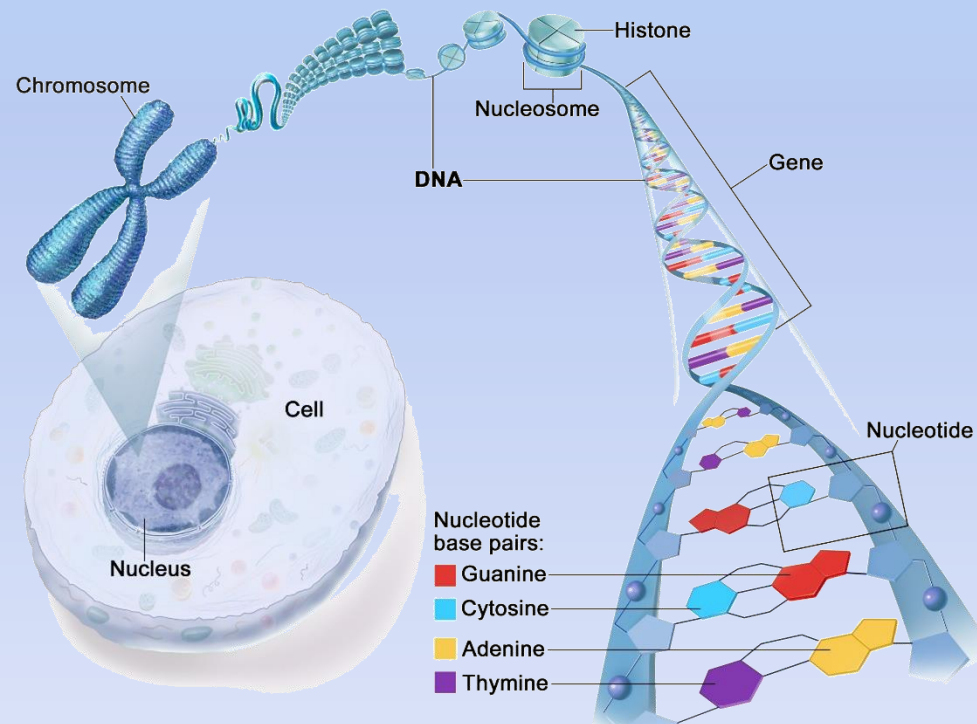


Module : **Biologie moléculaire**

Responsable du module : **Dr. AROUSSI Abdelkrim**

Classe : **Licence 3^{ème} année Biochimie**



2. Mutations génétiques

Mutations, mutagénèse et détection

I- CHANGEMENT DANS LA SÉQUENCE D'ADN :

Dans une cellule vivante, l'ADN est en permanence exposé à différents types d'agression pouvant conduire à l'apparition de mutations. Il s'agit essentiellement d'agressions exogènes (radiations et agents génotoxiques de l'environnement), d'agressions endogènes (radicaux libres, ...), d'erreurs de réplication et d'accidents de recombinaison. La cellule possède une machinerie de réparation, qui corrige la plupart des anomalies.

Mais un échappement au système de réparation est possible: c'est l'origine 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**».

Polymorphismes : variations non pathogènes de l'ADN (aussi considérés comme mutations). Le caractère pathogène d'une mutation pourra être précisé en parlant de « mutation délétère » ou « mutation pathogène ».

Mutations, mutagénèse et détection

Différents types de polymorphismes :

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. Les CNVs sont référencés dans la base de données Database for Genomic Variants : (<http://projects.tcag.ca/variation/>) ; avec plus de 65000 CNVs différents rapportés à ce jour).

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)

Mutations, mutagénèse et détection

Il existe 2 grandes classes de mutations :

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 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. Toute mutation nouvellement apparue est aussi appelée mutation « de novo » ou « néomutation »

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 transmissible à la descendance (origine des maladies génétiques monogéniques et des maladies génétiques chromosomiques).

