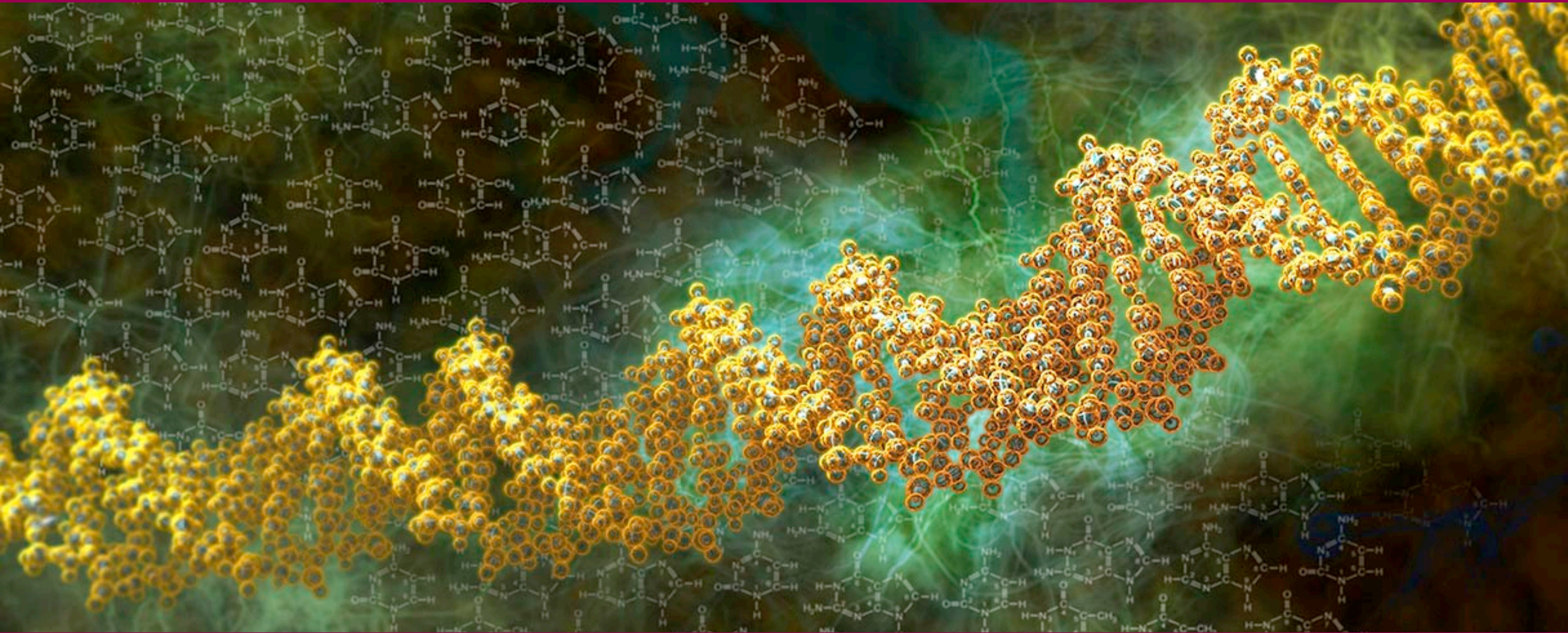


3- Variabilité et Ingénierie de l'ADN



Credits: SIMONE ALEXOWSKI/Science Source

Prof. Guillaume Andrey

De la molécule à la cellule: *de l'ADN à la protéine*



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**

Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-1: fidélité et variations dans le génome

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

1- les substitutions

2- les insertion/deletion (indels)

3- la réparation des cassures double-brin

4- les répétitions

5- les variants structuraux (SVs)

6- les éléments transposables

Partie-3: mécanismes de modifications et applications

1- le crossing-over

2- la recombinaison du locus IgH

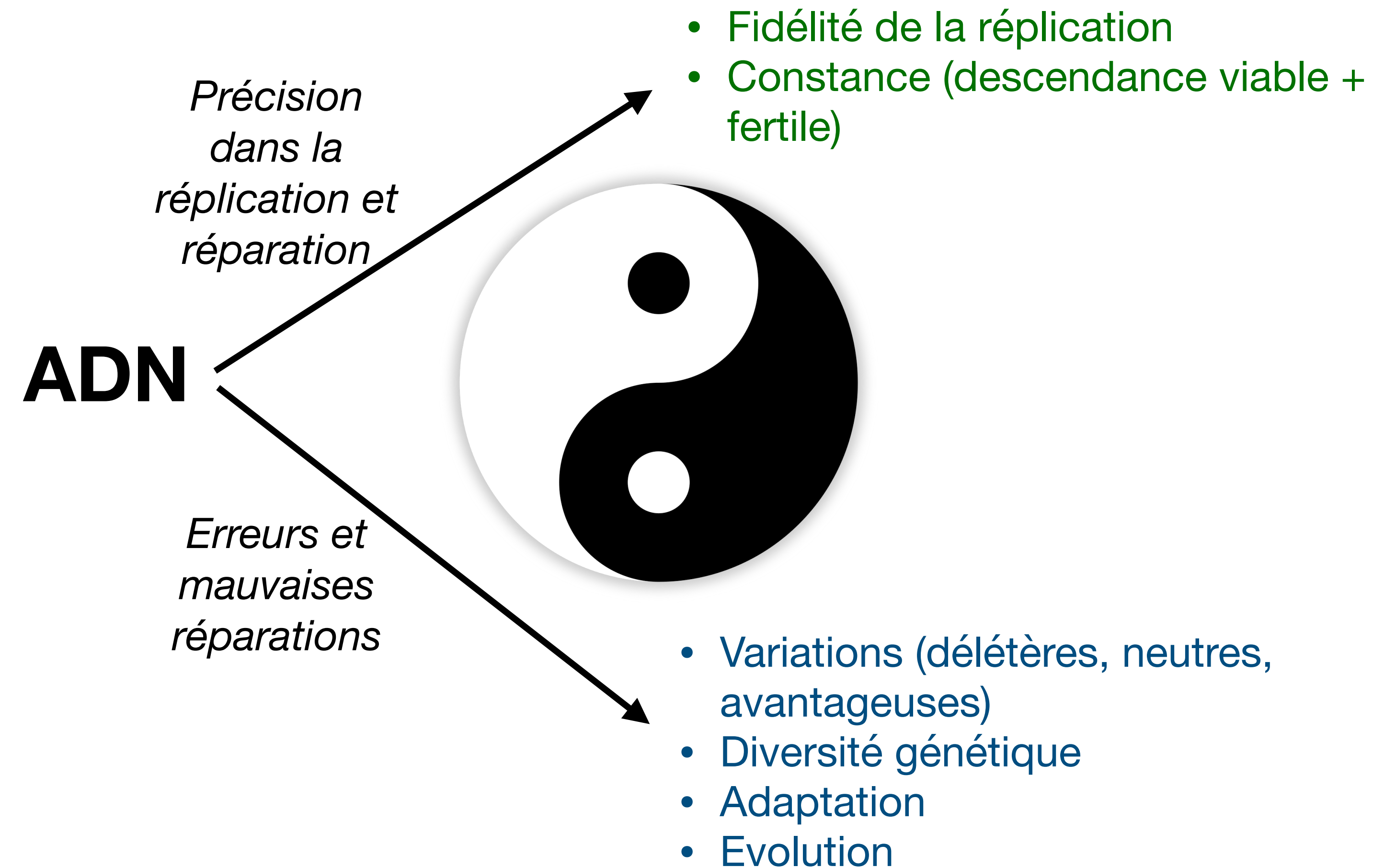
3- le CRISPR/Cas9

4- applications médicales

Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-1: fidélité et variations dans le génome

Fidélité et variations dans le génome



La plus grande famille au monde:
2m03 de moyenne



Adaptation des populations tibétaines à l'altitude:
variations génétiques influençant l'érythropoïèse



Fidélité et variations dans le génome

Les variations de nos génomes apparaissent de manière aléatoire

1- Si corrigés par la cellule -> participent à la stabilité du génome

2- Si non-corrigés par la cellule:

- 95% sont **neutres** (sans effet) -> utile dans leur reflet de la migration des populations à travers le monde
- Variants conférant un **avantage** -> permet aux populations d'évoluer et de s'adapter à un environnement, des pathogènes, régime alimentaire, etc. - > effet sélection positive
- Variants **délétères** : maladies génétiques -> apparaissent puis disparaissent des populations

Les variations **délétères** se produisent par les mêmes mécanismes que les variations **neutres** ou **avantageuses** et représentent donc un changement par rapport à ce qui est considéré comme la référence (ou le type sauvage).

Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

1- les substitutions

Les substitutions

1- Description

référence ATGGTGCACCTGACTCCTGGGGAGAGAAGTCTGCC

substitution ATGGTGCACCTGACTCCTAGGGAGAGAAGTCTGCC

changement d'information: message potentiellement différent

transitions

G ↔ A purine ↔ purine
C ↔ T pyrimidine ↔ pyrimidine

transversions

G ↔ C
G ↔ T
A ↔ C
A ↔ T

purine ↔ pyrimidine

Les substitutions

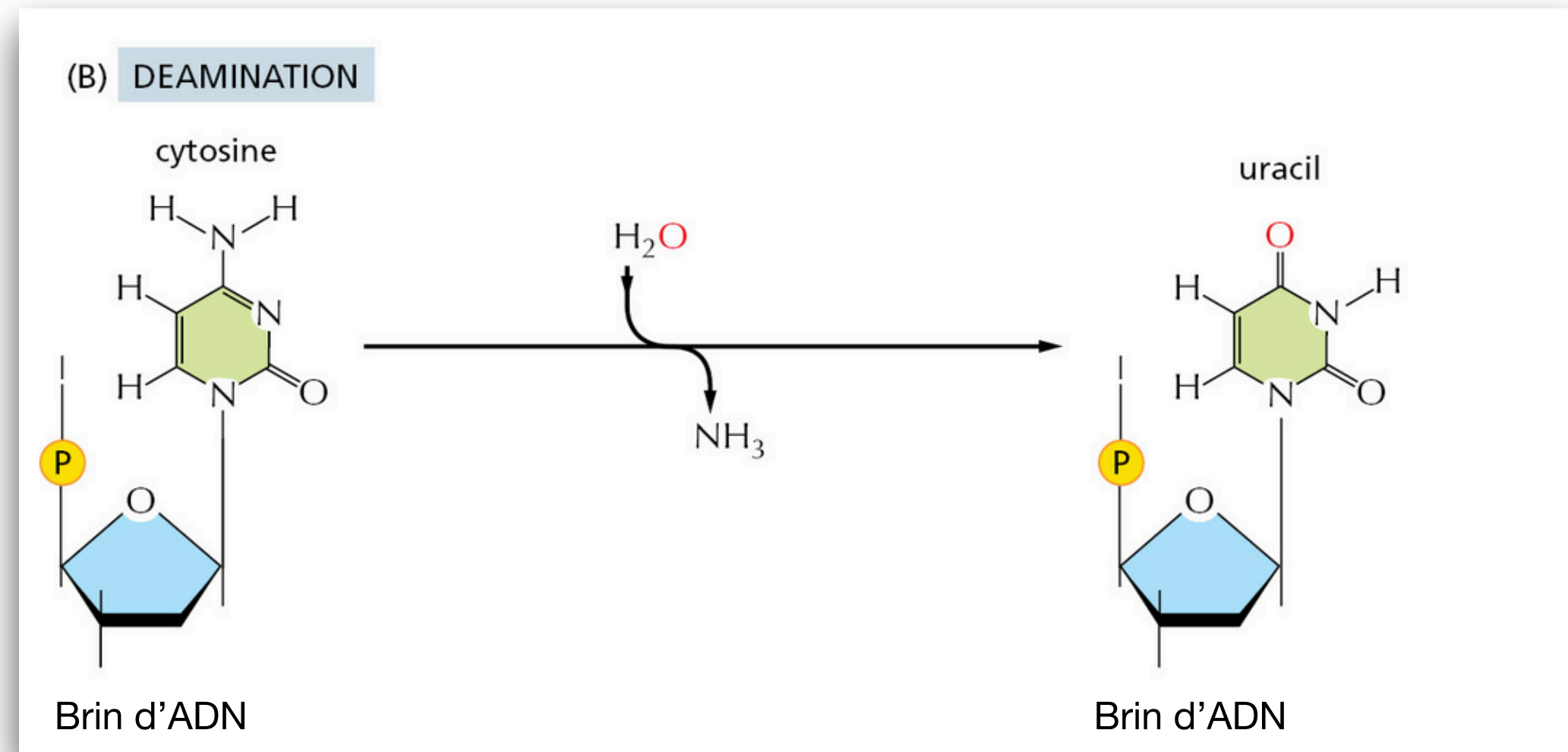
2- Origines

a- Erreurs lors de la réplication (polymérase)

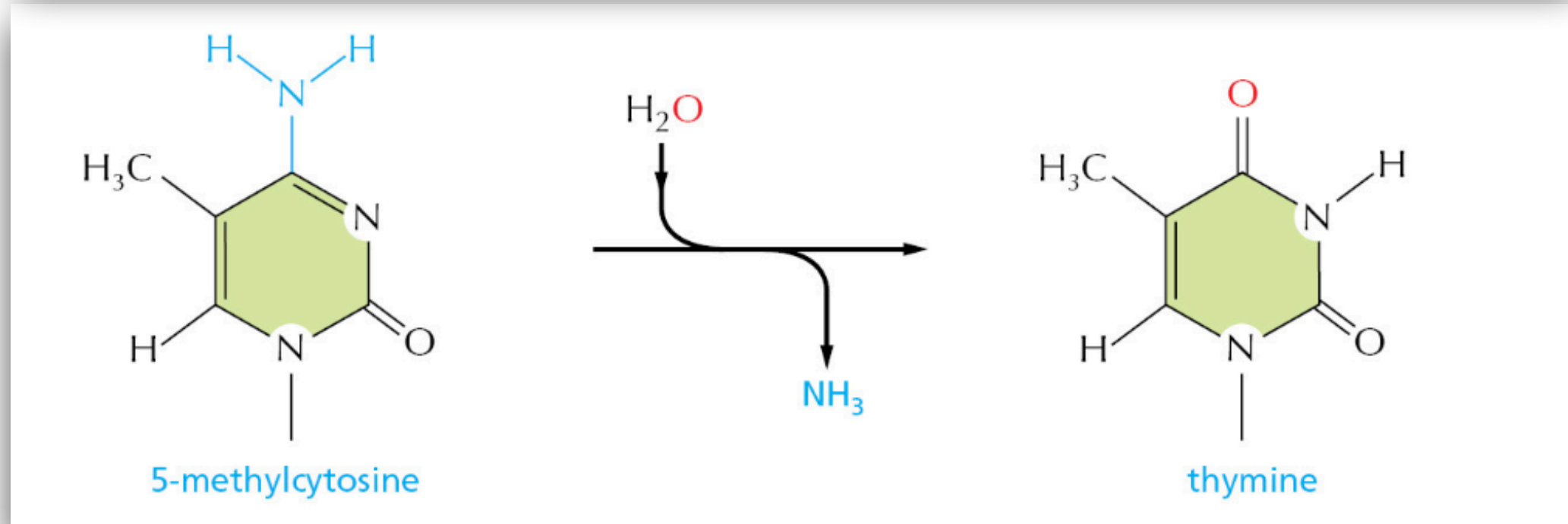
b- Altérations chimiques

Exemples: déamination (perte d'un groupe amine (NH₂))

Cytosine



5-methylcytosine



Effet lors de la réplication si non-réparé

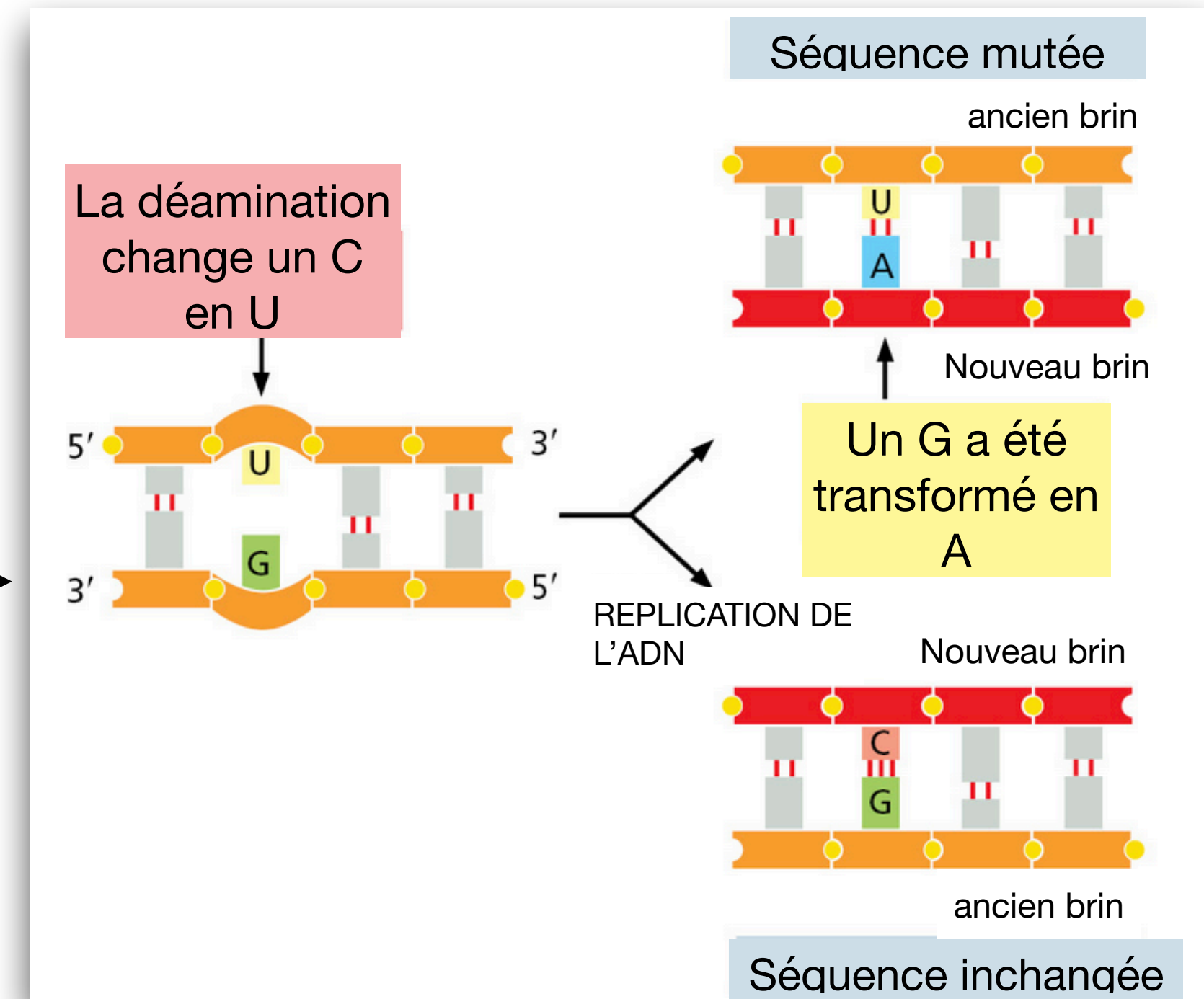


TABLE 5-3 Endogenous DNA Lesions Arising and Repaired in a Diploid Mammalian Cell in 24 Hours

DNA lesion	Number repaired in 24 hr
Hydrolysis	
Cytosine deamination	100
5-Methylcytosine deamination	10

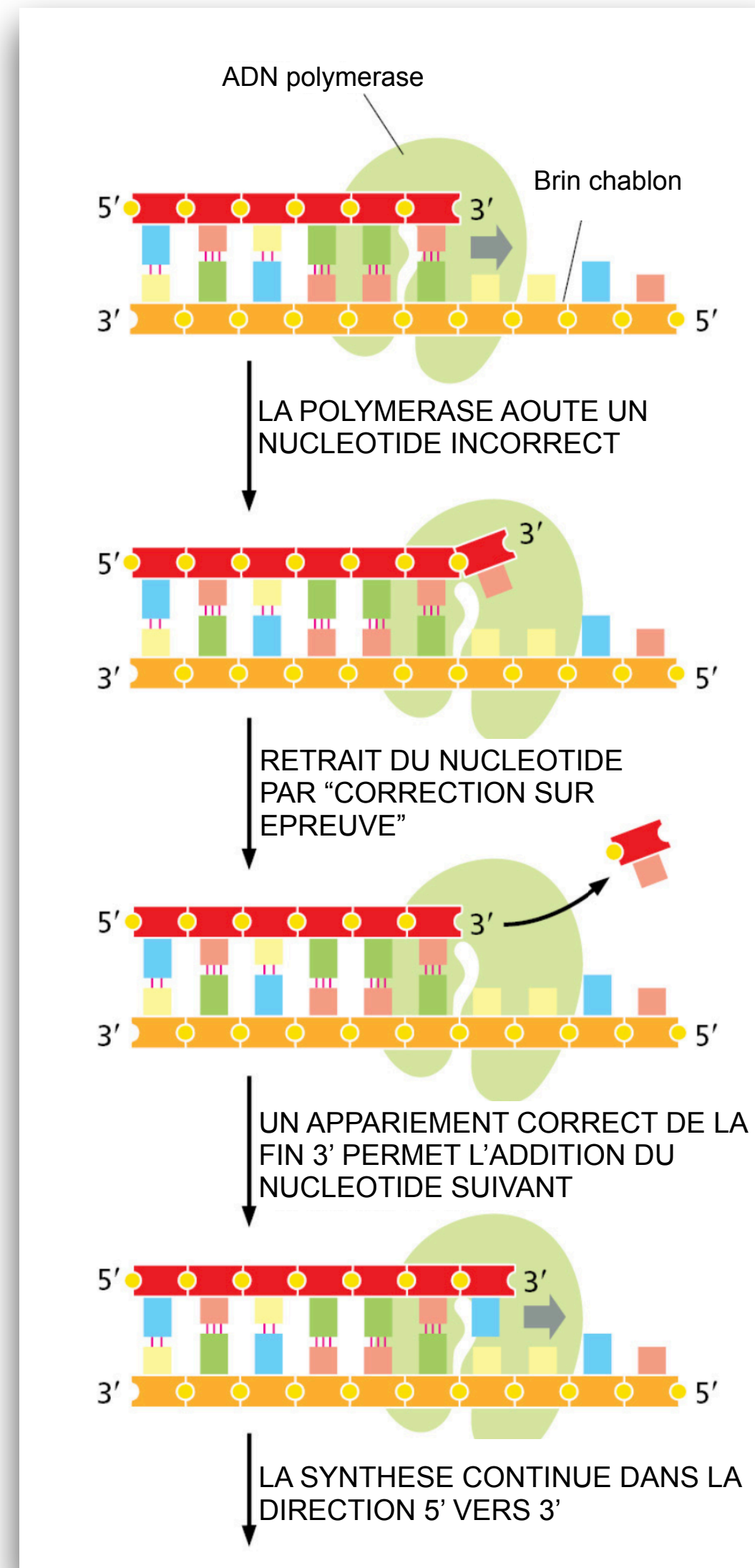
Adapté de *Molecular Biology of the Cell, 7th edition*

