



THEME 3A - Variation génétique et santé

TP2 - La cancérisation, un phénomène complexe et multifactoriel

« Fumer provoque le cancer du poumon, prévient l'emballage des paquets de cigarettes. L'alcool, le soleil (UV), l'amiante et même certains virus sont aussi des facteurs liés à l'apparition de cancer. Toutefois, ces agents ne déclenchent pas systématiquement la maladie. En effet, la quasi-totalité de la population y est exposée, mais seule une minorité est atteinte par la maladie. Où se situe la différence ? ». Probablement dans notre génome...

Modifié d'après « Pour la Science », L'imbroglie génétique du cancer, n°46 janvier-mars 2005.



Problématique : Comment peut-on expliquer l'apparition du cancer chez un individu, en lien avec son génome et l'environnement ?

Matériel : - Manuel BELIN p258-267 - Logiciel Genigen2 et le fichier p53-cancer.edi (séquences chez des individus sain et atteint d'un cancer) - Logiciel LibMol et le modèle moléculaire de la protéine p53 fixée sur l'ADN - Logiciel CALC/EXCEL et le fichier p53_epidemiologie.ods (ou xls)	Aides : - FICHE TECHNIQUE GenieGen2 - FICHE TECHNIQUE LibMol - FICHE TECHNIQUE CALC/EXCEL - Fichier script p53_adn.scr (animation)
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



Activités et déroulement des activités	Capacités et critères de réussite
<p>ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ A partir du document 1 et de vos connaissances, proposez une stratégie permettant de déterminer le lien entre le gène p53 et cancer. 📞 Appelez le professeur pour vérification <p>ETAPE 2 : Mettez en œuvre le(s) protocole(s) proposé(s)</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Utiliser le logiciel GenieGen2 pour comparer les séquences nucléiques et peptidiques de p53. ➤ Utilisez le logiciel LibMol pour mettre en évidence l'interaction entre p53 et ADN. ➤ Utilisez le logiciel CALC pour identifier la fréquence des mutations du gène p53 au sein du groupe des fumeurs et des non-fumeurs. 📞 Appelez le professeur pour vérification <p>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Votre production devra récapituler les caractéristiques de la mutation (nature et localisation) sur l'ADN et sur la protéine et le rôle de p53 (s'aider des documents 2 et 3). ➤ Vous devrez également montrer l'impact du tabac sur le développement d'un cancer <p>ETAPE 4 : Répondez au problème initial</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Rédigez un texte qui répond au problème. <p>En fin de séance, rangez le matériel et fermez la session informatique.</p>	<p>Recenser, extraire des informations <i>Qu'est-ce que je fais, Comment je le fais, A quoi je m'attends ?</i></p> <p>Utiliser un logiciel de traitement de données (GenieGen2) <i>Rechercher p53 dans la banque de séquences, réaliser un alignement de séquences ADN (Alt+A) ; Identifier les mutations ; obtenir les séquences de protéine, identifier les changements sur les protéines et leurs conséquences possibles.</i></p> <p>Utiliser un logiciel de traitement de données (LibMol) <i>Trouver la molécule p53 (base de données), représenter l'ADN en rubans, les protéines en sphères avec une coloration par chaîne, identifier les interactions entre p53 et l'ADN au moyen de l'onglet Interactions.</i></p> <p>Utiliser un logiciel de traitement de données (CALC) <i>Utiliser la fonction NB.SI, penser à rapporter au nombre d'individus étudiés, produire un graphique et l'annoter.</i></p> <p>Rédiger un texte scientifique <i>On a vu que, Or on sait que, Donc</i></p> <p>Gérer et organiser le poste de travail</p>

Fiche protocole « Comprendre le lien entre p53 et cancer »

Identifier les mutations de p53 chez les individus atteints de cancer (GenieGen2)

<p>Matériel</p> <ul style="list-style-type: none">- PC équipé de GenieGen2 (réseau)- Banque de données p53 et cancer- <i>Fichier p53.edi sur le réseau (facultatif)</i> <p><u>Remarques :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Les actions peuvent être faites dans le menu « Action » ou en faisant un clic droit sur la séquence à utiliser.	<ol style="list-style-type: none">1- Accéder à GenieGen2 : https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/geniegen2/2- Réaliser un alignement des séquences étudiées (Alt + A) et identifier les mutations3- Réaliser la traduction des séquences pour obtenir les séquences de protéines.4- Aligner les séquences obtenues et identifier les mutations dans les séquences de protéine.5- Réaliser des captures d'écran montrant les changements sur l'ADN et les protéines <p style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification de la capture d'écran</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Observer l'interaction moléculaire entre p53 et l'ADN (LibMol)

