

Variations génétiques et réparation de l'ADN

Les polymorphismes

Les mutations

Objectifs spécifiques :

- Définir les polymorphismes de restriction ou RFLP
- Définir et classer les polymorphismes de répétition et d'insertion
- Définir les SNPs (Single nucléotide polymorphisme)
- Définir les polymorphismes insertion et de répétition d'un nombre variable de copies ou CNV.
- Définir une mutation génétique
- Distinguer une mutation germinale d'une mutation somatique
- Enumérer les différents types de mutations
- Définir une mutation ponctuelle
- Préciser l'origine des mutations ponctuelles
- Enumérer les conséquences des mutations ponctuelles en fonction de leur localisation dans un gène de classe I
- Préciser le mécanisme de survenue des duplications et des délétions de tailles différentes
- Décrire la conversion génique
- Décrire la fusion de gènes
- Décrire les insertions de séquences de nucléotides
- Décrire les mutations perturbant l'épissage
- Décrire les délétions et insertions de petite taille
- Décrire les délétions et insertions qui perturbent le cadre de lecture
- Définir les mutations instables en donnant des exemples de pathologies causées par ce type de mutations

1. Définition les polymorphismes de restriction ou RFLP :

C'est en 1980 que Botstein et coll. ont publié une carte génétique du génome humain qui, pour la première fois, utilisait des marqueurs génétiques issus de la technique de *polymorphisme de longueur des fragments de restriction* (de l'anglais *Restriction Fragment Length Polymorphism*, ou RFLP). Cette technique a eu immédiatement un gros succès auprès des généticiens, car elle donnait accès à un nombre très élevé de marqueurs distribués le long du génome. Ni les isozymes, ni même les protéines totales révélées en électrophorèse bidimensionnelle, n'offraient cette possibilité.

1.1. Les étapes de la technique de RFLP :

- Extraction de l'ADN des différents génotypes à analyser
- Digestion de l'ADN par un enzyme de restriction. C'est l'extrême spécificité de ces enzymes qui est exploitée pour la mise en évidence du polymorphisme : une présence-absence de site de restriction entraîne un polymorphisme de longueur de fragments. Ce phénomène n'étant pas rare, la digestion de l'ADN de deux individus quelconques dans une espèce donnée produit de très nombreuses différences de longueur des fragments. S'il est aisé d'obtenir des fragments polymorphes, leur visualisation est délicate. C'est ce que permettent les étapes suivantes.
- Les fragments de restriction sont séparés selon leur taille par une électrophorèse en gel d'agarose. L'ADN étant chargé négativement, il migre de la cathode vers l'anode. Les fragments les plus petits sont les plus rapides.
- L'ADN est transféré sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. La position relative des fragments d'ADN est préservée durant le transfert.
- La membrane est incubée dans une solution contenant une sonde marquée préalablement, soit par la radioactivité, soit chimiquement. La sonde s'hybride alors avec le ou les fragments d'ADN avec lesquels elle présente une homologie. On utilise couramment deux sources de sondes, les sondes génomiques (ADNg) et les sondes d'ADN complémentaire (ADNc). Les sondes génomiques sont obtenues par digestion de l'ADN total du génome nucléaire de l'espèce étudiée à l'aide d'un enzyme de restriction. Pour pallier partiellement les problèmes posés par les ADN répétés, on a couramment recours à des enzymes de restriction sensibles à la méthylation, comme Pst 1, qui vont générer de très grands fragments dans les régions répétées méthylées, fragments qui ne seront pas clonables ou amplifiables. Les sondes d'ADNc correspondent nécessairement à des gènes exprimés, puisqu'elles sont obtenues à partir des ARN messagers.
- L'endroit, ou les endroits, où la sonde s'est fixée sont révélés en plaçant la membrane au contact d'un film sensible à la radioactivité (figure), ou en réalisant une réaction enzymatique colorée spécifique.

