

III Génétique moléculaire



1. STRUCTURE CHIMIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES

INTRODUCTION

ADN : acide désoxyribonucléique.

- C'est le dépositaire du matériel génétique c'ad de l'information cellulaire.
- L'ADN est formé par 2 chaînes polynucléotidiques anti parallèles, reliées par des ponts hydrogènes entre les bases ; on dit que l'ADN est bicaténaire.
- double fonction :
 - * Assure sa propre réplication → base de l'hérédité.
 - * Synthèse les différentes protéines cellulaires → caractères de l'individu.

Un nucléotide résulte de :

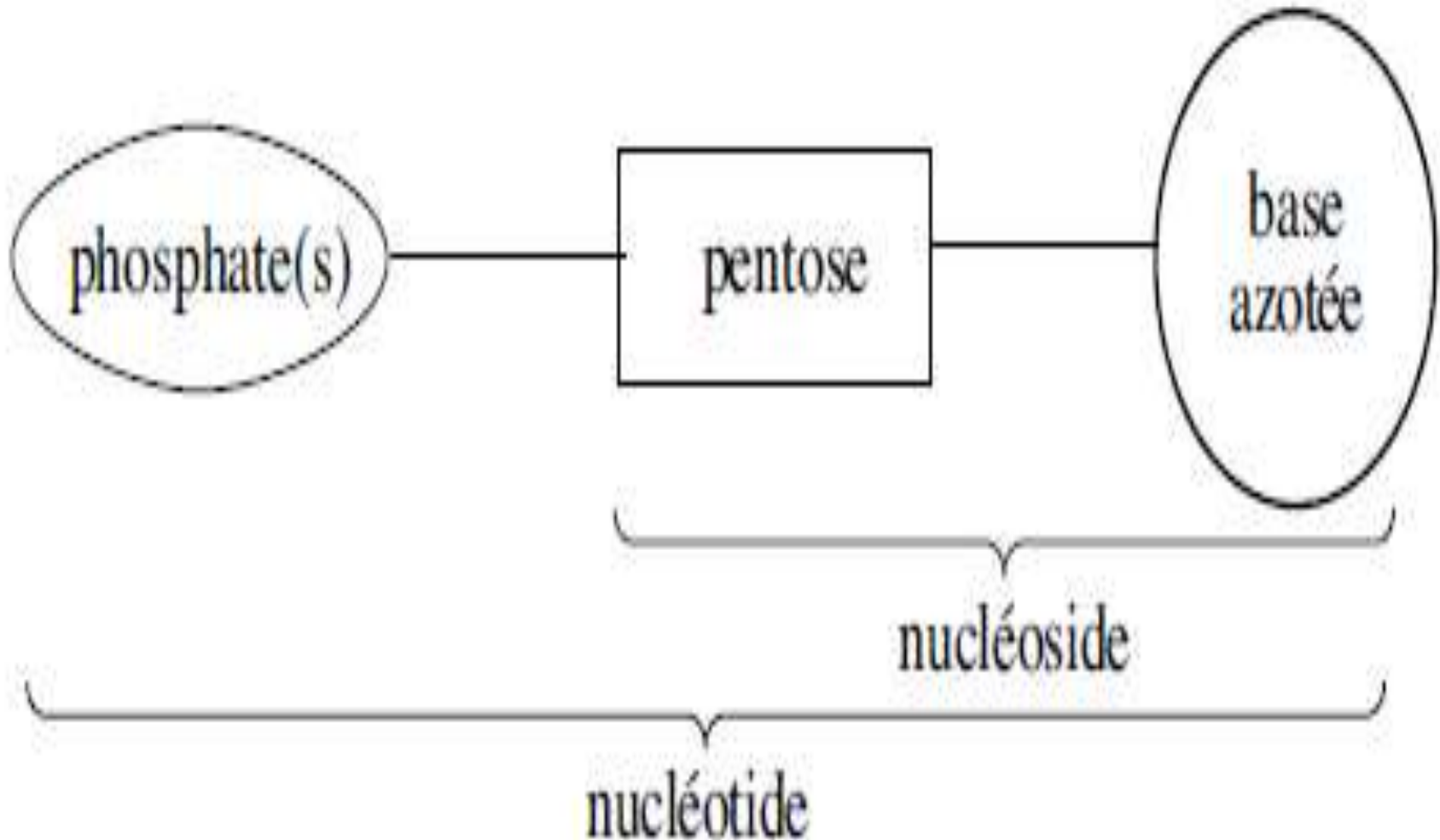
- la condensation d'un ose (pentose) avec une base nucléique (hétérocycle azoté) qu'on appelle nucléoside.
- l'estérification de l'ose d'un nucléoside par l'acide phosphorique produit un nucléotide.

Les nucléotides de l'ADN, comme ceux de l'ARN ne comportent que quatre de ces bases azotées :

- deux puriques communes aux deux types d'acides nucléiques
- une pyrimidique commune : la cytosine
- une pyrimidique spécifique : l'uracile pour l'ARN et son dérivé méthylé, la thymine pour l'ADN

Les bases pyrimidiques et les bases puriques

Les dérivés oxy ou/et amino de la pyrimidine et de la purine forment les deux familles de base des nucléotides naturels.



La base

Appelées ainsi car elles sont capables de s'associer à un proton (H^+) en solution acide, les bases nucléotidiques sont des composés cycliques azotés

Bases pyrimidiques:

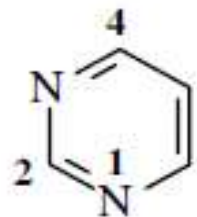
elles sont formées d'un cycle hexagonal à 4 carbones et 2 azotes. Les bases **pyrimidiques** sont la **cytosine**, la **thymine** et l'**uracile**.

Bases puriques:

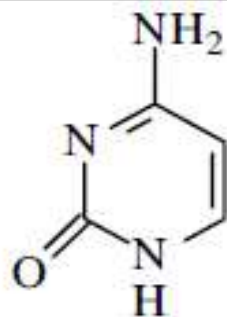
elles sont formées de l'accolement d'un cycle hexagonal à 4 carbones et 2 azotes et d'un cycle pentagonal à 3 carbones et 2 azotes. Les bases puriques sont l'**adénine** et la **guanine**.

Les bases pyrimidiques et les bases puriques

Les dérivés oxy ou/et amino de la pyrimidine et de la purine forment les deux familles de base des nucléotides naturels.

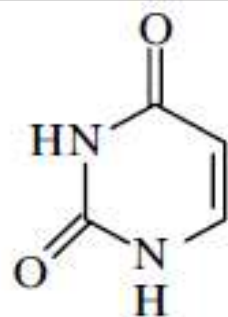


pyrimidine



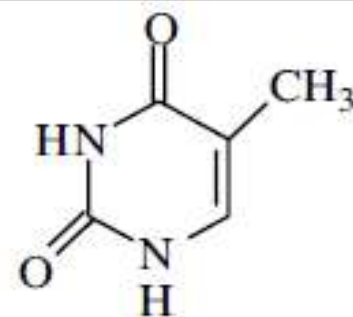
cytosine

2-oxy-4-aminopyrimidine



uracile

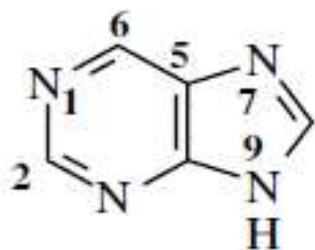
2,4-dioxypyrimidine



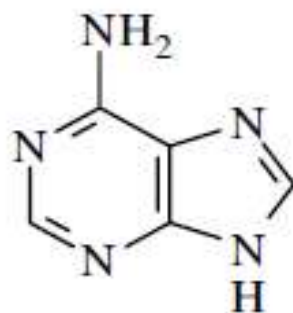
thymine

5-méthyl-2,4-dioxypyrimidine

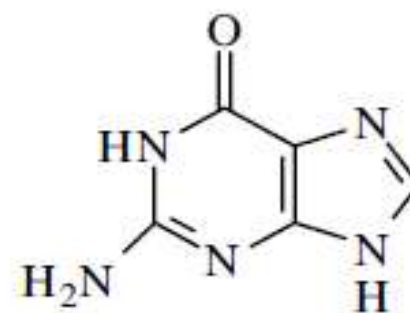
bases pyrimidiques



purine
imidazopyrimidine



adénine
6-aminopurine



guanine
2-amino-6-oxypurine

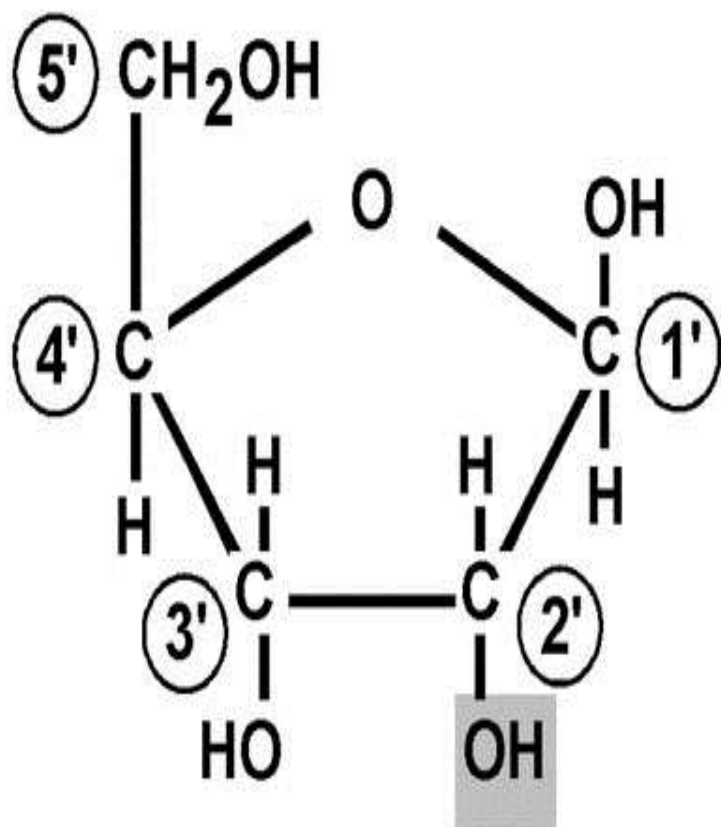
bases puriques

2. Le pentose

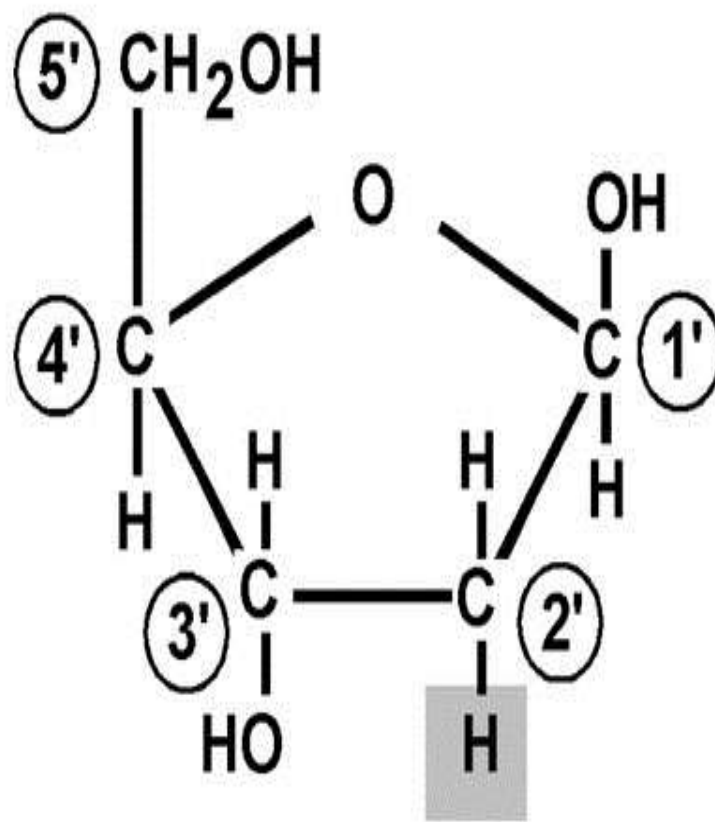
sucres simples à 5C

- Ribose (D-ribose) : ose en C5.
- Désoxyribose (2'-désoxy-D-ribose) : H en 2'

Le ribose se trouve dans l'ARN et le désoxyribose dans l'ADN.



