

Pr Dali-Sahi Majda

Faculté SNV/.STU : Département de Biologie

**Bases moléculaires du mode de transmission des maladies génétiques
Et
Bases moléculaires des mutations**

A-Bases moléculaires du mode de transmission des maladies génétiques

I-Maladies transmises sur le mode dominant

Une maladie sera transmise sur le mode dominant si les conséquences de la mutation de l'une des deux copies du gène ne sont pas compensées par la copie normale du gène. Dans les maladies transmises sur le mode dominant, les hétérozygotes sont malades. Le mode de transmission dominant peut être engendré par trois mécanismes moléculaires distincts: • déséquilibre quantitatif (haploinsuffisance, duplication) • gain de fonction, • inactivation en deux temps de Knudson.

A- Déséquilibre quantitatif.

1- Haploinsuffisance

Si l'une des deux copies du gène est inactive, la moitié seulement du produit attendu du gène sera présente dans la cellule. Si le sujet est malade, on parle alors d'haploinsuffisance. Les gènes sensibles à cet aspect quantitatif sont par exemple des protéines de la myéline (exemple: altération de la capacité de conduction des nerfs périphériques dans certaines formes de neuropathie de Charcot-Marie-Tooth), des récepteurs membranaires (exemple: hypercholestérolémie familiale liée au déficit du récepteur à ApoB), ou plus rarement des enzymopathies (exemple: porphyries). Dans le cas des enzymopathies, l'exemplaire du gène normal présent chez les hétérozygotes suffit presque toujours à compenser le déficit du gène muté; les porphyries constituent donc une exception parce que la cellule maintient un niveau d'activité juste suffisant de ces enzymes; on sait que les métabolites intermédiaires de la synthèse de l'hème peuvent être toxiques.

2-Duplication

Plus rarement, la mutation entraîne un excès d'activité ou de la quantité du produit: les protéines composant la myéline doivent par exemple être en juste proportion, ni trop, ni pas assez. C'est le plus souvent le cas des duplications du gène entier. Les conséquences d'une trisomie ou d'une duplication d'un segment chromosomique s'expliquent par un effet de dosage génique: le produit des gènes situés sur le chromosome surnuméraire ou le fragment dupliqué est trop élevé (150% de la normale).

B-Gains de fonction.

La mutation de l'une des deux copies du gène ne l'inactive pas mais introduit un caractère nouveau à l'origine de la maladie.

1- mutation autoactive

La mutation entraîne une activation permanente d'un élément sensible comme un récepteur cellulaire. Le produit du gène muté n'est plus contrôlé (exemple: un récepteur au FGF est constitutionnellement actif dans les mutations de certaines craniosténoses ou de l'achondroplasie).

Le récepteur normal se dimérise après fixation de son ligand. Certaines mutations conduisent à la formation de récepteurs autoactifs en l'absence de ligand.

2-Mutation dominante négative

La mutation entraîne la désorganisation de l'activité du produit du gène normal. Le produit du gène muté altère le produit du gène normal. Exemple: la mutation faux-sens de l'une des chaînes du collagène modifie la structure du réseau de fibres de collagène. La structure régulière d'un réseau de protéines (sarcomère, collagène...) est perturbée par la mutation faux-sens.

Le même gène peut être à l'origine de maladies transmises sur le mode dominant ou récessif. Pour certaines protéines comme le fibrinogène, une mutation non-sens de l'une des trois chaînes sera transmise comme un trait récessif (les hétérozygotes ont simplement 50% de l'activité normale, ce qui n'a pas de conséquences), alors qu'une mutation faux-sens peut être transmise comme un trait dominant (le produit du gène normal ne compense pas l'influence négative du produit du gène muté).

Ce n'est pas l'allèle mais la mutation qui caractérise le mode de transmission.

3-Mutation gain de fonction

La mutation entraîne l'interaction avec des partenaires inhabituels du produit du gène (" gain de fonction au sens strict ").

L'exemple est l'expansion de glutamine dans le gène responsable de la chorée de Huntington. Les propriétés d'une protéine contenant une série de 10 à 20 glutamines ne sont pas les mêmes qu'une protéine contenant plus de 50 glutamines.

C-Inactivation en deux temps de Knudson

Dans cette situation, la mutation de l'une des deux copies du gène n'a pas de conséquence directe car la copie normale du gène compense le déficit.

En revanche lorsque dans une cellule, le gène normal est perdu ou inactivé, la cellule acquiert des propriétés nouvelles. Ce mécanisme décrit par Knudson pour expliquer certains cancers d'origine génétique comme le rétinoblastome.

