7-7.

► **COULEUR DU PELAGE CHEZ LA SOURIS.** — L'équivalent de la situation citée chez *Asco-bolus* (présence ou absence de granules) où la présence de l'allèle aboutissant à des spores blanches masque l'expression de l'autre gène, existe aussi chez les diploïdes. Selon que l'allèle qui masque l'expression de l'autre gène est récessif ou dominant, on aboutit en F2 à des proportions 9-3-4 ou 12-3-1.

La première situation est illustrée par l'hérédité de la coloration du pelage chez la souris; celle-ci est contrôlée par plusieurs gènes. L'allèle récessif *n* de l'un de ces gènes aboutit à la couleur brune et

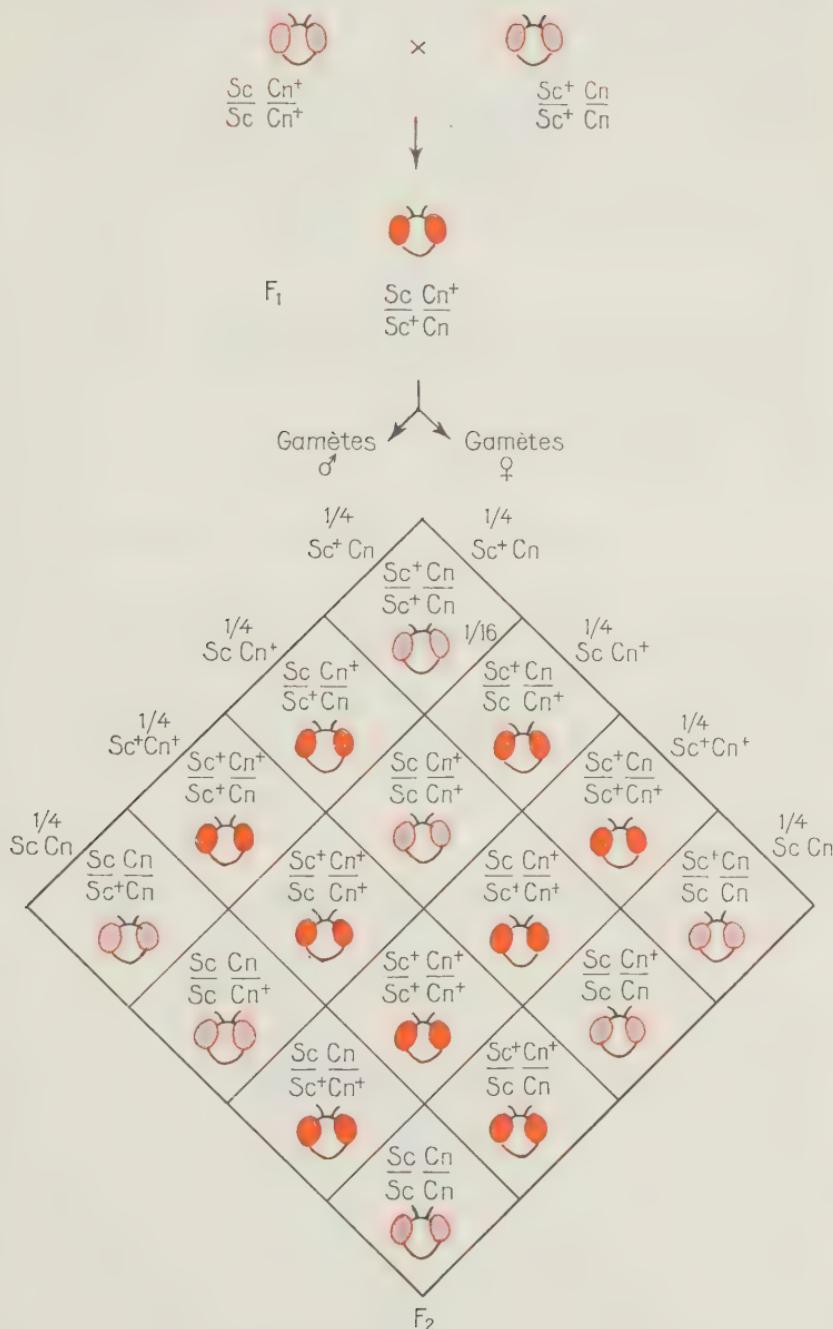


FIG. 7.7. — Ségrégation 9-7 chez la drosophile.

l'allèle dominant *N* à la couleur noire. L'allèle récessif *c* d'un autre gène prévient la formation de pigment, l'allèle dominant *C* la permet. Toute souris homozygote *cc* aura donc un pelage blanc quel que soit son génotype par ailleurs. L'allèle *c* est épistatique sur *N/n*. Au contraire, les souris qui possèdent l'allèle *C* auront un pelage noir ou brun selon qu'elles possèdent l'allèle *N* ou sont homozygotes *nn*.

Un croisement entre deux lignées pures de génotypes  $\frac{cN}{cN} \times \frac{Cn}{Cn}$  donnera les résultats indiqués dans la figure 7-8.

D'autres types de ségrégations F2 dérivés de la ségrégation 9-3-3-1 sont encore possibles :

— ségrégation 15-1 : seuls les deux gènes simultanément à l'état récessif aboutissent à un changement de phénotype;

— ségrégation 9-6-1 : effet additif des allèles récessifs de deux gènes contrôlant le même caractère;

— ségrégation 13-3 : le phénotype récessif d'un gène est supprimé par l'allèle récessif de l'autre gène.

## Interprétation de l'indépendance génétique

Chaque fois que deux gènes sont portés par des paires de chromosomes différents, ils sont génétiquement indépendants. En effet, chacune des quatre chromatides d'une paire se répartit indépendamment de celles de l'autre paire dans les quatre produits de la méiose. Dans ceux-ci, chacune des quatre associations possibles entre les deux chromosomes — et donc entre les gènes qu'ils portent — aura donc la même probabilité.

## Liaison génétique

### Mécanisme et définition de la distance génétique

■ **Obtention des associations recombinées.** — L'interprétation de l'indépendance génétique sous-entend que la liaison génétique ne s'observe que lorsque les deux gènes sont portés par le même chromosome, c'est-à-dire sont aussi physiquement liés.

Dans les cas de liaison, de nouvelles associations recombinées, bien que moins fréquentes que les parentales, sont pourtant observées. L'existence des crossing-over explique ces réassociations (fig. 7-9). Soit C et A les deux gènes considérés,  $C^P A^P$  et  $C^m A^m$  les deux combinaisons parentales d'allèles. Chaque fois qu'un crossing-over s'effectue dans l'intervalle qui sépare les deux gènes C et A, on obtient deux chromatides remaniées qui portent les deux nouvelles associations d'allèles  $C^P A^m$  et  $C^m A^P$ .

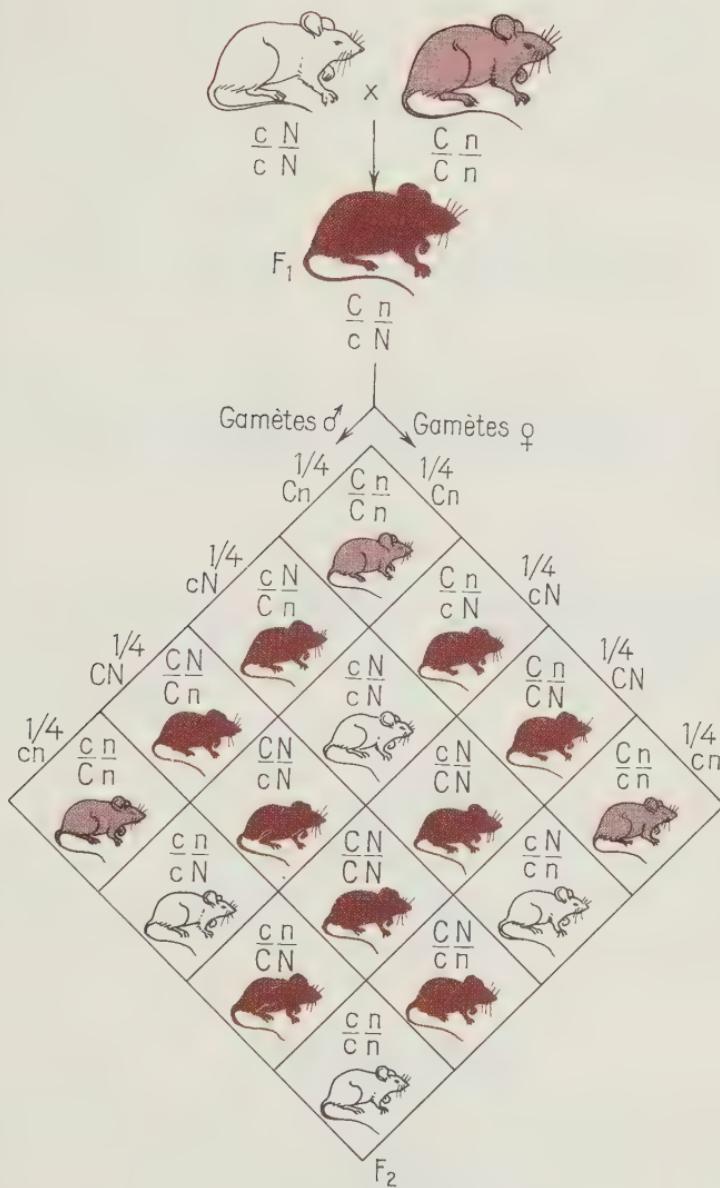


FIG. 7.8. — Ségrégation 9-3-4 chez la souris.

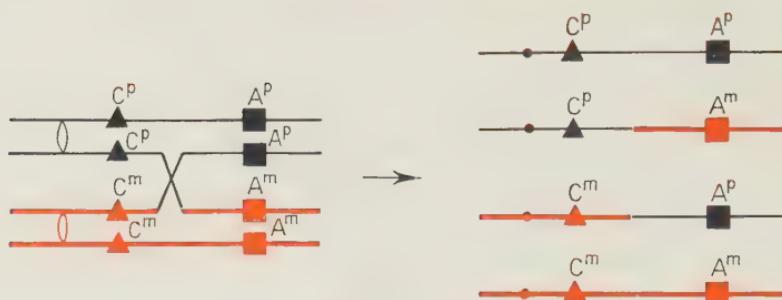


FIG. 7.9. — *Obtention d'associations recombinées d'allèles par crossing-over dans le cas de deux gènes liés.*

Les échanges dus aux *crossing-over* sont strictement réciproques : ceci a pour conséquence que les associations recombinées complémentaires se retrouvent en nombre égal dans les produits de la méiose. Il en va évidemment de même pour les deux associations parentales :

$$A^mC^m = A^pC^p \quad \text{et} \quad A^mC^p = A^pC^m$$

■ **Fréquence de recombinaison et distance génétique.** — Admettons, pour simplifier, qu'il ne s'effectue jamais plus d'un *crossing-over* sur le segment de chromatide qui sépare nos deux gènes A et C. Le nombre d'associations recombinées reflètera alors directement le nombre de chromatides remaniées entre A et C. En d'autres termes, la fréquence de recombinaison dépend de la localisation relative des deux gènes sur le chromosome; plus l'intervalle qui sépare les deux gènes est grand, plus grande est la probabilité pour qu'un *crossing-over* s'effectue dans cet intervalle. La fréquence de recombinaison est donc une mesure de la distance entre ces deux gènes.

L'unité génétique qui permet de mesurer cette distance est le *centimorgan* (cM). Elle correspond à l'intervalle sur lequel la probabilité pour qu'il s'effectue un remaniement est de 1 %.

### Technique d'étude

Le principe est toujours le même. On fabrique le double hétérozygote et on observe la proportion des diverses combinaisons d'allèles dans les produits de la méiose de cet hétérozygote.

Chez les organismes haplobiontiques, l'observation s'effectue directement sur les produits haploïdes.

Chez les organismes diplobiontiques, la technique du test-cross est la méthode la plus directe.

Voici, pour exemple, comment fut calculée la distance entre les gènes « *piebald* » et « *hairless* » chez la souris.

L'allèle dominant *S* du gène *piebald* aboutit à un pelage uni, l'allèle récessif *s* est responsable de taches blanches qui agrémentent la toison de la souris. L'allèle récessif *hr* du gène *hairless* provoque la chute des poils qui débute à la fin de la seconde semaine. Plusieurs croisements ont été effectués entre des souris doubles hétérozygotes (dont un des parents était homozygote récessif) et présentant un phénotype : pelage uni, normal et des souris homozygotes récessives à pelage tacheté, devenant chauves.

La répartition des phénotypes dans la progéniture de ces croisements est indiquée dans la figure 7-10.

On vérifie, aux erreurs d'échantillonnage près, l'égalité entre les deux classes parentales d'une part et les deux classes recombinées

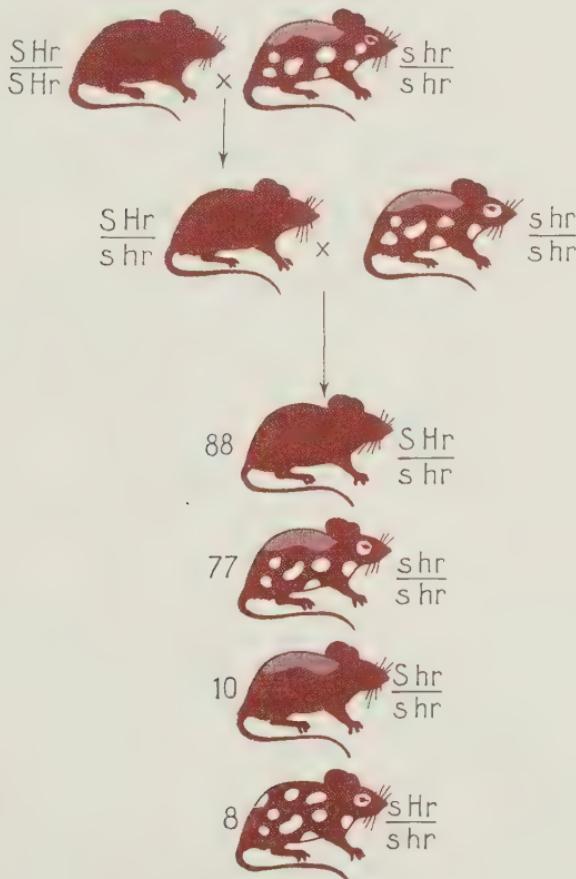


FIG. 7.10. — Cas de liaison génétique chez la souris.

d'autre part. On constate de plus que les classes parentales sont plus fréquentes que les classes recombinées : les deux gènes sont donc liés.

Le pourcentage de recombinés est égal à :

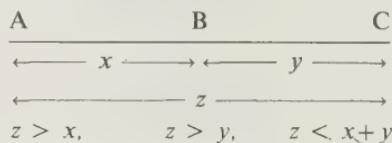
$$\frac{10 + 8}{77 + 88 + 10 + 8} \times 100 \sim 9\%.$$

D'après la définition de la distance génétique, les deux gènes sont donc liés et distants d'environ 9 centimorgans : ils font partie du même groupe de liaison qui peut être symbolisé par un segment de droite.

### Localisation des gènes liés

■ **Additivité des distances.** — Soit 3 gènes liés A, B et C. Ces gènes peuvent être disposés selon 3 séquences possibles : ABC, BAC, ACB, sur le groupe de liaison correspondant. Pour déterminer quelle séquence est la bonne, on effectue les 3 croisements possibles impliquant respectivement les doubles hétérozygotes pour A et B, B et C, A et C. On obtient ainsi les distances entre chaque couple de gènes. Ces distances doivent être *additives* : la fréquence des remaniements sur l'intervalle total est égale à la somme des fréquences de remaniements sur les deux intervalles adjacents définis par les locus des 3 gènes. On aboutit ainsi à une seule séquence possible.

■ **Limitation de la notion d'additivité des distances.** — En pratique, les distances — calculées à partir de la fréquence de recombinaison — ne sont pas toujours strictement additives. On constate souvent que la distance ( $z$ ) calculée sur l'intervalle le plus grand est inférieure à la somme des distances ( $x$  et  $y$ ) calculées sur les deux intervalles contigus qui le composent :



Ce fait s'explique de la manière suivante : on a postulé que la fréquence de recombinaison reflétait directement la fréquence des remaniements consécutifs à un *crossing-over*. Ceci n'est valable que s'il ne se produit jamais plus d'un *crossing-over* dans l'intervalle considéré. En réalité, si les deux gènes sont suffisamment éloignés, il peut parfois se produire *deux crossing-over* (ou plus) intéressant la même chromatide. Cette situation est illustrée dans la figure 7-11 : considérons les gènes A et B ; on constate que lorsqu'il se produit deux *crossing-over* intéressant la même chromatide, bien que celle-ci soit remaniée deux fois, les marqueurs restent néanmoins en combinaison parentale. Ainsi, dans les cas où, dans un intervalle, plusieurs

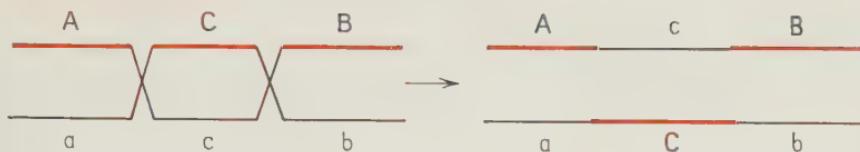


FIG. 7.11. — Conséquences d'un double crossing-over.  
Par souci de simplification, seulement deux chromatides sont représentées.

*crossing-over* peuvent intéresser simultanément la même chromatide, la fréquence de recombinaison sera inférieure à la fréquence réelle de remaniements : la distance sera donc *sous-estimée*.

Cette sous-estimation sera d'autant plus grande que la distance réelle entre les gènes est grande. Si ceux-ci sont très éloignés sur le même chromosome, on aboutit à une distance calculée limite de 50 unités : en effet, dans ce cas, il y a suffisamment de crossing-over dans l'intervalle pour qu'il y ait autant de chances d'obtenir une association parentale que d'obtenir une association recombinée. Dans ces cas limites, bien que les gènes soient *physiquement liés*, ils apparaissent néanmoins comme *génétiquement indépendants*.

Pourtant, les doubles *crossing-over* ne se produisent généralement pas sur les petites distances (correspondant à moins de 5 à 10 centimorgans). Il suffit donc de constituer la carte du groupe de liaison en utilisant comme marqueurs des gènes qui, pris deux à deux, sont suffisamment proches; la fréquence de recombinaison correspondra alors à la fréquence réelle de remaniements.

■ **Mise en évidence des doubles crossing-over : le « test-3 points ».** — Le « test-3 points » revient à utiliser dans le même croisement 3 différences alléliques correspondant à 2 gènes liés. Ce type de croisement permet de mettre en évidence les doubles *crossing-over*; il permet aussi de déterminer facilement la séquence des 3 gènes considérés. Ainsi, dans la figure 7-11, on voit que chaque fois qu'il se produit un double *crossing-over* dans les intervalles AC et CB, le marqueur médian (C) présentera une association nouvelle avec les marqueurs externes, mais ces derniers resteront en combinaison parentale. Parmi les diverses catégories recombinées, les deux catégories symétriques qui résultent d'un tel événement doivent être les plus rares : il suffit donc de déterminer quels sont les deux gènes marqueurs qui restent en association parentale dans les catégories recombinées symétriques les plus rares pour connaître la séquence des gènes étudiés.

Voici, par exemple, les résultats d'un « test-3 points » effectué chez la souris. On a déjà décrit (chapitre 6) deux allèles du gène de coloration : *C* (coloration normale) et *c* (albinos); il existe un troisième allèle de ce gène *c<sup>D</sup>* (dilution) qui aboutit à des souris dont le

pelage est à peu près blanc, mais dont les yeux sont presque normalement pigmentés (alors que l'allèle *c* donne des yeux roses, non pigmentés). L'allèle *c<sup>D</sup>* est récessif à *C* mais dominant sur *c*. Ce gène de l'albinisme à allèles multiples est lié aux gènes *shaker* et *pink eyed*. L'allèle récessif *sh* du premier gène provoque un mouvement nerveux caractéristique de va-et-vient de la tête de haut en bas. L'allèle récessif *p* du second gène s'exprime par une coloration rose de l'œil : les phénotypes œil rose et œil noir (allèle *P*) peuvent être distingués en présence de l'allèle *c<sup>D</sup>* alors que l'allèle *c* masque l'expression du gène *pink-eyed*.

TABLEAU 7-3. — Résultats d'un test-cross entre des souris triples hétérozygotes de génotype *ShCP/shcp* et de phénotype sauvage et des souris homozygotes de génotype *shc<sup>D</sup>p/Shc<sup>D</sup>p* et de phénotype « shaker », pelage blanc, œil rose.

Phénotype des descendants	<i>Génotype des descendants</i>		<i>Nombre</i>
	contribution du parent hétérozygote <i>ShCP/shcp</i>	contribution du parent homozygote <i>shc<sup>D</sup>p/shc<sup>D</sup>p</i>	
Sauvage .....	<i>ShCP/shc<sup>D</sup>p</i>		883
« Shaker », pelage blanc, œil rose	<i>shcp/shc<sup>D</sup>p</i>		880
« Shaker » .....	<i>shCP/shc<sup>D</sup>p</i>		44
Pelage blanc, œil rose .....	<i>Shcp/shc<sup>D</sup>p</i>		53
« Shaker », pelage blanc .....	<i>shcP/shc<sup>D</sup>p</i>		146
Œil rose .....	<i>ShCp/shc<sup>D</sup>p</i>		179
« Shaker », œil rose .....	<i>shCp/shc<sup>D</sup>p</i>		0
Pelage blanc .....	<i>ShcP/shc<sup>D</sup>p</i>		3
			2 188

Des croisements ont été effectués entre des souris hétérozygotes de génotype *shcp/ShCP*, de phénotype sauvage et des souris homozygotes de génotype *shc<sup>D</sup>p/shc<sup>D</sup>p* et de phénotype : « shaker », pelage blanc, œil rose. Les résultats de ce croisement sont indiqués dans le tableau 7-3; voici leur interprétation :

— les classes 1 + 2 proviennent des gamètes *ShCP* et *shc<sup>D</sup>p* issus de l'hétérozygote : elles correspondent aux classes parentales pour les 3 gènes;

— les classes 7 + 8 sont les plus rares (la catégorie 7, non représentée ici, a été observée dans d'autres croisements du même type) : elles doivent résulter d'un double crossing-over; puisque, dans ces classes, les gènes *shaker* et *pink-eyed* restent en association parentale, mais

sont tous deux recombinés avec *coloration*, ce dernier doit donc occuper la position médiane;

— les classes 3+4 et 5+6 dérivent respectivement d'un crossing-over dans l'intervalle *shaker-coloration* et *coloration-pink-eyed*.

La distance entre ces gènes peut maintenant être calculée :  
distance *shaker-coloration* :

$$\frac{44 + 53 + 3}{2\,188} \times 100 \sim 4,6 \text{ cM}$$

distance *coloration-pink-eyed* :

$$\frac{146 + 179 + 3}{2\,188} \times 100 \sim 15 \text{ cM}$$

distance *shaker-pink-eyed* :

$$\frac{146 + 179 + 44 + 53 + (3 \times 2)}{2\,188} \times 100 \sim 19,6 \text{ cM}$$

Dans ce dernier cas, les chiffres des classes 7 et 8 doivent être multipliés par deux pour tenir compte du double remaniement qu'ont subi leurs chromatides. Dans un croisement où le marqueur médian aurait été absent, ces classes n'auraient pu être distinguées de la classe parentale : la distance entre *shaker* et *pink-eyed* aurait donc été ici faiblement sous-estimée. Il va de soi que pour des intervalles supérieurs à 20 unités, la contribution des doubles crossing-over est de plus en plus importante et la sous-estimation s'amplifie.

### Cartes génétiques

La carte génétique de nombreux organismes a pu être établie sur la base des relations d'indépendance ou de liaison entre les gènes. Cela revient à définir les groupes de liaison, puis à établir la séquence des gènes sur chacun de ceux-ci : on aboutit ainsi à des cartes linéaires.

TABLEAU 7-4. — Correspondance entre le nombre haploïde de chromosomes et le nombre de groupes de liaison chez divers organismes bien étudiés génétiquement

Organismes	Nombre de groupes de liaisons connus	Nombre haploïde de chromosomes
<i>Neurospora-crassa</i> . . . . .	7	7
<i>Zea mays</i> . . . . .	10	10
<i>Drosophila melanogaster</i> . . . . .	4	4
Souris . . . . .	19	20

Pour chaque espèce bien étudiée génétiquement et cytologiquement, on trouve une correspondance étroite entre le nombre de groupes de liaisons et le nombre haploïde de chromosomes (*tableau 7-4*).

## Conclusion : théorie chromosomique de l'hérédité

Les lois qui ont été dégagées concernant la transmission d'un ou de deux couples d'allèles indépendants ou liés s'interprètent aisément si l'on admet que les gènes sont portés par les chromosomes.

La démonstration que l'ADN était le porteur de l'information génétique jointe à la localisation de la quasi-totalité de l'ADN cellulaire dans les chromosomes suffisait déjà à montrer que les chromosomes étaient les supports de l'hérédité. A partir de là, un certain nombre de déductions nous ont amenés à la notion de locus et à l'idée d'une organisation linéaire des gènes sur les chromosomes.

Pourtant, historiquement, la théorie chromosomique de l'hérédité a été proposée avant même que l'on connaisse la nature chimique du matériel génétique, par la seule comparaison entre les données génétiques relatives à la transmission des caractères à travers les générations sexuées et les données cytologiques concernant les chromosomes.

Voici résumés les principaux faits qui font aboutir à cette interprétation :

- La disjonction des allèles d'un même gène est provoquée par la méiose, comme celle des chromosomes.
- La distribution de deux couples d'allèles dans les gamètes s'effectue le plus souvent de manière indépendante tout comme celle des paires de chromosomes.
- L'existence cytologique des chiasmas ne s'explique que s'ils résultent d'un interchange entre chromatides homologues. Ceux-ci rendent parfaitement compte des modalités de la recombinaison génétique entre gènes liés, en particulier des phénomènes de réciprocité et d'additivité des distances.
- Le nombre de groupes de liaison correspond au nombre haploïde de chromosomes.

# 8

## Chromosomes et hérédité

La théorie chromosomique de l'hérédité a été largement confirmée par de nombreuses observations complémentaires. Celles-ci portent plus particulièrement sur les anomalies chromosomiques et leurs conséquences sur le phénotype et la transmission des caractères. Les anomalies chromosomiques ont un autre avantage : habilement utilisées, elles permettent de situer les gènes sur les chromosomes; une carte cytologique des gènes a pu être ainsi réalisée chez la drosophile.

Avant d'aborder les diverses situations relatives aux anomalies chromosomiques, nous envisagerons un cas particulier d'hérédité qui se rencontre lorsque les gènes étudiés sont localisés sur les chromosomes sexuels. Les anomalies portant sur le nombre ou la répartition des chromosomes sexuels seront également évoquées : ces anomalies apportent des indications précieuses sur le rôle des chromosomes sexuels dans la détermination du sexe.

### Chromosomes sexuels et hérédité liée au sexe

Dans le règne animal, on distingue, selon les espèces, deux cas, selon que le même individu est ou non capable de produire à la fois les gamètes mâles et femelles.

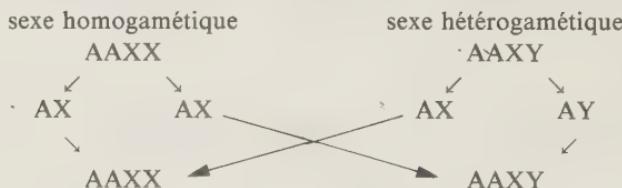
Dans les espèces *hermaphrodites*, où chaque individu produit les deux types de gamètes, il n'existe pas de différence chromosomique

entre les cellules germinales qui donneront l'un ou l'autre type. Au contraire, dans de nombreuses espèces, chaque individu ne fournit qu'un seul type de gamète, mâle ou femelle : les sexes sont séparés. On parle alors de *gonochorisme*. Le principal mécanisme responsable de la différence entre les sexes correspond, au niveau cytologique, à des différences chromosomiques.

### Chromosomes sexuels

Lorsqu'on examine le caryotype des diverses espèces animales gonochoriques, on observe souvent qu'une paire de chromosomes fait exception à la règle d'homologie. Il s'agit des chromosomes sexuels ou hétérosomes. Par exemple, chez la drosophile, on distingue 3 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels. Chez la femelle, les deux chromosomes sexuels sont homologues (XX), mais le mâle possède un seul X et un autre chromosome morphologiquement distinguable : le chromosome Y.

Il en est de même dans l'espèce humaine. Les cellules comportent 22 paires d'autosomes et 2X chez la femme et 22 paires d'autosomes plus 1X et 1Y chez l'homme. Si on appelle A chaque lot complet haploïde d'autosomes, les formules chromosomiques s'écrivent respectivement 2A + XX pour les femmes et 2A + XY pour les hommes. Il s'ensuit que les gamètes femelles sont tous semblables quant au chromosome sexuel (A + X), mais les gamètes mâles sont pour moitié (A + X) et pour moitié (A + Y) (en effet, les chromosomes X et Y ségrègent à la méiose comme le ferait une paire d'autosomes) : les femelles sont *homogamétiques* et les mâles sont *hétérogamétiques*. C'est donc le gamète issu du mâle qui détermine le sexe du descendant (femelle si le gamète ♂ apporte l'X, mâle s'il apporte l'Y). La probabilité d'obtenir un descendant mâle ou femelle est donc la même. Ce mécanisme aboutit au maintien de l'égalité numérique des individus des deux sexes à travers les générations :

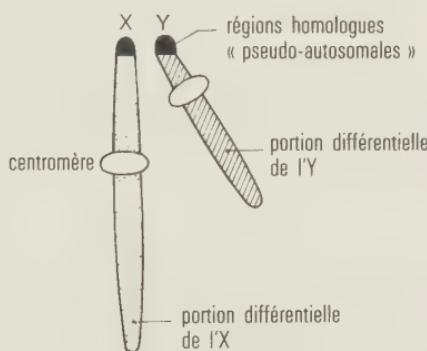


Les cas de l'homme et de la drosophile (mâles XY, femelles XX) ne correspondent pas au seul type de différence chromosomique entre les sexes. Ainsi, chez les oiseaux, c'est la femelle qui est hétérogamétique (XY) et le mâle homogamétique (XX). Chez certains insectes, l'un des deux sexes ne possède qu'un seul chromosome sexuel. Par exemple, chez les libellules, les mâles sont XO (hétérogamétiques) et

les femelles XX. On rencontre la situation inverse chez certains lépidoptères.

Les chromosomes X et Y possèdent une petite portion homologue; c'est par l'intermédiaire de cette région que s'effectue l'appariement entre les chromosomes X et Y au cours de la méiose dans le sexe hétérogamétique. Pourtant, la plus grande partie de ces chromosomes est hétérologue : une portion importante de X ne possède pas d'équivalent dans l'Y et réciproquement (fig. 8-1).

FIG. 8.1. — Chromosomes X et Y.



### Hérédité liée au sexe

Par conséquent, un gène porté par la partie différentielle d'un chromosome sexuel n'existe qu'en un seul exemplaire dans le sexe hétérogamétique. (Il en est ainsi des gènes portés par la partie différentielle de l'X chez les mâles de l'homme ou de la drosophile, ils sont hémizygotes pour ces gènes.) Cette situation entraîne un type d'hérédité spécifique appelée « hérédité liée au sexe ». Celle-ci se traduit par les caractéristiques suivantes :

- Selon le sens du croisement (mâle mutant × femelle sauvage ou mâle sauvage × femelle mutante), on obtient des résultats différents.
- La distribution des caractères « liés au sexe » est différente parmi les descendants mâles et femelles.

**Cas de la drosophile.** — Prenons par exemple le gène *white* de la drosophile. L'allèle mutant récessif *w* entraîne une couleur blanche de l'œil qui présente normalement une pigmentation rouge brique. Si on croise entre elles deux lignées pures — mutante et sauvage pour ce gène — on obtient, selon le sens du croisement, les résultats décrits page suivante.

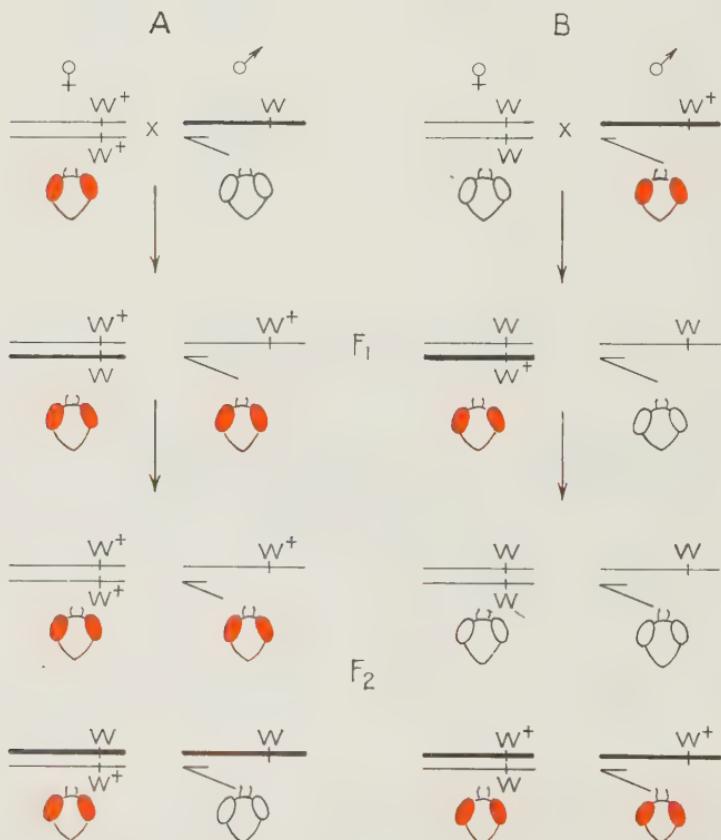
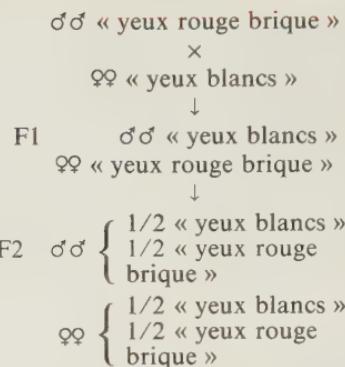
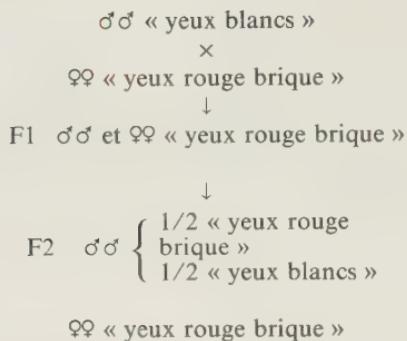


FIG. 8.2. — Transmission d'un caractère lié au sexe chez la drosophile. A. — Croisement ♀ sauvage x ♂ yeux blancs. B. — Croisement ♀ yeux blancs x ♂ sauvage l'X du mâle parental est symbolisé en trait épais.

Ces résultats diffèrent de ceux attendus pour un gène autosomal. On obtiendrait alors une F1 homogène et la ségrégation caractéristique d'un couple d'allèles en F2, quel que soit le sens du croisement. On interprète aisément les faits obtenus ici si le gène *white* est situé sur la portion différentielle de l'X (fig. 8.2).

Une telle situation se résume par deux lois simples :

1. *L'X des mâles n'est jamais transmis à leurs fils.* Ceux-ci reçoivent l'un ou l'autre X de leur mère. Comme ils sont hémizygotes, leur phénotype exprime directement le génotype de cet X. La descendance mâle équivaut donc à celle d'un *test-cross* chaque fois que la mère est hétérozygote pour un ou plusieurs gènes situés sur la portion différentielle de l'X.

2. *L'X des mâles est toujours transmis à leurs filles.* Si celui-ci porte l'allèle dominant, toutes les femelles descendantes auront le phénotype correspondant; s'il porte l'allèle récessif, le phénotype des femelles descendantes reflétera le génotype de l'X transmis par leur mère.

■ **Cas de l'Homme.** — On connaît actuellement plus de 70 gènes portés par l'X dans l'espèce humaine. Un exemple classique est celui de l'hémophilie. Le pedigree d'une famille présentant ce trait est indiqué dans la figure 8-3. Les femmes y sont symbolisées par un rond, les hommes par un carré. Les conjoints sont reliés par une ligne horizontale. Les divers descendants d'un couple sont branchés sur la même ligne qu'un trait vertical associe au couple dont ils sont issus. Les individus présentant le trait sont symbolisés en rouge. L'hémophilie est due à l'allèle récessif d'un gène situé sur la portion différentielle de l'X. Cet allèle est assez rare pour que la grande majorité des femmes soient homozygotes pour l'allèle dominant. Ceci a pour conséquence qu'un homme hémophile, lorsqu'il épouse une femme homozygote normale, ne transmet jamais le trait à ses fils; au

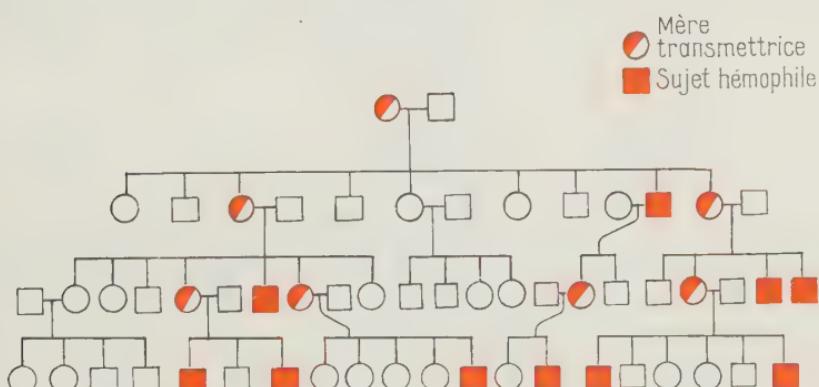


FIG. 8.3. — *Pedigree de l'hémophilie.*

contraire, toutes ses filles hériteront de cet allèle qui restera masqué, à l'état hétérozygote. Celles-ci auront elles-mêmes une chance sur deux de transmettre le trait à leurs enfants mâles. Ainsi, le trait est transmis des grands-pères aux petits-fils par l'intermédiaire des filles transmettrices.

Ce type de transmission d'un trait récessif aux seuls mâles ne se rencontre pas lorsque les allèles ont une fréquence assez grande pour que les hétérozygotes soient fréquents. Ainsi, les deux allèles du

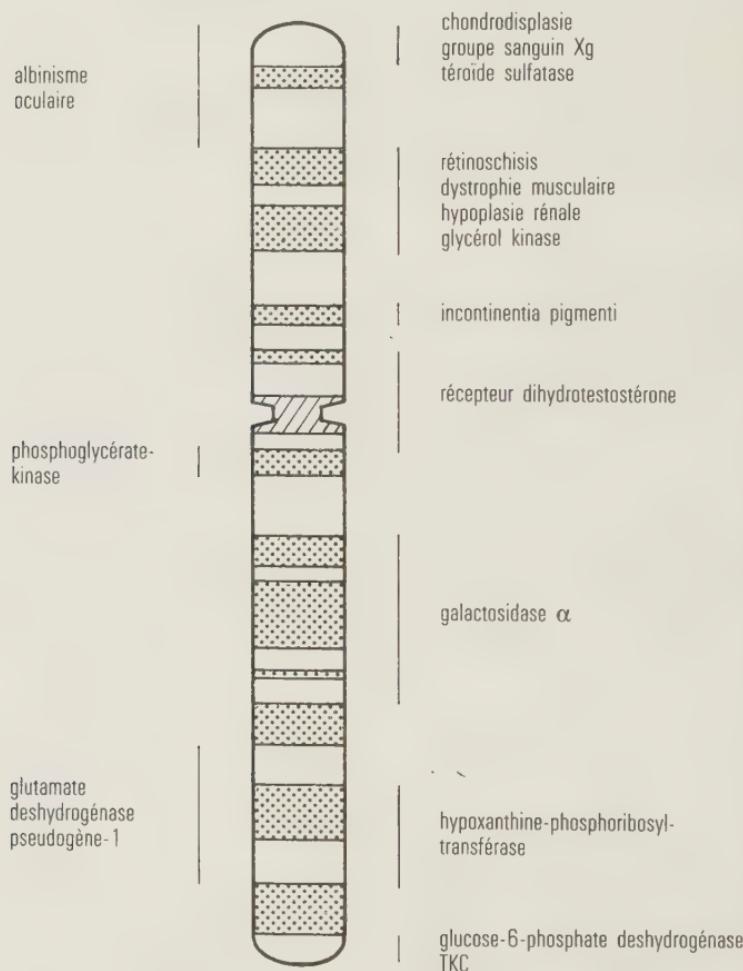


FIG. 8.4. — Carte génétique du chromosome X humain : position de quelques gènes cartographiés sur le chromosome X.

système de groupes sanguins Xg ont une fréquence approximativement égale. Ce gène a été utilisé comme marqueur génétique pour établir la carte génétique de l'X. Chez l'homme, l'établissement d'une carte génétique représente en effet d'énormes difficultés pour les gènes autosomaux car on ne peut contrôler les croisements, et les descendances sont de faible effectif. Les particularités de la liaison au sexe permettent au contraire d'estimer la distance entre deux gènes portés par l'X chez les descendants mâles chaque fois que la mère est hétérozygote pour ces gènes. Il va de soi que si, pour chacun de ces deux gènes, l'un des deux allèles est très rare, la probabilité pour qu'une femme soit double hétérozygote est pratiquement nulle. L'utilisation du gène responsable du groupe sanguin Xg pallie cette difficulté. En cumulant les distributions obtenues dans les descendances mâles issues de mères hétérozygotes pour ce gène et un autre gène lié au sexe, on peut calculer la distance qui les sépare. Une carte génétique partielle du chromosome X humain est représentée dans la figure 8-4.

Deux autres situations d'hérédité liée au sexe sont théoriquement prévisibles. Dans celle où le gène responsable est porté par la portion différentielle de l'Y, le caractère correspondant se transmettra de père en fils : les cas reportés chez l'homme n'ont pas été confirmés. Je vous laisse enfin prévoir la distribution attendue des caractères si le gène est situé dans la portion commune aux chromosomes X et Y.

## Variation quantitative des chromosomes

On peut aboutir accidentellement, chez certains individus normalement diploïdes, à un nombre de chromosomes différent de celui caractéristique de l'espèce. On distingue deux types de variation quantitative des chromosomes : l'*euploïdie* et l'*aneuploïdie*.

### Euploïdie

On parle d'euploïdie chaque fois que le caryotype est composé d'assortiments complets de chromosomes. En plus du nombre diploïde normal, on peut théoriquement rencontrer des individus monoploïdes ( $1n$ ) ou polyploïdes : triploïdes ( $3n$ ), tétraploïdes ( $4n$ ), etc... Dans le règne animal, la monoploïdie existe chez certains insectes parthénogénétiques tels que l'abeille où les mâles monoploïdes sont issus de gamètes femelles non fécondés. Les monoploïdes artificiels obtenus par exemple chez le triton ne sont pas viables : ils avortent au stade larvaire. A l'exception de rares cas de triploïdie

(drosophile, salamandre, lapin), la polyploidie est également virtuellement inexistante chez les animaux. Lorsqu'ils sont fertiles, les spécimens triploïdes fournissent eux-mêmes un petit nombre de gamètes normaux. En effet, chaque chromosome existant en trois exemplaires, leur appariement ne peut conduire à un partage égal des chromosomes lors de la méiose : de ce fait, le nombre des chromosomes varie de  $n$  à  $2n$ , avec toutes les combinaisons intermédiaires possibles, dans les gamètes dont la majorité n'est pas viable.

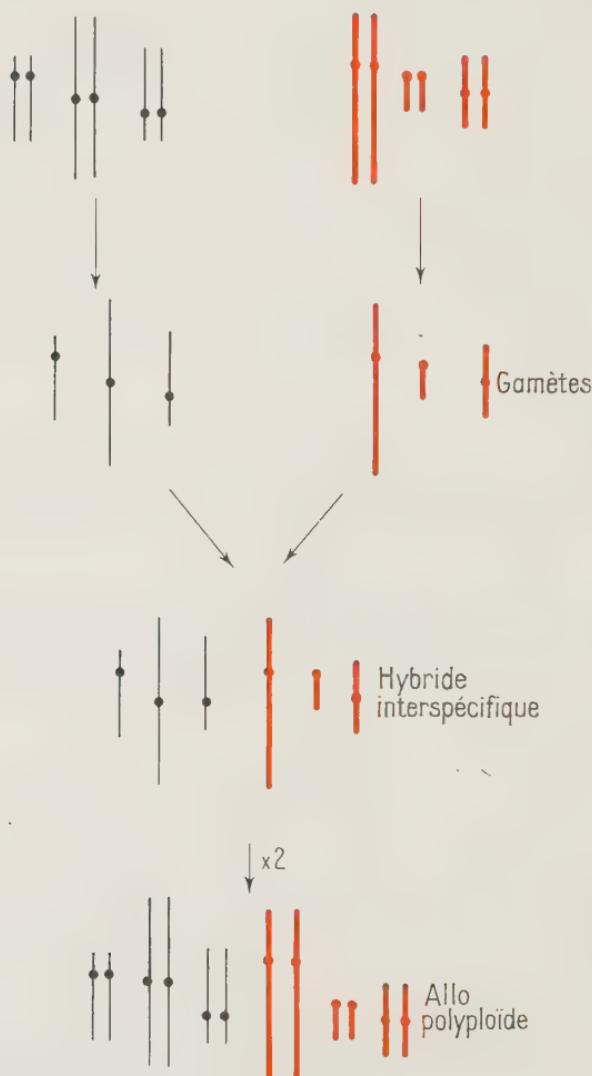


FIG. 8.5. — Constitution d'un allopolyploïde.

Chez les plantes, on peut créer des monoploïdes viables donnant eux-mêmes de rares gamètes : c'est le cas par exemple du tabac. La polyploïdie est également fréquente et peut être provoquée artificiellement par des drogues telles que la colchicine. On retrouve néanmoins chez ces individus une fertilité toujours plus faible et quelquefois nulle.

Un cas particulier de polyploïdie mérite d'être signalé : il s'agit de l'*allopolyploïdie* (fig. 8-5). Il est quelquefois possible de réaliser par croisement entre espèces voisines des hybrides interspécifiques. La faible homologie entre les chromosomes de chacun des lots haploïdes aboutit généralement à des méioses aberrantes et à la stérilité de ces hybrides. Chez les plantes, qui supportent mieux la polyploïdie, si le nombre de chromosomes d'un hybride est doublé, on restitue dans l'*allopolyploïdie* ainsi obtenu l'existence de paires de chromosomes homologues permettant un appariement normal et restaurant la fertilité. C'est ainsi que, par exemple, de nombreuses variétés de blé cultivé ont été engendrées.

## Aneuploïdie

Il y a aneuploïdie chaque fois qu'il existe un ou plusieurs chromosomes en plus ou en moins du complément diploïde naturel. S'il manque un chromosome ( $2n - 1$ ), le chromosome correspondant existe en un seul exemplaire : il s'agit de *monosomie*. Si un chromosome est un supplément ( $2n + 1$ ), il s'agit de *trisomie*. Les aneuploïdes peuvent apparaître dans la descendance de polyploïdes (pouvant donner des gamètes à  $n + x$  chromosomes), ou bien résultent de la non-disjonction d'une paire de chromosomes lors de la gamétogénèse chez un des parents : on aboutit alors à des gamètes à  $n + 1$  ou  $n - 1$  chromosomes.

### ■ Aneuploïdie et détermination chromosomique du sexe.

— L'étude d'aneuploïdes pour les chromosomes sexuels a permis d'éclaircir le rôle de ces chromosomes dans la détermination du sexe. Ce rôle est différent dans le cas de la drosophile et dans celui de l'homme.

► IMPORTANCE DU RAPPORT X/A CHEZ LA DROSOPHILE. — On a obtenu chez cet insecte divers spécimens triploïdes ou diploïdes, dont le nombre de chromosomes X et Y variait également. La tendance vers le sexe femelle ou le sexe mâle dépend directement du rapport entre le nombre de chromosomes X et le nombre d'assortissements haploïdes d'autosomes (*tableau 8-1*).

On constate en particulier que le chromosome Y ne joue aucun rôle dans la détermination du sexe. Sa présence est pourtant indispensable à la fertilité des mâles : on a montré récemment que le chromosome Y de la drosophile n'était pas « génétiquement vide ». Il

TABLEAU 8-1. — Relation entre le rapport du nombre de chromosomes X au nombre de lots d'autosomes et le type sexuel chez la drosophile.

Type sexuel	Nombre de lots d'autosomes	Chromosomes sexuels	Rapport X/A
Supermâle .....	AAA	XY	1/3
{ Mâle normal .....	AA	XY	1/2
{ Mâle stérile .....	AA	X	1/2
{ Intersexué .....	AAA	XX	2/3
{ Intersexué .....	AAA	XXY	2/3
{ Femelle normale .....	AA	XX	1
{ Femelle fertile .....	AA	XXY	1
{ Femelle triploïde .....	AAA	XXX	1
Superfemelle .....	AA	XXX	3/2

comporte de nombreux gènes qui ne sont actifs que durant la spermiogénèse et jouent un rôle important dans ce processus. L'absence de ces gènes prévient la différenciation des produits de la méiose en spermatozoïdes.

► RÔLE MASCULINISANT DU CHROMOSOME Y CHEZ L'HOMME. — La détermination du sexe est toute différente dans l'espèce humaine où le chromosome Y joue un rôle essentiel dans l'apparition des caractères sexuels masculins.

Dans les noyaux des cellules interphasiques des femmes (par exemple, cellules sanguines ou frottis de cellules de la paroi interne de la joue), on observe un corpuscule hétérochromatique fortement condensé : *le corpuscule de Barr*. Cette structure n'existe pas chez l'homme. Le corpuscule de Barr correspond à un des deux chromosomes X qui est inactivé chez la femme; l'un ou l'autre des deux X peut être condensé dans les diverses cellules d'un même individu féminin.

Cette méthode permet de déceler facilement des cas d'aneuploïdie touchant les chromosomes sexuels. Ainsi, certaines femmes ne possèdent pas de corpuscule de Barr. Leur caryotype est XO. Cette anomalie est associée à un ensemble de symptômes physiologiques constituant le *Syndrome de Turner*. Ces personnes, dont les caractères sexuels primaires (organes génitaux) sont féminins, sont néanmoins stériles. Leurs ovaires sont atrophiés et elles demeurent sexuellement immatures.

Inversement, certains hommes présentent de manière inattendue un corpuscule de Barr. Leur formule chromosomique est XXY. Là encore, bien qu'ils présentent des caractères sexuels primaires masculins, ces sujets sont stériles. Ils manifestent en outre une tendance à la féminisation des caractères sexuels secondaires : voix aiguë, faible pilosité, poitrine anormalement développée. Ces anomalies constituent le *syndrome de Klinefelter*.

Ainsi, dans l'espèce humaine, le chromosome Y détermine l'apparition du sexe masculin et son absence celle du sexe féminin. Néanmoins, un mauvais dosage des chromosomes X (Turner, Klinefelter) perturbe assez la physiologie des individus pour les rendre stériles.

■ **Trisomie 21 chez l'homme.** — De très nombreux exemples de trisomie sont connus chez les végétaux. Chez la plante *Datura*, dont le nombre haploïde est de 12 chromosomes, on a obtenu les 12 trisomiques possibles; ils sont tous distinguables les uns des autres pour leur morphologie. Les cas de monosomie sont beaucoup plus rares : l'existence de certains gènes en trois exemplaires est moins létale que leur présence en un seul exemplaire.

