

DU GENOTYPE AU PHENOTYPE, APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES

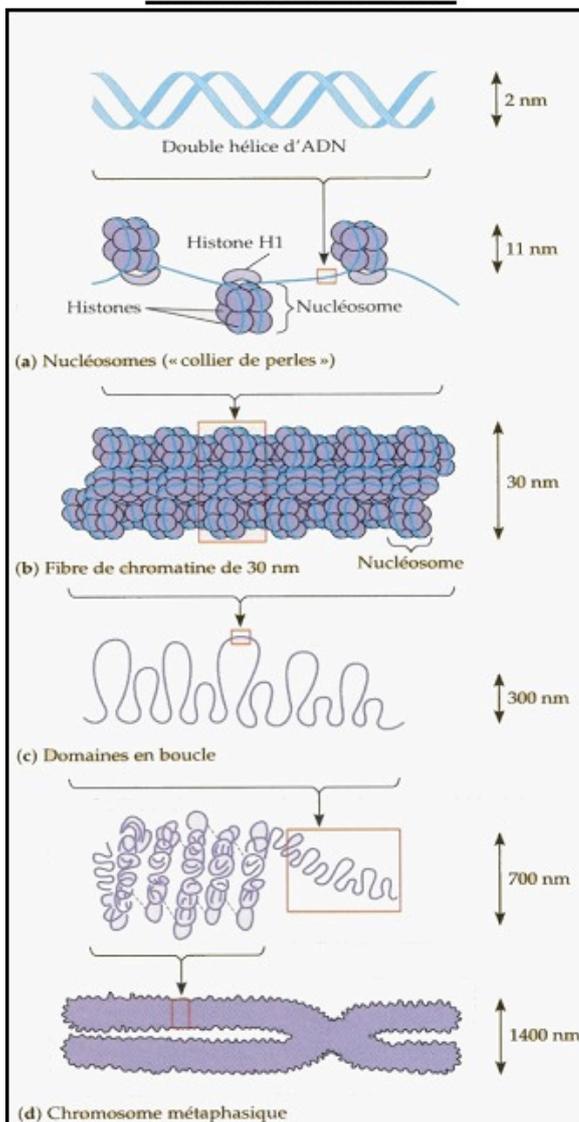
Chaque individu présente les caractères de l'espèce qui lui sont propres. C'est le résultat de l'expression de son programme génétique.

L'information génétique se trouve dans le noyau, elle est portée par les chromosomes. Chaque chromosome porte des gènes, qui déterminent des caractères héréditaires. En général dans une cellule un gène existe en deux exemplaires, occupant la même position sur chacun des deux chromosomes d'une paire. Les allèles représentent les différentes versions d'un gène.

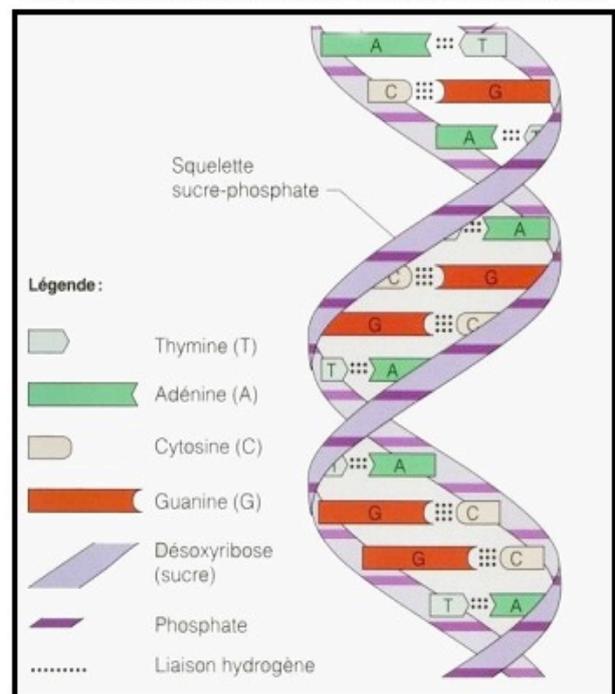
Chaque chromosome contient une molécule d'ADN qui porte ces nombreux gènes. L'ADN est formé de deux chaînes complémentaires de nucléotides. La séquence des nucléotides au sein d'un gène constitue un message. Les cellules possèdent, pour un même gène, soit deux fois le même allèle, soit deux allèles différents.

La transgénèse (le transfert de matériel génétique d'une espèce à l'autre) repose sur l'universalité de la molécule d'ADN en tant que support de l'information génétique.

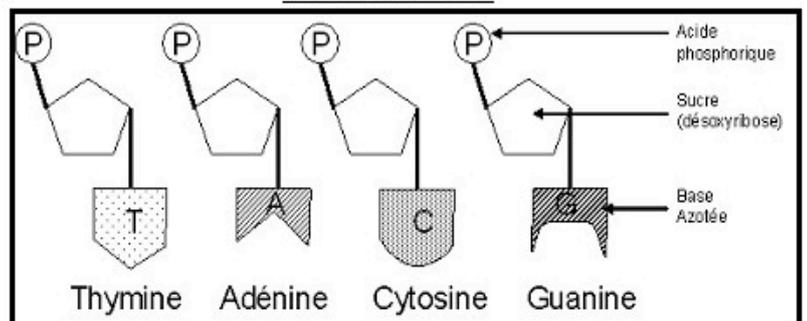
De l'ADN au Chromosome



Structure en double hélice de la molécule d'ADN



Les 4 Nucléotides



1- Les niveaux d'organisation du vivant

Un organisme est composé de cellules, elles-mêmes composées de molécules. L'ensemble des caractéristiques observables d'un individu correspond à son phénotype.

