

Chapitre 1 : Les mutations

1. Définition

Le terme « mutation » désigne n'importe quel changement intervenu dans la séquence de l'ADN.

Les mutations sont des changements permanents dans le matériel génétique. À la différence de lésions de l'ADN qui peuvent être réparables.

On parle aussi de « variants ». Mais les variations non pathogènes de l'ADN (appelées « polymorphismes ») sont par définition également des mutations.

Les mutations peuvent survenir dans un gène, notamment dans les régions qui codent les protéines (séquence codantes) ou en dehors du gène, par exemple dans la région qui régule l'expression de ce gène.

Les mutations sont la source de la variabilité génétique. Elles sont aussi à l'origine des lésions génétiques qui contribuent à la mort cellulaire, aux maladies génétiques et au cancer.

En raison de l'existence de nombreux types de mutations et du large spectre de leurs effets, les généticiens classent les mutations selon différents schémas.

- Selon le mode de survenue
- Selon la localisation cellulaire et chromosomique
- Selon les effets phénotypiques
- Selon la taille du changement
- Selon la nature du changement moléculaire

2. Classification des mutations

2.1 Selon le mode de survenu

2.1.1 Les mutations spontanées

- Elles apparaissent naturellement
- Aucun agent mutagène n'est associé à leur survenue
- Il s'agit de changement aléatoire au niveau de la séquence nucléotidique des gènes.
- La plupart de ces mutations sont liées à des processus chimiques ou biologiques naturels qui altèrent la structure des bases azotées.
- Elles apparaissent souvent durant le processus enzymatique de la réplication de l'ADN. Une fois qu'une erreur s'est glissée dans la molécule d'ADN, elle peut se refléter dans la composition en acides aminés de la protéine et si le changement d'acides aminés affecte une partie cruciale pour son activité biochimique ou pour sa structure, il peut induire une modification du phénotype.

2.1.2 Les mutations induites

- elles sont dues à l'influence de facteurs externes
- elles peuvent être dues à des agents mutagènes naturels (les rayonnements produits par le soleil ou d'origine minérale) ou artificiels (rayon X).

Outre les différentes formes de rayonnement, de nombreux produits chimiques naturels ou produits par l'homme sont aussi mutagènes.

2.1.3 Les mutations adaptatives

Ce concept tourne autour de l'idée controversée que les organismes peuvent « sélectionner » ou « diriger » la nature des mutations dans leurs gènes de façon à s'adapter à une pression environnementale particulière.

2.2 Selon la localisation

2.2.1 Les mutations somatiques

- Peuvent survenir dans toute cellule du corps excepté les cellules germinales.
- Elles ne sont pas transmises aux futures générations
- Les mutations dominantes qui surviennent dans les cellules somatiques de tissus adultes sont souvent masquées par les millions de cellules non mutantes du même tissu ; les fonctions tissulaires sont alors normales.

2.2.2 Les mutations germinales

- Surviennent dans les gamètes et elles ont plus d'importance parce qu'elles sont transmises aux descendants via les gamètes.
- Potentiellement, elles peuvent être exprimées dans toutes les cellules du descendant.

2.2.3 Les mutations autosomiques

- Surviennent dans des gènes situés sur les autosomes.

2.2.4 Les mutations liées au sexe

- Surviennent dans des gènes situés sur le chromosome X (Y).

2.3 Selon les effets phénotypiques

Les mutations peuvent être classées selon leurs effets sur la fonction d'un gène ou de la protéine codée par ce gène.

2.3.1 Mutation perte de fonction

Une mutation qui conduit à l'inactivation complète du gène ou qui conduit à un produit non fonctionnel du gène, aussi appelée **Knock-out** ou mutation **nulle**. Une délétion d'une partie ou de la totalité du gène ou une substitution d'un acide aminé qui inactive la protéine en sont des exemples.

2.3.2 Mutation hypomorphe

Une mutation qui réduit mais n'élimine pas le niveau d'expression du gène ou de l'activité du produit du gène. Ce type de mutation correspond à une substitution qui réduit le niveau transcriptionnel, ou une substitution d'un acide aminé qui diminue la fonction protéique. Ce type de mutation est parfois appelé *leaky* (qui fuit), car le niveau d'expression varie d'un individu à l'autre.

2.3.3 Mutation gain de fonction

Est une mutation qui altère qualitativement l'action d'un gène. Par exemple, une mutation gain de fonction peut conduire à l'activation d'un gène dans un type cellulaire dans lequel le gène est normalement inactif. Elle peut aussi conduire à activer l'expression d'un gène de développement à un moment où le gène sauvage n'est normalement pas exprimé. L'expression d'un gène sauvage en position anormale est appelée expression *ectopique*.

2.3.4 Mutation hypermorphe

Le contraire d'une mutation hypomorphe. Comme l'indique le préfixe *hyper*, le niveau d'expression du mutant hypermorphe est accru par rapport au sauvage, parce que la mutation change la régulation du gène de telle sorte que le produit du gène est surexprimé.

2.3.5 Mutation conditionnelle

Ces mutations sont appelées conditionnelles parce qu'elles conduisent à des changements du phénotype uniquement dans certaines conditions environnementales (appelés **conditions**

restrictives). Dans les autres conditions, (appelés **conditions permissives**), ces mutations n'ont aucun effet. Des mutants thermosensibles de drosophiles illustrent ce type de mutation. Les individus hétérozygotes pour une telle mutation sont normaux à 20 °C température permissive mais meurent à 30 °C, température restrictive.

2.3.6 Mutation morphologique

Mutations **morphologiques** (portant sur la forme) ou **chromatiques** (portant sur la coloration) sont les plus faciles à détecter, se traduisant par définition par l'apparition d'un phénotype morphologique ou de coloration différents.

2.3.7 Mutation biochimique

Mutations biochimiques ou à effet nutritionnel ne sont également révélées que dans certaines conditions. Ces mutations caractérisent des cellules en culture dont **l'altération d'une fonction biochimique** provoque un **arrêt de croissance**.

Par exemple, de nombreux micro-organismes dits **prototrophes** sont autonomes nutritionnellement et peuvent subsister en culture sur un milieu minimum comprenant une source de carbone.

Les mutants biochimiques sont souvent **auxotrophes** pour un composé, c'est-à-dire qu'ils ont perdu la capacité de synthétiser un métabolite essentiel. Leur croissance dépendra de l'ajout de ce composé dans le milieu. Les mutants qui ne sont plus capables d'utiliser un ose particulier comme source de carbone sont dits **mutants cataboliques**, comme les mutants Lac⁻ incapables d'utiliser le lactose.

Chez l'homme, la drépanocytose ou l'hémophilie sont des exemples de mutations biochimiques.

2.3.8 Mutation de la régulation

Un gène régulateur peut coder un produit qui contrôle la transcription d'autres gènes. Dans d'autres cas, une séquence d'ADN, située plus ou moins loin d'un gène, peut en moduler l'activité. Ou bien encore une mutation dans un gène régulateur ou dans la région qui contrôle l'expression d'un gène peut altérer la régulation en activant ou en désactivant de façon permanente ce gène.

2.3.9 Mutation létale

Mutation qui peut interrompre un processus vital pour l'organisme. À titre d'exemple, une bactérie mutante ayant perdu la capacité à synthétiser un acide aminé essentiel sera incapable de se développer (et donc mourra) sur un milieu de culture ne possédant pas cet acide aminé.

De nombreuses maladies métaboliques héréditaires humaines sont dues à des mutations létales exemple : la maladie de Tay -Sachs ou la maladie de Huntington.

2.3.10 Mutation suppressive

Supprime l'effet d'une autre mutation. Se produit à un **site différent** du site de mutation d'origine. L'individu porteur de la mutation suppressive est un **double mutant** mais présente le phénotype de type sauvage non mutée. Elle est différente de la **mutation inverse** dans laquelle le site muté est **revenue** dans la séquence de type sauvage.

2.4 Selon la taille du changement

Les généticiens considèrent deux niveaux de mutations : **mutations géniques** et les **mutations chromosomiques**.

2.4.1 Les mutations chromosomiques

Des fragments de chromosomes ou des chromosomes entiers ou même des jeux complets de chromosomes changent.

2.4.2 Les mutations géniques

L'allèle d'un gène est changé en un autre allèle. Puisqu'un tel changement se produit à l'intérieur d'un seul gène et localisé en un locus unique « point » du chromosome, on appelle les mutations géniques des mutations ponctuelles.

Les mutations ponctuelles sont généralement réparables et les mutations chromosomiques sont irréparables.

2.5 Selon la nature du changement moléculaire (mutations ponctuelles)

Désignent généralement les modifications de paires uniques de bases dans l'ADN ou d'un petit nombre de paires adjacentes c'est-à-dire des mutations cartographiées en une seule position ou « point » dans un gène. Les mutations ponctuelles sont classifiées selon leur nature moléculaire dans le tableau 1 qui présente les principaux types de changements dans l'ADN et leurs conséquences fonctionnelles au niveau protéique.

Il existe deux grands types de changements mutationnels ponctuels dans l'ADN : **les substitutions des bases et les additions ou délétions de bases.**

Tableau 1 : Les mutations ponctuelles au niveau moléculaire

Type de mutation	Résultat et exemples
<u>Au niveau de l'ADN</u>	
Transition	Purine remplacée par une purine différente ou pyrimidine remplacée par une pyrimidine différente : A · T → G · C → G · C → A · T C · G → T · A T · A → C · G
Transversion	Purine remplacée par une pyrimidine ou pyrimidine remplacée par une purine : A · T → C · G A · T → T · A G · C → T · A G · C → C · G T · A → G · C T · A → A · T C · G → A · T C · G → G · C
Indel	Insertion ou délétion d'une ou plusieurs paires de bases d'ADN (les bases insérées ou délétees sont soulignées) : AAGACTCCT → AAGAGCTCCT AAGACTCCT → AA <u>ACT</u> CCT

2.5.1 Les substitutions

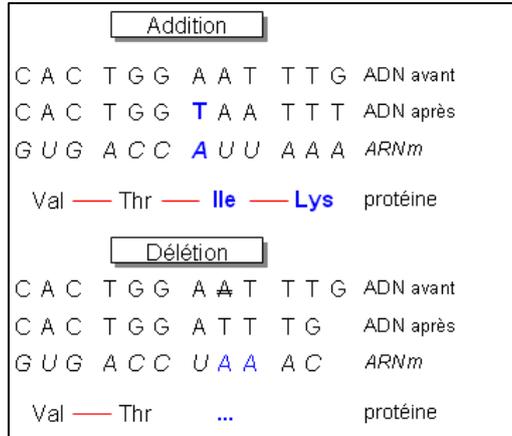
Les substitutions de bases sont les mutations où une paire de base est remplacée par une autre. Elles sont à leurs tours divisées en 2 sous classes, les transitions et les transversions.

Une transition : remplacement d'une base par l'autre base de la même catégorie chimique. Une purine est remplacée par une purine. A → G ou G → A ou une pyrimidine remplacée par une pyrimidine C → T ou T → C.

Une transversion : remplacement d'une base appartenant à une catégorie chimique par une base appartenant à l'autre catégorie chimique. Une pyrimidine remplacée par une purine C par A, C par G, T par A et T par G ; une purine remplacée par une pyrimidine A par C, A par T, G par C et G par T.

2.5.2 Les mutations par addition ou délétion

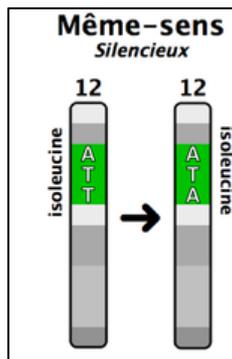
Concernent l’insertion ou la délétion d’une ou plusieurs paires de bases. Désignées sous le terme collectif : de mutations **indel**.



2.5.3 Conséquences Moléculaires Des Mutations Ponctuelles

2.5.3.1 mutation synonyme = silencieuse

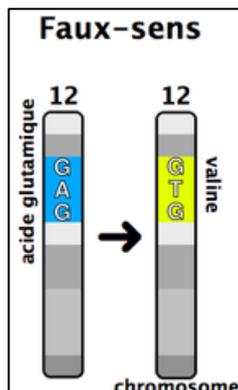
Mutation qui change un codon correspondant à un acide aminé à un autre codon du même acide aminé.



2.5.3.2 Mutation faux sens : mutations non synonymes

Le codon d’un acide aminé est remplacé par un codon d’un autre acide aminé. Les mutations faux sens peuvent être de deux types :

- **Mutation faux sens conservatrice** : le codon spécifie un acide aminé chimiquement similaire (effet moins grave sur la structure et la fonction de la protéine).
- **Mutation faux sens non conservatrice** : le codon spécifie un acide aminé chimiquement différent (effet important sur la structure et la fonction de la protéine).



NB

Acides aminés hydrophobes : Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp

Acides aminés polaires : Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln,

Acides aminés polaires chargés positivement : Lys, Arg, His

Acides aminés polaires chargés négativement : Asp, Glu

Exemple

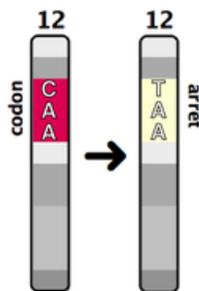
Ala est changé par **la Val** (au niveau protéique c'est une mutation **faux sens conservatrice**)

Gly changé par **His** (au niveau protéique c'est une mutation **faux sens non conservatrice**)

2.5.3.3 Mutation non-sens

Le codon d'un acide aminé est remplacé par un codon de terminaison de la traduction (codon stop). (a un effet considérable sur la fonction de la protéine => protéine complètement inactive).

Non-sens



2.5.3.4 Les mutations indel

Entraîne des mutations par décalage du cadre de lecture et suppriment toute ressemblance entre la séquence originale d'acides aminés et la séquence située en aval du site mutant. Les mutations par décalage du cadre de lecture conduisent en général à une perte complète de la structure et la fonction de la protéine normale.

<i>Au niveau protéique</i>	
Mutation synonyme	Le codon spécifie le même acide aminé AGG → CGG Arg Arg
Mutation faux-sens	Le codon spécifie un acide aminé différent
Mutation faux-sens conservatrice	Le codon spécifie un acide aminé chimiquement similaire : AAA → AGA Lys Arg (basique) (basique) Ne change pas la fonction protéique dans de nombreux cas
Mutation faux-sens non conservatrice	Le codon spécifie un acide aminé chimiquement dissemblable : UUU → UCU Phénylalanine Sérine hydrophobe polaire
Mutation non-sens	Le codon signale la terminaison de la chaîne : CAG → UAG Gln Codon de terminaison ambre
Mutation par décalage du cadre de lecture	Addition d'une paire de bases (soulignée) AAG ACT CCT → AAG AGC TCC T.. Déletion d'une paire de bases (soulignée) AAG ACT CCT → AAA CTC CT..

3. Origine moléculaire des mutations géniques

Les mutations géniques peuvent apparaître spontanément ou être induites. Les mutations **spontanées** se produisent naturellement dans toutes les cellules. Les mutations **induites** apparaissent lorsqu'un organisme est exposé à un agent mutagène. Les secondes apparaissent en général à une fréquence beaucoup plus élevée que les premières.

3.1 Les mutations spontanées

Des erreurs de la réplication de l'ADN, des lésions spontanées et des éléments transposables sont à l'origine des mutations spontanées.

3.1.1 Les erreurs de réplication

La réplication de l'ADN est imparfaite, de temps en temps les ADN polymérases insèrent un mauvais nucléotide dans le brin en cours de synthèse. La plupart du temps les ADN polymérase corrigent ces erreurs grâce à leur activité correctrice 3'→ 5'exonucléase. Mais parfois ces nucléotides peuvent persister après la réplication. Si ces erreurs ne sont pas détectées et réparées elles conduiront à des mutations.

3.1.1.1 L'isomérisation tautomérique

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN pourraient exister sous différentes formes appelées tautomères. Ces formes chimiques ou isomères structuraux diffèrent les uns des autres par un proton dans la molécule.

Les tautomères biologiquement importants impliquent les formes **cétone** et **énol** de la thymine et de la guanine (**figure 1**) ainsi que les formes **amino** et **imino** de la cytosine et de l'Adénine (**figure 2**).

