

Chapitre 03:

Recombinaison génétique et éléments génétiques transposables

1- Recombinaison génétique

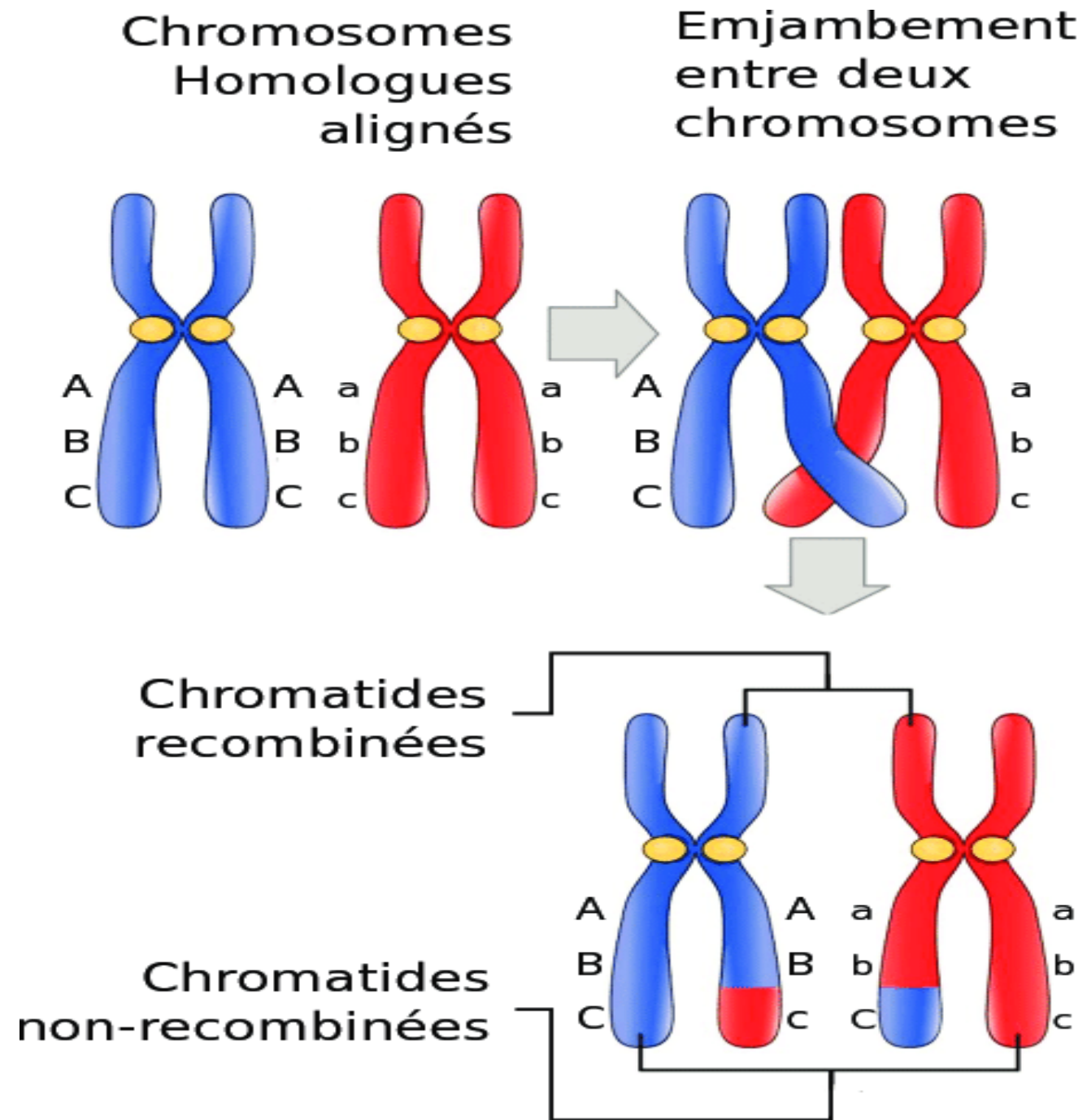
Les processus de recombinaison correspondent à **des réorganisations du génome par échange de matériel génétique. Ces échanges sont réciproques entre chromosomes ou fragments d'ADN.**

Dans le cas normal, Ils se réalisent selon deux mécanismes différents qui impliquent **une cassure et une ligature des brins d'ADN**. Il s'agit de: **Recombinaison homologue** et **recombinaison spécifique de site**.

Ils participent aussi bien à **la variabilité** qu'au maintien de la stabilité des génomes.

Ces deux types de recombinaison se distinguent par les mécanismes mis en œuvre, les protéines impliquées et la nature de l'ADN recombiné.

Exemple d'une recombinaison génétique « homologue »



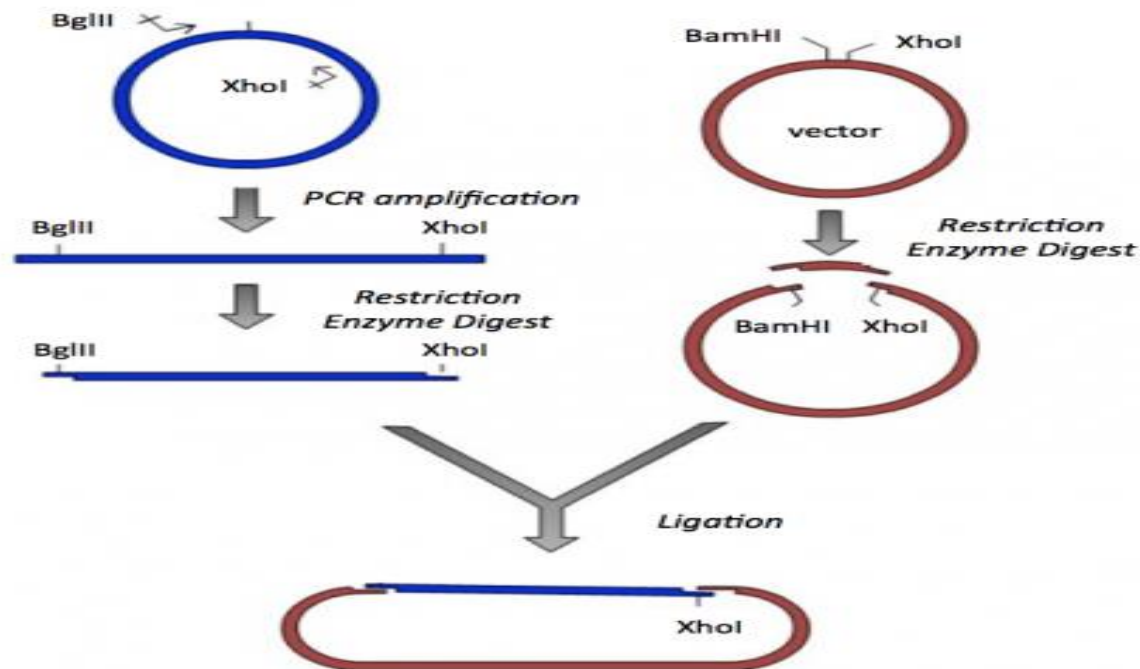
1. La recombinaison homologue

La recombinaison homologue, ou générale, est un processus d'échange de matériel génétique impliquant **des séquences d'ADN présentant de vastes homologies**. Elle se traduit par **une cassure double brin de deux molécules d'ADN suivie d'une ligature**. Les cassures peuvent résulter **de lésions de la molécule d'ADN ou être initiées par des enzymes cellulaires**, constituant ainsi le point de départ du mécanisme.

