

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MUSTAPHA STAMBOULI DE MASCARA

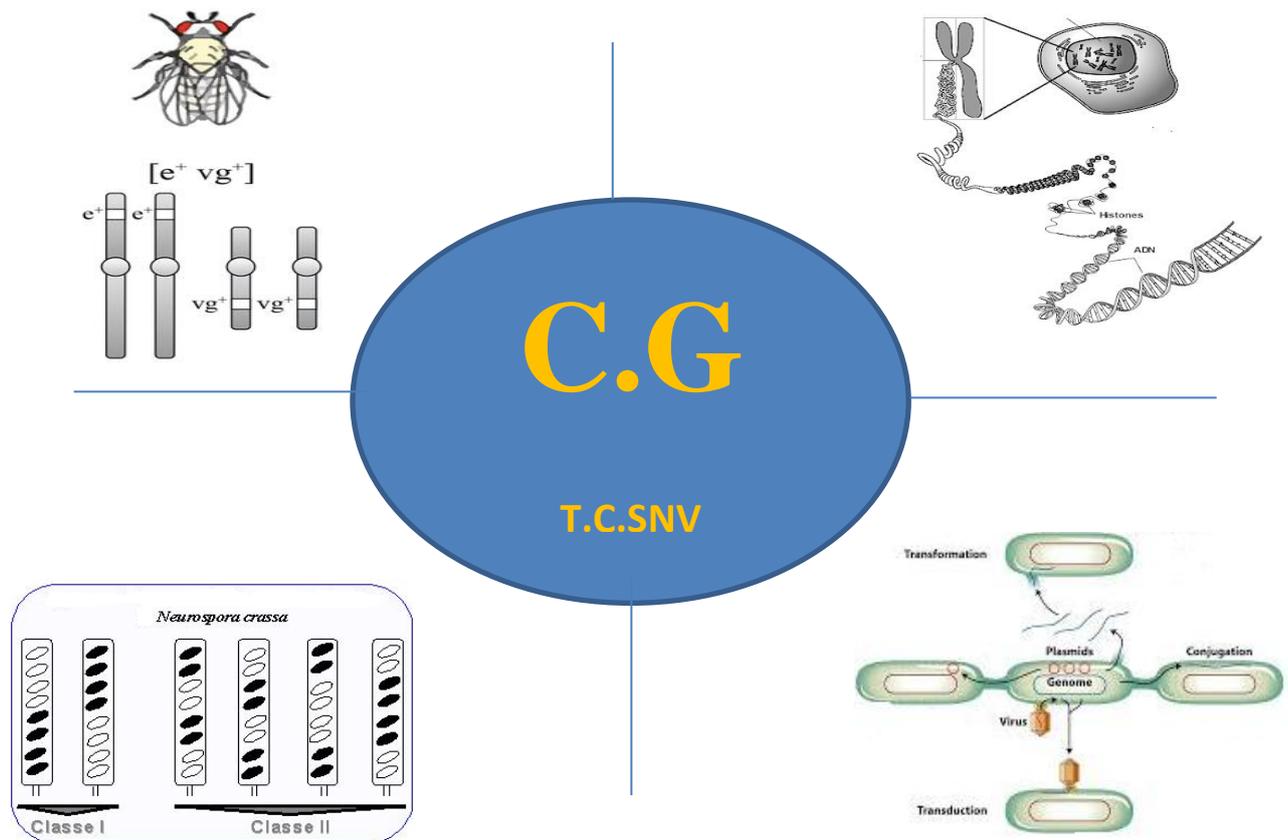


FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE SCIENCES AGRONOMIQUES

Polycopié

Cours de Génétique

Selon le programme du socle commun de licences
Tronc commun sciences de la nature et de la vie



Présenté par : Mr. Moulai Djilali

Année universitaire 2019-2020

Cours de Génétique

**Selon le programme du socle commun de licences
Tronc commun sciences de la nature et de la vie**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Avant-propos

Les connaissances dans le domaine de la génétique et dans celui de la biologie moléculaire se développées ces dernières décennies de manière explosive. Après la fameuse découverte de la structure de l'ADN par Crick et Watson sans oublier les travaux de Franklin, qui ont ouvert la voie vers de fructueuses recherches, de nombreux autres scientifiques ont poursuivi dans cette direction. Chaque année, un grand nombre d'articles est publié à ce sujet. Le prix de Nobel dans cette branche se succède...

Ce polycopié n'a pas la prétention de remplacer les ouvrages traitant de cette matière, mais de donner des notions claires de la génétique fondamentale et de compléter le programme destiné aux étudiants du tronc commun sciences de la nature et de la vie.

Le but essentiel de ce polycopié est de fournir une vue générale des cours avec des illustrations relatives aux phénomènes héréditaires par un précis de cours. Pour que l'étudiant doit acquérir les notions et la terminologie de la génétique, la transmission de l'hérédité chez les organismes vivants, la structure de l'ADN, la réplication, la transcription, les altérations et les mécanismes de régulation de l'expression génétique. Il a paru nécessaire de donner des exemples et des remarques plus nombreux et comportant des explications détaillées de façon à faciliter l'apprentissage du maniement des règles de la génétique.

Ce polycopié est le fruit d'une longue expérience de travail pertinent et sans cesser l'apprentissage de la science. Il s'adresse aux étudiants de deuxième cycle tronc commun de sciences de la nature et de vie. Il peut également être utile à toute personne veut connaître les notions fondamentales de la génétique comme discipline.

Ce polycopié recense les cours chapitrés selon le programme de socle commun proposé par le ministère de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique. Ainsi de références bibliographiques auxquelles l'étudiant doit se conformer pour perfectionner.

C'est la raison pour laquelle, on a chapitré selon le programme un nombre de 12 chapitres, on les a traité débutant par la génétique fondamentale jusqu'à des notions sur la génétique des populations, on a abordé également des exemples au chaque chapitre, intéressant surtout les étudiants de l'enseignement supérieur. Des annexes aident à l'apprentissage des électeurs sont traitées à la fin de ce polycopié.

Table des matières

1	CHAPITRE : MATERIEL GENETIQUE	1
1.1	NATURE CHIMIQUE DU MATERIEL GENETIQUE	1
1.2	STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES (ADN-ARN)	1
1.2.1	<i>Nucléotides-nucléosides</i>	<i>1</i>
1.2.2	<i>L'ose.....</i>	<i>2</i>
1.2.3	<i>La base azotée et tautomérie.....</i>	<i>2</i>
1.2.4	<i>L'acide phosphorique.....</i>	<i>5</i>
1.2.5	<i>Les liaisons dans l'acide nucléique.....</i>	<i>5</i>
1.2.5.1	Liaisons phosphodiesters	5
1.2.5.2	Liaisons N- β -osidique.....	6
1.2.5.3	Liaisons anhydride acide.....	6
1.3	FONCTIONS ET CARACTERISTIQUE DES ACIDES NUCLEIQUES.....	7
1.3.1	<i>Le « dogme central ».....</i>	<i>7</i>
1.3.2	<i>Caractéristiques de l'ADN.....</i>	<i>8</i>
1.3.2.1	Lecture de l'ADN et l'antiparallèles.....	8
1.3.2.2	Complémentarité et la règle de Chargaff.....	9
1.3.2.3	Hélicoïdales.....	9
1.3.2.4	Types d'ADN courants	11
1.3.2.5	Les différentes formes de la double hélice.....	11
1.3.2.6	Température de fusion	14
1.3.3	<i>Caractéristiques de l'ARN.....</i>	<i>15</i>
1.3.3.1	ARNr (ribosomique).....	16
1.3.3.2	ARN t (de transfert) :	16
1.3.3.3	ARN m (messenger)	17
1.3.3.4	SnARN (small nuclear).....	17
1.4	REPLICATION DE L'ADN : CHEZ LES PROCARYOTES ET LES EUCARYOTES.....	18
1.4.1	<i>Chez les procaryotes</i>	<i>18</i>
1.4.1.1	Conservation des brins parentaux	18
1.4.1.2	Expérience de Meselson et Stahl avec <i>E.coli</i> (1958).....	19
1.4.1.3	Directionnalité de la réplication	20
1.4.1.4	Éléments nécessaires pour la réplication	21
1.4.1.5	Mécanisme de la réplication	21
1.4.2	<i>Chez les eucaryotes.</i>	<i>24</i>
1.4.2.1	Mécanisme de la réplication et multiples points d'initiation.....	24
1.4.2.2	Les enzymes et protéines eucaryotes	25
1.4.2.3	La fourche de réplication et finition du brin retardé.....	26
1.4.2.4	Autres particularités de la réplication chez les eucaryotes	27
1.5	ORGANISATION EN CHROMOSOMES.....	29

1.5.1	<i>Structure du nucléosome et empaquetage de l'ADN</i>	29
1.5.2	<i>Remodelage de la chromatine et structure des chromosomes</i>	30
1.5.3	<i>Structure des chromosomes et division cellulaire</i>	30
1.5.3.1	Mitose.....	31
1.5.3.2	Méiose.....	32
2	CHAPITRE : TRANSMISSION DES CARACTERES GENETIQUES CHEZ LES EUCARYOTES	33
2.1	ALTERNANCE DES PHASES ET CYCLE VITAL D'UN ORGANISME	33
2.2	MEIOSE, UNE ETAPE NECESSAIRE AUX CYCLES DE REPRODUCTION	34
2.3	LES TROIS PRINCIPAUX TYPES DE CYCLES VITAUX.....	34
2.3.1	<i>Cycle vital diploïde</i>	34
2.3.2	<i>Cycle vital haploïde</i>	35
2.3.3	<i>Cycle vital haplo diploïde</i>	35
2.4	TRANSMISSION DES CARACTERES ET LES DIFFERENTS NIVEAUX D'OBSERVATION.....	36
2.4.1	<i>Observation de la transmission des caractères à l'état diploïde</i>	36
2.4.2	<i>Observation de la transmission des caractères à l'état haploïde</i>	37
3	CHAPITRE : GENETIQUE DES HAPLOIDES	38
3.1	DEFINITION DE QUELQUES MOTS.....	38
3.2	ANALYSE DES TETRADES ORDONNEES CHEZ NEUROSPORA CRASSA.....	38
3.3	SEGREGATION D'UN COUPLE DE GENES : PRE- ET POST-REDUCTION	39
3.4	INTERPRETATION CHROMOSOMIQUE DES PHENOMENES DE POST-REDUCTION	40
3.5	SEGREGATION DE DEUX COUPLE DE GENES	41
3.5.1	<i>Cas de gène liés (portés par le même chromosome)</i>	41
3.5.2	<i>Cas de gènes indépendants (portés par deux chromosomes différents)</i>	42
3.6	CARTE FACTORIELLE	42
4	CHAPITRE : GENETIQUE DES DIPLOIDES	43
4.1	TERMINOLOGIES	43
4.2	CONVENTION D'ECRITURE	44
4.3	GENETIQUE MENDELIENNE DES ORGANISMES DIPLOÏDES	44
4.3.1	<i>Mono-hybridisme</i>	45
4.3.2	<i>Di hybridisme : Combinaison de deux caractères</i>	48
4.3.3	<i>Di hybridisme et explication des rapports 9 :3 :3 :1</i>	49
4.3.4	<i>Testcross (croisement test)</i>	49
4.3.5	<i>Poly-allélisme et poly hybridisme</i>	50
4.4	EXCEPTIONS A LA GENETIQUE MENDELIENNE DES ORGANISMES DIPLOÏDES	51
4.4.1	<i>Dominance incomplète et codominance</i>	51
4.4.2	<i>Hérédité liée au Chromosome X</i>	52

4.4.3	<i>Létalité</i>	53
4.5	ETUDE DES PEDIGREES	53
4.6	LIAISON ET CARTE CHROMOSOMIQUE.....	54
4.6.1	<i>Liaison</i>	54
4.6.2	<i>Carte factorielle</i>	55
5	CHAPITRE : GENETIQUE BACTERIENNE ET VIRALE.....	58
5.1	QUELQUES DEFINITIONS.....	58
5.2	GENETIQUE BACTERIENNE	58
5.2.1	<i>Transferts horizontaux de matériel génétique</i>	58
5.2.2	<i>Transformation</i>	59
5.2.2.1	Types de transformation	60
5.2.2.2	L'état de compétence et ADN transformant	60
5.2.2.3	Mécanisme de la transformation	61
5.2.3	<i>Conjugaison ou sexualité bactérienne</i>	62
5.2.3.1	Rôles du facteur F et du complexe relaxasome.....	63
5.2.3.2	Le mécanisme du transfert conjugalif	64
5.2.4	<i>Transduction</i>	67
5.2.4.1	Différence entre la conversion et la transduction	68
5.2.4.2	Mécanisme de la transduction	68
5.3	CARTOGRAPHIE PAR RECOMBINAISON CHEZ LES BACTERIES.....	69
5.3.1	<i>Estimation de la distance entre deux gènes différents</i>	70
5.3.2	<i>Estimation de la distance entre deux mutations intracistroniques</i>	70
5.4	GENETIQUE DES VIRUS	71
5.4.1	<i>Caractéristiques des virus</i>	71
5.4.2	<i>Structure génique et réplication de virus</i>	72
5.4.3	<i>La génétique et la multiplication des bactériophages</i>	72
5.4.4	<i>Infection mixte chez les virus</i>	74
5.4.4.1	Complémentation	74
5.4.4.2	Réassortiments génétiques cas de virus de la grippe	74
6	CHAPITRE : SYNTHÈSE PROTÉIQUE.....	77
6.1	TRANSCRIPTION.....	77
6.1.1	<i>Les éléments nécessaires de la transcription</i>	77
6.1.2	<i>Mécanisme simplifié de la transcription</i>	78
6.1.3	<i>Cas du gène procaryote</i>	78
6.1.4	<i>Cas du gène eucaryote</i>	80
6.2	TRADUCTION	83
6.2.1	<i>Code génétique</i>	83
6.2.2	<i>Comment 4 bases peuvent-elles donc coder 20 acides aminés?</i>	83
6.2.3	<i>Dégénérescence et universalité du code génétique</i>	84

6.3	TRADUCTION DES ARN MESSAGERS	84
6.3.1	<i>Les principaux éléments de la traduction</i>	84
6.3.1.1	<i>Les ARN messagers (ARNm)</i>	85
6.3.1.2	<i>Le ribosome et son fonctionnement</i>	85
6.3.1.3	<i>Les ARN de transferts (ARNt)</i>	86
6.3.2	<i>Mécanisme de la traduction</i>	87
7	CHAPITRE : MUTATIONS GENETIQUES	88
7.1	MUTATIONS A L'ECHELLE NUCLEOTIDIQUE.....	88
7.1.1	<i>Mutation par substitution</i>	88
7.1.2	<i>Mutation par insertion</i>	88
	<i>C'est le retournement d'un certain nombre de bases et leur lecture en sens inverse</i>	88
7.1.3	<i>Mutation par insertion</i>	89
7.1.4	<i>Mutation par perte (délétion)</i>	89
7.2	DIFFERENTS TYPES DE MUTATION	90
7.3	MUTATIONS ET APPARITION DES NOUVELLES FORMES ALLELIQUES	91
8	CHAPITRE : MUTATIONS CHROMOSOMIQUES.....	92
8.1	LES MUTATIONS CHROMOSOMIQUES ET GENOMIQUES	92
8.1.1	<i>Anomalies du nombre</i>	92
8.1.1.1	<i>Trisomie 21 (syndrome de Down)</i>	92
8.1.1.2	<i>Autres anomalies du nombre portant sur les autosomes</i>	92
8.1.1.3	<i>Anomalies du nombre portant sur les hétérosomes</i>	92
8.1.2	<i>Anomalies de structure</i>	93
8.1.2.1	<i>Délétions et duplications chromosomiques</i>	93
8.1.2.2	<i>Délétions et duplications chromosomiques</i>	93
8.1.2.3	<i>Translocations</i>	93
9	CHAPITRE : STRUCTURE ET FONCTION DU GENE.....	95
9.1	DEFINITION D'UN GENE.....	95
9.2	ORGANISATION STRUCTURE ET FONCTION DES GENES	95
9.2.1	<i>Structure et fonction des gènes chez les procaryotes</i>	95
9.2.2	<i>Structure et fonction des gènes chez les eucaryotes</i>	96
10	CHAPITRE : REGULATION DE L'EXPRESSION GENETIQUE.....	97
10.1	REGULATION CHEZ LES PROCARYOTES ET L'EXEMPLE HISTORIQUE : L'OPERON LACTOSE	97
10.1.1	<i>Concept de la régulation génique</i>	97
10.1.2	<i>Opéron</i>	97
10.1.3	<i>Les protéines de régulation</i>	97
10.1.4	<i>Le métabolisme du lactose</i>	98

10.1.5	<i>Structure et organisation de l'opéron lactose</i>	99
10.1.6	<i>Diploïdes partiels et mutations de l'opéron lactose</i>	100
10.2	REGULATION CHEZ LES EUCARYOTE : EXEMPLE LES GENES A HOMEODOMAINES	101
11	CHAPITRE : NOTIONS DE GENETIQUE EXTRA-CHROMOSOMIQUE.....	102
11.1	GENETIQUE NON MENDELIENNE	102
11.2	DECOUVERTE DE L'HEREDITE CYTOPLASMIQUE	102
11.3	PLASMAGENES ET HEREDITE DES ORGANITES	102
11.3.1	<i>Origine des mitochondries et chloroplastes</i>	103
11.3.2	<i>Hérédité des mitochondries</i>	103
11.3.3	<i>Hérédité des chloroplastes</i>	105
11.4	HEREDITE INFECTIEUSE (HEREDITE DES PARTICULES INFECTIEUSES)	106
11.4.1	<i>Exemple de la Paramécie : Paramecium aurelia, particules kappa</i>	106
12	CHAPITRE : NOTIONS DE GENETIQUE DES POPULATIONS.....	107
12.1	QU'EST- CE QUE LA GENETIQUE DES POPULATIONS.....	107
12.1.1	<i>Définition</i>	107
12.1.2	<i>Objectifs</i>	107
12.1.3	<i>Les initiateurs</i>	107
12.1.4	<i>Les différentes approches</i>	108
12.1.5	<i>Fréquences alléliques et estimation de la fréquence des gènes à partir des génotypes</i>	108
12.2	LA LOI DE HARDY-WEINBERG.....	108
12.3	VERIFICATION SI LA LOI DE HW S'APPLIQUE A UNE POPULATION DONNEE POUR UN GENE DONNE	109
12.4	FACTEURS INFLUENÇANT LES FREQUENCES GENIQUES	110
12.4.1	<i>Mutation</i>	110
12.4.2	<i>Sélection</i>	110
12.4.3	<i>Dérive génétique</i>	110
13	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	111
14	ANNEXES.....	112

1 CHAPITRE : MATERIEL GENETIQUE

1.1 Nature chimique du matériel génétique

Les porteurs de l'information génétique sont appelés acides nucléiques. Ces macromolécules sont des polymères constitués de monomères connectés entre eux nommés nucléotides. Un nucléotide est lui-même constitué de 3 éléments chimiques : acide phosphorique, ose et base azotée (Figure1). Les bases azotées caractérisent la séquence qui se présente sous une forme d'information linéaire. Dans tous les organismes, à l'exception de quelques virus, le même type d'acide nucléique, l'acide désoxyribonucléique ou l'ADN porte l'information génétique. Donc l'ADN est considéré comme un élément permanent de la cellule. Les informations qu'il contient seront transmises aux descendants, on dit que l'ADN est le support de l'hérédité. Il existe une autre catégorie d'acides nucléiques, c'est les acides ribonucléiques ARN qui jouent un rôle essentiel dans la synthèse des protéines.

1.2 Structure des acides nucléiques (ADN-ARN)

1.2.1 Nucléotides-nucléosides

Les acides nucléiques sont de très longues molécules, formées par la répétition de sous-unités appelées « nucléotides ». Un nucléotide résulte de l'estérification de la fonction alcool d'un nucléoside par une molécule d'acide ortho-phosphorique : **NUCLEOTIDE = NUCLEOSIDE + ACIDE PHOSPHORIQUE**

Un nucléoside est un hétéroside résultant de la combinaison d'un ose (ribose ou 2-désoxyribose) et d'une base azotée (purique ou pyrimidique) unis par une liaison N-glycosidique : **NUCLEOSIDE = OSE + BASE**. (Figure1).

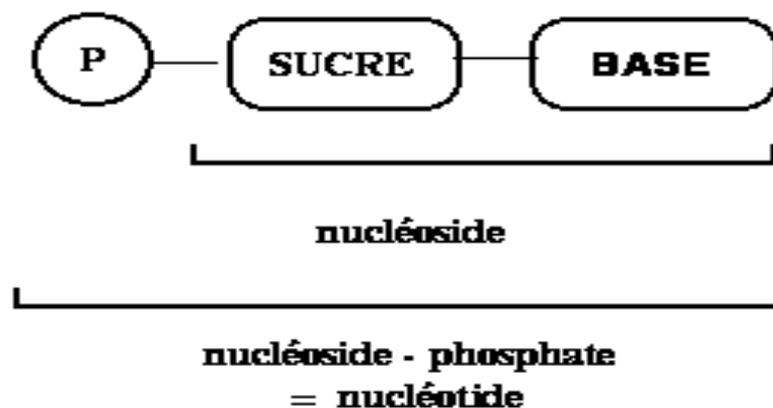


Figure 1 : Présentation d'un nucléotide

Les (désoxy) ribonucléotides portent un suffixe particulier :

- Les bases puriques portent le suffixe **-ylique**. Dans l'ADN, il y a donc l'acide 5'-désoxyadénylique (=désoxyadénosine 5'-monophosphate = dAMP) et l'acide 5'-désoxyguanylique (= désoxyguanosine 5'-monophosphate = dGMP). Dans l'ARN, il y a l'acide 5'-adénylique (= adénosine 5'-monophosphate =AMP) et l'acide 5'-guanylique (= guanosine 5'-monophosphate).
- Les bases pyrimidiques portent le suffixe **-idylique**. Dans l'ADN, on retrouve donc l'acide 5'désoxycytidylique (= désoxycytidine 5'-monophosphate = dCMP) et l'acide 5'-désoxythymidylique (= désoxythymidine 5'-monophosphate = dTMP). Dans l'ARN, on retrouve l'acide 5'-cytidylique (cytidine 5'-monophosphate = CMP) et l'acide 5'-uridylique (= uridine 5'-monophosphate = UMP).

1.2.2 L'ose

L'ose utilisé est un pentose. On trouve deux types d'oses dans les acides nucléiques : Ribose (β -D-ribose) et le désoxyribose (β -D-2'- désoxyribose) qui correspondent de l'ARN et de l'ADN respectivement. Le ribose est un ose en C5, ce nom ribose provient des initiales de l'institut où il a été découvert : « **R**ockefeller **I**nstitute of **B**iochemistry », à New York (« **RIB** ose »).

On numérote les atomes de carbone du ribose avec des « primes » pour éviter les confusions avec les numéros des bases azotées. Le désoxyribose est le ribose dans lequel il manque un OH en 2' (cet OH ayant été remplacé par un H) (Figure 2).

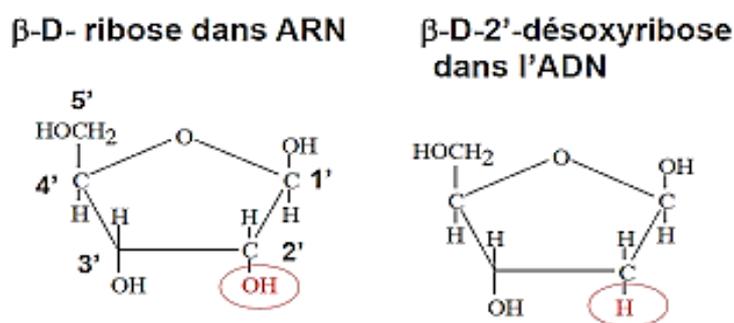


Figure 2 : Les deux types d'oses dans les acides nucléiques

1.2.3 La base azotée et tautomérie

Les bases sont des hétérocycles aromatiques. Dans les nucléotides, il existe 2 types possibles de bases suivant l'hétérocycle (noyau) :

Noyau pyrimidine (1 cycle) → **PETIT**

Noyau purine (2 cycles) = noyau pyrimidine + noyau imidazole → **GROS**
(Figure 3)

Il y a six côtés pour les bases pyrimidiques et à neuf côtés pour les bases puriques qui sont structurellement plus complexes. L'azote est porté en position 1 et 3 (mais les positions 1 et 3 sont inversées entre les deux types de base) (Figure 3).

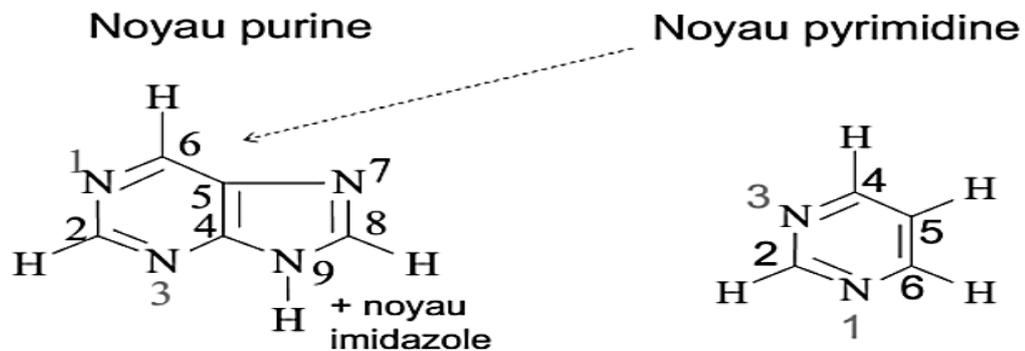
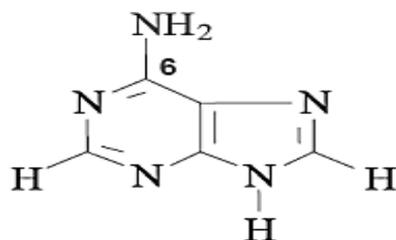


Figure 3 : Les deux types de bases azotées

Il existe 5 bases majeures :

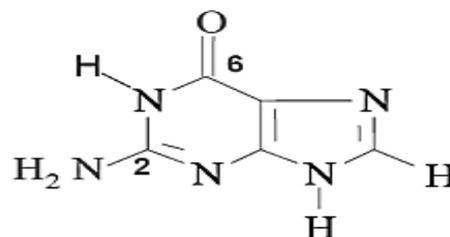
• **2 bases puriques :**

Adénine



6-aminopurine

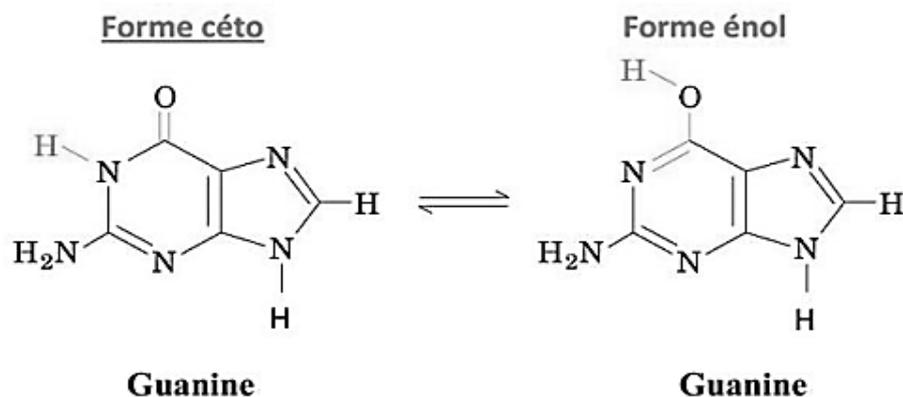
Guanine



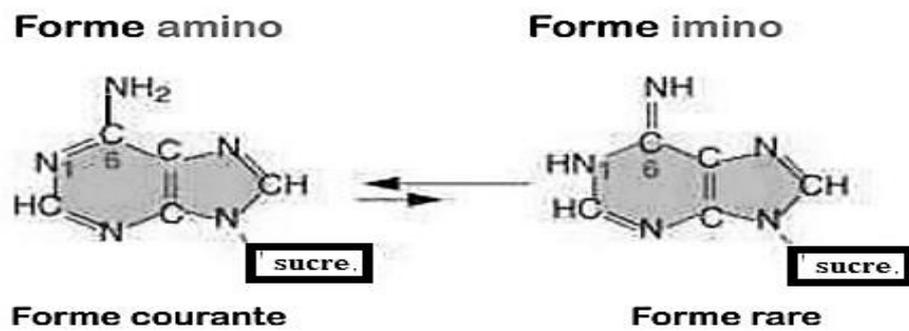
2-amino-6-oxopurine

Remarque : Les formes tautomères :

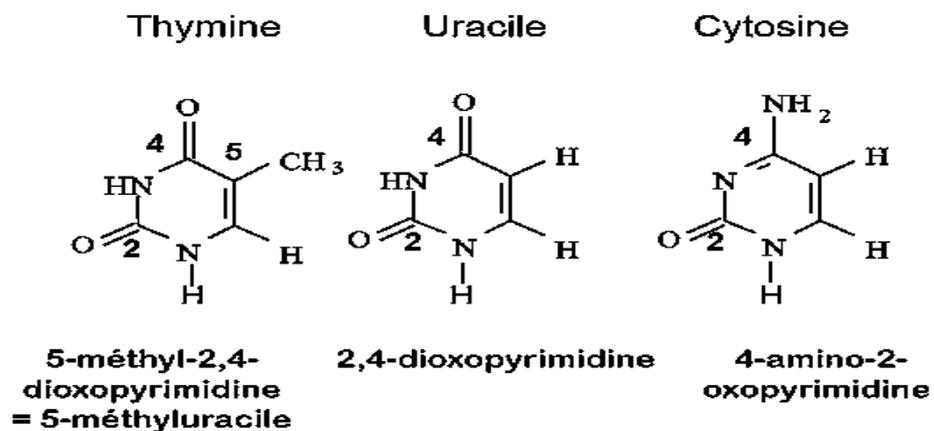
En fonction du pH, les bases puriques oscillent entre 2 formes tautomères, les formes céto (C=O) et énol (C – OH). A pH physiologique, les formes céto (C=O) prédominent.



Pour l'adénine, les formes tautomères sont les formes amino (courante) et imino (rare).



3 bases pyrimidiques :

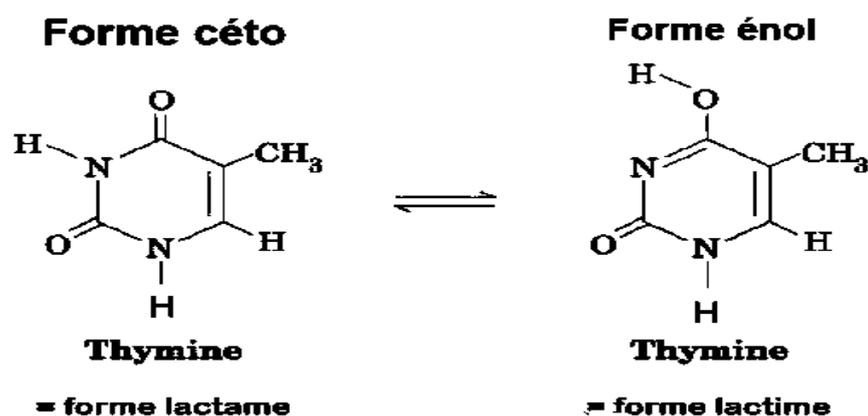


L'Uracile est une base retrouvée dans l'ARN contrairement à la Thymine que l'on retrouve dans l'ADN

La tautomérie est la transformation d'un groupement fonctionnel en un autre groupement par déplacement simultané d'un *atome d'hydrogène* et d'un *doublet d'électron* issu d'une double liaison adjacente.

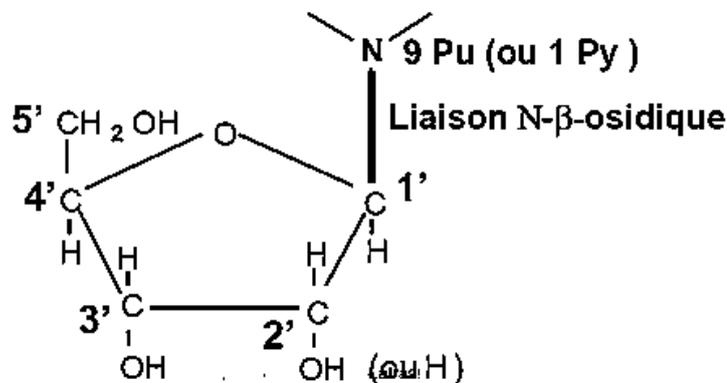
Remarque : Les formes tautomères :

Thymine : la thymine oscille en fonction du pH entre la forme céto (ou lactame) et la forme **énol** (ou lactime). A pH physiologique, la forme **céto** prédomine.

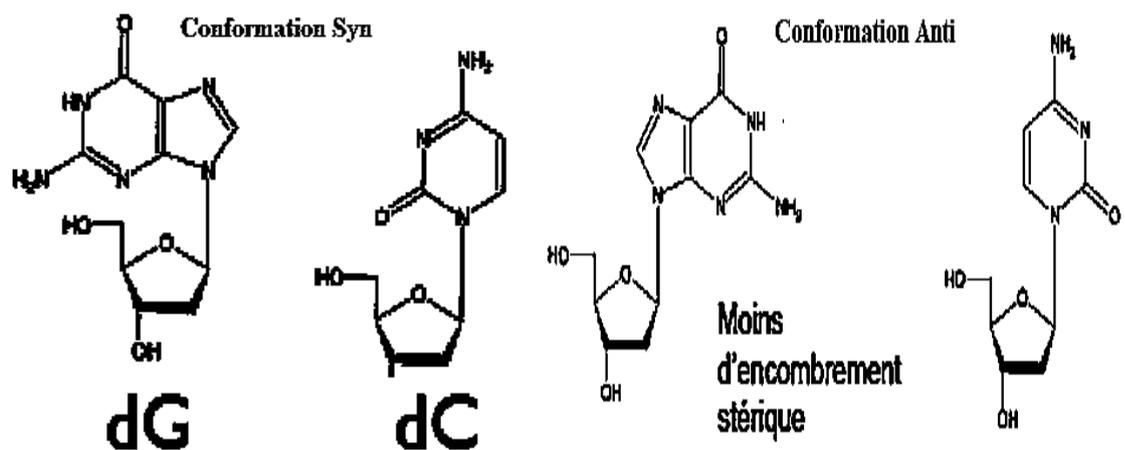


1.2.5.2 Liaisons N-β-osidique

La liaison entre le sucre et la base azotée c'est une liaison *N-β-osidique* ou *N-glycosidique* et se réalise entre l'azote en **9** des bases puriques (ou **1** des bases pyrimidiques) et la fonction β-OH du pentose en C 1'.



Il existe deux conformations (Syn et Anti) pour la liaison C-N (*N-β-osidique*) reliant la base au désoxyribose :

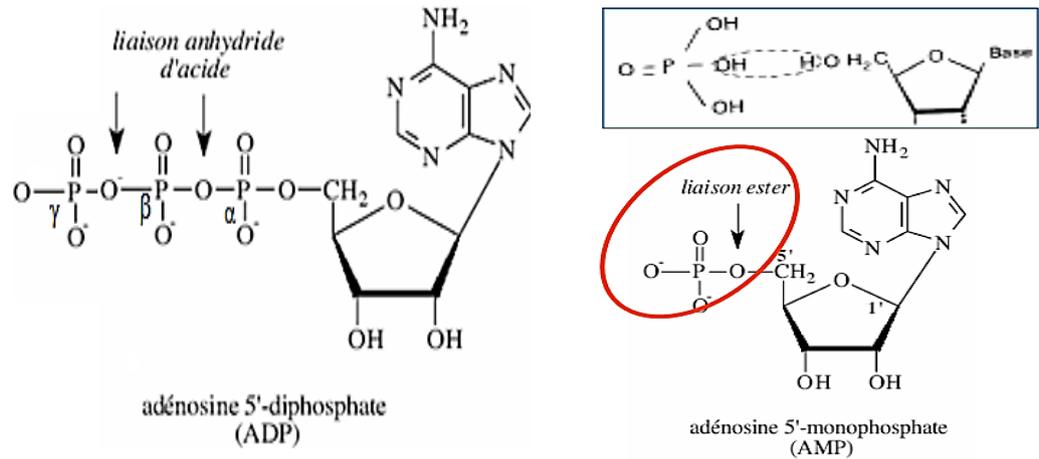


Syn : cette conformation entraîne un encombrement stérique important.

Anti : c'est la conformation garantissant un encombrement stérique moindre, retrouvée dans l'ADN B, qui est la forme de l'ADN la plus courante.

1.2.5.3 Liaisons anhydride acide

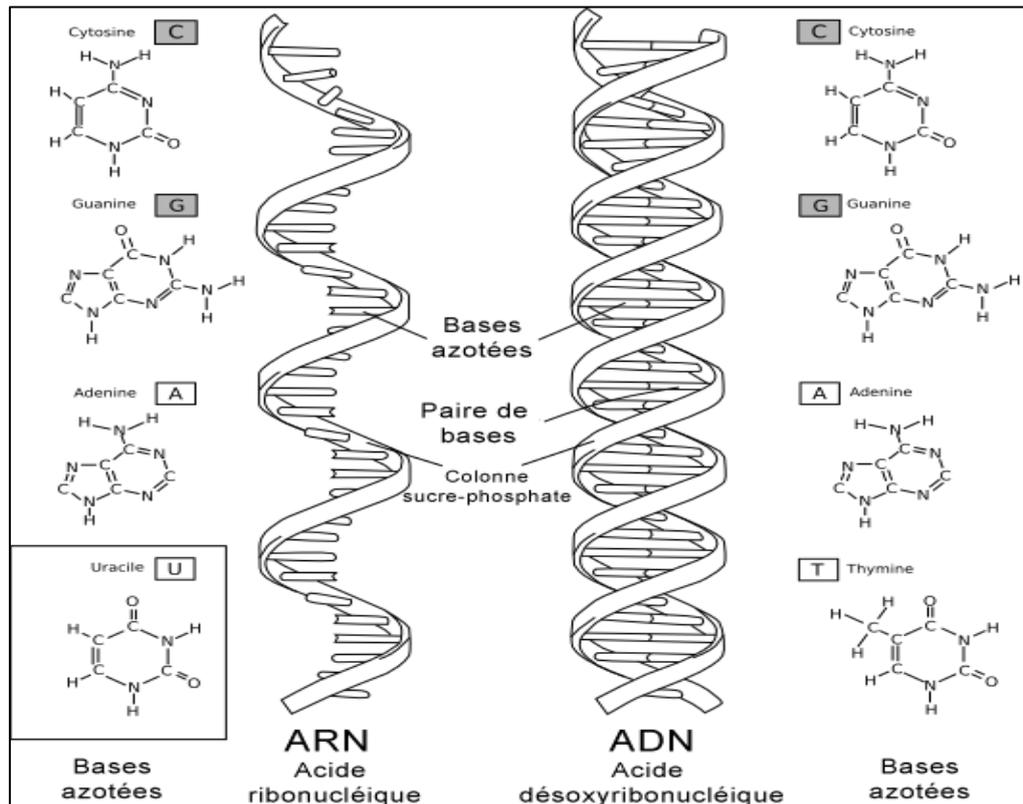
Dans une molécule de nucléotide triphosphate, les trois phosphates α, β et γ sont liés entre eux par des liaisons *anhydride* d'acide. Le phosphate α est lié au C5' du sucre (ribose ou désoxyribose) par l'établissement d'une seule liaison *ester*.



1.3 Fonctions et caractéristique des acides nucléiques

1.3.1 Le « dogme central »

Les fonctions majeures de l'ADN sont résumées dans ce qu'on a appelé le « dogme central » de la génétique moléculaire. L'ADN réunit une fonction *auto catalytique* (autoréplication) et une fonction *hétéro catalytique* (transcription de l'information en ARN voir chapitre ultérieur). La traduction ou expression de l'information sous forme de protéines s'effectue sur des matrices d'ARN, jamais sur des matrices d'ADN parce que les molécules d'ARN sont d'ordinaire plus courtes que les molécules d'ADN. De plus la pyrimidine qui s'apparie avec l'adénine n'est pas la thymine, mais l'uracile (U).



1.3.2 Caractéristiques de l'ADN

Trois caractéristiques sont propres à l'ADN et vont le différencier des ARN.