Certains caractères sont directement observables, tandis que d'autres sont présents au niveau des cellules et des molécules.

1-1-Au niveau de l'organisme : le phénotype macroscopique

Ce sont les caractères morphologiques d'un individu : la couleur de la peau, des yeux et des cheveux, la taille, la forme du nez, etc. .

1-2-Au niveau de la cellule : le phénotype cellulaire

La microscopie optique ou électronique permet l'étude des caractéristiques structurales et fonctionnelles des cellules d'un individu.

1-3-Au niveau de la molécule : le phénotype moléculaire

Des analyses variées (électrophorèse, test ABO, ...) rendent accessibles les caractères physiologiques et biochimiques d'un individu. On cherche à expliquer un caractère du phénotype en étudiant différentes molécules de l'organisme, essentiellement de protéines.

1-4-Etude d'un phénotype pathologique : la drépanocytose.

1-En utilisant les documents 1 à 3 page 50 et 4, 5 page 51 rechercher pour le phénotype sain et pour le phénotype drépanocytaire :

- les caractéristiques macroscopiques (symptômes cliniques) et physiologiques (fonctionnement),
- les caractéristiques cellulaires,
- les caractéristiques moléculaires.

2-Reporter les informations obtenues dans un tableau

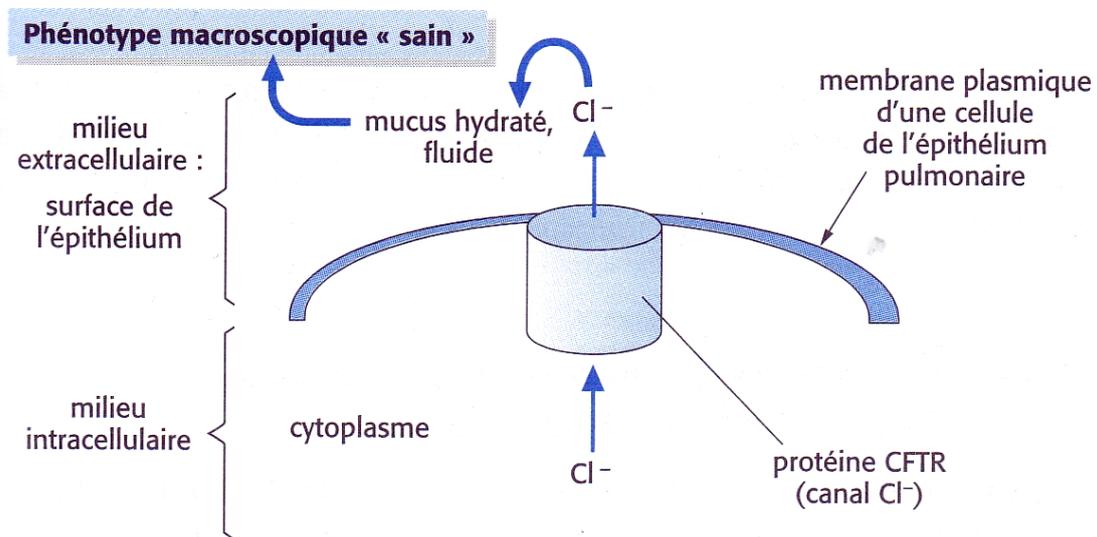
Les différentes échelles d'observation	L'organisme	La cellule	La molécule
Phénotype sain	Aucun symptôme	-Globules rouges ou hématies rondes (disque biconcave) déformables	-Hb A globulaire -Soluble -Acide aminé n° 6 : acide glutamique
Phénotype drépanocytaire	-Anémie sévère, toux -Fièvre, essoufflement -Grande faiblesse -Troubles respiratoires, cardiaques et circulatoires -Le sang circule peu ou pas dans les capillaires -Mort des cellules de l'organisme par privation d'O ₂ et de nutriments -Lésions des tissus	-Globules rouges en forme de faucille -Globules rouges rigides, obstruant les capillaires	-Hbs s'agrègent en longues fibres rigides qui forment un réseau qui précipite dans la cellule -Hbs insoluble -Acide aminé n° 6 : valine

1-5-L'importance de la structure des protéines : exemple de la mucoviscidose

La mucoviscidose est une maladie héréditaire qui se traduit par un encombrement des voies respiratoires qui diminue les capacités respiratoires des malades et par des infections respiratoires fréquentes (**phénotypes macroscopique**).

Certaines cellules de l'épithélium pulmonaire, regroupées en glandes, sécrètent un mucus (une sécrétion visqueuse) qui tapisse sa surface. Les troubles liés à la mucoviscidose sont dus à une obstruction des bronches et des bronchioles par un mucus anormalement épais (**phénotypes cellulaires**).