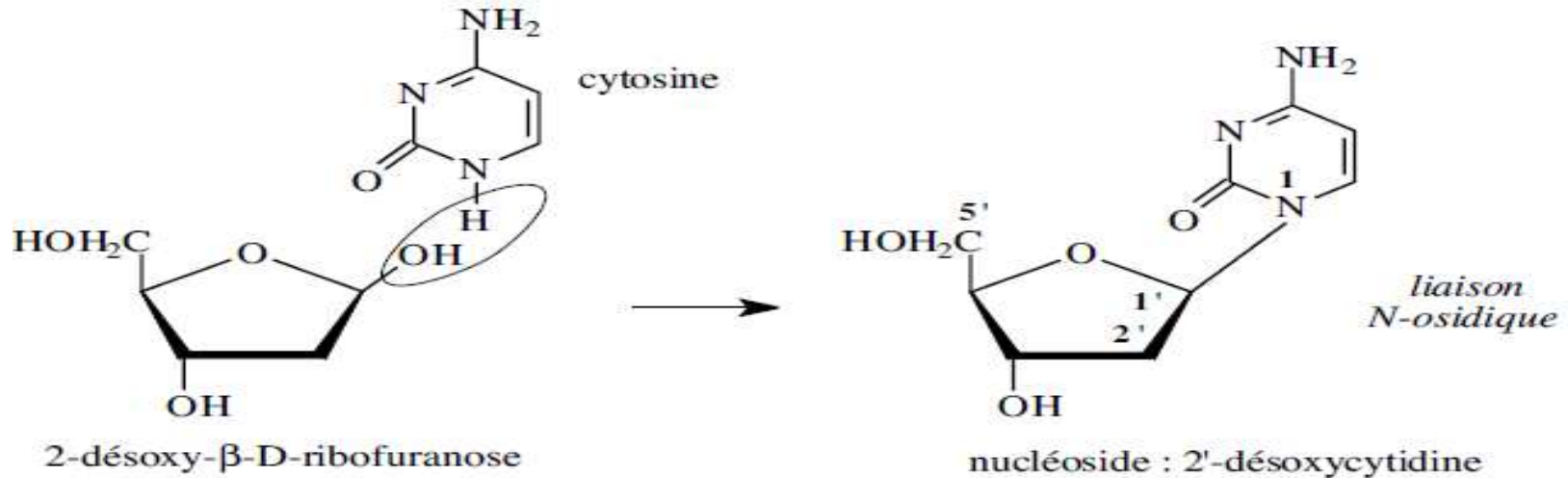
Pentose présent dans l'ARN :
le ribose



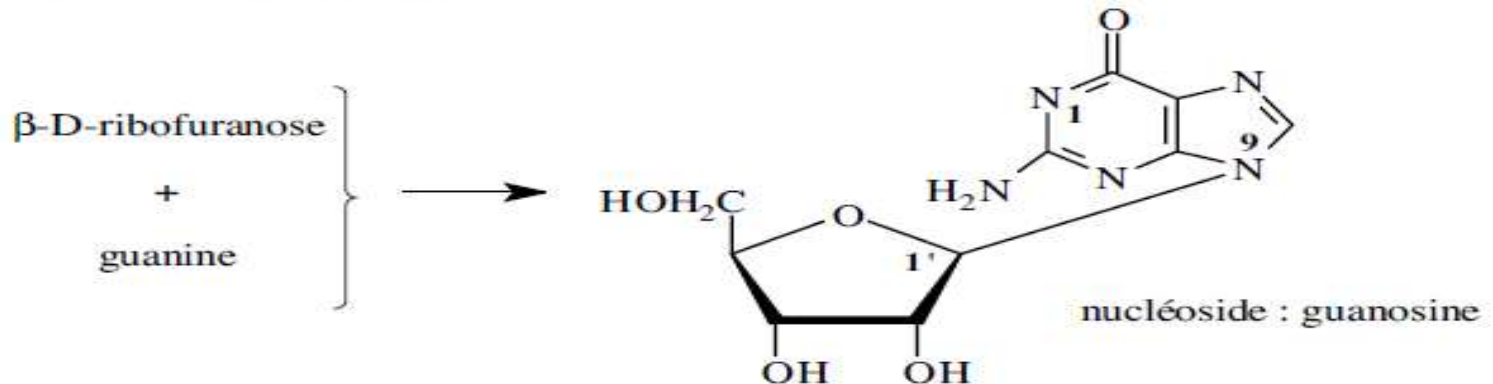
Pentose présent dans l'ADN :
le désoxyribose

Nucleoside: La liaison avec la base est de type **N-osidique** entre le **carbone 1'** (**carbone anomérique**) du furanose en conformation β et l'azote **N1** des pyrimidines et **N9** des purines.

Exemple pour une base pyrimidique :



Exemple pour une base purique :



Nomenclature: Les noms des nucléosides ont comme suffixe :

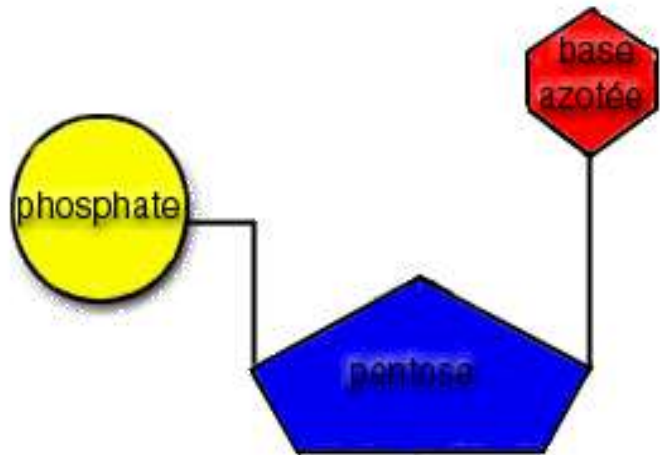
- "**osine**" pour les nucléosides puriques
- "**idine**" pour les nucléosides pyrimidiques

Bases azotées		Ribonucléosides		Désoxyribonucléosides	
Nom	Symbole	Nom	Symbole	Nom	Symbole
cytosine	Cyt	cytidine	Cyd	2'-désoxycytidine	dCyd
uracile	Ura	uridine	Urd	2'-désoxyuridine	dUrd
thymine	Thy	thymidine*	Thd	(2'-désoxy)thymidine*	
adénine	Ade	adénosine	Ado	2'-désoxyadénosine	dAdo
guanine	Gua	guanosine	Guo	2'-désoxyguanosine	dGuo

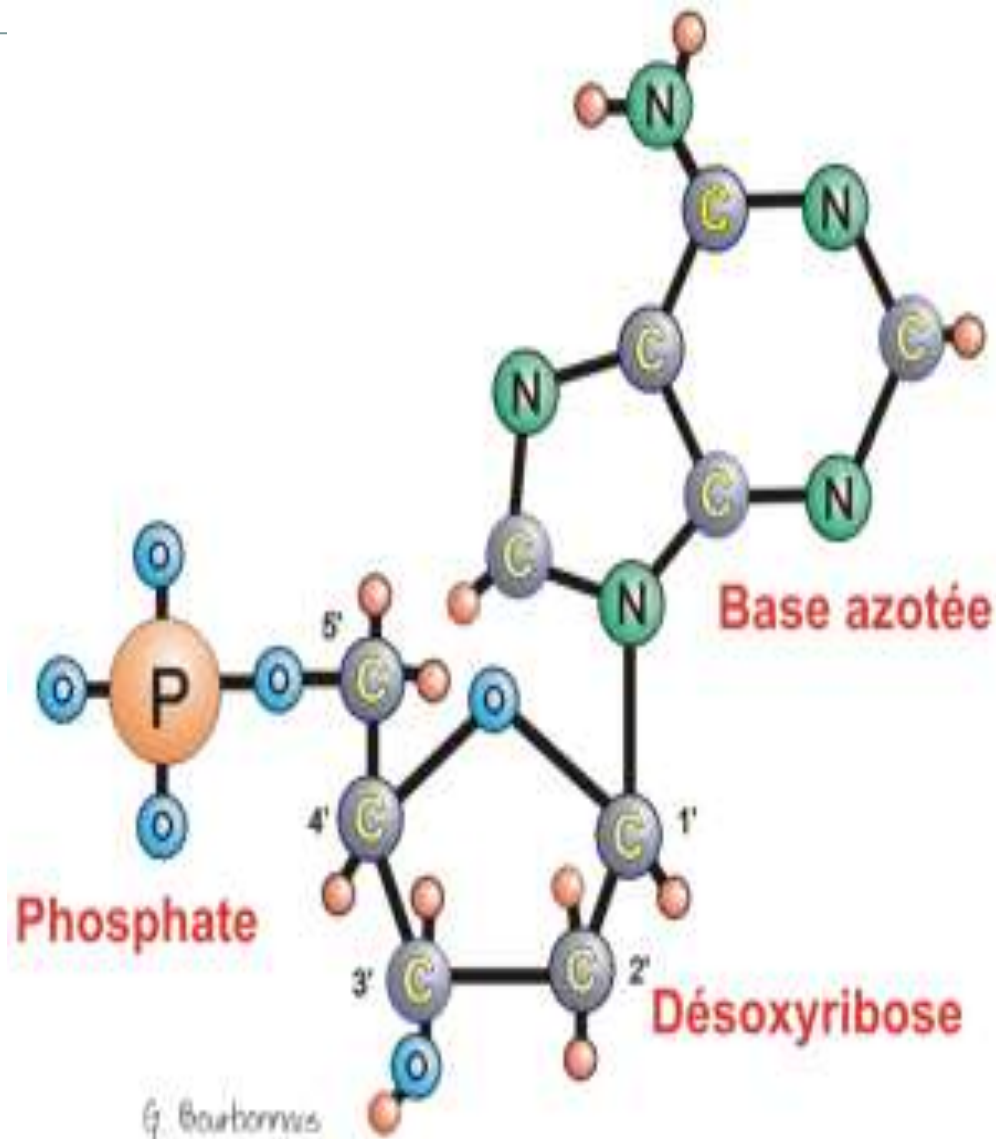
3. L'acide phosphorique



L'acide phosphorique est un triacide.
Fonction : estérifier pour ADN et
ARN.



NUCLÉOTIDE



Ce sont des esters-phosphates de nucléosides (condensation alcool-acide) élimination d'une molécule d'eau entre : OH d'un acide (OH du H_3PO_4) et le H d'un alcool (H de la fonction alcool en 5' de l'ose).

En résumé:

Les acides nucléiques sont des enchaînements de nucléosides 5'-phosphates dont l'assemblage est réalisé par une liaison phosphodiester.

➤ **ADN (acide désoxyribonucléique)** composé de :

- un ose qui est le 2'-désoxyribose
- la base est soit : adénine ou guanine (purine), soit cytosine ou thymine (pyrimidine)

➤ **ARN (acide ribonucléique)** composé de :

- un ose qui est le ribose
- la base est soit : adénine ou guanine (purine), soit cytosine ou uracile (pyrimidine)

Génétique moléculaire





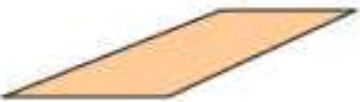




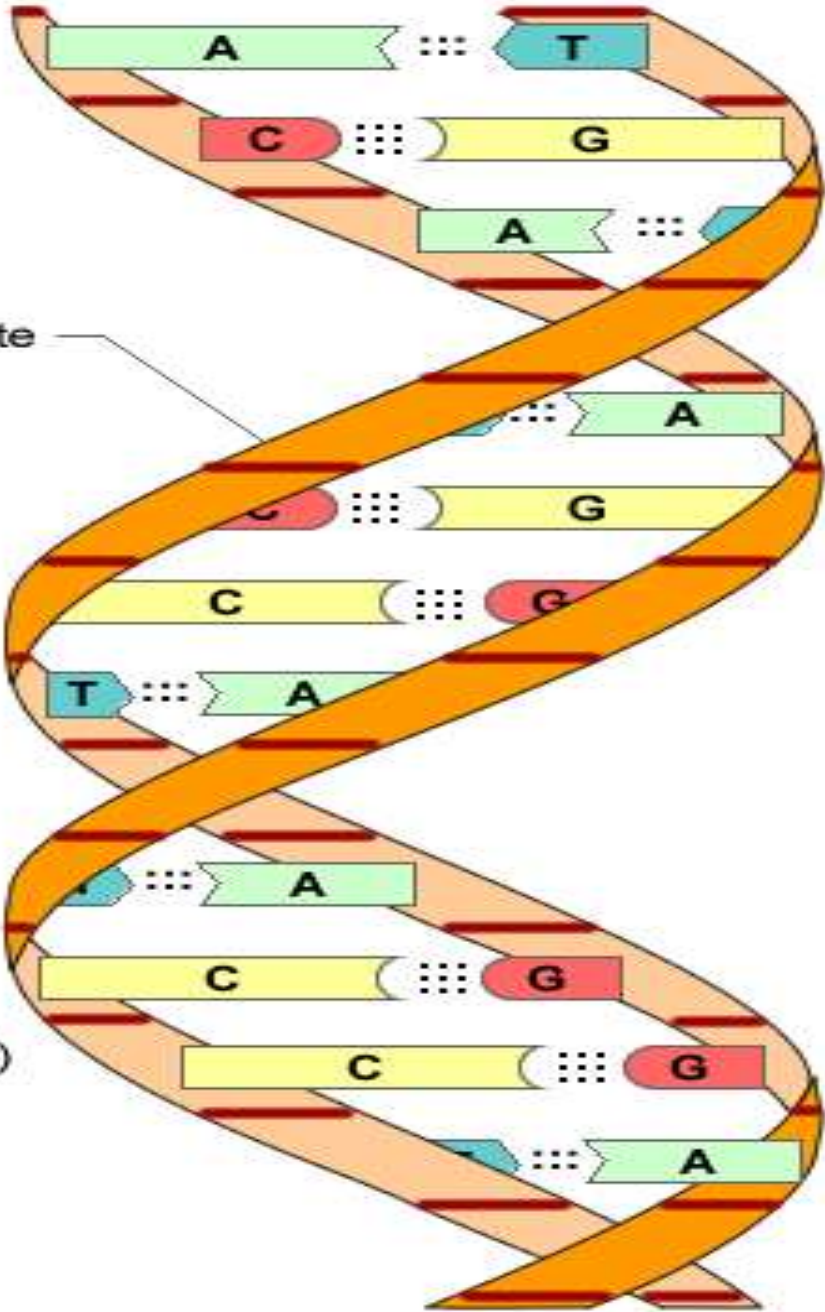
STRUCTURE ET PROPRIÉTÉ DE L'ADN

Le pas de l'hélice = 34\AA ; le diamètre = 20\AA .