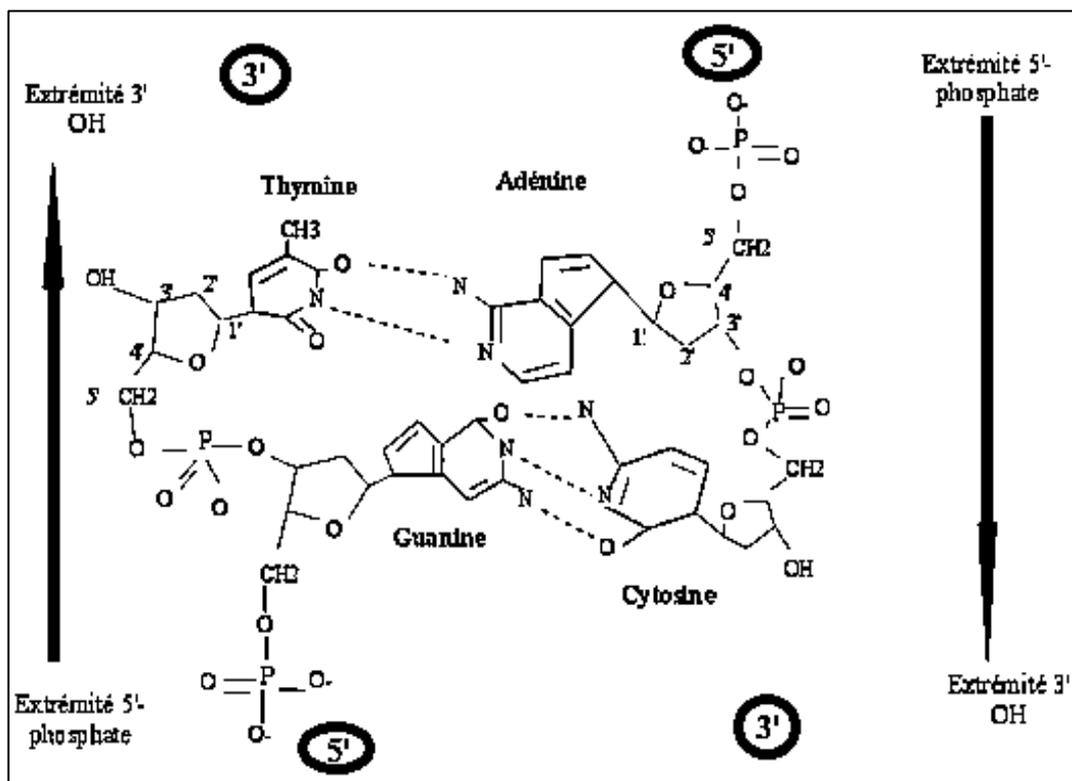
- l'ose entrant dans la constitution de l'ADN est du désoxyribose (et non pas le ribose comme ce sera le cas dans les ARN).
- Les bases constituant les nucléotides de l'ADN sont: A G C T. Il est à noter que dans l'ADN on ne trouve jamais d'Uracile (U) alors que dans les ARN, il y aura de l'uracile à la place de la Thymine.
- Une molécule d'ADN est habituellement formée de 2 chaînes (on dit aussi 2 brins) de nucléotides (ou poly nucléotides) alors qu'une molécule d'ARN n'en comprends qu'une (on note des exceptions chez certains virus).

Ces 2 chaînes ont 3 propriétés: Antiparallèles, complémentaires et hélicoïdales.

1.3.2.1 Lecture de l'ADN et l'antiparallèles

Une chaîne nucléique présente 2 extrémités:

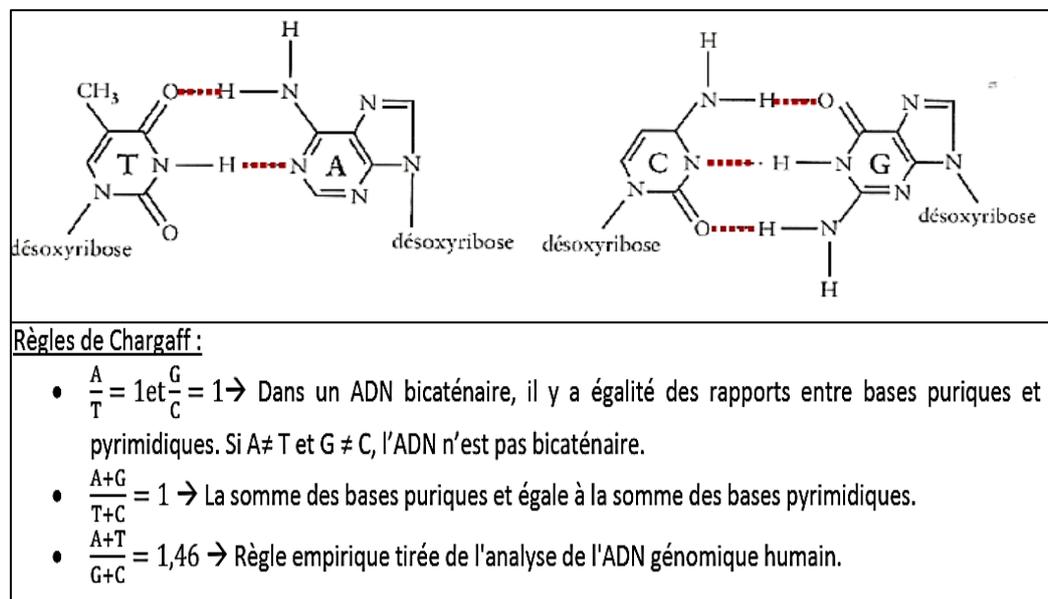
- l'une contenant le groupement phosphaté avec 2 fonctions acides libres, on l'appelle extrémité 5' P.
- L'autre contenant un OH libre en 3' sur l'ose, on l'appelle extrémité 3' OH. On lira toujours une chaîne d'acides nucléiques dans le sens 5' P vers 3' OH. Par souci de simplification, on a maintenant pris l'habitude de faire figurer sur chaque séquence d'ADN les seuls chiffres 5' et 3'.



L'antiparallèle signifie que les deux brins de nucléotides sont parallèles mais dans des directions opposées. Pour un brin, la direction 5' vers 3' se trouve être, par exemple de haut en bas et pour le 2ème brin, la direction 5' vers 3' sera à l'inverse de bas en haut.

1.3.2.2 Complémentarité et la règle de Chargaff

La règle de complémentarité est la suivante: en face de A on a T et en face de C on a G. En effet, la distribution des bases azotées de l'ADN n'est pas quelconque (observation faite par *Chargaff* en 1950), le rapport A+G/T+C est toujours égal à 1 (aux erreurs de mesures près). Il y' a donc autant de A que de T, autant de G que de C.



Selon le modèle de Watson et CRICK : une purine (A, G) se lie avec une pyrimidine (C, T). Les bases complémentaires situées face à face sont liées entre elles par des liaisons hydrogène. Le nombre de liaisons hydrogène pour le couple A – T est de deux et pour le couple C – G de trois (figure précédente).

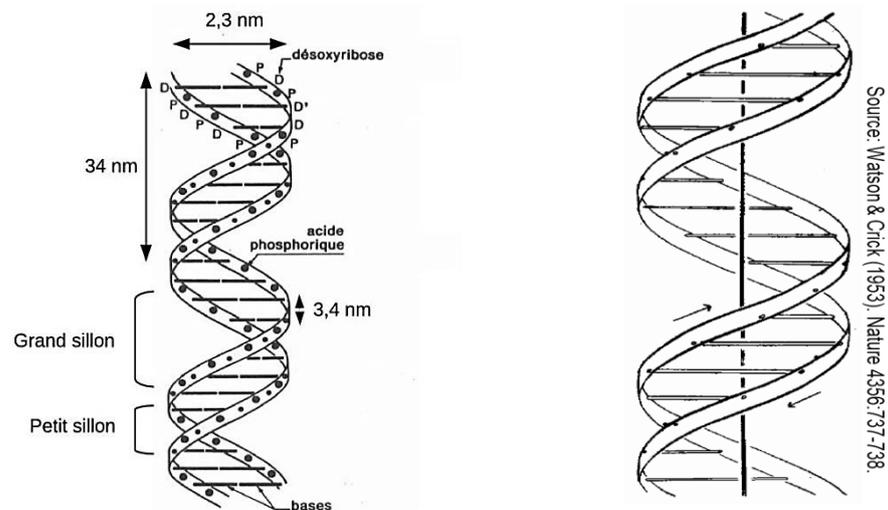
1.3.2.3 Hélicoïdales

Cette distribution égale de A et T d'une part, de G et C d'autre part implique donc une structure particulière de l'ADN, structure qui a beaucoup intrigué les biologistes. FRANKLIN et WILKINS, en étudiant l'ADN par diffraction aux rayons X, établissent que la molécule, présente une structure hélicoïdale.

En 1953 WATSON et CRICK propose le modèle moléculaire de la structure en double hélice droite de l'ADN. Le modèle trouvé par WATSON et CRICK est

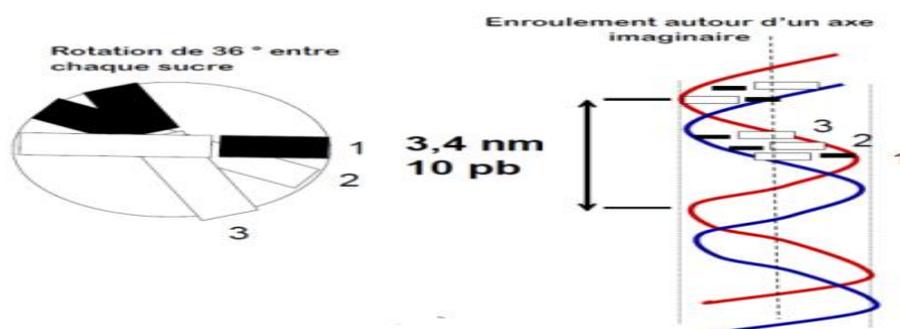
conforme aux données de FRANKLIN et WILKINS et il respecte les règles de CHARGAFF.

Ainsi, la structure globale de la molécule d'ADN est celle d'une double hélice droite. Les 2 chaînes polynucléotidiques présentent dans l'espace une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un même axe. Dans chacune des deux chaînes "l'arête ou la corde vertébrale" est constituée par une alternance de molécules de sucres et d'acides phosphoriques, alors que les bases azotées sont orientées latéralement et à l'intérieur des 2 hélices (elles sont empilées les unes au-dessus des autres).



La distance entre chaque base est de $3,4 \text{ \AA}$ ($0,34 \text{ nm}$). Il y a 10 paires de bases par tour d'hélice; son pas est donc de 34 \AA ($3,4 \text{ nanomètre}$) (c'est à dire que la double hélice effectue un tour toutes les 10 paires de base environ).

Le diamètre de la double hélice est de 20 \AA (2 nm). La double hélice est une molécule relativement rigide (due aux contraintes structurales). Les bases sont situées dans la région interne, fortement hydrophobe. Elles sont empilées et partiellement superposées dans des plans parallèles ou plateaux. Chaque sucre est de 36° . Les résidus phosphates sont orientés à l'extérieur de la structure et sont fortement hydrophiles car ils portent des charges négatives.



Les arêtes créées par l'enchaînement des groupements phosphatés définissent 2 sillons: le petit et le grand sillon.

Les 2 brins sont séparés par 2 sillons délimités par les bases, les sucres et les phosphates :

- Le grand sillon favorise la fixation de protéines ou d'ARN régulateur. Les bases ne sont accessibles aux protéines qu'au niveau du grand sillon.
- Le petit sillon favorise la liaison aux histones.

Certaines protéines se lient à l'ADN dans son grand sillon, d'autres dans le petit sillon, d'autres enfin à la fois dans grand et petit sillon.

1.3.2.4 Types d'ADN courants

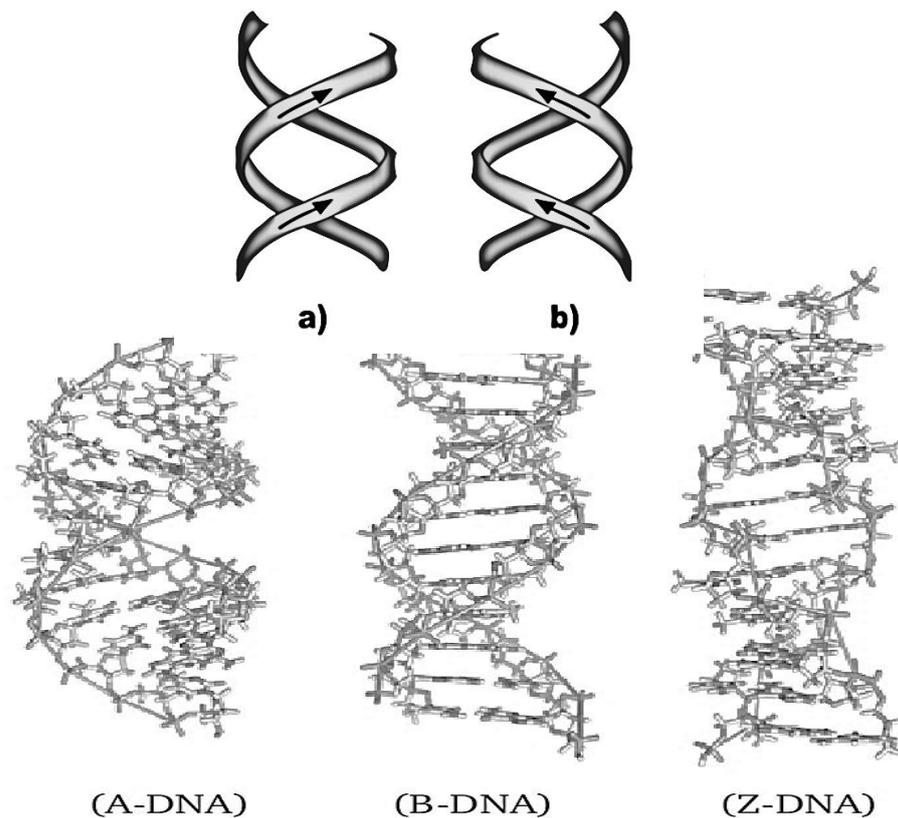
- L'ADN bi caténaire (double brin) non circulaire exemple : chez l'homme l'ADN nucléaire (46 molécules en G0, G1 du cycle cellulaire)
- L'ADN bi caténaire circulaire exemple : Chez les mitochondries ; dans la majorité des chromosomes bactériens ; dans les plasmides (ADN bactérien extra-chromosomique)
- Autre : monocaténares circulaires ou non

1.3.2.5 Les différentes formes de la double hélice

Il existe 3 conformations possibles pour la double hélice appelées : A, B et Z.

La conformation la plus stable dans les conditions physiologiques correspondant à la forme native des ADN est la conformation B. En fonction du sens de l'hélice (hélice droite (a) ou gauche (b) sur l'image ci-dessous), du nombre de base par tour d'hélice, du diamètre, et d'autres facteurs structuraux, il existe plusieurs conformations de l'ADN voir tableau ci-dessous. La forme B, la plus courante de toutes les conformations en double hélice de l'ADN en conditions physiologiques est celle décrite dans le paragraphe ultérieure. On peut également citer la forme A et Z qui sont respectivement plus et moins compacte le long de l'axe principal.

Les différentes variantes sont dus à des conformations diverses de la liaison osidique du cycle de l'ose. Les iso formes **A**, **B** et **Z** dépendent de l'environnement et du pourcentage de molécules d'eau liées aux phosphates : 95% d'eau pour la forme B, 70% pour la forme A et 50% pour la forme Z.



Caractéristiques	Hélice B	Hélice A	Hélice Z
Sens de l'enroulement	droit	droit	gauche
pb par tour	10,4	11	12
Pas	3,4 nm	2,8 nm	4,5 nm
Diamètre	2 nm	2,3 nm	1,8 nm
Sillons			
• petit	+	+	-
• grand	+	+	+
Conformation	anti	anti	syn

ADN-A

C'est une forme d'ADN spécifique à la transcription (l'ARN est en conformation A, donc l'ADN passe de la conformation B à la A pendant la liaison ADN-ARN). L'ADN-A a une conformation plus courte et plus ramassée, avec des

plateaux de base très inclinés, un pas à droite et la liaison base-sucre en conformation *Anti*.

ADN-Z

C'est une forme moins stable que l'ADN-B, en zig-zag, avec un pas à gauche et caractérisé par des plateaux peu inclinés. La liaison base-sucre est en **Syn** pour les bases puriques et anti pour les bases pyrimidiques.

L'ADN-Z est présent dans les zones avec une alternance régulière de bases puriques et pyrimidiques (régions avec répétition de séquences CG et méthylation en C5 des cytosines).

Cette forme favorise l'interaction des bases avec les protéines régulatrices, dont certaines sont spécifiques :

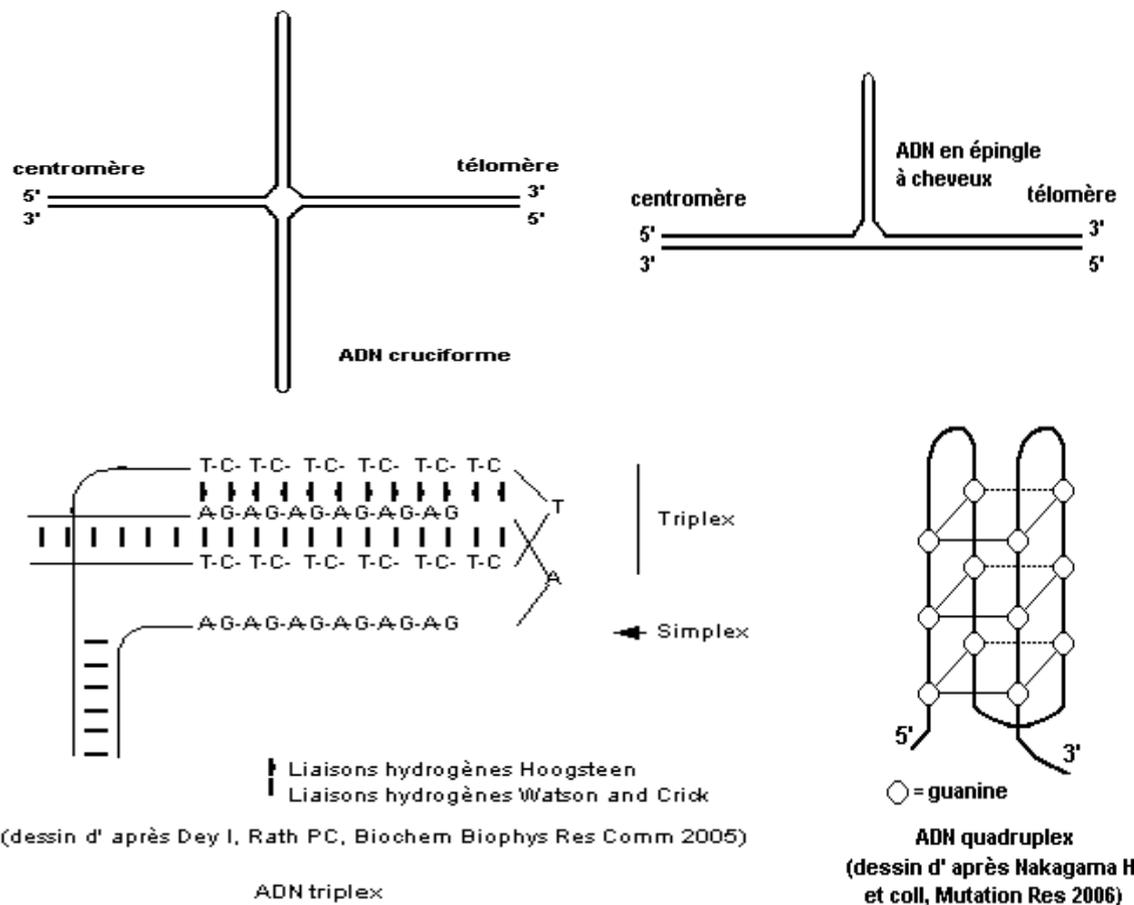
les Z-DNA binding proteins. Le passage de l'ADN-B en ADN-Z est favorisé par la présence de multiples cytosines au sein des promoteurs.

Remarque :

-Des répétitions inversées (en miroir) de segments ADN polypurine/polypyrimidine peuvent également produire des structures **cruciformes** ou en **épingle à cheveux**, par appariement intra-brin.

- Des répétitions inversées de segments ADN polypurine/polypyrimidine peuvent former des structures triplex (**triple hélice**). On obtient alors un ADN double brins plus un simple brin. L'ADN-H pourrait avoir un rôle dans la régulation fonctionnelle de l'expression des gènes ainsi que sur les ARN (e.g. répression de la transcription).

-ADN-**G4** ou ADN **quadruplex**: repliement de séquences double brin riches en GC sur elles même, formant des appariements de bases de type *Hoogsteen* entre 4 guanines ("**G4**"), une structure particulièrement stable. Souvent présente près des promoteurs des gènes et au niveau des télomères. Rôle dans la méiose et dans le phénomène de recombinaison; pourraient être des éléments de régulation. Les hélicases de la famille RecQ sont capables de relaxer (défaire) l'ADN-G4 (exemple, le gène BLM, le gène du syndrome de Bloom).



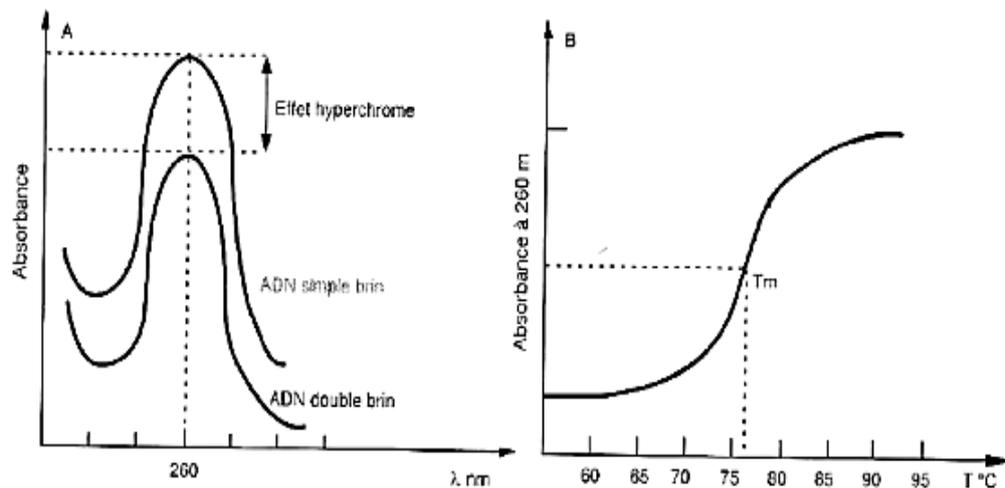
1.3.2.6 Température de fusion

Les liaisons hydrogènes sont rompues par apport de chaleur (de 90 à 95°C), l'ADN peut donc se dénaturer (séparation des 2 brins d'ADN).

On appelle température de fusion (**T_f**) ou melting point (**T_m**) de l'ADN la température pour laquelle 50 % de l'ADN est monobrin. Elle est caractéristique d'un ADN, augmente avec la longueur du fragment, le pourcentage de GC, et baisse avec l'ionisation de la molécule.

Une renaturation de l'ADN est possible en baissant la température en dessous de la température de fusion mais la dénaturer est irréversible si le refroidissement est trop brutal.

On observe dans la dénaturer de l'ADN un phénomène de hausse de l'absorbance à 260nm, c'est l'effet **hyperchrome** (hausse de densité optique des éléments dénaturés) :



Remarque :

La structure en double hélice est maintenue stable grâce aux liaisons hydrogènes s'établissant entre les bases complémentaires. Ces liaisons hydrogènes peuvent être détruites de manière réversible. Ainsi, les deux brins d'ADN peuvent se séparer (en présence de chaleur) c'est la **fusion** ou **dénaturation**, puis se réassocier: c'est **l'hybridation** ou **renaturation**. Cette propriété, *fusion/hybridation*, des acides nucléiques est exploitée dans des expériences *in vitro* de génétique moléculaire (southern blot, northern blot...) ou par des cellules elles-mêmes lors de la réplication par exemple.

1.3.3 Caractéristiques de l'ARN

L'ARN se différencie de l'ADN par la structure des nucléotides : le ribose y remplace le désoxyribose et la base pyrimidique uracile remplace la thymine. Les ARN sont produits par transcription à partir de l'ADN. Ils sont toujours plus courts que l'ADN.

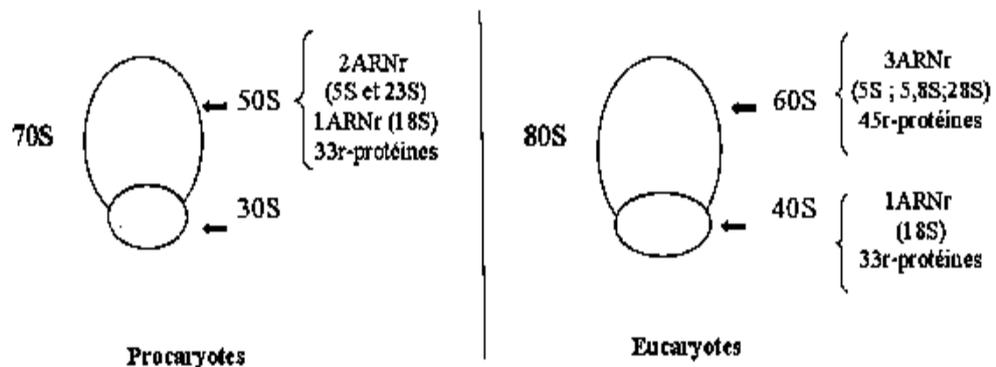
L'ARN existe habituellement sous la forme d'un seul brin poly nucléotidique, sans brin complémentaire comme cela est le cas de l'ADN. De ce fait, l'ARN peut se replier sur lui-même et former ainsi de courtes régions où des appariements complémentaires entre les bases simulent des structures en double hélice. Cela conduit à de nombreuses possibilités de **structures tertiaires** en forme d'*épingle à cheveux*, *boucles* ou *bourgeons* qui sont autant de sites pour des interactions avec des protéines ou des complexes de protéines.

L'une des caractéristiques les plus étonnantes de l'ARN est également sa capacité à agir comme une enzyme, d'où le nom de **ribozymes** donnés aux ARN qui possèdent cette propriété.

Les cellules contiennent essentiellement 4 types d'ARN: ARN ribosomique, ARN de transfert, ARN messager et Small nuclear ARN (Sn ARN).

1.3.3.1 ARNr (ribosomique)

Les ARNr entrent dans la composition du ribosome (nécessaire à la synthèse des protéines). Un ribosome fonctionnel est lui-même formé de deux sous unités, chacune est constituée d'un mélange de protéines (r-protéines) et d'ARN (ARNr). Les ribosomes sont situés dans le cytoplasme et sont nécessaires à la synthèse des protéines. Ce sont de véritables « usines à protéines »

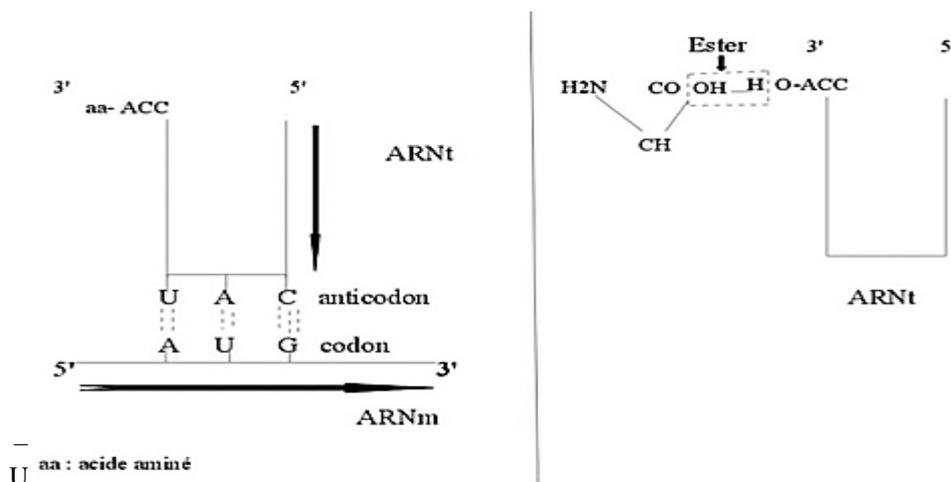


1.3.3.2 ARN t (de transfert) :

Ils sont appelés ainsi car ils vont transférer, véhiculer les acides aminés qui se trouvent dans le cytoplasme jusqu'au ribosome, lieu de synthèse protéique. Un ARNt possède la structure générale des ARN. La chaîne d'ARNt se replie pour donner un aspect général en forme de trèfle.

Deux sites sont importants dans un ARNt :

- L'extrémité 3'OH ou sera fixé l'acide aminé à transporter.
- L'anticodon (triplet) situé sur une boucle de l'ARNt qui va jouer un rôle très important car il reconnaîtra le codon de l'ARNm. Cet appariement anticodon- codon se fait de manière antiparallèle et complémentaire entre les bases du codon et de l'anticodon (figures 10, 11).



1.3.3.3 ARN m (messenger)

Il est formé d'une seule chaîne de nucléotides comprenant les mêmes sortes de bases AUCG. On l'appelle messenger car il porte l'information génétique contenue au niveau de l'ADN jusqu'au ribosome où s'effectuera la synthèse protéique. La taille de la molécule d'ARNm dépend de la longueur de la ou les chaînes polypeptidiques pour laquelle il code. Les ARNm se renouvellent très vite, ils sont rapidement produits et rapidement dégradés. Ils ne durent que le temps d'un message. Un ARNm pourra cependant être lu plusieurs fois au niveau du ribosome.

1.3.3.4 SnARN (small nuclear)

Les plus petites molécules d'ARN ou SnARN jouent un rôle important dans la maturation des Pré ARNm (voir la transcription).

1.4 Réplication de l'ADN : Chez les procaryotes et les eucaryotes

Les informations contenues dans l'ADN nécessaires pour la synthèse des différentes protéines vont être transmises de génération en génération par le processus de la *réplication*. Lorsqu'une cellule se divise pour donner 2 cellules-filles, il faut que l'ADN de ces cellules-filles soit l'exacte réplique d'ADN de la cellule-mère, d'où le nom « *réplication* ». A chaque réplication, la quantité d'ADN est multipliée par 2. Donc la réplication est le processus par lequel les cellules copient leur ADN. Elle se produit pendant l'interphase, avant la mitose/méiose. Pendant la réplication de l'ADN, une molécule d'ADN est copiée en deux molécules filles, et ce suivant les règles établies par Watson et Crick: *Complémentarité* des deux brins (pairage des bases) ; *Antiparallélisme* (les deux brins courent en direction 5' —→ 3' opposées).

Chez tous les organismes vivants, la réplication de l'ADN se fait toujours dans la direction 5' vers 3' et elle se déroule en trois phases :

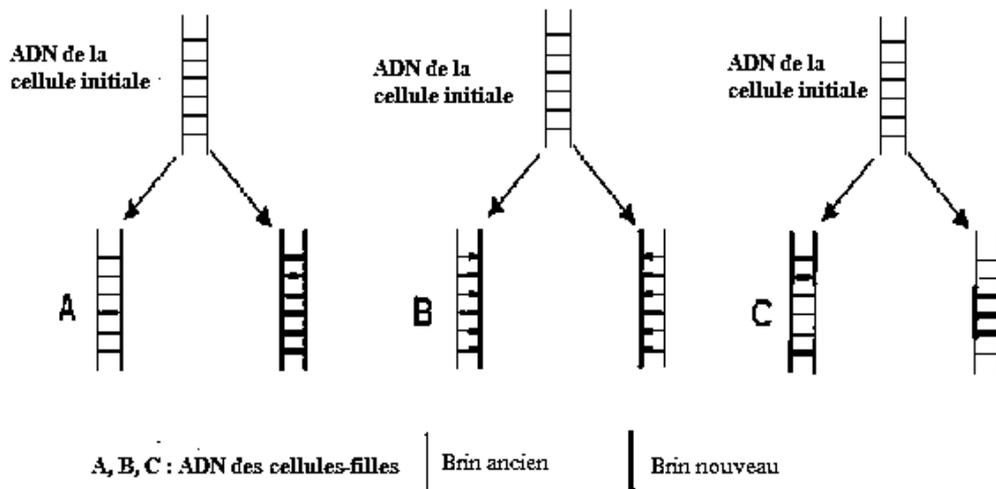
- *Activation* : une partie de la double hélice est déroulée pour exposer les bases.
- *Elongation* : Deux nouveaux brins d'ADN sont assemblés en utilisant l'ADN parental comme matrice.
- *Achèvement* : La réplication est terminée et les nouveaux brins sont vérifiés pour les erreurs. Les brins parentaux et les brins fils se reforment en hélice.

1.4.1 Chez les procaryotes

1.4.1.1 Conservation des brins parentaux

En théorie, la réplication de l'ADN peut se produire selon différents mécanismes, tout dépendant de la distribution des brins parentaux parmi les brins filles. Les trois théories de la duplication de l'ADN (jusqu'en 1958) sont les suivantes :

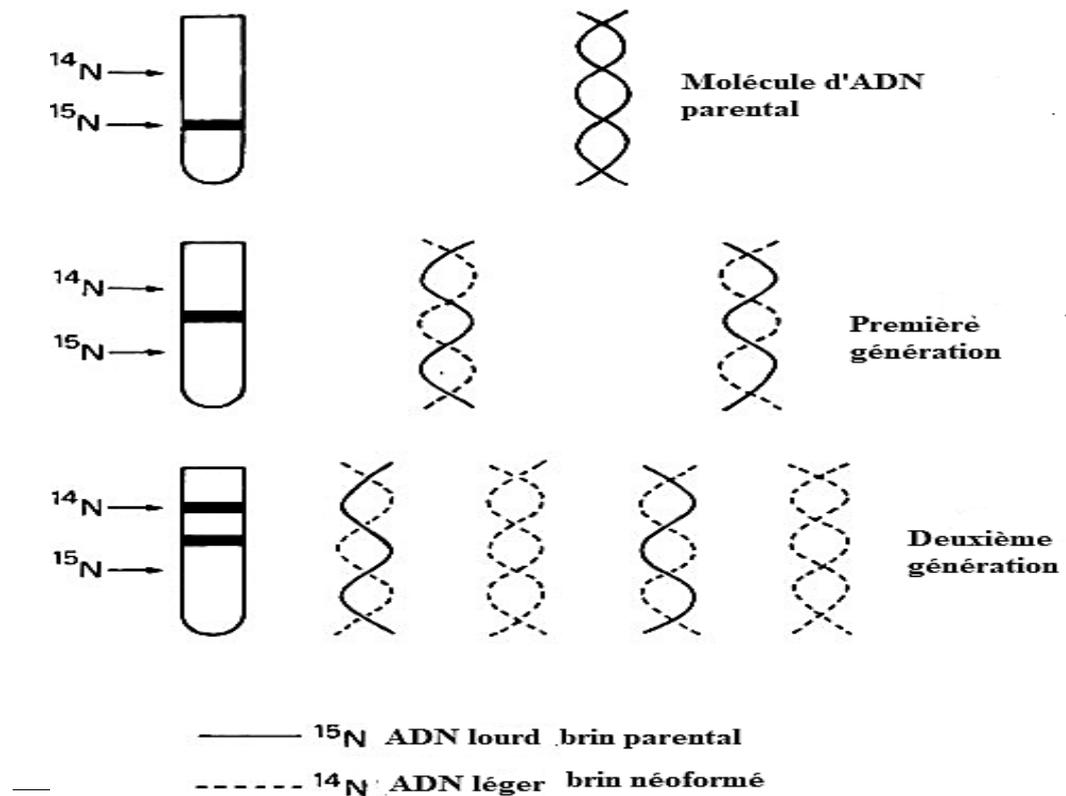
- *La théorie semi-conservative* : chaque cellule-fille hérite d'une molécule formée d'un brin ancien et d'un brin nouveau.
- *La théorie dispersive* : dans les cellules-filles, les molécules d'ADN sont formées de portions d'ADN ancien et d'ADN nouveau.
- *La théorie ségrégative* : une cellule-fille hérite d'une molécule d'ADN nouvelle et l'autre cellule-fille reçoit l'ancienne molécule.



1.4.1.2 Expérience de Meselson et Stahl avec *E.coli* (1958)

-*La question* : Selon quel modèle (conservatif, semi-conservatif, dispersif) se fait la réplication ?

-*Principe et méthodes* : Les bactéries sont cultivées pendant de nombreux cycles dans un milieu enrichi en azote lourd (N^{15}) puis transférées dans un milieu enrichi en azote léger (N^{14}). A Chaque réplication, l'azote, qu'il soit lourd ou léger, s'incorpore à l'ADN bactérien. Un échantillon de chaque culture est prélevé, puis l'ADN bactérien est extrait, placé dans un tube et centrifugé. Cela permet d'évaluer la proportion de l'ADN « lourd » (avec N^{15}), « léger » (avec N^{14}) ou mixte (avec N^{14} et N^{15}). Sous l'effet de la centrifugation, l'ADN forme une bande qui est localisée d'autant plus près du fond du tube que la molécule est lourde.



-Résultats :

ADN des bactéries cultivées sur milieu ^{15}N apparaissant selon une seule bande.

Après une génération / 1 réplication, l'ADN correspond à une bande d'ADN de densité intermédiaire.

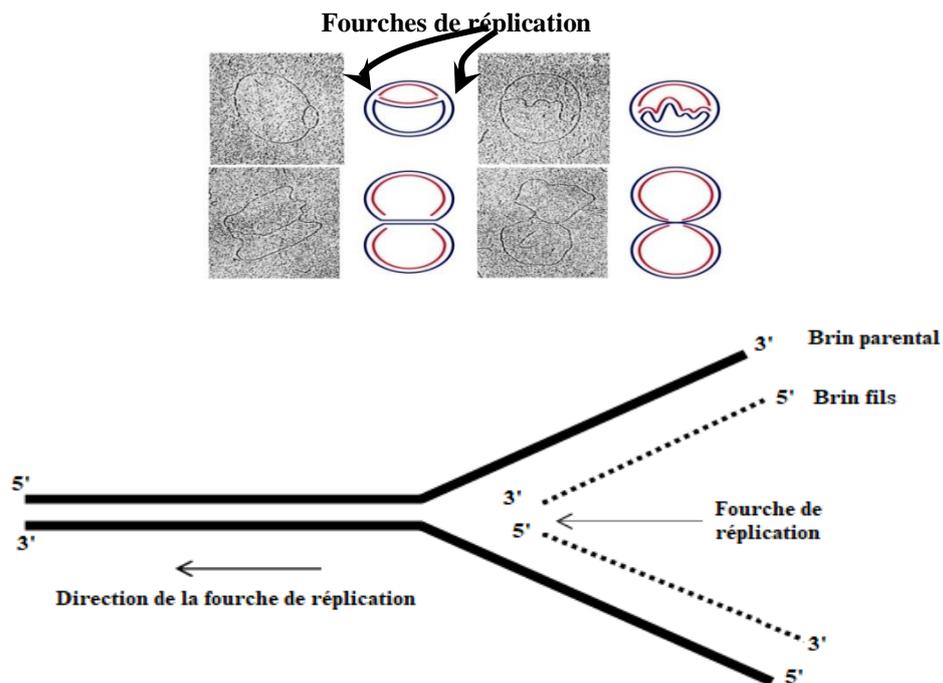
Après la 2^e réplication, apparaissent 2 bandes : une ADN intermédiaire et une ADN léger.

C'est-à-dire pour chaque réplication les 2 molécules d'ADN contiennent un brin parental et un brin néoformé.

-Conclusion : La réplication se fait selon un mode *semi- conservatif*.

1.4.1.3 Directionnalité de la réplication

Des études de microscopie électronique ont révélé que la réplication de l'ADN bactérien survient de manière *bidirectionnelle*: les deux brins sont dupliqués en même temps.



Le site où a lieu la réplication est appelé la *fourche de réplication*;

Les brins parentaux sont dénaturés à la fourche de réplication; La réplication débute à un point spécifique du génome bactérien appelé l'origine de réplication; (**ori C**).

1.4.1.4 Éléments nécessaires pour la réplication

Le matériel nécessaire pour la réplication de l'ADN:

-*ADN matrice* (la molécule parentale d'ADN); pour créer une réplique, il faut par définition apporter un modèle. Il en est bien de même pour la synthèse de l'ADN. La réplication se fait toujours à partir d'un modèle d'ADN, on dit d'une « matrice » d'ADN (template en anglais). In fait, non seulement un brin d'ADN sert de modèle, mais même, ce modèle est conservé dans la nouvelle molécule d'ADN ;

-*Tous les 4 deoxynucléotides triphosphate (dNTPs: dATP, dGTP, dCTP, dTTP) :*

-*Enzymes* : Lors de la réplication, de nombreux enzymes vont intervenir, par exemple *ADN polymérase* pour accrocher les nucléotides les uns aux autres...etc.

-*Une amorce d'ARN pour initier la réplication*; la synthèse d'un nouveau brin d'ADN commence par un petit fragment (4à12nt) d'AR - On dit par une amorce d'ARN- grâce à une ARN polymérase (appelée ARN primase, car amorce se dit « primer » en anglais). L'ADN polymérase III prendra ensuite le relais, allongeant donc l'amorce, mais d'ADN cette fois.