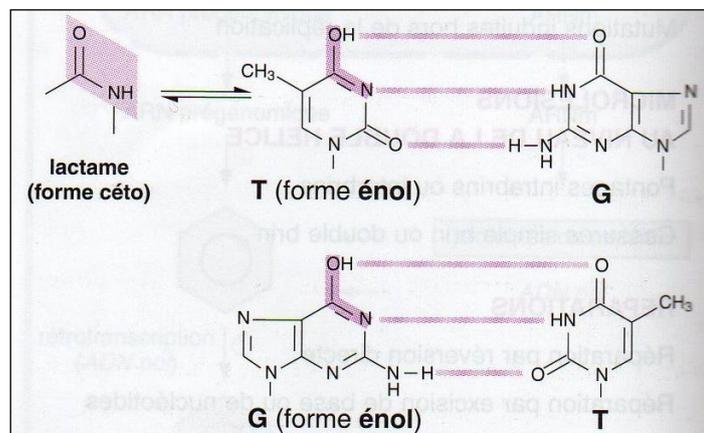


Figure 1 : formes cétonique et énoïque de la guanine et de la thymine

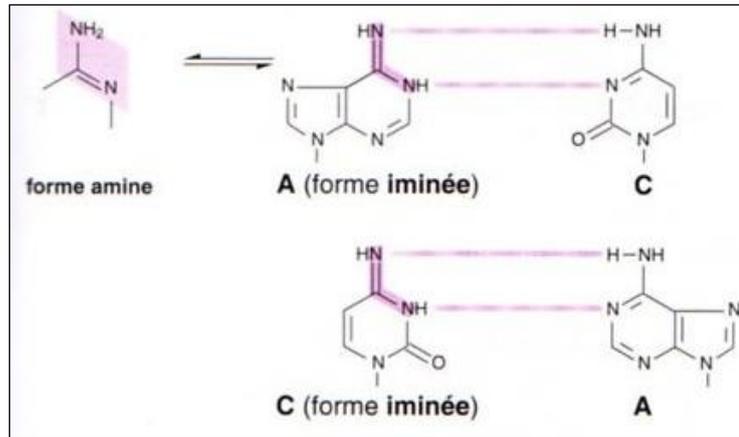


Figure 2 : formes amino et imino de la cytosine et de l'Adénine

Watson et Crick suggèrent que l'isomérisation tautomérique peut conduire à des substitutions nucléotidiques.

Les tautomères les plus stables forment l'appariement normal. Les tautomères moins stables se rencontrent moins fréquemment mais forment des liaisons hydrogènes avec des bases non complémentaires. Cependant l'appariement se fait toujours entre une base pyrimidique et une base purique (**Figure 3**).

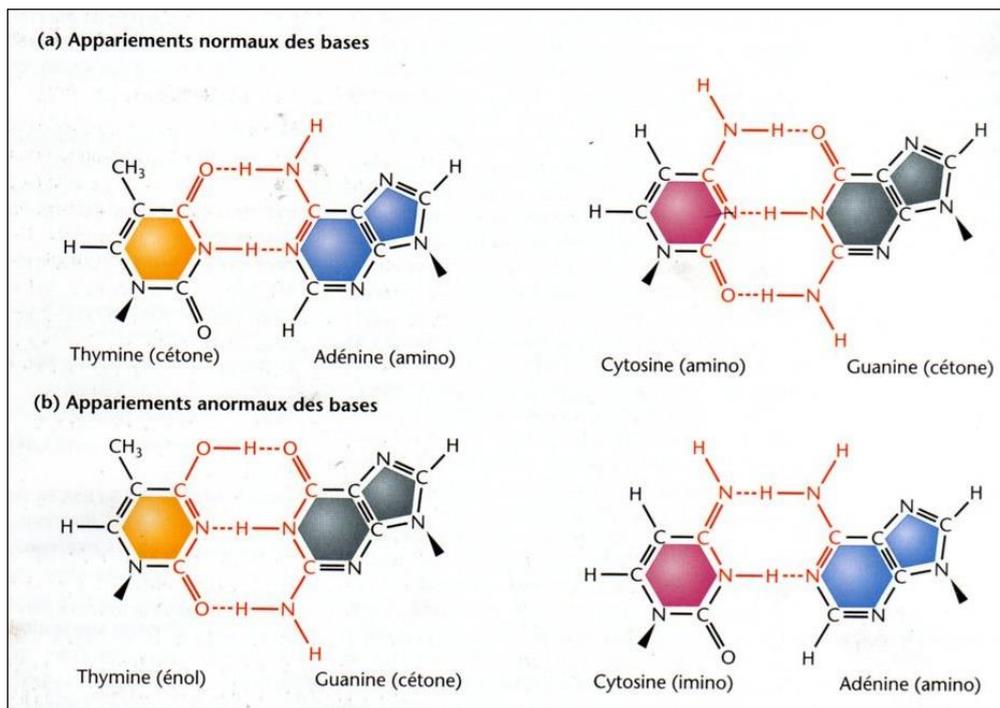


Figure 3 : appariements normaux (a) et appariements anormaux résultant de l'isomérisation tautomérique (b). Le triangle noir indique l'atome d'azote sur lequel se fait la liaison avec le sucre.

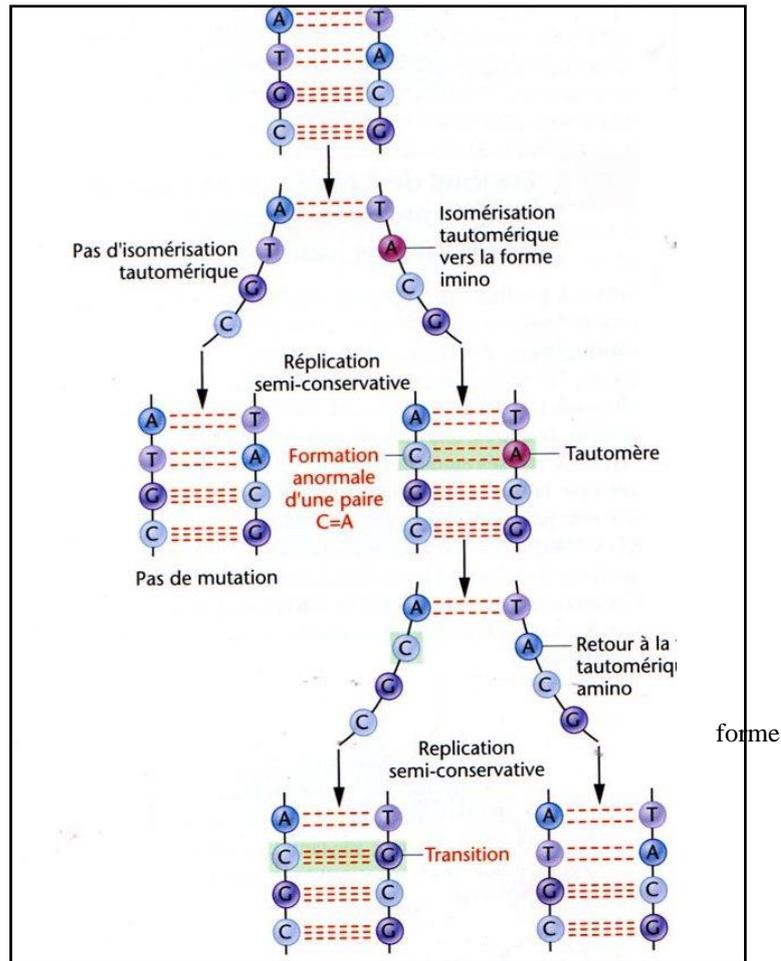


Figure 4 : formation d’une transition T = A vers C = G par isomérisation tautomérique d’une Adénine

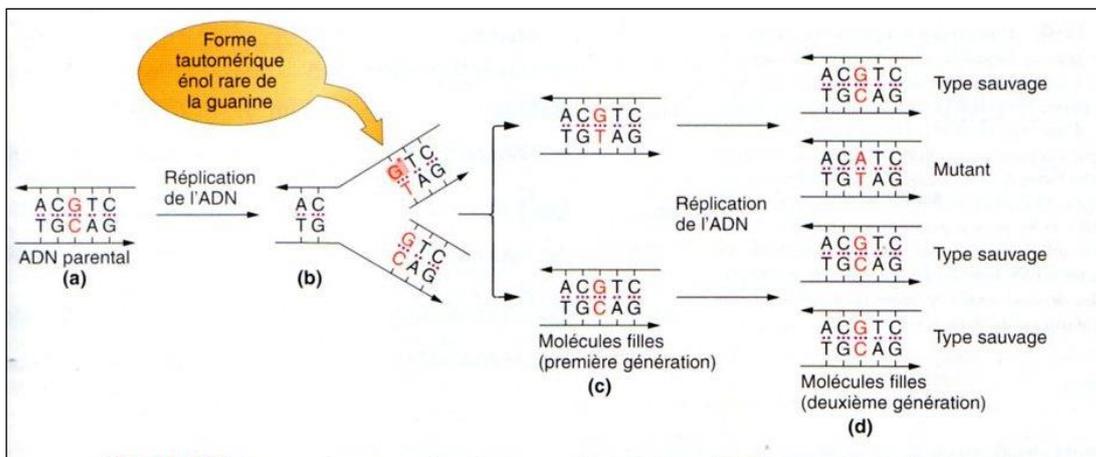


Figure 5 : Les mutations par transformations tautomériques des bases d'ADN. (a) Dans l'exemple schématisé, il y a un changement tautomérique vers sa forme énol rare (G*) lors de la réplication. (b) Dans sa forme énol, elle se paarie avec la thymine. (c et d) Lors de la réplication suivante, la guanine revient à sa forme céto plus stable. La thymine incorporée face à la forme énol de la guanine, présentée en (b), impose l'incorporation d'une adénine à la réplication suivante, que l'on voit en (c) et (d). Le résultat net est une mutation GC → AT. Si une guanine subit une transformation tautomérique de la forme céto courante vers la forme énol rare, au moment de l'incorporation (sous la forme d'un nucléoside triphosphate, plutôt que dans le brin matrice représenté ici), elle sera incorporée en face d'une thymine dans le brin matrice et cela entraînera une mutation AT → GC. (D'après E. J. Gardner et D. P. Snustad, *Principles of Genetics*, 5^e éd. Copyright © 1984 par John Wiley & Sons, New York.)

Généralement l'ADN polymérase III grâce à sa propriété de correction fonction d'édition corrige ces erreurs. D'autres systèmes de réparation corrigent un grand nombre de mésappariements qui ont échappé à la correction par la polymérase.

3.1.1.2 Dérapage répliatif (délétion et insertion)

Ces erreurs de réplication peuvent conduire à des petites insertions ou délétions. Ces mutations peuvent apparaître lorsqu'un brin de l'ADN forme une boucle qui se déplace lors de la réplication ou lorsque l'ADN polymérase glisse ou bégaie pendant la réplication.

- Si la boucle se forme sur le brin matrice, l'ADN polymérase ne répliquera pas les nucléotides portés par cette boucle. Il en résultera une petite délétion.
- Si l'ADN polymérase « glisse » sur le brin matrice. Il en résultera une délétion sur le nouveau brin.
- Si l'ADN polymérase « bégaie » sur le brin matrice. Il en résultera une insertion sur le nouveau brin.

Insertion et délétion peuvent conduire à des mutations de décalage du cadre de lecture ou à des délétions et insertions d'acides aminés sur le produit du gène.

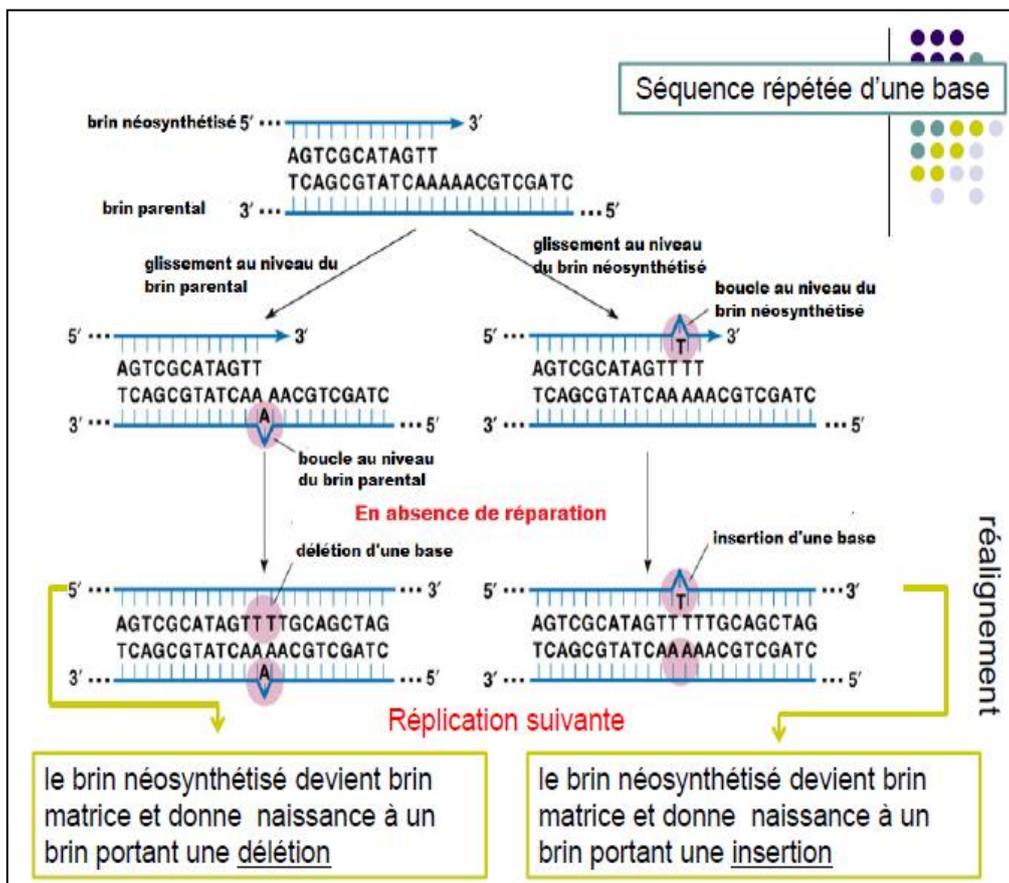


Figure 6 : représentation schématique du dérapage répliatif

3.1.2 Les lésions spontanées

Outre les erreurs de réplication, les lésions spontanées qui sont des lésions se produisant naturellement dans l'ADN, peuvent causer des mutations. Deux des lésions spontanées les plus courantes résultent de **dépuration** ou de **désamination**.

3.1.2.1 La dépuration

Implique la perte d'une base azotée dans une double hélice intacte. Ce phénomène affecte plus souvent les bases puriques aussi bien l'adénine que la guanine. Ces bases sont perdues si la liaison glycosidique reliant le carbone en position 1' du désoxyribose et l'azote en position 9 de la base purique est rompue. Il en résulte la création d'un site **apurinique** sur l'un des brins de l'ADN.

Si le site dépuriné n'est pas réparé il n'y aura pas de base à cette position de l'ADN matrice. Lors de la réplication la polymérase peut introduire n'importe quel nucléotide pris au hasard (**figure 7**).

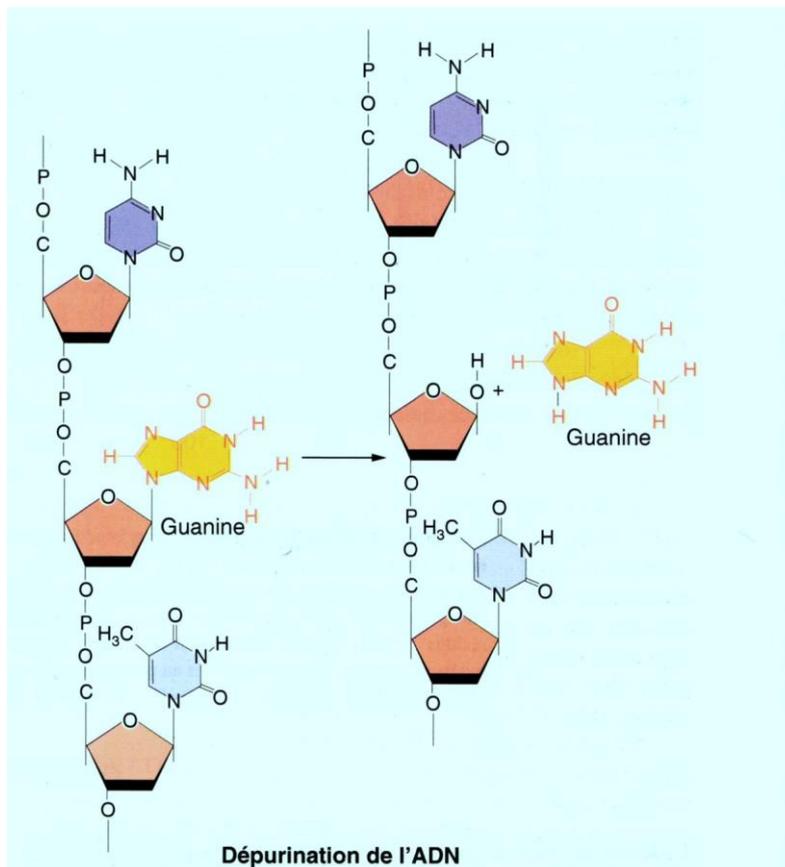


Figure 7 : dépuration de l'ADN

Remarque : une cellule de mammifère perd spontanément 10 000 purines de son ADN durant 20h à 37 °C.

