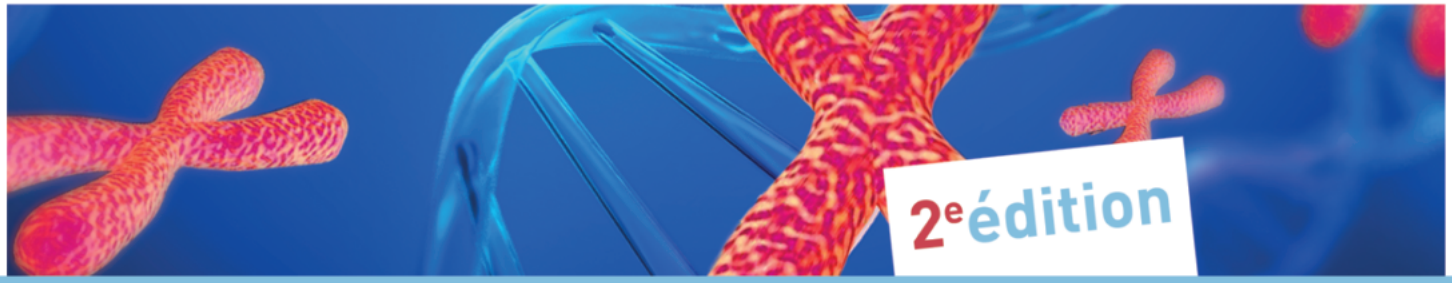


2e édition

PRÉPA PHARMA

GÉNÉTIQUE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

GUILLAUME GRZYCH

Réussir l'internat en pharmacie

+ EN LIGNE

OFFERT

Des vidéos à télécharger

deboeck SUPÉRIEUR

Guillaume Grzych

Génétique et Biologie Moléculaire

deboeck SUPÉRIEUR

Pour toute information sur notre fonds et les nouveautés
dans votre domaine de spécialisation, consultez notre site web :

www.deboecksuperieur.com

© De Boeck Supérieur s.a., 2021
Rue du Bosquet, 7
B-1348 Louvain-la-Neuve

Tous droits réservés pour tous pays.

Il est interdit, sauf accord préalable et écrit de l'éditeur, de reproduire (notamment par photocopie) partiellement ou totalement le présent ouvrage, de le stocker dans une banque de données ou de le communiquer au public, sous quelque forme ou de quelque manière que ce soit.

Dépôt légal :
Bibliothèque nationale, Paris : août 2021
Bibliothèque royale de Belgique : 2021/13647/096
ISBN : 978-2-8073-3489-2

Remerciements

Je remercie le Docteur Malika Balduyck pour ses conseils et la relecture de la partie biologie moléculaire, ainsi que toute l'équipe de biologie moléculaire du CHRU de Lille et plus particulièrement Anne-Sophie et Caroline.

Je remercie le Professeur Catherine Roche-Lestienne pour ses conseils et la relecture de la partie cytogénétique, ainsi que Sonia, Elise, Frédérique, Thomas et toute l'équipe de cytogénétique du CHRU de Lille pour leur formation et leur sympathie.

Je remercie le Docteur Jamal Ghoumid pour ses conseils et la relecture de la partie génétique médicale, ainsi que toute l'équipe de génétique clinique du CHRU de Lille pour leur accueil.

Je remercie le Professeur Thierry Brousseau pour ses conseils et son encadrement tout au long de mon cursus.

Je remercie Amandine pour sa relecture.

Cet ouvrage aborde les notions de génétique en lien avec les items 1 à 6 de la section II et les items 54 et 55 de la section IV du nouveau programme (2010) de l'internat en pharmacie.

Il propose un résumé de l'essentiel à connaitre en génétique, des bases physiologiques, jusqu'aux techniques permettant d'identifier et de caractériser les anomalies génétiques.

Il se construit en 3 parties principales :

- Rappel des bases en génétique ;
- Exploration et caractérisation des anomalies génétiques ;
- Entrainement sous forme de QCM et exercices.

Ces fiches ont été conçues de façon claire et aérée afin de retenir l'essentiel nécessaire à la compréhension et à la résolution des problématiques concernant la génétique au cours des études de pharmacie.

Vous pouvez retrouver un ensemble de vidéos supplémentaires concernant la génétique sur la page Youtube de l'auteur à l'adresse suivante : https://www.youtube.com/channel/UCk4IQcwRcaWZeFkTErj9_ew

Items du programme

SECTION II : Sciences de la Vie (Questions 1 à 31). Cette section exclut l'étude de toute pathologie.

1. Structure, organisation, dynamique et polymorphisme du génome humain.
2. Régulation de l'expression des gènes codant les protéines chez les eucaryotes.
3. Les différents modes de transmission des maladies héréditaires mendéliennes monogéniques.
4. Méthodes d'identification des mutations délétères à l'origine des maladies héréditaires mendéliennes monogéniques.
5. Mécanismes et conséquences des mutations délétères à l'origine des maladies héréditaires mendéliennes monogéniques.
6. Le caryotype et les anomalies chromosomiques constitutionnelles.

SECTION V : Eléments de séméiologie et de pathologie. Biologie appliquée à la clinique.

54. Examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales.
55. Diagnostic prénatal des maladies génétiques.

Partie I Physiologie

Chapitre 1 : Structure, organisation et dynamique du génome humain . . . 3
I. Structure, organisation et polymorphisme . . . 4
II. Dynamique . . . 6

Chapitre 2 : La régulation de l'expression génétique . . . 9
I. Transcription . . . 10
II. Traduction . . . 13
III. Régulation . . . 14

Partie II Pathologies

Chapitre 3 : Hérédité et pathologies, généralités . . . 17
I. Génétique des populations . . . 18
II. Etudes génétiques à des fins médicales . . . 24

Chapitre 4 : Cytogénétique et pathologies humaines . . . 27
I. Méthodes d'étude en cytogénétique conventionnelle . . . 27
II. Anomalies de nombres (=euploïdie) . . . 33
III. Anomalies de structures . . . 36
IV. Cytogénétique moléculaire . . . 39
V. Nomenclature . . . 45
VI. Le diagnostic pré natal en cytogénétique . . . 46
VII. Pathologies . . . 48

Chapitre 5 : Génétique moléculaire et pathologies humaines . . . 55
I. Mécanismes et conséquences des mutations délétères à l'origine des maladies héréditaires mendéliennes monogéniques . . . 56
II. Méthodes d'identification des mutations . . . 58
III. Séquençage haut débit et analyses des variants . . . 64
IV. Pathologies . . . 85

Partie III Entraînement

Questions Choix Multiples . . . 91

Cas cliniques . . . 97

Exercices . . . 103

Partie I
Physiologie

Chapitre 1

Structure, organisation et dynamique du génome humain

STRUCTURE, ORGANISATION ET DYNAMIQUE DU GÉNOME HUMAIN

Items du programme présentés dans ce chapitre

SECTION II : Sciences de la Vie (Questions 1 à 31). Cette section exclut l'étude de toute pathologie.