1.4.1.5 Mécanisme de la réplication

- *Vitesse de réplication et déroulement de la double hélice :*

La vitesse de réplication procaryote est de 500 et 1000 nt/s, ce qui permet à la réplication du chromosome bactérien de se faire en 40min. La progression de la réplication implique le déroulement de la double hélice parentale, avec intervention de plusieurs enzymes en même temps:

gyrase : absorbe les supertours positifs créés par l'ouverture de la double hélice. Elle introduit des supertours négatifs ;

hélicase et protéines SSB : déroule la double hélice de l'ADN en supprimant les liaisons hydrogènes qui unissent les bases complémentaires. Les protéines SSB (single strand DNA binding) appelées aussi « protéines déstabilisant l'hélice ». Ces protéines se fixent sur chacune des chaînes de l'hélice parentale dès que le déroulement se produit. Elles empêchent ainsi que les 2 chaînes ne se réappariaient ou de se replier sur elle-même ;

Primase : qui permet la synthèse d'amorces d'ARN ;

ADN polymérase III : qui poursuit la synthèse d'ADN sur l'amorce ;

ADN polymérase I : qui hydrolyse les amorces et les remplace par de l'ADN ;

Ligase : qui relie les fragments d'ADN ;

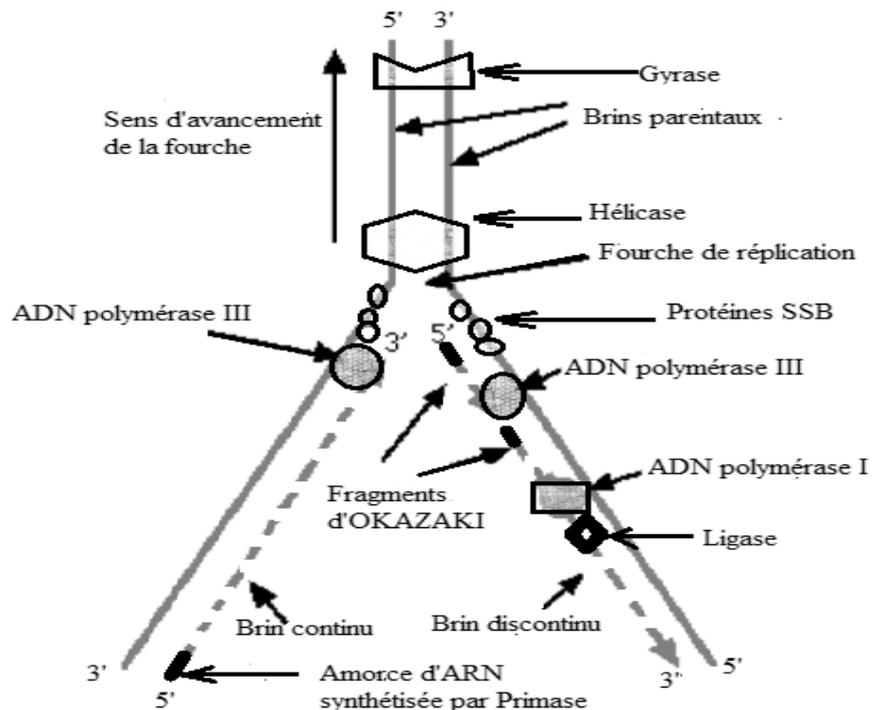


Schéma général de la réplication chez les procaryotes

-la réplication est discontinue pour l'un des deux brins

La synthèse des brins fils se fait par l'ADN polymérase III. L'activité enzymatique se fait toujours dans le sens 5' P vers 3' OH.

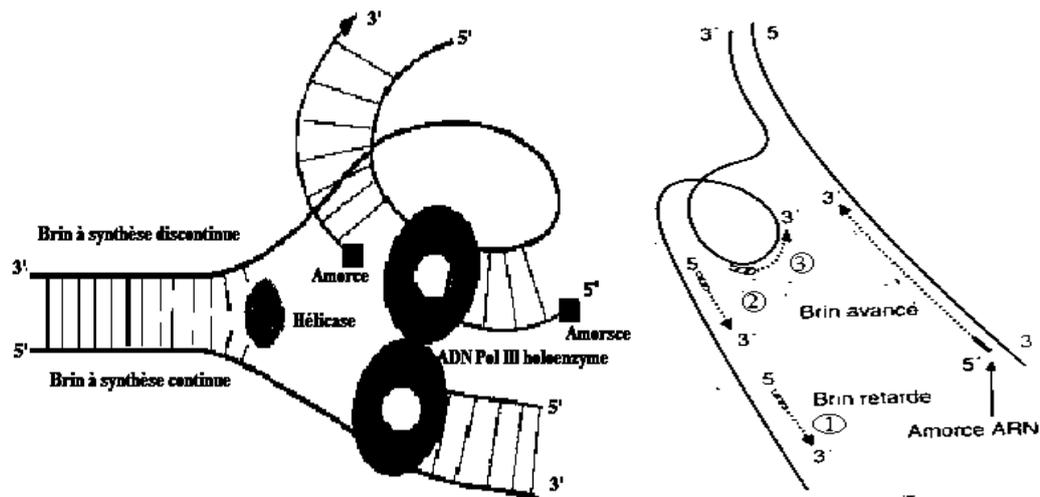
Le sens de propagation de la réplication doit s'effectuer dans le sens d'ouverture de la boucle d'ADN, c'est-à-dire dans le sens 5' P vers 3'OH. La réplication est donc *discontinue* sur un des deux brins. On distingue un brin dit « avancé » et un brin dit « retardé » :

- Pour le brin avancé, la synthèse de l'ADN se fait dans le sens d'ouverture de la molécule d'ADN, donc dans le sens de propagation de la fourche de réplication. C'est le brin **continu**.

- Pour le brin retardé ou discontinu, la synthèse d'ADN se fait dans le sens contraire de l'ouverture la molécule d'ADN : l'ADN polymérase n'exerce son activité polymérasique seulement dans le sens 5'P vers 3'OH de la chaîne en cours de synthèse, or sur ce brin d'ADN, le sens de propagation de la fourche de réplication est 3' vers 5'. La synthèse de ce brin est donc discontinue. Elle va s'effectuer de manière rétrograde, à partir de multiples fragments d'ARN. On obtient donc de multiples fragments d'ADN (fragments de 1000 à 2000 nt), appelés fragments d'**Okazaki**.

- Mécanisme proposé pour la synthèse simultanée des deux brins d'ADN

Il existe un modèle démontré chez la bactérie et qui semble aussi être démontré pour les cellules eucaryotes. Un modèle a été proposé en 1988 par Kornberg, selon lequel l'ADN polymérase III qui est un dimère complexe contenant notamment 2 sous-unités catalytiques, avancerait dans une direction, avec une sous-unité synthétise de manière continue le *brin avancé* et l'autre qui synthétise de manière discontinue le *brin retardé*.



Le brin d'ADN parental, qui sert de matrice au brin d'ADN retardé, forme une boucle sur un tour complet de 180° pour repositionner l'amorce de façon à ce que l'allongement du fragment d'Okazaki par l'ADN pol III se fasse dans le sens 5' vers 3' mais aussi dans le sens de propagation de la fourche de réplication et le plaçant aussi dans la même orientation que le brin à synthèse continue.

- Finition des brins d'ADN « Fils » et correction des erreurs d'élongation :

Pour finir, il faut :

- Eliminer l'amorce ARN et remplacer tous les amorces d'ARN par de l'ADN.
- Transformer le brin discontinu en un brin continu : Pour avoir un fragment d'ADN continu, l'ADN Polymérase I se positionne au niveau 3'OH d'un fragment d'Okasaki et comble la lacune qui le sépare de l'amorce d'ARN suivante. Dès qu'elle va rencontrer l'amorce d'ARN, de par son activité exonucléasique 5'-3', elle hydrolyse cette amorce d'ARN et continue, de par son activité ADN polymérasique, à synthétiser de l'ADN à partir du fragment d'Okasaki précédent. Elle remplace ainsi l'amorce d'ARN en ADN.
- La dernière étape consiste à relier ces fragments d'ADN grâce à une enzyme, appelée ADN ligase, qui permet la création d'une liaison phosphodiester entre 2 nucléotides adjacents. On obtient alors un fragment continu.

Quand la synthèse d'ADN est terminée, les 2 fourches de réplication vont se rencontrer (car l'ADN est circulaire. Il y a alors séparation des 2 doubles hélices par la gyrase.

-Correction des erreurs d'élongation par l'activité correctrice exonucléasique 3'-5' des enzymes ADN pol I et ADN pol III, qui enlève un nucléotide mal apparié et le remplacer par le bon nucléotide.

- Terminaison de la réplication :

Au niveau d'une séquence *TER* située à l'opposé de l'origine de réplication reconnu par la protéine *Tus* qui met fin à la réplication. Lorsque la réplication d'un chromosome circulaire est terminée, les 2 molécules obtenues sont reliées ensemble et la séparation se fait par une topo isomérase.

Remarque : Chez la bactérie, l'ADN peut être méthylé au niveau de 2 bases : sur la cytosine ou sur l'adénine. L'enzyme qui produit ces méthylations est la méthylase. Elle catalyse l'ajout d'un groupement méthyle (-CH₃) sur un A ou un C du brin fils. La méthylation du brin fils se fait toujours avec un temps de retard. Le fait que le brin fils soit méthylé avec un temps de retard cela permet de distinguer les deux brins.

Le chromosome bactérien possède des séquences répétées : plusieurs séquences GATC, donc la méthylation est un mécanisme de régulation, qui contrôle l'initiation de la réplication suivante. Si cette origine de réplication Ori n'a pas une méthylation qui est exactement en miroir sur les 2 brins, aucune nouvelle initiation de la réplication ne peut démarrer.

1.4.2 Chez les eucaryotes.

1.4.2.1 Mécanisme de la réplication et multiples points d'initiation

Le mécanisme de la réplication chez les eucaryotes est comparable à celui des procaryotes. Elle se fait de manière :

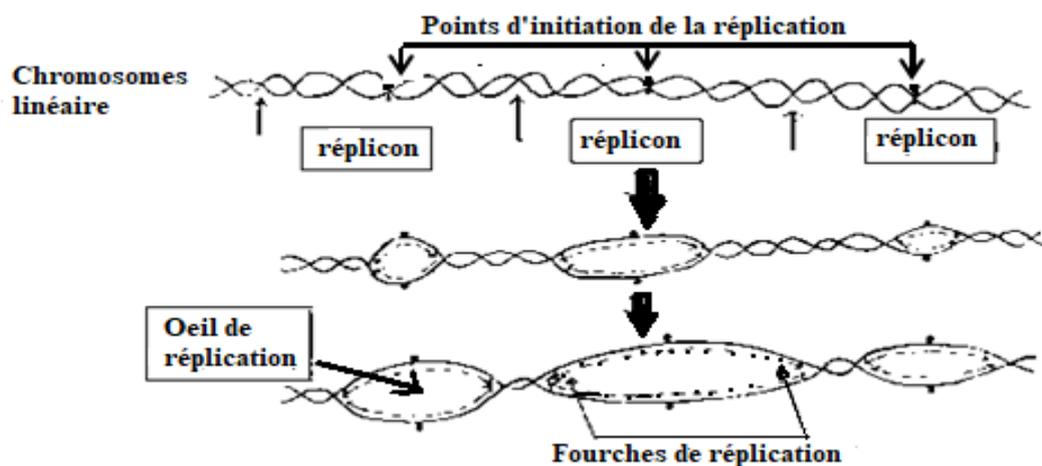
- bidirectionnelle ;
- complémentaire, antiparallèle, dans le sens 5'.... 3' ;
- discontinue pour l'un des 2 brins ;
- avec amorces d'ARN.

La vitesse de réplication chez les eucaryotes est plus faible. En effet, elle est de 50 nt.s⁻¹ : elle est donc **10 fois** plus faible que celle de la bactérie.

On a donc un génome beaucoup plus grand, qui se réplique à une vitesse plus faible et qui est associé à des structures. Cependant on a quand même une réplication active.

Au lieu de n'avoir qu'un point d'initiation comme c'était le cas chez les procaryotes, la réplication chez les eucaryotes débute simultanément en plusieurs points d'un même chromosome. Il existe donc ici plusieurs milliers de points d'initiation. Ceci est rendu nécessaire en raison de la grande longueur d'ADN des eucaryotes.

Sur un chromosome, on retrouve donc plusieurs milliers d'OR, à partir desquelles il y a les deux fourches de réplication. A partir de chaque point de réplication, quand il y a activation, il va donc y avoir un œil de réplication qui va se former, avec les deux fourches qui vont progresser dans des sens opposés (bidirectionnel). Ces portions de chromosome répliquées s'appellent les *réplicons*. Sur un même chromosome, il y a différents yeux de réplication qui s'agrandissent, et qui progressent jusqu'à ce que la fourche rencontre une autre fourche qui progresse en sens inverse ou atteigne l'extrémité du chromosome.



1.4.2.2 Les enzymes et protéines eucaryotes

Les différentes enzymes et protéines intervenant dans la réplication eucaryote sont :

- Les *hélicases* : pour séparer les brins parentaux ;
- Les *protéines RPA* : pour maintenir les 2 brins séparés (ce sont les équivalents des protéines SSB chez la bactérie) ;
- Les *topoisomérases* : pour éliminer les surenroulements positifs et introduire des négatifs.

- *La primase* (qui est une ARN polymérase ADN dépendante) : pour synthétiser les amorces d'ARN ;

- *L'ADN polymérase eucaryote* : il y en a 5 : α , β , γ , δ , ϵ .

Alpha : elle a une activité polymérasique 5'-3' et une activité Primase. Elle intervient en premier lors de la réplication pour synthétiser une amorce(ARN) qu'elle prolonge grâce à son activité ADN polymérasique par 30 desoxyribonucléotides.

Delta : elle a une activité polymérasique 5'-3' et une activité exonucléasique 3'-5', elle a une forte processivité (nombre de nucléotides polymérisés par moment de fixation) .Cette processivité est augmentée par un cofacteur appelé 'PCNA' ou *Prolifération cell nuclear antigen*. Le complexe Delta/PCNA synthétise la majeure partie de l'ADN.

Bêta : elle comble les vides causés après l'élimination des amorces par la RNase H.

Gamma : elle intervient dans la réplication de l'ADN mitochondrial.

Epsilon : Elle est impliquée dans la réparation de l'ADN

1.4.2.3 La fourche de réplication et finition du brin retardé

Une enzyme de la classe des RNases (H-1 et FEN-1) élimine les amorces d'ARN. Le comblement est réalisé par l'ADN POL δ , puis l'ADN ligase lie les morceaux entre eux pour former un seul brin.

L'ADN POL α réalise le début de la synthèse du brin retardé, en initiant la polymérisation, puis elle est remplacée par l'ADN POL δ , qui continue la synthèse dans le sens 5'....3' du brin en cours de synthèse. On retrouve sur le brin retardé des fragments d'Okazaki (100 à 200 nt), comme pour le chromosome bactérien.

Pour la finition du brin retardé, l'ADN POL δ élonge le fragment en synthétisant de l'ADN, et remplit la lacune jusqu'à rencontrer le 1er nucléotide du fragment suivant. Notion de boucles : il y un repliement structurel de l'ADN du brin fils, de façon à ce que l'allongement se fasse dans le sens 5'-3' mais aussi dans le la fourche de réplication.

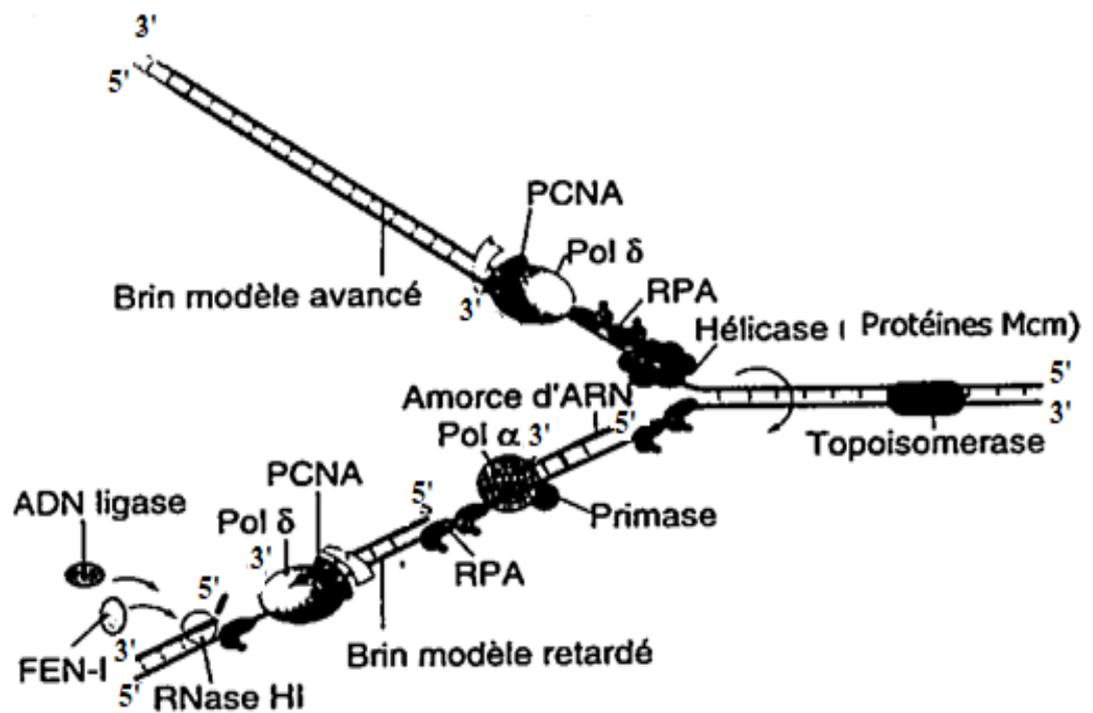


Schéma général de la réplication chez les eucaryotes

1.4.2.4 Autres particularités de la réplication chez les eucaryotes

- Les génomes des cellules filles doivent être identiques au génome de la cellule mère, ce qui concerne également les nucléosomes.

Les nucléosomes parentaux restent associés, puis une répartition équivalente se fait entre les deux brins (brin parental et brin fils) de la molécule d'ADN. Pendant la phase S du cycle cellulaire, de nouveaux nucléosomes sont synthétisés pour compléter les nucléosomes parentaux dans les cellules filles. Chaque brin possède alors 50% de nucléosomes parentaux et 50% de nucléosomes néo synthétisés. La présence des nucléosomes est à l'origine du fait que la réplication chez les eucaryotes est beaucoup plus lente que chez les procaryotes.

- Les télomères sont des séquences d'ADN situées aux extrémités des chromosomes. Cette région a une réplication spécifique assurée par une enzyme appelé *télomerase*. Après l'action de la télomerase, une nouvelle structure des extrémités télomériques va engendrer, elle constitue un système de protection des chromosomes, et participe donc à l'intégrité des chromosomes. Elle protège les chromosomes de l'action de certaines enzymes.

Remarque :

Chez les cellules eucaryotes, seule la cytosine peut être méthylée. Ces cytosines font généralement parties des îlots CG. Elles seront méthylées sur le brin fils seulement si le brin parental est méthylé. Les méthylations sont réalisées par les méthylases. La méthylation sur le brin fils s'effectue toujours avec un temps de retard par rapport à la réplication, ce qui permet de discerner le brin fils du brin parental pour les mécanismes de réparation

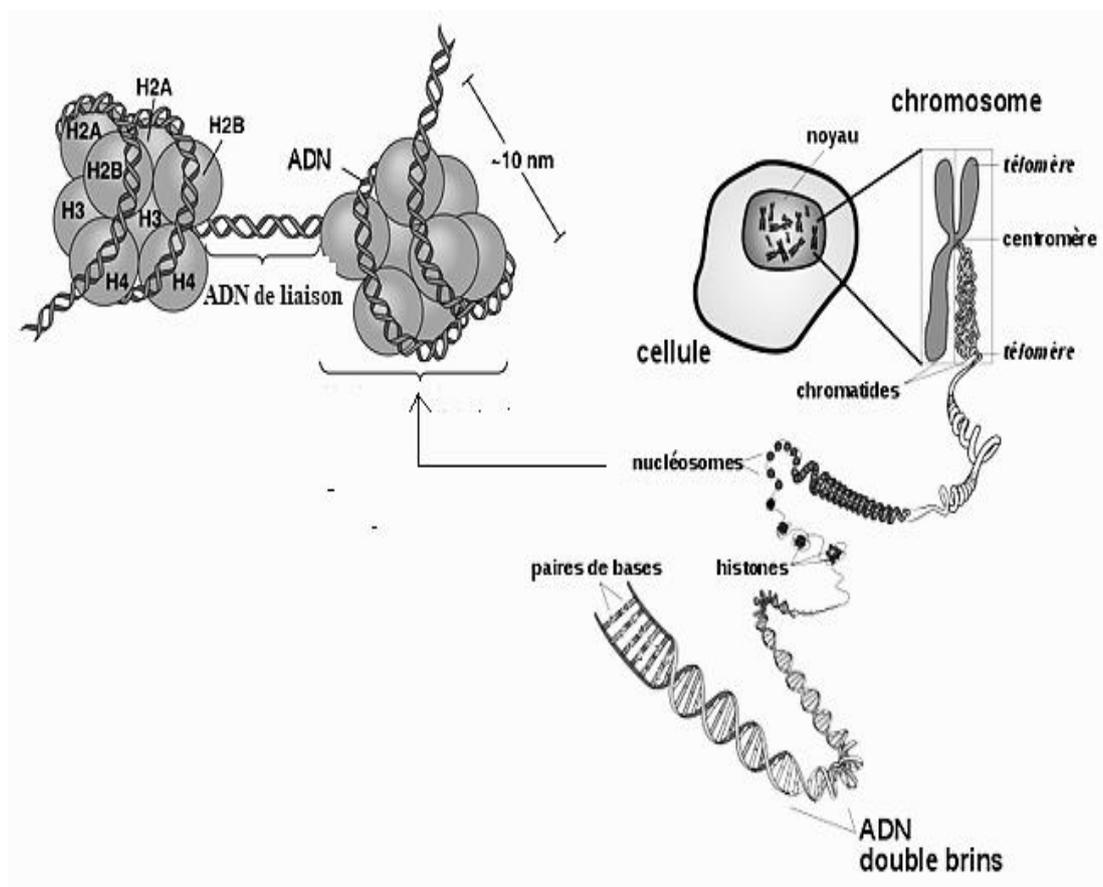
1.5 Organisation en chromosomes

1.5.1 Structure du nucléosome et empaquetage de l'ADN

Dans les cellules eucaryotes, à la différence des procaryotes, l'ADN est très fréquemment associé à des protéines basiques, appelées les histones **H2A**, **H2B**, **H3** et **H4**. Ces histones sont en quantité égale (11 à 15 kDa) et chacune en double exemplaire, elles forment un octamère d'histones et constituent un cœur protéique discoïde autour duquel l'ADN *nucléosomal* d'une taille de 147 paires de bases environ est enroulé. Une autre protéine histone **H1** (20 kDa) ne fait pas partie du cœur. Elle est attachée d'une part, à l'ADN de liaison situé entre les nucléosomes et, d'autre part, à l'ADN nucléosomal ce qui a pour effet de solifier l'ensemble.

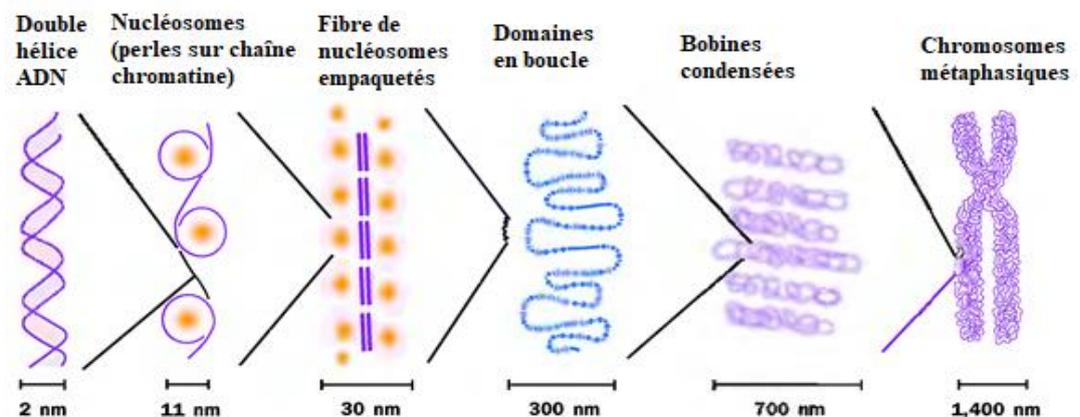
Le résultat de l'assemblage régulier entre ADN et histones est désigné par le terme *nucléosome*.

La formation des nucléosomes est la première étape d'un processus qui assure l'empaquetage de l'ADN en structures compactes réduisant énormément le volume occupé par la molécule. L'ensemble est désigné sous le terme de *chromatine*.



1.5.2 Remodelage de la chromatine et structure des chromosomes

La présence de l'histone *H1* solidifie et resserre la structure du nucléosome. Elle favorise aussi la formation de structure d'ordre supérieur. Les nucléosomes s'organisent alors en une *fibre de 30 nm* de diamètre qui en fait une *super-hélice* comportant 6 nucléosomes par tour. Ceci ne suffit pas cependant pour empaqueter les 1 à 2 mètres d'ADN dans un noyau cellulaire de 10^{-5} mètres environ de diamètre. Des repliements en forme de *boucles* de la fibre de 30 nm sont donc nécessaires. Les boucles seraient maintenues dans un ensemble plus compact par leur association à un support protéique pour constituer ce qu'on appelle le *chromosome*. Dans les cellules eucaryotes, les chromosomes sont les stades supérieurs et ultimes de l'organisation de l'ADN.



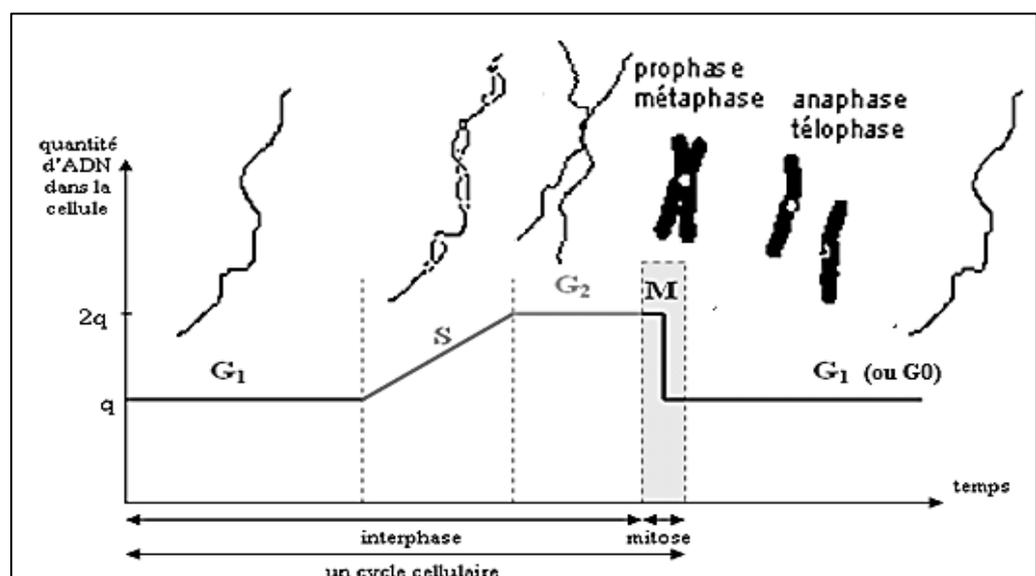
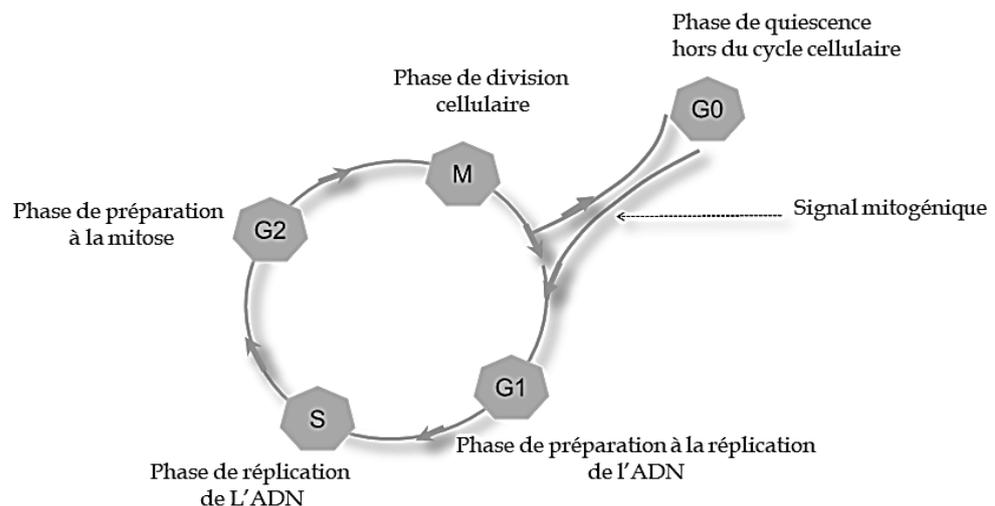
Niveaux d'organisation d'ADN dans le chromosome. D'après Curtis, 1989.

1.5.3 Structure des chromosomes et division cellulaire

Pour être maintenu comme tels au cours de la division cellulaire, chaque chromosome doit posséder un centromère, des télomères et plusieurs origines de réplication. Les télomères sont des séquences particulières localisées aux deux extrémités du chromosome. Elles sont reconnues par des protéines spécifiques qui protègent le chromosome des événements de recombinaison ou de dégradation, typiques des extrémités ADN libres. Les centromères sont des séquences d'une taille à 40 kb au contact desquelles se construit le *kinétochore*, un complexe protéique nécessaire à la séparation et l'adressage corrects des deux chromosomes-fils aux deux cellules filles.

1.5.3.1 Mitose

La duplication du chromosome puis sa ségrégation s'opèrent dans des phases distinctes du *cycle cellulaire* (division cellulaire ou mitose). On distingue dans l'ordre 4 phases: **G1**, **S**, **G2** et **M**. Au cours de la phase **S** s'opère la synthèse de l'ADN conduisant à la duplication des chromosomes en deux **chromatides** sœurs maintenues ensemble par un complexe protéique appelé **cohésine**, jusqu'à la ségrégation. Celle-ci s'opère durant la phase **M** (pour mitose). Chaque chromatide s'attache grâce au kinétochore à un fuseau mitotique fait des protéines fibreuses appelées microtubules réunies à deux pôles opposés organisés, nommés **centrosomes**. La cohésine en se désagréant favorise la séparation des deux chromatides sœurs. L'ensemble des opérations est soigneusement coordonné afin que la séparation et l'adressage assurent un transfert complet et efficace des informations génétiques portées par les deux chromosomes-fils.



Les phases G1 et G2 (G pour gap) sont des phases d'attente et de préparation des phases suivantes.

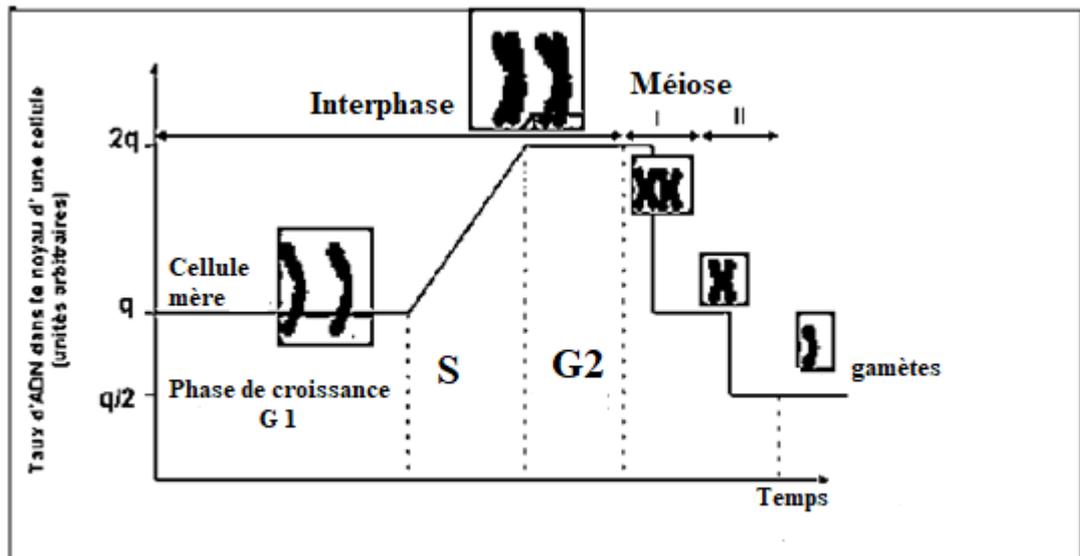
Au cours du processus complet de la division cellulaire, l'état de condensation des chromosomes varie profondément. Durant les phases G1, S et G2 (groupées sous le terme d'**interphase**) il est plus faible que durant la phase M bien que des changements discrets se produisent constamment et touchant surtout la quantité de l'ADN dans la cellule.

1.5.3.2 Méiose

C'est une division cellulaire *réductionnelle* dont le but est de réduire de moitié le nombre de chromosomes par cellule fille. Le but de la méiose est d'assurer le passage de la cellule diploïde à la cellule haploïde (formation de gamètes).

Un *chiasma* intervient au cours de la *prophase I* de la méiose, c'est la zone de croisement de deux chromatides homologues, l'une d'origine maternelle et l'autre d'origine paternelle. À ce niveau a lieu un enjambement ou échange de portion de chromatides ce qui permet d'avoir 4 cellules filles uniques.

Au cours de ce processus, l'état de condensation des chromosomes varie aussi profondément.



2 CHAPITRE : TRANSMISSION DES CARACTERES GENETIQUES CHEZ LES EUCARYOTES

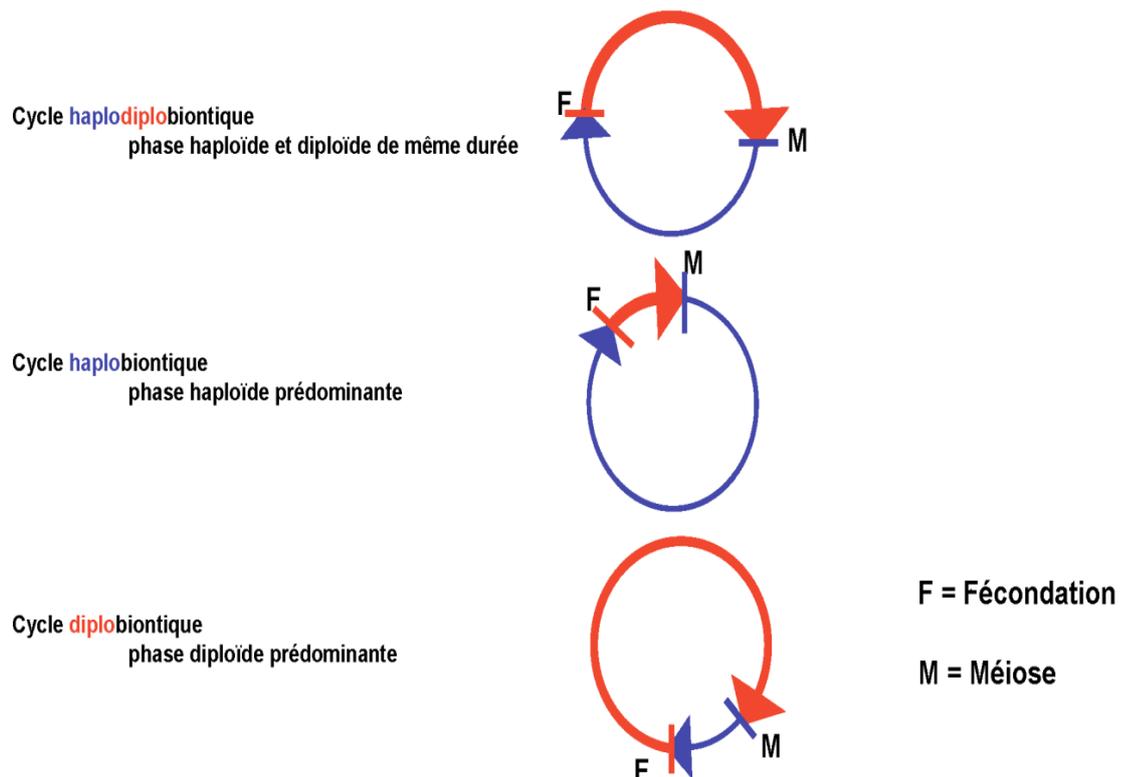
2.1 *Alternance des phases et cycle vital d'un organisme*

La reproduction sexuée d'un organisme implique l'alternance d'une phase *haploïde* et d'une phase *diploïde*. Selon les organismes, la longueur relative de ces deux phases est très variable. Les passages successifs, au cours des générations, d'un état à l'autre, sont représentés par un cercle qui symbolise le cycle de vie de l'organisme considéré (*cycle biologique ou cycle vital*). La diversité des eucaryotes à reproduction sexuée se manifeste par l'état prépondérant dans leur cycle de vie.

Modèles eucaryotes

Reproduction sexuée

cycle de vie: alternance phase **haploïde (n)** et **diploïde (2n)**



2.2 Méiose, une étape nécessaire aux cycles de reproduction

Tout organisme est constitué à la fois de cellules non-sexuelles et de cellules sexuelles. Mais ces cellules n'ont pas le même nombre de chromosomes.

- Les *cellules non sexuelles*, constituant l'immense majorité des cellules d'un organisme, sont qualifiées de *somatiques*.

Une cellule *somatique* possède en double l'information génétique ; elle est qualifiée de diploïde car les chromosomes de cette cellule peuvent être associés par **paires d'homologues**.

- Par opposition aux cellules *somatiques*, les cellules *germinales* ont la capacité de former les gamètes ou cellules *sexuelles*. Dans *les gamètes*, on ne compte qu'un **seul exemplaire** de chaque type chromosomique : les *gamètes* sont des cellules haploïdes.

Tout cycle de reproduction est marqué, du point de vue chromosomique, par deux événements majeurs communs à tous les êtres vivants :

- **la méiose** permettant la formation de gamètes haploïdes à partir de cellules diploïdes
- **la fécondation** qui par union des 2 gamètes haploïdes, forme une cellule œuf diploïde.

La localisation dans le cycle biologique de ces deux phénomènes fondamentaux est variable suivant les espèces.

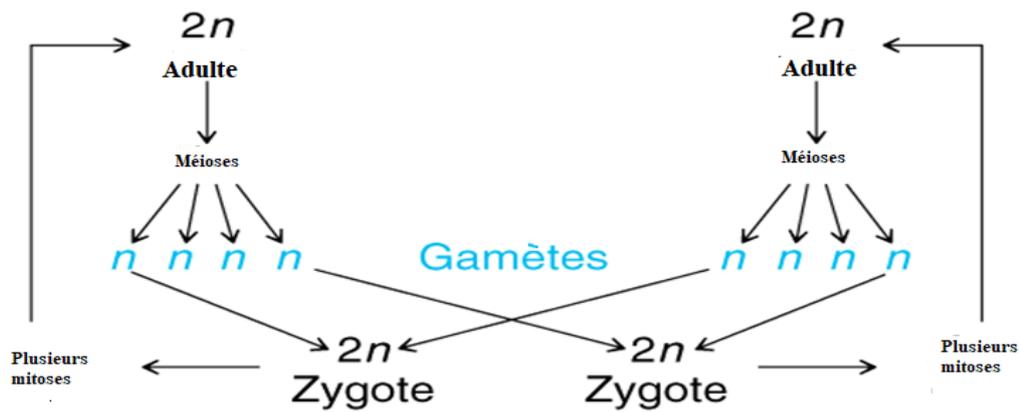
Dans tout cycle de reproduction sexuée, la **méiose** permet ainsi le passage de l'état diploïde à l'état haploïde, tandis que la **fécondation** ou **caryogamie** rétablit la diploïdie. Cette alternance est indispensable à la stabilité du caryotype de l'espèce.

2.3 Les trois principaux types de cycles vitaux

2.3.1 Cycle vital diploïde

La phase diploïde est prépondérante chez les animaux, dont l'homme, certaines algues brunes (*Fucus*) et certains protistes (*Diatomées*, *Ciliés*). Les cellules somatiques de ces organismes sont toutes diploïdes. Elles résultent des divisions de l'œuf et de différenciations au cours du développement.

Seuls les gamètes, qui sont produits dans les cellules germinales des organes génitaux, sont haploïdes. Ces organismes dits *diplobiontiques* ou diploïdes ont un cycle *diplophasique*.



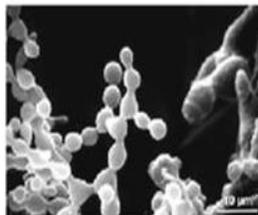
2.3.2 Cycle vital haploïde

Organismes dans un état haploïde durant la majeure partie de leur vie.

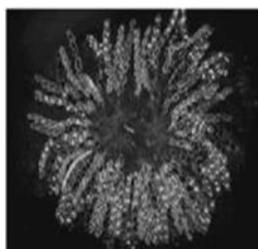
La méiose produit des spores (sexuées) haploïdes qui deviennent des adultes (sous forme de réseau ramifié de cellules haploïdes: moisissure; ou sous forme d'une population de cellules identiques).

Formation d'un diploïde transitoire où se déroulera la méiose.

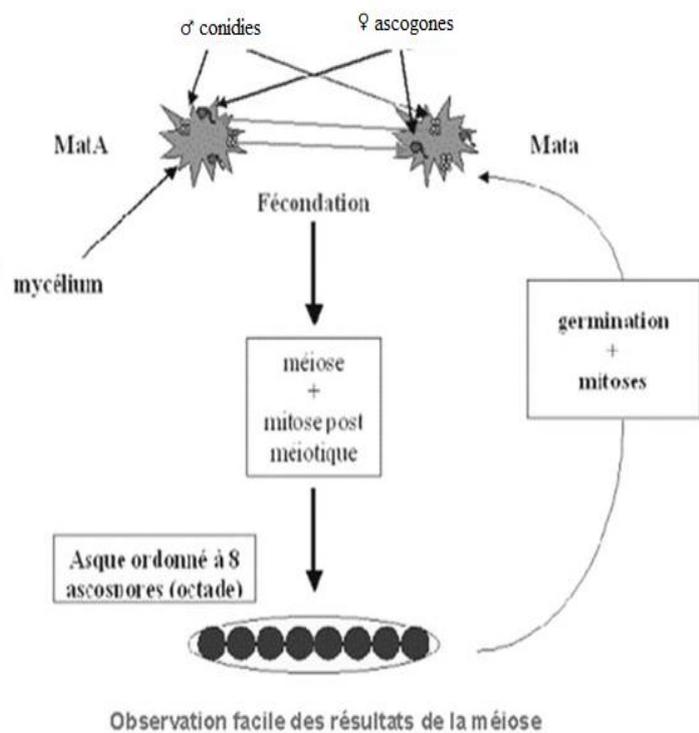
Par Exemple, la moisissure orange du pain (*Neurospora crassa*). ♂ ♀



Neurospora crassa
Champignon filamenteux
7 chromosomes, 2 types sexuels (A, a)
+ chromosome mitochondrial



Organismes à cycle haplobiontique

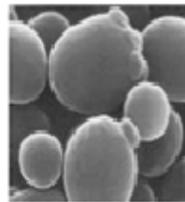


2.3.3 Cycle vital haplo diploïde

Un 3^{ème} type de cycle de vie, également représenté dans la nature, est le cycle haplodiplophasique, qui caractérise des organismes capables de se multiplier

activement aussi bien à l'état haploïde qu'à l'état diploïde tel la levure de boulangerie (*Saccharomyces cerevisiae*), très étudiée par les généticiens.