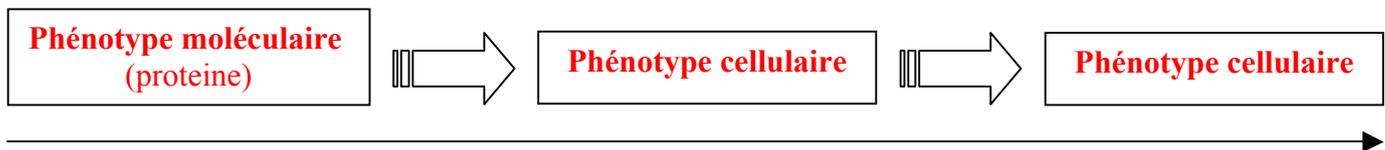
La membrane plasmique des cellules de l'épithélium pulmonaire renferme une protéine particulière, la protéine CFTR, qui forme un canal par lequel transite des ions chlorure (Cl^-) des cellules vers la surface de l'épithélium pulmonaire. Quand cette protéine est fonctionnelle, le flux d'ions produit un mucus fluide. Chez les malades souffrant de la mucoviscidose, des protéines « anormales » synthétisés par les cellules de l'épithélium sont à l'origine d'un mucus visqueux. Seuls quelques acides aminés de la protéine CFTR sont différents, mais cette différence au niveau moléculaire se répercute à l'échelle de l'organisme entier.



Bilan :

Le phénotype se définit à différentes échelles : morphologiques, cellulaire et moléculaire.

Les différentes échelles de phénotypes sont liées. Le phénotype moléculaire détermine le phénotype cellulaire qui lui-même détermine le phénotype à l'échelle de l'organisme.



Augmentation de l'échelle d'observation

2- La relation entre ADN et protéines

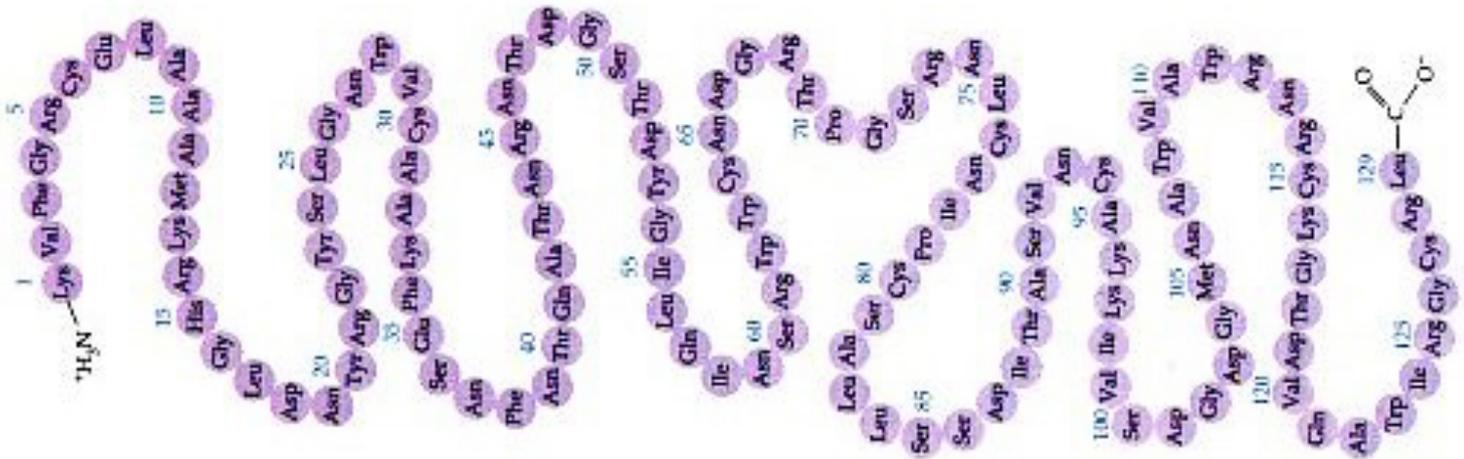
Un gène se définit comme une portion de la molécule d'ADN (Acide désoxyribonucléique), portant l'information génétique. Celle-ci permet la synthèse d'une protéine.

L'ADN d'une cellule contient toutes les informations nécessaires à la synthèse de l'ensemble des protéines de l'organisme.