3.1.2.2 La désamination

Le groupe amino d'une cytosine ou d'une adénine est converti en groupe cétone (**Figure 8**). La cytosine est convertie en **Uracile** et l'Adénine en **Hypoxanthine**.

Le principal effet de ces conversions est d'altérer la spécificité d'appariement de ces 2 bases durant la réplication. À titre d'exemple la Cytosine s'apparie normalement avec la Guanine. À cause de sa

conversion en **Uracile** qui s'apparie avec l'**Adénine**. La paire de base originale **G≡C** est convertie en **A=U** puis après la réplication en paire **A=T**.

Si l'Adénine est désaminée la paire originale est **A=T** est convertie en paire **G≡C** parce que l'**hypoxanthine** s'apparie naturellement avec la **cytosine**.

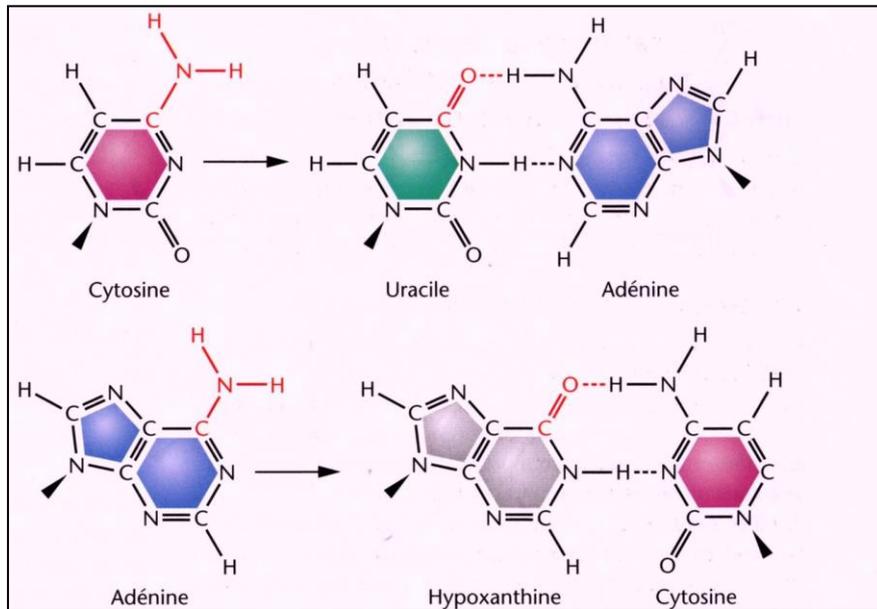


Figure 8 : Désamination de la cytosine et de l'adénine.

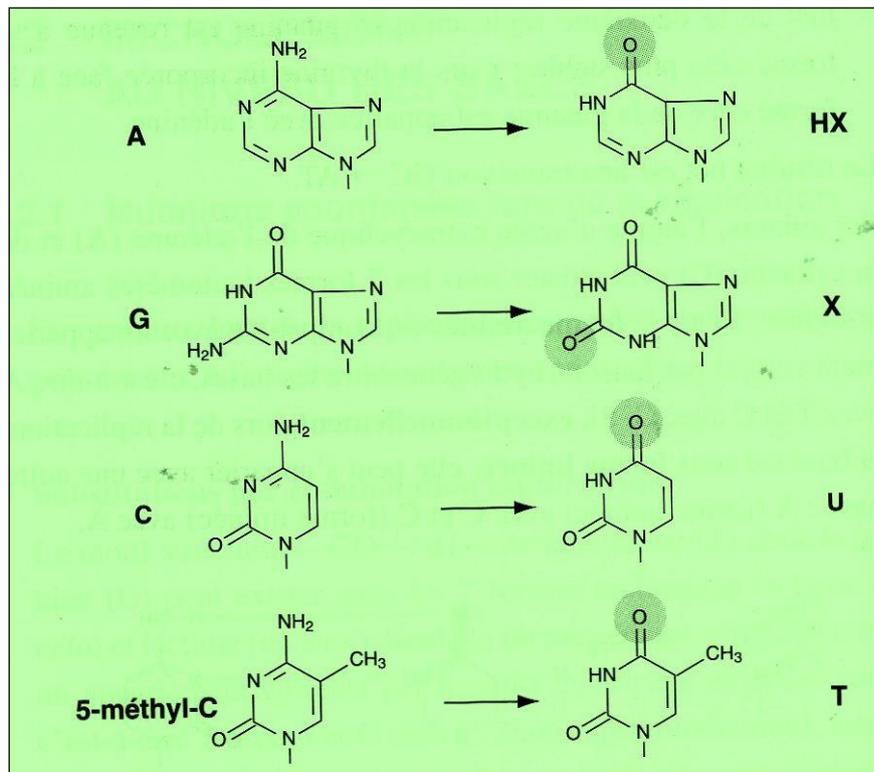


Figure 9 : Désamination des différentes bases

3.1.2.3 L'oxydation de bases

Les bases endommagées par oxydation constituent un 3^{ème} type de lésion spontanée.

L'ADN peut être atteint de lésions dues à des sous-produits de processus cellulaires normaux, parmi lesquels : les oxydants électrophiles, des composés générés normalement par la respiration aérobie qui réagissent avec l'oxygène.

Ainsi, les radicaux superoxydes (O_2^-), les radicaux hydroxyles (OH) et le peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2) créés par le métabolisme cellulaire sont une menace constante pour l'intégrité de l'ADN entraînant des modifications de bases conduisant au mésappariement pendant la réplication. Exemple : l'un des produits d'oxydation qui dérive de la guanine, la 8 oxo7-hydrodésoxyguanine (8oxodG) s'apparie fréquemment avec l'adénine. Ce qui aboutit après réplication à des transversions GC en TA.

Le thymidine glycol bloque la réplication de l'ADN s'il n'est pas réparé (Figure 10).

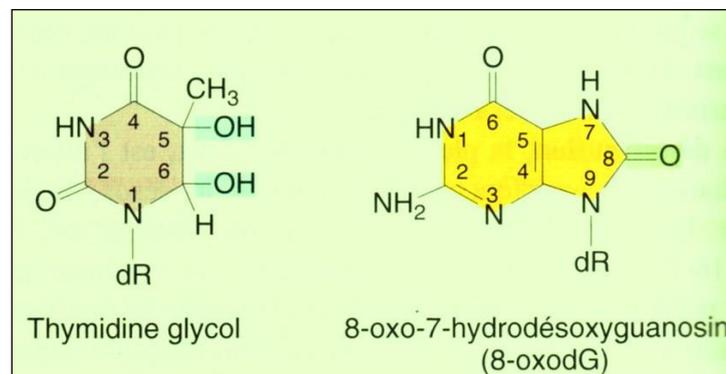


Figure 10 : bases endommagées à la suite de l'attaque de l'ADN par des radicaux oxygène. dR = désoxyribose.

3.1.3 Les éléments transposables

Les éléments transposables sont classiquement définis comme des **séquences moyennement répétées** qui ont la capacité de **se déplacer** d'une position à une autre dans les génomes hôtes. Les éléments autonomes possèdent des gènes codant pour des protéines nécessaires à leur déplacement. On trouve aussi un certain nombre d'éléments non autonomes qui dépendent des éléments autonomes pour leur transposition.

Lors de leurs déplacements, ils peuvent s'insérer dans les gènes ou dans des régions régulatrices et être responsables de mutations pouvant être délétères ou non (délétions, insertions). Ils sont aussi responsables d'importants remaniements chromosomiques comme des **délétions**, des **inversions** et des **translocations**.

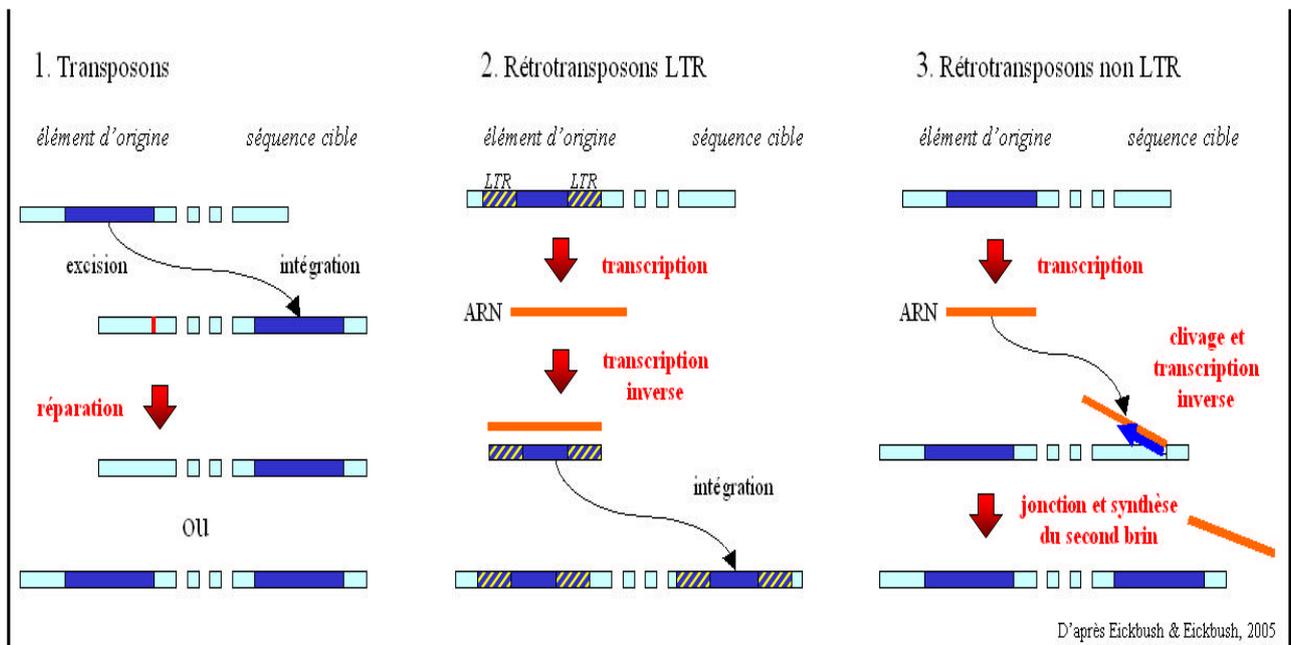
On peut regrouper les éléments transposables en deux classes selon le mécanisme de transposition :

Les **ETs de classes I** appelés **rétrotransposons** et les **ETs de classe II** appelés les **transposons**.

1. Les éléments de classe I : Les Rétrotransposons

Les rétrotransposons sont des éléments se déplaçant par un intermédiaire ARN. Ils sont subdivisés en deux sous-classes, suivant la présence ou l'absence de séquences «Long Terminal

Repeat » (LTR). Ces éléments ne sont pas excisés du génome, mais sont transcrits en ARN. Cet ARN code une enzyme particulière nommée rétrotranscriptase, qui recrée une séquence d'ADN à partir de la séquence d'ARN de l'élément transposable (**figure 11**). L'ADN complémentaire ainsi reconstruit est alors réinséré à une nouvelle position dans le génome par le biais d'une seconde enzyme, l'intégrase, elle aussi codée par l'élément transposable. Ce mécanisme induit donc forcément une copie de l'élément. Ces éléments sont nommés avec LTR, car ils possèdent une longue séquence terminale (300 à 500 nt), répétée en 3' et 5', qui semble nécessaire au processus de rétrotransposition.



O

Figure 11 : Les différentes classes d'éléments transposables, et leur mode de transposition.

- 1- Les transposons. L'élément transposable est excisé de l'ADN, pour être ré-inséré ailleurs. La réparation resynthétise éventuellement l'élément à sa position d'origine, à partir de la séquence homologue. Ce mode de transposition n'induit pas forcément de duplication de l'élément.
- 2- Les rétrotransposons avec LTR. L'élément transposable est transcrit en ARN, qui est rétrotranscrit avant d'être ré-inséré à une position distante. Ce mode de transposition induit forcément une copie de l'élément.
- 3- Les rétrotransposons sans LTR. L'élément transposable est transcrit en ARN, qui utilise la séquence d'intégration comme amorce pour se rétrotranscrire. Ce mode de transposition induit aussi forcément une copie de l'élément.

Le deuxième type de rétrotransposons non LTR passe lui aussi par une phase de transcription en ARN, puis par une réintégration à une nouvelle position génomique. La différence tient en ce que l'ARN n'est pas rétrotranscrit directement, mais clive le site d'intégration grâce à une enzyme appelée endonucléase. La séquence clivée est ensuite utilisée comme amorce pour rétrotranscrire l'ARN de l'élément transposable. Enfin, l'ARN est éjecté, la jonction entre le brin synthétisé et le brin d'intégration est fait, et le brin d'ADN complémentaire est synthétisé.

2. Les éléments de classe II : les transposons

La classe II regroupe les éléments se déplaçant par un intermédiaire ADN. Ils sont directement excisés puis insérés à un autre endroit du génome grâce à une transposase. Ces éléments sont plus petits que les rétrotransposons. Ils possèdent à chacune de leurs extrémités de courtes séquences répétées inversées de quelques dizaines à quelques centaines de paires de base (ITR: Inverted Tandem Repeat).

	U	C	A	G	
U	UUU Phenylalanine UUC alanine UUG Leucine UUA Leucine	UCU Serine UCC Serine UCA Serine UCG Serine	UAU Tyrosine UAC Tyrosine UAA Stop UAG Stop	UGU Cysteine UGC Cysteine UGA Stop UGG Tryptophan	U C A G
C	CUU Leucine CUC Leucine CUA Leucine CUG Leucine	CCU Proline CCC Proline CCA Proline CCG Proline	CAU Histidine CAC Histidine CAA Glutamine CAG Glutamine	CGU Arginine CGC Arginine CGA Arginine CGG Arginine	U C A G
A	AUU Isoleucine AUC Isoleucine AUA Isoleucine AUG Methionine	ACU Threonine ACC Threonine ACA Threonine ACG Threonine	AAU Asparagine AAC Asparagine AAA Lysine AAG Lysine	AGU Serine AGC Serine AGA Arginine AGG Arginine	U C A G
G	GUU Valine GUC Valine GUA Valine GUG Valine	GCU Alanine GCC Alanine GCA Alanine GCG Alanine	GAU Aspartic acid GAC Aspartic acid GAA Glutamic acid GAG Glutamic acid	GGU Glycine GGC Glycine GGA Glycine GGG Glycine	U C A G

Figure 11 : le code génétique

3.2 Les mutations induites

Les mutations induites se produisent à la suite de l'action de certains agents appelés **mutagènes** qui augmentent le taux d'apparition des mutations.

Un agent mutagène est défini comme un agent chimique ou physique qui provoque des mutations. Les mutagènes entraînent l'apparition des mutations par au moins trois mécanismes différents : ils peuvent **remplacer** une base dans l'ADN, **modifier** une base de façon à ce qu'elle s'apparie de façon inadéquate avec une autre base ou **endommager** une base qui ne peut plus s'apparier dans les conditions normales.

3.2.1 Les analogues de bases

Ces mutagènes chimiques sont suffisamment similaires à l'une des quatre bases de l'ADN pour pouvoir s'incorporer dans l'ADN double brin pendant la réplication.

Le 5-bromo-uracile (5-Bu) dérivé de l'Uracile, est un analogue de la thymine. Il est halogéné (liaison d'un atome de Brome) en position C-5 de la pyrimidine (**Figure 12**). Normalement le 5-Bu est dans la forme cétone (kété), forme dans laquelle il s'apparie avec l'adénine. La présence de l'atome de brome à la place d'un groupement méthyle augmente la survenue d'isomérisation tautomérique. Si le 5-Bu est incorporé dans l'ADN à la place de la thymine et si une conversion vers la forme énol a lieu le 5-Bu s'apparie avec la guanine. Après réplication, il en résultera une transition de A=T vers G≡C.

La présence de 5-Bu dans l'ADN augmente la sensibilité de la molécule aux ultraviolets, ce qui est en soi mutagène.