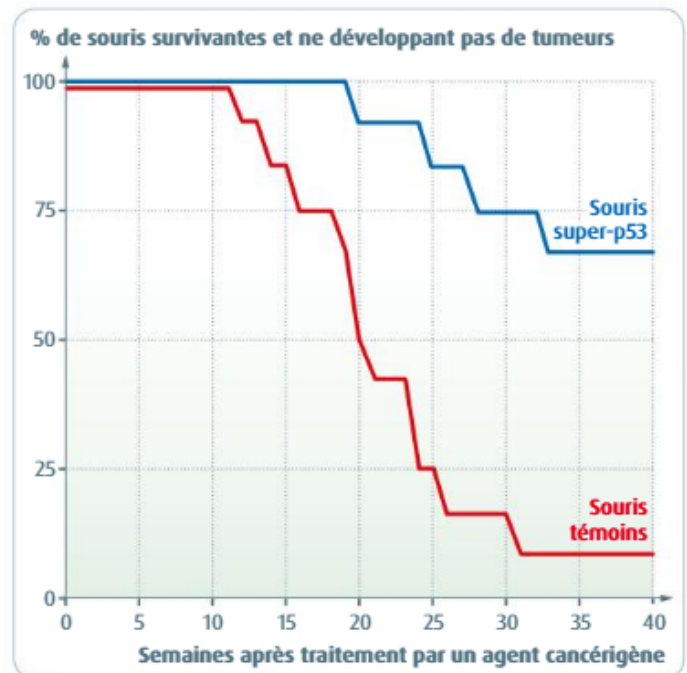
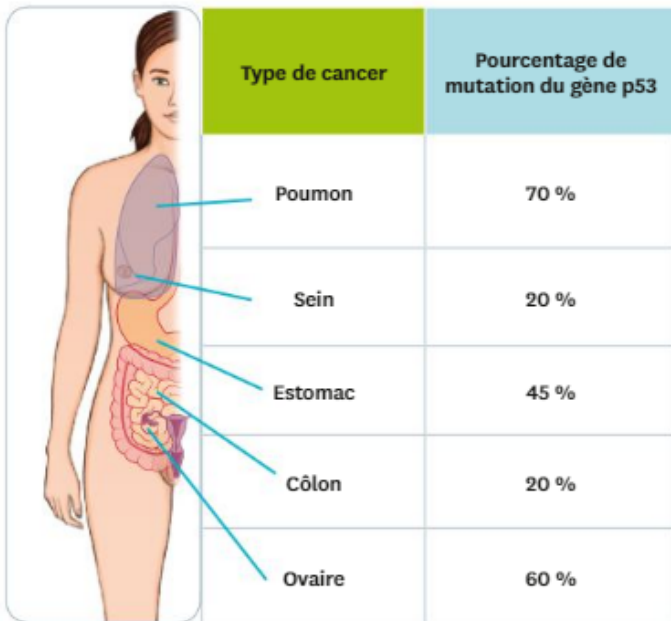
<p>Matériel</p> <ul style="list-style-type: none">- PC équipé de LibMol (réseau)- Fichiers (en local) pour LibMol (facultatifs)<ul style="list-style-type: none">> molecule_p53-3unites_adn_1tsr.pdb> molecule_p53-unite-centrale_R249S_adn.pdb <p><u>Remarques :</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Les fichiers RASTOP peuvent être ouverts sur LibMol en utilisant l'onglet « Fichiers » « Ouvrir en local »- Vous pouvez afficher ou masquer un élément (protéines, glucides, surfaces ...) en cliquant sur l'icône « œil » : - La sélection d'un élément particulier demande de cliquer sur l'icône « loupe » : 	<ol style="list-style-type: none">1- Accéder à LibMol : https://libmol.org/2- Dans l'onglet « Fichiers », rechercher le terme « Protéine p53 » et cliquer sur le résultat.3- Dans l'onglet « Commandes », afficher l'ADN sous forme de rubans, coloré en rouge.4- Dans l'onglet « Commandes », affichez les protéines en sphères, colorées par chaîne.5- Réaliser une capture d'écran montrant le lien entre p53 et l'ADN.6- Dans l'onglet « Interactions », créer une nouvelle interaction entre les chaînes A et K.7- Cliquer sur l'interaction nouvellement créée pour voir les détails. <p style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification de la capture d'écran</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Etudier le lien entre tabagisme et cancer du poumon (CALC/EXCEL)