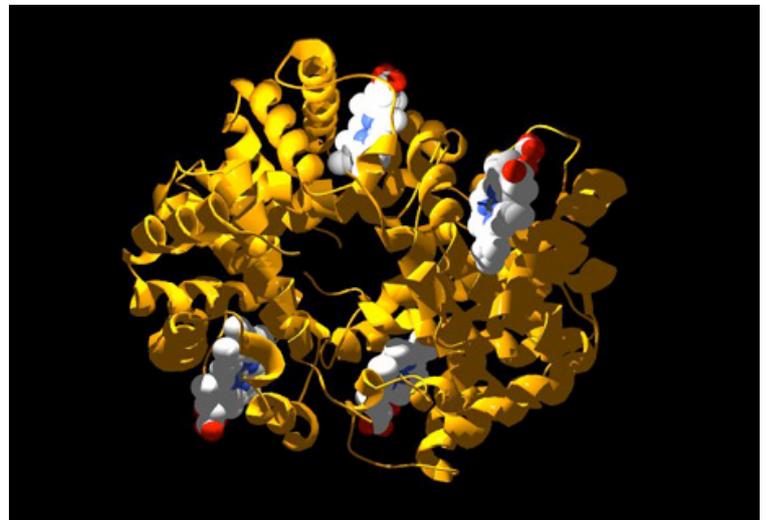
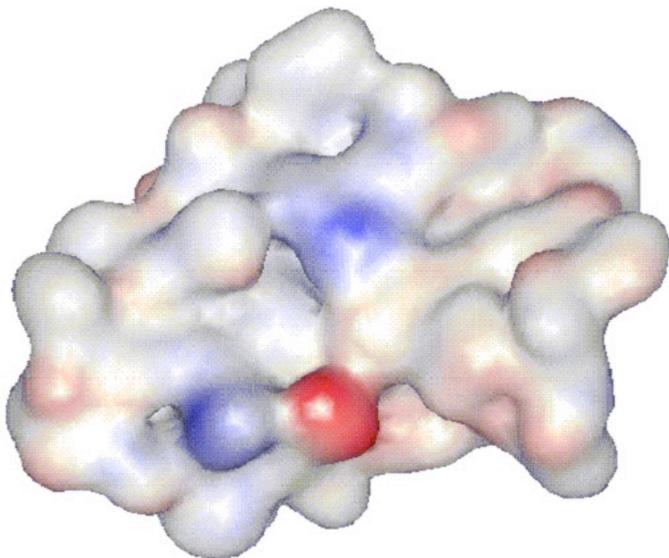
2-1-Les protéines

Les protéines sont des macromolécules biologiques. Elles sont aussi appelées polypeptides car elles sont composées d'une multitude d'acides aminés reliés entre eux par une liaison particulière : la liaison peptidique.

Chaque protéine est constituée de une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. L'enchaînement des acides aminés au sein de la protéine définit sa structure primaire (ou séquence).



La fonction de la protéine est due à sa structure en 3 dimensions, celle-ci découlant directement de la structure primaire.



2-2- Une séquence de nucléotides détermine une séquence d'acides aminés

L'Adn est une molécule formée de deux brins enroulés en hélice et reliés l'un à l'autre par des liaisons faibles (liaisons hydrogènes). Chaque brin est composé d'une succession de nucléotides. Il en existe quatre :

- l'Adénine (A)
- La Thymine (T)
- La Cytosine (C)
- La Guanine (G)

Une succession de nucléotides, c'est-à-dire un fragments d'ADN, définit un gène.



Les modifications de la séquence de nucléotides du gène ou mutations sont à l'origine des allèles. Ils ne diffèrent donc les uns des autres que par leurs séquences en nucléotides.

C'est cette séquence de nucléotides au sein de l'ADN qui gouverne la séquence en acides aminés de la protéine selon un système de correspondance : le code génétique.

2-3 le code génétique : un système universel

Il existe sur Terre 20 acides aminés qui rentrent dans la constitution des protéines. Ces acides aminés s'enchaînent selon leur position dans la structure primaire. Ils ont chacun une place définie et ne sont pas interchangeables.

À partir d'un système constitué de 4 nucléotides (A,T,C,G) issue de l'ADN une machinerie cellulaire complexe va permettre l'association correcte de ces acides aminés les uns aux autres.

En effet 3 (un triplet) nucléotides successifs (ou codon) vont permettre la mise en place d'un acide aminé particulier au sein de la chaîne

Au fur et à mesure de la lecture des triplets, l'addition des acides aminés se fait. Chaque acide aminé venant se fixer sur l'acide aminé précédent jusqu'à obtenir la séquence primaire souhaitée de la protéine.

		2 ^e nucléotide				
		T	C	A	G	
1 ^{er} nucléotide	T	TTT	TCT	TAT	TGT	T
		TTC	TCC	TAC	TGC	C
		TTA	TCA	TAA	TGA	A
		TTG	TCG	TAG	TGG	G
	C	CTT	CCT	CAT	CGT	T
		CTC	CCC	CAC	CGC	C
		CTA	CCA	CAA	CGA	A
		CTG	CCG	CAG	CGG	G
	A	ATT	ACT	AAT	AGT	T
		ATC	ACC	AAC	AGC	C
		ATA	ACA	AAA	AGA	A
		ATG	ACG	AAG	AGG	G
G	GTT	GCT	GAT	GGT	T	
	GTC	GCC	GAC	GGC	C	
	GTA	GCA	GAA	GGA	A	
	GTG	GCG	GAG	GGG	G	
		3 ^e nucléotide				

Ce système de correspondance entre la séquence nucléotidique de la molécule d'ADN et la séquence primaire en acides aminés de la protéine est qualifié :

- d'universel, car il est le même pour l'ensemble du monde vivant (de la bactérie à l'homme)
- Non ambigu, car à un triplet de nucléotide correspond un acide aminé et un seul
- Redondant, cela signifie que plusieurs codons désignent le même acide aminé.

Il est aussi à noter que 3 codons sur les 64 sont désignés sous le nom de codon stop et permettent d'arrêter la synthèse de la protéine par arrêt de l'assemblage des acides aminés.