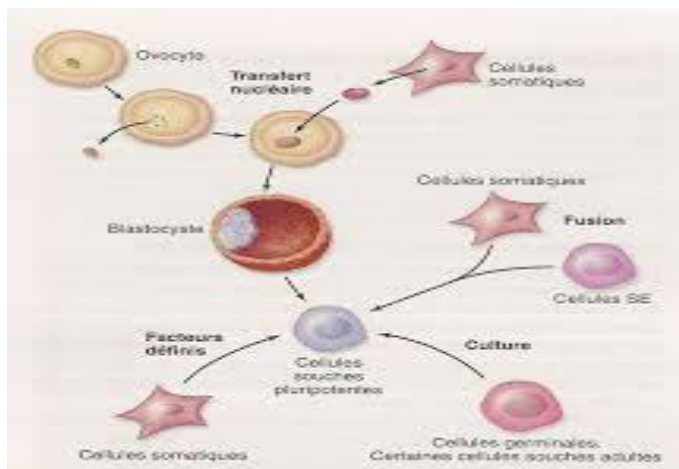
2. Définition de la mutation :

On estime que les complexes enzymatiques appelés aussi des endonucléases corrigent 99.9% des erreurs. Il en existe 130 chez l'homme. On appelle alors mutation, une modification de la molécule d'ADN qui a échappé aux processus de réparation. Lors des réplifications ultérieures, la mutation peut se transmettre au cours des cycles cellulaires successifs. La comparaison de molécules d'ADN révèle l'existence de plusieurs types de mutations ponctuelles, c'est à dire portant sur une paire de nucléotides

2.1. Différents types de mutation :

➤ **Les mutations somatiques :** c'est-à-dire celles qui ne concernent pas les cellules sexuelles, disparaîtront au plus tard avec la mort de l'individu. Elles ne sont donc pas transmises à sa descendance.

➤ **Les mutations germinales :** c'est-à-dire celles qui se produisent dans les cellules à l'origine des gamètes sont au contraire transmissibles à la descendance de l'individu. En effet, une mutation portée par un spermatozoïde ou un ovule se retrouvera présente dans la cellule-œuf et par conséquent dans toutes les cellules du nouvel individu. Elle devient alors héréditaire.



3. Les mutations ponctuelles :

Ces mutations se regroupent en plusieurs catégories qui diffèrent par les conséquences sur la protéine codée par le gène muté.

3.1. Mutation « faux-sens » :

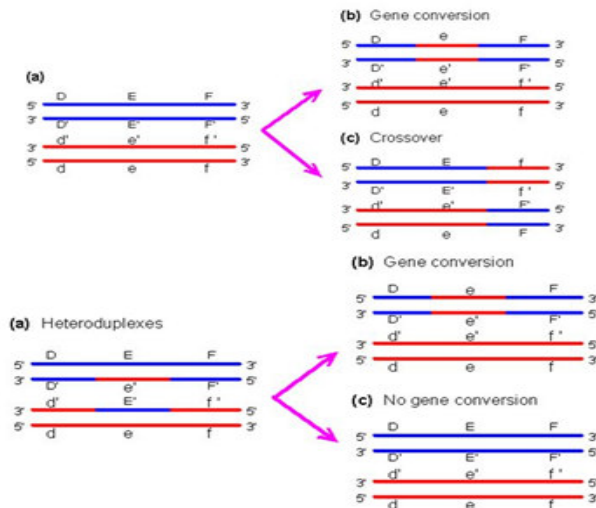
Mettent en jeu l'altération d'une unique base ce qui modifie le codon de telle sorte que l'acide aminé soit lui aussi modifié donc modification de la protéine qui en résulte. De telles mutations ont généralement lieu dans l'une des deux premières bases du codon. Ce type de mutation peut provoquer une maladie si la fonction de la protéine est altérée.

3.2. Mutation « non-sens » (stop) :

Ce sont des mutations ponctuelles qui changent le codon d'un acide aminé en un codon stop. Cette mutation provoque l'arrêt prématuré de la traduction et il en résulte une protéine plus courte. Ce type de mutation est souvent la cause de maladie car dans tous les cas, la fonction de la protéine est altérée.