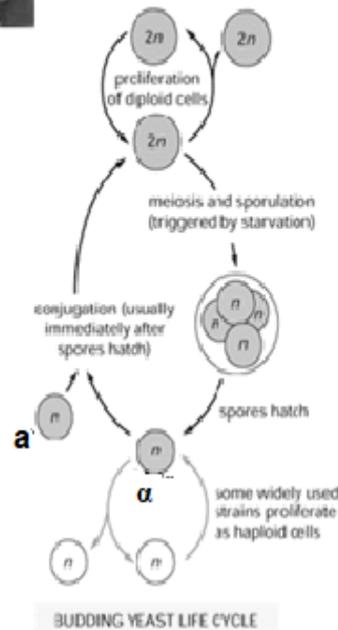
Organismes à cycle haplodiplobiontique



Levure: *Saccharomyces cerevisiae*

16 chromosomes, 2 types sexuels (a, α)

* chromosome mitochondrial



2.4 Transmission des caractères et les différents niveaux d'observation

Pour l'analyse génétique, sachant que, pour un organisme donné, le niveau d'observation est imposé par le type de son cycle vital, il est primordial de savoir quel est l'état, haploïde ou diploïde, des cellules ou des individus analysés puisque, selon le cas, l'ensemble du génome est présent en un ou deux exemplaires, respectivement.

2.4.1 Observation de la transmission des caractères à l'état diploïde

Lorsque l'observation est effectuée en phase diploïde, même si les parents sont de souches pures, on doit attendre au moins *deux générations* pour interpréter les données en termes de nombre de gènes. En effet, la première génération permet seulement la mise en commun des patrimoines génétiques parentaux, c'est l'occasion de mettre en évidence le phénomène de *dominance*. Ce n'est qu'à la deuxième génération qu'on pourra voir la *ségrégation d'allèles différents* d'un même gène et, éventuellement, une recombinaison entre allèles de deux gènes différents.

2.4.2 Observation de la transmission des caractères à l'état haploïde

En phase haploïde, l'observation se fait sur les produits de la méiose ou leurs descendants directs. Pour chaque gène, un seul allèle étant présent dans chacune des cellules, on peut voir dès la *première génération* comment ségrégent et recombinent les *caractères* et donc les allèles des différents gènes en cause dans le croisement. Par contre, il n'est pas question d'estimer les relations de dominance entre allèles puisque cela nécessite que deux allèles soient présents dans une même cellule.

En particulier, avec certains organismes haploïdes, qui présentent la particularité que les produits de la méiose d'une cellule sont alignés dans un même réceptacle, on peut obtenir facilement des indications sur la place d'un gène par rapport au centromère du chromosome qui le porte, ce qui n'est pas possible chez un organisme diploïde.

Remarque

Les organismes à cycle haplodiplophasique comme la levure présentent un intérêt exceptionnel puisque l'observation de la transmission des caractères peut se faire aussi bien en phase haploïde qu'en phase diploïde.

3 CHAPITRE : GENETIQUE DES HAPLOIDES

3.1 Définition de quelques mots.....

Spore (ascospore) : cellule haploïde issue de la méiose.

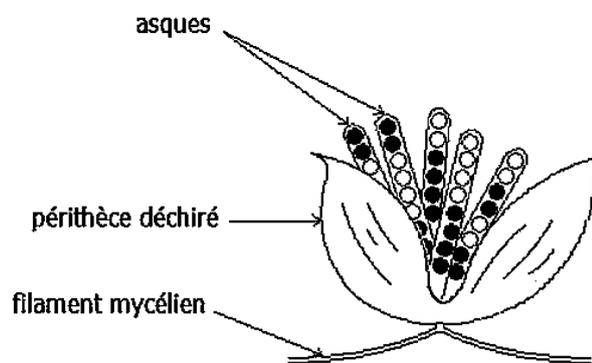
Asque : organe microscopique en forme de sac contenant les 4 (spores) produits d'une même méiose.

Mycélium (thalle): composé de filaments appelés des hyphes.

Hyphe: est une forme segmentée, chaque segment contenant plusieurs noyaux haploïdes.

Protoperithèces et conidies : organes femelles et mâles.

Périthèce mûr: peut contenir plus de cents asques, donc 800 ascospores.



3.2 Analyse des tétrades ordonnées chez *Neurospora crassa*

Chez les organismes haploïdes comme les champignons Ascomycètes du genre *Neurospora crassa*, les gamètes ce sont les ascospores et les mycelium haploïdes issus de ces dernières. Leurs caractères morphologiques ou biochimiques sont directement observables contrairement à la phase haploïde (= gamètes) des organismes diploïdes qui n'est pas observable.

La phase haploïde (ascospores + mycelium) est observable grâce à la technique de l'analyse de tétrades qui permet de connaître les caractères de chacun des quatre gamètes (**tétrade**) issus d'une méiose individuelle.

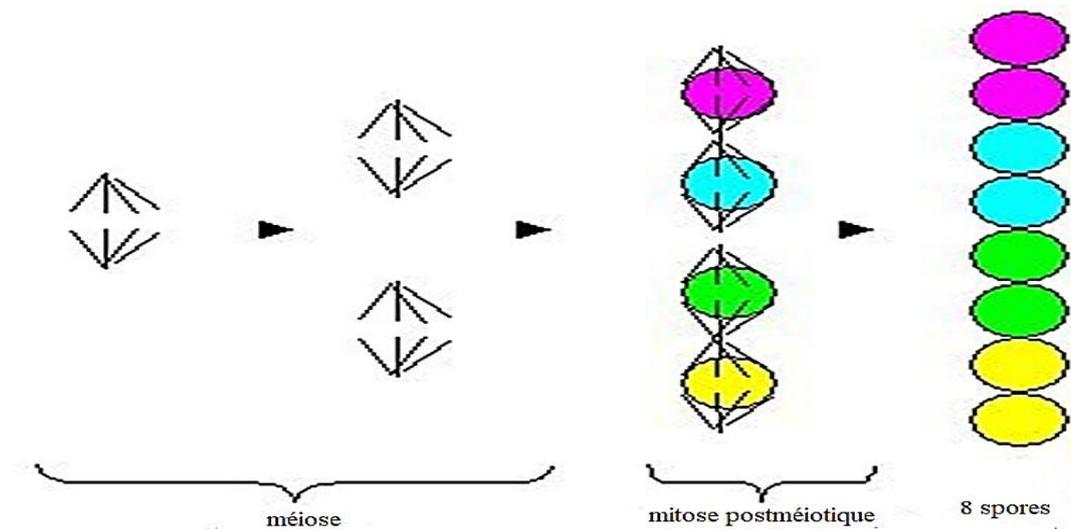
Chez les champignons du genre *Neurospora*, la structure de l'asque donne directement accès aux phénomènes de ségrégation qui se sont produits durant de la méiose car ces asques ont une mémoire de l'orientation des fuseaux de division : on parle d'asques ordonnés.

Chez ce champignon, il est possible de faire trois types d'analyse :

- l'analyse de spores en vrac ;
- l'analyse d'asques non ordonnés ;
- et l'analyse d'asques ordonnés.

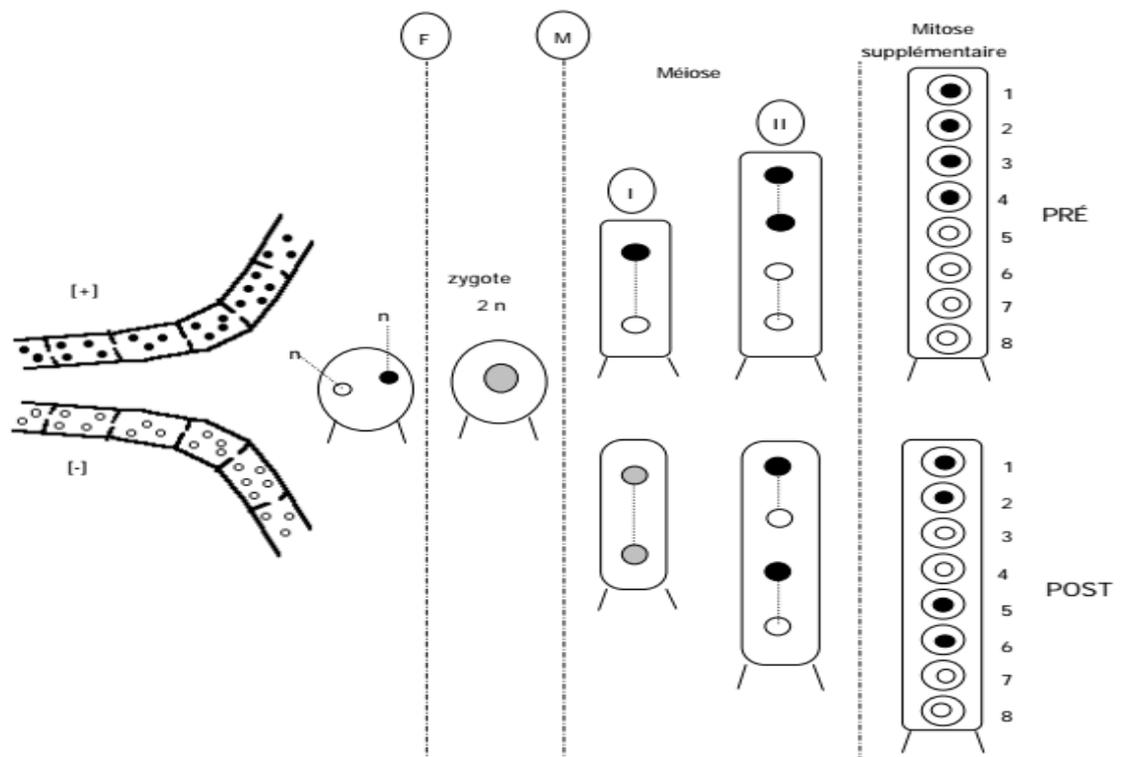
On va détailler uniquement ce qu'il se passe dans le cas de l'analyse des asques ordonnés.

Après la méiose chez ce champignon, il se produit une mitose qui conduit à des asques contenant *huit spores*. Cela n'est pas gênant car les 2 spores issues d'une mitose sont identiques et côte à côte. Pour simplifier l'explication et les dessins, on ne considérera donc que les produits avant la mitose post-méiotique.



3.3 Ségrégation d'un couple de gènes : Pré- et Post-réduction

Les proportions d'asques pré réduits et post réduits dépendent de la fréquence des COs (Crossing-over) qui se produisent entre le centromère et le gène.



Pré-Réduction: N'est possible que si la division I de la méiose emporte au même pôle deux allèles identiques: ségrégation des allèles différents dès la première division de la méiose. Chaque demi-asque est *homogène*.

Post-Réduction: Les allèles différents ne ségrégent qu'à la seconde division II de la méiose et sont donc présents ensemble dans chaque demi-asque (*hétérogène*).

Question 1: Que se passe-t-il si le gène est très proche du centromère ?

Dans ce cas, on n'obtient que des asques pré-réduits, et la distance est nulle.

Question 2: Que se passe-t-il si le gène est très éloigné de son centromère ?

Dans ce cas, on obtient un mélange d'asques pré-réduits et post-réduits. En effet,

Si 0 CO : 100% d'asques pré-réduits ;

Si 1 CO : 100% d'asques post-réduits ;

Si 2 CO : 50% d'asques pré-réduits et 50% d'asques post-réduits.

On peut calculer la distance entre le gène et le centromère :

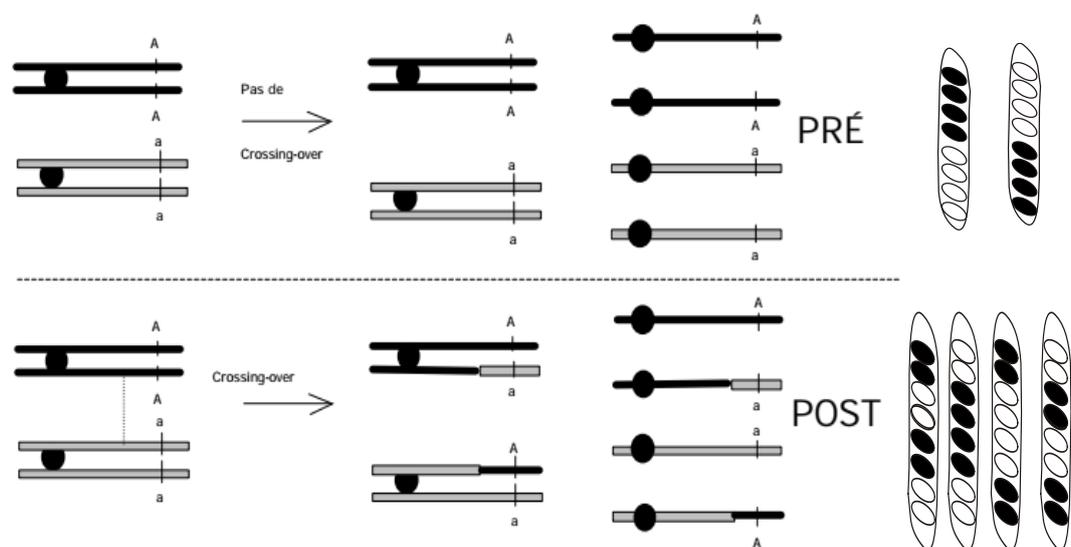
Distance (gène-centromère) = [(nombre d'asques post-réduits) / (2 x le nombre total d'asques)] x 100 ou

Distance gène-centromère = ½ pourcentage de post-réduction

La distance est exprimée en **cM** (car pour chaque asque post réduit, seulement la moitié des chromatides est recombinée).

3.4 Interprétation chromosomique des phénomènes de post-réduction

Il est bien connu que le crossing-over se produit dès le début de la prophase de la première division I méiotique, lors de la répllication des chromosomes homologues appariés. Le crossing-over permet d'interpréter la post-réduction:



Post-réduction : dûe à 1 C.O. entre le centromère et le locus

La fréquence du C.O. sur une certaine distance étant proportionnelle à la longueur de celle-ci, le pourcentage de post-réduction d'un gène sera fonction de la distance entre le centromère et le locus de ce gène.

3.5 Ségrégation de deux couple de gènes

3.5.1 Cas de gène liés (portés par le même chromosome)

Les tétrades issues par exemple d'un croisement ++ X ab.

La fécondation donne un noyau diploïde (++)/ab) et elle est immédiatement suivie par la méiose.

Si l'on ne tient pas compte de l'ordre des spores dans les asques (cas des tétrades non-ordonnées), les 7 types de tétrades obtenus par le croisement précédent se réduisent à 3 types seulement : 4 DP (ne contient que des gamètes parentaux), 4 DR (ne contient que des gamètes recombinés) et TT contiennent 4 types de gamètes (2 DP et 2DR).

1- Si aucun C.O entre les deux loci, ou si un double C.O touchant les deux mêmes chromatides se produit, tous les produits de la méiose seront *parentaux*. Il y aura autant de ++ que de ab. De telles tétrades sont appelées Ditypes parentaux (**DP**)

2- Si un double C.O touchant les 4 chromatides : tous les produits de la méiose seront *recombinés* ; Il y en aura autant d'un type (+ b) que de l'autre (a +). De telles tétrades sont appelées ditypes recombinés (**DR**).

On obtient des *tétra types* (**TT**) soit à l'issue d'un seul C.O entre les deux gènes, soit à l'issue de deux C.O touchant 3 chromatides.

Linkage = existence d'une liaison physique entre 2 couples de gènes, liaison qui se rompt avec une certaine fréquence (toujours < 50%).

Valeur du linkage = pourcentage de recombinaison (pourcentage de gamètes recombinés par rapport aux gamètes totaux) :

Quand les nombres de DP et de DR ne sont pas égaux statistiquement, les deux gènes sont liés.

L'estimation du pourcentage de recombinaison ou fréquence relative de recombinaison entre les deux gènes se fait en appliquant la formule:

$$\% \text{ REC} = \frac{\text{DR} \times 4 + \text{TT} \times 2}{\Sigma \times 4} = \frac{\text{DR} + \text{TT} / 2}{\Sigma}$$

L'estimation de la distance entre les deux gènes

Gène 1 et gène 2 sont chacun monogénique

DP >>>> DR, le gène 1 est lié au gène 2

Distance = Fréquence relative de recombinaison X 100

Distance gène1-gène 2 = $[(1/2 TT + DR) / (TT+DR+DP)] \times 100$

0 < Distance < 50 cM

3.5.2 Cas de gènes indépendants (portés par deux chromosomes différents)

Dans ce cas, les asques DP (ditypes) et DNP (ditypes non parentaux ou recombinés) apparaissent avec une fréquence égale (DP=DNP) puisque leur formation dépend de la disposition des deux groupes de quatre chromatides au stade métaphase I et les tétratypiques apparaissent quand un C.O unique s'est produit entre l'un ou l'autre des deux gènes et son centromère. La proportion tétratypiques dépendra de l'éloignement des deux gènes par rapport à leurs centromères.

DP = DR alors les deux gènes sont *indépendants*

- si la fréquence de tétratypiques est inférieure à 66%, les gènes sont sur des chromosomes différents
- si la fréquence de tétratypiques est égale à 66%, on ne peut pas conclure

3.6 Carte factorielle

Pour analyser ces asques, on recherche les asques pré- et post-réduits. Puis on calcule le pourcentage de post-réduction qui représente le double de la distance du gène au centromère (après correction par 100 pour avoir des cM !). Sauf si le pourcentage d'asques post-réduits est égal à 66%, auquel cas le gène est considéré indépendant de son centromère et la distance ne pourra être calculée.

Lorsque plusieurs gènes sont en jeu (ce qui se voit par l'obtention d'asques de type 3:1 ou 4:0), il est conseillé de traiter les données pour chaque gène par rapport à son centromère indépendamment des autres. Ensuite, il faut traiter les gènes deux à deux sous forme d'asques non-ordonnés comme dans le cas de la levure.

4 CHAPITRE : GENETIQUE DES DIPLOIDES

Le but de ce chapitre est de présenter, de façon extrêmement sommaire, certains concepts biologiques de base, qui seront nécessaires à la compréhension de la génétique des diploïdes. La majorité de ces concepts ont déjà été abordés durant les cours précédents, il s'agit donc ici tout au plus de rappeler les concepts généraux plutôt que de les énoncer de façon détaillée.

Le chapitre s'articulera autour de questions suivantes:

Qu'est-ce qu'un caractère, allèle, locus.... ?

Qu'est-ce qu'une hérédité mono- et di hybridisme ?

Comment se fait la ségrégation des caractères, Lois de Mendel ?

Distance et carte génétique ?

4.1 Terminologies

Un caractère : tous paramètres observés d'une cellule ou d'un individu : taille, couleur, forme etc. Un caractère peut apparaître sous deux aspects différents (grand/petit, sensible à... / résistant à..., jaune/vert etc.). On dit qu'un caractère est génétique quand il est transmissible d'une génération à l'autre selon les lois de l'hérédité. C'est ce que l'on appelle un «*allèle*». Les différents allèles d'un même gène se trouvent à des emplacements semblables sur les chromosomes homologues. La position d'un gène sur le chromosome s'appelle «*locus*». Par conséquent, un organisme *diploïde* possède deux allèles d'un même gène. On parle d'un organisme *homozygote*, s'il porte deux allèles *identiques* ou bien un organisme *hétérozygote*, s'ils sont *différents*. Donc un allèle est une version différente d'un même gène, on parle d'allèle *dominant* et d'allèle *récessif*, mais pas de gène dominant ni de gène récessif parce que c'est toujours le même gène.

Le multi-allélisme : c'est la présence de plusieurs formes alléliques d'un gène.

Souche pure ou lignée pure : il s'agit d'organismes homozygotes pour la quasi-totalité de leurs loci. On fabrique une souche pure par autofécondation au fil des générations (évitant le brassage génétique.)

Le génotype : est l'ensemble des potentialités génétiques d'une cellule ou d'un organisme donné. C'est aussi l'ensemble des différents loci.

Le phénotype : est l'ensemble des caractères visibles d'une cellule ou d'un organisme en tant que résultat de l'expression du génotype dans un environnement donné.

La dominance: est la propriété d'un allèle dont l'expression détermine le phénotype.

La récessivité : est la propriété d'un allèle dont l'expression n'apparaît pas dans le phénotype.

Co- dominance : présence de deux allèles de même force.

Croisement génétique : Reproduction sexuée de deux individus différents donnant lieu à une progéniture qui porte une partie du matériel génétique de chaque parent. Les organismes parents doivent être génétiquement compatibles et peuvent être de différentes variétés ou d'espèces étroitement apparentées.

Mono-hybridisme: quand les deux souches parentales ne diffèrent que par les allèles d'un seul gène.

Di-hybridisme : quand un croisement fait intervenir deux couples d'allèles (2 gènes).

Poly-hybridisme: quand les souches parentales diffèrent de deux ou plusieurs loci.

4.2 Convention d'écriture

Avec A et a deux formes alléliques d'un même gène.

Ou a+//a ou +//a ou A//a : La majuscule (ou le +) indique l'allèle **dominant**.

La minuscule indique l'allèle **récessif**.

Le phénotype noté [A] peut être : A//A ou A//a on le note A//. Alors que le [a] ne peut être que de génotype **a//a**

Un organisme hétérozygote : **A//a**

Un individu homozygote : **A//A ou a//a**

4.3 Génétique mendélienne des organismes diploïdes

La génétique mendélienne a pour but d'étudier la transmission des caractères héréditaires de génération en génération. Par convention, la génération initiale ou génération parentale est dénommée P, les générations suivantes ou générations filiales désignées F1, F2, F3... selon leur ordre d'apparition.

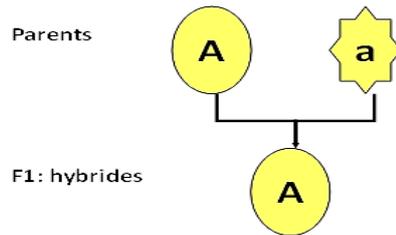
La plupart des travaux de Mendel ayant porté sur le pois cultivé *Pisum sativum* (petit pois), nous commencerons par décrire quelques-unes de ses expériences portant sur l'hybridation de lignées parentales différant par un seul caractère (*mono-hybridisme* par exemple des pois à graines jaunes avec des pois à graines vertes), puis de lignées parentales différant par deux caractères (*di-hybridisme* par exemple des pois à graines jaunes et ridées avec des pois à graines vertes et

lisses). Ensuite, nous envisagerons les cas de transmissions non conformes aux lois de Mendel (linkage et crossing-over) et, enfin, le cas particulier des caractères liés au sexe.

4.3.1 Mono-hybridisme

La première loi de Mendel est celle *d'uniformité des caractères à la première génération*.

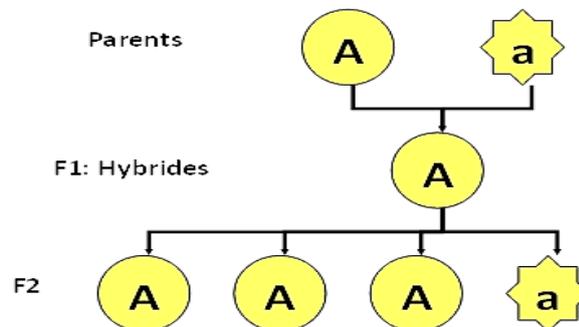
Pour chacun des croisements de deux variétés ne différant que par un caractère, l'une des deux formes parentales se retrouve chez tous les hybrides.



Mendel qualifie ce trait de *dominant*, et celui qui ne se manifeste pas de *récessif*.
Convention: Mendel utilise une lettre *majuscule* pour désigner le caractère dominant, une *minuscule* pour le caractère récessif correspondant.

La première génération après les hybrides

Les proportions entre caractères dominants et récessifs sont approximativement de **3:1**.



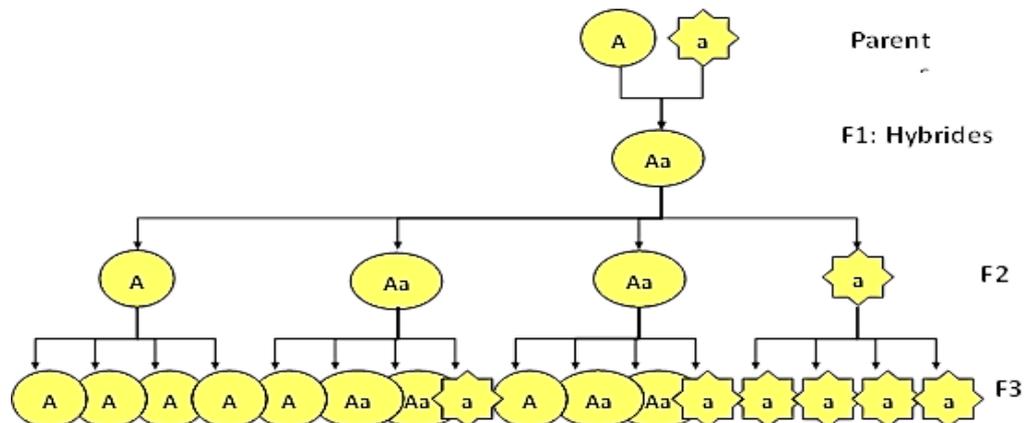
Le caractère dominant observé dans la génération F2 peut avoir deux significations: celui du caractère parental ou de l'hybride. Ces deux cas peuvent être distingués à la génération suivante (F3).

La deuxième génération après les hybrides

Les individus qui, à la génération F2 (première génération après les hybrides), présentaient le caractère récessif (a), n'engendrent que des individus du même type.

Parmi les dominants de la génération F2 $\frac{1}{3}$ n'engendrent que des dominants. Ils ont donc le caractère du parent dominant (A).

$2/3$ engendrent des dominants et des récessifs, dans la même proportion **3:1** que pour les hybrides initiaux. Ils ont donc le caractère hybride (Aa).



Les proportions **3:1** de la génération F2 comprenaient donc

1 dominant à caractère parental (noté **A**)

2 hybrides (notés **Aa**)

1 récessif (noté **a**)

Notation: **1A:2Aa:1a** pour la première génération après les hybrides **F2**.

Les générations suivantes

Mendel suit la descendance de certains hybrides sur plus de 6 générations.

Il en tire *une loi mathématique*, qui permet de prédire les proportions des formes dominantes, récessives et hybrides. Il s'agit de *la deuxième loi de Mendel*, appelée *loi de ségrégation des caractères*.

Génération après hybrides	Nom de la génération	A	Aa	a	A	Aa	a
0 (hybrides)	F1	0	1	0	0	1	0
1	F2	1	2	1	1	2	1
2	F3	6	4	6	3	2	3
3	F4	28	8	28	7	2	7
4	F5	120	16	120	15	2	15
5	F6	496	32	496	31	2	31
n					2ⁿ-1	2	2ⁿ-1

Attention, il s'agit ici d'autofécondation, les résultats seraient différents en cas de fécondation réciproque (voir cours ultérieur sur la génétique des populations).

Pour expliquer cette évolution mathématique des proportions au fil des générations, Mendel formule un modèle selon lequel :

- pour chaque lignée parentale (lignée pure) toutes les cellules reproductrices (ovule ou pollen) portent le caractère parental;
- les caractères des parents se retrouvent en proportions égales dans les graines des hybrides.

Mendel réalise ensuite croisements entre les hybrides et chacune des lignées parentales, qui confirment ce modèle. Appelé **Test cross** ou **Back cross** (voir ultérieurement).

Analyse de croisements mono hybrides en 5 points

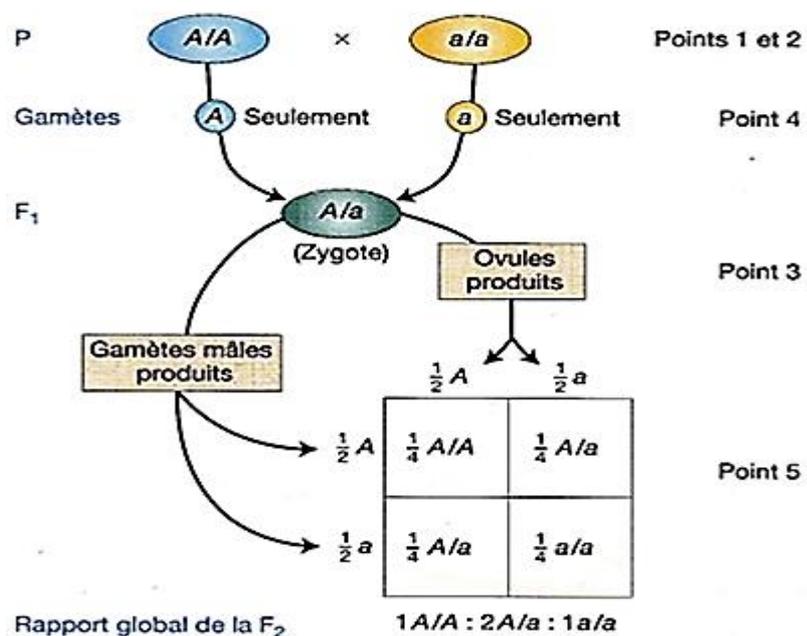
Mendel cherche un modèle qui rend compte des proportions phénotypiques **3 : 1** en F1 et **1 : 2 : 1** après autofécondation de la F2.

Il fait les hypothèses suivantes :

- L'information génétique est portée par des particules héréditaires (qui seront découvertes plus tard : les gènes) ;
- Ces particules héréditaires sont présentes par paire dans chaque cellule (organisme diploïde) et existent sous différentes version (**points 1 et 2**), chacune déterminant un état du caractère (ce qu'on appellera plus tard les allèles) ;
- Au cours de la formation des gamètes, Mendel propose que la paire de particule héréditaire se sépare en deux (**points 3 et 4**).

Une analyse pour le caractère étudié par croisements a été organisée en 5 points appelée analyse génotypique.

Un tableau de croisement a été établi pour faciliter l'analyse appelé échiquier de Punnet (**point 5**).

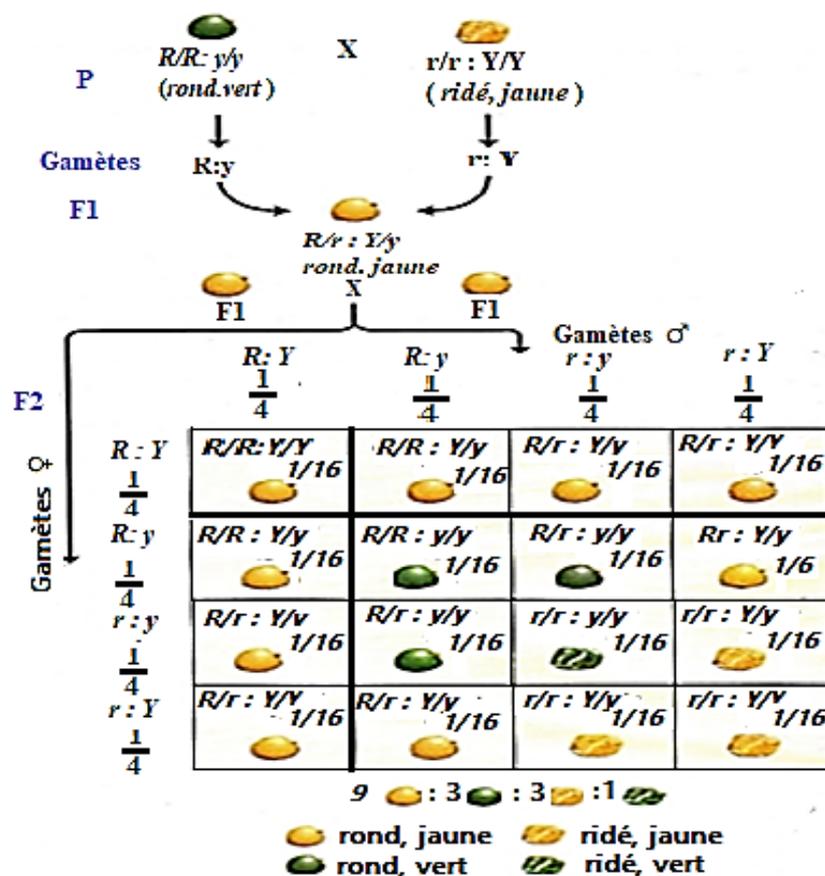


Un échiquier de Punnett, aussi appelé « grille de Punnett », ou tableau de croisement, est un diagramme qui permet de prédire le patrimoine génétique résultant d'un croisement entre parents. Ce diagramme tire son nom de *Reginald Punnett* qui en établit les principes.

4.3.2 Di hybridisme : Combinaison de deux caractères

Quand les parents diffèrent par deux ou plusieurs caractères. Les hybrides présentent le trait dominant pour chacun des caractères, indépendamment du parent qui portait ce trait dominant.

Lors des générations suivantes, les descendants présentent toutes les combinaisons possibles de caractères parentaux. Le modèle présenté dans la figure expliquant les rapports 9 : 3 : 3 : 1 en F2 de croisements di-hybrides.



Ces caractères se transmettent à la descendance de façon indépendante les uns des autres. Ceci est *la troisième loi de Mendel, appelée loi d'association indépendante des caractères* : les paires de particules héréditaires (gènes) différentes (détermine chacune un caractère) s'assortissent indépendamment les unes des autres lors de la formations des gamètes.

Exemple : la particule (l'allèle) R déterminant le caractère « pois rond » à la même probabilité de se trouver avec la particule Y qu'avec la particule y dans un gamète.

4.3.3 Di hybridisme et explication des rapports 9 :3 :3 :1

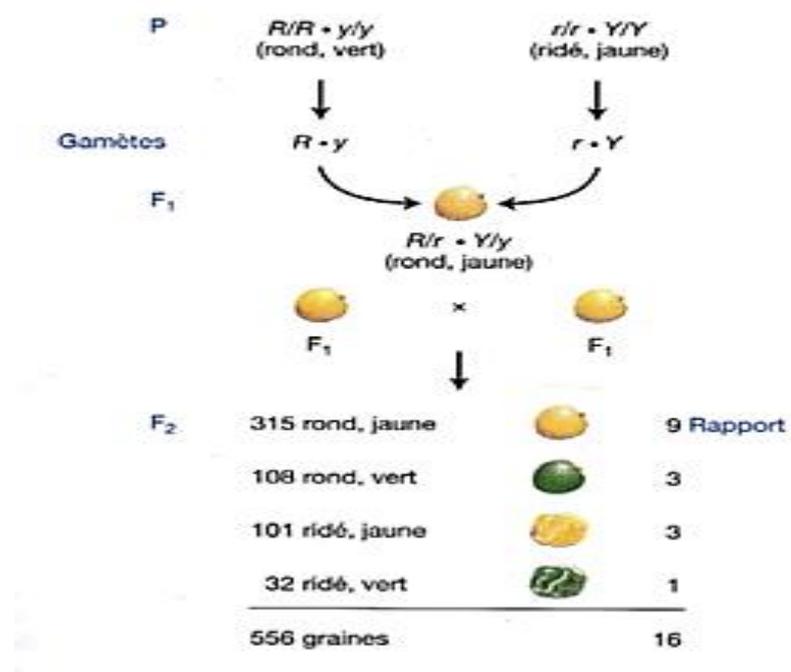
Mendel se focalise sur un caractère et compte :

Nombre de pois ronds R= 423

Nombre de pois ridé r = 133

Les proportions de ces deux caractères sont $423/556 = 0,76$ pour R et $133/556 = 0,25$ pour r.

En F₂, on trouve les proportions $\frac{3}{4}$ phénotype dominant (pois rond) et $\frac{1}{4}$ phénotype récessif (pois ridé) des croisements mono-hybrides.



Le rapport 3/1 des croisements mono-hybrides est « caché » par le rapport 9 :3 :3 :1 des croisements di-hybrides.

4.3.4 Testcross (croisement test)

Le testcross est le croisement d'un individu de *génotype inconnu* (individu testé) avec un *homozygote récessif* (individu testeur).

Le but du *testcross* est la détermination du génotype de l'individu testé. Car le phénotype des individus produits par ce test rend compte du génotype des gamètes fournis par le parent inconnu. Connaissant les différentes classes de gamètes produites par ce parent (testeur), on peut définir son génotype. Selon

qu'on utilise, pour réaliser le testcross, un simple ou un double hétérozygote, on obtiendra soit les proportions 1 : 1, soit les proportions 1 : 1 : 1 : 1, ce qui indique que la ségrégation porte soit sur 1 couple d'allèles, soit sur 2 couples d'allèles ségrégant indépendamment.

4.3.5 Poly-allélisme et poly hybridisme

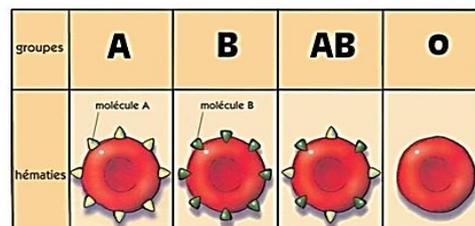
Poly-allélisme

Poly-allélisme est tel que l'expression d'un gène donné conduit bien souvent à de multiple phénotype, et pas seulement à deux phénotypes alternatifs.

Prenons l'exemple du gène codant pour l'enzyme impliquée dans la dernière étape de fabrication des marqueurs membranaires déterminant les phénotypes correspondant aux groupes sanguins du système ABO. On considère 3 allèles du même gène : Les allèles I^A et I^B sont codominants (voir codominance) entre eux et dominants par rapport à l'allèle i^O .

- Allèle I^A code pour l'enzyme A permettant la synthèse d'un marqueur A qui caractérise le groupe sanguin A.
- Allèle I^B code pour l'enzyme B permettant la synthèse d'un marqueur B qui caractérise le groupe sanguin B.
- Allèle i^O code pour une enzyme inactive ne permettant ni la synthèse du marqueur A ni la synthèse du marqueur B ce qui caractérise les individus de groupe sanguin O.

<u>Génotype</u>	<u>Type sanguin</u>
I^A / I^A , I^A / i	A
I^B / I^B , I^B / i	B
I^A / I^B	AB
i / i	O



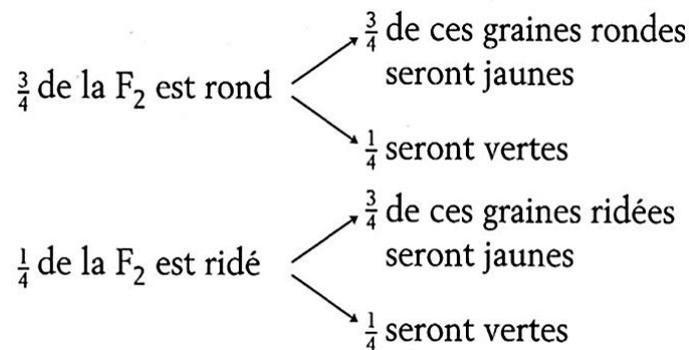
Système branché et poly-hybridisme

Le système branché est une méthode de calcul des proportions génotypiques ou des proportions phénotypiques sans passer par le génotype.

Cette méthode est basée sur les proportions des croisements de mono-hybridisme. Autrement dit dans le cas d'un di-hybridisme, en admettant qu'on croise deux doubles hétérozygote comme dans le cas de l'échiquier ultérieurs et qu'on cherche les proportions phénotypiques de la descendance, on sépare le caractère de la couleur du caractère de l'aspect, on calcule leurs fréquences

phénotypiques séparément (puisque d'après la 2^{ème} loi de Mendel il y a ségrégation indépendante des caractères) puis on les associe.

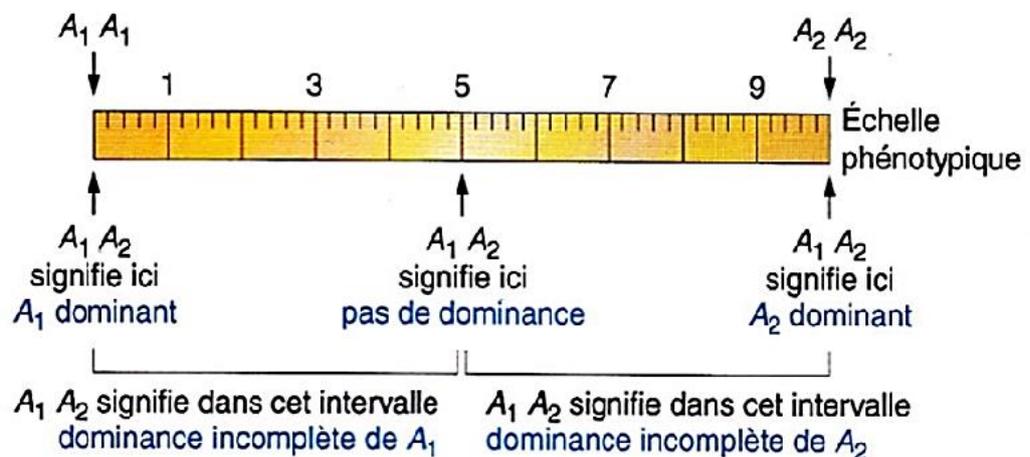
Les proportions de chaque phénotype s'obtiennent en multipliant les fréquences phénotypiques de chaque caractère de la couleur avec l'aspect correspondant; par exemple, la probabilité d'avoir un grain lisse est de $\frac{3}{4}$ et la probabilité d'avoir un grain jaune est de $\frac{3}{4}$ alors la probabilité d'avoir un grain lisse et en même temps jaune est de $\frac{3}{4} * \frac{3}{4} = \frac{9}{16}$. (Voir démonstration ci-dessous).



