

SUGGESTIONS PÉDAGOGIQUES : CLASSE DE PREMIÈRE SÉRIES S, L ET ES

INTRODUCTION : LA BANQUE DE DONNÉES ET LES NOTIONS DU PROGRAMME

Le programme de biologie de la classe de première est centré sur la façon dont le génotype en **interaction avec l'environnement, détermine le phénotype d'un organisme. Cela suppose la**

reconnaissance des divers niveaux de définition du phénotype.

· **Dans un premier temps, il s'agit d'établir les mécanismes de base par lesquels des différences entre allèles d'un gène entraînent des différences au niveau du phénotype moléculaire à l'origine** des différences des phénotypes aux échelles cellulaire et macroscopique. Ceci implique la connaissance des principes de la synthèse des protéines, du code génétique ainsi que celle du rôle des protéines notamment des enzymes dans la vie cellulaire.

· **Plusieurs des exemples fournis dans la banque de données permettent d'une part d'introduire les niveaux de définition du phénotype et le fait qu'un allèle en s'exprimant régit la synthèse d'un polypeptide ayant une séquence d'acides aminés déterminée, ce qui motive l'étude de la synthèse** protéique. La connaissance des principes de la synthèse protéique permet ensuite de rechercher et **d'expliquer comment une différence allélique engendre une différence** phénotypique.

· **Dans un deuxième temps, il s'agit d'aller au-delà d'un déterminisme génétique strict pour** envisager la complexité des relations génotype-phénotype-environnement. Ceci fait appel aux notions de dominance/récessivité, au fait que des allèles **différents d'un gène peuvent avoir des** conséquences phénotypiques variables, que plusieurs allèles interviennent directement ou **indirectement dans la réalisation d'un phénotype, et que les facteurs d'environnement, en agissant** à différents niveaux du phénotype, peuvent le modifier.

Les exemples de la banque retenus pour établir les notions de base peuvent servir aussi pour faire **saisir la complexité du phénotype macroscopique d'un organisme. Dans le tableau suivant sont** spécifiées les différentes notions pouvant être construites à partir de chaque exemple. Dans la mesure du possible, ces exemples ont été construits suivant le même schéma pour faciliter la **conception des démarches d'exploitation.**

Exemples	Rôle de la protéine (phénotype moléculaire)		Notion de dominance	Intervention de deux gènes ou plus	Action de l'environnement
	Divers niveaux du phénotype	Conséquences alléliques			
Drépanocytose	X	X	X	Hb bêta et Hb Fœtale	Oxygénation
Phénylcétonurie	X	X	X	Gène de la PAH et gène DHPR	Alimentation
Groupes sanguins ABO	X	X	X	Gènes A, B, O et FUT1	
Albinisme	X	X	X	Gène de la tyrosinase et Gène P	Température
Enphysème pulmonaire	X	X	X	-	Fumée de tabac

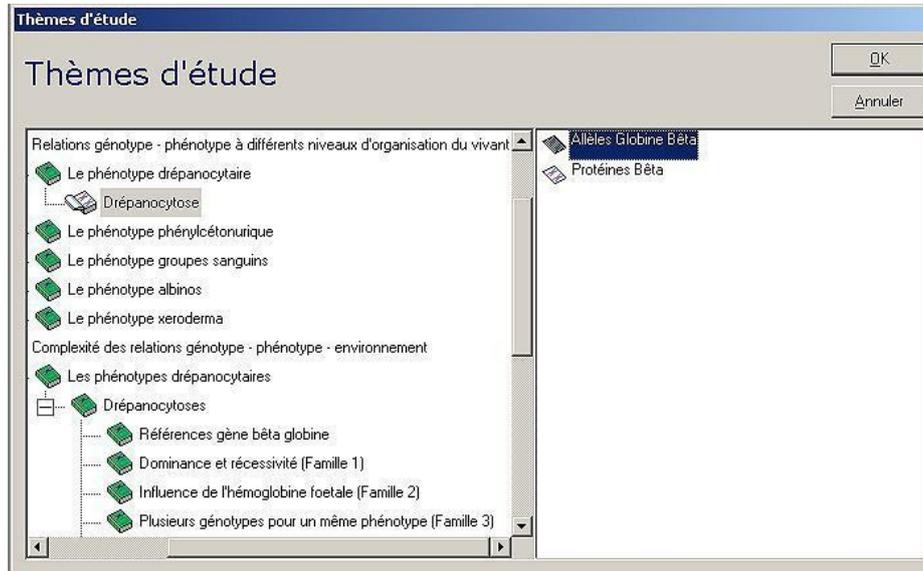
Xéroderma	X	X	X		Rayonnement UV
Cancer du sein	X	X	X		Activité physique

Noter que certains de ces exemples seront repris et enrichis en classe de terminale pour envisager **d'autres thématiques telles que** : innovations génétiques, filiation entre allèles, diagnostic génétique.

Noter également que les deux étapes de cette étude sont présentées successivement pour chaque thème dans cette documentation. Les séquences et les documents **s'y rapportant seront à prendre dans deux entrées distinctes de l'arborescence des thèmes :**

· relations génotype-**phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant** ; · Complexité des relations génotype-phénotype-environnement ;

ceci afin de ne pas multiplier les séquences et les documents à charger pour chaque phase du travail.



Le programme prévoit également d'envisager la morphogenèse végétale sous l'angle des interactions génotype-phénotype-environnement. Le déterminisme du phénotype alternatif « nain » et « taille normale » de nombreuses plantes constitue un bon support. La croissance de la plante dépend de la synthèse de gibbérellines, hormones végétales. La chaîne de synthèse des gibbérellines et la séquence **d'un gène impliqué dans la genèse du phénotype nain** sont connues. En outre, chez les plantes en **rosette comme l'Épinard, c'est un facteur de l'environnement, la longueur de la photopériode, qui déclenche l'expression des gènes de cette chaîne de biosynthèse. Cet exemple enrichit ainsi la perception de la complexité des relations génotype-phénotype-environnement puisqu'il sensibilise à l'idée que les facteurs d'environnement peuvent agir directement sur l'expression des gènes.**

L'orientation majeure de l'étude de la physiologie nerveuse en première S est la plasticité cérébrale, c'est-à-dire la perception de la modulation de l'organisation cérébrale par les facteurs de l'environnement. Néanmoins, ceux-ci agissent sur un cerveau dont la construction est régie par des milliers de gènes. Ce déterminisme génétique peut être abordé à partir des mutants cérébelleux.

Sur tous ces exemples, des informations complémentaires sont disponibles sur le site

Biotic de l'INRP :

<http://www.inrp.fr/Acces/biotic/gpe/accueil.htm>

GÉNOTYPE, PHÉNOTYPE, ENVIRONNEMENT

Les phénotypes drépanocytaires

Informations scientifiques

Le phénotype clinique

La maladie se traduit par une anémie et une fatigue permanente, et par la survenue de crises drépanocytaires plus ou moins graves. Ces crises sont dues à des ischémies locales pouvant être très graves ; les crises vaso-occlusives peuvent être particulièrement douloureuses dans les muscles et les risques de complications organiques graves (notamment au niveau du squelette, de la rate, du tube digestif, du cerveau).

Plusieurs facteurs favorisent la crise drépanocytaire :

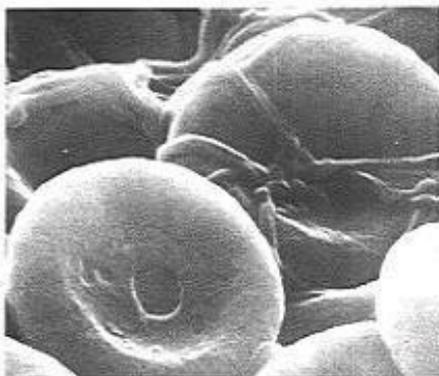
- la déshydratation, fréquente chez le drépanocytaire car il est atteint de polyurie ;
- le ralentissement de la circulation sanguine, qui favorise une stase. Il faut donc éviter le port de vêtements trop serrés, une mauvaise position, le froid, la fièvre (formation de protéines inflammatoires), les infections (les globules blancs en excès limitent la circulation des hématies) ;
- **toute consommation d'oxygène supplémentaire : les efforts avec essoufflement, les efforts musculaires concentrés sur un muscle ;**
- **tout ce qui désature l'hémoglobine en oxygène : la vie en altitude (éviter les altitudes supérieures à 2 000 m, et même parfois 1 500 m), les voyages en avion, les écarts de température entre l'air et l'eau (piscine, mer), l'alcool, le tabac.**

Autrefois, 80 % des individus homozygotes mourraient avant l'âge de la reproduction. Aujourd'hui, grâce au dépistage précoce, à la prévention des infections (vaccination, antibiothérapie systématique),

à la prévention de la déshydratation et de toute autre cause pouvant provoquer des troubles chez le **malade, la maladie reste sérieuse et invalidante, mais l'espérance de vie s'est considérablement accrue.**

Le phénotype cellulaire

Les hématies d'un individu drépanocytaire ont tendance à prendre une forme en faucille (d'où l'autre nom de la drépanocytose : anémie falciforme).



Hématies normales



Hématies drépanocytaires

Cette falciformation est due à la présence de fibres d'hémoglobine S dans l'hématie. Les hématies déformées ralentissent la circulation sanguine dans les capillaires et peuvent même les obstruer.

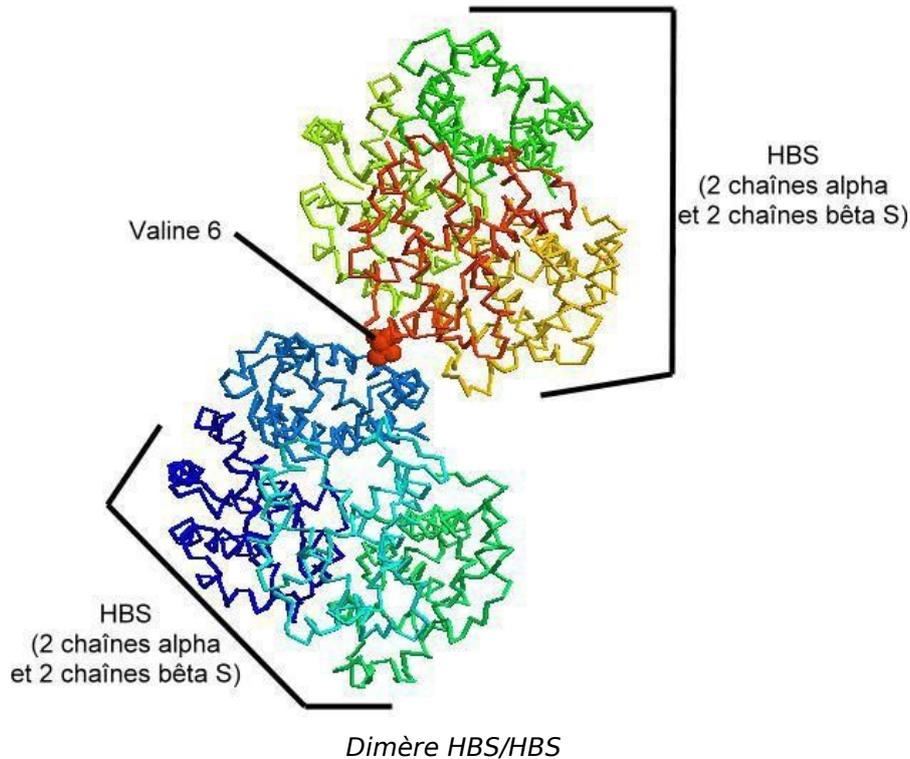
Le phénotype moléculaire

L'hémoglobine S (HbS) est une protéine tétramérique constituée de deux chaînes de globine bêta S et de deux chaînes de globine alpha. La globine bêta S diffère de la globine normale par un seul acide aminé : de la valine remplace un acide glutamique en position 6. Ce changement ne modifie pas la **structure spatiale de la globine bêta, et n'affecte pas la poche de l'hème.**

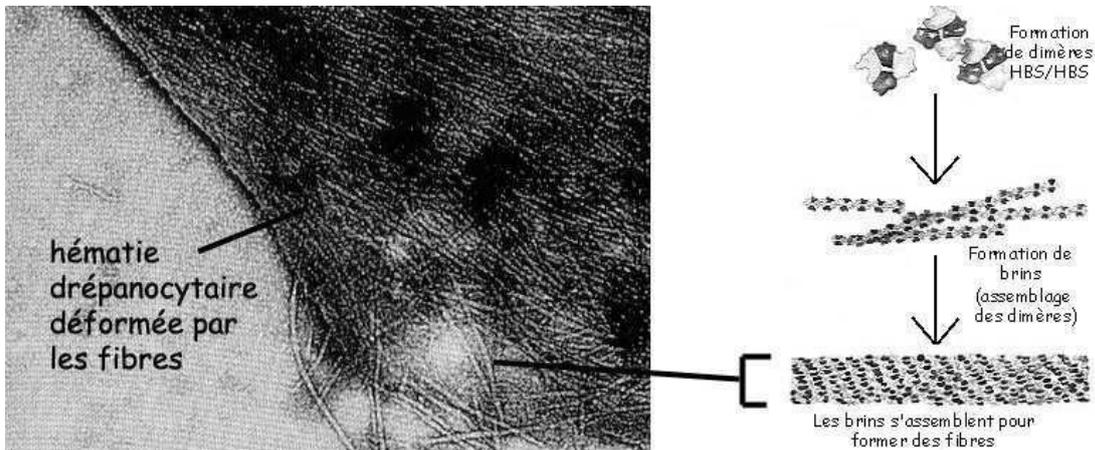
La valine est un résidu hydrophobe, qui remplace donc un résidu hydrophile. Les globines étant **entourées par un film d'eau, la présence d'un site hydrophobe crée un « point de collage » entre deux**

molécules d'**hémoglobines voisines** ; ce « **collage** » s'établit entre la **leucine 88 et la phénylalanine 85 d'une chaîne alpha** bêta et la valine 6 de la chaîne bêtaS. Il se forme alors une structure cristalline en fibres.

La visualisation 3D (obtenue avec le logiciel *RasTop*, fichier « hbspbs.pdb ») ci-dessous met en évidence ce « point de collage » :



Les dimères HbS/HbS s'assemblent pour former des brins ; les brins s'associent en fibres, responsables de la déformation des hématies.



Cette falciformation est due à la formation de fibres d'hémoglobine S (de 1 à 15 µm de longueur), phénomène favorisé par la désoxygénation. En effet, la désoxyhémoglobine S présente une propriété naturelle de polymérisation si elle est en solution concentrée (ce qui est le cas dans les hématies) ; le **retour de l'HbS à l'état oxygéné** provoque la dissociation des polymères.

Le déterminisme génétique de la drépanocytose

La drépanocytose est une maladie autosomale récessive due à une mutation unique du gène de la bêta **globine situé sur le chromosome 11**. Il s'agit d'une mutation par **substitution** : le nucléotide A est

remplacé par un nucléotide T en position 17, le 6^e codon GAG devient alors GTG.

Le gène bêta étant très polymorphe, on connaît plusieurs génotypes drépanocytaires, dont trois prédominant : HbS//HbS (70 %) ; HbS//HbC (25 %), HbS//Hb thalassémie (5 %).
Si dans le

génotype d'un individu drépanocytaire, on trouve toujours un allèle HbS, celui-ci peut être associé soit à un autre allèle HbS (génotype HbS//HbS), soit à l'allèle HbC, soit à un allèle Hb thalassémique.

L'allèle HbC diffère de l'allèle HbA par une mutation au 6^e codon, qui a pour conséquence la substitution de l'acide glutamique par la lysine. Généralement le génotype HbS//HbC se traduit au

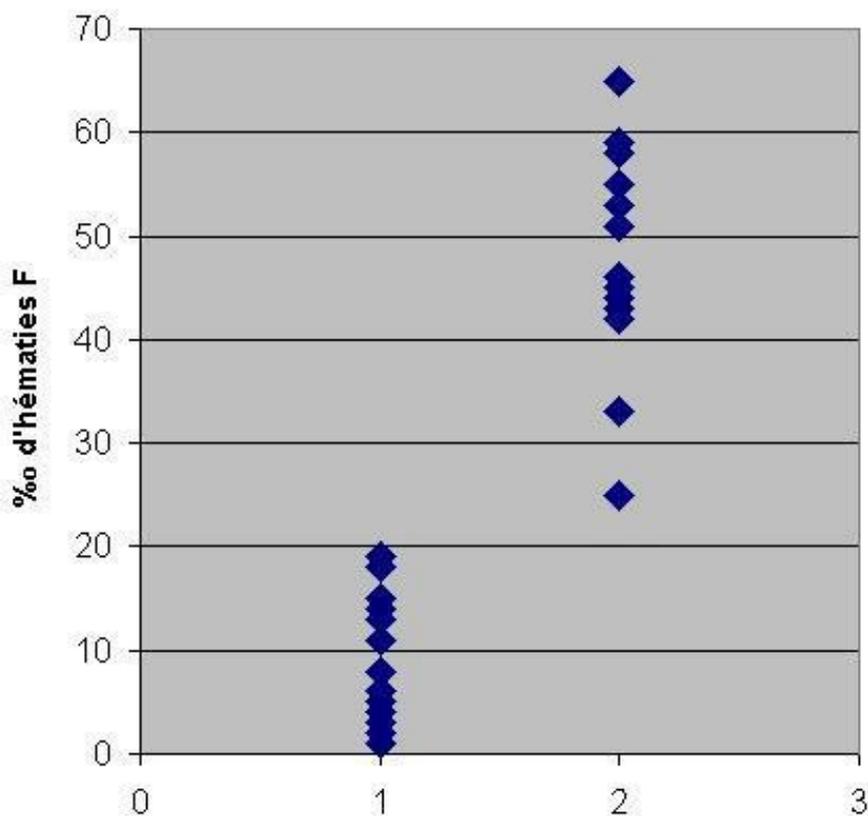
niveau clinique par un phénotype drépanocytaire nettement moins accusé que celui entraîné par le génotype HbS//HbS. Un allèle Hb thalassémique entraîne un arrêt anticipé de la chaîne bêta au cours de la traduction et donc la synthèse d'une chaîne bêta raccourcie, non fonctionnelle.

La variabilité des phénotypes drépanocytaires

Parmi une population d'individus de génotype HbS//HbS, on a identifié deux catégories de patients : certains développent des crises drépanocytaires graves et fréquentes ; d'autres ne développent qu'exceptionnellement des crises qui restent bénignes.

Les patients qui souffrent de crises caractéristiques de la drépanocytose ont un taux d'hémoglobine F inférieur à 10 % ; ceux qui ne développent que de rares crises ont un taux d'hémoglobine F qui atteint 2 à 7%.

Hématies contenant de l'hémoglobine foetale dans la population porteuse du génotype HbS//HbS



L'hémoglobine F (Hb foetale) est détectable à partir de la 5^e semaine et c'est le principal constituant hémoglobinique de la vie foetale. Cette HbF est constituée de deux chaînes α (codées par le gène alpha) et de deux chaînes γ (codées par le gène gamma). Normalement, chez l'adulte, l'HbF ne subsiste qu'à l'état de traces inférieures à 1 %, et reste limitée à une population cellulaire restreinte, les « cellules F » ; ces dernières représentent environ 1 à 7 % des érythrocytes.

Chez un individu produisant de l'HbS, mais qui continue aussi à produire beaucoup d'HbF, les crises drépanocytaires sont rares et peu importantes car

l'HBF ne s'intègre pas dans le polymère « poly HBS », ce qui limite la formation de fibres d'HBS et donc la déformation des hématies.

Ainsi, même si **le phénotype drépanocytaire est monogénique, il est influencé par l'activité de**

plusieurs autres gènes, dont le gène gamma.

Pistes d'exploitation pédagogique des données fournies

L'étude du phénotype drépanocytaire avec les données fournies permet d'aborder les notions suivantes :

- le phénotype peut se définir à différentes échelles ;
- le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype cellulaire et clinique ;
- **la complexité des relations génotype/phénotype : influence de l'environnement, influence d'autres gènes ;**
- un même phénotype peut correspondre à plusieurs génotypes.

Il est particulièrement intéressant ici de coupler l'utilisation du logiciel RasTop avec celle du logiciel Anagène.



Le phénotype peut se définir à plusieurs échelles

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype drépanocytaire/Drépanocytose** aboutit à :

- **Allèles Globine Bêta** qui charge le fichier alleles-Glob-beta.edi contenant les séquences strictement codantes des allèles bêta A et bêta S du gène de la globine bêta ;

- **Protéines Bêta** qui charge le fichier prot-glob-beta.edi contenant les séquences protéiques des globines bêta A et bêta S.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype - phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype drépanocytaire permet d'accéder aux fichiers :**

- phenodrep.bmp : texte de présentation du phénotype drépanocytaire au niveau clinique, cellulaire et moléculaire ;

- **hematies.bmp : photos d'hématies normales et d'hématies drépanocytaires ;**

- **brin.bmp : schémas illustrant la formation de brins et de fibres d'HbS à partir de dimères HbA/HbA ;**

- dimereHbS.bmp : visualisation 3D obtenue avec le logiciel RasTop (**fichier hbs_hbs.pdb**) d'un dimère HbS/HbS avec mise en évidence de la valine 6 ;

- comparglobines.bmp : visualisation 3D obtenue avec le logiciel RasTop (fichiers globdrep.pdb et globnorm.pdb) **d'une globine bêtaA (normale) et d'une globine bêtaS (drépanocytaire).**

Fichiers des molécules en 3D

Dans le dossier 3D sous **Anagène2**, le répertoire **Drepanocytose** contient les fichiers .pdb suivants : betanorm.pdb, betadrep.pdb, hbnorm.pdb et hbs_hbs.pdb.

	Phénotype macroscopique	Phénotype cellulaire	Phénotype moléculaire
Individu sain	Pas de troubles particuliers	Hématies non déformées	Hémoglobine constituée principalement de deux chaînes alpha et deux chaînes bêtaA
Individu drépanocytaire	Anémie, fatigue, crises drépanocytaires	Hématies en faucille, déformées par des fibres d'HbS	Hémoglobine constituée principalement de deux chaînes alpha et deux chaînes bêtaS

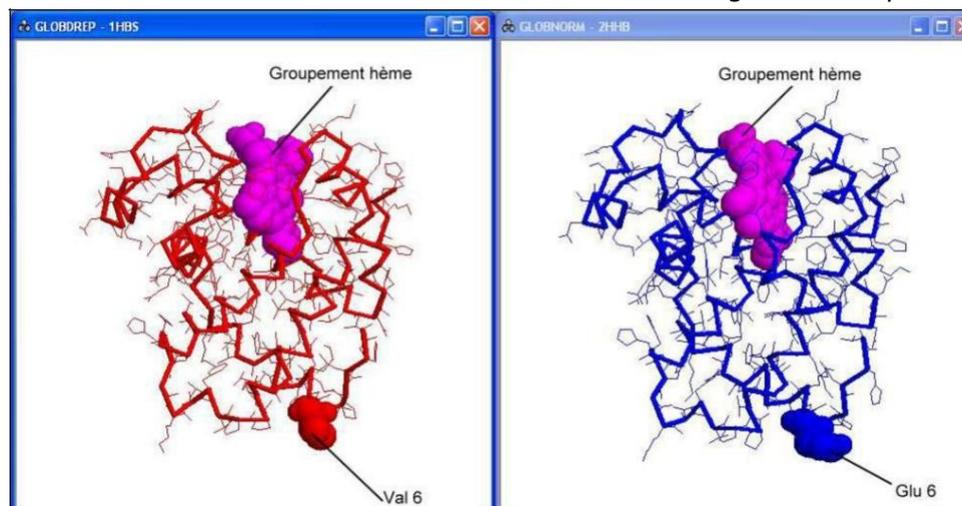
Le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype cellulaire et clinique :

la mise en parallèle des comparaisons effectuées entre les deux allèles bêtaA et bêtaS et les protéines

correspondantes met en évidence une seule différence : une substitution (A T au 20^e nucléotide) qui modifie le 7^e **codon, provoquant ainsi le remplacement de l'acide glutamique par la valine.**

Comparaison simple			1	5	10	15
			!	!	!	!
Traitement	<	> 0	Comparaison simple de séquences d'ADN			
allèle beta A	<	> 0	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTC			
allèle beta S	<	> 0	-----T-----			
Traitement	<	> 0	Comparaison simple de séquences peptidiques			
protéine beta A	<	> 0	MetValHisLeuThrProGluGluLysSerAlaValThrAlaLeu			
protéine beta S	<	> 0	- - - - - Val - - - - -			
Sélection : 0/6 lignes						

Cette différence d'un seul acide aminé ne modifie pas la forme de la globine, comme le montre le document ci-dessous, obtenu avec le logiciel RasTop :



Globine bêta S

Globine Bêta A

Attention, dans les séquences fournies pour *Anagène*, **le codon d'initiation et donc la méthionine**

initiale, sont présents ; par contre, dans la molécule accessible en visualisation 3D, cette méthionine initiale **n'est pas présente, puisqu'elle a été excisée lors de maturation de la protéine. Cela explique la différence de numérotation entre *Anagène* et *RasTop* : dans le premier cas, c'est l'acide aminé n° 7 qui est modifié, alors que dans de deuxième, c'est le n° 6.**

Le remplacement de l'acide glutamique par la valine modifie les propriétés de la globine bêta : la

valine forme un point de collage qui favorise la formation de dimères HBS/HBS, et donc la formation **de brins et de fibres d'hémoglobine qui vont déformer les hématies** ; la circulation capillaire se fait alors plus difficilement, et explique les troubles observés chez les malades.



La complexité des relations génotype/phénotype

Influence de l'environnement

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes drépanocytaires/Influence de l'environnement** permet d'accéder aux fichiers :

- prevention-drepanocytose.bmp : texte précisant quelques mesures de prévention que doivent respecter les individus drépanocytaires ;
- baisseoxygene.bmp : **texte précisant la relation entre une baisse du taux d'oxygène sanguin et l'apparition d'une crise drépanocytaire.**

Le phénotype d'un individu de génotype HbS//HbS est influencé par l'environnement : des mesures de prévention permettent de limiter les crises drépanocytaires en évitant les baisses d'oxygénation du sang.

