

TD 2: Altérations du génome bactérien

La **mutation** est une modification héritable de la séquence du génome d'un organisme. Ces évènements modifient la séquence d'ADN et ainsi le phénotype de l'individu.

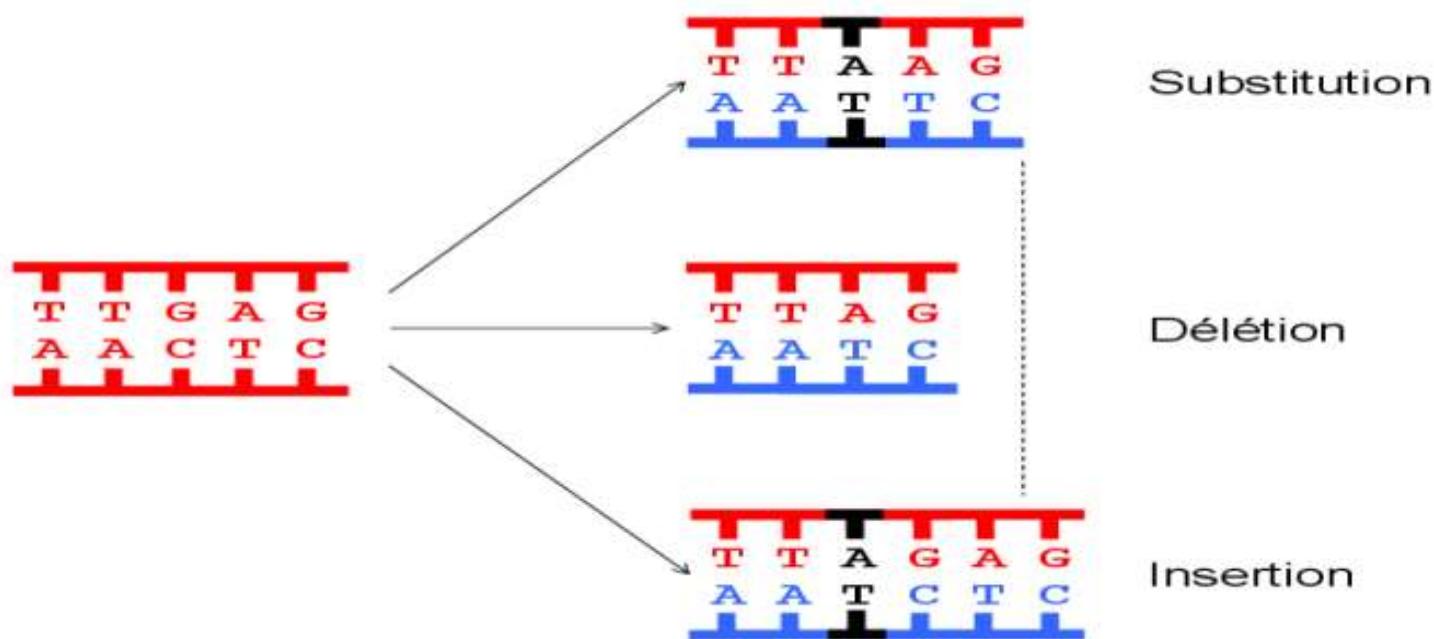
- ✓ Soit **spontanément** lors de la division cellulaire (réPLICATION),
- ✓ Soit sous l'influence d'agents extérieurs appelés **mutagènes** = mutation **induite**. Ce gène ainsi modifié est transmis aux cellules filles. 2 grandes classes de mutations :
 - **mutation ponctuelle** = changement touchant un seul endroit du gène. Elle provoque un changement correspondant dans la protéine codée par ce gène.
 - **réarrangement** touche une région étendue. Les réarrangements les plus simples sont les insertions de matériel génétique supplémentaire ou les délétions d'une partie du gène.