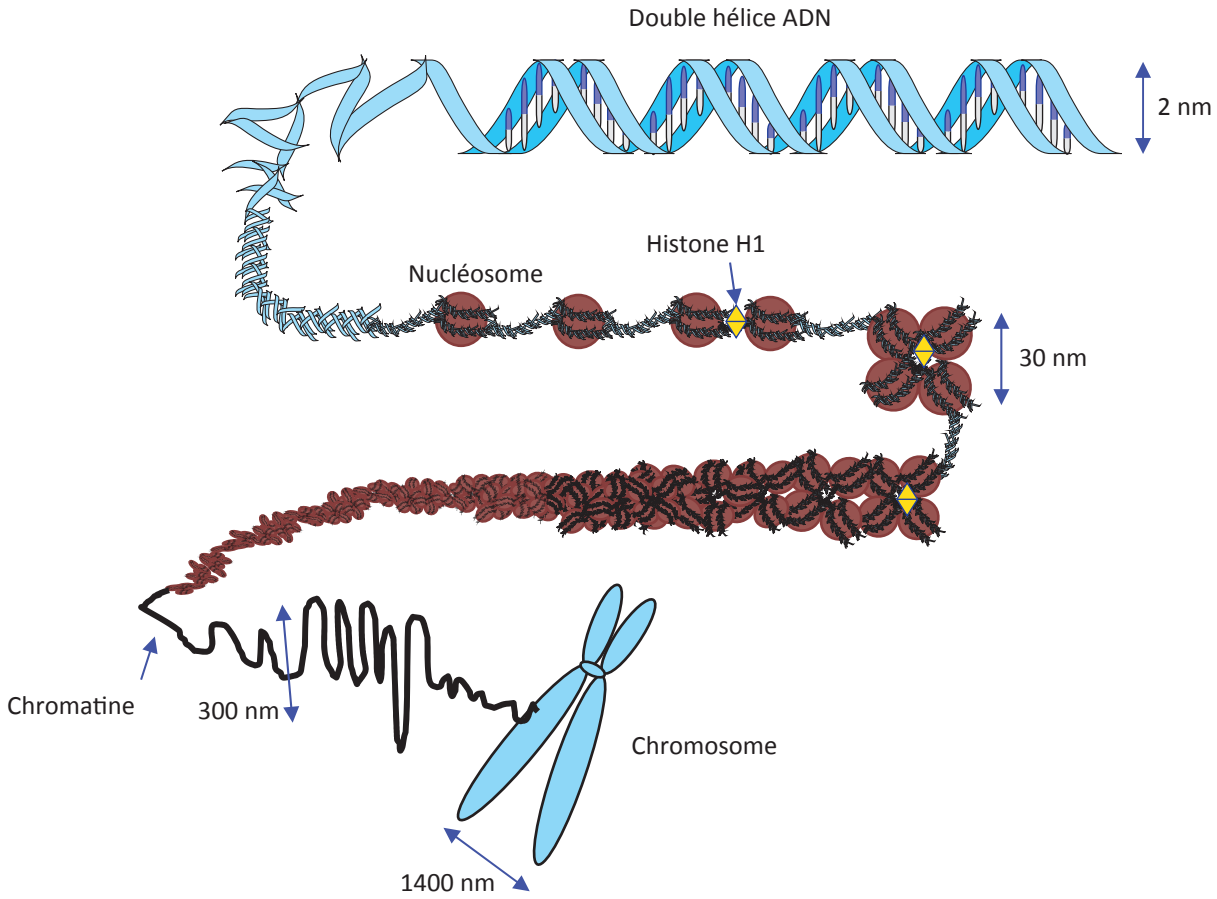
1. Structure, organisation, dynamique et polymorphisme du génome humain.

I. Structure, organisation et polymorphisme

1) La chromatine

Structure de condensation de l'ADN à plusieurs niveaux :

- Le **double brin** d'ADN (bicaténaire).
- Le **nucléosome** : ensemble d'ADN et d'un **octamère d'histones** (H2A, H2B, H3, H4).
- Ensemble de nucléosomes reliés entre-eux par l'histone H1 pour former un collier de perles.
- Enroulement des octamères du collier de perles pour former la **chromatine**.
- **Surenroulement** de la chromatine pour former les **chromosomes mitotiques**.