Les substitutions

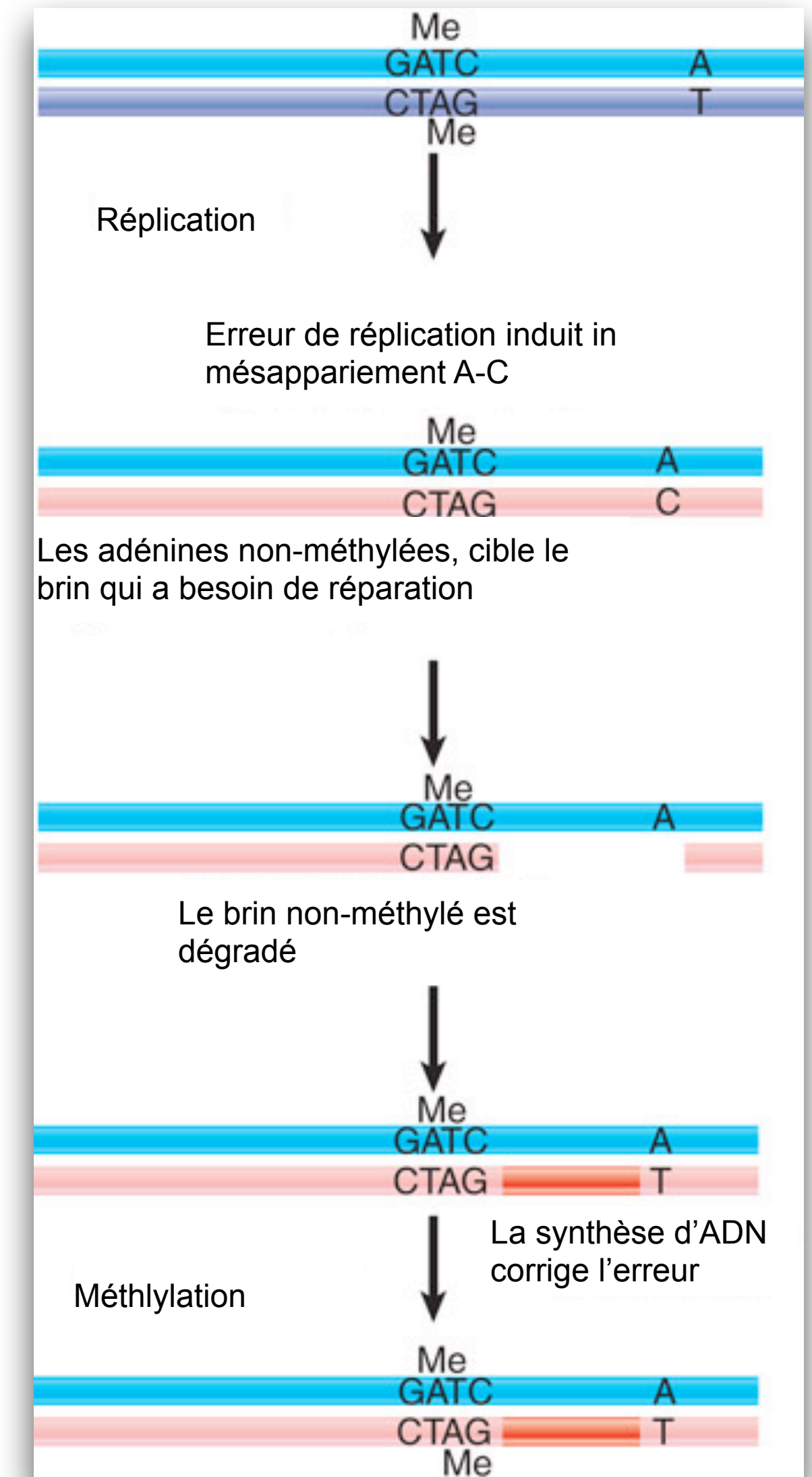
3- Réparations:

a- RAPPEL (voir cours réplication):
réparation lors de la réplication

Correction sur épreuve (proofreading)



Réparation des mésappariements (mismatch)



Adapté de Lewin's *GENES XII* et de *Molecular Biology of the Cell, 7th edition*

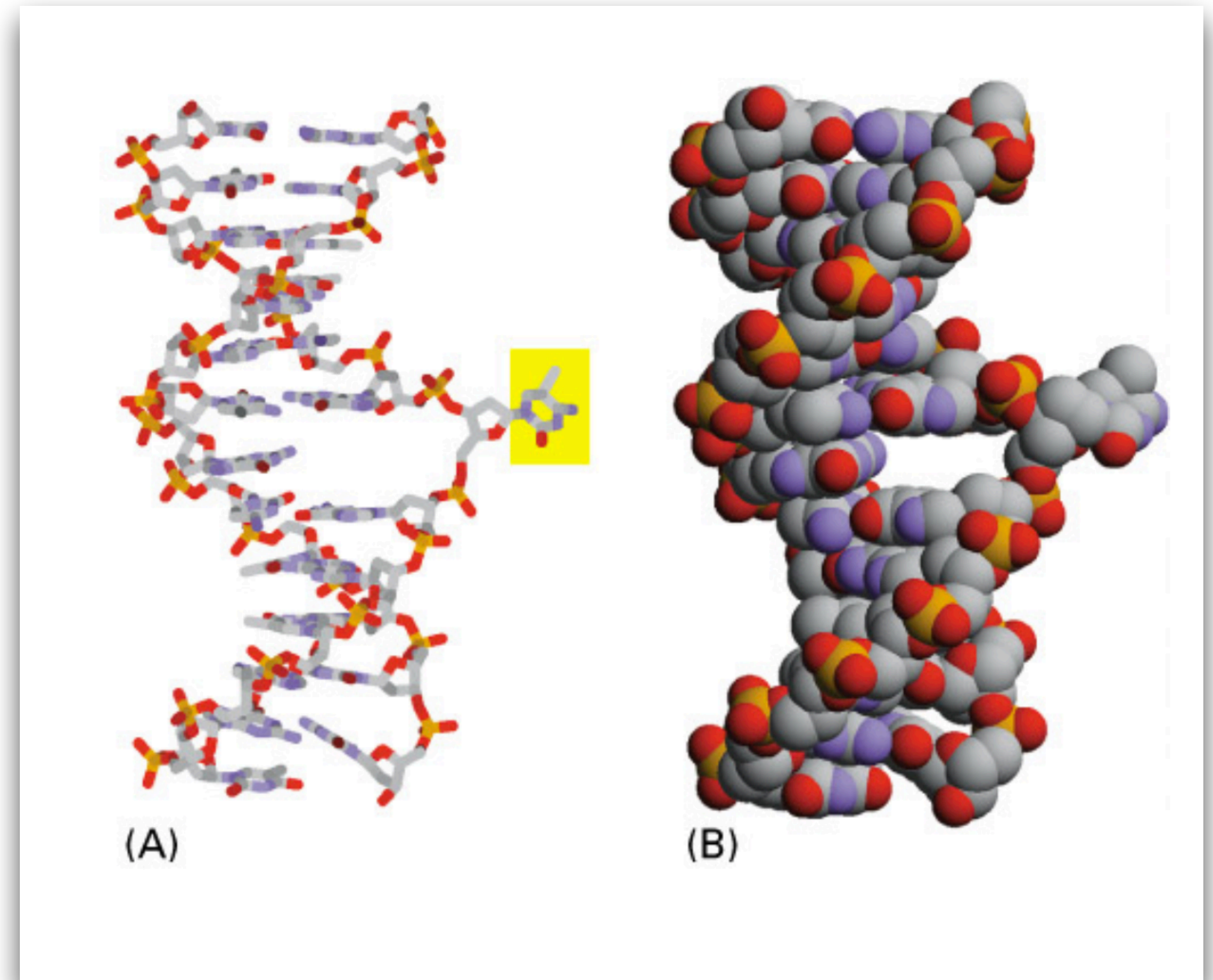
Les substitutions

3- Réparations:

a- RAPPEL (voir cours Réplication):
réparation lors de la réplication

b- réparation par excision de bases (BER)

Les mésappariements sont visibles



Les substitutions

3- Réparations:

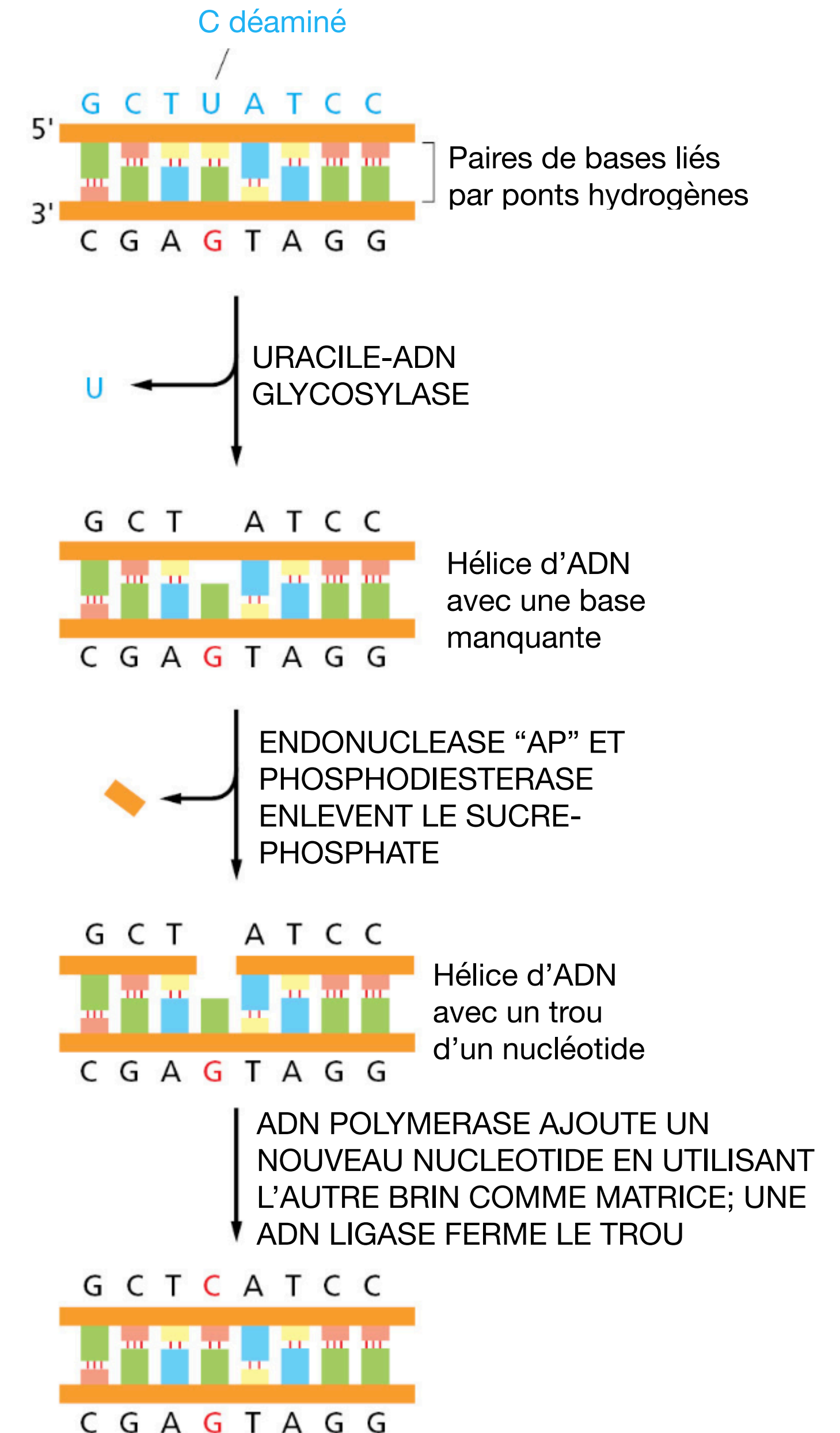
a- RAPPEL (voir cours Réplication):
réparation lors de la réplication

b- réparation par excision de bases (BER)

Le BER est utilisé typiquement pour les modifications de bases mais aussi pour les cassures simples brins ou lors de la présence d'uracil dans l'ADN

Le BER fonctionne pendant l'entier du cycle cellulaire et pas seulement durant la réplication...

(A) REPARATION PAR EXCISION DE BASES (BER)



Les substitutions

4- Exemple:



variation neutre	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT	GCC	GTT	ACT
	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT	GCA	GTT	ACT

alanine → alanine

variation non-neutre	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT	GCC	GTT	ACT
	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT	GCC	GTT	ACT

glutamine → valine

Variation à l'état hétérozygote

- 1- La plupart du temps sans effet
- 2- Effet positif de protection contre les symptômes de la Malaria

Variation à l'état homozygote:

Effet néfaste: anémie falciforme



EM Unit, UCL Medical School, Royal Free Campus, Wellcome Images

Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

2- les insertion/deletion (indels)

Les insertion/délétion (Indels)

1- Description

référence ATGGTGCACCTGACTCCTGGGGAGAAGTCTGCC

deletion ATGGTGCACCTGACTCCT-~~GGGAGAAGTCTGCC~~

deletion ATGGTGCACCTGACTCCT-~~-----~~TGCC

insertion ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGGAGAAGTCTGCC

insertion ATGGTGCACCTGACTCCTGATGCTATTAGCGGGAGAAGTCTGCC

Dans tout les cas, l'ADN reste continu! Il n'y a pas de trou, juste une perte d'information

changement d'information: message potentiellement different

Les insertion/délétion (Indels)

2- Origines

a- Perte de base spontanée

Exemple: dépurination (ici: perte de la base G ou A)

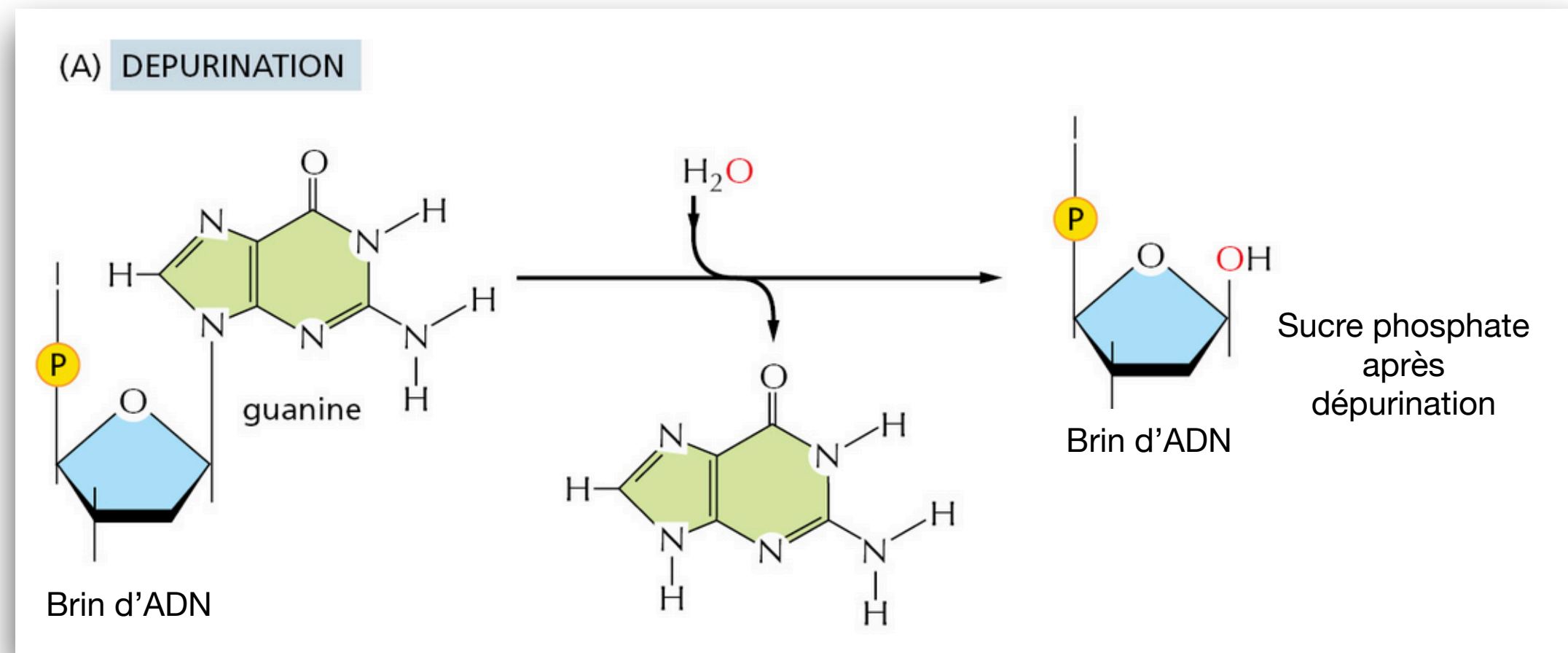
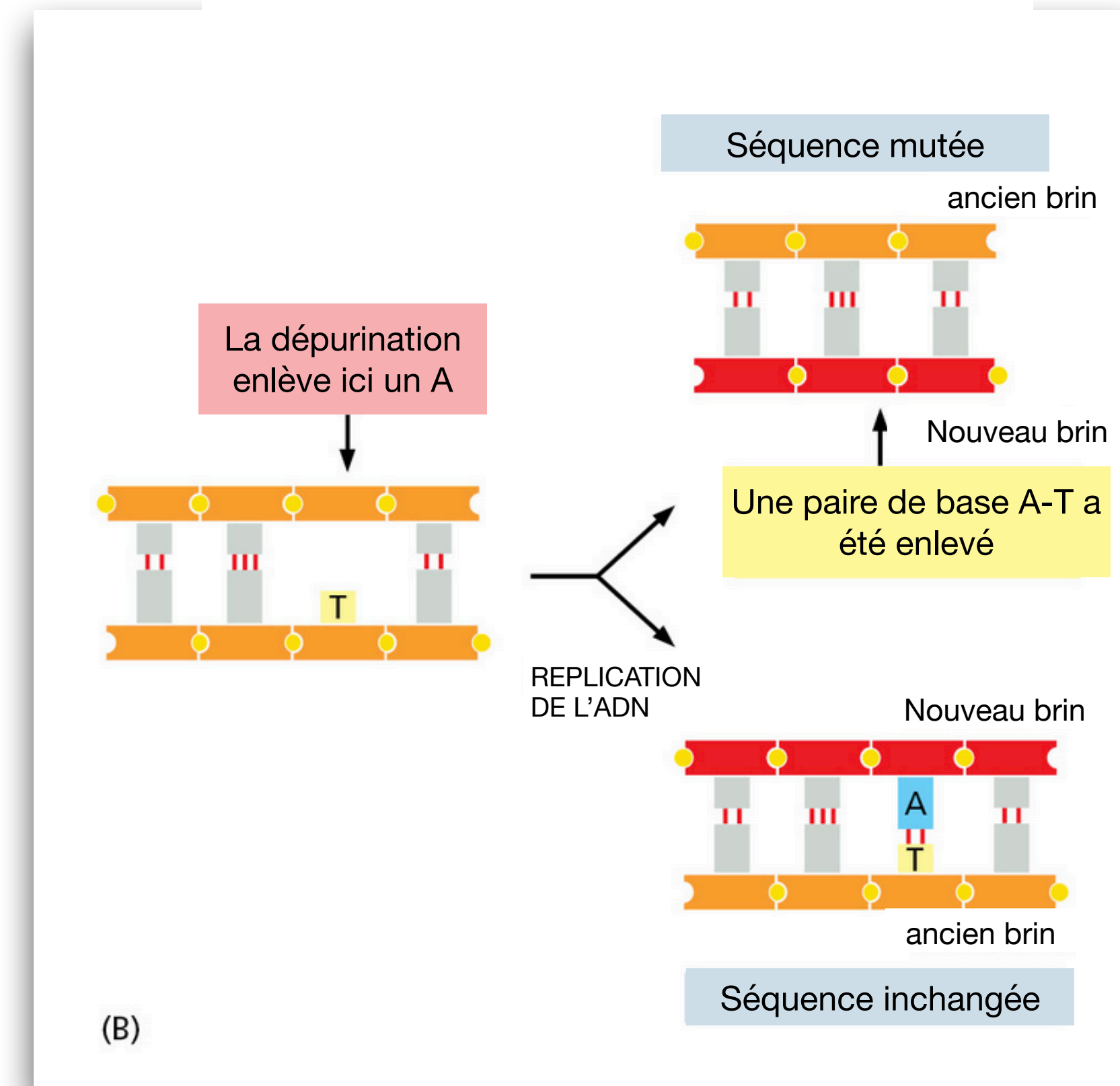