Mutations, mutagénèse et détection

II- CLASSIFICATION DES LÉSIONS DU GÉNOME

anomalies du chromosome (**macrolésions**), anomalies du gène (**microlésions**)

1/ Macrolésions du génome : anomalies chromosomiques de nombre et anomalies chromosomiques de structure. Les anomalies de structure comportent différents types (les translocations, délétions, duplications de fragments chromosomiques)

2/ Microlésions 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. (en séquence codante ou non codante)

Mutations, mutagénèse et détection

III- PRINCIPAUX TYPES DE MACROLÉSIONS :

La modification implique un gène dans sa totalité, voire un chromosome ou un lot de chromosomes.

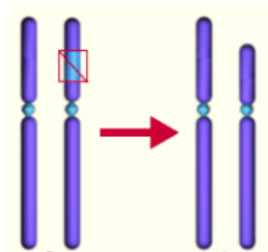
II.1- Mutations affectant la taille des chromosomes

II.1.1- Délétion

C'est la perte d'un segment de chromosome. Selon la localisation du segment perdu, on distingue deux types de délétions : la délétion terminale portant sur l'extrémité du chromosome, et la délétion interstitielle.

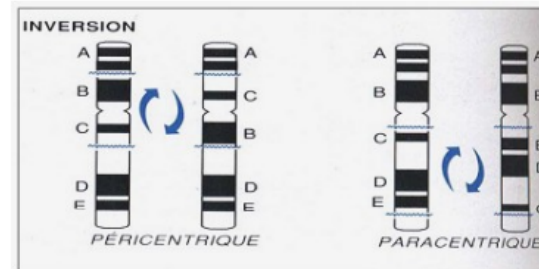
Exemple :

Syndrome du cri du chat dû à la délétion du bras court du chromosome n° 5



II.1.2- Inversion

Le phénomène d'inversion résulte de la cassure d'un fragment de chromosome plus ou moins grand suivie du retournement de 180° de ce même fragment et son insertion dans le même chromosome. La cassure peut se produire de part et d'autre du centromère (**inversions péricentriques**) ou sur un des bras du chromosome (**inversions paracentriques**).

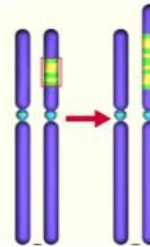


Mutations, mutagénèse et détection

III- PRINCIPAUX TYPES DE MACROLÉSIONS : (suite)

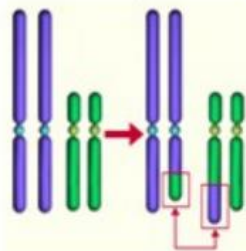
II.1.3- Duplication

Une duplication peut être envisagée comme une insertion mais la séquence insérée est une copie d'une région qui est déjà présente dans le chromosome.

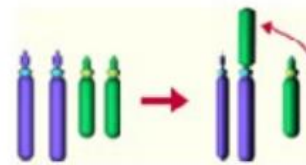


II.1.4- Translocation

Le phénomène de translocation se définit par le transfert d'un fragment d'un chromosome plus ou moins important sur un chromosome non homologue. On distingue les **translocations réciproques** qui correspondent au transfert de segments de chromosomes et entre des chromosomes non homologues. Et les **translocations robertsoniennes** ou fusions centriques, dans ce cas, il y a fusion de deux chromosomes acrocentriques par leurs centromères en un chromosome métacentrique. Elles se produisent entre les chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21 et 22.



Translocation réciproque



Translocation robertsonienne

Mutations, mutagénèse et détection

IV- PRINCIPAUX TYPES DE MICROLÉSIONS :

1/ Substitutions :

Les substitutions constituent le remplacement d'un nucléotide par un autre nucléotide. Il s'agit du type le plus fréquent des microlésions, (elles représentent environ 70% des mutations).

On distingue classiquement les **transversions** et les **transitions**.

- Les transitions correspondent au remplacement d'une des purines (Adénine ou Guanine) par l'autre purine, ou d'une des pyrimidines (Cytosine ou Thymine) par l'autre pyrimidine.
- Les transversions sont un changement d'une des pyrimidines en l'une des purines, ou le contraire, d'une des purines en l'une des pyrimidines.