<p>Matériel</p> <ul style="list-style-type: none">- PC équipé du logiciel CALC/EXCEL- Fichier p53_epidemiologie.ods (ou xls) <p><u>Remarques :</u></p> <p>La fonction NB.SI compte le nombre d'éléments dans une plage de données. Exemple : =NB.SI (A1:200; «Tyr») permet de compter le nombre de fois où Tyr est écrit dans la colonne A de la ligne 1 à 200.</p>	<ol style="list-style-type: none">1- Ouvrir le logiciel Calc puis le fichier p53_epidemiologie.xls (en copie)2- Identifier le contenu du tableau de l'onglet « p533 » (mutations, type de données...)3- Trier les données via la colonne « Epidémiologie I », par ordre alphabétique4- Cliquer sur l'onglet « calculs »5- Coller la 1^{ère} formule dans la cellule B2 puis étirer cette formule vers le bas6- Coller la 2^{ème} formule dans la cellule B3 puis étirer cette formule vers le bas7- Réaliser un graphique montrant la fréquence des mutations en fonction du codon étudié. <p style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification de la capture d'écran</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Document 1 : Une association entre p53 et le cancer

Le **gène p53** est situé en position sur le chromosome 17p13.1. Le gène a été très conservé pendant l'évolution, il est présent chez les Mammifères et sa séquence a très peu varié. On a pu montrer que ce gène était muté dans la majorité des cas de cancer. De plus, on a pu identifier qu'une souris à laquelle on a ajouté une copie supplémentaire du gène p53 avait 3 fois moins de risque de développer un cancer. Ce gène p53 est donc appelé un **proto-oncogène** : un gène qui peut favoriser le cancer après avoir subi des mutations.



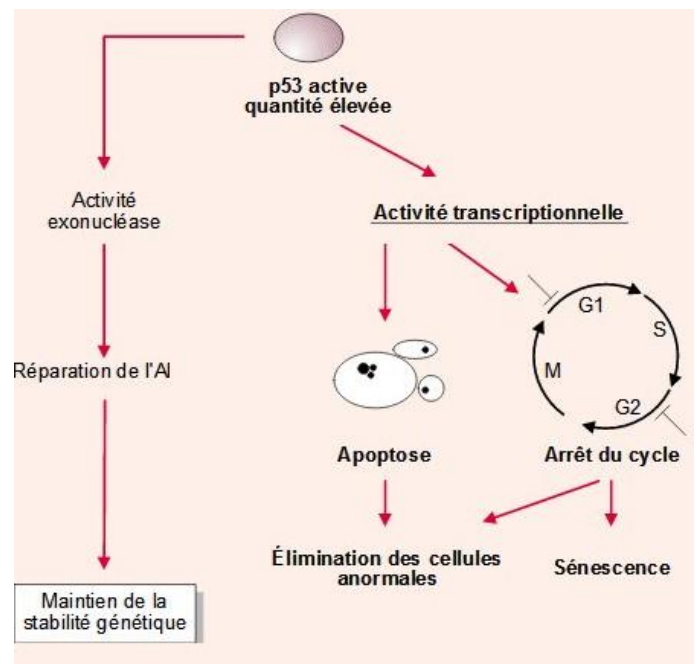
2 Pourcentage de personnes présentant une mutation du gène p53 chez des patients atteints de divers cancers. Le gène p53 est un exemple de gène suppresseur de tumeur. Dans la plupart des cas, les patients ne souffraient pas de forme héréditaire du cancer. La protéine codée par le gène p53 provoque l'élimination de cellules dont le génome est trop endommagé par des lésions sur l'ADN (ces lésions sont souvent à l'origine de mutations).

3 Les résultats d'une expérience de transgénèse. Des chercheurs ont introduit dans le génome de souris une copie supplémentaire du gène p53. Ils ont ensuite étudié la sensibilité de ces souris « super-p53 » à un agent cancérigène (agent connu pour augmenter la fréquence de survenue d'un cancer).