Influence d'autres gènes

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque des thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes drépanocytaires/Drépanocytoses** aboutit à :

- **Références gène bêta globine** pour accéder à **Allèles gène globine bêta** qui charge le fichier allref-glob-beta.edi affichant quelques allèles du gène de la bêta globine présents dans

les différentes familles étudiées - séquences strictement codantes des allèles bêta S (S), bêta A (A) - bêta Tha2 (Tha2) et bêta C (C) ;

- **Dominance et récessivité (Famille 1)** pour accéder à **Allèles famille1** qui charge le fichier allFam1drep.edi affichant des séquences strictement codantes des allèles du gène de la bêta globine chez les individus de la famille 1 [I1, I2 et II1 : (A/S) ; II2 : (S/S)] ;

- **Influence de l'hémoglobine fœtale (Famille 2)** pour accéder à **Allèles famille2** qui charge le fichier allFam2drep.edi affichant des séquences strictement codantes des allèles du gène de la bêta globine chez les individus de la famille 2 [I1 et I2 : (A//S) ; II1 : (S//S) ; II2 : (A//A)]

Documents fournis

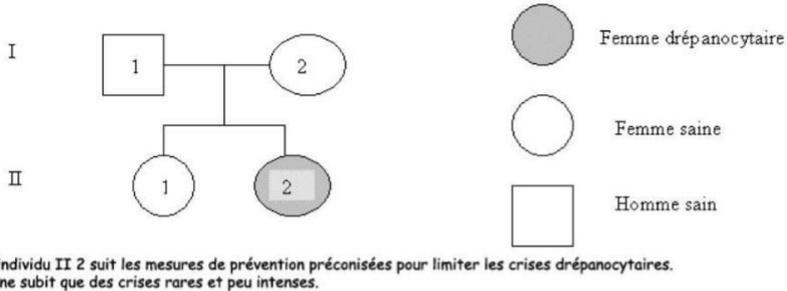
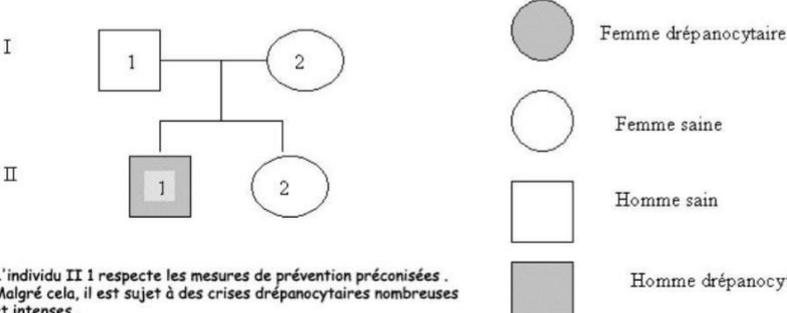
Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype drépanocytaire permet d'accéder aux fichiers :**

- autresalleles.bmp : texte présentant le polymorphisme du gène de la bêta globine, et présentant notamment les allèles HBC et THA2 ;
- hbfoetale.bmp : **texte présentant des résultats de mesures de taux d'hémoglobine fœtale chez des patients drépanocytaires, et permettant de mettre en évidence une atténuation très nette des symptômes drépanocytaires chez les malades produisant beaucoup d'hémoglobine fœtale.**

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes drépanocytaires permet d'accéder à :**

- **Dominance et récessivité (Famille 1)** pour charger le fichier arbrefamille1-Drep.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 1 ;
- **Influence de l'hémoglobine fœtale (Famille 2)** pour charger le fichier arbrefamille2-Drep.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 2.

La comparaison des allèles du gène bêta de chaque membre de la famille avec les allèles de référence permet de déterminer le génotype de chacun :

<p style="text-align: center;">Famille 1</p> 	<p>I1 et I2 : (HbS//HbA)</p> <p>II1 : (HbS//HbA)</p> <p>II2 : (HbS//HbS)</p>
<p style="text-align: center;">Famille 2</p> 	<p>I1 et I2 : (HbS//HbA)</p> <p>II1 : (HbS//HbS)</p> <p>II2 : (HbA//HbA)</p>

Les indications fournies sur les arbres mentionnent que les individus malades des deux familles vivent dans les mêmes conditions et respectent les mêmes mesures de prévention.

La prise en compte des informations apportées par le document concernant l'hémoglobine fœtale permet de conclure à l'influence de l'expression d'autres gènes sur le

phénotype drépanocytaire. Les individus de génotype HbS//HbS capables de produire encore beaucoup d'hémoglobine fœtale sont
beaucoup moins malades que les autres.



Plusieurs génotypes pour un même phénotype

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes drépanocytaires/Drépanocytoses** aboutit à :

- **Références gène bêta globine** pour accéder à **Allèles gène globine bêta** qui charge le fichier allref-glob-beta.edi affichant les allèles de référence ;
- **Dominance et récessivité (Famille 1)** pour accéder à **Allèles famille1** qui charge le fichier allFam1drep.edi affichant des séquences strictement codantes des allèles du gène de la bêta globine chez les individus de la famille 1 ;
- **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 3)** pour accéder à **Allèles famille3** qui charge le fichier allFam3drep.edi affichant des séquences strictement codantes des allèles du gène de la bêta globine chez les individus de la famille 3 ;
- **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 4)** pour accéder à **Allèles famille4** qui charge le fichier allFam4drep.edi affichant des séquences strictement codantes des allèles du gène de la bêta globine chez les individus de la famille 4.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype drépanocytaire permet d'accéder au fichier autresalleles.bmp** qui affiche un texte présentant le polymorphisme du gène de la bêta globine, et notamment les allèles HbC et THA2.

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes drépanocytaires** aboutit à :

- **Dominance et récessivité (Famille 1)** pour charger le fichier arbrefamille1-Drep.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 1 ;
- **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 3)** pour charger le fichier arbrefamille3-Drep.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 3 ;
- **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 4)** pour charger le fichier arbrefamille4-Drep.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 4.

La comparaison des allèles du gène bêta de chaque membre de la famille avec les allèles de référence permet de déterminer le génotype de chacun des membres de chaque famille :

<p style="text-align: center;">Famille 3</p>	<p>I1 : (HbA//HbS) I2 : (HbA//HbC) II1 et II2 : (HbS//HbC)</p>
<p style="text-align: center;">Famille 4</p>	<p>I1 : (A//Tha2) I2 : (A//S) II1 et II2 : (S//Tha2)</p>

Les individus II2 de la famille 1, II 1 et 2 des familles 3 et 4 ont le même phénotype clinique : ils sont tous atteints de drépanocytose. Pourtant, leurs génotypes diffèrent.

Les phénotypes phénylcétonuriques

Informations scientifiques

Les caractéristiques d'un phénotype phénylcétonurique – Phénotypes clinique et biochimique

La phénylcétonurie est toujours caractérisée par une augmentation de la concentration plasmatique en phénylalanine (hyperphénylalaninémie).

Le test de Guthrie permet de dépister une hyperphénylalaninémie à la naissance. Ce test consiste à déposer un papier-**filtre imbibé d'une goutte de sang du nourrisson sur une culture de *Bacillus*** dont la croissance est inhibée par manque de phénylalanine ; **selon l'intensité de la croissance bactérienne, on estimera s'il y a hyperphénylalaninémie, qui sera alors confirmée par dosage sanguin.**

La phénylalanine est un acide aminé indispensable apporté par l'alimentation, et les besoins quotidiens sont de 200 à 500 mg. Sa concentration physiologique moyenne est de l'ordre de 60

$\mu\text{moles/l}$ de plasma. Avec une alimentation courante, environ un quart de la phénylalanine est **incorporée dans les protéines et le reste est métabolisé par les cellules hépatiques : sous l'action d'une** enzyme hépatique, la PAH (phénylalanine hydroxylase), il est métabolisé en tyrosine, adrénaline et mélanine.

L'excès de phénylalanine étant toxique, son accumulation dans le plasma et dans le milieu

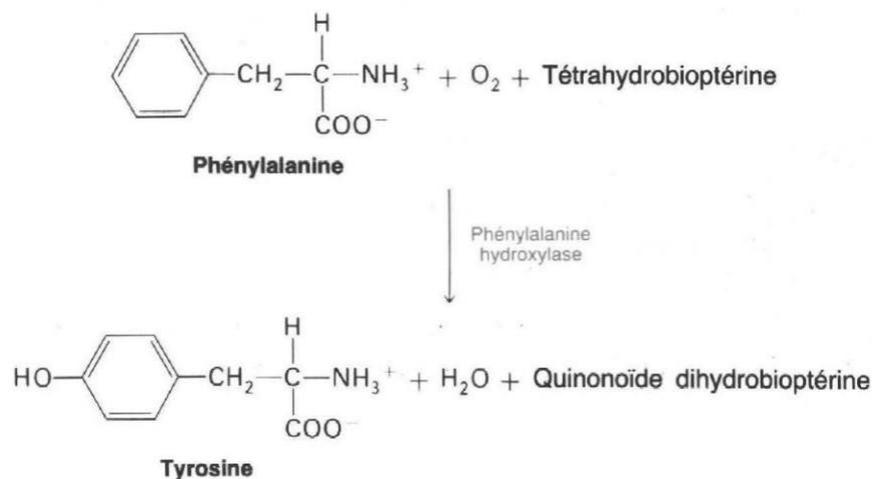
intracérébral entraîne une arriération psychique et des troubles caractériels, le retard mental étant très

sévère si le malade n'est pas pris en charge dès la naissance. Le poids du cerveau des individus

phénylcétonuriques est au -dessous de la normale et la myélinisation des fibres nerveuses est **défectueuse. L'espérance de vie des malades non traités est considérablement raccourcie : mortalité de**

50 % avant 20 ans et de 75 % avant 30 ans.

Le métabolisme de la phénylalanine



On parle d'hyperphénylalaninémie lorsque la concentration plasmatique en phénylalanine est supérieure à 120 $\mu\text{moles/l}$ de plasma, mais les hyperphénylalaninémies entraînant un phénotype phénylcétonurique sont supérieures à 1 000 $\mu\text{moles/l}$ de plasma.

En cas d'hyperphénylalaninémie supérieure à 1 000 $\mu\text{moles/l}$ de plasma, une voie parallèle d'élimination urinaire se crée : la phénylalanine est alors décarboxylée et éliminée sous forme d'acide phénylpyruvique.

Les phénotypes moléculaires : l'enzyme PAH

La PAH comprend une partie protéique codée par le gène de la PAH et un cofacteur indispensable à la **réaction d'hydroxylation : la tétrahydrobioptérine (ou BH₄).**

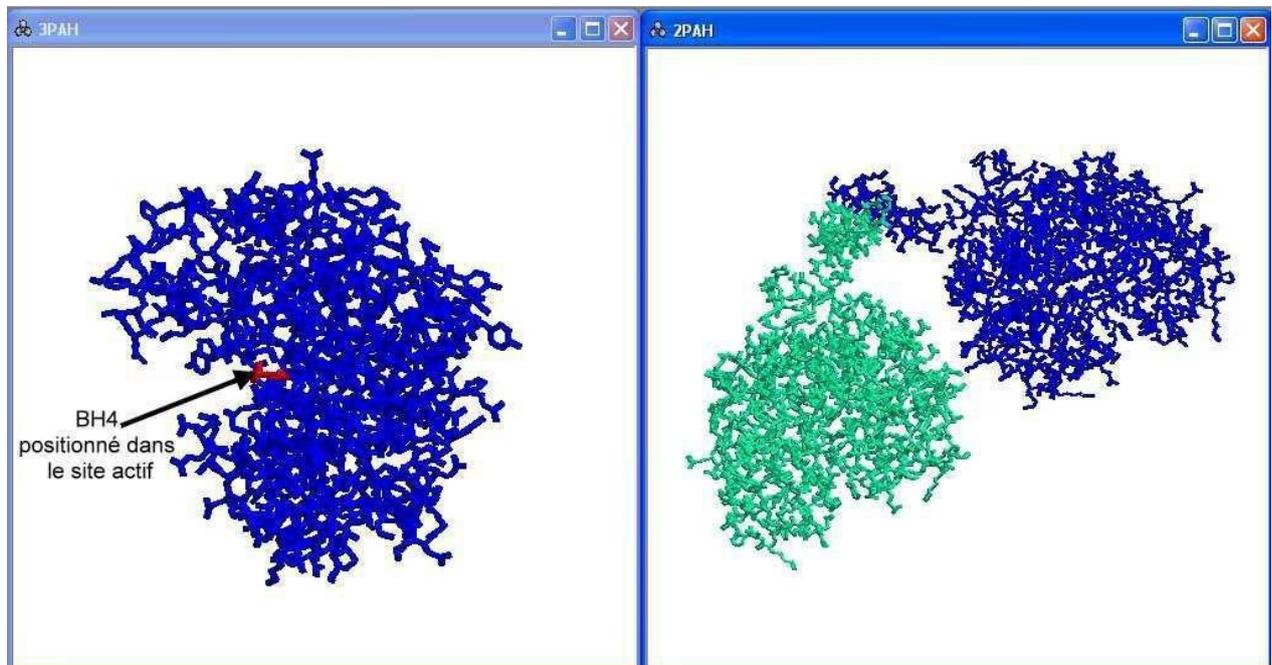
La partie protéique de la PAH

La PAH est une protéine tétramérique.

Le site catalytique met en jeu un atome de fer, trois molécules d'eau et trois résidus : Glu 330, His290 et His285. Ce site catalytique peut être repéré par des modèles montrant l'enzyme associée au cofacteur

BH4.

Le document ci-dessous présente un monomère de la PAH et un dimère dans lequel les deux **monomères sont associés par l'intermédiaire des hélices α du bout terminal.**



Monomère de la PAH

Dimère de la PAH

Le cofacteur BH4

Le BH4 est synthétisé de novo à partir de guanosine triphosphate (GTP) au cours de quatre réactions enzymatiques catalysées par trois enzymes différentes : GTPCK, PTPS et SR. Il est également recyclé et sa régénération se fait en deux étapes catalysées par les enzymes PCD et DHPR.

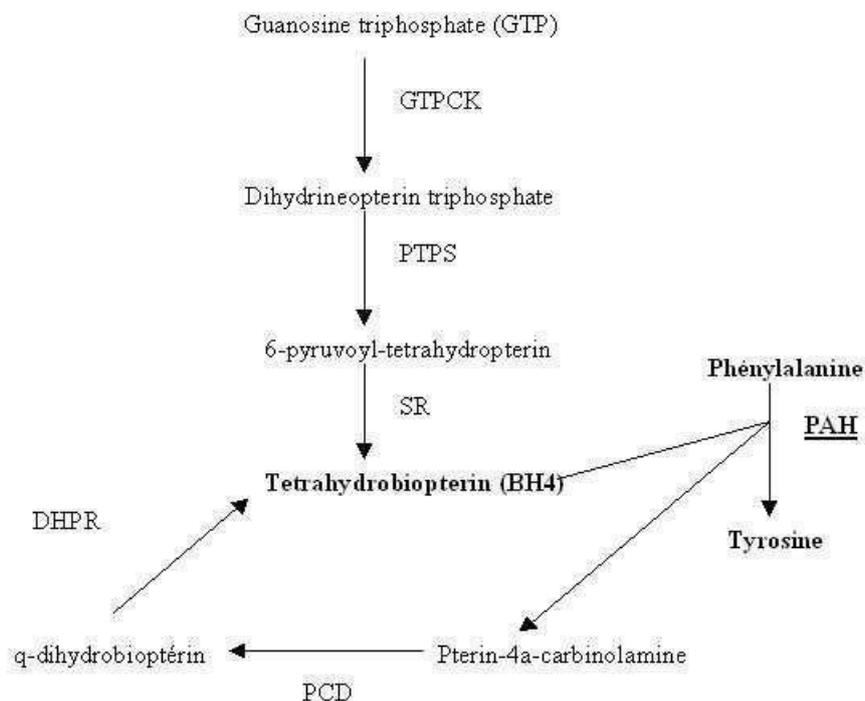


Schéma de la synthèse du BH4

Déterminisme génétique des phénylcétonuries

Les phénotypes phénylcétonuriques peuvent être dus à des mutations dans différents gènes et donc avoir des origines variées.

Implication du gène de la PAH

Le gène codant pour l'enzyme PAH est très polymorphe. Bien que l'on connaisse plusieurs allèles codant pour une PAH fonctionnelle, la plupart des allèles **codent pour une enzyme dont l'activité est**

plus ou moins réduite, voire nulle. Tous ces allèles codant pour une PAH de moindre activité sont récessifs, et la phénylcétonurie ne peut donc apparaître que chez des individus homozygotes.

La comparaison des allèles mutés, de la localisation des mutations et des effets au niveau clinique (voir tableau dans la partie pédagogique) permet de tirer les conclusions suivantes :

- toutes les mutations touchant des acides aminés du site actif entraînent généralement une hyperphénylalaninémie forte ;
- les mutations faux-sens touchant des domaines autres que le site actif ont des conséquences **phénotypiques variables selon la position de l'acide aminé modifié ; les mutations touchant les** acides aminés de la **surface de l'enzyme sont les moins sévères ;**
- **il est possible d'estimer l'activité de la PAH selon les allèles présents chez les individus homozygotes et hétérozygotes. D'un point de vue clinique, lorsque l'activité est inférieure ou** égale à 5 % la phénylcétonurie est sévère ; au-delà de 15 %, la maladie est très atténuée.

	ALLÈLE 1				
ALLÈLE 2	PheMut243	PheMut280	PheMut158	PheMut261	PheMut414
PheMut243	0	1,5	5	15	25
PheMut280	1,5	3	6,5	16,5	26,5
PheMut158	5	6,5	10	20	30
PheMut261	15	16,5	20	30	40
PheMut414	25	26,5	30	40	50

% d'activité de la PAH en fonction du génotype

Implication d'autres gènes

Gènes codant pour des enzymes impliquées dans les réactions de synthèse/recyclage du BH4

Le BH4 étant en quantité limitée dans la cellule, il doit être sans cesse produit et régénéré. Une **mutation dans l'un des gènes codant pour une enzyme indispensable à l'une des réactions nécessaires**

peut donc entraîner un phénotype phénylcétonurique.

On connaît ainsi plusieurs allèles du gène de la DHPR impliqués dans un phénotype phénylcétonurique :

Noms des allèles	Type de mutation	Séquence nucléique		Polypeptide	Hyperphénylalaninémie de l'homozygote
		Nucléotides changés	Codons changés	Acides aminés changés	
DHPRRef		référence	référence	référence	Non
DHPRMut97	délétion non décalante	CC290	TCC97TAA	Ser97Stop	Forte

DHPRMut10 8	mutation faux-sens	T322G	TGG108GGG	Trp108Gly	Forte
DHPRMut12 4	insertion non décalante		ACT366-367- 368	124Thr	Forte

Autres gènes

Des observations cliniques ont prouvé que des personnes pouvaient avoir des phénotypes

phénylcétonuriques nettement différents alors qu'ils avaient le même génotype pour le gène de la PAH et pour les gènes en relation avec le métabolisme du BH4.

Parmi les gènes en cause encore non identifiés se trouvent probablement ceux qui codent pour des protéines assurant le transport des acides aminés à travers la paroi des capillaires sanguins. Des

données récentes montrent que pour une même concentration plasmatique en phénylalanine, il peut y avoir des concentrations très variables au sein du tissu cérébral.

Diagnose différentielle des hyperphénylalaninémies

Un test permet de déterminer l'origine d'une hyperphénylalaninémie. Ce test consiste à faire ingérer

des tablettes de phénylalanine à raison de 100 mg/kg, et trois heures plus tard de la BH4 dissoute **dans un jus d'orange ou de l'eau. Des analyses sanguines sont réalisées avant l'ingestion de**

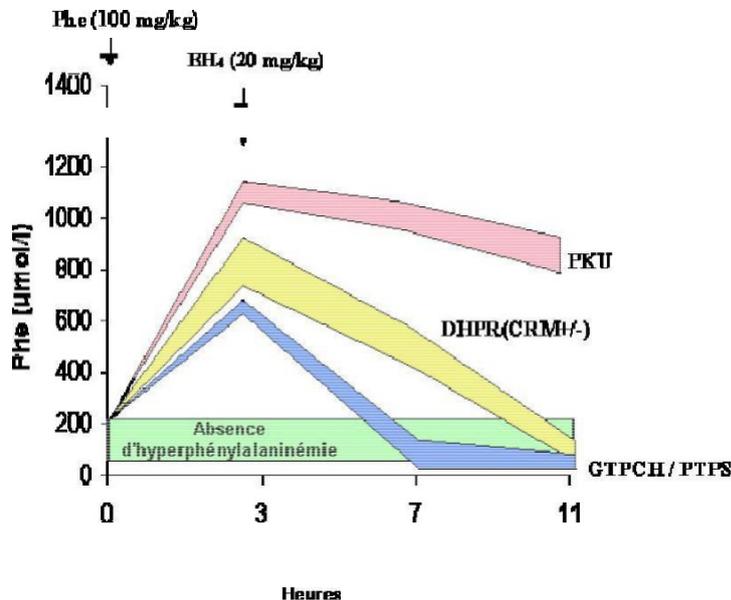
phénylalanine, puis au bout de trois heures, sept heures et onze heures.

L'hyperphénylalaninémie est nette au bout de trois heures ;

l'hyperphénylalaninémie modérée au départ s'explique par le fait que les patients suivaient un régime alimentaire depuis leur naissance, le test de Guthrie ayant permis de dépister précocement leur maladie.

En cas de PAH non fonctionnelle, la prise de BH4 n'a aucun effet. En cas de BH4 non recyclé, la prise de BH4 est suivie d'un retour à une phénylalaninémie physiologique normale.

On peut ainsi déterminer si l'hyperphénylalaninémie est due à une mutation touchant le gène de la PAH ou à une mutation touchant l'un des gènes impliqués dans la synthèse ou le recyclage du BH4.



PKU : cas d'un individu pour

lequel le phénotype phénylcétonurique est dû à une anomalie de fonctionnement de la PAH ;

DHPR et GTPCH/PTPS : cas d'individus pour lesquels le

phénotype phénylcétonurique est dû à une anomalie de recyclage (pour le DHPR) ou de synthèse (pour le GTPCH/PTPS) du BH4 (voir le schéma de la synthèse).

Des informations complémentaires et des animations grâce au logiciel *Chime* sont disponibles sur le **site de l'INRP à l'adresse <http://www.inrp.fr/Access/biotic/> et sur le site du BH4.**

Interactions avec l'environnement

Si une hyperphénylcétonurie est détectée (concentration en phénylalanine supérieure à 20 mg/dl), un régime alimentaire très strict est mis en place. Ce régime permettra de maintenir le taux de phénylalanine dans le sang à une valeur inférieure au seuil de toxicité.

Régime alimentaire préconisé pour les individus phénylcétonuriques :

- **interdiction de consommer : viandes, laitages, poissons, œufs, céréales ;**
possibilité de consommer des fruits et légumes, mais de façon contrôlée ;
- **consommation libre d'hydrates de carbones (sucre et amidon), d'huiles et de margarines sans**
protéines ;
- utilisation de produits diététiques spéciaux pour équilibrer le régime, notamment de produits **apportant un mélange d'acides aminés essentiels.**

Ce régime devra être poursuivi toute la vie, toute interruption ayant des effets délétères sur les performances intellectuelles des patients.

Les contrôles sanguins du taux de phénylalanine doivent être fréquents de manière à adapter le régime en fonction de changements éventuels.

Pistes d'exploitation pédagogique des données fournies

L'analyse des phénotypes phénylcétonuriques à l'aide des données fournies présente plusieurs intérêts pédagogiques :

- le gène de la PAH est très polymorphe et les enzymes codées par les différents allèles ont des activités différentes, rendant ainsi compte de la diversité des phénotypes phénylcétonuriques, et permettant de discuter des conséquences des mutations sur le phénotype à différents niveaux (moléculaires, biochimique, clinique) ;
l'enzyme PAH n'a une activité catalytique qu'en présence d'un cofacteur (BH4) dont la synthèse et le recyclage nécessitent l'intervention de plusieurs autres enzymes, codées chacune par un gène. On illustre donc bien ici la complexité des relations génotype/phénotype, plusieurs gènes **intervenant dans la réalisation d'un même phénotype ;**
- les troubles de la maladie peuvent être supprimés par un régime alimentaire strict et précoce. Là encore la complexité des relations génotype/phénotype est illustrée, un facteur de **l'environnement pouvant modifier le phénotype clinique.**



La diversité des phénotypes et les relations génotype/phénotype (chez les homozygotes)

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype phénylcétonurique permet grâce au développement de l'arborescence Phénylcétonurie** d'accéder à :

- **Allèles PAH** qui charge le fichier choixAdnPAH.edi affichant des séquences nucléiques strictement codantes des allèles PheNorm, PheMut39, PheMut55, PheMut95, PheMut111, PheMut222 et PheMut245 ;

- **Protéines PAH** qui charge le fichier choixProtPAH.edi affichant les séquences protéiques des enzymes PAH Norm (activité normale), PheMut39, PheMut55, PheMut95, PheMut111, PheMut222 et PheMut245 (activité réduite) ;

Le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes phénylcétonuriques permet grâce au développement de l'arborescence Phénylcétonuries PAH-DHPR** d'accéder à :

- **Références gène PAH/Nucléiques et protéiques/Références PAH ADN** pour charger le fichier RefPAH-ADN.edi affichant des séquences strictement codantes de trois allèles de la PAH (allèle PheNorm codant pour une enzyme PAH fonctionnelle ; allèles Mut95 et Mut111 codant pour des enzymes PAH non fonctionnelles). Ces allèles ont été choisis car ce sont ceux qui sont présents dans les familles étudiées ;

- **Polymorphisme PAH/Allèles PAH** pour charger le fichier PolyPAH.edi affichant les séquences strictement codantes de **31 allèles du gène PAH ; l'allèle PheNorm code pour une enzyme PAH fonctionnelle ;** tous les autres allèles codent pour une enzyme PAH non fonctionnelle, et le numéro présent dans leur nom indique la position du codon muté.

Documents fournis

Dans la banque des documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype phénylcétonurique permet d'accéder aux fichiers :**

- reactionPAH.jpg : réaction de transformation de la phénylalanine en tyrosine catalysée par la PAH ;

- phenylcetonurie.bmp : texte de présentation du phénotype phénylcétonurique à différentes échelles ;

- **monomerePAH.jpg : image obtenue à l'aide du logiciel RasTop,** présentant un monomère de la PAH et localisant le site actif la position du cofacteur BH4 ;

- effetMutPAH.bmp : tableau présentant le phénotype clinique des individus mutants homozygotes.

Fichiers des molécules en 3D

Dans le dossier 3D sous **Anagene2**, le répertoire **Phenylcetonurie** contient les fichiers .pdb suivants :

Dimere4PAH.pdb et Monomere2PAH.pdb.

Les documents phenylcetonurie.bmp, reactionPAH.jpg et monomerePAH.jpg présentent le phénotype phénylcétonurique et permettent de le définir à différentes échelles : ·
phénotype clinique : symptômes de la maladie ;

- phénotype biochimique : concentration plasmatique en phénylalanine ;
- phénotype moléculaire : enzyme PAH.

La comparaison des séquences (protPAH.edi) des différentes protéines PAH rencontrées chez des individus atteints (enzymes non fonctionnelles) avec la protéine enzymatique de référence PheNorm (enzyme fonctionnelle) et la mise en relation avec les phénotypes cliniques correspondants

(effetmutPAH.bmp) permettent de discuter des relations entre phénotype moléculaire et phénotype clinique. Les différences peuvent être relevées dans un tableau, où **l'on précisera aussi le type de** mutation (substitution, délétion, addition) et le phénotype clinique correspondant.