2/ Insertions et/ou de délétions de 1 ou quelques nucléotides :

Au cours du phénomène de réplication, des accidents de « dérapage réplcatif », impliquant les ADN polymérases, peuvent survenir, notamment au niveau de certaines séquences répétées. Ceci peut conduire à l'insertion (gain) et/ou à la délétion (perte) d'un ou de quelques nucléotides supplémentaires par rapport à la séquence initiale.

Mutations, mutagénèse et détection

3/ Insertions et/ou délétions de quelques 10aines à 100aines de nucléotides :

Les microlésions de type insertion et/ou délétion de nucléotides peuvent concerner dans certains cas un grand nombre de nucléotides, de quelques dizaines à quelques centaines.

Ces évènements mutationnels peuvent impliquer des fragments, voire la totalité, d'un ou de plusieurs exons et/ou introns.

Le mécanisme mutationnel est alors différent par rapport aux insertions et/ou délétions de un à quelques nucléotides, et fait suite à des réparations incomplètes de lésions de l'ADN, ou à des anomalies de recombinaison ou de réplication

Mutations, mutagénèse et détection

4/ Mutations silencieuses :

Substitution d'une base par une autre dans un codon peut se traduire par le même acide aminé et n'affecte pas la séquence de protéine (UAU/UAC : Tyr)

5/ Mutations non-sens :

Entraine le changement du codon d'un acide aminé en un codon non-sens, ce qui conduit à l'arrêt prématuré de la traduction de l'ARNm. (protéine plus courte, souvent non-fonctionnelle)

6/ Mutations faux-sens :

Le changement affecte une seule base dans l'ADN , ce qui modifie la séquence d'un seul codon de l'ARNm et se traduit par un acide aminé différent dans le polypeptide. Si ce changement altère le fonctionnement de la protéine, donc cet acide aminé est proche du site actif de celle-ci.

Mutations, mutagénèse et détection

La liste des mutations responsables de maladies héréditaires chez l'homme ne cesse de croître.

► Deux principales bases de données :

1/ OMIM (Online mendelian inheritance in man)

2/ HGMD (Human gene mutation database)

Nature des mutations :

Il existe 3 grandes classes : **les substitutions nucléotidiques**
les insertions/ délétions de quelques nucléotides
les remaniements géniques de grande taille