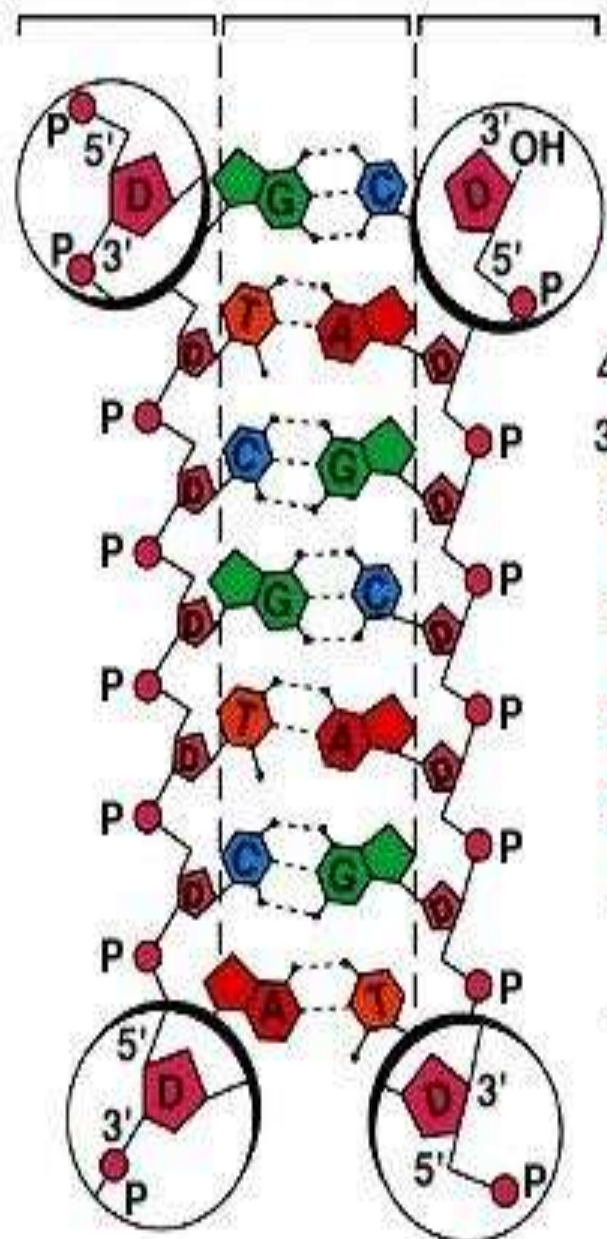
Squelette Sucre-phosphate









Légende :

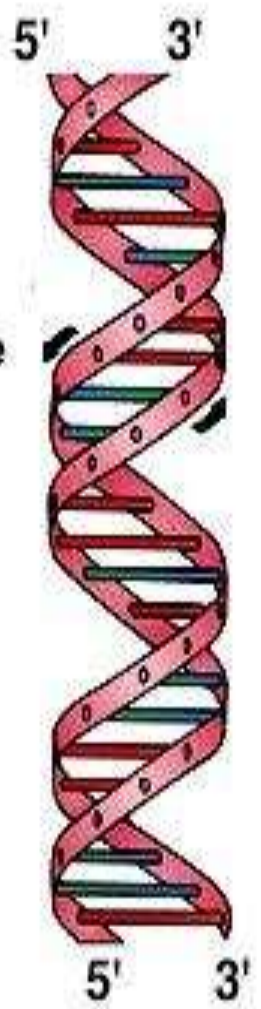
-  Thymine (T)
-  Adénine (A)
-  Cytosine (C)
-  Guanine (G)
-  Désoxyribose (sucre)
-  Phosphate
-  Liaison hydrogène



Sucre Phosphate Paires de bases Sucre Phosphate

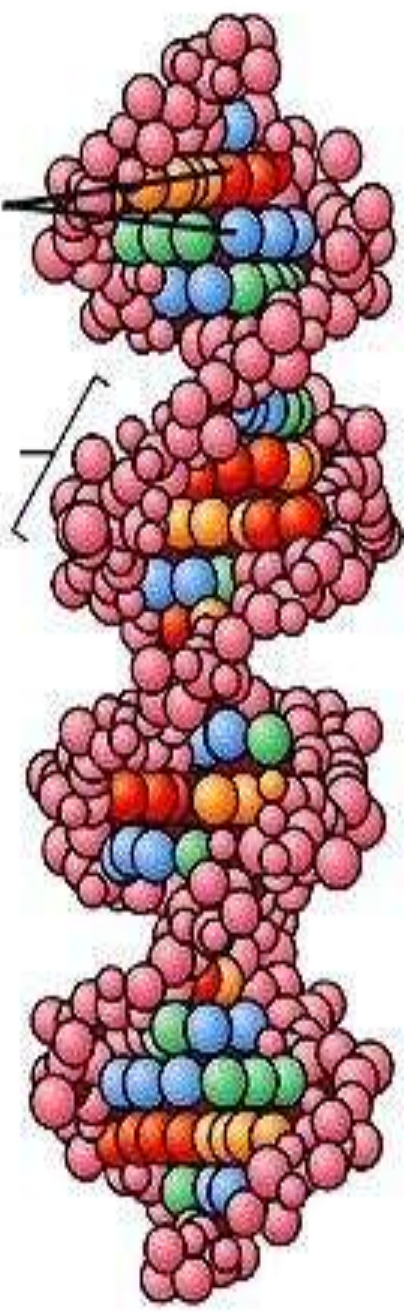


-  Phosphate
-  5' 1' Désoxyribose
-  3' 2' Cytosine
-  Guanine
-  Thymine
-  Adénine
-  Liaison hydrogène
-  Liaison covalente



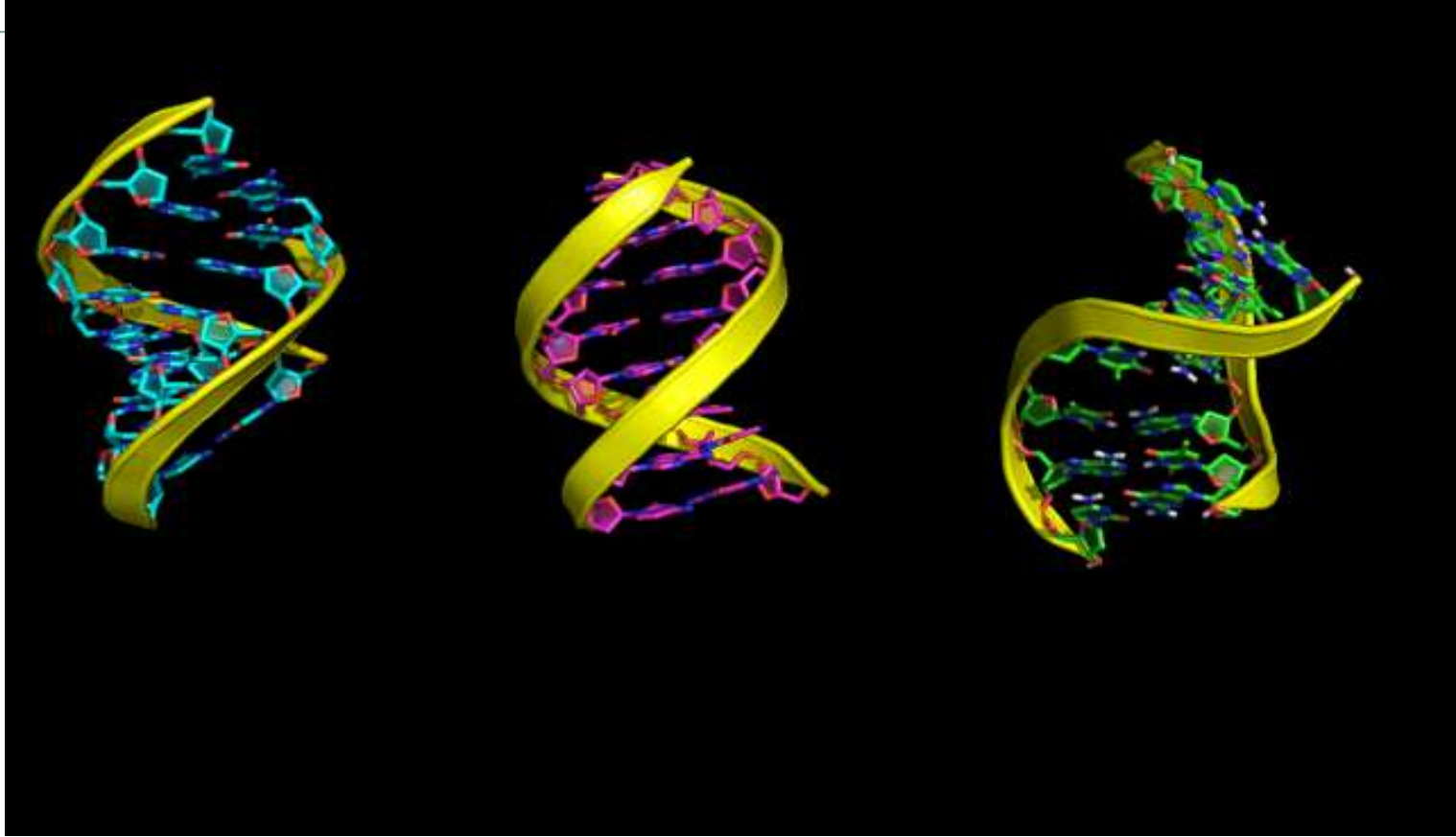
Paires de bases

Sucre Phosphate



Molécule d'ADN

- **Complémentaires** les bases des acides nucléiques s'apparient grâce à des liaisons H (hydrogène).
 - ✓ 3 liaisons H entre C et G
 - ✓ 2 liaisons H entre A et T
- **Antiparallèles** les 2 brins sont dits anti-parallèle, car leur polarité est inversée. Dans une double hélice d'ADN, un brin est dans le sens 5'→3' alors que le brin complémentaire est en sens 3'→5'.
- différentes structures en hélice: A B OU Z



CONFORMATION USUELLE FORME B (au milieu)

- **ADN B** est la forme la plus commune; les paires de bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice, ces paires ont leur centre qui passe par l'axe, la répartition spatiale des paires de bases est homogène
- **ADN A**, l'axe de l'hélice passe par le grand sillon, qui est plus profond que dans l'ADN B, tandis que le petit sillon est moins creusé. Les bases sont décalées et inclinées par rapport à l'axe, laissant un trou central dans l'hélice.
- **ADN Z**, l'axe passe par le petit sillon

Fonction Biologique de l'ADN

L'ADN est le repository de l'information génétique. Cette information est codée par la succession des bases azotées A, T, G et C.

On peut imaginer que la molécule d'ADN est le livre de recettes de toute cellule vivante.

Ainsi, les systèmes vivants se retrouvent avec une batterie d'enzymes dont le rôle principal est de lire et décoder l'information génétique portée par l'ADN (ARN polymérases, ribosomes et gyrases pour n'en nommer que trois).

Le décodage complet suit de nombreuses étapes (déroulement de l'ADN, lecture et transcription en ARN, épissage de l'ARN, traduction du code en protéine, maturation de la protéine...) avant de donner lieu à l'assemblage correct des protéines dont la cellule

Relations Structure/Fonction de l'ADN

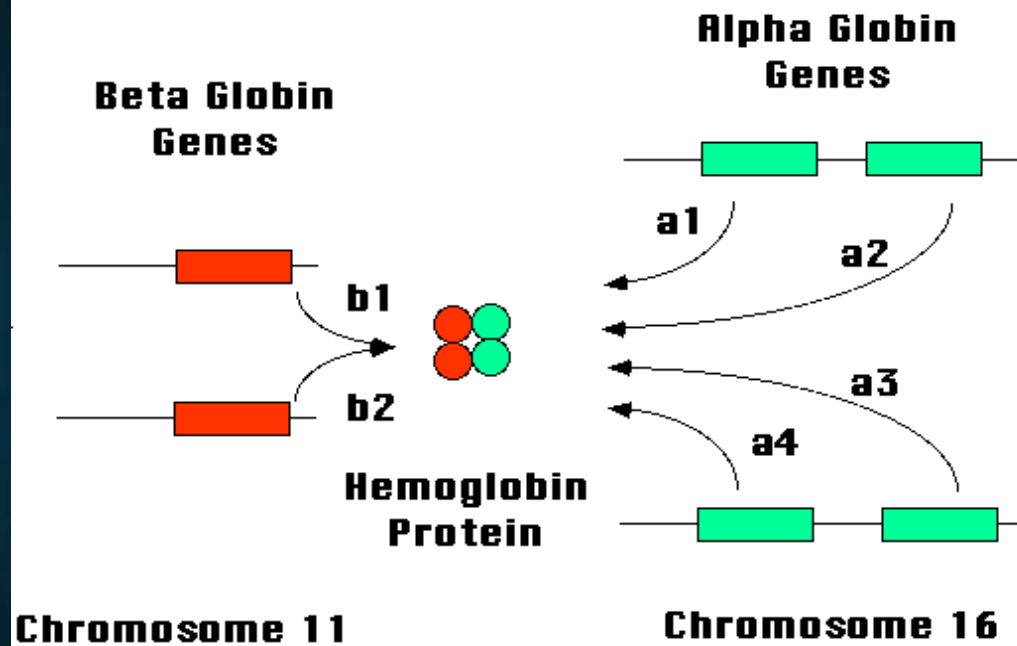
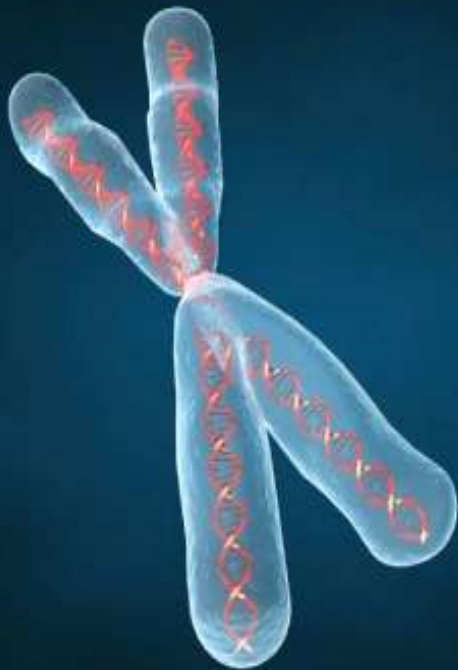
Admettons que le livre (ADN) ait une couverture pour protéger les pages, une introduction, un message écrit et une conclusion.