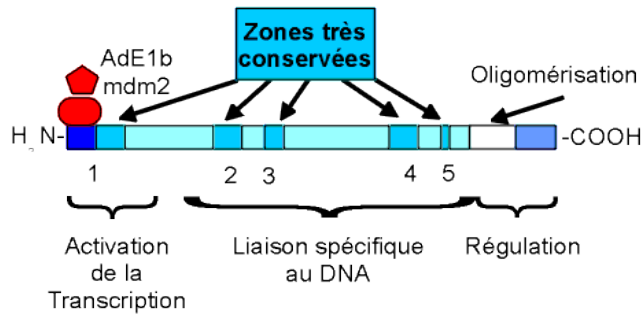
Document 2 : Mode d'action de p53 dans la cellule

La **protéine p53** est une protéine de 393 acides aminés d'un poids moléculaire de 53 kDa (kiloDaltons). On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules des tumeurs humaines. La transcription du gène p53 peut être activée par AdE1b mais réprimée par mdm2. La **protéine p53** présente 2 rôles principaux dans la cellule :

- **l'arrêt du cycle cellulaire entre la phase G1 et la phase S (point de contrôle)**. Dans ce cas, la protéine p53 se fixe à l'ADN pour déclencher la production de facteurs (WAF-1) qui vont bloquer le cycle cellulaire. Deux points de contrôle sont connus : en fin de phase S (Réplication) et juste avant la phase M (Mitose).
- **l'induction de l'apoptose ou mort cellulaire programmée**. Ce scénario est engagé quand les mutations sont trop nombreuses et que la réparation de l'ADN n'est pas possible. Dans ce cas, la cellule sera détruite en se fragmentant en petites structures. Les particules produites sont alors détruites par le système immunitaire. Ainsi, ce type de destruction de cellules est relativement « silencieux ».