Chez l'homme, les trisomiques pour le chromosome 21 sont les mieux connus. Ces sujets présentent un faciès et des empreintes palmaires caractéristiques ainsi qu'un retard mental important : ces traits, associés à d'autres particularités, définissent le *syndrome de Down* (ou mongolisme). Excepté le cas particulier que nous allons envisager, le mongolisme résulte de la non disjonction des chromosomes 21 au cours de la méiose, dans l'ovocyte de la mère. On a établi une corrélation étroite entre la probabilité de naissance d'un enfant mongolien et l'âge de la mère; cette probabilité passe de 1/500 entre 20 et 30 ans à 1/300 entre 40 à 45 ans et 1/60 au-dessus de 45 ans. On ne trouve aucune corrélation avec l'âge du père.

On a également reporté chez l'homme des trisomies pour les chromosomes 13, 18 et 8. Notons que tous ces chromosomes sont relativement petits. Il est probable que les trisomies impliquant des chromosomes plus grands ne soient guère viables, soit pour les gamètes porteurs du chromosome surnuméraire, soit pour le fœtus. En effet, 25 à 50 % des avortements spontanés seraient la conséquence d'une anomalie chromosomique.

Aucun cas de monosomie n'a été signalée chez l'homme, exception faite de celui concernant les chromosomes sexuels (Turner).

## Variation de la structure des chromosomes

La structure des chromosomes peut être elle-même accidentellement modifiée. On distingue quatre types d'anomalies chromosomiques (fig. 8-6). Les *déficiences* (perte d'un fragment de chromosome) et les *duplications* (une portion de chromosome existe en deux exemplaires, souvent disposés en tandem) impliquent la perte ou l'addition de gènes. Les *inversions* (la séquence des gènes est inversée sur une section de chromosome) et les *translocations* (une partie d'un chromosome s'attache sur un autre chromosome) n'impliquent que des réarrangements chromosomiques sans perte ni addition de gènes.

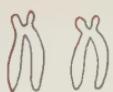
J'AI PERDU L'AVOIR MÉRITÉ	Déficience
J'AI PERDU MON AMI MON AMI SANS L'AVOIR MÉRITÉ	Duplication
J'AI PERDU SNVS IWA NOW L'AVOIR MÉRITÉ	Inversion
J'AI PERDU MON AMI QUE JE LUI REFUSAIS POUR UN BOUQUET DE ROSES SANS L'AVOIR MÉRITÉ	Translocation

FIG. 8.6. — *Divers types d'accidents chromosomiques.*

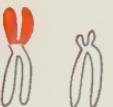
■ **Déficiences et duplications.** — Déficience et duplication correspondent formellement à une monosomie ou une trisomie partielle. On connaît chez l'homme la déficience du bras court du chromosome 5 conduisant au *syndrome du « cri du chat »* qui doit son nom au cri caractéristique des nourrissons affectés. On décèle aussi des déficiences associées à certaines manifestations pathologiques. Ainsi, dans les cellules sanguines de malades atteints de leucémie myéloïde chronique, on retrouve de manière significative un chromosome anormalement petit, appelé chromosome « Philadelphie ». Il s'agit de l'un des deux chromosomes 22 dont la taille a été réduite de moitié à la suite d'une déficience.

■ **Inversions et translocations.** — Les inversions et les translocations correspondent à des situations différentes des précédentes. Dans la mesure où, quantitativement, le génome n'est pas modifié, les individus porteurs expriment généralement un phénotype normal : seul leur caryotype permet de déceler éventuellement ces anomalies.

C'est au niveau de la descendance que se manifestent les conséquences des translocations. Prenons pour exemple la translocation du chromosome 21 sur un des chromosomes du groupe 13 à 15, qui a été observée chez l'homme (fig. 8-7). Chez le parent porteur, lors de la méiose, le chromosome 13-21 s'apparie d'une part avec le chromosome homologue 13 et d'autre part avec le chromosome 21. A l'anaphase il y a une disjonction normale entre les chromosomes 13-21 et 13 qui migrent chacun vers un pôle, mais le chromosome 21 restant peut migrer vers l'un ou l'autre pôle. On obtient ainsi 4 gamètes possibles dont un seul est normal (13 + 21), un est porteur de la translocation (13-21), un est déficient pour le chromosome 21 (13) et un porte un chromosome 21 surnuméraire (13-21 + 21). A la suite de la fécondation impliquant le gamète normal (13 + 21) de l'autre parent, on obtient soit un descendant normal, soit un descendant phénotypiquement normal, mais porteur de la translocation, soit un monosomique 21 (letal), soit un mongolien qui, bien que possédant apparemment 46 chromosomes, possède en fait 3 exemplaires du chromosome 21. Cette situation correspond à un cas de mongolisme héréditaire que seule une observation détaillée du caryotype permet de prévoir.



Caryotype normal



Translocation 13/21

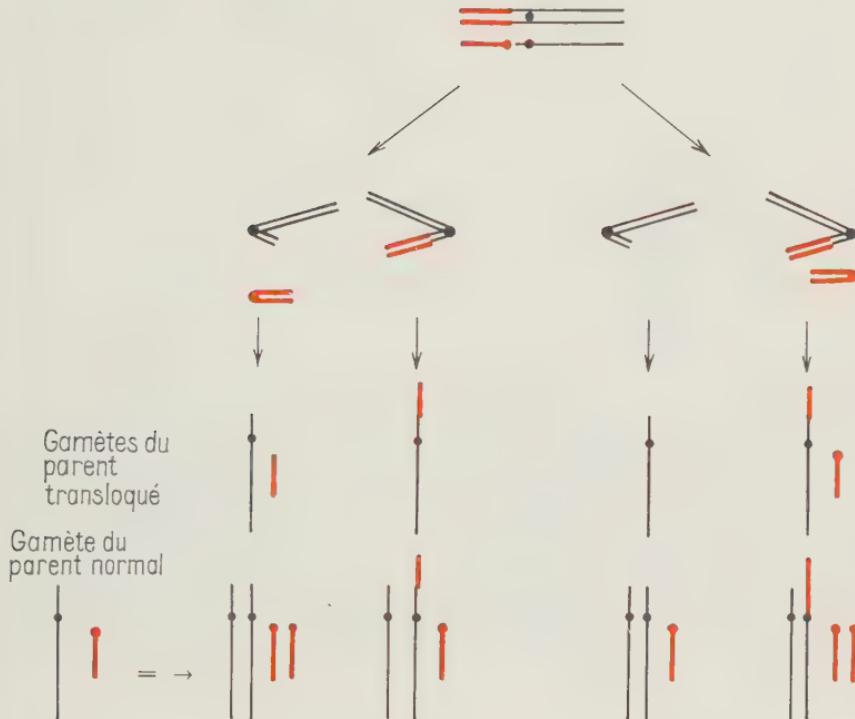


FIG. 8.7. — Translocation 13/21.  
Formation des gamètes et caryotypes possibles des descendants.

Les inversions sont difficiles à déceler chez l'homme; les difficultés techniques de l'observation cytologique des chromosomes en sont responsables. On a pourtant signalé des cas d'inversions péricentriques. Celles-ci englobent la région du centromère qui peut ainsi se trouver déplacé par rapport aux extrémités du chromosome dont la taille respective des bras est alors modifiée. Chez la drosophile, l'existence des chromosomes géants des glandes salivaires (chapitre 4)

A

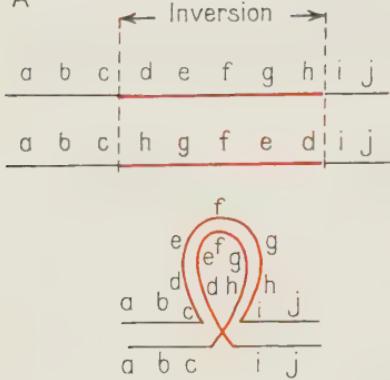


FIG. 8.8. — Boucle consécutive à une inversion. A. — Appariement de deux segments chromosomiques inversés; B. — Boucle d'inversion dans un chromosome géant.

B



permet au contraire de caractériser avec précision l'existence d'inversions. Chaque chromosome géant est en effet constitué des deux chromosomes polytènes homologues étroitement appariés bande à bande sur toute leur longueur. Au niveau de l'inversion, l'appariement homologue est conservé : ceci entraîne la formation d'une boucle caractéristique (fig. 8-8) qui permet de localiser très précisément l'inversion et de connaître sa longueur. On peut aussi créer des souches « homozygotes » pour une inversion donnée et établir leur carte génétique : on constate alors que la séquence des gènes se trouve inversée sur une des portions d'un des groupes de liaison.

## Localisation cytologique des gènes

L'exemple précédent montre comment on peut faire coïncider un chromosome avec un groupe de liaison et, par ce biais, localiser les gènes sur les chromosomes : il est évident que le chromosome présentant l'inversion est le support matériel du groupe de liaison dans lequel l'inversion d'une séquence de gènes est démontrée génétiquement.

■ **Utilisation de déficiences chez la drosophile.** — L'utilisation de déficiences permet, chez la drosophile, de localiser encore plus finement chaque gène sur une toute petite région de chromosome dont la taille avoisine celle d'une « bande » (fig. 8-9). La méthode est la suivante : on induit (en utilisant notamment les rayons X ou  $\gamma$ ) de petites déficiences dans une lignée pure sauvage qui est ensuite croisée par une lignée mutante pour le gène considéré. Si l'allèle mutant est récessif, la présence de l'allèle sauvage conduira normalement à des descendants de type sauvage. Pourtant, chaque fois qu'une déficience chevauchera le gène, l'allèle sauvage sera lui-même inexistant et l'allèle mutant ne sera pas masqué chez le descendant. Celui-ci exprimera alors le phénotype mutant. L'observation cytologi-

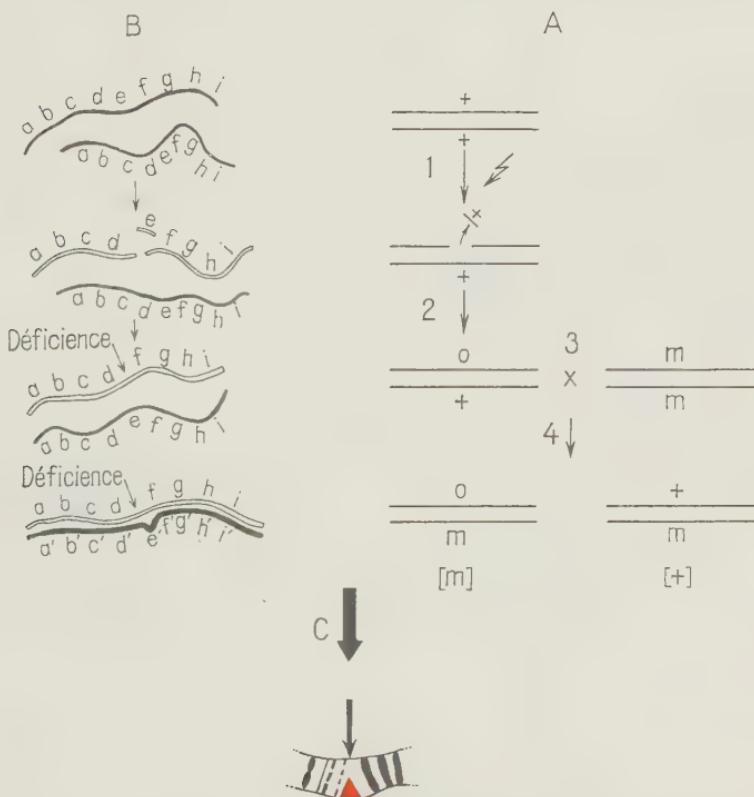


FIG. 8.9. — Localisation cytologique des gènes par induction de petites déficiences. A. — Processus expérimental : 1) irradiation d'une souche sauvage, 2) apparition de la déficience, 3) croisement par la lignée mutante, 4) apparition de descendants de phénotype « mutant ». B. — Symbolisation de la séquence des bandes sur le chromosome. — chromosome de la lignée mutante; — chromosome affecté par la déficience. C. — Image cytologique de la région de la déficience permettant de localiser le gène correspondant.

que de tels « hémizygotes partiels » permet parallèlement de localiser la déficience qui se traduit par une petite boucle sur le chromosome homologue.

■ **Exemple de localisation cytologique des gènes chez l'homme.**

— Chez l'homme, la construction de groupes de liaison par les méthodes génétiques (analyse de pedigree) est extrêmement ardue, en particulier pour les gènes autosomaux. Il existe maintenant d'autres possibilités de localiser les gènes chez l'homme qui permettent de les situer directement sur les chromosomes.

Voici une des méthodes utilisées. Il est possible de cultiver certains types de cellules humaines *in vitro*. Dans des conditions favorables, on peut même obtenir des fusions entre des cellules humaines et des cellules d'espèce différente (par exemple, des cellules de souris).

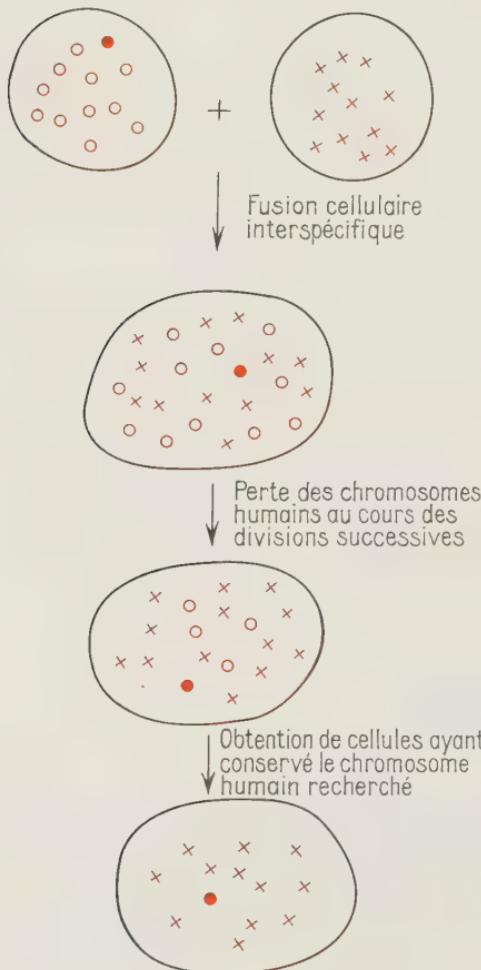


FIG. 8.10. — Technique de localisation cytologique des gènes chez l'homme. × chromosomes de souris, ○ chromosomes humains : le chromosome portant le gène recherché est symbolisé en rouge.

Certaines des lignées cellulaires hybrides ainsi obtenues ont la propriété de perdre graduellement les chromosomes humains au cours des divisions successives (fig. 8-10). Lorsqu'il ne reste qu'un petit nombre de chromosomes, on peut étudier l'existence de produits biochimiques qui n'existent pas dans la lignée cellulaire de souris, et dont l'existence dépend de gènes portés par les chromosomes humains. Le premier cas étudié concernait la localisation d'un gène contrôlant l'existence de l'enzyme « thymidine kinase » chez l'homme. La lignée cellulaire de souris choisie ne fabriquait pas cet enzyme, mais la lignée humaine la possédait. Après quelques divisions cellulaires, certaines cellules hybrides avaient conservé la capacité de produire la thymidine kinase. En comparant le caryotype de ces diverses cellules, on a constaté que, parmi les chromosomes conservés, seul le chromosome 17 était commun à toutes. On a pu ainsi conclure que le gène responsable de l'existence de la thymidine kinase était localisé sur ce chromosome.

L'utilisation des cellules hybrides interspécifiques qui perdent préférentiellement les chromosomes humains permet aussi de révéler des liaisons entre gènes. Dans une cellule hybride, un certain nombre de gènes apportés par le génome humain sont responsables de la présence d'enzymes dont l'activité peut être aisément caractérisée. Même si des gènes homologues — qui contrôlent l'existence d'enzymes présentant la même activité — existent dans le génome de la souris, il est souvent possible de distinguer les enzymes homologues car ils diffèrent plus ou moins par leur structure. On recherche alors dans les sous-clones cellulaires quels sont les enzymes humains qui persistent et ceux qui sont perdus. Si une corrélation totale est observée entre le maintien ou la perte de plusieurs enzymes humaines, cela suggère que les gènes responsables de leur présence sont portés par le même chromosome : la perte de ce chromosome entraîne leur perte simultanée.



# 9

## Structure et définition du gène

Une étude attentive de la transmission des caractères héréditaires à travers la reproduction sexuée, associée à l'examen cytologique, a donc permis de vérifier l'association linéaire des gènes sur les chromosomes. Nous allons maintenant envisager l'organisation du matériel génétique à une échelle plus petite, c'est-à-dire au niveau du gène lui-même. Comment peut-il être défini? Correspond-il réellement à la plus petite unité génétique, ou peut-il être décomposé en sous-unités? Dans ce cas, tout comme la découverte des particules qui composent les atomes a permis de définir leur structure, peut-on obtenir des informations sur la structure du gène? Si oui, est-il possible de comparer les enseignements que nous auront apporté les techniques génétiques avec les informations déjà en notre possession, relatives à la structure chimique de l'ADN?

### Définition opérationnelle du gène chez Neurospora

#### Le gène : unité de fonction

Si on se reporte au chapitre introductif, le gène a alors été défini au travers du changement de caractère qui résulte de sa mutation. On a admis que chaque gène était une unité d'information gouvernant un

caractère donné par l'intermédiaire d'une fonction précise. Lorsque le caractère était modifié, on a supposé que le gène était lui-même modifié et que cette altération avait pour conséquence une modification de la fonction correspondante; cette modification se répercute sur le caractère observé qui est lui-même changé.

On a donc défini le gène comme une *unité de fonction*, c'est-à-dire : la plus petite portion de matériel génétique nécessaire et suffisante à la réalisation d'une fonction donnée.

Pratiquement, pouvons-nous, munis de cette définition, distinguer les gènes au travers de caractères qu'ils contrôlent?

Pour illustrer cette question, nous allons prendre pour exemple les *mutants biochimiques* chez *Neurospora*.

### Mutants biochimiques

*Neurospora* pousse normalement sur un milieu synthétique simple, constitué d'eau, de sels minéraux, de glucose, d'urée et de deux vitamines (la thiamine et la biotine). Ce milieu est appelé milieu minimum (MM), car tous ses éléments sont indispensables à la croissance du champignon. Celui-ci synthétise, à partir de ces éléments, les diverses molécules (par exemple les bases et les acides aminés) qui composeront les macromolécules (acides nucléiques, protéines) spécifiques du champignon, ainsi que divers autres constituants (lipides, sucres, vitamines, etc...).

On peut obtenir de nombreux mutants appelés *mutants biochimiques*, qui sont devenus incapables de croître sur le MM. Ces mutants exigent pour croître, l'addition d'un composé supplémentaire : base, vitamine ou acide aminé. Par exemple, certains mutants exigent pour croître l'addition d'arginine, d'autres l'addition de tryptophane, d'autres encore l'addition d'adénine, etc... Ces mutants sont donc devenus incapables de synthétiser par eux-mêmes soit l'arginine, soit le tryptophane, soit l'adénine et ne peuvent pousser que si ce composé leur est fourni tout prêt dans le milieu de croissance.

Si on compare les mutants de chacune de ces trois catégories : arg<sup>-</sup> (incapables de synthétiser l'arginine), try<sup>-</sup> et ade<sup>-</sup>, il est fort probable qu'ils sont touchés en des gènes distincts : la mutation vers l'exigence en arginine n'entraîne pas l'exigence en tryptophane ou en adénine et réciproquement. Des fonctions différentes sont donc requises pour synthétiser chacun de ces produits.

Si on s'intéresse maintenant aux mutants d'une même catégorie, le problème devient moins simple. Par exemple, comment répondre à la question : tous les mutants (isolés indépendamment) exigeant l'adénine correspondent-ils à l'altération du même gène ou de gènes distincts? Répondre à cette question revient d'abord à répondre à la question : une seule fonction est-elle suffisante, ou bien plusieurs fonctions différentes sont-elles simultanément requises pour synthétiser l'adénine? Dans le second cas, la mutation de l'un *ou* l'autre gène contrôlant une des fonctions intervenant dans la synthèse de

l'adénine aboutira au même changement de caractère : l'exigence en adénine.

Dans le cas de *Neurospora*, la technique suivante permet de répondre à notre question.

### Fabrication d'hétérocaryons : test de complémentation

En mettant en présence deux mycéliums correspondant à deux souches distinctes de *Neurospora*, on peut obtenir une fusion des filaments de chaque souche. On réalise ainsi un *hétérocaryon* dans lequel les deux types de noyaux haploïdes, issus de chaque souche, baignent dans le même cytoplasme (fig. 9-1).



FIG. 9.1. — Formation d'un hétérocaryon.



■ **Hétérocaryons composés de noyaux ade<sup>+</sup> et ade<sup>-</sup>.** — Si on réalise des hétérocaryons entre la souche sauvage poussant sur MM et capable de synthétiser l'adénine (ade<sup>+</sup>) et chaque souche mutante ade<sup>-</sup>, on constate que ces hétérocaryons sont capables de croître sur MM (on peut montrer que les deux types de noyaux persistent et continuent à se multiplier).

L'interprétation la plus simple est que la perte de la fonction due à la mutation dans le gène affecté de la souche ade<sup>-</sup> est compensée par la présence de la fonction correspondante apportée par les noyaux ade<sup>+</sup>.

■ **Hétérocaryons composés de noyaux de 2 souches ade<sup>-</sup>.** — On peut aussi réaliser des hétérocaryons à partir de 2 souches mutantes ade<sup>-</sup> d'origine distincte. Toutes les combinaisons possibles ont été effectuées et, selon les cas, on a trouvé deux réponses possibles :

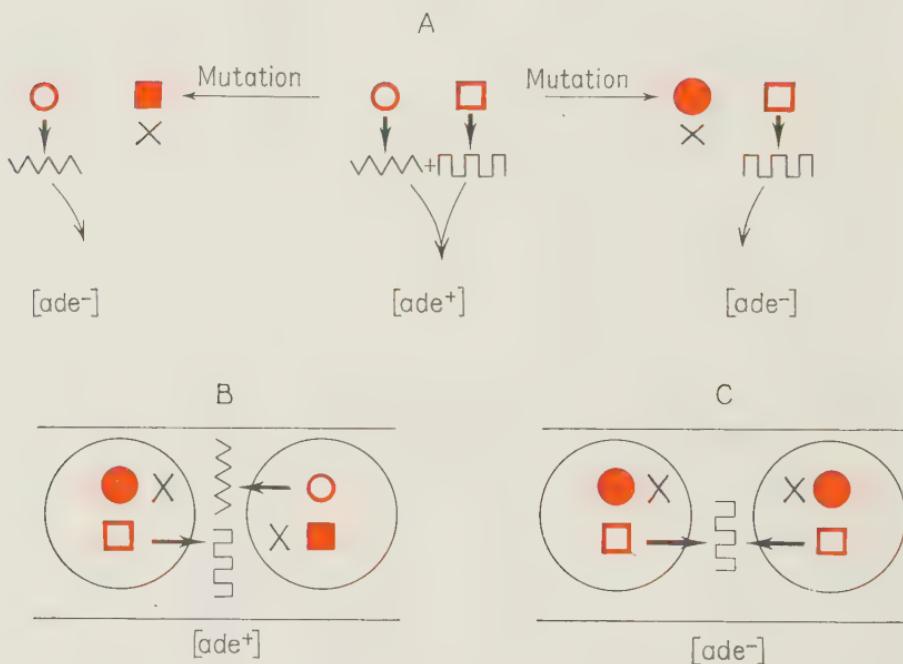


FIG. 9.2. — *Test de complémentation.* A. — On admet que deux gènes distincts contrôlent la synthèse de l'adénine : ○ ade 1; □ ade 2. Wavy line fonction contrôlée par le gène ade 1. Zigzag line fonction contrôlée par le gène ade 2. Les gènes mutés sont symbolisés en rouge : la fonction qu'ils contrôlent n'est alors plus réalisée. B. — Hétérocaryon contenant des noyaux mutés l'un pour le gène ade 1, l'autre pour le gène ade 2 : complémentation. C. — Hétérocaryon contenant des noyaux mutés pour le même gène : absence de complémentation.

- l'hétérocaryon pousse sur MM;
- l'hétérocaryon ne pousse pas sur MM et exige l'adénine.

► INTERPRÉTATION. — Admettons que deux fonctions au moins sont requises simultanément pour que la synthèse d'adénine s'effectue (fig. 9-2).

- *Complémentation.* Envisageons le cas d'un hétérocaryon constitué à partir de 2 souches *ade<sup>-</sup>* mutées l'une pour le gène *ade 1*, l'autre pour le gène *ade 2* :

Chaque noyau fournit la fonction absente dans l'autre. Au total, les deux fonctions nécessaires sont présentes, l'adénine est synthétisée, l'hétérocaryon croît sur MM : il y a *complémentation*.

- *Absence de complémentation.* Envisageons maintenant le cas où les deux souches qui sont à l'origine de l'hétérocaryon sont mutées pour le même gène.

La même fonction étant absente dans les deux noyaux, l'hétérocaryon est incapable de synthétiser l'adénine et ne pousse pas sur MM.

► CONCLUSION. — Cette interprétation permet de dégager une loi simple : lorsque des mutations aboutissent chacune à la perte d'une fonction, l'absence de complémentation entre deux génomes mutants montre que ces mutations intéressent *le même gène*; l'existence de complémentation indique que des *gènes distincts* sont affectés par les mutations. Le test de complémentation est encore appelé : *test fonctionnel d'allélisme*. Ce test n'est évidemment valable que dans la mesure où la présence d'une fonction commandée par un génome compense l'absence de la fonction correspondante résultant de l'autre génome (c'est-à-dire lorsque l'hétérocaryon sauvage + mutant a le phénotype sauvage).

■ *Existence de 9 groupes de complémentation impliqués dans la synthèse de l'adénine chez Neurospora.* — Lorsqu'on réalise les hétérocaryons correspondant à toutes les paires possibles de mutants *ade<sup>-</sup>*, on peut classer ces mutants en 9 groupes distincts : à l'intérieur de chaque groupe, il n'y a pas de complémentation, mais on observe une complémentation chaque fois qu'on met en présence des noyaux de souches appartenant à des groupes distincts.

On peut donc conclure que neuf fonctions sont requises simultanément pour que la synthèse de l'adénine s'effectue : selon notre définition, 9 gènes sont donc impliqués dans la synthèse de l'adénine.

## Localisation des diverses unités fonctionnelles

Chacun des mutants *ade<sup>-</sup>* diffère de la souche sauvage pour un seul gène (l'un ou l'autre des 9 gènes impliqués dans la synthèse de l'adénine). Ceci est facile à vérifier en croisant chaque mutant par la

souche sauvage  $ade^+$  : on obtient moitié de descendants  $ade^+$  et moitié de descendants  $ade^-$  identiques au parent mutant.

On peut localiser, pour chaque souche mutante  $ade^-$ , le gène muté correspondant sur la carte génétique de Neurospora : il suffit pour cela de la croiser par diverses souches mutantes dont le gène muté est déjà localisé.

On aboutit ainsi aux résultats suivants (fig. 9-3) :

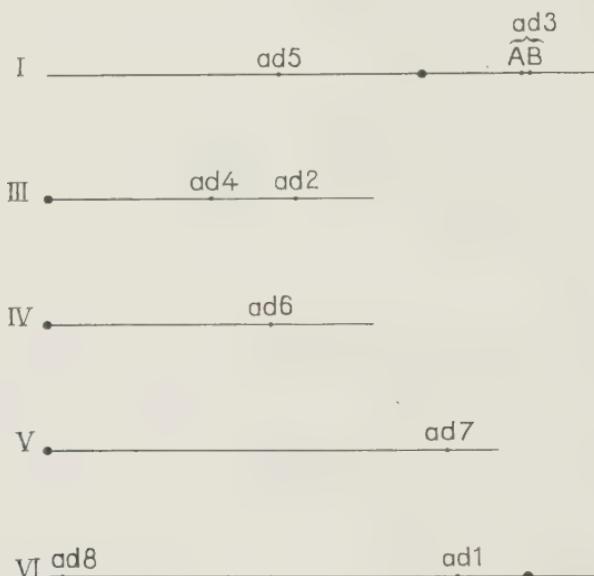


FIG. 9.3.

- Tous les mutants appartenant au même groupe de complémentation ont leur mutation située au même locus : sur le même groupe de liaison, à la même distance du centromère et sur le même bras. Cela n'a rien d'étonnant puisqu'ils correspondent à la mutation du même gène. A chaque locus a été donné un numéro :  $ade$  1,  $ade$  2, etc...

- Le locus des diverses unités fonctionnelles est différent : les gènes correspondant aux 9 groupes de complémentation se répartissent sur 5 groupes de liaison. Lorsque plusieurs gènes sont situés sur le même groupe de liaison (par exemple  $ade$  2 et  $ade$  4, sur le groupe de liaison III), ils sont généralement distants de plusieurs centimorgans. La seule exception concerne deux unités de fonction situées apparemment au même locus :  $ade$  3A et  $ade$  3B. En fait, ces deux gènes sont très proches l'un de l'autre, mais en des locus distincts : lorsqu'on croise un mutant du groupe  $ade$  3A par un mutant du groupe  $ade$  3B, on trouve, selon les combinaisons de mutants, une distance qui varie entre 0,5 et 1,2 centimorgans (dans un tel croisement, pour connaître

le nombre de recombinés, on multiplie par 2 le nombre de descendants *ade<sup>+</sup>*, recombinés sauvages; en effet, les recombinés doubles mutants ne se distinguent pas des parents *ade 3A<sup>-</sup>* et *ade 3B<sup>-</sup>* car ils exigent également l'adénine pour croître).

En conclusion, à chaque gène défini comme unité de fonction, correspond bien sur la carte génétique un locus précis.

## Possibilité de décomposer le gène en sous-unités : existence de recombinations intragéniques

Pour chaque gène : *ade 1*, *ade 2*, *ade 3A*, *ade 3B*, etc..., on a isolé plusieurs mutants appartenant au même groupe de complémentation. Ces mutants résultent-ils de la même altération du gène ou d'altérations distinctes?

■ **Stockage linéaire de l'information.** — Avant de répondre à cette question, essayons de nous représenter le gène. Celui-ci doit correspondre — d'après les évidences biochimiques — à un segment de molécule d'ADN : un chromosome phagique composé de plusieurs dizaines de milliers de paires de nucléotides comporte environ 50 gènes : chaque gène doit donc correspondre en moyenne à une séquence de quelques centaines de paires de nucléotides; sa structure doit être linéaire. On peut le comparer à une bande magnétique sur laquelle est inscrite un message.

Poussons un peu plus loin cette comparaison. Supposons que nous ayons enregistré parallèlement sur deux bandes magnétiques le même morceau de musique : le quatuor en ré mineur de Schubert. Pour une raison quelconque, chacune des deux bandes est inaudible. Considérons les deux possibilités suivantes :

— Des sons parasites affectent d'un bout à l'autre chaque bande. Même si ces parasites sont de nature différente (grésillements sur une bande, siffllements aigus sur l'autre), il n'existe aucune possibilité de reconstituer à partir de ces deux bandes une bande intacte.

— Les parasites sont localisés dans l'*allegro* sur une bande, ils affectent le *scherzo* sur l'autre; on peut alors reconstituer une bande intacte à condition de posséder une paire de ciseaux et un morceau de ruban adhésif : on coupe les deux bandes au même endroit (quelque part pendant l'*andante* qui suit l'*allegro* et précède le *scherzo*) et on recolle les morceaux intacts.

■ **Hypothèses d'altération du gène.** — Ces deux hypothèses s'appliquent aussi bien au gène :

- ou bien celui-ci est altéré dans sa totalité par la mutation;
- ou bien l'altération d'une portion du gène suffit à provoquer la perte ou la modification de la fonction qu'il contrôle. Dans ce cas, l'*unité de mutation* (c'est-à-dire : le plus petit segment de matériel génétique dont l'altération conduit à un changement de caractère) est plus petite que le gène (ou unité de fonction). Dans cette seconde hypothèse, tout comme dans le cas des bandes magnétiques, diverses mutations affectant un même gène peuvent correspondre à des altérations distinctes (fig. 9-4).

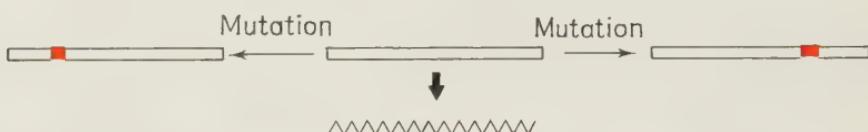


FIG. 9.4. — Des mutations correspondant à des altérations distinctes peuvent affecter le même gène; chacune aboutit à la perte de la fonction gouvernée par le gène.

Si cette seconde hypothèse est exacte, lorsqu'on croise entre eux deux mutants affectés pour le même gène, on doit pouvoir obtenir par recombinaison une restauration du gène intact, à condition que :

- les deux mutations affectent des portions distinctes du gène,
- les *crossing-over* puissent se produire à l'intérieur du gène (fig. 9-5).



FIG. 9.5. — Obtention d'un gène double mutant et d'un gène sauvage par recombinaison entre deux gènes mutés porteurs d'altérations distinctes.

Pour trancher entre ces deux hypothèses, il suffit donc de croiser entre eux des mutants appartenant au même groupe de complémentation. Ceci a été fait, par exemple, entre certains mutants du gène *ade* 3A. On observe alors dans la descendance de très rares recombinants sauvages (entre 0,004 et 0,04 %, selon les paires de mutants utilisées).

■ **Conclusion.** — L'*unité fonctionnelle*, le gène, est donc décomposable en sous-unités, les unités de mutation, susceptibles de se réassocier par recombinaison.

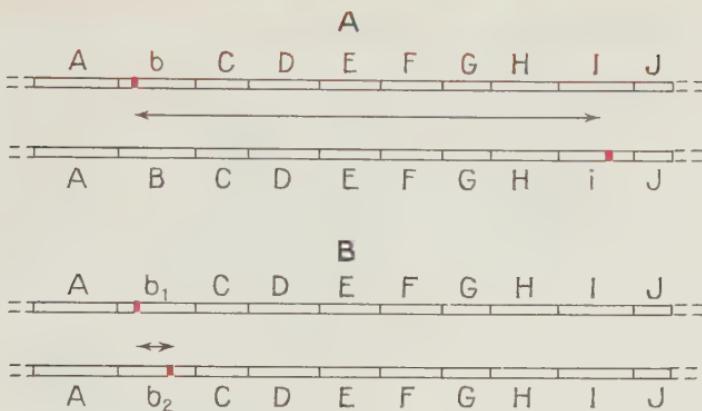


FIG. 9.6 — A. — La séquence linéaire des gènes sur deux chromosomes homologues est schématisée. Chaque gène est nommé par une lettre. Les deux chromosomes diffèrent pour deux gènes  $b_1/B_1$ . La place des crossing-over aboutissant à une recombinaison est indiquée par la flèche. B. — Les deux chromosomes diffèrent pour deux altérations distinctes du même gène :  $b_1/b_2$ .

En plus de l'allèle « sauvage » (dans le cas, par exemple d'*ade* 3A), il existe plusieurs allèles mutants possibles d'un gène. Lorsque les mutants sont capables de redonner le gène sauvage par recombinaison, on dit que les formes correspondantes du gène sont *hétéro-alléliques*. Bien qu'elles puissent conduire au même phénotype muté, les mutations affectent alors des unités de mutation, des sites, distincts du gène considéré.

*Note :* La différence essentielle entre la recombinaison intragénique et la recombinaison entre gènes liés provient de la distance très petite qui sépare les deux altérations lorsque celles-ci intéressent le même gène : dans le bas de la figure 9-6, on visualise une séquence hypothétique de gènes, placés linéairement bout à bout et constituant chaque chromosome.

On comprend ainsi que la recombinaison intragénique soit un événement très rare car, à l'échelle du chromosome, l'intervalle qui sépare les deux altérations est très petit.

## Test d'allélisme chez les organismes diploïdes

Dans le cas des organismes diploïdes, réaliser un test fonctionnel d'allélisme revient à observer le phénotype d'individus dont les noyaux diploïdes possèdent les deux génomes mutés.

## La couleur rouge vif des yeux chez la drosophile

Prenons comme exemple le cas de la couleur des yeux chez la drosophile. Les mouches sauvages sont capables de synthétiser un pigment brun qui, associé à un pigment rouge, donne aux yeux une coloration rouge brique. Plusieurs fonctions sont nécessaires à la synthèse du pigment brun. Ces fonctions sont gouvernées chacune par un gène : cinnabar ( $cn^+$ ), scarlet ( $sc^+$ ), etc... Lorsque l'un ou l'autre de ces gènes est muté, le pigment brun n'est plus synthétisé et les mouches présentent un œil rouge vif.

Les allèles mutés  $cn$  et  $sc$  sont récessifs par rapport à leur allèle sauvage  $cn^+$  et  $sc^+$  : les mouches hétérozygotes  $cn^+/cn$  ou  $sc^+/sc$  présentent un œil rouge brique. Formellement, une mouche hétérozygote pour l'un ou l'autre de ces gènes est tout à fait comparable à un hétérocaryon  $ade^+/ade^-$ , à la différence près que les allèles sauvage et muté se trouvent ici dans le *même noyau diploïde*. La dominance de  $sc^+$  sur  $sc$  (ou de  $cn^+$  sur  $cn$ ) montre que la fonction du gène sauvage pallie l'absence de fonction du gène muté.

Si on effectue un croisement entre une souche pure mutante  $cn$  et une souche pure mutante  $sc$ , on constate que la descendance est de phénotype sauvage à œil rouge vif :

$$\begin{array}{ccc} [\text{œil rouge vif}] & \frac{cn}{cn} \frac{sc^+}{sc^+} \times \frac{cn^+}{cn^+} \frac{sc}{sc} & [\text{œil rouge vif}] \\ & \downarrow & \\ & \frac{cn}{cn^+} \quad \frac{sc^+}{sc} & [\text{œil rouge brique}] \end{array}$$

Même si on ignorait au départ le génotype des deux souches pures, le phénotype des descendants montre qu'elles sont mutées en des gènes distincts.

Supposons maintenant que l'on soit en possession d'une troisième souche mutante pure dont le caractère « œil rouge vif » est récessif. L'étiquette a été perdue et on ignore pour quel gène  $x$  cette souche est mutée. On croise cette souche par la souche pure mutante  $cn$ . Si les descendants présentent un œil rouge brique, on pourra conclure que le gène  $x$  est différent du gène  $cn$ . Si les descendants présentent un œil rouge vif, on conclura au contraire que le gène  $x$  n'est autre que le gène  $cn$  : la même fonction étant absente dans les deux génomes, les descendants sont incapables de synthétiser le pigment brun.

## Le gène *lozenge* : historique du cistron

La notion de gène, unité de fonction constituée de sous-unités de mutation, n'a pas toujours été évidente : elle a surgi il y a une vingtaine d'années. L'étude du gène *lozenge* a constitué une étape importante dans l'évolution du concept du gène.

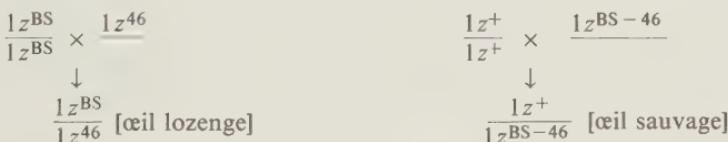
Le gène lozenge ( $lz^+$ ) est situé sur le chromosome X de la drosophile. Plusieurs mutants  $lz$  récessifs sont connus. Les mutants présentent un œil plus petit, plus rugueux et plus clair que les sauvages. On connaît plusieurs souches mutantes  $lz$  d'origine indépendante. Ainsi, les lignées mutantes  $lz^{BS}$  et  $lz^{46}$  qui peuvent être distinguées par un phénotype légèrement différent.

Si on croise une femelle  $lz^{BS}$  par un mâle  $lz^{46}$ , les femelles descendantes  $lz^{BS}/lz^{46}$  présentent un phénotype mutant, indiquant que les deux altérations intéressent le même gène.

Si ces femelles sont croisées par des mâles quelconques, les mâles descendants qui ont reçu un seul chromosome X de leur mère se répartissent ainsi :  $\sim 50\% lz^{BS}$ ,  $\sim 50\% lz^{46}$ ,  $\sim 10^{-3} lz^+$  et  $\sim 10^{-3} lz^{BS-46}$  : il existe dans la descendance de rares mâles sauvages et de rares mâles dont le phénotype mutant plus accentué indique qu'ils portent les deux altérations.

Ces mâles  $lz^{BS-46}$  peuvent être croisés par des femelles sauvages  $lz^+/lz^+$  : on obtient des femelles descendantes de *phénotype sauvage* et dont on sait qu'elles portent un exemplaire du gène lozenge intact et un exemplaire qui porte les deux altérations.

D'un point de vue quantitatif, ces femelles sont équivalentes aux femelles issues du croisement  $lz^{BS} \times lz^{46}$  : les unes et les autres portent les deux altérations. Qualitativement, elles sont pourtant différentes, puisque les unes portent les deux altérations *sur le même génome* (position *cis*) et les autres portent chaque altération *sur un génome différent* (position *trans*) :



Ces résultats sont aisés à interpréter à l'aide des notions maintenant en notre possession (fig. 9-7).

A l'époque où ces résultats ont été obtenus, la nature du matériel génétique était encore inconnue. Le gène était conçu à la fois comme unité de fonction et comme unité de mutation. De plus, on pensait que les recombinations ne pouvaient s'effectuer qu'entre les gènes : pour reprendre notre comparaison (v. p. 153) on croyait être dans la situation de quelqu'un dont les deux bandes magnétiques seraient complètement parasitées et qui, de toute manière, ne posséderait pas de paire de ciseaux.

La découverte de recombinations affectant la même unité de fonction a permis de repenser le problème et de reconSIDérer complètement le concept du gène. La comparaison du phénotype des hétérozygotes en position *cis* et *trans* a été à l'origine du mot *cistron* couramment utilisé pour désigner l'unité génétique de fonction. La signification du mot *cistron* se superpose maintenant à celle du mot *gène* et c'est dans ce sens que ce dernier a été utilisé jusqu'ici dans ce manuel.

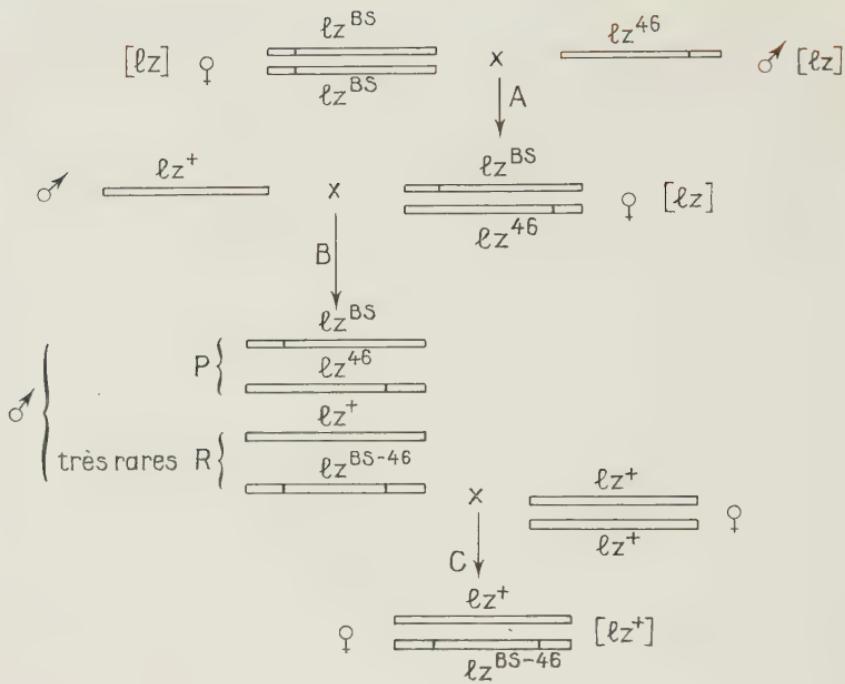


FIG. 9.7. — *Test cis trans et recombinaison intragénique pour le gène lozenge de la drosophile.* A. — *Test trans* : seules les ♀ descendantes sont représentées. B. — *Recombinaison intragénique* : seuls les ♂ descendants (hémizygotes) sont représentés. C. — *Test cis*, seules les ♀ descendantes sont représentées.

## Structure du gène

Si le gène est lui-même composé d'unités de mutation, on est amené à se demander :

- Combien y a-t-il d'unités de mutation distinctes dans un gène?
- Ces unités de mutation peuvent-elles être localisées les unes par rapport aux autres : peut-on faire la *carte* d'un gène, tout comme on fait la carte d'un chromosome?
- Cette carte correspond-elle à une structure linéaire, comme nous le laisse supposer la structure de l'ADN?
- Peut-on faire une relation entre les unités de mutation définies par les méthodes génétiques et les paires de nucléotides qui constituent le segment d'ADN correspondant à chaque gène?

On a pu répondre à ces questions en étudiant des microorganismes tels que les bactériophages. Ces organismes, bien que dépourvus de sexualité, sont susceptibles de recombiner leurs génomes : il suffit d'infecter la même cellule bactérienne avec deux bactériophages portant des mutations distinctes. Au cours de la multiplication des ADN phagiques dans la bactérie hôte, ceux-ci échangent leur matériel génétique. Ces échanges sont formellement comparables aux *crossing-over*. Comme pendant la méiose, la probabilité de ces échanges est d'autant plus grande que les deux altérations sont éloignées sur le chromosome du phage : on peut donc dresser la carte des mutations du bactériophage.

Le test fonctionnel d'allélisme est également réalisable chez les bactériophages : imaginons par exemple deux types de phages mutés, tous les deux incapables de se multiplier dans la cellule hôte dans certaines conditions. En infectant simultanément les mêmes cellules bactériennes par les deux types de phages, on pourra savoir si les deux mutations affectent ou non des cistrons différents, selon que les bactéries seront lysées ou non.

On peut donc appliquer chez les phages des méthodologies équivalentes à celles décrites chez les eucaryotes. En outre, ces organismes présentent de nombreux avantages, puisqu'il suffit de quelques dizaines de minutes pour obtenir de très nombreux descendants dans un volume réduit.

On a ainsi isolé chez le phage T4 plusieurs milliers de mutants indépendants affectant le même gène. Ces mutants ont été croisés entre eux : selon qu'ils donnaient ou non des recombinants, on a pu savoir s'ils affectaient des unités de mutation, des *sites mutationnels* distincts ou non.

On a mis en évidence de cette manière plus de 200 *sites mutationnels* dans le gène étudié.

Les sites mutationnels ont été localisés dans le gène les uns par rapport aux autres : on a obtenu une *carte linéaire du gène*.

Connaissant d'une part la longueur génétique (en unités de recombinaison) du gène et la longueur totale du chromosome phagique d'autre part, on a déterminé à quelle fraction du génome correspondait le gène étudié : environ 0,6 %. Sachant que le nombre total de paires de nucléotides du chromosome avoisinait  $1,5 \times 10^5$ , la longueur du gène a été estimée à quelque 900 paires de nucléotides.

On est arrivé ainsi à la conclusion qu'une unité de mutation correspondait au plus à quelques nucléotides (900/200) : dans la mesure où le nombre d'unités de mutation pourrait avoir été sous-estimé, cela n'excluait pas qu'elles puissent correspondre à un seul nucléotide.

On verra dans le chapitre 11 qu'une approche différente a permis de conclure qu'effectivement, le changement d'une seule paire de nucléotides dans la séquence qui constitue un gène peut aboutir à la perte ou à la modification de la fonction que ce gène contrôle et par conséquent à une mutation décelable par un changement du caractère correspondant.



# 10

## Fonction du gène : contrôle génétique de la structure primaire des protéines

Dans chaque organisme, un grand nombre de gènes assurent chacun une fonction précise : l'ensemble de ces fonctions collabore à la réalisation du phénotype. Un caractère déterminé est lui-même l'aboutissement d'une ou de plusieurs de ces fonctions.

C'est le problème des mécanismes par lesquels un gène assure sa fonction et de la manière dont celle-ci intervient dans la réalisation du caractère qui va être envisagé maintenant.

Certaines informations permettent de préciser cette question. On sait par exemple que chez les microorganismes la synthèse de métabolites tels que les acides aminés s'effectue dans le cytoplasme. Or, ces synthèses sont contrôlées génétiquement, puisqu'on connaît des mutants incapables d'accomplir la synthèse d'un acide aminé. Il doit donc exister au moins un intermédiaire entre le gène nucléaire et la fonction cytoplasmique qu'il contrôle. On est ainsi amené au schéma suivant :

gène → produit impliqué dans la réalisation  
d'une fonction spécifique → caractère.

Dès lors, pour comprendre comment un gène contrôle un caractère, il est nécessaire de répondre à trois questions :

1. Comment la fonction intervient-elle dans la réalisation du caractère ?

2. Quelle est la nature du produit d'activité du gène qui réalise la fonction correspondante?

3. De quelle manière le gène commande-t-il la synthèse de ce produit?

La réponse à la première question nécessite tout d'abord que l'on connaisse un couple de caractères alléliques, puis que l'on puisse faire coïncider cette différence à une différence chimique (par exemple : présence ou absence d'une substance donnée dans l'organisme). Il s'agira alors de déterminer quelle perturbation est responsable de ce changement. Cette perturbation doit elle-même résulter d'une modification de certains facteurs contrôlant le métabolisme. De proche en proche, on peut ainsi espérer remonter jusqu'au produit d'activité du gène et déterminer sa nature, répondant par là même à la seconde question.

## Perturbations génétiques du métabolisme

Tous les caractères contrôlés génétiquement ne se prêtent pas aisément à une telle analyse. La nature de la substance chimique responsable de la forme du nez ou de la présence de poils sur les phalangettes peut ne pas paraître évidente, même pour le biochimiste. De plus, l'expression de nombreux caractères génétiques est probablement déterminée une fois pour toutes à un stade plus ou moins précoce du développement : la fonction correspondante ne joue ensuite plus aucun rôle, ce qui laisse peu de chance à la détermination de la substance en cause. Pourtant, certains traits héréditaires peuvent au contraire être associés à une particularité biochimique aisément définissable. Nous allons prendre ici pour exemple quelques anomalies héréditaires, caractérisées par des phénotypes fort différents, mais dont on a montré qu'elles résultent toutes d'un blocage dans une étape déterminée du métabolisme de la phénylalanine.

■ **Alcaptonurie.** — Il s'agit du premier cas dans lequel on a pu montrer chez l'homme la cause chimique d'un trait héréditaire. Le trait se caractérise par un brunissement des urines à l'air. Avec l'âge, les cartilages des sujets atteints (ailes du nez, articulations) se pigmentent également. Ce trait est sans gravité.

L'analyse chimique de l'urine montre l'existence d'*acide homogentisique*, normalement absent. Cette substance, en oxydant, donne un composé coloré qui est responsable du brunissement des urines. Chez les cellules des individus normaux, on a pu montrer que l'acide homogentisique était bien fabriqué, mais il est immédiatement transformé en une autre substance : l'*acide maleylacétoacétique*. Les

alacaptonuriques sont incapables d'accomplir cette réaction : ceci a pour conséquence l'accumulation d'acide homogentisique et son excréition dans les urines.

La transformation acide homogentisique → acide maleylacétoacétique n'est pas une réaction isolée. Elle s'insère dans une chaîne de réactions successives dont les unes aboutissent à l'acide homogentisique et les autres transforment l'acide maleylacétoacétique en constituants chimiques élémentaires (fig. 10-1). L'acide homogentisique est en effet un produit de dégradation d'un acide aminé : la tyrosine qui est elle-même fabriquée en une seule étape à partir de la phénylalanine, un autre acide aminé. Ces acides aminés sont normalement utilisés comme éléments constitutifs des protéines. Pourtant, lorsqu'ils sont en excès, la cellule les dégrade en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  par une succession de réactions dont chacune correspond à une transformation chimique simple. Ces acides aminés sont aussi le point de départ de la synthèse de pigments bruns : les mélanines.