Pour l'ADN,

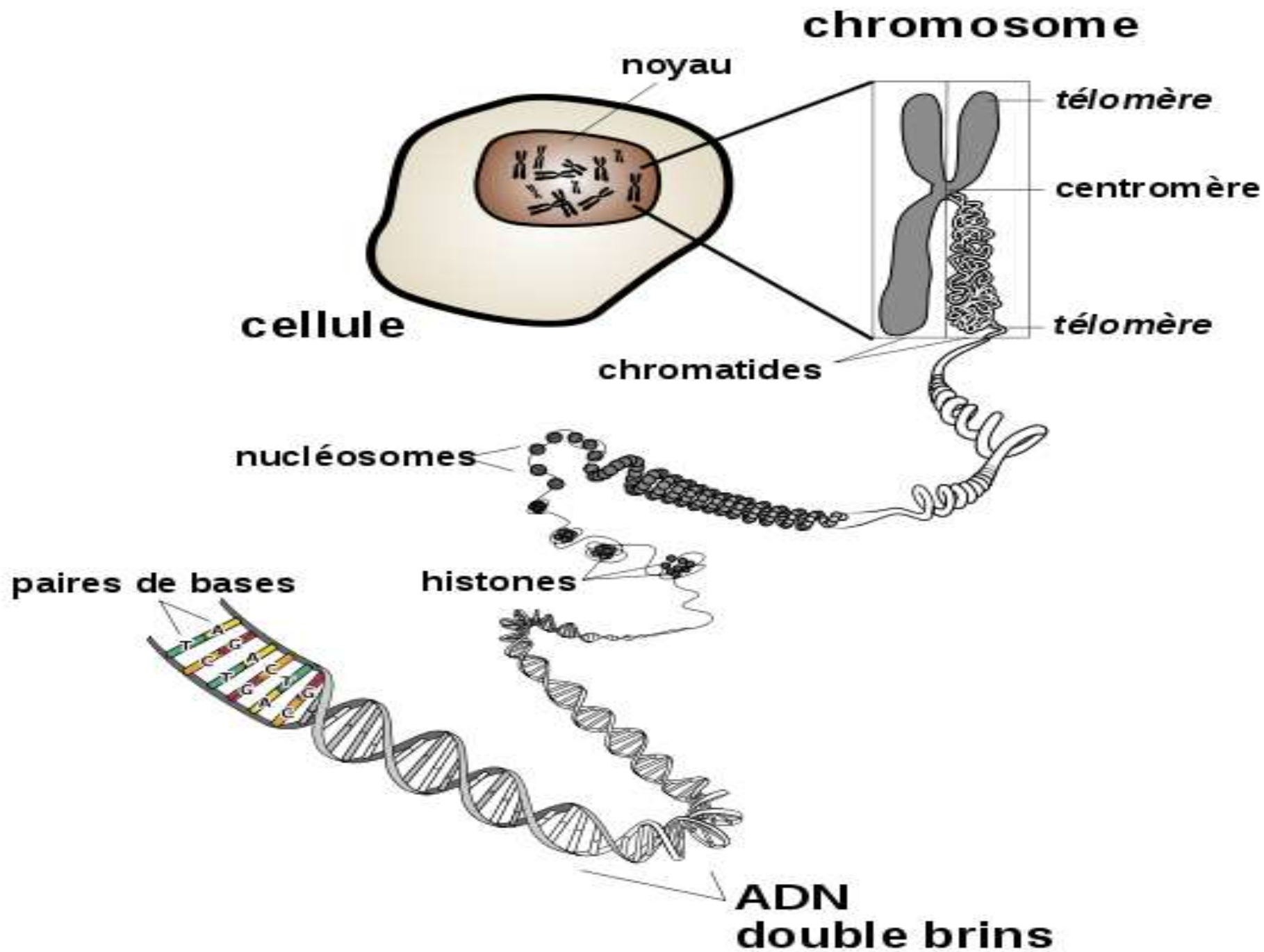
- la **couverture** correspond au **squelette phosphodiester-ribose** qui donne à la molécule une certaine rigidité.
- Le **texte** est repéré par la **séquence des paires de bases**; c'est l'information brute.
- Des séquences d'**introduction** et de **conclusion** permettent de diriger vers la page correcte les **enzymes nécessaires** au décodage de l'information génétique.

Pour lire un livre, il faut d'abord l'ouvrir. La même chose est vraie pour l'ADN; il faut dérouler légèrement la double hélice pour que les enzymes appropriées puissent aller lire le code génétique; un ADN trop enroulé est comme un livre sous scellé, les enzymes n'ont pas accès à l'information portée par l'ADN.

La molécule d'ADN doit avoir une structure bien particulière pour que sa fonction soit correctement remplie.



2. ORGANISATION DE L' INFORMATION GENETIQUE EN CHROMOSOMES ET EN GENES



ADN chez l'homme



- Enchaînement de **3 milliards de nucléotides**
- 1 à 3% de ces séquences représentent l'information génétique codant la totalité des protéines
- Molécules d'ADN double brin pratiquement indestructible par agents physiques et chimiques
- Information transmise par duplication des molécules d'ADN dans 2 cellules filles

L'ADN constitue le matériel génétique de la cellule et le matériel génétique d'un être vivant doit :



- **Détenir l'information génétique propre à son espèce**

l'ordre d'enchaînement des nucléotides constitue un message, permettant à la cellule d'assembler dans le bon ordre les acides aminés de ses protéines.

- **Pouvoir se reproduire avec le moins d'erreurs possibles**

À chaque fois qu'une cellule se divise en deux cellules, l'information doit être reproduite intégralement de façon à ce que chacune des deux cellules obtenues détienne l'ensemble de l'information qui était dans la cellule de départ.

L'ADN constitue le matériel génétique de la cellule et le matériel génétique d'un être vivant doit :

- **Pouvoir se modifier (mais pas trop)**

L'ADN n'est pas une molécule d'une stabilité à toute épreuve. Des modifications accidentelles peuvent modifier le message. Ce sont ces modifications qui permettent l'évolution.

- **Pouvoir être traduit en caractéristiques physiques**

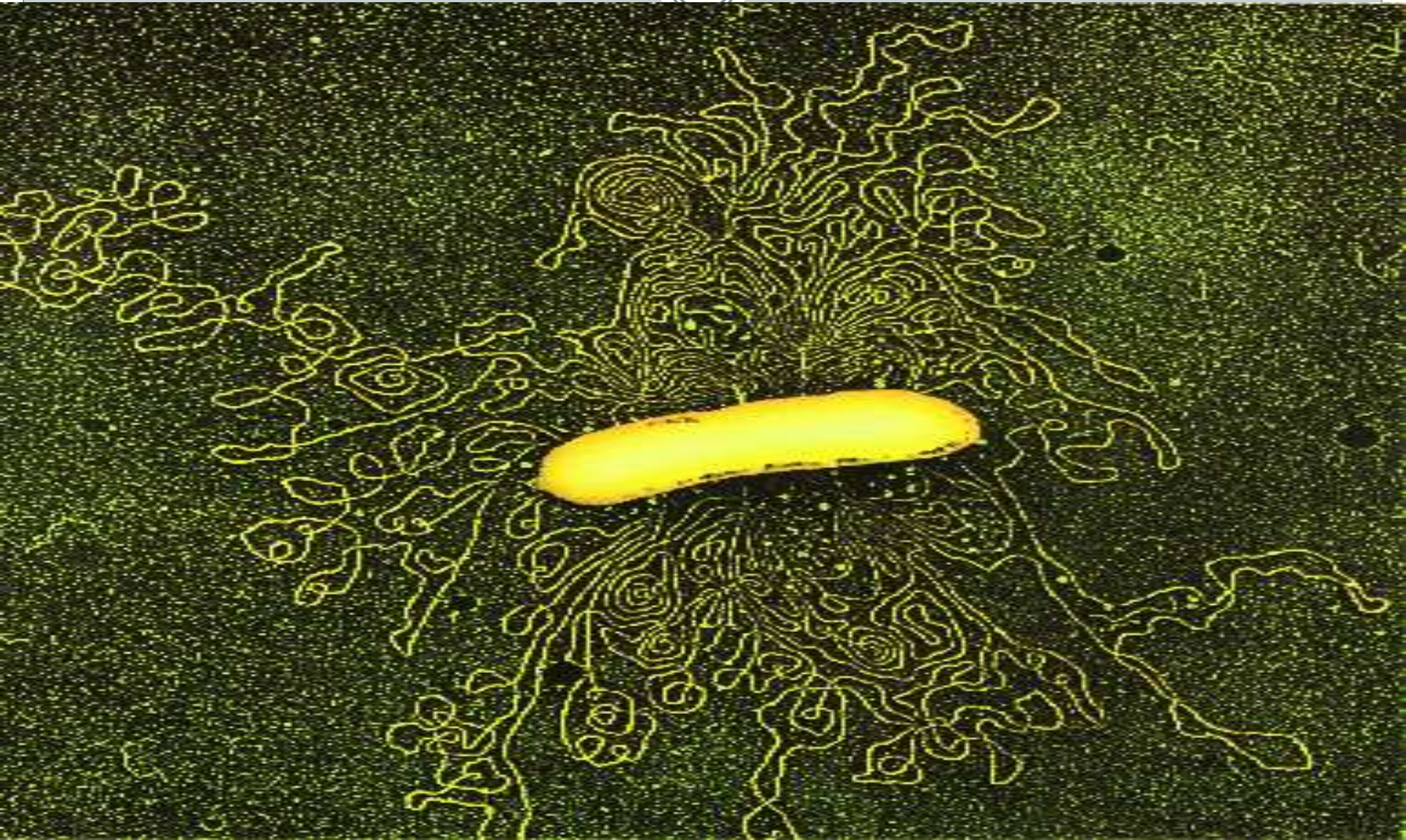
Le message contenu dans l'ADN doit pouvoir être "lu" par la cellule. Ce n'est pas tout de détenir de l'information, mais encore, cette information doit pouvoir être utilisée, elle doit pouvoir être traduite en quelque chose de concret, en protéines dans le cas de l'ADN.

ADN CELLULE PROCARYOTE



- Unique chromosome de forme circulaire (continuité de la chaîne) ex *E. coli* comporte **4 millions pb**.
- On trouve parfois des **plasmides**, petits morceaux circulaire d'ADN
- La longueur totale de la molécule est d'environ 1,5 mm (près de 500 fois plus long que la bactérie elle-même). Cette énorme molécule contient toute l'information nécessaire à l'assemblage des quelques **4000 protéines différentes** que peut fabriquer cette bactérie.

ADN PROCARYOTE

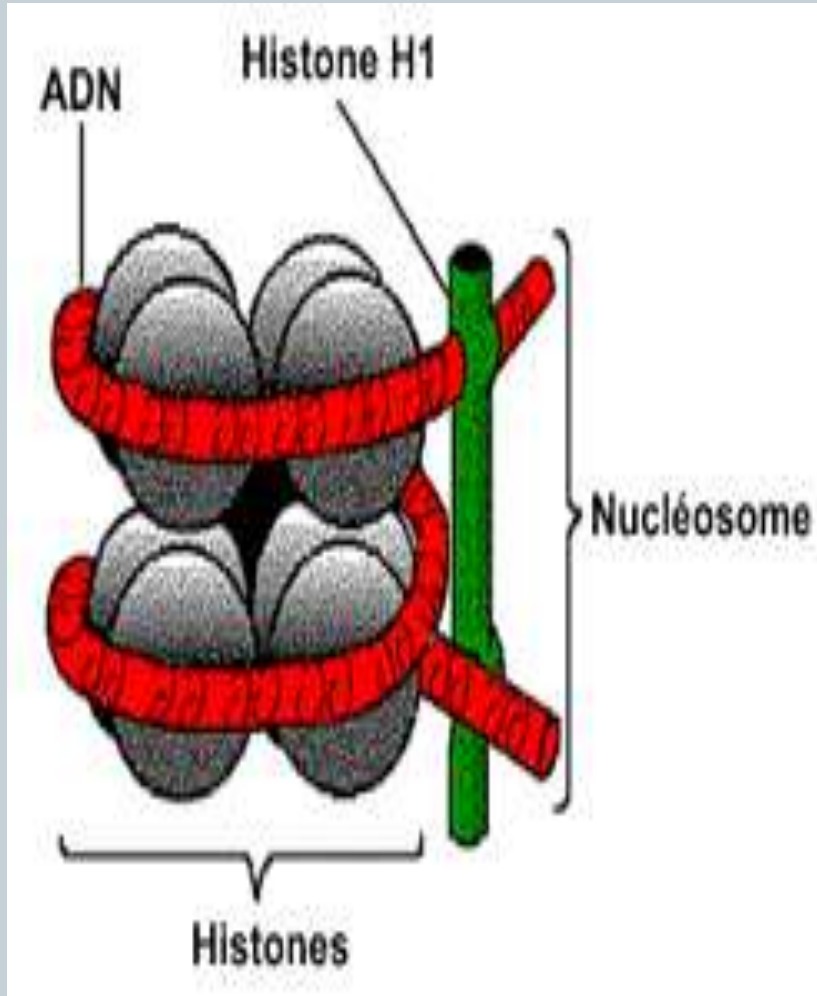


ADN EUKARYOTE



- Chaque molécule d'ADN du noyau est enroulée sur des protéines appelées **histones**.
- Chaque segment d'ADN enroulé sur ses histones forme un **nucléosome**. L'ensemble (ADN et histones) s'enroule à nouveau sur lui-même pour former une structure plus compacte appelée **chromosome**.
- Un chromosome humain peut contenir entre 20 et 100 millions de paires de bases. Le nombre de chromosomes par cellule est caractéristique de l'espèce. Les cellules humaines contiennent 46 chromosomes chacune.

