

### III) La variabilité génétique et les mutations de l'ADN

#### Activité : Les mutations génétiques à l'origine de la variabilité.

Dans une même espèce les individus ont le même nombre de chromosomes et possèdent en commun des gènes. Il existe cependant des variations au sein de l'espèce (couleur des yeux, taille, couleur des cheveux, groupes sanguins, ...).

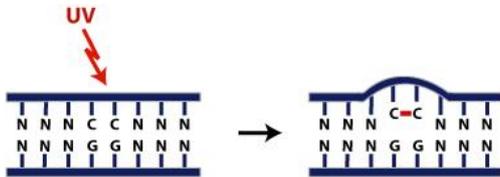
**Objectifs :** Montrer que des anomalies lors de la réplication ou lors d'une exposition à un agent mutagène sont responsables d'une variabilité du génome.

**Analyser** les documents suivants et **montrer** que les facteurs externes augmentent le taux d'erreur de réplication. **Citer** les agents mutagènes et leur importance.

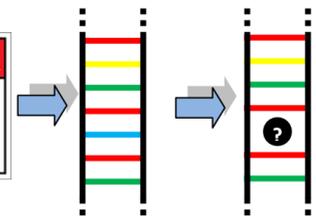
#### Les types de rayon UV et leur caractéristiques

Les types de rayon UV et leur caractéristiques	
<p><b>UV A</b></p> <p>400-315 nm, grande longueur d'onde (95% des UV).</p> <p>Responsables du bronzage immédiat, ils favorisent le vieillissement de la peau et les rides. Ils sont néfastes pour les cellules.</p> <p>Bénéfiques pour la synthèse de vitamine D et pour certaines pathologies de la peau comme le psoriasis.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Non filtrés dans l'atmosphère.</li> <li>- Traversent le verre.</li> <li>- Entraînent un certain bronzage.</li> <li>- Aujourd'hui jugés néfastes à long terme.</li> <li>- Intensité des rayons constante toute la journée.</li> </ul>
<p><b>UV B</b></p> <p>UV de moyenne longueur d'onde, 315 - 280 nm.</p> <p>Responsables des brûlures et des coups de soleil. Production de radicaux libres nocifs pour les cellules. Ils ne pénètrent pas au-delà du derme.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filtration d'une partie dans l'atmosphère (couche d'ozone)</li> <li>- Ne traversent pas le verre.</li> <li>- Causedes coups de soleil, rides, cancer de la peau.</li> <li>- Intensité maximale à midi.</li> </ul>
<p><b>UV C</b></p> <p>UV de courte longueur d'onde, 280-10 nm.</p> <p>Ils sont les plus nocifs mais aussi les plus filtrés par l'atmosphère. On utilise les lampes à UV C pour stériliser des objets ou des pièces.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filtrés en majorité dans l'atmosphère par la couche d'ozone.</li> <li>- Brulent et causent le cancer de la peau</li> <li>- Lampe UV sont les principales sources artificielles.</li> </ul>

Doc 1 : Tableau de comparaison des types de rayon UV et leur caractéristiques



Doc 2 : Action des UV B et UV C sur l'ADN, formation de dimère qui provoque une déformation sources d'erreurs de réplication



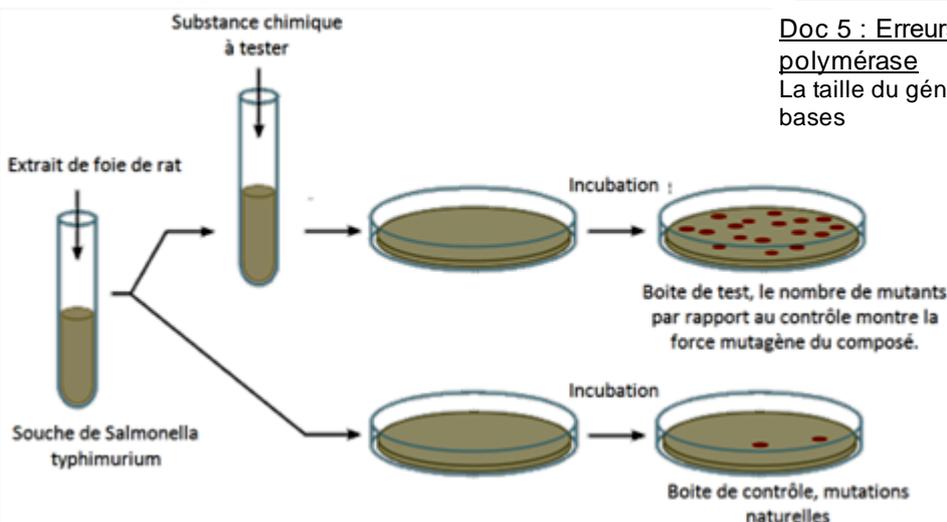
Doc 3. Agents chimiques, l'exemple du benzène.

Le benzène est cancérigène, en raison du fait qu'il se comporte comme un agent intercalant (il se glisse entre les nucléotides provoquant des erreurs de lecture et/ou de réplication).

#### Doc 4. Test d'Ames, déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique.

Les cancers étant souvent liés à des dommages causés dans l'ADN, ce test est donc utilisé afin d'estimer le potentiel cancérigène d'une substance. Le protocole fut décrit au début des années 70 par Bruce Ames et son équipe.