Chez **les Eucaryotes**, elle est particulièrement répandue pendant **la production de gamètes (méiose)** chez les levures. En plus la recombinaison se produit également dans l'ADN des cellules somatiques chez l'homme responsables de l'expression des protéines de la réponse immunitaire, telles que les immunoglobulines. Cette recombinaison somatique réorganise les gènes d'immunoglobulines.

Chez les Procaryotes, elle peut faire suite à des processus de **transferts horizontaux de gènes entre microorganismes** (transformation, transduction générale et conjugaison HFrxF-) et permettre ainsi **l'intégration de plasmide dans le chromosome bactérien**.

Ils permettent également la construction de **plasmides chimériques par recombinaison entre deux plasmides**.



Le mécanisme peut être résumé comme suit:

- **INITIATION DE LA RECOMBINAISON : FORMATION DE LA CASSURE DOUBLE-BRIN DE L'ADN:**

Chez *S. cerevisiae*, la recombinaison est initiée par la **formation de cassures double-brin** (CDBs) de l'ADN au cours de la méiose.

- **RÉPARATION DE LA CASSURE DOUBLE-BRIN PAR RECOMBINAISON AVEC LE CHROMOSOME HOMOLOGUE:**

-Chez *S. cerevisiae*, les extrémités 5' des CDBs sont dégradées par l'action d'une exonucléase (**résection**).

-La réparation des CDBs méiotiques a lieu par recombinaison avec le chromosome homologue (**invasion**). Chez la levure, on peut détecter des intermédiaires de recombinaison dans lesquels les 2 molécules d'ADN (provenant des 2 chromosomes homologues) sont liées par des échanges de brins d'ADN (**jonctions de Holliday**).

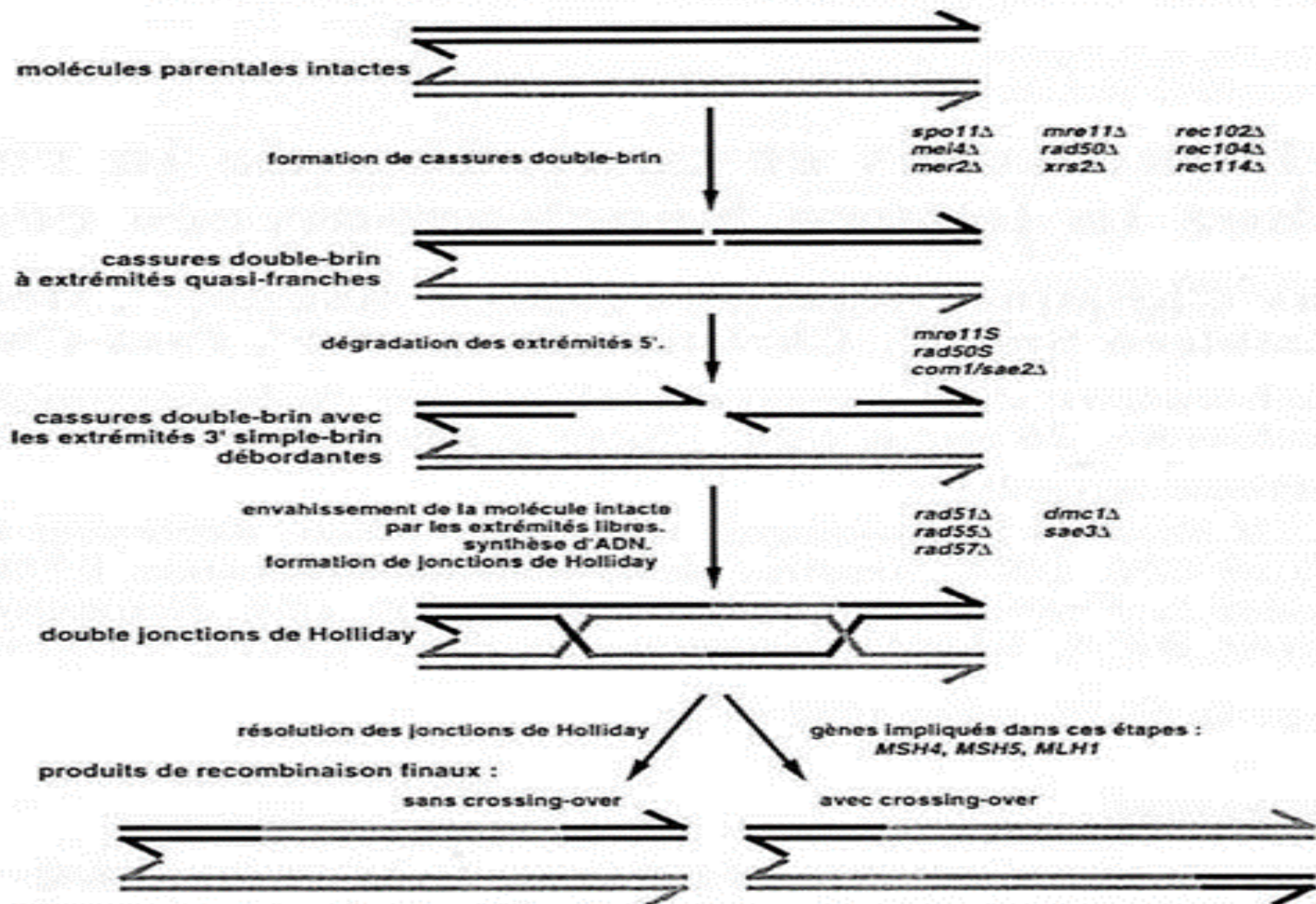
-La formation de ces molécules jointes est sous le contrôle de complexes multiprotéiques. Les complexes «Rad51» et «Dmc1».