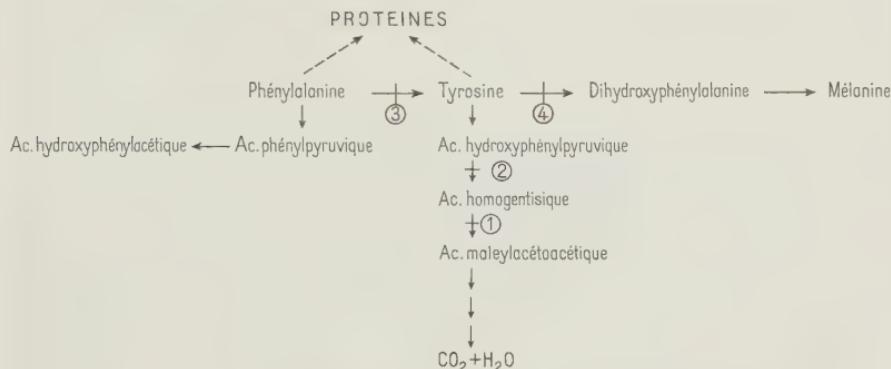


FIG. 10.1. — Métabolisme de la phénylalanine chez l'homme.

Plusieurs autres blocages ont été mis en évidence dans d'autres étapes de cet ensemble de réactions. Chaque fois, ceci aboutit à une tare plus ou moins grave, à déterminisme génétique, l'allèle récessif étant responsable du trait.

■ **Tyrosinose congénitale.** — Cette tare se manifeste généralement assez vite après la naissance, le symptôme principal est une cyrrhose du foie qui évolue progressivement, entraînant une mort plus ou moins rapide. Ce trouble s'accompagne d'autres symptômes tels que le rachitisme. Les urines présentent une quantité anormale d'acide hydroxyphénylpyruvique et de tyrosine. Cette tare résulte du blocage de la réaction (2), dans la figure 10-1. Ce blocage a pour conséquence l'accumulation des précurseurs immédiats.

■ **Phénylcétonurie.** — La phénylcétonurie débute dans les premiers mois qui suivent la naissance par des troubles digestifs et cutanés et des crises de convulsions. Elle aboutit à une profonde arriération mentale malheureusement irréversible. On observe un taux anormalement élevé de phénylalanine dans le sang. Ce composé est excrété dans les urines des malades ainsi que ses dérivés : l'acide phénylcétonique et l'acide hydroxyphénylacétique. Ce trait résulte du blocage de la réaction (3) dans la figure 10-1 : la phénylalanine s'accumule et est transformée en ses dérivés dont la quantité s'élève notablement en jouant un rôle néfaste sur le système nerveux.

■ **Albinisme.** — La tyrosine peut être normalement oxydée, puis polymérisée pour donner les mélanines, responsables de la pigmentation. Le blocage de la première réaction (4), dans la figure 10-1, empêche les réactions suivantes de s'effectuer, faute de substrat : la mélanine n'est pas synthétisée.

Les personnes atteintes de cette tare sont albinos. Leur peau est très claire, le système pileux est blanc ou blond paille, les iris présentent une coloration orangée consécutive à l'absence de pigments. Ces sujets sont particulièrement sensibles à la lumière et aux effets des rayons solaires, aucun écran pigmentaire ne s'opposant à la pénétration des rayons ultraviolets. On n'observe ici aucune excréption anormale de substances dans les urines : ceci n'a rien d'étonnant puisque la tyrosine peut être dégradée normalement.

On connaît une forme d'albinisme moins marquée : une légère pigmentation apparaît avec l'âge; les troubles de la vision sont moins graves. Dans ce deuxième type d'albinisme, l'incubation des cheveux dans une solution de tyrosine aboutit à une pigmentation intense des bulbes pileux (la réaction est négative dans le premier type). Ce deuxième type d'albinisme ne résulte donc pas d'un blocage dans les réactions qui mènent de la tyrosine à la mélanine.

Chacun des deux types d'albinisme est dû à un gène récessif. Il ne s'agit pas du même gène. En effet, des conjoints manifestant un type d'albinisme différent donnent des enfants normaux.

■ **Conclusions.** — Ces quelques exemples montrent que le métabolisme s'effectue séquentiellement par une succession de réactions coordonnées. Ces réactions sont sous le contrôle de gènes spécifiques. La mutation des gènes gouvernant ces réactions aboutit à des blocages en des points variés de la chaîne métabolique. Les conséquences de tels blocages résultent (fig. 10-2) :

- ou bien de l'absence d'un produit final (cas de l'albinisme);
- ou bien de l'accumulation d'un précurseur qui normalement est toujours transformé en d'autres composés (cas de l'alcaptonurie et de la tyrosinose);

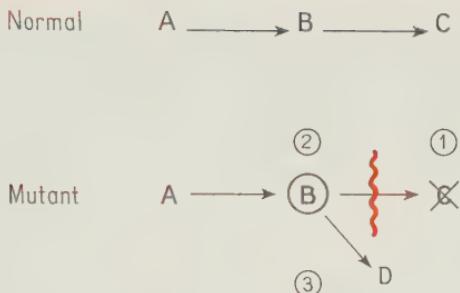


FIG. 10-2. — Conséquences de la déficience d'une réaction enzymatique consécutive à une mutation. (1) Absence du produit final. (2) Accumulation du précurseur. (3) Apparition de produits nouveaux. L'une ou l'autre de ces conséquences peut être responsable de la modification du phénotype.

— ou bien de l'apparition de dérivés du précurseur de l'étape bloquée, lorsque celui-ci se situe au niveau d'un branchement dans la chaîne de réaction (cas de la phénylcétonurie).

Ces diverses conséquences peuvent aboutir à des tares plus ou moins graves.

Ces exemples expliquent également, pour un même génotype, la variabilité souvent sensible du phénotype en fonction de l'environnement. Ainsi, dans la tyrosinose et l'alcaptonurie, l'anomalie est d'autant plus accentuée que l'alimentation est riche en phénylalanine et en tyrosine : ces acides aminés emprunteront d'autant plus la voie de dégradation que leur excès est important; l'accumulation des précurseurs de l'étape bloquée en est d'autant plus élevée et leurs effets (au moins dans le cas de la tyrosinose) d'autant plus nocifs. La même remarque est vraie pour la phénylcétonurie. Si la maladie est décelée assez tôt (par dosage du taux sanguin de phénylalanine), on peut prévenir l'apparition du syndrome qui lui est associé : par un rationnement judicieux des protéines, on évite de fournir au nourrisson de la phénylalanine en excès.

## Relation gène-réaction

### Détermination de la nature de la réaction déficiente

L'analyse génétique présente, chez l'espèce humaine, un certain nombre d'inconvénients. Ainsi, dans le paragraphe précédent, tous les gènes récessifs cités ont une très faible fréquence dans la popu-

lation humaine. Il est donc très rare que des personnes atteintes de la même tare se marient et aient des enfants. Il est par conséquent difficile d'effectuer l'équivalent d'un test fonctionnel d'allélisme et de savoir ainsi s'il existe un ou plusieurs gènes susceptibles de conduire au blocage de la même réaction.

La réponse à une telle question sera plus aisément obtenue par l'étude d'organismes plus maniables. Une telle étude permettra de confirmer et de généraliser les concepts résumés précédemment.

■ **Étapes de la synthèse d'un composé par *Neurospora*.** — Ainsi, le processus par lequel une lignée sauvage du champignon *Neurospora* synthétise un composé à partir des constituants qui lui sont fournis dans le milieu minimum doit souvent inclure un certain nombre d'étapes. Si chaque étape est sous le contrôle d'un gène particulier différent, la mutation de n'importe lequel de ces gènes doit normalement aboutir à l'exigence du même facteur de croissance.

Imaginons par exemple que la synthèse d'un composé Z s'effectue séquentiellement par étapes successives à chacune desquelles correspond une substance intermédiaire, précurseur de Z : W, X, Y, telles que :



Admettons que chaque étape est contrôlée par un gène : A, B, C. La mutation de l'un ou l'autre de ces gènes doit conduire au blocage de la réaction correspondante. Dans chaque cas, les réactions biosynthétiques suivantes ne pourront s'effectuer du fait de l'absence des substrats correspondants (par exemple, la mutation de B → b entraînant le blocage de la réaction X → Y aura pour conséquence l'absence de Y; bien que le gène C soit potentiellement capable de contrôler la réaction Y → Z, celle-ci n'aura pas lieu puisque le substrat Y est absent). Le composé final Z ne sera donc pas synthétisé, comme conséquence de la mutation de A, B ou C.

■ **Plusieurs méthodes permettent de caractériser l'étape déficiente.**

► **TEST TROPHIQUE (OU DE CROISSANCE).** — Dans la mesure où l'on connaît la nature des précurseurs du composé, on peut ajouter au milieu minimum l'un ou l'autre de ces précurseurs. Si (et seulement si) ce précurseur est situé en aval de l'étape bloquée, le mutant pourra à nouveau synthétiser le composé final et sera capable de croître. Ainsi, si le gène B est muté, l'apport du précurseur Y permettra l'accomplissement de la réaction Y → Z. Au contraire, l'apport des précurseurs W ou X, situés en amont de la coupure, n'aura aucun effet.

► **ACCUMULATION DU PRÉCURSEUR.** — On peut aussi chercher à mettre en évidence l'accumulation du précurseur immédiat de l'étape déficiente.

► ESSAI IN VITRO. — Si un extrait acellulaire de la souche sauvage est capable d'effectuer *in vitro* une réaction donnée (par exemple, la transformation de X en Y), on peut, dans les mêmes conditions, mesurer l'activité d'un extrait de la souche mutante dont le blocage est supposé se situer à ce niveau. L'absence de formation du composé Y permettra de confirmer la déficience.

### Chaîne de biosynthèse de l'arginine

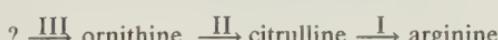
On prendra comme exemple la biosynthèse de l'acide aminé arginine chez *Neurospora*. Les données biochimiques indiquent que deux substances : l'ornithine et la citrulline sont des précurseurs de l'arginine. Chacune des nombreuses souches mutantes isolées peut donc être soumise à un test trophique (*tableau 10-1*). Aucune de ces souches ne pousse sur milieu minimum et toutes se développent sur milieu supplémenté en arginine. Ceci permet de définir l'exigence de ces mutants en arginine. Par contre, on distingue trois classes de mutants selon qu'ils croissent aussi bien en présence d'ornithine que de citrulline, qu'ils ne croissent qu'en présence de citrulline, ou bien encore que l'addition de ces deux précurseurs n'a aucun effet.

**TABLEAU 10-1. — Croissance de diverses souches exigeant l'arginine et de souches sauvages sur milieu minimum additionné de l'un ou l'autre des précurseurs de l'arginine (+ = croissance; - = absence de croissance).**

Type de souche	Milieu minimum	MM + ornithine	MM + citrulline	MM + arginine
sauvage	+	+	+	+
I	-	-	-	+
II	-	-	+	+
III	-	+	+	+

Ces résultats permettent :

- de préciser la séquence selon laquelle les divers précurseurs sont formés;
- de montrer au niveau de quelle transformation s'effectue le blocage pour chacune des classes de mutants :



On constate en particulier que lorsqu'un mutant se développe en présence d'ornithine, il se développe toujours en présence de citrul-

line, mais que la réciproque n'est jamais vraie. Ceci confirme l'existence d'une séquence linéaire de réactions successives.

La première classe de mutants se divise elle-même en deux groupes : on observe dans le groupe A l'accumulation de citrulline alors que dans le groupe B, c'est un nouveau composé : l'arginino-succinate qui s'accumule. On a montré biochimiquement que les dernières étapes de la biosynthèse de l'arginine suivent la voie : citrulline → arginino-succinate → arginine. Les groupes A et B sont respectivement bloqués dans l'avant-dernière et la dernière étape.

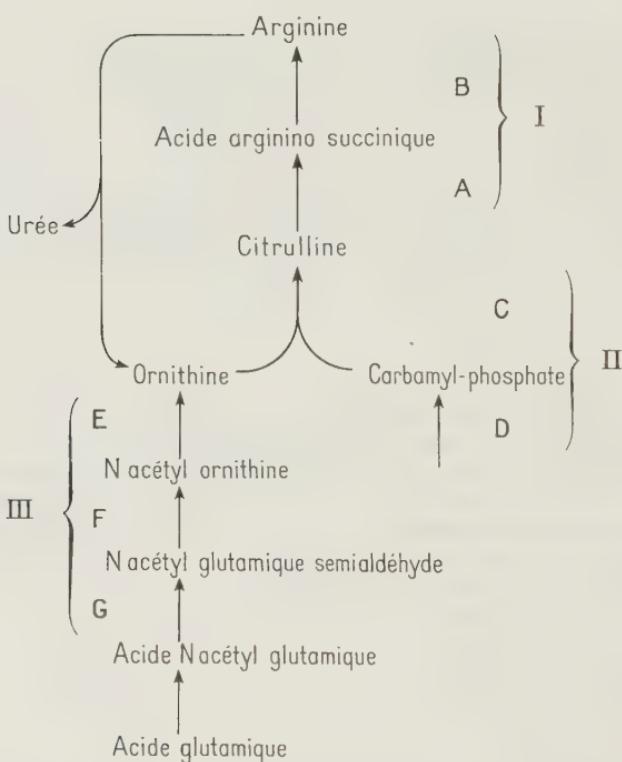


FIG. 10.3. — Chaîne de biosynthèse de l'arginine.

La seconde classe de mutants se divise également en deux groupes : la citrulline est synthétisée par condensation de l'ornithine et d'un autre composé : le carbamyl-phosphate; des extraits acellulaires du groupe C sont incapables d'effectuer cette réaction alors que ceux du groupe D en sont capables. Les mutants de ce dernier groupe sont en fait déficients en carbamyl-phosphate dont ils ne peuvent accomplir la synthèse (fig. 10-3).

La troisième classe se divise en plusieurs groupes dont chacun correspond à une étape bloquée différente dans la biosynthèse de

l'ornithine à partir de l'acide glutamique, précurseur lointain de l'arginine.

Par le test fonctionnel d'allélisme, on peut montrer que les mutants du même groupe sont affectés pour le même gène. Les mutants de groupes différents se complémentent : ils affectent des gènes différents. Ainsi, chaque réaction apparaît contrôlée par un gène spécifique. Cette conclusion peut être généralisée avec une assez bonne approximation à l'ensemble du métabolisme : chaque étape est génétiquement et spécifiquement contrôlée. La séquence des réactions métaboliques manifeste en outre une remarquable similitude chez tous les organismes. Ceci est bien illustré par le fait que le métabolisme de l'arginine chez l'homme est remarquablement conforme — étape pour étape — à celui que nous venons de décrire chez *Neurospora*. Plusieurs maladies présentant en commun des symptômes de convulsions et une arriération mentale ont pour origine la déficience d'une des réactions aboutissant à l'arginine (elle-même transformée en urée et en ornithine : cf. fig. 10-3). Selon la réaction en cause, des anomalies spécifiques apparaissent et l'excrétion éventuelle du précurseur dans les urines est observée.

### Chaînes branchées et parallèles

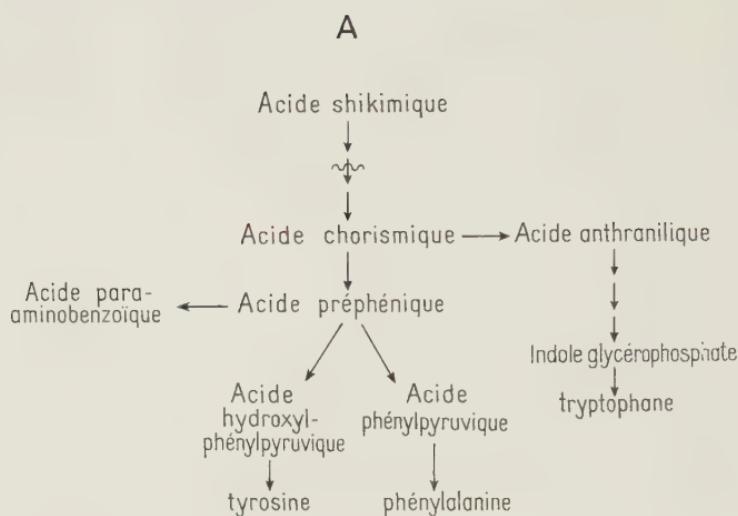
Certaines mutations aboutissent à des besoins nutritionnels multiples. Il y a à cela au moins deux causes possibles :

1. Certains métabolites servent de précurseur commun à plusieurs composés finaux. Il en est ainsi, par exemple, de l'acide chorismique à partir duquel sont synthétisés le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine. Un blocage situé en amont de ce métabolite aboutira à une triple exigence (fig. 10-4, A).

2. Dans le cas de la valine et de l'isoleucine, chacune des dernières étapes de la biosynthèse de ces deux acides aminés est contrôlée par un même gène (fig. 10-4, B). Ceci constitue une exception apparente à la relation « un gène : une réaction ». On constate pourtant que ces étapes sont chimiquement très similaires deux à deux; ainsi, l'antépénultième réaction correspond à la réduction de chacun des deux précurseurs; l'avant-dernière réaction correspond à la déshydratation des produits de la réaction précédente.

### Relation gène-protéine

Maintenant que la notion assez abstraite d'une fonction contrôlée par le gène est éclaircie : il s'agit, dans les exemples précédents, d'une réaction métabolique précise, la question se pose de savoir quel est le



B

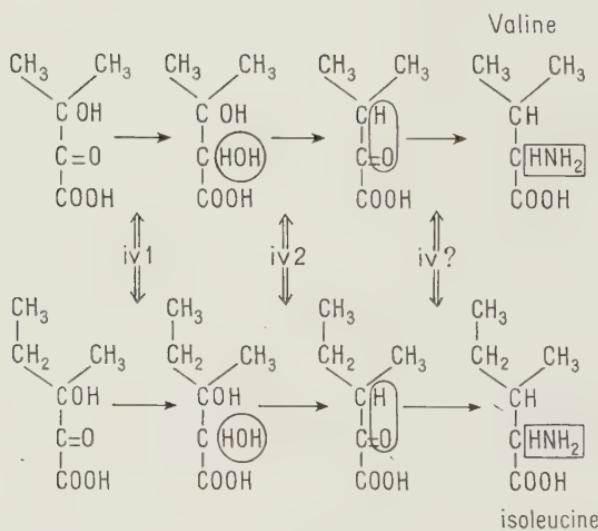


Fig. 10.4. — Exemples de blocages aboutissant à des exigences multiples. A. — Biosynthèse du tryptophane, de la phénylalanine, de la tyrosine et de l'acide para-aminobenzoïque. Tous ces composés ont un précurseur commun : l'acide chorismique. B. — Biosynthèse de la valine et de l'isoleucine : dernières réactions.

produit d'activité du gène qui est responsable de son rôle dans le cytoplasme.

Dans la mesure où le changement de phénotype consécutif à une mutation résulte d'une modification déterminée du métabolisme, la réponse à cette question apparaît plus aisée. En effet, on sait que la plupart des réactions métaboliques sont catalysées par des enzymes spécifiques. En l'absence de l'enzyme correspondant, la réaction ne peut pas s'effectuer spontanément aux températures organiques. Ainsi, dans tous les exemples cités dans ce chapitre, la nature de l'enzyme responsable de chacune des réactions métaboliques est connue. Ces enzymes peuvent généralement être considérablement purifiés *in vitro* sur le critère de leur activité : on recherche après chaque purification la fraction qui conserve l'activité considérée. L'absence d'une réaction *in vitro* dans l'extrait acellulaire d'un organisme mutant est donc une preuve que la mutation a conduit d'une manière ou d'une autre à l'absence d'activité de l'enzyme correspondant.

Quelle est la cause de l'absence d'activité consécutive à la mutation ? Résulte-t-elle de l'absence de l'enzyme ? Résulte-t-elle d'une altération de son activité due à une action indirecte, ou bien résulte-t-elle d'une altération de la structure intrinsèque de l'enzyme ? Si on peut superposer à l'altération d'un gène une altération de l'enzyme correspondant, ceci doit signifier que l'enzyme est un produit issu directement de l'activité du gène et dont la structure est étroitement dépendante de ce dernier.

Plusieurs arguments ont permis de confirmer cette interprétation. Nous allons citer tout d'abord certaines observations qui montrent que la perte d'activité enzymatique n'est pas due à l'absence de l'enzyme, mais à sa modification. Nous verrons ensuite de manière plus détaillée quelle est la nature de l'altération enzymatique consécutive à la mutation du gène en prenant pour exemple l'hémoglobine humaine.

### L'enzyme inactif existe toujours après la mutation

La mise en évidence d'un enzyme qui n'est plus fonctionnel n'est pas évidente *a priori* puisque c'est précisément par son activité catalytique spécifique qu'un enzyme est normalement décelé et purifié. Nous allons pourtant citer quelques-uns des cas où ce dépistage est possible; en bref, il s'agit des trois situations suivantes :

1. La mutation conduit à un enzyme toujours actif, mais les conditions physiques propices à son activité ne sont plus les mêmes.
2. L'enzyme catalyse normalement plusieurs réactions distinctes (ce cas particulier se rencontre parfois). La mutation altère une activité catalytique, mais laisse l'autre intacte.

3. A la suite de la mutation, l'enzyme, bien qu'ayant perdu son activité, conserve les propriétés immunologiques de l'enzyme normal.

■ ***Un exemple de la première situation se rencontre pour la tyrosinase chez Neurospora.*** — Cet enzyme est celui dont la perte d'activité aboutit chez l'homme à l'albinisme. Il catalyse chez *Neurospora* la même réaction : tyrosine → dihydroxyphénylalanine. On connaît deux lignées de cet organisme qui diffèrent par leur tyrosinase. Alors que l'enzyme extrait de la lignée sauvage accomplit normalement la réaction à 60 °C, celui de l'autre lignée devient inactif à cette température. Ce phénomène persiste après une purification poussée de la tyrosinase, ce qui montre que la différence résulte d'une différence de structure de l'enzyme lui-même et non d'un effet indirect dû à une autre substance. Or, ces deux lignées diffèrent pour un gène : le gène *T*. L'allèle *T<sup>+</sup>* conduit à la tyrosinase thermorésistante et l'allèle *T<sup>s</sup>* à la tyrosinase thermolabile.

■ ***Le cas de la tryptophane synthétase, également chez Neurospora, illustre bien les deux dernières situations.*** — Cet enzyme commande la dernière réaction de biosynthèse du tryptophane à partir de l'indolglycérolphosphate. Il est en outre capable d'accomplir *in vitro* les réactions 2 et 3 (fig. 10-5). La tryptophane synthétase

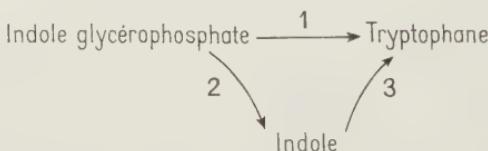


FIG. 10.5. — Réactions catalysées par la tryptophane synthétase.

(Tstase) peut être purifiée et conserve toutes ses activités. En outre, si un extrait purifié de cet enzyme est injecté à un lapin, il se comporte comme antigène et induit la formation d'anticorps spécifiques : le sérum du lapin mis en présence de l'enzyme précipitera celui-ci en combinant ses anticorps au site antigénique de la Tstase (fig. 10-6) : on ne retrouvera plus d'activité enzymatique dans le surnageant.

De nombreux mutants déficients dans la dernière étape de synthèse du tryptophane et tous allèles du gène *tryp3* ont été étudiés pour leurs propriétés antigéniques (fig. 10-6). Un extrait de souche mutante est mélangé au sérum contenant l'anticorps. Le surnageant de ce mélange est ensuite mis en présence de Tstase sauvage, puis le surnageant est à nouveau isolé et on mesure son activité enzymatique. Si lors du premier mélange les anticorps ont été précipités, le surnageant ne contenait plus d'anticorps et l'activité de la Tstase sauvage reste intacte : ceci indique que l'extrait de la souche mutante possédait une

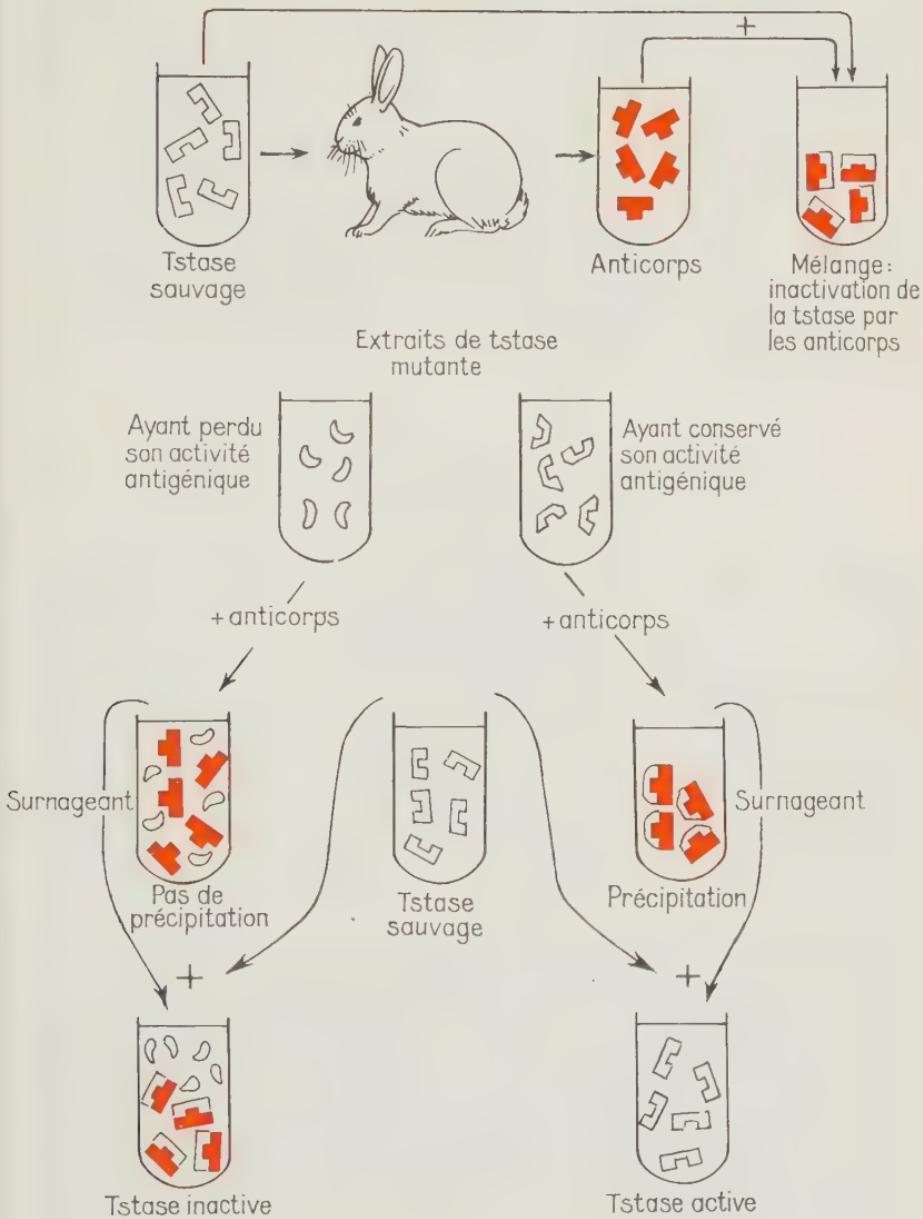


FIG. 10.6. — Mise en évidence de Tstase mutante ayant conservé ses propriétés antigéniques.

Tstase inactive, mais qui avait conservé ses propriétés antigéniques. Ce type de test permet de déceler la présence d'une Tstase altérée dans la plupart des souches mutantes. Selon ces souches, on constate que l'enzyme est encore capable d'effectuer soit la réaction 2 (la souche mutante accumule alors de l'indole), soit la réaction 3. Dans quelques cas, la perte d'activité enzymatique est complète pour les trois réactions.

Ainsi, dans la plupart des cas, la mutation d'un gène n'entraîne pas une disparition de l'enzyme correspondant, mais une modification de sa structure qui altère ses propriétés. Un même gène peut subir des mutations variées qui peuvent aboutir à des modifications distinctes de l'enzyme. Ces faits indiquent que la structure de l'enzyme doit être directement gouvernée par le gène. On va voir maintenant quelle est la nature chimique des altérations de l'enzyme consécutives à la mutation du gène qui gouverne sa structure.

### Nature chimique des altérations héréditaires des protéines

■ ***Nature protéique des enzymes.*** — Tous les enzymes sont de nature protéique. Un enzyme comporte au moins une chaîne polypeptidique dont la séquence d'acides aminés est spécifique. Cette chaîne possède une structure tertiaire : elle est repliée sur elle-même dans une configuration qui joue un rôle essentiel dans ses diverses propriétés catalytiques et antigéniques. Souvent, l'enzyme est composé de plusieurs chaînes polypeptidiques, en général identiques, qui sont associées entre elles par des liaisons chimiques faibles : ces associations forment la structure quaternaire de l'enzyme (dimères, tétramères de chaînes polypeptidiques, etc..., fig. 10-7). A la partie protéique de l'enzyme, l'*apoenzyme*, peut être associé un composé non protéique appelé *coenzyme*. C'est le composant protéique des enzymes dont la structure est directement contrôlée par le gène responsable.

■ ***Généralisation du contrôle des gènes à la structure de l'ensemble des protéines.*** — Le contrôle des gènes s'effectue sur la structure de l'ensemble des protéines. Ainsi, on connaît chez les virus des mutants incapables de former des virions matures : ces déficiences résultent de l'altération de l'une ou l'autre des protéines impliquées dans l'assemblage de l'enveloppe virale (par exemple, tête ou queue des phages). Il s'agit là de protéines de structure sans activité enzymatique : à chaque protéine de structure correspond un gène déterminé du virus.

L'hémoglobine est un autre exemple : elle ne catalyse pas une réaction de transformation, mais elle est capable de s'associer avec l'oxygène ou le dioxyde de carbone et d'échanger ces molécules au cours des échanges respiratoires. L'étude des hémoglobines a joué un rôle très important dans la clarification de la relation gène-protéine.

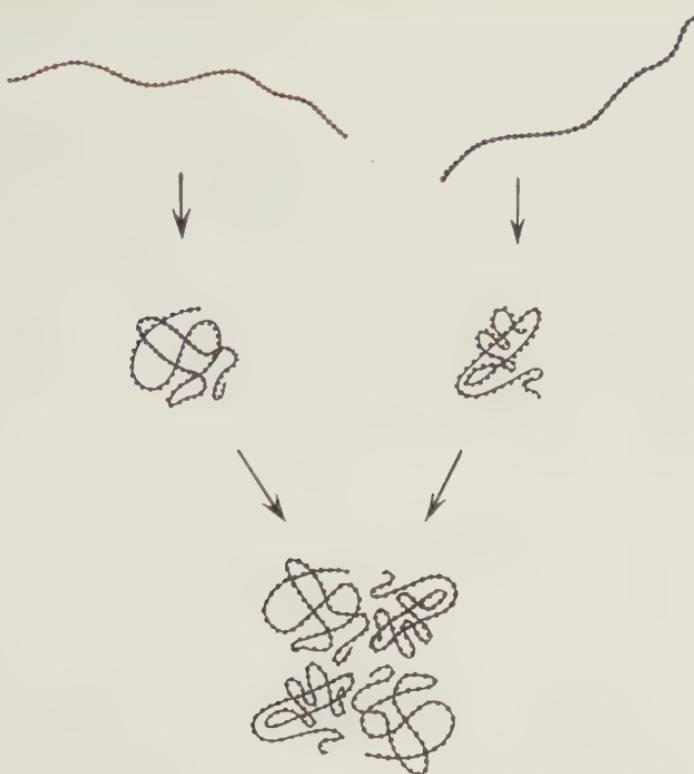


FIG. 10.7. — *Structure tertiaire et quaternaire des protéines.* Dans cet exemple, la protéine est un tétramère composé de deux paires de chaînes polypeptidiques différentes.

■ **Étude des hémoglobines responsables de l'anémie falciforme.** — L'hémoglobine de l'homme adulte correspond à un tétramère formé de deux chaînes polypeptidiques identiques appelées chaînes  $\alpha$  et deux chaînes identiques  $\beta$ . Chaque chaîne est elle-même associée à un composant non protéique : l'hème. L'anémie falciforme (cf. chapitre 13) résulte d'une anomalie de l'hémoglobine. On peut mettre en évidence une différence entre l'hémoglobine HbS d'un sujet homozygote pour l'anémie falciforme et celle (HbA) d'un sujet homozygote normal. En effet, si on place un extrait d'hémoglobine dans un champ électrique, l'hémoglobine HbA migre vers le pôle positif, alors que l'hémoglobine HbS migre vers le pôle négatif. Si on étudie soit un mélange de ces deux hémoglobines, soit un extrait d'hémoglobines d'un hétérozygote, on obtient les mêmes résultats en électrophorèse : on observe deux pics distincts correspondant aux hémoglobines HbA et HbS (fig. 10-8). Chez l'hétérozygote, les deux gènes muté et sauvage fonctionnent tous deux, gouvernant respectivement la synthèse des hémoglobines HbS et HbA.

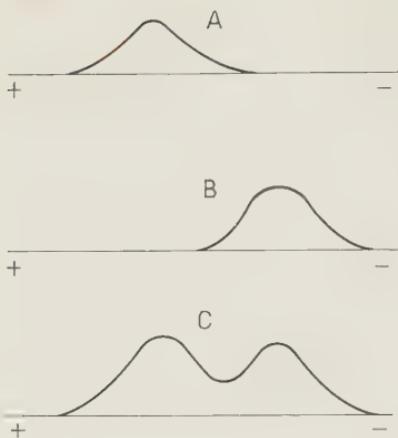


FIG. 10.8. — Électrophorèse d'hémoglobines de sujets sains (A), homozygotes (B) et hétérozygotes (C) pour l'anémie falciforme.

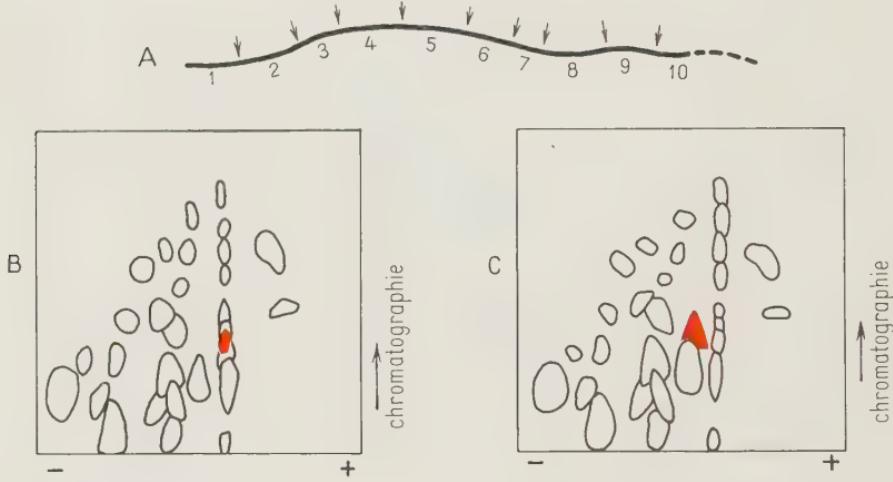


FIG. 10.9. — Méthode du « Finger prints ». A. — La chaîne polypeptidique est symbolisée par une ligne. Les flèches indiquent les sites spécifiques de rupture de la chaîne par la protéase; on obtient ainsi plusieurs peptides numérotés de 1 à x. B. — Chaîne polypeptidique  $\beta$  normale : le point indique l'endroit où sont placés les peptides avant l'analyse. La chromatographie conduit à une séparation verticale, l'électrophorèse à une séparation horizontale : chaque peptide migre en un lieu spécifique de la surface. C. — Chaîne polypeptidique  $\beta$  de l'anémie falciforme : un peptide migre à une place différente (en rouge). (D'après INGRAM.)

Il est possible de pousser plus loin l'analyse : on sépare les diverses chaînes des tétramères et on isole les chaînes  $\alpha$  et les chaînes  $\beta$ . La composition en acides aminés de ces chaînes est déterminée par la

méthode des empreintes (« finger prints »). Dans un premier temps, les chaînes polypeptidiques sont coupées en peptides de petite taille par une protéase : la trypsine qui rompt les chaînes à des endroits déterminés (fig. 10-9). Les divers peptides sont ensuite séparés en combinant la chromatographie sur papier et l'électrophorèse : on obtient ainsi des taches distinctes correspondant chacune à un type de peptide. On observe les mêmes résultats pour les hémoglobines HbA et HbS en ce qui concerne les chaînes  $\alpha$ . Par contre, un des peptides de la chaîne  $\beta$  ne migre pas au même endroit : la différence entre les hémoglobines est donc due à une différence dans la composition de ce peptide particulier. De fait, la séquence des acides aminés de ce peptide n'est pas la même : l'un des acides aminés de l'hémoglobine HbA, l'acide glutamique, est remplacé par la valine dans l'hémoglobine HbS.

On connaît diverses autres maladies héréditaires dues à une anomalie de l'hémoglobine (fig. 10-10). Dans chaque cas, on a déterminé

chaîne $\alpha$								
1	2	16	57	58	68	116	141	
Val	Leu	Lys	Gly	His	Asp	Glu	Arg	
Hb I			Asp					
Hb Norfolk				Asp				
Hb M Boston					Tyr			
Hb b Philadelphie						Lys		
Hb O Indonésie							Lys	

chaîne $\beta$								
1	2	3	6	26	67	121	146	
Val	His	Leu	Glu	Glu	Val	Glu	His	
Hb S			Val					
Hb C				Lys				
Hb E					Lys			
Hb M Milwaukee						Glu		
Hb O Arabia							Lys	

FIG 10.10. — *Quelques hémoglobines humaines anormales.* Pour chaque chaîne ne sont représentés que les acides aminés qui subissent un remplacement dans la forme mutante, ainsi que les premiers et derniers acides aminés : le numéro indique l'ordre de ces acides aminés dans la chaîne polypeptidique. Chaque hémoglobine anormale est affectée d'une lettre ainsi que du nom éventuel du lieu où elle a été trouvée : dans chaque cas, on indique le nom de l'acide aminé qui remplace celui présent dans la chaîne normale.

une différence d'un seul acide aminé entre l'hémoglobine normale et l'hémoglobine mutante. Elle concerne selon les cas la chaîne  $\alpha$  ou la chaîne  $\beta$ .

L'étude génétique des diverses hémoglobinopathies a montré par ailleurs que deux gènes sont impliqués. Il est remarquable que les anomalies de la chaîne  $\alpha$  correspondent à la mutation d'un de ces gènes; celles de la chaîne  $\beta$  correspondent à l'autre.

Cette dernière remarque entraîne une restriction à la relation gène-protéine énoncée plus haut : dans le cas où une protéine est constituée de chaînes polypeptidiques différentes, sa structure est contrôlée par plusieurs gènes; chaque gène correspondant, en fait, à une chaîne polypeptidique. La mutation du gène entraîne une modification de la chaîne polypeptidique qui correspond le plus souvent au remplacement d'un des nombreux acides aminés qui le composent par un acide aminé différent. Ce remplacement peut modifier suffisamment la configuration de la protéine pour altérer considérablement ses propriétés.

## Colinéarité gène-chaîne polypeptidique

On a vu dans le chapitre 9 qu'il existait dans un même gène un grand nombre d'unités de mutation distinctes. L'étude des hémoglobines montre également que chacune des diverses mutations pouvant affecter un gène aboutit à des altérations ponctuelles dans la chaîne polypeptidique correspondante. Il est tentant de penser que ces deux structures : la chaîne de nucléotides qui constitue le gène et la chaîne d'acides aminés qui constitue le polypeptide se correspondent point à point, c'est-à-dire qu'elles sont colinéaires.

Cette colinéarité a été démontrée dans plusieurs cas. Le principe est le suivant :

1. On établit la carte du gène, c'est-à-dire la séquence des diverses altérations qui peuvent modifier sa structure par mutation. Cette carte peut être établie indirectement, par la méthode génétique ou bien directement par la détermination de la séquence des nucléotides du gène. Cette dernière méthode est couramment utilisée depuis que les technologies de transfert de gène permettent d'isoler en grande quantité le segment d'ADN correspondant à un gène.

2. Par une étude du type de celle illustrée chez l'hémoglobine, on établit parallèlement la carte des altérations (changements d'acide aminé) correspondant à chaque mutation sur la chaîne polypeptidique.

3. On compare les deux séquences ainsi obtenues.

Nous prendrons pour exemple l'étude effectuée sur l'iso-1 cytochrome *c* chez la levure. Cet enzyme intervient dans les réactions de la chaîne respiratoire. Les mutants déficients pour cet enzyme sont incapables d'accomplir ce processus métabolique.

Les résultats sont schématisés dans la figure 10-11. On constate que la carte du gène gouvernant la structure de l'iso-1 cytochrome *c* se superpose exactement à la séquence des altérations correspondantes sur cette protéine.



FIG. 10.11. — *Colinéarité entre le gène cy 1 et l'isocytochrome-1 chez la levure : Saccharomyces cerevisiae.* (D'après SHERMAN.)

La ligne supérieure figure le gène *cy 1* avec diverses mutations connues, consécutives à des mutations et ordonnées linéairement. La ligne inférieure représente la séquence des acides aminés dans la protéine : à chaque altération du gène correspond le changement d'un acide aminé (indiqué par une flèche).

Ainsi, la séquence des nucléotides constituant le gène doit être très exactement traduite en une séquence correspondante d'acides aminés dans la protéine dont il gouverne la synthèse.



# 11

## Fonction du gène : biosynthèse des protéines et code génétique

Il reste maintenant à répondre à la troisième question de l'introduction du chapitre précédent : comment les gènes gouvernent-ils la synthèse des protéines ?

Cette question en recèle en fait deux autres :

1. Où et comment s'accomplit la synthèse des protéines ?
2. Quel « code » commande la correspondance entre la séquence de nucléotides et la séquence d'acides aminés ?

### La synthèse des protéines ne se fait pas au niveau de l'ADN du gène

La réponse la plus simple à la première question serait que les protéines sont synthétisées directement au niveau du gène : l'ADN servirait de « moule », les acides aminés venant se placer en face des groupes de nucléotides correspondants. Plusieurs arguments montrent qu'en fait les protéines sont fabriquées dans le cytoplasme et en absence d'ADN. En voici quelques-uns :

■ ***Localisation des synthèses protéiques par marquage radioactif.*** — En utilisant des acides aminés radioactifs comme précurseurs, on peut situer, dans des expériences d'histoautoradiographie, le lieu de synthèse des protéines : celle-ci s'effectue dans le cytoplasme, dans les régions riches en ribosomes, en particulier le réticulum endoplasmique granulaire.

■ ***Synthèses protéiques dans les cellules énucléées.*** — Après l'ablation de son noyau, une cellule périclète et ne se divise plus. Elle finit par mourir plus ou moins rapidement. En l'absence du matériel génétique, une cellule est normalement incapable de survivre longtemps, car les informations nécessaires à la formation des protéines (qui dirigent elles-mêmes le métabolisme et l'architecture cellulaires) sont absentes. Néanmoins, la fabrication des protéines ne cesse pas instantanément. Ainsi, chez l'amibe, elle persiste pendant quelques heures. Chez l'acétabulaire, une algue unicellulaire géante, facilement manipulable, la synthèse se poursuit encore pendant plusieurs jours.

■ ***Élaboration des hémoglobines dans les réticulocytes.*** — Certaines cellules sont naturellement dépourvues de noyau. C'est le cas des globules rouges dont la durée de vie est de plusieurs mois. Ils dérivent des *érythrocytes* nucléés qui se divisent très activement. Ces cellules expulsent ensuite leur noyau pour donner les *réticulocytes*. Ces derniers dépourvus de noyau ne se divisent plus, mais ils continuent à synthétiser une grande quantité d'hémoglobines. Les réticulocytes deviennent ensuite les globules rouges dont le seul rôle est de conserver l'hémoglobine.

Ces diverses observations montrent que la synthèse des protéines ne se fait pas directement au niveau de l'ADN nucléaire. Elles suggèrent l'existence d'un intermédiaire entre le gène et la protéine. Cet intermédiaire emporterait dans le cytoplasme le message génétique nécessaire à l'ordonnancement correct des acides aminés.

## Nature chimique de l'intermédiaire

Trois qualités sont requises pour la substance qui sert d'intermédiaire entre l'ADN et les protéines. Si cette substance emporte le message inscrit dans le gène, elle doit pouvoir le lire d'une manière ou d'une autre et donc se constituer à son contact, dans la chromatine nucléaire. Elle doit ensuite migrer dans le cytoplasme. Son arrivée dans le cytoplasme doit enfin pouvoir y déclencher la synthèse protéique.

Les expériences suivantes montrent qu'un acide nucléique : l'ARN répond à ces trois conditions.

On place des amibes dans un milieu contenant l'isotope radioactif  $^{32}\text{P}$  du phosphore. Les cellules sont ensuite fixées, puis analysées par autoradiographie : on observe l'apparition de radioactivité dans le noyau. Un lot témoin est traité, préalablement à l'autoradiographie, par la ribonucléase, cet enzyme dégrade spécifiquement l'ARN ; on n'observe pas de radioactivité dans ce contrôle. La radioactivité indique donc la présence d'ARN.

Afin de confirmer la nature nucléaire du site de synthèse de l'ARN et de démontrer sa migration dans le cytoplasme, le noyau de cellules ayant subi un passage en milieu  $^{32}\text{P}$  est prélevé à l'aide d'une micropipette, puis injecté à deux lots de cellules non traitées (fig. 11-1).

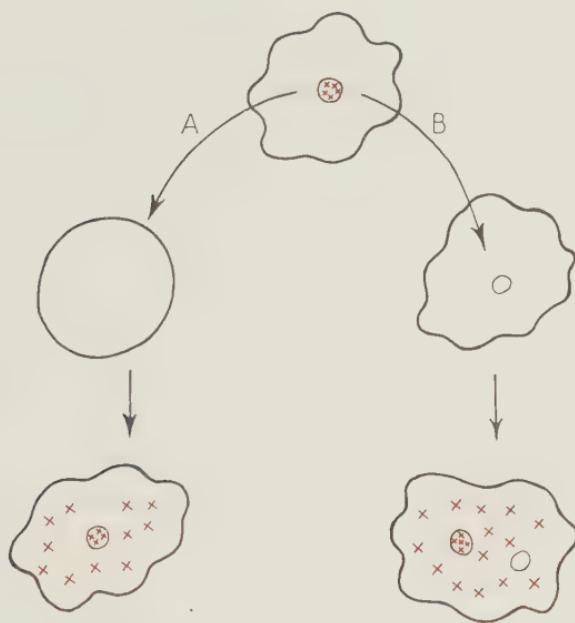


FIG. 11.1. — *Transplantations nucléaires chez l'amibe.*

× radioactivité. A. — Transplantation d'un noyau marqué dans une cellule énucléée. B. — Transplantation d'un noyau marqué dans une cellule normale non marquée.

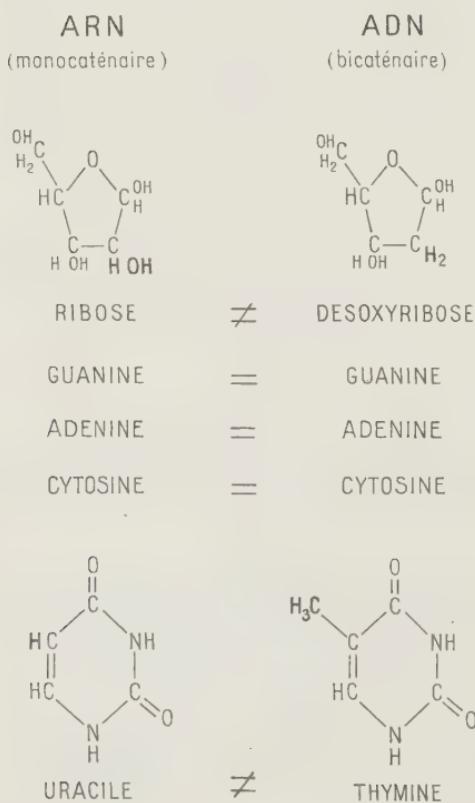
Le premier lot concerne des cellules préalablement énucléées. Les cellules sont soumises à autoradiographie à des temps variés après la transplantation nucléaire. La radioactivité, d'abord confinée au noyau (moins de 5 h après la transplantation), apparaît ensuite en quantité notable dans le cytoplasme (12 h après la transplantation). Cette migration de l'ARN semble coïncider avec la reprise de l'activité cellulaire des amibes à la suite de la transplantation, dénotant le déclenchement des synthèses protéiques.

Le second lot concerne des cellules nucléées non traitées. Après 12 à 90 h, des cellules sont soumises à l'autoradiographie. La radioactivité est observée dans le noyau transplanté et dans le cytoplasme; elle n'apparaît jamais dans le noyau natif. Cette dernière constatation confirme la nature nucléaire du site de synthèse de l'ARN (elle exclut en effet l'éventualité d'une synthèse cytoplasmique d'ARN suivie de son passage dans le noyau).

Ainsi, l'ARN est synthétisé dans le noyau, puis migre dans le cytoplasme comme on l'attendrait de l'intermédiaire postulé.

La participation de l'ARN à l'élaboration des protéines est suggérée par d'autres observations. Il existe une forte corrélation entre la quantité d'ARN dans les cellules et l'importance des synthèses protéiques. Inversement, lorsqu'on fait agir de la RNase sur des cellules vivantes, la disparition consécutive de l'ARN cellulaire s'accompagne de l'arrêt complet des synthèses protéiques.

On aboutit ainsi au schéma suivant: ADN → ARN → protéines, dans lequel l'ARN copie l'information caractéristique du gène puis migre dans le cytoplasme où cette information est « traduite » en protéine. La structure de l'ARN, assez similaire à celle de l'ADN, s'accorde avec cette interprétation.



**FIG. 11.2. — Structure chimique comparée de l'ADN et de l'ARN.**

# Acides ribonucléiques

## Structure chimique de l'ARN

L'ARN est constitué par une suite de nucléotides attachés les uns aux autres de la même manière que dans l'ADN pour former une chaîne polynucléotidique. Il diffère pourtant de l'ADN par trois aspects (fig. 11-2).

1. Le sucre est un ribose et non un désoxyribose.
2. L'une des quatre bases azotées est différente. Il s'agit de l'*uracile* qui remplace la thymine. L'uracile, dont la structure est voisine de celle de la thymine, peut, tout comme celle-ci, s'associer à l'adénine par des liaisons hydrogènes. Les trois autres bases sont communes à l'ADN et l'ARN.
3. L'ARN existe naturellement sous forme d'une seule chaîne polynucléotidique. Ceci a pour conséquence que l'ARN peut adopter une structure tertiaire. Lorsqu'il existe des séquences complémentaires sur le même brin, la chaîne se replie sur elle-même par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes. Pour certains types d'ARN, on verra que cette configuration joue un rôle important.

Les molécules d'ARN présentent une très grande variété. On distingue trois classes principales (*tableau 11-1*). Chacune de ces trois classes joue un rôle particulier dans la synthèse des protéines.

