

Chap1A2 : Variabilité génétique et mutations

TP1A-7 : L'évolution des mutations

Matériel : Excel, Rastop/Libmol, Anagène/Geniegen, Mesurim et leurs fiches techniques

Compétences : utiliser les fonctionnalités d'un logiciel, formuler une hypothèse, utiliser la démarche scientifique

On nomme **phénotype** l'ensemble des caractères observables d'un individu dans un environnement donné, et **génotype** l'ensemble des gènes d'un individu. Lors de l'étude d'un caractère héréditaire, ces définitions se limitent au caractère étudié. On sait que les mutations sont des modifications de l'ADN, donc du génotype. **On cherche à savoir ce qu'elles deviennent après leur apparition et les conditions pour qu'elles soient transmises à la descendance.**

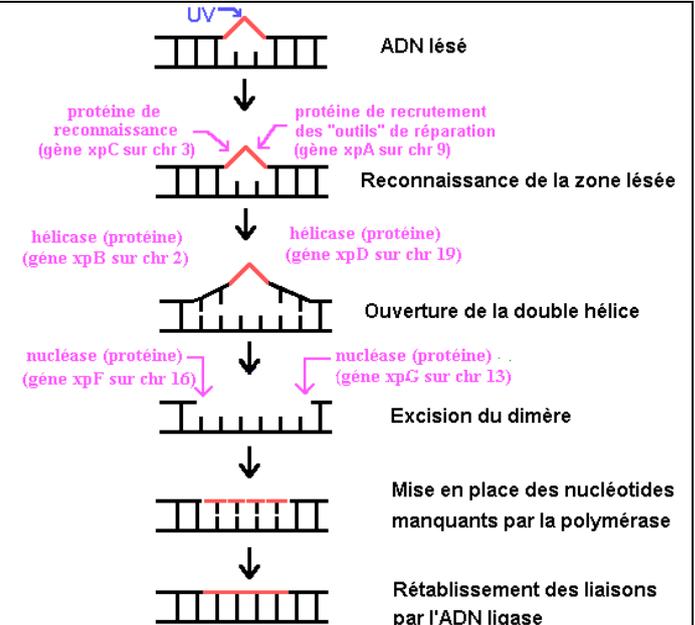
En 1949, Albert Kelner et Renato Dulbecco ont observé que des cultures de bactéries *Streptomyces griseus* présentaient une meilleure survie après exposition aux UV si elles étaient exposées à la lumière du jour juste après l'exposition aux UV.

Doc1: Une découverte historique chez les bactéries.

- On rappelle que l'exposition aux UV provoque l'apparition de dimères de thymines pouvant entraîner des mutations. **Proposez une hypothèse expliquant les observations rapportées dans le doc 1 ci-dessus montrant la disparition des mutations provoquées par les UV chez des bactéries.**

On propose un modèle de réparation des mutations chez l'humain (doc3). Ce modèle est issu de l'étude d'une maladie génétique d'individus ne présentant pas ce système de réparation du fait d'une mutation d'un des gènes impliqués dans ce système de réparation. Ces individus sont atteints d'une maladie génétique rare, la xérodémie pigmenteuse, faisant intervenir plusieurs gènes. **On veut comprendre en quoi les données issues des malades porteurs de la mutation xpc confirment le modèle proposé.**

Le *Xeroderma pigmentosum (XP)*, ou **xérodémie pigmenteuse** est une maladie génétique rare qui touche une personne sur un million en France. Elle est caractérisée par l'apparition de taches brunes sur les zones de la peau ou des yeux exposés aux rayons ultra-violet du soleil. Au niveau de ces taches, les cellules meurent ou se multiplient anormalement, et peuvent devenir des cancers cutanés ou ophtalmologiques. La maladie multiplie en effet par 1000 le risque de développer ces cancers. Il n'existe actuellement aucun traitement du *Xeroderma pigmentosum*. Il est donc indispensable pour les personnes atteintes de supprimer ou de limiter toute exposition aux UV dès le plus jeune âge. L'Agence spatiale européenne (ESA) a mis au point une combinaison intégrale de protection aux UV (*photo ci-dessus, dans listofdisease.wordpress.com/page/2/*). Pour cette raison, on appelle aussi les personnes atteintes « les enfants de la lune ». On a identifié plusieurs gènes responsables de XP.



Doc 3 : Schéma du modèle de la réparation d'un dimère de thymine dans l'ADN par les protéines issues des gènes xpc, xpb, xpc, xpd, xpf et xpg.

Doc 2: La xérodémie pigmenteuse, une maladie génétique

- À l'aide des fonctionnalités des logiciels et de leur fiche technique, mettre en œuvre le protocole pour comparer les phénotypes des individus sain et malade XP, puis leurs génotypes.
- Présentez vos résultats sous la forme d'un tableau (à recopier et à titrer) :

		Individu sain	Individu XP	
Génotype (mutation)		X	XPC1	XPC3
Phénotype moléculaire (protéine)				
Phénotype cellulaire		Survie des cellules exposées aux UV	Mort ou multiplication anormale (cancer) des cellules exposées aux UV	
Phénotype macroscopique	Sensibilité aux UV	Faible	Modérée	Forte
	Réparation des mutations			

- Exploitez vos résultats en lien avec les documents ressources pour expliquer comment la mutation du gène xpc est à l'origine du phénotype XP.
- Discuter dans quelle mesure l'étude de la mutation XPC vient confirmer le modèle proposé dans le doc 3.
- Conclure en indiquant les conditions pour qu'une mutation soit transmise à la descendance à l'aide des documents p.46-47 (sans les exploiter).