-Afin d'obtenir des molécules recombinantes, **les jonctions de Holliday doivent être coupées.**

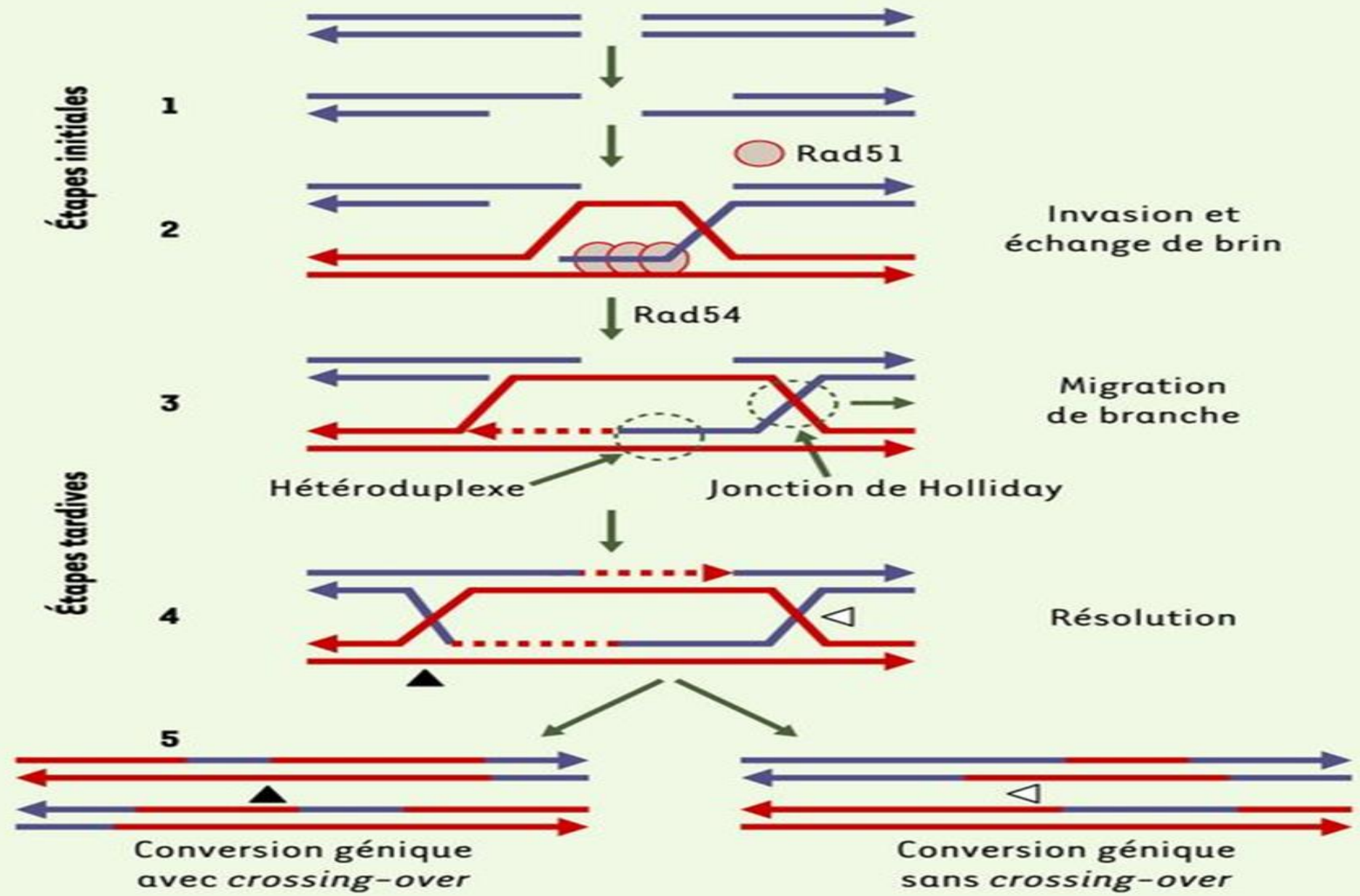
C'est à ce stade (**résolution**) que sera déterminé **si l'événement de recombinaison est ou non associé à la formation d'un échange réciproque (crossing-over) entre les molécules d'ADN parentales.**

Intermédiaires détectables

Mutations affectant les différentes étapes



Étapes moléculaires de la formation des cassures double-brin dans *S. cerevisiae*.



2. La recombinaison spécifique de site

La recombinaison spécifique de site (RSS), ou **spécialisée**, est un processus **d'échange de matériel génétique** impliquant **des séquences cibles présentant des homologies relativement courtes**, et reconnues par **des protéines qualifiées de recombinaisons**.

On la retrouve dans les trois règnes du vivant, **Eucaryotes, Archaea et Bactéries** et également dans **le monde viral** (bactériophages et virus).

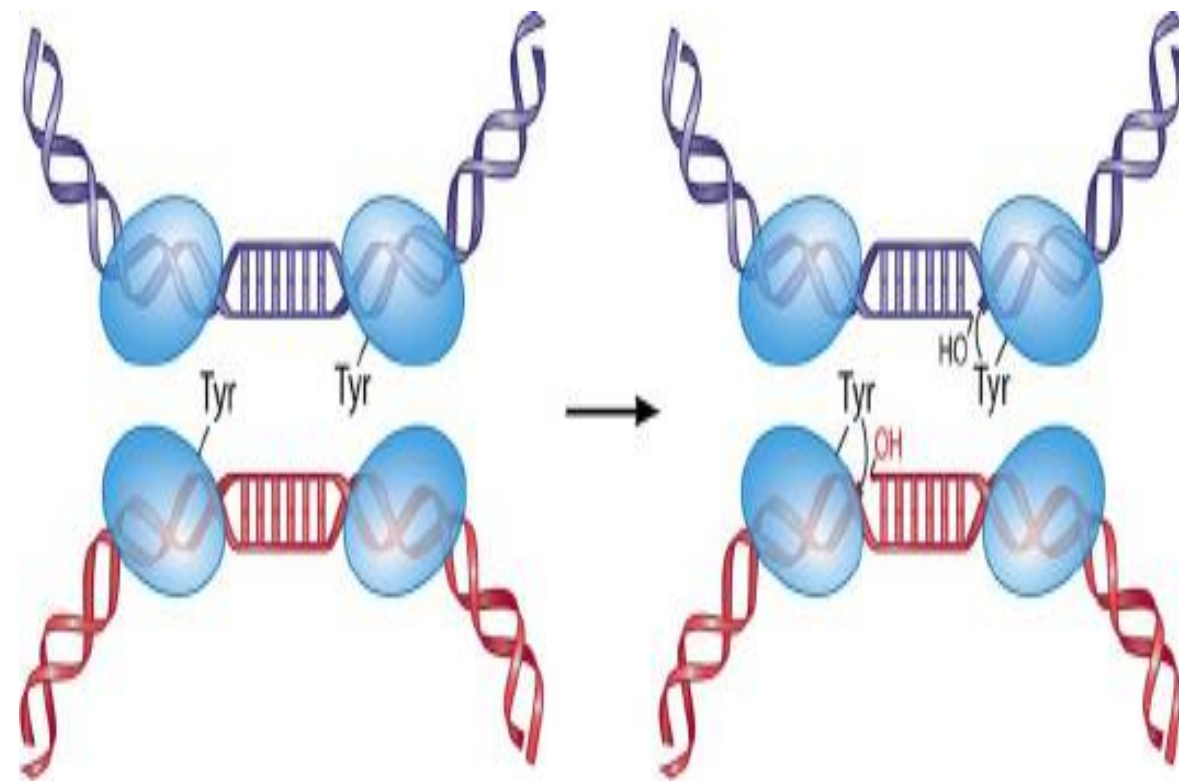
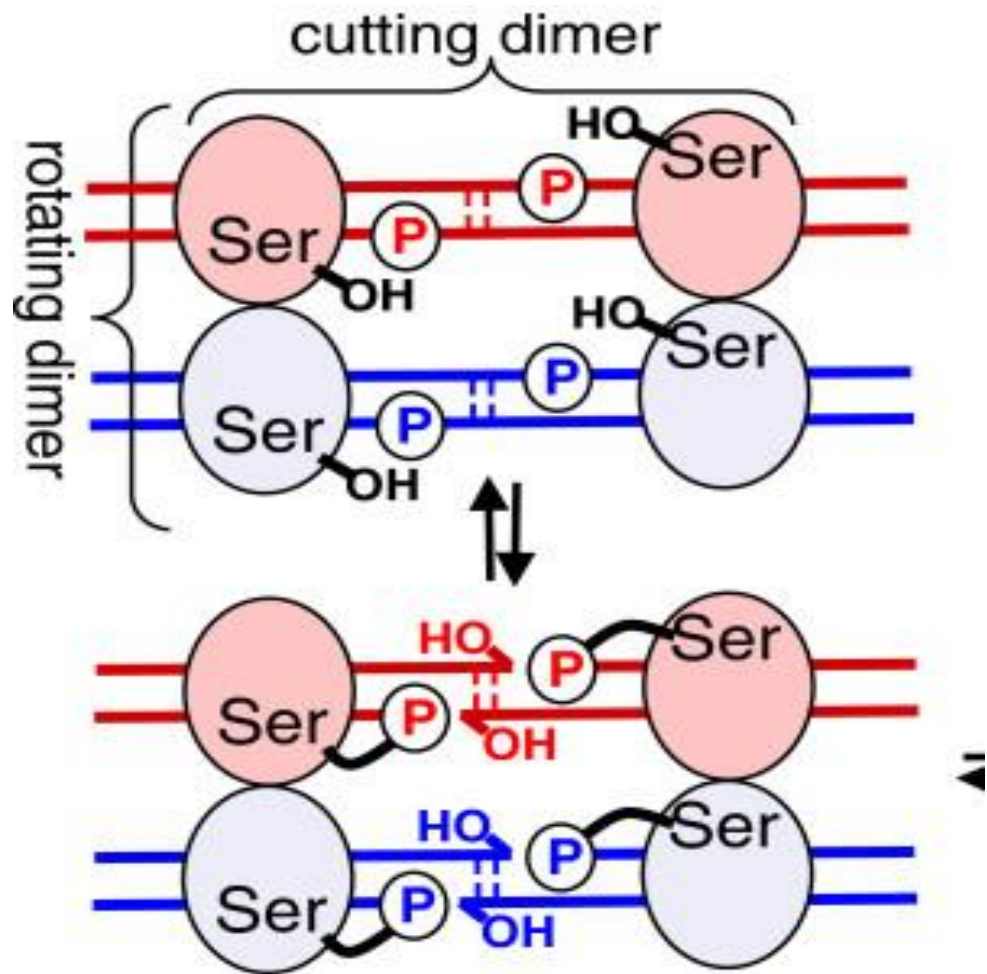
la RSS est **conservative** puisqu'elle n'engendre ni synthèse ni dégradation des fragments d'ADN impliqués.

