

Exercices de réflexion**Exercice 1**

Considérez la séquence d'ADN suivante qui code pour une petite protéine, dont vous pouvez traduire la séquence en vous aidant du code génétique.

1 10 20 30 39
 | | | | |
 ATGGAGCCCTTTTCTGATTAGCGGGCGGGAAGCCACATAA

Met- Glu- Pro- Phe- Leu- Ile- Ser- Gly- Arg- Glu- Ala- Thr - ***

		Second Letter				
		T	C	A	G	
First Letter	T	TTT } Phe TTC } TTA } Leu TTG }	TCT } Ser TCC } TCA } TCG }	TAT } Tyr TAC } TAA } Stop TAG } Stop	TGT } Cys TGC } TGA } Stop TGG } Trp	T C A G
	C	CTT } Leu CTC } CTA } CTG }	CCT } Pro CCC } CCA } CCG }	CAT } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGT } Arg CGC } CGA } CGG }	T C A G
	A	ATT } Ile ATC } ATA } ATG } Met	ACT } Thr ACC } ACA } ACG }	AAT } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGT } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	T C A G
	G	GTT } Val GTC } GTA } GTG }	GCT } Ala GCC } GCA } GCG }	GAT } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGT } Gly GGC } GGA } GGG }	T C A G

A. Définissez si les mutations suivantes sont “silencieuses”, “nonsense” ou “missense”.

Mutation #1: Nucleotide 12: T → C

Cette mutation change le codon TTT en TTC. Le codon original code pour une phenylalanine, le codon muté aussi. Il s'agit d'une mutation silencieuse.

Mutation #2: Nucleotide 22 G → T

Cette mutation change le codon GGG en codon TGG. Le codon original code pour une glycine, le codon muté code pour un tryptophane. Il s'agit d'une mutation missense.

Mutation #3: Nucleotide 28 G → T

Cette mutation change le codon GAA en codon TAA. Le codon original code pour un acide glutamique, le codon muté est un codon STOP. Il s'agit d'une mutation nonsense.

B. Définissez si les mutations #1, #2 et #3 sont des transitions ou des transversions

Transition : changement de base purine en base purine (G → A et A → G) ou de base pyrimidine en base pyrimidine (C → T et T → C)

Transversion: quand une base purine est changée en pyrimidine ou vice-versa.

La mutation #1: T → C est une transition entre pyrimidines

Les mutations #2 et #3 sont des transversions: G (purine) → T (pyrimidine)

C. Quelle est la conséquence de la délétion du nucléotide G en position 24?

```

1       10       20       30       38
|       |       |       |       |
ATGGAGCCCTTTCTGATTAGCGG-CGGGAAGCCACATAA

```

La délétion cause un changement du cadre de lecture (frameshift) du ribosome. La séquence en acides aminés de la protéine est différente après le site de la délétion.

D. Quelle est la conséquence de l'addition d'un T entre les nucléotides 19 et 20?

```

1       10       20       30       39
|       |       |       |       |
ATGGAGCCCTTTCTGATTTAGCGGGCGGGAAGCCACATAA

```

La conséquence de cette insertion est une terminaison prématurée de la protéine, puisqu'un stop codon (TAG) est directement créé par le nucléotide inséré.

Exercice 2

Considérez encore la séquence (wild type) du gène codant pour cette même petite protéine.

```

1       10       20       30       39
|       |       |       |       |
ATGGAGCCCTTTCTGATTAGCGGGCGGGAAGCCACATAA

```

Ainsi qu'un autre allèle de ce gène (variant 1).

```

1       10       20       30       39
|       |       |       |       |
ATGCAGCACTCTCTGATCAGCGCGCAGGACGCTACATAG

```

A. Argumentez si vous pensez que l'une de ces versions est plus susceptible d'être endommagée par les rayons ultraviolets. (Note : il n'est pas nécessaire de connaître la séquence de la protéine ou sa fonction ; concentrez-vous sur l'ADN).