TABLE 5-3 Endogenous DNA Lesions Arising and Repaired in a Diploid Mammalian Cell in 24 Hours

DNA lesion	Number repaired in 24 hr
Hydrolysis	
Depurination	18,000

Fixation de la délétion (ou insertion) lors de la réplication si non-réparé



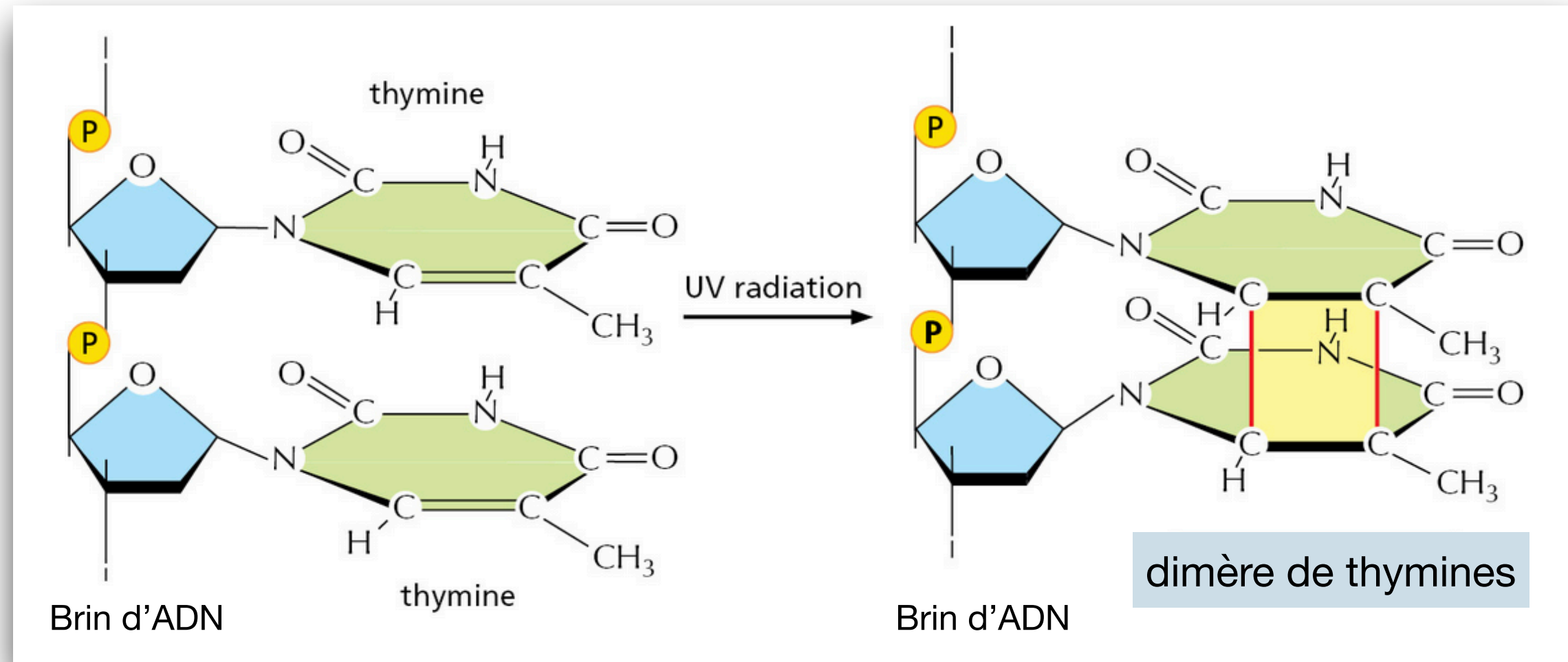
Les insertion/délétion (Indels)

2- Origines

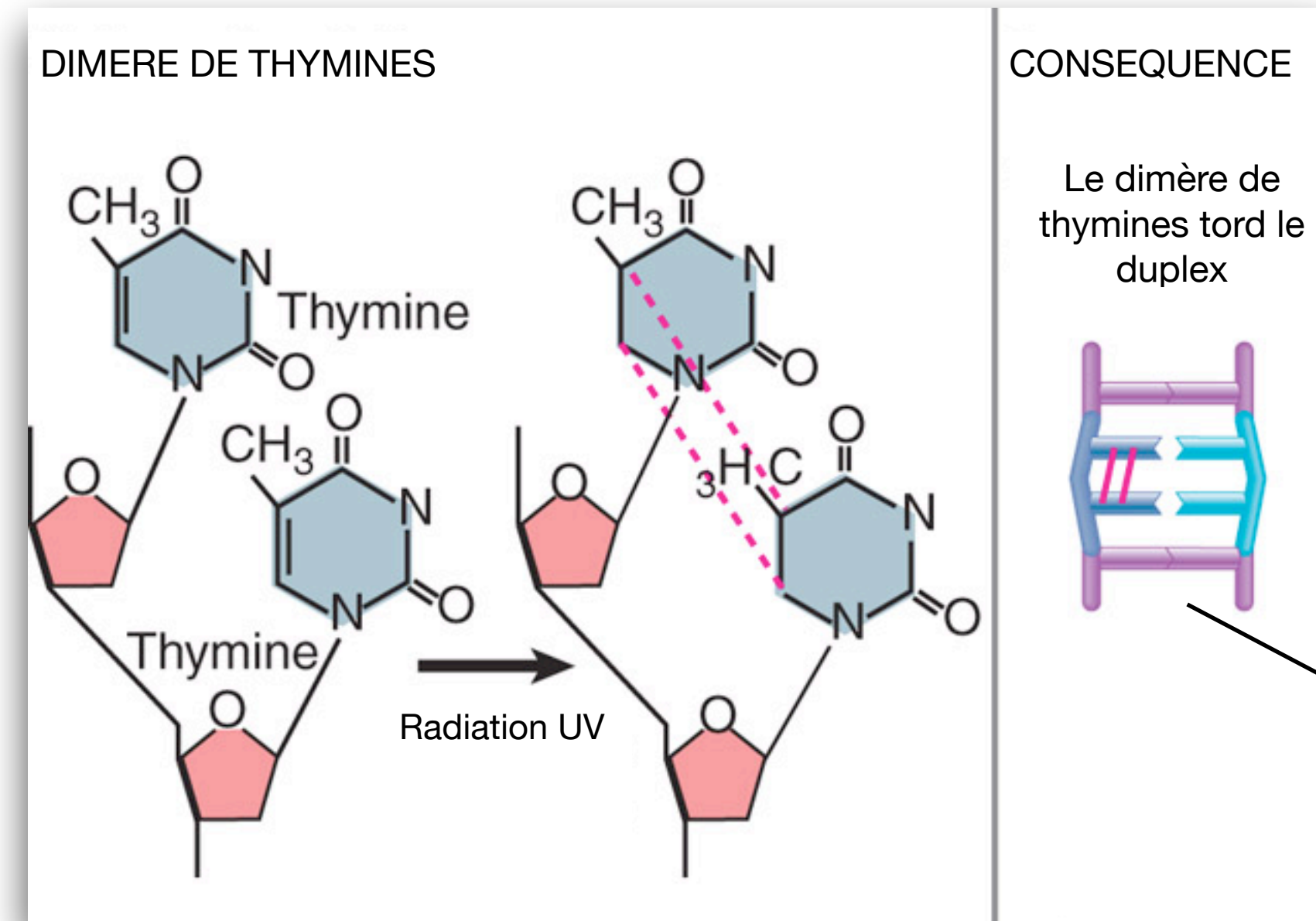
a- Perte de base spontanée

b- Modificateurs exogènes

Exemple: dimères de thymine



Effet lors de la réplication si non-réparé



La polymérase ne peut pas lire correctement et fait des erreurs (p.e. deletion)

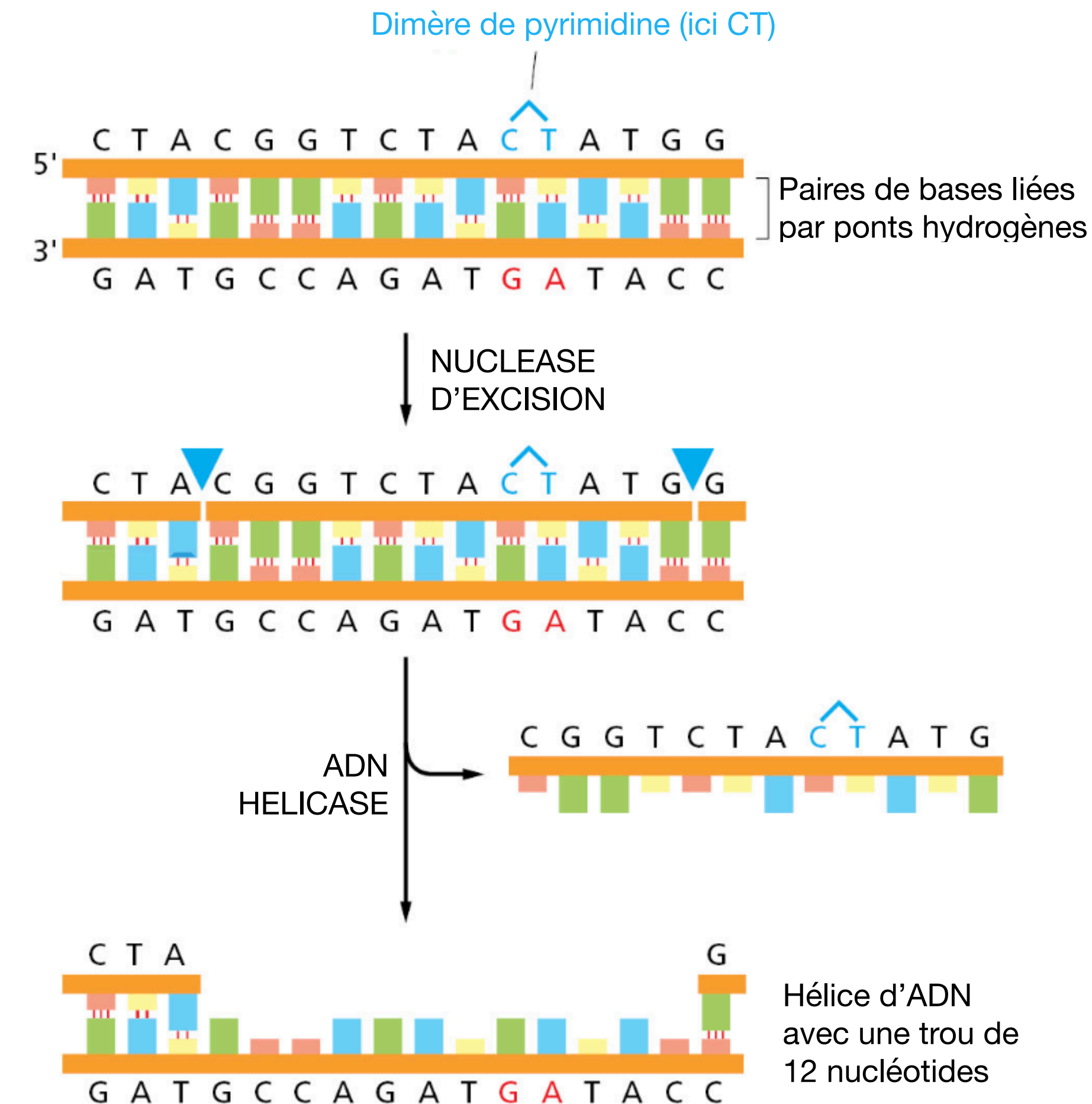
c- Cassures double-brin mal réparée (voir chapitre suivant)

Les insertion/délétion (Indels)

3- Réparation

a- Réparation par excision de nucléotides (NER):

(B) REPARATION PAR EXCISION DE NUCLEOTIDES (NER)



Le NER est similaire aux réparations des mésappariements (mismatch: voir cours précédent). Cependant, il fonctionne pendant l'entier du cycle cellulaire et pas seulement durant la réplication...

Le NER est utilisé principalement pour les dégâts provoqués par les ultraviolets, typiquement les dimères de pyrimidines (incluant dimères de thymines).

ADN POLYMERASE AJOUTE DE NOUVEAUX NUCLEOTIDES EN UTILISANT L'AUTRE BRIN COMME MATRICE; UNE ADN LIGASE FERME LE TROU



Les insertion/délétion (Indels)

4- Exemple:

a- Mutation dans un des gènes du système de réparation par excision de nucléotide (XPA, XPB, XPC,...)

b- Extreme sensibilité au soleil (peau, yeux), peau écailleuse et sèche, ulcérations des cornées...

c- Développement de cancers de la peau après exposition minimal



Tumara et al., 2014: PMID: 24417420

Variabilité et ingénierie de l'ADN

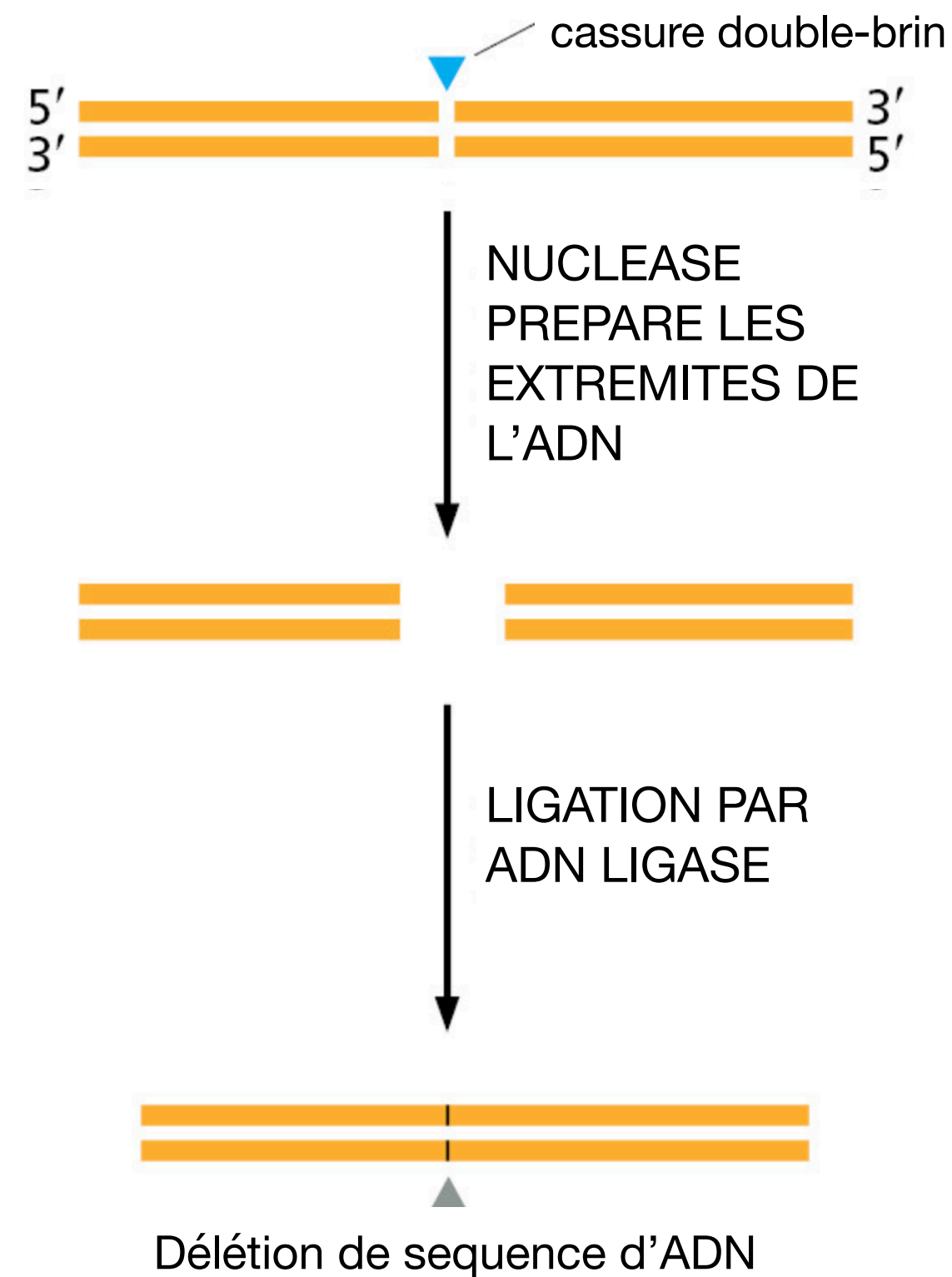
Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

3- la réparation des cassures double-brin

La réparation des cassures double-brin

1- jonction d'extrémités non-homologues (NHEJ)

JONCTION D'EXTREMITES NON-HOMOLOGUES (NHEJ)



CASSURE REPAREE MAIS PERTE/GAIN
DE NUCLEOTIDES (INDELS) AU SITE DE
REPARATION

les cassures double brin sont principalement causée par:

- des rayonnements ionisants (type rayons X)
- des erreurs lors de la réplication
- recombinaison dirigée (voir recombinaison VDJ)

La réparation des cassures double-brin



SpeakUp



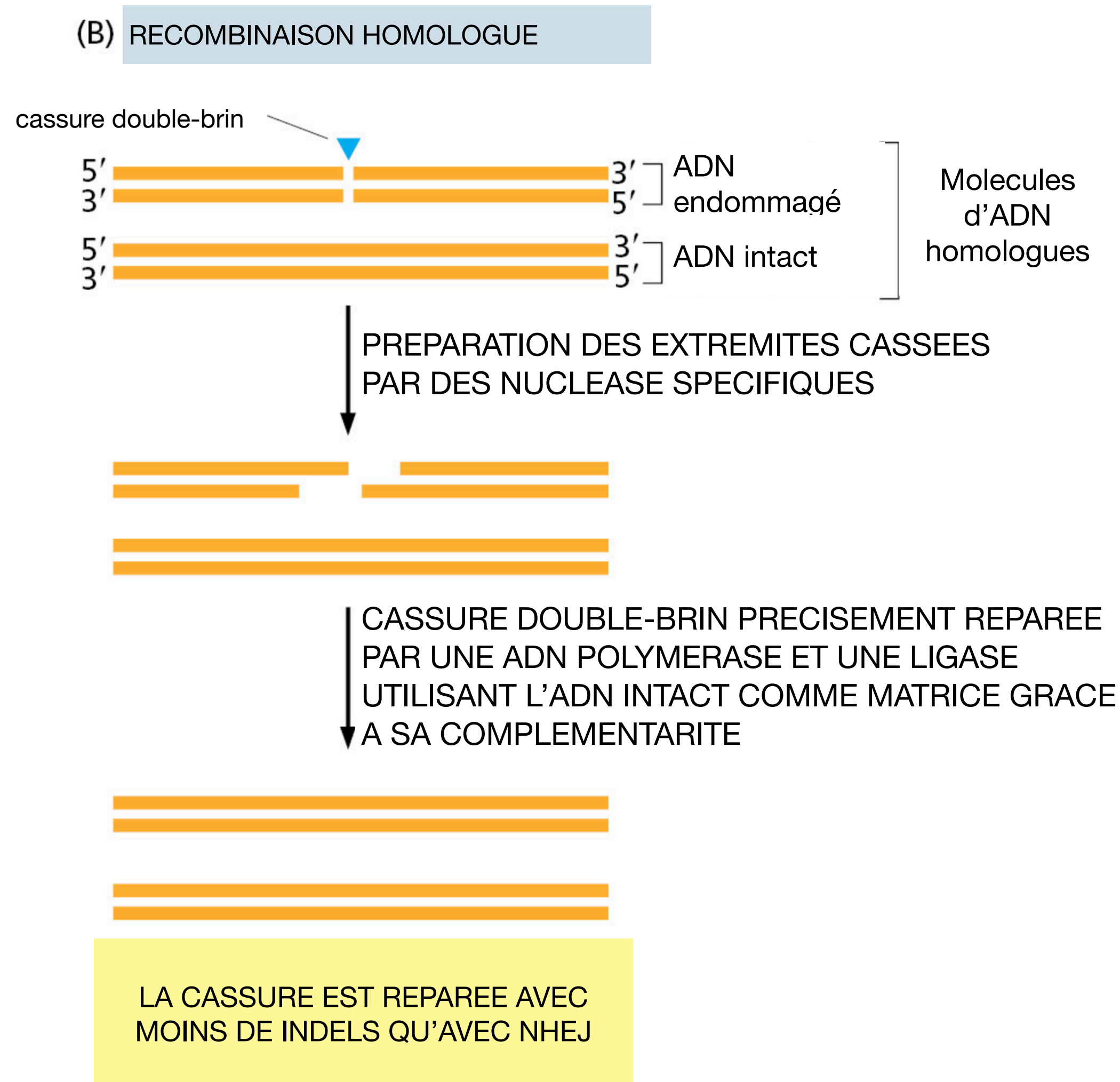
<https://web.speakup.info/room/join/48216>