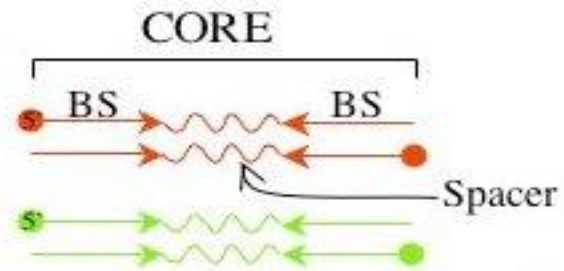
Mécanisme

Le mécanisme moléculaire mis en jeu est sous la dépendance du **couple séquence cible /recombinase**. Ces dernières **reconnaissent les séquences cibles**, permettent **leur rapprochement** et **catalysent l'échange de matériel génétique par recombinaison entre les régions homologues des séquences cibles**.

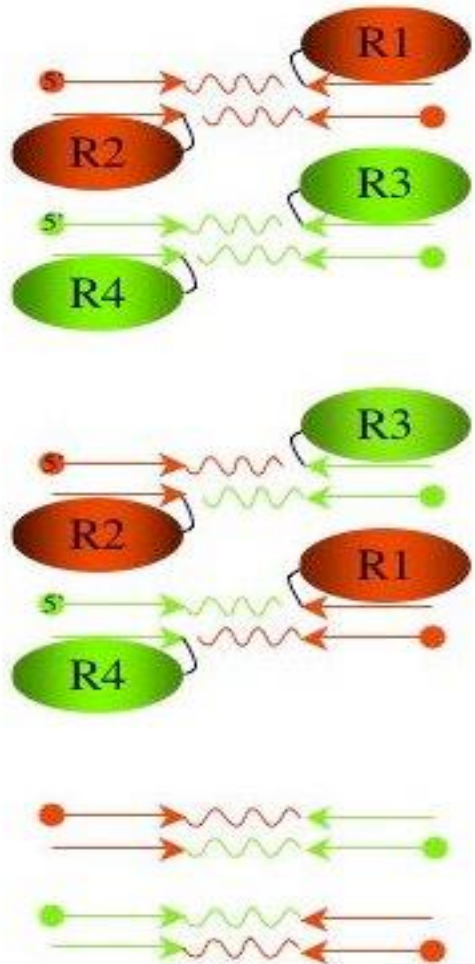
La recombinaison spécifique de site est catalysée par **des recombinases qui appartiennent à deux familles, sur la base des résidus impliqués dans la catalyse : les recombinases à tyrosine et les recombinases à sérine**. (le site actif comporte la sérine ou la tyrosine)

Ces recombinases se fixent sur des séquences spécifiques en **orientation inverse** comprises dans **la séquence core**, et séparées par **une courte séquence d'ADN** appelée « **spacer** ». Elles vont ensuite couper l'ADN de part et d'autre du spacer, chaque partenaire de recombinaison étant **coupé à la même position**, permettant ainsi un **échange de brin réciproque dans la région d'homologie**.

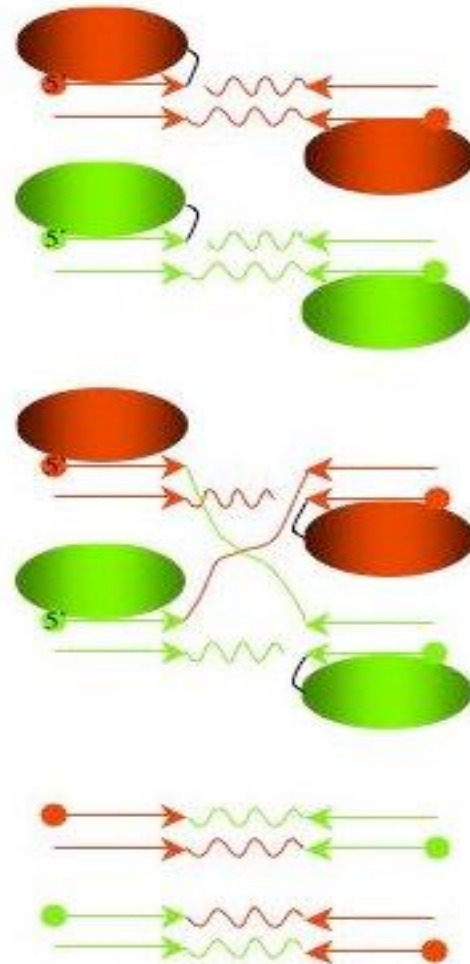




Recombinases à Sérine



Recombinases à Tyrosine



Mécanismes de recombinaison spécifique de site. L'organisation des sites core est similaire pour les deux familles de recombinases. Les produits de recombinaison sont différents. Les sites de fixation des recombinases (BS) sont représentés par des flèches qui encadrent la séquence spacer (représentée par une ligne ondulée).