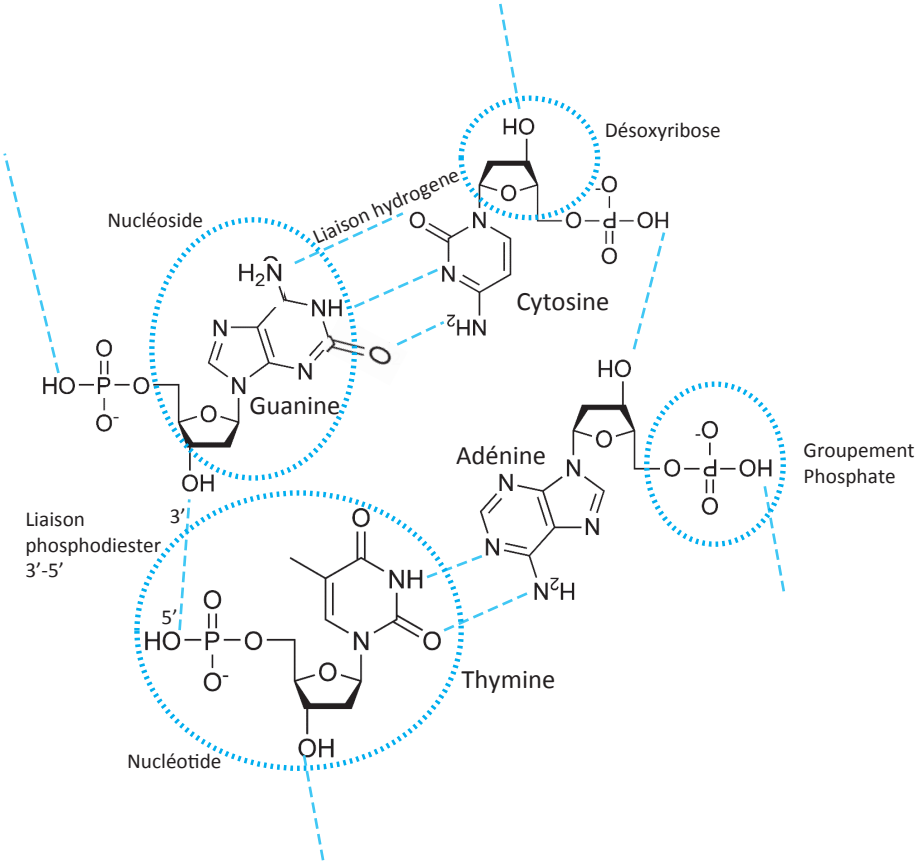


2) Les bases azotées

Structure de l'acide désoxyribonucléique (ADN) :

- Succession de bases azotées, **puriques (Adénine et Guanine)** ou **pyrimidiques (Cytosine et Thymine)** ; association par **complémentarité (A-T et G-C).**
- Les bases azotées sont liées à un sucre, le **désoxyribose**, et forment des **nucléosides.**
- Les nucléosides forment à un **groupement phosphate** et forment des **nucléotides.**
- Les nucléotides sont reliés entre eux par des **liaisons phosphodiester.**
- Formation de deux brins constituant une **double hélice** par des liaisons hydrogènes ; **antiparallélisme** des deux brins ; absorption dans l'UV à **260 nm.**

- **3 liaisons** hydrogènes entre la **guanine et la cytosine.**
- **2 liaisons** hydrogènes entre l'**adénine et la thymine.**



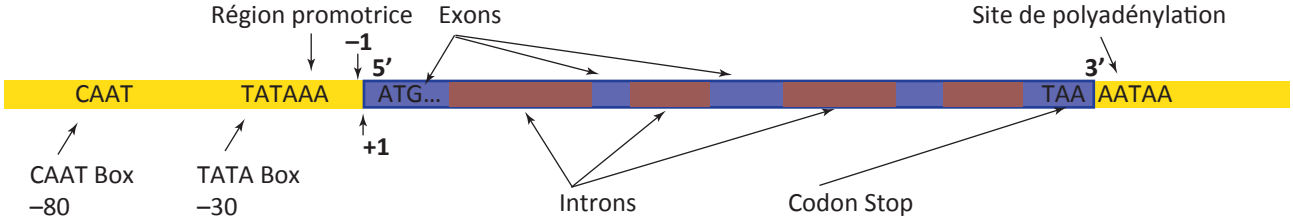
Structure de l'acide ribonucléique (ARN) :

- Globalement semblable à l'ADN.
- **Simple brin** (monocaténaire)
- Sucre différent : **Ribose**.
- Pas de thymine, remplacement par l'**uracile**.
- Différents types (**ARNm** messager, **ARNt** transfert, **ARNr** ribosomique).

3) Le gène

Eléments caractéristiques d'un gène (environ 22 000 gènes dans le génome) :

- En amont du gène en 5' se trouve la région **promotrice**, qui contient le site d'initiation de la transcription.
- En -30, la **TATA box** est un site de reconnaissance de l'ARN polymérase II et en -80 environ, la **CAAT box** permet la fixation de facteurs de transcription.
- Les parties codantes des gènes sont appelées **exons**, elles sont en général traduites, sauf les régions UTR (untranslated region) ou les exons excisés lors de l'épissage. Seul **5% du génome est dit codant.**
- Les **introns** sont situés entre les exons, ils ne sont pas codants mais peuvent intervenir dans les processus de régulation ou d'épissage.
- Un gène se lit conventionnellement dans le sens 5' vers 3'.
- Le **codon stop** est un signal d'arrêt de la traduction et est suivi d'un site de **polyadénylation**.



4) Polymorphisme

Les polymorphismes non fonctionnels sont des régions de variation du génome n'ayant généralement pas d'effet pathologique ; dans le cas contraire on parlerait de mutation (voir chapitre 5).

a. *Single Nucleotide Polymorphism (SNP)*

Variation d'**une seule paire de base** du génome.

b. *Mini-satellites*

Également appelés **VNTR** pour Variable Number Tandem Repeat, motifs répétés en tandem compris entre **10 et 60 nucléotides.**

c. *Micro-satellites*

Séquences de motifs répétés composées de **1 à 4 nucléotides**.

d. *Copy Number Polymorphism (CNP)*

Variation du nombre de copies d'un gène ou d'un segment chromosomique.

5) Le génome mitochondrial

L'ADN mitochondrial ADNmt :

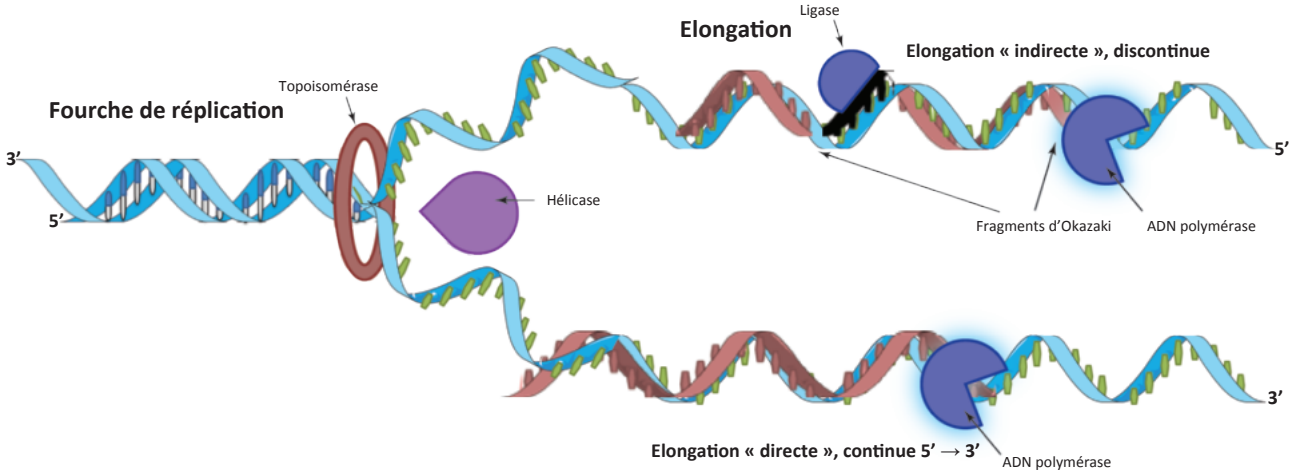
- Provient de l'**origine bactérienne** de la mitochondrie.
- Molécule **circulaire double brin** d'environ 16 000 pb.
- Code pour les **protéines de la chaîne respiratoire, des ARNt et des ARNr**.
- Absence d'introns, une seule région non codante la **D-loop** qui contient les séquences pour l'initiation, la réplication et la transcription.
- **2 à 10 copies** d'ADNmt par mitochondrie.
- Réplication indépendante de l'ADN nucléaire.
- Plus **haut taux de mutation** que l'ADN nucléaire du fait de l'absence de système de réparation.
- **Transmission uniquement maternelle** (toutes les mitochondries du zygote proviennent de l'ovule).
- Peut être à l'origine de maladies génétiques en cas de mutations pathologiques : **les maladies mitochondriales**.
- Maladies métaboliques liées à des **déficits de la chaîne respiratoire**.