Le tableau ci-dessous donne les caractéristiques des allèles présents dans la banque de données fournie, des protéines correspondantes et précise les phénotypes cliniques des homozygotes :

Noms des allèles	Séquence nucléique		Polypeptide	Type de mutation	Hyper-phénylalaninémie de l'homozygote
	Nucléotides changés Nature - position	Codons changés Nature - position	Acides aminés changés Nature -		
PHENORM	Référence	Référence	Référence	Référence	Non
PHEmut39	T115C	TTC39CTC	Phe39Leu	Substitution faux-sens	Modérée
PHEmut55	-T165	TTT55... TAA 60	codon stop 60	Délétion décalante	Forte
PHEmut95	-ATC283,284,285	-95ATC	-95Ile	Délétion non décalante	Légère
PHEmut104	C311A	GCC104GAC	Ala104Asp	Substitution faux-sens	Légère
PHEmut111	C331T	CGA111TGA	Arg111-	Substitution non-sens	Forte
PHEmut158	G473A	CGG158CAG	Arg158Gln	Substitution faux-sens	Modérée
PHEmut174	T520C	ATC174ACC	Ile174Thr	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut176	C526T	CGA176TGA	codon stop 176	Substitution non-sens	Forte
PHEmut187	G561A	TGG187TGA	codon stop 187	Substitution non-sens	Forte
PHEmut194	T581C	CTG194CCG	Leu194Pro	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut222	-GA663,664	GAT222TAA	Asp222-	Délétion décalante	Forte
PHEmut232	A696G	CAA232CAG	Gln232Gln	Substitution neutre	Non
Phemut241	G722A	CGC241CAC		Substitution faux-sens	Légère
PHEmut243	C727T	CGA243TGA	Arg243-	Substitution non-sens	Forte
PHEmut245	G735A	GTG245GTA	Val245Val	Substitution neutre	Non
PHEmut261	G782A	CGA261CAA	Arg261Gln	Substitution faux-sens	Légère
PHEmut272	G814T	GGA272TGA	Gly272-	Substitution non-sens	Forte
PHEmut277	T829G	TAT277GAT	Tyr277Asp	Substitution faux-sens	Légère
PHEmut280	G838A	GAA280AAA	Glu280Lys	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut281	C842T	CCT281CTT	Pro281Leu	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut282	G844A et C846A	GAC282AAA	Asp282Lys	2 substitutions faux-sens	Forte
PHEmut285	C853T	CAT285TAT	His285Tyr	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut299	T896G	TTT299TGT	Phe299Cys	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut331	T991C	TTT331CTT	Phe331Leu	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut346	-G1038	GGG346GGC etc...	Leu347Ser etc...	Délétion décalante	Forte
PHEmut349	T1045C	TCA349CCA	Ser349Pro	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut365	-CTC1093,1094,1095	-365CTC	-365Leu	Délétion non décalante	Forte

PHEmut408a	G1223A	CGG408CAG	Arg408Gln	Substitution faux-sens	Légère
------------	--------	-----------	-----------	---------------------------	--------

PHEmut408b	C1222T	CGG408TGG	Arg408Trp	Substitution faux-sens	Forte
PHEmut414	A1241G	TAC414TGC	Tyr414Cys	Substitution faux-sens	Légère

Les connaissances sur les protéines enzymatiques seront mobilisées pour expliquer les observations. **La localisation des mutations sur un monomère de PAH à l'aide du logiciel RasTop** complète très bien

cette activité ; on peut en effet alors distinguer les mutations touchant le site actif des autres mutations **et discuter de l'effet** de la position des mutations.

On montrera ainsi que les phénotypes alternatifs sont dus à des différences dans les protéines **concernées, et qu'il existe plusieurs génotypes possibles pour un même phénotype clinique.**

La mise en relation des différences observées au niveau des quelques allèles sélectionnés ici (Allèles

PAH et Protéines PAH) avec les différences observées au niveau protéique permet de discuter de **l'effet des mutations.**

Remarque pratique : bien que les délétions et additions soient plus facilement repérables en utilisant

un alignement avec discontinuités, la mise en relation des différences observées entre les allèles avec **celles observées entre les polypeptides est facilitée si l'on demande des comparaisons simples dans les deux cas.** Ainsi, dans le document ci-dessous, on met facilement en relation pour l'allèle PheMut55 la présence d'un codon stop précoce avec une chaîne polypeptidique plus courte, en relation avec la délétion du nucléotide T en position 165 :

	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200																								
Traitement	◀ ▶																																	
PheNorm	CATATCACTGATCTTCTCACTCAAGAAGAAGTTGGTGCATTGGCCAAAGTATTGCGCTTATTTGAGGAGAAATGATGTAACCTGACCCACATTGAATCTAG																																	
PheMut39	-----C-----																																	
PheMut55	-----GAG-AGA-TGATGTA-C-TGAC--ACAT-GA-TCTAGA																																	
PheMut95	-----																																	
PheMut111	-----																																	
PheMut222	-----																																	
PheMut245	-----																																	
Traitement	◀ ▶																																	
Pro-PheNorm	A	I	S	L	I	F	S	L	K	E	E	V	G	A	L	A	K	V	L	R	L	F	E	E	N	D	V	N	L	T	H	I	E	S
Pro-PheMut39	-	-	-	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro-PheMut55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro-PheMut95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro-PheMut111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro-PheMut222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pro-PheMut245	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ces sept séquences ont été retenues car elles illustrent la diversité des mutations et de leurs conséquences (voir tableau précédent), mais il est tout à fait possible de faire travailler les élèves sur les autres allèles : il suffit alors de sélectionner les allèles parmi

ceux qui sont proposés **(polyPAH.edi) et d'en demander la traduction.**

Conclusion

Des mutations variées sont à l'origine du polymorphisme du gène de la PAH.

Les conséquences de ces mutations sur le phénotype moléculaire sont variables :

- **apparition précoce d'un codon stop (mutation non-sens ou mutation décalante),** donc chaîne polypeptidique plus courte et non fonctionnelle - PheMut55, 111, 176, 187, 222, 243, 272, 346 ;
- **modification importante de la séquence d'acides aminés (délétion d'un ou plusieurs nucléotides) -** PheMut95 et 365 ;
- **modification ponctuelle de la séquence d'acides aminés (mutation faux-sens) -** PheMut39, 158, 194, 241, 261, 277, 280, 281, 282, 285, 299, 331 ;
- **aucune modification de la séquence d'acides aminés (mutation neutre) -** PheMut232.

Les conséquences des modifications de la séquence d'acides aminés sont variables selon la position des acides aminés modifiés (on ne peut aboutir à cette conclusion

que si l'on a complété l'étude sur les séquences par la localisation des mutations **sur la molécule en 3D à l'aide d'un logiciel de visualisation**

moléculaire comme *RasTop* ou *Chime*). Si les acides aminés modifiés sont au niveau du site actif de

l'enzyme ou participent à sa structure tertiaire, l'enzyme sera inactive ou très peu active. Si le **polypeptide est beaucoup plus court que la normale, l'enzyme ne pourra pas prendre sa conformation**

spatiale

et

sera

inactive.

La comparaison des allèles de chaque individu avec les allèles de référence de la PAH fournis permet de déterminer le génotype de **chacun des membres de la famille : le génotype de Didier, d'Annie et de Marc** est PheNorm//PheMut95, celui de Stéphane est PheMut95//PheMut95, et celui de Sylvie est PheNorm//PheNorm.

La mise en relation du génotype et du phénotype pour les individus hétérozygotes permet ensuite de discuter des relations de dominance/récessivité (ces relations ne peuvent se définir qu'à **l'échelle du phénotype clinique et non à l'échelle moléculaire ; en effet, les deux allèles s'expriment dans la** cellule).

La comparaison des allèles du gène PAH de chaque individu avec les allèles de référence de la PAH permet de déterminer le génotype de chacun : le génotype de Raymond, Alain et Georgette est PheMut95//PheMut95 ; celui de Suzette, Aline et Pierre est PheNorm//PheMut95.

Si l'on s'en tenait au fait que le phénotype phénylcétonurique ne dépende que du seul gène de la PAH, et que l'allèle PheMut95 est récessif par rapport à PheNorm, il y a une incohérence pour Suzette

; possédant un allèle PheNorm, elle ne devrait pas être malade. Il faut donc imaginer que le phénotype phénylcétonurique ne dépend pas que du gène de la PAH.

Des renseignements complémentaires sont alors fournis concernant le fonctionnement de la PAH

(BH4.bmp) : nécessité d'un cofacteur, le BH4, qui doit être en permanence recyclé et synthétisé. Cette synthèse/recyclage du BH4 nécessite plusieurs réactions chimiques catalysées chacune par une enzyme différente, codée chacune par un gène différent. Il peut donc y avoir plusieurs origines à la non-transformation de la phénylalanine en tyrosine : inactivité de l'enzyme PAH, mais aussi manque de cofacteur BH4 par déficience d'une des enzymes nécessaires à sa synthèse.

Un travail peut être effectué sur les allèles du gène DHPR et les protéines correspondantes pour discuter, comme il a été fait pour la PAH, des relations entre génotype/phénotype

moléculaire/phénotype clinique. Les mutations présentes dans les allèles entraînent des modifications **de la séquence d'acides aminés de la protéine DHPR, responsables de l'inactivité de l'enzyme et d'un phénotype phénylcétonurique.**

	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370
Traitement										
DHPRNorm.adn	CAATGCCAAATCCAAGTCTCTCTTTAAGAAGCTGTGACCTGATGTGGGAAGCAGAGCATATGGACATCGACCATCTCCAGCCATCTGGCTACCAAGCATCTCAA									
DHPRMut1.adn	-----A-GTCTCTCT--A-GA-CTGTGAC-TGATGTG-A-GCAGAGCATATG-ACATCGAC-ATCTC-AGC-ATCTG-CTAC-A-GCATCTCA-G									
DHPRMut2.adn	-----G-----									
DHPRMut3.adn	-----T-CCA-G-ATCT									
Traitement										
Pro-DHPRNorm.adn	G N A K S K S L F R N C D L M W K Q S I W T S T I S S H L A T K H L									
Pro-DHPRMut1.adn	- - - - S L S L R T U T									
Pro-DHPRMut2.adn	- - - - - G - - - - -									
Pro-DHPRMut3.adn	- - - - - - - - - - - T K H									

Résultats de comparaisons simples entre les allèles de la DHPR d'une part et entre les protéines DHPR correspondantes d'autre part

Comparaison avec alignement		360	370
Traitement			
Identités	*****		****
DHPRNorm.adn	CCAGCCATCTGGCTAC		CAAC
DHPRMut3.adn	-----TAC		

Résultat d'un alignement avec discontinuité entre les allèles DHPRNorm et DHPRMut 3

L'allèle DHPRMut1 diffère de l'allèle DHPRNorm par une délétion d'un nucléotide C en position 291, ce qui se traduit par l'apparition d'un codon stop précoce et une protéine plus courte, non fonctionnelle.

L'allèle DHPRMut2 diffère de l'allèle DHPRNorm par une substitution d'un seul nucléotide en position 322 (T G). Cela se traduit par le changement d'un acide aminé dans la séquence de l'enzyme, ce qui suffit à la rendre non fonctionnelle.

L'allèle DHPRMut3 diffère de l'allèle DHPRNorm par l'addition d'un triplet TAC, ce qui se traduit par l'addition d'un acide aminé dans la séquence de l'enzyme, ce qui suffit à la rendre non fonctionnelle.

La comparaison des allèles du gène DHPR des membres de la famille 2 avec les allèles de référence de ce gène (« allfam2DHPR.edi »-« refDHPR.edi ») permet de déterminer le génotype de chacun pour ce

gène : le génotype de Raymond, Aline, Georgette et Pierre est DHPRNorm//DHPRMut1 ; celui **d'Alain et de Suzette est DHPRMut1//DHPRMut1.**

Une discussion sur le phénotype d'Aline par exemple permet de déterminer les relations de dominance/récessivité entre ces deux allèles. L'étude du génotype de Suzette permet d'expliquer l'incohérence constatée auparavant : Suzette présente un phénotype phénylcétonurique alors qu'elle

possède un allèle PAH normal, car elle est homozygote DHPRMut1//DHPRMut1, et ne peut donc

synthétiser une enzyme DHPR fonctionnelle. Le recyclage du BH4 ne peut donc se faire et, par conséquent, la cellule manque très rapidement de BH4, donc **l'enzyme PAH ne peut remplir son rôle** correctement.

Étude de la famille 3

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes phénylcétonuriques** permet grâce au développement de l'arborescence **Phénylcétonuries PAH-DHPR** d'accéder à :

- **Références PAH ADN** qui charge le fichier RefPAH-ADN.edi affichant des séquences strictement codantes de trois allèles de la PAH (allèle PheNorm codant pour une enzyme PAH fonctionnelle ; allèles Mut95 et Mut111 codant pour des enzymes PAH non fonctionnelles). Ces allèles ont été choisis car ce sont ceux qui sont présents dans les familles étudiées ;
- **Génotypes famille3 PAH** qui charge le fichier AllFam3PAH.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène de la PAH des individus 7, 8 et 10 de la famille 3. Le génotype de chacun de ces individus est PheMut111/PheMut111.

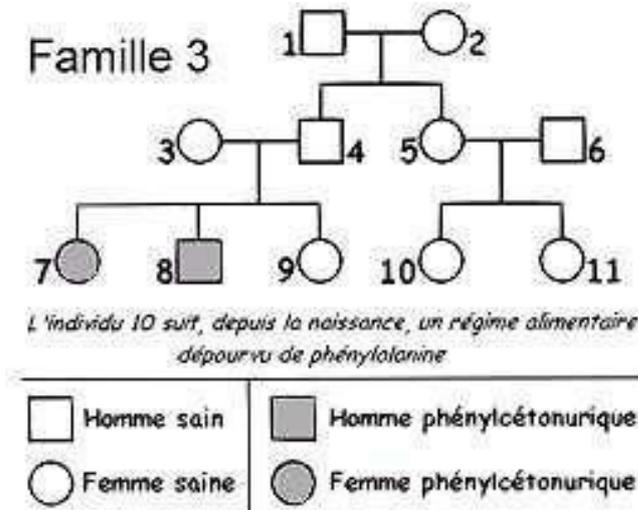
Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes phénylcétonuriques** permet d'accéder par **Influence de l'environnement**

(Famille 3) aux fichiers :

- **Fam3Phenyl.bmp** qui présente l'arbre généalogique de la famille 1, avec indication des phénotypes. Dans cette famille, trois individus malades ont le même génotype PheMut111//PheMut111, mais l'un d'entre eux n'est pas malade car il suit un régime alimentaire particulier depuis sa naissance ;
- **regime.bmp** qui affiche un texte présentant le traitement de la phénylcétonurie par un régime alimentaire strict.

L'étude de cette famille permet de découvrir un autre aspect de la complexité des relations génotype/phénotype : l'intervention d'un facteur de l'environnement sur le phénotype.



La comparaison des allèles du gène PAH des individus 7, 8 et 10 avec les allèles de référence permet de déterminer le génotype de ces individus : ils sont tous PheMut111//PheMut111.

Un problème se pose alors car ces trois individus n'ont pas le même phénotype : deux d'entre eux sont malades, mais pas le troisième.

L'arbre généalogique fournit une information complémentaire concernant leur régime alimentaire.

L'hypothèse de l'influence de ce régime sur le phénotype peut être confirmée par des renseignements

complémentaires concernant ce régime (cf. fichier regime.bmp).

Les phénotypes groupes sanguins

Informations scientifiques

La découverte des groupes sanguins

C'est **Richard Lower**, médecin britannique, qui effectua le premier, en 1665, des transfusions **sanguines d'animal à animal**. Mais le premier à transfuser avec succès du sang d'animal, un agneau, à un jeune garçon anémique de 16 ans, deux ans plus tard, fut **Jean-Baptiste Denis**.

Cependant, les incidents se multiplièrent, et, si la transfusion réussissait parfois, elle ne faisait souvent **que précipiter le décès (l'agglutination des hématies du donneur suivie d'une lyse de ces hématies entraînait des troubles métaboliques importants, la destruction des reins...)**. Bientôt, les transfusions sanguines furent interdites et n'allaient être reprises que vers la fin du siècle dernier.

Lorsque **Karl Landsteiner** (1868-1943) commença ses recherches **comme assistant à l'Université viennoise de l'hygiène, il se proposa de surmonter ces difficultés. Il avait constaté que, lorsque l'on**

mélangeait du sang de plusieurs personnes, on observait parfois une agglutination des hématies et

parfois non. Il rassembla alors des échantillons de sang de ses collègues et les mélangea deux par deux. **C'est ainsi qu'il découvrit l'existence des groupes sanguins, qu'il nomma A, B et O, et il fit**

connaître les résultats de ses recherches en 1900. Le quatrième groupe sanguin (AB) ne fut découvert **que l'année suivante. Cette découverte permit d'établir une méthode de transfusion sanguine sûre.**

En reconnaissance pour ses travaux, Landsteiner fut nommé professeur de pathologie à l'Université de Vienne, mais il ne s'y plut pas, et partit pour les Pays-Bas puis pour l'Institut Rockefeller de New

York. Il découvrit plus tard les groupes sanguins M et N, ainsi que le facteur rhésus, en collaboration avec Philip Levine. Landsteiner reçut le prix Nobel de médecine en 1930.

Les marqueurs des groupes sanguins principaux

Les marqueurs des groupes sanguins principaux sont des glycolipides présents dans la membrane des hématies. Il existe deux types de marqueurs : des marqueurs de type A et des marqueurs de type B.

Ces marqueurs déterminent les groupes sanguins

principaux :

- présence de marqueurs A seulement :

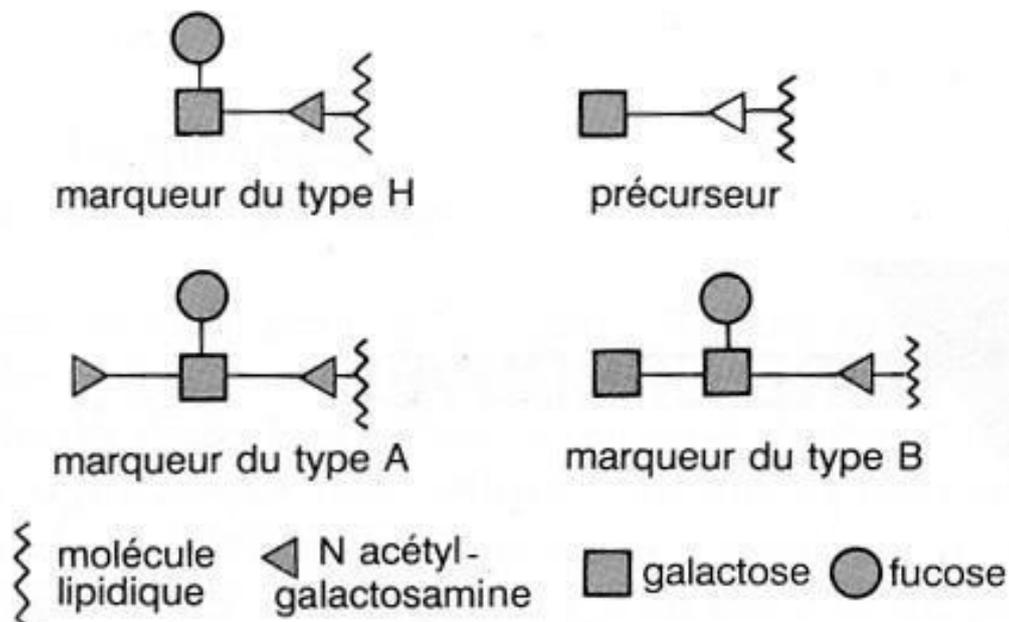
groupe sanguin A ;

- présence de marqueurs B

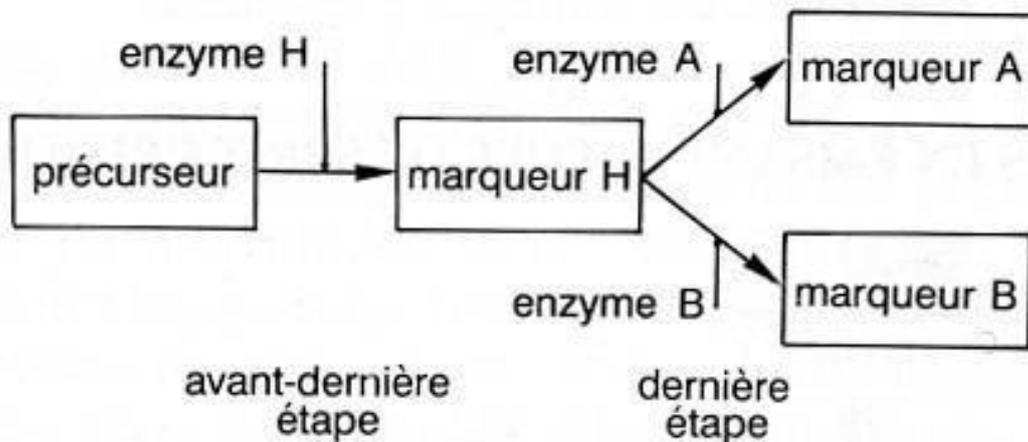
seulement : groupe sanguin B ;

- présence de marqueurs A et de marqueurs B : groupe sanguin AB ;

- absence de marqueurs A et B : groupe sanguin O.



Les deux dernières étapes de la chaîne de biosynthèse des marqueurs A et B



Le gène Fut1 code pour la synthèse de l'enzyme H (EH). Le gène des groupes sanguins principaux code pour la synthèse des enzymes A et B (EA, EB).

Les phénotypes sanguins A, B et O

Ils sont définis respectivement par la possession des antigènes membranaires A, B et H. Cependant, il **est possible de retrouver les divers niveaux d'expression du phénotype vus avec les hémoglobinopathies** :

- **phénotype macroscopique** : il ne se révèle pas spontanément mais il se manifeste si l'on met les globules rouges d'un individu en contact avec des sérums tests anti A et anti B et aussi en cas de transfusions incompatibles ;
- **phénotype cellulaire** : c'est la panoplie des marqueurs relatifs à ce système de groupes sanguins **présents dans la membrane des hématies mais aussi à la surface des autres cellules de l'organisme** ;
- **phénotype moléculaire** : les marqueurs membranaires résultent de l'action de l'enzyme produit de l'expression du gène ; cette enzyme est en somme le phénotype moléculaire primaire.

Pistes d'exploitation pédagogiques des données fournies

L'analyse des données fournies concernant le phénotype groupes sanguins permet d'aborder les notions suivantes :

- le phénotype peut se définir à différents niveaux, et le phénotype moléculaire détermine le phénotype cellulaire et macroscopique ;
- **le phénotype moléculaire s'explique par le génotype ;**
- un même phénotype peut correspondre à plusieurs génotypes ;
- plusieurs gènes **peuvent être impliqués dans la réalisation d'un phénotype.**



La diversité des phénotypes et les relations génotype/phénotype (chez les homozygotes)

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype groupes sanguins permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles ABO** qui charge le fichier RefABO-ADN.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles A101, B101 et O01 ;
- **Protéines ABO** qui charge le fichier refABO-prot.edi affichant les séquences protéiques des enzymes A 101, B101 et O 01 ;

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes groupes sanguins permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à Allèles ABO qui charge le fichier polyABO.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes de dix allèles du gène ABO (allèles A 101, A 102, A 103, A 201, B 101, B 102, B 103, O 01, O 04, O 06) ; tous les allèles A et B fournis codent pour des enzymes A et B fonctionnelles.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype groupes sanguins permet d'afficher les fichiers :**

- marqueursABO.bmp : représentation schématique des marqueurs membranaires A, B et H ;
- biosyntheseA-B.bmp : représentation schématique des deux dernières étapes de la synthèse des marqueurs membranaires des groupes sanguins ;
- phenotypeGS.bmp : texte présentant le phénotype groupes sanguins à différentes échelles.

Les documents présentent le phénotype groupes sanguins et permettent de le définir à différentes échelles :

- phénotype clinique mis en évidence par les accidents de transfusion ; phénotype cellulaire : marqueurs membranaires ;
- phénotype moléculaire : enzyme codée par le gène ABO (enzyme sous la forme A, B ou inactive O).

Remarques :

- il est important pour la suite de la démarche **que l'élève ait bien compris que le groupe O est lié à l'absence de marqueurs A et B ;**
- **il est important que l'élève comprenne également que le phénotype moléculaire ne peut être le marqueur membranaire (qui n'est pas une protéine) mais l'enzyme permettant sa synthèse.**

La comparaison des séquences des différentes protéines ABO et la mise en relation avec les phénotypes cliniques correspondants permettent de discuter des relations entre phénotypes moléculaire, cellulaire et clinique. Les connaissances sur les protéines enzymatiques seront mobilisées pour expliquer les observations. On montrera ainsi que les phénotypes alternatifs sont dus à des différences dans les protéines concernées.

Bilan

Les enzymes EA et EB diffèrent par quatre acides aminés, en position 174, 233, 264 et 266. Ces **différences sont à mettre en relation avec les différences d'activité de ces enzymes (elles ne catalysent**

pas la même réaction) : certains des acides aminés différents doivent se situer au niveau du site actif de l'enzyme.

L'enzyme O est beaucoup plus courte que les deux autres (115 a.a. seulement). Cette molécule protéique ne doit donc pas pouvoir prendre une forme spatiale correcte, ce qui explique son inactivité.

La mise en relation des différences observées au niveau des quelques allèles sélectionnés ici avec les **différences observées au niveau protéique permet de discuter de l'effet des mutations.**

Remarque pratique : la mise en relation des différences observées entre les allèles avec celles observées entre les **polypeptides est facilitée si l'on demande des comparaisons simples dans les deux cas.**

la délétion d'un nucléotide G dans l'allèle O a pour conséquence l'apparition précoce d'un codon stop

et la protéine synthétisée est donc plus courte

Traitement	0	CGTCGTCACCCCTTGGCTGGCTCCCATTTGCTGGGAGGGGCACATTCAACATCGACATCCTCAACGAGCAGTTCCAGGCTCCAGAACACCACCATTGGGTTAAC
A101.adn	0	
B101.adn	0	-----G-----
O01.adn	0	-----AC-----T-G-CTG-CTC-----AT-GTCTG-----AG-----CACAT-CA-CATCGACATC-TCA-CGAGCAGT-CAG-CTC-AGA-CAC-AC-AT-G--T-A-CT
Traitement	0	
Pro-A101	0	L U U T P W L A P I U W E G T F N I D I L N E Q F R L Q N T T I G L
Pro-B101	0	-----
Pro-O01	0	-----P L G W L-----L S G R A H S T S T S S S T S S S G S R T P P L-----

Sélection : 0/8 lignes

une mutation par substitution dans l'allèle B ne se traduit ici par aucun changement dans la séquence d'acides aminés - c'est une mutation muette

Bilan

L'allèle O diffère de l'allèle A par une délétion d'un nucléotide en position 261, ce qui entraîne un décalage du cadre de lecture et donc une modification importante de la séquence d'acides aminés.

Cela entraîne aussi l'apparition précoce d'un codon stop, donc une chaîne polypeptidique plus courte (116 acides aminés au lieu de 353).

L'allèle B diffère de l'allèle A par sept nucléotides ; il s'agit à chaque fois de mutations par substitution. Trois de ces mutations sont des mutations muettes (positions 297, 657 et 930) ; les quatre autres sont des mutations faux-sens (positions : 526, 703, 796 et 803).

Le gène ABO est en fait très polymorphe. Le fichier polyABO.edi fournit les séquences de plusieurs autres allèles de ce gène. Un travail similaire à celui qui précède peut être fait à partir de ces allèles, les séquences protéiques correspondantes étant obtenues en utilisant la fonctionnalité **Traduire** du logiciel.



La complexité des relations gènes/phénotype

La mise en évidence de la complexité des relations génotype/phénotype peut être abordée à partir de **l'exemple des deux familles proposées.**

Pour chaque famille, sont mises à disposition les données suivantes :

- **un arbre qui n'est là que pour préciser le phénotype des membres d'une famille donnée (et non pour initier un raisonnement en fonction des lois de l'hérédité) ;**
- les séquences des deux allèles du gène ABO que possèdent tous les membres de la famille ; les séquences des allèles ABO considérés comme référence.