Erreurs avant relecture	$10^{-5}$ (une erreur sur cent mille bases répliquées)
Erreurs après relecture	$10^{-7}$
Erreurs après réparation d'autres enzymes	$10^{-9}$



#### Doc 5 : Erreurs naturelles et relecture de l'ADN polymérase

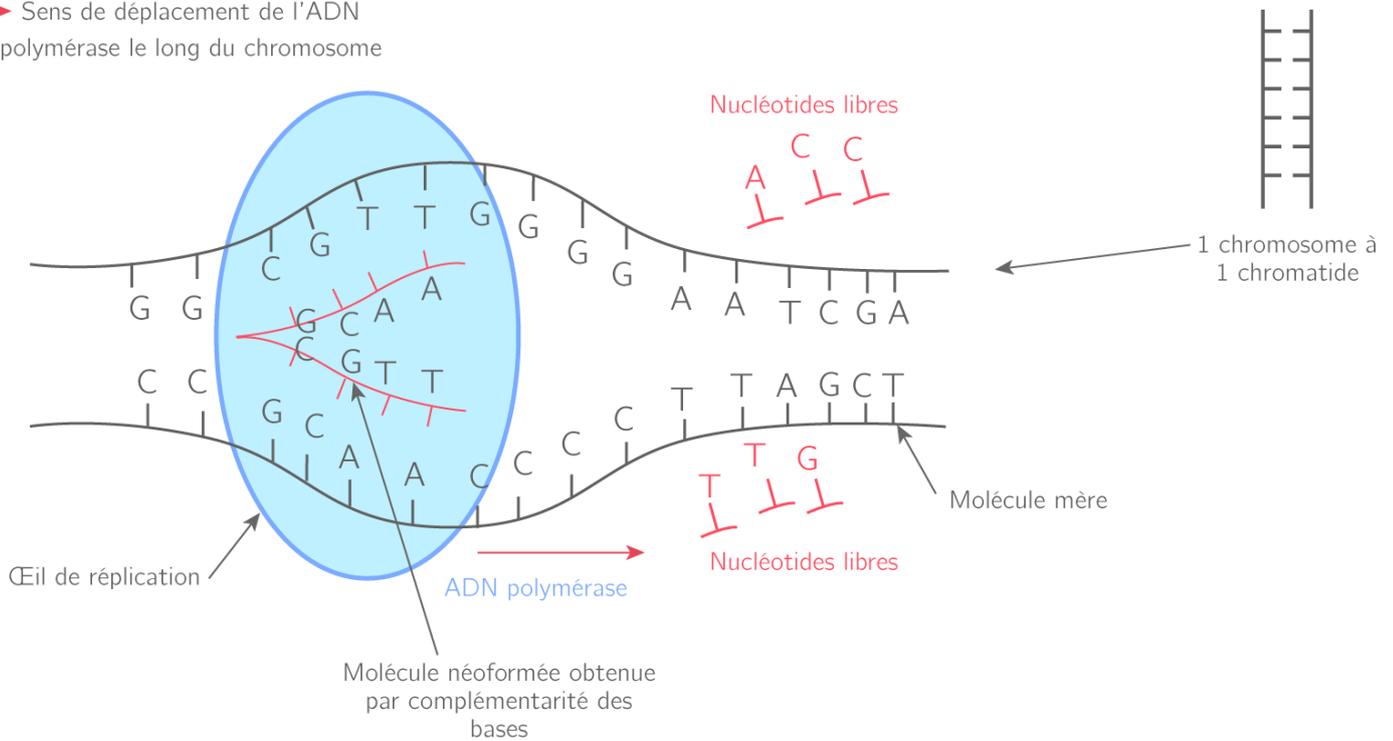
La taille du génome Humain est de 3,2 Milliards de paires de bases

#### Doc 6 : Les radiations ionisantes

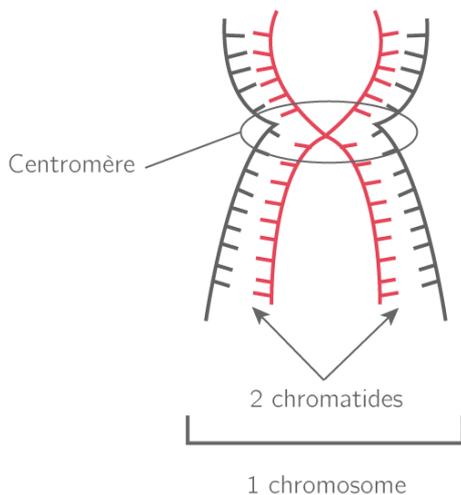
Les radiations ionisantes alpha et gamma provoquent le type de lésions les plus dangereuses pour l'ADN, c'est-à-dire la cassure des 2 brins de la molécule provoquant ainsi la mort de la cellule. On utilise cette propriété pour tuer les cellules cancéreuses dans le cas d'un cancer.

## 1) Les erreurs de réplication

→ Sens de déplacement de l'ADN polymérase le long du chromosome



Chromosome à 2 chromatides reliées par le centromère



Pendant le processus de réplication, l'ADN polymérase fait des erreurs d'appariement des bases ( $10^{-5}$ ). Elle possède un système de relecture par une endonucléase qui coupe la base erronée ce qui ramène le taux d'erreur à  $10^{-7}$ . D'autres enzymes participent à la réparation des erreurs ce qui permet d'observer un taux d'erreur de  $10^{-9}$ , soit une erreur pour un Milliard de paires de bases.

## 2) Les agents mutagènes

### TD1

En plus de ces erreurs causées naturellement, des agents externes entraînent des modifications des séquences d'ADN. Les UV causent la formation de dimère (T-T ou C-C) qui déforment l'ADN (figure 1). Les agents chimiques et les radiations ionisantes dégradent l'ADN par des coupures. Ces différentes agressions du matériel génétique conduisent à des erreurs de réplication qui peuvent causer des cancers ou un dysfonctionnement de la cellule.