II. Dynamique du génome

1) Réplication de l'ADN

La réplication :

- Mécanisme **semi-conservateur** (un brin matrice).
- **Bidirectionnelle**.
- Se déroule en **3 étapes**.



Les 3 étapes de la réplication :

- **Initiation** : formation de la **fourche de réplication** (origine de réplication), intervention de l'**hélicase**, de la **topoisomérase** et fixation de l'**ADN polymérase**.
- **Elongation** : intervention de l'ADN polymérase, synthèse dans le sens 5'→ 3' « direct » de façon continue, et synthèse dans le sens 3'→ 5' « indirect » de façon discontinue via les **fragments d'Okazaki**.

– **Terminaison** : arrêt de la réplication et liaison des fragments par la **ligase**.

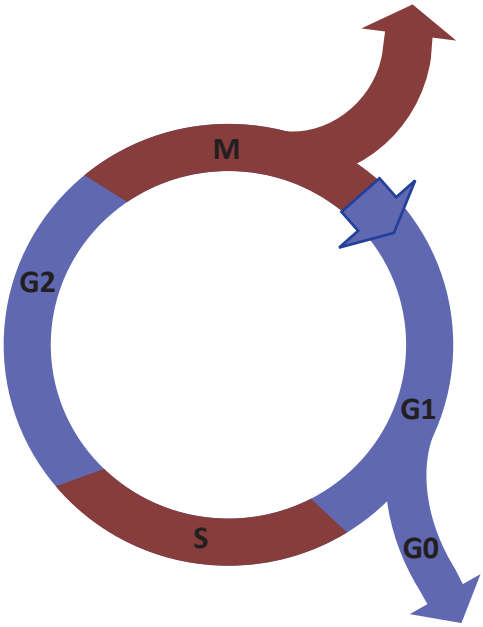
2) Les systèmes de réparation de l'ADN

Des erreurs sont possibles lors de la réplication, mais également des lésions produites par modifications chimiques, cassures… Afin de préserver l'intégrité du génome, des systèmes de réparation entrent en jeu.

Les mécanismes de réparation :
– Réparation directe de la lésion.
– Réparation par excision de base : **base excision repair** (BER).
– Réparation par excision de nucléotides : **nucleotide excision repair** (NER).
– Réparation des mésappariements : **mismatch repair** (MMR)
– Réparation par **jonction d'extrémités non homologues** (NHEJ).
– Réparation par **recombinaison homologue** (HDR).

3) Cycle cellulaire

Ensemble des modifications que subit une cellule par division de la cellule mère, et qui forment deux cellules filles identiques. Il comprend l'interphase (phase G1, S et G2), période entre la fin d'une division et le début de la suivante, et la mitose ou phase M. A la fin de la division, une cellule peut également interrompre le phénomène de division et entrer en phase G0.



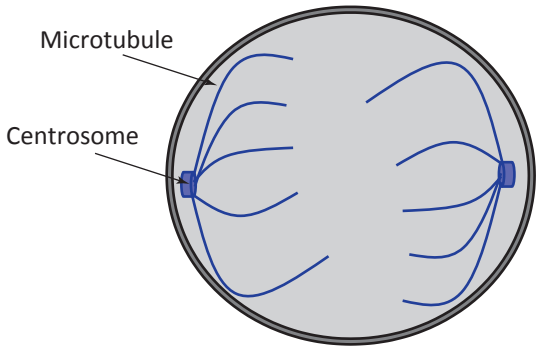
a. *L'interphase*

– Phase G0 : interruption de la division, peut durer jusqu'à des années.
– Phase G1 : synthèse des protéines nécessaires à l'accroissement de la cellule.
– Phase S : réplication de l'ADN.
– Phase G2 : préparation de la mitose.

b. *La phase M ou mitose*

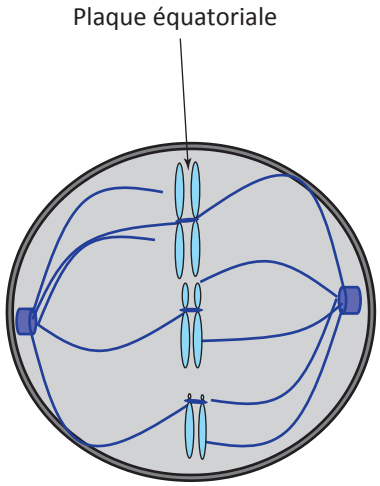
La mitose comprend 6 phases successives : la prophase, la pré-métaphase, la métaphase, l'anaphase, la télophase et la cytodiérèse.

La prophase :
– **Séparation des centrosomes** qui migrent au niveau des pôles opposés.
– Chaque centrosome organise son réseau de microtubules qui se polymérisent et se dépolymérisent **(= instabilité dynamique**).

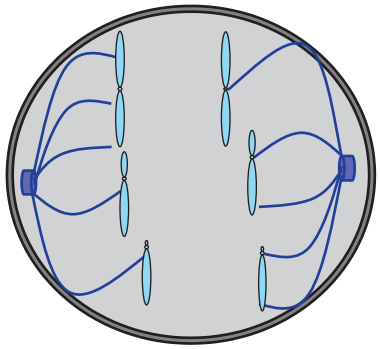


La pré-métaphase :
- **Désassemblage** du noyau.
- Liaison des microtubules aux chromosomes via les **kinétochores**.