4.4 Exceptions à la génétique mendélienne des organismes diploïdes

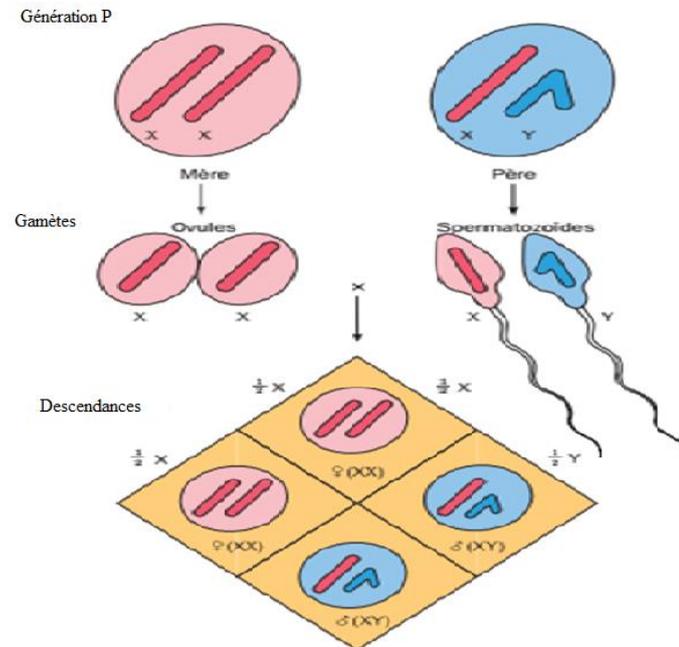
4.4.1 Dominance incomplète et codominance

La dominance partielle correspond à une situation où le phénotype de l'hétérozygote est intermédiaire entre ceux des deux homozygotes (ex: la belle de nuit). Quand les hétérozygotes présentent les effets phénotypiques des deux allèles, de manière équivalente, on parle de codominance (ex : groupes sanguins) et on les note avec 2 majuscules. Les proportions de croisement des hétérozygotes sont : **1 : 2 : 1**.



4.4.2 Hérité liée au Chromosome X

Chez la plupart des animaux eucaryotes, les cellules des femelles contiennent chacune deux chromosomes X (XX), tandis que les cellules des mâles contiennent un seul chromosome X et un chromosome Y, dont la forme est différente. Les ovules contiennent donc un seul chromosome X et le spermatozoïde contient soit un X, soit un Y (voir figure).



Les chromosomes X et Y sont donc appelés chromosomes *sexuels* ; les autres chromosomes sont les *autosomes*.

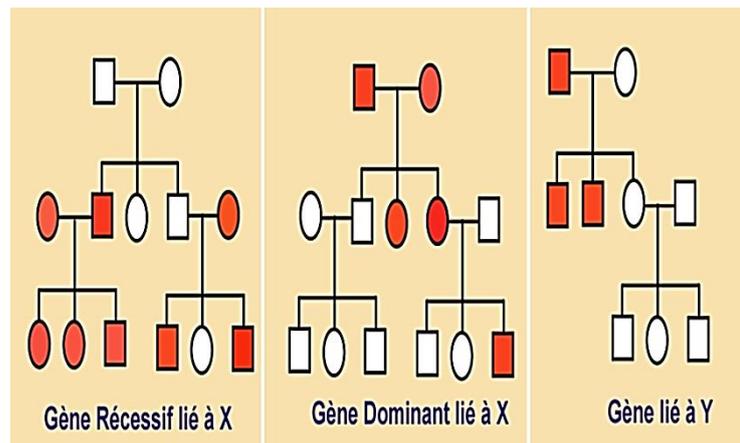
La fécondation par un spermatozoïde porteur d'un X entraîne donc la formation d'un zygote XX femelle, et par un spermatozoïde porteur d'un Y, d'un zygote XY mâle. C'est la probabilité **0,5** de chaque spermatozoïde qui explique le rapport 1:1 entre mâles et femelles chez beaucoup d'espèces. Ainsi chez l'homme et la drosophile le caryotype d'une femelle est $2A + XX$, et d'un mâle $2A + XY$

Tableau : autres cas d'hétérosomes

	gamètes femelles	gamètes mâles
Mécanisme XO (insectes)	$\frac{1}{2} 2A + XX$	$\frac{1}{2} 2A + X0$
Mécanisme ZO (poulet)	$\frac{1}{2} 2A + Z0$	$\frac{1}{2} 2A + ZZ$
Mécanisme ZW (papillon)	$\frac{1}{2} 2A + ZW$	$\frac{1}{2} 2A + ZZ$
Mécanisme XY (homme, drosophile)	$\frac{1}{2} 2A + XX$	$\frac{1}{2} 2A + XY$

Dans ce cas la femelle est *homogamétique*, elle fournit un seul type de gamètes : 100% de A + X et le mâle est *hétérogamétique* et fournit 2 types de gamètes: $\frac{1}{2}$ A + X et $\frac{1}{2}$ A + Y.

Les mâles ne possèdent donc qu'un seul allèle pour les caractères liés au sexe. Cet état est appelé *Hémizygote* contrairement aux états *homozygotes* et *hétérozygotes* que peut présenter chez la femelle. Selon le gène récessif ou dominant, la transmission est illustrée dans le pedigree suivant (voir pedigree).



4.4.3 Létalité

Certains allèles ne se manifestent que par la mort de l'individu avant la maturité, lors de la période prénatale ou post-natale. De tels allèles sont appelés *létaux*.

La présence d'allèles létaux modifie généralement les rapports phénotypiques Mendéliens attendus.

Un allèle *létaux dominant*, c'est-à-dire qui tue aussi un homozygote qu'un hétérozygote, peut survenir par mutation d'un allèle normal. Un allèle *létaux récessif* ne tue les individus que les homozygotes pour cet allèle. Suivant les cas, l'hétérozygote sera apparemment normal ou manifestera quelques déficiences.

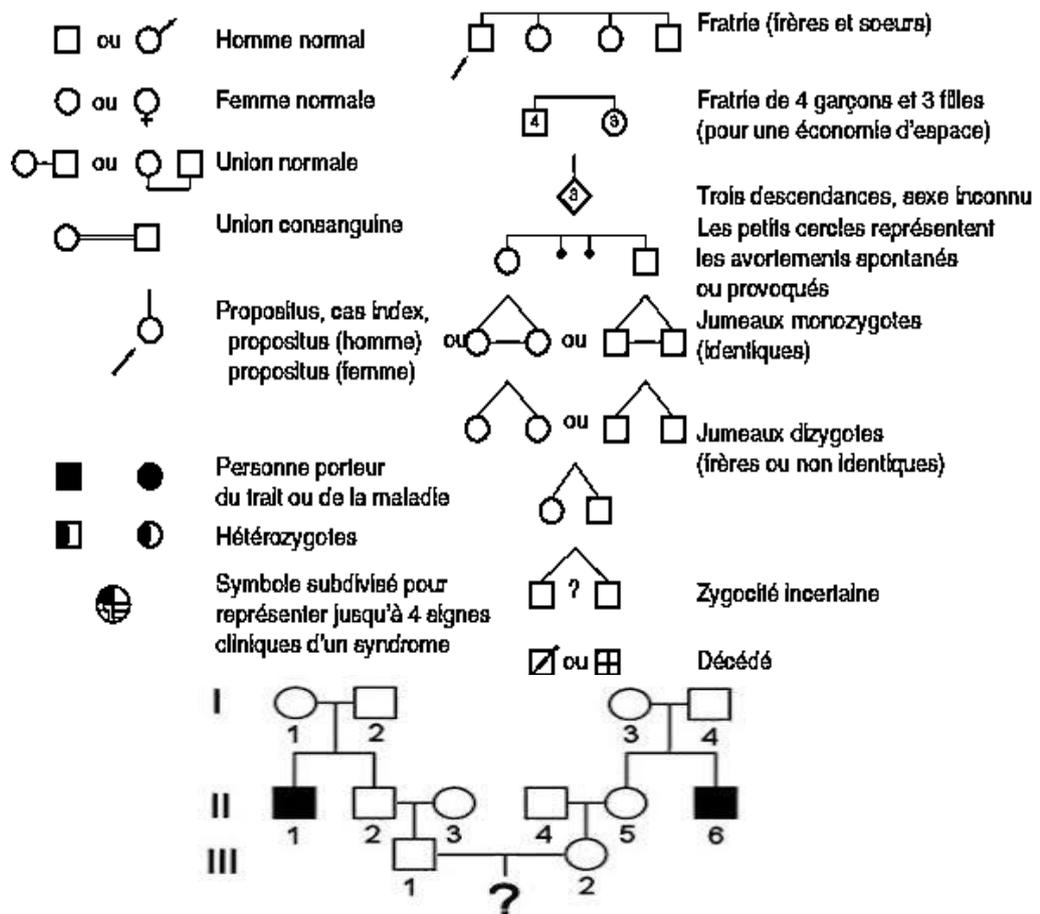
4.5 Etude des pedigrees

L'homme est un matériel particulièrement difficile à étudier du point de vue génétique.

- En effet, il faut une vingtaine d'années par génération ;
- la descendance d'un couple est peu nombreuse ;
- le stock chromosomique (23 paires) présente beaucoup de chromosomes de petite taille ;
- de plus, l'environnement et les unions sont impossibles à contrôler.

Cependant, on connaît les mécanismes de transmission d'un certain nombre de caractères anatomiques, physiologiques et biochimiques chez l'homme. L'étude des vrais et faux jumeaux, l'élaboration des pedigrees donnent aux généticiens des éléments de travail intéressants.

La construction des pedigrees suit des règles conventionnelles qui sont indiquées dans la figure suivante.



Dans le pedigree ci-dessus, les individus d'une même génération sont groupés sur une même ligne horizontale repérée par un chiffre romain. Les descendants d'un couple sont ordonnés de gauche à droite suivant l'ordre de naissance. Par exemple pour la génération I, le couple (1) (2) a deux enfants, II (1) est porteur de la maladie et l'enfant II (2) est de phénotype normal.

4.6 Liaison et carte chromosomique

4.6.1 Liaison

Quand deux ou plusieurs gènes sont situés sur le même chromosome, ils sont dits liés. Ils peuvent être liés soit sur un autosome soit sur le chromosome sexuel. La liaison peut être considérée comme établie quand, à l'issue du

testcross, les proportions respectives des 4 catégories génotypiques sont différentes des proportions 1:1:1:1 les gamètes parentaux sont plus fréquents que les gamètes recombinés (DP >>> DR).

- Deux gènes situés sur deux chromosomes différents ségrégent indépendamment l'un de l'autre. La descendance du *testcross* sera constituée de 4 catégories d'individus numériquement équivalentes.

Parents: Aa Bb X aabb

Gamètes : AB Ab aB ab ab

F1: ¼ AaBb : ¼ Aabb : ¼ aaBb: ¼ aabb

- Deux gènes liés ne ségrégent pas indépendamment l'un de l'autre. Ils ont tendance, au contraire, à ne pas se dissocier. Le nombre d'individus AB/ab ou ab/ab sera plus grand que le nombre d'individus Ab/ab ou aB/ab.

Lorsque les gènes sont liés la majorité des méioses donne des gamètes de génotype parentaux qui donneront une majorité de descendants à phénotypes parentaux. Une petite proportion des méioses subit des crossing-over et qui donne une petite proportion de gamètes à génotypes recombinés à l'origine de descendants à phénotypes recombinés en proportion minoritaire.

Remarque

Plus les gènes sont éloignés sur le chromosome, plus la probabilité qu'ils soient recombinés est élevée et donc plus la proportion de descendants à phénotypes recombinés est élevée. Si les gènes sont très proches, ils ne sont pas affectés par les crossing-over et on obtient donc que des descendants de phénotypes parentaux (50/50 %).

4.6.2 Carte factorielle

Les lieux où sont localisés les gènes sur le chromosome (loci) sont disposés de façon linéaire telle des perles sur collier.

Distance

Le pourcentage de recombinaison entre deux gènes liés étant toujours le même, Morgan, qui s'est rendu célèbre grâce à ses travaux sur la drosophile, a pensé que la localisation, ou locus, d'un gène sur le chromosome était constante et que la valeur du pourcentage de recombinaisons pouvait être utilisée pour traduire la

distance entre les gènes. Son argumentation est la suivante : *si les gènes sont disposés de façon linéaire (à la manière d'un collier de perles) sur un chromosome cité, et si les chiasmas (« crossing-over ») se produisent au hasard le long des chromatides, on peut affirmer que : plus deux gènes sont éloignés, plus un enjambement (« crossing-over ») a de chances de survenir entre eux, et donc plus le taux de recombinaisons est élevé.*

Le pourcentage de recombinaison traduit la distance entre deux gènes appartenant à un même groupe de liaison ; par convention l'unité de distance entre les gènes, ou unité **Morgan**, est égale à 1% de recombinaison.

Distance = (nombre de recombinaison / le nombre total des individus) x 100

Test deux points

La méthode la plus simple pour déceler les gamètes recombinés chez un double hétérozygote est de faire un testcross et d'en analyser la descendance; Exemple. Supposons que nous ayons un double hétérozygote AC/ac en position cis (a et c étant les allèles récessif) et que dans la descendance du testcross on obtienne 37% d'individu de phénotype AC, 37% ac, 13% Ac et 13% aC. Les individus de phénotype Ac et aC, don de génotypes Ac/ac et aC/ac, sont issu des gamètes recombinés du parent double hétérozygote. Ainsi 26% (13+13) des gamètes sont recombinés. La distance AC est donc de 26 unités.

Test trois points

Habituellement on n'observe pas de double crossing-over (D.C.O) sur les distances inférieures à 5 unités. Pour les distances plus grandes, il est judicieux d'utiliser un troisième marqueur entre les deux autres afin de déceler les (D.C.O).

Exemple d'application

Chez une variété de plantes, on a effectué trois séries de croisements pour réaliser l'étude des gènes A, B, et C, et on a obtenu les résultats suivants:

- 1) Croisement AB/ab x ab/ab : 455 AB, 58 Ab, 62 aB, 425 ab
- 2) Croisement BC/bc x bc/bc : 453 BC, 41 Bc, 39 bC, 467 bc
- 3) Croisement AC/ac x ac/ac: 473 AC, 21 Ac, 19 aC, 487 ac

Dressez la carte chromosomique (comment ces gènes sont-ils disposés sur leur chromosome ?).

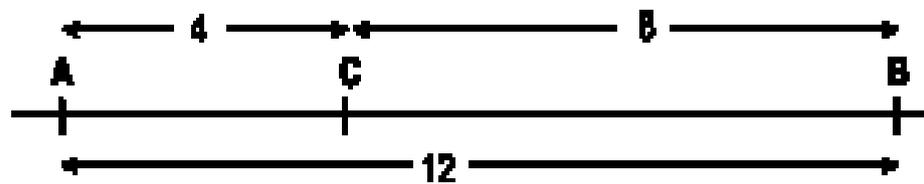
On a un chromosome sur lequel on retrouve trois gènes: A, B et C (ou leurs allèles a, b et c).

Si on regarde le premier croisement impliquant A et B, on constate que dans 12% des cas (120 gamètes sur un total de 1000), il y a eu Xover (C.O) (ce sont les cas qui ont donné les gamètes Ab et aB).

Dans le second impliquant B et C, il y a eu (C.O) dans 8% des cas et dans le troisième impliquant A et C, il y a eu (C.O) dans 4% des cas.

La distance A-B est donc de 12 centimorgans. La distance B-C est de 8 centimorgans et la distance A-C est de 4 centimorgans.

Donc, sur le chromosome, on retrouve le gène A et, 4 centimorgans plus loin, il y a le gène C. À 8 centimorgans du C il y a le gène B, ce qui nous fait bien une distance de 12 entre A et B.



5 CHAPITRE : GENETIQUE BACTERIENNE ET VIRALE

5.1 Quelques définitions

Souche: Ensemble des micro-organismes provenant d'un micro-organisme unique par division directe ou asexuée. Souche mutante; souche bactérienne, cellulaire, microbienne; souche de pneumocoques, de vaccin, de virus.

Plasmide: ADN circulaire extra chromosomique, qui peut se répliquer de façon autonome, appelé facteur de fertilité (F) ou facteur sexuelle.

Bactériophage: c'est le virus des bactéries, c'est un agent infectieux pouvant être responsable de la lyse bactérienne.

Bactérie prototrophe: Espèce bactérienne à laquelle elle appartient et qui peut vivre dans un milieu minimum.

Bactérie auxotrophe: mutante, a perdu la capacité de synthétiser de molécule essentielle pour sa croissance, qui peut vivre dans un milieu complet.

Milieu sélectif: Les milieux sélectifs sont des milieux empêchant la culture de certains micro-organismes. Ils sont utilisés pour l'isolement bactérien dans des produits poly microbiens. La sélection peut être chimique ou antibiotique. Ce sont des milieux riches ou non et donnant souvent un ou plusieurs caractères biochimiques d'orientations permettant une identification plus simple des germes.

Transfert génétique: C'est le passage de l'ADN d'une bactérie *donatrice* vers une autre *réceptrice*. L'ADN de la bactérie donatrice est appelé *exogénote*, alors que celui de la bactérie réceptrice est appelé *endogénote*. Le passage peut se faire de plusieurs manières.

5.2 Génétique bactérienne

5.2.1 Transferts horizontaux de matériel génétique

Chez les bactéries l'information génétique se trouve se forme une seule molécule d'ADN double brin circulaire appelée **chromosome bactérien**. Certaines bactéries peuvent aussi contenir de petites molécules d'ADN circulaire capable d'autoréplication appelées **plasmides**.

Le problème qui se pose au niveau des bactéries est qu'elles n'ont pas de vie sexuelle. Généralement, les caractères héréditaires chez les organismes supérieurs (eucaryotes) sont transférés au cours de la méiose (ici en parle de **transfert vertical**), or les bactéries ne font pas de méiose. Le chromosome bactérien ne se condense pas, il n'a pas de centromère, et aucun fuseau de

division ne se développe. Au lieu de cela, le chromosome bactérien se réplique et lorsque la cellule s'allonge, une nouvelle paroi est mise en place. Les copies de chromosome sont séparées selon un processus appelé *scission binaire*. Ce qui veut dire que lorsque les bactéries vont être transformées, il va y avoir **un transfert horizontal de gènes (TGH)** qui va permettre de combiner différents allèles à l'infini entre différentes bactéries ; c'est ce qu'on appelle la sexualité chez les bactéries. Trois mécanismes vont permettre de brasser des allèles et d'apporter de nouveaux caractères chez les bactéries : la transformation, la conjugaison et la transduction suivies par une *recombinaison génétique*. Ces trois phénomènes permettant l'entrée d'ADN *exogène* venant compléter ou remplacer localement l'information génétique *endogène*. Si l'ADN *donneur* est incorporé ou se recombine avec le génome de la cellule *réceptrice*, on obtient un **organisme recombinant** qui pourra présenter un ou plusieurs nouveaux phénotypes.

5.2.2 Transformation

La transformation "naturelle" ou physiologique est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique lui-même (ADN), qui est fixé et absorbé par des bactéries réceptrices, dites en état de compétence. Ce modèle a permis de démontrer que l'ADN était le support chimique de l'hérédité en (1928-1944).

Expérience de Griffith (1928) :

- P S₁V souris mort (septicémie).
- P S₁T souris survie.
- P R₃ V souris survie.
- P S₁T + P R₃ V souris mort (septicémie).

Expérience d'Avery et collaborateurs (1944):

- P S₁ → ADN.
- ADN + P R₃ V → injection aux souris:
septicémie mortelle.

NB :

PS₁V et T: Pneumocoque de type 1 capsulé vivant et tué. S : Smooth

PR₃V: Pneumocoque de type 3 non capsulé vivant. R : Rough.

Dans le milieu environnant une bactérie entre en contact avec du matériel génétique et certaines bactéries ont la capacité à capter cet ADN et à l'intégrer dans son chromosome bactérien.

5.2.2.1 Types de transformation

Il existe actuellement 2 types de transformation :

La transformation artificielle (la plus récente) : c'est un outil de génie génétique. On va faire entrer de l'ADN (circulaire ou linéaire) de force dans une cellule.

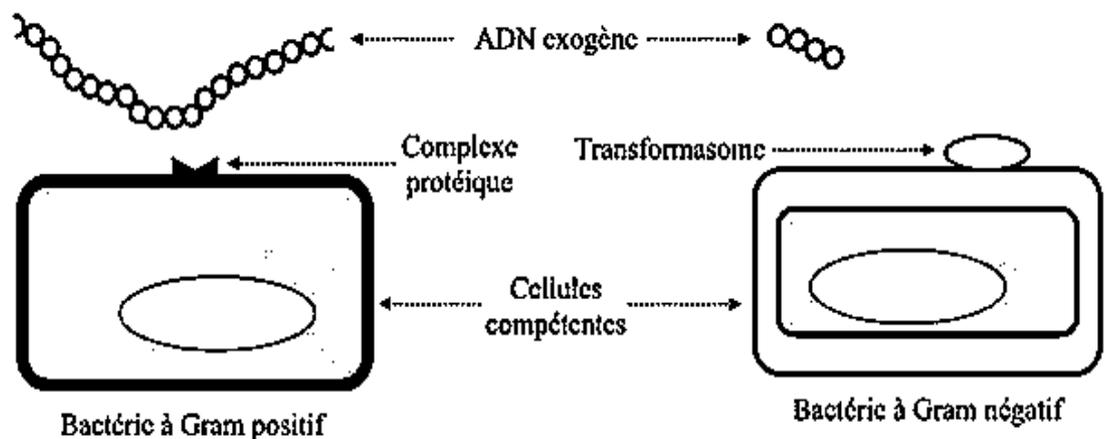
La transformation naturelle : certaines bactéries possèdent la capacité à prendre de l'ADN du milieu extérieur et ça s'appelle la compétence naturelle.

Il existe une période intermédiaire où même si c'est de l'ADN linéaire, l'endogène et l'exogène vont coexister et on parle de *mérozygote*.

5.2.2.2 L'état de compétence et ADN transformant

Parmi les conditions essentielles de la transformation bactérienne, on trouve :

-*L'état de compétence* : phénomène transitoire et dépendant de facteurs de compétence ou transformasomes. La transformation n'est possible que durant une courte durée (15 à 30 minutes) à la fin de la phase exponentielle de la croissance bactérienne (pic de compétence). La compétence dépend de la production d'une protéine. Cette substance agirait en dégradant certaines structures de surfaces, démasquant, ainsi, les récepteurs de l'ADN, ou en dégradant les composants pariétaux et permettant le passage de l'ADN transféré.



Chez les **gram⁺**, dépend de la production d'une substance ou d'un facteur de compétence : polypeptide très instable qui stimule la production d'un *complexe protéique* nécessaire à la transformation à la surface de la cellule.

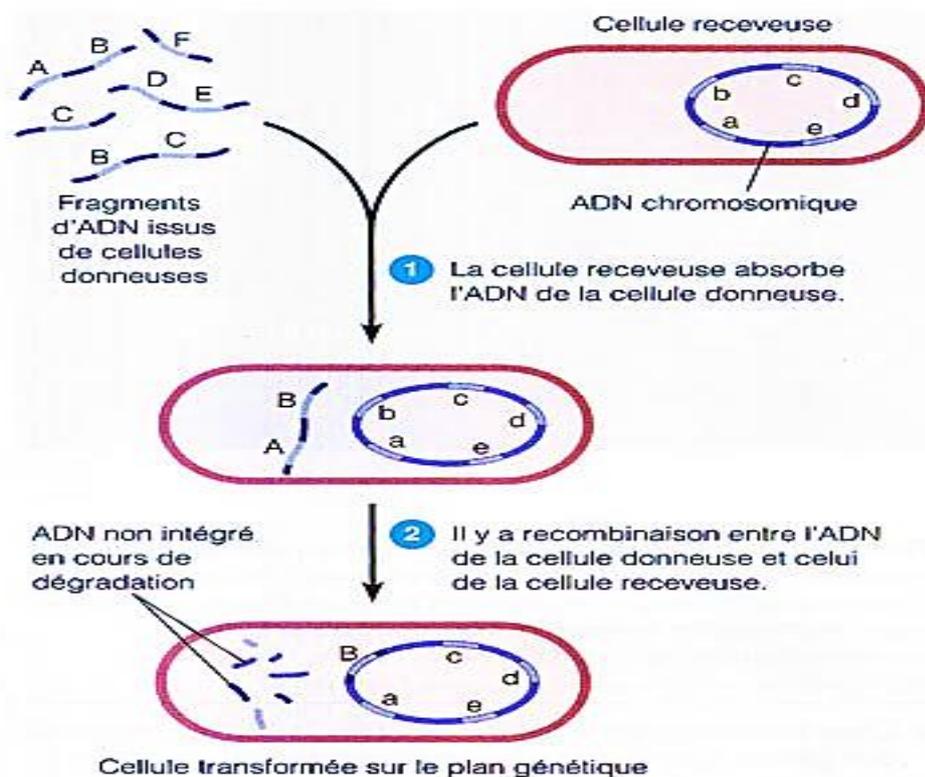
Chez les **gram⁻**, est associé à la présence de petites vésicules membranaires, appelées *transformasomes*, qui font saillie à l'extérieur de la cellule.

-L'ADN transformant : il doit être bi caténaire pour pénétrer dans les bactéries réceptrices. De plus, la taille (5×10^6 pour *Pneucocque*) et, dans certaine mesure, la concentration sont, aussi, importantes.

En général, un seul caractère est transféré au cours de ce phénomène, même si les 2 bactéries sont différentes pour d'autres caractères. Les transformations multiples sont rares.

5.2.2.3 Mécanisme de la transformation

Le mécanisme de la transformation, ici- la transformation naturelle, passe par plusieurs étapes :



-*Fixation* : elle se fait au hasard, la bactérie réceptrice est dotée de sites d'adsorption pour l'ADN transformant. Dans un premier temps, l'adsorption est réversible (sensible à l'action de la désoxyribonucléase). Par la suite, elle devient irréversible.

-*Pénétration* : L'ADN passe dans le cytoplasme des bactéries réceptrices, dont le nombre dépend de la quantité d'ADN capable de saturer les sites récepteurs.

-*Phase d'éclipse* : au cours de laquelle l'ADN subit une profonde modification. Il disparaît sous sa forme initiale, il est ainsi préparé à l'étape suivante.

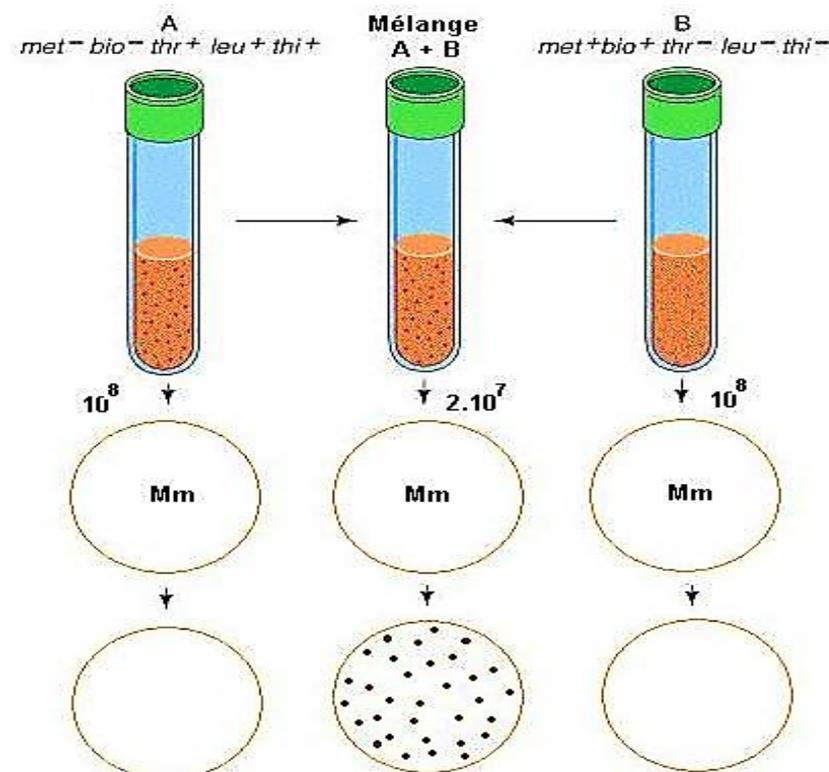
-*Intégration* : L'ADN modifié est, alors, intégré dans le génome de la bactérie réceptrice, qui va acquérir les caractères des gènes transférés.

5.2.3 Conjugaison ou sexualité bactérienne

Ce phénomène a été découvert par Lederberg et Tatum en 1946. Il s'agit d'un transfert de gènes d'une bactérie *donatrice* F^+ vers une bactérie *réceptrice* F^- après un contact physique intime entre les deux bactéries partenaires (figure).

Le génotype de la souche A : $met^- bio^- thr^+ leu^+ thi^+$.

Le génotype de la souche B : $met^+ bio^+ thr^- leu^- thi^-$.



Aucune des deux souches auxotrophes n'est capable de se développer sur milieu minimum. Par contre, lorsqu'on mélange des bactéries des deux souches en milieu liquide et que l'on étale ensuite une partie du mélange sur milieu minimum, on obtient des colonies. Cette expérience suggère qu'il y a eu échange (de A vers B et/ou de B vers A) de matériel génétique entre les deux souches, aboutissant à la formation de cellules " $met^+ bio^+ thr^+ phe^+ thi^+$ ", capables de se développer sur milieu minimum. En effet, il est impossible d'obtenir un tel résultat par le seul jeu des mutations; la fréquence des mutations est très faible, de l'ordre de 10^{-7} (1 mutation pour 10 millions de cellules) pour chaque caractère. Pour observer deux mutations simultanément dans une cellule

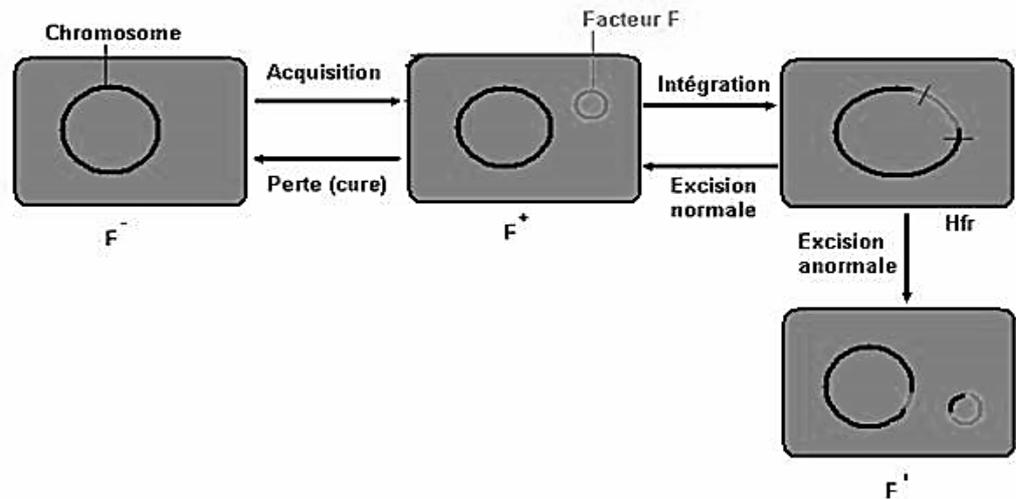
de souche A par exemple, il faudrait étaler au moins 10¹⁴ cellules. D'autres expériences ont permis, par la suite, de démontrer que le transfert génétique est unidirectionnel (polarisé); il se fait toujours de A vers B. En effet, la souche A possède un facteur F (Fertilité) qui la rend capable de donner des gènes. Il s'agit d'un plasmide dit conjugatif, qui porte les gènes responsables de la synthèse des pili sexuels et du transfert des gènes vers la réceptrice. Seules les bactéries possédant un plasmide conjugatif (ex: facteur **F**) sont capables de donner des gènes. Quand on mélange des bactéries donatrices et des bactéries réceptrices, le pilus sexuel reconnaît des sites récepteurs pariétaux de la réceptrice et s'y attache. Ensuite, il se rétracte pour mettre les bactéries en contact. Il se forme alors un pont cytoplasmique par lequel se fait le transfert des gènes (figure).

Hayes en 1953 a montré que ce mécanisme de conjugaison faisait appel à deux bactéries et nécessitait l'établissement entre ces bactéries de pili sexuels. Donc il y a bien la nécessité d'établir un contact via pili sexuel qui permet un échange ou le transfert de matériel génétique plasmidique et non pas chromosomique. Ces pili sexuels permettent de mettre en place des systèmes de sécrétion qui sont à sens unique.

5.2.3.1 Rôles du facteur F et du complexe relaxasome

Dans certaines souches d'*E.coli* il y a un facteur de fertilité épisomal appelé *plasmide sexuel* ou **plasmide F** ; les souches qui portent ce plasmide sont appelés mâles et désignés **F⁺**. Ce sont les souches donatrices. Cependant les souches réceptrices sont dépourvues de ce facteur, est ainsi appelées femelles et désignés par **F⁻**. Le plasmide **F** contient une centaine de gènes dont ceux qui permettent l'établissement d'un pont cytoplasmique de conjugaison appelé *pili sexuel*. La contraction d'un pilus associe deux cellules dans un contact proche.

Le facteur **F** peut rester libre dans le cytoplasme ou s'intégrer dans le chromosome bactérien et se comporter par la suite comme une partie du chromosome. Donc selon l'état du facteur F, on distingue des souches **F⁺**, **F⁻**, **F'** et **Hfr** (**H**aute **f**réquence de **r**ecombinaison) (figure).



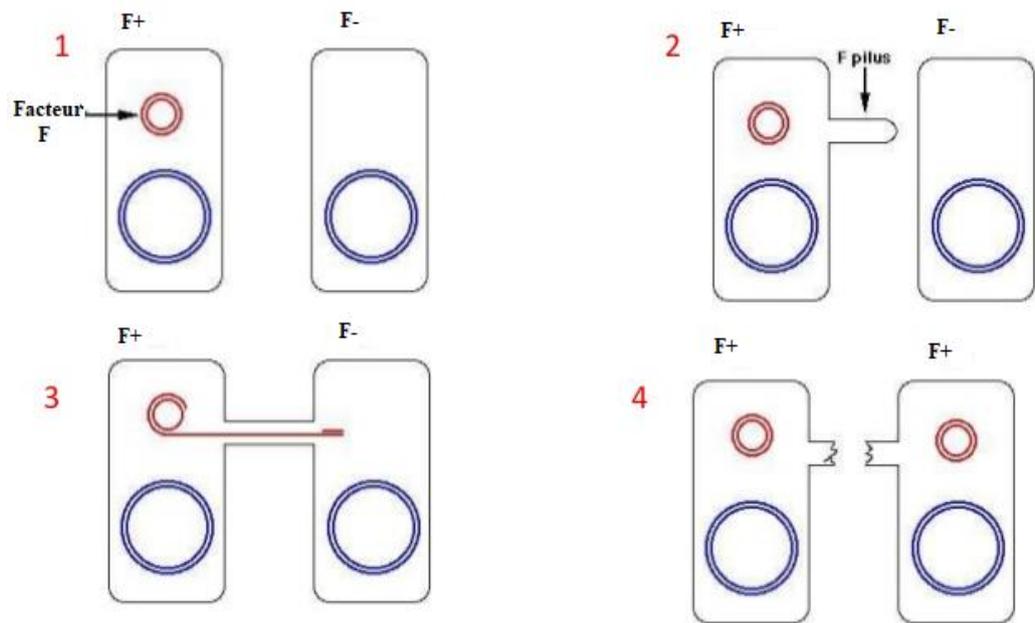
Une fois que le pili sexuel est établi, le complexe relaxasome va d'une part permettre de répliquer le plasmide F puisqu'il y a été clivé au niveau d'une origine particulière ; son origine de transfert (pas au niveau de l'origine de répllication !). D'autre part, il assure le transfert du monobrin qui a été clivé dans l'autre bactérie.

Le relaxasome va aussi dérouler le plasmide et il y aura mise en place d'un complexe réplcatif avec de l'ADN polymérase et un complexe enzymatique : la relaxase. Lorsque l'ADN polymérase va venir répliquer le plasmide ouvert, la relaxase va permettre de transférer le monobrin ouvert du plasmide vers l'autre cellule pendant que le plasmide se réplique pour se retrouver sous sa structure double brin. Au final, on a un brin parental du plasmide de la cellule donneuse qui est transféré dans la cellule receveuse pendant que le plasmide se réplique de façon à rester sous sa structure double brin.

5.2.3.2 Le mécanisme du transfert conjugatif

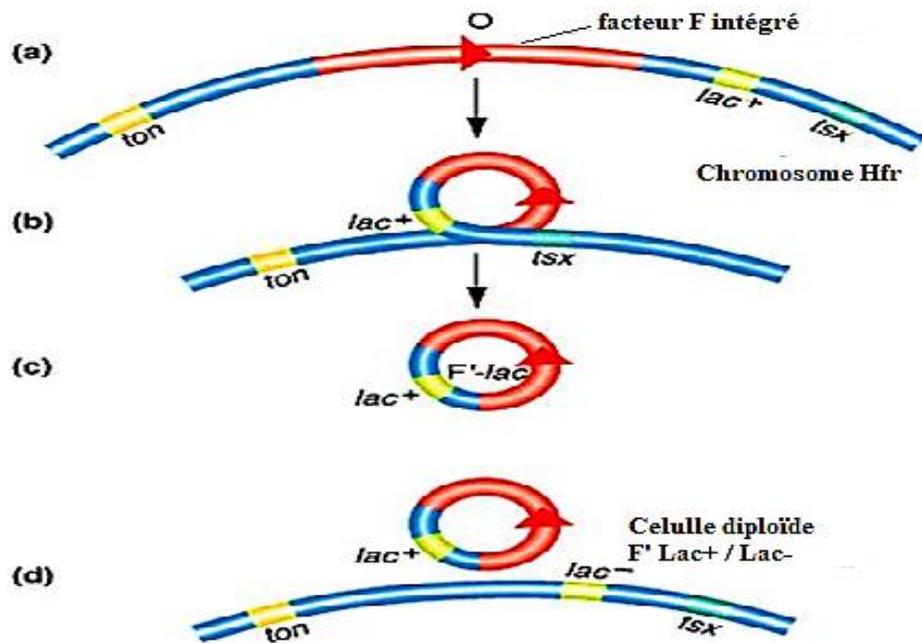
Conjugaison de types F^+ x F^-

Quand une cellule F^+ conjugue avec une cellule F^- , la répllication du plasmide F est initiée. Un des brins du plasmide F est cassé, et la répllication se réalise selon un mécanisme de cercle roulant, ce qui entraîne l'extrémité 5' du brin cassé à rentrer dans la cellule réceptrice à travers les pilis, où il est copié en double brin d'ADN. L'autre brin du plasmide F du donneur est répliqué simultanément ; aussi la cellule donneuse ne perd pas son plasmide (elle reste F^+) et la cellule réceptrice devient aussi F^+ .



Facteur F' et sexduction F' x F'

F' est un facteur F qui contient une partie du chromosome d'*E.coli* ; figure (c). Ceci est souvent le résultat d'une excision imparfaite ; figure (b) d'un facteur F intégré dans le chromosome (d'une souche Hfr) figure (a).



Lors d'une conjugaison F' x F⁻ ; figure (d) le facteur F' est *transmis à haute fréquence* à la bactérie réceptrice qui acquiert avec le plasmide un ou quelques gènes chromosomiques. On peut donc définir la **sexduction** par la transmission de marqueurs chromosomiques bactériens par un facteur F'. Ainsi l'état d'une cellule bactérienne diploïde pour locus sur le facteur F' définit par le terme de la **méroploïdie** ; figure (d).

Formation de Hfr et conjugaison de type Hfr x F⁻

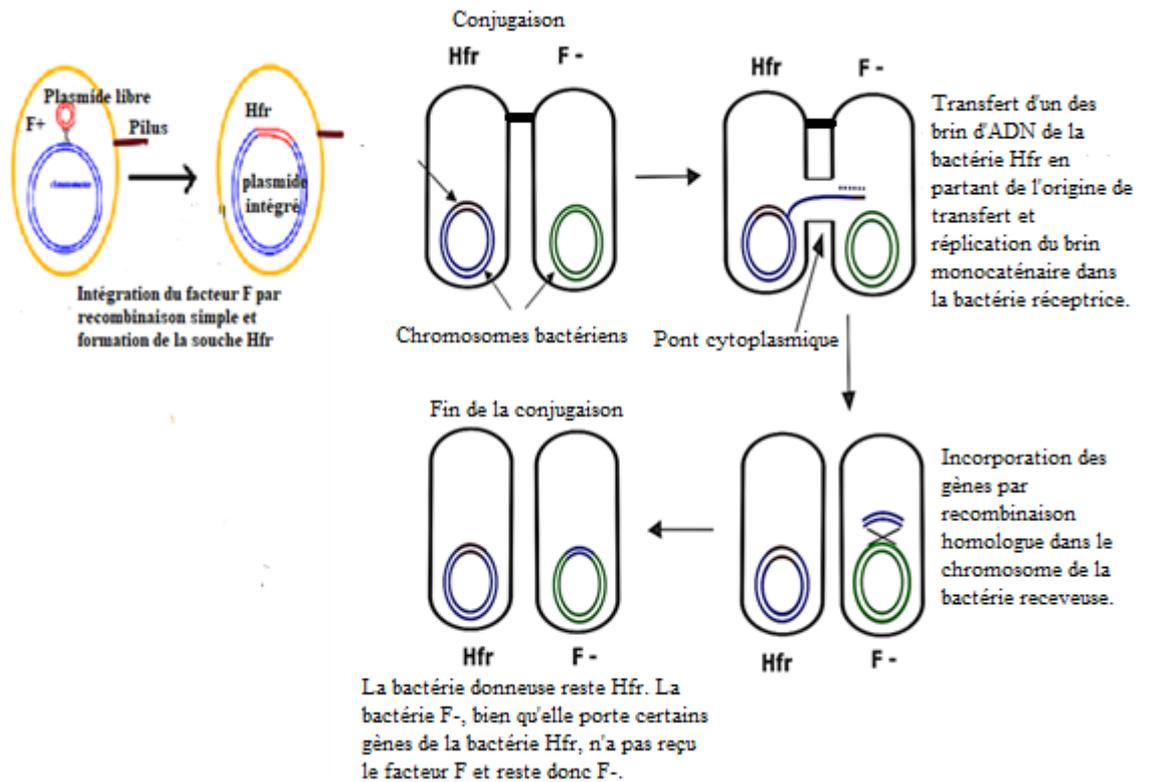
Pour que du matériel chromosomique (génétique) d'une bactérie puisse être transféré vers une autre bactérie, cela passe par la nécessité d'une recombinaison simple du chromosome bactérien avec un plasmide F fertile qui s'est intégré en totalité dans le génome de la bactérie. L'intégrité du facteur F dans le chromosome peut se faire à différents endroits dans différentes orientations.

