

## Mise en situation et objectif

Un gène est une portion d'ADN qui intervient dans la réalisation d'un caractère. Il existe le plus souvent différentes versions de ce gène appelées **allèles** qui diffèrent par leur séquence de nucléotides.

Les **mutations** sont à l'origine de l'apparition de nouveaux allèles d'un gène. Ce sont des phénomènes aléatoires dont la fréquence d'apparition est très faible. Certains facteurs de l'environnement, chimiques (comme certaines substances cancérogènes) ou physiques (comme les rayons UV ou les rayonnements radioactifs), augmentent la fréquence d'apparition des mutations : ce sont des **agents mutagènes**.

On cherche à caractériser les mutations et à déterminer comment l'exposition à un agent mutagène peut augmenter le risque de mutations.

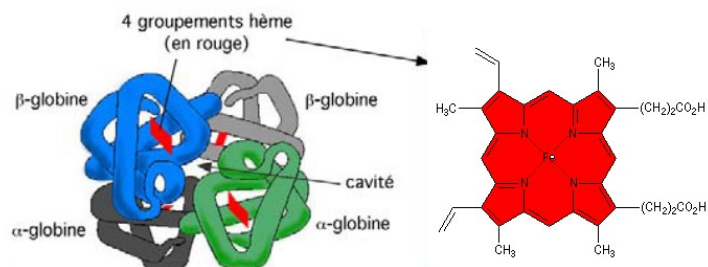
## 1. Des modifications de l'information génétique

Une mutation est une modification de l'information génétique qui peut affecter un petit nombre de nucléotides de l'ADN (**mutations ponctuelles**) ou des segments entiers de chromosomes en provoquant des modifications de la structure ou du nombre de chromosomes (**mutations chromosomiques**). Les mutations ponctuelles peuvent être dues à des erreurs de réplication de l'ADN ou à des événements survenant en dehors de la réplication.

On souhaite caractériser les différents types de mutations ponctuelles. Pour cela on a utilisé l'exemple des allèles du gène codant la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine, qui sont à l'origine de maladies appelées  $\beta$ -thalassémies.

## Les $\beta$ -thalassémies

L'**hémoglobine** est une protéine localisée dans les hématies (globules rouges) qui a pour fonction de transporter le dioxygène dans le sang pour approvisionner les cellules. Elle est formée de quatre **chaînes polypeptidiques** (chaînes d'acides aminés) identiques deux à deux : 2 chaînes alpha ( $\alpha$ ) et 2 chaînes bêta ( $\beta$ ).

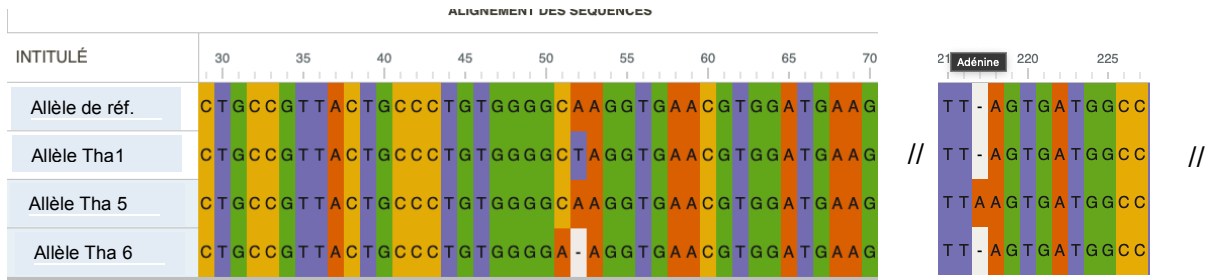


Structure de l'hémoglobine humaine adulte

Les **chaînes  $\beta$**  de l'hémoglobine sont codées par **un gène** situé sur le chromosome 11 et sont constituées chacune de 146 acides aminés. On connaît actuellement **plusieurs centaines d'allèles** du gène codant pour la chaîne  $\beta$  issus de mutations de ce gène : certains sont assez répandus dans la population humaine, d'autres rarissimes. Certains de ces allèles sont à l'origine de maladies appelées thalassémies.