Document 3 : La structure de p53 et un lien avec l'ADN

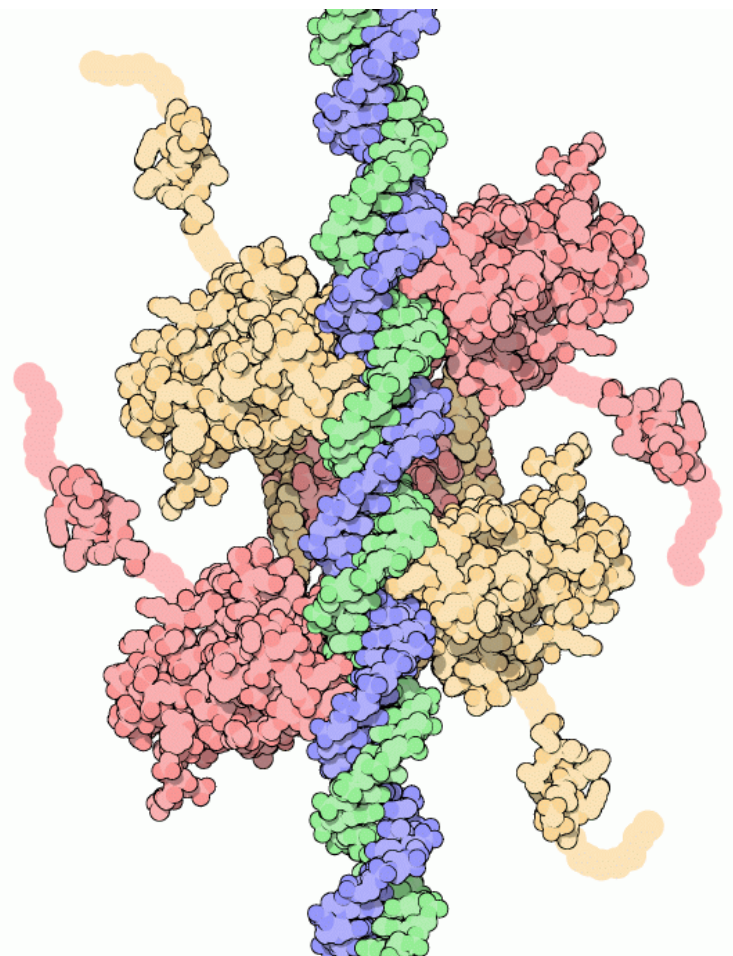
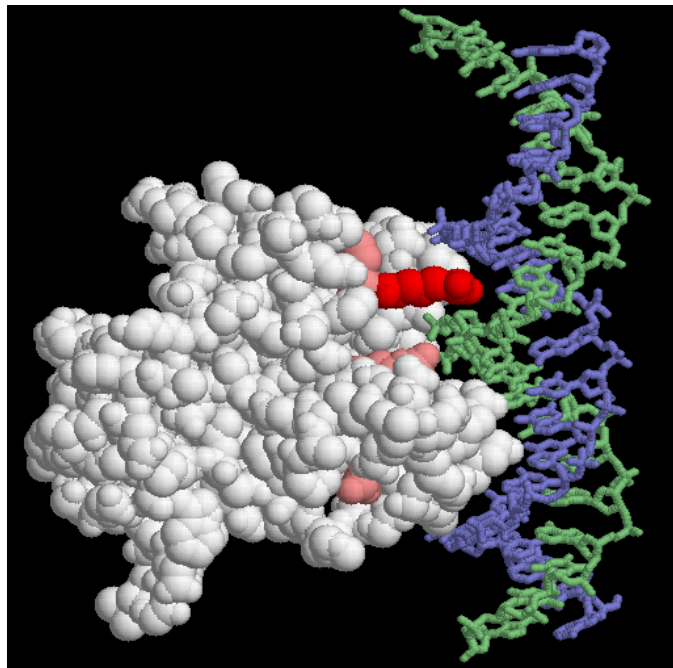
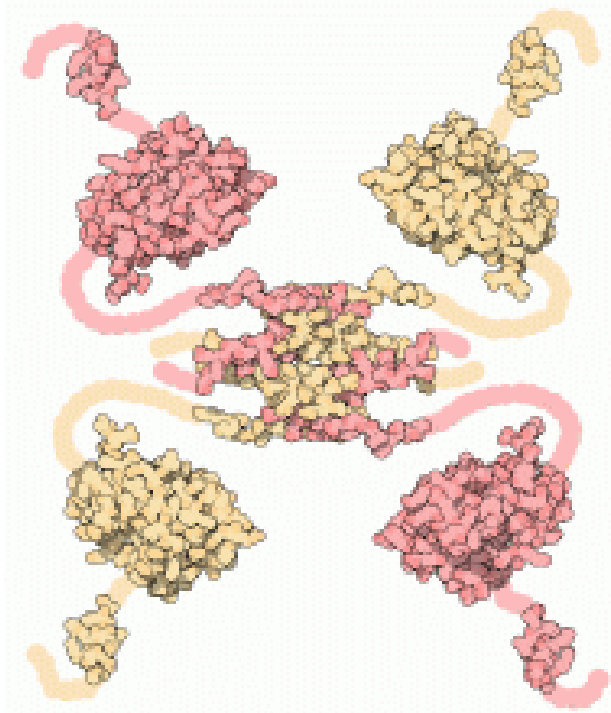


La séquence de la protéine p53 montre qu'elle contient

- de très nombreux sites de fixation à l'ADN,
- des sites de fixation à elle-même : elle peut former des tétramères (complexes de 4 protéines p53)
- des sites de fixation à d'autres protéines (AdE1b et mdm2)

La fixation de p53 sur l'ADN se fait notamment grâce à des acides aminés **ARG (arginine)** qui sont chargés positivement et sont donc facilement attirés par l'ADN dont la charge est négative. De plus, ces arginines ont également une structure plane qui est complémentaire au petit sillon de l'ADN. Ainsi, plusieurs arginines placées sur la zone de fixation à l'ADN permettent d'évaluer l

Les mutations les plus courantes concernent les **arginines 248 et 249**, (ARG248 colorée en rouge ici). Ces arginines sont parfaitement complémentaires du petit sillon de l'ADN (entre le brin bleu et vert). Si ces acides aminés sont mutés, l'interaction à l'ADN est perdue. D'autres mutations importantes concernent les **arginines 175, 273 et 282**, mais aussi la **glycine 245**. Ces acides aminés participant au contact entre p53 et l'ADN.



Sources :

- <http://www.pdb.org/pdb/101/motm.do?momID=31>
- E. B. Vogelstein, D. Lane, A.J. Levine (2000): Surfing the p53 network. *Nature* **408**, pp. 307-310.