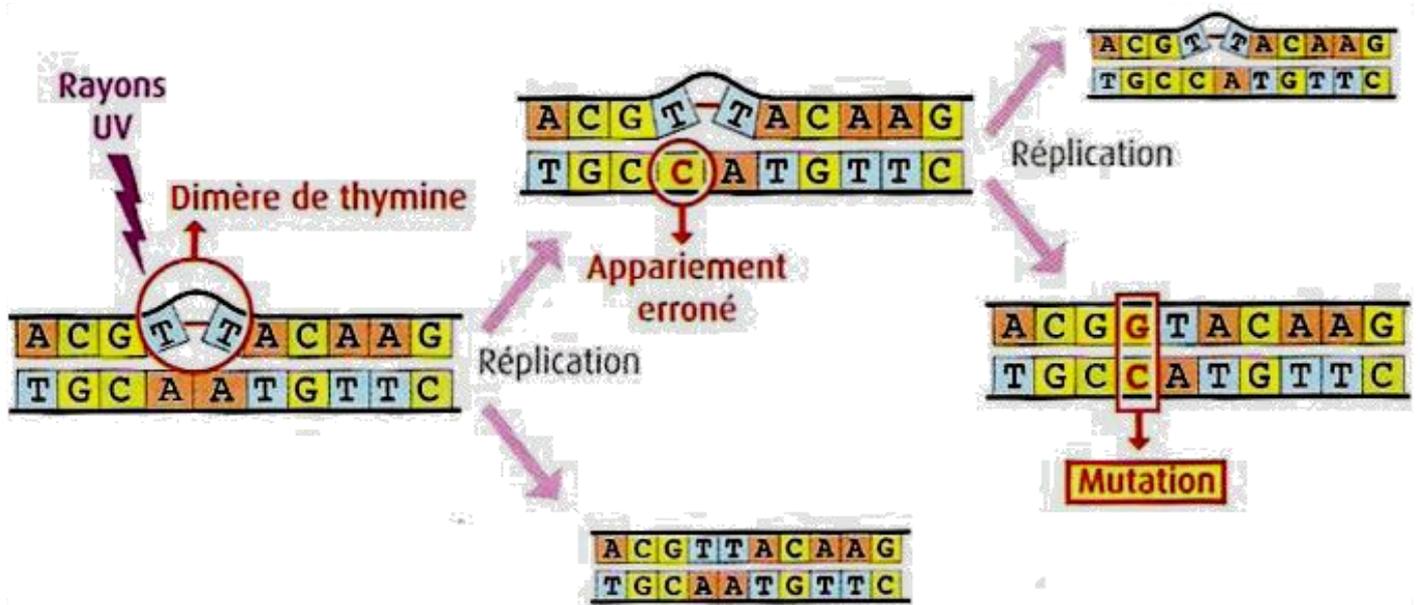


Figure 1 : Action et conséquence des rayons UV sur la séquence génétique

### 3) Les différentes mutations

#### TP3 : Les différentes modifications affectant l'ADN.

ADN Modifié / ADN Normal				Type de mutation		
Caractères du changement				Il existe 3 modifications ponctuelles possibles de la molécule d'ADN, la mutation par substitution, par délétion ou par addition		
Position nucléotides	Nature du changement	Taille de l'ADN (nombre de nucléotides)	Type de mutation	Définition		
THA1	A -> T	444	Substitution	Mutation de la séquence d'ADN par remplacement d'un nucléotide par un autre		
THA5	/ -> A	445	Addition	Mutation de la séquence d'ADN par un ajout d'un nucléotide supplémentaire		
THA6	C -> /	443	Délétion	Mutation de la séquence d'ADN par la suppression d'un ou plusieurs nucléotides		
THA8	126	C -> /	440			Délétion
	127	T -> /				
	128	T -> /				
	129	T -> /				
Béta cod	/	444	/	/		

Une modification de la séquence d'ADN si elle n'est pas réparée provoque une mutation. Quand les mutations touchent une base, on parle de mutation ponctuelle, il en existe trois types (figure 2) :

- La substitution, une base est remplacée par une autre.
- L'addition, une base est ajoutée dans la séquence d'ADN.
- La délétion, une base disparaît de la séquence d'ADN.

Les mutations peuvent affecter des cellules somatiques et perturber ou non leur fonctionnement (mutations silencieuses). Mais peuvent aussi concerner des cellules germinales (cellules donnant des cellules reproductrices), elles sont potentiellement transmises à la descendance et deviennent héréditaires.