Mécanisme d'inactivation en deux étapes 1: Une copie de la mutation est héritée ou survient de novo,

2: Dans la tumeur ou le kyste l'allèle normal est perdu ou inactif La première mutation est habituellement une mutation ponctuelle La deuxième mutation (somatique) est dans la moitié des cas une délétion de la région qui contient le gène (" perte d'allèle ").

Bases moléculaires des mutations

Le terme « mutation » désigne n'importe quel **changement intervenu** dans la séquence de **l'ADN**, sans préjuger de sa pathogénicité à l'échelle du gène ou du chromosome. On parle aussi de « variants ».

Le but du cours est de faire la différence entre mutation et polymorphisme

Une mutation est définie comme une modification de la séquence d'ADN du génome. Tout changement nucléotidique est considéré comme mutation. Les mutations sont diverses : substitution d'un nucléotide, délétion ou insertion d'une ou plusieurs paires de bases, modification majeure du chromosome. Les mutations peuvent avoir différents impacts sur l'organisme.

Une mutation peut affecter un phénotype.

Si elle en affecte plusieurs, elle est appelée mutation pléiotrope. Dans le cas où elle n'induit aucune modification du phénotype, il s'agit d'une mutation silencieuse.

Les mutations sont la source du polymorphisme, et source de la diversité entre individus. Mais elles sont aussi à l'origine des maladies génétiques monogéniques et des prédispositions génétiques aux maladies poly factorielles.

• Mutations acquises :

Une mutation apparue dans une cellule somatique d'un tissu est appelée « mutation somatique » ou « mutation acquise », puisqu'elle n'était pas présente initialement dans le génome de la cellule. Les mutations somatiques peuvent être à l'origine d'un clone cellulaire porteur de cette mutation, ne touchant qu'un seul ou quelques tissus, mais ne sont en revanche pas transmissibles à la descendance. Les mutations somatiques pathogènes sont notamment impliquées dans la formation de cellules tumorales.

• Mutations constitutionnelles :

Lorsqu'une mutation est présente ou survient avant la fécondation (soit nouvellement apparue, soit transmise de génération en génération), ou survient lors des premières divisions du zygote (donc nouvellement apparue), on parle de « mutation constitutionnelle ». Une mutation constitutionnelle sera présente dans toutes les cellules somatiques de l'individu, et également dans ses cellules germinales, donc transmissibles à la descendance. Toute mutation nouvellement apparue est aussi appelée mutation « de novo » ou « néomutation ».

Certaines mutations surviennent lors de la méiose dans une cellule germinale, au niveau d'un gamète parental, et sont appelées « mutations germinales ».

Les mutations germinales seront donc forcément présentes de façon « constitutionnelle » chez l'individu issu de ce gamète, qui sera donc porteur d'une mutation « de novo » ou « néomutation », non présente dans les cellules somatiques du parent qui lui a transmis cette mutation.

Les mutations constitutionnelles pathogènes, « de novo » ou transmises de génération en génération, sont à l'origine des maladies génétiques monogéniques et des maladies génétiques chromosomiques.

I POLYMORPHISMES DU GÉNOME

Le terme de « mutation » désigne n'importe quel changement intervenu dans la séquence de l'ADN, sans préjuger de sa pathogénicité à l'échelle du gène ou du chromosome.

Avant de s'intéresser aux effets délétères des variations du génome, il faut rappeler l'importance des variations non pathogènes du génome, qui sont la base de la diversité entre les individus.

Ces variations non pathogènes du génome sont appelées « polymorphismes ». La notion de « polymorphisme » repose à la fois sur le caractère non pathogène de la variation de séquence, et la fréquence dans la population (>1% par définition).

Un polymorphisme est une mutation qui peut se situer en région codante ou non codante. Différents types de polymorphismes ont été caractérisés, parmi lesquels les plus importants à retenir dans le contexte actuel sont :

Les SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms):

Il s'agit de polymorphismes de substitution au niveau d'un nucléotide (variation de séquence ponctuelle). Les SNPs sont très nombreux (>107 par génome humain) et répartis dans tout le génome (environ 1 SNP tous les 300 pb). Les SNPs sont référencés dans la base de données dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>).

- **Les CNVs (Copy Number Variations):** Il s'agit de variation du nombre d'exemplaires contigus de grands segments génomiques (perte ou gain de fragments de quelques kb à plusieurs Mb). A ce jour, des CNVs ont été identifiés dans environ 15% du génome humain.