On peut argumenter que la séquence wild type est plus susceptible d'être mutée par les rayons ultraviolets. Les UV tendent à causer la liaison anormale de deux thymidines consécutives sur le brin d'ADN. Il y a deux endroits dans la séquence WT où des T se suivent (et un endroit où c'est le cas sur le brin opposé, en face des deux A consécutifs de cette séquence). Ces motifs ne sont pas présents dans la séquence du variant #1. Il est donc possible que ce variant soit moins

endommagé par les UVs. Il faut noter que cela n'est pas la seule manière qu'ont les rayons ionisants de muter les séquences d'ADN.

B. Par quel mécanisme ces dommages sont-ils corrigés ?

- A. Excision de base (Base excision repair, BER)
- B. Excision de nucléotides (Nucleotide excision repair, NER)**
- C. Recombination homologue (Homologous recombination, HR)
- D. Jonction d'extrémités non homologues (non homologous end joining, NHEJ)

C. Et quelle maladie est associée avec une incapacité d'utiliser ce mécanisme pour corriger ces dommages ?

Xeroderma pigmentosum

Exercice 3

Nous avons vu que les radiations ionisantes peuvent causer des cancers ; par exemples, suite à une exposition à de la radioactivité. Paradoxalement, ces radiations ionisantes sont utilisées comme traitements contre certains cancers. Pourquoi sont-elles efficaces et pourquoi sont-elles généralement moins "dangereuses" pour une cellule saine que pour une cellule cancéreuse ?

Pour répondre à cette question en fonction de ce que nous avons vu en cours, réfléchissez aux questions suivantes

- Quels sont les effets biologiques des radiations ionisantes sur l'ADN?

Les radiations ionisantes causent typiquement des cassures de l'ADN, soit d'un seul brin soit des deux brins de la molécule.

- Quelles différences peut-on trouver entre cellules cancéreuses et cellules saines au niveau de la détection et réparation des dommages à l'ADN?

Dans les cellules cancéreuses, les mécanismes de détections et réparation de l'ADN sont souvent peu efficaces. C'est le cas quand des mutations touchent des proto-oncogènes (ras), des suppresseurs de tumeurs (comme p53), ou des protéines impliquées dans la réparation de l'ADN (comme BRCA1), cela peut mener à la formation de tumeurs.

- *Quelles différences peut-on trouver entre cellules cancéreuses et cellules saines au niveau des checkpoints où l'intégrité du génome est évaluée par les cellules? (à voir la semaine prochaine)*

Les cellules tumorales ne réagissent pas aux dommages à l'ADN, malgré des cassures d'ADN et l'accumulation de mutations. Au contraire, les cellules saines arrêtent leur division pour réparer l'ADN.

- Sachant qu'une dose élevée de radiations cause un grand nombre de dommages à l'ADN, expliquez pourquoi elles sont utilisées dans la lutte contre le cancer.

Dans le cas de radiations thérapeutiques, la haute dose de radiation cause beaucoup de trop cassures dans l'ADN pour que la cellule puisse survivre. Les cellules tumorales qui se divisent rapidement sont plus susceptibles car elles répliquent l'ADN cassé, ce qui n'est plus viable (pensez à la division cellulaire si les chromosomes sont cassés en petit bouts). De plus, elles ont souvent un défaut dans les checkpoints G1/S ou G2/M et ne pausent pas le cycle cellulaire pour réparer leur ADN, et elles ont aussi souvent des défauts dans ces mécanismes de réparation. Donc ces cellules cancéreuses meurent. Les cellules non cancéreuses qui ont un mécanisme de réparation fonctionnel et des checkpoints fonctionnels, peuvent mieux faire face à ces cassures de l'ADN.