1. Causes des mutations

- Spontanées (erreurs de copie de l'ADN polymérase au cours de la réPLICATION) :
 - ✓ Une base mal copiée : **mutation par substitution** (A à la place de T...)
 - les **transitions** : purine remplacée par une purine ($A \leftrightarrow G$) ou pyrimidine par une pyrimidine ($T \leftrightarrow C$)
 - les **transversions** : pyrimidine remplacée par une purine ou l'inverse (ex : $A \leftrightarrow C$).
 - ✓ Une base oubliée : **mutation par délétion**
 - ✓ Une base ajoutée : **mutation par insertion**
- Ces accidents ne concernent qu'une seule base et constituent des mutations ponctuelles.
- Induites : les agents physiques ou chimiques peuvent **altérer** les bases (désamination d'un C, altération de dimères de T, lacune dans un brin). Ces anomalies structurales de l'ADN conduiront, en l'absence de réparation de l'ADN, à des substitutions, délétions ou insertions modifiant la séquence d'ADN lors de la réPLICATION qui suivra.

Substitutions de bases

- Les substitutions entraînant le changement d'acides aminés sont des **mutations faux-sens**. Lorsque la mutation n'entraîne pas de modification d'acides aminés, et ceci dû à la redondance du code génétique en position 3, on parle de **mutation silencieuse**. Lorsque la substitution entraîne l'apparition d'un codon stop (UAA, UGA et UAG), la mutation est une **mutation non-sens**.



2. Classification selon la conséquence

Si la mutation se produit au niveau d'un gène, l'ARNm transcrit à partir de ce gène sera également modifié. Toute mutation sur une partie d'ADN qui s'exprime entraîne automatiquement un changement au niveau du codon.

- Les mutations sans changement du cadre de lecture
- Les mutations avec changement du cadre de lecture

	A	T	G	C	C	G	A	T	C	T	A	A	A	G	C	T
1 ^{er} cadre de lecture	Met		Pro		Ile		STOP									
2 ^e cadre de lecture		Cys		Arg		Ser		Lys								
3 ^e cadre de lecture			Ala		Asp		Leu		Lys							

2.1. Mutations sans changement du cadre de lecture

- Mutation silencieuse : sans conséquence. Ex : $UAU \rightarrow UAC$: les 2 codent pour Tyr.
- Mutation faux-sens : un codon est remplacé par un codon codant pour un aa chimiquement très différent. Ex : AAG (Lys) $\rightarrow GAG$ (Glu).
- Mutation non-sens : transforme un codon codant un aa en un codon stop. Ex $UAU \rightarrow UAA$. Si l'erreur se produit dès le début de la chaîne peptidique, les conséquences seront évidemment graves. Si l'erreur se produit vers la fin de la chaîne, cela peut être négligeable ou pas (protéine tronquée). Inversement, un codon stop peut être transformé en un codon codant un aa. La protéine sera alors plus longue.
- Mutation conservatrice : un codon codant pour un aa est remplacé par un codon donnant un aa du même groupe. Ex : AAA (Lys) $\rightarrow AGA$ (Arg). Lys et Arg faisant partie du même groupe d'aa (basiques), cette mutation est le plus souvent sans conséquence.

2.2. Mutations avec changement du cadre de lecture (frameshift)

- Elles sont dues à l'insertion ou à la délétion d'une ou plusieurs bases qui entraînent un décalage dans la lecture des triplets. Ces mutations sont graves si le déphasage se produit dès le début du gène. En effet, on obtient dans ce cas une protéine complètement différente, ou pas de protéine du tout s'il y a des codons stop.

Mutations Frameshift

Sauvage	... lys. ser. pro. ser. leu. asn. ala. AAA. A GU. CCA. UCA. CUU. AAU. GCU. ... <u>phase de lecture modifiée (-1)</u>
Deletion (-)	... lys. val. his. his. leu. met. AAA. GUC. CAU. CAC. UUA. AUG. CU. ... <u>phase de lecture modifiée (+1)</u>
Insertion (+)	... lys. ser. thr. ile. thr. stop ... AAA. AGU. A CC. AUC. ACU. UAA. UGC. U. ...