La métaphase :
- **Alignement** des chromosomes sur la plaque équatoriale.

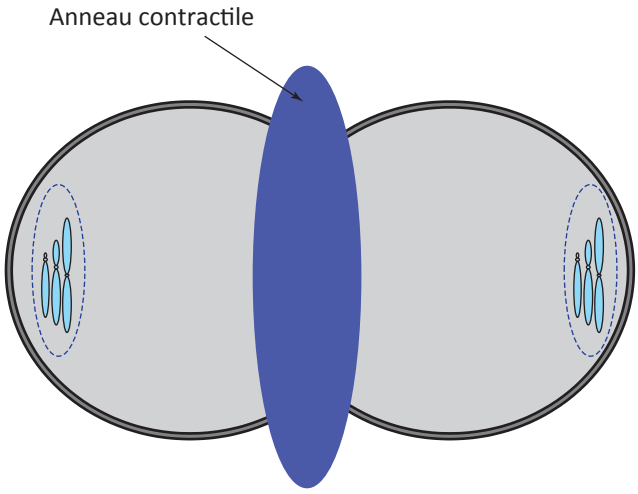


L'anaphase :
- **Séparation** des chromosomes homologues.
- **Dépolymérisation** des microtubules.



La télophase :
- Reformation de l'enveloppe nucléaire.
- Décondensation des chromosomes.

La cytodiérèse :
- Formation des **deux cellules filles**.
- Creusement d'un **sillon de clivage** par l'anneau contractile.



Chapitre 2

La régulation de l'expression génétique chez les eucaryotes

Items du programme présentés dans ce chapitre

SECTION II : Sciences de la Vie (Questions 1 à 31). Cette section exclut l'étude de toute pathologie.

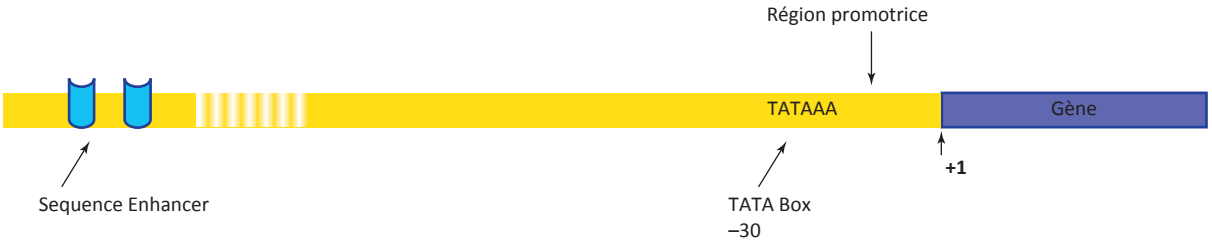
2. Régulation de l'expression des gènes codant les protéines chez les eucaryotes.

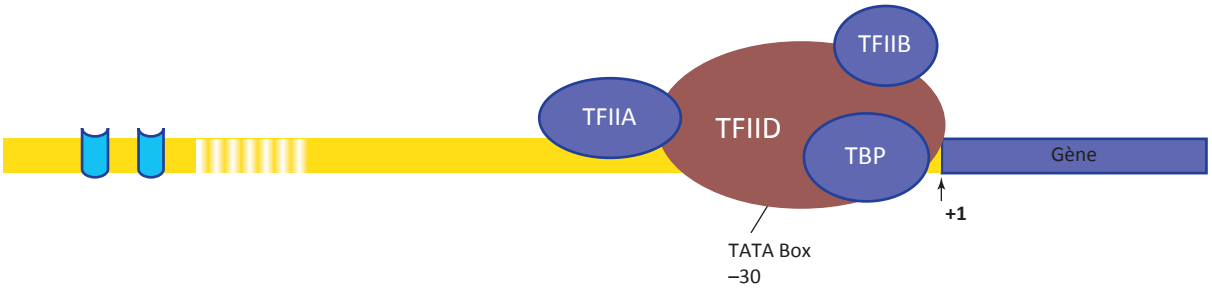
I. Transcription

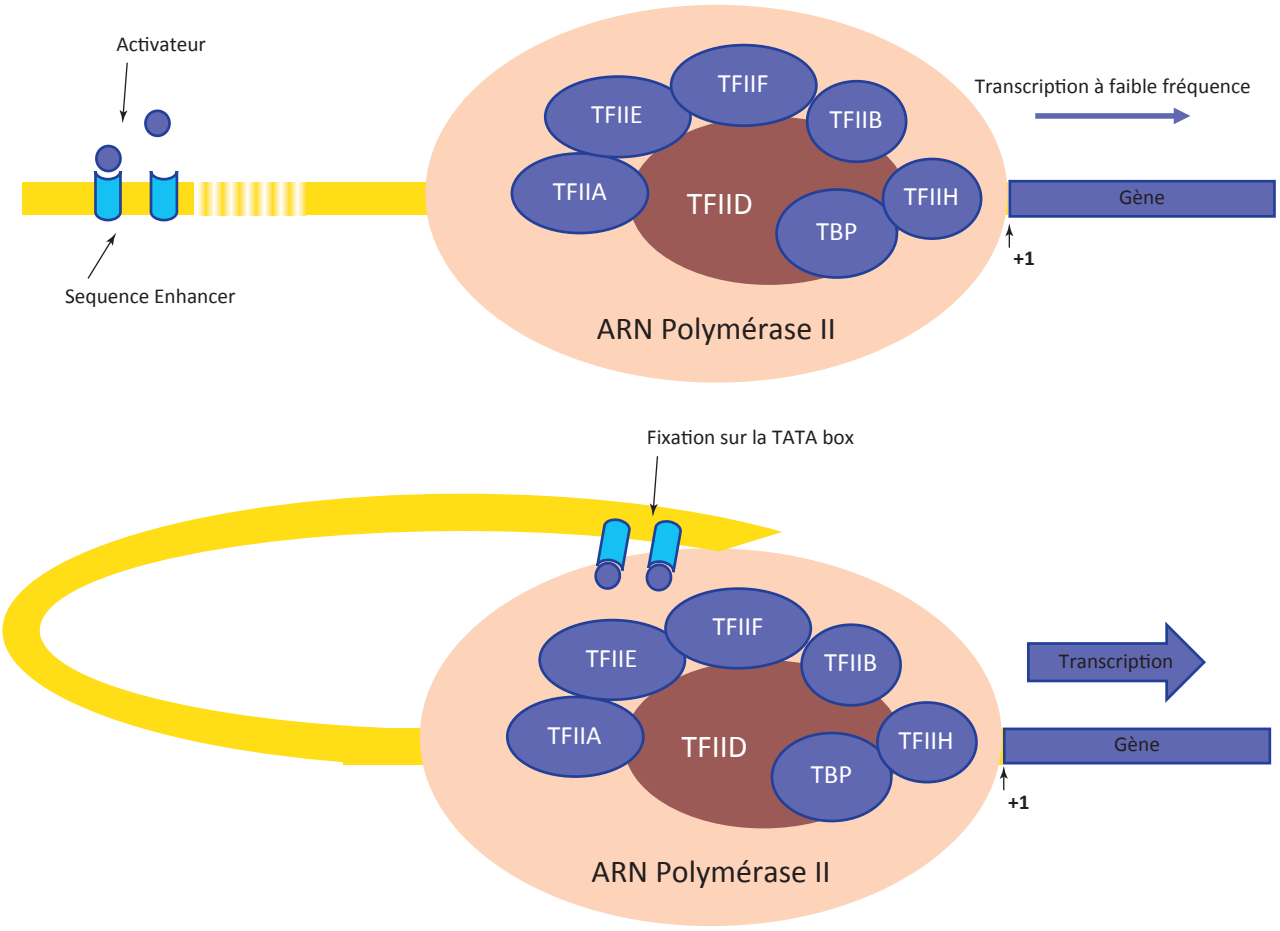
La transcription permet **l'expression des gènes** et a lieu dans le **noyau**, elle passe par la synthèse d'un **ARN messager** à partir d'une **matrice d'ADN.** Chez les eucaryotes, les gènes sont dits **mosaïques**, c'est-à-dire que l'ensemble du gène est transcrit, les introns et les exons.