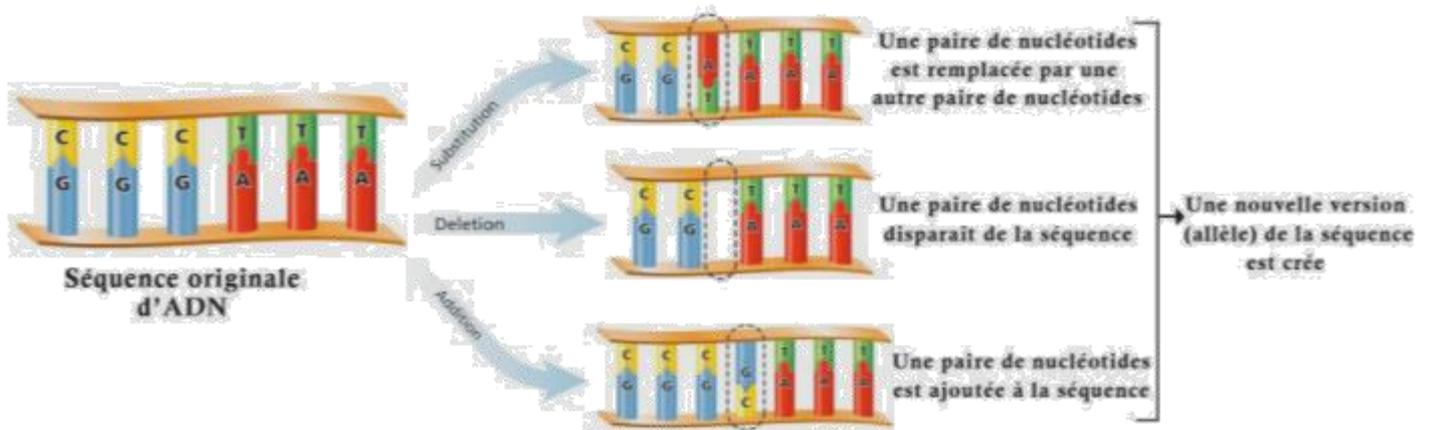
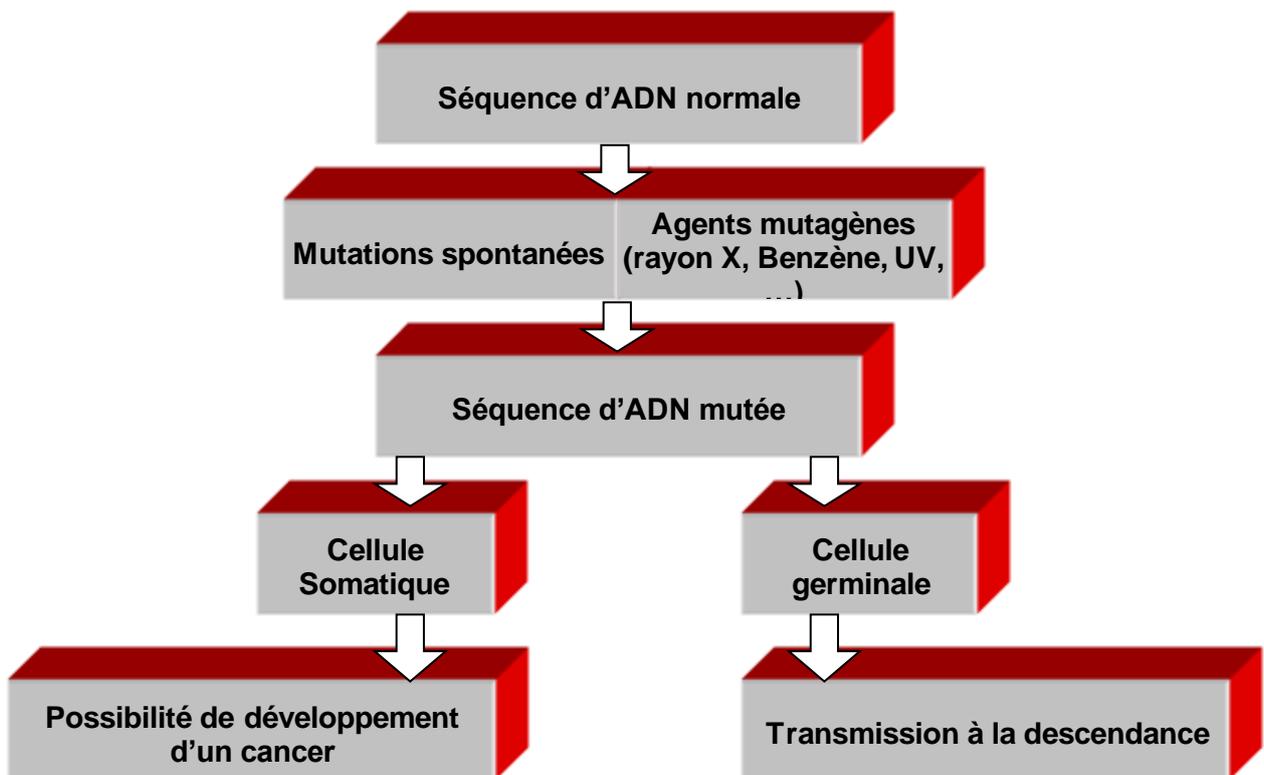


Figure 2 : Les différents types de mutations ponctuelles



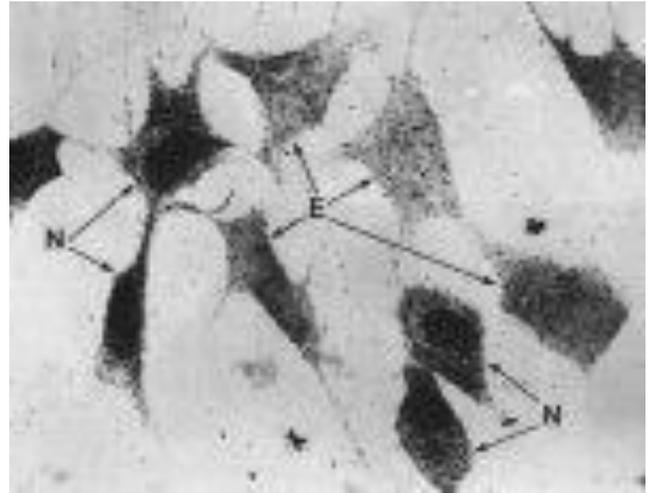
### III) L'expression du patrimoine génétique

Comment expliquer qu'une mutation de la séquence d'ADN entraîne une modification dans le fonctionnement de la cellule ?

- 1) **DOC1** : Des cellules animales sont cultivées sur un milieu contenant un **acide aminé marqué**. Le noyau (N) de certaines cellules a été enlevé (E = énucléées) quelques minutes avant la mise en culture.

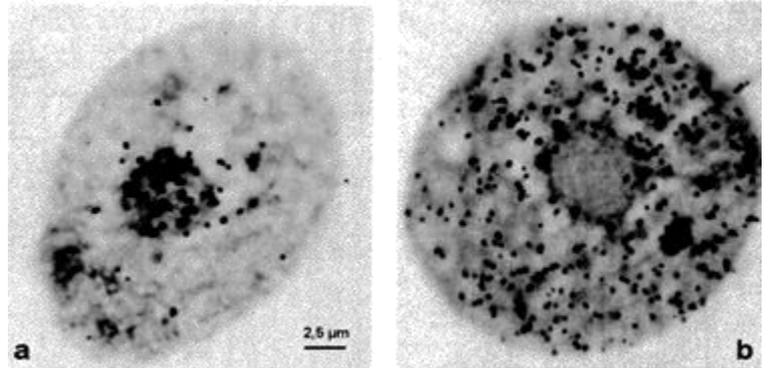
On réalise ensuite une **autoradiographie**.