3. Lésions ou dommages de l'ADN

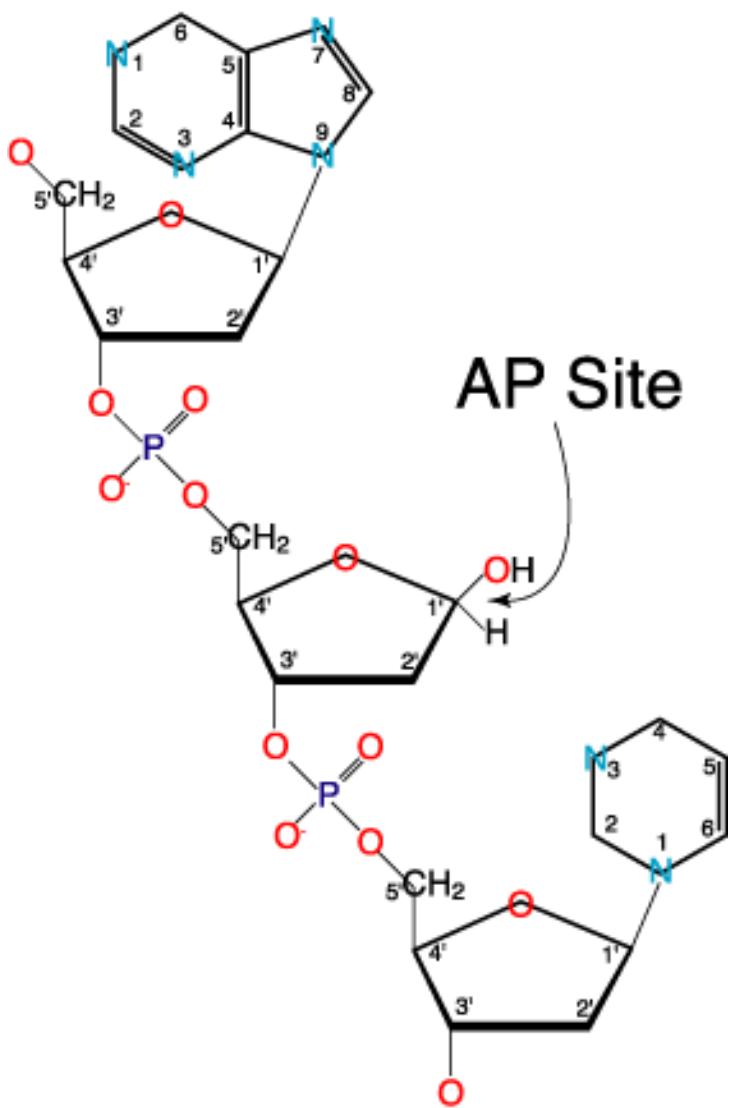
- Les lésions sont soit endogènes sans agents exogènes, soit provoquées par des agents mutagènes qui peuvent être physiques ou chimiques. Les **agents mutagènes** sont des agents capables de produire des lésions de l'ADN par effet direct ou indirect.
- ✓ Les agents mutagènes physiques correspondent aux rayonnements X ou γ , aux rayonnements UV et à la chaleur.
- ✓ Les agents mutagènes chimiques sont essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O_2^-) qui peuvent oxyder de manière non catalytique les molécules biologiques et les engager dans des réactions chimiques incontrôlées.

3.1. Lésions endogènes sans agents exogènes

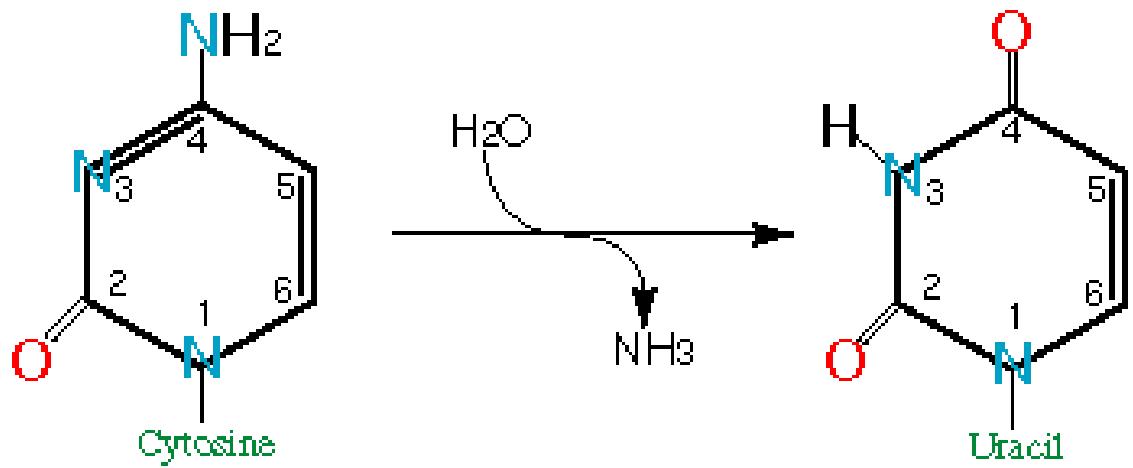
Ces lésions ne sont pas soumises à des agents exogènes et sont ponctuelles. On observe :