Étude de la famille 1

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes groupes sanguins permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Nucléiques** qui charge le fichier RefABO-ADN.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles A101, B101 et O01 ;

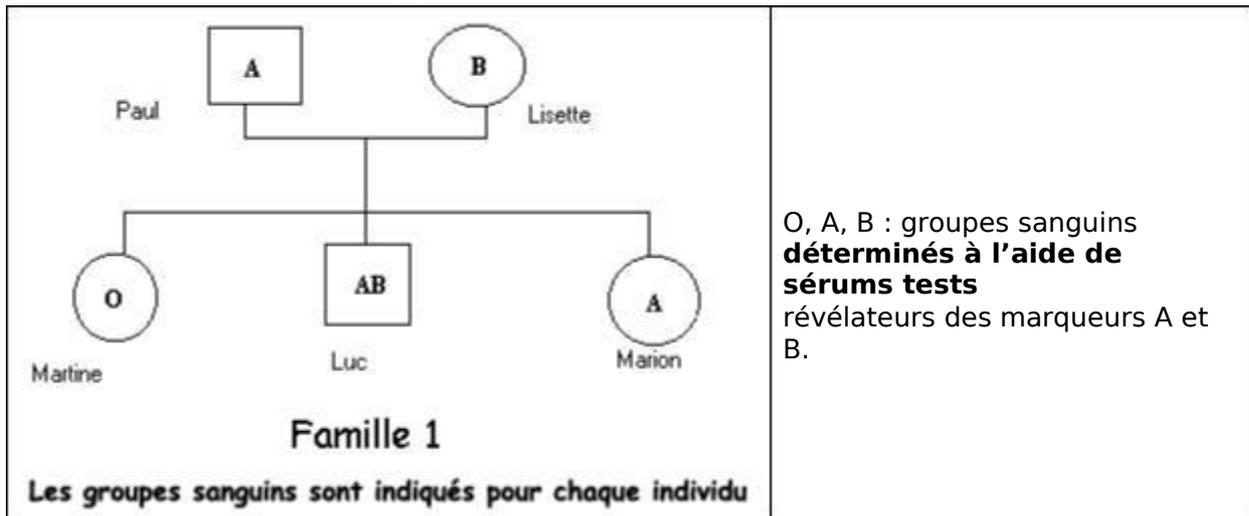
- **Génotypes famille1 ABO** qui charge le fichier Fam1ABO.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles du gène ABO de chacun des membres de la famille 1 (génotype de Paul : A//O, de Lisette : B//O, de Martine : O//O, de Luc : A//B, de Marion : A//O).

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes groupes sanguins permet d'accéder à Dominance et récessivité (Famille**

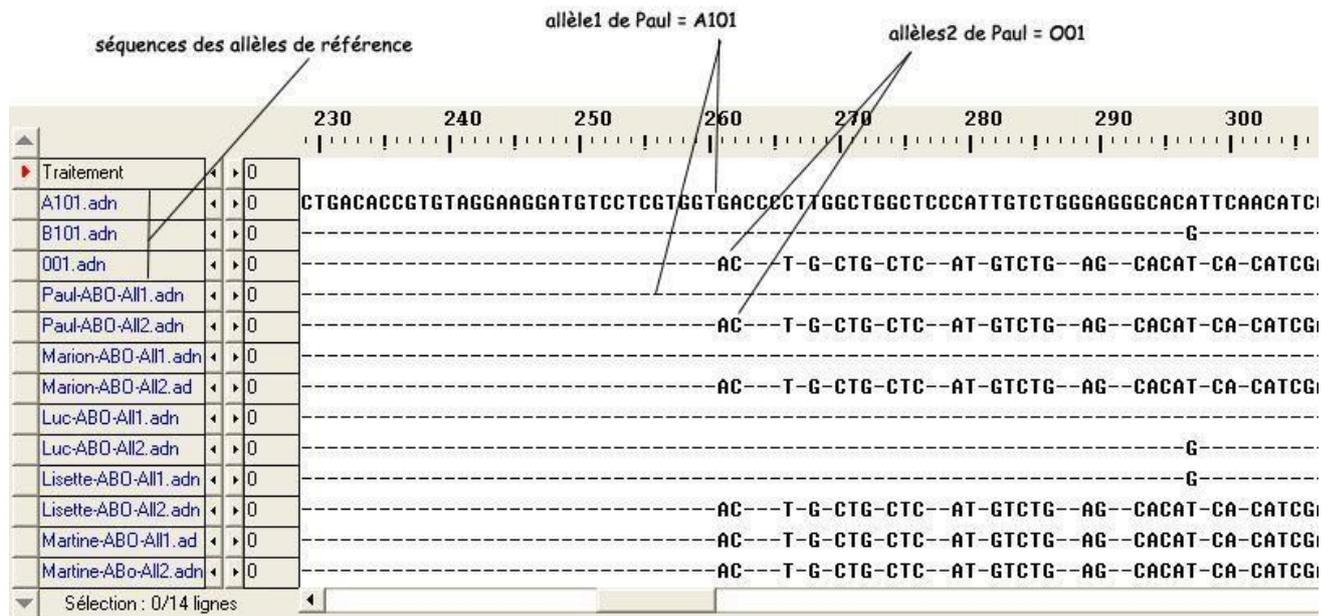
1) **qui charge le fichier famille1.bmp affichant l'arbre généalogique de la famille 1** avec indication des phénotypes groupes sanguins.

L'étude de cette famille permet de se familiariser avec la méthode de détermination des génotypes et de discuter des relations de dominance/récessivité.



La comparaison des allèles de chaque individu avec les allèles de référence du gène ABO fournis permet de déterminer le génotype de chacun des membres de la famille : le génotype de Paul est A//O, celui de Lisette est B//O, celui de Martine est O//O, celui de Luc est A//B et celui de Marion est A//O.

Résultat d'une comparaison simple permettant une détermination rapide des génotypes



La mise en relation du génotype et du phénotype pour les individus hétérozygotes permet ensuite de discuter des relations de dominance/récessivité (ces relations ne peuvent se définir qu'à l'échelle du phénotype clinique, et non à l'échelle moléculaire ; en effet, les deux allèles s'expriment dans la cellule).

Étude de la famille 2

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes groupes sanguins** permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Nucléiques** qui charge le fichier RefABO-ADN.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles A101, B101 et O01 ;
- **Allèles FUT1** qui charge le fichier RefFut1.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles de **référence du gène Fut 1 (l'allèle Fut1H code pour une enzyme H fonctionnelle ; l'allèle Fut1h1 code pour une enzyme h non fonctionnelle)** ;
- **Poly FUT1** qui charge le fichier polyFut1.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes de six allèles du gène Fut1 (allèles fut1H, codant pour une enzyme H fonctionnelle, allèles Fut1h1 à Fut1h5, codant pour des enzymes h non fonctionnelles) ;
- **Protéines FUT1** qui charge le fichier ProtFut1.edi affichant les séquences protéiques des enzymes H (fonctionnelle) et h1 (non fonctionnelle) ;
- **Génotypes famille2 ABO** qui charge le fichier Fam2ABO.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles du gène ABO de chacun des membres de la famille 2 (génotype de Paul : A//B, de Pascale : O//O, de Roland : B//O, de Magali : A//O, de Bérénice : B//O) ;
- **Génotypes famille2 FUT1** qui charge le fichier Fam2Fut1.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes des allèles du gène Fut1 de chacun des membres de la famille 2 (génotype de Paul : h//h, de Pascale : H//h, de Roland : h//h, de Magali : H//h, de Bérénice : H//h).

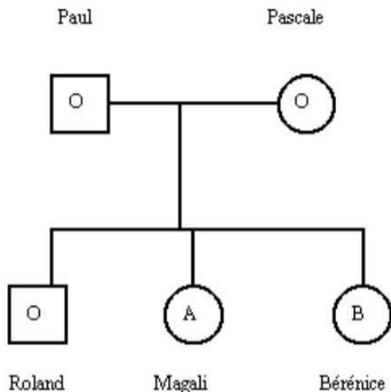
Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes groupes sanguins** permet d'accéder à **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 2)** qui charge le fichier Famille2ABO.bmp affichant l'arbre généalogique de la famille 2 avec indication des phénotypes groupes sanguins.

Le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype**

groupes sanguins permet de charger le fichier biosyntheseA-B.bmp affichant la chaîne de biosynthèse des marqueurs A et B.

L'étude de cette famille permet de découvrir un aspect de la complexité des relations génotype/phénotype : un phénotype peut dépendre de l'expression de plusieurs gènes. Il s'agit de mettre l'élève en situation de découverte du problème.

 <p style="text-align: center;">Famille 2</p> <p style="text-align: center;">Les groupes sanguins sont indiqués pour chaque individu</p>	<p>O, A, B : groupes sanguins déterminés à l'aide de sérums tests révélateurs des marqueurs A et B.</p>
--	--

La comparaison des allèles du gène ABO de chaque individu avec les allèles de référence de ce gène permet de déterminer le génotype de chacun : le génotype de Paul est A//B et

celui de Magali est A//O, celui de Pascale est O//O, et celui de Roland et de Bérénice est B//O.

Si l'on s'en tenait au fait que le phénotype groupes sanguins ne dépende que du seul gène ABO, et que l'allèle O est récessif par rapport à A et B, il y a une incohérence pour Paul et Roland ; possédant un

allèle A ou B, ils ne devraient pas être de groupe O. Il faut donc imaginer que le phénotype groupes sanguins ne dépend pas que du gène ABO.

Des renseignements complémentaires sont alors fournis concernant la synthèse des marqueurs A et B :

la synthèse des marqueurs A et B ne résulte pas d'une seule réaction, mais d'une chaîne de

biosynthèse. Cette chaîne nécessite plusieurs réactions chimiques catalysées chacune par une enzyme

différente, codée chacune par un gène différent. Il peut donc y avoir plusieurs origines au groupe **sanguin O : inactivité de l'enzyme O, mais aussi inactivité de l'enzyme H (codée par le gène Fut1),**

donc non-synthèse du marqueur H.

Remarque

Un travail peut être effectué sur les allèles du gène Fut1 et les protéines correspondantes pour discuter, comme il a été fait pour le gène ABO, des relations entre génotype/phénotype moléculaire/phénotype clinique. Les mutations présentes dans les allèles du gène Fut1 entraînent des

modifications de la séquence d'acides aminés de l'enzyme h, responsables de l'inactivité de l'enzyme et d'un phénotype groupe sanguin O.

Résultats de comparaisons simples entre les allèles du gène Fut1 d'une part, et entre les enzymes H correspondantes d'autre part :

- **Allèle Fut1h1 : diffère de l'allèle Fut1cod (allèle normal, de référence) par une substitution en position 695 - le remplacement d'un nucléotide G par un A transforme le codon TGG en codon stop TAG. Le polypeptide synthétisé est donc plus court (230 acides aminés au lieu de 399) et donc non fonctionnel ;**
- **Allèle Fut1h2 : diffère de l'allèle Fut1cod par une délétion d'un nucléotide en position 990 ; il s'ensuit un décalage du cadre de lecture et l'apparition précoce d'un codon stop. Le polypeptide synthétisé est donc plus court (334 acides aminés au lieu de 399) et non fonctionnel ;**
- **Allèle Fut1h3 : diffère de l'allèle Fut1cod par une substitution en position 721 (T C). Il s'agit d'une mutation faux-sens qui entraîne le changement d'un acide aminé dans la séquence du polypeptide. Cette différence suffit à rendre l'enzyme non fonctionnelle ;**
- **Allèle Fut1h4 : diffère de l'allèle Fut1cod par une substitution en position 442 (G T). Il s'agit d'une mutation faux-sens qui entraîne le changement d'un acide aminé dans la séquence du polypeptide. Cette différence suffit à rendre l'enzyme non fonctionnelle ;**
- **Allèle Fut1h5 : diffère de l'allèle Fut1cod par deux substitutions en position 460 (T C) et 1042 (G A). Il s'agit de mutations faux-sens qui entraînent le changement de deux acides aminés dans la séquence du polypeptide. Ces différences suffisent à rendre l'enzyme non fonctionnelle.**

La comparaison des allèles du gène Fut 1 des membres de la famille 2 avec les allèles Fut1 de référence

(RefFut1.edi et Fam2Fut1.edi) permet de déterminer leur génotype : Pascale, Magali et Bérénice sont de génotype H/h ; Paul et Roland sont de génotype **h//h. Ainsi,**

l'incohérence constatée auparavant

pour Paul et Roland trouve ici une explication : bien que possédant un allèle A ou B, ils sont de groupe **O car la synthèse du précurseur H ne peut avoir lieu, l'enzyme h1 étant inactive.**

On montre ainsi qu'un phénotype peut dépendre de plusieurs gènes, et qu'un même phénotype clinique peut correspondre à plusieurs génotypes.

Les phénotypes albinos

Informations scientifiques

Les mécanismes assurant la pigmentation de la peau

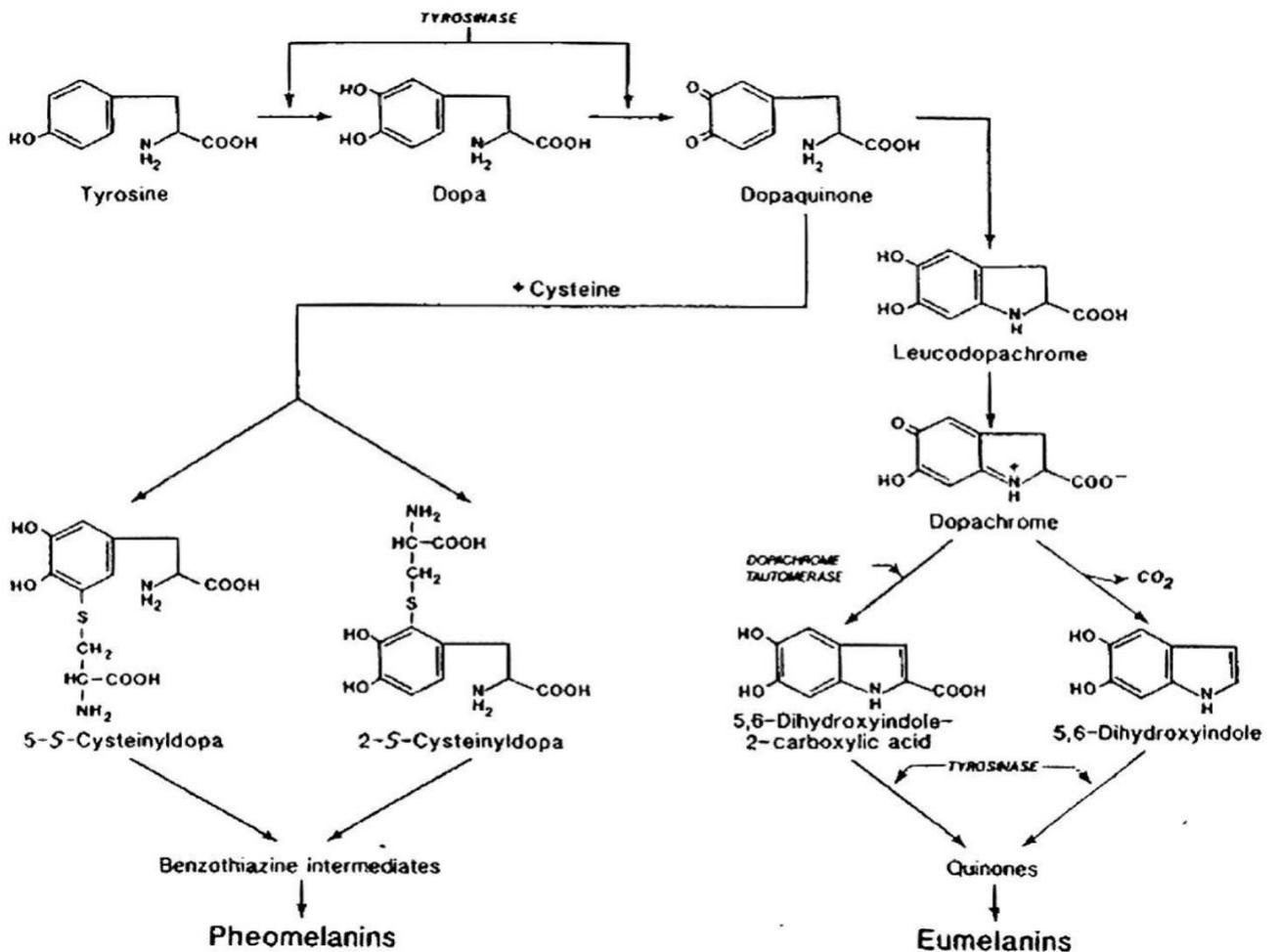
La pigmentation est un processus complexe qui résulte de la synthèse de pigments spécifiques, les

mélanines, notamment au sein des mélanocytes (cellules épidermiques). Cette synthèse s'effectue dans les mélanocytes au sein d'organites appelés mélanosomes, qui migrent dans la cellule, puis sont transférés aux kératinocytes. Les kératinocytes ne font donc que stocker les mélanines et les éliminer lors de leur desquamation.

La coloration de la peau résulte donc d'une succession d'étapes : synthèse de mélanine dans les mélanosomes, transport des mélanosomes vers la périphérie des mélanocytes, passage dans les kératinocytes.

La synthèse de mélanine

Elle nécessite toute une chaîne de biosynthèse dont la matière première initiale est la tyrosine :



Biosynthèse de la mélanine

La tyrosinase est une enzyme cruciale de la chaîne de biosynthèse de la mélanine car elle catalyse **quatre réactions : l'hydroxylation de la tyrosine en DOPA, l'oxydation de la DOPA en dopaquinone et les deux réactions aboutissant aux quinones.**

La quantité de cette enzyme est sensiblement identique chez tous les humains, quelle que soit leur **couleur de peau, mais son activité catalytique varie beaucoup d'un individu à l'autre (elle est faible chez les individus à peau claire). Cette activité dépend de l'acidité dans le mélanosome ; une diminution de l'acidité du milieu dans lequel**

sont cultivées des cellules de peau claire entraîne une augmentation de l'activité catalytique de la tyrosinase.

Certaines protéines sont impliquées dans la modulation de l'**acidité dans les mélanosomes. Ainsi la**

protéine P, codée par le gène OCA2, est une protéine transmembranaire qui transporte les protons **hors du mélanosome, ce qui y entraîne une baisse de l'acidité.**

Le transport des mélanosomes dans les mélanocytes se fait de la zone périnucléaire où il se forme vers **la périphérie de la cellule, d'où il va la quitter pour passer dans les kératinocytes. Ce déplacement est**

assuré par les microtubules, qui forment une sorte de tapis roulant. De nombreuses molécules sont indispensables à ce déplacement, tant au niveau des microtubules que de la membrane du mélanosome.

Le transfert des mélanosomes aux kératinocytes fait intervenir des récepteurs membranaires ; il est **possible d'activer ces récepteurs dans des cultures cellulaires, et l'on obtient alors un assombrissement** des kératinocytes car le transfert des mélanosomes est accru.

Les albinismes

L'albinisme humain est la plus fréquente des anomalies héréditaires de pigmentation. Le phénotype macroscopique visible (hypopigmentation de la peau, des poils, des cils, des yeux) fut pendant

longtemps le seul critère retenu pour détecter cette anomalie due à une réduction (ou même à une absence) de synthèse de mélanine. Si cette hypopigmentation est générale, on parle **d'albinisme oculo-cutané (OCA). Si elle est localisée aux yeux, on la nomme albinisme oculaire (OA). L'albinisme OCA** est le plus courant.

Le seul critère de pigmentation est insuffisant pour diagnostiquer l'albinisme. Des changements dans les yeux et le système visuel ont été trouvés dans tous les cas d'albinisme OCA et d'albinisme OA.

L'iris et la rétine étant dépigmentés, les pupilles apparaissent rouges du fait de la réflexion de la lumière sur la choroïde très riche en vaisseaux sanguins. D'autre part, le développement des voies optiques est altéré chez les individus albinos, et la plupart d'entre eux sont photophobes et présentent un nystagmus ; ils ont de plus une diminution de l'acuité stéréoscopique et un strabisme alternant. Chez une personne qui **pourrait avoir une pigmentation presque normale, l'examen ophtalmologique complet permet donc de dépister un albinisme. On ne s'intéressera ici qu'à l'albinisme OCA.**

On distingue deux types d'albinismes OCA, selon l'origine de l'anomalie :

- albinisme OCA1 : il met en cause une anomalie de fonctionnement de la tyrosinase (mutation **dans le gène de la tyrosinase**). **On connaît plusieurs types d'albinisme OCA1 :**
 - *l'albinisme OCA1 -1A* ou « *tyrosinase négative* » : ce phénotype a été trouvé dans tous les groupes ethniques à travers le monde. Il est lié à une activité nulle de la tyrosinase. Les enfants naissent avec des cheveux blancs, la peau blanche, les yeux bleus et ces caractéristiques persistent tout au long de leur vie. La peau ne bronze pas et reste très sensible au soleil tout au long de la vie ;
 - *l'albinisme OCA1 - 1B* ou « *type jaune* » : il est reconnu dans beaucoup de populations, et a **été découvert dans la population Amish (état de l'Indiana, USA). Les enfants naissent** avec les cheveux blancs et la peau blanche, mais les cheveux se colorent en blond au cours **des premières années, et peuvent devenir blond foncé chez l'adulte. La peau devient crème et peut bronzer au soleil. L'iris, bleu-gris, peut aussi se pigmenter davantage ;**
 - *l'albinisme OCA1 - TS* ou « *type thermosensible* » : nées avec une peau blanche, des poils blancs et des yeux bleus, certaines personnes, au moment de la puberté, développent une pigmentation sur les zones les plus froides de leur corps comme les bras et les jambes. Selon la température **de l'endroit du corps considéré, on aura une pigmentation plus ou** moins développée ;
- **Albinisme OCA2 : la tyrosinase a une activité normale, et l'anomalie de pigmentation est donc due**

à une autre origine (mutation dans un autre gène que celui de la tyrosinase ; exemple : mutation **dans le gène OCA2 codant pour la protéine P**). **Ce type d'albinisme est le plus courant et le plus variable. Il est moins sévère que l'albinisme OCA1, et l'hypopigmentation cutanée peut varier selon l'origine ethnique et l'hétérozygotie de l'individu. Les individus atteints de cet albinisme ont** les cheveux légèrement pigmentés à la naissance, une peau blanche, des yeux bleus, et une **pigmentation de la peau qui augmente avec l'âge.**

Les deux types d'albinisme peuvent être distingués par le « **test du bulbe pileux** » : ce test consiste à incuber des bulbes pileux prélevés chez un individu albinos dans une solution de tyrosine, pendant

vingt-quatre heures à 37 °C. Si la pigmentation redevient normale (synthèse de mélanine), on conclut à un albinisme de type OCA2, sinon il s'**agit d'un albinisme de type OCA1.**

Les allèles du gène de la tyrosinase

La tyrosinase résulte de l'expression d'un gène situé sur le chromosome 11.

Le séquençage du gène a montré que ce gène est très polymorphe.

Le tableau ci-dessous présente **quelques-unes des mutations à l'origine de ces allèles** :

Séquence nucléique		Polypeptide		
Allèle	Nature et position des nucléotides qui varient	Nature et position des codons qui varient	Nature et position des acides aminés changés	Type de mutation
Tyrcod1	Allèle de référence			
Tyrcod2	A C en 575	TAT TCT en 192	Tyr Ser en 192	Substitution faux-sens neutre
TyralbA1	G A en 1147	GAT AAT en 383	Asp Asn en 383	Substitution faux-sens
	A C en 575	TAT TCT en 192	Tyr Ser en 192	Substitution faux-sens neutre
TyralbA2	Délétion de deux nucléotides TG en 732-733	TGT TGA en 244	La protéine n'a que 243 acides aminés	Délétion
TyralbA3	A C en 575	TAT TCT en 192	Tyr Ser en 192	Substitution faux-sens neutre
	G A en 533	TGG TAG en 178	La protéine n'a que 177 acides aminés	Substitution non-sens
TyralbA4	C T en 242	CCT CTT en 81	Pro Leu en 81	Substitution faux-sens
TyralbA5	C T en 242 A C en 575	CCT CTT en 81 TAT TCT en 192	Pro Leu en 81 Y Ser en 192	Substitutions faux-sens
TyralbB1	A C en 575	TAT TCT en 192	Tyr Ser en 192	Substitution faux-sens neutre
	C T en 1217	CCT CTT en 406	Pro Leu en 406	Substitution faux-sens
TyralbTS	G A en 1265	CGG CAG en 422	Arg Gln en 422	Substitution faux-sens

Caractéristiques des enzymes tyrosinase codées par ces allèles

Les allèles tyralbA1, tyralbA2, tyralbA3, tyralbA4 et tyralbA5 codent pour des enzymes totalement **inactives et sont donc à l'origine d'un albinisme de type OCA-1A.**

L'allèle tyralbB1 code pour une enzyme présentant une activité résiduelle, et la dopaquinone formée, qui possède une forte affinité pour les groupements sulfhydryl (présents dans la cystéine) est transformée en phéomélanine (pigment jaunâtre). La voie métabolique vers la phéomélanine est donc

privilégiée aux dépens de celle de l'eumélanine. Cet allèle est donc à l'origine d'un albinisme de type OCA-1B.

L'allèle tyralbTS code pour une tyrosinase inactive au-dessus de 35 °C (cette mutation serait semblable à celle qui existe chez le Chat siamois). Cet allèle est donc à l'origine d'un albinisme de type OCA1-TS.

Pistes d'exploitation pédagogiques des données fournies

L'analyse des données fournies concernant les phénotypes « albinos » permet d'aborder les notions suivantes :

- le phénotype peut se définir à différents niveaux, et le phénotype moléculaire détermine le phénotype cellulaire et macroscopique ;
- **le phénotype moléculaire s'explique par le génotype ;**
- un même phénotype peut correspondre à plusieurs génotypes ;
- **plusieurs gènes peuvent être impliqués dans la réalisation d'un phénotype.**

L'accent est particulièrement mis ici sur les deux derniers points qui illustrent la complexité des relations génotype/phénotype.



La diversité des phénotypes et les relations génotype/phénotype (chez les homozygotes)

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes albinos** permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles tyrosinase** qui charge le fichier Alleles-tyrosinase.edi affichant les séquences strictement codantes de quelques allèles du gène de la tyrosinase (allèles tyrcod1 et tyrcod2 codant pour une enzyme à activité normale ; tyralb A1 à tyralb A5 codant pour une enzyme non fonctionnelle ; tyralb B1 codant pour une enzyme à activité réduite ; tyralb TS codant pour une enzyme thermosensible) ;

- **Enzymes tyrosinase** qui charge le fichier Protyr.edi affichant les séquences protéiques des tyrosinases correspondant aux allèles fournis.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype albinos** qui permet d'accéder aux fichiers :

- **OCA1.bmp** affichant un texte de présentation des phénotypes cliniques de l'albinisme oculo-cutané de type

1 ;

- **pigmentation.bmp** affichant un texte présentant l'origine de la pigmentation de la peau ;

- biosynthMelanine.bmp présentant la chaîne de biosynthèse de la mélanine (seule la voie menant à la **synthèse d'eumélanine est ici proposée**), avec repérage des réactions catalysées par la tyrosinase.