Alors que l'**information génétique** se trouve dans le **noyau**, on constate que le noyau n'est pas indispensable à la synthèse protéique (= **protéosynthèse**) qui a lieu dans le **cytoplasme**.



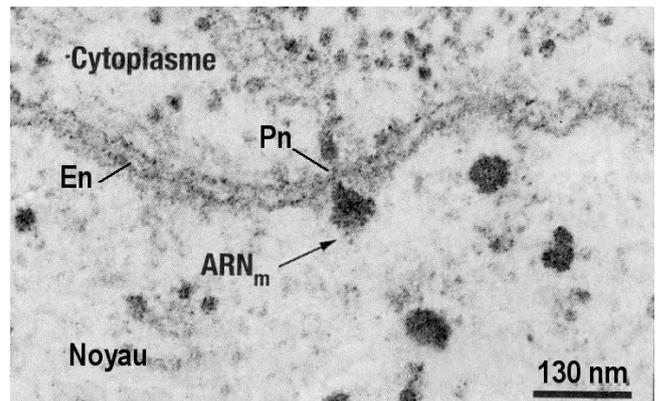
*REMARQUE : L'ARN est une molécule constituée d'une seule chaîne linéaire. La chaîne est un long polymère de 4 structures différentes : les acides ribonucléiques. Ces derniers résultent de l'assemblage d'un acide phosphorique, d'un ribose, d'une base azotée : Adénine ou Guanine ou Cytosine ou **Uracile**.*

- 2) **DOC2** : Des cellules animales sont cultivées sur un milieu contenant de l'**uracile radioactif**.  
a. Après culture sur milieu radioactif pendant 15 minutes.  
b. Après culture sur milieu radioactif pendant 15 minutes puis transfert sur un milieu de culture non radioactif pendant 1h30.



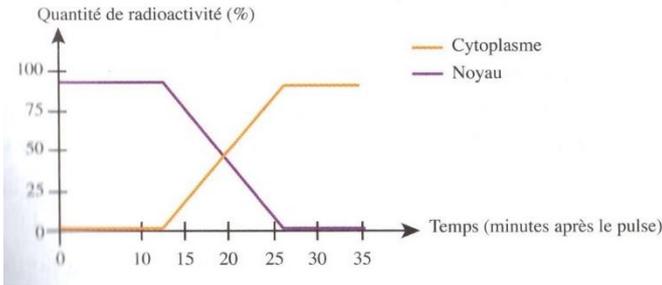
L'ARN est formé dans le noyau mais, contrairement à l'ADN, on le retrouve peu après dans le cytoplasme.

- 3) **DOC3** : Enveloppe nucléaire observée en coupe (MET)  
N : noyau ; En : enveloppe nucléaire ; Pn : pores nucléaires.  
*Images (modifiées) : SVT 1°S Hatier 2001 p.53 fig. 11-12*



A partir des autoradiographies et des micrographies on peut suivre le trajet de l'ARNm grâce à un marquage de l'Uracile (nucléotide uniquement présent dans l'ARN). On voit que les ARNm passent dans le cytoplasme en passant à travers les pores de l'enveloppe nucléaire.

**Exercice d'application :** La technique du pulse/chase consiste à incuber des cellules dans un milieu contenant de l'uracile radioactif pendant quelques minutes, puis à transférer ces cellules sur un milieu dit « froid » contenant de l'uracile non radioactif. La quantité de radioactivité est mesurée au cours du temps dans les différents compartiments cellulaires



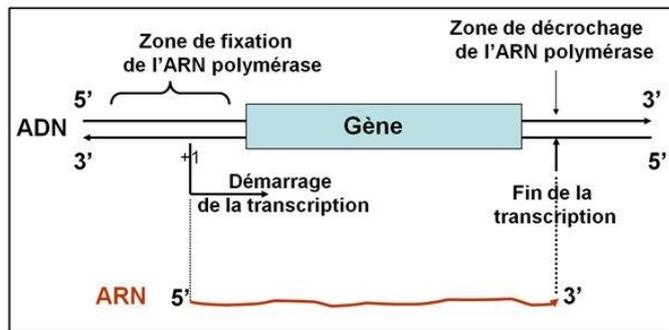
→ A partir de vos connaissances, interprétez les résultats obtenus.

Evolution de la quantité de radioactivité

L'ADN support de l'information génétique est enfermé dans le noyau alors que la synthèse protéique se déroule dans le cytoplasme des cellules. Il existe une molécule, l'ARN (Acide Ribonucléique) qui semble transmettre le message du noyau au cytoplasme.

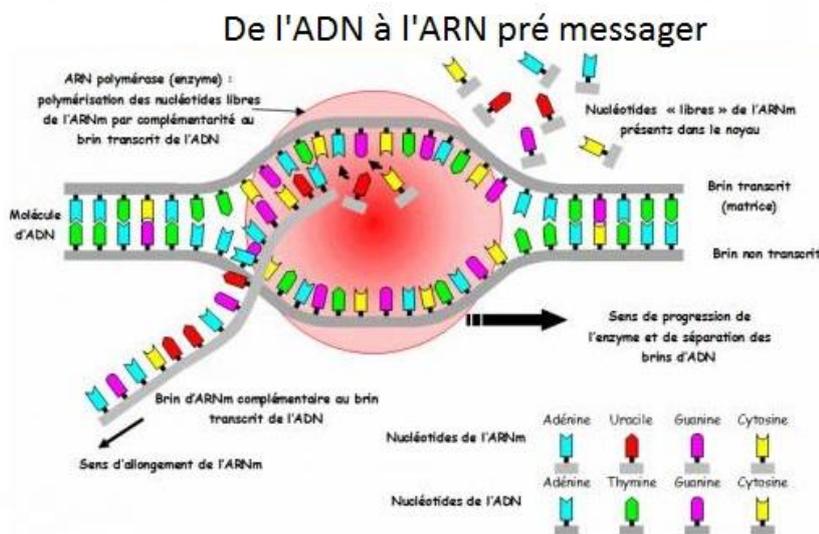
## 1) La transcription, étape de construction de l'ARN messager