Exemple de BS:

5'-**TTACG**nnnnnn**CGTAA**-3'
 3'-**AATGC**nnnnnn**GCATT**-5'

2-Élément transposables

La transposition correspond au déplacement aléatoire de fragments d'ADN nommés « **éléments génétiques mobiles** » C'ad ils sont capables d'être transférés d'un site donneur vers un site cible sous l'effet d'une enzyme spécifique.

Contrairement aux processus de recombinaison, cet échange de matériel génétique intracellulaire se produit sans le concours d'homologie de séquence.

Types d'éléments génétiques mobiles

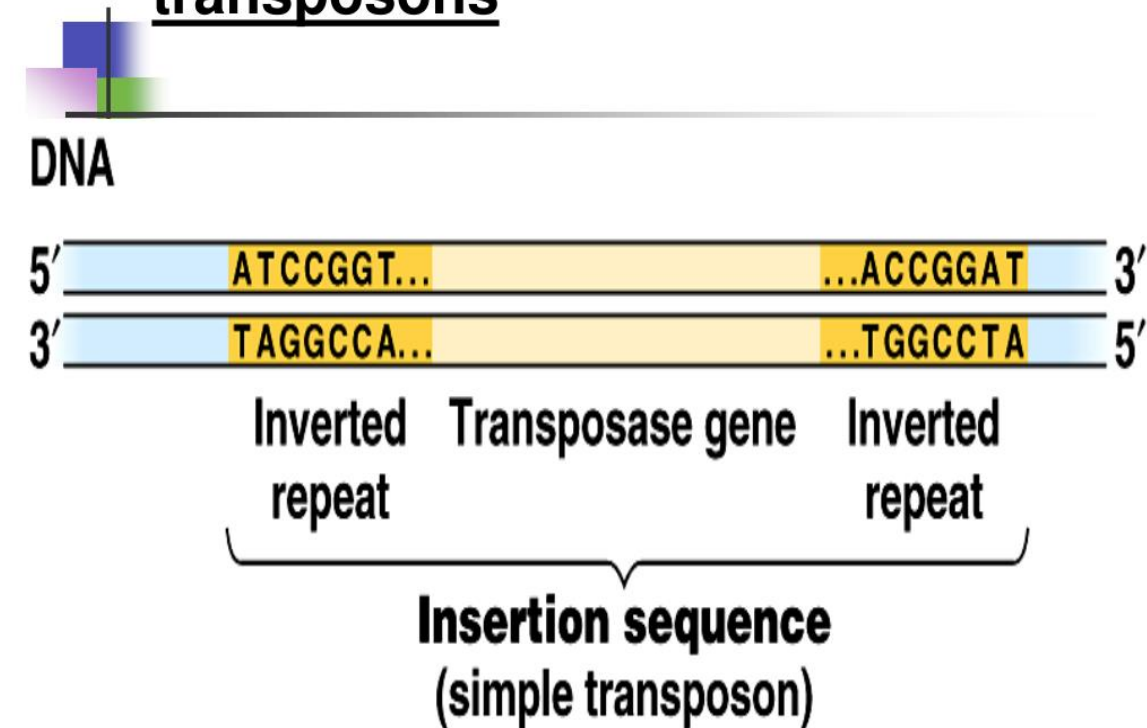
*Éléments IS (éléments d'insertion)

Les éléments génétiques mobiles les plus simples sont **les séquences d'insertion**, ou **élément IS**.

Ce sont des séquences d'environ **800 à 2 000 nucléotides** ne comportant qu'un seul gène codant la **transposase**, enzyme mise en jeu dans la transposition, délimitée par deux petites répétitions inversées constituant les sites d'action de la transposase. Ils sont rencontrés chez les Procaryotes.

En s'insérant dans un gène bactérien, ils aboutissent à une perte totale de l'expression de ce gène.

Insertion sequences, the simplest transposons



*Transposons

Ce type de transposon est rencontré aussi bien chez les Procaryotes que chez les Eucaryotes, on rencontre:

- **Transposons composites**

Les transposons composites sont construits à partir des séquences IS et comprennent une région centrale contenant **des gènes supplémentaires**, tels que des gènes codant pour la résistance à un antibiotique, encadrée par deux séquences d'insertion, ex: kanamycine chez Tn5 d'*E. coli* .

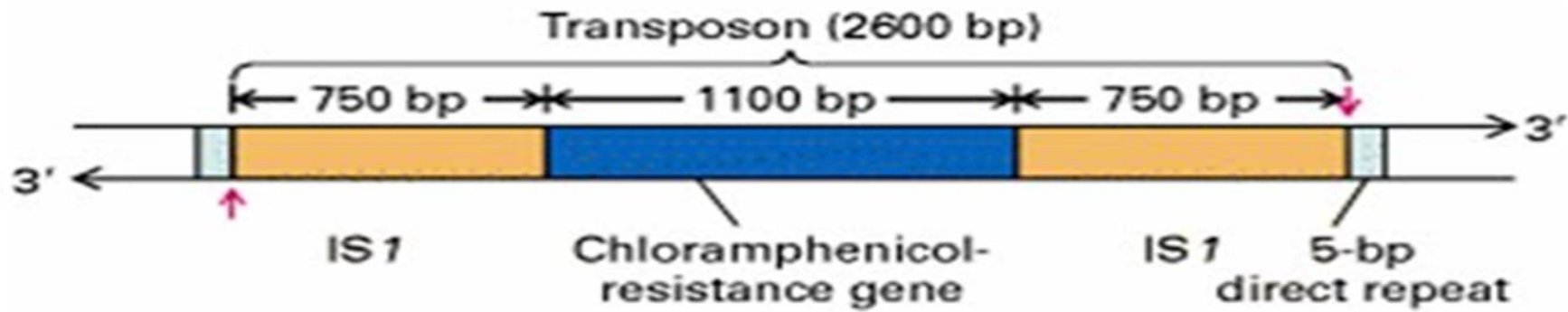
Leur longueur varie de **2500-21000 pb**.

- **Transposons non composites**

Les transposons non composites se caractérisent par l'absence d'IS à leurs extrémités.