Donc si on a eu ce mécanisme de *recombinaison simple*, on obtient une bactérie à haute fréquence de recombinaison qui possède tout l'arsenal nécessaire pour faire le pili sexuel et mettre en place le relaxosome et donc toute la machinerie de transfert et une partie du génome bactérien. L'ensemble du chromosome bactérien recombinant se comporte alors comme un plasmide au cours de la conjugaison.

Par la suite, la règle reste toujours la même : le transfert ne pourra se faire qu'entre une souche Hfr et une bactérie non fertile (F⁻). La coupure va venir se faire toujours au niveau de l'origine de transfert par un relaxase et un monobrin va être transféré entraînant avec lui un monobrin provenant du génome de la bactérie.

Cette fois-ci, une partie du plasmide est transférée à partir de son origine de transfert, l'autre partie du plasmide est à l'autre bout donc emmène avec elle un monobrin correspondant au matériel chromosomique de la bactérie.

Après recombinaison, la nouvelle souche bactérienne recombinante n'est pas fertile, elle ne devient jamais F⁺, elle reste toujours F⁻ et ne peut donc pas créer de pili sexuel avec d'autres cellules. Les cellules qui résultent donc de la recombinaison ne deviennent jamais fertiles sauf si elle rencontre un plasmide fertile F⁺ !



Remarque

En fonction des temps de contact et des gènes qui vont être transférés, on aura tout un ensemble de recombinants qui seront différents les uns des autres. Malgré le fait que ces souches Hfr ne transfèrent pas la totalité du facteur de fertilité, elles n'empêchent pas les bactéries d'acquérir de nouvelles caractéristiques. C'est pour ça qu'on les appelle des souches à haute fréquence de recombinaison.

La transformation que va subir la bactérie receveuse va dépendre :

- de la distribution des gènes qu'elle a à proximité de l'origine de transfert.
- du temps qu'elle aura eu pour permettre ce transfert (le temps que le pili est resté).

5.2.4 Transduction

La transduction est le troisième mode de transfert génétique chez les bactéries. Certains phages sont capables de mobiliser des gènes bactériens et de les transporter d'une cellule à une autre. Ce phénomène est appelé transduction. Elle a été découverte par Zindler et Lederberg en 1952.

Il existe deux types de transduction: *généralisée* et *spécialisée*. Dans la transduction généralisée, les phages peuvent transporter *n'importe quelle région* du chromosome alors que dans la transduction spécialisée, les phages transfèrent des *parties bien précises* du chromosome bactérien.

La transduction généralisée, à leur tour, est de deux types :

T. G. complète : le fragment d'ADN transféré s'intègre dans le chromosome de la bactérie réceptrice et sera donc transmis à *toute sa descendance*.

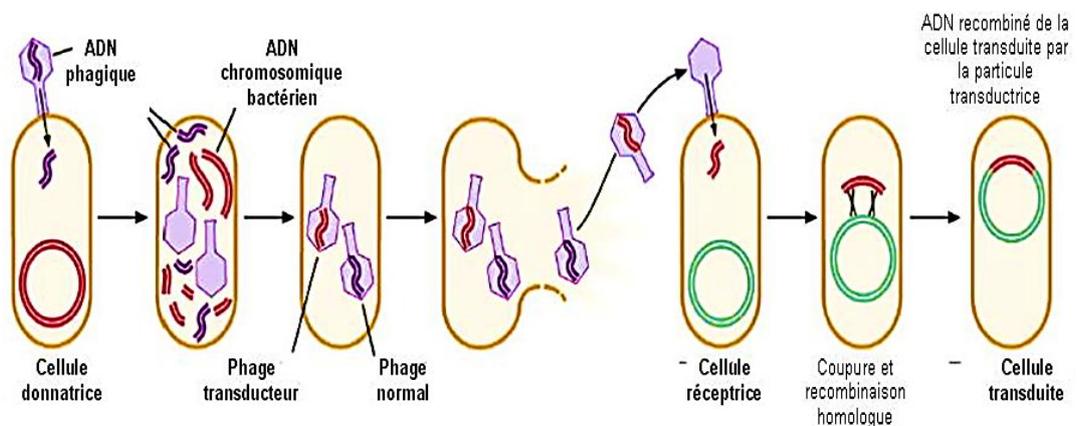
T.G. abortive : L'ADN transféré reste libre dans le cytoplasme de la bactérie réceptrice et ne sera donc transmis qu'à *une seule cellule fille*.

5.2.4.1 Différence entre la conversion et la transduction

La conversion et la transduction sont des phénomènes qui font tous deux intervenir un bactériophage. Mais, dans le premier cas, c'est le génome du bactériophage qui est responsable du nouveau caractère acquis par la bactérie ; dans le second cas, le bactériophage a seulement un rôle de vecteur et le génome transféré provient d'une autre bactérie.

5.2.4.2 Mécanisme de la transduction

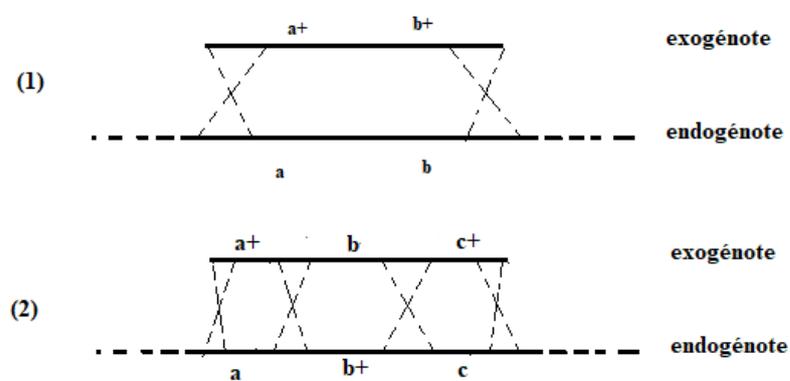
Le mécanisme de transfert de gènes d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice utilise un virus bactérien (bactériophage ou phage), l'infection de la bactérie par un bactériophage conduit à une fragmentation du génome bactérien, ces fragments d'ADN peuvent être encapsidés à la place du génome viral, ces nouveaux phages sont dits *transducteurs*. Ils sont capables, en infectant des bactéries réceptrices, de leur transférer ce fragment de génome bactérien qui peut alors remplacer une partie ou la totalité du chromosome bactérien.



5.3 Cartographie par recombinaison chez les bactéries

Tous les mécanismes permettant la recombinaison chez les bactéries n'impliquent qu'un transfert partiel de matériel (*méromyxie*) et non le transfert entier. Selon la longueur du fragment transmis au cours de la conjugaison, un ou plusieurs gènes peuvent s'intégrer dans le chromosome de la bactérie receveuse. Pour se répliquer et être transmis à toutes les cellules d'un clone, les exogénètes doivent habituellement s'intégrer au chromosome de la receveuse. Par transformation ou transduction, seul un petit segment d'ADN est intégré. Par conséquent, si une cellule est transformée pour deux marqueurs génétiques par le même fragment d'ADN transformant (*double transformation*), ce signifie que les deux loci sont étroitement liés. De la même façon, la transduction simultanée de deux gènes par même phage transducteur (*co-transduction*) signifie que les deux gènes sont très liés. Le degré de liaison entre gènes –gènes (*liaison intracistronique*) peut donc être estimé à partir des résultats de croisements spécifiques.

Dans les systèmes mérozygotiques où la contribution génétique du parent donneur est incomplète, un nombre pair de crossing-over est nécessaire pour que l'exogénète puisse s'intégrer dans le chromosome de l'hôte (endogénète).



Exemple: (1) Des recombinants prototrophes doivent intégrer l'exogénète d'un endroit à gauche du locus a à un endroit à droite du locus b . Deux crossing-over (nombre pair) sont donc nécessaires.

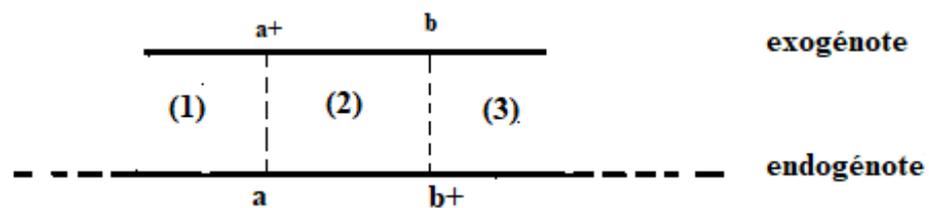
(2) L'obtention d'un recombinant prototrophe exige l'intégration de tous les gènes sauvages, pour cela quatre crossing-over sont nécessaires (nombre paire).

Dans le système mérozygotes, on ne connaît pas le nombre total de descendants, on ne peut donc pas se référer à ce nombre pour calculer la fréquence de recombinaison, une autre référence commune à tous les croisements, est donc nécessaire : *Le nombre de colonie*. On peut comparer, par exemple, ce nombre pour les recombinants prototrophes issus d'un croisement entre deux souches

mutantes à celui qui caractérise les descendants issus d'un croisement entre la souche sauvage et l'un des mutants. Mais il existe encore de nombreuses sources d'erreurs possibles car on compare des résultats de croisements différents. On peut contourner cette difficulté en comparant le nombre de colonies de recombinants prototrophes au nombre de colonies d'un autre type de recombinants issus du même croisement.

5.3.1 Estimation de la distance entre deux gènes différents

Soit deux souches mutantes a et b, la souche donneuse (a^+b) peut pousser sur milieu minimum supplémenté avec la substance B, la souche receveuse (ab^+) ne le peut pas.

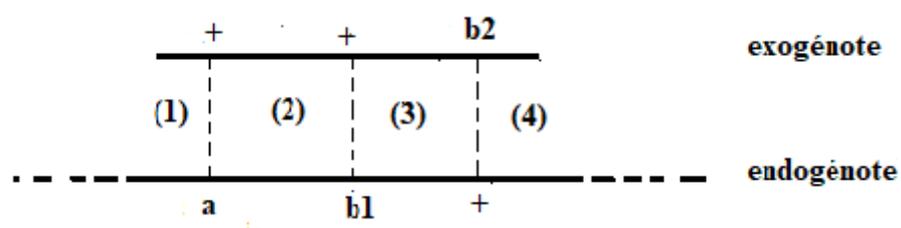


Un double crossing-over dans les régions (1) et (2) donne des recombinants prototrophes (a^+b^+) capable de pousser sur un milieu non supplémenté. Si le milieu contient la substance B, les recombinants a^+b résultant d'un double crossing-over dans la région (1) et (3) peuvent également pousser en plus des prototrophes a^+b^+ .

$$\text{Fréquence standard de recombinaison} = \frac{\text{nombre de colonies de prototrophes}}{\text{nombre de colonies de recombinants}}$$

5.3.2 Estimation de la distance entre deux mutations intracistroniques

Soit deux mutations intracistroniques b_1 et b_2 : Les souches mutantes ne peuvent pas pousser sur un milieu non supplémenté avec une substance B. La souche receveuse porte en plus une autre mutation a localisée dans un gène différent, lié ou non au gène b : cette souche ne peut donc pousser que sur un milieu qui contient à la fois les deux substances A et B.



Seuls les prototrophes issus d'un crossing-over dans la région (1) et d'un crossing-over dans la région (3) pourront pousser sur milieu minimum. Sur un milieu contenant la substance B, les recombinants issus d'un crossing-over dans la région (1) et d'un crossing-over situé dans l'une des trois autres régions (2, 3 ou 4) pourront également pousser.

$$\text{Fréquence standard de recombinaison} = \frac{\text{nombre de colonies sur milieu minimum}}{\text{nombre de colonies sur milieu supplémenté avec B}}$$

5.4 Génétique des virus

5.4.1 Caractéristiques des virus

Les virus présentent un certain nombre de différences caractéristiques avec les organismes cellulaires :

- (1) Un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) alors que les cellules disposent des deux ;
- (2) Incapacité de synthétiser des protéines (ils ne contiennent pas des ribosomes), d'exploiter leur propre source d'énergie chimique (pas de métabolisme), de former leur propre ATP (pas de système de cytochromes) ;
- (3) Pas de membrane externe à couche lipoprotéique, ni d'organites limités par une membrane, à l'exception de l'enveloppe partiellement empruntée à l'hôte ;
- (4) Insensibilité aux concentrations d'antibiotiques qui ne sont pas toxiques pour les cellules ;
- (5) Sensibilité à certaines protéines produites par la cellule hôte lorsqu'il s'agit de vertébrés supérieurs (les interférons qui « interfèrent » avec la réplication virale, mais sont sans effet sur la fixation du virus ou sur son entrée dans la cellule hôte) ;
- (6) Aucune mobilité, à part les effets mécaniques de la diffusion ;
- (7) Pas de « crossing-over » au sens classique d'augmentation de la masse (une fois le virion formé, sa taille ne change pas).

Divers aspects phénotypiques sont utilisés pour la classification des virus : type de l'acide nucléique (ARN ou ADN), forme de cet acide nucléique (simple ou double chaîne), masse moléculaire, composition moléculaire en base (contenu G+C), symétrie (cubique, hélicoïdale ou complexe), présence ou absence de transcriptase réserve (ADN polymérase ARN-dépendante) chez certains virus à

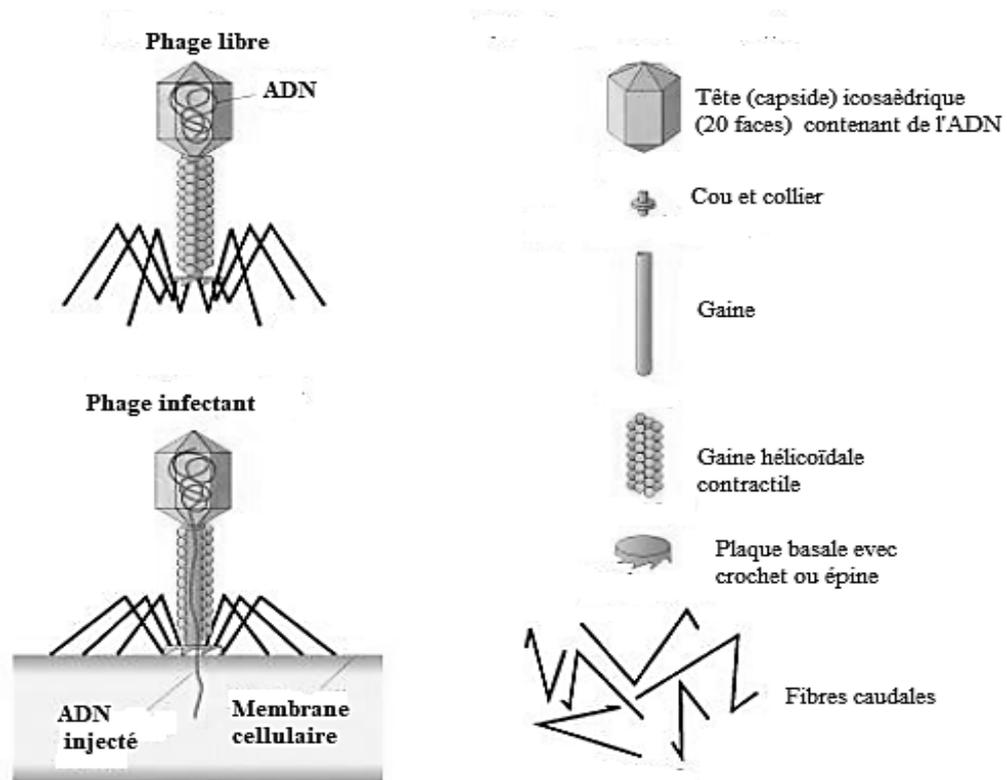
ARN, composition antigénique (activité sérologique), propriétés hémagglutinantes, nature de l'hôte (espèces infectées).

5.4.2 Structure génique et réplication de virus

Les virus sont des éléments réplicatifs beaucoup plus petits que les bactéries et les plus grands sont à peine visibles au microscope optique. Leur génome peut être composé soit d'ARN, soit d'ADN. Les virus sont fortement dépendants du métabolisme cellulaire. Dans la cellule qu'ils infectent ils répliquent séparément leur génome et leurs composants protéiques ; ceux-ci seront ensuite assemblés, donnant des milliers de particules en une génération. Les virus reconnaîtront spécifiquement un ou quelques types de cellules et sont à cause de cela assez spécifiques d'organismes hôtes. En général, tout virus doit obligatoirement synthétiser des ARN messagers (ARNm) qui peuvent être traduits en protéine par les ribosomes de la cellule hôte. Tout virus doit répliquer son génome. Les enzymes de l'hôte impliquées dans la synthèse de l'ARNm et dans la réplication de l'ADN sont nucléaires (à l'exception de celles de la mitochondrie). Ainsi, si un virus "veut" exploiter ces enzymes, il doit pénétrer dans le noyau.

5.4.3 La génétique et la multiplication des bactériophages

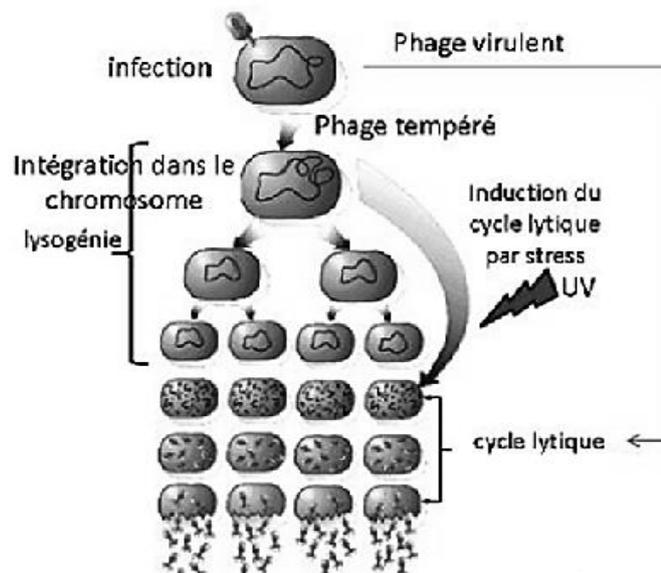
La plupart des bactéries sont sensibles à l'attaque par des bactériophages. Un phage se compose d'un «chromosome» d'acide nucléique (ADN ou ARN), entouré d'une paroi de protéines. Le reste du corps du bactériophage est constitué d'une queue (fibre caudale qui lui permet de s'accrocher) qui va permettre d'injecter du matériel génétique à la bactérie. En temps normal, le bactériophage veut injecter son propre matériel génétique pour se répliquer. Mais, dans cette capsid, lors de l'empaquetage des bactériophages, il peut y avoir de l'ADN bactérien qui pourra s'intégrer à la place de l'ADN du bactériophage. La capsid servira alors de véhicule pour le transport de matériel génétique d'une bactérie à une autre.



Il existe de cycles de multiplication des phages :

-*cycle lytique* : grâce à sa plaque terminale le phage se fixe au niveau de la paroi bactérienne sur des récepteurs spécifiques. Après fixation irréversible, la gaine se contracte, le canal axial pénètre dans le cytoplasme bactérien. Par la suite, l'acide nucléique du phage est injecté dans la bactérie hôte.

Dans le cytoplasme, le phage utilise les constituants bactériens, en plus de ses propres enzymes, pour synthétiser les différents constituants phagiques. Il synthétise aussi un lysosome qui provoque la perforation de la paroi puis la lyse bactérienne. Les phages, ainsi, libérés vont infecter d'autres bactéries et le cycle reprend.



-*Cycle non lytique ou lysogénique* : Dans ce cas il n'y a pas de cycle de multiplication. L'ADN du phage s'intègre dans le chromosome de la bactérie qui va le répliquer au même titre que son propre génome (prophage). Néanmoins, le cycle lytique peut reprendre sous l'influence de facteurs externes, comme par exemple l'irradiation par les UV ou les RX.

5.4.4 Infection mixte chez les virus

Les mécanismes principaux qui entraînent des modifications génétiques chez les virus sont la *mutation*, la *recombinaison* et une variante de celle-ci, le *réassortiment*. Par ailleurs, au cours de leur évolution, des virus peuvent perdre certains éléments génétiques (délétion) ou au contraire en acquérir, par exemple à partir d'une cellule (insertion). Des phénomènes d'*inversion* et de *répétition* de certains fragments génomiques participent également à l'évolution des virus.

On appelle une infection mixte, l'infection de deux virus semblable de la même cellule hôte. Si chacun des deux virus aide l'autre de se multiplier dans la cellule hôte par la fourniture d'un produit, qu'il a besoin, on parle ici de la *complémentation*. Mais s'il y a la présence d'une forme *recombinante* dans la cellule hôte qui est produite par l'échange des gènes entre les virus parentaux, on parle ici de la recombinaison par *réassortiment génétique*.

5.4.4.1 Complémentation

Le seul moyen d'observer la complémentation consiste à réaliser l'infection mixte de deux phages dans des conditions restrictives pour chaque souche virale. On choisira une souche de bactéries dans laquelle chacun des 2 types de phage est incapable de se multiplier seul. Par exemple, dans le cas de deux phages thermosensibles, on incubera les bactéries infectées doublement à 42 °C au lieu de 37 °C.

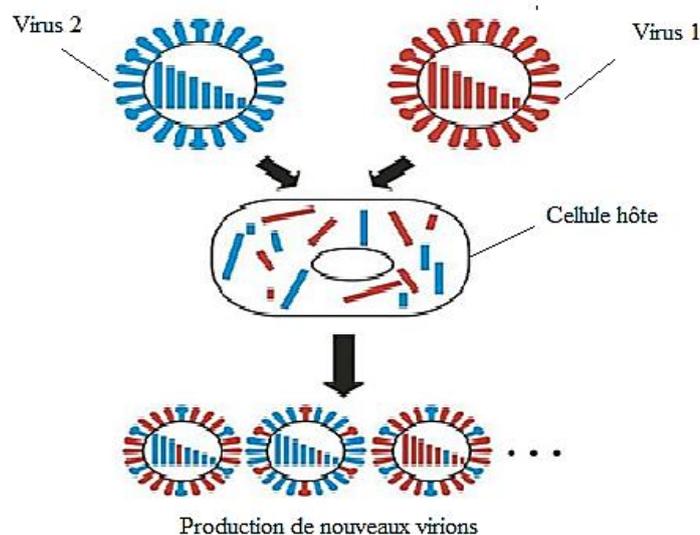
L'observation d'une récolte indique alors que, bien que chaque mutant soit incapable d'assurer seul son développement complet, il fournit à l'autre un produit qui lui manque et on doit donc obtenir une récolte composée des 2 types de mutants.

5.4.4.2 Réassortiments génétiques cas de virus de la grippe

Le réassortiment génétique est un échange de segments d'ARN entre deux virus lors d'une infection mixte, c'est-à-dire lorsqu'une même cellule hôte est infectée par deux virus différents. Le réassortiment peut survenir lorsque le génome du

virus est segmenté, comme cela est le cas dans le virus de la grippe, influenza. Lorsque deux virus différents se répliquent dans une même cellule hôte, l'incorporation des segments génomiques dans les particules virales nouvellement formées est aléatoire (Figure). Elle conduit à la production de nouveaux virions dont génome contient des segments d'ARN qui proviennent des deux virus parentaux. Ce processus évolutif est brutal.

D'un point de vue épidémiologique, les réassortiments génétiques qui impliquent les gènes de l'hémagglutinine (HA) et de la neuramidase (NA) sont à l'origine d'une cassure antigénique, qui conduit à des pandémies de grippe.



La cassure antigénique est l'introduction dans la population humaine d'un virus portant une HA et/ou une NA d'un sous-type nouveau. Il n'y a plus de réactivité antigénique croisée avec les virus antérieurs, l'ensemble de la population humaine est sensible à ce nouveau virus, qui peut donc initier une pandémie.

Le virus *influenza A* est à l'origine un virus d'oiseaux aquatiques et dans ces espèces de nombreux types différents de ce virus sont présents. Dans de rares cas, des infections mixtes peuvent survenir en impliquant par exemple un virus d'oiseau et un virus humain. Lorsque cela survient, les segments des virus, qui sont au nombre de huit, peuvent se mélanger et donner lieu à de nombreux variants. Les virus issus de ces infections mixtes présentent des combinaisons variées de segments provenant des deux virus d'origine (voir figure) (théoriquement $2^8 = 256$ possibilités de combinaisons). Il est possible qu'un de ces nouveaux virus soit particulièrement adapté à l'hôte humain et donne lieu à

ce qu'on appelle une pandémie grippale, c.à.d. une expansion rapide du virus dans la population humaine non immune à ce nouveau virus. Des réassortiments avec des conséquences moins importantes existent également : récemment on a décrit un virus influenza A H1N2 (hémagglutinine 1, neuraminidase 2) qui est un virus réassorti à partir des deux types circulant d'influenza A, H1N1 et H3N2.

6 CHAPITRE : SYNTHÈSE PROTÉIQUE

Chaque individu présente un ensemble de caractères qui correspondent à son phénotype. Ces caractères sont le produit de l'expression du matériel génétique puisqu'ils sont transmissibles à travers les générations. L'expression de ces caractères revient à la présence de protéines spécifiques (c'est -à- dire à un arrangement spécifique en acides aminés). Plusieurs expériences telles que l'utilisation d'acides aminés radioactifs ont montré que la synthèse des protéines se fait dans le cytoplasme alors que l'information génétique est localisée dans le noyau. Ces observations ont laissé comprendre que la synthèse protéique ne se fait pas directement à partir de la molécule d'ADN d'où la nécessité d'un intermédiaire capable de se déplacer entre le noyau et le cytoplasme pour transporter l'information génétique jusqu'à la machine de synthèse protéique. Cet intermédiaire est l'ARN messenger. Donc la synthèse des protéines comprend deux étapes importantes : la transcription et la traduction.

6.1 *Transcription*

La transcription est le processus de copie du matériel génétique (ADN ou ARN) en ARN. Chez les procaryotes une seule *ARN polymérase-ADN dépendante* effectue la transcription pour tous les types d'ARN, tandis que chez les eucaryotes, trois *ARN polymérases* (ARNpol) interviennent : *l'ARNpol I ou A* pour les ARN ribosomiques transcrits dans le nucléole (28S, 18S et 5,8S), *l'ARNpol II ou B* pour les ARNm, et *l'ARNpol III ou C* pour les petits ARN (ARNt, ARNr 5S, ARNsn). Pour certains virus à ARN enfin, l'ARN est transcrit par une ARNpol-ARN dépendante appelée aussi *réplicase*.

La synthèse d'un ARNm s'effectue dans le sens 5'---3', de façon antiparallèle et complémentaire (par rapport au brin d'ADN transcrit). Contrairement au démarrage de la synthèse de l'ADN, le démarrage de la synthèse de l'ARN ne nécessite pas d'amorce.

6.1.1 Les éléments nécessaires de la transcription

Pour synthétiser *in vivo* un ARNm, il faut que soient présents en particulier :

-*Des nucléotides* : doivent contenir les bases A, G, C, et U qui remplace le T dans l'ADN, et que le ribose remplace le désoxyribose. Les 4 types de nucléotides doivent être sous forme de triphosphates (ATP, GTP, CTP et UTP) ;

-*L'enzyme* : l'ARN polymérase est l'enzyme qui permet de souder les nucléotides les uns aux autres pour former ce polymère qu'est l'ARNm ;

-*Un modèle ADN* : Pour fabriquer un ARNm, il est indispensable de disposer d'un ADN comme modèle parce que l'ARNm étant une copie complémentaire et antiparallèle d'ADN transcrit.

6.1.2 Mécanisme simplifié de la transcription

Lors de la transcription d'un gène, la molécule d'ADN « s'ouvre », au niveau de ce gène, par rupture des liaisons hydrogène entre les bases complémentaires des deux brins.

La synthèse d'une molécule d'ARN m s'effectue au contact d'un des deux brins de l'ADN, appelé brin transcrit, par assemblage de nucléotides libres dans le noyau suivant un ordre précis imposé par la complémentarité des bases entre l'ARN m et le brin d'ADN.

Les règles d'appariement des bases de l'ARN m et du brin transcrit de l'ADN sont pratiquement similaires à celles qui régissent l'appariement des deux brins d'ADN. La différence réside dans le fait que le nucléotide à base U de l'ARN m s'apparie avec le nucléotide à base A de l'ADN.

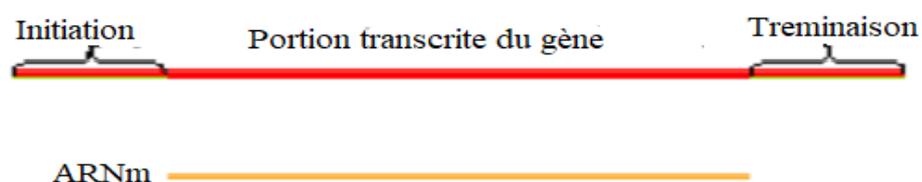
Lorsqu'une molécule d'ARN m est formée, elle se sépare de l'ADN et quitte le noyau par les pores présents au niveau de la membrane nucléaire.

L'ARN polymérase est un complexe enzymatique qui catalyse la transcription de l'ADN en ARN m. L'ARN polymérase reconnaît sur l'ADN les séquences de nucléotides qui signalent le début et la fin de la transcription ; appelées promoteurs. La synthèse d'ARN consomme de l'énergie et déroule en trois étapes : initiation, élongation et terminaison.

6.1.3 Cas du gène procaryote

L'observation du gène procaryote laisse constater que l'ARNm synthétisé est directement utilisé pour la synthèse protéique. Donc, chez les procaryotes, l'ARNm correspond nucléotide par nucléotide à la portion transcrite du gène.

Seul un des 2 brins d'ADN est transcrit à la fois mais les produits de transcription peuvent provenir d'un des 2 brins ou des 2 brins.



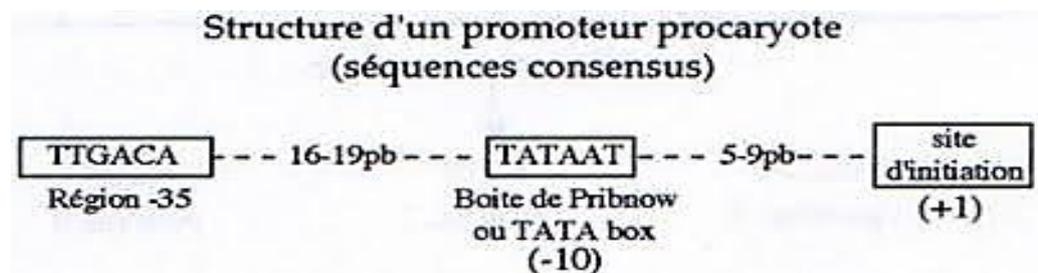
Transcription chez les procaryote

Le point de départ de la transcription est le nucléotide numéro +1, c'est la paire de base qui correspond au premier nucléotide de l'ARN. Le point de départ fait partie du promoteur. Il existe 2 séquences consensus en amont du point de départ :

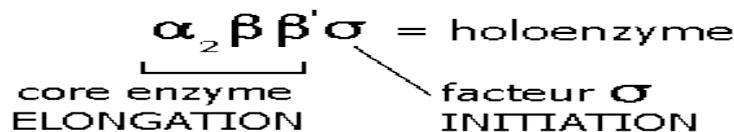
-Séquence -10 ou encore TATA box (car riche en A et T) ou pribnow ;

-Séquence -35

Ces 2 séquences sont séparées par 17 paires de bases, ce nombre est important car il est conservé au travers des espèces.

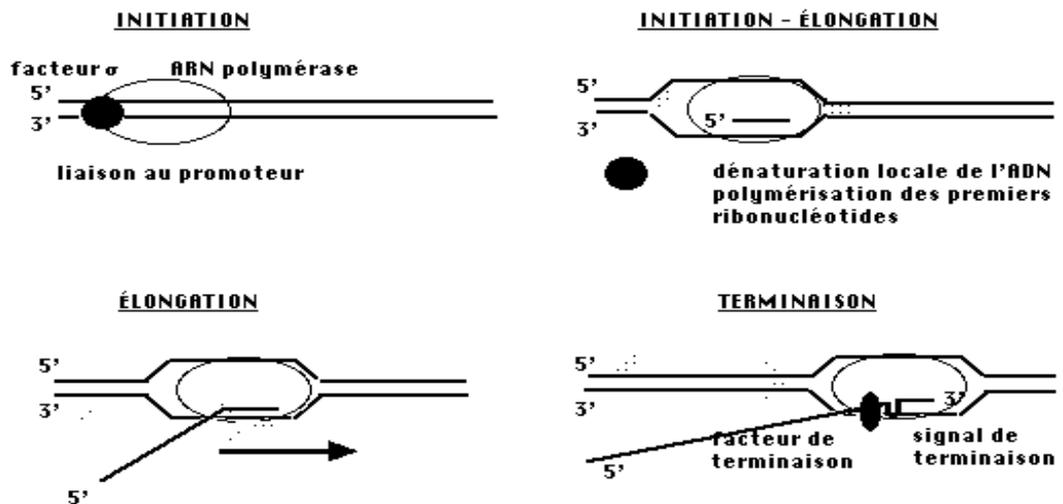


Les procaryotes possèdent un seul ARN polymérase, mais celle-ci est constituée de plusieurs sous-unités :



Sous unite	Fonction
β	se charge de la fixation de nucléosides tri-phosphates
β'	se charge de la fixation de la matrice
α	reconnaissance probable des promoteurs
σ	reconnait les promoteurs "forts"

Ce holoenzyme se charge de la synthèse d'ARNt, ARNr et ARNm ou indifféremment. L'holoenzyme se lie à l'ADN sur des sites de fixation spécifiques (promoteurs) et entraîne l'ouverture de l'ADN à ce niveau. La synthèse de l'ARN avec comme matrice un des 2 brins d'ADN peut commencer. Très rapidement le facteur sigma se détache, car il a une forte affinité pour ce site, s'il reste la phase d'élongation ne se fait pas.



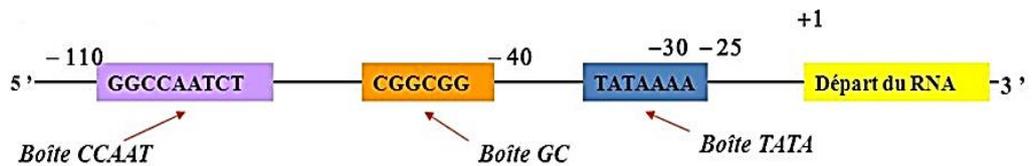
La terminaison de la transcription chez les procaryotes peut se faire de 2 façons : spontanément c'est-à-dire la terminaison indépendante du facteur de terminaison rho et la terminaison dépendante du facteur rho.

6.1.4 Cas du gène eucaryote

Chez les procaryotes il n'y a pas vraiment de noyau, alors que chez les eucaryotes il est très clairement défini. Ainsi les procaryotes peuvent coupler transcription et traduction, mais les eucaryotes non. La transcription chez les eucaryotes se passe dans le noyau et la traduction se fera dans le cytoplasme.

Le promoteur des eucaryotes correspond à une région non transcrite de l'ADN, généralement juste en amont du début de la région transcrite, dont la séquence permet le recrutement de l'ARN pol II. Certaines séquences du promoteur (surnommées "boîtes") ont une importance particulière dans ce processus, essentiellement parce que ces séquences sont reconnues spécifiquement par différentes protéines appartenant au complexe d'initiation de la transcription. On trouve :

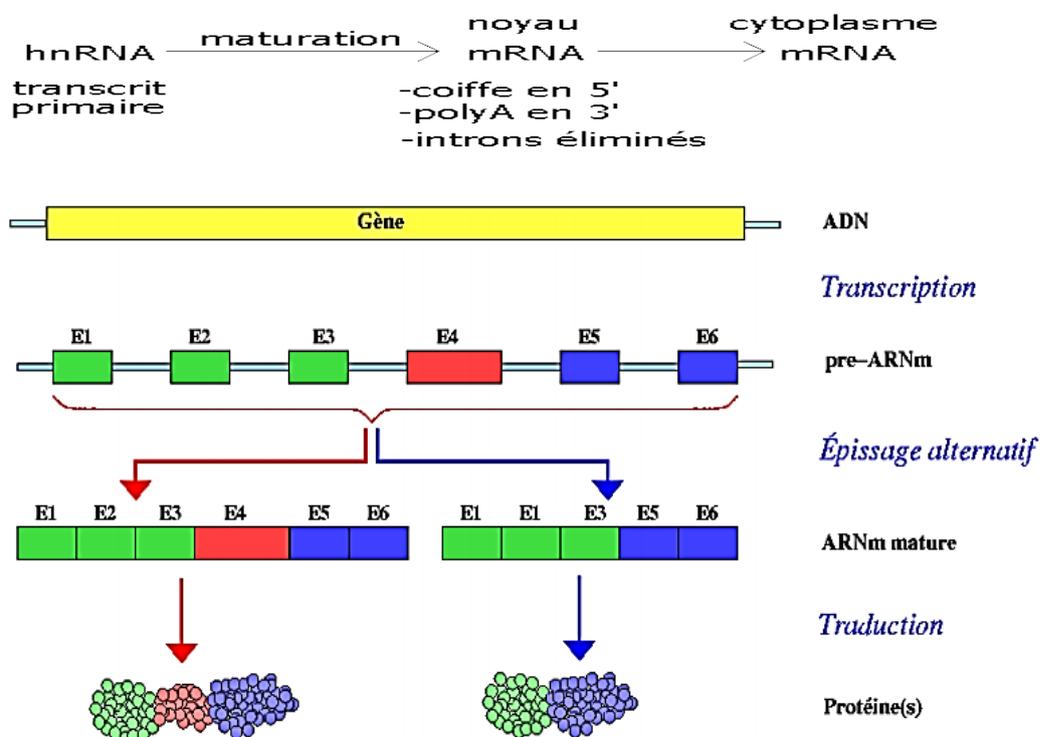
- La "boîte TATA" riche en thymine et adénine, la plus importante, est située vers -25 à -30 nt du site de démarrage de la transcription (noté +1);
- Des éléments proximaux : la "boîte CAAT" (facultative), contenant de la cytosine, est située vers -120 à -80 nt du site de démarrage de la transcription. La "boîte GC" (facultative également), riche en guanine et cytosine, peut être présente entre la boîte CAAT et la boîte TATA.



Dans le cas des eucaryotes le gène est formé de deux catégories de séquences nucléotidiques:

- *Les exons:* qui correspondent aux séquences codantes et se trouvent sous forme complémentaire dans l'ARNm exporté vers le cytoplasme.
- *Les introns:* qui correspondent à des séquences non codantes, insérées entre les exons et qui n'ont pas de complémentaires dans l'ARNm utilisé pour la synthèse protéique.

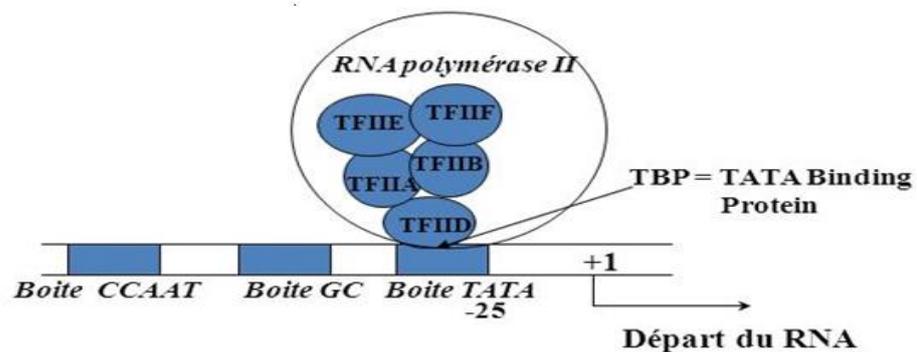
Le gène eucaryote est, ainsi, dit morcelé ou en mosaïque. Suite à cette structure, la transcription du gène eucaryote se fait en deux phases: d'abord le gène est transcrit en sa totalité (exons et introns) pour donner un premier ARN dit ARN pré-messager. Puis, au niveau même du noyau, l'ARN pré-messager subit une excision des parties correspondantes aux introns et un épissage des parties correspondantes aux exons pour donner, en fin, l'ARNm mature (en ajoutant une coiffe en 5' et un poly A en 3') qui sera transféré vers le cytoplasme.