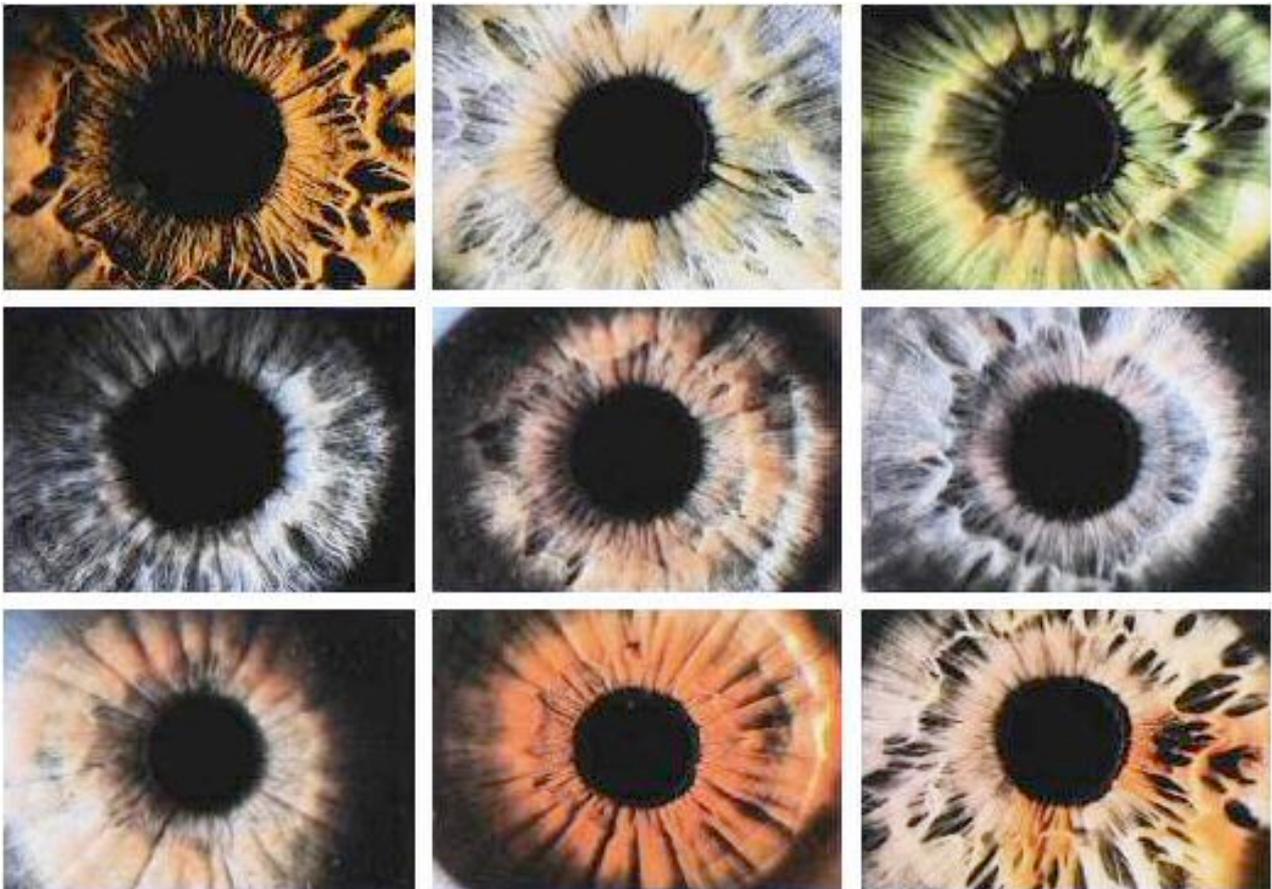
3- Mutations des gènes et modifications du phénotype.

Nous avons vu que le phénotype au niveau de l'organisme est sous la dépendance du phénotype moléculaire. C'est-à-dire : toute modification au niveau de la molécule est susceptible d'engendrer des modifications au niveau de l'organisme.

Une mutation est une modification accidentelle de la séquence en nucléotides au niveau de la molécule d'ADN. Il peut s'agir de modifications ponctuelles (remplacement d'un nucléotide par un autre, perte ou ajout d'un nucléotide) ou des modifications plus étendues.

Dans tous les cas de figures, la modification de la séquence en nucléotide peut avoir des conséquences sur la séquence primaire en acides aminés de la protéine codée et engendrée ainsi une protéine non fonctionnelle donc un dysfonctionnement au niveau de l'organisme.

Ces mutations sont aussi l'origine des allèles des gènes. Par exemple pour le gène couleur des yeux, de légères modifications au niveau de la séquence de ce gène produit les allèles couleurs des yeux bleus, couleur des yeux marron, couleurs des yeux noirs, etc. ...



4- Les applications biotechnologiques

La molécule d'ADN est molécule universelle tant du point de vue de sa structure que de sa fonction. Le code génétique qui permet de décoder l'information portée par la molécule d'ADN est lui aussi universel.

4-1-La transgénèse, une application de l'universalité du code génétique

La transgénèse désigne l'ensemble des techniques de transfert expérimentales d'une information génétique étrangère dans une cellule. Elle permet ainsi de former des êtres vivants dont l'information génétique et le phénotype sont modifiés. Un organisme qui a reçu un gène provenant d'une autre espèce est capable de produire une protéine qui lui est totalement étrangère.