**TABLEAU 11-1. — Principales caractéristiques des trois familles d'ARN**

	<i>Famille d'ARN</i>		
	ARNr	ARNm	ARNt
Nombre d'espèces différentes .....	3	très nombreux	~ 60
Coefficient de sédimentation .....	28S, 18S, 5S	8S → 30S	4S
Longueur (en nucléotides)	5 000 2 500 ~ 100	hétérogène	70 à 80
Durée de vie .....	longue	généralement courte	
Origine .....	organisateur nucléolaire	chromatine nucléaire	
Rôle .....	ribosomes lecture des ARNm	modèle	adaptation de l'acide aminé au codon

## L'ARN ribosomique

■ **Morphologie et constitution chimiques des ribosomes.** — L'ARN ribosomique (ARNr) constitue la majeure partie de l'ARN cellulaire (environ 80 %). Les ribosomes se présentent sous forme de granules seulement visibles au microscope électronique. Ils sont particulièrement nombreux dans les cellules présentant une activité intense, liée aux synthèses protéiques. Leur taille varie selon les organismes; elle est d'environ 25 nm chez les eucaryotes. Une observation attentive montre que les ribosomes sont composés de deux sous-unités (fig. 11-3). Ces sous-unités sont appelées 40S et 60S. Cette dénomination désigne leur constante de sédimentation en ultracentrifugation. Cette constante, exprimée en unités Svedberg, correspond au rapport entre la vitesse de sédimentation et le champ gravitationnel; la vitesse de sédimentation est la vitesse atteinte lorsque les forces de frottement équilibrivent l'accélération des particules étudiées. On peut séparer les sous-unités 40S et 60S et les étudier isolément. L'analyse chimique montre que chaque sous-unité est composée d'ARN et de protéines en proportions égales. La petite sous-unité (40S) contient une seule molécule d'ARN 18S de très grande taille (environ 2 500 nucléotides). La grande sous-unité contient une molécule d'ARN 28S encore plus grande (environ 5 000 nucléotides) et une petite molécule d'ARN 5S. Les molécules repliées sur elles-mêmes de manière complexe présentent une structure spatiale encore indéterminée et sont étroitement associées aux protéines ribosomiques.

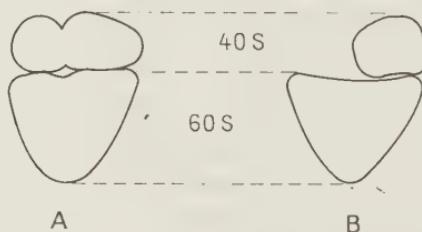


FIG. 11.3. — Ribosomes d'eucaryotes.  
A. — Vue frontale. B. — Vue latérale.

■ **Implication des ribosomes dans la synthèse des protéines.** — La synthèse des protéines s'opère au niveau des ribosomes. Ceci est démontré par l'expérience suivante effectuée sur les réticulocytes de lapin. Ce matériel présente plusieurs avantages : les synthèses d'hémoglobine y sont très actives; les ribosomes sont faciles à

extraire de ces cellules anucléées; celles-ci peuvent enfin être isolées et incubées dans un milieu nutritif convenable.

Un précurseur radioactif des protéines est ajouté dans le milieu sous forme d'acide aminé marqué au  $^{14}\text{C}$ . Après un temps assez court (pour que les protéines en cours d'élaboration et ayant incorporé le précurseur marqué n'aient pas encore quitté leur site de synthèse), les cellules sont broyées. L'homogénat est centrifugé en gradient de densité. On cherche ensuite à quel niveau se trouve la radioactivité. On détermine également la quantité d'ARN dans les diverses fractions du tube. Les résultats sont indiqués dans la figure 11-4. L'ARN se répartit en deux pics. La radioactivité se superpose exactement au pic d'ARN le plus lourd. L'observation au microscope électronique révèle que ce pic correspond à des *polysomes*: les ribosomes sont associés en chapelet; l'autre pic correspond à des ribosomes isolés.

Dans une seconde expérience, on ajoute de la RNase à l'homogénat avant la centrifugation. On n'observe alors qu'un seul pic, correspondant aux ribosomes isolés. La radioactivité est maintenant associée à ce pic.

Que signifient ces résultats? L'explication est la suivante: les ribosomes lorsqu'ils sont associés en polysomes, sont réunis par un mince filament, d'ailleurs visible au microscope électronique à forte résolution. Ce filament correspond à une molécule d'ARN. La RNase dégrade cette molécule et détruit ainsi les polysomes; les ribosomes qui les constituaient sont libérés. Le fait que la radioactivité, d'abord liée aux polysomes reste associée aux ribosomes qui les constituent indique que les protéines sont synthétisées au niveau des ribosomes qui participent aux polysomes. Cette molécule d'ARN à laquelle se fixent les ribosomes appartient à une classe différente d'ARN: les ARN messagers (ARNm).

## ARN messagers

■ **Absence de spécificité de l'ARN ribosomique et mise en évidence des ARN messagers.** — Les ribosomes sont donc directement impliqués dans la synthèse des protéines. Ceci est confirmé par des études *in vitro*, en présence d'extraits acellulaires: la présence de ribosomes est indispensable à la production de protéines. Pourtant, les ribosomes n'ont aucune spécificité dans la notification de la séquence des acides aminés des chaînes polypeptidiques.

Une première indication de cette absence de spécificité réside dans l'homogénéité des ARNr. En effet, il existe dans une cellule plusieurs milliers d'espèces de protéines. Chacune est caractérisée par sa séquence et son nombre d'acides aminés (de quelques dizaines à plusieurs centaines). Si la séquence de nucléotides détermine la séquence d'acides aminés, on doit s'attendre à trouver une variabilité similaire (nombre et composition en nucléotides) parmi les ARN messagers qui transmettent dans le cytoplasme le message contenu dans le gène. Or, on ne trouve que deux types d'ARNr, dont le

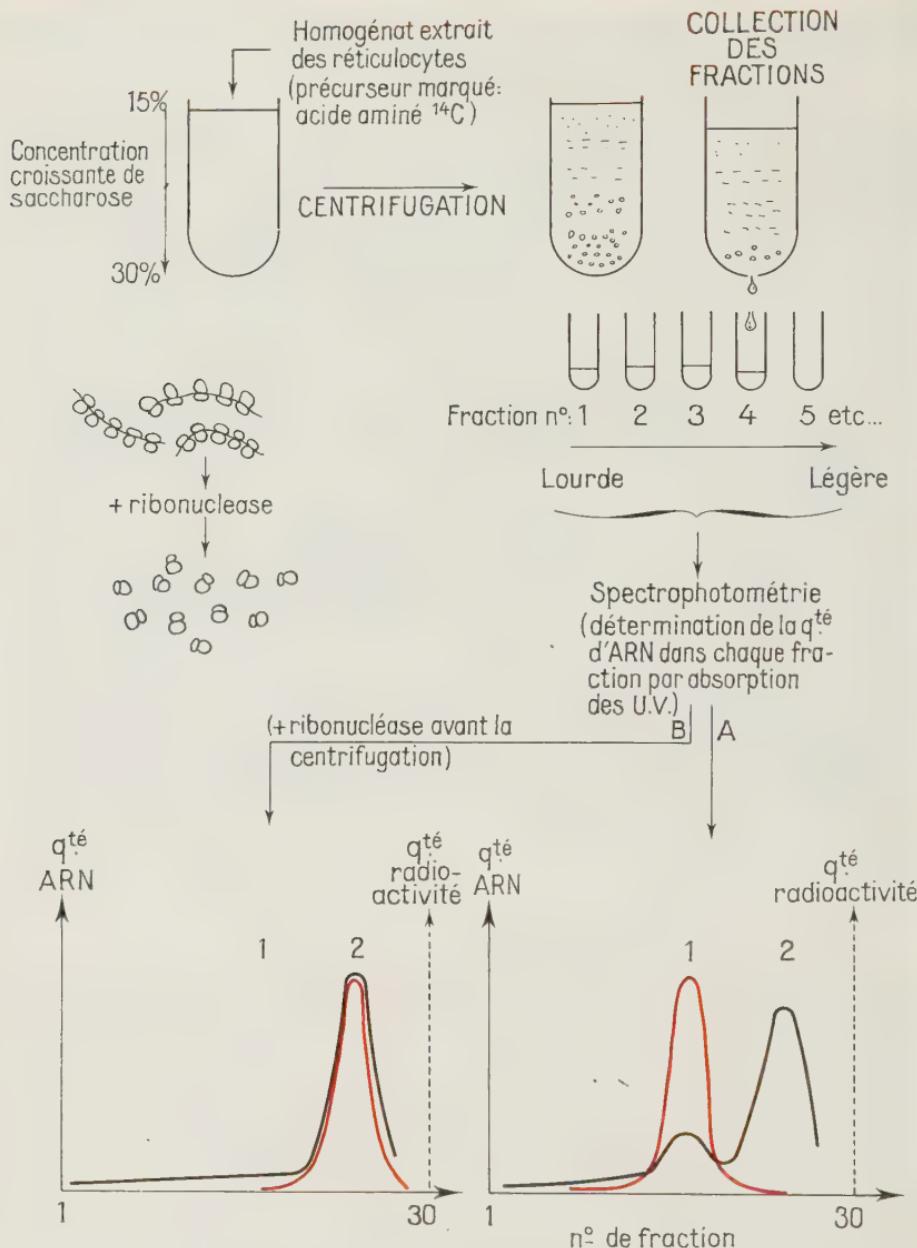


FIG. 11.4. — Localisation de la synthèse des protéines au niveau des polysomes. A. — Homogénat non traité par la ribonucléase avant la centrifugation : la radioactivité est localisée au niveau des polysomes (1). B. — Homogénat traité par la ribonucléase avant la centrifugation : la radioactivité est localisée au niveau des ribosomes (2); le pic des polysomes a disparu.

nombre et la composition en nucléotides sont remarquablement constants à l'intérieur d'une même espèce.

Une preuve plus directe est apportée par une expérience portant sur l'étude des synthèses de protéines dans le colibacille à la suite de l'infection par une bactériophage, le phage T2. Après la pénétration de l'ADN viral, la bactérie arrête ses propres synthèses et met en route celles des protéines du phage, en particulier les protéines de l'enveloppe virale (cf. chapitre 2). Par traçage isotopique, on a pu marquer différemment d'une part l'ARNr de la bactérie édifié avant l'infection, d'autre part l'ARN et les protéines produits juste après l'infection. les résultats sont particulièrement intéressants. Ils montrent en effet qu'aucun nouveau ribosome n'est fabriqué après l'infection : la synthèse des protéines phagiques s'effectue à l'aide des ribosomes préexistants. Puisque l'information génétique gouvernant la structure des protéines virales n'existe pas avant l'infection lorsque ces ribosomes ont été élaborés, ceci prouve que les ribosomes ne jouent aucun rôle dans la spécificité des protéines. On met par ailleurs en évidence l'existence d'ARN qui sont fabriqués juste après la pénétration du génome viral. Ces nombreux ARN s'associent aux ribosomes préexistants et c'est au niveau de ces complexes que se situe la genèse des protéines phagiques. Ces nouveaux ARN ont une composition en nucléotides identique à celle de l'ADN phagique : ils correspondent bien aux ARN messagers.

■ **Caractéristiques des ARN messagers.** — Les ARNm ont été isolés depuis chez de nombreux organismes. Ils présentent toutes les propriétés qu'on attendrait de « messagers » servant d'intermédiaires entre le gène et la protéine. En centrifugation, leur constante de sédimentation est très variable (entre 8S et 30S) : ceci traduit l'hétérogénéité de leur taille (entre environ 150 et plusieurs milliers de nucléotides). Leur composition en nucléotides varie également. Ils ont une durée de vie variable, mais beaucoup plus courte que celle de l'ARNr qui peut persister pendant plusieurs générations cellulaires. Enfin, la quantité totale de l'ARNm dans la cellule est beaucoup plus faible que celle des ARNr puisqu'ils ne représentent que quelques % de l'ARN total.

Lors de la biosynthèse des protéines, les ARNm peuvent donc être comparés au « modèle » qui détermine la séquence d'acides aminés. Les ribosomes s'associent aux ARNm en formant des polysomes et opèrent la lecture du modèle qui aboutira à sa *traduction* en une chaîne polypeptidique.

## ARN de transfert

Les 10 à 20 % restants de l'ARN cellulaire total correspondent à la troisième classe d'ARN : les ARN de transfert (ARNt). Les ARNt ont une taille petite et très homogène (70 à 80 nucléotides) qui se traduit

par une constante de sédimentation faible (4S). Ils présentent la propriété originale de pouvoir s'associer aux acides aminés. Les ARN<sub>t</sub> se divisent en 50 à 60 types différents. Chaque type ne s'associe qu'avec un seul des 20 acides aminés organiques (uniquement la valine ou uniquement la leucine, etc...).

La petite taille des ARN<sub>t</sub> a permis de déterminer leur séquence de nucléotides. L'existence, à l'intérieur de ces molécules, de séquences complémentaires permet de déduire leur configuration : ils se replient sur eux-mêmes en formant une structure caractéristique en forme de « trèfle » (fig. 11-5).

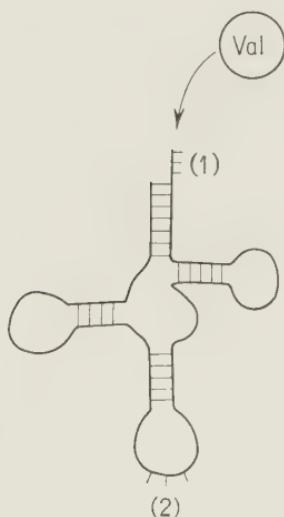


FIG. 11.5. — Structure spatiale de l'ARN de transfert (1) site d'attachement de l'acide aminé spécifique; (2) site de reconnaissance du codon (anticodon).

A chaque acide aminé correspond un enzyme d'activation particulier qui se complexe avec celui-ci. Ce complexe réagit avec les ARN<sub>t</sub> spécifiques de l'acide aminé : ceci a pour conséquence l'attachement de l'acide aminé à l'extrémité (1) de l'ARN<sub>t</sub>.

Chaque type d'ARN<sub>t</sub> comporte en outre sur la boucle médiane, en (2), une séquence particulière de 3 nucléotides appelée *anticodon*. L'existence de cet *anticodon* permet aux ARN<sub>t</sub> de jouer le rôle d'*adaptateurs* au cours de la synthèse protéique. Ceci explique en effet comment une séquence de nucléotides détermine une séquence spécifique d'acides aminés : la séquence de nucléotides de l'ARN messager comporte une succession de triplets appelés codons. Chaque codon détermine l'insertion d'un acide aminé correspondant. Il est reconnu par l'intermédiaire de l'anticodon complémentaire porté par le complexe d'ARN<sub>t</sub>-acide aminé : l'acide aminé correct est ainsi inséré dans la position qui lui est dévolue à l'intérieur de la chaîne polypeptidique.

## Traduction de l'ARN messager

On connaît maintenant les trois principaux acteurs impliqués dans le processus de biosynthèse des protéines :

1. Le modèle : l'ARN messager, qui correspond à l'intermédiaire postulé au début de ce chapitre.
2. Le système de lecture : l'ARN ribosomique organisé en ribosomes.
3. Les adaptateurs qui assurent la correspondance entre les codons et les acides aminés équivalents : les ARN de transfert.

Le processus par lequel s'effectue l'alignement des acides aminés attachés aux ARN<sub>t</sub> dans la séquence correcte déterminée par l'ARN<sub>m</sub> associé aux ribosomes comporte trois étapes : l'initiation, l'élongation et la terminaison (fig. 11-6).

■ **Initiation.** — Les ribosomes cellulaires sont normalement dissociés en leurs sous-unités lorsqu'ils ne participent pas à la lecture de l'ARN<sub>m</sub>. Celle-ci débute par l'attachement de la petite sous-unité 40S et d'un ARN<sub>t</sub> particulier (porteur du premier acide aminé) à une extrémité de l'ARN<sub>m</sub>.

Cette extrémité comporte une séquence spéciale qui agit comme signal de début de lecture; cette séquence initiatrice a une structure telle qu'elle met en évidence le premier codon, reconnu par le premier ARN<sub>t</sub>. Une fois l'anticodon placé en face de ce codon, les codons suivants seront lus séquentiellement, sans chevauchement. Le codon initial détermine donc la phase correcte de lecture de l'ARN<sub>m</sub>. La grande sous-unité 60S contient deux sites appelés A et P, au niveau desquels peuvent se placer des ARN<sub>t</sub>. Cette sous-unité se fixe à son tour en face de la sous-unité 40S déjà complexée avec l'ARN<sub>m</sub>, de telle manière que l'ARN<sub>t</sub> initial soit associé au site P.

■ **Élongation.** — Un ARN<sub>t</sub> possédant l'anticodon complémentaire et porteur du second acide aminé vient ensuite se placer en face du codon suivant immédiatement le codon initial, il se localise au niveau du site A du ribosome. Une liaison peptidique s'effectue entre le groupe COOH du premier acide aminé et le groupe NH<sub>2</sub> du second, libérant une molécule d'H<sub>2</sub>O. Parallèlement, le premier acide aminé se détache de l'ARN<sub>t</sub> initial et ce dernier est libéré dans le milieu cellulaire. Un dipeptide est maintenant attaché au deuxième ARN<sub>t</sub> par l'intermédiaire du second acide aminé. Le ribosome glisse d'un cran correspondant à 3 nucléotides le long de l'ARN<sub>m</sub> et simultanément, le second ARN<sub>t</sub> passe du site A au site P. Un nouvel ARN<sub>t</sub> portant l'acide aminé numéro 3 et possédant l'anticodon complémentaire du troisième codon remplace l'ARN<sub>t</sub> précédent au site A. Une liaison peptidique unit le second acide aminé au troisième; le second

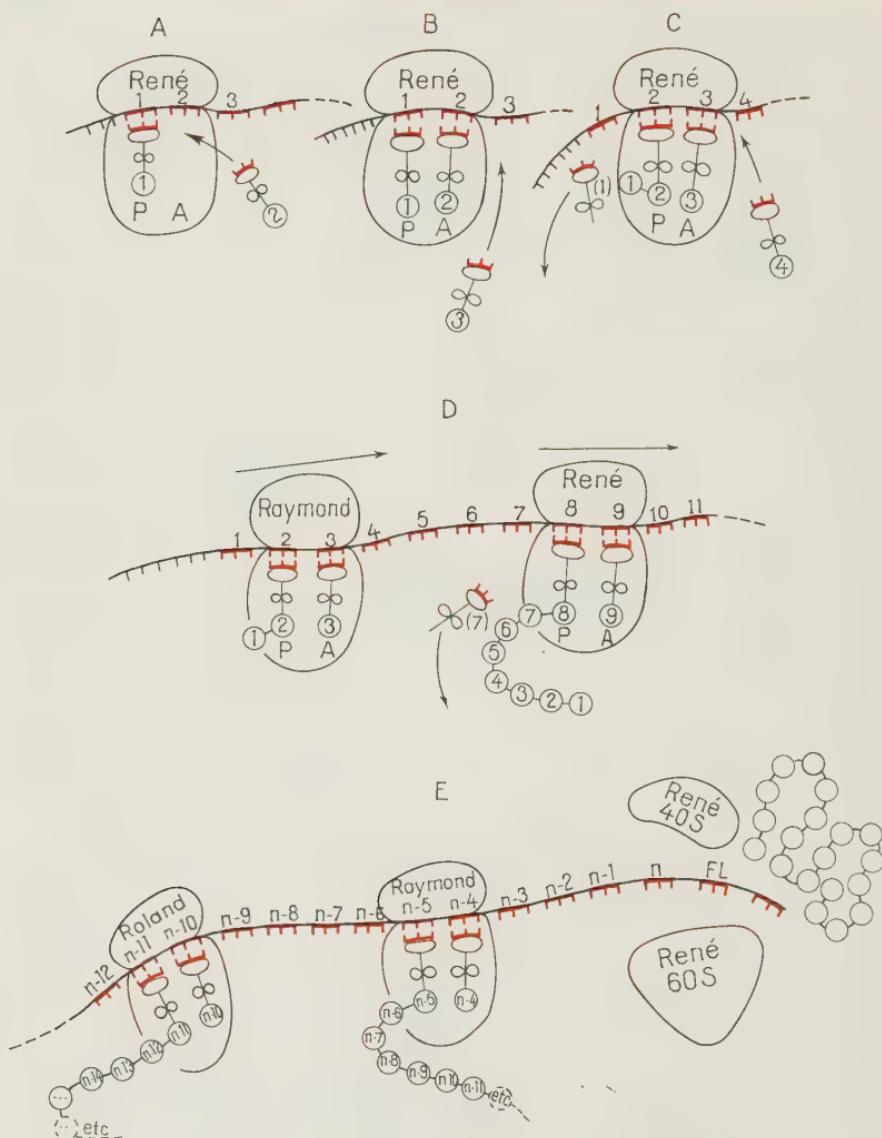


FIG. 11.6. — Traduction de l'ARN messager par les ribosomes. A. — Initiation. B. — Mise en place du second ARNt. C. — Liaison peptidique entre les acides aminés 1 et 2, départ du premier ARNt, mise en place du 3<sup>e</sup> ARNt. D. — L'elongation se poursuit par déplacement du ribosome le long de l'ARNm codon par codon; un autre ribosome commence la traduction du même ARNm. E. — Fin de lecture (FL): le ribosome se dissocie et la protéine est libérée. Plusieurs autres ribosomes continuent à traduire séquentiellement l'ARNm (à chaque ribosome a été attribué un nom pour une meilleure compréhension du schéma).

ARN<sub>t</sub> est libéré : un tripeptide est maintenant attaché au troisième ARN<sub>t</sub> par l'intermédiaire de l'acide aminé n° 3. Le même processus de glissement du ribosome et de changement de site de l'ARN<sub>t</sub> se reproduit. L'ARN<sub>m</sub> est ainsi lu progressivement d'une extrémité à l'autre; à chaque nouveau codon vient s'ajouter un nouvel acide aminé.

■ **Terminaison.** — La synthèse se termine lorsque le ribosome rencontre un signal de fin de lecture. Ce signal correspond à au moins un triplet déterminé de nucléotides. Les deux sous-unités du ribosome se détachent alors de l'ARN<sub>m</sub>. La chaîne polypeptidique complète est libérée et adopte sa configuration tertiaire définitive. Elle s'unira éventuellement à d'autres chaînes identiques (ou différentes, selon les cas) pour adopter une structure quaternaire compatible avec son rôle dans la cellule.

■ **Lecture simultanée de l'ARN<sub>m</sub> par plusieurs ribosomes.** — Alors que le premier ribosome est en cours de traduction de l'ARN<sub>m</sub>, un second ribosome vient s'attacher au site d'initiation et procède à son tour à la lecture et ainsi de suite. Plusieurs ribosomes lisent donc simultanément le même ARN<sub>m</sub>. Ceci aboutit aux complexes appelés polysomes. Le nombre de ribosomes lisant simultanément un même ARN<sub>m</sub> varie avec la taille de ce dernier. Ce nombre, d'environ 5 pour les messagers des chaînes  $\alpha$  ou  $\beta$  de l'hémoglobine, peut atteindre plusieurs dizaines pour certains ARN messagers particulièrement longs.

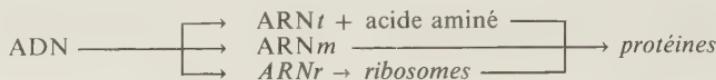
## Transcription et maturation de l'ARN

■ **Correspondance entre les divers types d'ARN et l'ADN nucléaire.** — L'ARN, tout comme l'ADN, possède latéralement une séquence de bases azotées susceptible de s'apparier, par liaisons hydrogènes, avec une séquence complémentaire. Le fait que l'uracine présente les mêmes propriétés d'appariement avec l'adénine que la thymine rend donc possible une hybridation entre l'ADN et l'ARN.

Le principe de cette hybridation est le suivant : l'ADN est extrait, puis dénaturé en simples chaînes (cf. chapitre 3). L'ARN est ensuite ajouté. Cet ARN peut être marqué en fournissant à l'organisme dont il est extrait des précurseurs radioactifs. De plus, les propriétés différentes des diverses classes d'ARN permettent de les séparer, chacune pouvant être étudiée isolément. Après la renaturation éventuelle entre l'ARN et les chaînes d'ADN complémentaires, les brins non renaturés sont éliminés par diverses méthodes. On mesure alors, d'après la radioactivité, la quantité d'ARN complémentaire de l'ADN et qui s'est hybridée avec celui-ci.

Cette méthode permet une analyse qualitative (présence ou absence d'hybridation) et quantitative (quantité d'hybridation). Un très grand nombre d'expériences aboutissent aux conclusions suivantes :

1. Les trois classes d'ARN : ARNm, ARNr, ARNt sont complémentaires d'une portion de l'ADN de la même espèce. Ceci montre que tous les ARN sont synthétisés à partir d'une matrice d'ADN. Ceci est conforme au schéma suivant :



2. Il est possible, dans certains cas, de séparer les deux chaînes complémentaires de l'ADN et de les étudier isolément. On a ainsi montré que l'ARN n'est complémentaire que d'un seul des deux brins. Par conséquent, la synthèse d'un ARN donné utilise toujours comme matrice un seul brin d'ADN, toujours le même.

3. Des mesures quantitatives suggèrent qu'il n'existe généralement qu'une seule séquence d'ADN par génome haploïde correspondant à chaque ARNm (cette remarque souffre toutefois au moins une exception : il s'agit des gènes de structure des histones, dont on a montré chez l'oursin qu'ils existaient en plusieurs centaines d'exemplaires). Au contraire, il existe un grand nombre de séquences identiques correspondant à chacun des deux types d'ARNr ; il en va de même pour les ARNt. Ceci indique qu'alors que les diverses séquences nucléotidiques destinées à coder les protéines et déterminant les ARNm existent en un seul exemplaire, les séquences correspondant aux ARNr et ARNt, qui serviront d'« outils » au cours de la traduction, sont répétées un grand nombre de fois dans le génome. Ceci est assez logique puisque ces outils, destinés à traduire de nombreux messagers différents (au moins autant que de protéines différentes) doivent exister en très grandes quantités dans la cellule.

■ **Localisation des sites de synthèse des divers ARN dans le noyau.** — Le noyau ne présente pas une structure homogène (cf. chapitre 4). On distingue en particulier le nucléole et la chromatine, correspondant aux chromosomes interphasiques plus ou moins déroulés. La chromatine se présente elle-même sous forme d'euchromatine diffuse et d'hétérochromatine où les filaments chromosomiques sont fortement empaquetés, dans un état proche de celui des chromosomes au cours de la division cellulaire.

La composition chimique du nucléole montre que celui-ci est très riche en ARNr. L'ADN peut être dénaturé *in situ* (dans la cellule) sans détruire les chromosomes. On a ainsi montré que l'ARNr s'hybridait spécifiquement avec la région de l'organisateur nucléolaire. Celui-ci correspond donc à l'ADN ribosomique. On observe également dans le nucléole des protéines ribosomiques. On suppose que l'assemblage des constituants protéiques et ribonucléiques des sous-unités du ribosome s'effectue dans le nucléole. Les ribosomes

vont ensuite dans le cytoplasme en passant par les pores qui parsèment l'enveloppe nucléaire.

La synthèse des ARNm et des ARNt s'effectue dans l'euchromatine. Le DNA de l'hétérochromatine n'est pas transcrit en ARN. Cette absence de transcription peut avoir deux significations tout à fait différentes. Tout d'abord une portion non négligeable de l'ADN nucléaire des eucaryotes n'a rien à voir avec les gènes qui contiennent l'information nécessaire à la synthèse des protéines (codant pour l'un ou l'autre des trois grands types d'ARN). Elle possède des séquences qui ne sont jamais transcrtes en ARN. Cet ADN entre dans la constitution de l'hétérochromatine dite « constitutive »; il est formé essentiellement de séquences « redondantes » correspondant à des motifs de quelques nucléotides répétés un million de fois ou davantage. Cet ADN a probablement un rôle structural; ainsi, l'hétérochromatine constitutive est souvent localisée au niveau des centromères : elle pourrait jouer un rôle dans la fixation des fibres chromosomiques au cours des divisions cellulaires. Une autre portion de l'hétérochromatine intéresse des fragments de chromosome, des groupes de gènes, qui ne sont pas transcrits dans cette cellule, mais pourraient être transcrits dans des cellules de tissus différents, ou bien à un autre moment du cycle de l'organisme. Selon la spécialisation de la cellule ou le moment, des régions différentes du génome peuvent être impliquées dans ce type d'hétérochromatine. Le chromosome Y de la drosophile est à cet égard un bon exemple puisqu'il reste sous la forme hétérochromatique dans la majorité des tissus; les gènes correspondants sont pourtant activement transcrits au cours de la spermio-génèse. Cette observation constitue un des aspects du problème de la régulation et de la différenciation cellulaire qui seront abordés dans le chapitre suivant.

■ **Mécanisme de la transcription.** — La synthèse de l'ARN s'effectue selon un mécanisme similaire à celui de la réPLICATION de l'ADN. Les ribonucléotides se placent en face des désoxyribonucléotides complémentaires, le long de celui des deux brins d'ADN qui est copié. La polymérisation des ribonucléotides en chaîne polynucléotidique s'effectue séquentiellement. Ce processus est catalysé par un enzyme : l'ARN polymérase. Celui-ci reconnaît le long de l'ADN certaines séquences particulières : les promoteurs au niveau desquels il va s'attacher pour initier la transcription. Un signal de fin de transcription détermine l'arrêt de la synthèse de la molécule d'ARN qui se détache de la matrice pour migrer éventuellement dans le cytoplasme. La longueur de chaque type de molécule d'ARN est ainsi prédéterminée par des signaux appropriés le long de l'ADN chromosomique.

■ **Maturation des ARN.** — Entre le moment où ils sont transcrits et celui où ils jouent leur rôle dans la synthèse des protéines, les ARN subissent un certain nombre de modifications nécessaires à leur bon fonctionnement ultérieur. On dit qu'ils subissent une *maturation*.

Cette maturation présente des caractéristiques différentes selon les ARN. Pour les ARNt, elle correspond à une modification chimique d'un certain nombre de bases et à l'adjonction de trois nucléotides à l'extrémité sur laquelle s'attachera l'acide aminé. Pour les ARNr, elle correspond à des clivages successifs, conduisant à la perte de certains segments du transcript initial. Ainsi, dans les cellules humaines, l'ARN précurseur de l'ARN ribosomique présente une constante de sédiméntation de 45S. Ce précurseur, à la suite de clivages en chaîne et après la dégradation des séquences intercalaires du précurseur, est transformé dans les trois ARNr constitutifs des ribosomes; cette maturation des ARNr s'effectue dans le nucléole.

En ce qui concerne les ARNm, ils sont traduits immédiatement après leur transcription chez les bactéries et de ce fait, ils ne subissent pas de maturation. Chez les eucaryotes, au contraire, d'importantes modifications interviennent avant que les ARNm puissent être traduits. Une de ces modifications correspond à l'adjonction d'une séquence monotone de ribonucléotides adénylés (poly A) à une extrémité du messager. Une autre modification observée dans de nombreux cas correspond à l'excision de fragments d'ARN situés à l'intérieur de l'ARN prémessager. Les séquences situées de part et d'autre de la partie excisée sont recollées bout à bout (fig. 11-7). Ce mécanisme est appelé *épissage*. Les séquences internes existant dans l'ARN messager qui sont perdues au cours de la maturation sont appelées *introns*. Les séquences conservées sont appelées *exons*. Un ARN prémessager est donc constitué d'une succession d'*exons* et d'*introns*, la partie codant la chaîne d'acides aminés dans le polypeptide est celle qui sera conservée dans l'ARN messager mûr : elle est exclusivement située au niveau des exons. Tous les gènes eucaryotes ne comportent pas d'*introns*. Ceux qui en possèdent sont appelés *gènes mosaïques*. Un cas bien étudié est celui du gène codant l'ovalbumine, une des principales protéines constitutantes du blanc d'œuf chez les oiseaux. Ce gène est transcrit sous la forme d'un ARN prémessager d'environ 7 700 nucléotides qui comporte 7 introns (fig. 11-7). Après épissage, le messager final comporte moins de 2 000 nucléotides. Environ 1 200 nucléotides correspondent à la séquence codante proprement dite. De part et d'autre se trouvent deux séquences non traduites qui jouent un rôle dans l'initiation et la terminaison de la traduction. A l'extrémité de fin de traduction se trouve la séquence poly A.

Le rôle de la séquence poly A et celui des introns ne sont pas encore bien élucidés. Il est tentant de lier ces phénomènes de maturation à la compartimentation cellulaire qui prévaut dans les cellules eucaryotes; ils pourraient aussi jouer un rôle dans la régulation de la traduction (cf. chapitre 14).

Une des conséquences de l'existence des introns est la grande taille des gènes eucaryotes, comparée avec celle des gènes procaryotes. Certains gènes eucaryotes peuvent atteindre une taille de plusieurs dizaines de milliers de paires de bases.

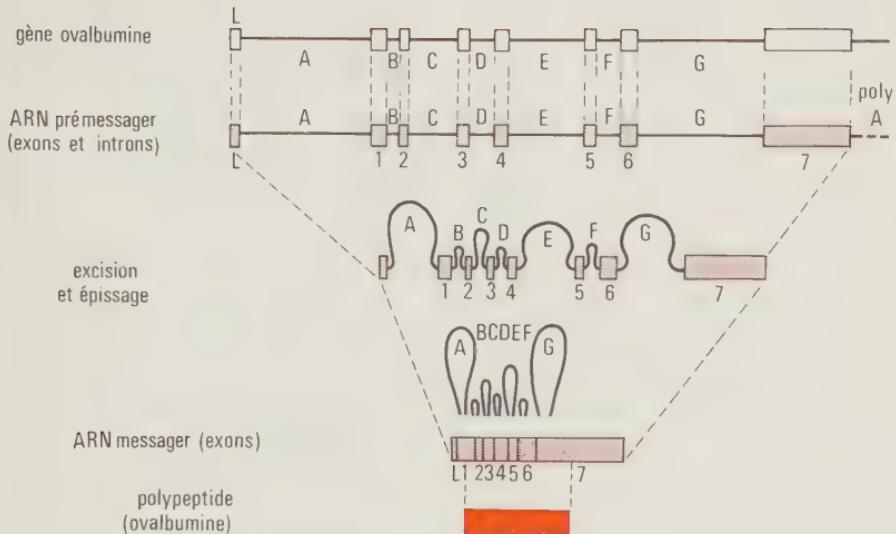


FIG. 11.7. — Maturation de l'ARNm de l'ovalbumine : l'ensemble du gène est transcrit en ARN prémessager, puis une séquence polyA d'environ 200 bases est adjointe à son extrémité 3'. Par excision et épissage, les introns A B C D E F G sont éliminés et les exons L, 1, 2, 3, 4 5, 6, 7 soudés bout à bout; l'ARN messager définitif comporte seulement les exons et la séquence polyA. Lors de la synthèse de l'ovalbumine la séquence de tête L et une partie de l'exon 7 ne sont pas traduites.

(D'après BERKALOFF et coll. : *Biologie et physiologie cellulaire IV : chromosomes...*, Hermann éd. Paris, Coll. Méthodes).

■ **Relation entre l'ARN et les chaînes polypeptidiques.** — La molécule d'ARNm, destinée à être traduite en protéine, peut correspondre à une seule chaîne polypeptidique : elle est lue de bout en bout, sans interruption, par les ribosomes. Chez les procaryotes, certains ARNm comportent plusieurs signaux d'initiation et de fin de lecture; plusieurs chaînes polypeptidiques différentes sont donc synthétisées sur des portions contigües de la même molécule. On parle alors d'ARNm polycistronique puisqu'ils contiennent l'information de gènes, ou cistrons, distincts. On a vu qu'en effet chaque cistron correspond à une séquence d'ADN déterminant une chaîne polypeptidique.

La figure 11-8 schématise la portion essentielle des mécanismes cellulaires interagissant dans la biosynthèse des protéines.

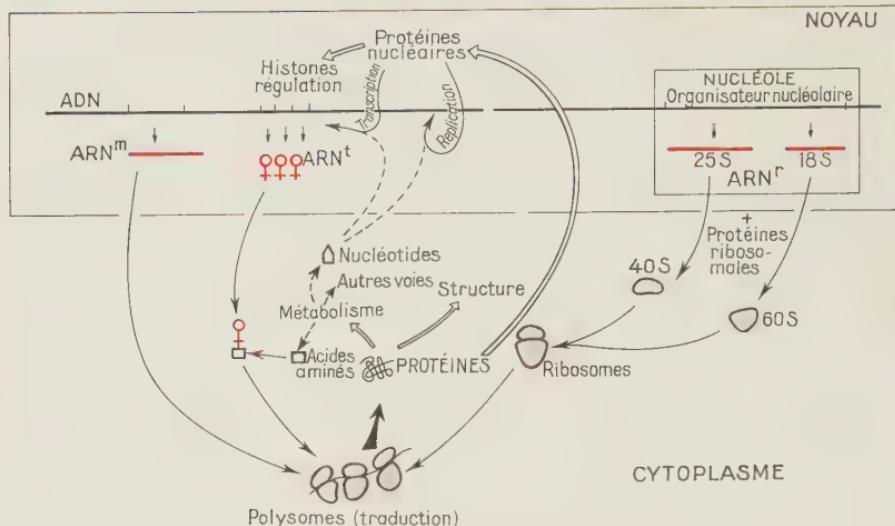


FIG. 11.8. — Schéma des interactions cellulaires impliquées dans la biosynthèse des protéines.

## Code génétique et mutations

■ **Nature du code génétique.** — Puisqu'il y a 4 nucléotides distincts et que chaque codon en comporte 3, il existe au total  $4^3 = 64$  codons possibles. Des études biochimiques et génétiques conjointes ont permis de déterminer la relation entre chaque triplet et l'acide aminé correspondant (*tableau 11-2*). Le code est dit « dégénéré »; en effet, le troisième nucléotide est souvent indifférent quant à la détermination de l'acide aminé. Trois codons ne spécifient aucun acide aminé. Ces codons, appelés « codons non-sens », entraînent, lorsqu'ils existent dans l'ARNm, l'arrêt de sa lecture et le détachement des ribosomes. Les signaux de fin de lecture correspondraient au codon UAA, éventuellement suivi d'un autre codon non-sens. Le même code génétique a été trouvé chez des organismes aussi différents que les virus ou les mammifères; le code génétique est « universel ».

■ **Nature des mutations.** — On n'envisagera ici que les mutations dites « ponctuelles », distinguables des mutations chromosomiques qui résultent d'accidents décelables à l'échelle chromosomique (cf. chapitre 8).

La lecture séquentielle des codons à partir d'une même origine permet de prédire les conséquences de changements minimes qui se produiraient dans l'ADN, consécutifs à une erreur de réPLICATION ou à

TABLEAU 11.2. — Le code génétique

1 <sup>re</sup> lettre	2 <sup>e</sup> lettre				3 <sup>e</sup> lettre
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	« Ochre » (1)	« Opale » (1)	A
	Leu	Ser	« Ambre » (1)	Try	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	GluN (2)	Arg	A
	Leu	Pro	GluN	Arg	G
A	Ile	Thr	AspN (3)	Ser	U
	Ile	Thr	AspN	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp (3)	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu (2)	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

(1) Codons non-sens; (2) GluN : glutamine, Glu : acide glutamique; (3) AspN : asparagine; Asp : acide aspartique.

l'action d'un agent mutagène. Deux types principaux d'erreur peuvent intervenir (et ont été effectivement démontrés) :

1. substitution d'une paire de nucléotides,
2. insertion ou perte d'une paire de nucléotides (fig. 11-9).

Les substitutions conduisent soit au changement d'un acide aminé (comme dans le cas des divers mutants étudiés affectant les chaînes  $\alpha$  ou  $\beta$  de l'hémoglobine et l'iso-1 cytochrome *c*), soit à l'apparition d'un codon « non-sens » : la protéine sera alors incomplète. Dans ce dernier cas, la réduction de la taille de la protéine sera d'autant plus importante que ce codon est proche du point d'initiation de la traduction; les mutations qui conduisent à l'absence de protéine décelable peuvent résulter de tels événements.

Les pertes et additions provoquent un décalage de la phase de lecture. Ce décalage aboutit à l'apparition de codons nouveaux, normalement non traduits. A partir du point correspondant au site de la mutation, une séquence aberrante d'acides aminés s'instaure. Il peut apparaître, plus ou moins loin de ce site, un codon non-sens qui arrêtera prématurément la traduction.

AUG ACU CGG AAG UCA CUA ACG AUU AGG CUU UAC ...

A



AUG ACU C**G** AAG UCA CUA ACG AUU AGG CUU UAC

B



AUG ACU CGG AAG **U****G** CUA ACG AUU AGG CUU UAC

C



AUG ACU CGG **A****C****A** GUC ACU AAC GAU **U****A****G** GCU UUA

D



AUG ACU CGG **A****G****U** CAC **U****A****A** CGA UUA GGC UUU AC...

E



FIG. 11.9. — *Mutations ponctuelles.* A. — Séquence sauvage de codons et d'acides aminés correspondant. B. — Substitution d'une base aboutissant au changement d'un acide aminé. C. — Substitution d'une base aboutissant à un codon non sens. D. — Addition d'une base. E. — Déletion d'une base. Seuls l'ARNm et la protéine sont symbolisés : la mutation touche évidemment l'ADN et se répercute sur l'ARNm, puis sur la protéine au cours de la transcription, puis de la traduction.

# 12

## Transferts de gènes : mécanismes de parosexualité chez les bactéries, ingénierie génétique et transposition

A de rares exceptions près, les organismes eucaryotes présentent un cycle de reproduction sexuée caractérisé par l'alternance des phases haploïde et diploïde : on a vu que ceci permettait — par le biais des recombinaisons et des réassociations de génome — d'assurer une variabilité maximale des individus. Chez les organismes procaryotes comme les bactéries où il n'existe pas de phase diploïde, des processus variés permettent cependant des réassociations de gènes à partir d'individus différents. On parle de *parosexualité* pour désigner ces processus qui se caractérisent par des transferts d'une portion du génome d'une cellule donatrice vers une cellule réceptrice.

Le développement des techniques génétiques et moléculaires a permis d'opérer des transferts de gènes entre espèces différentes. Ainsi, des gènes provenant de n'importe quelle espèce vivante peuvent être transférés à des cellules de bactéries, de levures ou même des cellules de mammifère. Ces transferts artificiels permettent de créer des cellules qui ont acquis une nouvelle information génétique étrangère à leur espèce. On appelle *ingénierie génétique* les méthodes qui permettent de tels transferts.

Certaines portions d'ADN ont la particularité étonnante de se déplacer à l'intérieur du génome : dans certaines conditions elles

peuvent se transférer soit sur le même chromosome dans un nouvel emplacement, soit encore sur un autre chromosome. On a donné à ces phénomènes le nom de *transposition*.

On détaillera dans ce chapitre ces diverses modalités de transfert de gène : transferts intraspécifiques et intercellulaires correspondant aux phénomènes de parosexualité chez les bactéries; transferts hétérospéciques que permettent l'ingénierie génétique et enfin transferts intracellulaires spontanés correspondant aux phénomènes de transposition.

## Processus de parosexualité chez les bactéries

Ces processus sont au nombre de trois : la *transformation bactérienne*, la *transduction* et la *conjugaison*. Ils se caractérisent tous par un transfert d'une portion de génome depuis une cellule donatrice vers une cellule réceptrice. Ce transfert aboutit à un diploïde partiel transitoire. Une seconde étape consiste dans *l'intégration* du fragment d'ADN exogène dans le chromosome de la bactérie réceptrice; cette intégration aboutit au remplacement d'une portion de chromosome bactérien par la portion homologue constituée par l'ADN donneur (*exogénote*).

La différence essentielle entre ces trois processus de parosexualité consiste dans les modalités de transfert de l'ADN depuis la donatrice vers la réceptrice (fig. 12-1). Dans le cas de la transformation, la bactérie donatrice a été détruite et son ADN pénètre directement dans la réceptrice. Dans le cas de la transduction, le transfert s'effectue par l'intermédiaire d'un bactériophage. L'ADN de la bactérie donatrice est encapsidé par erreur à la place de l'ADN du phage dans l'enveloppe phagique. Le virion chimérique ainsi constitué est libéré après la lyse de la donatrice et va s'adsorber sur la réceptrice dans laquelle il fait pénétrer son ADN. Dans le cas de la conjugaison, les cellules donatrices reconnaissent les réceptrices et sont capables de conjuguer avec ces dernières en créant un pont cytoplasmique par lequel une partie de leur chromosome est transférée à l'autre cellule.

### Transformation bactérienne

Les caractéristiques de la transformation bactérienne ont été décrites dans le chapitre 2. Rappelons que ce processus existe chez certaines espèces de bactéries. Il correspond à la pénétration, puis à l'intégration dans le chromosome de la réceptrice de fragments

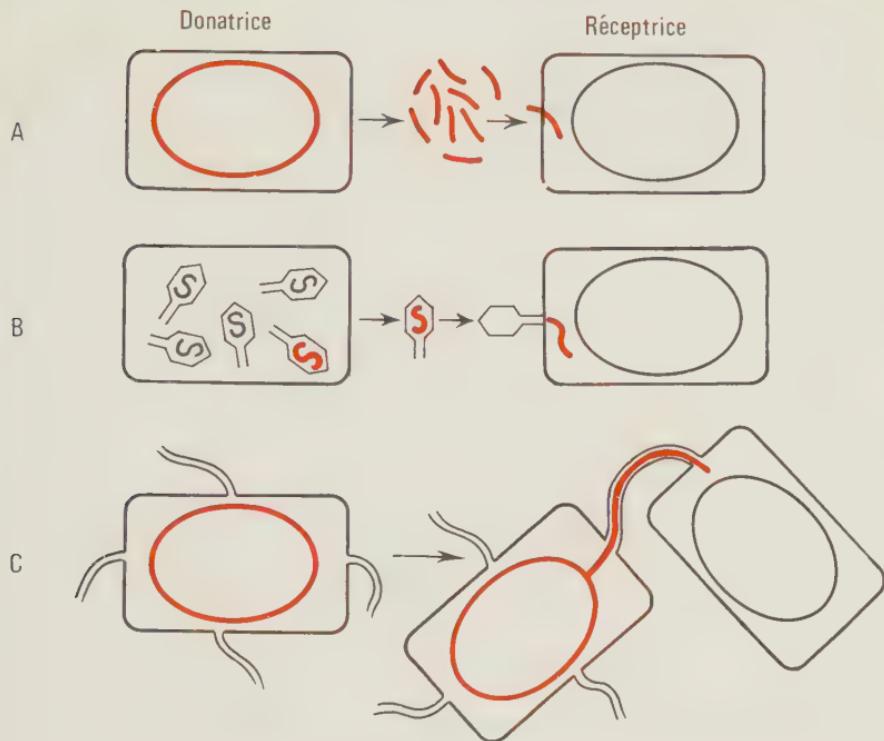


FIG. 12-1. — Mécanismes de parasexualité chez les bactéries.

A — Transformation : l'ADN de la donatrice pénètre dans la réceptrice.  
 B — Transduction : l'ADN de la donatrice encapsidé par erreur dans un virion est injecté dans la réceptrice.

C — Conjugaison : l'ADN de la donatrice est transféré à la réceptrice par l'intermédiaire d'un pont cytoplasmique formé au cours de la conjugaison entre les deux cellules.

d'ADN dont la taille ne représente en moyenne qu'une toute petite fraction du génome total (moins de 1%). Chez le pneumocoque, les diverses étapes de la transformation au niveau moléculaire ont été étudiées (fig. 12-2).

- La pénétration de l'ADN dans la cellule est un processus actif. La réceptrice doit être dans un état physiologique particulier appelé compétence. Elle porte alors sur sa surface une protéine appelée « facteur de compétence » qui est impliquée dans l'attachement de l'ADN à la surface cellulaire. Un seul des deux brins de la molécule d'ADN pénètre à l'intérieur de la cellule; l'autre brin est dégradé au cours du processus de pénétration.

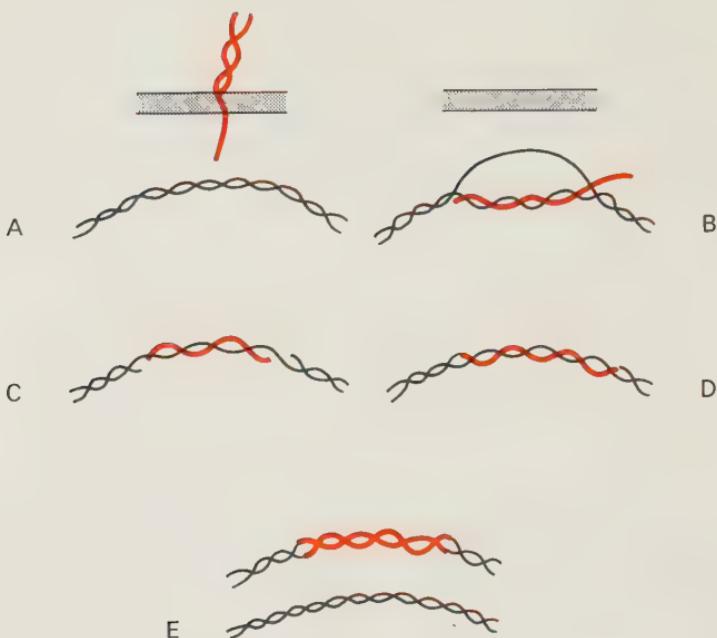


FIG. 12-2. — Étapes moléculaires de la transformation bactérienne.  
**A** — Pénétration de l'ADN.  
**B** — Synapse du brin exogène avec le brin complémentaire de l'ADN récepteur.  
**C** — Assimilation du brin exogène.  
**D** — Intégration du brin exogène par rétablissement de la continuité avec le brin récepteur.  
**E** — Après réplication, une des deux molécules filles possède le génotype donneur sur ses deux brins.

- L'intégration débute par une reconnaissance entre la séquence de nucléotides du brin exogène et la séquence homologue dans le chromosome de la réceptrice. Le brin exogène s'apparie avec le brin complémentaire par l'intermédiaire des liaisons H. Le brin endogène de même polarité est dégradé. La continuité entre le brin exogène et le chromosome bactérien est ensuite rétablie. On a alors formation d'un segment d'ADN double brin *hétéroduplex* formé par le brin donneur et le brin complémentaire récepteur. Ces deux brins peuvent ne pas être complémentaires sur toute leur longueur s'ils diffèrent par une mutation, ce qui est le cas lorsque les deux bactéries diffèrent génétiquement pour la région correspondant au brin d'ADN donneur intégré. Dans ce cas, après un cycle de réplication, un des deux chromosomes fils sera recombiné : il aura acquis l'information apportée par l'exogénote.

## Transduction

Certains virus ont la propriété d'inclure accidentellement au cours du cycle lytique une portion du chromosome bactérien qui remplace le chromosome phagique. C'est le cas du phage P1 (qui infecte *Escherichia coli*), du phage P22 (qui infecte la salmonelle). Si un virion anormal infecte une bactérie, il injecte dans celle-ci son ADN. Celui-ci ne provoque pas de cycle lytique car l'information virale nécessaire à son accomplissement est absente : la bactérie survit. L'exogénote se place en face de la région homologue dans la bactérie hôte réceptrice et des recombinaisons peuvent s'effectuer (comparables à des *crossing-over*). Celles-ci aboutissent au remplacement d'une portion d'ADN récepteur par une portion équivalente d'ADN donneur.

La taille du fragment d'ADN transféré correspond à la taille de l'ADN du phage transducteur : l'ADN qui est encapsidé dans l'enveloppe virale a toujours approximativement la même taille. Cette taille correspond à 1-2 % de celle du chromosome bactérien.

Dans le cas de la transduction comme d'ailleurs dans celui de la transformation, on ne va donc modifier qu'un tout petit fragment du chromosome de la réceptrice : la cellule transformée sera isogénique (c'est-à-dire génétiquement identique) à la cellule réceptrice d'origine à l'exception du fragment qu'elle aura reçu de la bactérie donneuse (fig. 12-3).

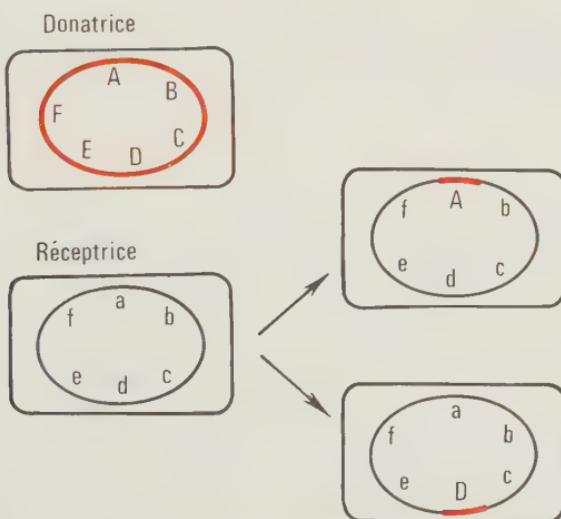


FIG. 12-3. — Conséquences génétiques de la transformation (ou la transduction).