La formation des ARN se fait grâce à 3 ARN polymérase ADN dépendante :

ARN pol I	dans le nucléole	environ 60% des ARN cellulaire
ARN pol II	dans le nucléoplasme	environ 30% des ARN cellulaire (synthèse des hnRNA)
ARN pol III	dans le nucléoplasme	environ 10% des ARN cellulaire tRNA et RNA 5s

Contrairement à ce qui se passe chez les procaryotes, l'ARNpol II des eucaryotes ne reconnaît pas seul le promoteur proximal. Elle effectue ce travail en compagnie de nombreux co-facteurs protéiques qui se recrutent les uns les autres et qui forment avec elle un complexe d'initiation. Ces facteurs sont notés TFIIA, TFIIB, etc... TF pour Transcription Factor for RNA polymerase II. Ils correspondent aux facteurs généraux de la transcription car ils s'assemblent sur tous les promoteurs utilisés par l'ARNpol II. La séquence d'assemblage du complexe d'initiation est décrite sur la figure suivante.



Formation du complexe d'initiation chez les eucaryotes

La TBP (TATA box-Binding Protein) est la première protéine qui reconnaît une séquence spécifique de l'ADN initiatrice de la transcription (la boîte TATA). Le facteur TFIIB semble impliqué dans la sélection précise du site d'initiation (nucléotide à partir duquel se déroule la transcription). Le facteur TFIID comporte plusieurs activités enzymatiques dont une activité hélicase permettant l'ouverture de la double hélice d'ADN au niveau du promoteur, et une activité kinase responsable de la phosphorylation de la queue C-terminale de l'ARNpolymérase II. Cette phosphorylation entraîne une modification de la structure tridimensionnelle de l'ARNpolymérase entraînant la dissociation du complexe d'initiation et le début de la transcription.

Une fois l'ARN pol II s'éloigne du promoteur, la chaîne ARN s'allonge et adopte une nouvelle structure en s'associant avec de nouvelles protéines ; facteur d'élongation. La terminaison chez les eucaryotes est moins bien connue : elle est associée à la maturation de l'ARN.

6.2 Traduction

6.2.1 Code génétique

La notion de code génétique s'est imposée après qu'il fut établi en 1944 que l'ADN était le support chimique de l'hérédité et en 1953 que sa structure linéaire en double hélice portait sous une forme encore inconnue les instructions génétiques assurant leur transmission de génération en génération.

6.2.2 Comment 4 bases peuvent-elles donc coder 20 acides aminés?

Trois possibilités peuvent être envisagées:

- 1^{er} possibilité: code à 1 lettre : $4^1 = 4$

U signifierait acide aminé n°1

C signifierait acide aminé n°2, etc.

Ce système ne pourrait alors coder que 4 acides aminés.

- 2^e possibilité: code à 2 lettres : $4^2 = 16$

UU signifierait acide aminé n°1

UC signifierait acide aminé n°2, etc.

Ce système ne pourrait alors coder que 16 acides aminés. Cette possibilité n'est donc pas satisfaisante non plus.

- 3^e possibilité: Code à 3 lettres: $4^3 = 64$

UUU signifierait acide aminé n°1

UUC signifierait acide aminé n°2, etc.

Ce système peut coder 64 acides aminés, ce qui cette fois largement suffisant.

Cette hypothèse a été confirmée par l'expérimentation. Nirenberg et Matthaei en 1961 ont tout d'abord synthétisé des poly ribonucléotides monotone tels que poly U et fourni les conditions suffisantes pour leur traduction *in vitro*. Le polypeptide obtenu est une poly phénylalanine ce qui attestait que le triplet UUU était attribuable au codon de la phénylalanine. La même expérience répétée révélant par la suite que les triplets AAA et CCC codaient donc respectivement la lysine et la proline. Ces expériences et d'autres utilisant des polymères avec 3 ou 4 nucléotides ont finalement permis d'établir le code génétique dans son intégralité (annexe).

Un code à 3 lettres, cela veut donc dire que 3 nucléotides (ensemble également appelé « **triplet** » ou « **codon** ») portés sur l'ARNm seront traduits pour positionner un acide aminé.

6.2.3 Dégénérescence et universalité du code génétique

Le code génétique est la correspondance entre la matrice nucléotidique et les acides aminés (voir annexe). Le code est lu sur l'ARN messager dans le sens 5'—3'. Le code génétique est bien un code à triplets et 61 des 64 combinaisons différentes de trois nucléotides (bases) spécifient les 20 aminoacides. Un même aminoacide possède donc plusieurs codons. Pour cette raison, on dit que le code génétique est *dégénéré*. Quelle que soit la cellule considérée les acides aminés sont codés par les mêmes codons, on dit que le code est *universel*. Il existe cependant quelques exceptions découvertes notamment dans la synthèse protéique mitochondriale. Ainsi UGA n'est pas un codon « stop » mais spécifie le tryptophane. La méthionine peut être codée par AUG ou AUA. Chez la mitochondrie de Mammifère, AGG et AGA ne sont pas des codons de l'arginine mais des codons « stop » comme UAA et UAG. Chez la mitochondrie de drosophile AGG et AGA sont des codons spécifiant la sérine et non l'arginine. Enfin d'autres exceptions au code génétique sont également présentes chez certaines bactéries et eucaryotes unicellulaires.

Remarque

Cette caractéristique permet le transfert de gènes d'une espèce à l'autre, ce qu'on appelle le génie génétique ; par exemple : introduction des gènes dans une bactérie ou dans un organisme pluricellulaire.

6.3 Traduction des ARN messagers

La traduction c'est le mécanisme par lequel le flux d'information va passer de la forme acide nucléique ARN (alphabet à 4 lettres) à la forme protéine (alphabet à 20 lettres) selon un code universel (voir annexe).

6.3.1 Les principaux éléments de la traduction

Pour synthétiser la protéine, il faut:

ARNm : qui porte l'information ;

Ribosome : est la machine à assembler les acides aminés en protéines ;

Acides aminés : qui sont les pièces de construction ;

Les ARNt : qui sont des molécules qui transportent les acides aminés au ribosome.

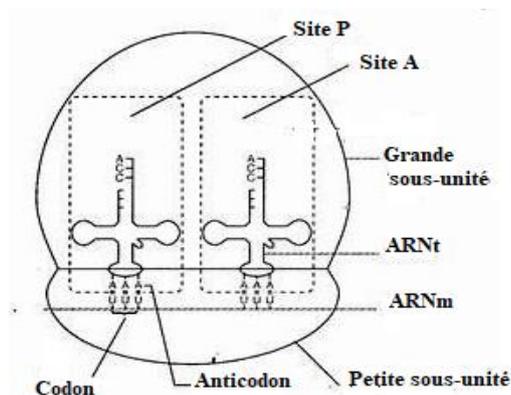
6.3.1.1 Les ARN messagers (ARNm)

La séquence complète d'un ARNm a généralement une taille supérieure à la partie qui sera effectivement traduite en séquence protéique. Le terme cadre ouvert de lecture (Open Reading Frame) ORF ou séquence codante désigne le segment d'ARN qui est traduit. Chaque séquence codante est délimitée par un codon de démarrage AUG et un codon de terminaison de la traduction qui est l'un des trois codons d'arrêt, UAG, UGA, UAA. La plupart des ARNm eucaryotes comportent un seul ORF ; ils sont de ce fait dits *monocistroniques*. Les ARNm procaryotes comportent fréquemment plusieurs ORF et sont dits pour cette raison *polycistroniques*.

6.3.1.2 Le ribosome et son fonctionnement

Après la découverte de particules ribonucléoprotéiques ou les grains de Palade dans le cytoplasme des cellules, il a fallu démontrer que les ribosomes sont le siège de la synthèse protéique, puis connaître tous leurs composants et enfin comprendre comment ce complexe décode l'information génétique. Il arrive à conclure que les ribosomes sont plus petites structures cellulaires visibles au microscope électronique seulement et existent en plusieurs milliers dans la cellule. Le ribosome est composé de deux sous-unités, les petites sous-unités et les grandes sous-unités. On trouve 30S et 50S chez les procaryotes et 40S et 60S chez les eucaryotes. De façon schématique, une fonction principale peut être attribuée à chaque sous-unité: le choix de l'ARN de transfert (ARNt) et le décodage de l'information portée par l'ARN messager (ARNm) pour la petite sous-unité, la formation de la liaison peptidique entre les acides aminés portés par les ARNt pour la grande sous-unité (figure).

Chaque ribosome possède, à l'interface des deux sous-unités, un site A « Aminoacyl » et un autre appelé site P « Peptidyl ». Le site A permet la liaison de l'ARNt chargé le site P héberge l'ARNt lié à la chaîne peptidique en cours de synthèse.



6.3.1.3 Les ARN de transferts (ARNt)

Les ARNt sont très étudiés à travers le monde. Les molécules d'ARNt forment une interface entre l'ARNm et les protéines. Un acide aminé est accroché à une molécule d'ARNt au cours d'une réaction catalysée par une enzyme *aminoacyl-ARNt synthétase*. Bien que la structure primaire des ARNt soit différente d'une molécule à l'autre, leurs structures secondaires sont toutes en forme de feuille de trèfle (figure). Cette structure possède plusieurs boucles soit :

- i) une tige en forme d'hélice double brin qui comprend les extrémités 5' et 3' (branche acceptrice de l'acide aminé fixé de façon covalente);
- ii) une boucle située en face de la tige acceptrice contenant la séquence des bases formant l'anticodon (zone de la molécule interagissant avec le codon de l'ARNm);
- iii) une boucle T ψ C et D (pour dihydrouridine) comportant des nucléotides inhabituels;
- iv) une boucle variable située entre la tige de l'anticodon et la tige T ψ C.

La structure en forme L inversé des ARNt est la forme représentative de la structure active dans la cellule. L'une des extrémités du L porte en 3' la séquence CCA qui émerge du bras accepteur. A l'autre extrémité du L, la boucle de l'anticodon porte le triplet de bases qui s'apparie avec le codon complémentaire présent sur le messenger.

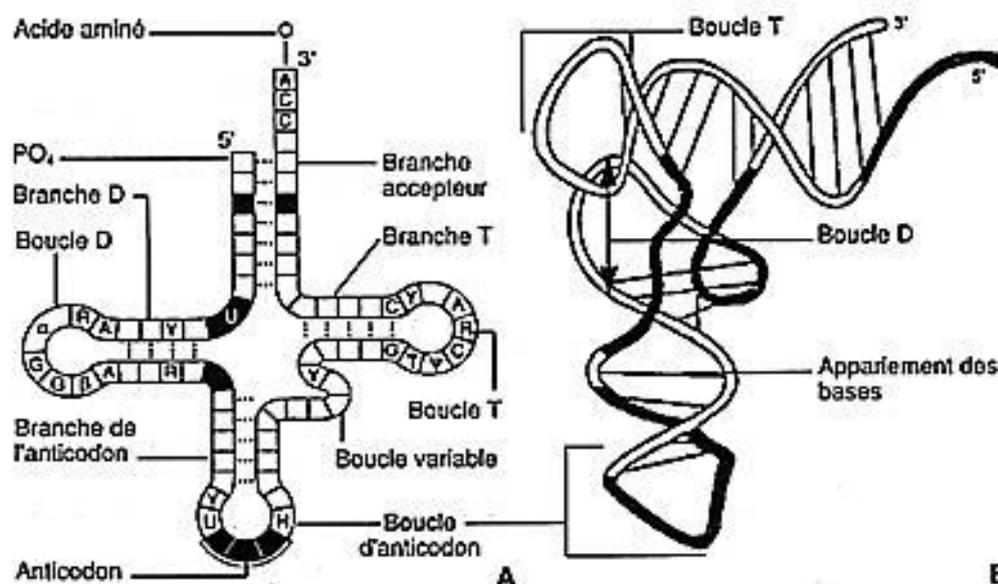
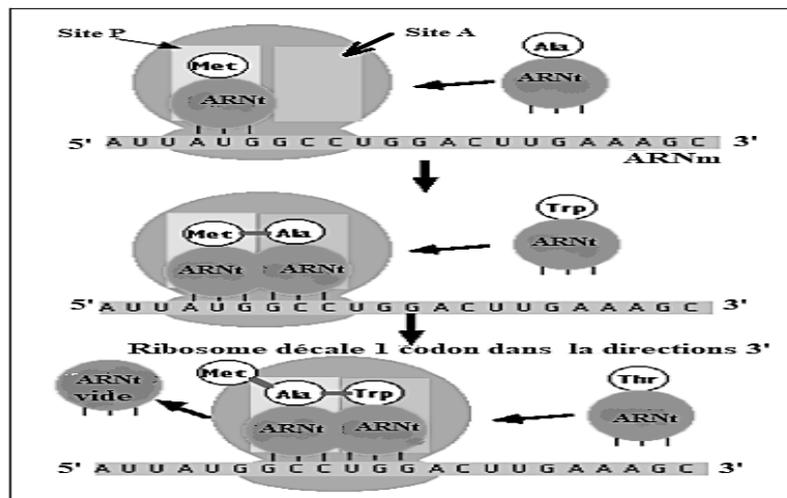


Figure: Représentation de la structure de l'ARNt. A) structure dépliée en forme de feuille de trèfle et B) structure pliée en forme L inversé.

6.3.2 Mécanisme de la traduction

La traduction de l'ARNm en protéine se fait en trois phases successives:



La phase d'initiation:

L'ARNm, libre dans le cytoplasme, sera fixé par une petite sous-unité du ribosome tel qu'un codon initiateur (toujours le même) AUG sera exposé en premier plan ce qui va faire appel à une grande sous-unité du ribosome qui couvre l'ensemble. Cette sous-unité est formée de deux sites: site **A** et site **P**. Le site **P** se trouve déjà en face du codon initiateur ce qui fait appel à un ARNt initiateur puisqu'il porte l'anti-codon UAC et un acide aminé initiateur (la méthionine chez les eucaryotes et la formyl-méthionine chez les procaryotes). La fixation de cet ensemble dans le site **P** déclenche la synthèse protéique.

La phase d'élongation:

Le site **A** de la grande sous-unité étant libre devant le deuxième codon, ceci fait appel à un deuxième ARNt qui porte le deuxième acide aminé. L'installation de cet ARNt dans le site **A** stimule la formation de la liaison peptidique entre les deux acides aminés et la rupture de la liaison entre le premier ARNt et son acide aminé ce qui rend le site **P** libre d'où le glissement du ribosome d'un codon. Ainsi, le site **A** devient libre devant le troisième codon et le site **P** héberge le deuxième ARNt chargé des deux premiers acides aminés ce qui stimule l'arrivée d'un troisième ARNt qui porte le troisième acide aminé et ainsi de suite.

La phase de terminaison:

En face d'un codon non-sens, et comme il n'existe aucun ARNt capable de reconnaître ce codon, la synthèse s'arrête par la libération de la chaîne peptidique et le détachement des deux sous unités du ribosome. Si l'acide aminé initiateur ne fait pas partie de la protéine synthétisée, il sera également libéré.

7 CHAPITRE : MUTATIONS GENETIQUES

Les mutations génétiques sont des évènements spontanés mais peuvent être induit expérimentalement.

Les causes des mutations sont multiples, il y le rayonnement naturel (rayon cosmiques, la radioactivité terrestre permanente) provoque des modifications de base et induire des mutations spontanées.

Les mutations provoquées par des agents mutagènes sont appelées mutations induites. On connaît actuellement un grand nombre d'agents mutagènes qui se classent en deux catégories : les agents *physiques* (radiations RX et les ultraviolets UV) et les agents *chimiques* comme les agents désaminants, les alkylants...

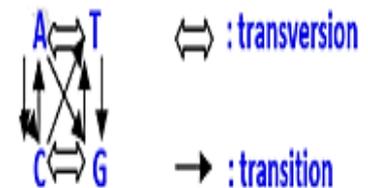
7.1 Mutations à l'échelle nucléotidique

Ce sont des mutations qui impliquent une anomalie au niveau de l'appariement des bases on parle de mutation ponctuelle, sont aussi appelés des mutations géniques: Mutation par substitution ; Mutation par inversion; Mutation par insertion; Mutation par perte de base.

7.1.1 Mutation par substitution

On a remplacé A par G et T par C. On a dans l'ensemble remplacé (purine) par (purine) et remplacé (pyrimidine) par (pyrimidine).

On parle alors de substitution de type *transition*, si on a une purine à la place d'une purine et pyrimidine à la place de la pyrimidine. Par contre si une base purine remplace une base pyrimidine ou une pyrimidine remplace une purine on parle donc d'une mutation de substitution de type



transversion.

7.1.2 Mutation par insertion

C'est le retournement d'un certain nombre de bases et leur lecture en sens inverse.

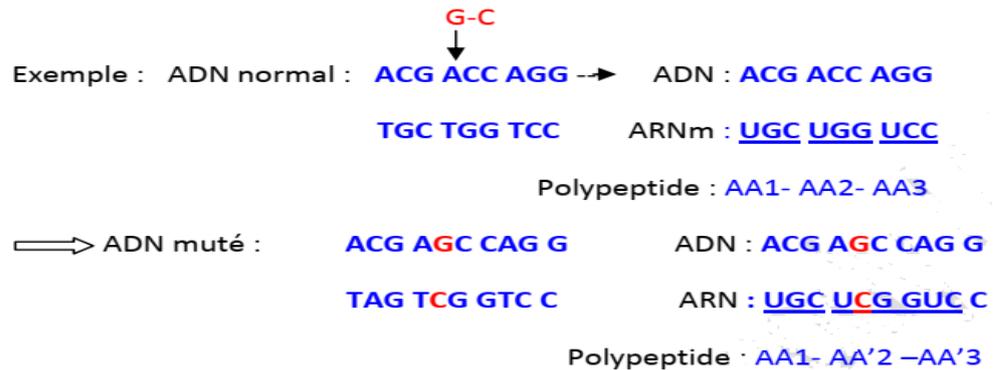
Sauvage ADN	3' TAC CGT CAA ATG 5'
ARNm	5' AUG GCA GUU UAC 3'
Polypeptide S	Met – Ala – Val – Tyr
Mutant ADN	3' TAC CGT AAC ATG 5'
ARNm	5' AUG GCA UUG UAC 3'
Polypeptide M	Met - Ala -Leu – Tyr

La mutation par inversion peut ne pas concerner la totalité du codon.



7.1.3 Mutation par insertion

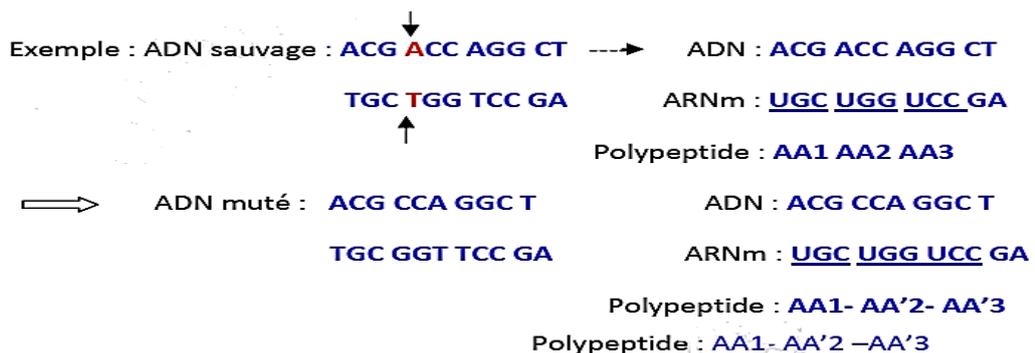
C'est l'introduction d'une nouvelle paire de nucléotides dans le message. La lecture des triplets se trouve falsifiée.



L'insertion d'une base G entre les bases A et C du deuxième codon du brin d'ADN normal va donner un ADN muté. Au niveau protéique, tout le reste du polypeptide change. Ce changement donne une mutation.

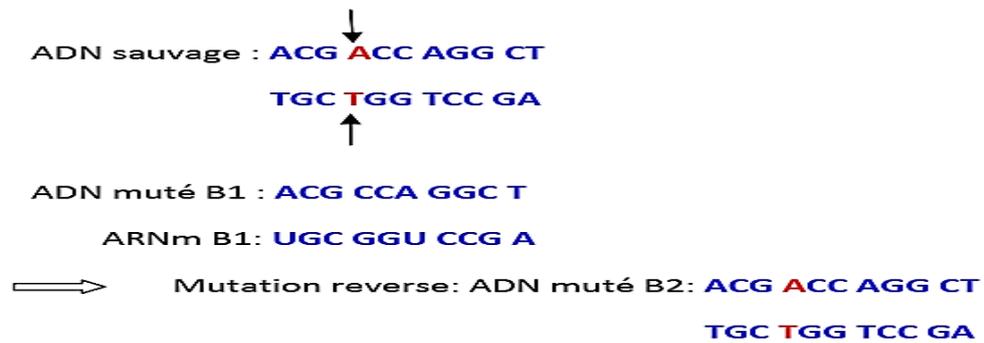
7.1.4 Mutation par perte (délétion)

La mutation par perte se traduit par une perte d'une paire de nucléotides dans le message. A partir de cette perte, la lecture est également falsifiée.



Lorsque la perte porte sur plusieurs paires de bases de nucléotides, on parle alors de délétion. La mutation par délétion ne donne jamais par d'autres mutations le type originel (révertant).

Dans le cas de la délétion, la mutation ne reverse jamais. Tous les autres types de mutation qu'on a évoqués, appelés géniques ou mutations ponctuelles parce que portant sur une paire de bases reversent.

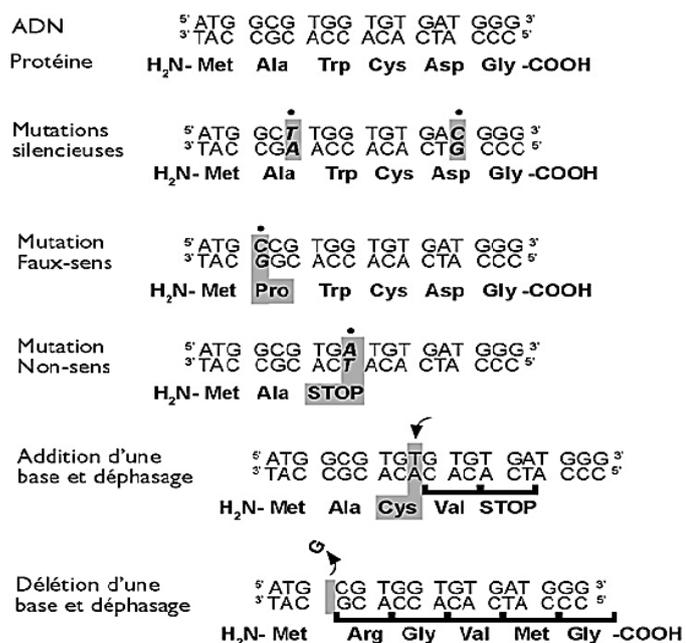


7.2 Différents types de mutation

Il faut bien comprendre que toute mutation sur une partie d'ADN qui s'exprime entraîne automatiquement un changement au niveau du codant. C'est pour cette raison que l'on examinera les différentes mutations possibles en raisonnant au niveau du codon, donc d'ARNm (même si l'origine de l'erreur est une mutation au niveau d'ADN). Selon le cas, la protéine synthétisée sera ou non très différente de la protéine initiale codée par le gène non muté.

Parfois, du fait de la redondance du code génétique, le codon est remplacé par un codon de même sens, on qualifie la *mutation de silencieuse*. Si la fonction de la protéine n'est pas modifiée, malgré le changement d'acide aminé, on parle de *mutation neutre*. Alors que, la *mutation non-sens* est l'apparition d'un codon stop. Comme les mutations décalentes, ses effets sont souvent graves. La figure suivante résume les types de la mutation en fonction de la protéine codée par l'ARNm.

Mutations ponctuelles



7.3 Mutations et apparition des nouvelles formes alléliques

Les mutations sont des évènements fortuits, héréditaires se produisant spontanément à des fréquences très faibles. Ces fréquences peuvent être augmentées par l'emploi d'agents mutagènes physiques ou chimiques.

Du point de vue moléculaire, les mutations géniques ou ponctuelles apparaissent comme des anomalies de la réplication. Si le mode réplication semi conservatif est la règle, la mutation est son exception. Il en ressort donc qu'un gène peut exister sous de nombreuses formes différentes décrivant les unes des autres par le jeu de mutations. Ces différentes formes constituent des formes alléliques ou allèles. Dans le langage généticien, on pourra distinguer l'allèle sauvage dont le fonctionnement est normal et les allèles mutants dont le fonctionnement est plus ou moins altéré.

8 CHAPITRE : MUTATIONS CHROMOSOMIQUES

Les mutations sont sans doute le moteur de l'évolution des êtres vivants. Mieux connaître leurs mécanismes nous permettra de comprendre l'évolution, mais dans une plus brève échéance de soigner certaines maladies héréditaires. Si les gènes atteints sont connus, l'utilisation du diagnostic anténatal permet de repérer les anomalies génétiques.

8.1 *Les mutations chromosomiques et génomiques*

Ce sont des changements profonds dans la structure d'un ou de plusieurs chromosomes (mutations chromosomiques) ou des variations du nombre des chromosomes (mutations génomiques).

Ces anomalies sont cytologiquement décelables et se définissent par un caryotype particulier.

Ces deux types de mutations causent de modifications quantitatives de l'information héréditaire.

8.1.1 *Anomalies du nombre*

8.1.1.1 **Trisomie 21 (syndrome de Down)**

Peut-être, due à la non-disjonction des chromosomes 21 lors de la première division de méiose, à la non-disjonction des chromatides à la deuxième division de méiose ou morts de l'œuf à la première mitose. Le plus souvent ces incidents se produisent lors de la gamétogenèse chez la femme « âgée ».

8.1.1.2 **Autres anomalies du nombre portant sur les autosomes**

Excès : trisomie 13, 14, 15 ou 18 (décès précoce).

Défaut: monosomie des autosomes inconnus. Il existe des cas où les chromosomes se referment sur eux-mêmes (ring). Ces chromosomes se perdent au cours des mitoses et les sujets deviennent monosomiques pour beaucoup de cellules. L'espérance de vie de ces individus est très brève.

8.1.1.3 **Anomalies du nombre portant sur les hétérosomes.**

Non-disjonction lors de la méiose, des chromosomes sexuels.

Phénotypes féminins:

-Syndrome de Turner 45X (AA, XO): taille petite, puberté incomplète, niveau mental inférieur à la moyenne.

-Trisomie X 47X (AA, XXX): morphologie normale, fertilité faible.

-Syndromes tétra ou penta X (AA, XXXX ou XXXXX): états pathologiques marqués.

Phénotypes masculins:

-Syndrome de Klinefelter (AA, XXY): grande taille, aspect féminin, puberté incomplète.

-Double chromosome Y (AA, XYY): grande taille, calvitie précoce. (Taux de criminalité recensée plus importante que la moyenne, le fait d'être pris résultant d'un QI inférieur à la moyenne !)

En générale, le sexe est déterminé par la présence ou l'absence d'un chromosome Y. Le surnombre de X détermine des états pathologiques.

8.1.2 Anomalies de structure

Elles résultent de cassures chromosomiques, elles entraînent une perte ou un déplacement des segments isolés et la formation de chromosomes remaniés.

8.1.2.1 Délétions et duplications chromosomiques

Après cassure, un fragment sans centromère ne suit pas la mitose. Le plus souvent pas viables. Certains cas pathologiques connus:

-*Maladie du cri du chat: perte du bras court du chromosome 5.*

-*Délétion du bras court d'un des X chez la femme.*

Duplication: insertion d'un fragment de chromosome supplémentaire. Peu d'effets.

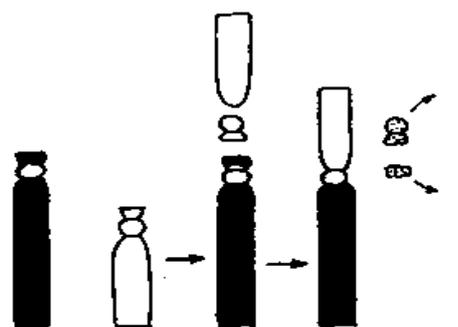
8.1.2.2 Délétions et duplications chromosomiques

-Délétion segmentaire: perte d'un segment, effets sérieux. -Inversion: sujet normal.

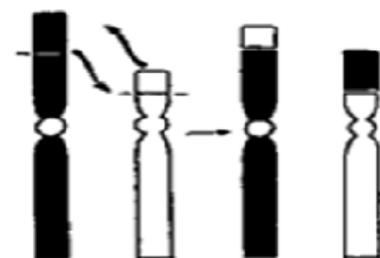
-Chromosomes en anneaux, pertes, donc monosomies.

8.1.2.3 Translocations

Passage d'un fragment de chromosome sur un autre, homologue ou non. Les translocations réciproques sont des cassures suivies d'un échange entre deux chromosomes distincts. Les translocations par fusion centrique sont équilibrées car il y a fusion de 2 chromosomes télo-centriques au niveau du centromère.



Translocation par fusion centrique (équilibrée)



Translocation réciproque

A l'occasion de la translocation, il peut y avoir perte de matériel. Le plus souvent, la perte est négligeable et les sujets ne manifestent aucun trouble. Mais lors de la gamétogenèse il se forme des gamètes anormaux.

Exemple de la translocation équilibrée entre le chromosome 21 et le chromosome 13,14 ou 15. (Groupe D)

Ce sujet peut former 6 types de gamètes: (vérifiez en représentant la méiose)

- normal : (21 et D)
- diplo 21 : (21-D) et (21)
- transloqué : (21-D)
- nullo 21 : (D) seul
- diplo-D : (21-D) et (D) (rare)
- nullo-D : (21) seul (rare)

Après fécondation avec un individu normal, il y a quatre types d'embryons:

- 25% normaux ;
- 25% mongoliens (masqués car caryotype à nombre normal) ;
- 25% porteurs d'une translocation ;
- 25% monosomiques 21, létalité.

9 CHAPITRE : STRUCTURE ET FONCTION DU GÈNE

9.1 Définition d'un gène

La définition du gène a changé avec l'évolution de nos connaissances. Il n'y a pas une définition parfaite, qui fasse le consensus entre tous les biologistes.

Pour simplifier, nous considérerons ici qu'un gène est un segment d'ADN qui porte un caractère discret. En général, un gène correspond à un polypeptide ou à un ARNm. Donc on définit un gène comme une portion d'ADN codant.

Le gène contient la séquence codante et tous les signaux nécessaires pour réaliser la transcription (donc le promoteur fait partie du gène).

Un gène se caractérise par sa fonction (gène de la myoglobine, gène du pyruvate déshydrogénase, ...) et par sa localisation dans le génome.

Finalement on peut conclure qu'un gène est une séquence de nucléotides d'un brin d'ADN déterminant la séquence d'un polypeptide donné. Autrement dits, Le gène ou facteur héréditaire est représenté par une séquence d'ADN portant une information génétique. Cette information peut être soit la structure d'une protéine, dans ce cas on parle de gène de structure soit une séquence reconnue par une enzyme de régulation dans ce cas on parle de gène de régulation.

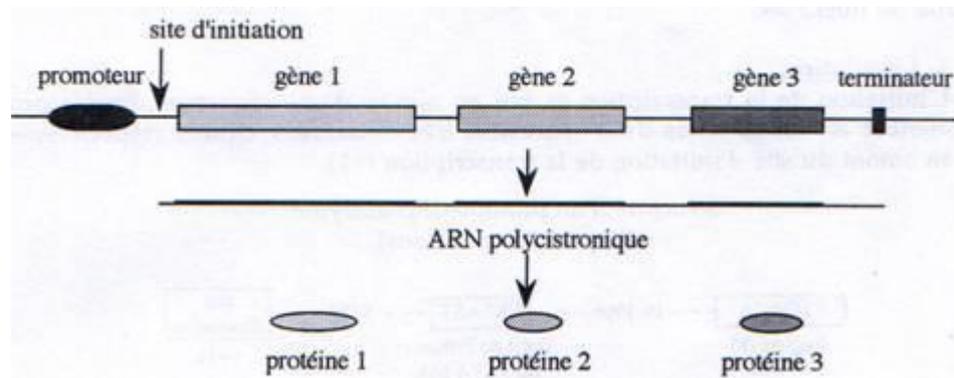
9.2 Organisation structure et fonction des gènes

L'organisation des gènes n'est pas la même chez les procaryotes et les eucaryotes.

Une relation assez précise entre les unités d'information et la fonction enzymatique a été établie par Beadle et Tatum vers 1941 à l'aide d'un champignon ascomycète : *Neurospora crassa*. Leurs travaux confortent le gène eucaryotique en tant qu'unité de fonction comme l'avait établi Benzer pour les procaryotes.

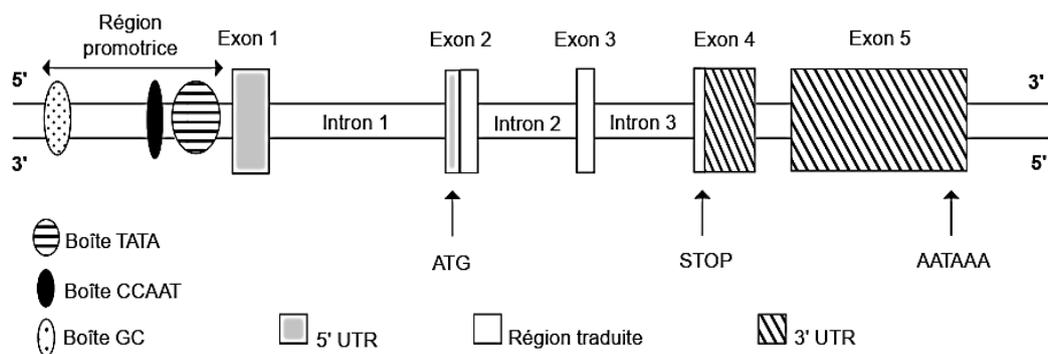
9.2.1 Structure et fonction des gènes chez les procaryotes

Chez les procaryotes les gènes qui participent à la réalisation d'une même fonction sont organisés en opéron c'est-à-dire que plusieurs gènes sont regroupés sur le chromosome bactérien et régulés ensemble. Ils sont transcrits ensemble et l'ARN messager ainsi obtenu est dit *polycistronique* (1 ARNm spécifie plusieurs protéines).



Par définition, un *opéron* est une unité génétique trouvée uniquement chez les procaryotes composé de gènes adjacents dont l'expression est coordonnée par un même promoteur et des séquences régulatrices (opérateur) qui régulent leur transcription.

9.2.2 Structure et fonction des gènes chez les eucaryotes



Exemple de l'organisation structurale d'un gène eucaryote d'après. Leroux et Tosser-Klopp, 2000.

Les quantités de protéines synthétisées par une cellule ne sont pas nécessairement fixes, mais varient en fonction des besoins de la cellule. Cette variation du niveau d'expression d'un gène peut résulter d'une régulation de chacune des étapes. Par exemple, un système de régulation peut être associé à la transcription (activation d'un gène par la transduction d'un signal hormonal), à l'épissage (par exemple, régulation du déterminisme du sexe chez la drosophile), à la stabilité des ARNm (séquences stabilisatrices dans la région 3' UTR et/ou longueur de la queue poly(A) des ARNm). De ce fait, il est concevable qu'une variabilité génétique des séquences jouant un rôle important dans ces régulations puisse altérer l'expression du gène associé.

10 CHAPITRE : REGULATION DE L'EXPRESSION GENETIQUE

10.1 Régulation chez les procaryotes et l'exemple historique : l'opéron lactose

10.1.1 Concept de la régulation génique

Avec l'étude de l'opéron lactose, François Jacob, Jacques Monod et André Lwoff ont été les premiers scientifiques à décrire un système de régulation de la transcription des gènes. Ils proposent l'existence de deux classes de gènes qu'ils différencient par leur fonction : *les gènes structuraux* et *les gènes régulateurs*. C'est à partir de ces travaux qu'est né le concept de la régulation génique. (Prix Nobel de physiologie et médecine en 1965).

10.1.2 Opéron

Le contrôle concerté de l'expression des gènes est essentiel pour le maintien équilibré de la croissance cellulaire. Ce contrôle permet à la cellule d'ajuster ses synthèses aux conditions environnementales. Chez la bactérie *Escherichia coli*, les gènes impliqués dans un processus métabolique sont souvent groupés sur le chromosome et organisés en unité de transcription appelée *opéron* (l'ARNm est polycistronique, c'est-à-dire qu'il contient l'information nécessaire à la synthèse des différentes protéines). Le contrôle coordonné de l'expression de ces gènes est possible grâce à des protéines régulatrices.

10.1.3 Les protéines de régulation

Les protéines de régulation régulent le taux de transcription en se liant à l'ADN au niveau de séquences spécifiques au voisinage des promoteurs.

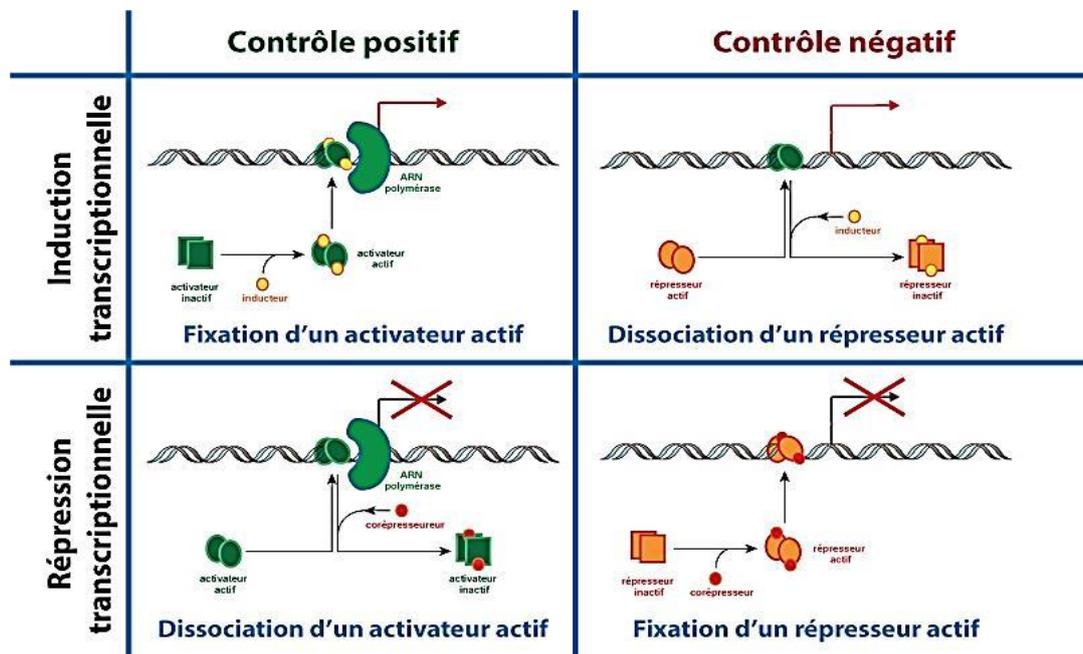
Elles peuvent:

- autoriser l'initiation de la transcription, "allumant" le gène. Elles sont alors dites inducteurs et la régulation est positive (il y a induction transcriptionnelle).
- ou interdire l'initiation de la transcription, "éteignant" le gène. Elles sont alors dites répresseurs et la régulation est négative (il y a répression transcriptionnelle).

Elles peuvent être:

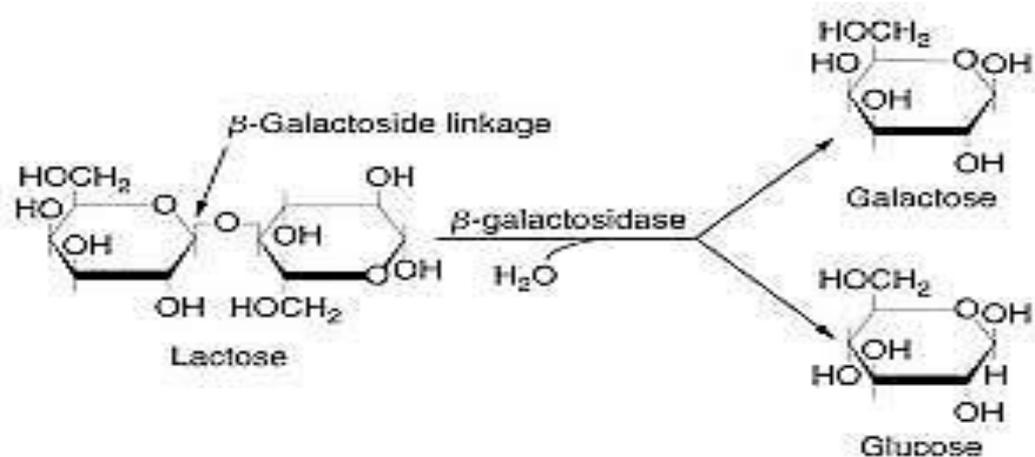
- actives (se liant directement à l'ADN) et peuvent donc être inactivées par liaison à un ligand (L).
- inactives (ne se liant pas à l'ADN) et peuvent donc être activées par liaison à un ligand (L).

C'est le ligand qui, en modifiant l'activité de protéines de régulation, sert de "signal". C'est donc la présence de ligand qui témoigne du niveau des besoins ou des non besoin de l'expression de certains gènes.



10.1.4 Le métabolisme du lactose

La bactérie trouve sa source de carbone dans le catabolisme des sucres. Si le glucose est la source de carbone "préférée", le lactose peut également être consommé par la bactérie et métabolisé en galactose et glucose. Les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose ne seront synthétisées qu'en présence de ce substrat.