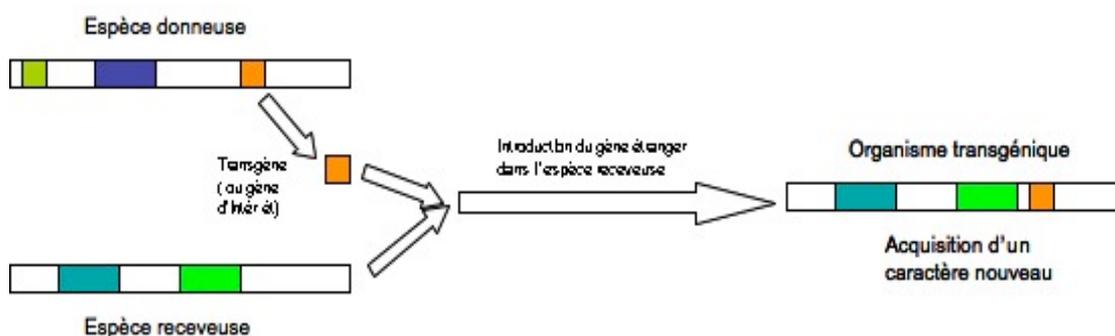
4-1-1- Principe de la transgénèse

La transgénèse consiste en l'introduction d'un gène étranger provenant d'une espèce donneuse dans le matériel génétique d'une autre espèce dite receveuse.

L'organisme obtenu est un OGM (Organisme Génétiquement Modifié) ou organisme transgénique ou être vivant transgéniques.

Le gène transféré est appelé transgène ou gène d'intérêt.

Une fois introduit dans le génome de l'espèce receveuse, le transgène s'exprime, ce qui conduit à la production d'une nouvelle protéine par l'organisme transgénique. Il permet l'acquisition par l'espèce receveuse d'un nouveau caractère.



4-1-2- Applications des transgénèse végétales

La transgénèse végétale consiste en l'introduction d'un gène d'intérêt dans le matériel génétique d'une espèce végétale.

Espèce végétale	Bénéfice attendus
Maïs	Résistance à un insecte
Soja	Résistance à un herbicide
Colza	Résistance à un champignon
Tomate	Meilleure conservation
Laitue	Diminution de la quantité de nitrates dans la plante
Peuplier	Amélioration de la matière première pour la fabrication du papier
Coton	Résistance à un herbicide

4-1-2- Applications des transgénèses bactériennes

La transgénèse bactérienne consiste en l'introduction d'un gène d'intérêt d'origine animale ou végétale dans le matériel génétique d'une bactérie.

Par exemple une bactérie produisant l'insuline humaine, ou une bactérie produisant une protéine humaine , l'interleukine.

4-2- La Thérapie génique

La transgénèse permet à l'Homme de produire des organismes dont certaines caractéristiques déterminées génétiquement ont été modifiées. Ses applications sont multiples et concernent des domaines très variés. On s'intéresse de plus en plus à la possibilité de soigner des maladies génétiques par transgénèse : **c'est le principe de la thérapie génique**

4-2-1-Les maladies héréditaires

Les maladies héréditaires sont transmises de génération en génération. Elles sont déterminées par les gènes que porte l'individu malade. Un gène "anormal, dont la séquence de nucléotides est différente de celle d'un individu en bonne santé, est donc responsable de la maladie.

Le but de la thérapie génique est d'essayer de remplacer le gène responsable de la maladie par le gène sain. Il faut agir au sein de chaque cellule malade sans altérer le fonctionnement des cellules saines.

4-2-2- Les étapes de la thérapie génique

a- Repérer le gène responsable de la maladie.

On réalise un séquençage de la molécule d'ADN pour connaître la séquence en nucléotides qui la composent, chez des sujets sains et chez des sujets malades. Par comparaison des deux informations génétiques, on détermine les gènes à l'origine de la maladie. Par exemple, dans le cas de la mucoviscidose, un gène code pour une protéine CFTR anormale.

b- Intégrer le gène sain un vecteur

Pour atteindre l'ADN contenu dans le noyau des cellules du malade, on utilise un vecteur qui aura pour fonction de transporter l'ADN sain jusqu'aux cellules ciblées.

Les plus utilisées sont des vecteurs viraux :

- En effet les virus ont la capacité d'intégrer un ADN étranger aux cellules dans lesquelles ils pénètrent (qu'ils infectent).

- On utilise donc comme vecteurs des virus auxquels on a, au préalable, retiré les gènes qui le rendent pathogènes, c'est à dire les gènes responsables de la maladie virale. On intègre le gène sain dans ce virus "inoffensif".

D'autres vecteurs existent comme les liposomes, petites structures sphériques de composition chimique proche de celles des membranes cellulaires, qui fusionnent avec ces membranes et permettent l'intégration de l'ADN sain aux cellules visées par la thérapie génique.

c- Introduire le vecteur porteur du gène sain dans les cellules cibles.

Plusieurs méthodes existent.