ADN EUCARYOTE



- L'ensemble formé par l'ADN enroulé sur 8 histones forme ce qu'on appelle un **nucléosome**. Les histones H1 servent à relier les nucléosomes les uns aux autres de façon à former une structure spiralée plus compacte
- Dans le noyau, l'ADN associé à ses protéines forme une substance visqueuse qu'on a appelée **chromatine**

CHROMOSOME
CONDENSÉ

CHROMATINE
CONDENSÉE

CHROMATINE
DÉPLIÉE

NUCLÉOSOMES
ENROULÉS

NUCLÉOSOMES

DOUBLE HÉLICE D'ADN

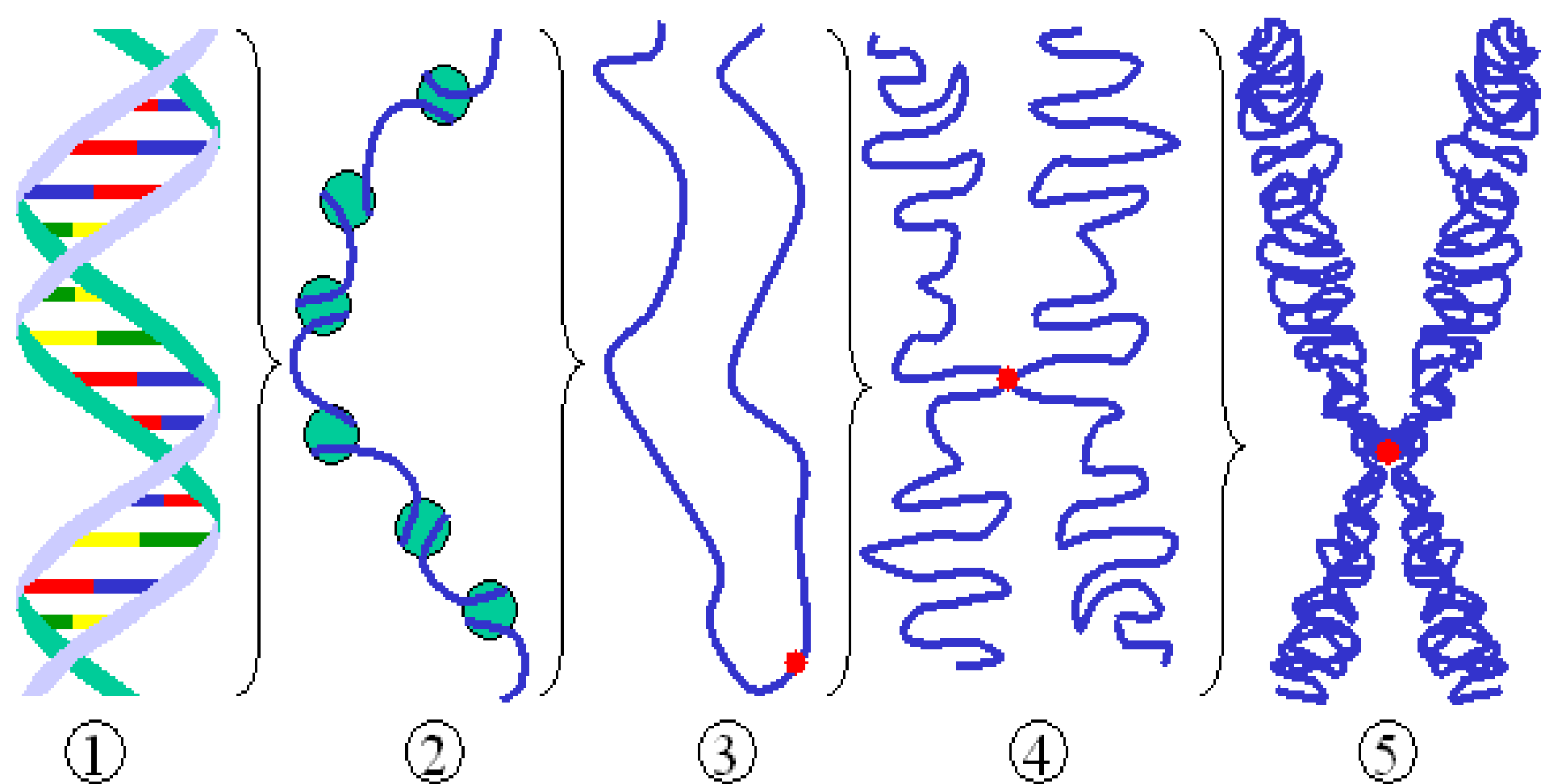
CAS ADN du fœtus présent dans le sang maternel?



- au cours de la grossesse, environ 10 % de l'ADN circulant dans les veines de la future maman proviennent du fœtus.
- détecter un gène que l'on sait absent de la mère, pour savoir qu'il provient du père et donc appartient à l'enfant : un morceau de chromosome Y
- présence du gène antigénique D (spécifique aux individus rhésus positif) chez une mère rhésus négatif .



- comment savoir si l'enfant porte lui-même deux versions différentes du gène ou au contraire, deux identiques ? Il faut pour cela réussir à différencier d'une manière ou d'une autre l'ADN de l'enfant de celui de la mère.
- C'est le défi qu'ont relevé des scientifiques chez une mère dont l'enfant risquait de porter deux allèles malades du gène *HBB* codant pour l'hémoglobine, menant à une possible β -thalassémie.



Différents niveaux de condensation de l'ADN. (1) Brin bicaténaire d'ADN. (2) Brin de chromatine (**ADN** avec **histones**). (3) Chromatine au cours de l'**interphase** avec **centromère**. (4) Chromatine condensée au cours de la **prophase**. (Deux copies de la molécule d'ADN sont présentes) (5) au cours de la **métaphase**.

III Génétique moléculaire



3. ANATOMIE GENERALE D'UN GENE EXEMPLE DU GENE B GLOBINE

- Plusieurs gènes existent pour exprimer les chaînes d'acides aminés qui constituent l'hémoglobine :

-

- α -globines sur le chromosome 16
- β -globines sur le chromosome 11. Sur ce dernier chromosome il existe cinq gènes exprimés successivement au cours du développement de l'individu dans les hémoglobines embryonnaires, fœtales et adultes.

• L'ensemble des cinq gènes constitue un groupe de gènes (*cluster*). Les cinq gènes sont dérivés dans l'évolution à partir d'un gène ancestral unique (chez les Invertébrés) par duplications successives. Le gène ϵ -globine est à l'extrémité 5' du groupe de gènes. Après un long intergène, on rencontre les deux gènes des γ -globines (γ -Gly et γ -Ala). Dans l'intergène suivant se trouve un pseudogène η -globine, qui n'est plus exprimé. Enfin vers l'extrémité 3' se rencontrent successivement les deux gènes exprimés chez les adultes δ -globine et surtout β -globine.

Gènes des β -globines

Chromosome 11

Globine
(embryon)

Globines (foetale)

Globines (adulte)



ϵ -globine



γ -Gly



γ -Ala

γ -globines



pseudo-
 γ -globine



δ -globine



β -globine



III Génétique moléculaire



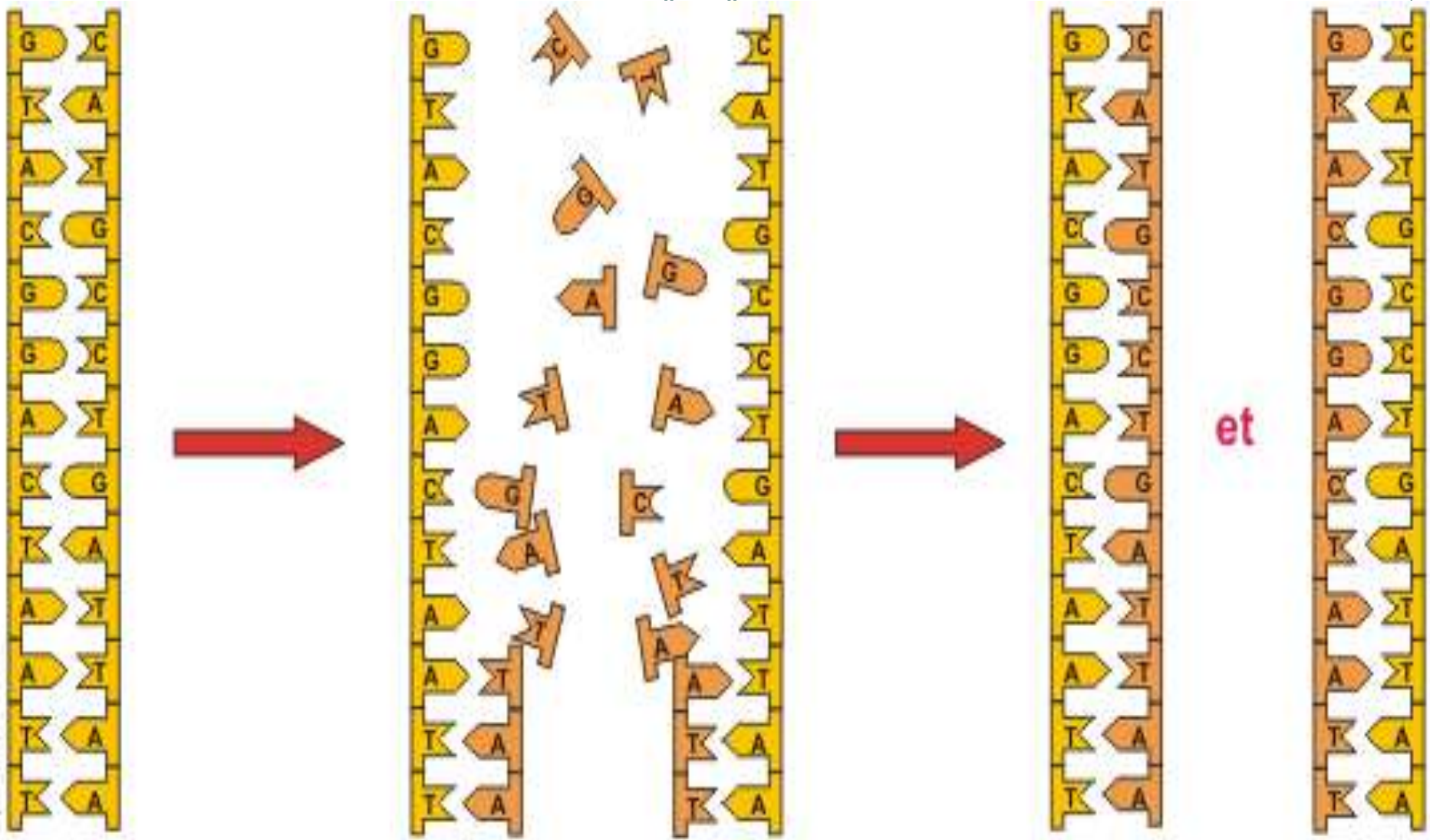
4. REPLICATION ET TRANSCRIPTION DE L'INFORMATION GENETIQUE ADN EN ARN



- Crick et Watson ont établi le modèle d'ADN et se posaient cette question : **comment cette molécule peut se reproduire**, comment à partir d'une molécule, on peut facilement en obtenir deux identiques.

1^{ère} anticipation Crick et Watson

Replication de l'ADN modèle semi conservatif



© Bioinformatics

Expérience de meselson et stahl (5 ans après crick et watson)



- Meselson et Stahl faisaient se reproduire des bactéries dans un milieu contenant des ions ammonium (NH_4^+) constitués d'azote 14 (isotope léger) ou d'azote 15 (isotope plus lourd).
- Les bactéries fabriquent leurs nucléotides à partir de ces ions ammonium et les utilisent pour synthétiser leur ADN.