Une donatrice diffère par plusieurs gènes de la réceptrice. On sélectionne après transformation — ou transduction — des cellules réceptrices A ou D : ces cellules ont gardé les gènes de la réceptrice, à l'exception de celui pour lequel elles sont sélectionnées.

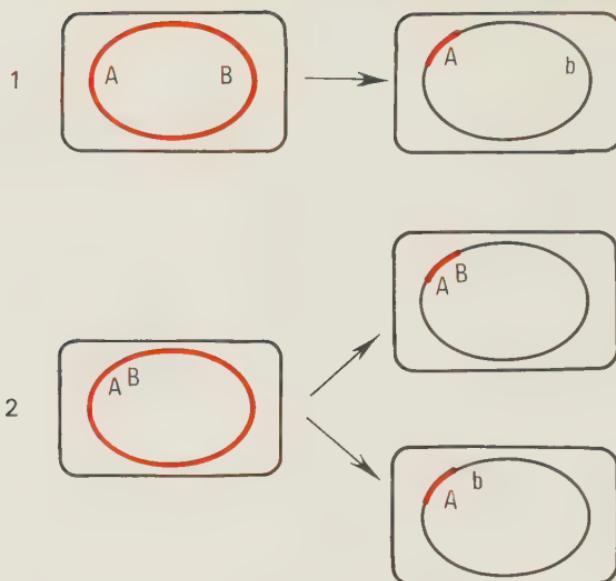


FIG. 12-4. — Utilisation de la transformation (ou de la transduction) pour la localisation des gènes.

1 — La distance entre deux gènes A et B est plus grande que la taille du fragment transféré. Quand on sélectionne pour A, on trouve toujours b et jamais B.

2 — La distance A-B est plus petite que la taille du fragment transféré. Quand on sélectionne pour A, on trouve soit B, soit b. Le rapport des AB/Ab est d'autant plus élevé que A et B sont proches.

Ces deux processus permettent également de savoir si deux gènes sont ou non très proches sur le chromosome bactérien (fig. 12-4). Supposons par exemple que la réceptrice soit de génotype ab et la donneuse de génotype AB. Après avoir effectué la transduction (ou la transformation), on peut sélectionner les bactéries réceptrices qui ont acquis le génotype A. On pose ensuite la question : ces bactéries ont-elles ou non reçu en même temps le gène B? On va donc rechercher parmi les bactéries transduites A s'il existe des bactéries également devenues B, et si oui, on calculera la proportion de AB et de Ab. Si les A sont toujours b, cela signifie que A et B sont assez éloignés pour ne jamais être emportés dans le même fragment d'ADN (ils sont physiquement séparés par une distance qui correspond à plus de 1 à 2 % de la taille du chromosome). S'il existe des AB, on déduit que A et B sont à une distance plus petite que la taille de l'ADN transduit : plus la proportion de AB (parmi les A) est élevée, plus les deux gènes A et B sont proches. Cette méthode permet d'établir des cartes très précises de gènes bactériens.

## Conjugaison

■ **Les ( $F^+$ ) et les ( $F^-$ ).** — Contrairement à la transformation et la transduction, la conjugaison nécessite un contact physique entre les bactéries donatrices et réceptrices. Les donatrices doivent avoir un phénotype particulier appelé ( $F^+$ ) et les réceptrices doivent être de phénotype ( $F^-$ ). Les ( $F^+$ ) se caractérisent par une pilosité de leur surface cellulaire : celle-ci est formée de flagelles creux, longs et souples. Ces flagelles reconnaissent la surface des bactéries ( $F^-$ ) qui en sont dépourvues. L'extrémité des flagelles fusionne avec la membrane de la bactérie ( $F^-$ ) et un canal est ainsi créé. Ce canal met en communication les deux cellules et permet en particulier un transfert d'ADN depuis les ( $F^+$ ) vers les ( $F^-$ ) (fig. 12-5).

Une analyse moléculaire montre que les ( $F^+$ ) possèdent un petit chromosome circulaire supplémentaire appelé *facteur F*. La présence du petit chromosome est facultative puisque les ( $F^-$ ) en sont dépourvues. Le facteur F se comporte comme une unité de réPLICATION AUTONOME. Il porte des gènes qui gouvernent la présence des protéi-

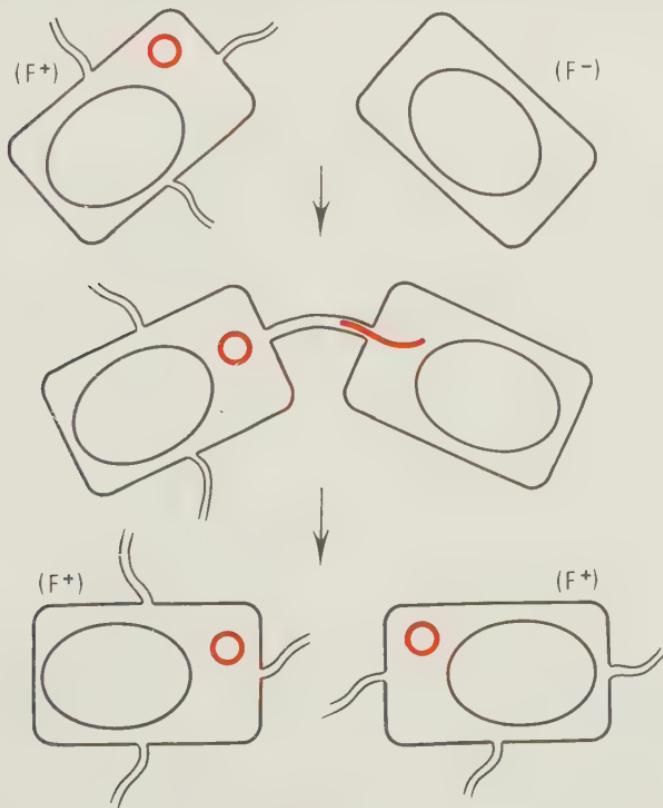


FIG. 12-5. — Conjugaison entre ( $F^+$ ) et ( $F^-$ ).

nes des flagelles et sont donc responsables de la présence de ces pilosités. Lors de la conjugaison, le facteur F se réplique et une copie est transférée à la bactérie ( $F^-$ ) (fig. 12-5). Ce transfert ne dure que quelques minutes. La réceptrice qui a reçu un facteur F devient elle-même ( $F^+$ ) et transmet le facteur à ses descendants. Il suffit de mélanger quelques cellules ( $F^+$ ) à une population de cellules ( $F^-$ ) pour que toutes les cellules ( $F^-$ ) deviennent ainsi en quelques heures des cellules ( $F^+$ ). Les exconjugants désormais ( $F^+$ ) sont à leur tour capables de transférer le facteur F à de nouvelles cellules ( $F^-$ ).

■ **Les (HFR).** — Bien qu'existant normalement à l'état libre dans la cellule, le facteur F peut s'intégrer dans le chromosome bactérien : cette intégration s'effectuerait par un événement de recombinaison de type *crossing-over* entre le grand chromosome circulaire et le petit cercle F (fig. 12-6). On obtient alors des bactéries dont le facteur F est devenu partie intégrante du chromosome et se réplique avec celui-ci. Ces bactéries sont appelées (HFR). Elles conservent la propriété des bactéries ( $F^+$ ) de conjuguer avec des cellules ( $F^-$ ). Au cours de la conjugaison, le facteur F continue à être transféré aux cellules ( $F^-$ ), mais il emmène avec lui le chromosome auquel il est

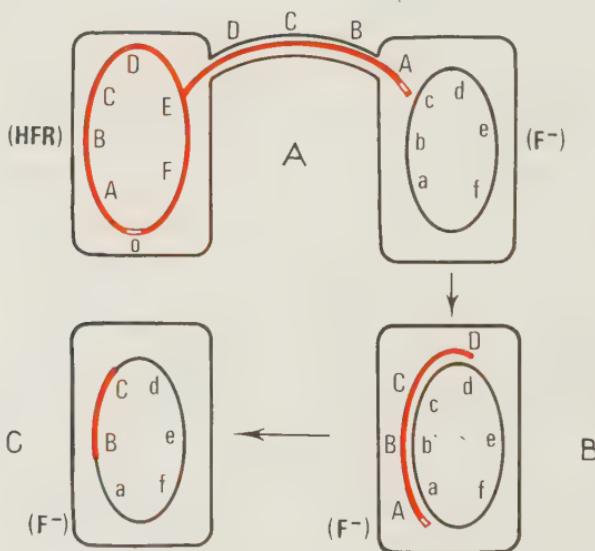


FIG. 12-6. — *Conjugaison entre (HFR) et (F-)*

A — Le chromosome de la bactérie (HFR) pénètre dans la réceptrice ( $F^-$ ) à partir d'une origine O située au niveau du facteur F inséré dans le chromosome.

B — L'exogénote s'apparie à la portion homologue du chromosome récepteur.

C — Plusieurs gènes de la donneuse peuvent s'intégrer dans le chromosome de la réceptrice. Les fragments non intégrés sont perdus.

attaché. Le transfert débute au niveau du facteur F et s'effectue de telle manière que c'est toujours la même portion de chromosome qui pénètre en premier dans la réceptrice. Ce transfert est généralement interrompu avant que le chromosome entier ne soit transmis à la réceptrice. On obtient des diploïdes partiels transitoires qui comportent une partie plus ou moins grande du chromosome de la donneuse. Plus un gène est proche du facteur F inséré, du côté où s'initie le transfert, plus il aura de chances d'être transféré à la réceptrice. Dans un second temps, une partie de l'exogénote est intégrée dans le chromosome de la réceptrice. Les portions non intégrées sont perdues.

En résumé, alors que la bactérie ( $F^+$ ) ne transfère au cours de la conjugaison que son facteur F, la bactérie (HFR) transfère une partie de son chromosome. A l'issue de la conjugaison avec une ( $F^+$ ), la ( $F^-$ ) devient ( $F^+$ ); après une conjugaison avec une (HFR), la ( $F^-$ ) reste ( $F^-$ ). En effet, une portion du facteur F n'est transférée qu'en queue de chromosome : il n'y a donc que très peu de chance pour que le facteur F soit transmis à la bactérie ( $F^-$ ). Le terme « HFR » (Haute Fréquence de Recombinaison) traduit la propriété pour ces cellules de transférer leurs gènes à d'autres cellules avec une probabilité élevée.

■ **Transfert polarisé du chromosome.** — On utilise une lignée (HFR) qui diffère de la ( $F^-$ ) par plusieurs gènes. Prenons l'exemple d'une (HFR) de génotype  $thr^+$ ,  $bio^+$ ,  $trp^+$ ,  $St^S$  et une ( $F^-$ ) de génotype  $thr^-$ ,  $bio^-$ ,  $trp^-$ ,  $St^R$  (= exige la thréonine, la biotine et le tryptophane, résiste à la streptomycine).

Au temps 0, les deux lignées sont mélangées dans les proportions de 20 ( $F^-$ ) pour une (HFR) (de telle manière que toutes les (HFR) aient l'opportunité de conjuguer avec une ( $F^-$ )). A intervalles de temps réguliers, on préleve un échantillon de volume connu (on sait donc combien il contient de (HFR) susceptibles de former un couple). L'échantillon est agité violemment de manière à interrompre la conjugaison en cassant les ponts cytoplasmiques. On divise ensuite l'échantillon en parties égales qui sont étalées sur différents milieux sélectifs. Ces milieux contiennent de la streptomycine, de manière à éliminer les cellules (HFR) et sélectionnent soit les cellules  $thr^+$ , soit les cellules  $bio^+$ , soit les cellules  $trp^+$ . Seules vont pousser les cellules ( $F^-$ ) qui ont reçu le gène correspondant d'une cellule (HFR). On reporte sur un graphique la proportion des ( $F^-$ ) ayant acquis chacun de ces 3 gènes parmi l'ensemble des couples formés.

Les résultats sont reportés dans la figure 12-7. Ils appellent trois remarques :

1. Les  $thr^+$  n'apparaissent que lorsque les conjugaisons sont interrompues plus de 8 mn après la mise en présence des (HFR) et des ( $F^-$ ). Il faut attendre 23 mn pour voir apparaître des  $bio^+$  et 31 mn pour voir apparaître des  $trp^+$ . Ces délais indiquent le temps néces-

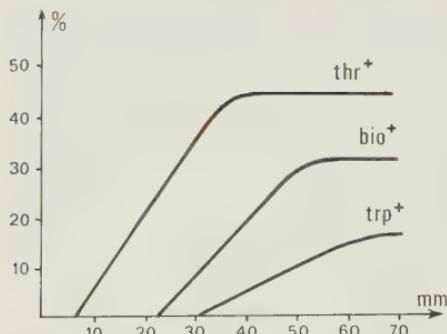


FIG. 12-7. — Pourcentages de bactéries ( $F^-$ )  $thr^+$ ,  $bio^+$ ,  $trp^+$  en fonction du temps dans une expérience de conjugaison interrompue.

saire pour que le transfert du chromosome atteigne le gène considéré. On dira que le gène  $thr^+$  est situé à 8 mn de l'origine du transfert; le gène  $bio^+$  à 23 mn etc.

2. Après un moment, un plateau est atteint pour chaque génotype. Ce plateau correspond à 43 % des ( $F^-$ ) ayant conjugué pour  $thr^+$ , 30 % pour  $bio^+$ , 15 % pour  $trp^+$ . Le fait que le plateau soit d'autant plus bas que le gène est loin de l'origine de transfert traduit une interruption spontanée des conjugaisons. Le nombre de conjugaisons qui se poursuivent jusqu'au transfert de  $trp^+$  est deux fois moins grand que le nombre de celles qui se poursuivent jusqu'au transfert de  $bio^+$ . Pour les gènes les plus proches de l'origine, le plateau est proche de 50 %. Ceci signifie que la probabilité pour qu'un fragment de chromosome donneur s'intègre dans la réceptrice est d'environ 50 %. En l'absence d'intégration, le fragment de chromosome est perdu au cours des divisions qui suivent.

3. Il s'écoule un délai d'environ 30 mn entre le moment où apparaît le premier recombinant et le moment où le plateau est atteint. Ce délai correspond au temps qui s'écoule entre le moment où débute le premier transfert (pour le premier couple formé) et le moment où débute le dernier transfert. Lorsque les bactéries sont mélangées, certains couples se forment immédiatement et le transfert chromosomique débute tout de suite, alors que d'autres couples se forment plus tardivement : dans les cas les plus tardifs, le transfert ne débute qu'à 30 mn après le mélange des cellules.

■ **Cartes chromosomiques.** — Les conjugaisons permettent de dresser des cartes chromosomiques. Les gènes sont ordonnés par rapport à l'origine de transfert du chromosome (c'est-à-dire l'emplacement où s'est intégré le facteur F). L'unité de carte est la minute : deux gènes sont distincts d'une unité de carte lorsqu'ils sont transférés à une minute d'intervalle. La durée du transfert du chromosome entier à 37 °C est d'environ 90 mn. En une minute, entre  $4 \cdot 10^4$  et  $5 \cdot 10^4$  paires de bases sont transférées, soit 30 à 50 gènes.

■ **Diversité des (HFR).** — A partir des ( $F^+$ ), on peut isoler des (HFR) différentes qui se distinguent par l'emplacement où s'est intégré le facteur F dans le chromosome. D'une (HFR) à l'autre, l'origine du transfert sera donc différente. Selon les cas, le facteur F peut s'intégrer dans une direction ou dans l'autre, par rapport à l'orientation du chromosome bactérien. Comme le sens du transfert dépend de l'orientation du facteur F dans le chromosome, il pourra aussi varier d'une (HFR) à l'autre.

■ **Sexduction et facteurs  $F'$ .** — Parallèlement au processus d'intégration du facteur F dans le chromosome (obtention d'une (HFR) à partir d'une ( $F^+$ )), il existe un processus d'excision du facteur F qui permet de reconstituer — à partir d'une (HFR) — une ( $F^+$ ). Le plus souvent, l'excision restitue un chromosome bactérien et un facteur F intacts. Pourtant, dans de rares cas, l'excision est anormale (fig. 12-8). Le facteur F est alors associé à un petit morceau de chromosome bactérien et le chromosome a subi une délétion complémentaire. On appelle  $F'$  ce facteur F anormal. Si le clone ( $F'^+$ ) est mis en présence de bactéries ( $F^-$ ), les cellules conjuguent, le facteur  $F'$  est transféré de la même manière que lors d'une conjugaison ( $F^+ \times F^-$ ) et le fragment de chromosome associé au facteur  $F'$  est

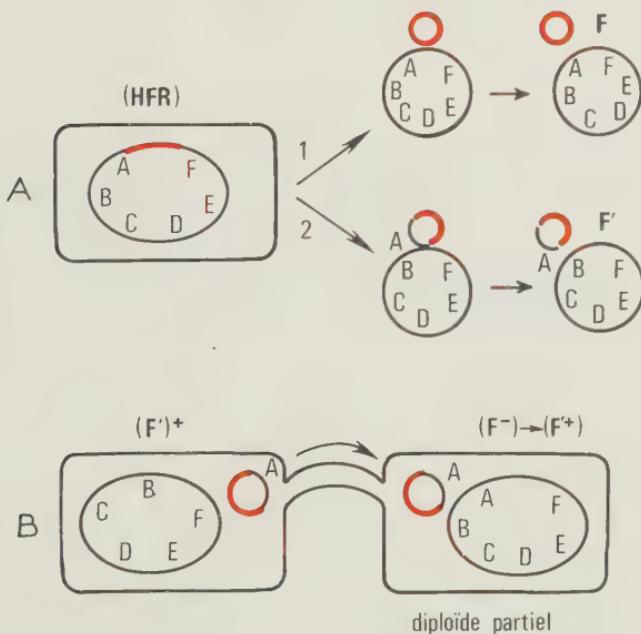


FIG. 12-8. — Facteur  $F'$  et sexduction.

A — Excision normale du facteur F (1). Excision anormale donnant un  $F'$  (2).

B — Transfert par conjugaison du facteur  $F'$  aboutissant à un diploïde partiel.

ainsi *toujours* transféré. La réceptrice devient à son tour ( $F'^+$ ). Elle possède une diploïdie partielle pour la région portée par le facteur  $F'$ . En effet, cette région existe également dans le chromosome de la bactérie. Cette diploïdie partielle sera transmise aux descendants puisqu'aussi bien le facteur  $F'$  que le chromosome se répliquent. La possibilité de créer de cette manière des clones présentant une diploïdie partielle est très importante en génétique bactérienne car elle permet d'effectuer des tests de dominance et des tests de complémentation.

En conclusion, divers processus de parosexualité permettent d'effectuer des transferts de gènes entre deux cellules bactériennes. Dans de rares cas (sexduction) ces transferts permettent de créer des diploïdes partiels. Le plus fréquemment, ces transferts s'accompagnent du remplacement d'une région chromosomique par la région homologue et aboutissent à des cellules haploïdes recombinantes. L'obtention de tels recombinants permet de dresser des cartes génétiques des chromosomes bactériens.

## Ingénierie génétique

### Intérêts

■ ***Amélioration des espèces à intérêt économique.*** — Deux outils étaient utilisés classiquement en agronomie : la mutation et les croisements entre des variétés présentant chacune des caractéristiques intéressantes que l'on tentait de réunir. Ces méthodes ont leurs limites. La mutation ne peut créer — tout au moins à l'échelle de temps de l'expérimentation — de fonctions complètement nouvelles. Les possibilités de réassortiment de caractères au moyen des croisements intervariétaux sont restreintes par les barrières de stérilité qui apparaissent dès que l'on utilise des espèces différentes.

En théorie, l'ingénierie génétique permet un transfert de gènes entre des espèces qui peuvent être très éloignées (y compris d'un règne à l'autre). Le patrimoine génétique d'une espèce peut donc être profondément modifié par l'apport de fonctions qu'elle ne possédait pas. Dans la pratique, ce type d'application présente toutefois de grandes difficultés car pour introduire un nouveau caractère il ne suffit généralement pas d'apporter une nouvelle fonction; encore faut-il que l'expression de cette nouvelle fonction s'intègre de manière harmonieuse dans le fonctionnement général de l'organisme.

■ ***Utilisation de microorganismes pour la fabrication de produits biologiques*** — Cet objectif — moins ambitieux que le précédent — a déjà donné des résultats. Il s'agit de l'introduction dans des

microorganismes (généralement des bactéries) d'un gène d'une autre espèce dont le produit possède une importance économique particulière. Par exemple, dans le domaine de la santé, certaines hormones (insuline, hormone de croissance) sont très coûteuses à produire. Leur synthèse chimique est difficile; elles peuvent être extraites d'espèces de mammifères voisines de l'espèce humaine, mais elles n'existent naturellement qu'en très petites quantités. Si le gène gouvernant la synthèse de ce produit est transféré à une bactérie dans des conditions où il est activement transcrit et traduit, le produit sera fabriqué en quantité importante par des cellules faciles à multiplier. Un avantage supplémentaire de cette méthode réside dans le fait que le gène cloné peut provenir de l'espèce humaine, le produit fabriqué par la bactérie est alors strictement identique à celui que nous synthétisons, ce qui n'est pas forcément le cas s'il est extrait d'une autre espèce.

■ **Amplification de fragments de génome.** — Lorsqu'on transfère un gène — ou une petite fraction du génome total — à une cellule hôte par des méthodes d'ingénierie génétique, cette cellule va ensuite se multiplier en répliquant le fragment d'ADN étranger. On a procédé au «clonage» de ce fragment d'ADN. L'intérêt de ce clonage réside dans la possibilité de séparer facilement du génome de l'hôte le fragment introduit. On peut ainsi obtenir une grande quantité d'une fraction pure correspondant à une toute petite partie du génome total. Les méthodes de séquençage de l'ADN (détermination de la séquence de nucléotides) développées depuis quelques années reposent précisément sur la possibilité de disposer sous forme purifiée d'une grande quantité d'un petit segment d'ADN à séquencer.

Les techniques d'ingénierie génétique ont permis, par exemple, d'effectuer des progrès importants dans la connaissance de la structure du génome ou dans l'analyse des mécanismes de contrôle de l'activité des gènes.

## Méthodes

■ **Nécessité de l'utilisation d'un vecteur.** — On a vu dans le cas de la transformation bactérienne que la seule possibilité de maintien de l'ADN étranger était son intégration dans le chromosome de la cellule hôte: il est alors répliqué avec celui-ci et hérité par les descendants. En l'absence d'intégration, l'ADN perdu est incapable de se répliquer.

Il existe une autre méthode qui n'impose pas que l'ADN étranger s'intègre dans un chromosome de l'hôte pour que la transformation soit effective. Elle consiste à associer les fragments d'ADN à transférer avec un *vecteur* lui-même capable d'autoréplication. Nous allons considérer successivement le problème de la nature des vecteurs utilisés (on va voir qu'il s'agit en fait de *plasmides*) et celui de l'association *in vitro* entre le vecteur et l'ADN à transférer.

■ **Les diverses étapes d'un transfert de gène.** — Les principales étapes utilisées pour transférer un gène (ou un fragment d'ADN) d'une cellule à une autre cellule d'une espèce, identique ou différente, sont les suivantes :

- 1) isolement d'un plasmide vecteur capable de se répliquer dans la cellule hôte;
- 2) association de l'ADN à transférer au plasmide vecteur;
- 3) pénétration du plasmide chimère dans la cellule hôte;
- 4) sélection du gène que l'on désire transférer, ou — ce qui revient finalement au même — sélection des cellules ayant reçu ce gène.

■ **Les plasmides.** — Les plasmides sont de petits chromosomes généralement circulaires, dont l'existence dans la cellule est facultative et qui sont capables de se répliquer de manière autonome. Les premiers plasmides ont été découverts chez les bactéries. Le facteur F répond à la définition des plasmides. D'autres plasmides bactériens portent des gènes conférant la résistance à un ou plusieurs antibiotiques (facteur R). Un troisième type de plasmides porte des gènes codant pour des protéines appelées *colicines* qui tuent spécifiquement les colibacilles. Les bactéries porteuses de ces plasmides particuliers synthétisent simultanément des protéines d'immunité aux colicines; ceci explique que les cellules portant ces plasmides *col* soient insensibles aux colicines qu'elles produisent.

Les phages tels que *lambda* peuvent exister à l'état libre dans les cellules bactériennes et être transmis ainsi aux cellules descendantes. Il suffit que leur chromosome porte une délétion ôtant les gènes responsables de la maturation du virion tout en conservant les gènes nécessaires à la réplication. On obtient alors un autre type de plasmide, sous forme d'un fragment d'ADN qui « parasite » une cellule hôte sans tuer celle-ci.

Des plasmides peuvent aussi exister chez les eucaryotes. Ainsi, dans la levure de boulanger, on a mis en évidence un plasmide appelé « cercle 2 microns » du fait de sa taille, qui est présent dans la plupart des lignées cellulaires. Dans les cellules des organismes

supérieurs, on peut aussi créer des plasmides à partir de virus dont on n'a conservé que les fonctions permettant leur réPLICATION auto-nome.

Dans une cellule, le plasmide peut exister en un grand nombre d'exemplaires : l'ADN correspondant peut donc constituer une portion importante de l'ADN total. Les caractéristiques physiques de l'ADN plasmidique : circularité, petite taille, permettent en outre de le séparer assez facilement des autres ADN cellulaires. On peut ainsi obtenir une fraction pure d'ADN plasmidique.

### ■ *Réalisation in vitro d'un plasmide chimérique*

► ENZYMES DE RESTRICTION. — Les cellules bactériennes produisent des nucléases particulières qui ont la propriété de couper l'ADN en petits fragments de quelques centaines à quelques milliers de paires de bases. Il s'agit des « enzymes de restriction ». Ces enzymes reconnaissent dans l'ADN de courtes séquences de nucléotides qui déclenchent leur activité de coupure. Il existe de nombreux enzymes de restriction différents, chacun reconnaissant une séquence cible spécifique (composée le plus souvent de quatre ou de six paires de bases). Les bactéries qui produisent un enzyme de restriction possèdent également un système enzymatique particulier appelé enzymes de modification qui apporte un groupement chimique protecteur (par exemple, un groupement méthyle) sur les bases de leur ADN : les séquences cibles ainsi modifiées ne sont plus reconnues par l'enzyme de restriction.

Les séquences cibles ou *sites de restriction* présentent la propriété de posséder sur les deux brins complémentaires la même suite de nucléotides lorsque ces brins sont lus dans la direction 5' → 3', c'est-à-dire en partant de chaque extrémité (fig. 12-9 A). On parle encore de séquences palindromiques. Du fait des propriétés de complémentarité des bases, ces séquences possèdent une symétrie qui permet la formation de boucles par l'appariement entre les deux moitiés de chaque brin (fig. 12-9 B). Pour certains enzymes de restriction, chaque brin est coupé au niveau de la séquence cible, mais les deux coupures sont décalées (fig. 12-9 C). On obtient ainsi des fragments d'ADN dont les deux extrémités sont constituées par un brin qui possède toujours la même suite de nucléotides (fig. 12-9 D). On parle encore de « bouts collants » car ces morceaux peuvent se réassocier par le jeu des liaisons H qui peuvent s'effectuer entre ces extrémités simple brin (fig. 12-10). Ces liaisons sont faibles et transitoires car le nombre de bases complémentaires est petit. Il est possible de stabiliser ces associations en rétablissant la continuité des brins grâce à l'enzyme *polynucléotide ligase* qui permet la constitution de liaisons covalentes phosphodiester entre les brins de chaque fragment.

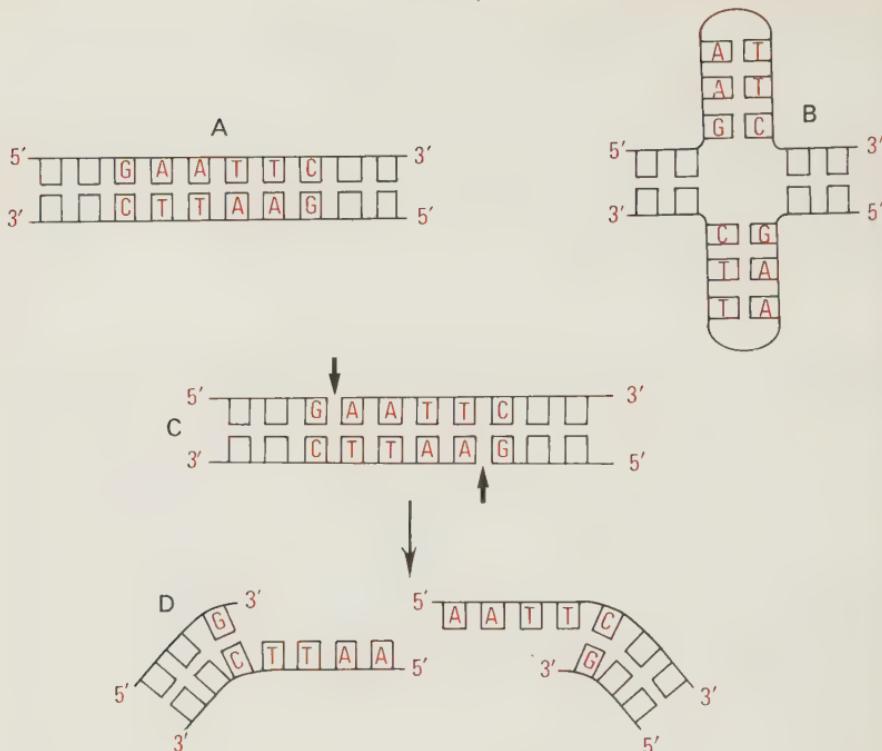


FIG. 12-9. — Coupure de l'ADN par les enzymes de restriction.  
 A — Exemple d'une séquence de restriction (reconnue par l'enzyme de restriction ECO R1).  
 B — Du fait de leur nature palindromique, les séquences de restriction peuvent s'apparier sur elles-même le long d'un même brin.  
 C — Coupures (flèches).  
 D — Obtention de « bouts collants » de même séquence.

► ASSOCIATION DE L'ADN À UN VECTEUR. — Le principe est le suivant : on choisit un plasmide possédant un site unique pour l'enzyme de restriction donné. L'enzyme de restriction va couper le plasmide en le transformant en fragment linéaire muni de deux bouts collants. On mélange ensuite le plasmide coupé avec de l'ADN à transférer, coupé en fragments par le même enzyme de restriction. On ajoute au mélange de la polynucléotide ligase. L'association de fragments d'ADN au plasmide vecteur peut ainsi être réalisée *in vitro*.

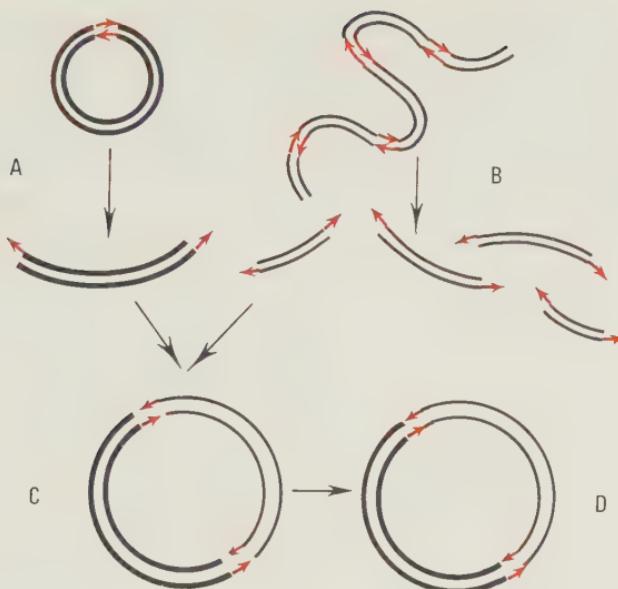


FIG. 12-10. — Association d'ADN à un vecteur.

A — Le plasmide vecteur est linéarisé à la suite de la coupure par un enzyme de restriction spécifique (le site de restriction est symbolisé en rouge).

B — L'ADN à cloner est coupé par le même enzyme de restriction en de nombreux fragments.

C — Le vecteur et les fragments d'ADN s'associent par l'intermédiaire de bouts collants.

D — La continuité des brins est rétablie grâce à l'action d'une polynucléotide ligase.

D'autres techniques d'association font appel à la synthèse *in vitro* de bouts collants artificiels sur le plasmide et sur les fragments d'ADN à insérer.

■ **Pénétration du vecteur dans la cellule hôte.** — Ce problème est généralement résolu en perméabilisant artificiellement la membrane de la cellule hôte. Chez le colibacille, les cellules sont rendues aptes à recevoir l'ADN étranger par un séjour en présence de  $\text{CaCl}_2$ . Chez les cellules possédant une paroi cellulaire, celle-ci est supprimée auparavant par un passage dans un milieu contenant des enzymes lytiques appropriés. On peut aussi utiliser des membranes lipidiques artificielles; si on forme ces membranes en présence de l'ADN à transférer, elles constituent des vésicules fermées qui entourent les fragments d'ADN. Ces *liposomes* sont capables de fusionner avec les membranes des cellules. La phase interne des liposomes se trouve alors en continuité avec le cytoplasme cellulaire et l'ADN peut ainsi pénétrer dans la cellule.

■ **Sélection d'un clone cellulaire contenant un fragment d'ADN étranger donné.** — Il s'agit d'abord de repérer quelles sont les cellules hôtes qui ont reçu un vecteur chimérique à la suite d'une expérience de transformation. Il existe pour cela plusieurs méthodes. Une de ces méthodes consiste à utiliser des plasmides porteurs de gènes conférant la résistance à des antibiotiques et des bactéries hôtes sensibles aux antibiotiques (fig. 12-11).

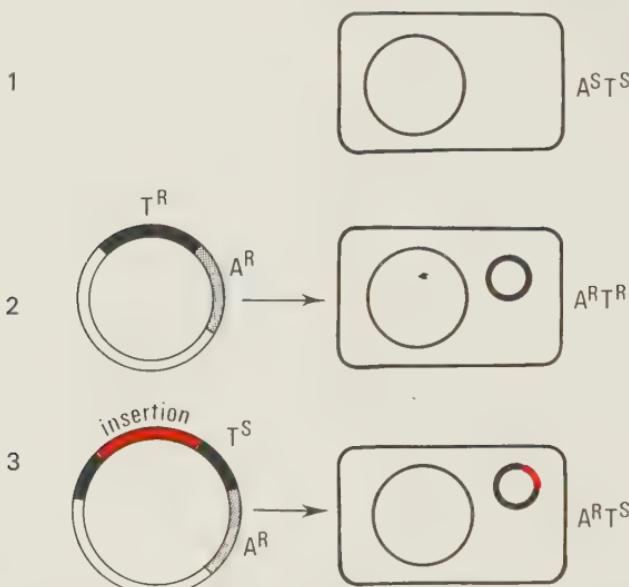


Fig. 12-11. — Sélection d'un clone cellulaire contenant un plasmide mixte. Le plasmide porte deux gènes de résistance à A et à T. Le site de restriction est situé dans le gène T. 1 — la cellule réceptrice  $A^{ST^S}$  n'a pas reçu de plasmide. 2, 3 — les cellules ont reçu un plasmide ( $A^R$ ); en 2 les cellules sont aussi  $T^R$  : le plasmide n'a pas inséré l'ADN étranger; en 3 les cellules sont  $T^S$  : le plasmide a inséré un morceau d'ADN étranger.

Soit par exemple un plasmide porteur de gènes  $A^R$  et  $T^R$  (résistance à l'ampicilline et résistance à la tétracycline) dont le site de restriction est situé à l'intérieur du gène  $T^R$ . Si, à la suite de la transformation les bactéries sont étalées sur un milieu contenant de l'ampicilline, seules les bactéries ayant reçu un plasmide poussent. On peut alors répliquer les colonies obtenues sur un milieu contenant de la tétracycline : les cellules ayant reçu un plasmide contenant un fragment d'ADN étranger inséré à l'intérieur du gène  $T^R$  ne pousseront pas sur tétracycline car le gène  $T^R$  sera rendu inactif par l'insertion : il suffit de récupérer sur le milieu additionné d'ampicilline les colonies sensibles à la tétracycline pour constituer une « banque ». Chaque colonie contient un fragment particulier d'ADN cloné.

L'étape suivante consiste à sélectionner parmi les différentes colonies constituant la banque, laquelle porte le gène (ou le segment d'ADN) recherché. Il existe pour cela des méthodes variées. Si le gène recherché est susceptible de s'exprimer normalement dans la cellule hôte, on peut utiliser des cellules hôtes déficientes pour ce gène et rechercher des cellules transformées qui auraient retrouvé la fonction manquante grâce à l'introduction du gène correspondant provenant de l'autre espèce. Si le gène n'existe pas naturellement dans la cellule hôte, sa présence peut aussi être repérée grâce à la synthèse dans la cellule hôte d'un produit d'activité spécifique du gène. Souvent, surtout lorsque la cellule hôte diffère beaucoup de la cellule donneuse, la cellule hôte est incapable soit de transcrire, soit de traduire le gène étranger. Il faut alors faire appel à d'autres méthodes. Beaucoup de méthodes sont basées sur l'utilisation de sondes moléculaires (fig. 12-12). Par exemple, on peut utiliser, si on le

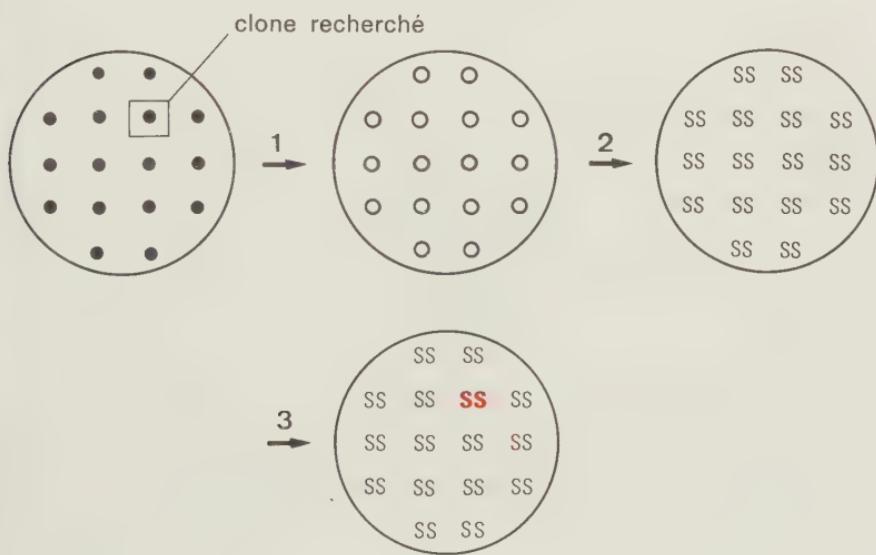
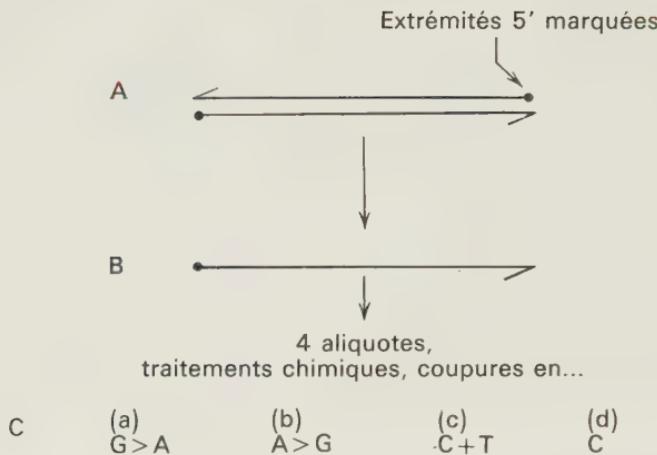


FIG. 12-12. — Recherche d'une séquence d'ADN au moyen d'un ARN marqué complémentaire.

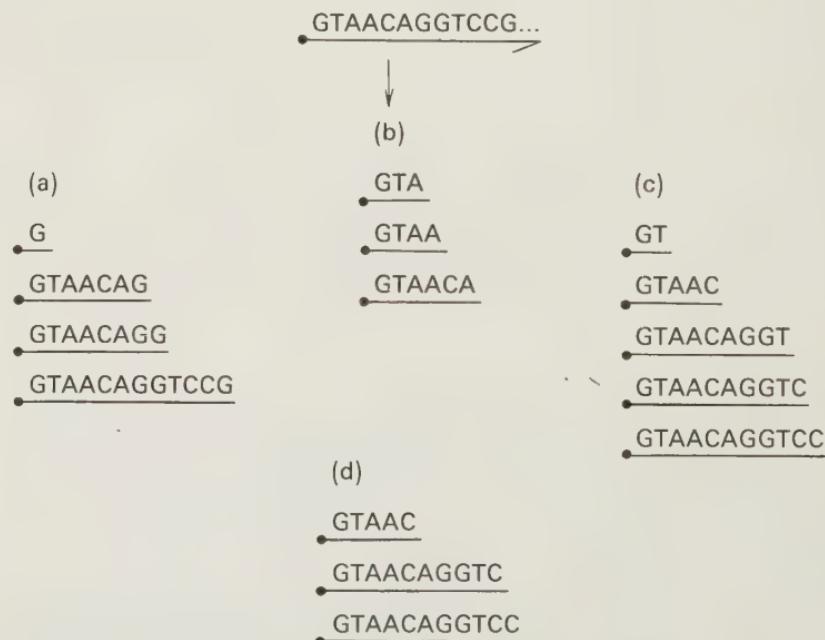
1 — Les colonies possédant un plasmide porteur d'ADN étranger sont transférées sur des boîtes de Pétri, puis répliquées. À partir des boîtes de réplique, on transfère les colonies sur un papier filtre.

2 — On lyse des colonies sur place et on traite de manière à fixer l'ADN au filtre.

3 — On dénature l'ADN fixé, on le met en présence de la souche radioactive. Si l'ADN correspondant est présent à l'emplacement d'une colonie, il y a hybridation entre l'ADN et l'ARN radioactif par le jeu des bases complémentaires. Cet emplacement est repéré par sa radioactivité. Il suffit alors de prélever la colonie correspondante sur la boîte originelle pour posséder le clone comportant l'ADN recherché.



D

Exemple

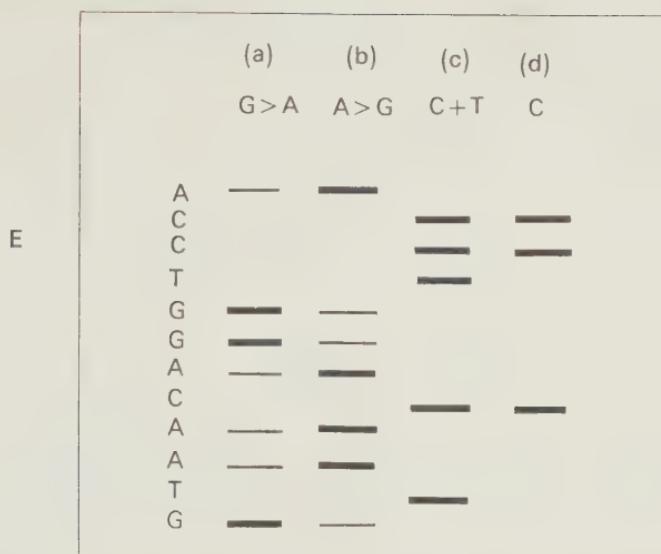


FIG. 12-13. — Une méthode de séquençage de l'ADN

A. — Le fragment de molécule d'ADN à séquencer est amplifié. Après purification, ses extrémités 5' sont marquées radioactivement avec du  $^{32}\text{P}$  ou du  $^{35}\text{S}$ .

B. — Après dénaturation, un des brins est purifié.

C. — Quatre fractions sont constituées. Chacune est soumise à un traitement qui clive le brin au niveau d'un type de base particulier : (a). Une fraction est coupée en G (fréquemment) et en A (rarement) ( $\text{G} > \text{A}$ ).

(b) Une fraction est coupée en A (fréquemment) et en G (rarement) ( $\text{A} > \text{G}$ )

(c) Une fraction est coupée en C et en T ( $\text{C} + \text{T}$ )

(d) Une fraction est coupée en C (C).

D. — Le traitement est tel que dans chaque fraction, chaque brin est coupé en moyenne une fois, de manière aléatoire : les différents fragments obtenus (possédant l'extrémité marquée) sont représentés pour chaque traitement.

E. — Chacune des fractions est soumise à une électrophorèse : les fragments migrent dans le champ électrique en fonction de leur taille, les plus courts migrant le plus vite. On observe pour chaque fraction des bandes caractéristiques reflétant la taille des différents fragments obtenus. Cette taille reflète elle-même la position des bases présentes aux sites de clivage. On peut ainsi reconstituer en comparant la position des bandes dans les quatre pistes, la séquence des nucléotides (ici, la lecture de bas en haut correspond à la séquence des nucléotides dans la direction 5' → 3').

possède déjà à l'état purifié, l'ARNm codé par le gène recherché. Les colonies contenant les segments d'ADN non identifiés sont transférées sur des filtres spéciaux qui ont la propriété de fixer l'ADN ; les cellules sont lysées *in situ*, leur ADN est dénaturé et les filtres sont placés en contact d'une solution contenant l'ARNm. Si une colonie contient le plasmide associé au gène correspondant, l'ARNm s'hybride avec l'ADN du gène et l'emplacement où se trouvait la colonie sur le filtre devient radioactif.

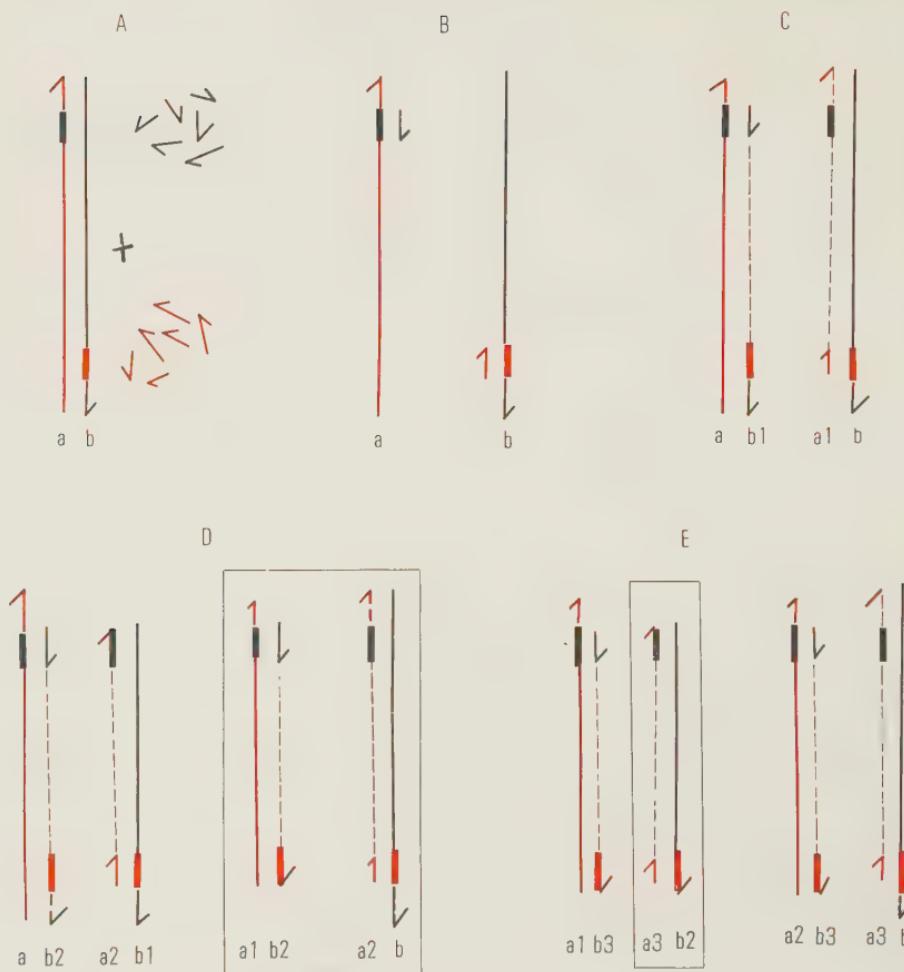


FIG. 12.14. — Amplification d'ADN *in vitro*

A. — Le segment d'ADN à amplifier est mis en présence d'un très fort excès d'oligonucléotides et d'une ADN polymérase résistant à des températures élevées. Sur chaque brin de la molécule à amplifier, la portion complémentaire de l'oligonucléotide correspondant est représentée en traits épais, de couleur différente du reste du brin. Chaque oligonucléotide est représenté de la même couleur que la portion de brin complémentaire à laquelle il s'associe.

B. — L'ADN à amplifier est dénaturé par la chaleur, puis le mélange est refroidi. Ceci permet l'hybridation des oligonucléotides (en excès) avec chaque brin de la molécule à amplifier.

C. — L'ADN polymérase copie chaque brin à partir de l'extrémité 3' des oligonucléotides qui servent d'amorce : les chaînes complémentaires a1 et b1 sont ainsi synthétisées.

D. — Après un nouveau cycle de dénaturation-renaturation, un nouveau cycle de synthèse est initié : on aboutit à la synthèse d'une seconde génération de brins (a2 et b2).

D'autres méthodes sont basées sur une sélection du gène à cloner avant l'association au vecteur. Ces méthodes ne seront pas détaillées ici.

## Génétique moléculaire

### Séquencer l'ADN

La possibilité d'obtenir en grande quantité un segment d'ADN permet de déterminer la séquence des nucléotides qui constitue chaque brin complémentaire de cet ADN. Il existe plusieurs méthodes de séquençage.

Un exemple est donné dans la figure 12.13.

Le séquençage de l'ADN est un outil très largement utilisé, qui a de multiples intérêts. Après le clonage d'un gène, il est ainsi possible de déterminer (grâce au code génétique) quelle est exactement la séquence des acides aminés de la chaîne polypeptidique codée par ce gène. Il se peut aussi que l'on ait isolé et amplifié une portion du génome dont on ignore le contenu génétique : le séquençage de cette portion peut permettre de prédire si elle contient un ou plusieurs gènes.

Le séquençage de gènes homologues isolés à partir d'espèces différentes permet également de comparer les deux séquences de nucléotides. Ce type d'analyse est un outil important dans le domaine de l'étude de l'évolution. On peut en effet établir de cette manière des phylogénies moléculaires. La construction de ces phylogénies est basée sur l'idée que plus ces deux gènes ont divergé il y a longtemps à partir d'un même gène ancêtre, moins le pourcentage d'identité entre les deux séquences sera élevé, les mutations s'accumulant au cours du temps. Les arbres phylogénétiques établis d'après les comparaisons de séquences de nucléotides peuvent être comparés à ceux établis à partir des données morphologiques ou anatomiques. Ils enrichissent considérablement notre compréhension des relations phylogénétiques entre les êtres vivants.

---

(suite de la légende, fig. 12.14)

E. — La troisième génération de synthèse (seules sont représentées les synthèses effectuées à partir des molécules de seconde génération encadrées en D) aboutit à des molécules dont la taille correspond au segment situé entre les deux portions complémentaires des oligonucléotides (a3 b2). Chaque nouveau cycle de synthèse double le nombre de molécules d'ADN. Des amplifications par des facteurs supérieurs à  $10^6$  peuvent ainsi être obtenues après quelques dizaines de cycles.