Les documents fournis permettent de construire un tableau des différents niveaux de phénotypes :

	Phénotype clinique	Phénotype cellulaire	Phénotype moléculaire
Individu sain	Peau, cheveux, poils et iris normalement colorés	Synthèse normale de mélanine dans les mélanocytes	Enzyme tyrosinase fonctionnelle
Individu albinos	Peau très claire, cheveux et poils blancs, iris non coloré	Très peu de synthèse de mélanine dans les mélanocytes	Enzyme tyrosinase non fonctionnelle ou à activité très réduite

Lorsque la tyrosinase est non fonctionnelle, la synthèse de mélanine n'a pas lieu dans les mélanocytes, et la peau reste donc très claire. La mise en relation de la comparaison des allèles du **gène de la tyrosinase** avec celles des protéines correspondantes permet de discuter des relations génotype/phénotype :

- **certaines mutations, bien qu'entraînant une modification de la séquence d'acides aminés de la** protéine, ne modifient pas son activité (tyrcod1 et tyrcod2 codent pour des protéines

fonctionnelles) ;

certaines mutations entraînant une modification de la séquence d'acides aminés de la protéine ont

pour conséquence une diminution de l'activité enzymatique (tyralb B1) ou une suppression de

l'activité enzymatique (tyralb A1, tyralb A4, tyralb A5) ou encore une activité dépendante de la

température

(tyralb

S)

;

- d'autres mutations entraînent l'apparition d'un codon stop précoce, responsable de la synthèse d'une chaîne protéique plus courte et donc d'une enzyme non fonctionnelle (tyralb A2 et tyralb A3).

De la même façon, la mise en relation de la comparaison des allèles du **gène OCA2** avec celles des **protéines correspondantes permet d'aboutir aux résultats suivants** :

- certaines mutations n'entraînent aucun changement de la séquence d'acides aminés de la protéine à cause de la redondance du code génétique (allèle OCA2 m4, qui diffère de l'allèle normal par un nucléotide substitué en position 963 : G A) ;
- certaines mutations rendent la protéine inactive (la protéine P n'est pas une enzyme, mais un transporteur membranaire de petites molécules comme la tyrosine) :
 - en entraînant la synthèse d'une protéine plus courte (allèle m1 - la délétion du nucléotide G en 1960 entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition précoce d'un codon stop - la protéine P m1 a une longueur de 668 acides aminés au lieu de 838) ;
 - en modifiant la séquence d'acides aminés de la protéine : allèles m2 et m3 dont la mutation d'un nucléotide par substitution (respectivement : C G en 258, et T G en 1418) se traduit par le changement d'un acide aminé (respectivement : Ser Arg en 86, et Ile Ser en 473).



La complexité des relations génotype/phénotype

La mise en évidence de la complexité des relations génotype/phénotype peut être abordée à partir de

l'exemple des quatre familles proposées. Pour chaque famille, sont mises à disposition les données suivantes :

- un arbre qui n'est là que pour préciser le phénotype des membres d'une famille donnée (et non pour initier un raisonnement en fonction des lois de l'hérédité) ;
- les séquences des deux allèles du gène de la tyrosinase que possèdent tous les membres de la famille ;
- les séquences des allèles de la tyrosinase présents dans la famille ;
- pour la famille 2 sont aussi fournies les séquences des deux allèles du gène OCA2 de chaque membre de la famille et les séquences des allèles OCA2 normal et OCA2 m1 présents dans cette famille.

Familles 1, 3 et 4

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes albinos** permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles famille1 tyrosinase** qui charge le fichier AllelesTyrFamille1.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène de la tyrosinase des membres de la famille 1, avec les allèles du gène de la tyrosinase présents dans cette famille. Les génotypes des individus sont les suivants : I1 et II2 sont (tyralb A2//tyrcod2) - I2, II 1 et III 1 sont (tyrcod2//tyrcod2) - I 3 et II 4 sont (tyrcod1//tyralb A1) - I 4 est (tyrcod2//tyrcod1) - II 3 est (tyrcod2//tyralb A1) - III 2 et III 3 sont (tyralb A1//tyralb A2) ;

- **Allèles famille3 tyrosinase** qui charge le fichier AllelesTyrFamille3.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène de la tyrosinase des membres de la famille 2, avec les allèles du gène de la tyrosinase présents dans cette famille. Les génotypes

des individus sont les suivants : I 1 et III 5 sont (tyrcod1//tyrcod2) - I 2, I 3 et I 4 sont (tyrcod1//tyralb A4) - II 1 est (tyrcod1//tyralb B1) - II2 est (tyrcod2//tyralb A4) - II 3 est (tyralb A4//tyralb A4) - III 1, III 2, III 3 sont (tyralbB1//tyralb A4) - III 4 est (tyrcod2//tyralb B1) ;

- **Allèles famille4 tyrosinase** qui charge le fichier allelestyrfamille4.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène de la tyrosinase des membres de la famille 2, avec les allèles du gène de la tyrosinase présents dans cette famille. Les génotypes des individus sont les suivants : I1 est (tyrcod2//tyralb TS) - I 2 est (tyrcod1//tyralb A4) - II 1 est (tyrcod1//tyrcod2) - II2, II5 et II6 sont (tyralb A4//tyralb TS) - II

3 est (tyrcod1//tyralb TS) - II 4 est (tyrcod1//tyrcod1) - II 7 est (tyrcod1//tyralb A5) - III 1 est (tyralb A4//tyralb A5).

Documents fournis

Dans la banque des documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes albinos permet d'accéder à :**

- **Polyallélisme, environnement et diversité des phénotypes (Famille 1)** pour charger le fichier arbreTyr1.bmp : arbre généalogique de la famille 1 avec indications du phénotype clinique précis des individus albinos. Dans cette famille, ce sont les allèles tyralb A1 et tyralb A2 qui sont responsables de **l'albinisme ;**

- **Polyallélisme, environnement et diversité des phénotypes (Famille 3)** pour charger arbreTyr3.bmp : arbre généalogique de la famille 2 avec indications du phénotype clinique précis des individus albinos. Dans cette famille, **ce sont les allèles tyralb A4 et tyralb B1 qui sont responsables de l'albinisme ;**

- **Polyallélisme, environnement et diversité des phénotypes (Famille 4)** pour charger arbreTyr4.bmp : arbre généalogique de la famille 4 avec indications du phénotype clinique précis des individus albinos. Dans cette famille, **ce sont les allèles tyralb A4, tyralb A5 et tyralb TS qui sont responsables de l'albinisme.**

Le travail peut être fait de la même façon pour chacune de ces familles, et le travail réparti entre les groupes d'**élèves** :

- **détermination du génotype des membres de la famille, par comparaison des allèles qu'ils possèdent** avec les allèles de référence fournis ;
- **mise en relation génotype/phénotype, qui permet d'aboutir aux relations de dominance/récessivité** entre les allèles (il y a récessivité des allèles mutés au niveau du phénotype clinique) ;
- **comparaison des génotypes des individus albinos pour arriver à l'idée que plusieurs génotypes peuvent correspondre au même phénotype.**

<p style="text-align: center;">Famille 1</p> <p>Phénotypes des individus albinos de cette famille :</p> <ul style="list-style-type: none"> - absence totale de pigmentation des cheveux, de la peau, des yeux ; - troubles oculaires ; <p>(à partir de Am. J. Hum. Gen., 1993, V52, p. 406-413).</p>	<p>I1 et I2 sont (tyralb A2//tyrcod2) - I2, II1 et III1 sont (tyrcod2//tyrcod2) - I3 et II4 sont (tyrcod1//tyralb A1) - I4 est (tyrcod2//tyrcod1) - II3 est (tyrcod2//tyralb A1) - III2 et III3 sont (tyralb A1//tyralb A2)</p>
---	---

Famille 2

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes albinos** permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles famille2 tyrosinase** qui charge le fichier AllelesTyrFamille2.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène de la tyrosinase des membres de la famille 2, avec les allèles du gène de la tyrosinase présents dans cette famille. Les génotypes des individus sont les suivants : I 1, III 1 et III 3 sont (tyrcod2//tyralb A4) - I 2 et II 1 sont (tyrcod2//tyralb A3) - I 3 et II 4 sont (tyrcod1//tyrcod1) - I 4, II 3 et II 5 sont (tyrcod1//tyrcod2) - II 2 est (tyralb A4//tyralb A3) - III 2 est (tyrcod1//tyralb A3) ;

- **Allèles OCA2** qui charge le fichier OCA2.edi affichant les quatre allèles du gène OCA2 et les protéines P correspondantes. **L'allèle OCA2 normal code pour une protéine P fonctionnelle ; les allèles OCA2 m1, OCA2 m2 et OCA2 m3 codent pour une protéine P non fonctionnelle ;**

- **Allèles famille2 OCA2** qui charge le fichier AllelesOCA2Famille2.edi affichant les allèles du gène OCA2 que possèdent les individus de la famille 2 et les deux allèles de référence présents dans cette famille (OCA2 normal et OCA2 m1). Les génotypes des individus sont les suivants : I 1, I 2, II 1, II 2 et II 5 sont (OCA2 norm//OCA2 norm) - I 3, I 4, II 3, II 4, III 1, III 2, III 3 sont (OCA2 norm//OCA2 m1) - II 3 est (OCA2 m1//OCA2 m1).

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes albinos** permet d'accéder à **Plusieurs génotypes pour un même phénotype (Famille 2)** pour charger les fichiers :

- **arbreTyr2.bmp** qui présente l'**arbre généalogique de la famille 2** avec indications du phénotype clinique précis des individus albinos. Dans cette famille, ce sont les allèles tyralb A3 et tyralb A4 qui sont **responsables de l'albinisme** ;
 - **OCA1_2.bmp** qui affiche un texte de présentation du phénotype clinique des albinismes oculo-cutané de type 1 et 2 ; de plus est présentée la description du test du bulbe pileux ;
-

- **proteine-P.bmp** qui affiche un texte introduisant le rôle de la protéine P (impliquée dans l'albinisme OCA2)

;

- **pigmentation.bmp** qui affiche un texte décrivant l'origine de la pigmentation de la peau.

L'étude de la famille 2 permet de mettre en évidence le fait que plusieurs gènes peuvent être impliqués dans la réalisation d'un phénotype. Les étapes de la démarche suivie peuvent être les

suivantes :

- détermination du génotype des membres de cette famille pour le gène de la tyrosinase ;
- **mise en relation génotype/phénotype qui doit aboutir à une incohérence pour l'individu II3 si l'on tient compte du fait que tous les allèles mutés du gène de la tyrosinase sont récessifs sur l'allèle normal. En effet, cet individu est de génotype (tyrcod1//tyrcod2) et est malade ;**
- **formulation d'hypothèses pour expliquer le cas de l'individu II3 (implication d'un autre gène) ;**
- **prise en compte d'informations nouvelles : des renseignements sur le rôle de la protéine P, qui amènent à préciser les hypothèses précédentes (l'individu II3 serait porteur de mutations dans le gène OCA2) ;**
- **détermination du génotype de l'individu II3 (et des autres membres de la famille) pour le gène OCA2.**

Conclusion

L'individu II3 est albinos car il est porteur d'une mutation du gène OCA2 ; il ne peut donc produire

une protéine P fonctionnelle, ce qui explique que la tyrosinase, bien que parfaitement normale, ne **puisse être active et qu'il n'y ait donc pas de pigmentation** de la peau.

<p style="text-align: center;">Famille 2</p> <p>Phénotype de l'individu II2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - absence totale de pigmentation des cheveux, de la peau, des yeux ; - troubles oculaires ; <p>Phénotype de l'individu II3 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - pigmentation des cheveux, de la peau, des yeux, faible à la naissance ; - elle augmente durant la vie sans atteindre le niveau normal ; - troubles oculaires ; <p style="text-align: center;">(à partir de Brit. J. Ophtal., 1952, V 36, p. 37).</p>	<p>Pour le gène de la tyrosinase : I1, II1 et II3 sont (tyrcod2//tyralb A4) - I2 et II1 sont (tyrcod2//tyralb A3) - I3 et II4 sont (tyrcod1//tyrcod1) - I4, II3 et II5 sont (tyrcod1//tyrcod2) - II2 est (tyralb A4//tyralb A3) - III2 est (tyrcod1//tyralb A3)</p> <p>Pour le gène OCA2 : I1, I2, II1, II2 et II5 sont (OCA2 norm//OCA2 norm) - I3, I4, II3, II4, III1, III2, III3 sont (OCA2 norm//OCA2 m1) - II3 est (OCA2 m1//OCA2 m1)</p>
---	--

Les phénotypes de l'alpha-antitrypsine

Informations scientifiques

Phénotype moléculaire et phénotype clinique

L'alpha AT est une protéine plasmatique constituée d'une chaîne protéique de 394 acides aminés et de

trois chaînes latérales glucidiques. Ces chaînes latérales se branchent sur la chaîne peptidique au niveau de **trois résidus asparagine (asn 46, 83 et 247)**. C'est une **glycoprotéine globulaire d'une masse de 52 kdaltons**. Si l'on réalise une **électrophorèse des protéines plasmatiques, elle fait partie du pic des alpha1 globulines, d'où le début de son nom**.

La concentration plasmatique d'alpha AT est généralement comprise entre 1,5 et 3,5 g/l. Elle diffuse

dans le liquide interstitiel où sa concentration est toutefois beaucoup plus faible (environ $1/10^e$ de celle du plasma).

La demi-vie de l'alpha AT est de quatre à cinq jours.

L'alpha AT est produite et sécrétée par les cellules hépatiques. Elle est synthétisée au niveau du REG sous forme d'un précurseur de 418 acides aminés ; le peptide signal, de 24 acides aminés, est éliminé durant le passage dans les cavités du **reticulum ; c'est aussi lors de ce passage que la protéine prend sa**

conformation spatiale et que les trois chaînes glucidiques sont ajoutées. La protéine ainsi glycosylée

est transférée dans les saccules golgiens, puis sécrétée par exocytose. On estime à 34 mg par **kilogramme de masse corporelle la production journalière d'alpha AT**.

L'alpha AT est un inhibiteur des protéases à sérine, protéases dont le site actif comprend la triade d'acides aminés catalytiques : acide aspartique, histidine, sérine. La trypsine, la chymotrypsine et l'élastase produite par les granulocytes sont des protéases de ce type. L'action inhibitrice de l'alpha AT sur ces protéases à sérine a été mise en évidence pour la première fois sur la trypsine, d'où son nom. In vivo , le seul substrat réel pour l'alpha AT est l'élastase, une endopeptidase puissante capable de cliver la plupart des protéines de la matrice extracellulaire, notamment l'élastine et les divers

collagènes. Cette élastase est libérée par les granulocytes à leur mort. Au niveau du conjonctif des alvéoles pulmonaires, cette élastase est libérée en permanence à des taux très bas.

L'alpha AT protège donc la matrice extracellulaire de divers organes, et notamment au niveau pulmonaire.

Les études épidémiologiques montrent **que les concentrations plasmatiques d'alpha AT inférieures à 0,8 g/l sont associées à un risque d'emphysème pulmonaire. En effet, à ces concentrations, l'inhibition de l'élastase par l'alpha AT est insuffisante.**

L'élastase détruit donc peu à peu le tissu conjonctif, en

particulier au niveau des alvéoles pulmonaires, ce qui perturbe les échanges gazeux et entraîne **l'emphysème**.

L'alpha AT exerce son action protectrice en se liant fortement, de façon quasi irréversible, au site actif de l'élastase. Le site de liaison de l'alpha AT est localisé au niveau des résidus Met382 et Ser383. La méthionine peut être facilement oxydée, ce qui réduit fortement l'affinité de l'alpha AT pour l'élastase. Il semble que la fumée de cigarette entraîne l'oxydation de la méthionine, ce qui expliquerait, au moins en partie, l'aggravation des symptômes chez le fumeur en cas de déficience en alpha AT.

Le déterminisme génétique de l'alpha AT

L'alpha AT est codée par un gène situé sur le chromosome 14, et pour lequel on connaît de très nombreux allèles dans l'espèce humaine (75 allèles dont plusieurs avec une fréquence supérieure à 1

%). Ce gène est composé de sept exons et six introns et comprend 12 200 paires de bases ; la région strictement codante se trouve au niveau des quatre derniers exons. Les séquences fournies ici sont des séquences nucléiques strictement codantes, incluant la

région correspondante au peptide signal (24 acides aminés), qui sera excisée dans la protéine mature.

Les allèles peuvent être regroupés en trois catégories :

- **les « variants normaux » (M'1, M1, M2, M3) : ils codent pour des molécules d'alpha AT fonctionnelles.** Les mutations apparues dans les allèles M1, M2 et M3 entraînent donc des **modifications de séquences d'acides aminés sans conséquences pour les** propriétés de la molécule **d'alpha AT (mutations neutres).** **Il existe de nombreux autres allèles « variants normaux », mais leur fréquence est plus faible (l'allèle M4 ayant toutefois une fréquence de 1 à 5 % dans les** populations **européennes) ;**

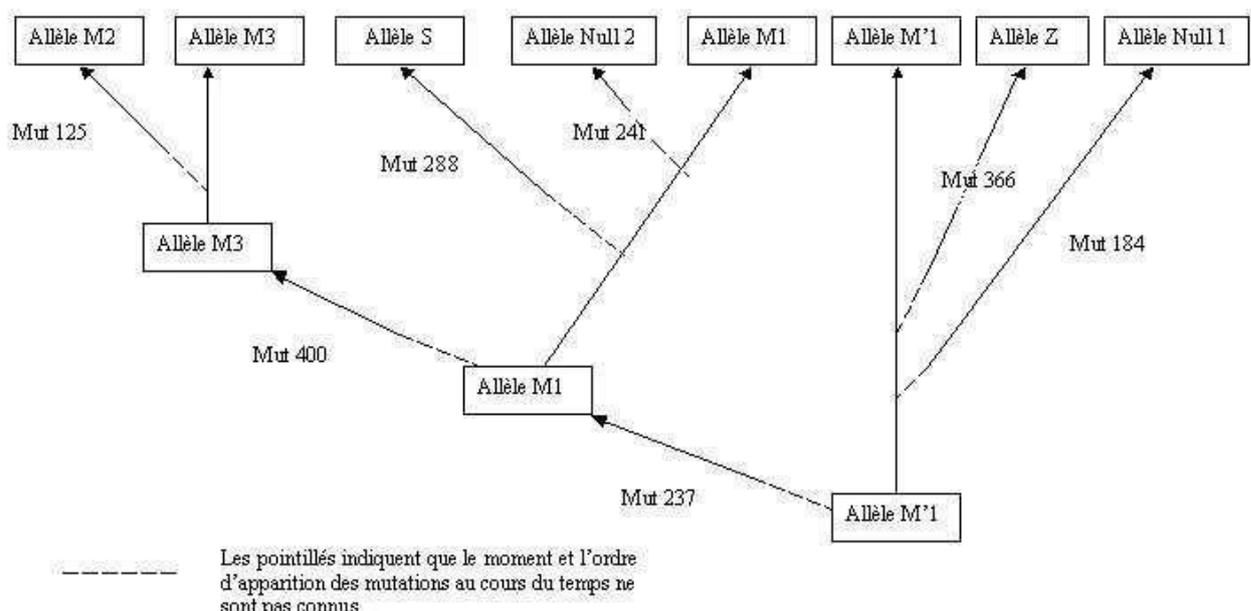
- les « variants déficients » (S et Z) :
 - **L'allèle S code pour une molécule d'alpha AT fonctionnelle, mais sécrétée en plus faible** quantité que les molécules codées par les variants normaux. La mutation (codon 288) **entraîne un changement d'acide aminé qui semble entraîner** une relative instabilité de la **molécule d'alpha AT, cause d'une destruction précoce à l'intérieur même des cellules hépatiques. Ce phénomène serait à l'origine de la déficience de sécrétion, la molécule d'alpha AT ayant une durée de vie normale une fois sécrétée ;**
 - **L'allèle Z code pour une molécule d'alpha AT ayant une activité réduite, et sécrétée en plus faible quantité. Chez les homozygotes Z//Z, les niveaux d'ARNm sont normaux,** ainsi que la traduction, mais après leur mise en forme dans le REG, les **molécules d'alpha AT s'agrègent ce qui limite leur transfert vers l'appareil de Golgi et donc leur sécrétion. La structure tridimensionnelle de l'alpha AT est affectée par cette substitution ;**
- les « variants Null » : ces allèles sont toujours rares, avec une fréquence inférieure à 0,1 %. Les mutations apparues dans ces allèles font apparaître un codon stop précoce. Les protéines codées par ces allèles sont raccourcies, très instables et rapidement détruites.

L'évolution du gène de l'alpha AT

Bien que l'allèle M1 soit le plus fréquent aujourd'hui, les généticiens estiment que l'allèle M'1 est l'allèle présent dans les premières populations humaines. Ils s'appuient pour cela sur la séquence codante du gène connue chez le chimpanzé : cette séquence est identique à celle de M'1, sauf à un site.

Si M'1 est l'allèle initial, tous les autres en dérivent par mutations. En admettant que si deux allèles

possèdent la même mutation, ils ont une parenté plus grande, on peut établir une filiation entre les allèles de ce gène.



Filiation des allèles de l'alpha AT

Pistes d'exploitation pédagogique des données fournies



Les relations génotype/phénotype/environnement

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes de l'alpha-antitrypsine** permet, par le développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles du gène AT** qui charge le fichier allAT.edi affichant les séquences nucléiques strictement codantes **de quelques allèles du gène de l'alpha AT - allèles M'1, M1, M2, M3, Z, S, NULL 1 et NULL 2 ;**
- **Génotypes famille1** qui charge le fichier allATfamille1.edi affichant les séquences des allèles du gène de **l'alpha-antitrypsine des membres d'une famille dans laquelle existent des cas d'emphysème pulmonaire. Les allèles présents dans cette famille sont M'1, M1, NULL 1 et Z. Un frère et une sœur de cette famille ont la même concentration plasmatique en alpha AT, mais seul le frère est atteint d'emphysème pulmonaire ; il est précisé sur l'arbre que cet Homme est fumeur.**

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Les phénotypes de l'alpha-antitrypsine** permet d'accéder aux fichiers :

- **InfoAlphaAT.bmp** pour afficher des informations scientifiques, sous forme d'un petit texte, concernant l'alpha AT et la relation entre le déficit en alpha AT fonctionnelle et l'emphysème pulmonaire ;
- **familleAlphaAT.bmp** qui présente l'arbre généalogique d'une famille présentant des cas d'emphysème pulmonaire. Les phénotypes cliniques et biochimiques (concentrations plasmatiques en alpha AT) sont indiqués pour chaque individu. Les individus fumeurs sont indiqués ;
- **AllelesAlphaAT.bmp** qui présente, sous la forme d'un tableau, la fréquence estimée de chaque allèle dans la population blanche des États-unis d'Amérique, et pour chacun de ces allèles indique la concentration d'alpha AT dans le sang et le risque de maladie chez l'homozygote ;
- **GenoPhenoAlphaAT.bmp** qui affiche un tableau indiquant les phénotypes biochimiques (concentration en alpha AT) et cliniques en fonction des différents génotypes ;
- **repartitionSZ.bmp** qui affiche les cartes de distribution de fréquence de l'allèle S et de l'allèle Z en Europe.

Résultats obtenus par l'exploitation des séquences nucléiques fournies

Allèle	Différence par rapport à l'allèle de référence (M'1)		Différence entre la protéine codée par M'1 et la protéine codée par cet allèle
	Nucléotide	Codon	
M1	710:C T	Codon 237 : GCG GTG	A V
M2	374:G A	Codon 125 : CGT CAT	R H
	710:C T	Codon 237 : GCG GTG	A V
	1200:A C	Codon 400 : GAA GAC	E D
M3	710:C T	Codon 237 : GCG GTG	A V
	1200:A C	Codon 400 : GAA GAC	E D
S	710:C T	Codon 237 : GCG GTG	A V
	863:A T	Codon 288 : GAA GTA	E V
Z	1096:G A	Codon 366 : GAG AAG	E K
Null 1	552 : délétion de C	Codon 184 : TAC TAG	183 acides aminés au lieu de 418

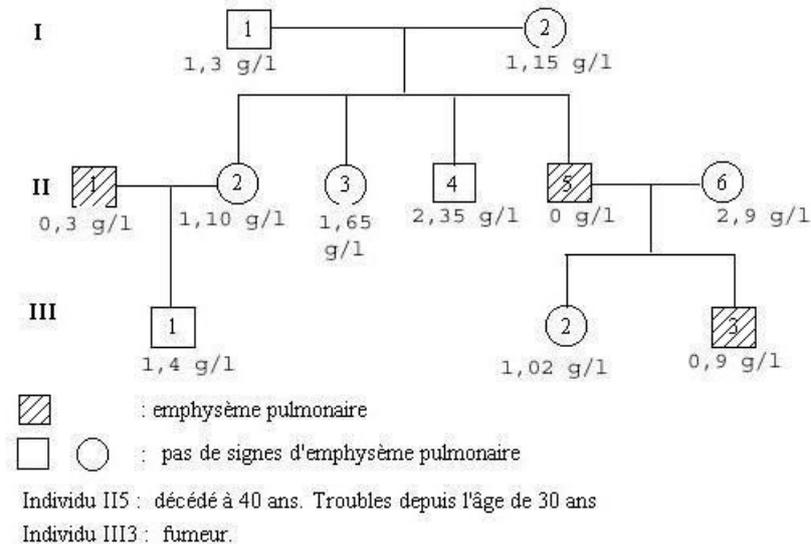
Null 2	710:C T	Codon 237 : GCG GTG	A V
	721:A T	Codon 241 : AAG TAG	240 acides aminés au lieu de 418

Tableau de comparaison des allèles de l'alpha AT et des protéines correspondantes

La comparaison **des allèles des membres de cette famille aux différents allèles du gène de l'alpha AT** permet de déterminer le génotype de chaque individu de la famille. L'arbre généalogique fourni

précisant les taux d'**alpha AT plasmatique des différents membres de la famille** ainsi que leur phénotype clinique, on pourra ainsi discuter de la relation génotype/phénotype.

Arbre généalogique d'une famille dont certains membres présentent des cas d'emphysème pulmonaire



Génotypes des individus de la famille

Individu	Génotype
I 1	M'1// Null 1
I 2	M1// Null 1
II 1	Z// Z
II 2	M'1// Null 1
II 3	M'1// Null 1
II 4	M'1// M1
II 5	Null 1// Null 1
II 6	M1// M1
III	M'1// Z
1	M1// Null 1
III	M1// Null 1
2	
III	
3	

Les deux allèles présents chez un individu s'expriment indépendamment l'un de l'autre. On trouve donc dans le sang, en cas d'hétérozygotie, les deux types d'alpha AT. On peut donc parler de

codominance à ce niveau. Cependant, au niveau clinique, on peut parler de phénotype normal dominant sur les phénotypes S, Z, Null 1 et Null 2. Ainsi :

- les personnes **qui possèdent deux allèles Null présentent les symptômes d'emphysème avant l'âge** de 30 ans et vivent rarement au-delà de 40 ans ;
- les individus de génotype Z//Z, donc qui possèdent des concentrations plasmatiques variant **entre 0,15 et 0,5 g/l d'alpha AT souffrent aussi d'emphysème, mais plus tardivement et leur** espérance de vie peut atteindre 60 ans ;
- **pour les individus ayant une concentration en alpha AT à la limite du risque d'emphysème (0,9 à**

1,2 g/l), le risque peut être fortement aggravé par des **facteurs de l'environnement comme la** fumée du tabac.