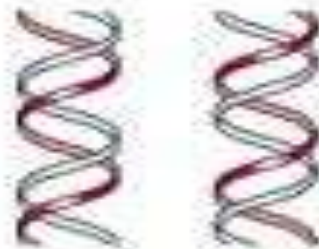
DNA extracted and centrifuged to equilibrium in CsCl density gradient

Heavy DNA (^{15}N)



Original parent molecule

Hybrid DNA ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)



First-generation daughter molecules

Light DNA (^{14}N)

Hybrid DNA

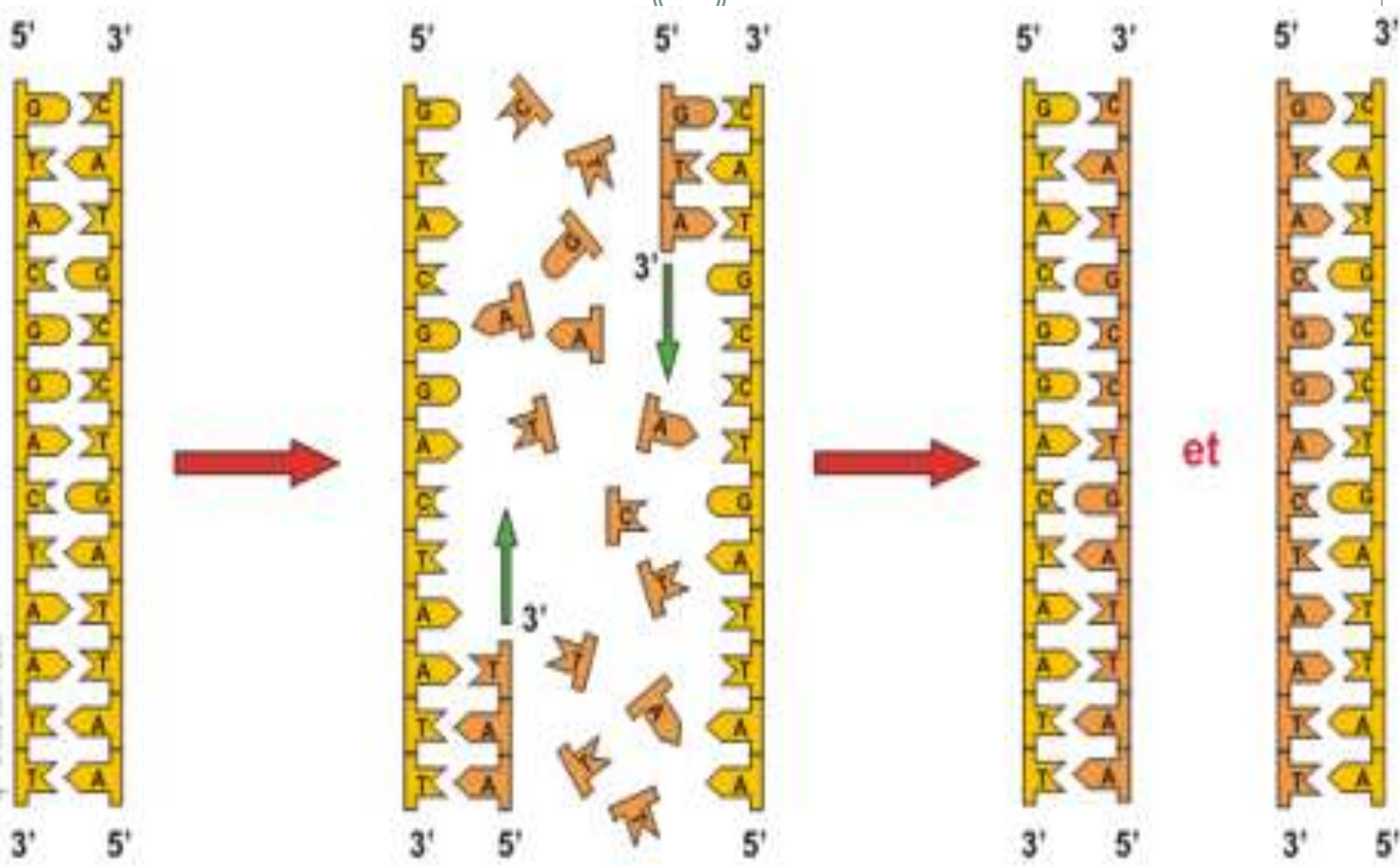


Second-generation daughter molecules

réplication: intervention des enzymes



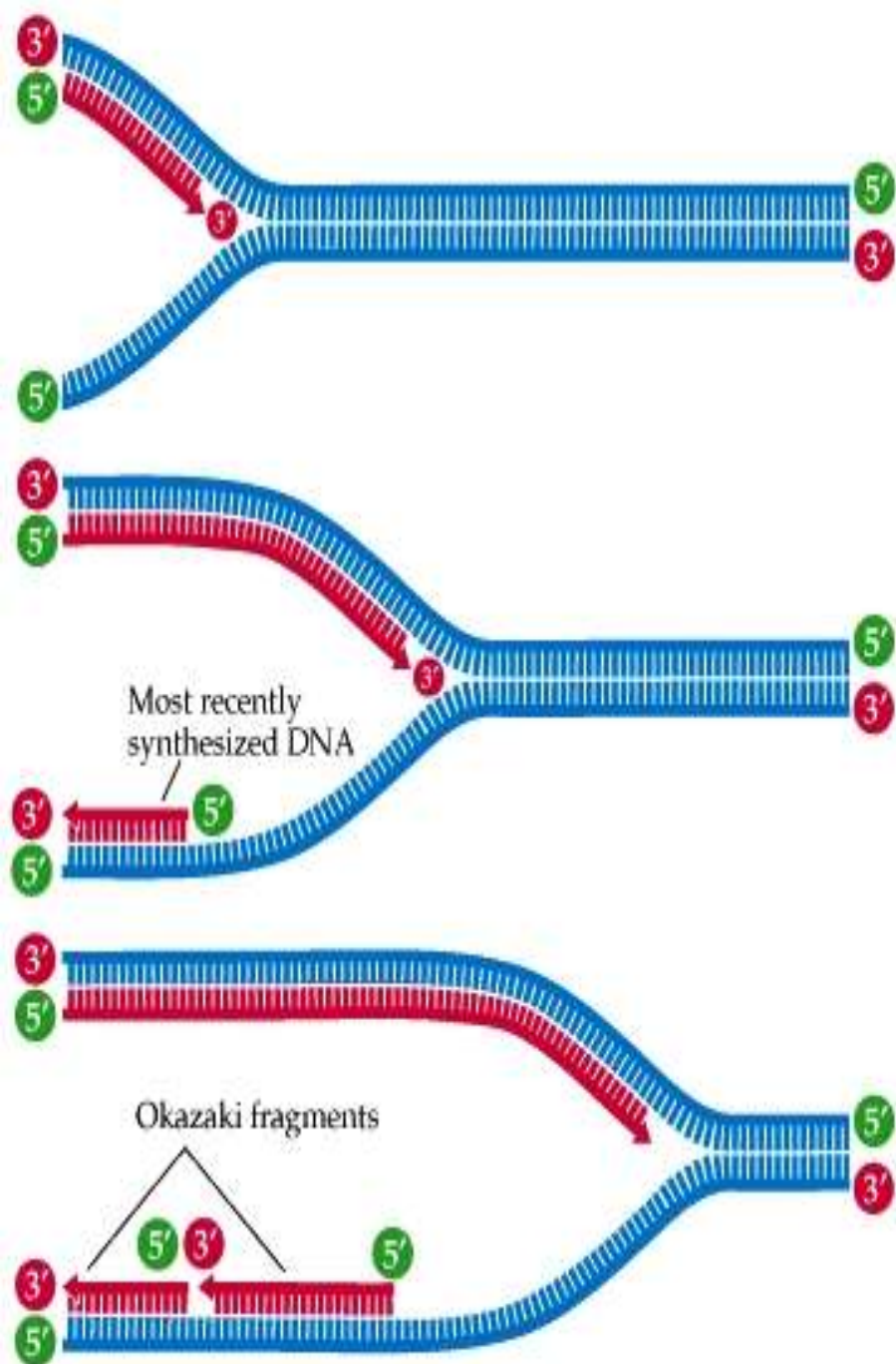
- enzyme du noyau, l'**ADN hélicase**, qui sépare l'ADN en deux brins. Les nucléotides qui serviront à reconstituer le brin complémentaire sont présents en grande quantité dans le noyau. Chacun de ces nucléotides libres contient trois groupements phosphates. Lorsqu'ils sont incorporés dans l'ADN, ils perdent deux phosphates ce qui fournit l'énergie nécessaire à leur liaison.
- enzyme du noyau, l'**ADN polymérase III** qui vient les appairer un à un sur chacun des deux brins séparés. L'ADN polymérase III ne peut relier les nouveaux nucléotides que dans le sens **5' - 3'**. **La croissance du nouveau brin se fait donc dans la direction 5' - 3'.**



Réplication



- Dans la cellule, l'ADN, après avoir été séparé en deux brins par **l'hélicase**, se déroule sur une certaine longueur.
- L'**ADN polymérase III** assemble alors, au fur et à mesure que la molécule se sépare, le brin complémentaire 5' - 3' (celui qui s'apparie au brin d'origine 3' - 5').
- Lorsqu'une certaine longueur d'ADN a été séparé en deux brins, **une autre ADN polymérase** commence à assembler, dans le sens contraire, le brin complémentaire de l'autre partie.



Les brins nouveaux (en rouge) sont assemblés dans la direction 5' - 3'.

Sur le brin d'origine 3' - 5' (celui du haut sur cette image), le nouveau brin s'assemble au fur et à mesure que l'ADN est séparé en deux brins.

Sur l'autre brin d'origine, le 5' - 3' (celui du bas sur l'image), le nouveau brin s'assemble dans la direction contraire de l'autre nouveau (de droite à gauche sur l'image).

Au fur et à mesure que s'ouvre l'ADN, une ADN polymérase assemble dans la direction 5' - 3' un court fragment appelé **fragments d'Okazaki**. Le brin d'origine 5' - 3' est donc copié petit bout par petit bout (chaque petit bout est un fragment d'Okazaki) par plusieurs ADN polymérases différentes.

Réplication: amorce primase ADN Pol I ADN pol III et ligase



- L'ADN polymérase III ne peut fonctionner que si elle se fixe d'abord sur une **amorce**. Cette amorce est formée d'un court segment d'**ARN** complémentaire à un segment du brin à copier. L'amorce mesure environ une dizaine de nucléotides. Partout où se forme une amorce, une ADN polymérase peut commencer à assembler des nucléotides.
- la **primase** qui sert à assembler ces amorces. Dès qu'une amorce est assemblée, l'ADN polymérase III peut commencer son travail.
- À la fin de la synthèse du brin complémentaire, une enzyme, l'**ADN polymérase I** remplace les **ribonucléotides** des amorces par des **désoxyribonucléotides** (les A, T, C et G de l'ADN). Le brin d'ARN que formait l'amorce est donc remplacé par un brin d'ADN.
- Une dernière enzyme, l'**ADN ligase** vient rattacher les uns aux autres tous ces segments (les fragments d'Okazaki et les brins qui ont remplacé les amorces).

REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES



ELEMENTS NECESSAIRES

- ADN parental
- Nucléotides
- Enzymes
- Cations Mg^{++}

REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES



MECANISME

Règles de la polymérisation

- de l'ADN SENS 5' → 3'
- Selon un mode antiparallèle
- Complémentaire

REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES



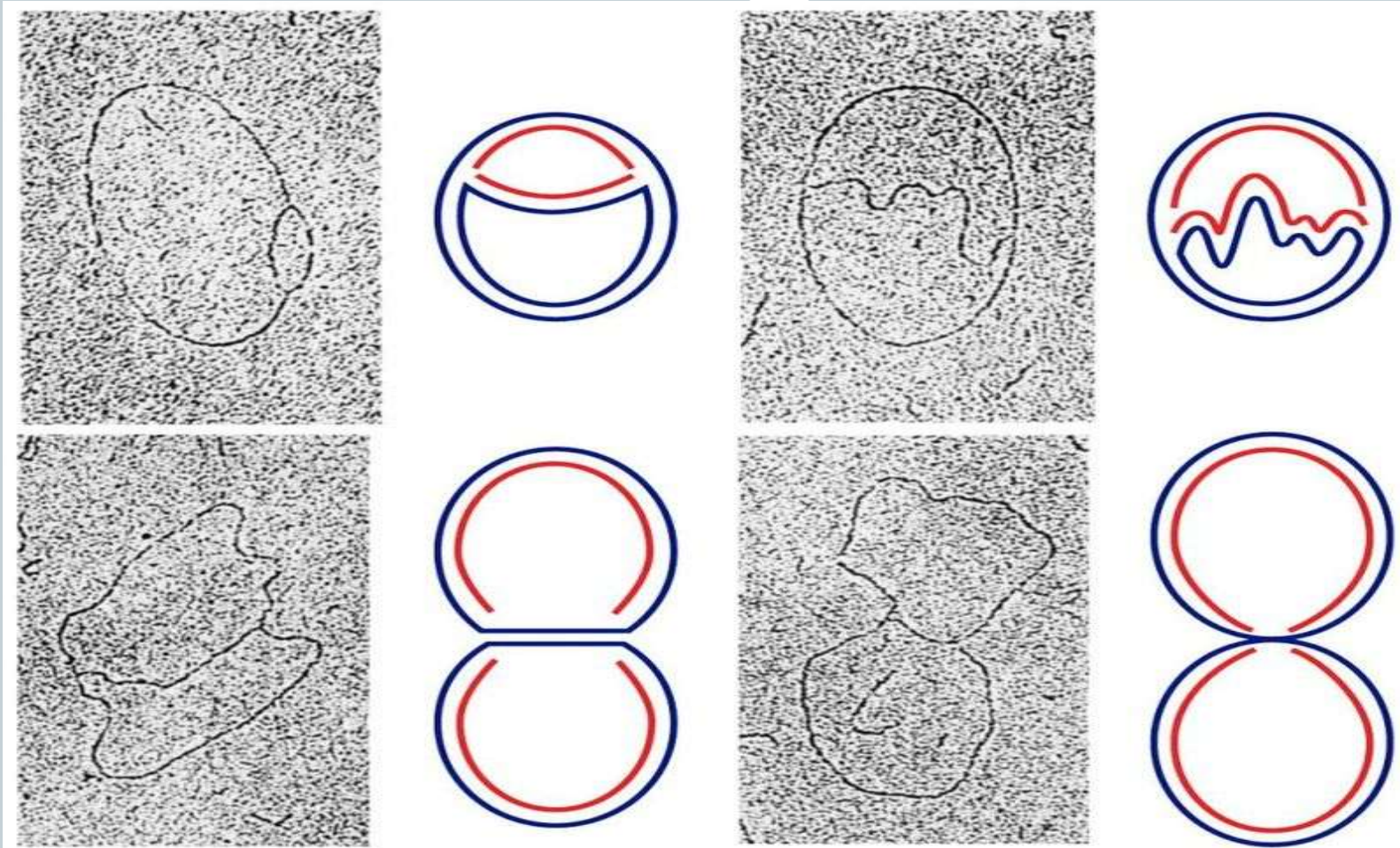
MECANISME

Propagation bidirectionnelle

- Simultanément à droite et à gauche du point d'initiation

(imaginer un œil qui s'agrandit)