L'ARN polymérase :
- Complexe enzymatique qui permet la synthèse d'ARN à partir d'une matrice d'ADN.
- **l'ARN polymérase I** assure la synthèse des ARN ribosomique (ARNr) **5,8s, 18s et 28s.**
- **l'ARN polymérase II** assure la synthèse des ARN messager (ARNm), des snoARN, des snARN, des microARN et siARN.
- **l'ARN polymérase III** assure la synthèse des ARN de transfert (ARNt) et de l'ARNr 5s.

Initiation :
- Fixation de la **protéine $TF_{II\,D}$**, qui comporte la protéine de liaison **TBP** qui va se fixer sur la boîte TATA, ce qui va constituer le **cœur du complexe d'initiation**.
- Fixation des différents facteurs de transcription généraux (TF):
  - **$TF_{II\,A}$** vient stabiliser le complexe $TF_{II\,D}$-ADN ;
  - **$TF_{II\,B}$ et $TF_{II\,E}$** se lient à l'ADN ;
  - **$TF_{II\,F}$** est une hélicase ATP-dépendante.
  - **TF_{H}** est une protéine kinase
- Fixation de **l'ARN polymérase II**.
- Ce complexe ne peut déclencher la transcription qu'à une **faible fréquence**.
- Des facteurs supplémentaires doivent intervenir pour initier la transcription : les séquences **enhancers** seront activées par des **activateurs** et vont entrer en contact avec la TATA box par courbure de l'ADN.
- Fixation sur la TATA box, déroulement des deux brins par l'ARN polymérase et début de la transcription.

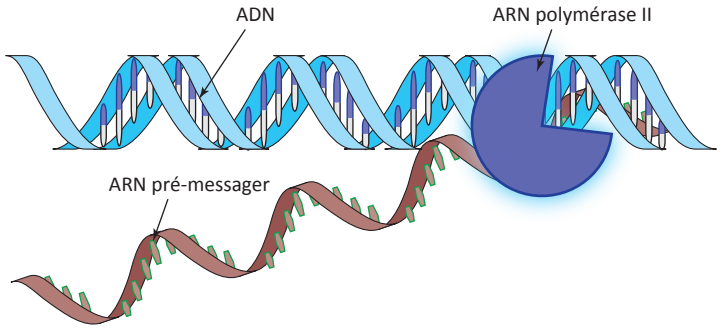






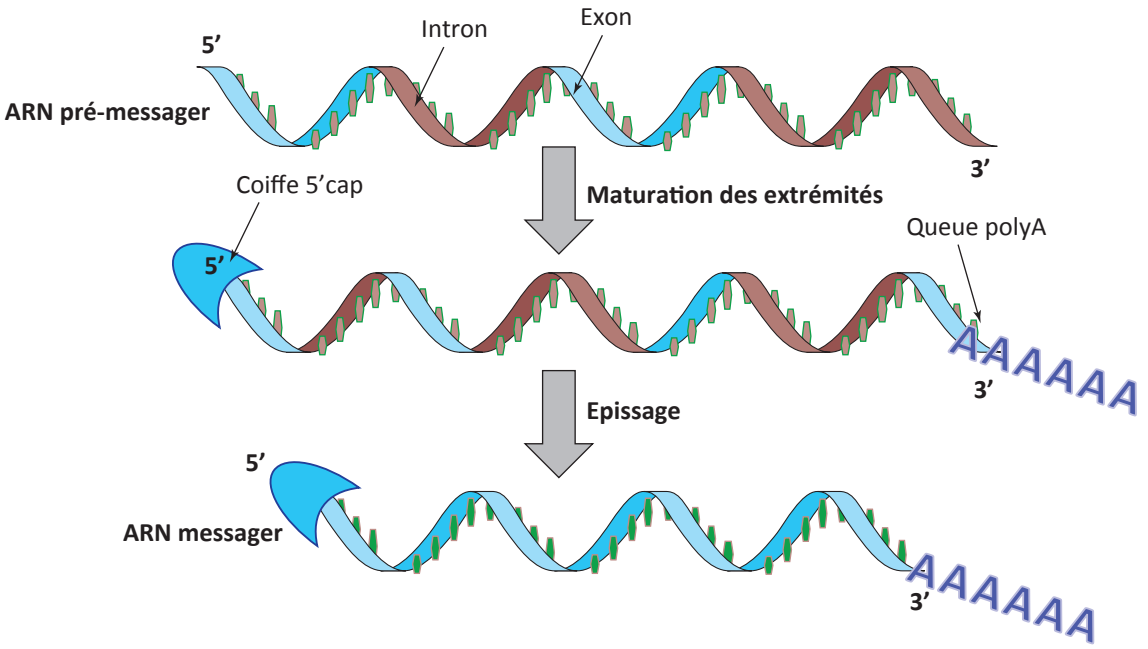
Elongation et terminaison :

- Localisée dans le **noyau**.
- L'ARN polymérase II synthétise un **ARN pré-messager** à partir d'un des deux brins d'ADN.
- Ajout de nucléotides complémentaires au brin d'ADN matrice.
- Terminaison de l'élongation au niveau du signal de polyadénylation AATAAA présent sur le brin codant de l'ADN.
- Libération de l'ARN polymérase II et du pré-ARNm néosynthétisé.