La possession d'un seul allèle normal suffit pour avoir une concentration suffisante d'alpha AT protectrice vis-à-vis de l'élastase.

Xeroderma

Informations scientifiques

Le phénotype xérodermique ou *Xeroderma pigmentosum*

Au niveau clinique : les symptômes de la maladie

Le *Xeroderma pigmentosum* se traduit par des anomalies de pigmentation de la peau. Les premiers **signes apparaissent très précocement, dès l'âge d'1 ou 2 ans. On observe d'abord une hypersensibilité**

aux rayons UV solaires (provoquant des érythèmes intenses), puis des altérations de la peau exposée (**sécheresse cutanée, taches hyperpigmentées, kératose**). **C'est donc une affection radio-induite.**

Des inflammations de la cornée et de la conjonctive **apparaissent dès l'âge de 4 ans. Des tumeurs cutanées et ophtalmiques sont fréquentes dès l'âge de 8 ans, et la fréquence des cancers cutanés est**

multipliée par presque 5 000 chez les sujets de moins de 20 ans, par rapport à un groupe témoin. Environ 20 % des malades développent aussi des anomalies neurologiques, avec une perte progressive des neurones du cortex cérébral.

L'espérance de vie des malades est réduite de 30 ans en moyenne par rapport à un groupe témoin.

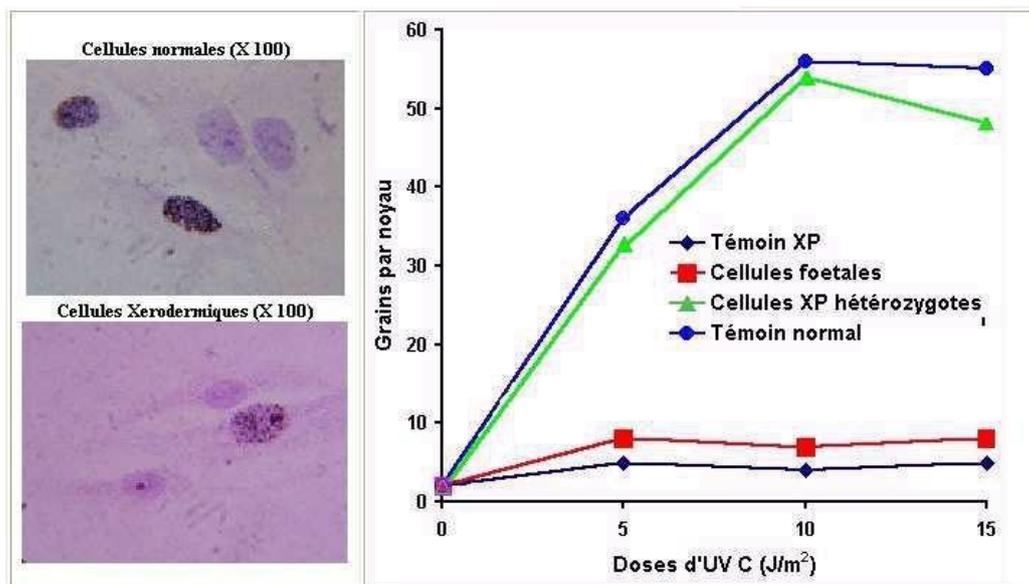
Au niveau cellulaire : les caractéristiques des cellules des malades

Les troubles observés résultent de l'atteinte de l'ADN des cellules (surtout des cellules cutanées) par les rayons UV (UVB surtout).

Une expérience permet de mettre en évidence les mécanismes déficients dans les cellules **d'un** individu xérodermique. La technique présentée ci-dessous est utilisée pour le diagnostic anténatal du

Xeroderma pigmentosum (elle se fait alors sur des cellules prélevées par biopsie du trophoblaste à la 9^e semaine ou sur des cellules prélevées lors d'**une amniocentèse à la 16^e** semaine) :

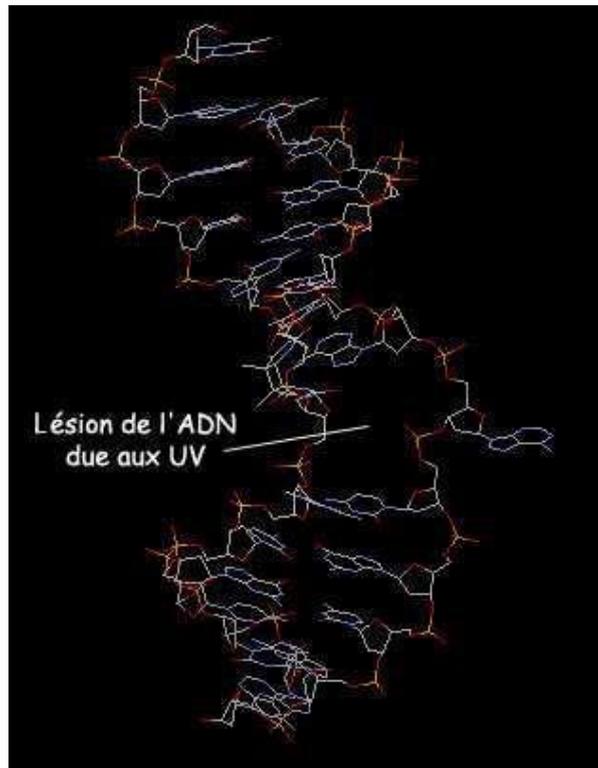
- protocole : des cellules préalablement irradiées aux UV sont mises en présence de thymidine tritiée ; la **mesure est effectuée par autoradiographie en comptant le nombre de grains d'argent** par noyau. Cette méthode de diagnostic est appelée méthode UDS (*Unscheduled DNA Synthesis*) ;
- résultats : on constate une incorporation de thymidine tritiée beaucoup plus importante dans les **cellules issues d'individus sains que dans les cellules des malades atteints de Xeroderma**, comme **l'indique le document** ;



Le diagnostic anténatal de Xeroderma pigmentosum : résultats par la méthode de l'UDS

interprétation : l'irradiation aux UV a entraîné l'apparition de nombreuses mutations dans l'ADN des cellules, notamment **la formation d'une liaison covalente entre deux pyrimidines adjacentes** sur un même brin ; il y a donc formation de dimères TT, CC, CT, TC. La formation de ces dimères a pour conséquence une distorsion de la double hélice (forte courbure de 7 à 44°), avec des

répercussions sur la transcription, la réplication. Le document suivant présente une molécule d'**ADN ainsi altérée (image obtenue à l'aide du logiciel RasTop - fichier ADNlese.pdb)**.



Dans les cellules normales, ces mutations sont détectées et réparées selon le mécanisme présenté plus loin ; il y a donc **incorporation de thymidine tritiée pour la synthèse de l'ADN reconstruit**. Dans les cellules de l'individu atteint de *Xeroderma*, cette incorporation n'a pas lieu, ce qui laisse penser que la **réparation de l'ADN ne se fait pas correctement**.

Habituellement, 80 % de l'ADN est réparé en quinze minutes ; chez les individus atteints de *Xeroderma*, le taux de réparation n'est que de 10 %.

Le phénotype cellulaire *Xeroderma* consiste donc en une hypersensibilité aux rayons UV due à un **défaut dans le processus de réparation des lésions de l'ADN provoqués par les rayons UV de la lumière solaire**.

Le schéma suivant présente de façon simplifiée les mécanismes réparateurs de l'ADN lésé, et l'image à

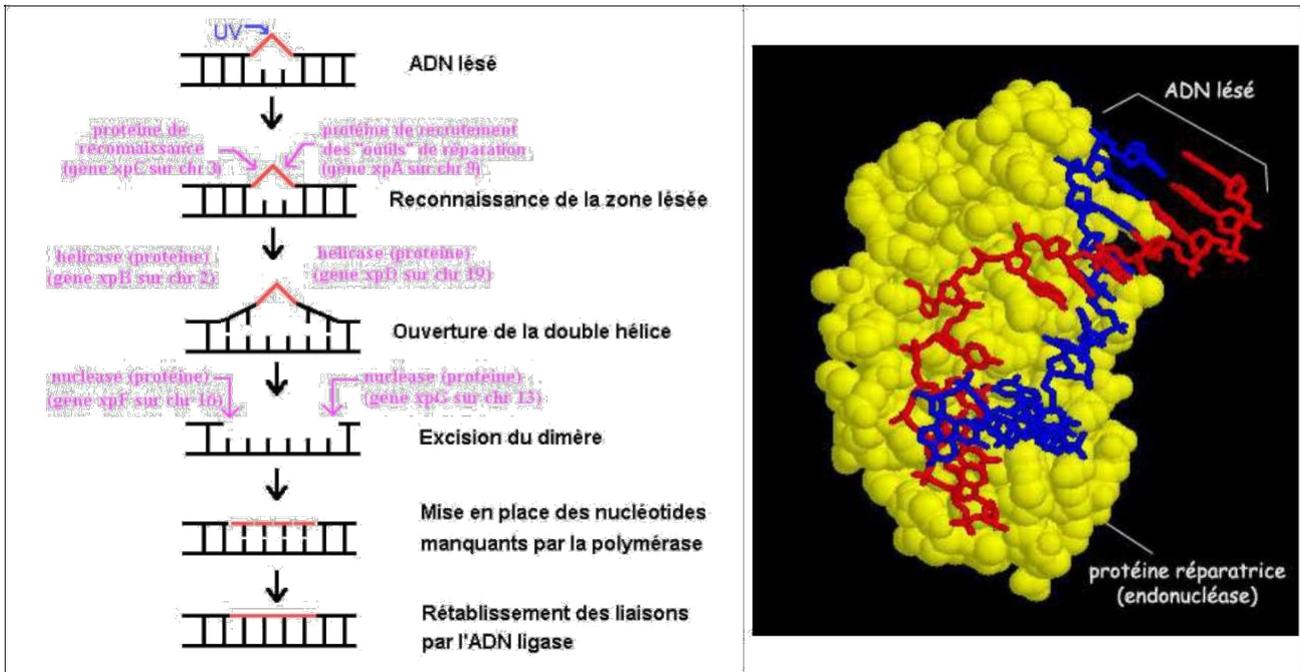
droite (obtenue avec le logiciel *RasTop*, fichier ADN-Prot-1vas.pdb) présente une protéine réparatrice

fixée

**sur
d'ADN.**

la

molécule



Déterminisme génétique du phénotype moléculaire

Chez l'Homme, une trentaine de protéines sont impliquées. Seules quelques-unes d'entre elles seront étudiées ici :

	Protéines impliquées	Gène impliqué
Recherche et reconnaissance de la lésion	<ul style="list-style-type: none"> XpC permet la fixation de la protéine xpA sur l'ADN. xpA est une protéine de 273 acides aminés à quatre doigts de zinc impliqués dans la liaison à l'ADN ; elle participe au recrutement des autres protéines 	<p>Le gène xpC est localisé sur le chromosome 3</p> <p>Le gène xpA est situé sur le chromosome 9</p>
Ouverture de la double hélice	<ul style="list-style-type: none"> 3xpD (ou ERCC2) et xpB (ou ERCC3), protéines ayant respectivement 760 et 782 acides aminés. Elles participent à l'ouverture de la double hélice sur environ 25 pb 	<p>Le gène xpD est situé sur le chromosome 19</p> <p>Le gène xpB est situé sur le chromosome 2</p>
Incision de part et d'autre de la lésion et excision	<ul style="list-style-type: none"> xpG (ou ERCC5) et xpF (ou ERCC4), protéines ayant respectivement 1186 et 916 acides aminés. Ce sont des endonucléases qui coupent respectivement en 3' et 5' de la lésion, incisant ainsi un fragment de 27 à 29 nucléotides. Elles clivent spécifiquement la molécule d'ADN au niveau où les deux brins se désolidarisent. 	<p>Le gène xpG est situé sur le chromosome 13</p> <p>Le gène xpF est situé sur le chromosome 16</p>
Resynthèse puis ligation	<ul style="list-style-type: none"> Plusieurs protéines sont impliquées, et interviennent notamment dans le recrutement des ADN polymérases qui vont « combler la brèche ». 	

Chez les individus atteints de *Xeroderma pigmentosum*, une des premières étapes de cette réparation est déficiente. Au moins huit gènes seraient impliqués dans cette maladie.

Relation génotype, phénotype, environnement

La seule solution thérapeutique reste la prévention : il s'agit de maintenir le malade à l'abri de toute lumière solaire. Les sujets atteints qui sortent dehors le jour doivent porter des vêtements à manches

longues, des pantalons longs, un chapeau à larges bords et des lunettes de soleil ; le visage et les mains doivent être protégés par une crème spéciale, à base d'**oxyde de zinc ou d'oxyde de titane** ; **les textiles utilisés ne doivent pas laisser passer la lumière. À l'intérieur, durant la journée, ils doivent se tenir** loin des fenêtres, et la lumière artificielle doit être émise par des lampes munies de filtres.

Les tumeurs sont enlevées au fur et à mesure de leur apparition, et on utilise des composés rétinoïdes pour empêcher leur progression. Des autogreffes de peau prélevée dans les parties non exposées au soleil sont également réalisées.

Pistes d'exploitation pédagogique des données fournies

L'exploitation des données fournies permet d'aborder les notions suivantes :

· le phénotype peut se définir à plusieurs niveaux ;

· le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype cellulaire et clinique ;

· plusieurs génotypes peuvent correspondre au même phénotype ;

il existe des relations de dominance/récessivité entre les allèles d'un gène ;

· **des facteurs de l'environnement peuvent avoir une influence sur le phénotype.**

Des données complémentaires sont disponibles sur le site *Biotic* de l'INRP (notamment en ce qui concerne la thérapie génique). D'autre part, il est à noter que les données fournies ici peuvent aussi être utilisées dans le cadre de l'étude du polymorphisme génique.



La diversité des phénotypes et les relations génotype/phénotype

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Relations génotype-phénotype à différents niveaux d'organisation du vivant/Le phénotype xeroderma permet d'accéder aux fichiers :**

- phenoxeroderma.bmp qui affiche un texte de présentation du phénotype xérodermique et des gènes mis en cause ;

- ADNnormal.bmp qui présente une visualisation 3D obtenue avec le logiciel *RasTop* (fichier ADNlese.pdb) **d'un fragment d'ADN altéré par des UV (formation d'un dimère entre deux bases pyrimidiques adjacentes, ce qui provoque une déformation de l'ADN) ;**

- protreparADN.bmp qui présente une visualisation 3D obtenue avec le logiciel *RasTop* (ADN-Prot-1vas.pdb) montrant une endonucléase positionnée sur **l'ADN à réparer ;**

- **repar.bmp qui affiche un schéma présentant de façon simplifiée les étapes d'un des mécanismes cellulaire de réparation de l'ADN.**

Fichiers des molécules en 3D

Dans le dossier 3D sous Anagene2, le répertoire **Xeroderma** contient les fichiers .pdb suivants : ADNlese.pdb et ADN-Prot-1vas.pdb.

L'étude de ces documents permet de définir le phénotype à différents niveaux

Phénotype clinique	Phénotype cellulaire	Phénotype moléculaire
Individu sain	Réparation rapide et efficace des altérations de l'ADN	Protéines du système de réparation de l'ADN fonctionnelles (protéines xpa, xpb...)
Individu atteint de Xeroderma	Réparation très réduite des altérations de l'ADN qui s'accumulent donc dans les cellules	Certaines protéines du système de réparation de l'ADN ne sont pas fonctionnelles

Le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype cellulaire et clinique

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre Polymorphisme xpa**

pour accéder à **Allèles xpa** qui charge le fichier xpa_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de

10 allèles du gène xpa (allèles xpa_Norm et xpa_1 à xpa_9).

Les résultats et conclusions des comparaisons entre les allèles d'un gène d'une part et les protéines correspondantes d'autre part sont fournies ci-dessous.

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpa Norm	Allèle de référence		
Xpa_1	En 216 G A	Codon 72 AGG AGA	Aucun changement de la séquence
Xpa_2	En 149 G T	Codon 50 TGT TTT	C F
Xpa_3	En 381 G C	Codon 127 CAG CAC	Q H
Xpa_4	En 457 C T	Codon 153 CGA TGA (codon stop)	Chaîne plus courte : 152 acides aminés au lieu de 215
Xpa_5	En 557 A G	Codon 186 CAT CGT	H R
Xpa_6	En 139 T G En 148 T A En 202 T G En 211 T A	Codon 47 TGC GGC Codon 50 TGT AGT Codon 68 TGT GGT Codon 71 TGC AGC	C G C S C G C S
Xpa_7	Délétion des nucléotides 59à78	Décalage du cadre de lecture	Chaîne plus courte : 35 acides aminés au lieu de 215
Xpa_8	Délétion du nucléotide C 200	Décalage du cadre de lecture Apparition d'un codon stop précoce	Chaîne plus courte : 80 acides aminés au lieu de 215
Xpa_9	Délétion des nucléotides 172 à 176	Décalage du cadre de lecture	Chaîne plus courte : 61 acides aminés au lieu de 215

Les protéines xpaNorm et xpa 1 sont fonctionnelles. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma** permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre **Polymorphisme xpb**

pour accéder à **Allèles xpb** qui charge le fichier xpb_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de 3 allèles du gène xpb (allèles xpb_Norm et xpb_1 et xpb_2).

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpb Norm	Allèle de référence		
Xpb_1	En 296 T C	Codon 99 TTC TCC	F S
Xpb_2	En 355 A C	Codon 119 ACT CCT	T P

La protéine xpbNorm est fonctionnelle. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma** permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre **Polymorphisme xpc**

pour accéder à **Allèles xpc** qui charge le fichier xpc_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de quatre allèles du gène xpc (allèles xpc_Norm et xpc_1 à xpc_3).

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpc Norm	Allèle de référence		
Xpc_1	En 2452 A C	Codon 818 AAA CAA	K Q
Xpc_2	Addition d'un triplet GTG en 1744, 1745, 1746	Codon 582 en plus	Un acide aminé en plus en 582 ; chaîne de 941 acides aminés au lieu de 940

Xpc_3	Délétion de deux nucléotides en 1137 et 1138	Décalage du cadre de lecture	Chaîne plus courte ; 401 acides aminés au lieu de 940
--------------	--	------------------------------	---

La protéine xpcNorm est fonctionnelle. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre Polymorphisme xpd**

pour accéder à Allèles xpd qui charge le fichier xpd_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de six allèles du gène xpd (allèles xpd_Norm et xpd_1 à xpd_5).

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpd Norm	Allèle de référence		
Xpd_1	En 1975 C T	Codon 659 CGG TGG	R W
Xpd_2	En 1553 A G	Codon 518 TAC TGC	Y C
Xpd_3	En 1976 G A	Codon 659 CGG CAG	R Q
Xpd_4	En 2104 C T	Codon 702 CAG TAG (codon stop)	Chaîne plus courte : 701 acides aminés au lieu de 707
Xpd_5	En 1309 C G	Codon 437 CTG GTG	L V
	Délétion à partir du nucléotide 2078	Manque tous les codons à partir du 693	Chaîne plus courte : 692 acides aminés au lieu de 707

La protéine xpdNorm est fonctionnelle. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre Polymorphisme xpf**

pour accéder à Allèles xpf qui charge le fichier xpf_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de sept allèles du gène xpf (allèles xpf_Norm et xpf_1 à xpf_6).

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpf Norm	Allèle de référence		
Xpf_1	En 2362 C T	Codon 788 CGG TGG	R W
Xpf_2	1471 G A	Codon 491 GAA AAA	E K
	1553 T C	516 ATT ACT	T I
Xpf_3	En 1666 G A	Codon 556 ACA GCA	T A
	Délétion du nucléotide 1937	Décalage du cadre de lecture	Chaîne plus courte ; 672 acides aminés au lieu de 905
Xpf_4	En 1332, 1333 addition de deux nucléotides	Décalage du cadre de lecture	Chaîne plus courte : 481 acides aminés au lieu de 905
Xpf_5	En 642 A G	Codon 214 ATA AGA	I M
	En 1504 G A	Codon 582 GCA AGA	G R
Xpf_6	En 1436 G A	Codon 479 CGG CAG	R Q
	En 1790 T C	Codon 597 CTT CCT	L P

La protéine xpfNorm est fonctionnelle. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma permet, par développement de l'arborescence, d'atteindre Polymorphisme xpg**

pour accéder à Allèles xpg qui charge le fichier le xpg_adn.edi affichant les séquences strictement codantes de trois allèles du gène xpg (allèles xpg_Norm et xpg_1 et xpg_2).

	Différences au niveau nucléique		Différences au niveau protéique
	Nucléotide modifié	Codon modifié	
Xpg Norm	Allèle de référence		
Xpg_1	En 2375 C T	Codon 792 GCG GTG	A V
Xpg_2	En 3076 G T	Codon 1026 GAG TAG (codon stop)	Chaîne plus courte ; 1025 acides aminés au lieu de 1185

La protéine xpgNorm est fonctionnelle. Les autres protéines ont une activité nulle ou réduite.

Bilan

Des mutations nombreuses et variées pour chacun des gènes impliqués, donc un polymorphisme important.

Type de mutation	Allèles
Substitution muette	Xpa1
Substitution faux-sens	xpa2, xpa3, xpa5, xpa6, xpc1, xpd1, xpd2, xpd3, xpf1, xpf2, xpf5, xpf6, xpg1
Substitution non-sens	xpa4, xpd4, xpg2
Délétions	xpa7, xpa8, xpa9, xpc3, xpd5, xpf3
Addition	xpc2, xpf4

Des mutations aux effets variés sur le phénotype moléculaire :

- **aucune variation de la séquence d'acides aminés (mutation muette) ;**
- **changement de la séquence d'acides aminés (mutations faux-sens ; additions) ;**
- protéine plus courte (délétions, mutations non-sens) ;
- des conséquences sur le phénotype cellulaire et clinique :
 - o une protéine plus courte sera non fonctionnelle ; donc le système de réparation des **altérations de l'ADN sera défaillant et les cellules vont devenir facilement cancéreuses ;**
 - o **une protéine dont la séquence change beaucoup sera aussi non fonctionnelle (le rôle d'une** protéine dépend de sa structure spatiale, elle-même déterminée par sa séquence), avec les mêmes conséquences que précédemment ;
 - o **le changement d'un seul acide aminé** aura des conséquences variables : elles seront importantes si cet acide aminé fait partie du site actif ou est important pour la structure spatiale de la protéine.



La complexité des relations génotype/phénotype

Séquences et documents

Fichiers des séquences

La commande **Xeroderma de la banque de thèmes d'étude permet, par développement de l'arborescence, d'accéder à :**

- **Génotypes famille1** qui charge le fichier allfam1xero.edi affichant les séquences strictement codantes des

allèles du gène xpc des individus de la famille 1, et les séquences des allèles du gène xpc présents dans cette famille. **Le génotype d'Adrien, Betty et Jérôme est xpcNorm//xpc1 ; celui de Priscille est**

xpcNorm//xpcNorm ; celui de Nicolas est xpc1//xpc1 ;

- **Génotypes famille2** qui charge le fichier allfam2xero.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène xpc des individus de la famille 1 et les séquences des allèles du gène xpc présents dans cette famille. Le génotype de Grégoire, Marie, Jean et Anne est xpcNorm//xpc2 ; celui de Mélanie est xpc2//xpc2

- **Génotypes famille3** qui charge le fichier allfam3xero.edi affichant les séquences strictement codantes des allèles du gène xpc des individus de la famille 1 et les séquences des allèles du gène xpc présents dans cette famille. Michel et Sylvie ont pour génotype : xpcNorm//xpc3 ; Agnès et Tristan ont pour génotype : xpc3//xpc3 ; Elodie a pour génotype xpcNorm//xpcNorm.

Documents fournis

La commande **Xeroderma de la banque de documents permet d'accéder aux fichiers :**

- **XeroarbreFamille1.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 1 dont l'un des enfants est atteint de xeroderma ;**

- **XeroarbreFamille2.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 2 dont l'un des enfants est atteint de xeroderma ;**

- **XeroarbreFamille3.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 3 dont deux des enfants sont atteints de xeroderma.**

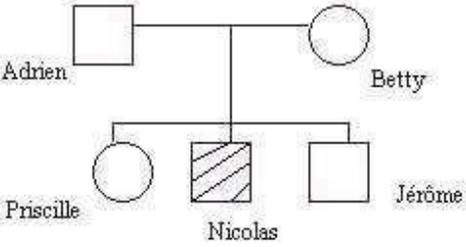
L'exploitation des données concernant les familles proposées permet de déterminer les relations de dominance/récessivité des allèles en cause, mais aussi de montrer qu'un phénotype xérodémique

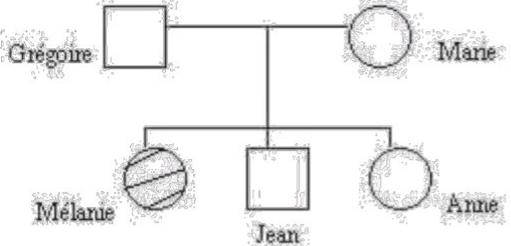
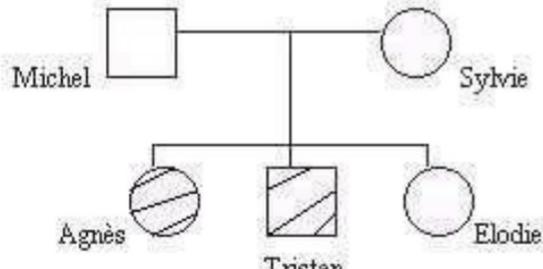
peut être dû à des mutations différentes.

Pour chaque famille, est fourni : l'arbre généalogique avec indication du phénotype clinique, les

séquences des allèles de chaque individu pour le gène concerné, les allèles de référence du gène concerné.

La comparaison des allèles de chaque individu permet de déterminer son génotype. Les résultats figurent ci-dessous :

Famille	Génotypes
 <p data-bbox="204 1803 220 1825">1</p> <p data-bbox="430 1832 550 1865">Famille1</p> <p data-bbox="220 1899 630 1933">(en hachuré: individu atteint de Xeroderma)</p>	<p data-bbox="821 1518 1364 1552">Adrien, Betty et Jérôme : xpcNorm//xpc1</p> <p data-bbox="965 1736 1236 1825">Priscille : xpcNorm//xpcNorm ; Nicolas : xpc1//xpc1</p>

 <p style="text-align: center;">Famille 2</p> <p>(en hachuré: individu atteint de Xeroderma)</p>	<p>Grégoire, Marie, Jean, Anne : xpcNorm//xpc2 Mélanie : xpc2//xpc2.</p>
 <p style="text-align: center;">Famille 3</p> <p>(en hachuré: individu atteint de Xeroderma)</p>	<p>Michel et Sylvie : xpcNorm//xpc3 Agnès et Tristan : xpc3//xpc3 Elodie : xpcNorm// xpcNorm</p>

La comparaison du génotype d'un individu hétérozygote avec son phénotype sain permet de dire que les allèles mutés sont récessifs par rapport à l'allèle normal. Ces relations de dominance/récessivité ne se conçoivent qu'au niveau du phénotype cellulaire et clinique, car tous les allèles s'expriment.