QUIZZ: combien de “cicatrices” NHEJ en moyenne dans une cellule de 70 ans

- A- 20
- B- 200
- C- 2000
- D- 20000

La réparation des cassures double-brin

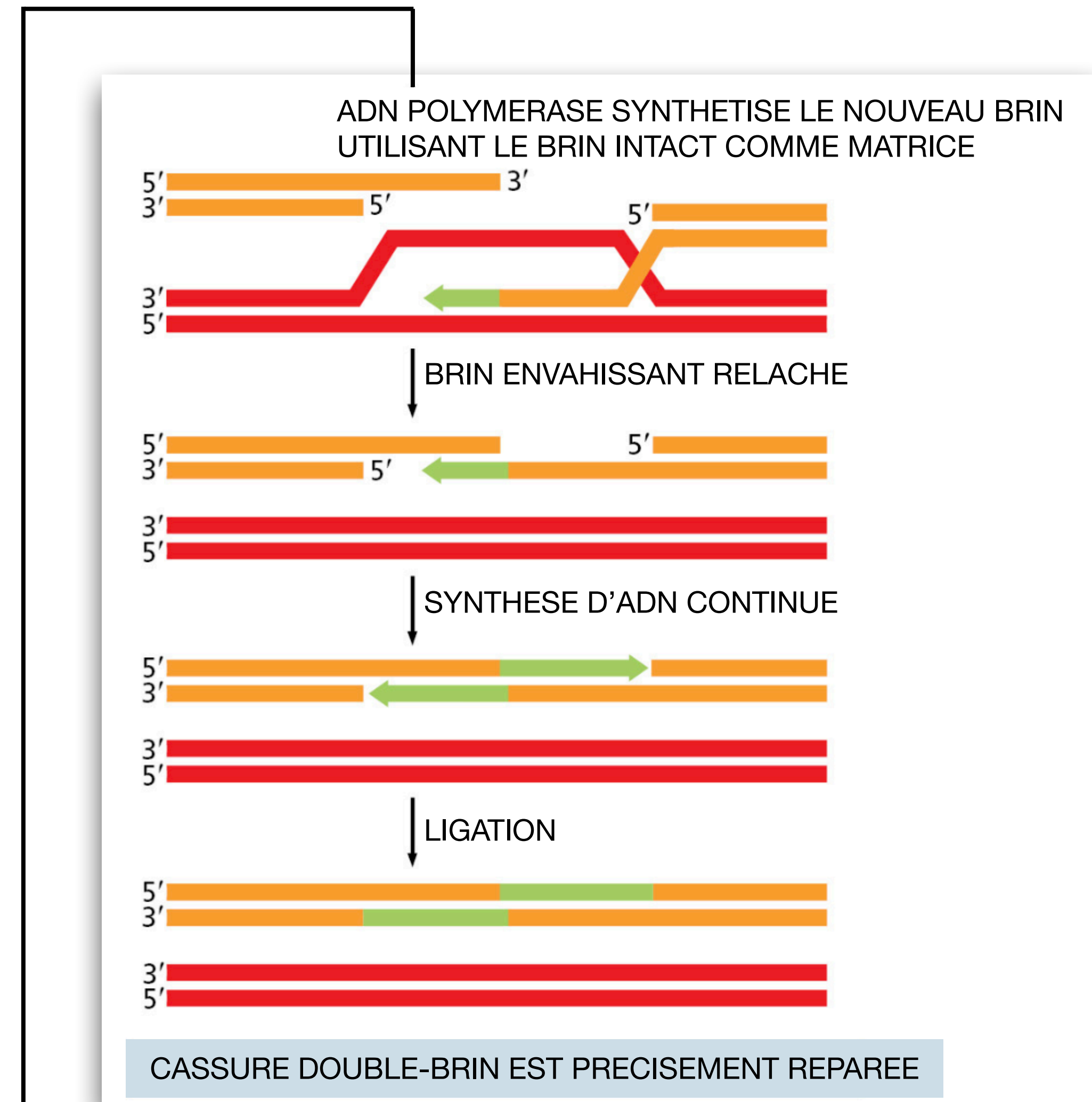
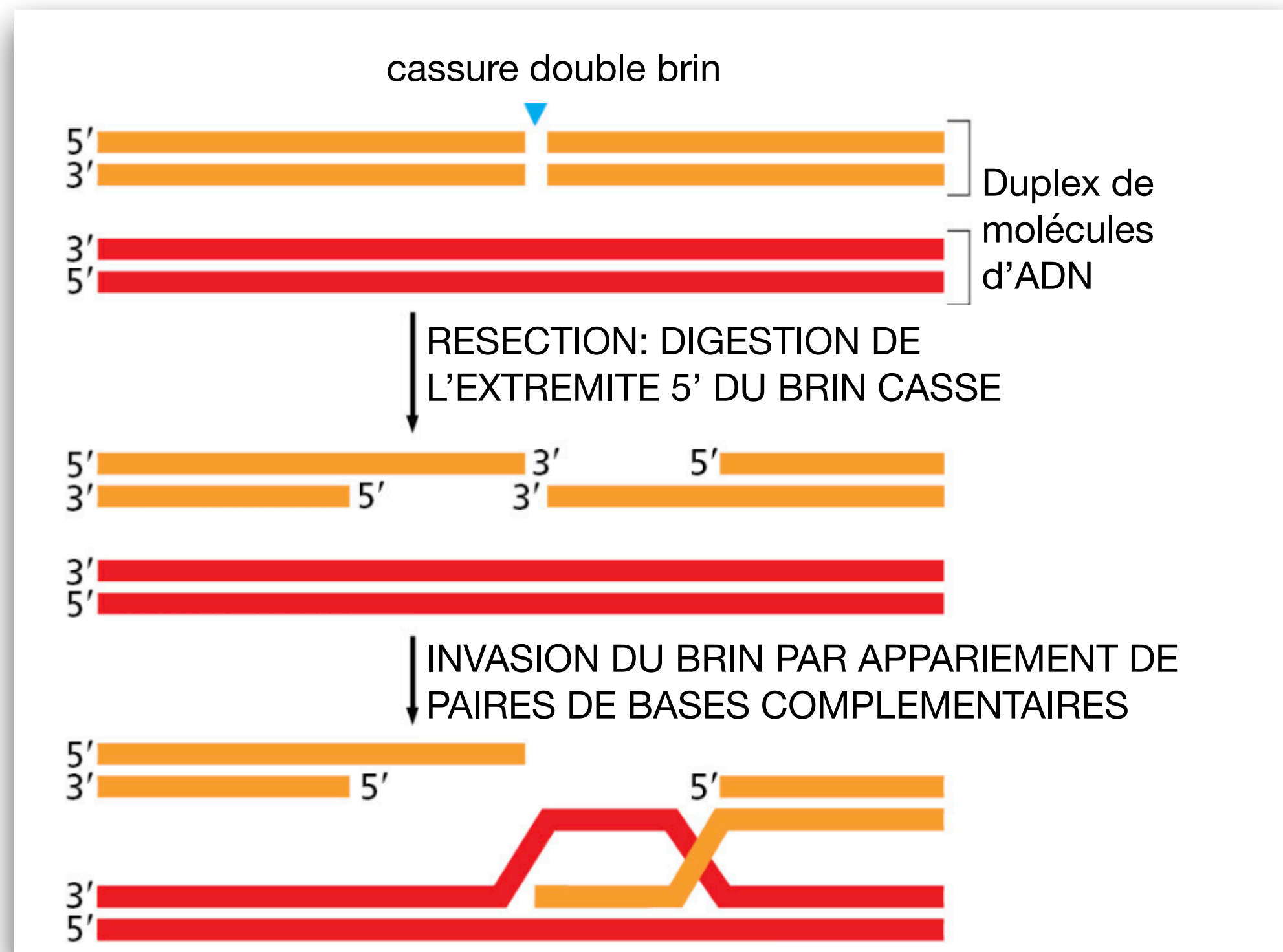
2- recombinaison homologue (RH)



La RH fonctionne principalement pendant les phases S et G2, lorsque l'ADN est en cours de réplication ou vient d'être répliqué, et qu'une chromatide sœur proche est disponible.

La réparation des cassures double-brin

2- recombinaison homologue (RH)



Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

4- les répétitions

Les répétitions

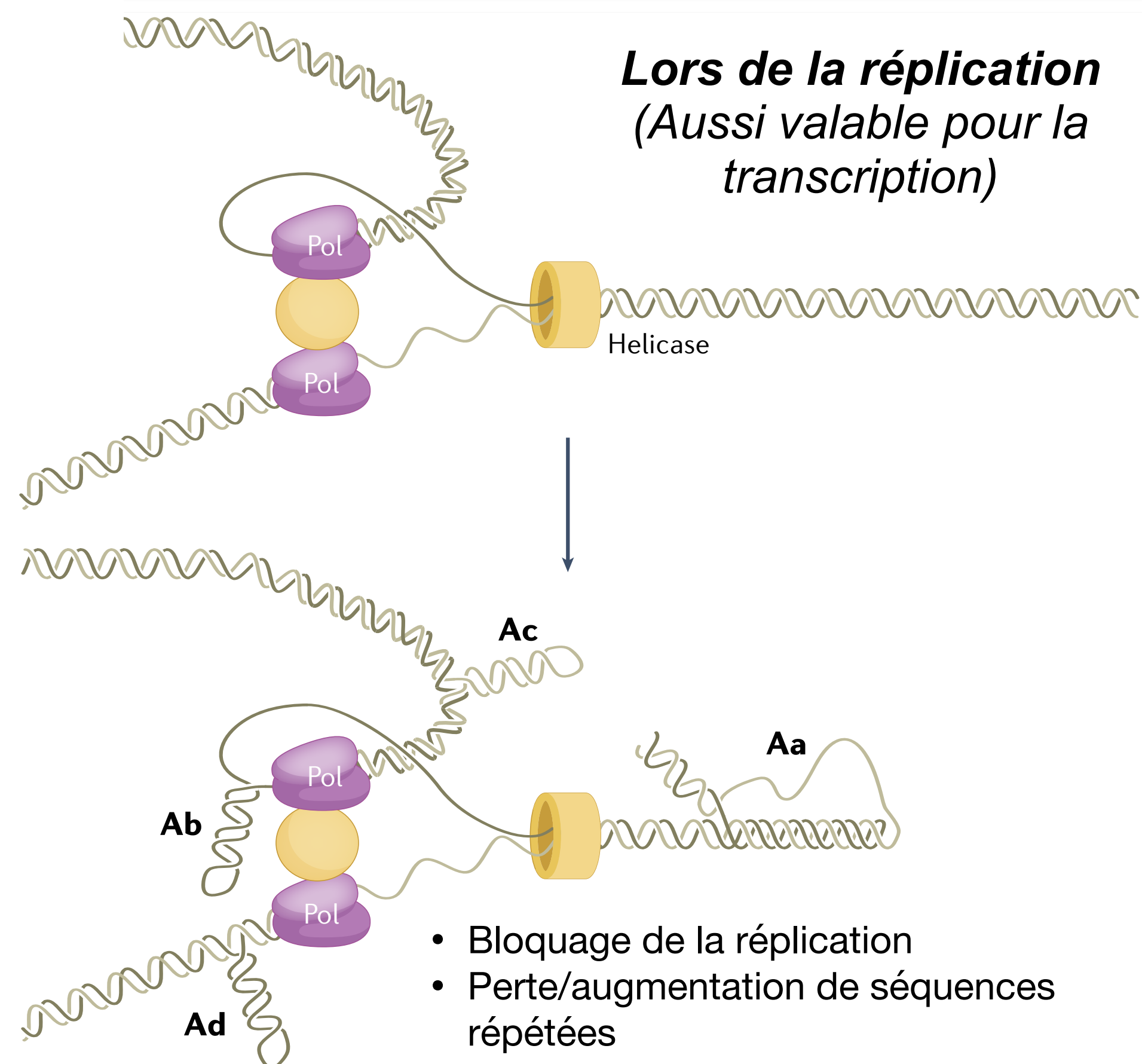
1- Description

référence ATGGTGCACCTGACAGCAGCAGAGAAGTCTGCC

répétition ATGGTGCACCTGACAGCAGCAGCAGCAGAGAAGTCTGCC

Origines: erreurs lors de la réplication, parfois liées avec des formes non-canoniques de l'ADN

*Lors de la réplication
(Aussi valable pour la
transcription)*



Changement dans le nombre de répétitions d'une séquence simple

Les formes non-B formant des épingles d'ADN simple-brin:

- en amont de la fourche: contractions de répétitions.
- en aval de la fourche; expansions de répétitions.
- Les raisons mécaniques pour laquelle cela se passe ne sont pas encore très claires

Il n'y a pas de système de réparation dédié décrit

Les répétitions

2- Exemple: chorée de Huntington

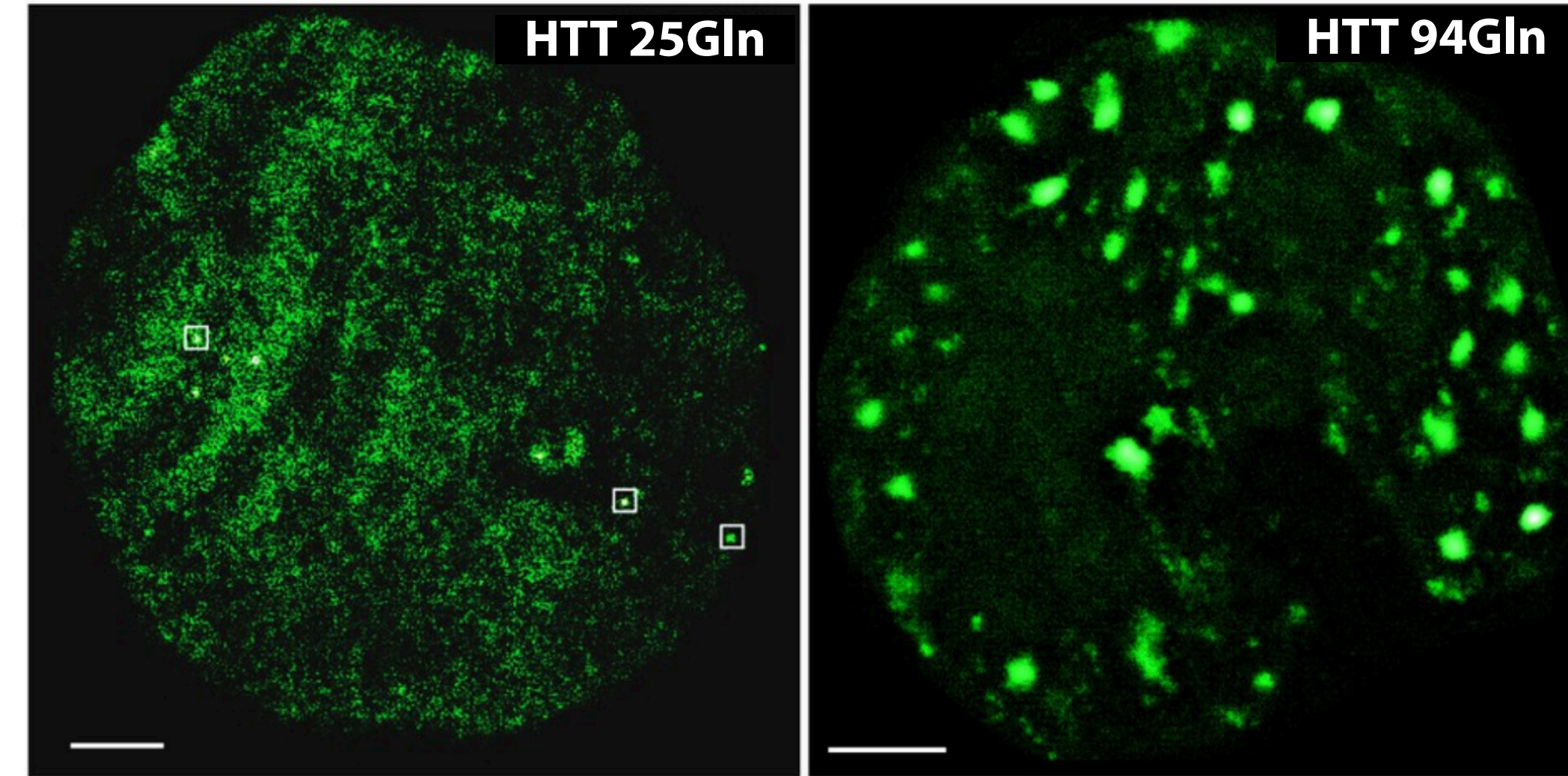
a- Mouvements irrépressibles: "chorée"

b- Troubles cognitifs aboutissant à une démence

c- Troubles psychiatriques

d- Se manifeste entre 35 et 50 ans

e- La maladie et son expression sont liées à une répétition de CAG (Glutamine: Gln) dans le gène codant pour la Huntingtine (HTT)



Li Li et al., eLife 2016

(5-35x)



(36-100x)

PAUSE

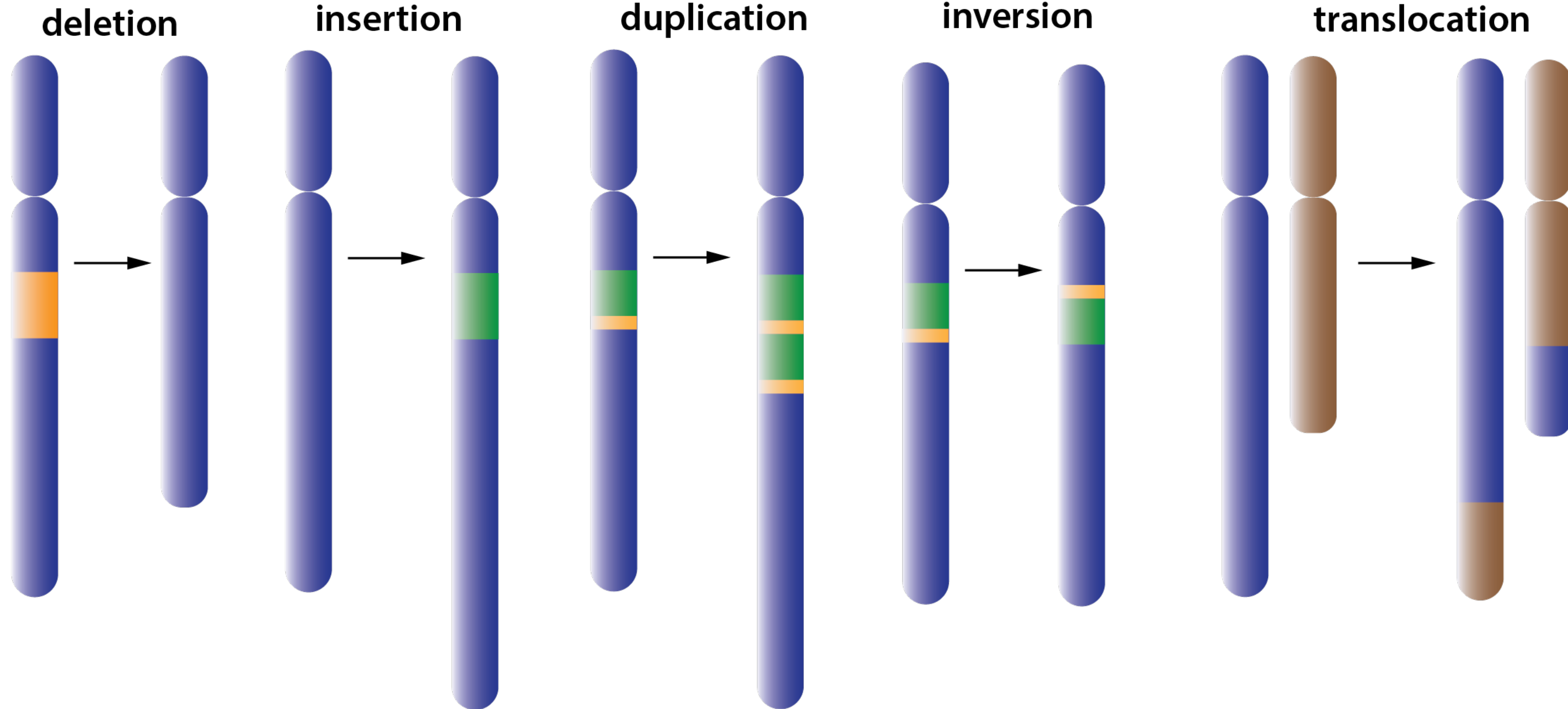
Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

5- les variants structuraux (SVs)