Les **thalassémies** se traduisent par des anémies hémolytiques plus ou moins sévères, une morphologie des hématies très irrégulière et par un retard stato-pondéral et des modifications du squelette en rapport avec l'hémolyse chronique. Elles imposent des transfusions d'hématies répétées ; l'espérance de vie des malades ne dépasse généralement pas la vingtaine d'années et parfois beaucoup moins. Les thalassémies sont relativement fréquentes dans les pays du pourtour méditerranéen, en Afrique et dans le Sud-est Asiatique.

Les allèles du gène codant la chaîne  $\beta$  sont le résultat de mutations ponctuelles survenues dans la séquence fonctionnelle de ce gène. En prenant comme exemple les allèles tha1, tha5 et tha6, nous avons pu identifier **trois types de mutations ponctuelles** :



|             | Modification de la séquence de référence                                     | nature de la modification                  | type de mutation |
|-------------|--|--|------------------|
| allèle Tha1 | GGCAAG → GGTAG en position 52  | remplacement d'un ou plusieurs nucléotides | substitution     |
| allèle Tha5 | TTAGT → TTAAGT en position 217   | ajout d'un ou plusieurs nucléotides        | insertion        |
| allèle Tha6 | GCAAGG → G-AAGG en position 51 (le tiret signifie l'absence d'un nucléotide) | suppression d'un ou plusieurs nucléotides  | délétion         |

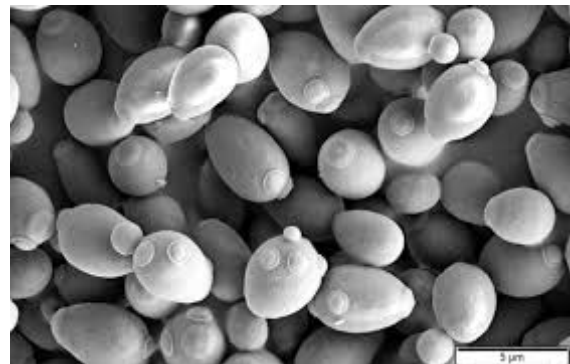
Tableau des mutations mises en évidence

## 2. Action des agents mutagènes sur l'ADN

Un **agent mutagène** est un facteur (substance chimique, phénomène physique) qui augmente le taux de mutation de l'ADN. L'exposition aux rayons ultraviolets (UV), par exemple, est bien connue pour sa dangerosité vis-à-vis des cellules de la peau. En effet, les UV peuvent augmenter la fréquence des mutations et même rendre les cellules cancéreuses. **Il s'agissait d'étudier l'action d'un agent mutagène (les UV) sur la survie des cellules et sur l'apparition de mutations en prenant comme « cobaye » des organismes unicellulaires, les levures.**

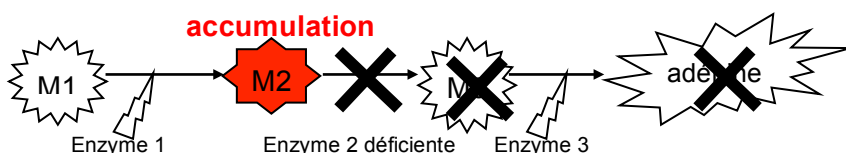
Les **levures** sont des champignons unicellulaires que l'on utilise fréquemment dans notre alimentation (pour faire « lever » la pâte par exemple). L'industrie agroalimentaire en a sélectionné de nombreuses souches, chacune ayant ses propres caractéristiques, par exemple la forme des colonies (qui peut être variable selon les espèces : sphérique, ovoïde, en bouteille...) mais surtout par leur capacité à réaliser certaines réactions chimiques.