DOC4 :



L'ARN messager est assemblé par l'ARN polymérase. C'est une chaîne de nucléotide (A, U pour Uracile qui remplace la Thymine, C et G) simple brin synthétisée à partir d'un brin de l'ADN dit brin transcrit ou brin matrice. L'ARN ainsi formé est identique au brin non transcrit ou brin codant (à part que les T sont remplacés par des U). Les nucléotides assemblés lors de cette synthèse possèdent un sucre différent de l'ADN (Désoxyribose), le Ribose (d'où le nom ARN). Il y a plusieurs étapes (doc 5) :

DOC5 : et vidéo de l'ADN à l'ARN



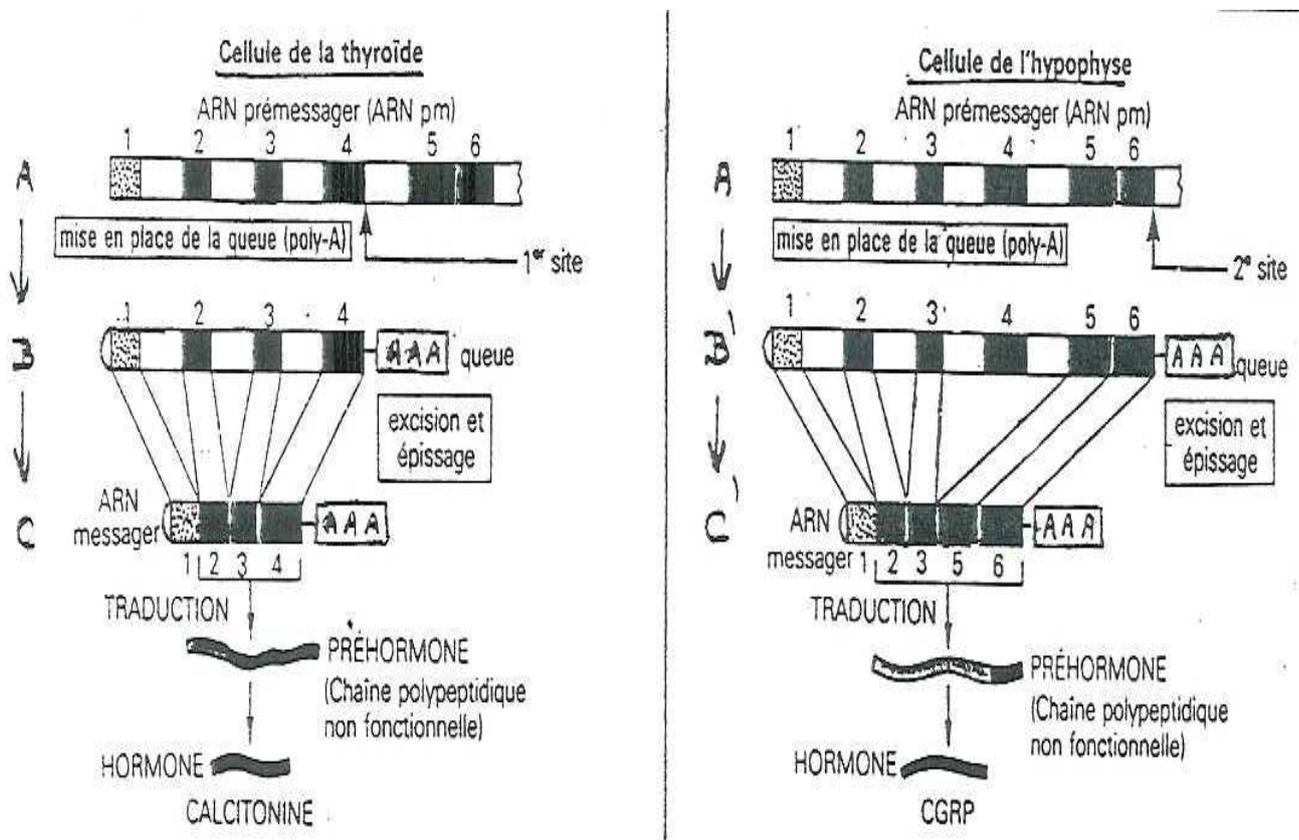
- **L'initiation** : l'ARN polymérase (ARN pol) reconnaît une séquence « promoteur », il se fixe et commence à dérouler l'hélice d'ADN, (remarque : tout l'ADN n'est donc pas transcrit et n'est donc pas codant).
- **L'élongation** : les nucléotides sont assemblés par complémentarité avec le brin matrice.
- **La terminaison** : une séquence « signal » entraîne la libération de l'ARN pol et de l'ARNpm.

## TP4 : La synthèse de l'ARN pm et la maturation de l'ARNm

L'ARN pm subit ensuite une phase de maturation (ajout de séquence protectrice et signal, épissage) pour devenir l'ARNm qui, étant plus petit, passe par les pores nucléaires et rejoint le cytoplasme

### Un gène, plusieurs protéines : Le gène CGRP (Calcitonin Gene Related Product)

Le gène est situé sur le chromosome 11. Il s'exprime dans les **cellules C de la thyroïde** où il code pour une hormone, la **calcitonine**, intervenant dans la régulation de la calcémie (hormone hypocalcémiante). Il s'exprime aussi dans de nombreux neurones du système nerveux central et périphérique où il code pour un neuromédiateur, le **CGRP**. Calcitonine et **CGRP** ont des rôles physiologiques différents. C'est donc l'exemple d'un gène qui code pour deux protéines différentes suivant le type de cellules où il s'exprime.