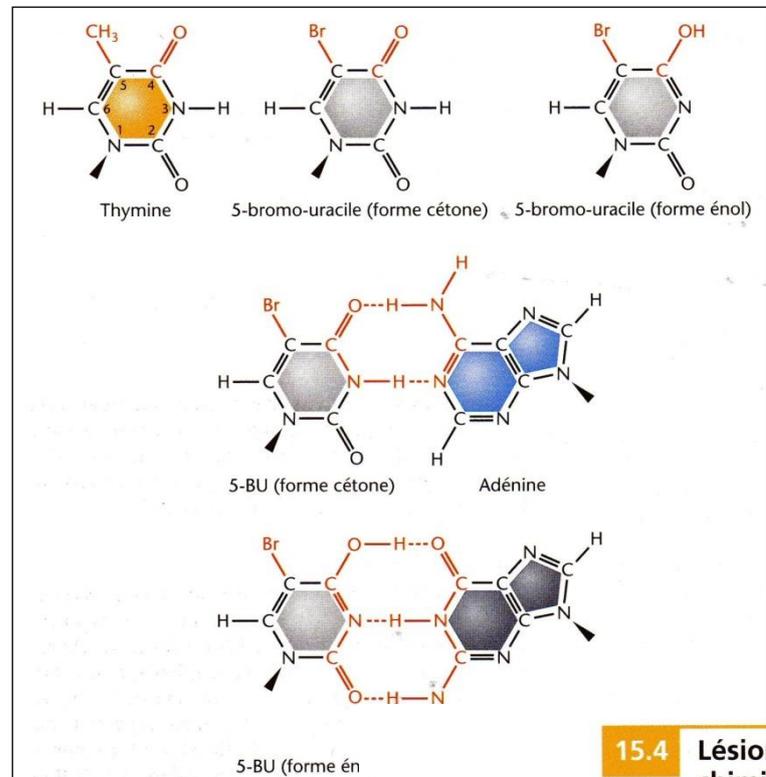


Figure 12 : Similitudes des structures du 5- bromo-uracile (5-BU) et de la thymine.

Dans sa forme cétone s'apparie avec l'adénine. Dans la forme énol rare, il s'apparie de façon anormale avec la guanine.

La 2 Aminopurine (2-AP) agit de manière similaire c'est un analogue de l'adénine qui peut s'apparier à la thymine mais qui dans sa forme protonée peut également former son mésappariement avec la cytosine. Ce qui après réplication conduit à des transitions A=T vers G≡C (Figure 13).

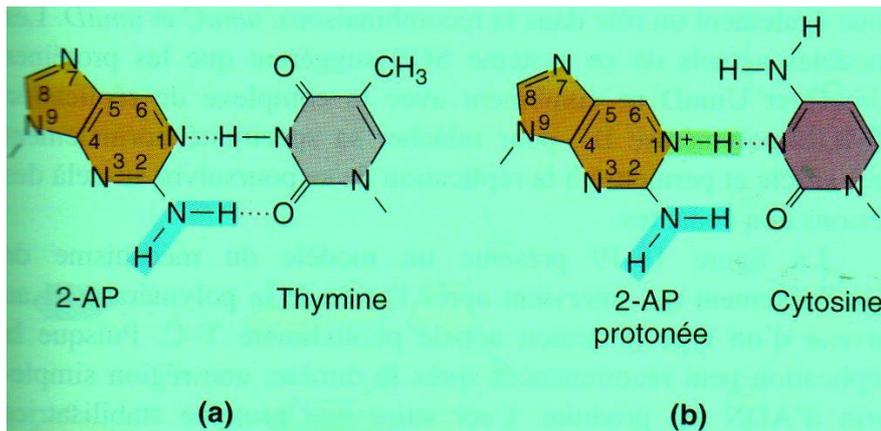


Figure 13 : Les possibilités d'appariements pour la 2 Aminopurine (2-AP), un analogue de l'adénine. Normalement la 2-AP s'apparie avec la thymine (a), mais dans son état protoné s'apparie avec la cytosine (b).

3.2.2 Les agents alkylants

Les agents alkylants tels que l'éthyl méthane sulfonate (EMS) et les gaz moutarde sont de puissants agents mutagènes qui ont été largement utilisés dans la recherche en génétique (Tableau 3). Ces agents ajoutent des groupements alkyl (exp. CH_3 ou $\text{CH}_3\text{-CH}_2$) à des groupes amino ou cétones dans les nucléotides. Ainsi, par exemple l'éthyl méthane sulfonate (EMS) alkyle les groupes cétones en position 6 de la guanine et en position 4 de la thymine. Les affinités d'appariements sont altérées et il peut en résulter des mutations. La 6 Ethylguanine agit comme un analogue de l'adénine et s'apparie avec la thymine (Figure 14). Ceci aboutit à une transition $\text{G}\equiv\text{C}$ vers $\text{A}=\text{T}$.

La 4 éthyl thymine agit comme une cytosine s'apparie avec la guanine. Il en résulte une transition de $\text{A}=\text{T}$ vers $\text{G}\equiv\text{C}$.

Tableau 3 : les agents alkylants

Nom usuel ou symbole	Nom chimique	Structure chimique
Gaz moutarde (sulfure)	Di(2-chloroethyl) sulfide	$\text{Cl-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$
EMS	Éthylméthane sulfonate	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-S(=O)}_2\text{-CH}_3$
EES	Éthyléthane sulfonate	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-S(=O)}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$

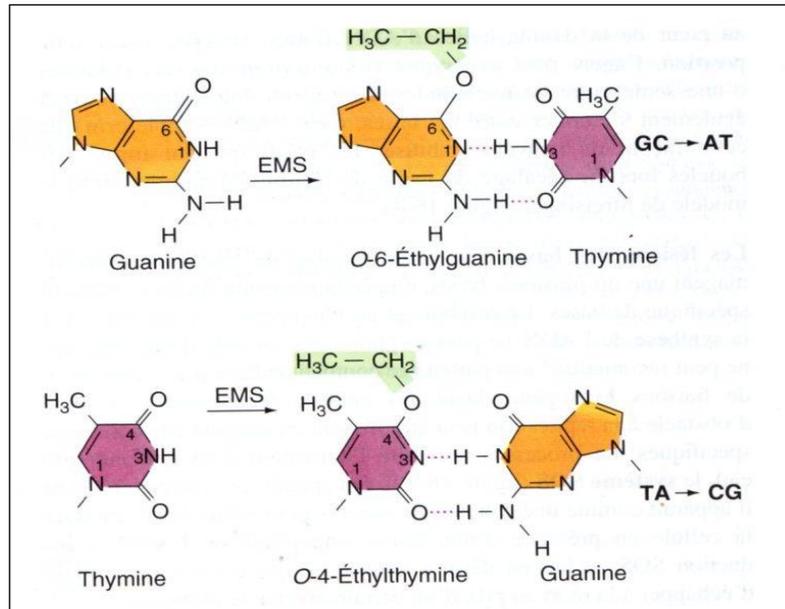


Figure 14 : Le mésappariement spécifique induit par l'alkylation

3.2.3 Les agents intercalants et mutations par décalage du cadre de lecture

Constituent une autre classe importante de modificateurs d'ADN. Ce groupe de composés comprend l'acridine orange, la proflavine et une classe de substances chimiques appelées composés ICR (Figure 15 a).

Ces agents sont des molécules planes en forme de trois doigts dont les dimensions sont grossièrement les mêmes que celle d'une paire purine-pyrimidine et sont capables de se glisser (de s'intercaler) entre les bases azotées empilées au cœur de la double hélice d'ADN. Dans cette position, ils introduisent des contorsions (structure étrange) de la double hélice et génère des délétions ou des insertions (généralement d'une seule paire de nucléotides) responsables de mutations par décalage du cadre de lecture (Figure 15b).

Les agents intercalants peuvent également s'empiler entre les bases dans l'ADN simple brin et entraîner un blocage de la réplication.

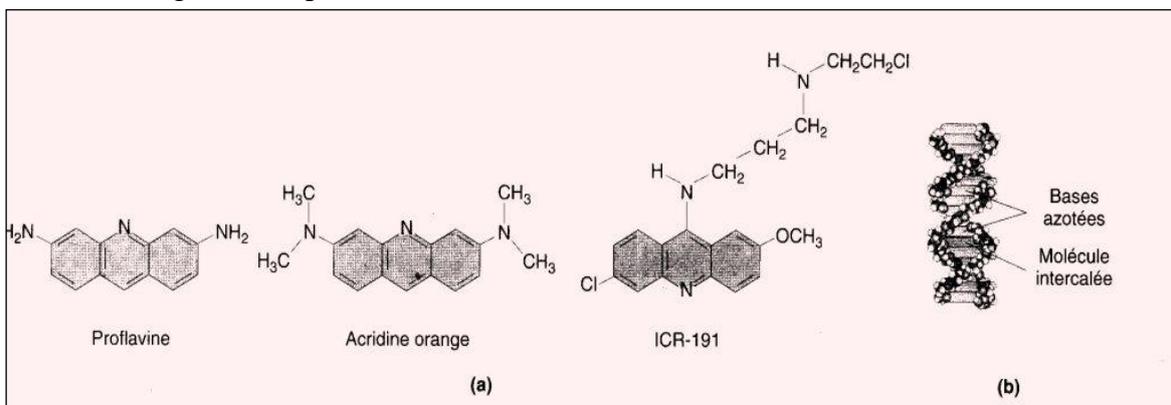


Figure 15 : Des agents intercalants. (a) la structure des agents usuels proflavine, acridine orange et ICR-191. (b) un agent intercalant se glisse entre les bases azotées empilés dans la molécule d'ADN. Cet événement peut conduire à des insertions et des délétions d'une seule paire de nucléotides.

3.2.4 Le rayonnement Ultraviolet et les dimères de thymine

Les U.V ont un effet mutagène. Leur principal effet est de créer des dimères de pyrimidines adjacentes dans le même brin et plus particulièrement des dimères de thymine (Figure 16). Les dimères cytosine-cytosine et cytosine-thymine peuvent également être formés mais sont plus rares. Ces dimères créent des distorsions dans la conformation de la double hélice, ce qui inhibe la réplication normale et introduit des erreurs dans la séquence d'ADN. De fortes doses U.V sont létales sur les cellules.

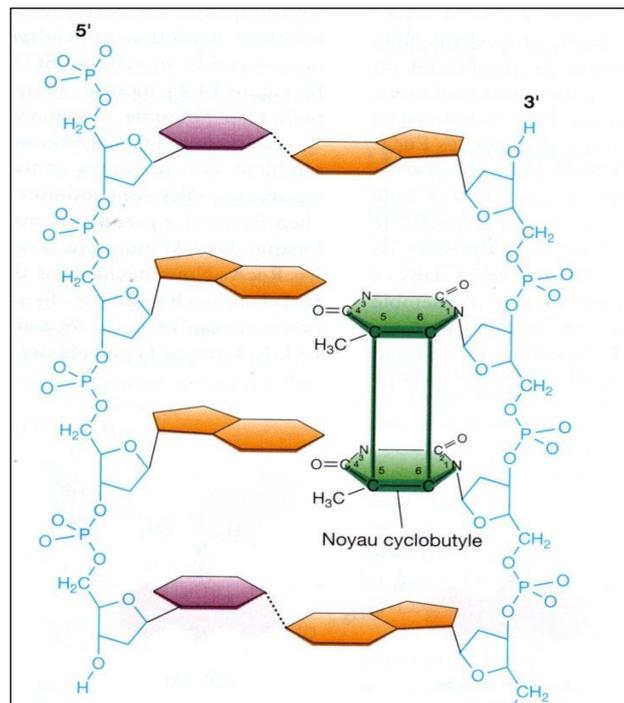


Figure 16 : Dimère de cyclobutanes pyrimidines créés par les UV

Chez les humains, la maladie héréditaire autosomale récessive *xeroderma pigmentosum*, est le résultat d'un défaut du système qui répare les lésions de l'ADN causés par les UV. Les personnes atteintes de cette maladie sont extrêmement sensibles à la lumière du soleil, qui induit une pigmentation excessive de la peau et le développement de nombreuses lésions de la peau qui deviennent fréquemment cancéreuses.

Même pour les personnes saines, l'exposition excessive aux rayons UV du soleil augmente le risque de cancer de la peau. En effet, l'amincissement de la couche d'ozone augmente considérablement l'exposition réelle aux UV et par conséquent, augmente la fréquence de cancer de la peau.

3.2.5 Les radiations ionisantes

Toute énergie sur la terre est constituée d'ondes électromagnétiques de différentes longueurs d'ondes. L'ensemble de ces longueurs d'ondes constitue le spectre électromagnétique (figure 17). L'énergie de ces ondes est inversement proportionnelle à leur longueur. Les rayons X, gamma et cosmiques ont des longueurs d'ondes plus faibles et sont donc plus énergétiques que les U.V. En

conséquence, ils peuvent pénétrer plus profondément dans les tissus et causer une ionisation des molécules sur leur passage. Ces radiations ionisantes ont été déclarées depuis 1920 suite aux travaux de Muller and Stadler comme de puissants mutagènes.

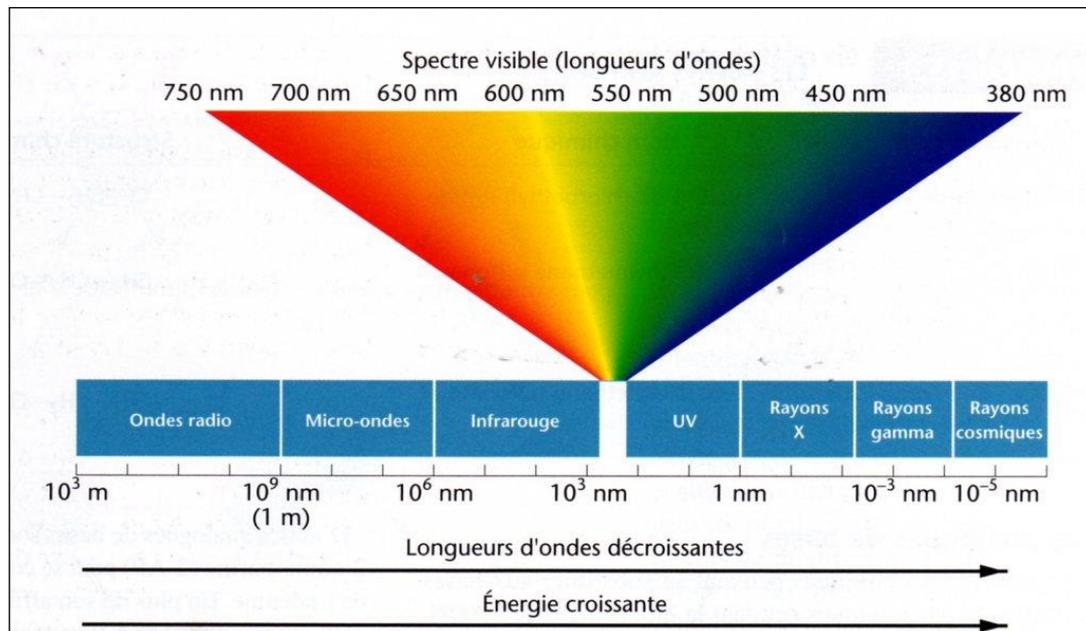


Figure 17 : Les différentes composantes du spectre électromagnétique et leurs longueurs d'ondes.

Quand les radiations ionisantes interagissent avec l'eau ou avec un tissu vivant, des électrons sont éjectés des atomes des molécules rencontrés sur le passage du rayonnement, créant des ions hautement réactifs appelés radicaux libres. Ces derniers réagissent avec d'autres molécules y compris l'ADN, déclenchant des réactions chimiques variées qui altèrent les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN provoquant des effets mutagènes et cancérigènes. Les radiations ionisantes peuvent également rompre les liaisons phospho-diester, altérant l'intégrité des chromosomes et produisant ainsi des anomalies chromosomiques (délétions, translocations, ou cassures).

Il existe une relation directement proportionnelle entre dose des rayonnements et effet mutagène.

Par ailleurs, les radiations ionisantes sont largement utilisées dans la thérapie des tumeurs. Le traitement est basé sur le fait qu'il augmente la fréquence des cassures chromosomiques (donc la létalité) des cellules en division. On note que les tumeurs contiennent en général beaucoup plus de cellules mitotiques que les tissus normaux, de sorte que plus de cellules tumorales que de cellules normales sont détruites.

Le chapitre 2 concerne les systèmes de réparation et sera assuré par dr Chaoui-Kherouatou

Chapitre 3 : Régulation du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation, par division de la cellule mère, et le moment où cette cellule a fini de se diviser par mitose en deux cellules filles.

1. Les phases du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est constitué d'ensembles d'événements moléculaires et cellulaires **orchestrés** dans le temps et l'espace et qui doivent se réaliser suivant un **ordre chronologique précis**. Il permet ainsi le **maintien** d'une information génétique **constante** en quantité et en qualité au niveau des chromosomes.

Chez les eucaryotes, le cycle cellulaire est divisé en deux grandes étapes :

- l'interphase (**I**), phase de croissance cellulaire continue où les chromosomes ne sont pas visibles,
- et la mitose (**M**) (du mot grec *Mito* qui signifie « filet » où les chromosomes, visibles et condensés, ségrègent pour donner deux cellules filles identiques.