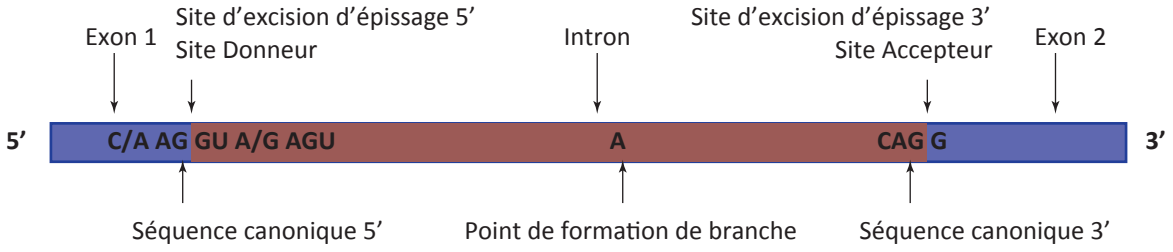
Maturation de l'ARNm :

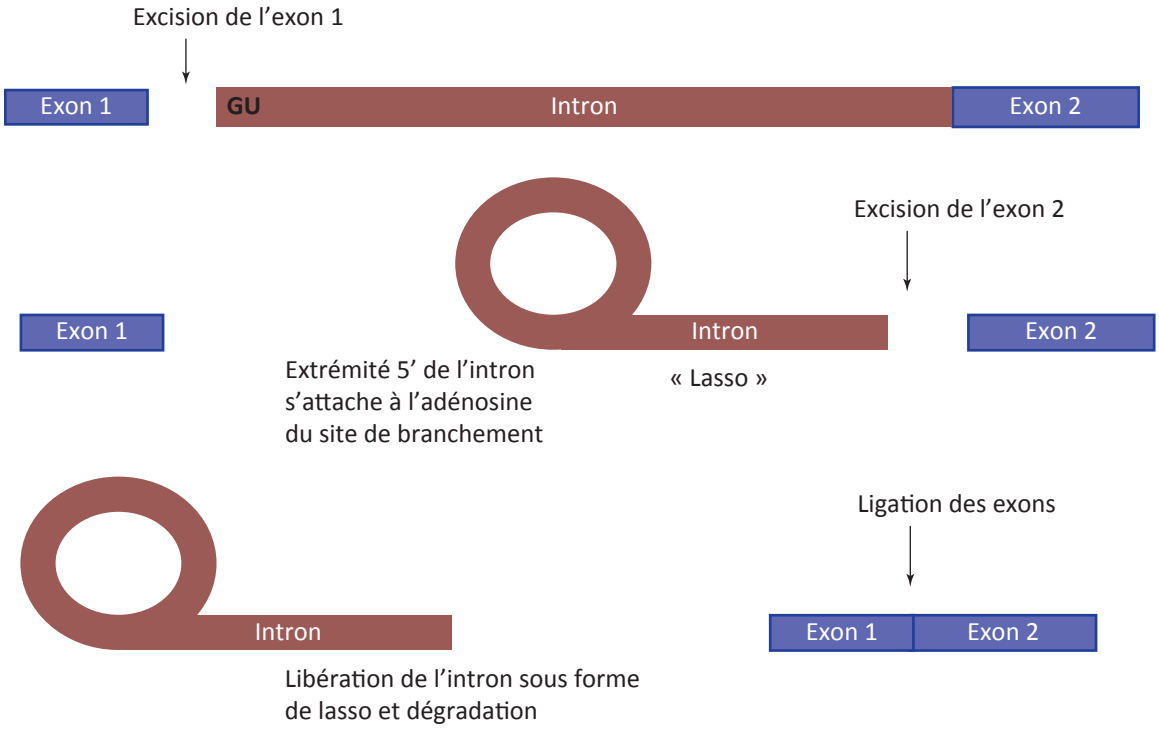
- **Maturation** de l'ARN pré-messager en ARNm.
- Au niveau de l'extrémité 5' : addition de la **coiffe 5' Cap** : 7 méthyl-guanosine triphosphate.
- Au niveau de l'extrémité 3' : clivage par une endonucléase à proximité du signal de fin de transcription et **incorporation de la queue polyA** par une polyA polymérase.



Excision-Epissage :

- **Epissage**, excision des introns par le **spliceosome** et mise bout à bout des exons. **Phénomène non unique**, **l'épissage peut être alternatif** et aboutir à la synthèse de protéines différentes.
- La plupart des introns commencent par GU (**site donneur d'épissage**) et se terminent par AG (**site accepteur d'épissage**). Ces séquences canoniques permettant l'excision, un changement d'un nucléotide à cet endroit peut entraver ce phénomène.

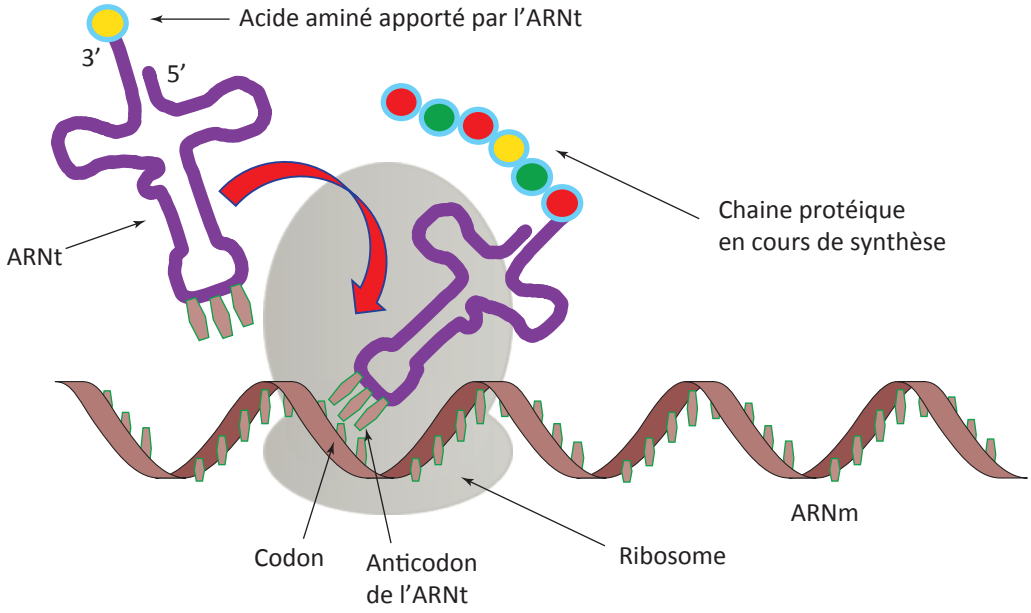




II. Traduction

Le mécanisme de traduction :