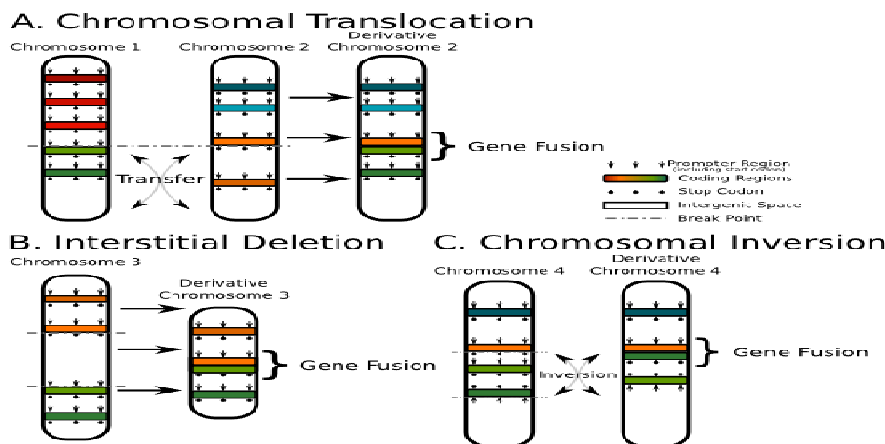
4. Conversion génique :

Transfert non réciproque d'information génétique entre deux gènes ayant une homologie élevée.



5. Fusion de gène :

Un gène de fusion est un gène hybride formé de deux gènes précédemment indépendants. Elle peut survenir à la suite d'une translocation, d'une suppression interstitielle ou d'une inversion chromosomique. Les gènes de fusion se sont révélés être répandus dans tous les principaux types de néoplasie humaine.



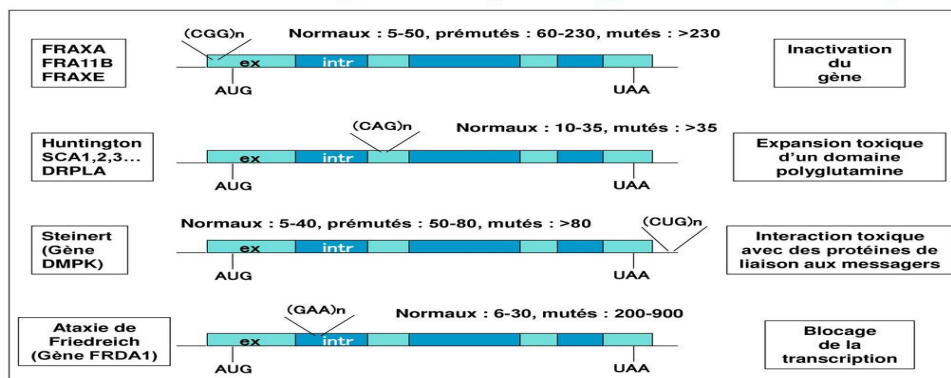
6. Deletion et insertion de petite taille (deletion perturbant le cadre de lecture) :

L'insertion ou la délétion d'une base dans un exon décale le cadre de lecture ce qui peut provoquer l'apparition d'un codon stop prématurément en aval. Cette mutation est appelé « Frame-shift ». ce sont des deletions ou insertions d'un nombre non multiple de 3 bases ce qui provoque un décalage du cadre de lecture.



7. Les mutations instables en donnant des exemples de pathologies causées par ce type de mutations : Ces mutations évoluent d'une génération à l'autre, elles correspondent à des répétitions importantes de certains triplets au niveau de l'ADN (CAG et GGG). Elles sont rencontrées dans certaines maladies génétiques (Syndrome de l'X fragile, dystrophie myotonique de Steinert, chorée de Huntington).

Mutations dynamiques (ou instables)



Refarence :

Département de Génétique Médicale - Hôpital Timone Enfants, AP-HM, Et INSERM UMR910 - Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée Marseille