Un CNV est défini comme une variation de copies d'une région génomique dont la séquence est supérieure à 1kb et le nombre de copies diffère par rapport à un génome de référence

- **Les polymorphismes de répétition:** Il s'agit de séquences répétées en tandem de nombreuses fois, à partir de motifs de longueur variable (de quelques, à plusieurs centaines de paires de bases définissant en fonction de la taille les Microsatellites,

Minisatellites, Satellites, et Mégasatellites]. Déjà vue dans le cours organisation du génome Humain

CLASSIFICATION DES LÉSIONS DU GÉNOME

On distingue les anomalies à l'échelle du chromosome appelées macrolésions et les anomalies à l'échelle du gène, appelées microlésions.

• Macrolésions du génome

Les anomalies chromosomiques sont classées en anomalies chromosomiques de nombre et anomalies chromosomiques de structure. Les anomalies de structure comportent différents types que nous n'allons pas détailler ici, par exemple les translocations, délétions, duplications de fragments chromosomiques, etc. NB : les notions plus précises concernant les macrolésions du génome sont abordées plus en détail dans le chapitre intitulé « Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques » (D. Sanlaville).

• Microlésions du génome

A l'échelle du gène, les anomalies du génome sont surtout des substitutions appelées également mutations ponctuelles qui consistent en le remplacement d'un nucléotide par un autre.

Il peut également s'agir de l'insertion et/ou de la délétion de quelques nucléotides et parfois jusqu'à quelques dizaines ou centaines de nucléotides.

Taille des lésions et méthodes d'étude A l'échelle du chromosome les anomalies sont recherchées **par des approches qu'on appelle de génétique chromosomique (cytogénétique)**.

A l'échelle du gène, les anomalies sont recherchées par ce qu'on appelle **les approches de génétique moléculaire**.

Entre les deux, des techniques de cytogénétique moléculaire peuvent être utilisées. Il y a donc une différence de résolution des techniques ; en cytogénétique, il est possible de détecter des anomalies de quelques millions de paires de bases, alors qu'en génétique moléculaire, on recherchera des anomalies allant d'une seule paire de base à quelques milliers de paires de base. Il est à noter que le développement technologique actuel, et notamment les techniques d'analyses mutationnelles à haut débit, permettent de plus en plus d'élargir le champ de résolution.

CONSÉQUENCES DES MICROLÉSIONS ET IMPACT SUR LES MODES DE TRANSMISSION

* Les conséquences délétères des microlésions du génome dépendent essentiellement de leur localisation et de leur type. Il est important de souligner que l'effet délétère d'une microlésion peut consister en un impact fonctionnel au niveau de l'ARN messenger et/ou de la protéine codée par le gène muté.

En effet, l'exemple le plus « classique » d'une microlésion est une anomalie de la séquence codante d'un gène, conduisant à une anomalie de la séquence en acides aminés de la protéine codée par ce gène, responsable d'une altération qualitative et/ou quantitative de la protéine. Mais les effets délétères possibles des microlésions sont multiples et complexes, dépassant largement la linéarité directe entre la séquence codante au niveau du gène et la séquence en acides aminés au niveau de la protéine. Pour toute microlésion, il faut donc prendre en compte l'impact fonctionnel éventuel au niveau de l'ARN messenger et/ou de la protéine codée. Il s'agit là d'une notion primordiale à retenir pour l'interprétation des données mutationnelles dans le cadre du diagnostic moléculaire. Les conséquences délétères des microlésions sont classées en deux grandes catégories : la perte de fonction et le gain de fonction.

• **Perte de fonction*** : On désigne par perte de fonction un effet délétère du à la diminution ou l'abolition de production de la protéine active, sur le plan quantitatif (niveau de synthèse de la protéine) et/ou qualitatif (fonctionnalité de la protéine). L'effet délétère de type perte de fonction se manifeste lorsque le niveau résiduel de protéine fonctionnelle passe en dessous d'un seuil, et constitue la cause majoritaire des maladies récessives. Lorsqu'une seule des deux copies d'un gène est mutée chez un individu, la synthèse d'une protéine normale par l'allèle non muté suffit habituellement pour maintenir la fonction cellulaire correspondante. Par contre, l'effet délétère se manifeste lorsque les deux copies du gène sont mutées.

Dans certains cas, la perte de fonction peut toutefois conduire à un effet délétère dominant. La présence d'une seule copie mutée du gène, à l'état hétérozygote, est alors suffisante pour franchir le seuil. Cette situation est appelée « haploinsuffisance », l'autre copie du gène n'étant pas suffisante pour compenser le déficit.