- L'introduction *ex vivo* consiste à extraire des cellules du patient et à y insérer les gènes modifiés par l'intermédiaire des vecteurs, pour ensuite les réintroduire dans l'organisme
- L'introduction *in vivo* consiste à injecter le vecteur portant le gène thérapeutique directement dans la circulation sanguine : le vecteur atteint les cellules cibles, véhiculés par le sang.
- Le transfert *in situ* consiste à placer directement le vecteur au contact des cellules cibles (ex : aérosol pour mettre le vecteur au contact des cellules de l'épithélium pulmonaire chez les malades souffrant de la mucoviscidose.

d- Etude de l'expression du transgène après traitement

On essaie en construisant le protocole de thérapie génique, de réunir les conditions permettant au transgène intégré :

- de ne pas être détruit par les enzymes des cellules cibles,
- de franchir la membrane nucléaire (pour accéder à l'ADN qu'il contient),
- d'être intégré au génome de la cellule,
- d'être exprimé (transcrit en ARNm puis traduit en protéine) en quantité suffisante pour assurer la guérison du malade.

On effectue donc un suivi du traitement afin d'augmenter son efficacité

5- Relations entre génotype et phénotype.

Les protéines codées par le génotype déterminent le phénotype. Cependant un même phénotype macroscopique peut correspondre à plusieurs phénotypes différents.

5-1-Plusieurs génotypes associés à un phénotype

Les maladies génétiques sont dues à des allèles portés par les individus malades. Chaque être humain possède deux allèles différents pour chaque gène.

Si on appelle M le gène de la maladie, il existe sous deux versions alléliques différentes dans la population :

- m^+ (allèle sain) et
- m^- (allèle responsable de la maladie)

Soit les sujets possèdent le même allèle en deux exemplaires, **ils sont alors homozygotes**, soit ils possèdent deux allèles différents, **ils sont alors hétérozygotes**.

❖ Les homozygotes $m^+//m^+$ sont sains.

❖ Les hétérozygotes qui ont pour génotype $m^-//m^-$ sont malades.

❖ Pour les hétérozygotes $m^+//m^-$:

- soit l'allèle de la maladie est ***récessif*** ce qui signifie qu'il ne s'exprime qu'à l'état homozygote (s'il est présent en deux exemplaires), donc le sujet $m^+//m^-$ n'est pas malade

- soit l'allèle de la maladie est ***dominant*** et il s'exprime aussi bien à l'état homozygote qu'à l'état hétérozygote : les individus $m^+//m^-$ sont donc malades.

Dans le cas d'un allèle dominant, le phénotype "individu malade" pourra donc correspondre à deux génotypes différent : $m^+//m^-$ et $m^-//m^-$.

Différents génotypes peuvent donc correspondre à un même phénotype.

GÉNOTYPE	PHÉNOTYPE ASSOCIÉ	
$m^-//m^-$	Malade	Maladie "récessive"
$m^+//m^+$	Sain	
$m^+//m^-$	Sain	
$m^-//m^-$	Malade	Maladie "dominante"
$m^+//m^+$	Sain	
$m^+//m^-$	Malade	

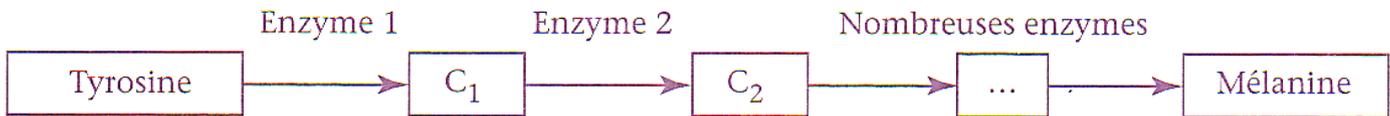
Génotype et phénotypes associés pour une maladie génétique récessive ou dominante

5-2- Plusieurs gènes peuvent être impliqué dans la détermination d'un caractère

Exemple de l'albinisme :

La couleur de la peau des individus est fonction de la quantité de mélanine produite par des cellules spécialisées de l'épiderme : les mélanocytes.

La synthèse de mélanine à partir de tyrosine fait intervenir plusieurs réactions chimiques successives, chacune de ces réactions nécessitant l'intervention d'une enzyme particulière.



Certaines personnes atteintes d'albinisme présentent une dépigmentation de la peau (*phénotype macroscopique*). L'étude de leurs cellules révèle que ces personnes possèdent un nombre "anormal" de mélanocytes mais que ces cellules synthétisent peu ou pas de mélanine (*phénotype cellulaire*)

Un dysfonctionnement d'une ou de plusieurs enzymes de la chaîne de biosynthèse de la mélanine est à l'origine de ce phénotype (*phénotype moléculaire*)

Cependant, plusieurs génotypes différents peuvent se traduire par le même phénotype macroscopique.

Si une seule enzyme de la chaîne (quelle que soit cette enzyme) n'est pas fonctionnelle du fait d'une mutation du gène codant cette protéine, la mélanine n'est pas synthétisée.

De même, si plusieurs enzymes différentes sont incapables d'assurer leur fonction, il n'y aura pas non plus de mélanine synthétisée. Ainsi le phénotype albinos peut-être déterminée par de multiples génotypes différents.