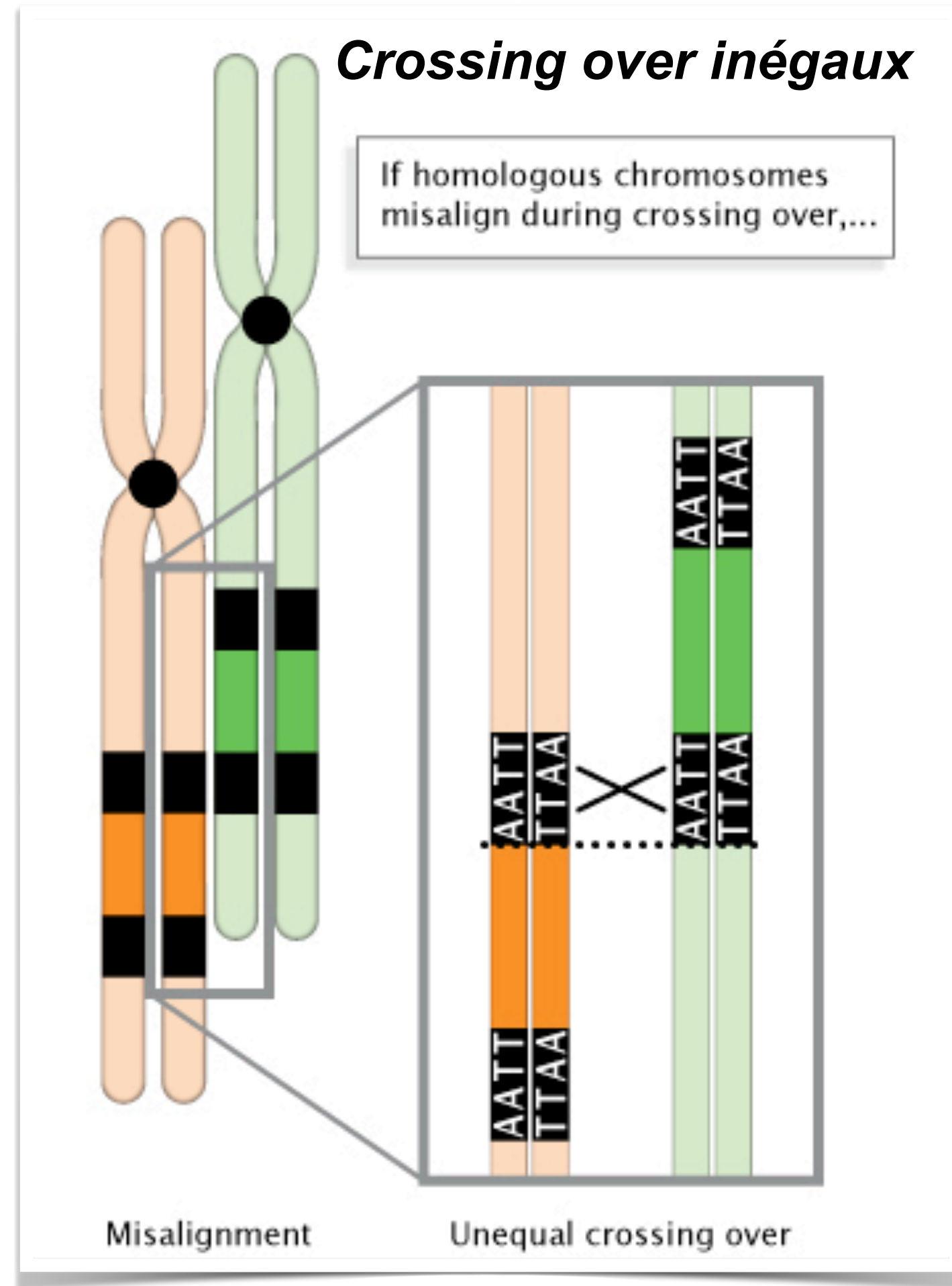
Les variants structuraux

1- Description



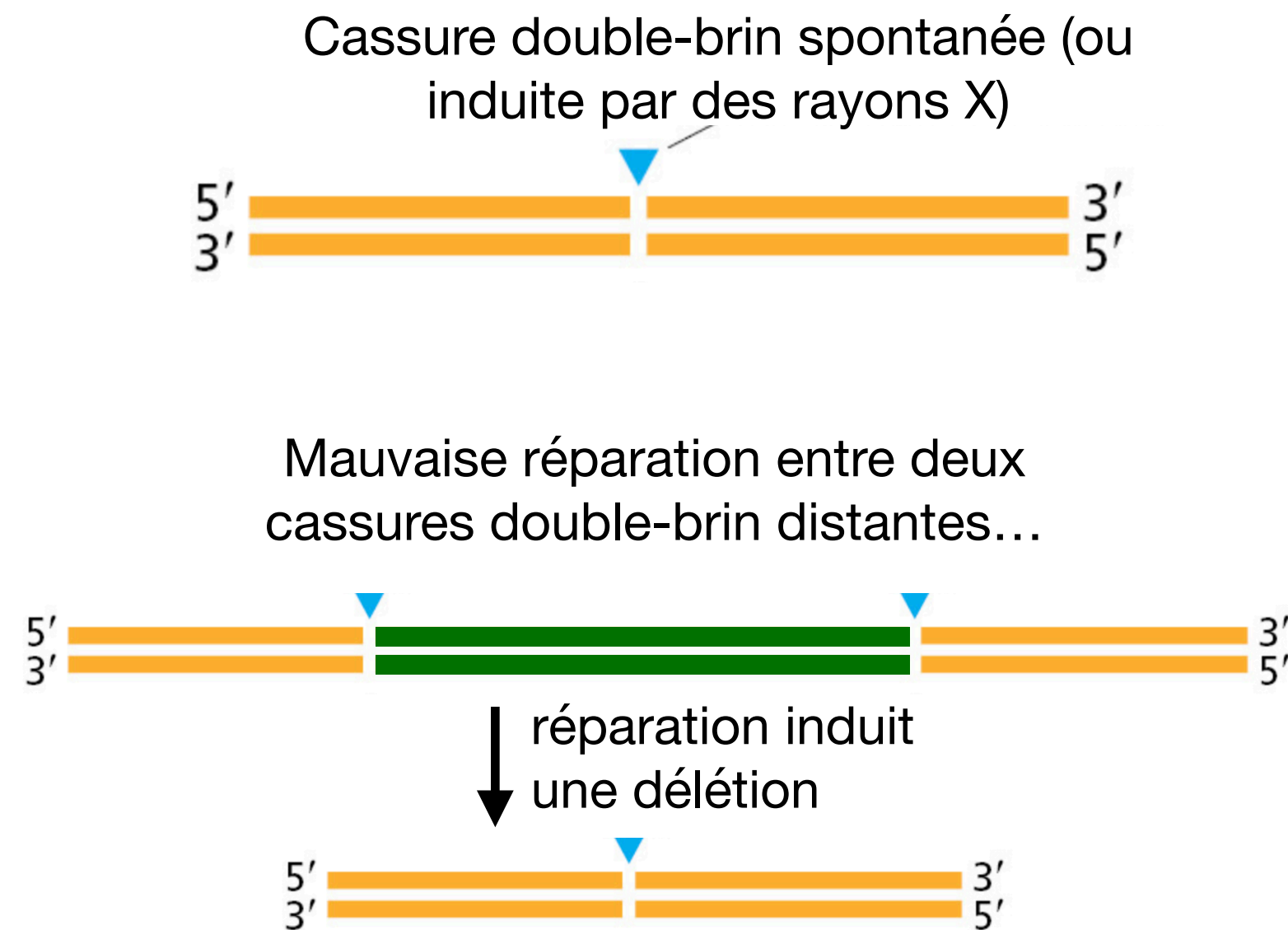
Les variants structuraux

2- Origine



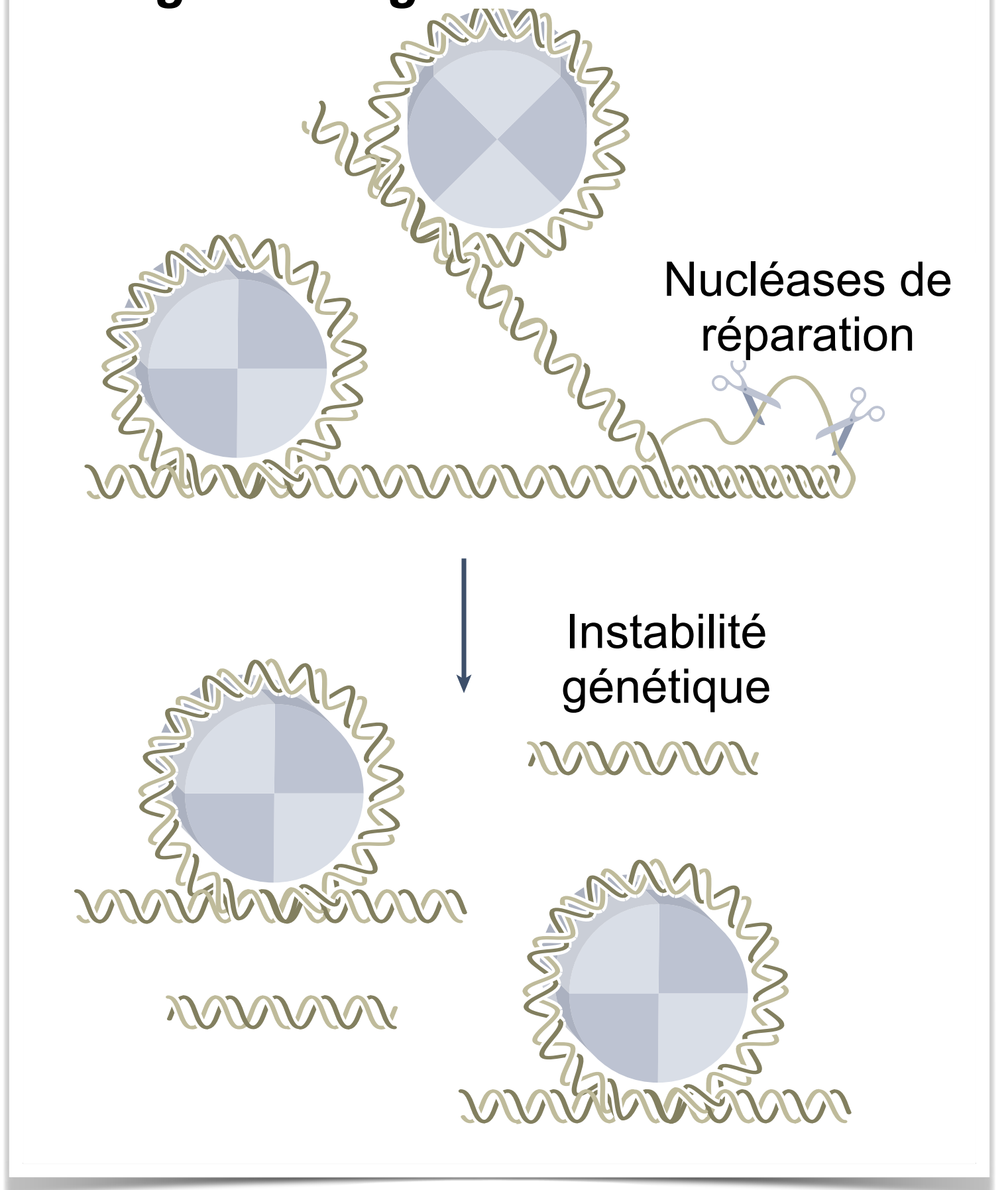
(Voir suite du cours)

cassures double-brin mal réparées sont l'une des origines des variants structuraux



Il n'y a pas de système de réparation dédié décrit

Clivage des régions non-B



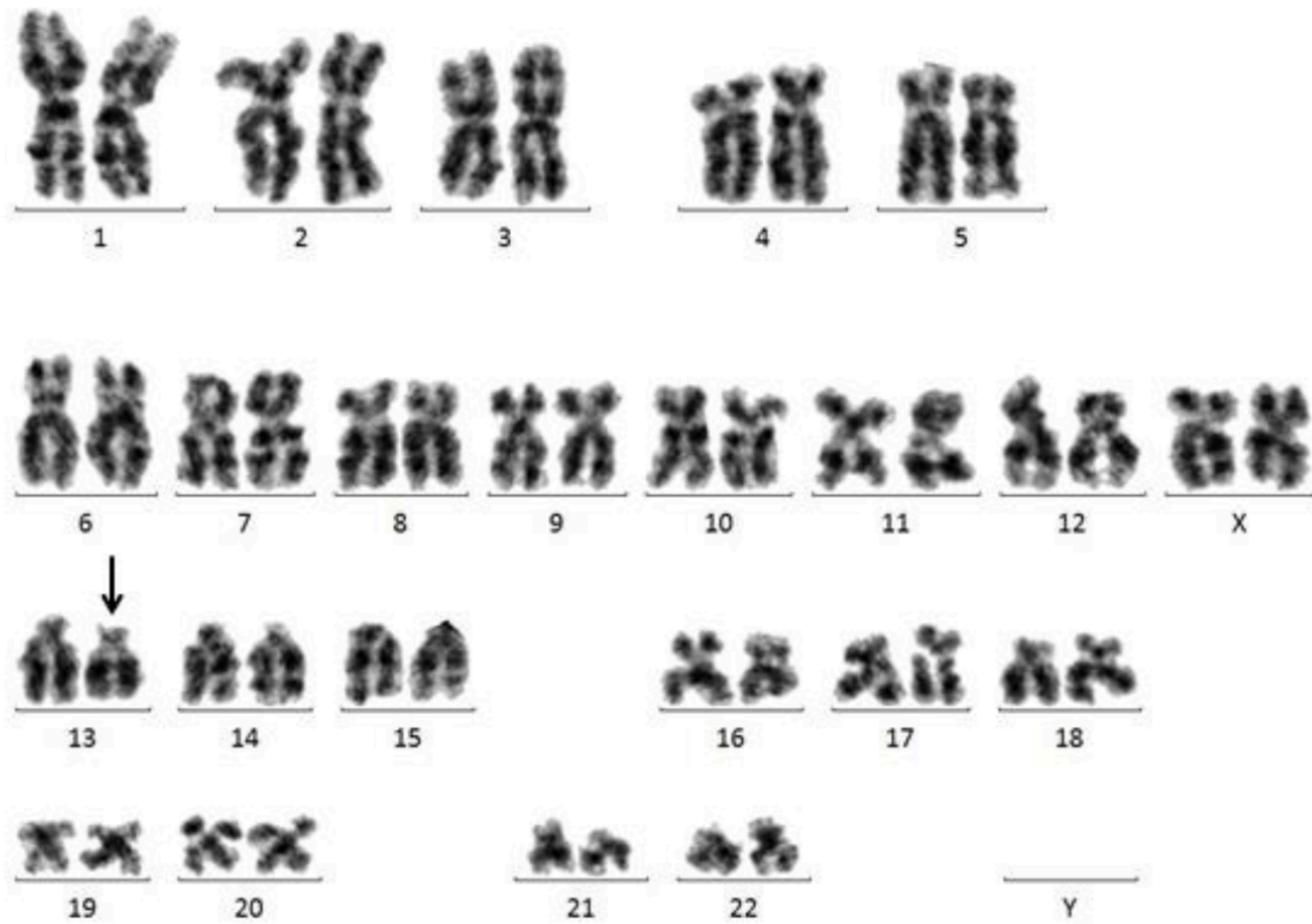
Adapté de Wang and Vasquez, Nat. Rev. Gen. 2023

Adapté de Lewin's GENES XII et de Molecular Biology of the Cell, 7th edition

Les variants structuraux

3- Exemple

Syndrome 13q deletion



- Plusieurs délétions couvrant la même région du chromosome 13
- Variations possibles dans les points de cassure
- Généralement: retard de croissance, retard intellectuel et malformations congénitales
- Lorsqu'elle inclut le gène *RB* -> augmentation du risque de rétinoblastome



Variabilité et ingénierie de l'ADN

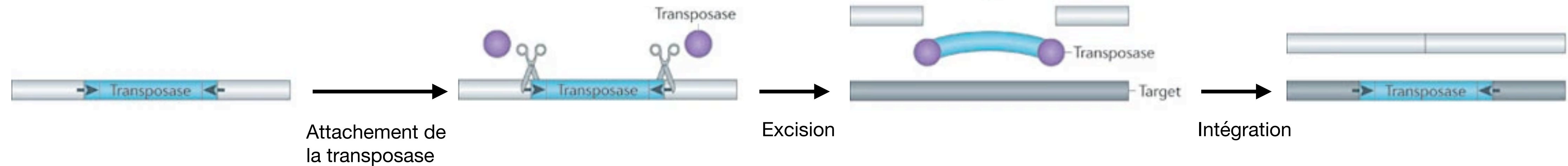
Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

6- les éléments transposables

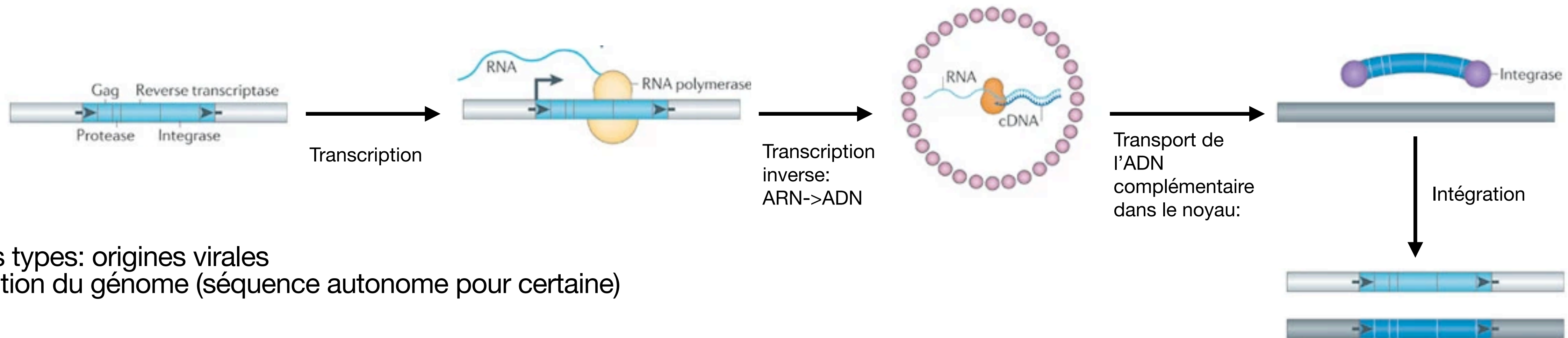
Transposons et retro-transposons

1- Description

Transposon ADN "couper coller"



Retrotransposon LTR "copier coller"



Origine

- Pour certains types: origines virales
- Liés à l'évolution du génome (séquence autonome pour certains)

Fonction:

- Régulation génique
- Evolution
- Structure du chromosome

Il n'y a pas de système de réparation dédié décrit mais plutôt des systèmes de prévention

Partie-2: les types de variations, leurs origines et réparations

Notez que certains mécanismes induisant des modifications de séquence peuvent générer différents types de variations

Exemples

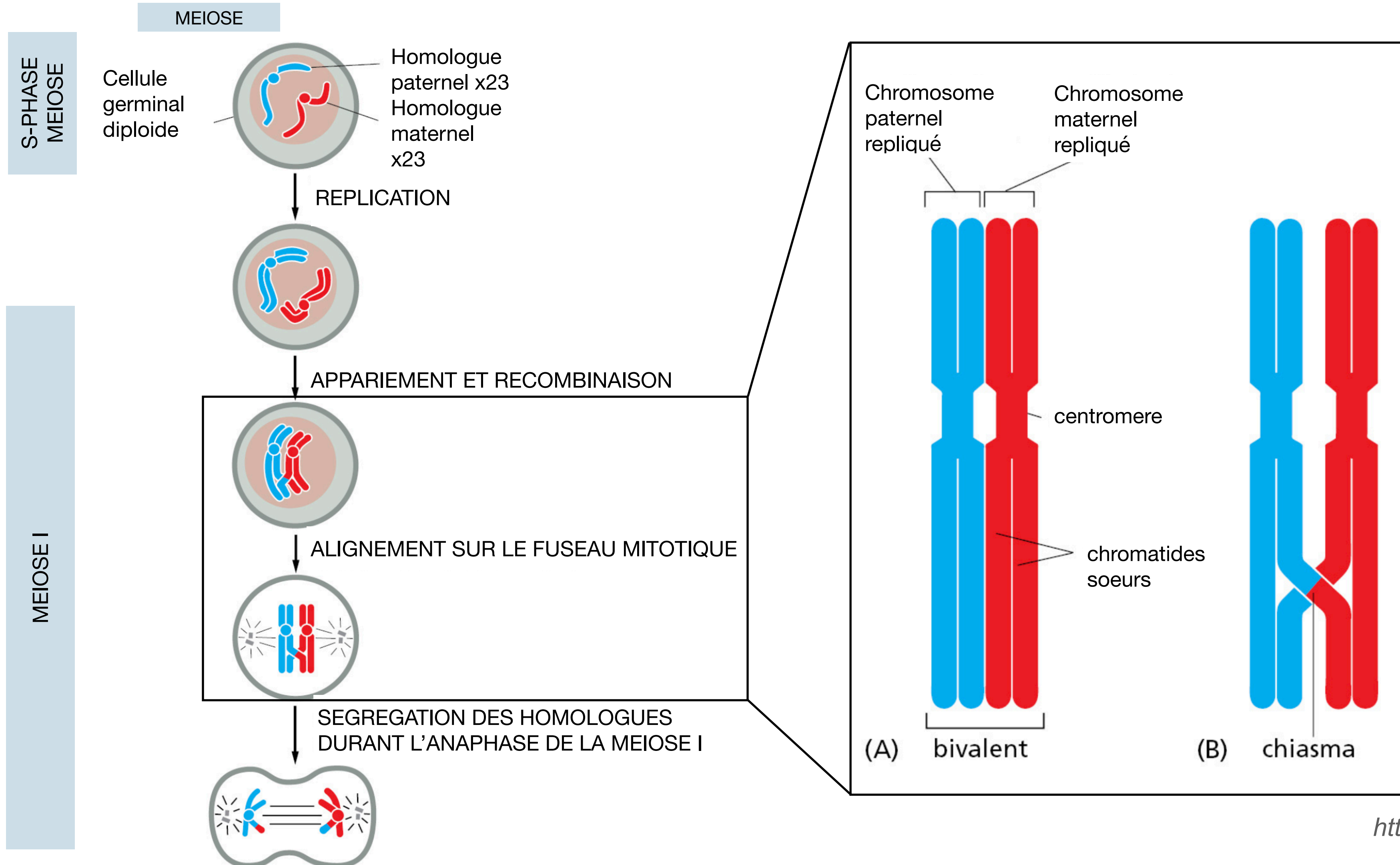
- 1- Dimères de thymine peuvent induire substitutions ou indels
- 2- Clivage des régions non-B: instabilité génétique induisant répétitions, indels et variants structuraux