La perte de fonction peut résulter d'un effet délétère au niveau de l'ARN messenger : par effet sur la régulation de la transcription, par altération de la maturation de l'ARNm (notamment l'épissage), par altération de la stabilité de l'ARNm entraînant sa destruction. Ceci va conduire à une diminution ou absence de production de la protéine active. La perte de fonction peut également résulter d'un effet délétère au niveau de la protéine, qui peut être

produite, mais instable et dégradée ; ou encore produite mais non fonctionnelle
PROTEINE TRONQUEE

Gain de fonction* :

Le « gain de fonction » est un effet délétère du à l'acquisition d'une nouvelle fonction qui est délétère pour la cellule. Il s'agit de la cause majoritaire des maladies dominantes. Le gain de fonction résulte habituellement d'un effet délétère au niveau de la protéine. Il peut s'agir tout d'abord d'un effet appelé « dominant négatif » : le produit protéique de l'allèle muté antagonise le produit de l'allèle normal (en particulier lorsque le produit du gène agit sous la forme de dimère ou polymère). Une autre possibilité est un effet « toxique », lorsque la mutation conduit à l'acquisition d'une nouvelle fonction cellulaire délétère, ou suite à un excès de fonctionnement.

CONSÉQUENCES DES MICROLÉSIONS EN FONCTION DE LEUR LOCALISATION ET DE LEUR TYPE

La majorité des microlésions délétères est localisée en séquence codante, avec un effet direct sur la séquence en acides-aminés de la protéine correspondante.

Plus rarement, des microlésions en région codante ou non-codante peuvent avoir un effet délétère sur la régulation de l'expression d'une protéine.

L'information génétique pour la synthèse des protéines est contenue majoritairement dans les exons.

Microlésions en séquence codante.

Par la linéarité du code génétique, une mutation en séquence codante génomique peut avoir un effet directement transposé au niveau de la séquence en acides-aminés de la protéine codée. Mais comme souligné auparavant, il ne faut pas oublier que toute mutation en séquence codante peut avoir un éventuel effet délétère sur l'ARN messenger. Pour toute microlésion, il faut donc prendre en compte l'impact fonctionnel éventuel au niveau de l'ARN messenger et/ou de la protéine codée.

Conséquence des substitutions en séquence codante

- Mutation de type « faux-sens »:

le codon muté code un autre acide aminé* La modification d'acide-aminé au niveau de la protéine peut être tolérée par la cellule sans conséquence délétère, ce qui explique que de nombreuses variations de séquence de type « faux-sens » n'ont pas d'effet pathogène, et constituent par ailleurs une part importante des polymorphismes (de type SNPs). Mais en fonction de la localisation de l'acide-aminé touché, les mutations faux-sens peuvent avoir des effets délétères (altération du repliement protéique, de la stabilité protéique, de domaines fonctionnels, de sites d'interaction avec d'autres protéines, etc.), de type perte de fonction ou gain de fonction. –

Mutation de type « non-sens »:

le codon muté code un codon stop* Ce type de mutation est généralement pathogène, responsable de la synthèse d'une protéine tronquée, qui sera instable et dégradée (effet perte de fonction), ou avec un effet dominant négatif (effet gain de fonction). - Le cas particulier des mutations de type « isosémantique » ou « synonyme »: le codon muté code pour le

même acide aminé Le code génétique étant « dégénéré » (plusieurs codons pouvant coder un même acideaminé), certaines substitutions au niveau de la séquence génomique ne modifient théoriquement pas la séquence en acides-aminés de la protéine correspondante, donc seraient sans effet pathogène. Ces mutations « isosémantiques » ont ainsi également été appelées « silencieuses ». Comme de nombreuses variations de type « faux-sens », les mutations « isosémantiques » constituent aussi une part importante des polymorphismes (de type SNPs). Cependant, depuis une dizaine d'années, il a été clairement démontré que certaines mutations « isosémantiques » peuvent avoir un effet délétère, résultant non d'une modification directe de la séquence protéique, mais d'un effet délétère de la mutation génomique sur un motif de séquence nucléotidique (par exemple effet sur un motif impliqué dans l'épissage, sur un motif impliqué dans la régulation du niveau d'expression, Ce type de mutation est donc le meilleur exemple soulignant que pour toute microlésion, il faut prendre en compte l'impact fonctionnel non seulement au niveau de la protéine codée, mais aussi au niveau de l'ARN messager.