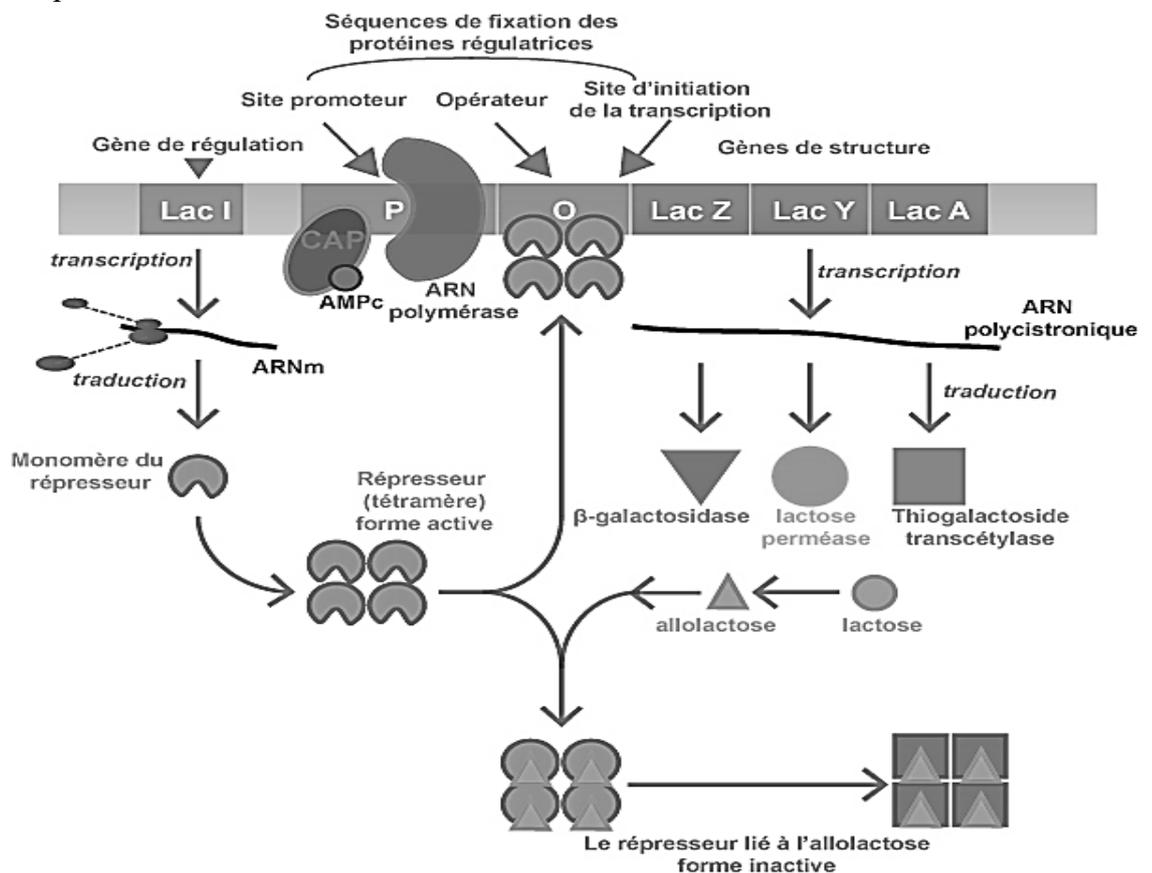


10.1.5 Structure et organisation de l'opéron lactose

Dans l'opéron lactose, on trouve les trois gènes indispensables à la dégradation du lactose. Ils codent :

- La β -galactosidase (gène *lacZ*) qui catalyse hydrolyse de la liaison β 1-4 osidique des β -galactosides.
- La lactose perméase (gène *lacY*). Cette protéine membranaire permet l'entrée du lactose dans la cellule.
- La thiogalactoside transacétylase (gène *lacA*). Son rôle n'est pas bien connu. Elle acétyle les β -galactosides non métabolisables qui peuvent alors être éliminés hors de la cellule par diffusion à travers la membrane plasmique.

Ces trois gènes de structure sont précédés par une région responsable de la régulation de leur expression. Cette région régulatrice comprend le promoteur et l'opérateur.



En amont de l'opéron lactose on trouve le gène *Lac I* qui est un gène régulateur. Il a son propre promoteur (non inductible) et exprime "en continu" un répresseur qui bloque l'expression de l'opéron lactose.

En absence de lactose est sous sa forme active (tétramérique) et se fixe au niveau du site opérateur O, empêchant la fixation de l'ARN polymérase et donc l'expression de l'opéron lactose. (*Répression*)

En présence de lactose, le répresseur se complexe avec l'allolactose (isomère du lactose). Le répresseur lié à l'allolactose change de conformation, perd son affinité pour l'opérateur et se dissocie de l'opérateur lac. L'opéron lactose peut alors être exprimé. (*Induction*)

10.1.6 Diploïdes partiels et mutations de l'opéron lactose

Il n'y a qu'une copie de l'ADN de l'opéron lactose dans une bactérie. Si on introduit un plasmide avec un opéron lactose (voir la conjugaison avec une souche Hfr), l'inducteur IPTG pourra se lier au répresseur et l'inactiver mais il ne sera pas métabolisé par la galactosidase. C'est un inducteur gratuit. Diploïde partiel : $I^+ O^+ Z^+ // I^+ O^+ Z^+$. L'étude de ces diploïdes permet d'expliquer le contrôle de l'opéron lactose et de qualifier les mutations qui touchent le fonctionnement des gènes.

Les mutations du répresseur

i⁻ Le répresseur muté ne peut plus se fixer sur l'opérateur fonctionnel. La bactérie est [lac^c].

i^s Le répresseur muté ne peut plus interagir avec l'inducteur et changer sa conformation (superrépresseur). La bactérie est [lac^-].

Les mutations de l'opérateur

O^c Le répresseur fonctionnel ne peut plus se fixer sur l'opérateur muté. La bactérie est [lac^c]. Les résultats obtenus avec les diploïdes partiels O⁺/O^c sont très différents, il n'y a pas complémentarité, l'allèle muté semble dominant par rapport au sauvage. Ceci ne peut s'expliquer que si le locus O n'est pas un gène exprimé, mais une séquence particulière d'ADN qui est appelée site opérateur.

Les mutations des gènes de structures

Les allèles A⁺, Z⁺ et Y⁺ sont des allèles dominants, par contre les allèles mutés A⁻, Z⁻ et Y⁻ sont des allèles récessifs.

La présence de β-galactosidase chez un diploïde partiel Z⁻/Z⁺ indique qu'une complémentarité est possible. L'allèle Z⁺ de la cellule donneuse est exprimé dans le cytoplasme de la cellule receveuse (on peut dire que l'allèle sauvage Z⁺, est dominant par rapport à l'allèle muté Z⁻).

10.2 Régulation chez les eucaryote : exemple les gènes à homéobox

Des gènes dits à « homéobox » ou encore « gène homéotiques » sont impliqués dans le développement embryonnaire. Il s'agit là de mécanisme très complexe. Le modèle le mieux connu est celui de la drosophile. Tout d'abord grâce à des gènes de polarité l'œuf s'oriente selon 2 axes : « tête-queue », et « dos-ventre ». Puis des gènes de segmentation vont être responsables de la division de l'embryon (selon l'axe tête-queue) en bandes ou segments : les segments thoraciques et segments abdominaux.

Enfin des gènes à homéobox vont s'exprimer dans ces segments, ce qui conduira au développement des zones à morphologie différente les unes des autres. Ainsi chaque segment donnera finalement une partie de cors (qu pourra par exemple, ailes, pattes, etc.).

La nomenclature utilisée pour désigner les gènes à homéobox (encore appelés homéogène) consiste en l'abréviation « HOX », suivi d'un nombre indiquant le complexe. Il existe chez les mammifères 4 complexes : HOX-1, HOX-2, HOX-3, HOX-5. L'homéobox, motif nucléotidique conservé dans ces gènes, code une séquence peptidique dite « homéodomaine »

Un homéodomaine a une structure du type hélice-tour-hélice. Il comporte 4 hélices- α . Une de ces 4 hélices se fixe sur une séquence spécifique de l'ADN au niveau de gènes cibles. Ces homéodomains ne sont pas limités aux protéines du développement. Ils ont retrouvés également dans des facteurs trans-régulateurs.

Les gènes à homéobox codent des protéines trans-régulatrice qui agissent sur 'autres gènes à homéobox ainsi que sur d'autres gènes cibles mal connu.

Initialement décrits chez la drosophile, ces gènes à homéobox jouent un rôle essentiel chez les vertébrés, où ils déterminent également la forme du corps.

L'étude de ces gènes à homéobox a progressé notamment grâce aux expériences de mutations homéotiques. Les drosophiles ont par exemple des pattes à la place des antennes ou des ailes à la place des yeux... !

Des malformations homéotiques ont également été provoquées chez les vertébrés. Ainsi, l'expression anormale d'un gène à homéobox peut donner une souris ayant une paire de côtes dans le cou...

11 CHAPITRE : NOTIONS DE GENETIQUE EXTRA-CHROMOSOMIQUE

11.1 *Génétique non mendélienne*

Il existe des cas où les résultats des croisements ont donné des proportions non mendéliennes (ratios non mendéliens). Cela est dû à une grande variété de phénomènes :

- Hérité extra-chromosomique ou extra-nucléaire: implique par exemple les organites de la cellule.
- Effets maternels ou hérité épigénétique : implique des gènes nucléaires
→ Extra-chromosomique : hérité extra-nucléaire ou cytoplasmique

Définition : transmission verticale des caractères héréditaires par l'ADN des organites cytoplasmiques tels que les mitochondries, les chloroplastes et les plastides ou par des parasites intracellulaires tels que des virus ou des plasmides.

11.2 **Découverte de l'hérité cytoplasmique.**

IL y a une analyse raisonnable de certaines situations logiques qui permet de confirmer l'hérité cytoplasmique comme :

- Chez l'homme on peut observer une anisogamie : gamètes de tailles différentes (ovule / spermatozoïde).
- Découverte de mutations et de leur profil de l'hérité chez : plantes, levures, champignons.
- Les mitochondries et les chloroplastes sont hérités à partir du cytoplasme.

Exemple à connaître : champignon *Neurospora crassa*.

Mutation *poky* : croit de façon très très lente, composition anormale en cytochromes et autres enzymes mitochondriales.

- L'expérience de Mary Mitchell démontre que l'hérité des mitochondries est maternelle (cytoplasmique) → la descendance est mutée si et seulement si l'allèle muté ad^+ vient de la mère.

11.3 *Plasmagènes et hérité des organites*

Le comportement de certains éléments génétiques indique qu'ils ne sont pas localisés sur les chromosomes. On appelle *plasmagènes*, la plus petite unité extra-chromosomique héritée. L'ensemble des plasmagènes d'une cellule constitue le *plasmone*.

Quand on parle de l'hérédité des organites on parle de : l'hérédité extra-nucléaire, cytoplasmique, uniparentale maternelle / transmission biparentale.

11.3.1 Origine des mitochondries et chloroplastes

La théorie endosymbiotique explique l'évolution des eucaryotes. Il y a 2 milliards d'années : un eucaryote aurait englouti un procaryote : formation des mitochondries (même théorie pour les chloroplastes). C'est une symbiose mutuellement bénéfique : mitochondries produisent de l'énergie et utilisent l'O₂, cellules animales produisent les molécules nécessaires à la vie. Donc certains organites ont un génotype particulier qui leur est propre, aujourd'hui ils gardent - 10% du génotype qu'ils avaient au début. Le génome mitochondrial n'est pas enroulé autour des histones.

11.3.2 Hérité des mitochondries

Structure : digitations de la membrane interne (augmente la surface d'échange), double membrane. Intérieur : matrice, propres ribosomes, 2 à 10 molécules d'ADN par mitochondrie.

Le génome mitochondrial : code pour les composantes utilisées dans la machinerie de synthèse protéique de la mitochondrie, participant à la machinerie de la phosphorylation oxydative. L'ADN ne contient pas d'introns et il est très compact.

ADN mitochondrial de l'Homme : 16 659 pb, 37 gènes mitochondriaux (13 protéines, 2 ARNr, 22 ARNt). 13 gènes codant les protéines pour les phosphorylations oxydatives. Les ARNm n'ont pas de début de transcription, une région spécifique comme pour les proC. D-Loop : région régulatrice, Ori transcription et traduction. Le code génétique spécifique des mitochondries est différent de celui de l'Homme et la traduction confinée à l'intérieur de la mitochondrie.

Mutations mitochondriales chez l'Homme : la plupart des mutations dans les tissus qui consomment beaucoup d'O₂ : muscles + cerveau.

Maladies :

- LHON (neuropathie optique héréditaire de Leber) = dégénérescence du nerf optique.
- MERRF = épilepsie myoclonique avec myopathie des fibres rouges en haillon. Perte de la coordination musculaire et atteintes cérébrales, agrégats de grandes tailles de mitochondries anormales, absence de phosphorylation oxydative. Le

taux d'hétéroplasmie est variable : le nombre de mitochondries mutées peut aller du moyen au grand.

Notion de seuil : transmission des mitochondries, phénotype mutant seulement à partir d'un certain seuil. Donc même si une partie des mitochondries est mutée le phénotype n'est pas forcément celui d'un mutant.

Mutation « petite » chez *Saccharomyces cerevisiae*

Cycle de vie de la levure *S. cerevisiae* : 2 types sexuels : type **a** et type **alpha**.

Peuvent se reproduire par bourgeonnement et par fusion/bourgeonnement + méiose (si carence). Phénomène de l'isogamie.

→ Mise en évidence de mutation : « petite » :

Exposition aux agents mutagènes, perte de la fonction respiratoire, mutation ADN mitochondrial = empêche la synthèse des protéines dans la chaîne respiratoire. Pas possible de respirer = fermentation (bcp plus faible en E), on peut identifier les mutants suppresseurs.

La déficience de la respiration cellulaire entraîne des mutations dans les gènes codant les protéines de transport d'électrons. Type sexuel des parents n'a pas d'influence.

3 catégories de mutation :

- Mutation nucléaire : transmission mendélienne, ségrégante, 50% mutés, 50% sauvages
- Transmission cytoplasmique : ségrégation 4:0 non mendélienne, uniparentale (soit 100% sauvage [neutre], soit 100% muté [suppressive, mitochondries se divisent plus vite / recombinaison entre mitochondries sauvages + mutées]).
- Hétéroplasmie et la ségrégation cytoplasmique (ségrégation cytoplasmique ou ségrégation mitotique) : individu récupère seulement les mitochondries sauvages ou seulement les mitochondries mutées.

Autre exemple à connaître : résistance aux antibiotiques chez *S. cerevisiae*

Résistance à l'érythromycine, résulte d'une mutation du grand ARN ribosomique.

Par fusion on a un phénotype résistant, les zygotes se divisent souvent par mitose avant de rentrer en méiose = phénomène de ségrégation cytoplasmique. Les méiocytes ne contiennent alors qu'un seul type d'ADNmt. Les tétrades obtenues après les méioses seront soit résistantes soit sensibles (par tétrade).

11.3.3 Hérité des chloroplastes

Structure et fonctions des chloroplastes :

Le chloroplaste un est organite qui assure la photosynthèse, est présent dans les cellules à même titre que les mitochondries.

- Transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique
- Permet l'autotrophie au carbone
- Fixation C, N, S
- Biosynthèse des lipides

Le chloroplaste contient : ADN, amidon, globules lipidiques, ribosomes, thylacoïdes (phase claire de la photosynthèse, contiennent des chlorophylles [pigments], sont inter-granaires ou empilés [granum]), stroma (phase sombre de photosynthèse, conversion des molécules).

Le chloroplaste est enroulé par une double membrane.

L'ADNct : plusieurs copies par chloroplaste, regroupé en nucléoïdes, ensemble de l'ADN présent dans le stroma (pas de noyau).

L'ADN contient 156 kb, 110-120 gènes, code ARNm + ARNt + ARNr. La coopération obligatoire entre génomes nucléaire et chloroplastique.

*Hérité cytoplasmique maternelle chez la *Mirabilis jalapa**

Observation : la pigmentation des feuilles et des branches suit un patron d'hérité non mendélien.

Croisements :

- Mère blanche x père vert = descendance blanche
- Mère panachée x père vert = descendance verte / blanche / panachée
- Mère verte x père blanc = descendance verte
- Mère verte x père panaché = descendance verte

Ici la pigmentation de la descendance dépend uniquement du parent maternel et non pas des deux parents.

Hérité cytoplasmique maternelle car seul ovule transmet les chloroplastes par son cytoplasme. Le phénotype des feuilles peut être expliqué par les types de chloroplastes présents dans les feuilles. Les chloroplastes mutants ne peuvent pas synthétiser le pigment vert : cellule blanche. Ici on observe deux notions : variéation et hétéroplasmie.

*Hérité cytoplasmique chez l'algue *Chlamydomonas reinhardtii**

Algue verte unicellulaire, possède seulement un chloroplaste en forme de cloche, contient de 50 petites mitochondries à une géante. ADNct : 120 à 200 kb. Le

chloroplaste entoure un pyrenoïde : concentre le CO₂ autour d'une enzyme pour produire des réserves de l'énergie.

Cycle de vie de l'algue :

Deux types d'individus : mt = mating type = gène nucléaire. On distingue deux allèles : mt⁺ et mt⁻. Le même principe de reproduction que pour les levures :

- Fécondation, zygote diploïde mt⁺mt⁻ (forme dormante si pas de conditions pour la reproduction), méiose, formation de 4 algues (2 mt⁺ et 2 mt⁻).
- Soit par bourgeonnement = division mitotique.

Dans les deux cas on observe une ségrégation mendélienne 2:2 (½ mt⁺ et ½ mt⁻).

Mutation cytoplasmique conférant la résistance à la streptomycine :

11.4 Hérité infectieuse (hérité des particules infectieuses)

En plus des composants normaux du cytoplasme, de nombreux parasites (bactéries et virus) peuvent infecter le cytoplasme et s'y reproduire.

L'hérité infectieuse : les particules infectieuses ont en général une relation symbiotique avec leurs hôtes.

11.4.1 Exemple de la Paramécie : *Paramecium aurelia*, particules kappa.

Structure et reproduction: La paramécie contient de macronoyaux (cellulaire), des micronoyaux (germinale), pore anale, bouche, cils, vacuole contractile, vacuole nourricière.

Les paramécies peuvent se reproduire de façon asexuée par fission (déformation de la membrane, division des organites) ou bien par la reproduction sexuée par conjugaison ou autogamie.

Hérité des particules kappa chez *Paramécie* :

Les particules kappa confèrent le phénotype « tueur » aux paramécies. C'est un facteur toxique qui tue les individus de la même espèce. Particules : bactérie *Caedobacter taeniospiralis*.

Le gène responsable est un gène nucléaire avec deux allèles : K → dominant, maintient les particules kappa dans la cellule, k → allèle récessif, ne permet pas le maintien.

Le phénotype « killer » n'est pas gouverné par les gènes mais par la présence d'une particule dont le maintien dépend de la version du gène qui est présente.

On voit que le simple fait d'avoir l'allèle K ne suffit pas pour avoir le phénotype « killer », il faut aussi hériter le cytoplasme qui contient les particules kappa. Dans le sens inverse, inversion de la région entre les deux, translocations.

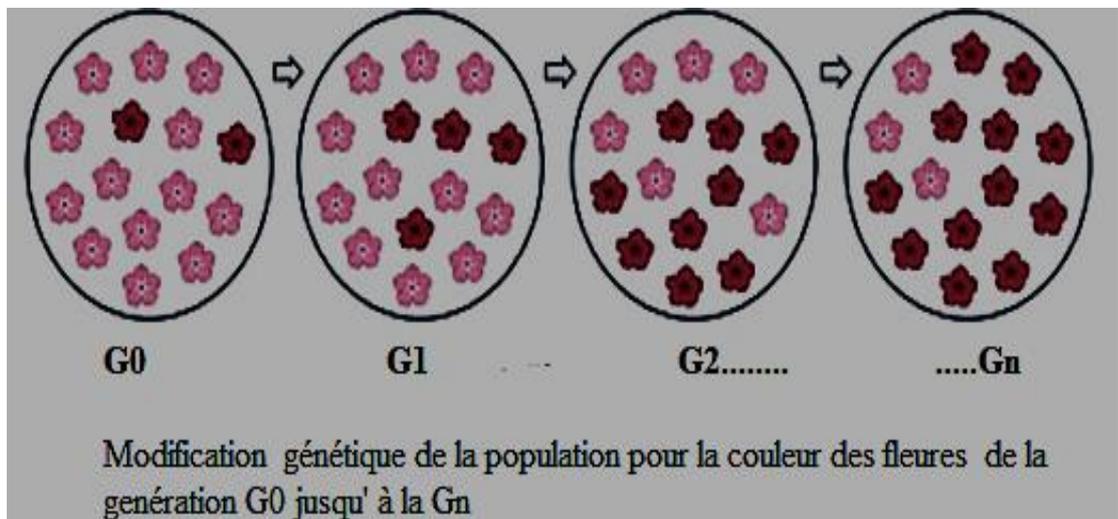
12 CHAPITRE : NOTIONS DE GENETIQUE DES POPULATIONS

12.1 *Qu'est-ce que la génétique des populations*

12.1.1 Définition

- Etude de la distribution et des changements de la fréquence des versions d'un gène (allèles) dans les populations d'êtres vivants, sous l'influence des pressions évolutives (sélection naturelle, dérive génétique, mutations, et migration).

- Discipline qui étudie la transmission de l'information héréditaire et son utilisation dans le développement et le fonctionnement des organismes. Comment et pourquoi l'information génétique évolue-t-elle au cours du temps au sein des espèces et des populations ?



12.1.2 Objectifs

- Décrire les génotypes, estimer leur fréquence et celle des allèles, déterminer leur distribution au sein des individus, des populations, et entre les populations (*descriptif*).
- Comprendre et prédire l'évolution des fréquences des allèles dans les populations sous l'effet des forces évolutives (*explicatif*).

12.1.3 Les initiateurs

La génétique des populations est une discipline qui fait appel aux outils mathématiques et statistiques. Elle a été limitée dans les années 1920 à 1940 par Fischer R.A, Wright S et Haldane J.B.S.

12.1.4 Les différentes approches

Trois principales approches sont souvent utilisées dans la génétique des populations.

- *Théoriques*: nécessaire pour tester des hypothèses avec des données génétiques.
- *Expérimentales*: tester des modèles et leurs hypothèses dans des conditions contrôlées.
- *Empiriques*: décrire la distribution du polymorphisme dans les populations naturelles, et inférer l'histoire démographique et adaptative des populations.

12.1.5 Fréquences alléliques et estimation de la fréquence des gènes à partir des génotypes

Pour parler de fréquences géniques (ou plutôt alléliques), on se réfère à la notion de « pool » de gènes d'une population. Pour un gène autosomique, dans une population de N individus, il y a $2N$ locus.

Si l'on considère un locus avec deux allèles **A** et **a**, p définit la proportion d'allèles **A** et q la proportion d'allèles **a**.

L'estimation de la fréquence des gènes à partir des génotypes n'est possible que si tous les génotypes sont identifiables : les deux allèles sont *codominants*.

La meilleure estimation de la fréquence de ces allèles est :

$$p = f(\mathbf{AA}) + 1/2 f(\mathbf{AB})$$

$$q = f(\mathbf{BB}) + 1/2 f(\mathbf{AB})$$

12.2 La loi de HARDY-WEINBERG

Proposée en 1908 indépendamment par le mathématicien anglais Hardy et le médecin allemand Weinberg, la loi de Hardy-Weinberg (HW) se définit comme suit:

« Dans une population de dimension *infinie*, où les unions se font au hasard (*panmixie*), où il n'existe ni *migration*, ni *sélection* contre un phénotype particulier, et où le taux de *mutations* est constant, **les proportions** des différents génotypes **restent constantes** d'une génération à l'autre.

Prenons l'exemple d'un locus qui peut être occupé par deux allèles **A** et **a**, tels que la proportion de gènes **A** est p et la proportion de gènes **a** est q :

$p + q = 1$ (q est en général utilisé pour désigner l'allèle récessif).

La loi de Hardy-Weinberg décrit les relations entre les fréquences génotypiques et les fréquences alléliques. Elle permet aussi l'estimation de la fréquence des hétérozygotes pour les maladies récessives autosomiques.

12.3 Vérification si la loi de HW s'applique à une population donnée pour un gène donné

- **On calcule les fréquences alléliques à partir des fréquences des génotypes**

Pour une population de N individus on obtient un nombre d'allèles = $2N$

Le nombre d'individus pour le génotype AA = x ;

Le nombre d'individus pour le génotype BB = y ;

Le nombre d'individus pour le génotype AB = z .

Fréquence de l'allèle A : $p = (2x + z) / 2N$

Fréquence de l'allèle B : $q = (2y + z) / 2N$

- **On compare les nombres attendus aux nombres observés par le test X^2**

Si N est l'effectif total étudié, l'effectif théorique attendu, t_i pour la modalité i de

la variable aléatoire X est : $t_i = p_i * N$

Les nombres attendus pour tous les génotypes de la population précédente sont :

Pour le génotype AA: $p^2 * N$;

Pour le génotype BB: $q^2 * N$;

Pour le génotype AB: $2pq * N$.

Nombres observés = fréquence des phénotypes

On fait un test de X^2 ; $X^2_{observé} = \sum_{i=1}^k (o_i - t_i)^2 / t_i$

Avec o : Nombre observé ; t : le nombre théorique

Ce test consiste à mesurer l'écart qui existe entre la distribution des effectifs théoriques t_i et la distribution des effectifs observés o_i et à tester si cet écart est suffisamment faible pour être imputable aux fluctuations d'échantillonnage.

L'établissement des distributions des probabilités p_i va dépendre de la nature du test X^2 (hypothèse H_0) mais l'estimation des effectifs théoriques t_i sera identique à tous les tests.

Quel que soit l'hypothèse nulle H_0 testée, la stratégie est la même pour tous les tests du X^2 .

La statistique du X^2 calculée (X^2_{obs}) est comparée avec la valeur seuil, X^2_{seuil} lue sur le tableau du X^2 (voir annexe) pour ddl (degrés de liberté) et pour un risque d'erreur α fixé.

- Si $X^2_{obs} \leq X^2_{seuil}$ l'hypothèse H_0 ne peut être rejetée : distributions des effectifs théoriques et observés ne sont pas significativement différentes.
- Si $X^2_{obs} > X^2_{seuil}$, l'hypothèse H_0 est rejetée au seuil de signification α et l'hypothèse H_1 est acceptée.

12.4 Facteurs influençant les fréquences génique

Il existe des facteurs déviant l'équilibre de Hardy-Weinberg tels que :

12.4.1 Mutation

Si une mutation est unique ou très rare, la probabilité qu'elle disparaisse est très grande du fait des fluctuations d'échantillonnage.

Une mutation unique qui n'entraîne pas d'avantage sélectif pour le mutant ne peut pas produire d'effet permanent dans une population.

12.4.2 Sélection

On parle de sélection naturelle lorsque différents génotypes ne sont pas également viables et féconds. A chaque génotype, on peut associer un coefficient s ou coefficient de sélection compris entre 0 et 1.

Dans une maladie létale ou génétiquement létale (les individus peuvent survivre mais ne se reproduisent pas) $s = 1$.

La valeur adaptative (f) d'un génotype est définie comme son efficacité à produire des descendants.

Cette valeur adaptative est mesurée en valeur relative, 1 symbolisant la f du génotype optimum. $s = 1 - f$.

12.4.3 Dérive génétique

Dans les grandes populations, les variations (liées au hasard) du nombre d'enfants produits par des individus de génotypes différents, n'ont pas d'effet significatif sur la fréquence des gènes.

Dans les **petites populations**, ces variations peuvent avoir un effet considérable: - si un gène particulier n'est retrouvé que chez un petit nombre d'individus, si ces individus

n'ont pas d'enfants ou, que par chance (hasard), ces enfants n'héritent pas de ce gène, le gène en question va complètement disparaître de la population (éteint fréquence = 0) et son allèle va devenir fixé (fréquence = 1).

La part de la **dérive génétique aléatoire** dépend de la taille de la population. Elle est plus grande dans les petites populations où les variations dans la fréquence des gènes peuvent être considérables d'une génération à l'autre.

13 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LIVRES DE REFERENCES

- Etienne J et Clause r .2001. Biochimie génétique biologie moléculaire : cours et exercices. Ed Masson. P : 431.
- Richard R. 2003. Genetics. Macmillan Reference USA is an imprint of The Gale Group, Inc., a division of Thomson Learning, Inc. 0-02-865607-5 (Volume 1). P:134.
- Wiiiham D Standfield. 1997. Génétique : cours et problèmes. Série Schum 2ème Ed McGraw-Hill inc. Paris cinquième tirage; traduction française. P :398.
- Maftah A Peti J-M et Julien R 2007. Mini manuel de biologie moléculaire cours QCM/ QROC. Ed Dunod , paris. P : 221.
- Claude Rivière.2000 Génétique formelle des organismes haploïdes. Faculté des sciences Luminy 24p.
- Gérard B et Pierre V 1989. Exercices et problèmes de génétique. Ed 3ème Flammarion médecine-science .p215.
- Tazi Lina 2015. Cours Génétique formelle des eucaryotes. Pp 1-38. Université Mohamed V.
- Jacques.van. Helden La transmission héréditaire des caractères. Université Libre de Bruxelles, Belgique Laboratoire de Bioinformatique des Génomes et des *VIRUS INFLUENZA* Rédacteur Marie-Anne Welti.
- Coulibaly F H. Cours de génétique chimie-biologie- géologie pour les 2èmessannées de .Université de Cocody. Abidjon.

SITES INTERNETS

<http://www.bigre.ulb.ac.be/>

http://uel.unisciel.fr/biologie/introgen/introgen_ch05/co/apprendre_ch5_02.html

https://www.lyceedadultes.fr/sitepedagogique/documents/SVT/SVT1S/04_La_complexite_des_relations_entre_genes.

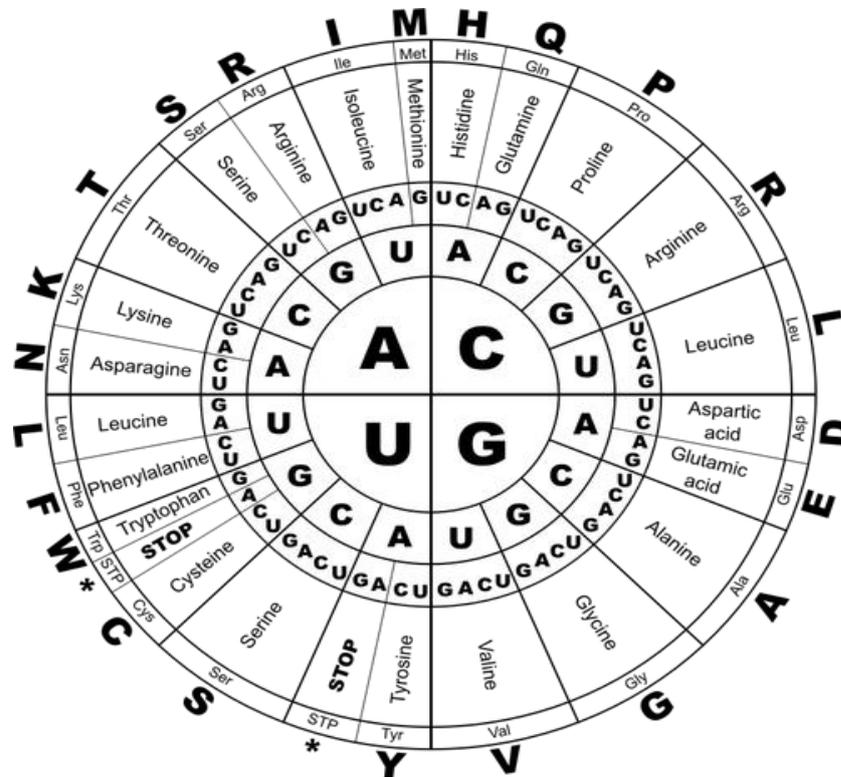
https://www.mun.ca/biology/scarr/2250_Risk_calculation_in_pedigrees.html by SevenM.carr 2014.

ARTICLES DE REFERENCES

- Palade GE. A small particulate component of the cytoplasm. J Biophys Biochem Cytol 1955 ; 1 : 59.in m/s n° 6-7, vol. 17, juin-juillet 2001 Le ribosome à l'échelle atomique médecine/sciences 2001 ; 17 : 771-6.
- Littlefield JW, Keller EB, Gros J, Zamecnick PC. Studies on cytoplasmic ribonucleoproteins particles from the liver of the rat. J Biol Chem 1955 ; 217 : 111.
- Leroux et Tosser-Klopp. INRA Prod. Anim., 2000, « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », numéro hors-série 21-28.
- Watson J. D. & Crik F. H. C. (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171(4356):737-8.
- Curtis, Helena, and Sue Barnes. Biology, 5th ed. New York: Worth, 1989. In Richard R. 2003. Genetics. Macmillan Reference USA is an imprint of The Gale Group, Inc., a division of Thomson Learning, Inc. 0-02-865607-5 (Volume 1). P:134.

14 ANNEXES

Annexe : code génétique selon lequel on passe de la forme acide nucléique ARN (alphabet à 4 lettres) à la forme protéine (alphabet à 20 lettres)



LE CODE GENETIQUE					ADN non transcrit---->acide aminé			
PREMIERE POSITION	DEUXIEME POSITION				TROISIEME POSITION			
	T	C	A	G				
T	Phe	Ser	Tyr	Cys	T			
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C			
	Leu	Ser	CODON STOP	CODON STOP	A			
	Leu	Ser	CODON STOP	Trp	G			
C	Leu	Pro	His	Arg	T			
	Leu	Pro	His	Arg	C			
	Leu	Pro	Gln	Arg	A			
	Leu	Pro	Gln	Arg	G			
A	Ile	Thr	Asn	Ser	T			
	Ile	Thr	Asn	Ser	C			
	Ile	Thr	Lys	Arg	A			
	Met	Thr	Lys	Arg	G			
G	Val	Ala	Asp	Gly	T			
	Val	Ala	Asp	Gly	C			
	Val	Ala	Glu	Gly	A			
	Val	Ala	Glu	Gly	G			
LISTE ALPHABETIQUE DES 20 ACIDES AMINES AVEC LEURS TROIS LETTRES SYMBOLIQUES								
1 : alanine	ala	A	8 : glycine	gly	G	15 : proline	pro	P
2 : arginine	arg	R	9 : histidine	his	H	16 : sérine	ser	S
3 : asparagine	asn	N	10 : isoleucine	ile	I	17 : thréonine	thr	T
4 : Acide aspartique	asp	D	11 : leucine	leu	L	18 : tryptophane	trp	W
5 : cystéine	cys	C	12 : lysine	lys	K	19 : tyrosine	tyr	Y
6 : glutamine	gln	Q	13 : méthionine	met	M	20 : valine	val	V
7 : acide glutamique	glu	E	14 :phénylalanine	phe	F			
NB : ont été colorés en bleu les huit acides aminés indispensables dans l'espèce humaine. L'homme doit absolument les trouver dans son alimentation. Les douze autres, en vert, peuvent tous être synthétisés par l'homme et ne sont pas indispensables dans ses aliments.								

Code génétique

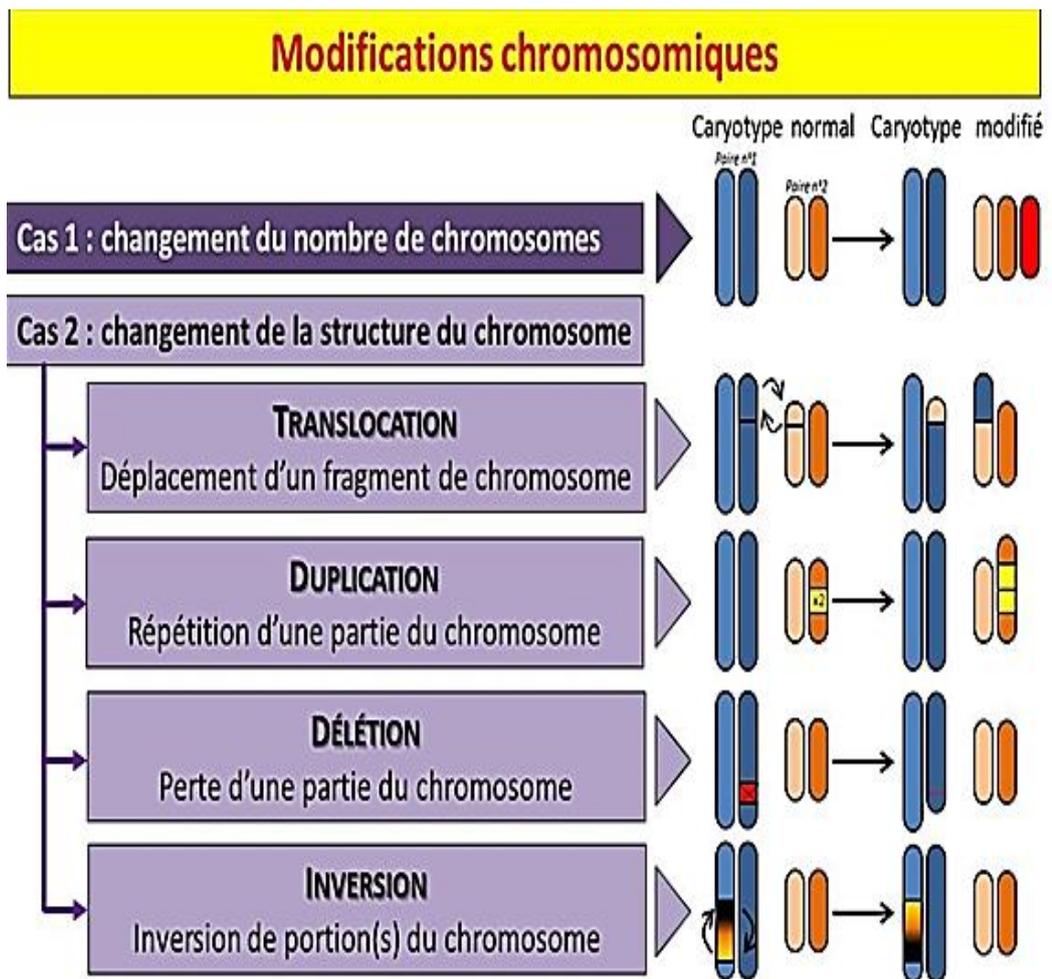
correspondance entre matrice nucléotidique <--> acides aminé

		Deuxième base				
		U	C	A	G	
Première base (extrémité 5')	U	UUU } Phe UUC } UUA } UUG } Leu	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Arrêt UAG } Arrêt	UGU } Cys UGC } UGA } Arrêt UGG } Trp	Troisième base (extrémité 3')
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	
	A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG } Met ou départ	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	

Chez les eucaryotes

Chez les procaryote:

>>> Le codon AUG code pour la formyl-méthionine

Annexe : Différentes mutations chromosomiques

Annexe : Table du χ^2

TABLE DU KHI2

$P \backslash v$	0,999	0,995	0,99	0,975	0,95	0,05	0,025	0,01	0,005	0,001
1	0,000002		0,0002		0,004	3,84	5,02	6,63	7,88	10,8
2	0,002	0,01	0,02	0,05	0,10	5,99	7,38	9,21	10,6	13,8
3	0,02	0,07	0,12	0,22	0,35	7,81	9,35	11,3	12,8	16,3
4	0,09	0,21	0,30	0,48	0,71	9,49	11,1	13,3	14,9	18,5
5	0,21	0,41	0,55	0,83	1,15	11,1	12,8	15,1	16,8	20,5
6	0,38	0,68	0,87	1,24	1,64	12,6	14,5	16,8	18,6	22,5
7	0,60	0,99	1,24	1,69	2,17	14,1	16,0	18,5	20,3	24,3
8	0,86	1,34	1,65	2,18	2,73	15,5	17,5	20,1	22,0	26,1
9	1,15	1,73	2,09	2,70	3,33	16,9	19,0	21,7	23,6	27,9
10	1,48	2,16	2,56	3,25	3,94	18,3	20,5	23,2	25,2	29,6
11	1,83	2,60	3,05	3,82	4,57	19,7	21,9	24,7	26,8	31,3
12	2,21	3,07	3,57	4,40	5,23	21,0	23,3	26,2	28,3	32,9
13	2,62	3,57	4,11	5,01	5,89	22,4	24,7	27,7	29,8	34,5
14	3,04	4,07	4,66	5,63	6,57	23,7	26,1	29,1	31,3	36,1
15	3,48	4,60	5,23	6,27	7,26	25,0	27,5	30,6	32,8	37,7
16	3,94	5,14	5,81	6,91	7,96	26,3	28,9	32,0	34,3	39,3
17	4,42	5,70	6,41	7,56	8,67	27,6	30,2	33,4	35,7	40,8
18	4,90	6,26	7,01	8,23	9,39	28,9	31,5	34,8	37,2	42,3
19	5,41	6,84	7,63	8,91	10,1	30,1	32,9	36,2	38,6	43,8
20	5,92	7,43	8,26	9,59	10,9	31,4	34,2	37,6	40,0	45,3
21	6,45	8,03	8,90	10,3	11,6	32,7	35,5	38,9	41,4	46,8
22	6,98	8,64	9,54	11,0	12,3	33,9	36,8	40,3	42,8	48,3
23	7,53	9,26	10,2	11,7	13,1	35,2	38,1	41,6	44,2	49,7
24	8,08	9,89	10,9	12,4	13,8	36,4	39,4	43,0	45,6	51,2
25	8,65	10,5	11,5	13,1	14,6	37,7	40,7	44,3	46,9	52,6
26	9,22	11,2	12,2	13,8	15,4	38,9	41,9	45,6	48,3	54,1
27	9,80	11,8	12,9	14,6	16,2	40,1	43,2	47,0	49,6	55,5
28	10,4	12,5	13,6	15,3	16,9	41,3	44,5	48,3	51,0	56,9
29	11,0	13,1	14,3	16,1	17,7	42,6	45,7	49,6	52,3	58,3
30	11,6	13,8	15,0	16,8	18,5	43,8	47,0	50,9	53,7	59,7