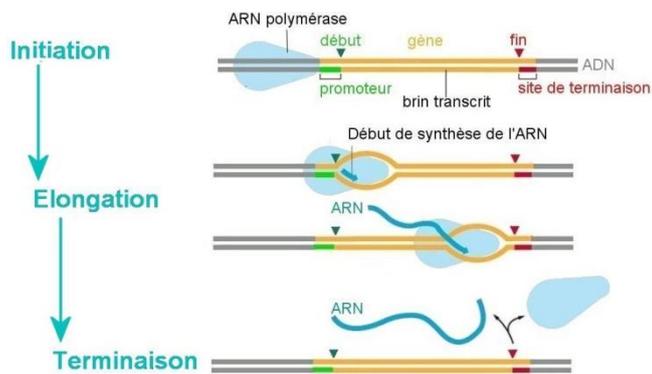
La comparaison entre l'ADN et l'ARNm d'un gène montre que l'ARNm est toujours plus court que le fragment d'ADN transcrit.

Les gènes des eucaryotes ont des séquences codantes, exons, interrompues par des séquences non codantes, les introns.

La molécule d'ARNpm directement transcrite à partir de l'ADN reste dans le noyau.

L'ARNpm est traitée par des enzymes qui éliminent tous les introns. Ceci est possible grâce à un mécanisme d'épissage constitutif.

Remarque : Il y a environ de 100000 à 1 000 000 de protéines, or le nombre de gènes pour les former est de l'ordre de 25000. Ainsi chaque gène peut donner plusieurs ARNm différents grâce à un mécanisme d'épissage alternatif.



Etapes de synthèse d'un ARNm

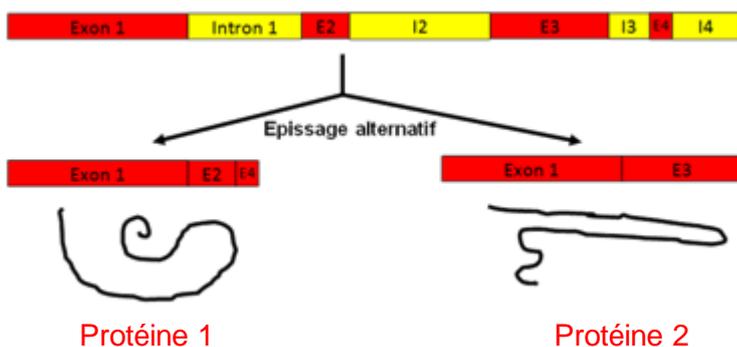
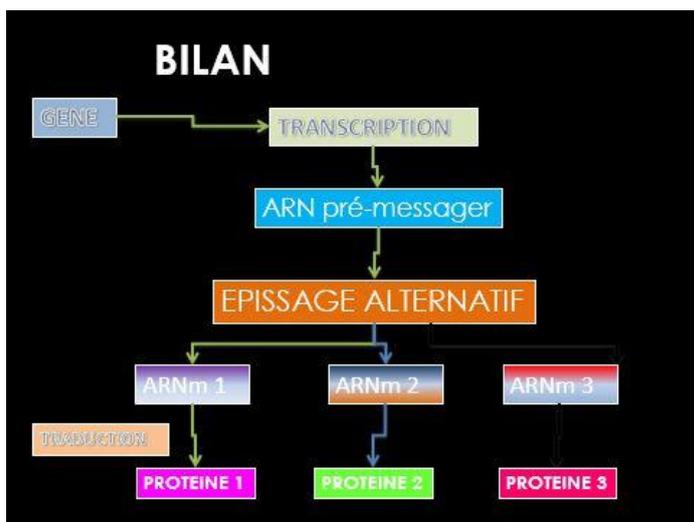


Schéma de l'épissage alternatif, une maturation de l'ARN



2) La traduction, étape de synthèse des protéines.

L'ARN est formé dans le noyau mais, contrairement à l'ADN, on le retrouve peu après dans le cytoplasme.

A partir des autoradiographies et des micrographies on peut suivre le trajet de l'ARNm grâce à un marquage de l'Uracile (nucléotide uniquement présent dans l'ARN). On voit que les ARNm passent dans le cytoplasme en passant à travers les pores de l'enveloppe nucléaire.

L'ARNm va être lu et traduit en Protéine dans le cytoplasme.

### Activité : La Traduction de l'ARNm, la synthèse des protéines.

L'ARN pm après maturation donne l'ARNm qui est envoyé dans le cytoplasme par l'intermédiaire des pores nucléaires. Les protéines sont formées d'un assemblage d'acides aminés. Il existe 4 nucléotides différents constituant l'ARNm (AUCG) et 20 acides aminés qui forment des chaînes par des jonctions peptidiques pour donner des protéines.

**Objectifs :** Comprendre la traduction de l'information génétique au sein du cytoplasme.

1) Après avoir lu l'introduction, **proposer** une problématique et une hypothèse.

Problématique : Comment les 4 nucléotides peuvent-ils coder 20 acides aminés différents ?

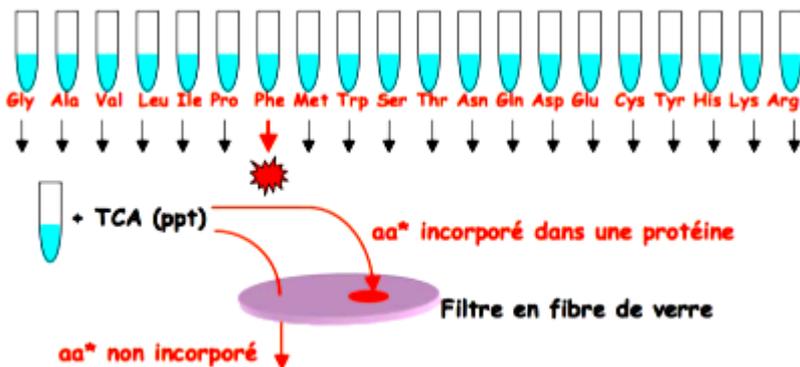
Hypothèse : On suppose qu'il existe une combinaison de plusieurs nucléotides pour donner un acide aminé.