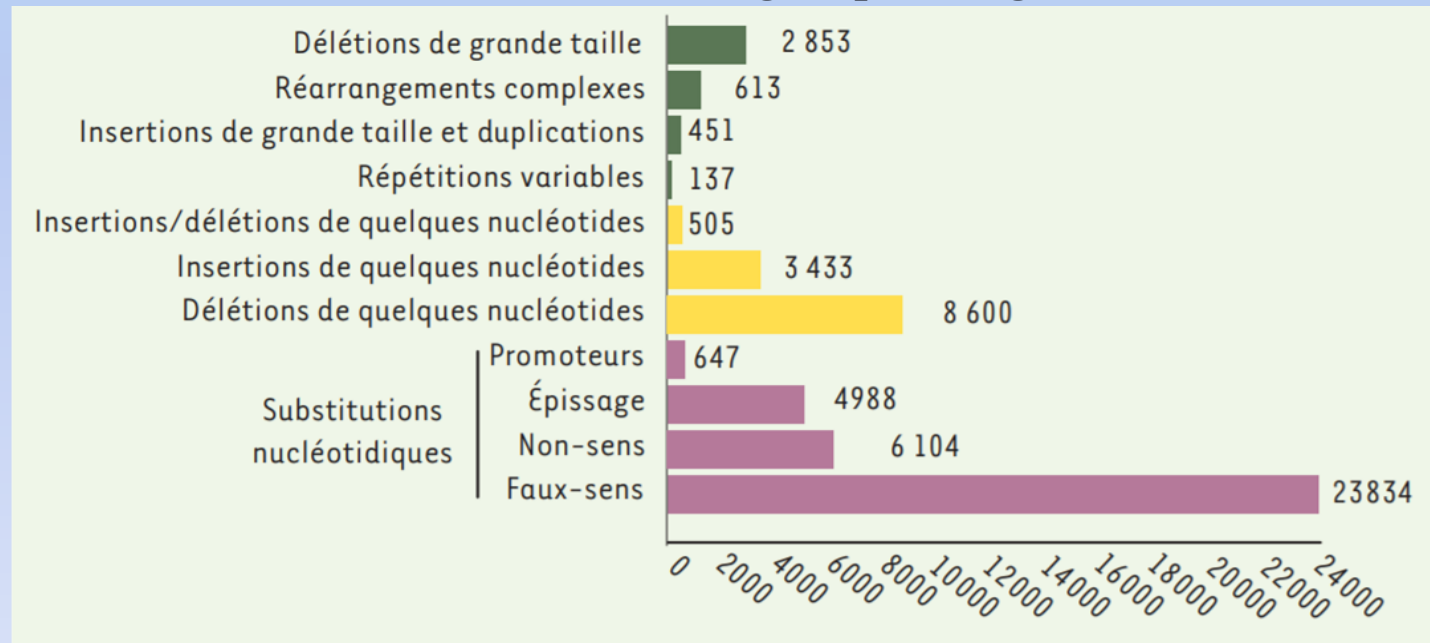


Figure 1. Répartition des différents types de mutations identifiées dans des gènes humains à l'origine de maladies génétiques. Données extraites de la base de données HGMD le 20 avril 2005 (<http://www.hgmd.org>).

Mutations, mutagénèse et détection

► Données actualisées chaque 3 mois

Tableau récapitulatif de la dernière actualisation (2022) :

Table:	Description:	Public entries: This site. Academic non-profit users only	Total entries: HGMD Professional 2021.4
Mutation totals (as of 2022-02-28)		234987	352731
Gene symbol	The gene description, gene symbol (as recommended by the HUGO Nomenclature Committee) and chromosomal location is recorded for each gene. In cases where a gene symbol has not yet been made official, a provisional symbol has been adopted which is denoted by lower-case letters.	9802	13802
cDNA sequence	cDNA reference sequences are provided, numbered by codon.	9937	14239
Genomic coordinates	Genomic (chromosomal) coordinates have been calculated for missense/nonsense, splicing, regulatory, small deletions, small insertions and small indels.	0	322979
HGVS nomenclature	Standard HGVS nomenclature has been obtained for missense/nonsense, splicing, regulatory, small deletions, small insertions and small indels.	0	323285
Missense/nonsense	Single base-pair substitutions in coding regions are presented in terms of a triplet change with an additional flanking base included if the mutated base lies in either the first or third position in the triplet.	133859	209495
Splicing	Mutations with consequences for mRNA splicing are presented in brief with information specifying the relative position of the lesion with respect to a numbered intron donor or acceptor splice site. Positions given as positive integers refer to a 3' (downstream) location, negative integers refer to a 5' (upstream) location.	20879	30191
Regulatory	Substitutions causing regulatory abnormalities are logged in with thirty nucleotides flanking the site of the mutation on both sides. The location of the mutation relative to the transcriptional initiation site, initiation codon, polyadenylation site or termination codon is given.	4149	5117
Small deletions	Micro-deletions (20 bp or less) are presented in terms of the deleted bases in lower case plus, in upper case, 10 bp DNA sequence flanking both sides of the lesion. The numbered codon is preceded in the given sequence by the caret character (^).	34488	49872
Small insertions	Micro-insertions (20 bp or less) are presented in terms of the inserted bases in lower case plus, in upper case, 10 bp DNA sequence flanking both sides of the lesion. The numbered codon is preceded in the given sequence by the caret character (^).	14487	21113
Small indels	Micro-indels (20 bp or less) are presented in terms of the deleted/inserted bases in lower case plus, in upper case, 10 bp DNA sequence flanking both sides of the lesion. The numbered codon is preceded in the given sequence by the caret character (^).	3204	4370
Gross deletions	Information regarding the nature and location of each lesion is logged in narrative form because of the extremely variable quality of the original data reported.	17127	23448
Gross insertions	Information regarding the nature and location of each lesion is logged in narrative form because of the extremely variable quality of the original data reported.	4285	5964
Complex rearrangements	Information regarding the nature and location of each lesion is logged in narrative form because of the extremely variable quality of the original data reported.	1993	2501
Repeat variations	Information regarding the nature and location of each lesion is logged in narrative form because of the extremely variable quality of the original data reported.	516	660