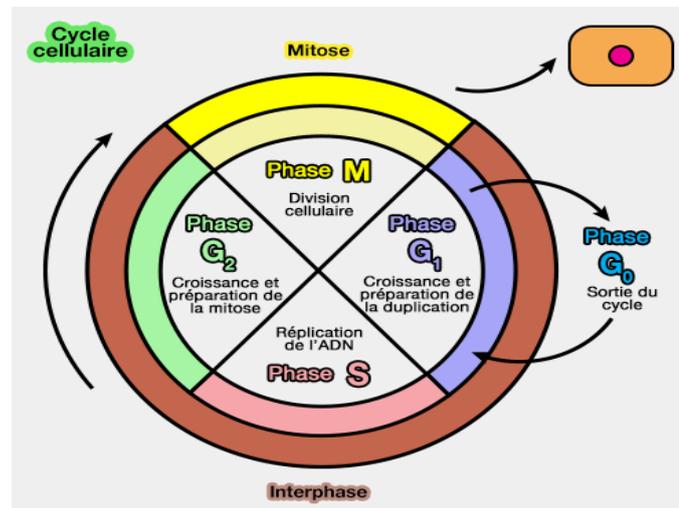


Figure 1 : les phases du cycle cellulaire

1.1 L'interphase

Chez les eucaryotes, l'interphase est subdivisée en trois phases : G₁, S et G₂ (**figure 1**). Au cours de l'interphase, le noyau de la cellule est limité par une enveloppe nucléaire, alors que la mitose est caractérisée par la disparition de cette enveloppe et par l'apparition des chromosomes.

1.1.1 La phase G₁

La phase G₁ (pour Gap 1, jonction 1), de durée variable, est définie comme la première phase traversée par la cellule après la division cellulaire. La phase G₁ est une phase au cours de laquelle la cellule choisit **de proliférer (diviser)**, **d'attendre** ou de **se différencier**. Deux facteurs jouent un rôle principal sur le comportement de la cellule lors de cette phase : **la croissance** et **les facteurs environnementaux et physiologiques** (disponibilité en nutriments, mitogènes, hormones, augmentation de masse cellulaire, lumière pour les cellules végétales).

Le point de restriction R

Une cellule **ne peut entrer** en cycle **que** sous l'effet de facteurs stimulateurs appelés mitogènes. Pendant la phase G₁, la cellule décide si elle continue à progresser dans le cycle cellulaire, ce qui aboutira à la division cellulaire, ou si elle quitte le cycle et entre alors dans un état de quiescence (repos) (G₀) ou de différenciation.

La phase G₀

On désigne généralement par G₀, la phase de quiescence survenant dans certaines conditions lors de la phase G₁. Sous l'effet de signaux anti-mitogènes ou suite à la disparition des agents mitogènes, les cellules peuvent quitter le cycle cellulaire et retourner en phase de quiescence G₀.

1.1.2 La phase S

La phase S est la phase de synthèse de l'ADN (réplication des chromosomes à l'identique). Le brin nouvellement synthétisé est exactement complémentaire à la matrice. La synthèse de l'ADN est **coordonnée avec celle des histones** : les ARNm des histones sont synthétisés au cours de la phase S puis détruits immédiatement après la réplication.

1.1.3 La phase G₂

La phase G₂ (pour gap 2) est une phase courte, d'une durée de 4 à 5 heures, débutant dès que la réplication de l'ADN est achevée. La cellule contient le double de la quantité habituelle d'ADN. Il s'agit d'une phase de « sécurité » au cours de laquelle la cellule a le temps de réparer d'éventuelles erreurs commises lors de la réplication. Cette étape de transition permet à la cellule de se préparer à la division mitotique (augmentation de la masse cellulaire, synthèse des éléments nécessaires à la mitose).

1.2 La mitose ou phase M

Il s'agit de la phase durant laquelle la cellule réalise sa division en deux cellules filles. Elle est classiquement découpée en cinq périodes : prophase, terminée par la rupture de l'enveloppe nucléaire (NEBD, « *Nuclear Envelope Breakdown* ») ; prométaphase ; métaphase ; anaphase et télophase.

Brièvement, au cours de la mitose :

- **l'enveloppe nucléaire se désagrège**,
- **les chromosomes se condensent** et deviennent visibles sous la forme d'entités indépendantes (**prophase**).
- **les deux organisateurs** des microtubules, ou corps polaires, se déplacent pour se retrouver chacun d'un côté du noyau.
- **des faisceaux** de microtubules se développent à partir des corps polaires pour former le fuseau mitotique. Quelques-uns de ces microtubules s'attachent aux kinétochores des chromosomes qui, ainsi attachés, s'alignent alors sur la plaque métaphasique dans un plan situé à mi-chemin entre les corps polaires (**prométaphase et métaphase**). Lorsque tous les kinétochores sont attachés aux microtubules et alignés sur la plaque métaphasique, un signal est donné et l'anaphase débute.
- **les chromosomes** commencent à se déplacer vers les pôles qui s'éloignent par ailleurs l'un de l'autre (**anaphase**).
- **les chromosomes** regroupés aux pôles cellulaires forment une masse compacte hyperchromatique. La reconstruction du noyau commence : l'enveloppe nucléaire se reforme (**télophase**).

- la **cytokinèse** achève la division de la cellule produisant deux cellules filles. A travers ce mécanisme, les deux cellules filles sont dotées des mêmes chromosomes que ceux de la cellule mère.
- **après la division**, les cellules retournent en phase G1 terminant ainsi le cycle cellulaire.

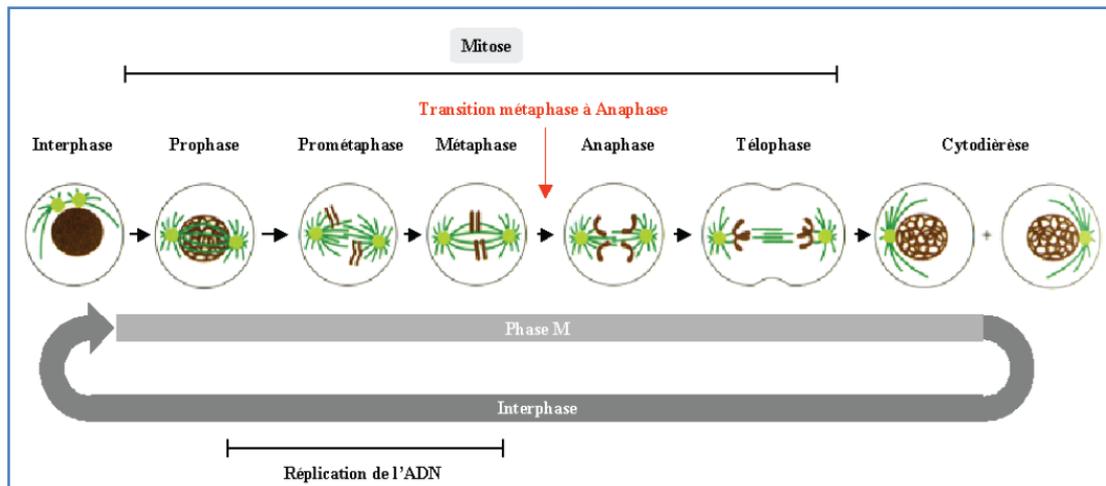


Figure 2 : Événements mitotiques

2. Contrôle du cycle cellulaire par les kinases cyclines-dépendantes (CDK)

La machine de contrôle du cycle cellulaire eucaryote est composée de complexes de protéines qui sont activés dans un ordre précis et qui déclenchent l'initialisation d'événements spécifiques, comme la réplication de l'ADN, la destruction de l'enveloppe nucléaire, la formation des fuseaux achromatiques et la ségrégation chromosomique.

2.1 Les complexes CDK-Cycline

2.1.1 Les cyclines

Les cyclines sont des protéines formées et dégradées au cours du cycle cellulaire. Elles ont été appelées « cyclines » car leur concentration varie périodiquement au cours du cycle cellulaire. Les cyclines sont définies par une région commune d'environ 100 acides aminés appelée « *cyclin box* » qui sert à lier et à activer les Cdk (Cyclin-Dependent Kinases ou CDK). Elles n'ont pas d'activité enzymatique, ce sont des protéines régulatrices nécessaires aux Cdk pour qu'elles soient enzymatiquement actives.

On distingue d'une part les cyclines dites « *START* » ou G1 qui atteignent leur pic d'expression en phase G1 (**cyclines D : D1, D2 et D3**) ou les cyclines nécessaires à la transition G1/S (**cycline E**) et d'autre part les **cyclines dites mitotiques (cyclines A et B)** dont le pic d'expression se situe en G2/M.

2.1.2 Les kinases dépendantes des Cyclines

Les kinases cyclines-dépendantes forment une famille de protéines kinases qui jouent un rôle essentiel dans le **déclenchement, le contrôle et la succession** harmonieuse des différentes phases du cycle cellulaire. Contrairement aux cyclines, qui sont synthétisées et dégradées spécifiquement, les CDKs ont un **niveau pratiquement constant** durant les phases du cycle cellulaire. En association avec les cyclines régulatrices conduisent les événements du cycle cellulaire eucaryote.

Il existe **onze gènes** codant pour les CDKs. Deux classes de CDKs ont été définies : CDK1, 2, 4, 6 sont dédiées au contrôle de la division cellulaire ; CDK8 et CDK9 sont essentiellement

impliqués dans la transcription. Une CDK, CDK7, ne peut être facilement classée, elle est à la fois une kinase activatrice du cycle cellulaire (CAK, *CDK Activating Kinase*) et une composante du complexe transcriptionnel TFIIF (« *Transcription Factor IIF* »).

Elles ont pour activité de **transférer** le groupement γ -phosphate de l'ATP sur **une sérine** ou **une thréonine** présente au niveau de **protéines cibles**.

Citons l'exemple du complexe **CDK1/Cycline B**, qui une fois activé provoque la phosphorylation de diverses protéines cibles (histones, condensines, lamines, protéines associées aux microtubules ou encore l'APC [« *Anaphase Promoting Complex* »]) et entraîne ainsi la rupture de l'enveloppe nucléaire, la condensation des chromosomes, l'assemblage du fuseau ou encore la ségrégation des chromosomes, étapes clés de la transitions G2/M.

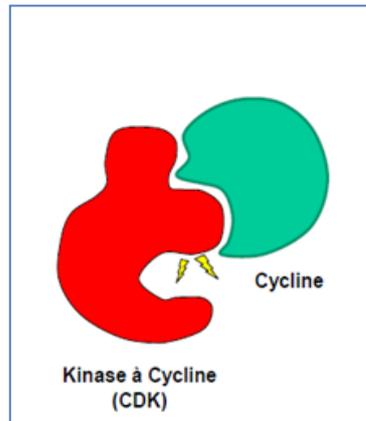


Figure 3 : Le complexe CDK/cycline

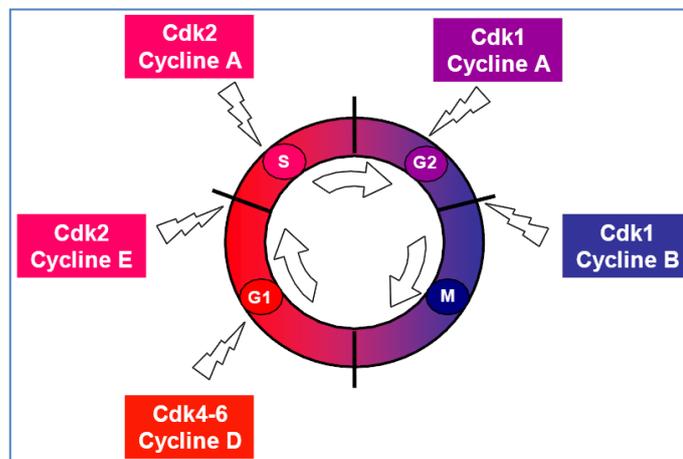


Figure 3: Les CDKs contrôlent le cycle cellulaire

Tableau 1: Propriétés et fonctions des Cyclines et CDKs connues

Protéine	Phase du cycle cellulaire	Fonction de la protéine
Cycline A	Progression de S jusqu'à M	Active CDK1 et CDK2
Cycline B1	Progression vers M	Active CDK1
Cycline B2	Progression vers M	?
Cycline C	G1 ?	Active CDK8
Cycline D1, D2 et D3	G1	Active CDK4 et CDK6
Cycline E	Transition G1/S	Active CDK2
Cycline F	G2 ou transtion G2/M	Impliquée dans des processus d'ubiquitination
Cycline G	Ubiquitaire ?	Réparation de l'ADN ?
Cycline H	Ubiquitaire	Active CDK7
CDK		
CDK1 (cdc2)	Progression vers M	Phosphorylation histone H1, laminines, etc.
CDK2	Progression post point R/START et S	Association et phosphorylation de l'appareil de réplication de l'ADN. Phosphoryle pRb
CDK3	G1 ou post point R/START	?
CDK4	G1	Phosphoryle pRb
CDK5	G0 ?	Phosphoryle tau et des protéines des neurofilaments
CDK6	G1 (presque identique à CDK4)	Phosphoryle pRb
CDK7	Ubiquitaire	Active les autres CDK et phosphoryle le CTD de l'ARN polymérase II
CDK8	G1	Phosphoryle le CTD de l'ARN polymérase II

2.2 Les points de contrôle du cycle cellulaire

Afin de s'assurer que chaque cellule nouvellement formée reçoive un génome complet, le déroulement du cycle cellulaire est contrôlé de telle manière que chaque phase du cycle cellulaire n'ait lieu **qu'une seule fois** par cycle et qu'aucune phase ne puisse commencer sans que les précédentes ne se soient correctement déroulées.

Ce sont les points de contrôle ou en anglais *checkpoint* qui sont mis en place aux étapes clés du cycle cellulaire et assurent la coordination des transitions entre les différentes étapes.

Les postes de contrôle sont comme des feux de signalisation biologiques qui disent à la cellule lorsqu'il est sécuritaire de procéder, ou d'arrêter pour réparer un problème.

- **Le poste de contrôle du G₁** : s'assure que la cellule est grosse assez pour débiter la phase S, qu'il y a suffisamment de nutriments pour continuer le cycle.

- **Le poste de contrôle du G₂** : s'assure que l'ADN est complètement répliqué, que des erreurs ont été réparées, et que la cellule est assez grosse pour se diviser.

- **Le poste de contrôle de la métaphase** : s'assure que les chromosomes sont alignés sur le fuseau, prêts pour la division cellulaire.

- Autres points de contrôle

Contrôle de la ségrégation des chromosomes

Évite la mauvaise répartition des chromosomes fils en fin d'anaphase, donc les catastrophes génétiques.

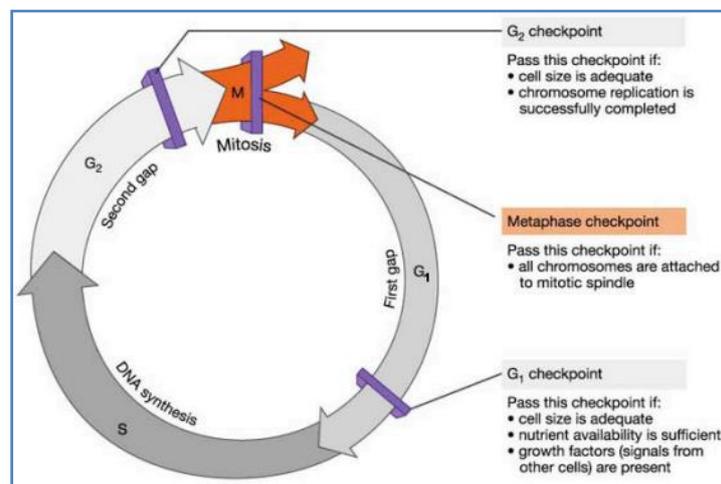


Figure 4 : Les points de contrôle du cycle cellulaire

2.3 Les mécanismes de surveillance du cycle

Ils s'ajoutent à la régulation de la succession des quatre phases du cycle par les Cdks. Ils permettent la surveillance d'aspects fondamentaux comme par exemple :

L'état des molécules d'ADN avant, pendant et après leur répllication (**DDCP**=DNA Damage Checkpoint).

L'achèvement total de la répllication avant l'entrée en mitose (**RCP**=Replication Checkpoint)

Le bon positionnement de tous les chromosomes sur la plaque métaphasique avant la séparation des chromatides-sœurs (**MPC**= Mitotic Checkpoint).