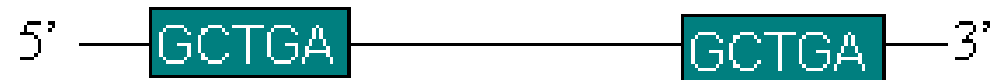
Ils contiennent des informations génétiques essentielles à la transposition et des informations dites « auxiliaires » qui peuvent être des gènes cataboliques (Tn4651) ou des gènes de résistance aux antibiotiques (Tn3).

Leur longueur peut dépasser **70 Kb**.

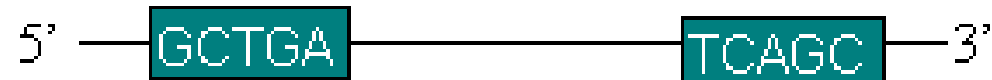


Transposons composites

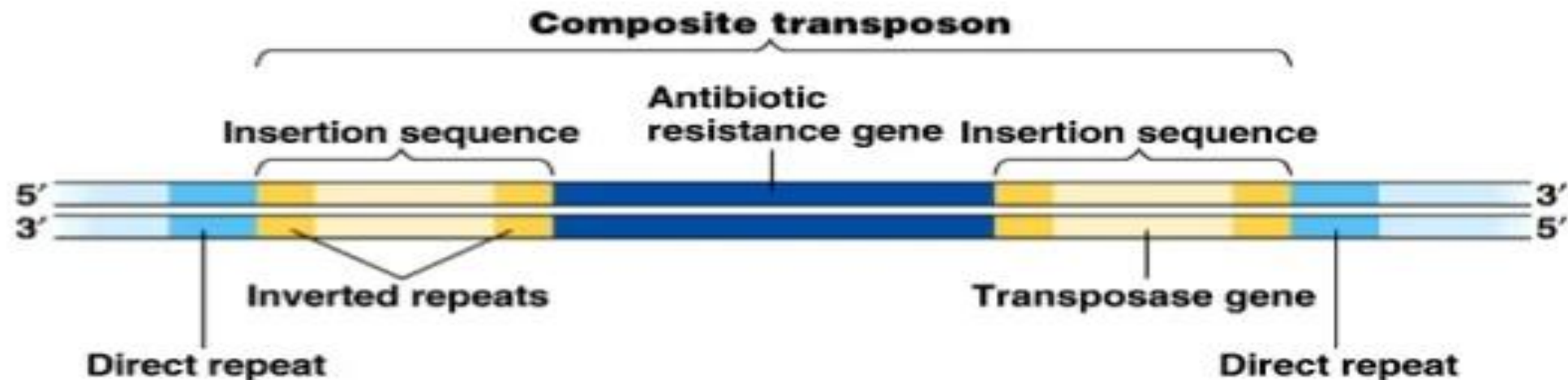
Direct Repeats



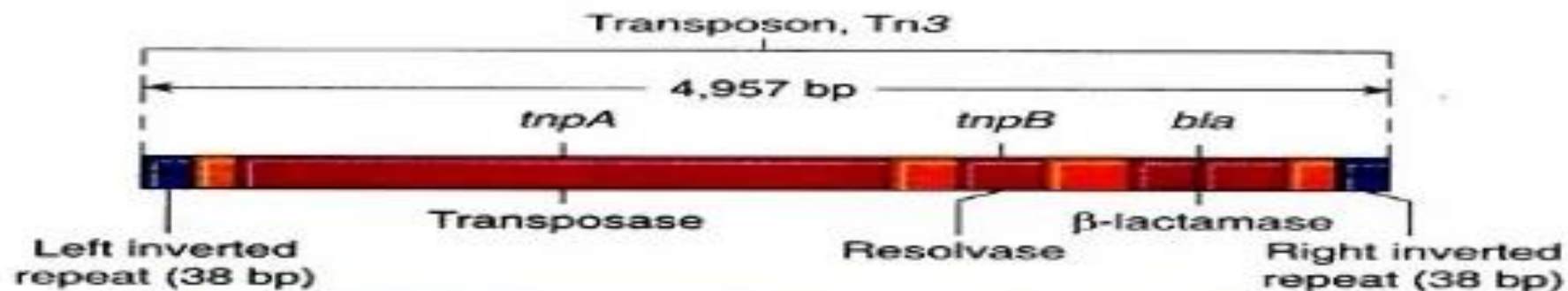
Inverted Repeats



.COMPOSITE TRANSPOSONS.



.NON COMPOSITE TRANSPOSONS.



*Rétrotransposons

La plupart des transposons eucaryotes se déplacent via un intermédiaire d'ARN, selon un mécanisme qui rappelle la réplication des rétrovirus, et sont qualifiés de **rétrotransposons**.

Ils sont classés en rétrotransposons de **classe I**, présentant des homologies structurales et fonctionnelles avec les rétrovirus, telles que la présence de LTR (long terminal repeat) à chacune de leur extrémité et d'un gène codant une transcriptase inverse, et en transposons de **classe II**, dépourvus de LTR.



Mécanismes de la transposition

Les deux grandes mécanismes de transposition sont définies par les intermédiaires dans le processus de transposition.

Une classe se déplace **par des intermédiaires d'ADN**, utilisant **des transposases** et des **ADN polymérases** pour catalyser la transposition.

L'autre classe se déplace **par des intermédiaires d'ARN**, en utilisant **l'ARN polymérase**, les **endonucléases (intégrase)** et la **transcriptase inverse** pour catalyser le processus.

Les deux classes sont abondantes chez de nombreuses espèces, mais certains groupes d'organismes ont une prépondérance de l'une ou de l'autre. Par exemple, les bactéries possèdent principalement la classe intermédiaire d'éléments transposables de l'ADN, alors que les éléments transposables prédominants dans les génomes des mammifères se déplacent par des intermédiaires d'ARN.