Variabilité et ingénierie de l'ADN

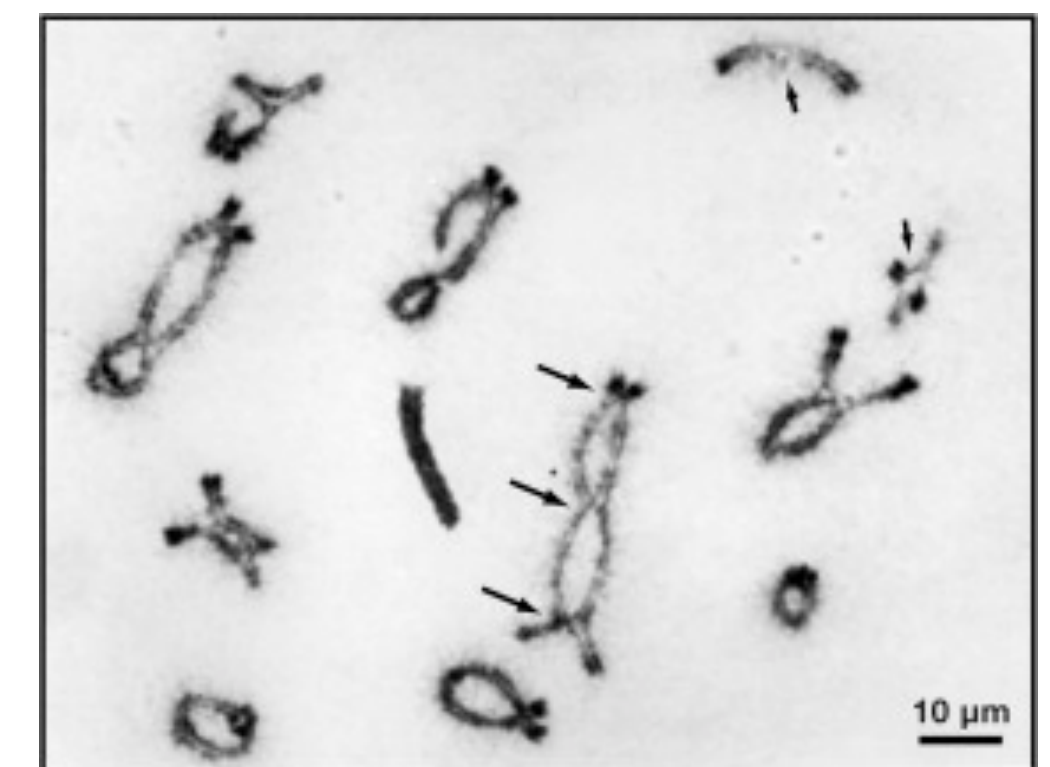
Partie-3: mécanismes de modifications et applications

1- le crossing-over

Le crossing-over

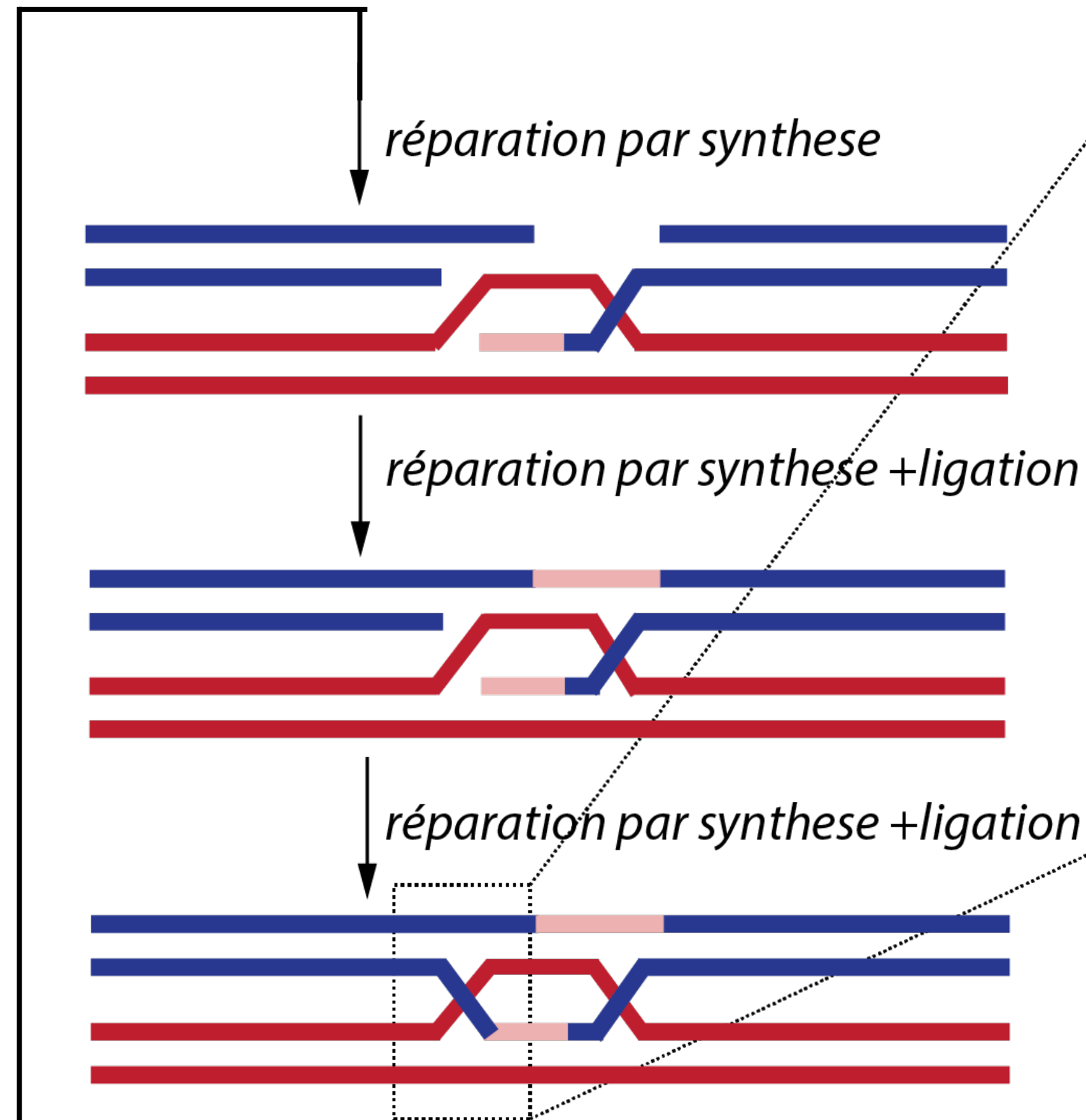
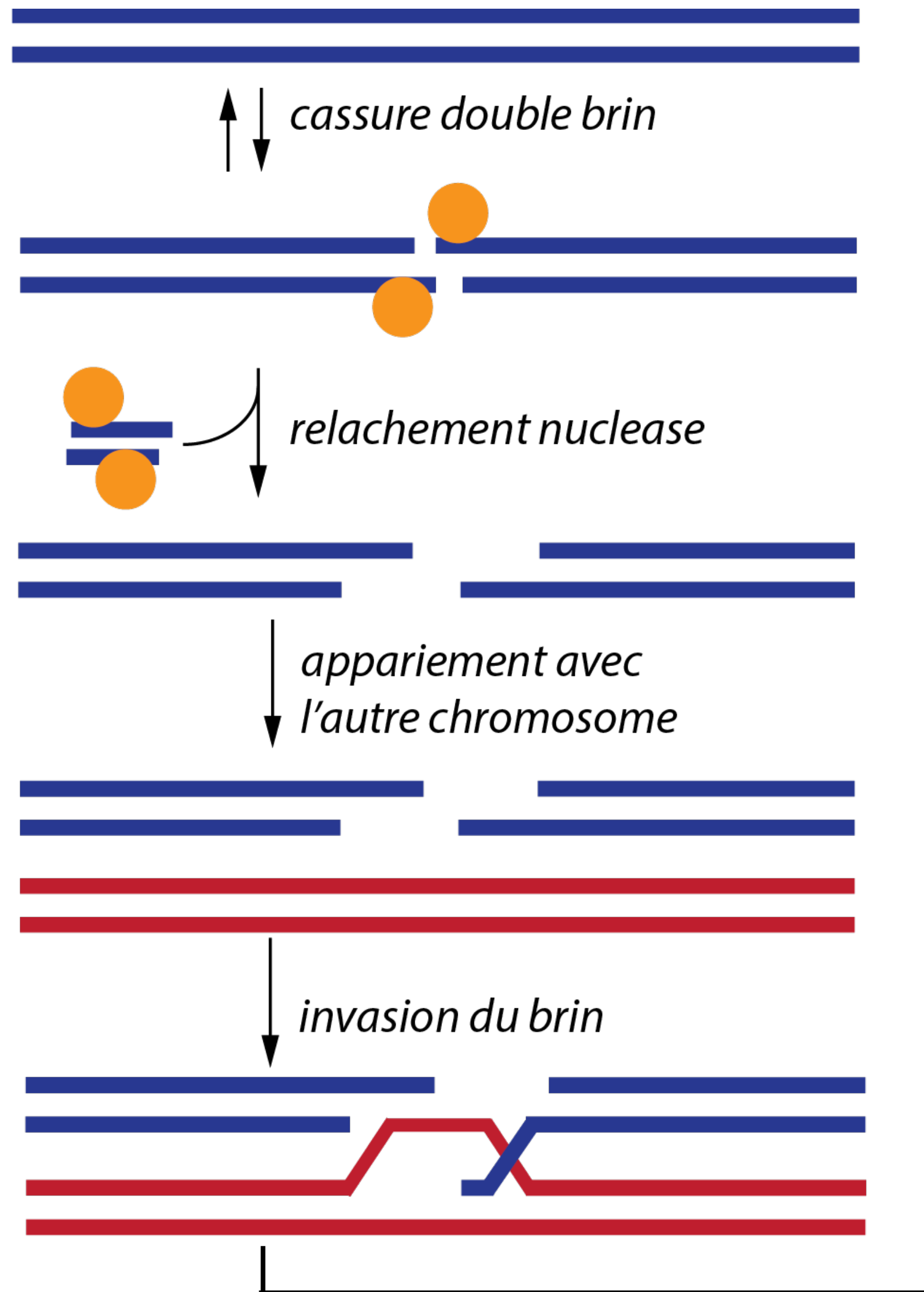


Permet un brassage de variations génétiques entre les chromosomes paternels et maternels