Mutations, mutagénèse et détection

Nomenclature des principales mutations délétères :

- le remplacement du code **1 lettre** des acides aminés par **3 lettres**
- l'obligation de préciser **la nature de la séquence modifiée par une lettre minuscule** :
 - g.** pour une séquence d'ADN génomique
 - c.** pour une séquence d'ADN complémentaire
 - p.** pour une séquence protéique
 - m.** pour une séquence d'ADN mitochondrial
 - r.** pour une séquence d'ARN
- Il est également indispensable de numéroter la mutation en se référant à une **séquence extraite des bases de données**, en précisant son **numéro d'accès** et sa **version**

Mutations, mutagénèse et détection

Nouvelle nomenclature des mutations délétères : (exemples neurofibromatose)

D'après les Recommandations pour la description des variations de séquence selon (human genome variation society, www.hgvs.org), on regroupe :

Neurofibromatose 1 : maladie autosomique dominante ; prév. ~1/3000 ; gène *NF1* (chr 17 - q11.2 à ~350 kb ; 60 exons ; supp. de tumeur ; la neurofibromine (2 818 acides aminés).

a/ Substitution nucléotidique exonique et intronique

M82814 : c.4868G>A : remplacement de la guanine par une adénine en position 4 868 de la séquence codante (cds) du gène *NF1*.

M82814 : c.5750+332A>C : remplacement de l'adénine par une cytosine au niveau de la 332^e base de l'intron qui suit immédiatement la position 5 750 qui correspond à la dernière base de l'exon (intron 30 du gène *NF1*).

M82814 : c.2991-1G>T : remplacement de la guanine par une thymine au niveau de la 1^{re} base de l'intron précédant immédiatement la position 2 991 qui correspond à la première base de l'exon (intron 17 du gène *NF1*).

Mutations, mutagénèse et détection

Nouvelle nomenclature des mutations délétères : (*exemples neurofibromatose*)

b/ Délétion ou insertion nucléotidique

Les délétions sont identifiées par « **del** », précédé de la position du premier et du dernier nucléotide délétés et suivi de la nature des bases délétées.

Les insertions sont identifiées par « **ins** », précédé de la position des nucléotides encadrant les bases insérées.

M82814 : c.6700_6715delATTAGCAAACGAGTGT: délétion des nucléotides 6 700 à 6 715 de la séquence codante (cds) du gène NF1.

M82814 : c.2033_2034insT : insertion d'une thymine entre les nucléotides 2 033 et 2 034 de la séquence codante (cds) du gène NF1.

Cas particuliers :

Les duplications d'un ou plusieurs nucléotides sont identifiées par « **dup** », précédé de la position du (des) nucléotide(s) dupliqué(s):

M82814 : c.7712_7718dupATTTACG : duplication de la séquence ATTTACG comprise entre les nucléotides 7 712 et 7 718 de la séquence codante (cds) du gène NF1.

Mutations, mutagénèse et détection

Nouvelle nomenclature des mutations délétères : (quelques exemples)

c/ Insertions/délétions

M82814 : c.2677_2681delAAATTinsC : délétion des nucléotides 2 677 à 2 681 du gène NF1 et insertion d'une cytosine entre les nucléotides 2 676 et 2 677 de la séquence codante (cds) du gène NF1.

d/ Conséquences au niveau protéique

AAA59924 : p.Arg2237X : mutation non-sens remplaçant le codon arginine par un codon stop en position 2 237 de la neurofibromine.

AAA59924 : p.Leu300Pro : mutation faux-sens remplaçant l'acide aminé leucine par un acide aminé proline en position 300 de la neurofibromine.

AAA59924 : p.Gln514fs : décalage du cadre de lecture à partir de l'acide aminé glutamine en position 514 de la neurofibromine