Chez la **souche de levure ade2**, il existe deux phénotypes en ce qui concerne la couleur de la colonie : certaines colonies sont de couleur rouge, d'autres, de couleur crème (Document c page 67 NATHAN). Le caractère « couleur de la colonie » dépend de l'expression de plusieurs gènes. Les levures rouges ade2 sont incapables de synthétiser l'adénine contrairement aux levures blanches.



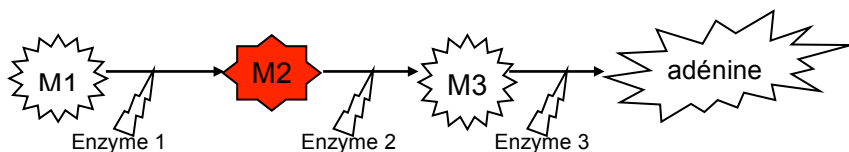
Levures de boulanger observées au MEB

La couleur des colonies dépend notamment de leur capacité à synthétiser l'adénine. Les levures ade2 ne peuvent synthétiser l'adénine et accumulent le produit intermédiaire M2 de couleur rouge. Cela est dû à une mutation dans le gène responsable de l'enzyme 2 qui rend cette enzyme inefficace :



Chaîne de synthèse de l'adénine dans les levures rouges ade2

Dans certaines levures *ade2* mutantes, la mutation permet au gène responsable de l'enzyme 2 de redevenir fonctionnel. L'enzyme est alors efficace, l'adénine est produite et il n'y a plus d'accumulation du produit rouge M2. Les levures ont alors une couleur blanc crème.



Chaîne de synthèse de l'adénine dans les levures *ade2* mutantes blanches

## Stratégie expérimentale

### Ce que je fais :

Afin d'étudier l'effet des UV sur les mutations, on peut exposer des levures *ade2* rouges aux UV.

### Comment je le fais : (témoins, système de lecture des résultats)

Elles seront exposées aux UV pendant une durée variable avec un témoin non exposé. Puis on étalera les levures sur un milieu de culture approprié et on les laissera se développer afin de pouvoir compter les colonies rouges et blanches.

### Ce que j'attends :

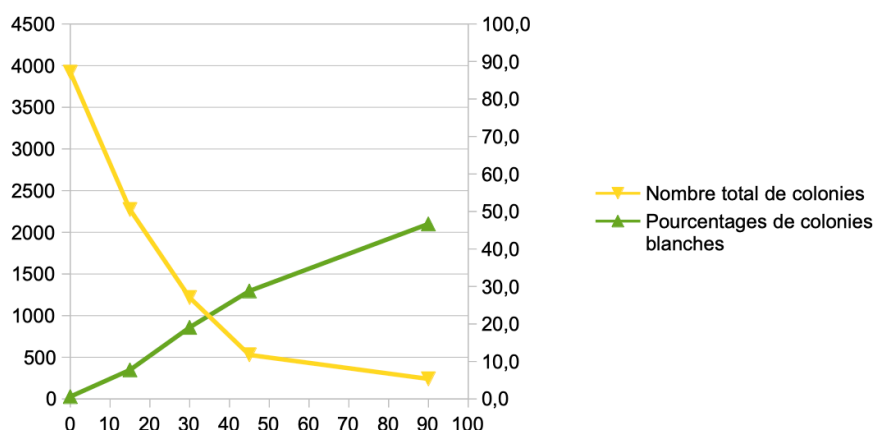
Si les UV favorisent les mutations, on devrait voir le pourcentage de colonies blanches augmenter avec le temps d'exposition, puisque ces colonies résultent d'une mutation des levures rouges *ade2*.