Protocole : Étude de la Xerodermie pigmentée

○ **Etudier le phénotype macroscopique des personnes atteintes :**

On a cultivé *in vitro* des fragments de peau d'individu sain, et d'individu atteint de *Xeroderma pigmentosum*. On les a soumis à une exposition aux UV, et on a ensuite réalisé des coupes de peau. Chaque dimère de thymine est repéré par une tache fluorescente verte. *Ne pas tenir compte du « bruit de fond » de petites taches de fluorescence verte visible y compris sur les photos avant exposition.*

- Avec le logiciel Mesurim, **ouvrir le fichier image *peau XP.png* et compter les dimères de thymines apparaissant 4 jours après exposition (les autres images ont déjà été dénombrées).**
- **Compléter le fichier Excel fourni *dimères T sain et XP Mesurim.xlsx* avec vos résultats. Tracer le graphique du nombre de dimères de thymine en fonction de la durée d'exposition aux UV.**

○ **Visualiser une molécule de réparation liée à l'ADN :**

Afficher une protéine de réparation de l'ADN liée à un dimère de thymine de l'ADN chez un bactériophage (virus infectant les bactéries). Faire apparaître l'interaction entre les 2 molécules :

- **Avec le logiciel Rastop :**
 - **ouvrir** le fichier *1vas.pdb* ;
 - Sélectionner chaque chaîne avec l'icône *Sélectionner une chaîne*, puis donner une forme globuleuse à la protéine de réparation de l'ADN, et une forme bâtonnets à l'ADN.
 - les atomes rouges sont les atomes d'oxygène autour de la molécule. Pour les faire disparaître, sélectionner la chaîne > clic sur un atome d'oxygène > *cache tout*
 - **Mettre en évidence le dimère de thymine :** *Sélectionner l'élément > clic sur les 2 thymines liées > modifier la couleur et l'affichage*

OU :

- **Avec le logiciel Libmol :**
 - Onglet *Fichiers* > *Rechercher dans la Protein Data Bank* > chercher *1vas* ;
 - **Mettre en évidence la protéine de réparation de l'ADN :** Dans l'onglet *Commandes* : *sélectionner > protéines*, puis *Représenter > Sphères*, et *Colorer > Palette > blanche*
 - **Mettre en évidence l'ADN :** *sélectionner > ADN/ARN*, puis *Représenter > bâtonnets*, et *Colorer > résidus*
 - **Mettre en évidence le dimère de thymine dû aux UV :** Dans l'onglet *Séquence* > *Aucun*, puis sélectionner les 2 thymines (DT) successives qui forment le dimère de thymine. Retourner dans l'onglet *Commandes*, *Représenter > boules et bâtonnets*, et *Colorer > palette > noir*. Repérer le dimère de thymines et la déformation de la double hélice d'ADN qu'il provoque. Repérer la position de la protéine de réparation de l'ADN.

○ **Etudier le génotype :**

Les séquences *xpc_0* ou *xpcnorm* correspondent à l'individu non atteint, les séquences *xpc1* et *xpc3* correspondent respectivement à des individus atteints de XP à faible et forte sensibilité aux UV. **Noter la position et la nature des mutations**, puis la **celle des changements d'acides aminés et l'effet** des mutations sur la séquence des protéines.

- Avec le logiciel **Anagène** :
 - ouvrir les fichiers *xpc_adn.edi* et *xpc_prot.edi*. **Vérifier que *xpc_0* et *xpcnorm* sont en haut de la liste.** Sinon sélectionner la séquence et cliquer sur la flèche du haut pour la déplacer.
 - Comparer les séquences nucléiques (.adn) des allèles du gène *xpc* avec alignement avec discontinuités
 - Comparer les séquences protéiques (.pro) correspondantes simplement. Cliquer sur la règle pour compter les acides aminés.

OU :

- avec le logiciel **Geniegen** (<https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/geniegen2/>) :
 - **chercher « xpc » dans la banque de séquences**, et **sélectionner** avec la souris toutes les séquences qui s'affichent **sauf l'allèle *mut2*** > *Charger ces séquences*. **Vérifier que XPC norm est en haut de la liste.** Sinon clic droit sur la séquence > *Déplacer en haut de la liste*.
 - Sélectionner les 3 séquences nucléiques > Menu *Actions* > *Aligner les séquences sélectionnées*. Repérer les mutations par des traits rouges et se déplacer sur la séquence pour visualiser les mutations.
 - **Afficher la séquence protéique** correspondant à chaque allèle : Menu *Actions* > *Traduire les séquences sélectionnées* > *A partir du début de la séquence*, puis Menu *Options* > *Numérotation* > *Résidu/codon*
 - Décocher les séquences nucléiques et **cocher les séquences protéiques**.