- **Des mauvaises incorporations de bases** : association de l'adénine avec la cytosine et de la thymine avec la guanine...
- **Des dépurinations et dépyrimidations** qui correspondent à des pertes de bases par hydrolyse de la liaison β -N-glycosidique. Ces pertes sont spontanées à pH acide par rupture de la liaison N-glycosidique. Suite à ces pertes d'informations la polymérase ne sait pas quelle base incorporer, il y a ainsi formation d'un site AP.

- **Des désaminations** qui correspondent à des pertes de groupement amine sur les bases C, A et G. Les désaminations sont dues à des excès de chaleur. L'adénine est transformée en hypoxanthine, la guanine en xanthine et la 5-méthylcytosine en thymine.
- **Des erreurs de méthylations**, en effet les méthylations sont normales, participent à l'expression du gène et se réalisent souvent au niveau des îlots CpG. Les erreurs de méthylations donnent des alkylations sur le carbone C6 au lieu du carbone C5 entraînant des absences de formation de liaisons H entre bases.



Perte d'une base : site apurique ou
apyrimidique

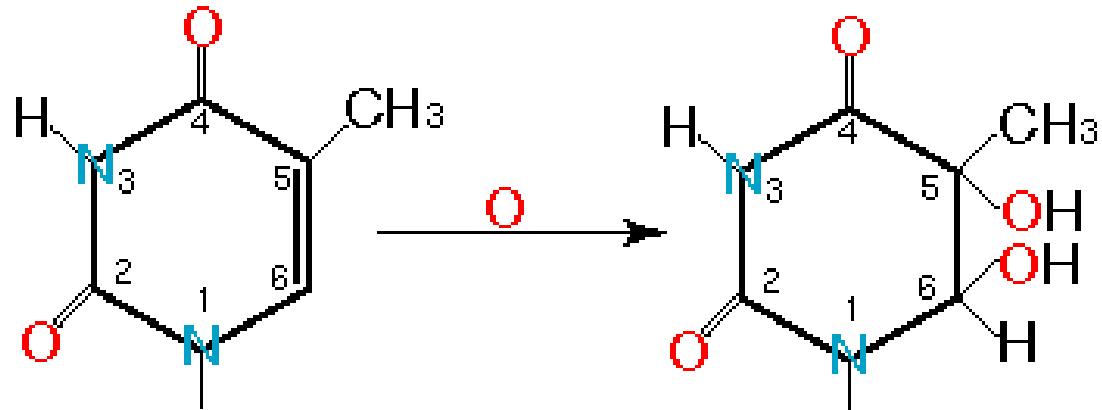


-Désamination

adénine / hypoxanthine

guanine / xanthine

5mCytosine / thymine

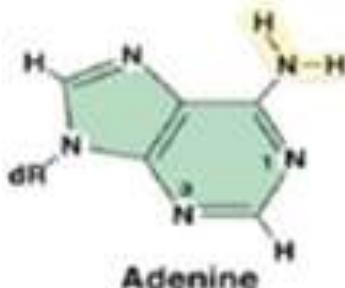
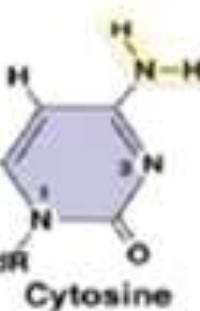
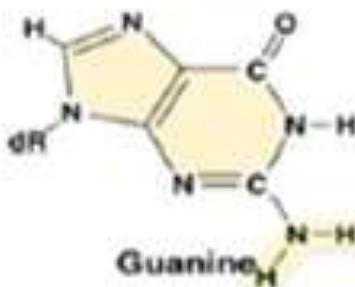