Des facteurs de l'environnement peuvent avoir une influence sur le phénotype

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Xeroderma** permet d'accéder au fichier protect.bmp qui affiche un texte précisant les précautions que doivent prendre les individus xérodermiques pour éviter les UV.

L'influence de facteurs de l'environnement comme les UV peut être mise en évidence en comparant le

phénotype de deux individus, ayant des génotypes identiques (par exemple xpc2//xpc2), mais qui **vivent dans des conditions différentes. En effet, si l'un de ces individus est exposé aux rayons UV, il développera très rapidement des cancers cutanés ; par contre, l'individu qui prendra toutes les mesures de protection nécessaires vis-à-vis des UV ne développera pas de cancers cutanés.**

Les possibilités d'édition de séquences offertes par le logiciel Anagène permettent à chaque enseignant

de créer ses propres exemples.



Prédisposition génétique au cancer du sein

Informations scientifiques

(d'après un article de la Société française de génétique humaine, écrit par les docteurs D. Stoppa-Lyonnet, Institut Curie, C. Bonaïti-Pellie, INSERM, et le professeur Yves-Jean Bignon, unité d'oncogénétique - centre J.-Perrin).

Le cancer du sein touche environ, dans nos populations, une femme sur douze vivant jusqu'à l'âge de 80 ans. Avec environ 26 000 nouveaux cas et 11 000 décès chaque année, c'est la première cause de mortalité par cancer chez la femme.

Il existe plusieurs prédispositions au cancer du sein. Seule l'une d'entre elle sera étudiée ici.

Certaines familles sont très touchées par le cancer du sein ; dans ces familles, le risque d'être touché

par ce cancer peut être multiplié par 8 à 10 par rapport à celui de la population générale. Environ 10 à 15 % de ces cancers du sein sont liés à la transmission selon un mode autosomique **dominant d'un allèle muté du gène BRCA1 ou du gène BRCA2 (la certitude qu'il s'agit d'une forme monogénique n'est obtenue que lorsqu'une mutation est identifiée).**

Ce mode de transmission peut être évoqué lorsque l'on constate l'association des critères suivants :

- nombre de cas élevé dans une même famille ;
- précocité des atteintes cancéreuses (moins de 40 ans) ;
- atteinte mammaire bilatérale ;
- **association fréquente avec un cancer de l'ovaire ;**
- **observation de cancer du sein chez l'Homme (rare).**

Chez les femmes ayant hérité d'une mutation dominante de ce gène, le risque tumoral mammaire est élevé : environ 38 % à 50 ans ; la pénétrance est donc élevée, mais pas totale.

Les gènes BRCA1 et BRCA2 ont été identifiés en 1994 et 1995, et sont localisés respectivement sur les chromosomes 17 (17q21) et 13 (13q14). Ces gènes sont de grande taille : 5 592 nucléotides répartis en 22 exons pour la séquence codante du gène BRCA1 ; 10 254 nucléotides répartis en 26 exons pour le gène BRCA2 ; les exons 11 de chacun de ces gènes sont de très grande taille.

Les gènes BRCA1 et BRCA2 font partie des gènes suppresseurs de tumeur : les protéines codées par **ces gènes sont localisées dans le noyau et sont impliquées dans la réparation de l'ADN, mais leur rôle précis n'est pas encore bien connu.**

Les gènes BRCA1 et BRCA2 ne sont pas impliqués dans les formes de cancer non héréditaires.

On connaît de très nombreuses mutations de ces gènes BRCA1 et BRCA2 (plus de 900 mutations **différentes connues au début de l'année 2000**) ; **la plupart de ces mutations sont de type**

« **inactivateur** », **c'est-à-dire qu'elles entraînent la synthèse d'une protéine non fonctionnelle.** On arrive

à **identifier la mutation en cause dans une famille (s'il y a implication du gène BRCA1 ou du gène BRCA2) dans environ 70 % des cas, en utilisant les techniques classiques (SSCP, DGGE, HA).** D'autre part, on constate que la plupart des cellules tumorales ont perdu l'allèle normal.

On estime la fréquence des sujets porteurs de mutations BRCA1 entre 1/500 et 1/2000, et celle des sujets porteurs de mutations BRCA2 entre 1/2150 et 1/700.

Chez les sujets atteints, un test génétique **peut être réalisé pour tenter d'identifier la mutation en cause ; cette recherche est très longue (plusieurs mois) car elle nécessite le criblage de l'ensemble des deux gènes.** Si une mutation a été identifiée, un diagnostic présymptomatique peut être réalisé chez les

personnes apparentées ; il s'agit d'un test simple, réalisable en quelques jours puisque la mutation a

été identifiée. Si le résultat est négatif, la surveillance sera celle proposée habituellement à la

population ; si le résultat est positif, une prise en charge adaptée est proposée avec une surveillance **accrue (mammographie annuelle dès l'âge de 30 ans, échographie annuelle pour dépister un cancer de l'ovaire à partir de 35 ans...)**.

Des facteurs environnementaux peuvent favoriser la survenue des cancers du sein chez les individus **porteurs d'un allèle muté : on a estimé que le risque tumoral mammaire chez une femme porteuse d'une mutation BRCA1 est près de trois fois plus important si elle est née après 1930 qu'avant. Il peut s'agir de facteurs alimentaires, qui influencent l'horloge hormonale.**

Pistes d'exploitation pédagogiques des données fournies

Les séquences et documents fournis ici permettent d'aborder, en première S, la notion de prédisposition familiale et de gènes de susceptibilité dans le cas d'un cancer : le cancer du sein. Cette étude sera l'occasion de mettre l'accent sur l'intérêt du dépistage et de la surveillance accrue des personnes à risque.



Phénotype clinique et moléculaire en relation avec le génotype

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Cancer du sein permet, par développement de l'arborescence, d'accéder à :

- **Allèles BRCA1** qui charge le fichier BCRA1.edi affichant **les séquences strictement codantes de l'allèle de référence** (allèle référence BRCA1) et de trois allèles mutés (allèle m1 BRCA1 - allèle m2 BRCA2 - allèle m3 BRCA3) du gène BRCA1, et des protéines correspondantes. Tous les allèles mutés fournis ici codent pour des protéines non fonctionnelles ;

- **Allèles BRCA2** qui charge le fichier BRCA2.edi affichant **les séquences strictement codantes de l'allèle de référence (allèle référence BRCA1) et d'un allèle muté (allèle m1 BRCA2) du gène BRCA2, et les protéines correspondantes. L'allèle muté fourni ici code pour une protéine non fonctionnelle ;**

- **Famille1 et allèles** qui charge le fichier BRCA1-famille1.edi affichant les allèles du gène BRCA1 des **membres de la famille 1 dont l'arbre généalogique (fichier Famille1BRCA.bmp)** est chargé simultanément. Les génotypes des membres de la famille sont les suivants :

(allèle ref. BRCA1//allèle ref. BRCA1) : I2, II1, II6 ; III1

(allèle ref. BRCA1//allèle mut2 BRCA1) : I1 ; II2 ; II3 ; II4 ; II5 ; III2 ; III3

Documents fournis

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Cancer du sein permet d'atteindre Gènes de susceptibilité pour charger les fichiers :

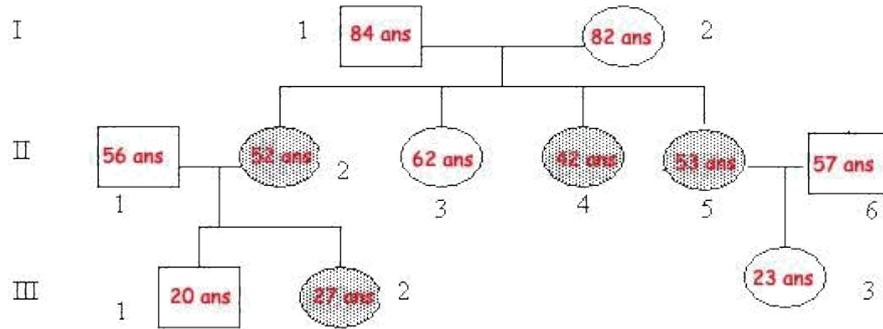
- genes.bmp qui affiche un texte de présentation des gènes BRCA1 et BRCA2 ;

- **courbe.bmp qui affiche la courbe indiquant la fréquence d'apparition d'un cancer du sein en fonction de l'âge chez des femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou du gène BRCA2 (d'après un article de**

Science, vol. 302, 24 octobre 2003) ;

- **arbreFamille1Cancer.bmp qui présente l'arbre généalogique de la famille 1. Dans cette famille, plusieurs cas de cancers du sein ont été observés, touchant plusieurs générations. Ils sont liés à la présence d'un allèle muté du gène BRCA1 (l'allèle mut2), qui provient à l'origine du père I1.**

Arbre de la famille 1



 Homme non atteint de cancer

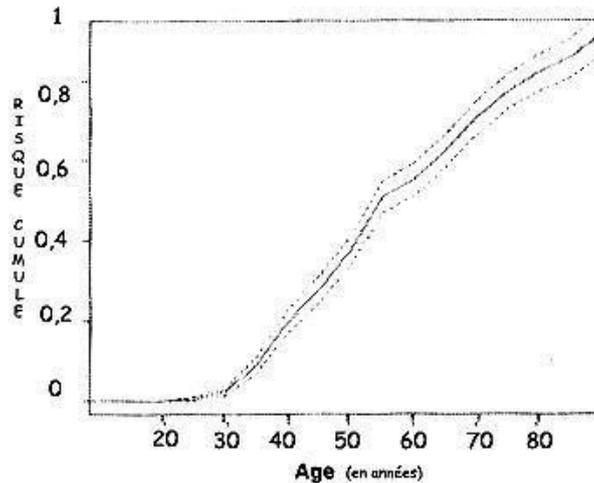
 Femme non atteinte de cancer

 Femme atteinte de cancer

II-2 – atteinte d'un cancer du sein à 38 ans
 II-4 – atteinte d'un cancer du sein à 32 ans,
 puis d'un cancer des ovaires à 36 ans
 II-5 – atteinte d'un cancer du sein à 52 ans
 III-2 – atteinte d'un cancer du sein à 26 ans

Le constat fait sur l'**arbre généalogique (nombre élevé de femmes atteintes d'un cancer du sein dans cette famille, âge précoce d'apparition du cancer)** suggère **l'implication d'un facteur héréditaire**. Le

texte de présentation des gènes BRCA et la courbe confirment que des mutations de certains gènes, comme BRCA1 et BRCA2 peuvent être mises en relation avec les phénotypes cancéreux étudiés, la **présence d'un allèle muté augmentant beaucoup le risque d'apparition d'un cancer du sein**.



Risque d'apparition d'un cancer du sein chez les femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou BRCA2 (d'après un article de Science, vol. 302, 24 octobre 2003)

Le travail réalisé à partir des séquences fournies permet de relier génotype/phénotype moléculaire et phénotype clinique.

Comparaison simple des allèles du gène BRCA1 et mise en relation avec la comparaison simple des protéines BRCA1 correspondantes (les séquences nucléiques étant très longues, l'alignement avec discontinuité est déconseillé avec des machines peu performantes)

Comparaison Ref et m1

Délétion de deux nucléotides (A et G en positions 68 et 69)

Décalage du cadre de lecture, donc modification des acides aminés à partir du 23e

Apparition précoce d'un codon stop donc protéine plus courte (38 acides aminés au lieu de 1863)

	50	60	70	80	90	100	110
Traitement	0						
allèle référence brca	CTATGCAGAAAACTTTAGAGTGTCCCATCTGTCTGGAGTTGATCAAGGAACCTGTCTCCACAAAGTGTG						
allèle m1 brca1	-----T--CC-ATC-G-C-GGA-TTGATCAAGGAACCTG-C--CA--A-GT---AC						
allèle m2 brca1	-----						
allèle m3 brca1	-----						
Traitement	0						
protéine ref. BRCA1	A M Q K I L E C P I C L E L I K E P U S T R C						
protéine m1 BRCA1	- - - - - U S H L S G U D Q G T C L H K U						
protéine m2 BRCA1	- - - - -						
protéine m3 BRCA1	- - - - -						

Sélection : 0/10 lignes

Comparaison Ref et m2

TAA = codon stop

Substitution C --> T en position 220
(le codon CAA 74 devient TAA)

	65	70	75
Traitement	< 0		
allèle référence brca	AAGAA	TGATATAACCAA	AGGAGCCTACAGAAAGT
allèle m1 brca1	G-ATGAT---	ACCAA--GGA-CCTAC-	AG-A-GTAC
allèle m2 brca1	-----T-----		
allèle m3 brca1	-----		
Traitement	< 0		
protéine ref. BRCA1	K N D I T K R S L Q E S		
protéine m1 BRCA1	- - - - -		
protéine m2 BRCA1	- - - - -		
protéine m3 BRCA1	- - - - -		

Protéine plus courte (73 acides aminés au lieu de 1863)

Comparaison Ref et m3

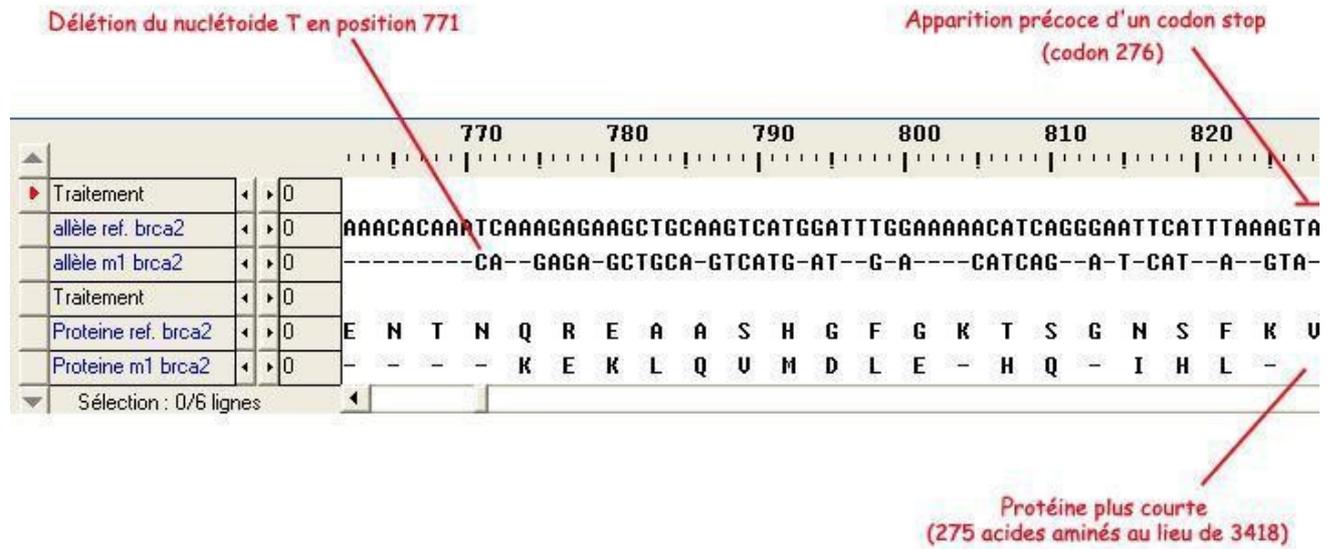
Apparition précoce d'un codon stop (codon 375)

Délétion du nucléotide C en position 1121

	1110	1120
Traitement	< 0	
allèle référence brca	TGAAGATGTTTCCTTGGATAA	CACTAAA
allèle m1 brca1	AAG-TG-TCCTTGGAT-AC-	TAA-T-
allèle m2 brca1	-----	
allèle m3 brca1	-----ACTA--T	
Traitement	< 0	
protéine ref. BRCA1	T E D U P W I T L	
protéine m1 BRCA1	- - - - -	
protéine m2 BRCA1	- - - - -	
protéine m3 BRCA1	- - - - -	N

Protéine plus courte (374 acides aminés au lieu de 1863)

Comparaison simple des allèles du gène BRCA2 et mise en relation avec la comparaison simple des protéines BRCA2 correspondantes :



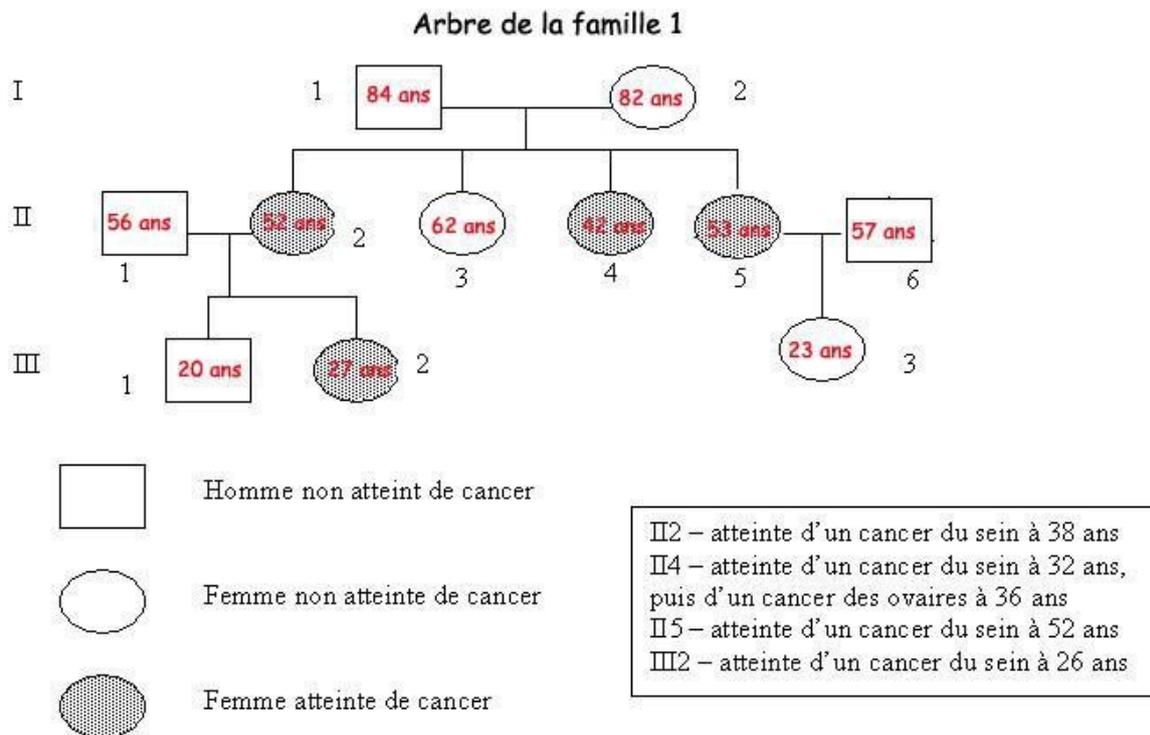
Conclusions

Les mutations présentes dans les allèles mutés fournis ici entraînent toutes la synthèse d'une protéine non fonctionnelle, le plus souvent tronquée à cause de l'apparition précoce d'un codon stop. Ces protéines ne peuvent donc remplir leur rôle réparateur de l'ADN dans la cellule, ce qui favorise l'apparition du cancer du sein.

Notion de prédisposition familiale

L'arbre généalogique suggère une prédisposition des femmes de cette famille au cancer du sein. Une des façons d'introduire le problème est de se demander si la femme III3 a un risque particulier d'avoir

un cancer du sein, étant donné que beaucoup de femmes de sa famille en ont été atteintes.



La comparaison des allèles des membres de la famille avec les allèles du gène BRCA1 permet :

- **d’identifier la mutation en cause dans cette famille : mutation m2 ;**
- **de montrer que l’allèle m2 a été apporté dans cette famille par le père I1 ;**
- de déterminer le génotype de chacun des individus :
 - o (allèle ref. BRCA1//allèle ref. BRCA1) : I2, II1, II6, III1 ;
 - o (allèle ref. BRCA1//allèle mut2 BRCA1) : I1, II2, II3, II4, II5, III2, III3 ;
- **de mettre en évidence le fait que les femmes malades sont hétérozygotes, donc qu’un seul allèle** suffit pour augmenter le risque de la maladie ;
- **de constater que la femme II3, bien qu’hétérozygote, n’a pas développé de cancer du sein, ce qui** permet de dire que le fait de posséder un allèle muté du gène BRCA1 n’implique pas forcément la maladie ;
- **de dire que la femme III3 est hétérozygote et qu’elle a donc un risque supérieur à la normale de** développer un cancer du sein.

On peut donc conclure que la possession d’un allèle muté du gène BRCA1 prédispose à l’apparition d’un cancer et que cette prévalence n’est pas totale. D’autre part, il faut bien que l’élève comprenne l’intérêt d’un dépistage de la présence d’un allèle muté du gène BRCA1 (ou 2) : il s’agit de pouvoir dire à une femme si elle a un risque particulier et de

lui proposer alors une surveillance accrue de façon à pouvoir intervenir précocement et à limiter les conséquences de la maladie.



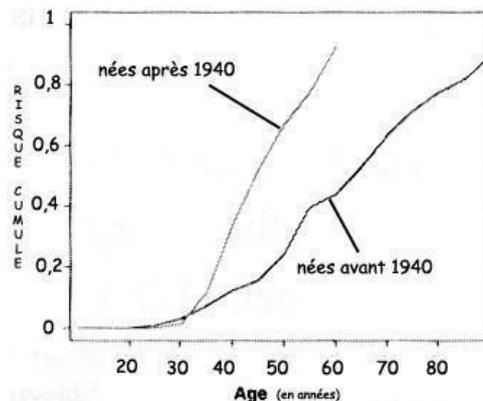
Influence d'autres facteurs

Documents

Dans la banque de documents, le chemin **Complexité des relations génotype-phénotype-environnement/Cancer du sein permet d'atteindre Influence de l'environnement** pour charger les fichiers :

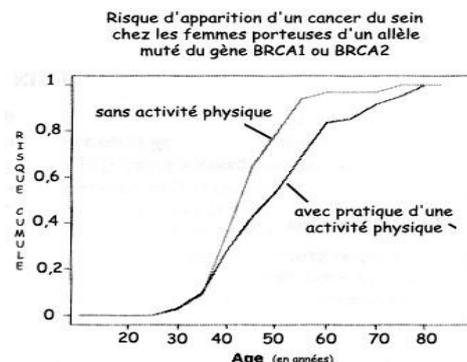
- preventionCancer.bmp qui affiche un texte présentant les mesures de prévention en faveur des personnes à risque particulier pour le cancer du sein ;
- age.bmp qui affiche une **courbe indiquant la fréquence d'apparition d'un cancer du sein (en fonction de l'âge) selon l'année de naissance, chez des femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou du gène BRCA2 (d'après un article de *Science*, vol. 302, 24 octobre 2003) ;**
- activite.bmp qui affiche une **courbe indiquant la fréquence d'apparition d'un cancer du sein (en fonction de l'âge) selon la pratique d'une activité physique chez des femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou du gène BRCA2 (d'après un article de *Science*, vol. 302, 24 octobre 2003).**

Ces documents permettent de mettre en évidence l'influence d'autres facteurs sur le phénotype « cancer du sein ».



Risque d'apparition d'un cancer du sein chez les femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou BRCA2 (d'après un article de *Science*, vol. 302, 24 octobre 2003)

Ainsi, le fait que les femmes porteuses d'un allèle muté BRCA1 aient un risque différent de développer un cancer du sein selon qu'elles sont nées avant ou après 1940 suggère l'influence d'un facteur de l'environnement, probablement lié à l'alimentation.



(d'après un article de *Science*, Vol 302, 24 octobre 2003)

Risque d'apparition d'un cancer du sein chez les femmes porteuses d'un allèle muté du gène BRCA1 ou BRCA2 (d'après un article de *Science*, vol. 302, 24 octobre 2003)

Enfin, le fait que les femmes porteuses d'un allèle muté BRCA1 aient un risque différent de développer un cancer du sein selon qu'elles sont actives physiquement ou non met aussi en évidence l'influence de l'environnement. Cette pluralité des facteurs de prédisposition à l'apparition d'un cancer est importante à dégager.

MORPHOGENÈSE VÉGÉTALE ET ÉTABLISSEMENT DU PHÉNOTYPE

Polymorphisme des gibbérellines

Informations scientifiques

Le phénotype nain chez quelques végétaux

Chez l'Épinard de l'espèce *Spinacia oleracea*, la plante se présente en rosette en périodes de jours

courts, mais lors du passage en jours longs, on observe une croissance importante de la tige. Cette **croissance, due essentiellement à une élongation des entrenœuds, est sous l'influence de la** photopériode et nécessite des hormones de croissance, les gibbérellines.

Chez le Pois de l'espèce *Pisum sativum*, on connaît des mutants qui présentent un phénotype en **rosette, dû à une croissance quasi nulle des entrenœuds. Plusieurs gènes sont mis en cause**, codant notamment pour des enzymes intervenant dans la chaîne de biosynthèse des gibbérellines.

Le phénotype « nain », qui se traduit par un port en rosette, semble donc dû à une croissance très **limitée des entrenœuds. Des hormones comme les gibbérellines, mais aussi un facteur de l'environnement (la photopériode) semblent contrôler cette croissance.**

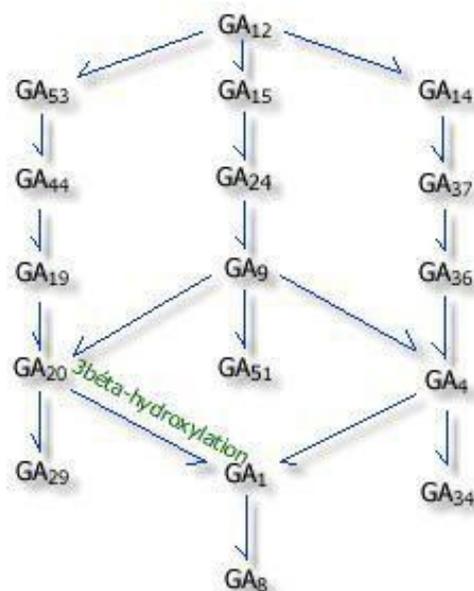
Les gibbérellines

Les gibbérellines sont produites dans les parties terminales des jeunes plantes (sauf dans les méristèmes), les pétioles, les jeunes feuilles.

Elles agissent notamment sur les cellules des entrenœuds en stimulant l'élongation cellulaire. Elles stimulent aussi la multiplication cellulaire au niveau des méristèmes intercalaires.