2.4 Contrôle moléculaire du cycle cellulaire

Pour assurer, d'une part, l'ordre stable de la succession des quatre phases du cycle (régulation du cycle), et d'autre part, l'obtention de deux cellules filles rigoureusement identiques (surveillance de l'ADN), la cellule dispose de systèmes de régulation hautement perfectionnés.

2.4.1 La transition G₀/G₁

Il existe une grande variété de facteurs mitogènes (signaux) qui agissent, en général, par l'intermédiaire de récepteurs transmembranaires de type **tyrosine kinases**. Suite à ces signaux (stimuli) reçu par la cellule, des cascades d'activation protéiques conduisent à la stimulation de la

transcription de gènes essentiels pour l'entrée en division, en particulier les gènes codant pour les **cyclines D et les CDKs**. L'oncogène **Myc** est impliqué dans l'entrée en **G1** et à sa progression. **Myc** forme un **dimère** avec la protéine **Max**, dimère qui active la transcription des gènes des cyclines **D et E**, de **CDK4**, d'**E2F** (Figure 5).

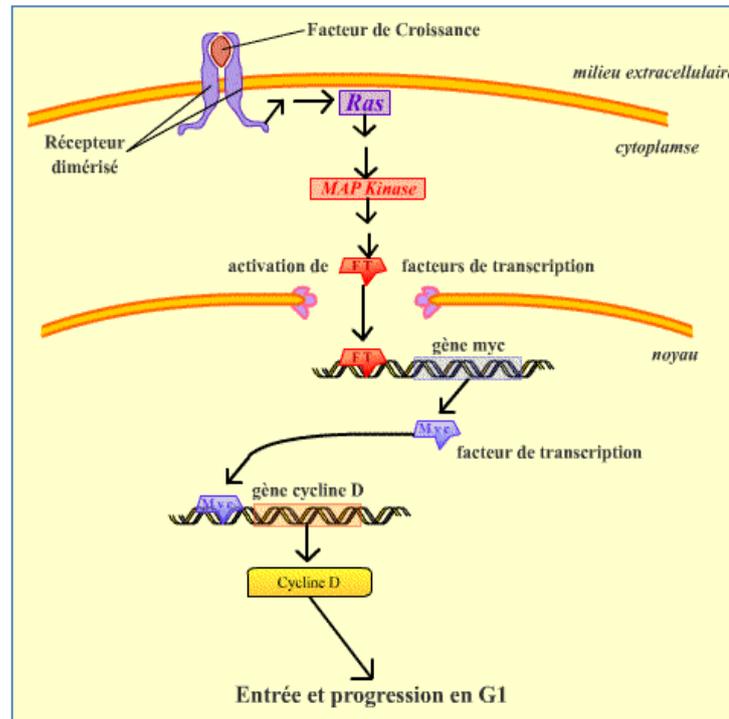


Figure 5 : Régulation de la transition G0/G1

2.4.2 La progression en G1

Le début du cycle cellulaire nécessite la transcription d'un certain nombre de gènes, tels ceux de la cycline D, et des gènes sous le contrôle des facteurs de transcription de la famille **E2F**, comme la cycline E.

Les cellules sont maintenues en G1 grâce aux protéines de la famille du rétinoblastome, **pRb**, **p107** et **p130** (« *pocket proteins* »). Ces **protéines** bloquent le cycle cellulaire en s'associant avec **E2F**. En effet, en complexe avec pRb, les facteurs E2F, restent inactifs. La protéine du rétinoblastome est une sorte de gardienne moléculaire qui empêche la progression en phase **G1**.

Au début de G1, la cellule contient le complexe Cycline **D/CDK4** qui, une fois activé initie la phosphorylation de pRb. **Phosphorylée, pRb libère E2F** qui sert alors de facteur de transcription du gène de la **cycline E**. La fonction essentielle de la **Cycline D/CDK4** est donc d'activer, au début de la phase G1, la transcription du gène de la cycline E intervenant dans la phase suivante du cycle.

Après la synthèse de la Cycline E, le complexe Cycline E/CDK2 pourra se former. Or, ce nouveau complexe phosphoryle lui aussi pRb. Lorsqu'elle est hyperphosphorylée, pRb libère le facteur **E2F** qui stimule alors la transcription du gène de la cycline suivante, la **cycline A**.

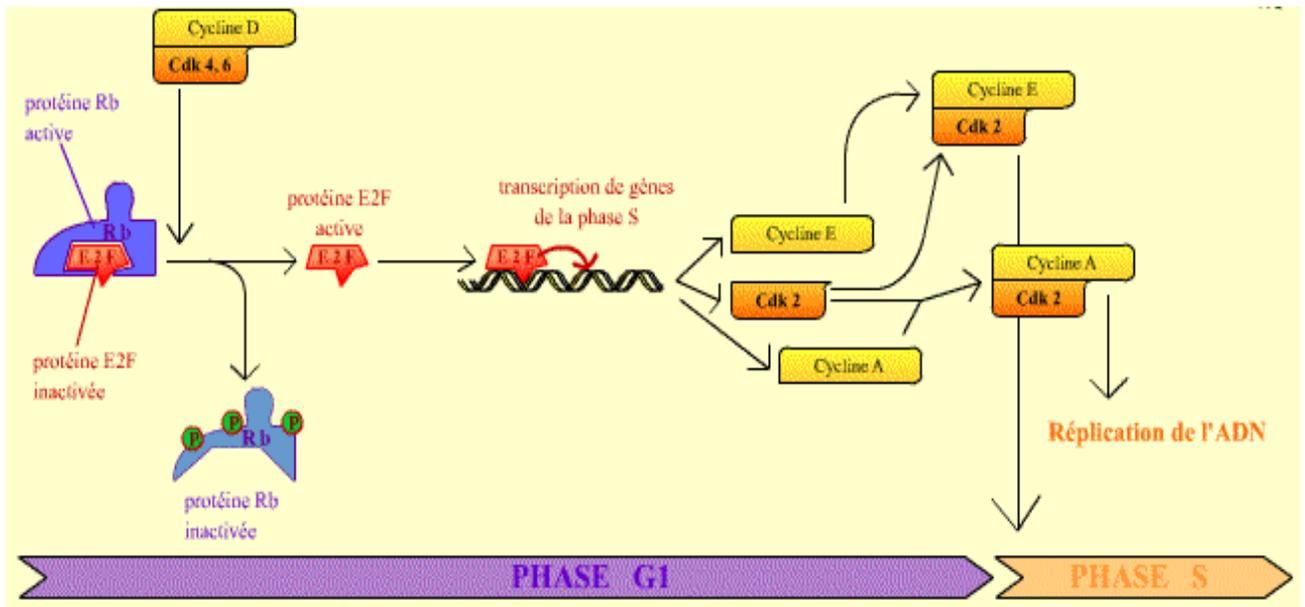


Figure 6 : Régulation de la progression en G1

2.4.3 Les transitions G2/M et prophase/métaphase

La transition **prophase/métaphase**, souvent abusivement nommée transition **G2/M**, est contrôlée par la kinase **CDK1/cycline B** formant le MPF (*Maturation Promoting Factor*). En fin de G2 et début de prophase, **CDK1** est présente sous forme monomérique inactive. Puis, au fur et à mesure de la synthèse de cycline B, le complexe CDK1/cycline B s'accumule dans le cytoplasme pour atteindre un niveau maximal en prophase, mais n'est actif qu'après sa translocation dans le noyau durant la prophase de la phase M.

Le MPF est activé lorsque la cellule est prête à entrer en phase M. L'activation du complexe MPF permet la phosphorylation des molécules cibles nécessaires à la division cellulaire, telles que les histones, les lamines nucléaires et l'ARN polymérase II.

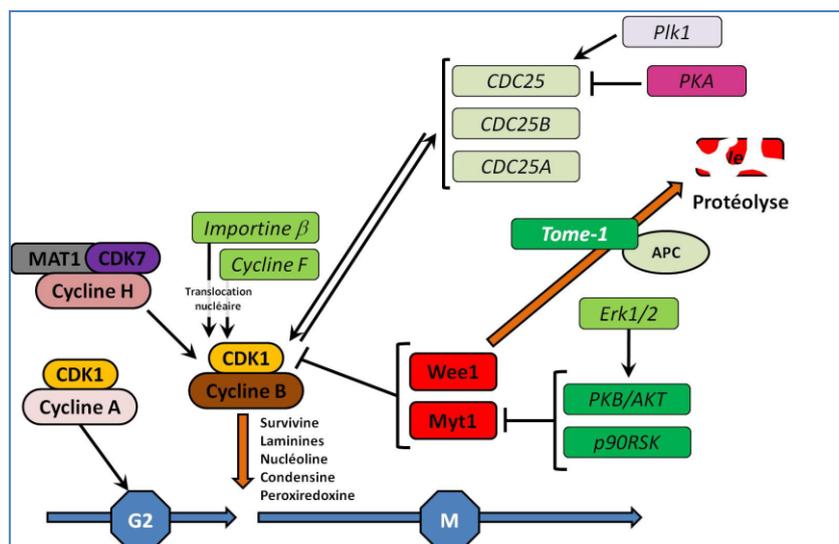


Figure 7 : Contrôle de la transition G2/M.

Chapitre 4 : l'apoptose

Ce processus a été identifié au cours des **années 60** et nommé « **apoptose** » par John F. R. Kerr *et al* en **1972**. Ce mot provient d'une locution grecque évoquant la « **chute des feuilles** » (du grec : **apo** - éloignement et ptosis - **chute**).

La mort cellulaire « programmée », c'est-à-dire génétiquement contrôlée est un phénomène essentiel dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Elle s'oppose à la prolifération cellulaire. Ces deux processus sont en équilibre constant à l'état physiologique (homéostasie).

Trois types principaux de mort cellulaire sont reconnus : **apoptose, autophagie et nécrose**.

- **L'autophagie** constitue un mécanisme de survie de la cellule à une **carence en nutriments**. **L'auto-digestion** de ses organites permet à la cellule de palier ses besoins en substrats. Lorsque la carence persiste, la cellule enclenche un processus de mort cellulaire (« **autophagy associated cell death** »).

- **L'apoptose** et **la nécrose** ont longtemps été opposées. L'apoptose est généralement considérée comme une mort programmée, garantissant l'homéostasie tissulaire, alors que la **nécrose** est décrite comme une **mort accidentelle** non physiologique (**Figure 1**).

1. Caractéristiques morphologiques de l'apoptose

L'apoptose s'accompagne des changements morphologiques caractéristiques :

- la cellule se détache de ses voisines
- arrondissement de la cellule avec rétraction des pseudopodes,
- réduction du volume cellulaire et condensation nucléaire (pyknosis),
- condensation de la chromatine qui s'accroche à l'enveloppe nucléaire
- fragmentation nucléaire (karyorrhexis),
- pas ou peu de modifications de la structure des organites cytoplasmiques, (agglomération)
- un « bourgeonnement » membranaire (« blebbing ») et une internalisation par les phagocytes.

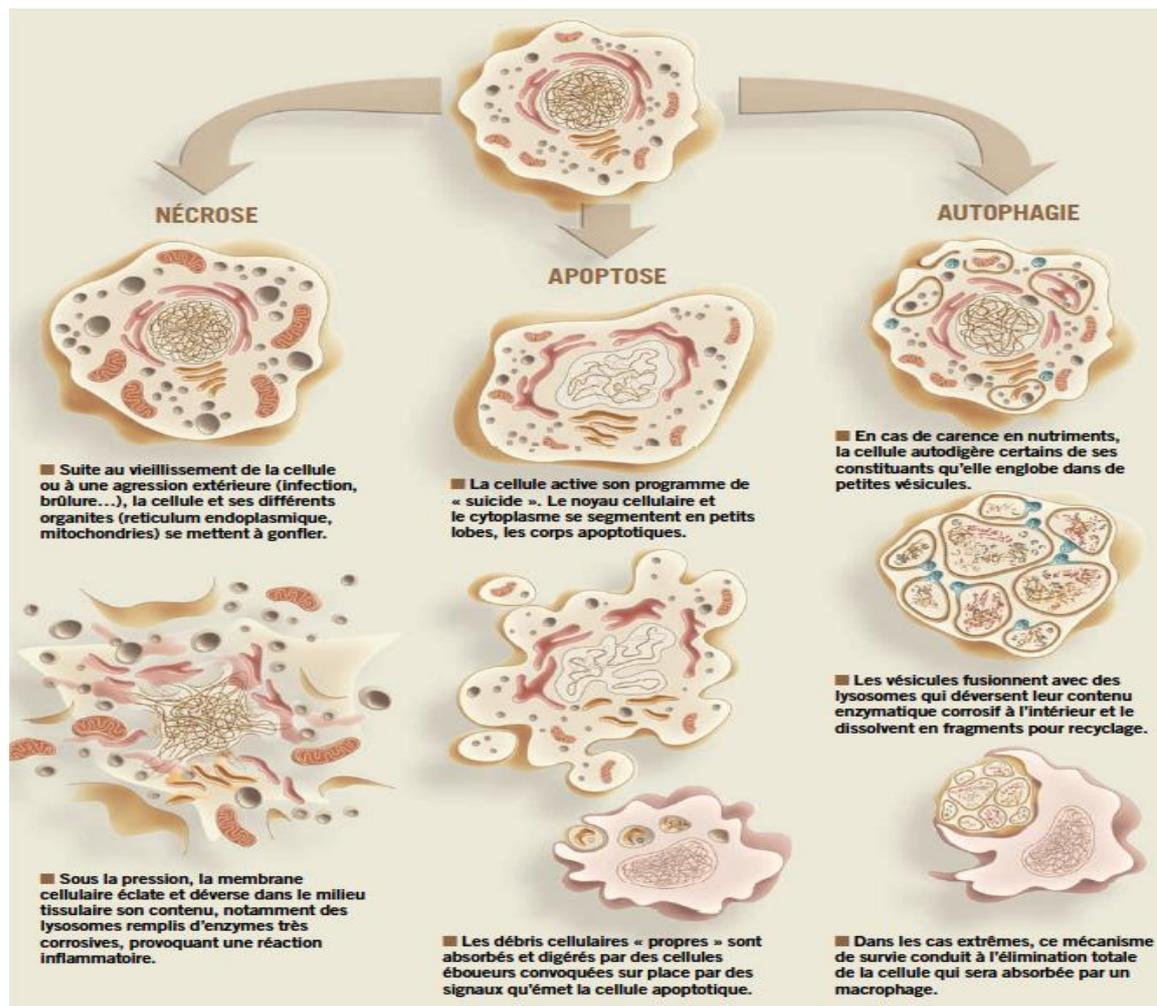


Figure 1 : Les trois modes de mort cellulaire

2. Protéines impliquées dans l'apoptose

De nombreuses protéines sont impliquées dans ce mécanisme. On distingue :

2.1 Les protéines régulatrices

On retrouve des protéines activatrices ou **pro-apoptotiques** et des protéines inhibitrices ou **anti-apoptotiques**.

2.2 Les protéines intervenant dans l'exécution de l'apoptose

Une famille de **protéases** appelées **caspases** est responsable de l'initiation de l'apoptose et du clivage des composants intracellulaires.

Les caspases sont des **protéases** possédant un résidu **cystéine** dans leur **site actif** et un résidu **aspartate** dans leur site de clivage (en anglais « **cysteiny-l-aspartate-cleaving proteases** »). Chez les mammifères, il existe **14 caspases** (dont **12 chez l'homme**) que l'on classe en trois sous-types :

- les caspases **initiatrices** ;
- les caspases **exécutrices** (ou **effectrices**) **apoptotiques**
- les caspases **inflammatoires**.

Les caspases initiatrices sont en amont dans la cascade et, quand elles sont activées, elles activent à leur tour les caspases exécutrices. Ces caspases initiatrices sont capables de s'auto-activer en réponse aux stimuli pro-apoptotiques au sein de complexes multiprotéiques.

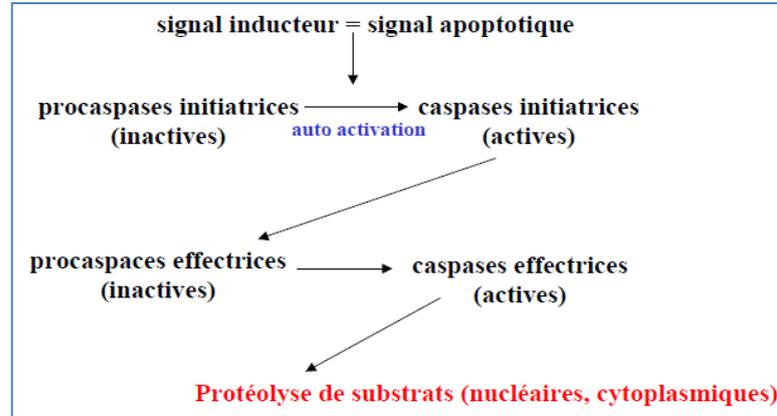


Figure 2 : Activation en cascade des caspases

2.2.1 Structure et mécanisme d'activation des caspases

Toutes les caspases ont une structure conservée et sont synthétisées sous forme de **précurseurs inactifs** ou **zymogènes** appelés **pro-caspases**. Elles sont constituées de trois parties principales :

- un **pro-domaine**, de taille et de séquences variables, localisé à l'extrémité amino-terminale de la protéine,
- une **grande sous-unité** (environ 20 kDa) qui contient le **site catalytique** de l'enzyme et qui se situe au milieu de la molécule et
- une **petite sous-unité** (environ 10 kDa) localisée dans la partie carboxy-terminale.