## Résultats obtenus

Tableau des résultats bruts

| durée d'irradiation (s) | Nombre de colonies rouges | Nombre de colonies blanches | Nombre total de colonies | Pourcentages de colonies blanches |
|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| 0                       | 3896                      | 24                          | 3920                     | 0,6                               |
| 15                      | 2096                      | 176                         | 2272                     | 7,7                               |
| 30                      | 984                       | 232                         | 1216                     | 19,1                              |
| 45                      | 376                       | 152                         | 528                      | 28,8                              |
| 90                      | 128                       | 112                         | 240                      | 46,7                              |

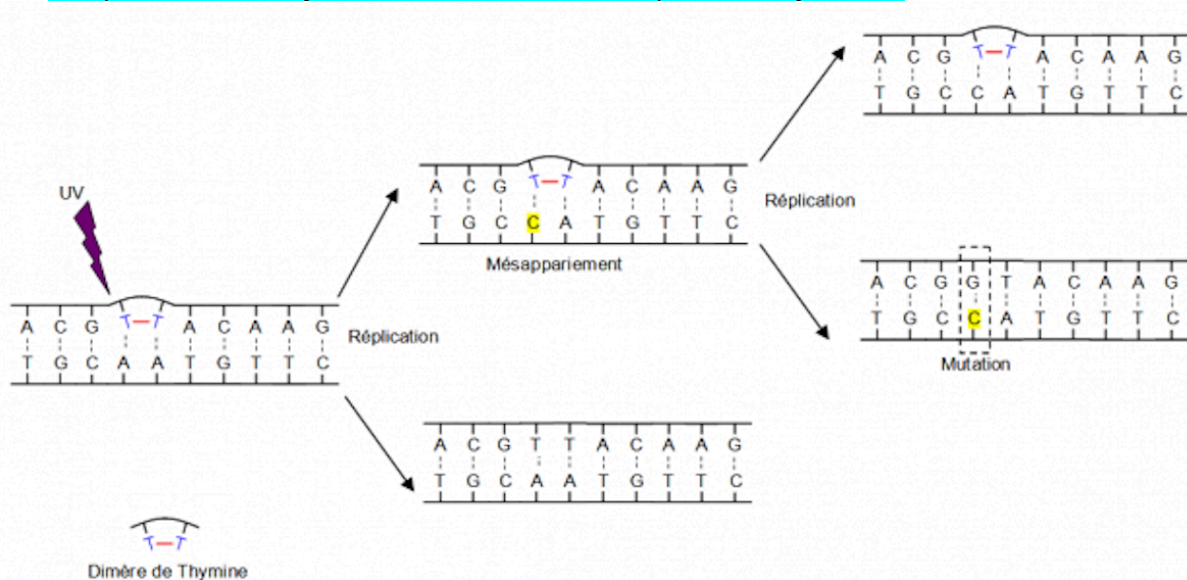
### Traitement des résultats en vue de leur exploitation



Évolution du pourcentage de colonies blanches et du nombre totale de colonies en fonction de la durée d'exposition aux UV

### Exploitation des résultats

- Plus le temps d'exposition des levures aux UV est grand, plus la fréquence des colonies blanches et la mortalité sont élevées. Or, ce sont des mutations dans le gène *ade2* responsable de la couleur rouge qui provoquent l'apparition de colonies blanches. Donc, les UV sont un facteur de l'environnement qui favorise les mutations de l'ADN, autrement dit un **agent mutagène**.
- Le nombre total de colonies diminue fortement avec le temps d'exposition aux UV. Cela est probablement dû au fait que les mutations accumulées dans certaines cellules finissent par être létales (mortelles) pour ces cellules.
- Pour aller plus loin : certains rayonnements ultra-violetts modifient les propriétés chimiques des nucléotides à thymine et provoquent l'apparition de liaisons chimiques entre deux thymines successives d'un même brin d'ADN (on parle d'un « **dimère de thymine** »). Ces thymines ne forment plus de liaisons normales avec les nucléotides du brin complémentaire. Lors de la **réplication**, cela peut provoquer une mutation dans le brin complémentaire en cours de synthèse car **l'ADN polymérase ne peut identifier correctement la base complémentaire à ajouter en vis-à-vis de cette paire de thymines** :



- Dans un environnement « protégé », les mutations spontanées sont rares, mais les agents mutagènes présents dans notre environnement font augmenter la fréquence des mutations, ce qui explique pourquoi les gènes polyalléliques sont si nombreux.