2) **Exploiter** l'expérience historique suivante pour montrer qu'à des séquences de nucléotides correspond une chaîne d'acides aminés.

#### L'expérience historique de Nirenberg et Matthaei (1961) du « poly-U »

Les travaux de Nirenberg et Matthaei (1961) (Prix Nobel de Médecine 1968), débutent après la découverte d'une enzyme capable de polymériser, *in vitro*, des ribonucléotides pour former une chaîne ayant les propriétés de l'ARNm.

Dans un milieu acellulaire (absence de cellules intactes mais des composants cellulaires purifiés), Nirenberg synthétise un polypeptide (séquence d'acides aminés) à partir d'un ARNm de synthèse. Cet ARNm n'est formé que d'une seule sorte de nucléotides (par exemple : UUUUUUUUUUUUUU, qu'il appellera "poly-U"). Il ajoute un acide aminé marqué (avec du tritium <sup>3H</sup> radioactif) qu'il change dans chaque essai. Il fait 20 essais en marquant à chaque fois un acide aminé différent.



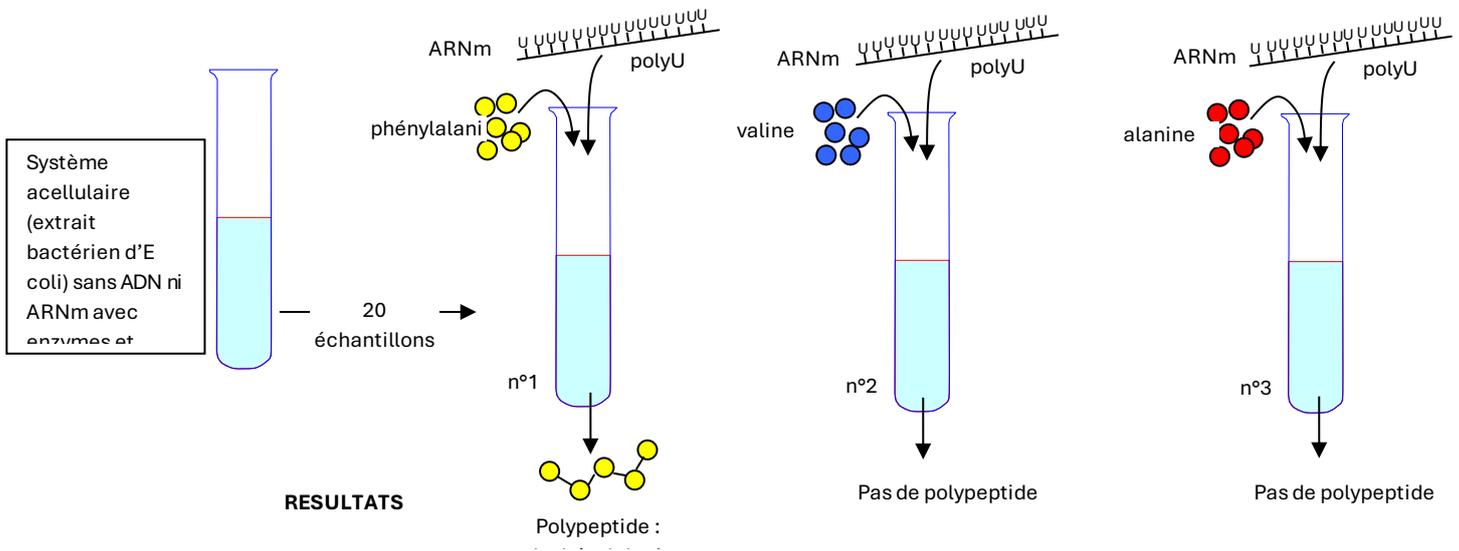
ARN de synthèse	Polypeptide obtenu
Poly A	poly 'lys' : polymère de la lysine
Poly C	poly 'pro' : polymère de la proline

Ce polymère "poly 'U'" déclenche la synthèse d'un polypeptide monotone (poly 'Phe') constitué uniquement d'acides aminés "phénylalanine".

"TCA (ppt)" = étape de précipitation des protéines formées. "aa" = acide aminé.

Source : [www.edu.upmc.fr](http://www.edu.upmc.fr)

Expérience de Nirenberg et Matthaei (1961)



Autres expériences : avec

ARNm	polypeptide obtenu
polyA	polymère de lysine 
polyC	polymère de proline 

« Nirenberg et Matthaei réalisent l'expérience qui ouvre la voie au déchiffrement du code génétique. Ils mettent au point une méthode de synthèse protéique avec des extraits d'E. coli, de l'ATP, les 20 acides aminés et un ARN messager synthétique. En utilisant un ARN de synthèse poly U, poly A ou poly C, ils obtiennent respectivement un polymère de phénylalanine, de lysine, ou de proline. Khorana et son équipe finissent ensuite le déchiffrement du code avec des ARN messagers synthétiques comprenant de nombreux polynucléotides définis. » Texte extrait d'un manuel de SVT

Dans cette expérience historique, des acides aminés marqués sont mis tour à tour en contact avec du matériel cellulaire et une chaîne poly U de synthèse. En cas de réaction, le filtre en fibre de verre arrête la molécule synthétisée.

On observe que seule une chaîne de poly Phe précipite et est bloquée par le filtre.

On voit avec le tableau qu'il en est de même pour une chaîne poly A qui correspond à un poly Lys et une chaîne poly C qui donne poly Pro.

On en conclut que la Phénylalanine est le seul acide aminé correspondant à une succession de U.