Le pro-domaine peut être constitué de deux motifs différents : le motif **CARD** (pour « caspase recruitment domain ») et **DED** (pour « death effector domain ») qui permettent une interaction entre les caspases.

L'activation des pro-caspases nécessite le **clivage du pro-domaine** et un **clivage entre la grande et la petite sous-unité**. Ceci va permettre un réarrangement du site actif de la caspase en conformation active. Le site actif se trouve au niveau de la grande sous-unité, mais, celle-ci doit rester associée à la petite sous-unité pour exercer sa fonction catalytique. Les caspases fonctionnent classiquement en **hétérotétramères** suite à la **dimérisation de deux hétérodimères**. En l'absence de tout stimulus apoptotique, les caspases initiatrices existent sous forme de monomères et les caspases effectrices sous forme de dimères de pro-caspases.

C'est la phase d'induction de l'apoptose. Elle peut être régulée par des facteurs environnementaux tels que des facteurs de croissance, des récepteurs de surface cellulaire ou des hormones et/ou des facteurs cellulaires, principalement mitochondriaux.

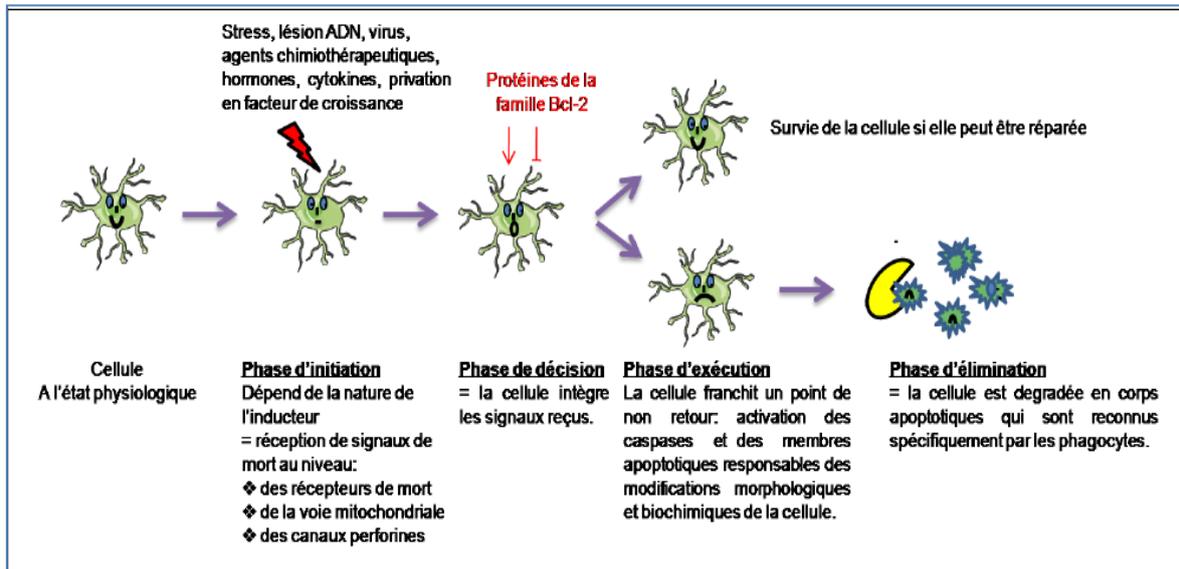


Figure 5 : Déroulement en 4 grandes étapes du processus apoptotique

3.2 Phase de décision

La phase de décision, durant laquelle la cellule **intègre les signaux de mort reçus**, est régulée par les membres de la **famille de Bcl-2**.

Les phases d'initiation et de décision sont réversibles.

3.3 Phase d'exécution ou de dégradation

La phase d'exécution est la phase au cours de laquelle sont activées des enzymes (caspases effectrices) qui dégradent des substrats cellulaires provoquant la mort de la cellule.

3.4 Phase d'élimination

Les corps apoptotiques sont reconnus spécifiquement par des phagocytes. La cellule apoptotique relargue des molécules **chimiotactiques**, telles que la **lysophosphatidylcholine** sous l'action de la **caspase-3**, pour attirer le phagocyte.

4. Génétique de l'apoptose

La génétique de l'apoptose a été tout d'abord décrite chez *Caenorhabditis elegans* (Modèle unique d'étude du développement).

4.1 Les gènes impliqués chez les mammifères

Chez les mammifères, le processus de la mort cellulaire programmée a été attribué, entre autres, à un ensemble de **protéines impliquées dans la réception et dans la transmission du message de mort cellulaire (la famille Bcl-2)**. L'activité principale des membres de la famille Bcl-2 est de contrôler l'activation ou l'inhibition de la cascade des caspases. En effet, tous les membres de cette famille possèdent **un à quatre** domaines conservés **BH (Bcl-2 Homology)**.

Elles sont divisées en trois groupes, selon des critères fonctionnels et structuraux (Tableau 1) :

- les anti-apoptotiques multidomaines, comme Bcl-2 et Bcl-xL ;
- les pro-apoptotiques multidomaines, comme Bax et Bak ;

- les pro-apoptotiques qui ne possèdent que le domaine BH3, telles que Bad et Bid (Figure 6)

Tableau 1 : Caractéristiques des différents groupes de protéines de la famille Bcl-2 (Adolphe et al. 2003)

	Groupe I	Groupe II	Groupe III
Protéines	Bcl-2, Bcl-xL	Bax, Bak	Bid, Bad, Bim, Bmf, Noxa
Motifs	BH1 à BH4	BH1 à BH3	BH3
Localisation	Membrane externe de la mitochondrie	Cytoplasme puis membrane mitochondriale (→ sortie cytochrome-c)	
Rôles	Anti-apoptotique Prévient la libération du cytochrome-c	Pro-apoptique Formation pores dans membrane mitochondrie	Pro-apoptotique Favorise activation de Bax Inhibe fonction de Bcl-2

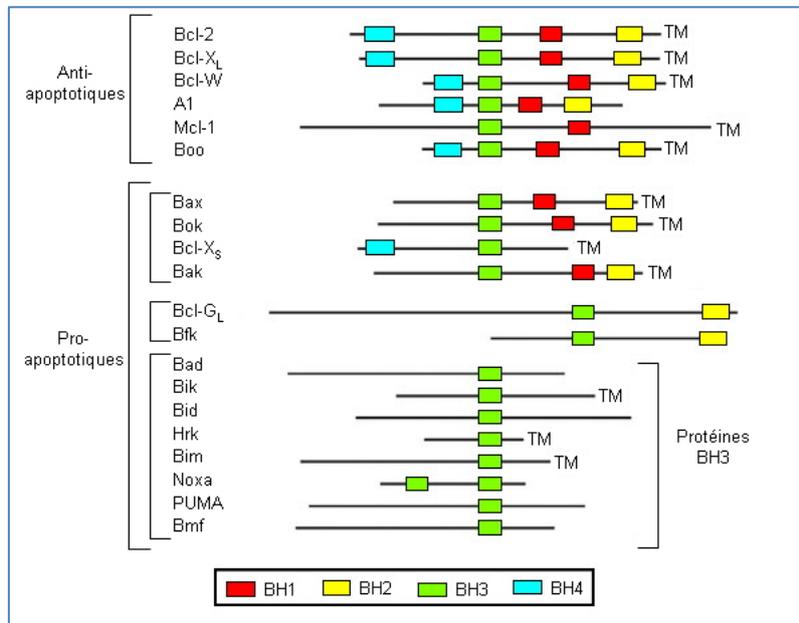


Figure 6 : Structure des protéines Bcl-2 et Bax

La protéine Bcl-2 possède les quatre domaines BH et un domaine transmembranaire (TM).

La protéine Bax possède uniquement les domaines BH1-BH3 et le TM.

La troisième classe uniquement le domaine BH3

Le gène **Bcl-2** (B-cell lymphoma) a été le premier régulateur de l'apoptose à être identifié chez l'humain. La **surexpression de Bcl-2**, empêche les cellules de mourir. Quelques années plus tard, la protéine **Bax** ("Bcl-2-associated protein X") a été isolée grâce à sa capacité à former un hétérodimère avec la protéine Bcl-2. Lorsqu'elle est surexprimée, la protéine Bax **accélère l'apoptose** et inhibe l'effet protecteur conféré par la surexpression de Bcl-2.

De nombreux membres de cette famille peuvent former des homo- ou hétérodimères entre eux par le domaine **BH-3**.

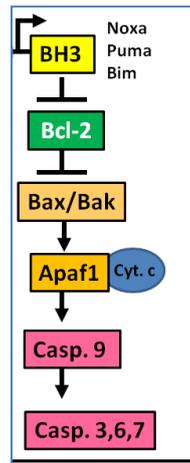


Figure 7 : Les protéines régulatrices de la mort cellulaire programmée

5. Voies d'induction de l'apoptose

Il existe deux voies principales d'induction de l'apoptose : la voie des récepteurs de mort (ou voie extrinsèque) et la voie mitochondriale (ou voie intrinsèque).

5.1 Voie des récepteurs de mort (Voie extrinsèque) :

L'activation de la voie extrinsèque de l'apoptose se fait en réponse à la fixation de ligands spécifiques, de type **cytokines**, sur **des récepteurs de surface** appelés **récepteurs de mort**.

5.2 Voie mitochondriale (Voie intrinsèque)

La voie mitochondriale de l'apoptose est induite par des signaux de stress cellulaire tels que l'exposition à des radiations UV, une irradiation γ , des altérations de l'ADN, une déprivation en facteurs de survie ou encore suite à l'action d'oncoprotéines, de protéines suppresseurs de tumeurs ou de protéines virales. Enfin, la voie mitochondriale est activée par la plupart des agents chimiothérapeutiques.

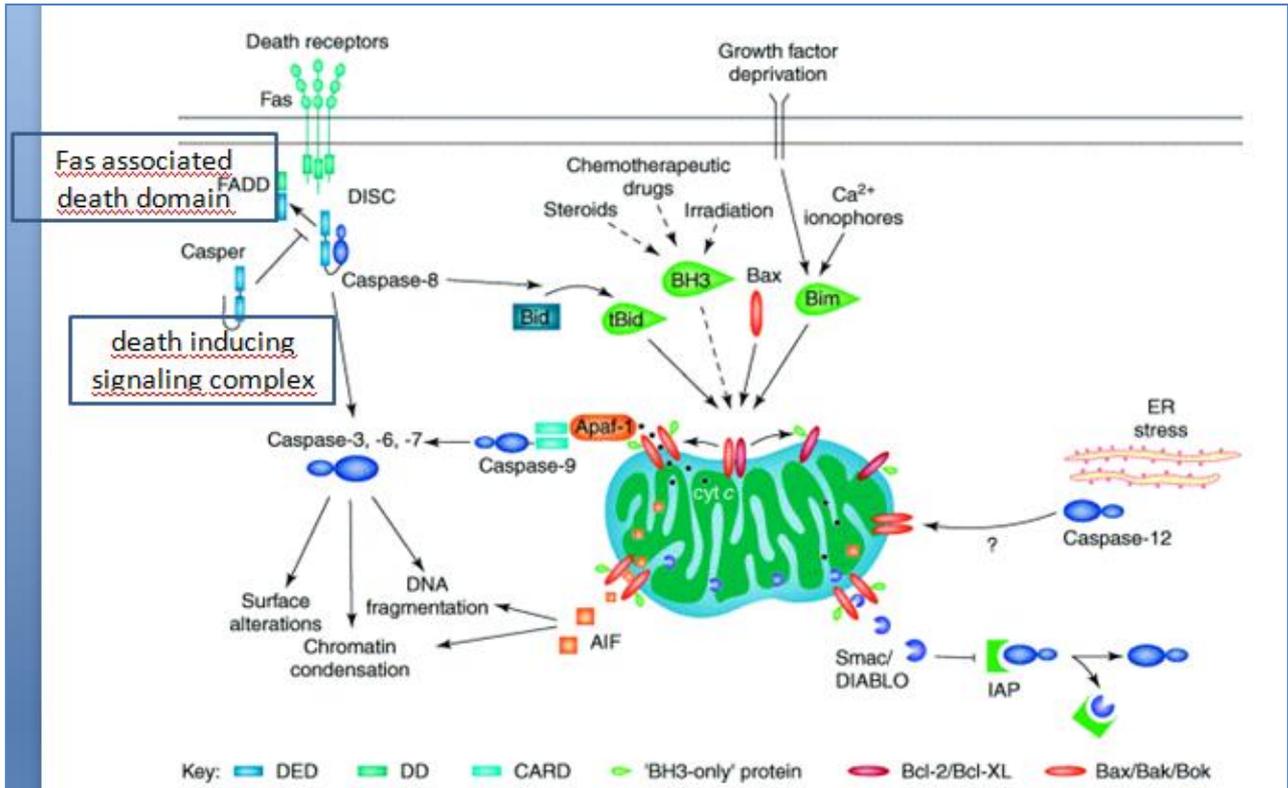


Figure 8 : Les voies d'activation de l'apoptose

6. Apoptose et pathologies

Le dérèglement des mécanismes de régulation de la mort cellulaire apoptotique est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies.

Ces dérèglements peuvent conduire à un excès ou à un défaut d'apoptose et caractérisent différents types de pathologie.

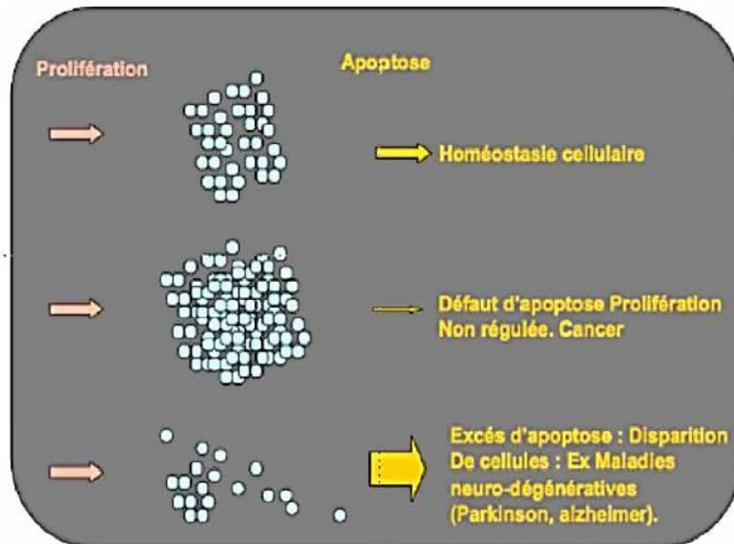


Figure 9 : Apoptose et pathologies

7. Rôles de la mort cellulaire

7.1 Élimination des « surplus » de cellules saines :

- Embryologie (cavités, morphogénèse, structures vestigiales, cellules « en trop »)

- homéostasie = constance de la masse cellulaire

- processus physiologiques (cellules mammaires, endomètre, cellules épithéliales...)

7.2 Suppression des cellules endommagées (défauts génétiques, vieillissement, maladies, agents toxiques...)

7.3 Régulation des populations cellulaires (ex. élimination régulée de certaines populations cellulaires immunitaires).

Chapitre 5 : la cancérogenèse

Le "Cancer" est un terme général appliqué à un grand groupe de pathologies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Les termes de tumeurs malignes ou de **néoplasmes malins** sont aussi souvent employés. Il s'agit d'une maladie génétique des cellules somatiques. Toutes les cellules qui constituent une tumeur sont, au départ, issues d'une seule cellule qui s'est dérégulée.

1. La classification des cancers

La classification des cancers s'est établie suivant le type de cellule, de tissu ou l'organe affecté au départ. On distingue ainsi quatre grandes familles de cancer.