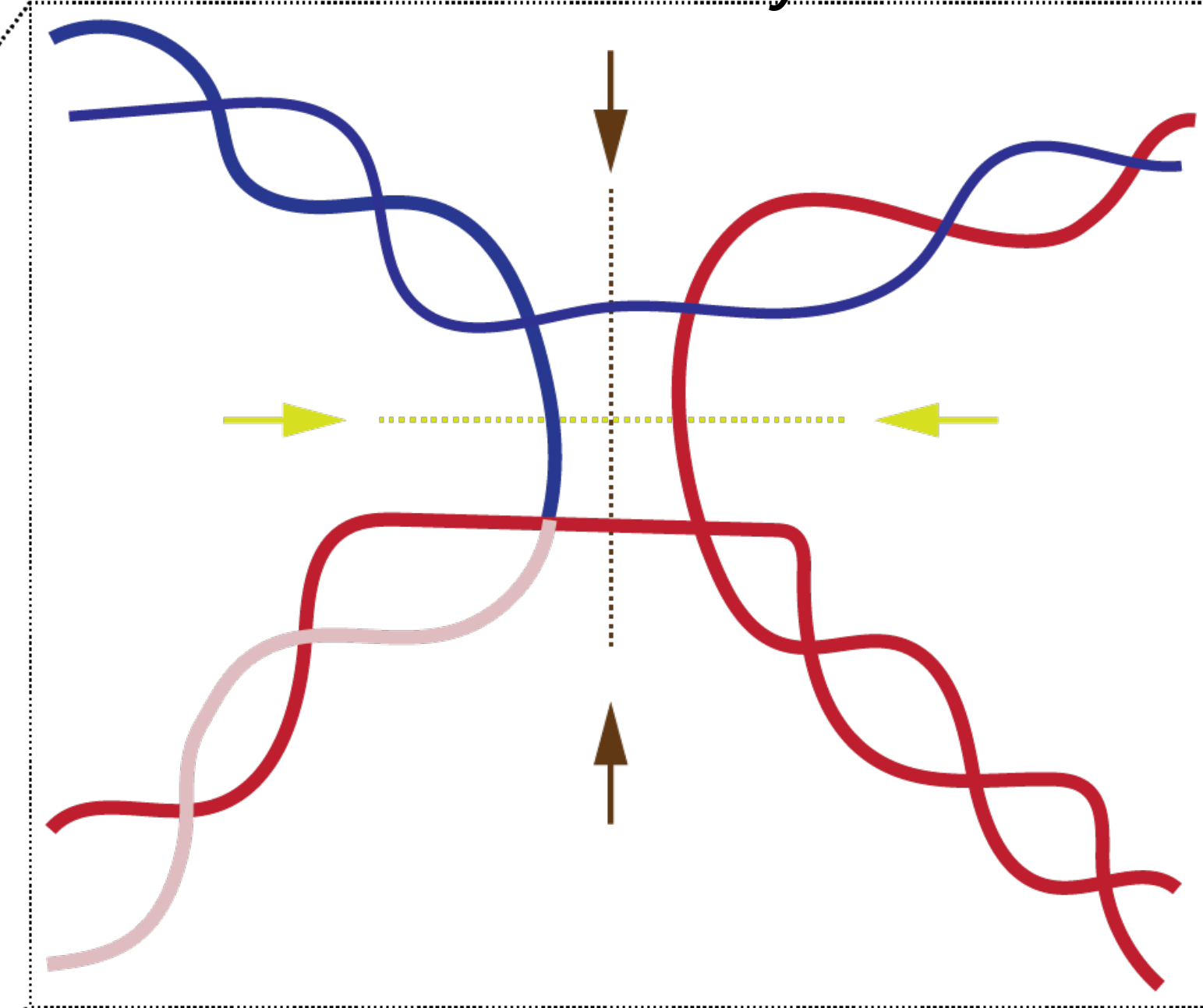


<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.010>

Le crossing-over

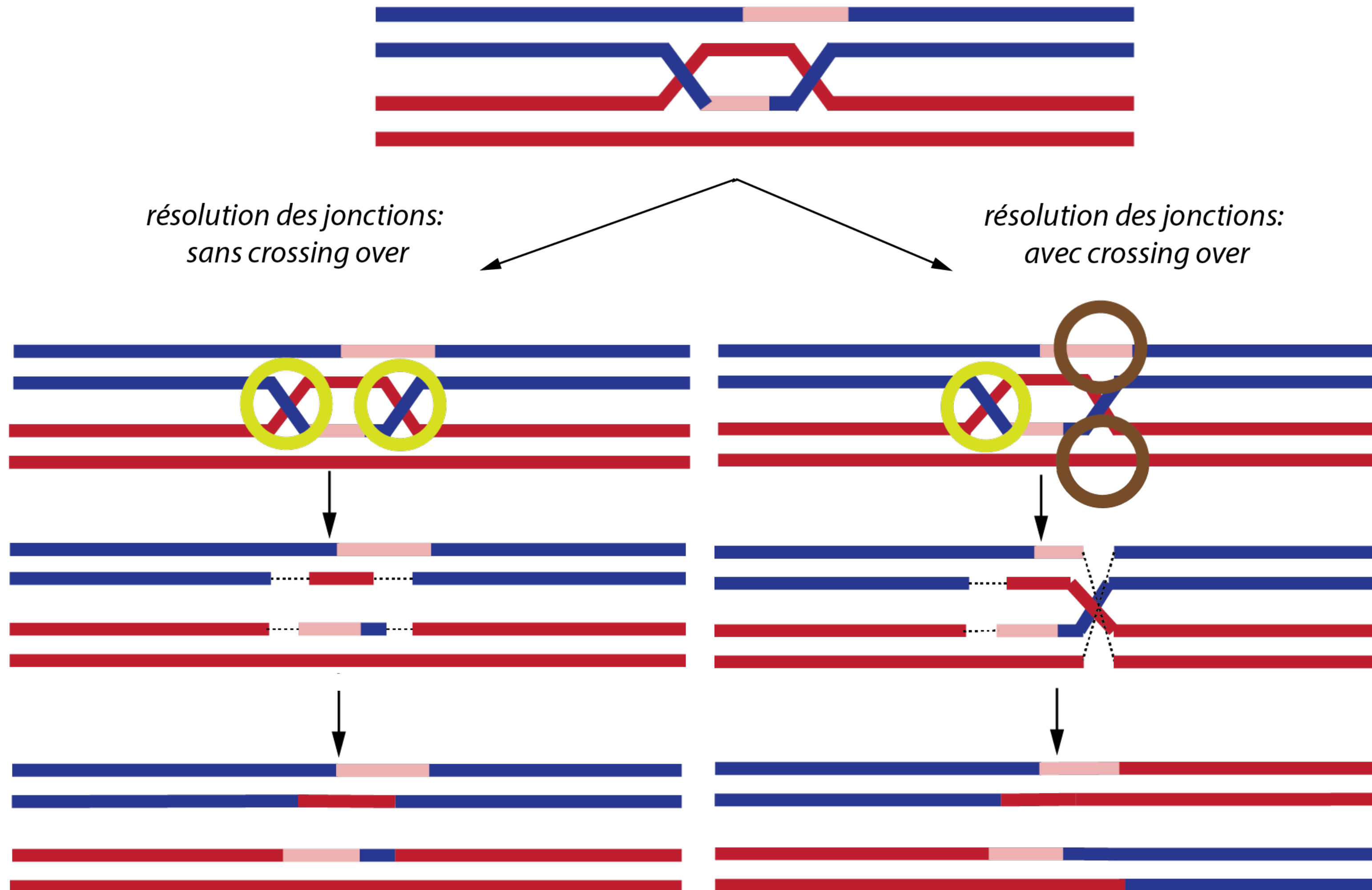


Jonction de Holliday

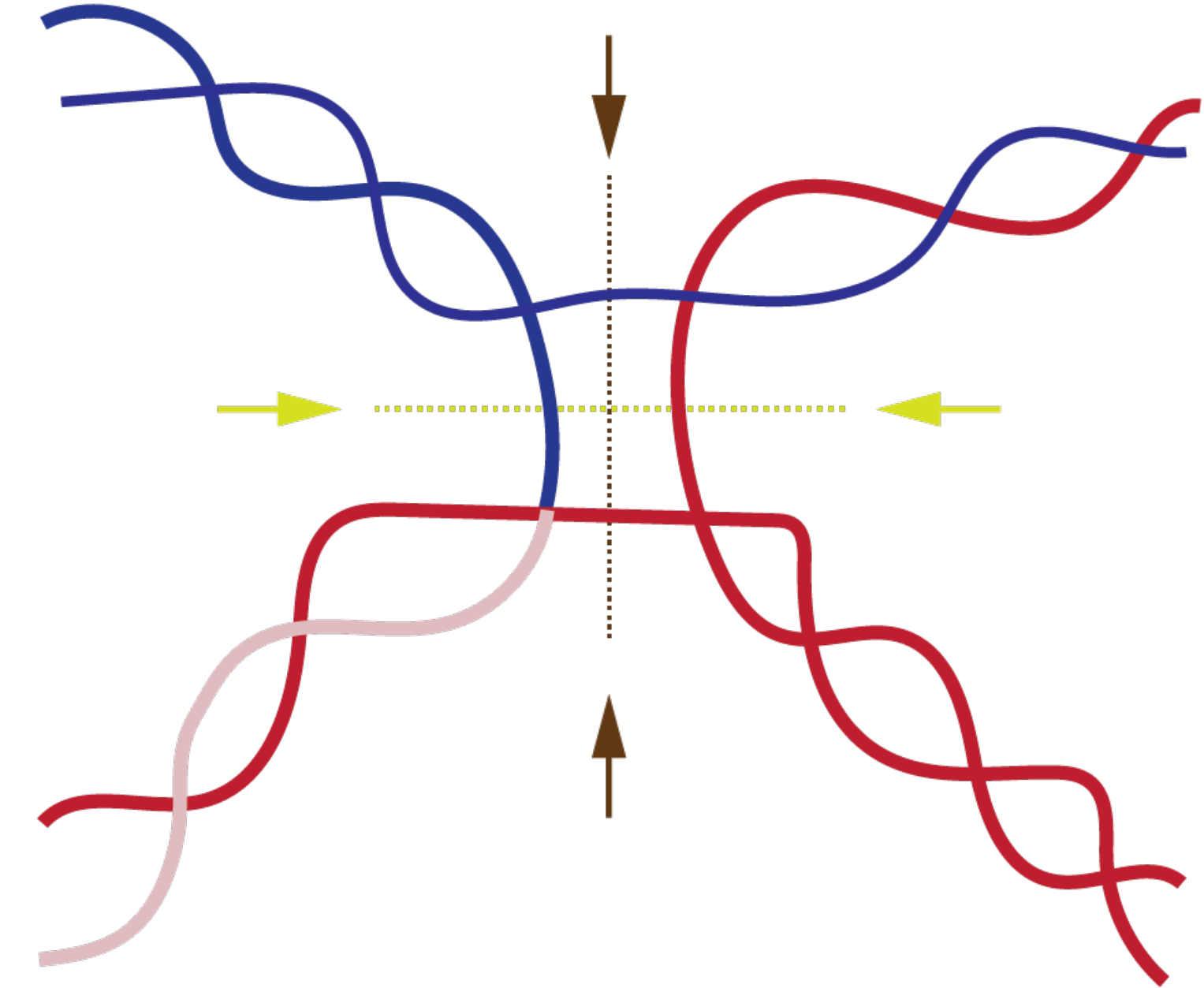


Activité des résolvases

Le crossing-over



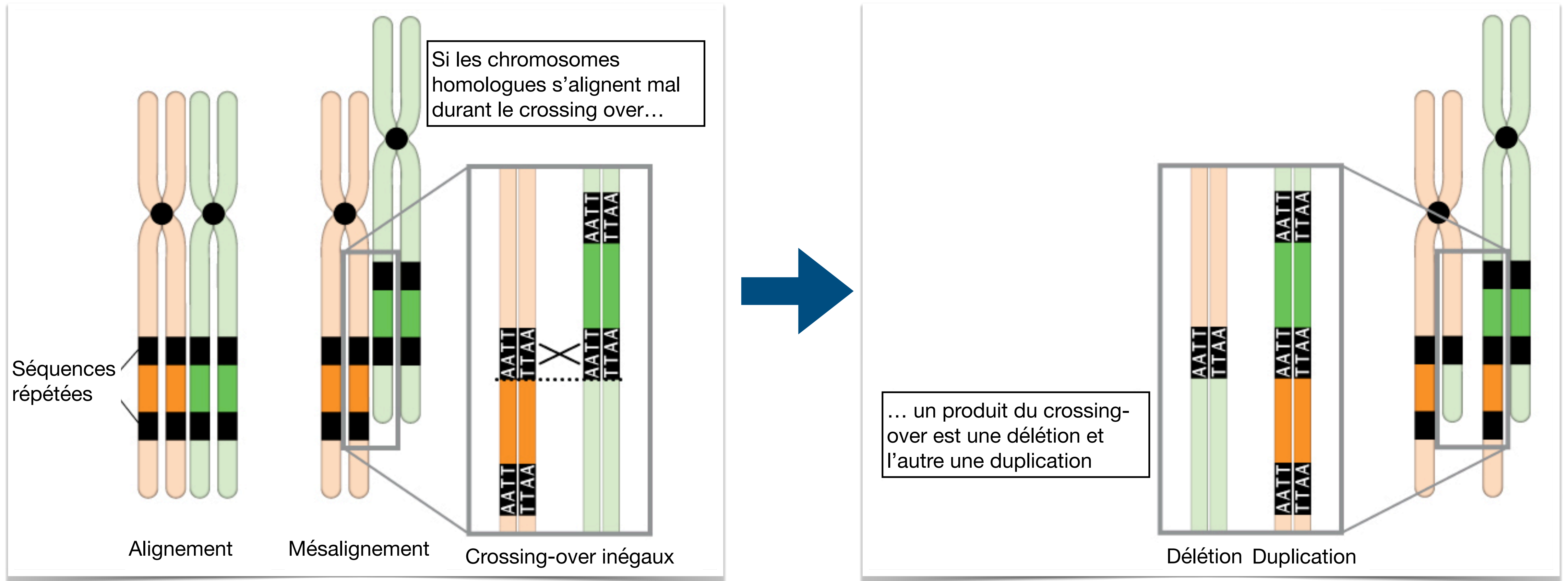
Jonction de Holliday x 2



Activité des résolvases

Le crossing-over

Les crossing-over inégaux peuvent induire des variants structuraux



Variabilité et ingénierie de l'ADN

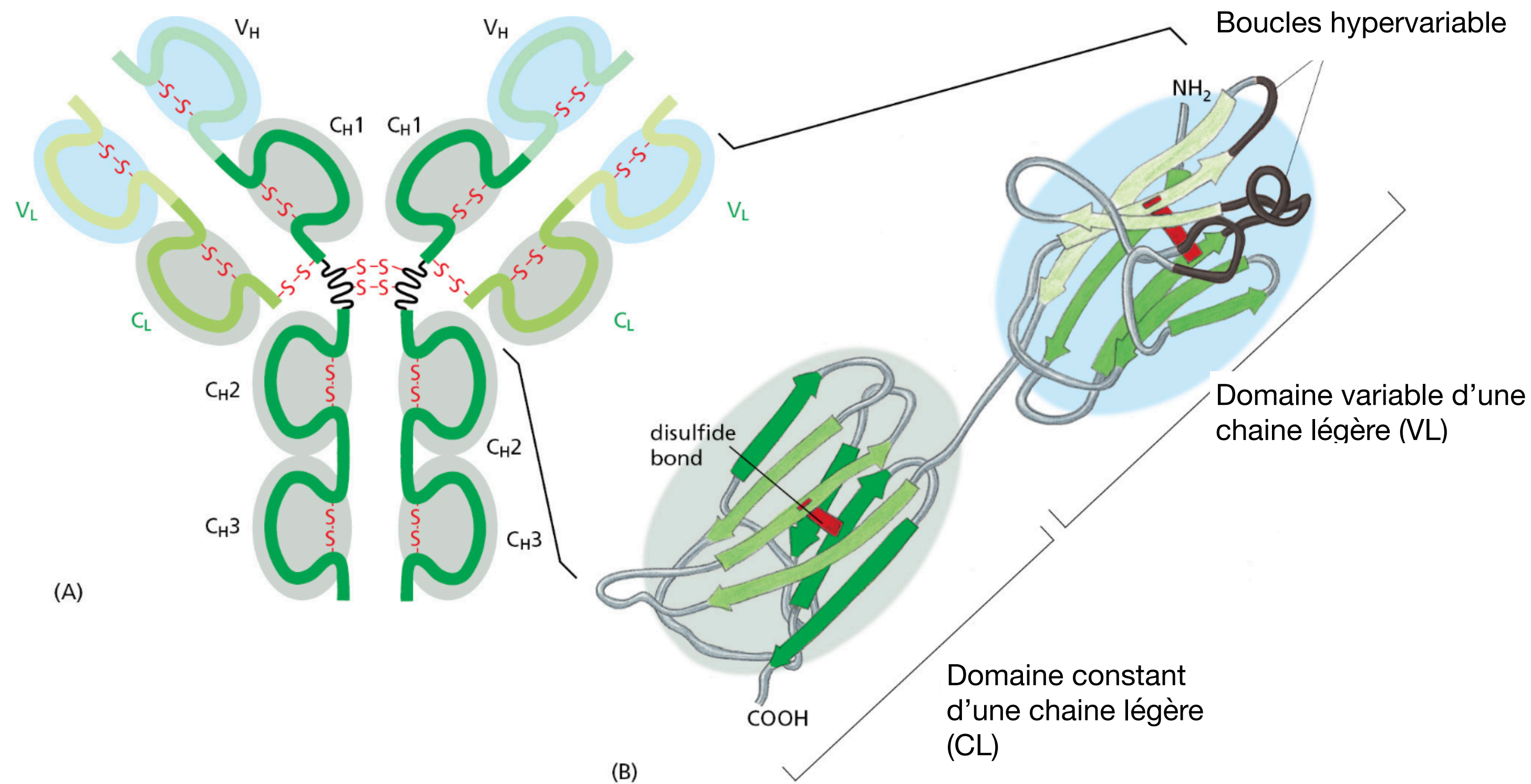
Partie-3: mécanismes de modifications et applications

2- la recombinaison du locus IgH

La recombinaison homologue dans la cellule

3- Recombinaison du locus IgH par deux évènements séquentiels

But: produire les domaines variables des immunoglobulines



1. Ce sont les domaines variables des chaînes lourdes et légères qui permettent la reconnaissance du pathogène.

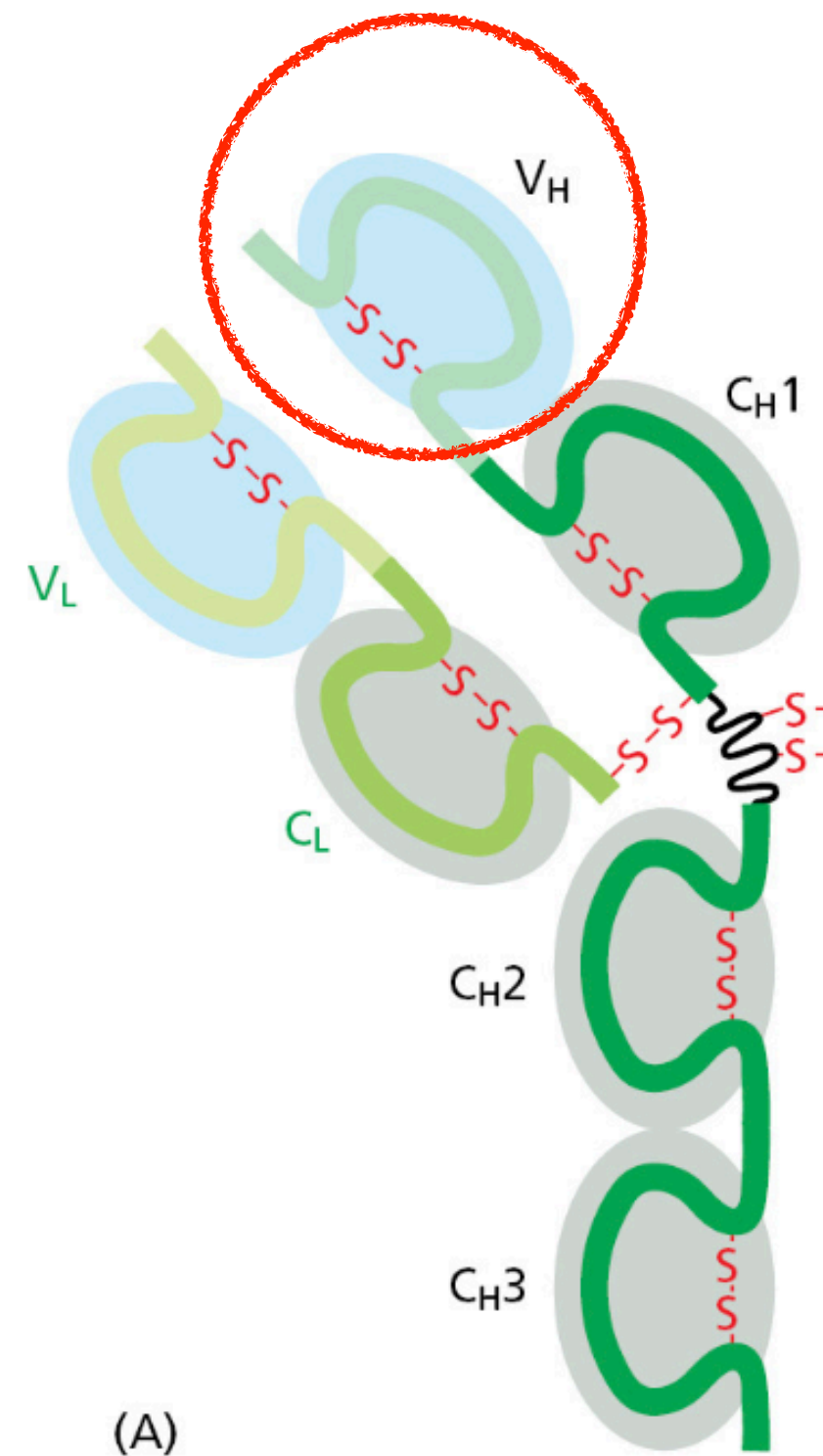
2. La chaîne lourde est codée par le gène IgH et la chaîne légère peut être produite par deux gènes distinct (kappa (IGK) et lambda (IGL)).

3. Recombinaisons pour former les chaînes lourdes et légères

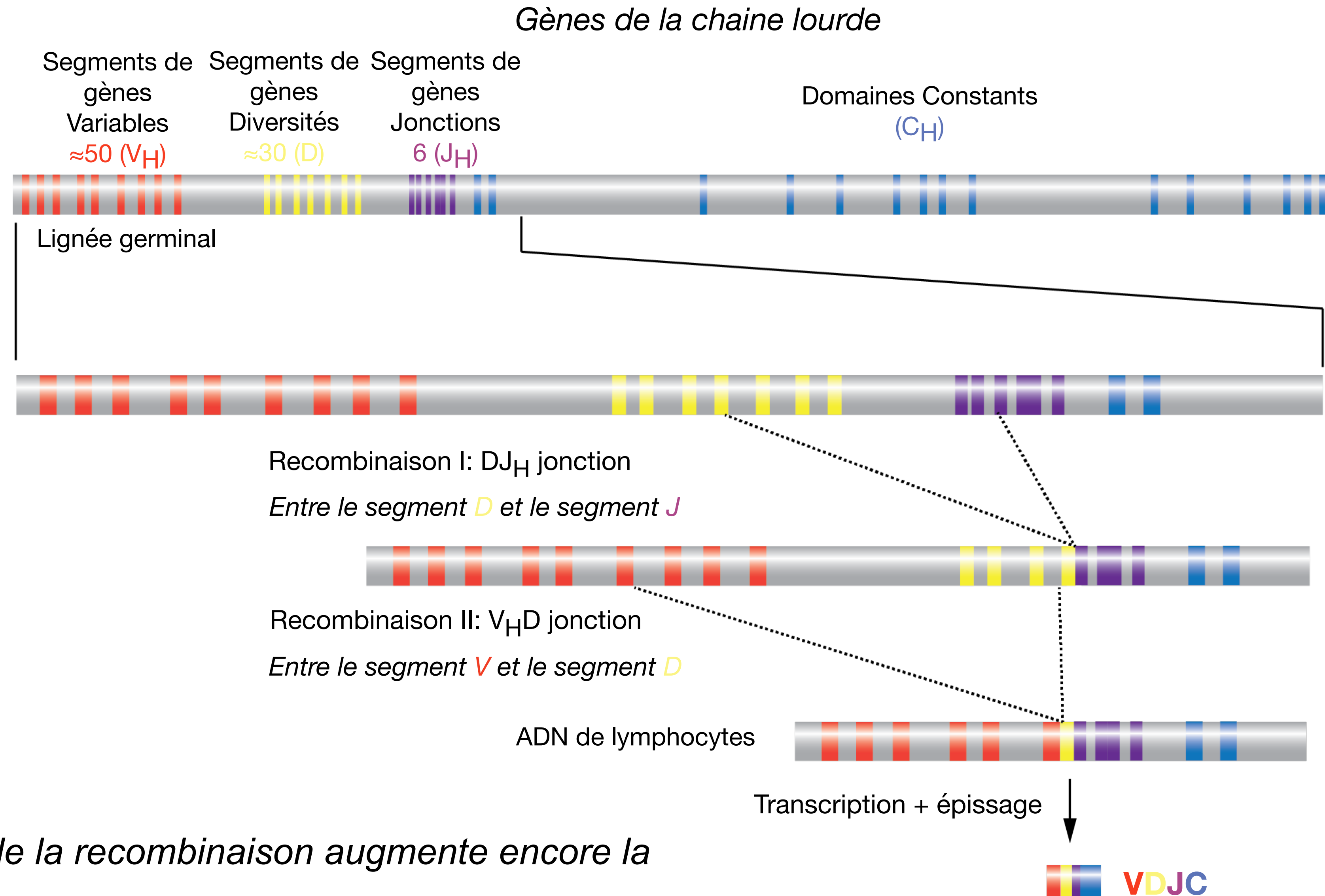
4. Lors de la formation des lymphocytes T et B

La recombinaison dans la cellule

3- Recombinaison V(D)J



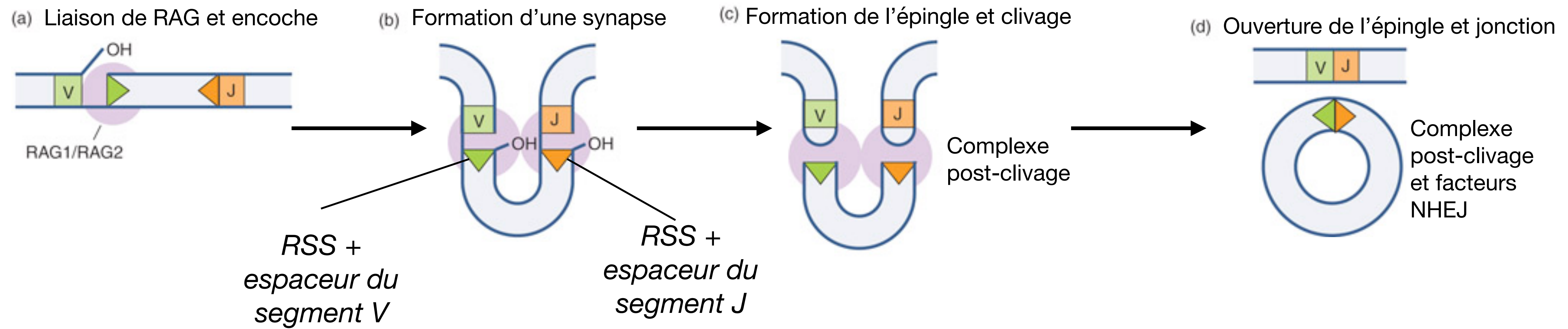
1xV_H
 1xD
 1xJ_H
 10⁴ combinaisons



L'insertion aléatoire de nucléotides lors de la recombinaison augmente encore la diversité

La recombinaison dans la cellule

3- Recombinaison V(D)J



RSS: recombination signal sequence (séquence signal de la recombinaison)

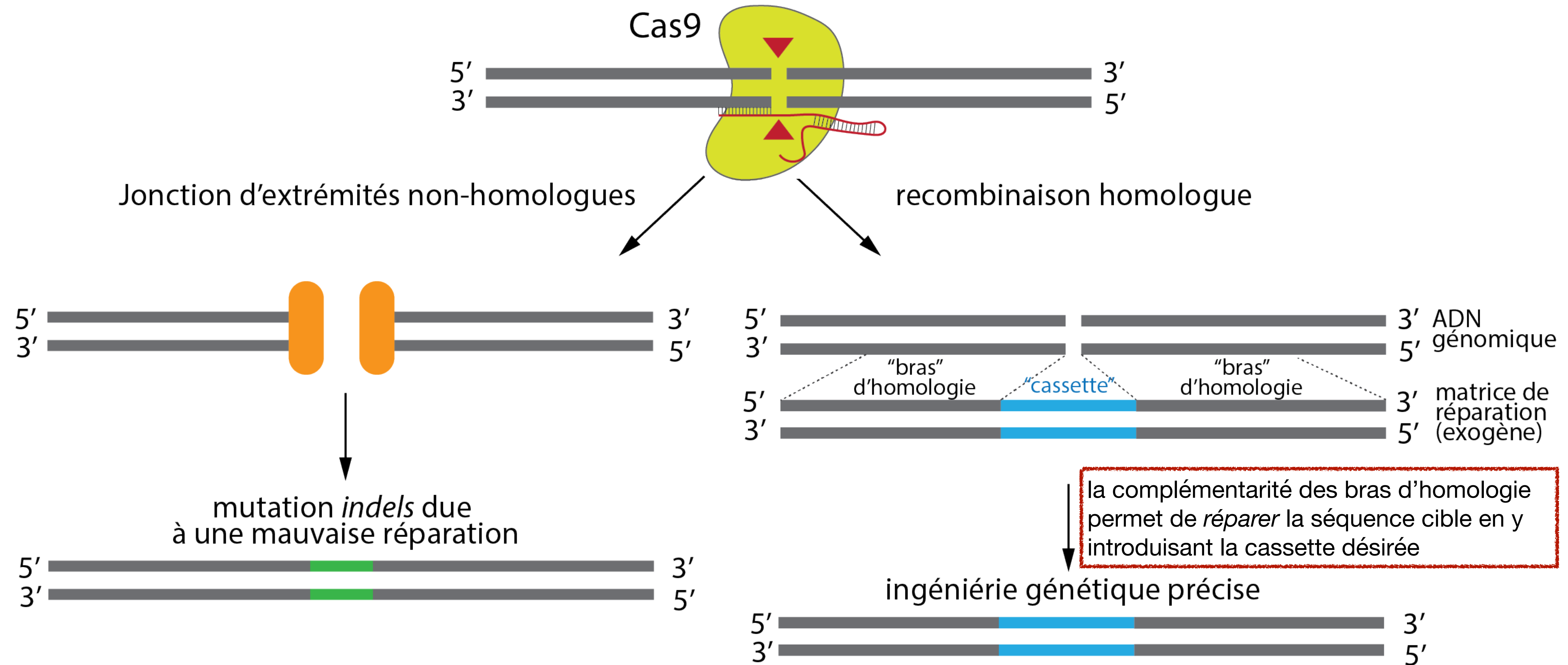
Recombinases RAG1 et RAG2 reconnaissent le RSS + espaceur, les coupent et promeuvent la religation

Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-3: mécanismes de modifications et applications

3- le CRISPR/Cas9

Ingénierie génétique: CRISPR/Cas9



Variabilité et ingénierie de l'ADN

Partie-3: mécanismes de modifications et applications

4- applications médicales

Ingénierie génétique: CRISPR/Cas9

chr11

variati
non-nei

The New York Times

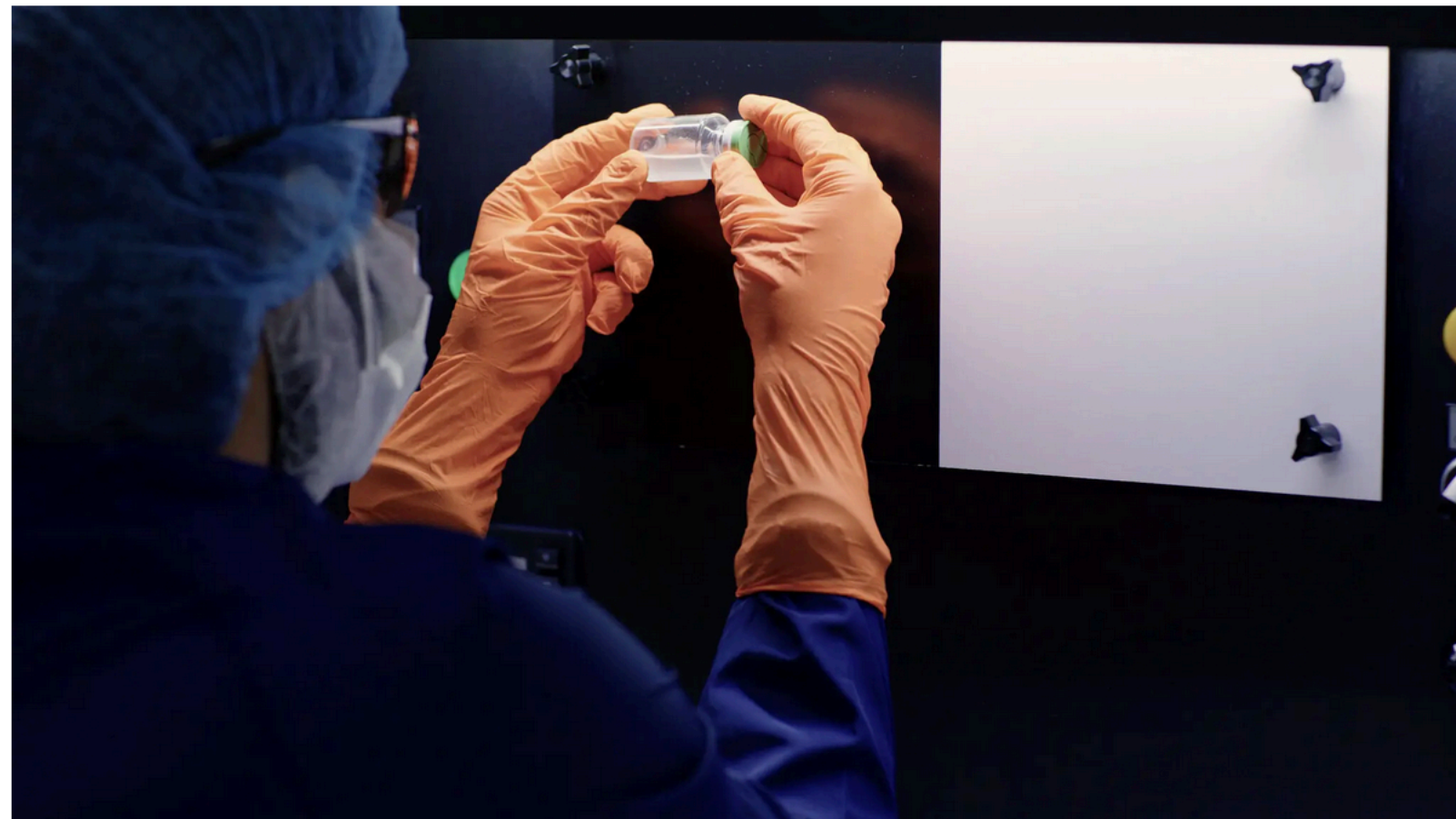
Emmy Nominations > | Highlights | Nominees List | Snubs and Surprises | Stream the Shows | Our Critics React

Décembre 2023

F.D.A. Approves Sickle Cell Treatments, Including One That Uses CRISPR

People with the genetic disease have new opportunities to eliminate their symptoms, but the treatments come with obstacles that limit their reach.