## Amplification de l'ADN *in vitro*

On a vu que, grâce aux plasmides, il était possible d'amplifier des fragments choisis de molécule d'ADN. L'amplification de fragments d'ADN peut aussi être effectuée *in vitro*, grâce à la méthode du « PCR », qui signifie en anglais : « Polymerase Chain Reaction », c'est-à-dire « réaction en chaîne par l'ADN polymérase ». Le principe de cette méthode est indiqué dans la figure 12.14 : il est basé sur l'utilisation d'oligonucléotides (synthétisés *in vitro*) complémentaires de chacun des brins de la portion d'ADN à amplifier. Ces oligonucléotides servent d'amorces à la synthèse *in vitro* de nouveaux brins d'ADN fils. On peut effectuer plusieurs cycles successifs de synthèse. Chaque cycle multiplie par deux la quantité du fragment d'ADN. Plusieurs milliards de molécules filles peuvent être obtenus en quelques heures à partir d'une seule molécule. Cette technique d'amplification d'ADN *in vitro* a de multiples applications. L'échantillon d'ADN amplifié peut être pur, ou bien faire partie d'un mélange complexe de fragments d'ADN variés. On peut par exemple amplifier un fragment d'ADN à partir de l'ADN total extrait d'un organisme. Cette amplification peut être opérée à partir d'un petit échantillon (cheveu, sang séché), ou bien d'un échantillon très ancien (momie, fossile). Cette technique a des applications en médecine légale (on amplifie des régions du génome très polymorphes, afin de caractériser l'« empreinte génomique » spécifique d'un individu), et dans l'étude des populations et de l'évolution des êtres vivants. Elle est aussi utilisée dans le clonage de gènes : si la séquence nucléotidique d'un gène a été déterminée, on peut utiliser l'amplification *in vitro* pour cloner le gène homologue d'un autre organisme, dans la mesure où la divergence entre les séquences de nucléotides de ces gènes n'a pas affecté les régions complémentaires des oligonucléotides utilisés pour l'amplification. Potentiellement, cette méthode permet de réaliser des études génétiques en utilisant des gamètes (par exemple des spermatozoïdes), puisque un fragment d'ADN unique peut être amplifié grâce à cette méthode, puis analysé ultérieurement.

## Éléments génétiques mobiles

### Séquences d'insertion et transposons

Très longtemps, on a considéré que le matériel génétique était stable, à de rares mutations près. Les arguments plaident pour cette stabilité ont été exposés dans le premier chapitre. Pourtant, on a mis en évidence depuis quelques années une particularité assez étonnante de l'ADN : il existe des séquences particulières dont la taille varie de quelques centaines à quelques milliers de nucléotides et qui sont capables de se déplacer d'un endroit à l'autre du génome.

Ces éléments mobiles ont été d'abord caractérisés chez les bactéries où ils se classifient en deux catégories, selon leur taille. Les éléments

les plus petits contiennent une information génétique qui joue un rôle dans leur déplacement : on les appelle *séquences d'insertion*. Les éléments les plus grands (quelques kb) comportent en outre un ou plusieurs gènes qui sont impliqués dans des fonctions totalement différentes (par exemple, des gènes conférant la résistance à un antibiotique) : on les appelle *transposons*.

La transposition de ces éléments peut s'effectuer en de très nombreux endroits du génome, ce qui implique qu'il n'y a pas d'homologie de séquence de nucléotides nécessaire entre la séquence transposée et le site cible. Pour certains éléments mobiles, la transposition s'accompagne d'une duplication, ce qui aboutit à la fin du processus à la présence simultanée de l'élément au site de départ et au site cible. D'autres éléments, se déplacent sans se dupliquer (fig. 12.15).

L'existence de transposons a été mise en évidence chez de nombreux organismes eucaryotes. Avant d'être découverts chez les bactéries, leur existence avait d'ailleurs été d'abord postulée chez le maïs, à la suite d'études génétiques.

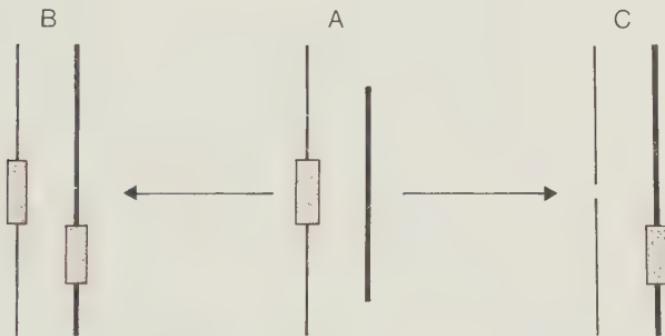


FIG. 12.15. — *Transposition*. L'élément mobile, initialement localisé sur un chromosome (A) se trouve localisé sur un autre chromosome après la transposition (B,C). Selon le type d'élément, à la fin du processus, l'élément est encore présent au site de départ (transposition réplicative (B), ou bien n'est plus présent au site de départ (transposition conservative) (C).

L'insertion d'un élément mobile dans un gène entraîne généralement son inactivation. La transposition est donc génératrice de mutations qui sont complètement différentes des mutations ponctuelles de type substitution de base ou gain/perte d'un petit nombre de nucléotides évoquées au chapitre 11. De fait, une proportion non négligeable des mutations spontanées résulte en fait de l'insertion d'un élément mobile.

Une propriété fréquente de ces mutations est leur instabilité : le transposon peut en effet s'exciser spontanément de l'endroit où il était inséré, rétablissant ainsi une séquence sauvage. Ceci aboutit à une réversion vers le type sauvage qui, pour certaines insertions, peut se faire avec une fréquence élevée.

## Rétrotransposons, rétrovirus et pseudogènes

La transposition des éléments mobiles bactériens (et de leurs équivalents eucaryotes) implique directement l'ADN. On a mis en évidence chez de très nombreux eucaryotes (champignons, drosophile, mammifères, etc...) une autre classe d'éléments mobiles, appelés *rétrotransposons*, dont la transposition s'effectue par l'intermédiaire de leur ARN. L'ARN obtenu après la transcription de ces rétrotransposons est copié par un enzyme appelé *transcriptase réverse*, qui a la propriété de permettre la synthèse d'un brin d'ADN à partir d'un brin matrice ARN. Ce brin d'ADN est à son tour copié : on obtient ainsi un ADN duplex qui est une réplique exacte de la séquence du rétrotransposon et qui a la capacité de s'intégrer en des endroits variés du génome.

Il existe une classe particulière de virus dont le cycle de vie rappelle les modalités de déplacement des rétrotransposons. Il s'agit de virus à ARN simple brin qui sont copiés en ADN par la transcriptase réverse, puis vont s'intégrer sous la forme ADN dans le génome de la cellule hôte (fig. 12.16). On les appelle *rétrovirus*. Les rétrovirus et les rétrotransposons présentent d'importantes similitudes structurales. Leur différence essentielle consiste dans la capacité des rétrovirus de coder des protéines de capsid qui leur permettent d'exister à l'état libre et d'infecter de nouvelles cellules hôtes. Certains rétrovirus (comme le virus de la tumeur mammaire de la souris, ou le virus du sarcome de Rous) sont cancérogènes.

L'existence d'une activité de type « transcriptase réserve » peut avoir une autre conséquence, chez les eucaryotes. Ces enzymes peuvent effectuer une copie ADN à partir d'un ARN messager. Si cette copie s'intègre accidentellement dans un chromosome, on obtient une extra-copie du gène. Cette extra-copie est inactive, puisque elle ne comporte pas les régions promotrices et terminatrices de transcription (celles-ci ne sont pas transcrives et donc absentes dans les ARN). On appelle ces extra-copies *pseudogènes*. Les pseudogènes se différencient des gènes actifs non-seulement par l'absence de promoteur et de terminateur, mais aussi par l'absence d'introns. En effet, ils proviennent en général de la copie réverse d'ARN messagers matures.

En conclusion, malgré leur grande stabilité, les génomes sont susceptibles de changements correspondant à l'insertion ou à l'excision de séquences d'ADN variées (transposons, rétrotransposons, rétrovirus, pseudogènes). Ces changements sont eux-mêmes générateurs de mutations. Ils pourraient bien avoir joué un rôle non négligeable dans l'évolution des génomes.

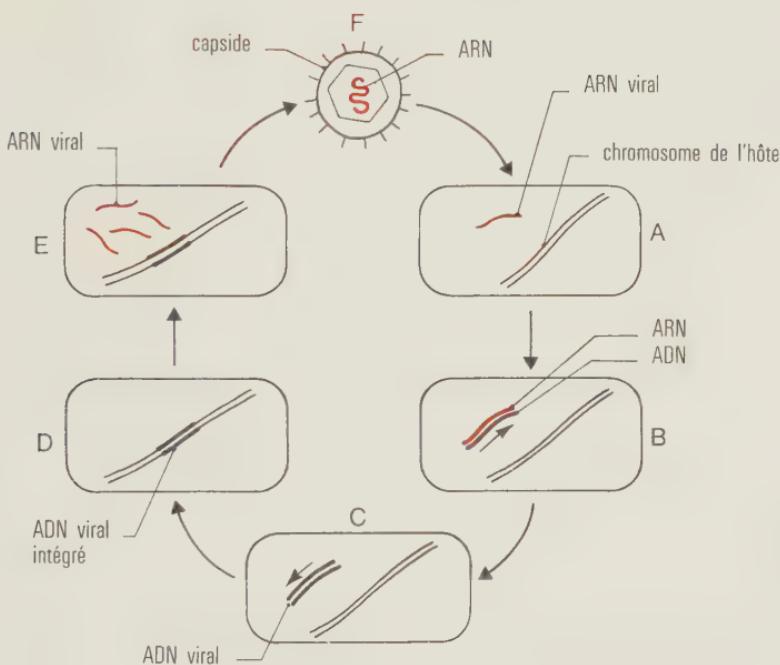


FIG. 12.16. — Cycle de vie d'un rétrovirus

- Entrée de l'ARN viral dans la cellule hôte.
- Synthèse d'un brin d'ADN complémentaire par la transcriptase réserve (codée par l'ARN viral).
- Synthèse d'un second brin d'ADN complémentaire du premier.
- Intégration de l'ADN dans le chromosome de l'hôte.
- Transcription d'ARN viral à partir de l'ADN intégré.
- Synthèse des protéines virales formant la capside, libération du virion qui peut aller infecter une nouvelle cellule.



# 13

## Éléments de génétique des populations

Jusqu'à présent, les gènes ont été envisagés au niveau des individus, dans l'optique de leur transmission aux descendants. La vision va maintenant être élargie aux populations d'individus. Une population sera définie comme un groupe de reproduction tel que la majorité des individus choisit son conjoint à l'intérieur du groupe.

Dans une population, chaque gène existe en un très grand nombre d'exemplaires et non pas en deux exemplaires (comme dans une cellule). Ceci amène à se poser plusieurs questions :

— Dans une population, existe-t-il un seul état allélique largement prédominant de chaque gène, ou bien existe-t-il plusieurs états alléliques ?

— S'il existe plusieurs états alléliques, peut-on relier la fréquence des différents allèles à celle des différents génotypes diploïdes chez les individus appartenant à la même population ?

— Cette fréquence est-elle constante d'une génération à l'autre ? Par quels facteurs est-elle déterminée ?

### Polymorphisme des populations

■ **Notion de polymorphisme.** — On a parlé jusqu'à maintenant d'allèle sauvage d'un gène par opposition à l'allèle mutant. L'allèle sauvage est défini comme l'allèle de référence qui existe dans la

population naturelle. Cette définition sous-entend que dans ces populations les allèles mutants n'existent pas ou bien qu'ils existent à des fréquences très faibles de l'ordre de grandeur des fréquences de mutation. L'existence des allèles mutants dans les laboratoires peut en effet être considérée comme résultant d'une sélection par l'expérimentateur de rares mutations qui sont ensuite fixées dans les lignées pures par les méthodes génétiques appropriées.

Cette notion toute théorique de populations naturelles dans lesquelles les individus posséderaient la plupart de leurs gènes à l'état homozygote sauvage correspond-elle à la réalité? Une réponse intuitive à cette question est apportée par la simple observation de la population humaine qui nous environne. Il est clair qu'il existe une grande variabilité entre les individus et que cette variabilité a des composantes génétiques. La notion d'« air de famille » relève de ce type d'observation. Plus précisément, on a montré depuis longtemps que plusieurs systèmes de groupes sanguins contrôlés par un gène existent sous plusieurs états alléliques : facteur rhésus, groupe MN, groupe ABO, par exemple.

Ce type de réponse pourrait pourtant ne correspondre qu'à un tout petit groupe de gènes — qui auraient précisément été mis en évidence parce qu'ils existaient sous plusieurs états alléliques — et la très grande majorité des gènes pourrait n'exister que sous une seule forme. La détermination d'un polymorphisme génétique éventuel des populations nécessite que l'on puisse tester de manière systématique un échantillon représentatif de gènes pour l'existence éventuelle de plusieurs états alléliques.

■ ***Mesure du polymorphisme.*** — Une méthode assez simple de mesure du polymorphisme consiste à étudier le phénotype au niveau des protéines, c'est-à-dire au niveau des produits directs d'activité des gènes. Si, à la suite d'une mutation (par exemple la substitution d'une paire de bases dans l'ADN), un codon est modifié, cette modification entraînera le remplacement d'un acide aminé par un autre dans la protéine contrôlée par ce gène. Ce remplacement peut conduire à une protéine inactive qui se traduira éventuellement par une modification importante du phénotype au niveau de l'individu, il peut aussi intéresser un acide aminé non essentiel. La mutation n'affectera alors pas du tout — ou pas de manière décelable — l'activité de la protéine. Pourtant, le remplacement d'un acide aminé par un autre peut aboutir à une modification de la charge électrique globale de la protéine. Si on fait migrer une protéine dans un champ électrique, la vitesse et le sens de migration dépendront de la charge électrique : une variation de cette charge se traduira par une variation des caractéristiques de migration.

Dans les conditions standard, l'endroit auquel aura migré la protéine à la fin de l'électrophorèse sera donc différent pour la protéine initiale et la protéine mutée : on parlera d'alloenzymes (fig. 13-1).

FIG. 13.1. — *Polymorphisme enzymatique.*

1. Protéine sauvage issue d'un homozygote  $aa$ . 2. Protéine mutante issue d'un homozygote  $a'a'$ . 3. Protéine issue d'un hétérozygote  $aa'$ .

Une telle méthode a plusieurs avantages. Tout d'abord, elle permet de déceler des variations phénotypiques indétectables au niveau plus grossier de l'observation des caractères de l'individu. On pourra ainsi distinguer des formes variées d'une même protéine correspondant à divers allèles du gène correspondant. A partir d'un seul individu, selon que la protéine étudiée migre à un seul endroit ou à deux emplacements différents, on pourra conclure que cet individu est homozygote ou hétérozygote pour le gène correspondant. L'étude de nombreuses protéines différentes permettra d'obtenir des informations sur autant de gènes.

■ **Conclusions.** — Ce type d'étude a été effectué sur de nombreuses espèces et les principales conclusions obtenues sont les suivantes :

- Une proportion non négligeable de gènes existe sous plusieurs états alléliques à l'intérieur d'une population naturelle. On parle de « gènes polymorphes ».
- Le nombre d'allèles différents existant avec des fréquences suffisamment élevées (supérieures à 0,01) à l'intérieur d'une population naturelle peut atteindre ou même dépasser 5 pour certains gènes polymorphes.

Ce chiffre est probablement sous-estimé car des différences entre protéines peuvent ne pas être détectées par la méthode de l'électrophorèse. De plus, on ne tient compte que des formes alléliques relativement fréquentes. Si on s'intéresse à des allèles existant avec des fréquences très faibles, leur nombre est probablement beaucoup plus élevé. Par exemple, on connaît un très grand nombre de globinopathies héréditaires chez l'homme (hémoglobines anormales). Pour la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine, contrôlée par un seul gène, on connaît plusieurs dizaines de variants alléliques, mais chacun de ces variants est très rare. Ceci n'a rien de très étonnant car il existe de nombreuses modifications différentes possibles d'une même chaîne polypeptidique conduisant à son inactivation partielle ou totale.

- L'existence de gènes polymorphes a pour conséquence que chaque individu est hétérozygote pour un assez grand nombre de gènes. On a avancé une fréquence de gènes hétérozygotes par individu d'environ 0,12 chez *Drosophila melanogaster* et d'environ 0,07 chez l'homme; mais ces chiffres ne peuvent être qu'indicatifs car l'échantillonnage de gènes étudiés n'est pas forcément représentatif de la totalité des gènes.

## Fréquence des allèles et des génotypes

S'il existe un polymorphisme génétique, on s'attend à rencontrer dans une population d'individus diploïdes différents génotypes possibles pour un gène donné. Quelle relation y a-t-il entre la fréquence des allèles et la fréquence des génotypes? Comment ces fréquences évoluent-elles à travers les générations successives?

Pour répondre à ces questions nous allons nous placer dans une situation simple :

- les gènes considérés sont autosomaux;
- ils existent sous deux états alléliques possibles;
- la population considérée est *panmictique*, c'est-à-dire que le choix des géniteurs s'effectue indépendamment de leur génotype ou de leurs liens de parenté : les croisements se font au hasard;
- la taille de la population est suffisamment grande pour que l'on puisse négliger les fluctuations aléatoires de la fréquence des gènes.

■ **Loi de Hardy-Weinberg.** — Plaçons-nous tout d'abord dans la situation hypothétique où les mutations n'existent pas et où la sélection n'intervient pas : tous les gamètes, quel que soit leur génotype, ont la même chance de participer à la fécondation; tous les œufs ont la même probabilité de donner un individu adulte; tous les individus en âge de se reproduire sont également fertiles.

Appelons  $a$  et  $a'$  les deux allèles du gène considéré.

A la génération  $n$ , appelons  $p$  la fréquence des gamètes  $a$  et  $q$  celle des gamètes  $a'$ . Puisque le gène n'existe que sous les états  $a$  ou  $a'$  et qu'il s'agit de fréquences, par définition,  $p + q = 1$ . Si les couples se constituent au hasard, la fréquence des trois génotypes possibles est donnée par la formule  $[p(a) + q(a')]^2$ , matérialisée dans le tableau 13-1, soit  $p^2$  individus de génotype  $aa$ ,  $2pq$  individus de génotype  $aa'$  et  $q^2$  individus de génotype  $a'a'$ .

A la génération  $n + 1$ , la fréquence des gamètes  $a$  sera égale à  $p^2 + pq$ . En effet, les homozygotes  $aa$  ne donnent que des gamètes  $a$

TABLEAU 13-1. — Proportion des divers génotypes attendus en génération  $n + 1$  si la fréquence des gamètes  $a$  et  $a'$  est respectivement égale à  $p$  et  $q$  à la génération  $n$

		Gamètes femelles	
		$p$	$q$
		$a$	$a'$
Gamètes mâles	$p$	$p^2$ $aa$	$pq$ $aa'$
	$q$	$pq$ $a'a$	$q^2$ $a'a'$

( $p^2$ ) et les hétérozygotes  $aa'$  donnent moitié de gamètes  $a$  ( $pq$ ). Or,  $p^2 + pq = p(p + q) = p$ . On vérifie de même que la fréquence des gamètes  $a'$  restera égale à  $q$ .

Ainsi, dans les conditions définies précédemment, la fréquence des allèles est constante à travers les générations.

■ **Application à un gène semi-dominant : le système MN.** — La vérification de la loi de Hardy-Weinberg est aisée dans le cas des gènes semi-dominants. Les trois génotypes sont alors distinguables au niveau des phénotypes et la fréquence des deux allèles peut être

TABLEAU 13-2. — Fréquence des groupes sanguins MN dans diverses populations

Nombre d'individus	Population	Effectifs des groupes sanguins			Fréquence des allèles	
		MM	MN	NN	$L^M$	$L^N$
6 129	Blancs américains	observé 1 787	3 039	1 303	0,54	0,46
		attendu 1 787,2	3 044,9	1 296,9	—	—
278	Noirs américains	observé 79	138	61	0,53	0,47
		attendu 78,1	138,5	61,4	—	—
205	Indiens américains	observé 123	72	10	0,78	0,22
		attendu 124,7	70,4	9,9	—	—
730	Aborigènes australiens	observé 22	216	492	0,18	0,82
		attendu 23,7	215,5	490,8	—	—

calculée directement, après l'observation d'un échantillon de la population considérée.

Le tableau 13-2 indique les proportions des trois génotypes correspondant au système MN dans quatre populations humaines. Dans chaque cas, on peut calculer la fréquence des allèles  $L^M$  et  $L^N$  et la fréquence attendue des trois génotypes si ceux-ci répondent à la formule  $p^2 + 2pq + q^2$ . Dans tous les cas, les proportions observées et attendues sont en très bon accord et on peut conclure que les populations étudiées sont panmictiques pour ce gène.

■ **Application à un gène récessif rare : la phénylcétoneurie.** — La phénylcétoneurie est due à une déficience métabolique qui dépend d'un allèle récessif. Elle correspond à un défaut de l'enzyme phénylalanine hydroxylase qui convertit normalement la phénylalanine en tyrosine. Chez les homozygotes, ceci conduit à une accumulation de phénylalanine et à sa conversion en d'autres dérivés qui ont pour conséquence une arriération mentale importante.

On dénombre environ 1 phénylcétoneurique sur 25 000 personnes.

Appelons  $a'$  l'allèle responsable de la phénylcétoneurie et  $a$  l'allèle dominant normal. Les personnes présentant le trait sont de génotype  $a'a'$ . Si la population est panmictique, la fréquence  $q$  de  $a'$  doit être égale à  $\sqrt{1/25\,000}$ , soit environ 1/159 et la fréquence  $p$  de l'allèle normal doit donc être égale à 158/159.

On peut déduire ainsi la fréquence des divers génotypes :

$$\begin{array}{ll} a'a' & \sim 1/25\,000 \\ a'a & \sim 1/80 \\ aa & \sim 79/80 \end{array} \left. \right\} \dots \text{ individus normaux}$$

On constate ici que la fréquence des hétérozygotes est environ 300 fois plus élevée que celle des phénylcétoneuriques. De manière générale, plus un allèle est rare, plus la proportion des hétérozygotes comparée à celle des homozygotes pour cet allèle est grande. Ceci ressort de la figure 13-2 qui indique la fréquence des divers génotypes en fonction de  $p$ .

On connaît actuellement un certain nombre de gènes dont l'allèle récessif est responsable de tares plus ou moins graves. Bien que la fréquence de chacune de ces tares soit très faible, celle des hétérozygotes correspondants est beaucoup plus grande : ceci signifie que chacun d'entre nous a une probabilité non négligeable d'être hétérozygote pour l'un ou l'autre de ces gènes. Cette remarque ne doit cependant pas nous inquiéter. Ainsi, si un individu est hétérozygote pour la phénylcétoneurie, il a 79 chances sur 80 d'épouser un conjoint homozygote pour l'allèle normal (tous ses enfants seront normaux) et seulement 1 chance sur 80 d'épouser un conjoint qui soit également hétérozygote pour ce trait; encore, dans ce cas, chaque enfant n'aura-t-il qu'une chance sur 4 de recevoir l'allèle récessif de chaque parent. La probabilité pour qu'un enfant issu d'un hétérozygote pour

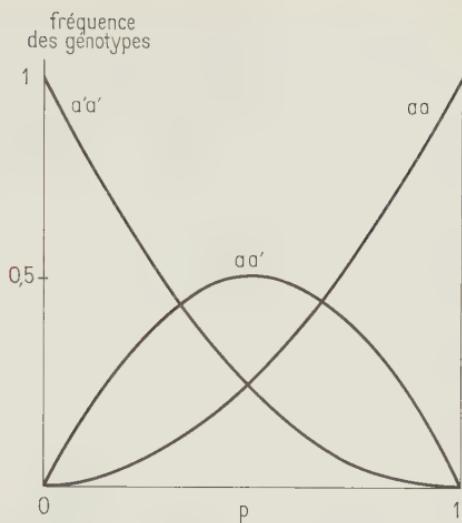


FIG. 13.2. — Fréquence des divers génotypes en fonction de  $p$ .

la phénylcétonurie présente lui-même ce trait n'est donc que de  $1/80 \times 1/4 = 1/320$ .

Les parents d'enfants phénylcétonuriques (apparemment normaux mais forcément hétérozygotes pour le trait) présentent un accroissement léger, mais significatif, du taux de phénylalanine sanguin. Il est donc possible par un examen approprié de détecter les hétérozygotes. Les risques peuvent donc être précisés. Un individu porteur a la possibilité de savoir si son futur conjoint est lui-même hétérozygote. En cas de réponse positive et si le couple décide néanmoins d'avoir des enfants, il sera prévenu du risque élevé d'avoir un enfant phénylcétonurique.

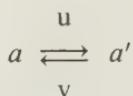
## Facteurs influençant la fréquence des allèles

Plusieurs facteurs sont susceptibles d'influencer la fréquence des allèles d'une génération à l'autre. Les allèles présents à une génération ne sont pas les seuls à participer à la génération suivante : de nouveaux allèles peuvent être créés par la mutation ou bien apportés à partir de populations voisines. Les allèles n'ont pas forcément la même aptitude à être transmis aux descendants : la présence de certains allèles peut interférer avec la viabilité ou la fécondité du porteur. Enfin, les fréquences des allèles peuvent être soumises à des fluctuations d'échantillonnage d'autant plus fortes que la population est petite.

## Influence de la mutation

En théorie, si on admet qu'un très grand nombre de générations s'écoule, les mutations peuvent jouer un rôle important dans le déterminisme de la fréquence des gènes dans une population.

- **Incidence de la mutation sur la fréquence des gènes** — On a vu dans le premier chapitre que la mutation s'effectuait dans les deux directions, généralement avec une fréquence différente. Appelons  $u$  la probabilité de mutation de  $a$  vers  $a'$  et  $v$  la probabilité de mutation de  $a'$  vers  $a$ .



Si les fréquences de  $a$  et  $a'$  sont respectivement égales à  $p^n$  et  $q^n$  à la génération  $n$ , on peut prévoir la fréquence  $p^{n+1}$  de  $a$  à la génération  $n+1$  : la fraction des allèles  $a'$  transformés en  $a$  par la mutation ( $vq^n$ ) s'ajoutera à  $p^n$  et la fraction des allèles  $a$  transformés en  $a'$  par la mutation en sens inverse ( $up^n$ ) s'en retranchera :

$$p^{n+1} = p^n + vq^n - up^n$$

De manière générale,  $vq - up$  correspond au changement  $\Delta p$  de la fréquence de  $a$  à chaque génération :

$$\Delta p = vq - up$$

Un état d'équilibre sera atteint quand  $\Delta p = 0$ , c'est-à-dire lorsque le nombre de mutations de  $a$  vers  $a'$  compensera exactement celui des mutations de  $a'$  vers  $a$  :  $up = vq$ . A l'état d'équilibre, la fréquence des allèles  $a$  et  $a'$  ( $p$  et  $q$ ) dépend directement de la fréquence relative des mutations dans chaque direction :

$$\frac{p}{q} = \frac{v}{u}$$

- **Estimation de la fréquence de gamètes mutés.** — Il existe plusieurs méthodes pour calculer la fréquence de gamètes mutés chez l'homme. Le cas le plus simple est celui de la mutation vers un allèle dominant; en effet, chaque fois qu'un enfant, issu de parents ne présentant pas le trait, le présente lui-même, on peut penser qu'un des deux gamètes qui sont à son origine était muté. Par exemple, dans le cas de l'achondroplasie (nanisme) due à un allèle dominant, on a trouvé 10 cas sur 94 075 naissances recensées. Dans 8 de ces 10 cas, le nouveau-né descendait de parents normaux. On peut donc estimer la fréquence des mutants à  $8/94\,075$ . Pour chaque nouveau-né atteint d'achondroplasie, un seul des deux gamètes est muté

puisque l'il s'agit d'un allèle dominant. La fréquence des gamètes mutés est donc égale à  $8/188\,150$ , soit environ  $4 \times 10^{-5}$ .

Ce type d'estimation doit pourtant être considéré avec prudence : la fréquence obtenue peut être surestimée pour plusieurs raisons :

- Un gène dominant ne s'exprime pas toujours ou s'exprime plus ou moins fortement. On dit encore qu'il possède une *pénétrance* plus ou moins grande. Ce phénomène de pénétrance peut résulter de plusieurs causes. Les interactions entre gènes différents peuvent aboutir à une expression variable d'un même allèle dominant en fonction du reste du génotype. Les conditions d'environnement peuvent également modifier l'expression phénotypique d'un gène. Quelles qu'en soient les causes, certains cas interprétés comme des mutations peuvent être dus à la transmission d'un gène dominant porté par un parent qui ne l'exprimait pas.

- Plusieurs gènes distincts peuvent aboutir à une modification phénotypique similaire lorsqu'ils sont mutés. Dans ce cas, la fréquence de gamètes mutés estimée traduirait la somme des fréquences de gamètes mutés pour l'un ou l'autre de ces gènes. Les connaissances en génétique humaine sont souvent trop fragmentaires pour que l'on puisse toujours être certain qu'une même modification phénotypique résulte de la mutation du même gène.

La fréquence des gamètes mutés a été estimée chez l'homme pour un certain nombre de traits héréditaires. Elle avoisinerait 1 pour 100 000 gamètes. Ce chiffre doit être considéré avec précaution. On ne définit un allèle comme muté que dans la mesure où il conduit à une modification détectable d'un caractère. Toutes sortes de mutations peuvent donc ne pas être détectées car elles ne sont pas visibles au niveau d'observation où l'on se place. La recherche d'alloenzymes par la méthode de l'électrophorèse, ou bien mieux encore la possibilité de détecter une modification de la séquence d'acides aminés dans la protéine que contrôle le gène, ou même une caractérisation directe d'une modification de la séquence des nucléotides dans l'ADN permettraient réellement de repérer les mutations. Ce qu'on appelle mutation est le plus souvent restreint à l'apparition d'un allèle inactif. De surcroît, les phénomènes de pénétrance variables ou bien la multiplicité des gènes intervenant dans un même caractère contribuent à rendre difficile l'estimation des fréquences de mutation.

Quoi qu'il en soit, cette fréquence est très faible et, par conséquent, l'action de la mutation sur la fréquence des gènes ne pourrait aboutir à un état d'équilibre qu'à très long terme.

## Influence de la sélection

■ **Les coefficients de sélection.** — Il est évident que la contribution de chaque individu d'une population à la descendance qui constituera la population à la génération suivante est très variable. Dans l'espèce humaine, comme dans les autres espèces, certains

individus ont de nombreux enfants alors que d'autres n'en ont pas. Dans la mesure où, pour un gène donné, la fécondité est corrélée au génotype, certains allèles pourront être transmis plus fréquemment que d'autres à la génération suivante.

Considérons la situation simple où deux allèles existent pour un même gène. Le fait que l'un des allèles soit transmis plus fréquemment aux descendants peut être dû à de multiples causes :

— Ou bien les gamètes portant l'allèle défavorisé ont une chance plus faible de participer à la fécondation que ceux portant l'allèle favorisé. La sélection se fait alors au niveau des gamètes. Dans ce cas, on aboutira toujours à plus ou moins long terme à l'élimination de l'allèle défavorisé.

— La sélection peut aussi opérer au niveau des individus; ou bien la mortalité avant l'âge de la reproduction des individus porteurs d'un certain génotype est supérieure à celle de ceux qui portent un autre génotype; ou bien encore la taille moyenne de leur descendance est plus faible pour des raisons anatomiques, physiologiques ou psychologiques variées.

Cette dernière situation peut être quantifiée en appliquant un coefficient de sélection  $\sigma$  à chacun des trois génotypes possibles. Le coefficient de sélection traduit la fécondité relative des divers génotypes.

■ ***La pression de sélection.*** — L'exemple le plus extrême de sélection d'allèles est celui des allèles dominants génétiquement létaux. La létalité génétique signifie l'absence totale de descendance. Elle peut être due à la mort de l'individu avant l'âge de la reproduction ou bien encore à sa stérilité. Si la létalité génétique est due à un allèle dominant, aucun individu portant l'allèle défavorisé n'aura de descendant : l'allèle est entièrement éliminé à chaque génération.

Une situation qui s'approche beaucoup de ce cas chez l'homme correspond au rétinoblastome. Cette tare est due à un gène dominant qui provoque très tôt chez le jeune enfant une tumeur de la rétine, maladie très grave, généralement mortelle. La chirurgie permet maintenant, par ablation de l'œil, de prévenir la mort de l'enfant : la transmission de l'allèle défavorable est donc possible. Une pénétrance incomplète de cet allèle maintenait probablement auparavant un coefficient de sélection non nul, quoique faible.

Il existe vraisemblablement un certain nombre de gènes dominants qui sont responsables de l'arrêt du développement embryonnaire ou fœtal à des stades plus ou moins précoces. De tels gènes entrent dans la situation envisagée ici.

Un autre exemple de sélection est celui où c'est un allèle récessif qui entraîne une létalité génétique. Dans un tel cas, les homozygotes pour cet allèle n'auront pas de descendants, mais les hétérozygotes ayant une fécondité normale contribueront au transfert de l'allèle défavorable à la génération suivante. Cette situation s'applique à de nombreuses tares récessives pour lesquelles l'hétérozygotie a un phé-

TABLEAU 13-3. — Évolution de la fréquence des divers génotypes dans le cas où l'homozygote  $a'a'$  est génétiquement létal ( $\sigma_1 = \sigma_2 > \sigma_3 = 0$ ) : les fréquences  $p$  et  $q$  à la génération  $n$  sont supposées égales.

Génération	$p$	$q$	Fréquence des génotypes		
			transmis à la génération suivante		non transmis $a'a'$
			$aa$	$a'a$	
$n$	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4
$n + 1$	2/3	1/3	4/9	4/9	1/9
$n + 2$	3/4	1/4	9/16	6/16	1/16
$n + 3$	4/5	1/5	16/25	8/25	1/25
$n + 4$	5/6	1/6	25/36	10/36	1/36
$n + 5$	6/7	1/7	36/49	12/49	1/49
$n + 6$	7/8	1/8	49/64	14/64	1/64
$n + 7$	8/9	1/9	64/81	16/81	1/81
$n + 8$	9/10	1/10	81/100	18/100	1/100
$n + 98$	99/100	1/100	9 801/10 000	198/10 000	1/10 000
$n + 998$	999/1 000	1/1 000	997 001/10 <sup>6</sup>	1 998/10 <sup>6</sup>	1/10 <sup>6</sup>

notype identique à l'homozygote normal. On peut démontrer que dans un tel cas (et si on fait abstraction d'autres facteurs tels que la mutation), la pression de sélection tend à éliminer complètement l'allèle défavorable. Toutefois cette sélection devient faible. Cette propriété est illustrée dans le tableau 13-3. On y a représenté l'évolution d'une population hypothétique où les homozygotes  $a'a'$  pour l'allèle défavorable ne donneraient aucune descendance ( $\sigma_3 = 0$ ).

On a admis que la fréquence  $q$  de  $a'$  est égale à 0,5 à la génération  $n$ . A chaque nouvelle génération, les descendants proviennent uniquement des individus  $aa$  et  $aa'$  de la génération précédente. On constate que si  $q$  est égal à  $1/x$  à la génération  $n$ , il sera égal à  $1/x + g$  à la génération  $n + g$ .

Ceci permet de prédire combien de générations sont nécessaires pour que la fréquence de  $a'$  diminue d'un facteur 2, 3, 10, etc. Par exemple,  $q$  est diminué de moitié (1/2 à 1/4) en deux générations, mais il faudra 4 générations supplémentaires pour que  $q$  passe de 1/4 à 1/8 (et 8 autres pour qu'il passe de 1/8 à 1/16). De même, il faut 90 générations pour que  $q$  passe de 0,1 à 0,01 (1/10 à 1/100) et 900 générations pour qu'il passe de 0,01 à 0,001 (1/100 à 1/1 000). La fréquence de  $a'$  tendra théoriquement vers 0 sans jamais l'atteindre. Ceci tient à ce que la sélection n'a d'emprise que sur les homozygotes; or, au fur et à mesure que la fréquence de l'allèle défavorisé diminue, celui-ci se trouve réparti de plus en plus inéga-

lement entre les homozygotes et les hétérozygotes : lorsque la fréquence de  $a'$  correspond à 10 %, pour chaque homozygote donnant prise à la sélection, il y a déjà 18 hétérozygotes qui ne sont pas défavorisés par celle-ci; cette proportion passe à 1 sur 198 quand la fréquence de  $a'$  tombe à 1 % et à 1 sur 1 998 quand elle tombe à 1 ‰.

Nous avons considéré les cas extrêmes où les porteurs homozygotes de l'allèle défavorable ne donnent aucune descendance. Dans la réalité, des situations moins extrêmes existent. On peut démontrer qu'il suffit qu'un léger désavantage sélectif existe pour que l'allèle correspondant tende à être complètement éliminé.

### Dérive génétique

Un autre facteur de variation des fréquences d'allèles est constitué par le hasard. La loi de Hardy-Weinberg, suppose que les populations sont de très grande taille, de telle sorte que l'échantillonnage des gamètes participant à la génération  $n + 1$  représente fidèlement la fréquence des allèles à la génération  $n$ . Il n'en va plus de même lorsque la population est de faible effectif. Les variations d'échantillonnage sont alors importantes et peuvent rapidement aboutir à la fixation ou à l'élimination d'un allèle. L'influence de la taille d'une population sur la variation de la fréquence d'un allèle est matérialisée par l'expérience suivante : on place dans un sac 1 000 billes, 500 billes blanches et 500 billes noires; les fréquences  $x_0$  et  $y_0$  de départ des billes blanches et noires sont égales à 0,5. On tire en aveugle  $n$  billes. Le tirage donnera  $n_{x1}$  billes blanches et  $n_{y1}$  billes noires. On vide le sac et on le remplit alors avec 1 000  $x_{x1}$  billes blanches et 1 000  $y_{x1}$  billes noires. On tire à nouveau  $n$  billes : ce tirage nous donne des fréquences  $x_2$  et  $y_2$  de billes blanches et noires, et ainsi de suite... Chaque tirage correspond à une génération. Les billes blanches et noires dans le sac correspondent au pool de gamètes portant l'un et l'autre allèle et le tirage correspond aux gamètes qui participent effectivement à la génération suivante. On constate que plus  $n$  est petit (c'est-à-dire plus la taille de la population est faible), plus les fluctuations de fréquence des allèles d'une génération à l'autre sont importantes et plus rapidement l'une des deux couleurs sera éliminée.

Le changement de fréquence d'un allèle (qui peut aboutir à sa fixation si  $p = 1$  ou à son élimination si  $p = 0$ ) dû aux fluctuations d'échantillonnage dans les petites populations est appelé *dérive génétique*. Une telle dérive peut jouer un rôle important dans des populations de faibles effectifs apparaissant à la suite de conditions défavorables ou consécutives à une migration. Des sous-populations issues d'une population panmictique originelle peuvent ainsi voir leur constitution génétique diverger considérablement en quelques générations par le seul fait du hasard.

Les généticiens des populations font appel aux divers facteurs susceptibles d'influer sur la fréquence des allèles pour expliquer les

différences entre populations. Ces facteurs permettent également de proposer une explication pour l'évolution (tout au moins à court terme). La mutation est créatrice de diversité; la sélection peut opérer dans des directions différentes selon les conditions d'environnement : un allèle favorable dans certaines conditions pouvant se révéler défavorable dans des conditions différentes; le hasard peut enfin aboutir rapidement à des divergences importantes. Ces divers facteurs réunis permettent par exemple d'expliquer comment se créent des espèces distinctes à partir d'une espèce unique. Toutefois, l'évolution à grande échelle pose des problèmes plus complexes. Les découvertes récentes en biologie moléculaire suggèrent que beaucoup de choses restent encore à découvrir pour que nous puissions envisager tous les paramètres importants dans les processus qui ont conduit à l'extraordinaire diversité des êtres vivants.

## Sources du polymorphisme génétique

Sur un plan plus modeste, on peut s'interroger sur le rôle des facteurs mutation, sélection et hasard dans le polymorphisme génétique.

Vis-à-vis de ce polymorphisme, on peut distinguer trois catégories d'allèles :

— des allèles clairement défavorables responsables de tares héréditaires graves : ces allèles sont rencontrés avec des fréquences très faibles;

— des allèles favorables ou non selon les conditions d'environnement;

— des allèles conduisant à des produits distinguables (par exemple, les alloenzymes) mais tous actifs : ces allèles peuvent exister simultanément avec des fréquences relativement élevées.

En ce qui concerne le premier type d'allèles, leur existence à faible fréquence s'explique simplement par un équilibre entre le flux de sélection et le flux de mutation : la diminution de fréquence de l'allèle due à la sélection est compensée à chaque génération par l'apparition de ce même allèle à la suite de mutations : la fréquence de l'allèle atteint alors un équilibre stable.

### Hypothèse d'une dérive aléatoire d'allèles sélectivement neutres

En ce qui concerne les allèles du troisième type, leur existence a conduit à l'hypothèse d'allèles « sélectivement neutres ». En effet, si ces allèles avaient des coefficients de sélection différents (même si

la différence est faible), on prédit que seul l'allèle le plus favorable sera fixé après un nombre de générations suffisamment grand. Dans l'hypothèse d'allèles neutres, le polymorphisme génétique s'explique par une fluctuation aléatoire de la fréquence des allèles : toute population ayant un effectif limité, la dérive génétique s'applique à ces populations et peut aboutir à long terme aux fréquences observées qui seraient le seul fait du hasard.

### Sélection et polymorphisme génétique

Les hypothèses faisant appel à la sélection peuvent aussi expliquer l'existence d'un polymorphisme génétique. Nous envisageons ici deux systèmes conduisant au maintien d'allèles différents dans une population.

■ **Avantage sélectif des hétérozygotes.** — Un phénomène connu depuis longtemps en agronomie dans les espèces qui pratiquent habituellement une reproduction sexuée biparentale est le phénomène de « l'hétérosis ». Lorsqu'on croise entre elles deux lignées pures, les descendants sont beaucoup plus vigoureux que les parents. Ce phénomène — utilisé systématiquement dans la culture de certaines espèces (comme le maïs) — suggère qu'au moins, pour certains gènes, l'hétérozygotie confère un avantage. Un exemple précis qui appuie cette hypothèse est celui de l'anémie falciforme. Cette forme d'anémie est déterminée par un gène semi-dominant du gène de la  $\beta$ -globine. Les hématies des sujets porteurs de l'allèle responsable de ce trait changent d'aspect lorsque la pression d'oxygène diminue; elles s'étiennent et prennent une forme de fauille (fig. 13-3). Les hématies des sujets homozygotes sont beaucoup plus sensibles que celles des hétérozygotes. Cette tare se traduit chez les homozygotes par une anémie hémolytique souvent fatale avant l'âge adulte. Les hétérozygotes ne sont guère affectés; excepté à haute altitude.

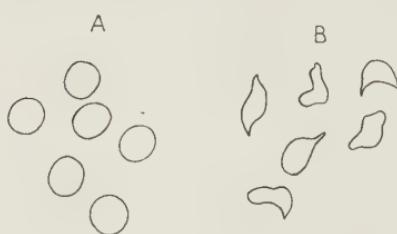


FIG. 13-3. — Hématies de sujet sain (A), de malade atteint d'anémie falciforme (B).

L'étude de diverses populations humaines a montré que la fréquence de l'allèle défavorable, très faible dans les populations nord-européennes (comme on peut s'y attendre lorsque l'homozygote est contre-sélectionné) devient relativement élevée dans certaines popula-

tions d'Afrique noire, des Indes et du pourtour de la Méditerranée. Elle atteint 0,20 dans la tribu africaine des Baambas. On note en outre une forte corrélation entre la fréquence de ce gène et la distribution géographique de la malaria. On a montré également que les hétérozygotes sont moins sensibles à la malaria que les homozygotes normaux. Cet exemple est particulièrement instructif. Il montre en effet que l'avantage sélectif dépend fortement des conditions d'environnement : Selon que la malaria sévit ou non, les hétérozygotes sont avantagés ou légèrement défavorisés par rapport aux individus « normaux ». L'allèle responsable de l'anémie falciforme correspond donc à la deuxième catégorie d'allèles précédemment définie.

■ **Avantage du rare.** — Le coefficient de sélection peut ne pas être constant : on vient de voir qu'il pouvait varier en fonction des conditions d'environnement; il peut aussi varier en fonction de la fréquence de l'allèle lui-même. Ainsi, on a montré dans plusieurs cas que des individus porteurs d'un allèle rare présentaient un avantage sélectif par rapport à ceux porteurs d'un allèle plus fréquent. Cet avantage disparaissait quand la fréquence de l'allèle augmentait. Cet effet peut s'expliquer par une compétition entre individus porteurs du même type allélique. Les porteurs du type allélique rare subissent une compétition faible et sont donc favorisés. Un tel phénomène tend à maintenir dans les populations un polymorphisme équilibré.

En conclusion, il est difficile actuellement de savoir si le principal facteur de polymorphisme correspond au hasard ou bien à des forces sélectives complexes. Ces deux facteurs pourraient jouer un rôle. Pourtant, il semble de plus en plus probable que les allèles ne soient pas pour la plupart réellement neutres : quand on teste des alloenzymes dans des conditions différentes, il est fréquent que des différences d'activité soient décelées dans certaines conditions. Ceci nous ramène au rôle de l'environnement sur le fait qu'un allèle soit ou non défavorable (comme on l'a vu pour l'anémie falciforme) : face aux variations de l'environnement extérieur, le maintien d'un polymorphisme génétique facilitera la survie d'une fraction de la population en cas de changement défavorable à la majorité de celle-ci. De ce point de vue, la diversité génétique est un atout important et les théories racistes qui prônent la supériorité de races génétiquement pures sont un non sens sur le plan biologique.

## Eugénique et races

■ **Eugénique positive.** — Elle consiste à choisir certains caractères estimés avantageux et à essayer de les généraliser dans la population en favorisant la reproduction des seuls individus qui manifestent ces caractères. Les méthodes génétiques en agronomie se sont depuis

longtemps inspirées de ce principe pour sélectionner des lignées présentant des caractères jugés économiquement avantageux. L'utilisation de telles méthodes dans l'espèce humaine a été préconisée par certains théoriciens racistes et a même vu un début d'application par les nazis. Les auteurs de ces pratiques les justifiaient par l'idée que certaines races étaient supérieures et d'autres étaient inférieures et que les différences entre les races avaient des bases génétiques. Les études de génétique de population montrent que la notion de race se superpose difficilement à un ensemble génétiquement définissable : les grands clivages observés dans la répartition des gènes dans les populations passent à l'intérieur des races et il est bien plus facile de définir celles-ci sur une base culturelle que sur une base génétique. L'établissement d'une hiérarchie entre les races est une entreprise éminemment subjective car tout classificateur est forcément juge et partie. A l'attitude qui consiste à classer les races selon une échelle de valeur, on opposera celle qui consiste à apprécier les différences. La diversité est richesse. A la démarche de l'humaniste qui cherche à préserver la variété culturelle représentée par la diversité des civilisations se superpose la démarche du biologiste qui cherche à préserver la variété génétique représentée, bien au-delà des races, par la diversité des individus.

■ **Eugénique négative.** — C'est une autre forme d'eugénisme. Elle vise à éliminer certains allèles jugés défavorables en empêchant la reproduction des individus affectés.

Dans les conditions naturelles, on peut démontrer que ces mesures seraient assez discutables quant à leur efficacité. En effet, envisageons une tare dominante : la sélection se charge de l'éliminer ou de la maintenir à un niveau très bas. Ainsi, dans l'exemple de la chondro-dystrophie, on a vu que sur 10 nouveau-nés, 8 proviennent vraisemblablement d'une mutation : cela signifie que la grande majorité des individus affectés sont des mutants. Si la reproduction des sujets affectés était interdite, cela ne diminuerait donc que très peu la fréquence de la tare à la génération suivante.

Examinons maintenant le cas d'une tare récessive. Appliquer cette mesure aux homozygotes récessifs qui expriment le trait revient à abaisser  $\sigma_3$  à la valeur 0. Si on prend pour exemple la phénylcétonurie pour laquelle la fréquence de l'allèle défavorable récessif est actuellement de 1/159, il faudrait 41 générations (soit environ 1 000 années) pour abaisser cette valeur à 1/200. Il n'est pas même certain qu'une telle diminution, quoique faible, soit obtenue. On peut en effet se demander pourquoi, dans le cas de ces tares, l'allèle défavorable n'est pas complètement éliminé. Il y a à cela une première réponse : la fréquence de l'allèle défavorable, lorsqu'elle s'approche de 0, donne peu de prise à la sélection; au contraire, la pression de mutation augmente; un état d'équilibre différent de  $q = 0$  s'installe donc lorsque la pression de sélection et la pression de mutation s'annulent réciproquement; le gène défavorable ne peut jamais être complètement éliminé. De plus, on ignore si — comme pour l'anémie

falciforme — certaines tares récessives ne donnent pas un très léger avantage sélectif à l'hétérozygote : ceci aboutirait à un état d'équilibre maintenant une certaine fréquence de l'allèle défavorable.

La seule manière de diminuer efficacement la fréquence d'une tare serait d'empêcher la reproduction des hétérozygotes : on aboutirait en une seule génération à l'élimination complète de la tare; à la génération suivante, les individus porteurs de l'allèle défavorable n'exprimeraient pas le trait; ils seraient eux-mêmes hétérozygotes et issus de mutation.

Mais on se heurte ici à de nouveaux problèmes.

En effet, les calculs statistiques montrent que chacun d'entre nous est probablement hétérozygote pour plusieurs tares récessives graves : l'application de telles mesures reviendrait à stériliser l'humanité entière.

## Consanguinité

### Homogamie et consanguinité

On a admis jusqu'ici que les populations étaient panmictiques pour les gènes considérés. Il n'en va pas toujours ainsi : les couples peuvent ne pas se former au hasard.

Il peut y avoir un choix en fonction du phénotype. Ainsi, on observe dans l'espèce humaine une corrélation positive entre la taille des conjoints. Dans la mesure où ce caractère est gouverné par certains gènes, il existe une tendance pour les unions entre individus de génotypes voisins. Cette situation, appelée *homogamie*, ne change pas la fréquence des gènes, mais affecte celle des génotypes. Il en est de même pour la *consanguinité* qui va être discutée ici.

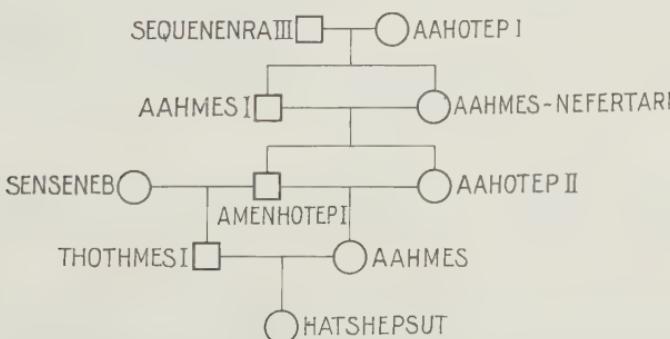


FIG. 13-4. — Mariages frère x sœur dans la 18<sup>e</sup> dynastie d'Égypte.

La consanguinité résulte de l'union entre personnes possédant un certain degré de parenté. L'origine de la consanguinité peut être sociale : un exemple classique est celui des dynasties de l'Égypte antique où, dans le but de conserver pur le sang royal, les mariages entre frères et sœurs étaient courants (fig. 13-4). Elle peut être aussi géographique ; ainsi, à l'intérieur de petites tribus ou de villages isolés, les conjoints ont de bonnes chances de posséder des ancêtres communs.

### Coefficient de consanguinité

■ **Définition.** — Pour un gène quelconque, si deux conjoints possèdent un ou des ancêtres communs, ils ont une certaine chance d'avoir l'un et l'autre reçu la même copie d'un des exemplaires de ce gène portés par leur(s) ancêtre(s) commun(s). Dans ce cas, ces deux copies identiques peuvent être transmises à leurs descendants. On appelle coefficient de consanguinité ( $f$ ) la probabilité pour que ce descendant possède deux copies identiques issues d'un même gène ancêtre.