- ⊙ **Les carcinomes** : sont les plus fréquents (plus de 85%). Il concerne **les tissus épithéliaux**, c'est-à-dire des tissus minces formés d'une ou plusieurs couches de cellules jointives.
- ⊙ **Les sarcomes** : concernent **les tissus conjonctifs** de soutien de la structure de l'organisme, qu'ils soient communs ou spécialisés (par exemple osseux, cartilagineux, musculaires, adipeux, vasculaires...). Les sarcomes sont très rares (moins de 1%).
- ⊙ **Les lymphomes** : concernent **le tissu hématopoïétique**: moelle rouge des os où les cellules du sang se forment et tissu lymphoïde ; se développent à partir des cellules du système immunitaire, le plus souvent dans les ganglions lymphatiques.
- ⊙ **Les leucémies** : concernent les tissus de la moelle osseuse responsable de la production des globules blancs.
- ⊙ **Les blastomes** : tumeurs des cellules embryonnaires

2. Les différentes étapes de la progression tumorale : d'une cellule saine à une tumeur

Trois étapes sont nécessaires à la formation d'une cellule cancéreuse : **l'initiation, la promotion et la progression**.

L'initiation et la promotion sont les deux étapes clés avant la progression tumorale. Elles permettent le passage de la **cellule saine** "sous contrôle" à une **cellule cancéreuse** qui évoluera par la suite en tumeur.

2.1 L'initiation

Elle est due à l'altération du génome (mutation) rendant les cellules capables de se diviser en **l'absence** d'une stimulation venue du tissu. Ces altérations de l'ADN peuvent être causées par un génotoxique d'origine **endogène** ou encore **exogène**. Certaines **Espèces Réactives de l'Oxygène** qui se forment lors du métabolisme sont des agents d'oxydation extrêmement puissants. L'initiation est un événement relativement fréquent contre lequel existent des protections cellulaires multiples et puissantes. Quand **le nombre de lésions** est **faible**, des mécanismes de réparation de l'ADN se mettent en place. Quand le nombre de lésions est **trop important**, ces systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN ne peuvent pas fonctionner correctement. Ceci se produit lorsque le génotoxique est présent de manière répétée et à forte concentration.

Tant que fonctionnent les mécanismes de régulation de **l'homéostasie cellulaire (apoptose)**, ces cellules initiées (possédant de l'ADN muté) peuvent encore rester sous contrôle. Lorsque cet **équilibre est rompu**, la cellule peut rentrer dans une phase de mort cellulaire programmée (**apoptose**) ou bien poursuivre son évolution.

2.2 La promotion

Correspond à une exposition prolongée, répétée ou continue à une substance qui entretient et stabilise la lésion initiée. Au cours de cette deuxième phase, la cellule acquiert par **mutations successives**, les caractéristiques qui lui permettent de créer un cancer.

Ces étapes peuvent être réversibles.

2.3 La progression tumorale : développement de la tumeur primaire

Correspond à l'acquisition des propriétés de multiplication non contrôlée, l'acquisition de l'indépendance, la perte de la différenciation, l'invasion locale et métastatique.

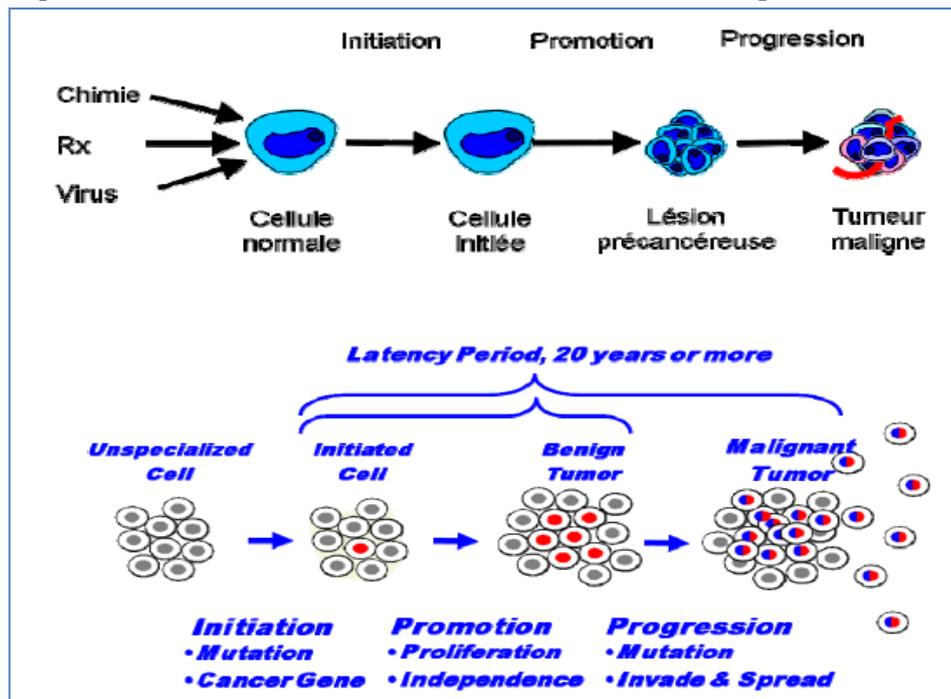


Figure 1 : Stages de la formation du cancer

3. Caractéristiques des cellules cancéreuses

Les avantages sélectifs caractéristiques des cellules cancéreuses sont :

- **Indépendance vis-à-vis des signaux (auto-suffisance)** stimulant la prolifération. Les cellules normales ne se divisent que lorsqu'elles reçoivent un stimulus particulier. Les cellules tumorales n'ont plus besoin de ce signal.
- **Insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance**
- **Abolition de l'apoptose.** En cas de stress ou d'anomalie ne pouvant pas être éliminée, l'apoptose est déclenchée. Dans les cellules tumorales, tous ces mécanismes sont inactivés.
- **Capacité proliférative illimitée :** le nombre usuel de divisions cellulaires pour une cellule humaine est de 50 à 60 (sénescence cellulaire), les cellules tumorales continuent de se diviser sans limite visible.
- **Capacité de susciter l'angiogenèse :** les cellules tumorales ont un besoin important en oxygène pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins afin d'oxygéner la tumeur.

- **Acquisition d'un pouvoir invasif et de métastase** : les cellules tumorales sont capables de passer à l'intérieur d'un vaisseau sanguin afin d'être transportées dans un autre organe où elles vont générer une seconde tumeur (métastase).

4. Génétique et cancérogénèse

La cause principale du cancer est l'altération de gènes. Le plus souvent il s'agit d'altérations **génétiqes somatiques** qui ne sont présentes que dans le tissu malade. Seuls 10% des cancers humains sont **familiaux**, c'est à dire sont associés à une altération constitutionnelle (ou germinale) d'un gène.

4.1 Gènes et cancer

⊙ **Proto-oncogène** = gène capable de devenir un oncogène suite à une modification qualitative ou quantitative.

Onco-protéine = produit protéique d'un oncogène.

⊙ **Anti-oncogène = gène suppresseur de tumeur** = gène

- freinant la prolifération cellulaire
 - induisant l'apoptose
 - maintenant la stabilité du génome en réparant l'ADN
 - favorisant la différenciation cellulaire

Les gènes responsables de l'oncogénèse sont des formes mutées de ces deux types de gènes.

⊙ **Gènes de stabilité ("caretakers")**

Gènes de réparation des anomalies induites lors de la réplication ou de l'exposition aux mutagènes : MMR, NER, BER.

⊙ **Autres**

Gènes du métabolisme des carcinogènes (qui codent les enzymes de détoxification).

L'analyse moléculaire des tumeurs humaines montre que les protéines régulatrices du cycle sont fréquemment mutées. On peut constater :

- des **sur-expressions** de protéines qui normalement sont des stimulatrices de la prolifération : Cyclines (Cycline D dans le cancer du sein) ou Cdk (Cdk4 par exemple)
- des **pertes d'expression** ou des **inactivations de protéines** qui normalement sont des freins du cycle (CKI, pRb).

Exemples

Le gène Rb en 13q14 : gène suppresseur de tumeur qui code la protéine pRb qui inactive la transcription en se liant aux membres du complexe **E2F**----frein au cycle cellulaire.

Le gène c-myc : c'est un oncogène qui code pour l'oncoprotéine nucléaire activatrice de la transcription des gènes des **Cyclines D**.

Le gène p53 : gène suppresseur de tumeurs dont la protéine codée peut s'activer en cas de lésion et active la transcription des gènes de réparation, de l'apoptose (bax) et des gènes de l'arrêt du cycle cellulaire (p21).

Chapitre 6 : la tératogénèse

Les toxiques peuvent avoir différents types d'action sur l'embryon. Ces différentes manifestations toxiques qui peuvent l'affecter représentent l'embryo-toxicité de la substance. Celle-ci peut se manifester de plusieurs manières:

- **L'embryo-létalité** est la mort du produit de la conception (embryon). Elle peut survenir à tous les stades de la gestation.
- **Le retard de croissance** est la réduction de la taille et du poids du fœtus. Le nouveau né est anatomiquement anormal mais de poids ou de stature inférieure à la normale.
- **La térato-génicité** est l'apparition de malformations suite à la toxicité d'une substance.

La tératogénèse est une **production pathologique ou expérimentale** d'anomalies du développement. Les agents tératogènes sont donc des agents responsables de malformations congénitales.

La tératologie est une branche de l'embryologie qui s'intéresse aux anomalies du développement qui peuvent être :

- Structurales
- Fonctionnelles
- biochimique

1. Les différents types de facteurs tératogènes

Les facteurs tératogènes peuvent être :

- « internes », c'est à dire endogènes,
- « externes » ou exogènes c'est-à-dire en rapport avec l'environnement
- ou mixtes.

Les malformations congénitales peuvent donc être induites de plusieurs manières.

1.1 Les facteurs tératogènes internes: malformations d'origine génétique: ces facteurs sont liés au génome du sujet: ce sont soit des gènes anormaux (mutations géniques), soit des aberrations chromosomiques.

1.2 Les facteurs tératogènes externes: les malformations exogènes:

Le génome est dans ce cas normal mais son expression est altérée par des facteurs environnementaux agissant au cours du développement embryonnaire et ayant une action tératogène. Il en existe de plusieurs sortes:

1.2.1 Les facteurs nutritionnels:

Les carences et les excès en vitamines et en acides aminés chez la mère peuvent être à l'origine de malformations fœtales.

1.2.2 Les facteurs hormonaux:

Les carences et les excès en hormones chez la mère entraînent également des malformations fœtales. Comme exemple de carence on peut citer : Diabète maternel, hyperthyroïdie

1.2.3 Les facteurs mécaniques

Utérus malformé

1.2.4 Les facteurs physiques

Ce sont les plus anciens facteurs étudiés: rayons X, irradiation radioactives, carence en oxygène, hyperthermie....

1.2.5 Les facteurs infectieux

Ce sont les virus qui sont les plus tératogènes dans cette catégorie (rubéole). Il existe aussi des parasites responsables de malformations comme la toxoplasmose qui entraînent des malformations du système nerveux.

1.2.6 Les facteurs chimiques

Ce sont des toxiques utilisés comme médicament ou présents dans l'environnement.

Les médicaments représentent la première cause de malformations congénitales chez l'homme. Parmi eux, on peut citer la thalidomide, anti-nauséeux ayant provoqué la naissance d'enfants porteurs de graves malformations; certains antibiotiques comme les tétracyclines,

Les métaux lourds : le plomb, le mercure et l'oxyde de carbone....

1.2.7 autres facteurs

- Insecticides
- Drogues
- Tabac
- Alcool
- Facteurs immunologiques (Incompatibilité rhesus).

1.3 Les facteurs intermédiaires ou mixtes: malformations plurifactorielles

Ce sont des facteurs mixtes qui résultent de l'action d'un facteur externe sur un terrain favorable déterminé génétiquement.

Il n'existe pas de malformation génétique nette mais l'expression de un ou de plusieurs gènes est modifiée par l'intervention d'agents tératogènes de faible activité.

L'expression du gène est alors légèrement altérée, ce qui le rapproche du seuil de survenue d'une malformation.

2. Les différentes périodes de sensibilité

2.1 Période dite d'insensibilité tératogénique :

Elle s'étend de la fécondation jusqu'à la fin du stade blastula et dure environ 2 semaines. Elle inclut par conséquent la période de la vie libre de l'embryon c'est-à-dire de la fécondation au 6ème jour et la nidation du 6ème au 11ème jour.

2.2 Période de grande sensibilité tératogénique

Elle correspond à la période embryonnaire du 15^{ème} jour à la fin de la 8ème semaine de la gestation.

Elle comprend la gastrulation (3ème semaine), période au cours de laquelle sont mis en place les 3 feuilletts primitifs qui sont les précurseurs des organes, et la phase d'organogenèse.

Durant cette période, les facteurs tératogènes déterminent des anomalies graves qui sont souvent létales.

2.3 Période de sensibilité tératogénique modérée

Elle couvre la période fœtale (de la 8è à la 38è semaine).

3. Mécanismes

- Défaut de prolifération cellulaire
- Défaut de migration cellulaire
- Absence de mort cellulaire physiologique
- Excès d'apoptose
- Perturbation d'un phénomène d'induction.

4. Principales malformations congénitales

Les malformations qui sont décrites sont celles qui sont les plus fréquentes et ne représentent qu'une partie des malformations observées. Tous les organes et viscères peuvent en être concernés.

4.1 Au niveau de la tête et du cou

- Hydrocéphalie
- Encéphalocèle
- Fentes labiales et palatines : La fente labiale (bec de lièvre) est une embryopathie précoce qui atteint de façon variable la lèvre supérieure, la base des narines et la future arcade dentaire,
- **Trisomie 21**

4.2 Au niveau de la colonne vertébrale

- **Spina bifida:** Il est caractérisé par une absence de fermeture des arcs vertébraux postérieurs.
- **Tératome sacrocoxygien:** Il s'agit de la tumeur néonatale la plus bénigne

4.3 Au niveau de la paroi abdominale et du tube digestif

4.4 Au niveau des membres

4.5 Au niveau de la peau

Références bibliographiques

LIVRES

- **Klug W**, Cumming M, Spencer C. Génétique, 8ème édition, Pearson education France, 2006.
- Daniel L. Hart I, Jones EW. Génétique les grands principes, 3ème édition, Dunod, Paris, 2003.
- **Griffiths A J. F.** Analyse génétique moderne, 1ère édition, De Boeck Université, 2001
- **Carroll SB**, Griffiths AJF, Wessler S, Lewontin Richard C. Introduction à l'analyse génétique. 5ème édition. De boeck 2010.
- **Moussard C.** Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires. Bruxelles. Deboek université.

ARTICLES

- **Wolowiec D**, Ffrench M. Kinases dépendantes des cyclines : rôle biologique et implications dans la pathologie humaine. médecine/sciences 1996 ; 12 : 165-73.
- **Pommier Y**, Kohn KY. Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie : nouvelles cibles thérapeutiques. Médecine/Sciences 2003 ; 19 : 173-86.
- **Meijer L.** Le cycle de division cellulaire et sa régulation. Oncologie (2003) 5: 311-326.
- **Prisant N.** Tératogénèse. Module De Maieutique. Unité foetoplacentaire.

THESE EN LIGNE

- **Mayola E.** Etudes des mécanismes de mort cellulaire et résistance des cellules cancéreuses pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques : modèle du mélanome. Thèse de doctorat. Université Paris XI, 2011.
- **Poulain J.** Etude du rôle de gènes contrôlant le cycle cellulaire au cours du développement racinaire de *Cichorium intybus* L. isolement et caractérisation d'une cycline mitotique de type B de chicorée. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille, 2003.
- **Carmaux S.** Caractérisation de la mort des cellules animales cultivées en bioréacteur. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré – Nancy I, 2008.
- **Robinet P.** La mitogaligine, protéine de la mort cellulaire programmée : localisation nucléaire, conséquences de modifications post-traductionnelles potentielles et interaction fonctionnelle avec Mcl-1. Life Sciences. Université d'Orléans, 2010. French. <NNT : 2010ORLE2082>. <tel-00635381> .
- **Deloger M.** Etude de l'expression des éléments transposables chez *Drosophila melanogaster* par approche bioinformatique. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Claude Bernard – Lyon I, 2009. Français. <NNT : 2009LYO10152>. <tel-00612283>.
- **Gaboriaux L.** Automédication chez la femme enceinte : bilan des questions des professionnels de santé au centre national de pharmacovigilance de Nantes de 1987-2010. Thèse de doctorat. Université de Nantes, 2012.

- **Hèdirè Y.** Malformations congénitales reconnaissables à la naissance chez les nouveau-nés dans le département de pédiatrie du centre hospitalier universitaire Souro Sanou. Thèse de doctorat. **Université de Ouagadougou, 2011.**
- **Youlyouz-Marfak I.** Relation Entre P53 Et Stat1 : Etude De La Réponse Aux Stress Génotoxiques Et Des Modèles Cellulaires B Immortalisés par le virus D'epstein Barr. Thèse de doctorat. Université De Limoges, 2008.

SITES WEB

1. <https://slideplayer.com/slide/4246455/>