REPLICATION CHEZ LES PROCAYOTES (E.coli)



REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

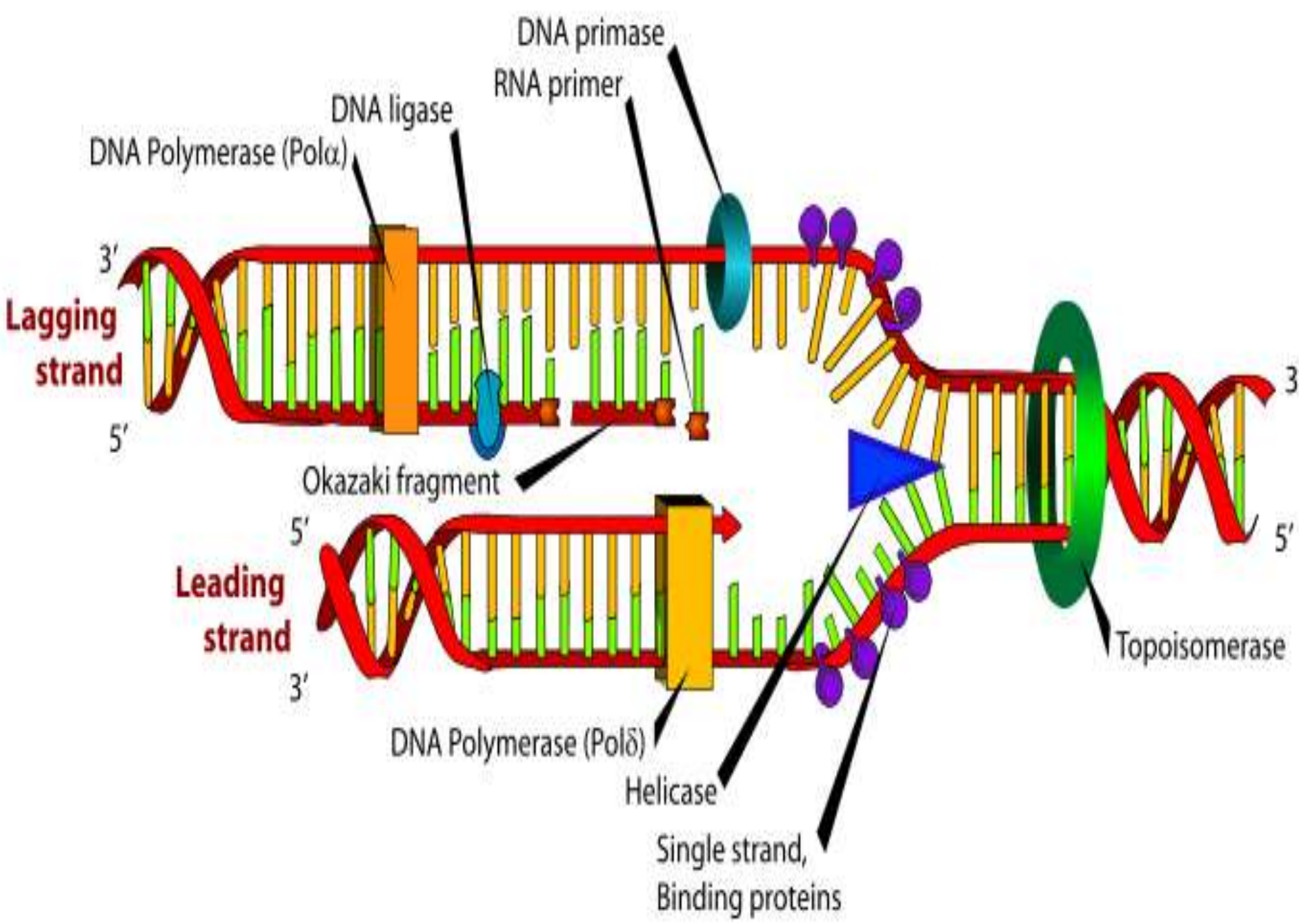
MECANISME



Nécessité d'amorces ARN (primer) grace à ARN polymérase (ARN primase)

- Initié en un seul point de réplication=point d'origine de réplication
- Séquence de plusieurs centaine de nucléotides
- Réplication continue pour un brin= brin avancé
- Réplication discontinue pour l'autre =brin retardé
- L'ADN polymerase I hydrolyse ARN par son activité exonucléasique 5' \longrightarrow 3' et polymérise

(imaginer castor qui avance avec ses pattes arrière un enchainement de N tout en grignotant l'amorce ARN du fragment situé devant lui)



REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES



- ADN polymérase fonction d'édition par leur activité exonucléasique 3' → 5' S'il existe une faute d'appariement, rajoute le bon N
- Déroulement de la double hélice par:
 - ✓ Hélicases (suprime les liaisons H avec présence d'ATP)
 - ✓ SSB Single strand DNA binding protéine déstabilisant l'hélice
 - ✓ Topoisomérases (gyrase)

REPLICATION CHEZ LES EUKARYOTES



- Mécanisme comparable à celui des procaryotes
- ✓ bidirectionnelle
- ✓ Complémentaire antiparallèle sens 5' → 3'
- ✓ Discontinue pour l'un des deux brins
- ✓ Amorces d'ARN
- ✓ Plusieurs points d'initiation
- ✓ Pls milliers de nt
- ✓ Fragments retardés plus courts (200 nt au lieu de 1000/2000 nt)
- ✓ Fin de réplication télomérases
- ✓ Formation de nucléosomes

Transcription mécanisme général



- **Synthèse de l'ARNm à partir de portions d'ADN (1 des 2 brins)**
- **Caractéristiques de la synthèse**
 - ✓ Sens 5' → 3'
 - ✓ antiparallèle et complémentaire
- **Éléments nécessaires**
 - ✓ ARN polymerase
 - ✓ Nucléotides ATP UTP GTP CTP
 - ✓ Modèle ADN

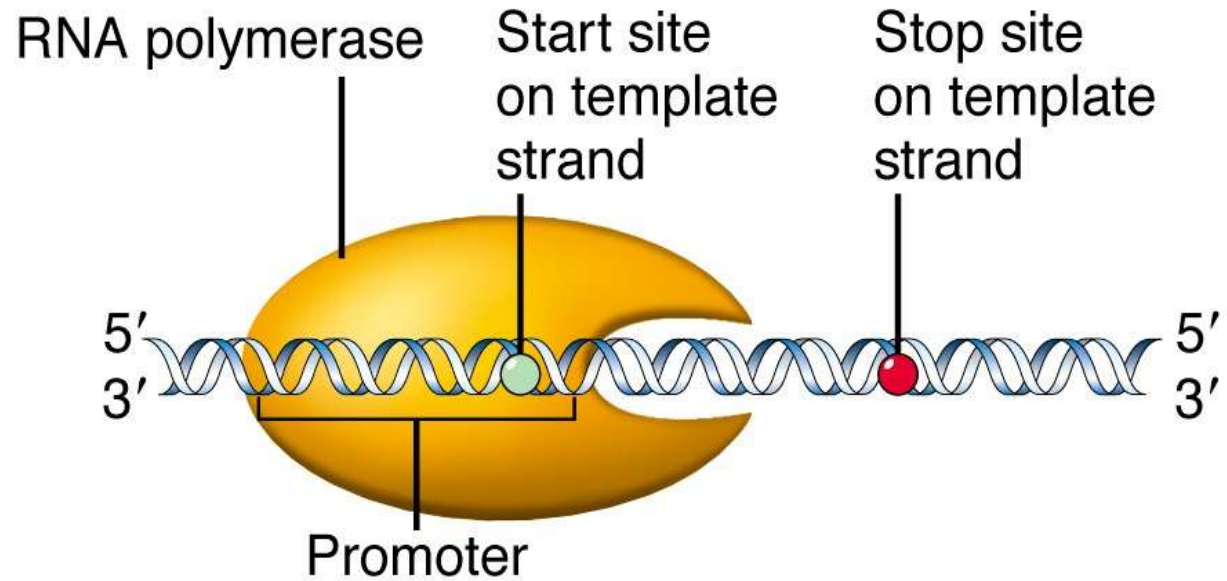
PRODUITS DE LA TRANSCRIPTION



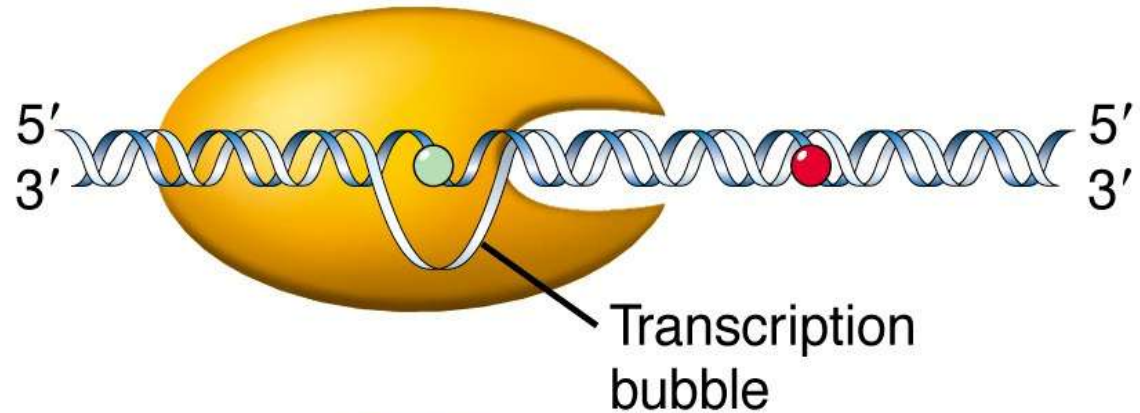
- **ARNm en majorité**
- **En minorité: ARN**, composants structuraux et enzymatiques
 - **ARNr** structure de base des ribosomes et catalyse la synthèse protéique
 - **ARNt** rôle d'adaptateur dans la S protéique entre ARNm et aa.
 - **ARNsn** (small nuclear) rôle dans l'épissage des pré ARNm
 - **ARN sno**(small nucleolar) modification chimique ARNr

INITIATION

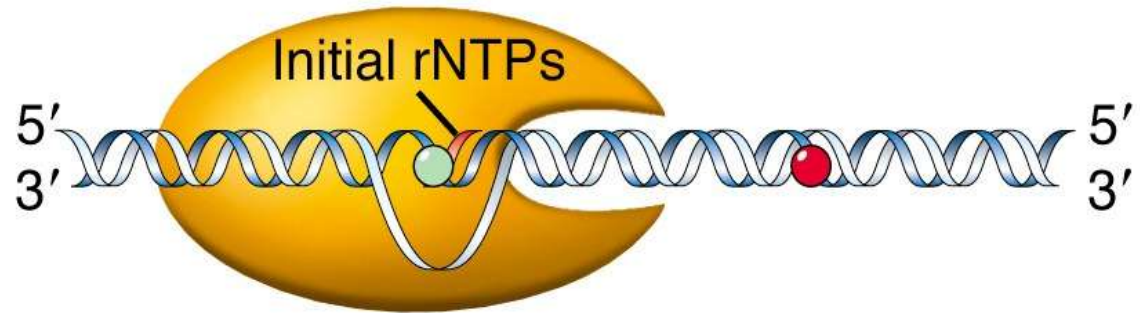
1 Polymerase binds to promoter sequence in duplex DNA. "Closed complex"



2 Polymerase melts duplex DNA near transcription start site, forming a transcription bubble. "Open complex"



3 Polymerase catalyzes phosphodiester linkage of two initial rNTPs.



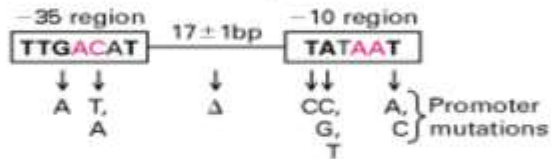
ARN polymerase (*E.coli*)