D'une façon générale, quand un phénotype est déterminé par l'expression de plusieurs gènes, la mutation de chacun de ces gènes conduit au même phénotype donc plusieurs génotypes différents correspondent au même phénotype

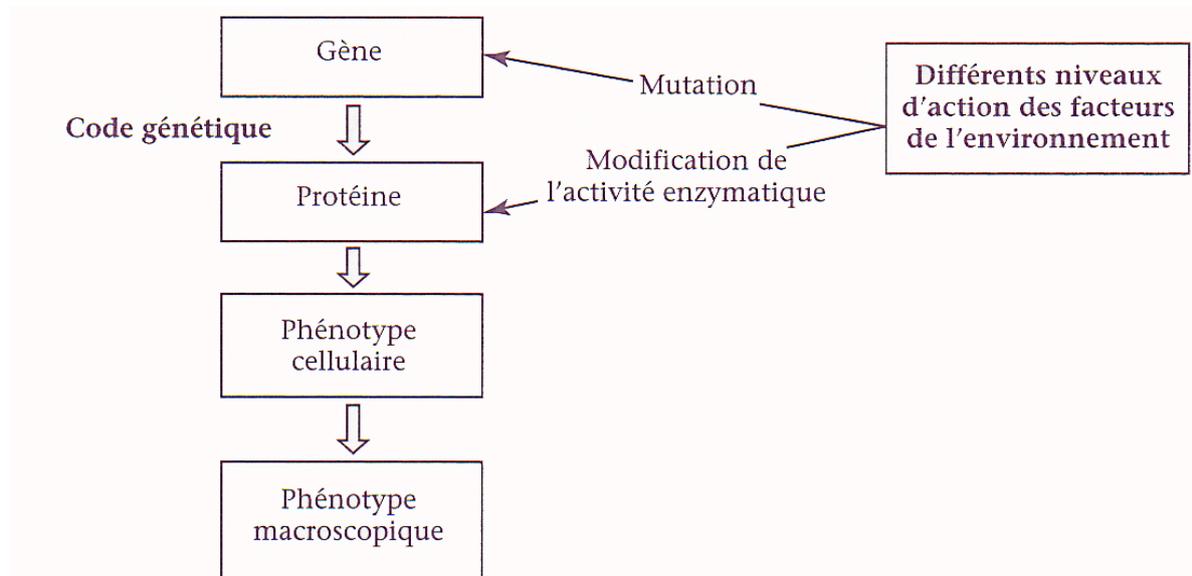
7- Facteurs de l'environnement et détermination du phénotype

7-1- Le phénotype peut-être modifiée par les facteurs de l'environnement

Certains facteurs de notre environnement (température, lumière...) peuvent modifier le phénotype codé par notre génotype.

Ainsi la couleur de la peau est fixée génétiquement mais peut varier au cours de la vie d'un individu sous l'effet de l'exposition au rayonnement ultraviolet (c'est le bronzage). L'environnement peut donc aussi être responsable de la détermination d'un phénotype.

Un phénotype est donc le résultat d'interactions complexes entre gènes et facteurs de l'environnement



7-2- Médecine préventive et diagnostic prénatal

Les techniques actuelles permettent de détecter la présence de certains allèles chez un sujet. Il est donc possible de rechercher les allèles responsables de maladies génétiques pour prévenir ces maladies : **c'est la médecine prédictive.**

Elle nécessite de réaliser des test génétiques pour déterminer le génotype des individus et donc évaluer leur risque de développer une maladie génétique

Pour réaliser un test génétique, on prélève des cellules. On extrait leur ADN, on le découpe en fragments (grâce à des enzymes) que l'on fait migrer dans un champ électrique (électrophorèse) afin de séparer les fragments obtenus selon taille. Parmi eux, on recherche la présence éventuelle d'un fragment responsable d'une maladie génétique.

Cette recherche peut-être pratiquée au cours de la grossesse, il s'agit alors d'un **diagnostic prénatal.**

Le prélèvement cellulaire peut-être réalisé au cours ***d'une amniocentèse*** (on recueille par ponction une petite quantité de liquide amniotique dans lequel l'embryon se développe et qui contient des cellules embryonnaires) ou ***par choriocentèse*** (prélèvement, grâce à une pince de tissus embryonnaires au niveau des annexes embryonnaires).

Ces deux prélèvements sont effectués sous échographie afin de ne pas blesser l'embryon.

Le résultat de cette recherche est communiquée aux parents qui peuvent recourir à une interruption volontaire de grossesse ou IVG s'ils souhaitent éviter la naissance d'un enfant porteur d'une maladie génétique très sévèrement handicapante.

7-3- Problèmes éthiques

Les progrès réalisés dans le domaine des diagnostics génétiques posent des problèmes éthiques concernant notamment le risque de dérive eugénique, qui consiste à sélectionner les individus porteurs de caractères jugés favorable tout en limitant le nombre de naissance des individus porteurs de caractères considérés comme défavorable.

Etablir un diagnostic génétique fiable est compliqué car il faut tenir compte des différents facteurs impliqués dans la détermination du phénotype de la maladie (rôle des facteurs environnementaux et nombre de gènes en jeu).

Un individu peut être porteur du "bagage génétique" responsable d'une maladie génétique mais ne subir la maladie que de façon limitée ou retardée si on contrôle certains facteurs environnementaux. Ainsi, dans le cas de phénylcétonurie, maladie génétique responsable d'un retard mental important, un régime alimentaire proposé aux enfants malades limite les effets de la maladie.