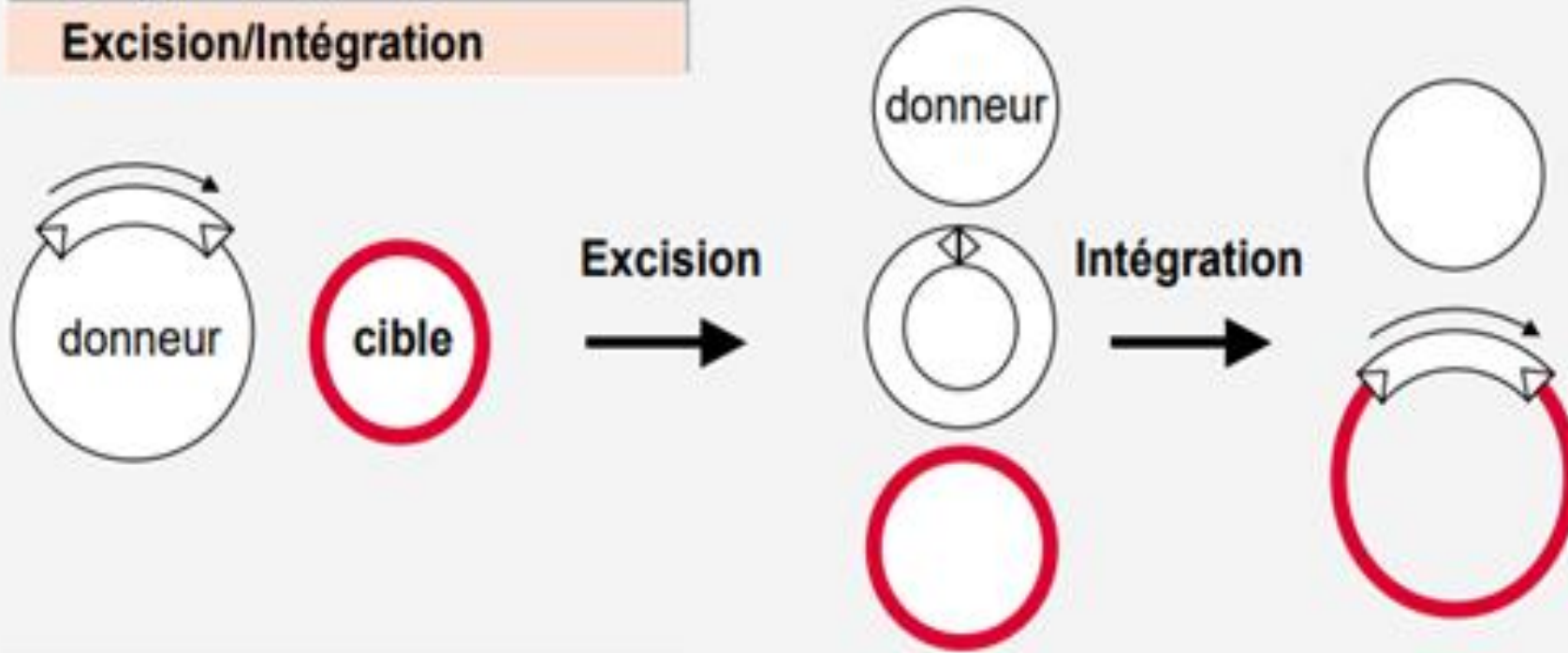
*Par des intermédiaires d'ADN

Parmi les éléments transposables les mieux caractérisés figurent ceux qui se déplacent par des intermédiaires d'ADN. Chez les bactéries, il s'agit soit de séquences d'insertion courtes, soit de transposons plus longs.

- Des familles utilisent un mécanisme **non répliatif**.
- Dans ce cas, la copie originale est supprimée du site d'origine et déplacée vers un nouveau site cible, laissant le site d'origine vacant.

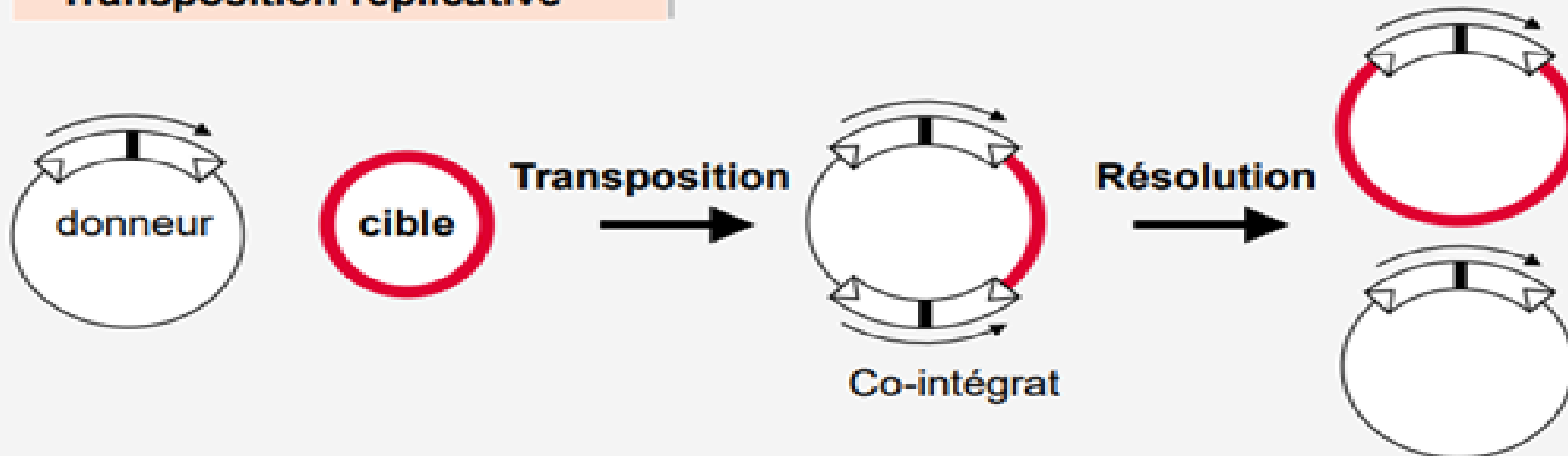
Explication: L'élément transposable s'excise du réplicon donneur sous la forme d'un intermédiaire circulaire résultant de la liaison covalente des deux extrémités tandis que le réplicon donneur est réparé par ligature des fragments de jonctions.

Excision/Intégration



**Transposition
non répliative**

Transposition répliative



**Transposition
répliative**

- D'autres familles d'éléments transposables se déplacent via un intermédiaire ADN le font de **manière répllicative**.
- La transposition génère une nouvelle copie de l'élément transposable sur le site cible, tout en laissant une copie sur le site d'origine.

Explication: l'élément transposable ne s'excise pas du réplicon donneur.

Il y a formation d'un « **co-intégrat** » où réplicons donneur et cible sont fusionné par l'intermédiaire de deux copies du transposon dans la même orientation.