Il faut néanmoins noter que les radiations causent des dommages aux tissus en tuant des cellules saines et que ces thérapies doivent cibler le plus précisément possible les tumeurs. Finalement, même s'il y a des risques associés à la radiothérapie, comme un risque accru de développer un cancer possible dans le futur, le bénéfice (c'est-à-dire soigner un cancer qui est présent) est jugé positivement.

- Quels mécanismes de réparation de l'ADN sont utilisés pour réparer les cassures de double-brins d'ADN? Et lequel des deux est moins susceptible de causer la perte de fonction d'un gène?

Jonction d'extrémités non homologues: cause généralement des mutations à l'endroit où les brins sont joints.

Recombinaison homologue: Utilise une séquence homologue (chromatide soeur, ou chromosome homologue) comme matrice pour réparer la molécule cassée. Ce mécanisme est plus fiable pour réparer un gène de manière fonctionnelle.

Exercice 4

Les enzymes de réparation de l'ADN réparent les erreurs de réplifications sur le nouveau brin d'ADN, en utilisant l'ancien brin comme template. Si les mismatches étaient réparés en choisissant le brin template de manière aléatoire (ancien ou nouveau), est-ce que ce système de réparation diminuerait le nombre d'erreur de répllication ? Est-ce qu'on aurait moins, le même nombre ou plus de mutations que sans système de réparation ?

Le mismatch repair corrige des erreurs dans le nouveau brin, en utilisant l'ancien brin comme template. Si l'ancien brin était « réparé », en utilisant le nouveau brin qui contient une erreur comme template, cette erreur deviendrait permanente dans le génome et l'information

correcte serait « effacée ». Si les mécanismes de réparation ne distinguaient pas les deux brins, il y aurait 50% de chance de réparer les erreurs.

Si l'ADN n'est pas réparé mais est répliqué, 50% de l'ADN contiendra la mutation (réplication qui utilise le nouveau brin muté comme template) et 50% n'aura pas la mutation (réplication qui utilise l'ancien brin comme template). Si les systèmes de réparation utilisaient aléatoirement les 2 brins d'ADN, il y aurait donc au total le même nombre de mutations que sans système de réparation.

Exercice 5 – Vrai ou Faux

A. La stabilité de l'ADN des cellules germinales et somatiques sont essentielles pour la survie de l'espèce

VRAI ou FAUX

Si l'ADN des cellules somatiques n'est pas assez stable, l'individu risque de mourir (cancer par exemple) avant de se reproduire et l'espèce serait à risque. Si l'ADN des cellules germinales n'est pas stable, les mutations vont s'accumuler et être transférées aux générations suivantes avec un risque d'extinction de l'espèce.

B. Les différentes cellules de notre corps n'ont pas un génome identique au niveau de sa séquence en nucléotides

VRAI ou FAUX

A chaque division, le génome est copié et des mutations sont introduites. Le taux de mutation chez l'humain est estimé à 1 nucléotide par 10^{10} nucléotides. Comme il y a 6.4×10^9 nucléotides dans chaque cellule diploïde, une moyenne de 0.64 mutations aléatoires sera introduite dans chaque nouveau génome. Donc les 2 cellules filles sont souvent différentes les unes des autres et de leur cellule mère.

C. Tous les systèmes de réparation de l'ADN dépendent de l'existence de 2 copies de l'ADN, situées sur les chromosomes homologues

VRAI ou **FAUX**

En fonction des systèmes de réparation, cela peut dépendre d'information présente sur 2 brins d'ADN, ou une chromatide sœur.

D. Seuls les premières étapes de réparation de l'ADN sont catalysées par des enzymes spécifiques au dommage de l'ADN détecté. Les étapes suivantes sont catalysées par des enzymes qui jouent un rôle plus général dans le métabolisme de l'ADN.

VRAI ou FAUX

La reconnaissance du dommage et les premières étapes sont effectuées par des enzymes spécifiques. Les étapes suivantes sont généralement catalysées par des hélicases, DNA polymérase, ligase qui sont communes.