- Oxydation

La désamination

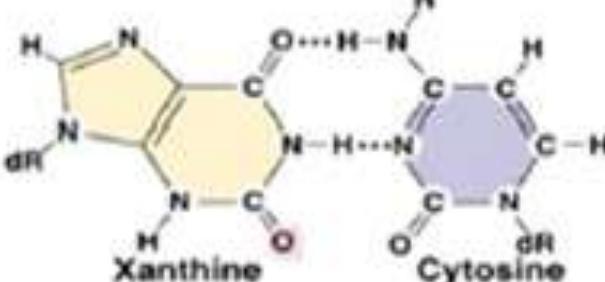
C'est la perte d'un groupement amine

bases habituelles

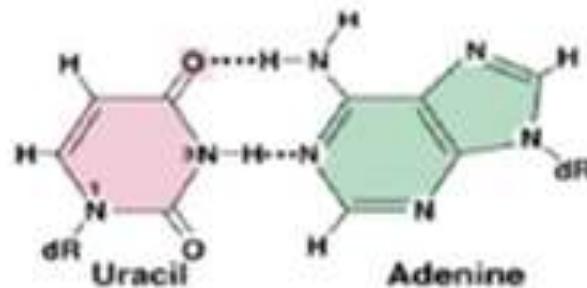


désamination

bases modifiées



nouveau appariement



mutation

aucune

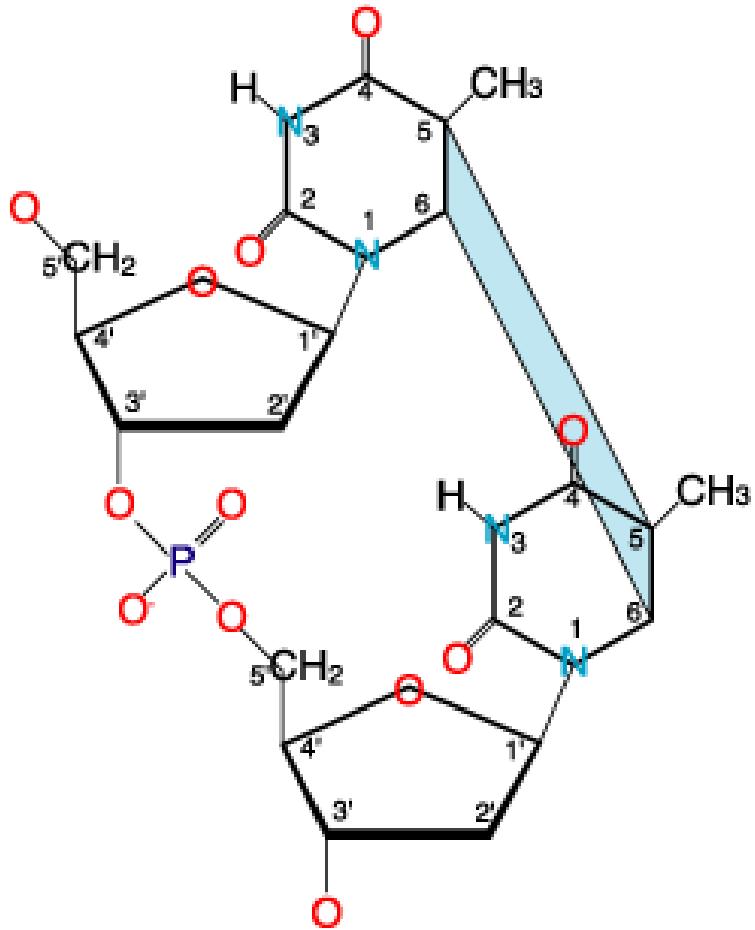
CG → TA

AT → GC

3.2. Lésions provoquées par des agents mutagènes

a) Les lésions dues à des mutagènes physiques

- **Formation de dimères de Thymine (TpT)** qui correspondent à la formation de liaisons covalentes entre deux Thymine. Ces dimères de Thymine créent des distorsions de l'hélice d'ADN et peuvent être fixés par action de l'UV.
- **Ionisation de bases et coupures simple ou double brin de l'ADN par rupture du D-ribose** dus aux rayonnements ionisants : rayons X et rayons γ .
- **Désamination**, en effet les excès de chaleur peuvent également avoir une origine exogène.