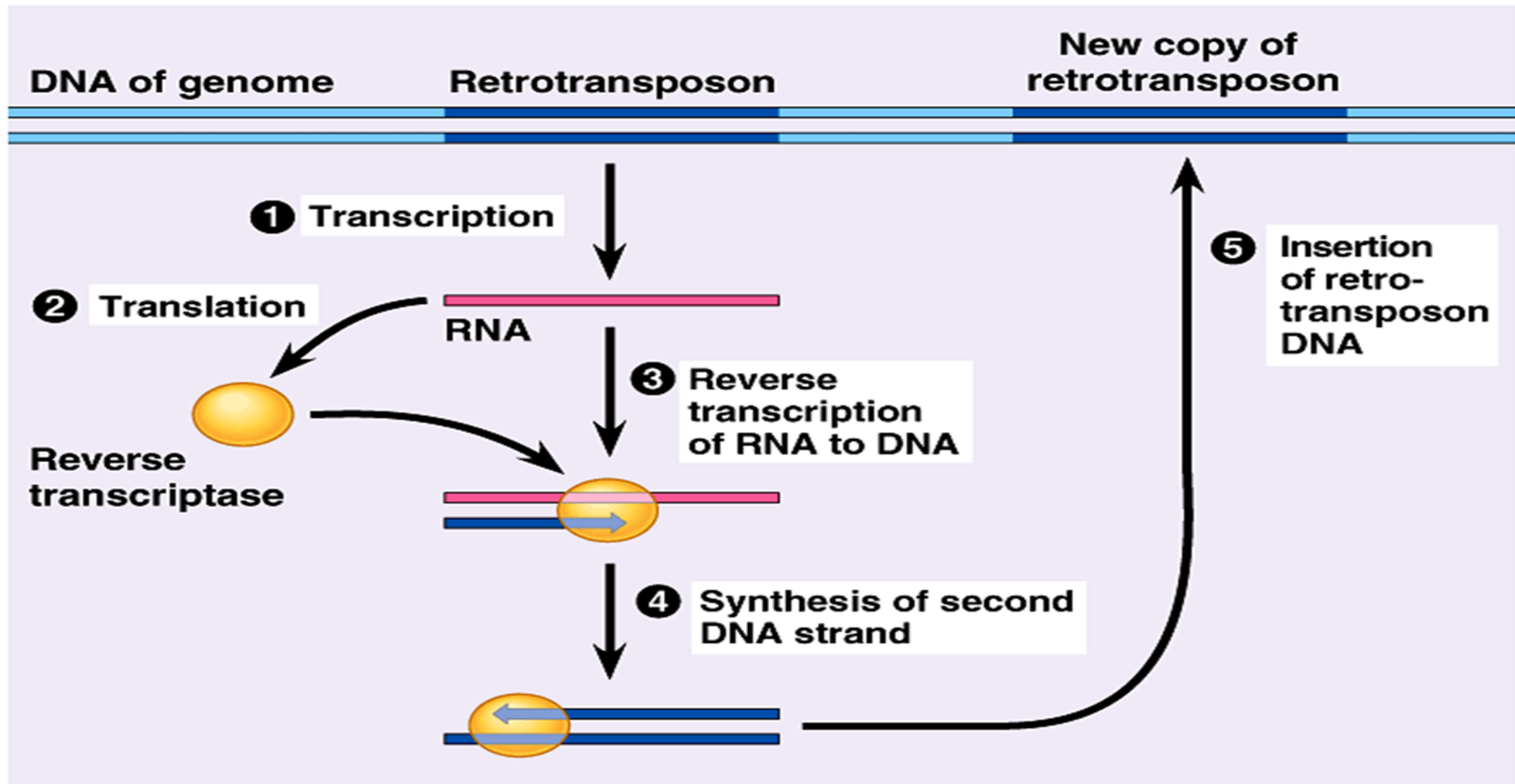
Cette structure ne persiste pas et peut ensuite être résolue en réplicons séparés, chacun avec une copie du transposon (résolution).

Cette résolution fait le plus souvent intervenir des enzymes codées par le transposon.

*Par des intermédiaires ARN

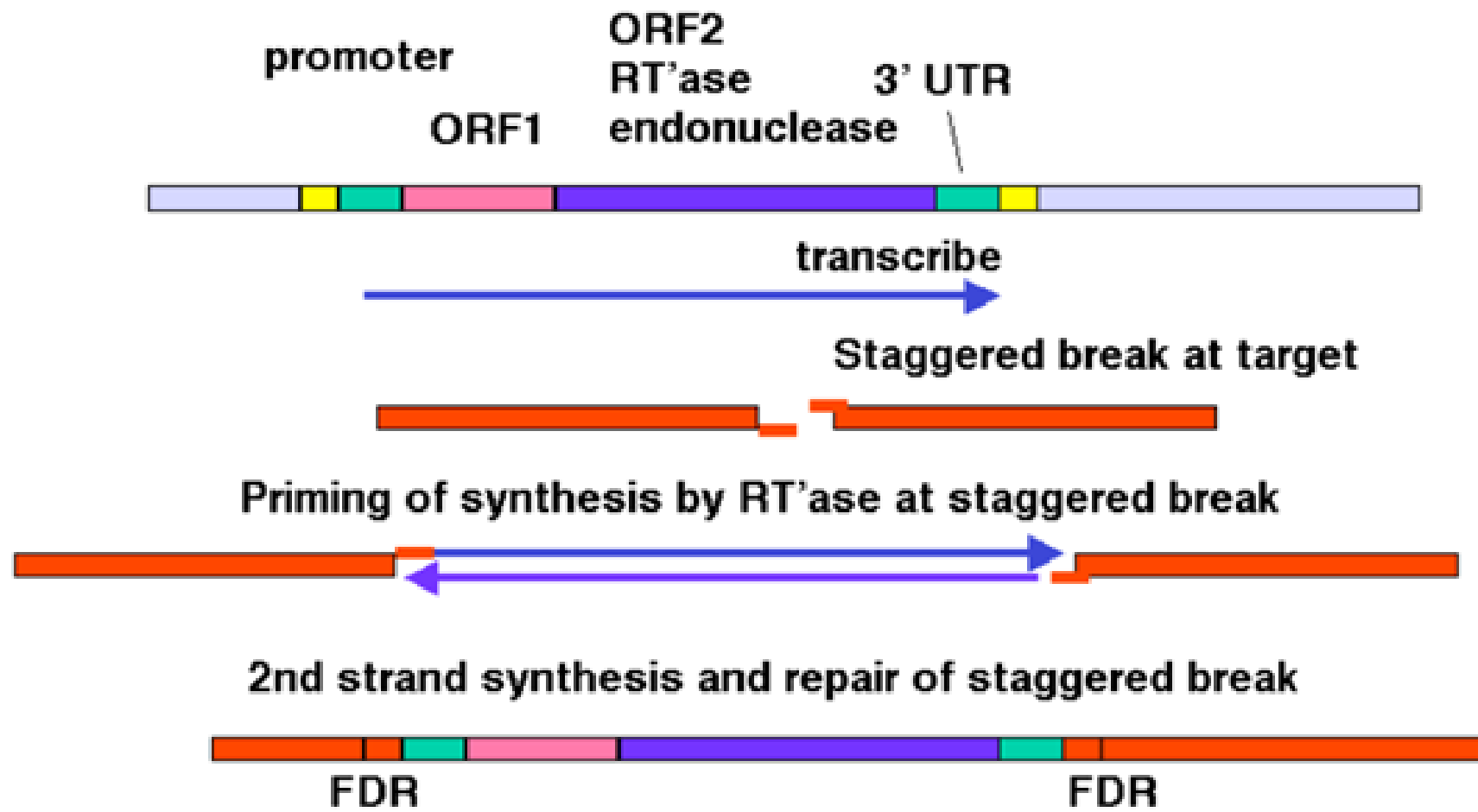
Le mécanisme est mal élucidé mais généralement il est résumé en:

- Une **endonucléase** (intégrase) se clive au site d'intégration (site récepteur) pour générer une cassure.
- Un brin d'ADN sur le site d'intégration clivé sert d'amorce à la **transcriptase inverse**.
- Cette transcriptase copie ensuite l'ARN en ADN.
- Cette copie d'ADNc du rétrotransposon doit être convertie en un produit double brin et insérée sur le site cible.
- La ligation du nouveau rétrotransposon sur le réplicon receveur se fait à l'aide d'intégrase.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Transposition chez les rétrotransposons



RT'ase works preferentially on L1 mRNA