■ **Calcul du coefficient de consanguinité.** — Les mariages entre cousins germains — qui ne sont pas interdits par la loi dans de nombreux pays — sont assez fréquents pour qu'on prenne cette situation comme exemple. La généalogie d'un tel mariage est indiquée dans la figure 13-5. Quel est le coefficient de consanguinité  $f$  d'Irénae ?

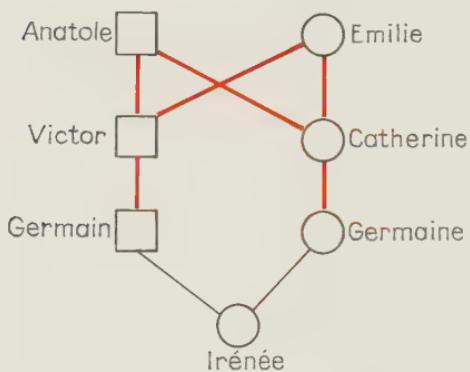


FIG. 13-5. — Consanguinité : cas d'un mariage entre cousins germains.

Considérons un gène quelconque. Ce gène existe en deux exemplaires chez Anatole, le grand-père commun des époux et cousins, Germain et Germaine. Quelle est la probabilité qu'Irénae possède

deux copies identiques de l'un ou l'autre de ces exemplaires? Irénée a forcément reçu un des deux exemplaires qu'elle possède de son père Germain. Celui-ci a une chance sur 2 de l'avoir reçu de Victor qui a une chance sur 2 de l'avoir reçu d'Anatole. De même, Irénée a forcément reçu l'autre exemplaire de sa mère Germaine, laquelle a une chance sur 2 de l'avoir reçu de Catherine qui a une chance sur 2 de l'avoir reçu d'Anatole. Donc, la probabilité pour que les deux exemplaires portés par Irénée proviennent l'un et l'autre d'Anatole est égale à  $(1/2)^4$ . Il y a en outre une chance sur 2 pour qu'Anatole ait communiqué le même exemplaire à Victor et à Catherine. La probabilité pour qu'Irénée possède deux copies identiques de l'un ou l'autre des gènes ancêtres portés par Anatole est égale à  $(1/2)^5$ . Ce calcul revient à compter le nombre  $m$  de maillons de la chaîne qui relie les deux conjoints et passe par leur ancêtre commun : G—V—A—C—G' : la probabilité recherchée est égale à  $(1/2)^m + 1$ .

Le même raisonnement montre qu'il y a aussi  $(1/2)^5$  chance pour qu'Irénée possède deux copies identiques de l'un ou l'autre des gènes ancêtres portés par Émilie. Le coefficient de consanguinité d'Irénée est donc égal à  $(1/2)^5 + (1/2)^5 = 1/16$ .

Le calcul du coefficient de consanguinité revient donc à additionner les probabilités pour que le descendant possède deux copies identiques provenant d'un ancêtre commun, ici :

$$fI = (1/2)^m + 1 \text{ (Anatole)} + (1/2)^m + 1 \text{ (Émilie)}.$$

Chaque fois qu'un descendant possède deux copies du même gène ancêtre, il est forcément homozygote pour ce gène. Ceci va avoir des conséquences importantes dans le cas des tares récessives : la consanguinité élève en effet la probabilité pour que le descendant soit homozygote et exprime le trait correspondant.

Calculons quelle est la probabilité pour que l'enfant issu d'un mariage consanguin exprime un trait récessif.

Soit  $q$  la fréquence de l'allèle responsable du trait. Chaque fois que l'enfant est consanguin pour ce gène ( $f$ ), la probabilité pour qu'il soit homozygote pour cet allèle est égale à  $q$ . Chaque fois que l'enfant n'est pas consanguin pour ce gène ( $1-f$ ), la probabilité pour qu'il soit homozygote est égale à celle calculée dans la population panmictique :  $q^2$ .

La probabilité pour que l'enfant exprime la tare est donc égale à  $fq + (1-f)q^2$ . Cette formule peut être simplifiée en :

$$fpq + q^2$$

Prenons pour exemple la probabilité pour que le descendant d'un mariage entre cousins germains soit phénylcétonurique. Dans ce cas,  $q = 1/159$  et  $f = 1/16$ , soit :

$$(1/16 \times 158/159 \times 1/159) + (1/159)^2 = 11/25\,000.$$

Cette probabilité est 11 fois supérieure à celle attendue dans un mariage au hasard.

Les prédictions d'un accroissement des traits défavorables dans la descendance des mariages consanguins sont confirmées par les obser-

vations. Ainsi, dans une étude portant sur la phénylcétonurie, on a estimé qu'environ 10 % des phénylcétonuriques descendant de mariages entre cousins germains. Or, dans la population étudiée, seulement 1 % des mariages intéressent des cousins germains. De manière générale, pour tous les traits récessifs autosomaux dont l'étude génétique a été suffisamment poussée, on retrouve le même phénomène.

# 14

## Phénomènes de régulation et différenciation cellulaire

Certaines amibes manifestent des modifications morphologiques et physiologiques spectaculaires en réponse à des variations d'humidité, de température, ou de richesse nutritive du milieu. Si ces cellules sont placées dans l'eau, elles passent progressivement de la forme amoëboïde à une forme flagellée. Si les possibilités de nutrition deviennent limitées, elles forment tout d'abord un tapis cellulaire mimant un tissu épithéial, puis, si les conditions continuent à se dégrader, elles s'enkystent. Ces modifications sont réversibles. Replacées dans les conditions normales, les amibes réacquièrent peu à peu leurs caractéristiques habituelles.

Cet exemple montre que les cellules sont susceptibles de subir des changements importants, s'accompagnant éventuellement de l'apparition ou de la disparition de structures complexes, tout en conservant intactes leurs potentialités. Ceci suggère que les diverses fonctions cellulaires ne s'effectuent pas de manière permanente; selon les cas, des gènes distincts s'expriment ou ne s'expriment pas, bien que le génotype ne soit pas affecté.

## Existence de variations des fonctions cellulaires indépendantes d'une variation génétique

Il existe en effet une gamme très complexe de systèmes de contrôle qui permettent d'harmoniser les diverses activités cellulaires en fonction des conditions d'environnement ou des impératifs de développement des organismes. En voici quelques exemples.

■ ***Modulation de l'activité métabolique chez les bactéries.*** — Les bactéries ne synthétisent un certain nombre de composés indispensables à leur croissance que si ceux-ci ne leur sont pas fournis dans le milieu nutritif. Ainsi, si le milieu minimum contient du glucose marqué au  $^{14}\text{C}$ , on décèle chez les bactéries la présence d'acides aminés radioactifs; ces acides aminés ont été fabriqués par une série de réactions biosynthétiques à partir du glucose radioactif. Si on ajoute à ce milieu un acide aminé (par exemple, l'isoleucine), on constate que l'isoleucine bactérienne n'est plus radioactive; les bactéries utilisent donc maintenant l'isoleucine toute faite qui leur est fournie et, parallèlement, elles cessent de synthétiser ce composé. Il y a donc une relation causale entre l'absence ou la présence de l'acide aminé dans le milieu et le fonctionnement ou l'arrêt des réactions impliquées dans sa biosynthèse. Un certain nombre de fonctions cellulaires sont ainsi sujettes à une modulation qui leur permet de ne s'accomplir qu'en cas de nécessité.

■ ***Fonctionnement séquentiel des gènes chez les bactériophages.*** — On a vu que, lors de l'infection virale, l'ADN phagique subit d'abord une multiplication importante. Les diverses protéines qui s'assembleront pour constituer l'enveloppe du virion ne sont synthétisées qu'après. Grossièrement, on peut donc diviser le génome phagique en deux groupes de gènes : les gènes « précoces » qui commandent en particulier la synthèse de l'arsenal enzymatique impliqué dans la réplication de l'ADN viral et les gènes « tardifs » qui spécifient les divers constituants de la capsid. Au cours de l'infection, c'est le premier groupe de gènes qui est d'abord exprimé, le second ne fonctionnant qu'ultérieurement : les diverses fonctions virales s'expriment séquentiellement à la suite de l'infection. Il existe donc des mécanismes qui permettent soit de réprimer, soit d'induire la fonction des gènes suivant un ordre rigoureux.

■ ***Définition cellulaire.*** — Chez les organismes supérieurs tels que l'être humain, l'individu adulte est constitué de milliards de cellules issues par division mitotique de la cellule œuf. Ces cellules constituent des tissus ou des organes variés. Une cellule nerveuse, une

cellule caliciforme de l'intestin, une cellule pancréatique ou un érythroblaste expriment un type d'activité et présentent une morphologie extrêmement différents, liés à leur spécialisation dans l'organisme. Cette spécialisation s'établit progressivement au travers des divisions cellulaires successives qui caractérisent la vie embryonnaire. L'œuf possède la potentialité génétique d'exprimer chacun des nombreux types de cellules spécialisées qui composent l'organisme adulte. Chaque cellule spécialisée n'exprime pour sa part qu'une petite fraction de l'ensemble de ces potentialités. Pourtant, ces cellules n'ont pas perdu les portions de leur génome qui restent inexprimées. Cette interprétation repose sur plusieurs arguments. En effet, on retrouve le même nombre de chromosomes, la même quantité d'ADN et le même rapport A + T/G + C dans les divers tissus d'un organisme adulte. Des expériences de transplantation nucléaire chez les batraciens montrent que les noyaux des cellules différenciées conservent leur totipotence. Si on remplace par ceux-ci le noyau de la cellule œuf, celle-ci est néanmoins susceptible de se développer en un organisme complet. Chez les plantes, les cellules de certains tissus spécialisés (par exemple les feuilles) sont susceptibles de se dédifférencier pour redonner un organisme entier, par bouturage ou marcottage. Tout ceci indique que le noyau d'une cellule différenciée conserve la totalité de son matériel génétique, bien que celui-ci ne soit que partiellement exprimé.

■ **Variété dans la finalité des systèmes de régulation.** — Tous les phénomènes qui viennent d'être décrits se ramènent donc finalement au problème de la régulation de l'expression des gènes. Cette régulation présente pourtant, selon les cas, des caractéristiques et des finalités différentes. Ainsi, dans les exemples précédents, on distingue, dans l'ordre :

- **La régulation adaptative.** Le fonctionnement d'un gène dépend de la présence ou de l'absence d'un produit généralement impliqué dans la chaîne métabolique contrôlée par ce gène. Ce type de régulation aboutit à des états facilement réversibles qui permettent d'équilibrer le fonctionnement de la cellule en fonction de ses besoins. Ainsi, les bactéries cessent de synthétiser l'acide aminé quand celui-ci leur est fourni; mais cette synthèse reprend lorsque l'acide aminé n'est plus disponible.
- **La régulation séquentielle.** L'expression du génome s'effectue séquentiellement. Les gènes fonctionnent chacun leur tour dans un ordre strictement établi. Ceci suggère l'existence d'un programme qui commanderait le déclenchement ou l'arrêt des activités génétiques.
- **La différenciation cellulaire.** Il s'agit d'un problème majeur qui est encore loin d'être résolu : quelles sont les diverses étapes qui caractérisent le passage d'une cellule indifférenciée à une cellule spécialisée? Comment s'effectue le choix entre les nombreuses voies de différenciation possibles? Quels facteurs permettent de maintenir l'état différencié, lorsque celui-ci est obtenu, pendant toute la vie de l'organisme?

## Niveaux de régulation

Tous ces mécanismes font intervenir des blocages ou des stimulations qui se répercutent finalement sur le fonctionnement des produits d'activité des gènes : les protéines. L'arrêt du fonctionnement de ces protéines peut résulter de blocages à des niveaux différents (fig. 14.1). La protéine peut être synthétisée, mais non active. La protéine peut encore ne pas être synthétisée. Dans ce dernier cas, l'absence de la protéine peut résulter soit de l'absence de traduction de l'ARNm en chaîne polypeptidique, soit encore de l'absence de transcription du gène en ARNm.

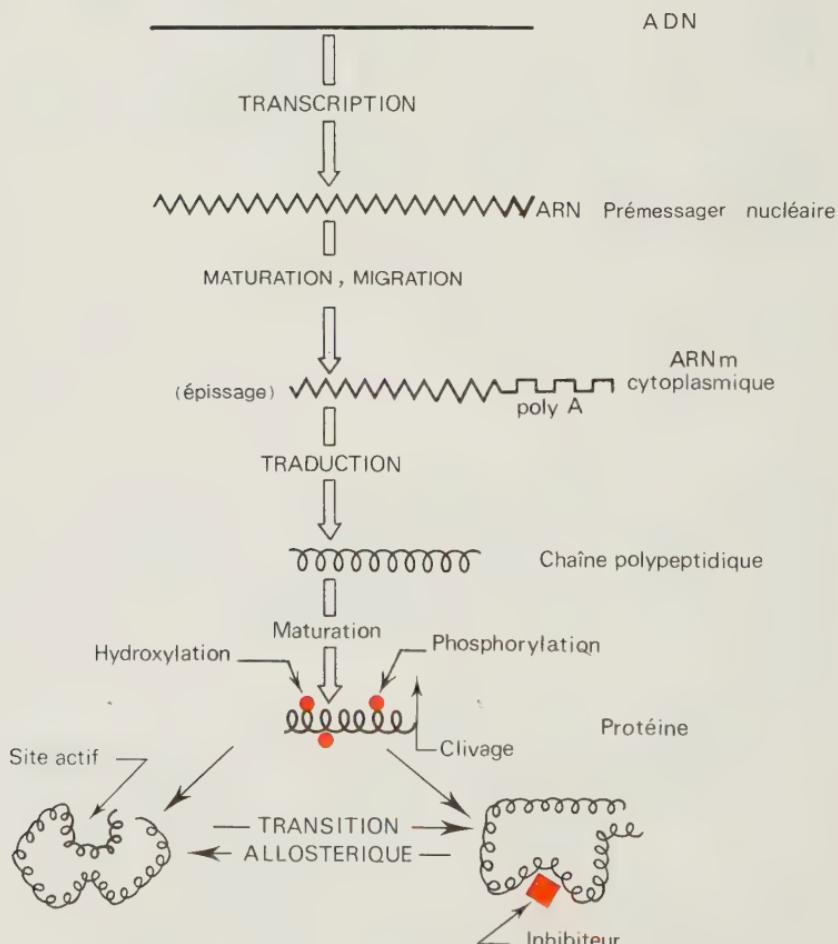


FIG. 14.1. — Quelques niveaux possibles de régulation.

## Régulation de l'activité des protéines

Les protéines sont synthétisées, mais des modifications chimiques ou stériques influent sur leur fonctionnement.

■ **Modifications chimiques.** — Après synthèse de la chaîne polypeptidique, les protéines doivent parfois subir diverses modifications secondaires avant de manifester leur activité. Un premier exemple est celui des enzymes digestifs protéolytiques : ils sont sécrétés dans le tube digestif sous forme de proenzymes inactifs. La coupure d'un fragment de la chaîne polypeptidique est nécessaire à leur activation. Le trypsinogène est ainsi transformé en trypsine active par un enzyme élaboré par la muqueuse intestinale. Une fois activée, la trypsine pourra à son tour activer le trypsinogène. Un autre exemple consiste en l'existence d'enzymes qui existent soit sous forme phosphorylée soit sous forme non phosphorylée. Selon les enzymes, c'est l'une ou l'autre forme qui est active. Les passages d'une forme à l'autre sont eux-mêmes conditionnés par des enzymes dont l'activité dépend de l'existence de certains produits dans la cellule. C'est ainsi que le métabolisme du glycogène (forme de réserve des carbohydrates dans les cellules hépatiques) est contrôlé par l'intermédiaire d'un jeu complexe de régulations aboutissant en dernier ressort à des phosphorylations réversibles des enzymes qui contrôlent sa synthèse et sa dégradation.

■ **Modifications stériques.** — L'association des enzymes avec certains produits spécifiques peut avoir pour effet de modifier leur configuration (fig. 14-2), de telle sorte que le site actif est soit masqué

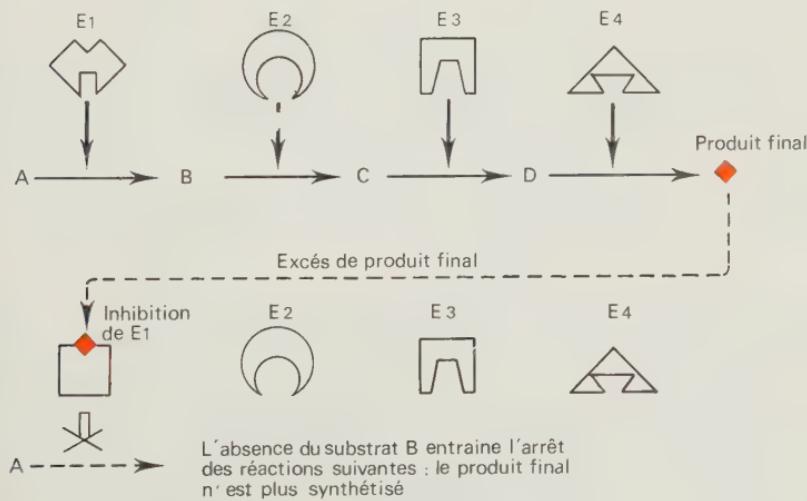


FIG. 14.2. — Rétro-inhibition.

(inhibition), soit dévoilé (activation) : ces phénomènes sont qualifiés de *transitions allostériques*. Un exemple très répandu est celui de la *rétro-inhibition* : le produit final d'une chaîne de réaction joue le rôle d'inhibiteur quand il s'associe avec l'enzyme qui catalyse la première étape de cette chaîne (fig. 14.2). L'inactivation de cet enzyme a pour conséquence le blocage des réactions situées en aval; la synthèse du produit final s'arrête donc immédiatement. Cette situation est réversible. Si le produit final vient à manquer, l'inhibition cesse et la chaîne de synthèse se remet à fonctionner. Ce mécanisme simple et efficace est aussi précis, car il agit spécifiquement, et économique puisqu'en évitant des synthèses inutiles, il prévient tout gaspillage des capacités cellulaires.

## Régulation de la traduction

On a vu (chapitre 9) que dans les cellules eucaryotes, les ARN messagers subissaient une maturation avant d'être traduits : épissage des introns et adjonction d'une séquence polyadénylée. Pendant cette maturation, l'ARN messager apparaît associé avec des protéines. Le rôle de cette maturation et celui des protéines associées ne sont pas encore parfaitement compris, mais il est clair que des systèmes qui influeraient sur la maturation de certains ARN messagers pourraient contrôler indirectement l'expression des gènes correspondants. Les ARN messagers doivent ensuite migrer du noyau dans le cytoplasme afin d'être traduits. Enfin, l'initiation ou la stimulation de la traduction peuvent requérir un certain nombre de facteurs spécifiques.

Sans que la nature des mécanismes mis en jeu soit toujours bien élucidée, plusieurs cas de régulation ont été mis en évidence au niveau des ARN messagers. En voici quelques exemples :

■ **Les messagers synthétisés pendant l'ovogénèse des batraciens**, peuvent subsister plusieurs mois dans l'ovocyte. Ils sont ensuite utilisés à des moments précis du développement embryonnaire. Ceci indique d'une part qu'il existe des systèmes de protection des ARN messagers (dont la durée de vie est normalement courte), d'autre part que, dans une cellule, un certain nombre de conditions doivent être réalisées pour qu'un messager d'un type donné soit traduit.

■ **Dans les cellules hépatiques des mammifères**, la synthèse de l'enzyme trypsine aminotransférase qui intervient dans la dégradation des acides aminés est sous le contrôle d'une hormone : l'hydrocortisone. En l'absence de l'hormone, une protéine (répresseur) interfère avec le messager de la tyrosine aminotransférase en prévenant sa traduction; la présence de l'hormone modifie les propriétés du répresseur qui ne peut alors plus empêcher la traduction du messager. L'hormone élève donc la quantité et par conséquent l'activité de la tyrosine aminotransférase hépatique.

■ **Le bactériophage à ARN Q $\beta$**  possède pour matériel génétique une molécule d'ARN simple brin qui comporte un peu plus de 3 000 nucléotides. Cette molécule, quand elle pénètre dans la cellule hôte, se comporte comme une molécule d'ARN messager polycistronique. Elle possède en effet 3 cistrons qui codent pour 3 protéines. Une est nécessaire à la maturation du virion, une autre sert d'élément constitutif de la capsid, la troisième permet la réplication de l'ARN. La chaîne qui sert de messager (chaîne +) est d'abord copiée en sa chaîne complémentaire (chaîne -). Une nouvelle copie génère des chaînes + qui seront encapsidées et libérées dans les virions murs. Dans le virion, la réplique est absente; la protéine de maturation n'est présente qu'en un petit nombre d'exemplaires, alors que la protéine de la capsid existe en 180 exemplaires. Dans la cellule bactérienne, les 3 molécules virales sont synthétisées en quantités différentes sur le même messager polycistronique. L'ARN de Q $\beta$  présente une taille relativement petite; il est facile à isoler à partir de virions; sa séquence de nucléotides a pu être déterminée. Cette séquence présente des portions complémentaires permettant à la chaîne de s'apparier tête-bêche sur elle-même en formant des « épingle à cheveu » (fig. 14.3). Cette structure secondaire laisse apparent le site d'initiation de la traduction de la protéine de la capsid qui peut donc être reconnu directement par les ribosomes. Le site d'initiation de la traduction de la réplique reste inaccessible, car il est masqué dans une « épingle à cheveu ». Pour que la réplique soit traduite, il faut que la molécule d'ARN ait été préalablement dépliée: ce dépliement n'est rendu possible que par la traduction du gène qui code la protéine de la capsid. Dans cet exemple, la structure même de la molécule d'ARN introduit un ordre dans le moment de lecture des divers cistrons. D'autres facteurs interviennent dans la

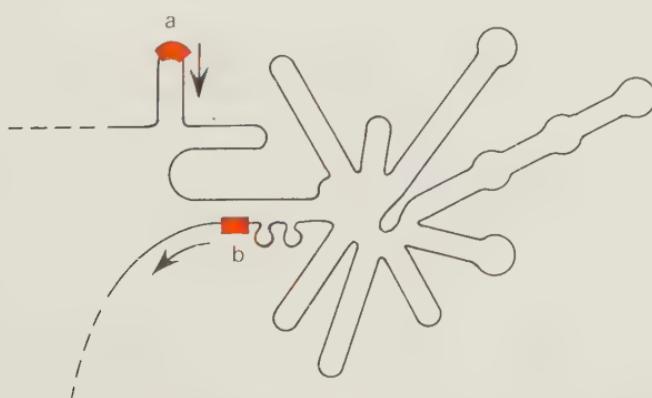


Fig. 14.3. — Structure secondaire d'une portion de l'ARN de Q $\beta$ . a : site d'initiation de la traduction de la protéine de la capsid (accessible par les ribosomes). b : site d'initiation de la traduction de la réplique (non accessible par les ribosomes). Les flèches indiquent la direction de la traduction.

régulation de la traduction de l'ARN de Q $\beta$ . Par exemple, la molécule de réplicase peut se fixer sur le site d'initiation de la traduction de la protéine de la capsid. Elle inhibe alors cette initiation, ce qui entraîne secondairement l'inhibition de la lecture du cistron de la réplicase par le mécanisme expliqué précédemment.

## Régulation de la transcription

Ainsi, des mécanismes très variés peuvent entraîner une modulation de l'activité des protéines en agissant soit au niveau de la traduction des ARN messagers en protéines soit au niveau des protéines elles-mêmes. Néanmoins, les processus de régulation interviennent aussi très fréquemment au niveau de la transcription du gène : c'est essentiellement à des cas de régulation au niveau de l'activité des gènes, c'est-à-dire de leur transcription que se réfèrent les exemples qui suivent et qui portent sur la régulation du métabolisme du lactose chez le colibacille et sur la régulation séquentielle des gènes chez le phage. On verra aussi que la différenciation cellulaire procède essentiellement de mécanismes qui interviennent au niveau du contrôle de la transcription.

## Régulation du métabolisme bactérien

### Régulation du métabolisme du lactose chez le colibacille : un système inducible

Un des cas les mieux connus de régulation s'applique à un groupe de gènes intervenant dans le métabolisme du lactose chez le colibacille : le « *système lac* ».

Le lactose est un disaccharide. Il peut être dégradé par la cellule en glucose et en galactose. Cette réaction est catalysée par la  $\beta$ -galactosidase. Si des cellules bactériennes sont mises en croissance sur un milieu glucosé, dépourvu de lactose, on constate que la  $\beta$ -galactosidase est pratiquement absente. Si les cellules sont transférées sur un milieu où le lactose remplace le glucose, on voit apparaître l'enzyme (fig. 14.4). La quantité est finalement multipliée par un facteur proche d'un million, soit environ 3 000 molécules par cellule. Si les bactéries sont placées à nouveau sur du milieu glucosé, la  $\beta$ -galactosidase cesse d'être synthétisée et sera progressivement diluée au cours des multiplications cellulaires ultérieures.

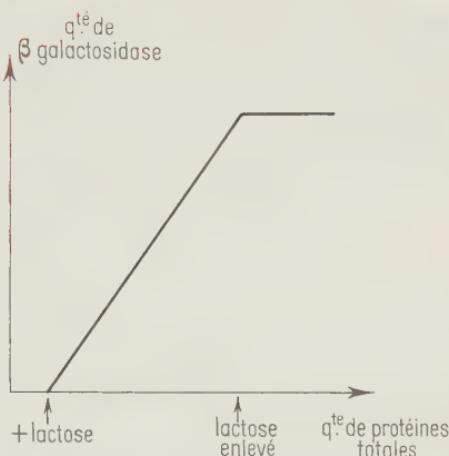


FIG. 14.4. — Induction de la  $\beta$ -galactosidase. Si l'inducteur est ajouté au milieu, la  $\beta$ -galactosidase apparaît.

Ainsi, le lactose est nécessaire à la présence de l'enzyme qui permet de le métaboliser et dont il déclenche l'apparition. Le lactose induit la synthèse de la  $\beta$ -galactosidase. On appelle cette substance l'*inducteur*. L'induction se traduit par la synthèse de l'ARNm codant pour la  $\beta$ -galactosidase : celui-ci est absent dans les cellules non induites, cultivées sur glucose. Il apparaît dans chaque cellule peu de temps après le transfert sur lactose. L'induction a donc ici pour effet de déclencher la transcription du gène de structure de la  $\beta$ -galactosidase.

### Induction coordonnée

Pour être utilisé par la cellule, le lactose doit pénétrer dans celle-ci. Le transfert s'effectue activement à travers la membrane cellulaire par l'intermédiaire d'une perméase spécifique : la *galactoside-perméase*. En son absence, le lactose ne peut être concentré dans la cellule. La perméase est un enzyme distinct de la  $\beta$ -galactosidase ; pourtant, elle est également induite par le lactose ; sa cinétique d'apparition dans les cellules est la même que celle de la  $\beta$ -galactosidase. Le lactose induit donc simultanément la transcription de deux gènes codant l'un la  $\beta$ -galactosidase et l'autre la perméase : on parle d'*induction coordonnée*.

### Génétique du « système lac »

On a vu dans le chapitre précédent qu'il était possible d'élaborer chez le colibacille des cartes génétiques grâce aux phénomènes de parosexualité. L'existence de facteurs F' permet également d'effectuer des tests de dominance et des tests de complémentation puisqu'il est possible de créer ainsi des diploïdes partiels (fig. 14.5). Ces méthodes

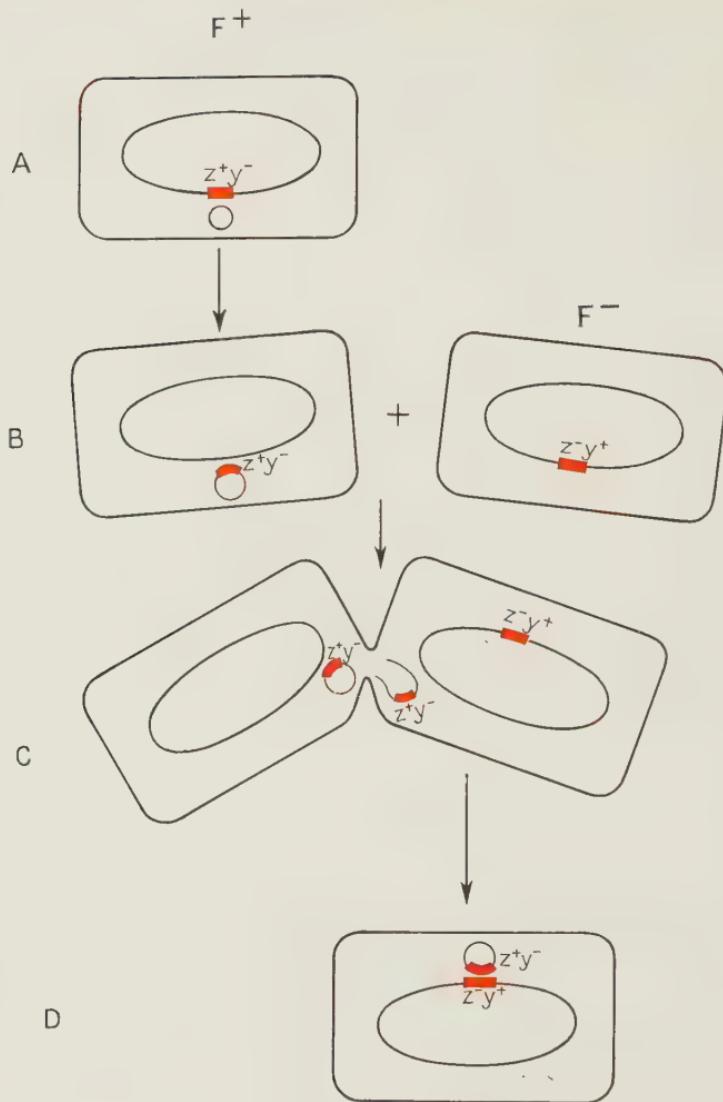


FIG. 14.5. — *Conjugaison et constitution d'un diploïde partiel.* A. — Bactérie  $F^+$ . B. — Intégration d'une partie du chromosome bactérien dans le facteur  $F$  (comprenant les gènes  $z$  et  $y$  sous la forme  $z^+ y^-$ ). C. — Conjugaison avec une bactérie  $F^-$ ,  $z^- y^+$ . D. — Obtention d'un diploïde partiel  $z^+ y^- / z^- y^+$ .

génétiques ont été utilisées pour étudier le « système lac ». Cette étude a permis de comprendre la manière dont l'inducteur déclenche l'activité des gènes de ce système. L'interprétation proposée alors a été ensuite confirmée par l'étude biochimique.

Certains mutants affectant le métabolisme du lactose présentent une  $\beta$ -galactosidase altérée : ils affectent le gène de structure (*z*) de cet enzyme. D'autres intéressent le gène de structure (*y*) de la perméase. Une troisième classe de mutants est dite *constitutive* ; les deux enzymes sont normaux, mais ils sont présents même en l'absence de lactose ; contrairement aux bactéries inducibles, la présence de lactose n'est plus nécessaire pour que leurs gènes de structure soient actifs.



FIG. 14.6. — Structure fine de la région lac. *i*, gène régulateur; *p*, promoteur; *o*, opérateur; *z* et *y*, gènes de structure de la  $\beta$ -galactosidase et de la galactoside-perméase.

Les mutations correspondant à ces divers mutants ont été localisées et les divers gènes ont été définis par complémentation (fig. 14.6). Les gènes de structure des enzymes, *z* et *y*, correspondent à deux cistrons adjacents. Les mutants constitutifs ont leur mutation localisée au niveau de *i* ou de *o*. Les mutants *i*<sup>-</sup> et *o*<sup>-</sup> se différencient par le critère suivant : un diploïde partiel pour la région lac *i*<sup>+</sup>/*i*<sup>-</sup> est à nouveau inductible ; *i*<sup>+</sup> est dominant sur *i*<sup>-</sup>. Par contre, un diploïde *o*<sup>+</sup>/*o*<sup>-</sup> reste constitutif. En associant à *o*<sup>+</sup> et *o*<sup>-</sup> des mutations différentes sur les gènes de structure, on montre que seuls les gènes de structure contigus à *o*<sup>-</sup> continuent à s'exprimer de manière constitutive en présence de *o*<sup>+</sup> sur l'autre chromosome. Par exemple, un diploïde *i*<sup>+</sup>*o*<sup>+</sup>*z*<sup>+</sup>*y*<sup>-</sup>/*i*<sup>+</sup>*o*<sup>-</sup>*z*<sup>-</sup>*y*<sup>+</sup> reste constitutif pour la perméase (c'est-à-dire le gène non muté *y*<sup>+</sup> associé à *o*<sup>-</sup>) mais est inductible pour la  $\beta$ -galactosidase (c'est-à-dire le gène non muté *z*<sup>+</sup> associé à *o*<sup>+</sup>).

### Interprétation : notions d'opéron et de gène régulateur

Ces faits ont été interprétés de la manière suivante (fig. 14-7) : *i* est un *gène régulateur* qui commande la synthèse d'un *répresseur* ; en l'absence de lactose, le répresseur se fixe sur l'*opérateur* (*o*). Cette fixation prévient la transcription des gènes de structure *z* et *y*. Quand il est présent dans la cellule, le lactose s'associe avec le répresseur : cette association aboutit à un changement de configuration du répresseur qui ne reconnaît plus l'*opérateur*. La transcription peut alors s'effectuer normalement. Elle s'initie en un site localisé entre *i* et *o* : le *promoteur*, qui correspondrait au « signal » de début de trans-

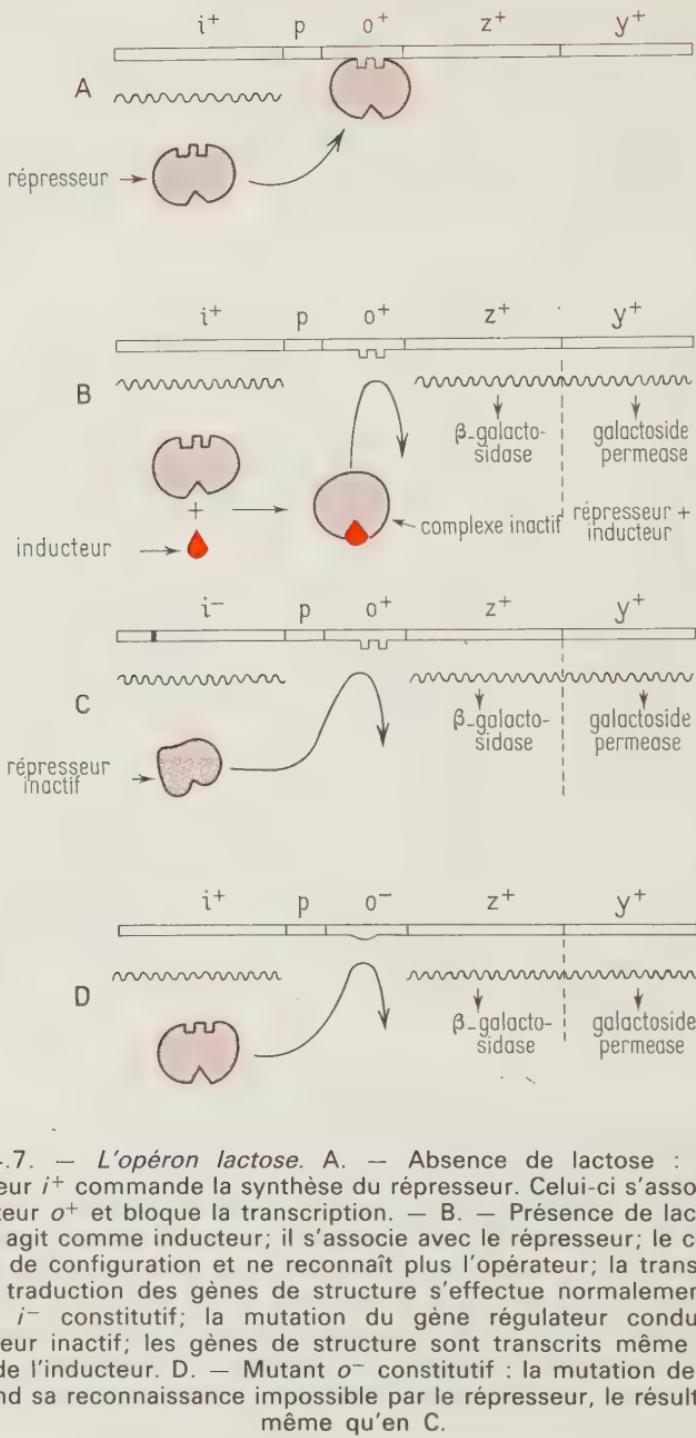


FIG. 14.7. — L'opéron lactose. A. — Absence de lactose : le gène régulateur  $i^+$  commande la synthèse du répresseur. Celui-ci s'associe avec l'opérateur  $o^+$  et bloque la transcription. — B. — Présence de lactose : le lactose agit comme inducteur; il s'associe avec le répresseur; le complexe change de configuration et ne reconnaît plus l'opérateur; la transcription, puis la traduction des gènes de structure s'effectue normalement. C. — Mutant  $i^-$  constitutif; la mutation du gène régulateur conduit à un répresseur inactif; les gènes de structure sont transcrits même en l'absence de l'inducteur. D. — Mutant  $o^-$  constitutif : la mutation de l'opérateur rend sa reconnaissance impossible par le répresseur, le résultat est le même qu'en C.

cription. L'ARN est synthétisé séquentiellement; il comporte l'information des deux gènes de structure  $z$  et  $y$  qui seront ensuite traduits en  $\beta$ -galactosidase et en perméase par les ribosomes. L'ensemble promoteur, opérateur, gènes de structure a été baptisé *opéron*: il s'agit d'une unité de transcription comportant une séquence de nucléotides reconnue par le répresseur et qui permet de réguler cette transcription.

Les mutations vers  $i^-$  conduisent à un répresseur inactif qui ne reconnaît plus l'opérateur (dans un diploïde partiel  $i^+/i^-$ , la présence du répresseur actif codé par  $i^+$  suffit à bloquer les deux opérateurs, rétablissant l'inductibilité). Les mutations  $o^-$  altèrent la séquence nucléotidique de l'opérateur, normalement reconnue par le répresseur. Celui-ci ne peut plus se fixer sur l'opérateur : ceci explique que, dans un diploïde partiel  $o^+/o^-$ , les gènes appartenant à celui des deux opérons dont l'opérateur est muté continuent à s'exprimer de manière constitutive.

Le répresseur a été isolé : il s'agit d'une protéine. Les diverses propriétés du répresseur : fixation sur l'opérateur, association avec le lactose, absence de reconnaissance de l'opérateur quand il est associé au lactose ont été directement vérifiées *in vitro*.

## Systèmes répressibles

Un système de régulation symétrique de l'induction opère dans de nombreuses chaînes de biosynthèses (par exemple, la synthèse des acides aminés). De manière générale, les divers enzymes intéressant une chaîne biosynthétique ne sont plus fabriqués lorsque le produit final est ajouté. Ainsi, la présence de tryptophane a pour effet d'arrêter de manière coordonnée la synthèse des enzymes qui catalysent sa formation. Il agit en réprimant l'activité des gènes de structure impliqués dans sa biosynthèse. Dans le cas du tryptophane, les gènes de structure sont également groupés en opéron, mais le gène régulateur qui contrôle la synthèse du répresseur de ce système est éloigné de l'opéron.

L'interprétation du mécanisme de régulation des systèmes répressibles est la suivante : le répresseur, pour reconnaître l'opérateur, doit être associé avec le produit final (appelé *corépresseur*). En son absence, l'opérateur n'est plus reconnu par le répresseur et la transcription s'effectue (fig. 14-8).

De nombreux autres cas de régulation du métabolisme sont connus. L'association en opérons des gènes de structure qui répondent de manière coordonnée à l'inducteur ou au corépresseur n'est pas obligatoire. Ainsi, chez le colibacille, les gènes impliqués dans la biosynthèse de l'arginine sont réprimés de manière coordonnée par cet acide aminé. Pourtant, ils ne sont pas assemblés en un seul opéron.

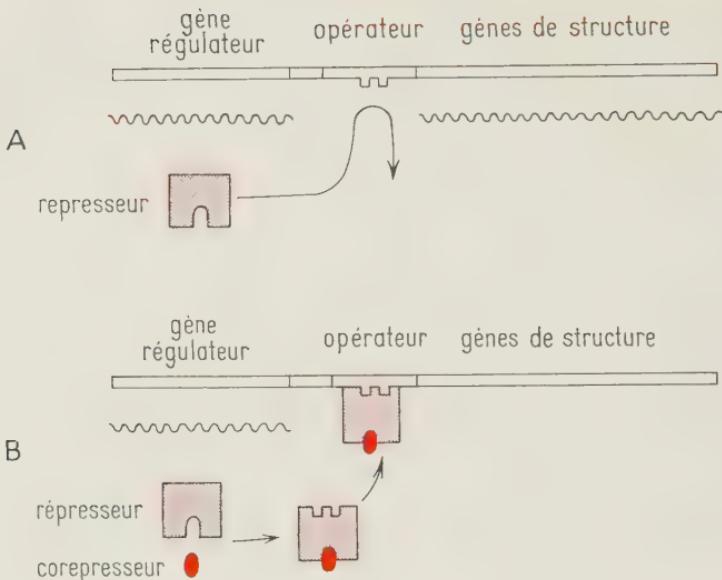


FIG. 14.8. — *Système répressible*. A. — Absence du corépresseur : le répresseur ne reconnaît pas l'opérateur. B. — Présence du corépresseur : le répresseur s'associe avec le corépresseur et prend une configuration qui lui permet de reconnaître l'opérateur en bloquant la transcription.

## Conclusions

Les types de régulation qui viennent d'être cités permettent d'équilibrer le métabolisme de la cellule en fonction de son environnement. Ainsi, les substances qui nécessitent une transformation par une série de réactions préliminaires avant d'être utilisables par la cellule ont pour propriété d'induire le fonctionnement des gènes qui gouvernent ces réactions. Au contraire, des substances qui correspondent à des produits finaux directement utilisables par la cellule agissent comme répresseurs des gènes gouvernant leur chaîne de biosynthèse. De manière générale, cette régulation permet aux gènes de ne fonctionner que lorsqu'ils sont nécessaires. La cellule réalise ainsi des économies considérables d'énergie et de matériaux. Voici un exemple qui donnera une idée de l'ampleur de ces économies : il y a de l'ordre de 2 000 gènes susceptibles d'être traduits en protéines chez le colibacille. Lorsque la  $\beta$ -galactosidase est induite, elle représente environ 3 % des protéines cellulaires. Si tous les gènes fonctionnaient au même rythme, il y aurait  $3 \times 2\,000 = 6\,000$  % de protéines fabriquées : les systèmes de régulation aboutissent donc à une diminution par un facteur 60 de la quantité totale de protéines synthétisées.

Les exemples de régulation adaptative les mieux connus intéressent les procaryotes. Des processus similaires interviennent également chez les eucaryotes.

## Régulation séquentielle et lysogénisation chez le bactériophage lambda

■ **Caractéristiques du phage lambda.** — L'infection par le phage T2 aboutit toujours à la lyse de la bactérie hôte et à la libération d'une progéniture phagique. De tels phages sont dits « *virulents* ». Le phage lambda est morphologiquement assez semblable au phage T2. Il s'agit pourtant d'un phage « *tempéré* ». Il peut en effet emprunter

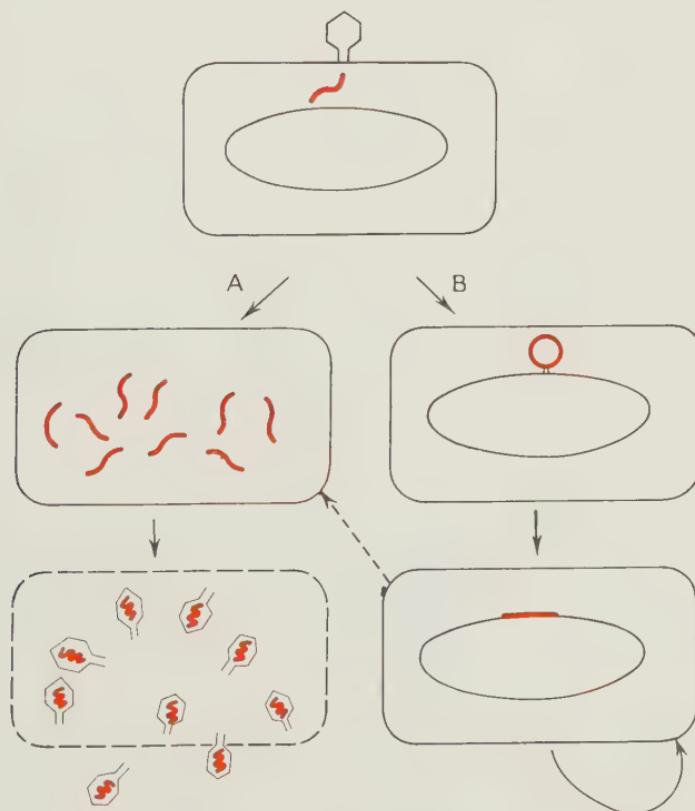


FIG. 14.9. — *Le bactériophage tempéré λ.*  
A. — Cycle lytique. B. — Lysogénisation.

deux voies alternatives à la suite de l'infection (fig. 14.9). Ou bien il déclenche le cycle lytique, ou bien encore il lysogénise la cellule hôte : le bactériophage lambda persiste dans la bactérie sans la lyser, sous forme de prophage. La cellule survit et se divise normalement ; elle devient résistante à l'infection par de nouveaux phages lambda. La cellule est devenue *lysogène*. Les bactéries descendantes peuvent, de manière aléatoire, subir une lyse spontanée : elles libèrent alors une récolte de phages lambda.

Lors du cycle lytique, toutes les fonctions virales nécessaires à la réPLICATION de l'ADN phagique, à la synthèSE des protéines de l'enveloppe et à la digestion de la paroi bactérienne qui provoque la lyse sont successivement exprimées dans un ordre rigoureux. Cette expression séquentielle est contrôlée par des gènes de régulation portés par le génome viral.

Lors de la lysogénisation, l'expression des gènes tardifs est inhibée : il ne peut y avoir de libération des virus. L'ADN emprunte alors une voie alternative : il s'intègre en un site spécifique du chromosome bactérien, par recombinaison. A la suite de l'intégration, l'ADN viral se comporte comme un segment d'ADN bactérien : il se duplique avec celui-ci sans causer aucun dommage à la bactérie. Bien que le génome du phage soit complet, son expression est complètement inhibée.

Nous envisagerons successivement les systèmes de régulation qui opèrent au cours du cycle lytique et dans la bactérie lysogène.

■ **Régulation pendant le cycle lytique.** — La carte génétique du bactériophage lambda est très bien connue. Le chromosome phagique comporte plusieurs gènes régulateurs, les gènes de structure des fonctions précoces et ceux des fonctions tardives (fig. 14.10). Ces gènes de structure sont groupés en deux systèmes pour les fonctions précoces : l'un contrôle les enzymes impliqués dans la réPLICATION, l'autre ceux intervenant dans la recombinaison. Il existe également deux systèmes groupés pour les fonctions tardives : l'un code les protéines de structure de l'enveloppe et l'autre les enzymes déterminant la lyse de la bactérie. Trois gènes régulateurs interviennent principalement pendant le cycle lytique. Les produits des deux gènes *N* et *Q* ont pour effet d'*induire* la transcription : il s'agit de *régulation positive*. Le produit du gène *N* induit la transcription des deux groupes de gènes correspondant aux fonctions précoces ainsi que celle du gène *Q*. Le produit de ce dernier gène induit à son tour la transcription des gènes gouvernant les fonctions tardives : l'expression de ces gènes ne peut donc s'effectuer qu'après celle des gènes des fonctions précoces. Parallèlement, le produit d'un troisième gène *cro* agit comme répresseur (*régulation négative*) en bloquant la transcription des gènes précoces. A ce moment, les enzymes de réPLICATION et de recombinaison ont été synthétisés : la réPLICATION de l'ADN et la recombinaison éventuelle entre les génomes phagiQUES peuvent s'effectuer. La transcription des gènes tardifs est maintenant d'autant plus importante que le nombre de chromosomes phagiQUES est augmenté par suite des réPLICATIONS successives.

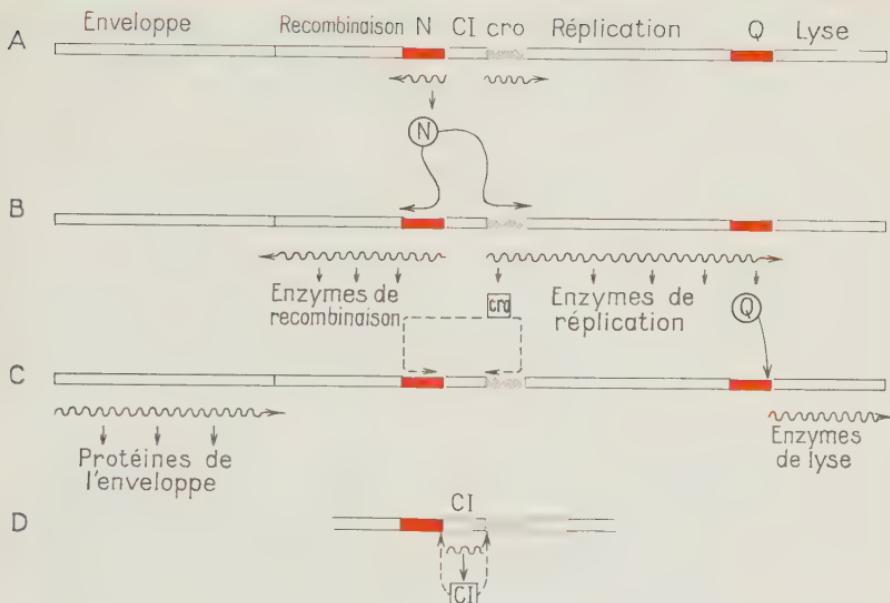


FIG. 14.10. — Régulation chez le bactériophage lambda. A. — Juste après l'infection, seuls les gènes *N* et *cro* sont transcrits. B. — Le produit du gène *N* induit la transcription des gènes de recombinaison et de réplication ainsi que celle du gène *Q*. C. — Le produit du gène *Q* induit la transcription des gènes tardifs. Cette transcription est d'autant plus importante que l'ADN se multiplie, grâce à la présence des enzymes de réplication. Parallèlement, le produit du gène *cro* réprime la transcription des gènes précoces. D. — Dans le prophage, après la lysogénisation de la bactérie hôte, seul le gène *CI* est transcrit. Son produit inhibe la transcription de tout le reste du génome.

→ induction ----> répression.

Ainsi, la combinaison entre des gènes de régulation positive qui induisent successivement les fonctions précoces, puis les fonctions tardives, et un gène de régulation négative qui inhibe le fonctionnement des gènes précoces lorsque leur activité n'est plus nécessaire aboutissent à une expression séquentielle des gènes parfaitement coordonnée et adaptée aux phases spécifiques du cycle lytique.

■ **Lysogénie.** — Lorsque le génome phagique est intégré dans le chromosome bactérien, chez les bactéries lysogènes, aucune des fonctions précoces ou tardives n'est exprimée. Un seul gène est transcrit. Il s'agit du gène régulateur *CI*. Le produit de ce gène est un répresseur qui prévient la transcription du gène de régulation *N* : les fonctions précoces qui nécessitent pour être induites le produit de ce gène ne sont pas exprimées, non plus que les fonctions tardives. Les

ADN phagiques qui pénètrent dans la bactérie lysogène, à la suite d'une nouvelle infection éventuelle par le phage lambda, sont également réprimés : ceci explique l'immunité des bactéries lysogènes.

L'établissement de la lysogénie fait intervenir deux autres gènes régulateurs également portés par l'ADN de lambda : il s'agit d'un processus complexe qui ne sera pas détaillé ici. Le choix entre la lysogénisation et le cycle lytique intervient après la transcription des gènes contrôlant les fonctions précoce; certains enzymes de recombinaison spécifiques permettent l'intégration de l'ADN phagique dans le chromosome bactérien.

