

CHAPITRE III – RECOMBINAISON DE L'ADN

I. Recombinaison générale homologue

- Conduit au brassage des genres
 - Apparition de lésion si la recombinaison est inégale
 - Augmentation du nombre de copie d'un gène: permet une redondance et une meilleure adaptabilité
 - Activation de certains gènes
 - Modification d'un allele par conversion génétique
 - Elimination d'un gène défectueux par réversion
-
- Se passe au cours de la meiose et de la mitose. Nécessite 2 molécules d'ADN homologues au niveau d'une séquence répétée
 - Conduit à une répartition différentes des brins d'ADN par enjambement.
 - Peut être étudié chez les Procaryotes et eucaryotes (avec des mutations thermosensibles)

a. Mise en évidence d'une recombinaison

Par analyse cytologique:

- Chiasma au cours de la meiose (Centaines de chiasma / mitose)
- Complexe synaptonomal
- Nodule de recombinaison

Par analyse génétique:

- Crossing-over mis en évidence par rupture de liaison entre 2 caractères phénotypiques.
- Distance de recombinaison en unité CentiMorgan (1Millions de base pour 1% de recombinaison)
- Séparation des caractères dans la descendance
- Jonctions hétéroduplexe des crossing over / enjambement

b. Protéines impliquées dans la recombinaison générale homologue

- RecBCD: hélicase à ATP et Nucléase
- **RecA**: SSB à ATP
- RecAB: hélicase à ATP entraîne la migration des branches
- RevC: Endonucléase nécessaire à l'échange des brins

c. Succession des étapes

- Coupure par RecBCD
- Déroulements
- Coupure et échange d'une chaîne (structure croisée): Complexe synaptonomal à 3 brins
- Ligature de la jonction de Holliday, déplacement de la jonction
- Migration de jonction

d. Résolution de la jonction

Résultat 1: si la jonction s'arrête avant un gène: il n'y a pas de recombinaison

Résultat 2: si la jonction passe un gène, il y aura recombinaison et brassage génétique sans perte d'information

Conclusion:

- L'évolution des connaissances montrent que vraisemblablement la recombinaison générale est un mécanisme qui se rapproche de celui de la réparation par recombinaison homologue.
- Des protéines sont communes à ces deux mécanismes, certaines impliquées dans des cancers héréditaires du sein et des ovaires
- Ce nouveau modèle d'événements conserve l'étape de formation de la synapse comme celle de la jonction de Holliday et sa résolution.

CHAPITRE III – RECOMBINAISON DE L'ADN

MAIS:

e. Recombinaison non homologue ou inégale

- Entraîne la perte ou la duplication de caractères en cours de méiose
- Entraîne l'apparition de chromosomes anormaux
- Entraîne la formation de gènes chimères.

II. Recombinaison spécifique de site

a. Etapes de la recombinaison spécifique

- Ne nécessite pas d'appariement d'ADN homologue, une seule molécule suffit
- Nécessite des séquences consensus autour des régions à recombinaison
- Est guidé par une enzyme de recombinaison: la recombinase
- Est impliqué dans
 - le déplacement de séquences mobiles (Transposon, virus à ARN)
 - La recombinaison des Immunoglobuline dans les lymphocyteB

1. Enzymes requises

Ce sont principalement des recombinases

2. Séquences consensus (Ig)

RSS: Recombination Sequence Signal

Nécessite de sites consensus en 5' et 3' des segments à associer

3. Mécanismes de recombinaison

Schémas

b. Recombinaison des gènes des chaînes lourdes et légères des Ig

1. Organisation générale d'une Ig

C'est un tétra-mère à 2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères.

Les régions variable H+L d'une immunoglobuline (anticorps) sont responsables de la reconnaissance spécifique antigène-anticorps

Reconnaissance stéréospécifique

Mais vu la très grande diversité des antigènes, il y a nécessité d'une grande variabilité des séquences de reconnaissance. La variabilité est assurée d'une part par la recombinaison des segments VDJ.

2. Organisation de la chaîne Lourde

Les segments V: homologues à faible subtilité V1-V40

Les segments D: D1-D27

Les segments J: J1-J6

Les segments C: régions constantes des ADN germinaux

3. Organisation de la chaîne légère

Il n'y a pas de séquence D.

4. Succession des étapes générants la diversité des immunoglobuline: la chaîne H

La recombinaison des IgH se fait par les séquences de recombinaison des VDJ. Les éléments D et J sont recombinaison en premier.

- Jonction d'un segment D à un segment J (au hasard).
La séquence entre les deux segments sera perdu.
- Jonction d'un segment V à un segment DJ. Segment V apporte un promoteur.

Le gène fonctionnel sera composé de: Promoteur + VDJ + Constante.

Les IgM sont les premiers créés, ils permettent de séparer une primo-infection d'une infection.

Donc deux recombinaisons spécifiques successive entraînent une perte de matériel génomique dans le lymphocyte mais variabilité des séquences selon les segments associés.

Les Lb sont créés dans la moelle osseuse indépendamment des Ag

5. Succession des étapes générants la diversité des immunoglobuline: la chaîne L

Chaîne Kappa: uniquement recombinaison de VJ

Chaîne Lambda: réarrangement VDJ

Même mécanismes que pour les chaînes lourdes

III. Conclusion

- Pour la chaîne lourde: La recombinaison VDJ produit une diversité combinatoire de l'ordre de:
 $51 (V) \times 27 (D) \times 6 (J) = 8262$ possibilités
- Pour la chaîne légère, VJ produit une diversité combinatoire de l'ordre de:
 $40 (V) \times 5 (J) = 200$ possibilités
- En ajoutant la variabilité des jonctions entre VDJ, les mutations somatiques et l'association des 4 chaînes, on arrive à:

10^{12} possibilités