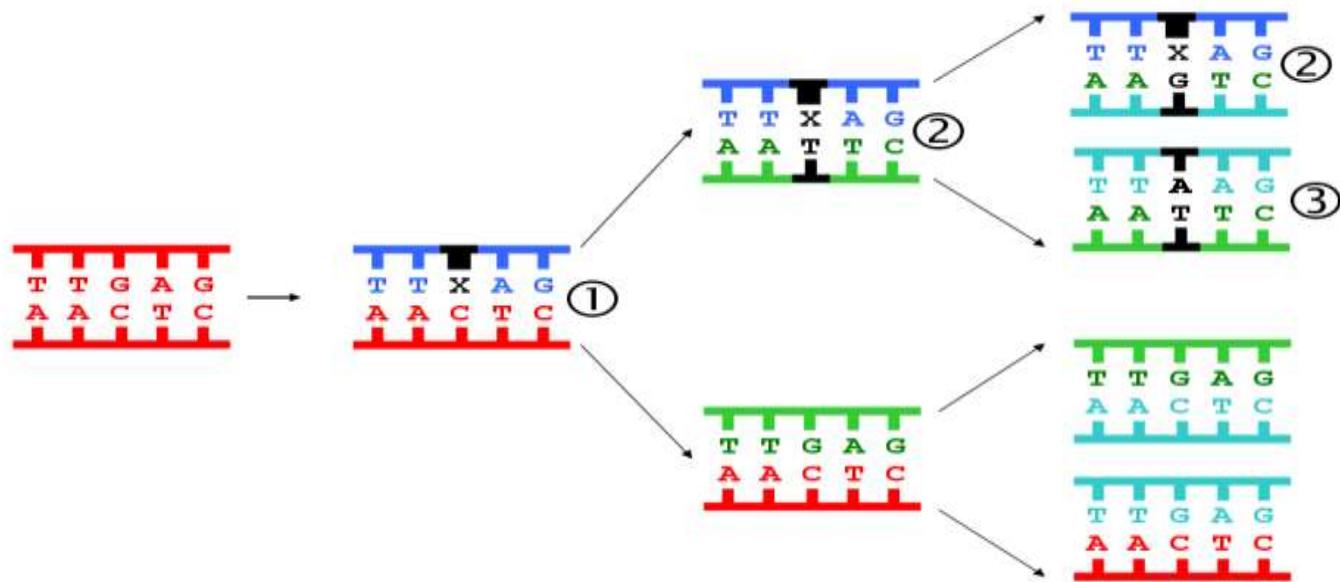


- Altérations dues à la lumière : dimères de thymine

b) Les lésions dues à des mutagènes chimiques :

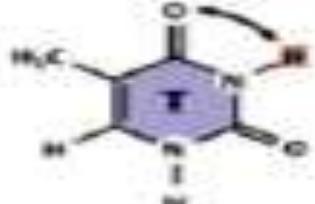
On les distingue par leur mode d'action :

- Les analogues des bases : Leur structure chimique rappelle les purines et pyrimidines. Ils peuvent être incorporés à l'ADN lors de la réplication. Le bromo-uracile (BU), semblable à T (Br remplace CH₃), **s'apparie** à A. Il a une forte tendance à se tautomériser en « enol ». Il s'apparie alors à G.
- **Tautomère** = analogue structural avec déplacement H et double liaison, Conséquence = propriétés d'appariement différentes