Dans certaines conditions qui peuvent être favorisées expérimentalement, le produit du gène *C1* est inactivé : le génome du prophage redevient actif et déclenche un cycle lytique qui aboutit à la mort de la bactérie et à la libération d'une récolte de phages lambda.

■ **Virus oncogènes.** — Un certain nombre de virus — en particulier chez l'homme ou certains mammifères — ont la propriété de provoquer des cancers. Ils sont appelés *virus oncogènes*. Ces virus présentent certaines caractéristiques qui rappellent celles du phage lambda. Selon la nature de la cellule hôte, les virus oncogènes peuvent soit s'orienter vers le cycle lytique, soit s'intégrer dans les chromosomes cellulaires. La plupart des fonctions virales sont alors réprimées (par un processus qui n'est pas nécessairement similaire à celui qui opère chez le prophage lambda). Pourtant, un petit nombre de fonctions virales subsistent : elles ont pour effet de perturber la physiologie de la cellule hôte. On dit que la cellule est *transformée* (la transformation cellulaire consécutive à l'infection par un virus oncogène n'a rien à voir et ne doit pas être confondue avec la transformation bactérienne). Dans un tissu normal, le contact entre les cellules régularise les divisions cellulaires; mises en culture, ces cellules forment un tapis monocellulaire régulier. Une des fonctions virales exprimées chez les cellules transformées correspond à la perte de l'inhibition de contact; les cellules se divisent et se chevauchent de manière anarchique. Dans l'organisme, elles donnent naissance à des tumeurs qui évoluent vers la forme cancéreuse.

## Différenciation cellulaire

L'étude de la différenciation cellulaire fait appel à plusieurs grandes disciplines, telles que la biochimie, l'embryologie, la biologie cellulaire et la génétique. Il s'agit d'un problème d'une importance considérable, mais son abord est rendu très difficile par la complexité des phénomènes qui entrent en jeu. Bien que de nombreux travaux aient déjà été accomplis, une investigation plus approfondie est

encore nécessaire. C'est pourquoi nous envisagerons ici principalement les faits les plus significatifs. Les mécanismes sous-jacents ne sont guère connus dans leurs détails : nous nous contenterons d'en situer les lignes directrices probables.

### **Les cellules différenciées semblent toutes contenir la même information**

Chez une espèce d'*Ascaris*, on assiste dès la première division de segmentation à une fragmentation des chromosomes. L'intégrité des chromosomes n'est conservée que dans les cellules qui donneront naissance à la lignée germinale. Ce phénomène est pourtant exceptionnel. De nombreuses observations montrent en effet que toutes les cellules d'un organisme différencié contiennent la même information génétique. Ceci est indiqué en particulier chez les batraciens par les expériences de transplantation de noyaux de cellules différencierées (cellules du cristallin ou de l'épithélium intestinal) dans des œufs énucléés. Ceux-ci sont néanmoins susceptibles de se développer et de donner un adulte viable. Les expériences d'hybridation, après dénaturation, entre des ADN extraits de tissus variés d'une même espèce, suggèrent également que l'ADN des cellules de ces divers tissus n'a pas été modifié au cours de la différenciation : ils ont tous conservé les mêmes séquences nucléotidiques et se renaturent entre eux.

On sait aussi que l'ADN peut subir des modifications réversibles (distinctes en cela des mutations) : il s'agit par exemple de l'adjonction de radicaux méthylés sur certaines bases le long des chaînes polynucléotidiques.

Ces méthylations peuvent entraîner une inactivation d'un gène (en empêchant sa transcription); cette inactivation pourra être levée si, après la réplication, la chaîne néoformée n'est pas elle-même méthylée.

En conclusion, le contenu en ADN des cellules différencierées semble globalement proche de celui de la cellule œuf et possède encore dans certains cas toute l'information nécessaire au développement d'un adulte viable. Ceci n'exclut pas que dans certains types de cellules spécialisées, des modifications chimiques de l'ADN (méthylations), des remaniements génomiques, ou bien des phénomènes de polyploidisation puissent accompagner le processus de différenciation.

### **Les cellules d'un organisme adulte n'utilisent qu'une partie de leur information, différente d'un tissu à l'autre**

L'analyse chimique montre que des cellules appartenant à des tissus distincts diffèrent qualitativement les unes des autres aussi bien par leur contenu en protéines que par leur contenu en ARN.

■ **Définitions au niveau des protéines.** — Les exemples les plus significatifs proviennent de l'observation de certaines cellules étroitement spécialisées qui synthétisent principalement une seule espèce protéique. C'est le cas des cellules musculaires, très riches en myosine, une protéine qui joue un rôle important dans la contraction musculaire. Les cellules épithéliales synthétisent une grande quantité de kératine. Les cellules de la lignée érythrocytaire, qui donnent naissance aux globules rouges, élaborent essentiellement de l'hémoglobine. Chez le ver à soie, la fibroïne et la séricine qui constituent la soie sont fabriquées en abondance au niveau des cellules spécialisées situées dans les glandes séricigènes. On pourrait multiplier ces exemples.

■ **Définitions au niveau des ARN.** — Des différences qualitatives entre les ARN de tissus différents sont expérimentalement démontrées. Le principe de ces expériences est le suivant (fig. 14-11) : de l'ADN est extrait de l'organisme étudié et dénaturé. De l'ARN radioactif d'un tissu A est préparé : mis en présence de l'ADN, il s'hybride avec celui-ci : la quantité de radioactivité trouvée dans la fraction renaturée ADN-ARN mesure la quantité d'hybridation. Si on ajoute à ce mélange l'ARN extrait d'un organisme très différent, rien n'est changé aux résultats : l'absence de séquences complémentaires prévient l'hybridation entre l'ARN de cet organisme et l'ADN dénaturé ; il n'y a pas de compétition entre les deux types d'ARN. Si on ajoute maintenant une grande quantité d'ARN non marqué du tissu A, cet ARN va entrer en compétition avec l'ARN marqué

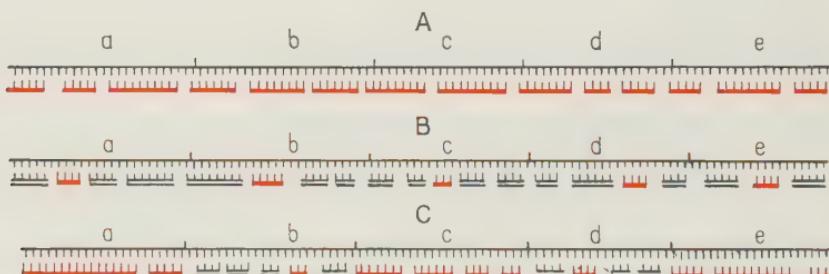


FIG. 14-11. — A. — ADN dénaturé + ARN complémentaire radioactif : formation d'un complexe ADN-ARN double brin radioactif, par reconnaissance entre les séquences de bases homologues (a, b, c, d, e). B. — On ajoute au mélange A une grande quantité d'ARN de même type non radioactif : il y a compétition entre l'ARN radioactif et non radioactif dans la formation du complexe qui présente finalement une radioactivité beaucoup plus faible. C. — On ajoute au mélange A une grande quantité d'ARN non radioactif qui ne comporte pas de séquences complémentaires des portions a, c et e de l'ADN : il n'y a pas de compétition au niveau de ces séquences qui se complexent avec l'ADN radioactif ; la compétition persiste seulement au niveau des séquences b et d : la radioactivité est d'autant plus forte que les portions homologues sont rares.

puisque l'il s'hybride avec les mêmes séquences d'ADN : la radioactivité dans la fraction hybride ADN-ARN sera considérablement diminuée. On peut aussi rajouter de l'ARN extrait d'un tissu B du même organisme : plus la radioactivité baisse dans la fraction hybride, plus les ARN des tissus A et B doivent avoir de séquences communes. Ces expériences montrent que les ARN existant dans des tissus distincts n'ont pas le même pouvoir compétitif : ils correspondent donc, au moins en partie, à des séquences différentes de nucléotides.

**C'est au niveau du fonctionnement des gènes  
que se situe essentiellement  
l'origine des différences entre les cellules spécialisées**

Si on se reporte au paragraphe traitant des niveaux possibles de régulation, la différenciation pourrait théoriquement résulter d'une modulation qui porterait soit sur l'activité ou la maturation des protéines, soit sur la maturation ou la traduction des ARNm, soit encore sur l'ADN lui-même. Il n'est point besoin de discuter longtemps la première possibilité pour montrer qu'elle ne peut être envisagée : les cellules différencierées comportent souvent, comme on l'a vu plus haut, une quantité énorme d'une même espèce protéique ; il va de soi que toutes les protéines codées par le génome ne peuvent être présentes en même quantité. Ceci signifie donc que la régulation se situe en amont de l'activité des protéines. De la même manière, si la différenciation résultait de mécanismes intervenant au niveau de la traduction, tous les tissus différencierés d'une même espèce devraient posséder les mêmes ARN : on a vu qu'il n'en était rien. Bien qu'on ne puisse exclure que les régulations au niveau des ARN ou des protéines jouent un rôle minime dans le maintien des cellules dans l'état différencié, il paraît néanmoins clair qu'elles ne jouent pas un rôle déterminant et que c'est donc au niveau des gènes eux-mêmes qu'il faut rechercher les causes de ces différences.

L'existence de différences au niveau de l'activité des gènes ne peut pas s'expliquer de manière générale comme résultant de la perte sélective de certains gènes, ni de leur inactivation à la suite de mutations. On a vu en effet que certaines cellules différencierées contenaient encore l'information nécessaire au développement de l'individu adulte. L'hypothèse de l'« amplification » ne peut pas non plus rendre compte de ces différences. Cette hypothèse postule que dans les cellules spécialisées, certaines portions de l'ADN sont « amplifiées », c'est-à-dire qu'elles sont répétées en plusieurs exemplaires. Dans cette hypothèse, l'amplification affecte des gènes différents d'un type cellulaire à l'autre. Par exemple, les gènes de l'hémoglobine seraient amplifiés dans les érythrocytes et ceux de la myosine le seraient dans les cellules musculaires. Tous les gènes seraient transcrits mais la quantité d'ARN synthétisé à partir des gènes

non amplifiés serait négligeable. L'existence d'une amplification a en effet été observée dans les ovocytes de divers groupes zoologiques elle intéresse les gènes ribosomiques (ADNr) codant les ARNr. Chez le batracien Xénope, le nombre de gènes ribosomiques est multiplié par 2 000 pendant le début de la période d'accroissement de l'ovocyte : le nombre de ces gènes qui avoisine 1 000 pendant le reste du cycle (il s'agit de gènes redondants) se trouve ainsi porté à deux millions. Les copies d'ADNr se dispersent ensuite et vont former les nombreux nucléoles qu'on observe dans la vésicule germinative. L'abondance de l'ADNr permet à l'ovocyte la synthèse d'une grande quantité de ribosomes (environ  $10^{12}$  par ovocyte, soit 300 000 fois plus qu'une cellule somatique de la même espèce); ces ribosomes seront ensuite très activement utilisés dans les synthèses protéiques qui interviendront au cours du développement embryonnaire. Cette situation est pourtant exceptionnelle. Tout d'abord, on n'a pas signalé d'amplification de l'ADNr chez les vertébrés supérieurs (comme l'homme). Ensuite, l'amplification de l'ADNr semble constituer une exception. En effet, toutes les cellules différencierées possèdent apparemment le même nombre de gènes. Même les cellules très spécialisées qui fabriquent majoritairement un seul type de protéine n'amplifient pas le gène qui code pour cette protéine. L'hypothèse de l'amplification ne rend donc pas compte de l'état des cellules différencierées.

Selon la dernière hypothèse, dans les cellules différencierées, certains gènes sont transcrits mais d'autres ne le sont pas. Aucun fait n'est contraire à cette hypothèse et c'est elle qui est le plus généralement retenue pour expliquer l'état différencié.

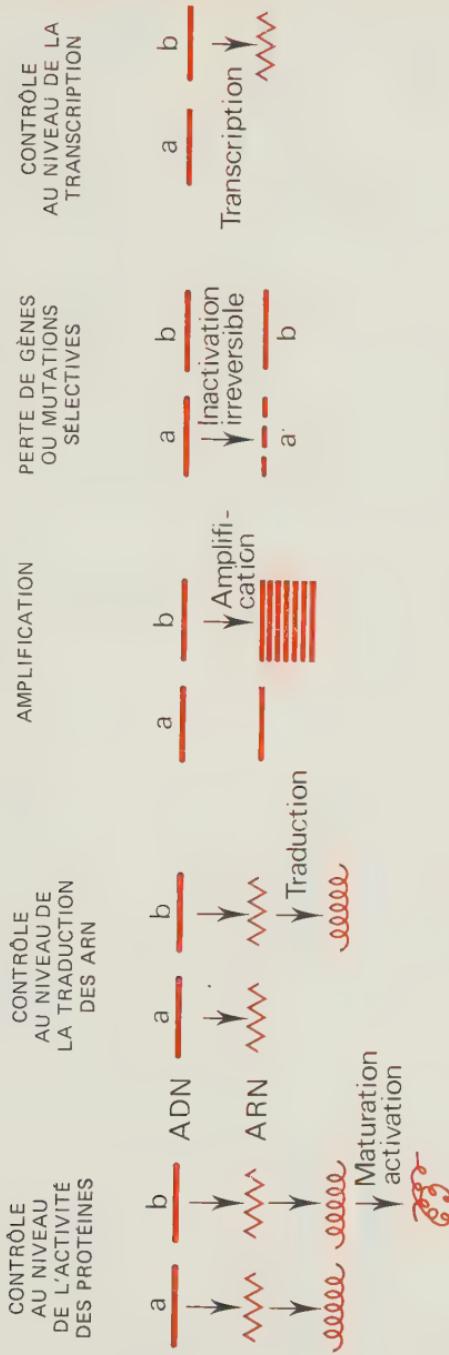
La figure 14-12 schématisse les diverses hypothèses qui viennent d'être citées tout en résumant les arguments qui leur sont éventuellement défavorables.

### **Activité séquentielle des gènes pendant le développement embryonnaire**

L'acquisition de l'état différencié s'effectue par une série d'étapes au cours desquelles des gènes différents fonctionnent successivement. En voici quelques preuves.

- **Variation qualitative des ARN au cours du développement embryonnaire chez les batraciens.** — L'ARN extrait des embryons de batraciens présente des différences qualitatives d'une phase à l'autre du développement. Ceci est démontré par des expériences de compétition, dont le principe a été exposé dans le paragraphe précédent.

## CONTROLE AU NIVEAU DE L'ADN



Importante quantité d'un seul type de protéine dans les cellules spécialisées.

Le noyau d'une cellule différenciée conserve toutes ses potentialités (transplantations nucléaires).

Pas d'argument contraire

ARGUMENT CONTRAIRE

Fig. 14.12. — Diverses hypothèses relatives aux mécanismes responsables de l'état différencié et leur réfutation.  
a : gène dont la fonction n'est pas exprimée dans une cellule différenciée. b : gène dont la fonction est exprimée.

■ **Variation des hémoglobines au cours du développement dans l'espèce humaine.** — L'existence d'une activité séquentielle des gènes est indiquée de manière plus précise par l'étude de types protéiques définis au cours du développement. Chez l'homme, on dénombre 5 types de chaînes polypeptidiques, reconnaissables par leur séquence spécifique d'acides aminés, qui participent à la constitution de l'hémoglobine. Les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  constituent la majorité de l'hémoglobine de l'adulte. Trois autres gènes sont connus. Ils contrôlent respectivement la synthèse des chaînes  $\epsilon$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ . Toutes ces chaînes peuvent s'associer avec les chaînes  $\alpha$  pour constituer des hémoglobines différentes : Hb embryonnaire, ( $2\epsilon + 2\alpha$ ), Hb F ( $2\gamma + 2\alpha$ ), Hb A ( $2\beta + 2\alpha$ ) et Hb A2 ( $2\delta + 2\alpha$ ). L'hémoglobine embryonnaire est présente dans l'embryon jeune, elle est remplacée par l'hémoglobine Hb F dans le fœtus. Les hémoglobines Hb A et Hb A2 ne sont présentes qu'après la naissance (l'hémoglobine HB A2 étant très nettement minoritaire). Ainsi, au cours du développement, le gène contrôlant la chaîne  $\alpha$  fonctionne de manière permanente, alors que les gènes  $\epsilon$ ,  $\gamma$  puis  $\beta$  et  $\delta$  fonctionnent l'un après l'autre.

■ **Les puffs.** — Dans quelques cas favorables, on observe cytologiquement les gènes en activité. Les larves de plusieurs espèces d'insectes diptères présentent dans certains tissus des chromosomes géants analogues à ceux des glandes salivaires des larves de drosophiles. Une des espèces les mieux étudiées est le chironome. Chez les larves de ces insectes, on observe sur les chromosomes géants des renflements très localisés comportant une seule bande, ou un petit nombre de bandes. Ces renflements sont appelés « puffs ».

Quand on fournit à des larves de chironomes des précurseurs radioactifs de l'ARN, la radioactivité se trouve concentrée spécifiquement, en autoradiographie, au niveau des puffs. Les caractéristiques de l'ARN synthétisé au niveau de ces régions indiquent qu'il s'agit d'ARNm. On peut donc admettre que les puffs représentent les gènes en activité dans les tissus larvaires qui comportent des chromosomes géants. Dans ces chromosomes, l'ADN existe sous la forme de copies multiples; les renflements qui définissent les puffs résultent vraisemblablement d'un déroulement localisé de cet ADN, accompagnant son activité.

On peut relier l'existence d'un puff déterminé (caractérisé par sa localisation sur les chromosomes) à la synthèse d'une protéine spécifique. Ainsi, une lignée mutante qui ne synthétise pas un composant défini des sécrétions salivaires ne manifeste pas le puff correspondant.

Durant la vie larvaire, le spectre de répartition des puffs varie : chaque étape se caractérise par un ensemble de puffs déterminé; d'une étape à l'autre, certains puffs peuvent persister, mais d'autres apparaissent ou disparaissent. Ces puffs n'intéressent toujours qu'une fraction modeste des chromosomes géants. Ces observations montrent donc que durant le développement, seulement une petite fraction du génome est active; cette activité n'est pas permanente : l'entrée en fonction ou l'arrêt d'activité des gènes suit un ordre rigoureux.

## Éléments de réflexion sur la régulation pendant la différenciation cellulaire

■ **Régulation séquentielle des gènes.** — Les connaissances acquises sur la régulation séquentielle des gènes pendant le cycle lytique du phage lambda fournissent quelques-uns des éléments de base qui pourraient entrer en considération dans une interprétation formelle du fonctionnement du génome pendant la différenciation. Des systèmes de régulation positive et négative aboutissent probablement soit à l'induction, soit à la répression des gènes : on peut imaginer des circuits complexes de régulation contrôlant une activité intermittente et soigneusement programmée des gènes, en harmonie avec les nécessités physiologiques du développement.

Chez la drosophile, qui est l'un des organismes modèles de l'étude génétique du développement, plus de 50 gènes agissant à des étapes diverses du développement ont été mis en évidence. Certains de ces gènes déterminent des territoires cytoplasmiques qui orientent l'œuf selon deux axes majeurs dorso-ventral et antéro-postérieur. D'autres interviennent plus tard pour déterminer en particulier la segmentation abdominale et thoracique. D'autres, encore plus tardifs, vont orienter des groupes de cellules vers leur différenciation en tissus et organes spécifiques.

■ **Les choix des voies de différenciation pendant le développement : le problème des « signaux ».** — L'analogie avec le bactériophage lambda peut être poussée plus loin : il existe chez ce phage, à un moment précis après l'infection, un choix entre le cycle lytique et la lysogénisation. Chez les organismes supérieurs, un choix analogue est également nécessaire à des étapes variées du développement. Les divers tissus se spécialisent progressivement, de manière plus ou moins dichotomique. Ainsi, au stade gastrula, on distingue l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme qui correspondent chacun à un ensemble de cellules apparemment équivalentes. Le premier donnera pourtant l'épiderme et le système nerveux, lui-même extrêmement différencié; le second aboutira au tube digestif qui comporte des organes aussi différents que le foie et le pancréas, etc.

A chaque étape, les cellules s'engagent donc dans une voie de plus en plus étroite de différenciation et de spécialisation. Cette orientation ne peut être aléatoire; elle doit être strictement déterminée avec une grande précision pour aboutir à la mise en place correcte des organes et à leur structure spécifique dans l'organisme adulte. Ceci suppose l'existence de signaux responsables de l'orientation des cellules vers leur propre voie de spécialisation. Ces signaux doivent agir de manière parfaitement coordonnée dans le temps et dans l'espace.

On peut déterminer au moins deux mécanismes qui orientent la différenciation au cours du développement.

► STRUCTURE CYTOPLASMIQUE DE L'ŒUF. — Le fait que des noyaux de cellules différencieront réexpriment leurs potentialités lorsqu'ils sont transplantés dans l'œuf indique clairement que l'état du cytoplasme joue un rôle déterminant sur le fonctionnement du noyau. L'expérience suivante indique que ce contrôle opère avec une assez grande finesse (fig. 14-13). Au cours de l'ovogénèse, on observe des changements importants dans le métabolisme de l'ovocyte des amphibiens. Par exemple, avant l'ovulation, aucune synthèse d'ADN ne s'effectue mais les synthèses d'ARN (en particulier d'ARNr) sont abondantes; tout de suite après l'ovulation, toutes les synthèses d'ARN et d'ADN s'arrêtent : les chromosomes sont dans un état très condensé qui correspond à la division méiotique; enfin, après l'activation, l'œuf se met à synthétiser de l'ADN en vue de la prochaine division de segmentation, mais il ne synthétise plus d'ARN. Des noyaux de cellules de cerveau de grenouille adulte ont été injectés dans des œufs à chacun de ces trois stades. Dans chaque cas, un changement d'activité est induit en quelques heures dans les noyaux injectés. Dans leur cellule d'origine, ces noyaux ne synthétisent pas d'ADN et ne se divisent pas. Après transplantation dans les ovocytes ovulés, ils se mettent à se diviser; dans les œufs activés, ils manifestent une synthèse d'ADN, enfin dans les œufs non ovulés, ils se mettent à synthétiser abondamment des ARNr (apparition de nucléoles). Par conséquent, l'environnement cytoplasmique induit des effets opposés

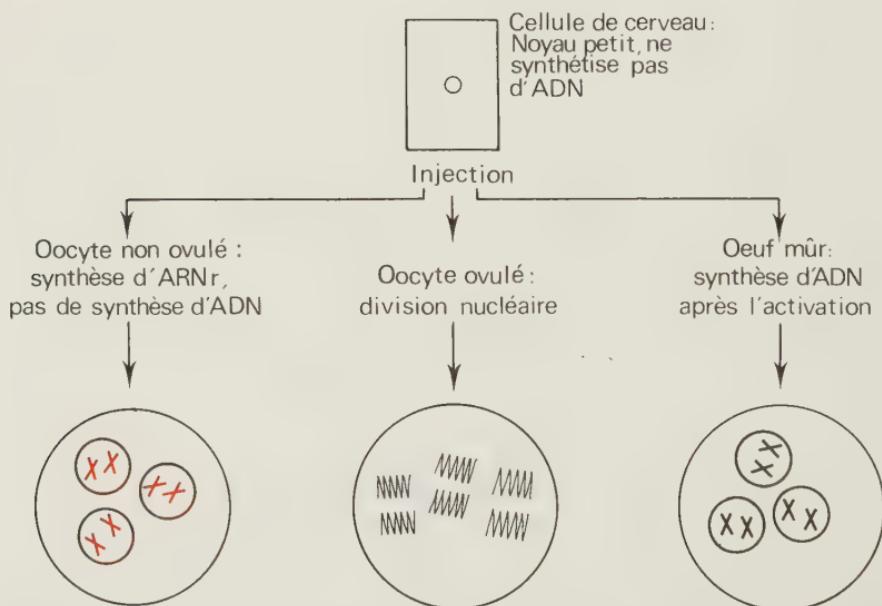


FIG. 14-13. — Transplantation de noyaux de cellules du cerveau de *Xénope* dans des œufs à différents stades de l'ovogénèse (d'après GORDON).

sur les noyaux injectés qui étaient initialement dans le même état. L'état final obtenu est toujours très proche de celui manifesté par le noyau de la cellule hôte. Ceci signifie que le cytoplasme contient des facteurs qui contrôlent l'activité du noyau.

La nature de ces facteurs varie certainement au cours du temps (puisque les effets varient), mais leur distribution dans l'espace doit aussi ne pas être homogène. On distingue en effet dans l'œuf d'amphibiens deux gradients : l'un du pôle animal au pôle végétatif — qui contient la plus grande partie des réserves de l'œuf — l'autre est un gradient dorso-ventral : la partie dorsale est définie par l'existence du « croissant gris » qui correspond à une région particulière du cortex. Expérimentalement, l'œuf peut être divisé longitudinalement en deux parties égales au moment de la première division mitotique qui suit la fécondation. Le plan de section peut passer, selon l'orientation du fuseau de division, soit par le centre du croissant gris, soit selon un plan perpendiculaire (fig. 14-14). Dans le premier cas, les deux parties donnent chacune naissance à un organisme complet. Dans le second cas, seule la partie qui contient le croissant

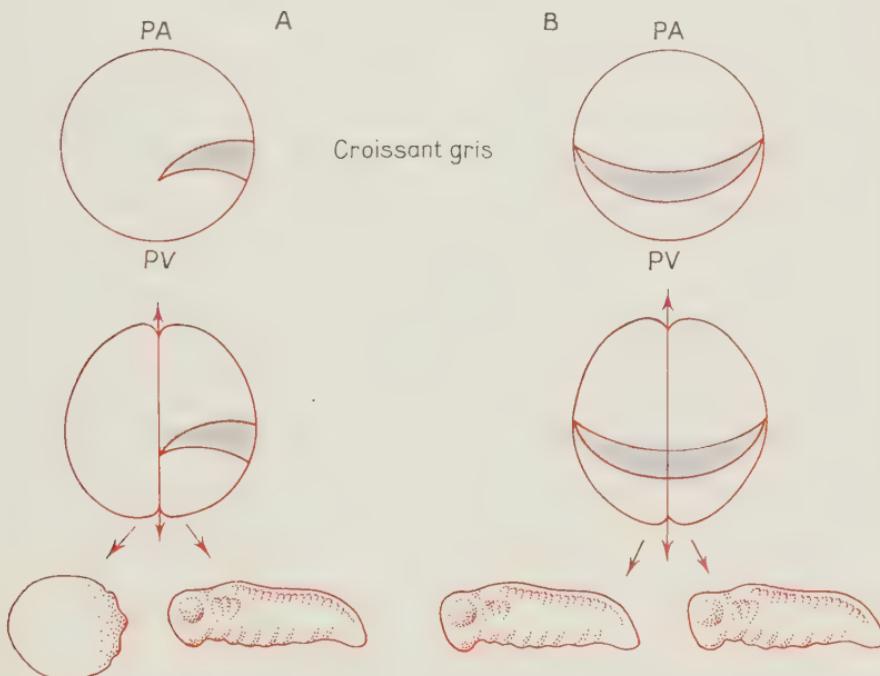


FIG. 14.14 — Œuf de batracien. A. — Vue latérale; la 1<sup>re</sup> division aboutit à deux cellules dont l'une seule contient le croissant gris, cette cellule se développe en un organisme différencié, le développement de l'autre cellule avorte précocement. B. — Vue dorsale; le plan de 1<sup>re</sup> division partage également le croissant gris entre les cellules filles : si elles sont séparées, ces deux cellules se développent en un organisme différencié.

gris évoluera normalement, la seconde partie arrêtant précocement son développement. De la même manière, seule la moitié correspondant au pôle animal possède la potentialité de déterminer un développement normal. Ceci indique que les divers territoires de l'œuf ne sont pas équivalents : le cytoplasme présente une certaine hétérogénéité. Le devenir des cellules doit être au moins partiellement déterminé par la composition cytoplasmique de la région dans laquelle elles s'individualisent. Un type similaire d'hétérogénéité de l'œuf a été démontré chez les embryons de drosophile, où l'on peut définir deux axes majeurs, dorso-ventral et antéro-postérieur. Une étude génétique approfondie a permis de montrer qu'une trentaine de gènes au moins étaient impliqués dans la détermination de ces deux axes. Ces gènes se caractérisent par les modalités particulières d'expression des phénotypes mutants. Des femelles homozygotes pour une mutation récessive de l'un ou l'autre de ces gènes sont normales. Pourtant, leurs œufs sont bloqués à un stade précoce du développement et donc létaux, ceci quel que soit le génotype du gamète mâle apporté par le père. Pour cette raison, on dit que ces gènes ont un effet maternel. Ces gènes codent des produits qui contribuent à la détermination des axes majeurs de l'œuf. Ces produits sont mis en place dans l'œuf, au niveau de l'ovaire, avant la fertilisation, et dépendent exclusivement du génotype de la mère.

► INTERACTIONS CELLULAIRES. — A son tour, la position des noyaux par rapport aux axes majeurs de l'œuf va déterminer la mise en activité différentielle de gènes agissant plus tardivement pendant le développement. Les interactions entre des groupes de cellules voisines engagées dans des voies distinctes de différenciation pourront, avoir un effet déterminant durant la gastrulation. On assiste alors à une mise en place des divers feuillets cellulaires les uns par rapport aux autres : les relations spatiales entre des groupes de cellules issus de territoires variés de l'œuf se trouvent ainsi modifiées. L'embryologie expérimentale montre clairement que certains groupes cellulaires induisent la différenciation de cellules voisines. Ce phénomène d'induction se perpétue jusqu'à un stade avancé du développement embryonnaire, conduisant à une spécialisation de plus en plus avancée des tissus. Il est donc vraisemblable que certaines cellules entrées dans une voie de différenciation envoient des stimuli à des groupes cellulaires voisins. Ces signaux déterminent à leur tour une voie de différenciation spécifique. La détermination des multiples voies de différenciation s'effectue donc par le jeu d'interactions multiples liées à la disposition relative des cellules dans l'embryon.

### Maintien de l'état différencié

Les cellules différencieront cet état dans l'organisme, à travers les divisions mitotiques. Le cytoplasme a une grande importance dans ce maintien, puisque les noyaux de cellules spécialisées, transplantés dans le cytoplasme ovulaire, se mettent à fonctionner

différemment et réexpriment leur totipotence. Pourtant, lorsqu'on met en culture des cellules différenciées, elles perdent un certain nombre de leurs caractéristiques : elles subissent une dédifférenciation plus ou moins avancée. Chez les végétaux, on peut même obtenir à partir de cellules d'un tissu spécialisé en culture, un organisme entier. Par conséquent, le cytoplasme ne suffit pas à maintenir l'état différencié : la perpétuation de cet état dépend aussi de l'environnement extracellulaire.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.-D. *Molecular biology of the cell*. : Garland publishing, Inc., New York and London, 1989.
- BERKALOFF A., BOURGUET J., FAVARD P. et N. LACROIX J.-L. Biologie et physiologie cellulaires T.4. coll. méthodes, Hermann, Paris, 1981.
- FINCHAM J.R.S. *Genetics*. J. Wright and sons, Stonebridge Pass, 1983.
- LHÉRITIER PH., *Génétique*. Masson, Parios, 1975.
- LEWIN B. *Genes III*. John Wiley and sons, Inc. New York, 1987.
- MAYNARD SMITH J. *Evolutionary genetics*. Oxford university press, 1989.
- PETERS J.A. *Classic papers in genetics*. Prentice hall, Inc., Englewood Cliffs, 1964.
- STAYER L. *Biochemistry*. Freeman and co., New York, 1988.
- SUZUKI D.T., GRIFFITHS A.J.F., MILLER J.H., LEWONTIN R.C. *An introduction to genetic analysis*. Freeman and co., New York, 1989.
- WATSON J.D., HOPKINS N.H., ROBERTS J.W., STEITZ J.A., WEINER A.M. *Molecular biology of the gene*. The Benjamin/Cummings Publishing company Inc., 1987.
- WHITEHOUSE H.L.K. *Towards an understanding of the mechanism of heredity*. Edward Arnold, London, 1973.

# Index alphabétique

## A

- Achondroplastie, 232, 236.
- Acrocentrique, 68.
- ADN
  - (amplification *in vitro*), 222.
  - chromosomique, 62-67.
  - (compaction), 63.
  - cytoplasmique, 27.
  - des eucaryotes, 27-29.
  - polymérase, 48-49.
  - (quantité par cellule), 33-34.
  - (séquençage), 220-222.
  - (stabilité métabolique), 29.
  - (structure), 30-32.
  - (taille), 33-34, 63.
- Albinisme, 164.
- Alcaptonurie, 162-163.
- Allèle (définition), 9.
  - (couple), 90.
  - (fréquence), 232-241.
  - (ségrégation), 105-108.
  - (transmission), 89-108.
- Allopolyplioïdie, 136-137.
- Allostérie, 252-254.
- Amplification, 269-270.
- Anaphase de méiose I, 79, 81.
  - de mitose, 54-56.
- Anémie falciforme, 175-178, 242-243.
- Aneuploïdie, 137-139.
- Anticodon, 190.
- Appareil mitotique, 56-58.
- Arginine (biosynthèse), 167-169.
- ARN, 182-197.
  - messager, 187-189.
  - polymérase, 195.
  - prémessager, 196.
  - ribosomique, 185-187.
  - de transfert, 189-190.
- Ascogone, 103-104.
- Asque, 103-105.
- Autofécondation, 95-96.
- Autoradiographie (technique), 43.
- Autosome, 70.
- Avantage du rare, 243.

## B

- Bactériophage (cycle), 14-18.
  - T2, 13-18.
  - tempéré, 263-266.
- Barr (corpuscule), 138.
- Bivalent, 80-81.

- Bras chromosomique, 68.
- Brassage interchromosomique, 88.
  - intrachromosomique, 87-88.

## C

- Carte génétique, 127-128.
- Caryotype, 67-70.
- Centimorgan, 122.
- Centre mitotique, 54.
- Centromètre, 52, 54, 58.
  - (distance), 108.
- Centriole, 54.
- Chaîne de biosynthèse, 164-169.
  - polynucléotidique, 31-32.
- Chiasma, 80, 84-87.
- Chromatide, 52.
  - sœurs, 84.
- Chromatine, 52-53, 63-67.
- Chromomère, 68.
- Chromosome (appariement), 83-84.
  - bactérien, 43-48.
  - (bandes), 68, 70.
  - (duplication), 59-62.
  - géant, 70-72, 141-144.
  - homologue, 69.
  - (morphologie), 67-68.
  - (nombre), 67.
  - sexuel, 70, 129-135, 138-139.
  - (structure), 66-67.
  - (taille), 68.
- Cinétochore, 54.
- Cistron, 156-158.
- Clone cellulaire, 4, 73.
- Code génétique, 198-200.
- Colchicine, 60, 137.
- Colinéarité gène-protéique, 178-179.
- Colonie bactérienne, 4.
- Compétence, 203.
- Complémentation, 149-151.
- Complexe synaptonémal = synapton, 83-84.
- Conidie, 103-104.
- Conjugaison bactérienne, 203, 207-212.
- Consanguinité, 245-248.
- Constriction secondaire, 68.
- Corépresseur, 261.
- Cri du chat (syndrome), 140.
- Croissant gris, 275-276.
- Crossing-over, 88, 107.
- Cycle bactérien, 48.

Cycle lytique (régulation), 263-266.  
 — de vie, 75-77.  
 Cytochrome (iso-1), 179.  
 Cytodéthèse, 55.

**D**

Déficience (accident chromosomique), 140, 143-144.  
 Dérive génétique, 241-242.  
 Déterminisme du sexe, 137-139.  
 Diacinese, 78, 80.  
 Différenciation cellulaire, 266-277.  
 Diplobiontique (organisme), 76-77.  
 Diploïde, 69.  
 Diplotène, 79, 80, 84.  
 Distance génétique, 122-125.  
 Dominance, 97.  
 Down (syndrome), 139.  
 Drosophile (cycle), 71.  
 Duplication (accident chromosomique), 139-140.  
 — pré-méiotique de l'ADN, 82.

**E**

Enzyme (structure), 174-175.  
 Epissage, 196-197.  
 Epistasie, 113.  
 Eucaryotique (cellule), 27, 28.  
 Euchromatine, 194.  
 Eugénique, 243-245.  
 Euploïdie, 135-137.  
 Exons, 196-197.

**F**

Facteur F, 207-209, 211-212.  
 Fécondation croisée, 95.  
 Fibres astériennes, 53, 54.  
 Fibres centromériques, 53, 54.  
 Fibres chromosomiques, 65.  
 Fibres polaires, 53, 54.  
*Finger prints* (technique), 176.  
 Fuseau de division, 54, 56.

**G**

$\beta$ -Galactosidase (régulation), 256-261.  
 Gamètes mutés (fréquence), 236-237.  
 Gène (définition), 147-153.  
 — (fonction), 161-200.  
 — de régulation, 259-261.  
 — de structure, 259.  
 — (notion), 8-9.  
 — (unité de fonction), 147-148.  
 Gènes (activité séquentielle), 270-272.  
 — (localisation cytologique), 142-145.

— (mosaïques), 196.  
 — (nombre), 10.  
 — polymorphes, 231.  
 — (taille), 32, 159, 196.  
 — (transferts de), 201-228.

Génotype, 9.

Gonochorisme, 130.

Gradient de densité (technique), 38-39.

**H**

Haplobiontique, 77.  
 Haplôïde, 69.  
 Hardy-Weinberg (loi), 232-233.  
 Hémizygote, 131.  
 Hémoglobine, 175-178, 182, 231, 272.  
 Hémophilie, 133-134.  
 Hermaphrodite, 129.  
 Hétéroallèle, 155.  
 Hétérocaryon, 149-151.  
 Hétéochromatine, 194.  
 Hétérogamétique (sexe), 130.  
 Hétéosome (v. chromosome sexuel)  
 Hétérozygote, 91.  
 HFR (bactérie), 208-211.  
 Histones, 64-65.  
 Homogamétique (sexe), 130.  
 Homogamie, 245.  
 Homozygote, 91.  
 Hybridation des acides nucléiques, 268-269.  
 Hybride, 95.  
 — cellulaire, 144-145.  
 — interspécifique, 137.

**I**

Idiogramme, 68.  
 Indépendance génétique, 110-120.  
 Induction, 257.  
 Information cellulaire, 2.  
 Ingénierie génétique, 201, 212-222.  
 Insertion de nucléotide(s), 199-200.  
 Intégration, 202, 204.  
 Interactions cellulaires, 276.  
 — de gènes, 112-114, 118-120.  
 Interphase, 52-53, 58-59, 70.  
 Intersexué, 138.  
 Introns, 196-197.  
 Inversion (accident chromosomique), 139-142.  
 Isoleucine (biosynthèse), 169, 170.

**K**

Klinefelter (syndrome), 138.

**L**

- Lambda (cycle du bactériophage), 263-264.  
 Leptotène, 79, 80.  
 Létalité génétique, 238.  
 Leucémie myéloïde chronique, 140.  
 Liaison au sexe, 131-135.  
 — génétique, 120-127.  
 — (groupe de), 127-128.  
 Linéée germinale, 77.  
 — pure, 94.  
 Liposomes, 217.  
 Locus, 90, 108.  
 Lysogénie, 265-266.  
 Lysozyme, 18.

**M**

- Matériel génétique des bactéries, 21-27.  
 — des eucaryotes, 27-29.  
 — des virus, 11-21.  
 — (nature), 11-34.  
 — (propriétés), 1-11.  
 Maturation (ARN), 195-197.  
 — protéines, 253, 259.  
 Méiose, 77-88.  
 — I, 78-81.  
 — II, 81.  
 Métacentrique, 68.  
 Métaphase de méiose I, 80-81.  
 — de mitose, 53-54, 60.  
 Microtubules, 57.  
 Mitose, 51-58.  
 MN (groupe sanguin), 100-101, 233-234.  
 Mongolisme, 139.  
 Monoploïdie, 135, 137.  
 Monosomie, 137.  
 Mutants biochimiques, 148-149.  
 — (sélection), 6.  
 Mutation, 7-8.  
 — (fréquence), 7-8.  
 — et fréquence des allèles, 236-237.  
 — ponctuelles, 198-200.

**N**

- Neurospora (cycle), 103-105.  
 Noyau interphasique, 63.  
 Nucléofilament, 64-66.  
 Nucléole, 52-54.  
 Nucléoplasme, 52.  
 Nucléosome, 64-65.  
 Nucléotides, 30-31.

**O**

- Œuf (structure cytoplasmique), 274-276.  
 Oncogène (virus), 266.  
 Opérateur, 259-261.  
 Opéron, 259-261.  
 Organisateur nucléolaire, 68, 196.

**P**

- Pachytène, 79, 80.  
 Panmixie (définition), 232.  
 Parentale (association d'allèles), 109-110.  
 Périthèce, 103-104.  
 Pénétrance, 237.  
 Perte de nucléotide(s), 199-200.  
 Phage végétatif, 15-16.  
 Phénotype (définition), 9.  
 Phénylalanine (métabolisme), 162-164.  
 Phénylcétonurie, 164, 234-235.  
 Philadelphie (chromosome), 140.  
 Phragmoplaste, 56.  
 Plan équatorial, 54.  
 Plasmides, 214-215.  
 — vecteurs, 215-217.  
 Pois (cycle), 94.  
 Polycistronique (ARN<sup>m</sup>), 197.  
 Polymorphisme génétique, 229-232, 241-243.  
 Polyphloïdie, 135-137.  
 Polysome, 187-188.  
 Polytenie, 70-71.  
 Population (définition), 229.  
 Procarotique (cellule), 27-28.  
 Promoteur, 259-261.  
 Prophage, 264-266.  
 Prophase de méiose I, 78-80.  
 — de mitose, 52-54, 58, 68.  
 Pseudogène, 226, 272.  
 Purine, 30-31.  
 Pyrimidine, 30-31.

**R**

- Récessivité, 97.  
 Recombinaison (fréquence de), 122.  
 — (intragénique), 153-155.  
 Recombinée (association d'allèles), 109-110.  
 Régulation, 249-266.  
 — adaptative, 251.  
 — positive, 264.  
 — séquentielle, 251, 263-266.  
 — de la traduction, 254-256.

Relation gène-protéine, 169-174.  
 — gène-réaction, 165-170.  
 Réplication bidirectionnelle, 46-47,  
 62.  
 — de l'ADN, 35-42.  
 — de l'ADN chromosomique,  
 59-62.  
 — du chromosome bactérien, 43-48.  
 Réplication (fourche), 36, 44-46.  
 — (initiation), 47-48, 61-62.  
 — (*in vitro*), 42-43.  
 — (mode), 37-41, 59-62.  
 — (moment), 58-59.  
 — pré-méiotique, 82.  
 — semi-conservative, 37-41.  
 — (vitesse), 61.  
 Represseur, 259-261.  
 Répression, 261-262.  
 Reproduction conforme, 3-7.  
 — sexuée, 73-75.  
 — végétative, 73-74.  
 Restriction, 215-216.  
 Rétinoblastome, 238.  
 Rétro-inhibition, 253-254.  
 Rétrotransposon, 226-227.  
 Ribosome, 186-188.

**S**

Satellite, 68.  
 Sélection (coefficent), 237-238.  
 — (pression), 238-240.  
 Semi-dominance, 98.  
 Sexduction, 211.  
 Signe sexuel, 105.  
 Sillon annulaire, 55.  
 S (phase), 58-59, 82.  
 Substitution de nucléotides, 199-200.  
 Svedberg (unités), 186.  
 Synapton, 83-84.  
 Synthèse des protéines, 181-197.

**T**

Téléphase de méiose I, 79, 81.  
 — de mitose, 52-53, 55.  
 Test *cis-trans*, 157.  
 — *cross*, 98, 99, 108.

— fonctionnel d'allélisme, 151,  
 155-158.  
 — trois points, 125-127.  
 — trophique, 166.  
 Tétraploïde, 135.  
 Thymidine kinase, 145.  
 Thymine, 30-31.  
 Traduction, 191-193.  
 Transcriptase réverse, 226-227.  
 Transcription, 193-195.  
 Transduction, 205-206.  
 Transformation bactérienne, 24-27,  
 202-204.  
 — cellulaire (virus oncogènes), 266.  
 Translocation (accident chromoso-  
 mique), 139-141.  
 Transplantation nucléaire, 183-184,  
 274-275.  
 Transposition, 202, 224-226.  
 Triploïde, 135, 138.  
 Trisomie, 137, 139.  
 Tryptophane (biosynthèse), 170.  
 — synthétase, 172-174.  
 Tubuline, 57.  
 Turner (syndrome), 138.  
 Tyrosinase, 172.  
 Tyrosinose, 163.

**V**

Valine (biosynthèse), 170.  
 Variabilité génétique, 10.  
 Virions (morphologie), 13-14.  
 Virus à ARN, 18-21.  
 — (caractères généraux), 12-13.  
 — (grippe), 13.  
 — (matériel génétique), 12-21.  
 — (mosaïque du tabac), 13, 18-21.

**X - Y - Z**

X (chromosome) : v. Liaison au sexe.  
 Xg (groupe sanguin), 135.  
 Y (rôle du chromosome), 138-139.  
 Zygote, 77.  
 Zygotène, 79, 80.







complémentaire p. 35

Médecine interne *Devulder*  
Médecine légale clinique *Roche*  
Médecine nucléaire *Desrez*  
Médecine physique *Chantreine*  
Médecine préventive et hygiène  
*Blancher*  
Médecine psychosomatique  
*Haynal*  
Médecine du sport *Guillet*  
Médecine du travail *Proteau*  
Médicaments en rhumatologie  
*Netter*  
Ménopause (La) *Taurelle*  
Mésothérapie *Parienti*  
Méthode statistique *Frontier*  
Mycologie générale et médicale  
*Bouchet*

**N**éonatalogie *Laugier*  
Néphrologie *Legrain*  
Neuro-anatomie *Meininger*  
Neurologie *Cambier*  
Neuro-ophthalmologie *Larmande*  
Neuro-psychiatrie infantile *Debray-Ritzen*  
Neuro-psychologie *Barbizet*  
Neuro-psycho-physiologie  
T. 1 et 2 *Meulders*  
Nutrition et alimentation *Jacotot*

**O**bésité *Creff*  
Ophtalmologie *Saraux*  
Origine et destinée de l'homme  
*Piveteau*  
Orthopédie dento-faciale *Benauwt*  
Orthopédie de l'adulte *Patel*  
Orthopédie pédiatrique *Bensahel*  
Oto-Rhino-Laryngologie *Portmann*  
Oto-Rhino-Laryngologie de l'enfant *Cotin*

**P**arasitologie clinique *Jacquemin*  
Parodontologie *Klewansky*  
Pathologie dentaire *Mezl*  
Pathologie infectieuse *Mairgairaz*  
Pathologie médicale et odontologie  
*Cornébise*  
Pathologie somatique des toxicomanes *Pesce*  
Pédiatrie *Laplane*  
Pédodontie *Fortier*  
Pédiologie *Duchaufour*

Petite chirurgie *Détrie*  
Pharmacie galénique *Le Hir*  
Pharmacocinétique *Labaune*  
Pharmacologie *Cohen*  
Pharmacologie générale et moléculaire *Weipierre*  
Pharmacologie médicale *Lechat*  
Pharmacologie odontologique  
*Déchy*  
Physiologie animale T. 1 et 2  
*Rieutort*  
Physiologie oro-faciale *Woda*  
Physiologie du sport *Monod*  
Physiologie végétale T. 1 et 2  
*Heller*  
Physique *Ernst*  
Physique et biophysique pharmaceutiques *Courrière*  
Phytochimie *Guignard*  
Phytothérapie *Hallard*  
Pneumologie *Chrétien*  
Phlébologie *Ramelet*  
Podologie *Goldcher*  
Polytraumatisé (Le) : conduite précoce *Murat*  
Pratique diététique courante  
*Thoulon-Page*  
Prothèse adjointe partielle *Batarec*  
Psychiatrie de l'adulte *Lemperière*  
Psychogériatrie *Muller*  
Psychologie *Delay*  
Psychologie médicale *Jeammet*  
Psychologie pathologique  
*Bergeret*  
Psychopathologie de l'adolescent  
*Marcelli*  
Psychopathologie de l'enfant  
*De Ajuriaguerra*  
Psychopathologie du sujet âgé  
*Ferrey*  
Psychopathologie du nourrisson  
*Mazet*

**R**adiodiagnostic *Monnier*  
Réanimation, médecine d'urgence  
*François*  
Réanimation médicale *Goulon*  
Réanimation fonctionnelle et réadaptation *Hamonet*  
Relaxation thérapeutique *Meyer*  
Résonance magnétique *Lejeune*  
Rhumatologie *Simon*  
Risques et maladies liés aux médicaments *Heusghem*

**S**anté publique et médecine préventive *San Martin*  
Sémiologie médicale *Bariety*  
Sénologie *Pons*  
Sexologie *Zwang*  
Sexologie clinique *Trimmer*  
SIDA et infection à VIH *Cassuto*  
Sociologie et économie médicales  
*Pellicer*  
Statistique *Geller*  
Statistique au PCEM *Hubert-Carol*  
Statistique médicale *Salamon*  
Stérilité conjugale *Cohen*  
Stomatologie et pathologie maxillo-faciale *Lezy*  
Surveillance et thérapeutique obstétricales *Giraud*

**T**echniques d'empreintes en prothèse adjointe *Goumy*  
Thérapeutique médicale en odontologie *Astley-Hope*  
Thérapeutique neuropsychiatrique  
*Aimard*  
Thérapeutiques en orthopédie pédiatrique *Bensahel*  
Thérapeutique stomatologique et maxillo-faciale *Grellet*  
Tomodensitométrie *Doyon*  
Toxicomanie, pharmacodépendance *Nahas*  
Toxicologie d'urgence *Hachet*  
Transfusion sanguine *Sylvestre*  
Transplantation d'organes *Wolf*  
Traumatologie *Patel*

**U**rgences chirurgicales *Chiche*  
Urgences médicales *Larkan*  
Urgences médicales au cabinet dentaire *Noto*  
Urgences en médecine du travail  
*Hachet*  
Urgences psychiatriques *Grivois*  
Urgences toxicologiques *Lefèvre*  
Urologie *Alken*

**V**accinations *Rey*

**Z**oologie T.1 et 2 *Grassié*

# Génétique

J.-L. ROSSIGNOL

Inventée au XIX<sup>e</sup> siècle, la génétique a subi depuis cette époque plusieurs révolutions. Après avoir établi les lois de transmission des caractères à travers les générations, elle a identifié le support moléculaire de l'information génétique responsable de ces caractères et décrit comment les cellules des organismes vivants déchiffraient cette information. Plus récemment, les techniques de génétique moléculaire ont ouvert la voie à la purification des unités d'information génétique, les gènes, à leur modification chimique *in vitro* et à leur réintroduction dans les cellules vivantes, permettant des modifications contrôlées du patrimoine génétique. Ces nouvelles techniques font de la génétique une science étonnamment moderne qui reste un instrument incontournable dans notre compréhension du développement, du fonctionnement et de l'évolution des êtres vivants.

Cet abrégé introduit le lecteur aux aspects essentiels de la génétique classique et moderne : nature et réPLICATION du matériel génétique, divisions cellulaires, mécanismes et lois de transmission des gènes à travers la reproduction sexuée, fonctionnement et régulation des gènes, transferts de gènes et génie génétique. Il fournit aussi quelques éléments de génétique des populations.

Cet ouvrage s'adresse en premier lieu aux étudiants de premier cycle des universités : DEUG B et PCEM. Il sera également utile aux étudiants de second cycle universitaire et à toute autre personne qui désirerait se familiariser avec la génétique.

*Jean-Luc Rossignol est professeur à l'université de Paris-Sud, où il enseigne la génétique aux étudiants de licence, de maîtrise et de DEA.*



9 782225 825699

F13400



ISBN : 2-225-82569-6