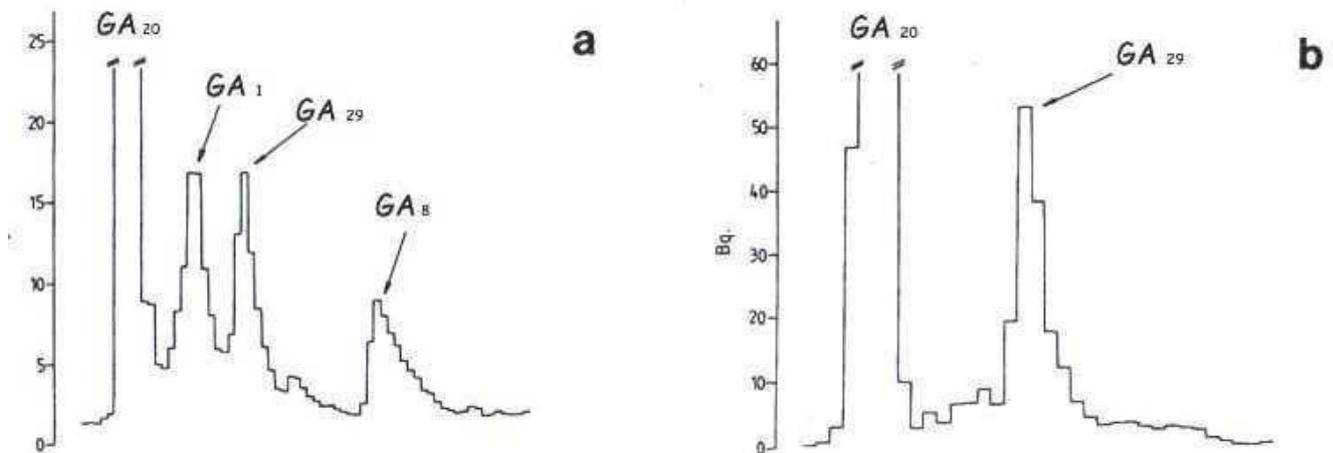
On connaît plus de cent gibbérellines différentes, qui sont **toutes des diterpènes. Mais toutes n'ont pas** la même activité et la même efficacité.

Le document ci-dessous présente les chaînes de biosynthèse des gibbérellines (chaque réaction est catalysée par une enzyme) :



Seule la gibbérelline GA₁ est active. Les gibbérellines GA₈, GA₂₉ et GA₃₄ résultent de la dégradation de leurs précurseurs.

On peut évaluer par une technique de chromatographie après marquage la quantité de quelques-unes des gibbérellines dans une plante. On peut ainsi comparer les gibbérellines présentes chez une plante de phénotype normal (a) et chez une plante de phénotype nain (b). Les résultats de ces chromatographies sont présentés ci-dessous :



Chez le Pois, le phénotype nain est donc dû à l'absence de transformation de la gibbérelline GA20 en gibbérelline GA1.

Les mutations affectant la synthèse de gibbérellines

On ne s'intéressera ici qu'à la réaction de synthèse de la GA1 à partir de la GA20, catalysée par une

enzyme « 3 bêta-hydroxylase ». Cette enzyme est codée par un gène appelé « Le » chez le Pois. Ce gène **s'exprime surtout dans la tige, la racine et les cotylédons du pois en croissance.**

Chez le Pois, on connaît plusieurs allèles de ce gène, dont les deux allèles « Le » (codant pour une enzyme fonctionnelle) et « le » (codant pour une enzyme non fonctionnelle).

Les homozygotes le//le présentent un phénotype nain en rosette ; ce nanisme est plus ou moins **accentué selon les allèles ; il est très important lorsque l'enzyme synthétisée est plus** courte que la normale, la mutation ayant fait apparaître un codon stop anticipé.

On connaît une variété de Pois « ultra-nain » dont la taille ne dépasse pas 1 cm ; le gène muté dans ce **cas n'est pas le gène « Le », mais le gène « Na », codant pour une enzyme** intervenant plus en amont dans la chaîne de biosynthèse.

L'influence de l'environnement

Des mesures réalisées chez l'Épinard ont permis de montrer l'influence de la photopériode sur la croissance des entrenœuds.

Le tableau ci-dessous donne les concentrations de quelques gibbérellines lors du passage « jours **courts/jours longs** » **chez l'Épinard (les valeurs sont données en ng/g de masse sèche) :**

Gibbérellines	0 jour long	4 jours longs	8 jours longs	12 jours longs
G453	5,9	6,6	7,9	7,1
GA44	2,2	8,8	15,2	17,4
GA19	15	27,5	54,2	45,0
GA20	1,4	6,9	18,1	23,1
GA1	1,0	3,5	3,7	5,1

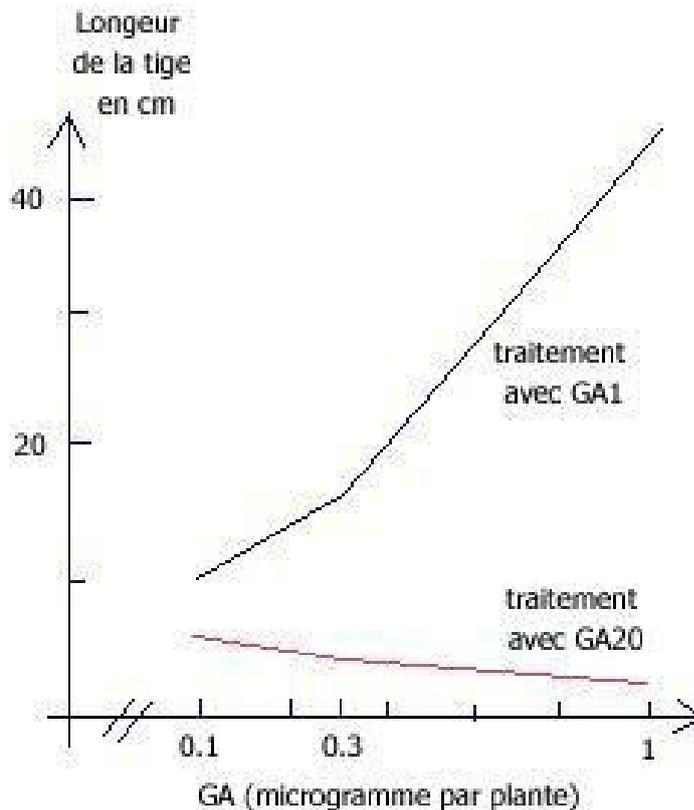
On constate donc que le passage en jours longs stimule toute la chaîne de biosynthèse de la gibbérelline GA8 à partir de la GA53.

On peut donc envisager l'**influence d'un facteur de l'environnement sur le génome : il y aurait** stimulation des gènes codant pour des enzymes impliquées dans cette chaîne de biosynthèse.

Des expériences réalisées chez l'Épinard ont permis de situer le niveau d'action de substances qui sont des inhibiteurs de croissance, comme le BX-112 par exemple. **L'une de ces expériences consiste à appliquer cet inhibiteur de croissance à un plant d'Épinard de jours longs, puis à appliquer des doses**

croissantes de GA20 et de GA1 ; les mesures sont effectuées après 22 « jours longs ».

Le graphique ci-dessous présente les résultats obtenus :



L'inhibiteur de croissance BX-112 empêche donc la réaction de transformation de la GA20 en GA1. Il semble agir au niveau du génome, en limitant l'expression du gène codant pour la 3 bêta-hydroxylase.

Pistes d'exploitation pédagogique des données fournies

Les données proposées permettent d'aborder les notions suivantes :

- le phénotype peut se définir à différentes échelles ;
- le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype cellulaire et macroscopique ;
- **le phénotype dépend du génotype, mais aussi de facteurs de l'environnement.**

Les résultats et conclusions que l'on peut obtenir à l'aide de ces données

sont présentés ci-après.  **Le phénotype nain chez les végétaux peut être défini à plusieurs niveaux**

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Morphogenèse végétale et établissement du

phénotype/Phénotype végétal, génotype et environnement/Polymorphisme des gibbérellines : Polymorphisme gène LE permet d'atteindre la commande Allèles gène LE qui charge le fichier alleles-LE.edi affichant les séquences strictement codantes de cinq allèles du gène de la 3 beta-hydroxylase ; l'allèle

« Le » est l'allèle normal ; les allèles « le1 », « le2 », « le3 », « le4 » sont des allèles mutés codant pour des enzymes non fonctionnelles.

Documents fournis

Dans la banque de documents, le chemin **Morphogenèse végétale et établissement du phénotype/Phénotype végétal, génotype et environnement permet d'atteindre Phénotype nain et synthèse**

des gibbérellines pour charger les fichiers :

- phenotypenain.bmp qui affiche un texte présentant les caractéristiques macroscopiques et cellulaires du **phénotype nain chez les végétaux ; ce texte signale aussi l'importance des gibbérellines pour une croissance** normale de la plante ;

- biosynth-gibb.bmp par la commande **biosynthèse gibbérellines** affichant un schéma présentant différentes voies de la biosynthèse des gibbérellines ;

- **chromato.bmp présentant les résultats d'une chromatographie comparative entre un Pois normal et un Pois nain.** Cette chromatographie révèle les quantités relatives de quelques gibbérellines et permet de relier ainsi le phénotype macroscopique au phénotype biochimique.

	Phénotype macroscopique	Phénotype cellulaire	Phénotype biochimique	Phénotype moléculaire
Plante normale	Développement normal - entrenœuds développés	Élongation cellulaire normale - Multiplication cellulaire normale	Présence de GA1 en grande quantité	Enzyme 3 bêta-hydroxylase fonctionnelle
Plante naine	Plante en rosette - entrenœuds très courts	Élongation cellulaire très réduite et multiplication cellulaire limitée	Quantités de GA1 très réduites	Enzyme 3 bêta-hydroxylase inactive

La mise en relation de la comparaison des allèles du gène pour la 3 bêta-hydroxylase avec la **comparaison des protéines correspondantes permet d'aboutir aux résultats** et conclusions suivants :

Allèle	Changements dans la séquence nucléique	Changements dans la séquence protéique	Type de mutation	Conséquences
Allèle Le	référence			
Allèle le1	Del du G en 376	Modification à partir de l'acide aminé 126, et polypeptide plus court (172 acides aminés au lieu de 374)	Décalante	Enzyme non fonctionnelle, donc pas synthèse de GA1, donc entrenœuds plus courts et port en rosette
Allèle le2	G A en 685 (GCC ACC en position 229)	A T en 229	Faux-sens	
Allèle le3	C T en 826 (CAT TAT en 276)	H Y en 276	Faux-sens	
Allèle le4	A T en 267 (TTA TTT en 89) C T en 826 (CAT TAT en 276)	L F en 89 H Y en 276	Faux-sens Faux-sens	



Le phénotype dépend aussi de facteurs de l'environnement

Documents

Dans la banque de documents, le chemin **Morphogenèse végétale et établissement du phénotype/Phénotype végétal, génotype et environnement permet d'atteindre Influence de l'environnement** pour charger les fichiers :

- **exenvironnement.bmp** qui affiche les résultats de mesures mettant en évidence l'influence de la photopériode sur la chaîne de biosynthèse des gibbérellines ;

- **inhibcroissance.bmp** qui présente les résultats d'une expérience menée chez l'Épinard et mettant en évidence l'influence d'une molécule chimique (un inhibiteur de croissance : le BX 112) sur la chaîne de biosynthèse des gibbérellines.

L'analyse des documents fournis met en évidence l'influence de facteur de l'environnement sur le génotype :

- **l'allongement de la photopériode stimule l'expression de certains gènes, favorisant ainsi la chaîne** de biosynthèse de la GA1 ;
- **des substances chimiques comme l'inhibiteur de croissance BX112 inhibe l'expression de certains** gènes, ce qui réduit la production de GA1 ; la plante possède alors un phénotype nain, alors

qu'aucune mutation particulière n'affecte les gènes en cause.

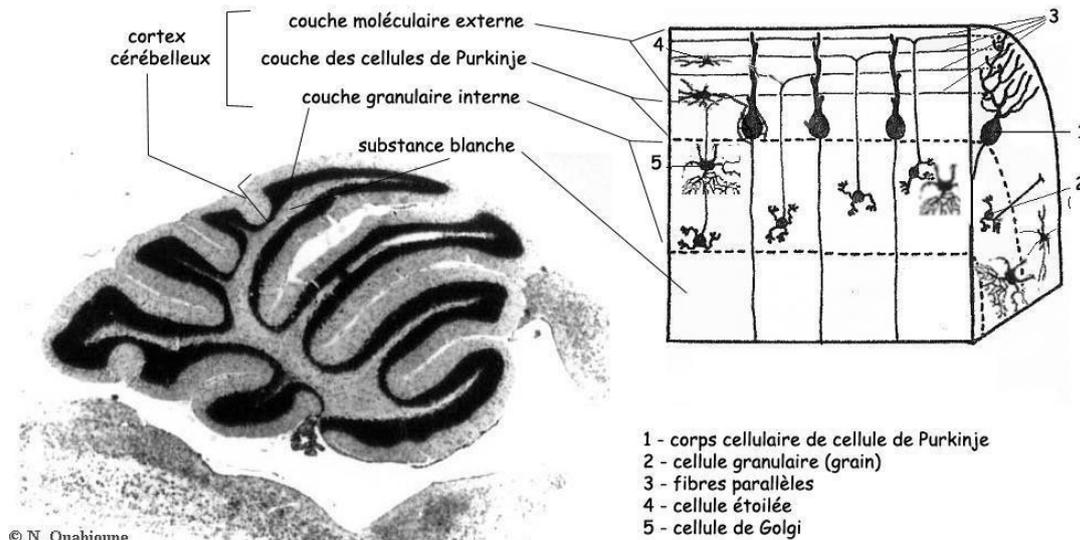
GÉNOTYPE, ENVIRONNEMENT ET FONCTIONNEMENT DU SYSTÈME NERVEUX

Les phénotypes « mutants cérébelleux »

Informations scientifiques

L'organisation du cortex cérébelleux

Le cortex cérébelleux est une petite structure relativement simple qui ne contient que cinq types cellulaires organisés en trois couches :



Coupe parasagittale d'un cervelet de souris normale

- **la couche externe ou moléculaire**, qui contient les arborisations dendritiques des cellules de Purkinje, les axones des cellules olivaires ou fibres grimpantes, les axones des cellules granulaires ou fibres parallèles, ainsi que des interneurones (cellules étoilées et cellules en corbeille) ;
- **la couche moyenne ou couche des cellules de Purkinje** qui contient le corps des cellules de Purkinje répartis en une seule assise ;
- **la couche interne ou granulaire** dont les éléments dominants sont des corps cellulaires très nombreux et de petite taille, les grains ou cellules granulaires. Les axones de ces cellules remontent dans la couche moléculaire et se divisent en « T » en formant de longues branches, les fibres parallèles. Cette couche interne contient aussi des cellules de Golgi, localisées au voisinage du soma des cellules de Purkinje.

Le cortex cérébelleux est une structure hautement répétitive, constituée au niveau microscopique par la répétition un très grand nombre de fois du même circuit élémentaire. Ce circuit est organisé autour de la cellule de Purkinje.

Il existe essentiellement deux systèmes excitateurs : les fibres grimpantes et les fibres moussues ; il existe également des interneurones inhibiteurs : les cellules de Golgi, les cellules en panier et les cellules étoilées.

La cellule de Purkinje est l'élément central du réseau synaptique cortical cérébelleux : les

interneurones de la couche moléculaire, cellules étoilées et en corbeille, ainsi que les cellules des grains de la couche granulaire interne se projettent majoritairement sur les cellules de Purkinje. Cette

cellule de Purkinje a une forme spécifique, avec notamment un réseau dendritique très développé. **L'axone, qui émerge de la région basale du corps cellulaire, traverse la couche granulaire interne,**

rejoint la substance blanche et se termine dans les noyaux profonds ou même en dehors
du cervelet,
au niveau des noyaux
vestibulaires.

Des cellules gliales existent aussi dans le cervelet : les cellules macrogliales (astrocytes et oligodendrocytes), qui contribuent à la croissance et à la survie des neurones, et les cellules microgliales, qui constituent la principale population de macrophages cérébraux.

Les fonctions du cervelet

Le cervelet reçoit des afférences du cortex moteur, des récepteurs cutanés proprioceptifs, visuels, tactiles et auditifs, et des récepteurs viscéraux.

L'archéocervelet (lobe floculo-nodulaire) contrôle les mécanismes de la station érigée ; il intervient sur les mécanismes réflexes du **redressement et de l'équilibration**.

Le paléocervelet (vermis) contrôle la motilité axiale et la motilité d'attitude.

Le néocerelet (lobes latéraux) intervient dans la régulation du geste.

Les phénotypes mutants cérébelleux chez la Souris

On connaît plusieurs phénotypes « mutants cérébelleux » chez la Souris.

Les mutants « staggerer » (sg)

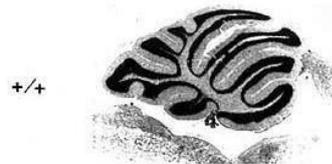
Ces mutants présentent un syndrome ataxique grave et survivent difficilement après le sevrage. Dès le 8^e jour, le souriceau staggerer est très hésitant dans sa démarche, avec une tendance à tituber et à traîner les pattes. Il présente un cervelet atrophié, avec des cellules de Purkinje en nombre très réduit (60 à 90 % des cellules manquent à un mois), et avec un arbre dendritique réduit.

Vue externe du cervelet

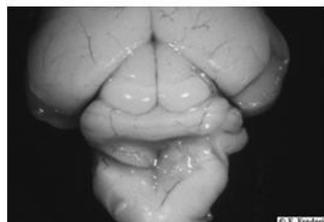


souris sauvage

Coupe parasagittale du cervelet



© N. Ouahioume



souris mutant staggerer

sg/sg



© N. Ouahioume

On observe chez ces mutants des anomalies biochimiques au cours du développement du cervelet, **liées à un déficit de l'activité d'une neuramidase dans le cervelet, ainsi qu'une réduction de la concentration en thymidine kinase**. Ces mutants présentent aussi une susceptibilité exagérée à **l'athérosclérose, probablement liée à une baisse du HDL**.

Cette mutation autosomale récessive d'un gène situé sur le chromosome 9 s'exprime directement dans

les cellules de Purkinje. Le gène a été récemment cloné, et il code pour le facteur de transcription **ROR-alpha, qui est un récepteur nucléaire appartenant à la même famille que les récepteurs à l'acide 9-cis-rétinoïque (récepteurs des hormones thyroïdiennes et stéroïdiennes...)**. La protéine ROR-alpha est fortement exprimée dans les cellules de Purkinje durant le développement postnatal du cervelet.

La mutation staggerer correspond à une délétion se produisant dans la partie du gène codant pour le **site de liaison sur l'ADN**. **L'absence de fonctionnalité de la protéine ROR-alpha pourrait modifier les interactions avec d'autres protéines, notamment les récepteurs nucléaires des hormones**

thyroïdiennes, qui jouent un rôle aussi bien dans le développement du système nerveux que dans la différenciation des cellules de Purkinje. Compte tenu du rôle central de cette cellule dans le réseau

synaptique cortical du cortex cérébelleux, on comprend que son absence ou l'**atrophie de son arbre dendritique puisse être à l'origine d'un développement anormal du cervelet, d'où le comportement** ataxique observé.

Chez l'hétérozygote, le développement du cervelet est quasi normal, mais on observe tout au long de

la vie une perte progressive et partielle des cellules de Purkinje et une réduction de leur arbre dendritique.

Les mutants « reeler » (rl)

Ces mutants présentent un syndrome ataxique grave : ils titubent, chancellent. Les mouvements

n'atteignent pas leur but, bien que leur force soit normale. L'animal est tremblant et a un comportement d'évitement pour réaliser certaines tâches.

Ce phénotype est lié à **une mutation d'un gène situé sur le chromosome 5 ; cette mutation, autosomale**

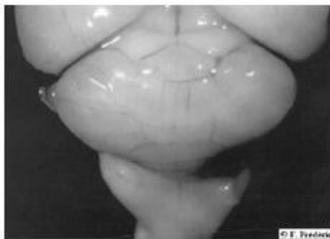
récessive, affecte le développement embryonnaire du cerveau, et atteint surtout les structures **laminées comme le cervelet, le cortex cérébral et l'hippocampe.**

Chez l'embryon de Souris mutante, la migration des neurones se déroule normalement jusqu'au moment où ces neurones arrivent à destination. L'organisation normale en couches ne se fait alors pas correctement ; la disposition des cellules de Purkinje et l'orientation des neurones pyramidaux deviennent aléatoires, et le cervelet apparaît désorganisé et constitué de l'emboîtement de deux couches (un cortex cérébelleux d'architecture normale, mais atrophié, et à l'intérieur une masse

cellulaire comportant la plupart des cellules de Purkinje mélangées aux cellules des noyaux profonds).

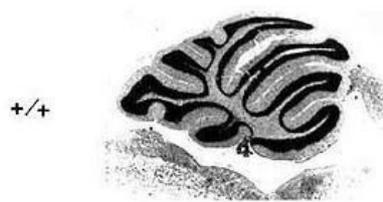
Dès les premières semaines, on observe une perte de 50 % des cellules de Purkinje.

Vue externe du cervelet

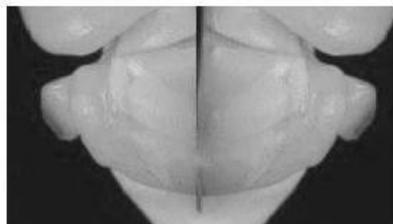


souris sauvage

Coupe parasagittale du cervelet

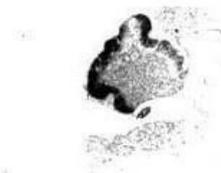


© N. Ouahioune



rl/rl

souris mutant reeler



750 µm

© N. Ouahioune

Le gène en cause a récemment été cloné ; il s'exprime très tôt au cours du développement et code pour

une protéine « reelin » qui est une grosse protéine (400 kDa) de la matrice extracellulaire. Une des **mutations consiste en une délétion d'un exon, ce qui aboutit probablement à une protéine tronquée** dans sa partie C-terminale ; la protéine est alors retenue dans le RER où elle s'accumule.

Le développement du cervelet est normal chez l'hétérozygote.

Ces mutants constituent de bons modèles pour étudier l'implication du génotype dans la mise en

place des réseaux neuroniques et donc du fonctionnement du système nerveux.

Pistes d'exploitation pédagogiques des données fournies

Les données proposées sur les phénotypes mutants cérébelleux chez la Souris permettent d'aborder les notions suivantes :

- le phénotype peut se définir à différentes échelles ;
- le génotype détermine le phénotype moléculaire, lui-même responsable du phénotype clinique ;
- un même phénotype clinique peut correspondre à plusieurs génotypes.

Cet exemple peut être utilisé pour bâtir un exercice permettant aux élèves de mobiliser les **connaissances et méthodes de travail acquises à propos de l'étude d'autres exemples de phénotypes** alternatifs.

Séquences et documents

Fichiers des séquences

Dans la banque de thèmes d'étude, le chemin Génotype, environnement et fonctionnement du système nerveux/Les phénotypes mutants cérébelleux staggerer et reeler permet d'atteindre :

- **Polymorphisme gène Rora/mutation staggerer** qui charge le fichier mutationStaggerer.edi affichant les **séquences nucléiques strictement codantes de l'allèle normal (allèle RORa Norm) et de l'allèle muté staggerer** (allèle RORa staggerer) du gène codant pour la protéine ROR alpha ; séquences protéiques correspondantes (ProtRORa Norm et ProtRORa staggerer) ;
- **Polymorphisme gène Reelin/mutation reeler** qui charge le fichier mutationReeler.edi affichant les **séquences nucléiques strictement codantes de l'allèle normale (allèle reelin normal) et de l'allèle muté reeler** (allèle reeler) ; séquences protéiques correspondantes.

Documents fournis

Le développement de l'arborescence de Génotype, environnement et fonctionnement du système nerveux de la banque de documents permet d'atteindre Les phénotypes mutants cérébelleux staggerer et reeler

pour charger les fichiers :

- **cervelet.jpg qui présente la dissection d'un Souris normale** montrant les centres nerveux et permettant de **localiser le cervelet ; la photo légendée est accompagnée d'un petit texte précisant le rôle du cervelet ;**
- **coupecervelet.jpg qui présente la coupe de cervelet (coloration à la thionine phéniquée) permettant de voir son organisation et schéma de l'organisation tissulaire du cortex cérébelleux ; la photo et le schéma sont accompagnés d'un petit texte insistant sur les points importants de l'organisation du cortex cérébelleux ;**
- **staggerercervelet.bmp qui montre la comparaison des cervelets de Souris normale et de Souris mutante staggerer en vue externe et en coupe parasagittale (coloration à la thionine phéniquée) ;**
- **reelercervelet.bmp qui montre la comparaison des cervelets de Souris normale et de Souris mutante reeler en vue externe et en coupe parasagittale (coloration à la thionine phéniquée)**

- **phenotypestaggerer.bmp qui affiche un texte de description du phénotype des mutants staggerer ;**
- **phenotypereeler.bmp qui affiche un texte de description du phénotype des mutants reeler ;**
- **geneStaggerer.bmp qui affiche un texte présentant le gène mis en cause chez les mutants staggerer ;**
- **geneReeler.bmp qui affiche un texte présentant le gène mis en cause chez les mutants reeler.**

NB : Pour comparer les allèles dont la différence de taille est importante, il est préférable d'utiliser le mode de comparaison « alignement avec discontinuités ».



Les phénotypes peuvent être définis à plusieurs niveaux

	Phénotype mutant staggerer	Phénotype mutant reeler
Phénotype clinique	Ataxie grave - cervelet de taille nettement inférieure à la normale	Ataxie grave - cervelet de taille nettement inférieure à la moyenne

Phénotype cellulaire	Nombre très réduit de cellules de Purkinje, celles qui sont présentes ayant un arbre dendritique très réduit. Désorganisation du cervelet.	Perte de 50 % des cellules de Purkinje dès le premier mois. Désorganisation du cervelet.
Phénotype moléculaire	Protéine ROR alpha (facteur de transcription) anormale	Protéine Reelin anormale



Déterminisme génétique chez le mutant staggerer

L'allèle RORa staggerer diffère beaucoup de l'allèle RORa Norm : il ne possède que 1 452 nucléotides au lieu de 1 572 chez l'allèle RORa Norm. La mutation consiste donc en une grosse délétion de toute

une séquence de 120 nucléotides. Cet allèle muté code donc pour une protéine RORa tronquée donc **non fonctionnelle. Cette protéine étant indispensable à la mise en place et à l'organisation du cortex**

cérébelleux, et surtout au bon développement des cellules de Purkinje (cellules jouant un rôle fondamental dans le cervelet), le cervelet de ces mutants sera désorganisé. Cet organe ayant un rôle important dans le maintien de la posture et le contrôle des mouvements, les Souris mutantes staggerer auront donc des mouvements désordonnés, et présenteront une ataxie importante.



Déterminisme génétique chez le mutant reeler

L'allèle reeler diffère beaucoup de l'allèle reelin normal : il est beaucoup plus court. Cet allèle code

donc pour une protéine reelin tronquée donc non fonctionnelle. Cette protéine étant indispensable à la bonne disposition des cellules lors du développement du cervelet, le cervelet de ces mutants sera désorganisé. Cet organe ayant un rôle important dans le maintien de la posture et le contrôle des mouvements, les Souris mutantes staggerer auront donc des mouvements désordonnés, et présenteront une ataxie importante.



Un même phénotype clinique peut correspondre à plusieurs génotypes

Les Souris mutantes staggerer et reeler présentent pratiquement les mêmes symptômes (ataxie sévère) et ont toutes deux un cervelet de taille réduite et mal organisé. Pourtant, leur génotype est différent, puisque ce ne sont pas les mêmes gènes qui sont en cause dans les deux cas (gène RORa pour les mutants staggerer et gène Reelin pour les mutants reeler).

Ces données apportent aussi des arguments en faveur d'une influence du génotype sur la mise en

place des réseaux de neurones et le fonctionnement du système nerveux, et peuvent donc être aussi utilisées **dans la partie du programme intitulée « La part du génotype et la part de l'expérience**

individuelle dans le fonctionnement du système nerveux ».