Formes habituelles

cétone



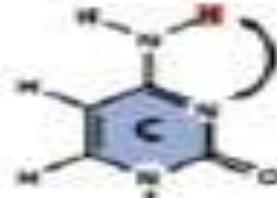
Formes rares



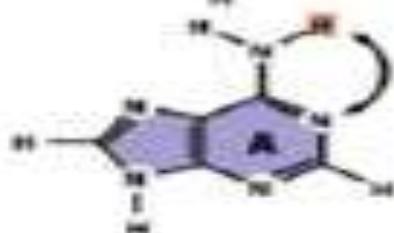
énol



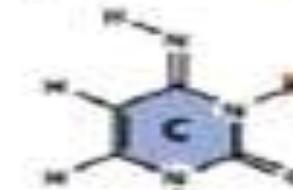
Guanine



Cytosine



Adenine



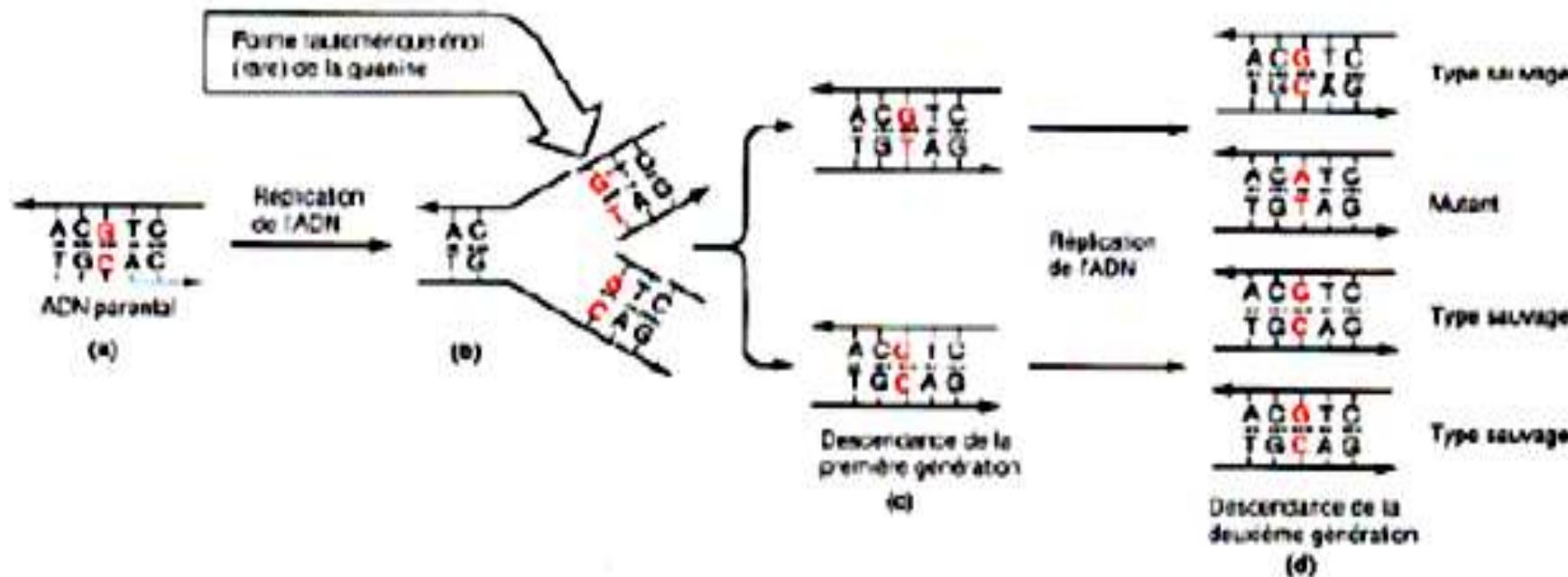
imino



imino

- La forme cétone est la forme habituelle de l'ADN
- La forme imino : rare
- La forme énol : rare
- La tautomérisation est le passage d'une forme à une autre