- Localisée dans le cytoplasme.
- Correspond à la traduction de l'ARNm en protéines au niveau du ribosome.
- Fait intervenir les **ARNt** (ARN de transfert) qui transportent les acides aminés (aminoacyl ARNt), et intervention des **ribosomes** et de nombreuses autres protéines.
- Complémentarité par antiparallélisme entre le codon de l'ARNm et le triplet situé sur dans la boucle de l'anticodon de l'ARNt porteur de l'acide aminé codé correspondant.
- Basé sur le **code génétique**.



Le code génétique :

- Un triplet de nucléotides correspond à un codon et code pour un acide aminé ou peut être un signal d'arrêt de la traduction (codon stop).
- Plusieurs codons peuvent coder pour un même acide aminé (redondance du code génétique).

le code génétique

Second Letter

1st letter	U	C	A	G	3rd letter
U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC UCA UCG Ser	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU CUC CUA CUG Leu	CCU CCC CCA CCG Pro	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU CGC CGA CGG Arg	U C A G
A	AUU AUC AUA Ile AUG Met	ACU ACC ACA ACG Thr	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G
G	GUU GUC GUA Val GUG	GCU GCC GCA Ala GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU GGC GGA Gly GGG	U C A G

le code génétique est dégénéré : $4^3 = 64 > 20$!

III. La régulation de l'expression des gènes

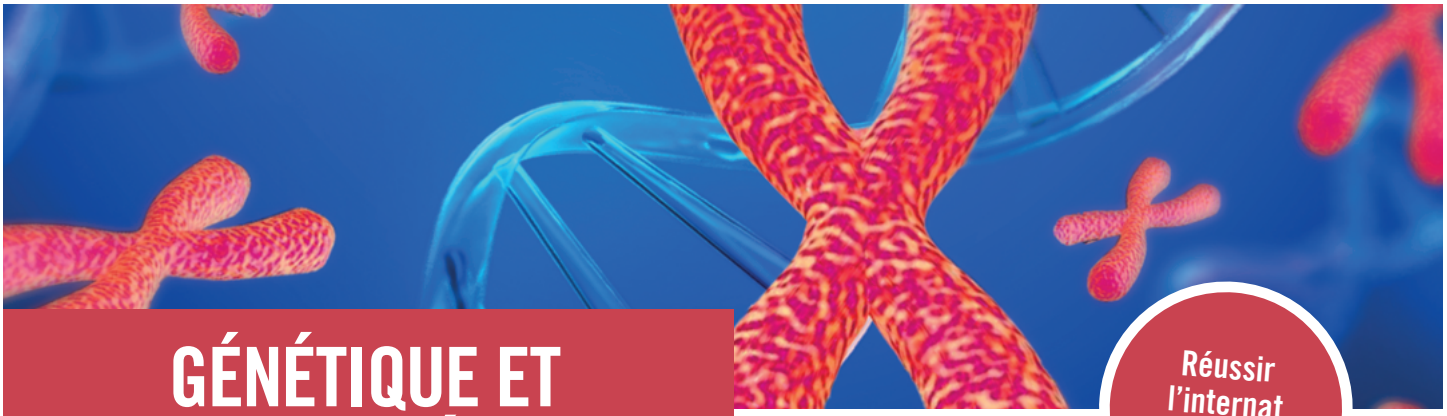
Régulation chromatinienne :
- Importance de la **conformation et du remodelage** de la chromatine pour l'accessibilité de l'ADN : en position « relâchée » accessible= **euchromatine** et en position très « condensée » inaccessible = **hétérochromatine**.
- Par **modification des histones** : acétylation, méthylation ou phosphorylation.
- Par **méthylation des îlots CpG**.

Régulation transcriptionnelle :
- Peut être en **Cis** (promoteurs, enhancers, silencers, éléments de réponse).
- Peut être en **Trans** par des facteurs de transcription : **domaine d'activation** ou **domaine de liaison** par des motifs spécifiques (doigt de zinc, leucine zipper, hélice-boucle-hélice et hélice-tour-hélice).

Régulation post-transcriptionnelle :
- **Maturation et stabilité** des ARNm.

Régulation traductionnelle et post-traductionnelle :
- Clivage **protéolytique**.
- Modifications **biochimiques** (glycolysation, acétylation …).

Partie II
Pathologies



GÉNÉTIQUE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Réussir l'internat en pharmacie

Cet ouvrage aborde de manière précise et concise les notions de génétique en lien avec **les items 1 à 6 de la section II et les items 54 et 55 de la section IV du programme (2010)** de l'internat en pharmacie.

Il propose un résumé de l'essentiel à connaître en génétique, des bases physiologiques et des techniques permettant d'identifier et de caractériser les anomalies génétiques.

Il est composé de 3 parties principales :

- Rappel des bases en génétique
- Exploration et caractérisation des anomalies génétiques
- Entraînement sous forme de QCM et exercices

Ces fiches, claires et aérées, permettent de comprendre et de mémoriser les problématiques portant sur la génétique et la biologie moléculaire au cours des études de pharmacie.

Cet ouvrage s'adresse également aux étudiants souhaitant découvrir la génétique ainsi que les méthodes utilisées en biologie moléculaire. Cette nouvelle version contient un chapitre sur l'utilisation du séquençage à haut débit en génétique, les principes et applications.

Guillaume Grzych est biologiste médical au CHU de Lille spécialisé en biochimie et enseignant en biochimie à la faculté de pharmacie de l'université de Lille.

Dans la même collection

ISBN : 978-2-8073-3489-2

9 782807 334892

deboeck SUPÉRIEUR

www.deboecksuperieur.com

Conception graphique : Primo&Primo