Share full article | 262



A vial of Vertex Pharmaceuticals's CRISPR Cas-9 gene therapy for sickle cell disease. Vertex Pharmaceuticals

The New York Times

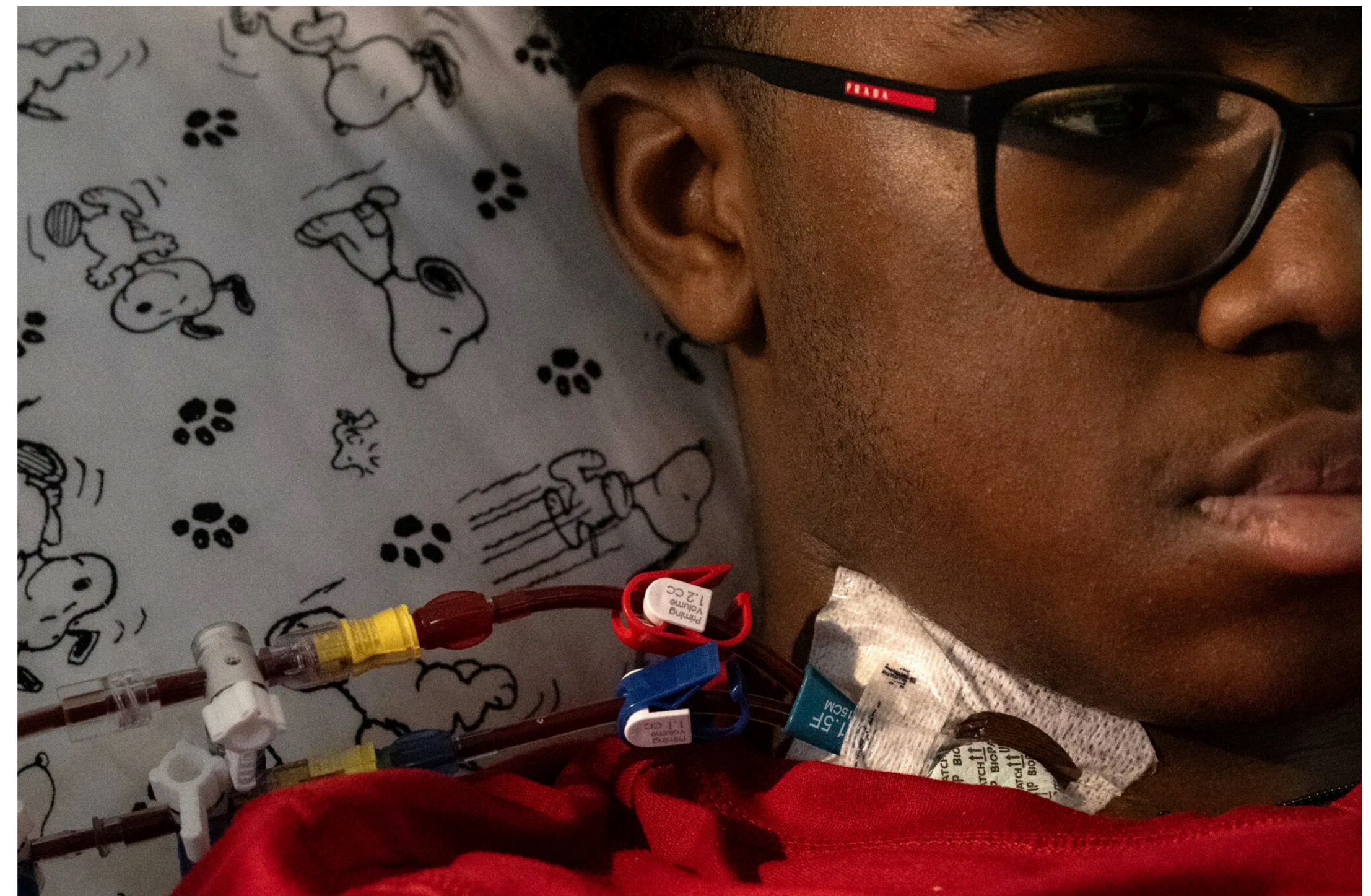
Emmy Nominations > | Highlights | Nominees List | Snubs and Surprises | Stream the Shows | Our Critics React

Mai 2024

First Patient Begins Newly Approved Sickle Cell Gene Therapy

A 12-year-old boy in the Washington, D.C., area faces months of procedures to remedy his disease. "I want to be cured," he said.

Listen to this article · 7:46 min Learn more | Share full article | 185



Kendric Cromer, 12, the first commercial patient for Bluebird Bio's gene therapy to cure his sickle cell disease, in the hospital as his bone marrow stem cells were being removed for gene editing.

Ingénierie génétique: CRISPR/Cas9

chr11

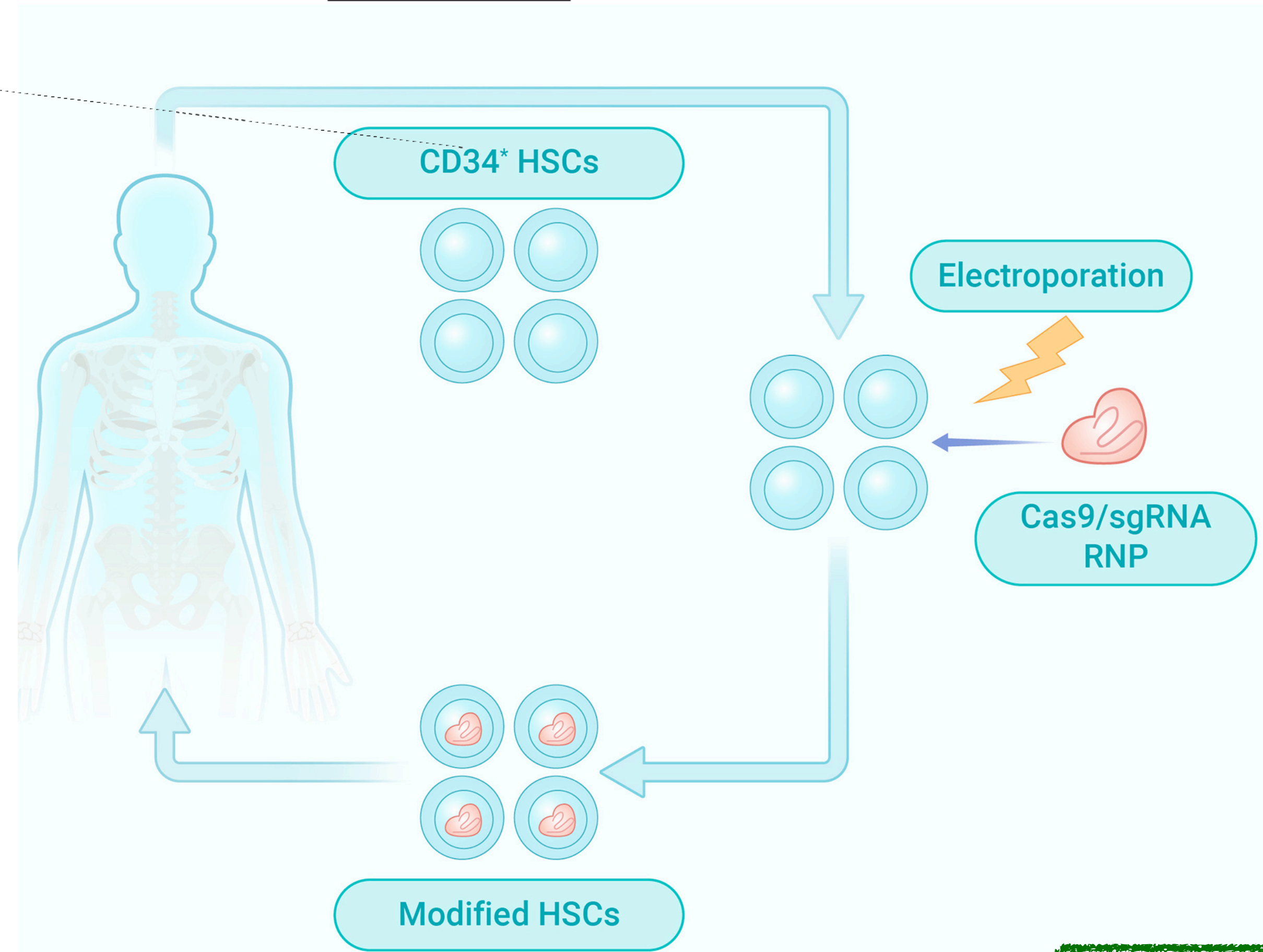
HBB

variation non-neutre	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG
	ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG

Correction avec CRISPR?

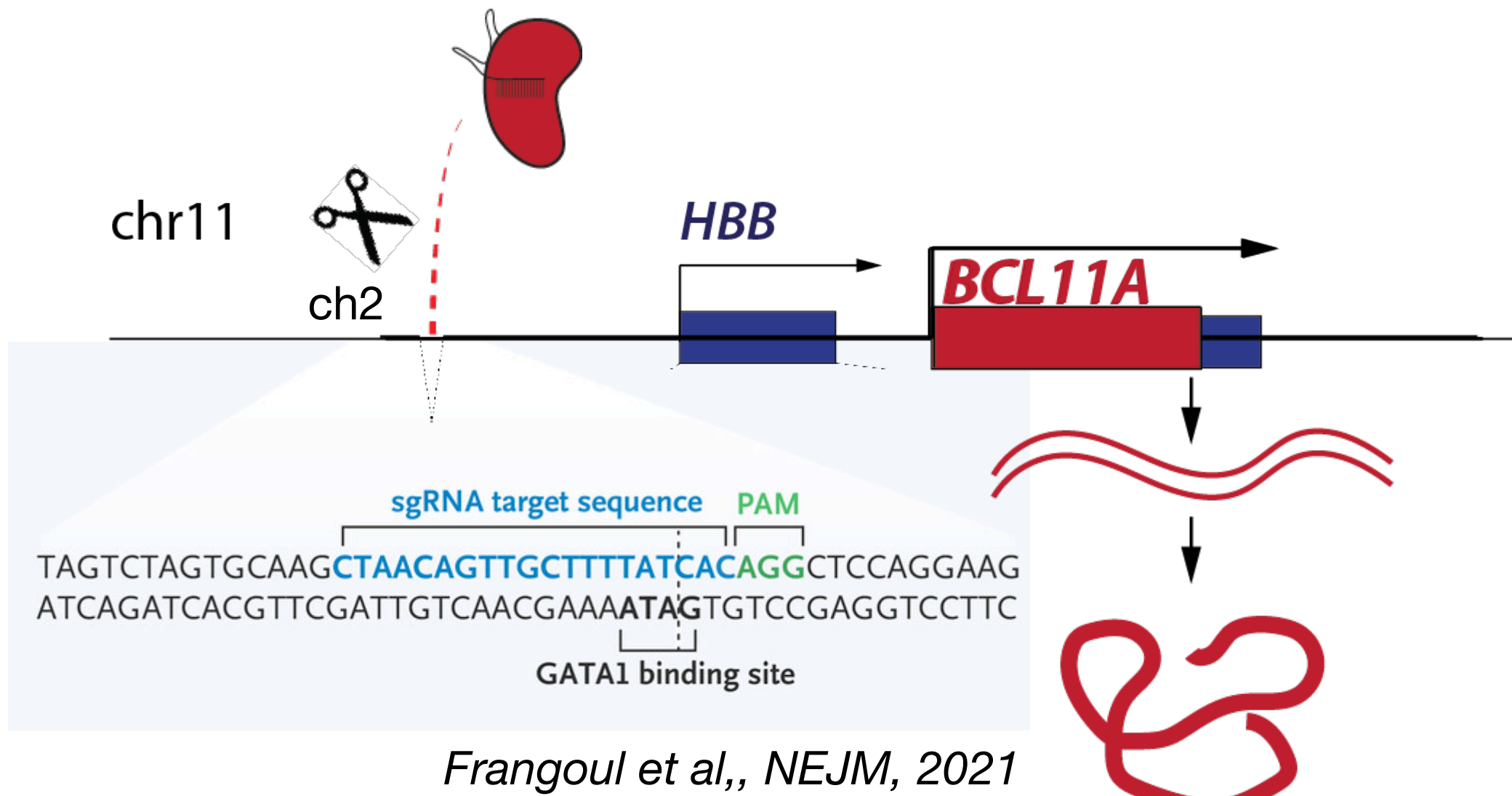
ATG	GTG	CAC	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Malheureusement, cette option de réparation direct du gène s'est démontrée peu efficace pour une utilisation clinique.



Slide d'info

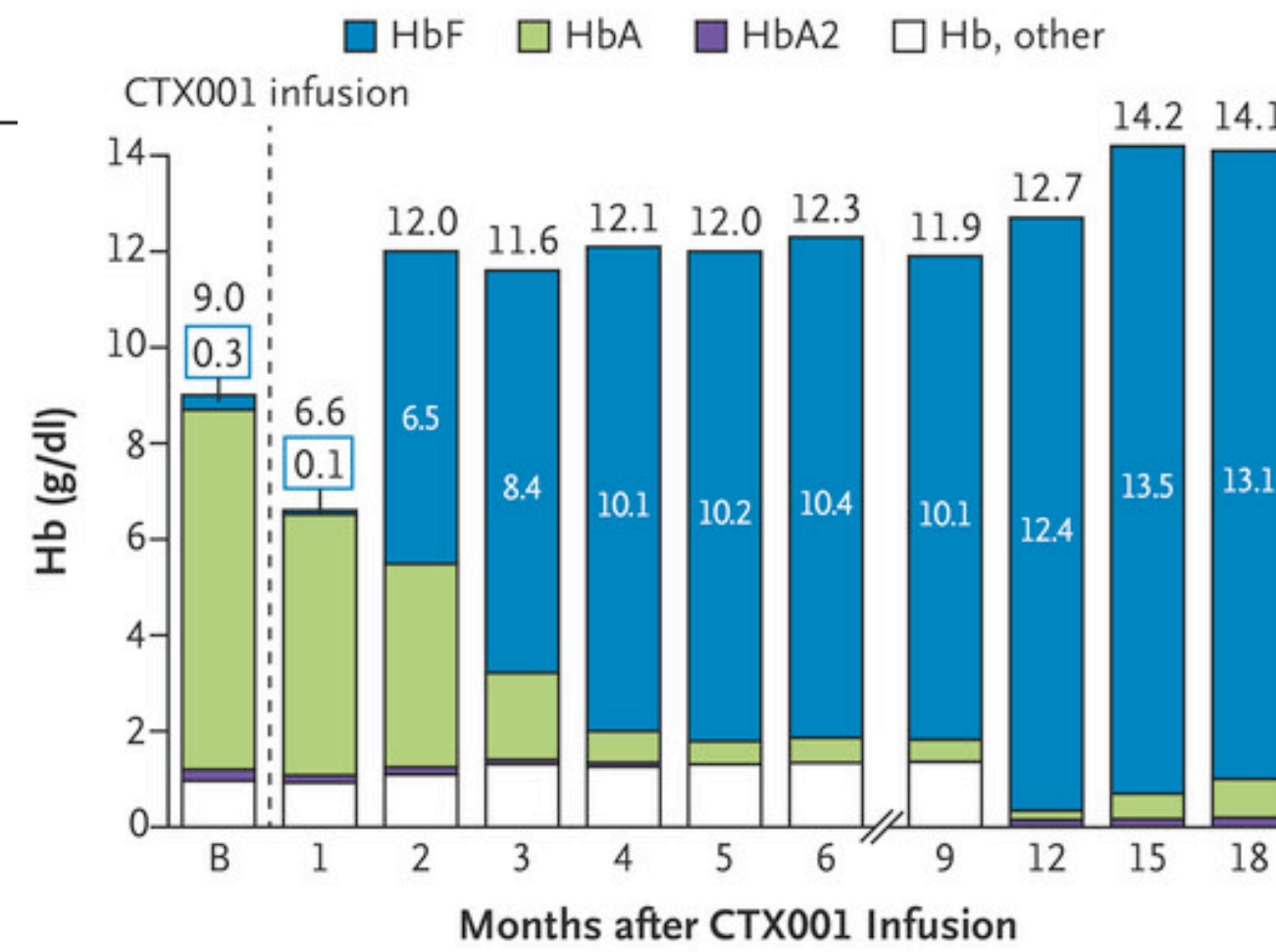
Ingénierie génétique: CRISPR/Cas9



Frangoul et al., NEJM, 2021

Patient 1

Hemoglobin Fractionation

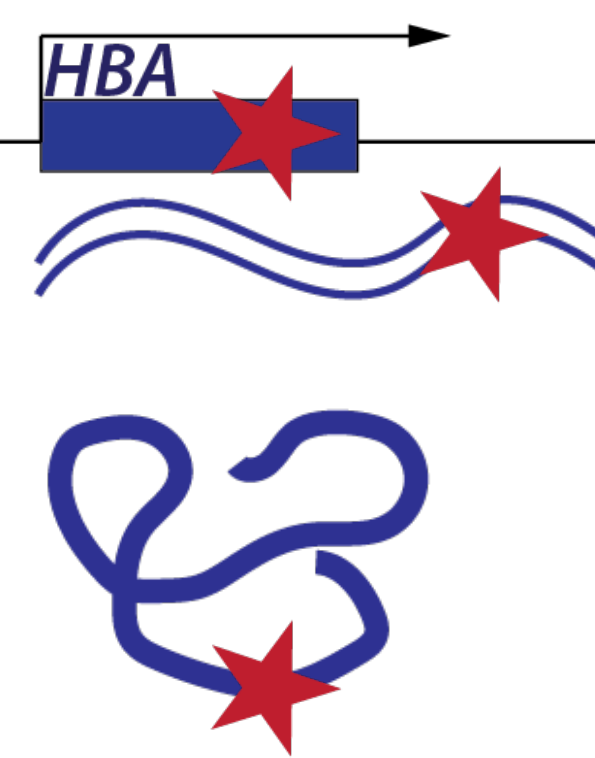
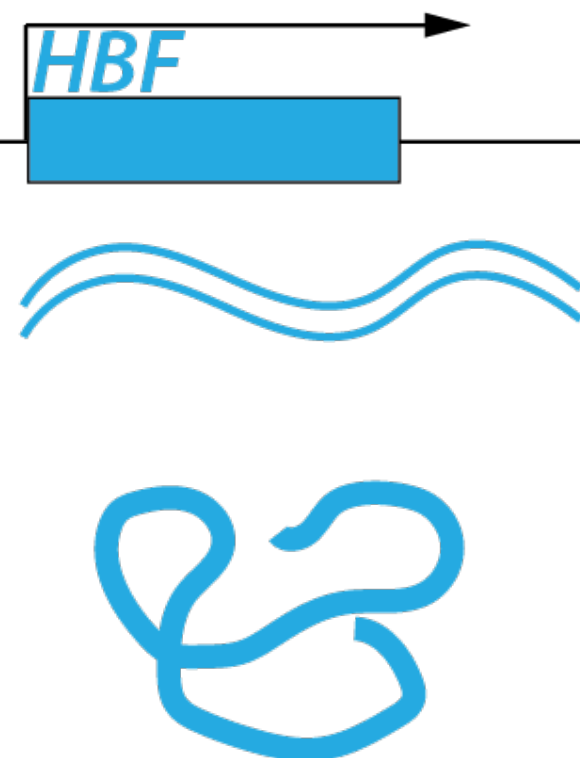


Réactivation de l'hémoglobine foetal dans les érythrocytes de patients et réduction des symptômes

Hémoglobine foetal

Hémoglobine adulte

chr11



★ variation pathologique

213P007_ADN-proteine / Forums / Forum 2025-2026 G. Andrey

Forum 2025-2026 G. Andrey

[Forum](#) [Paramètres](#) [Évaluation avancée](#) [Abonnements](#) [Rapports](#) [Plus ▾](#)

[Ajouter une discussion](#)[Se désabonner du forum](#)

Il n'y a pas encore de discussion dans ce forum

1- Poser des questions sur moodle, demander des clarifications sur le cours

2- Lors du répétitoire, les questions seront abordées dans l'ordre de leur popularité

Répétitoire le 26 septembre à 13h15 - CMU/Champendal