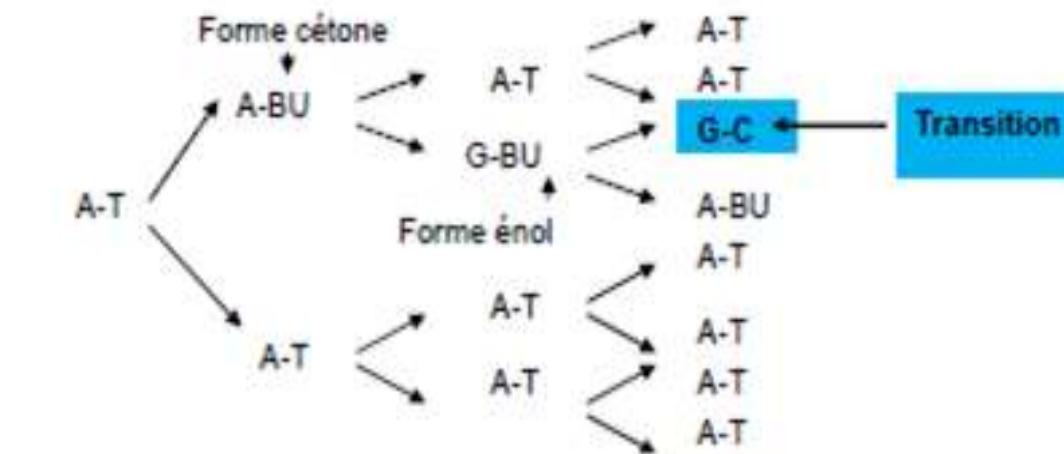
Exemple de mutation par tautomérisation



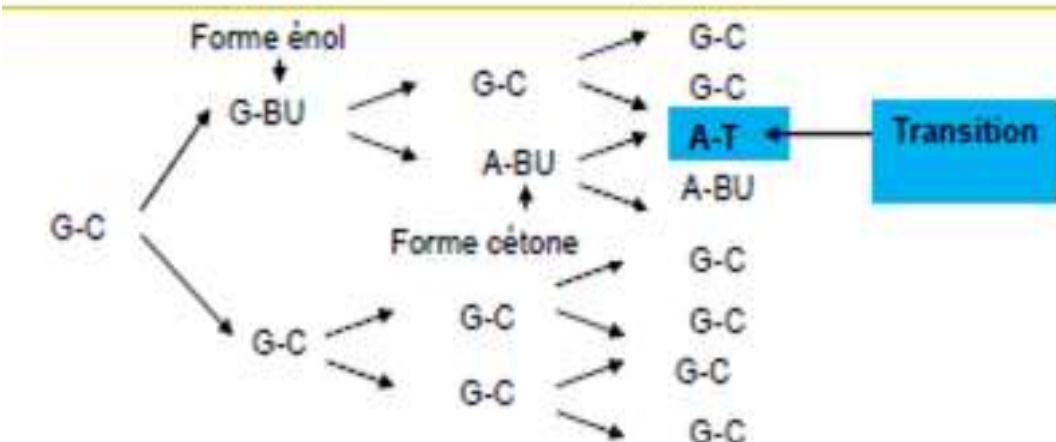
- (a) Une guanine subit un changement tautomérique vers sa forme énol (rare) lors de la réPLICATION. (b) Dans sa forme énol la guanine s'apparie avec la thymine. (c et d) Lors de la réPLICATION suivante, la guanine revient à sa forme cétone plus stable. La thymine incorporée face à la forme énol de la guanine entraîne l'incorporation d'une adénine (en face de la thymine) à la réPLICATION suivante, que l'on voit en (d). Le résultat est une substitution de G-C en A-T.

- Les substances chimiques altérant la structure et l'appariement des bases :
 - ✓ L'acide nitreux HNO₂ est à l'origine de **désaminations** (perte d'un groupe NH₃) (ex : C ->U ; meC->T (*dans point chaud CpG*) ; A-> hypoxanthine).
 - ✓ Les agents **alkylants** : la nitrosoguanidine NG, l'éthyl-méthylsulfonate EMS, l'éthyl-éthylsulfonate EES réagissent avec les bases en **ajoutant des groupements méthyl ou éthyl**.
- Les agents intercalants : Acridine, BET sont des molécules qui s'insèrent entre les bases de l'ADN. Ceci entraîne un étirement de l'ADN. La polymérase insère alors une base surnuméraire en face de la molécule étrangère.

Mécanisme de création de mutations par le 5-BU : le 5-BU provoque des mutations lorsqu'il est incorporé sous une forme et change ensuite de forme.



Dans son état cétone le Bu s'apparie à l'adénine et forme ensuite dans son état énol un appariement avec la guanine, provoquant une transition A-T → G-C



Dans son état énol le Bu s'apparie à la guanine puis dans son état cétone à l'adénine, provoquant une transition G-C → A-T