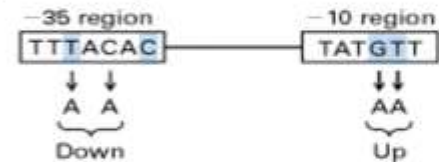
(a) Strong *E. coli* promoters

tyr tRNA	TCTCAACGTAACAC	TTTACAGCGGCG	•	CGTCATTTGAT	TATGAT	GC	•	GCCCCG	CTTCCCGATAAGGG
rrn D1	GATCAAAAAAATAC	TTGTGCAAAAAA	•	TTGGGATCCC	TATAAT	GCGCCTCC	•	GTTGAGACGACAACG	
rrn X1	ATGCATTTTTCCGC	TTGTCTTCTGA	•	GCCGACTCCC	TATAAT	GCGCCTCC	•	ATCGACACGGCGGAT	
rrn (DXE) ₂	CCTGAAATTCAGGG	TTGACTCTGAAA	•	GAGGAAAGCG	TAATAT	AC	•	GCCACCTCGCGACAGTGAGC	
rrn E1	CTGCAATTTTTCTA	TTGCGGCCTGCG	•	GAGAACTCCC	TATAAT	GCGCCTCC	•	ATCGACACGGCGGAT	
rrn A1	TTTTAAATTTCTCT	TTGTCAAGCCGG	•	AATAACTCCC	TATAAT	GCGCCACCA	•	CTGACACGGAACAA	
rrn A2	GCAAAAAATAAATGC	TTGACTCTGTAG	•	CGGGAAGGCG	TATTAT	GC	•	ACACCCTCGCGCCGCTGAGAA	
λ P _R	TAACACCGTGCGTG	TTGACTATTTTA	•	CCTCTGGCGGTG	TATAAT	GG	•	TTGCAATGTAATAAGGAGGT	
λ P _L	TATCTCTGGCGGTG	TTGACATAAATA	•	CCACTGGCGGTG	TACTGA	•	•	GCACATCAGCAGGACGCAC	
T7 A3	GTGAAACAAAACGG	TTGACAACATGA	•	AGTAAACACGG	TACGAT	GT	•	ACCACATGAAAACGACAGTGA	
T7 A1	TATCAAAAAGAGTA	TTGACTTAAAGT	•	CTAACCTATAGG	TACTTA	•	•	CAGCCATCGAGAGGGACACG	
T7 A2	ACGAAAAACAGGTA	TTGACAACATGA	•	AGTAAACATGC	TAAGAT	AC	•	AAATCGCTAGGTAACACTAG	
fd VIII	GATACAAATCTCCG	TTGTACTTTGTT	•	TCGCGCTTGG	TATAAT	CG	•	CTGGGGTCAAAGATGAGTG	
		-35			-10			+1	→

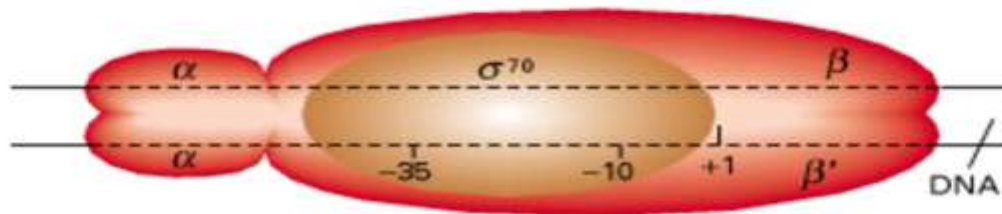
(b) Consensus sequences of σ^{70} promoters



(c) *Lac* promoter sequence



← Upstream, downstream →

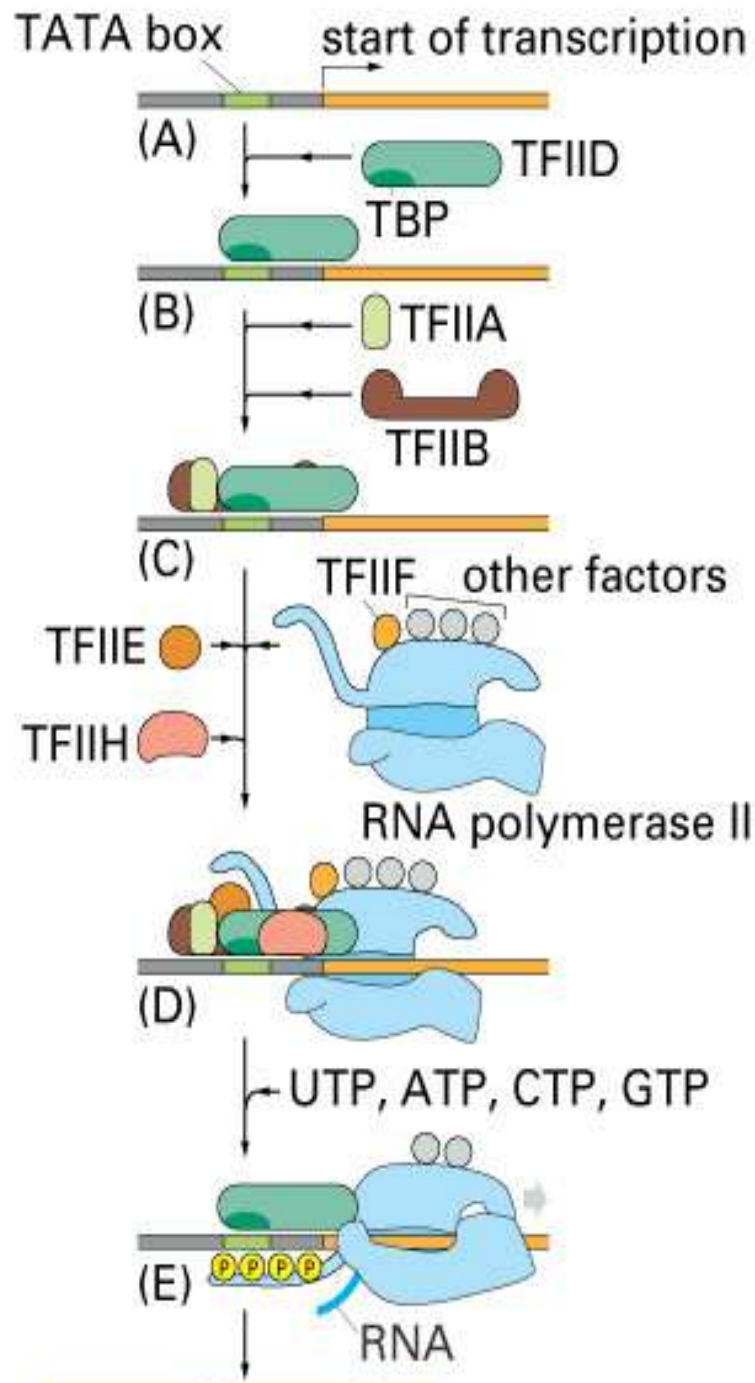


Direction of transcription →

Etapes de la transcription chez les procaryotes



- **Initiation: promoteur** séquence consensus
ARN polymerase holoenzyme composé de différentes s/u c'est le facteur sigma σ responsable de la reconnaissance ensuite par $\alpha 2\beta\beta'$ fonction polymerase et dissociation s/u σ
- **Élongation: transcription** du brin anti sens
formation de liaisons ester accrochage de nucléosides TP
- **Terminaison: palindrome imparfait**, suivi d'une région riche en AT forme d'une boucle en épingle à cheveu



initiation de la transcription chez les eucaryotes



- ARN POL II et cofacteurs protéiques
- TFII = Transcription Factor for RNAPolymerase II (Facteurs généraux de la transcription pour l'ARN polymérase II)
- TBP = TATA box-Binding Protein (Protéine de liaison à la boîte TATA)
- la "boîte TATA" riche en T et A, vers -25 à -30 nt du site de démarrage de la transcription (+1)

Elongation et terminaison: ARN pré messager



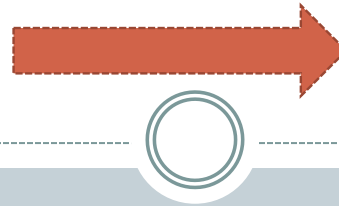
- **Élongation**

L'ARN polymérase lit le brin patron (ou brin antisens) complémentaire du brin codant (ou brin sens). Le brin d'ARN néosynthétisé est donc identique au brin codant d'ADN, aux uraciles et riboses près.

- **La terminaison**

L'ARN pol II est également équipée de facteurs protéiques de terminaison, et reconnaît ainsi un ou plusieurs signaux de terminaison portés par le brin progressivement parcouru et qui annoncent la fin de la transcription sur le brin d'ADN matrice (**TTATTT** par exemple, parfois aussi plus en aval **ATACAAC...**). Elle arrête bientôt son travail de transcription et libère l'ARNprémessager

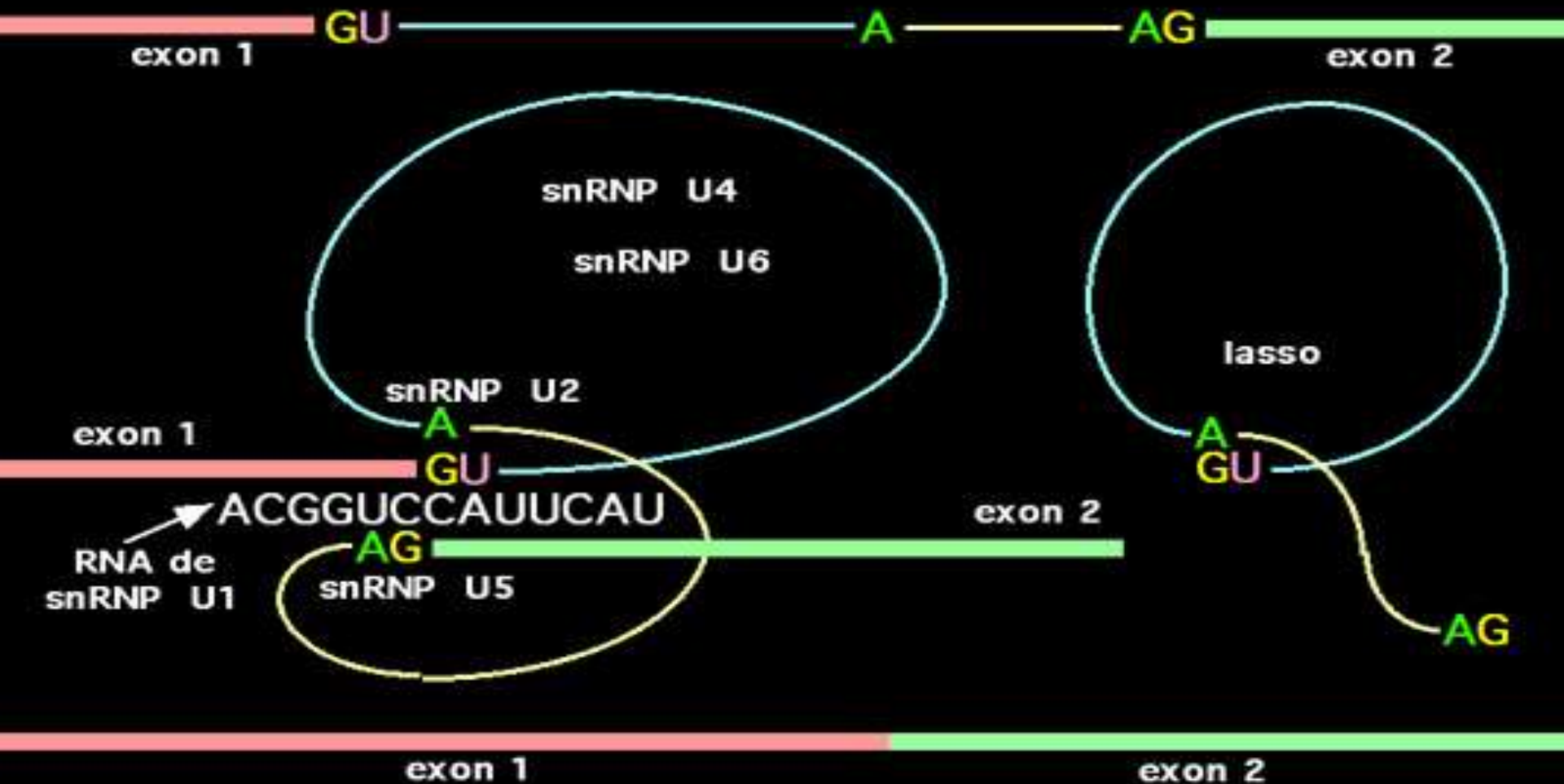
ARN pré messager



ARN messenger

- **Addition d'une coiffe en 5'**:
 - l'ajout d'un nucléotide à G sur l'extrémité 5' de l'ARN suivi de sa méthylation sur l'azote 7 de la base, ainsi que de la méthylation en 2' du ribose des un ou deux premiers nucléotides du transcrit primaire
 - **coiffe protectrice** à l'extrémité 5' de l'ARNm., nécessaire à **l'exportation de l'ARNm vers le cytoplasme** et à la liaison de ce dernier avec la petite sous-unité du ribosome lors de l'étape d'initiation de la traduction (**coiffe cap**).

Excision épissage



ARN pré messager



ARN messager



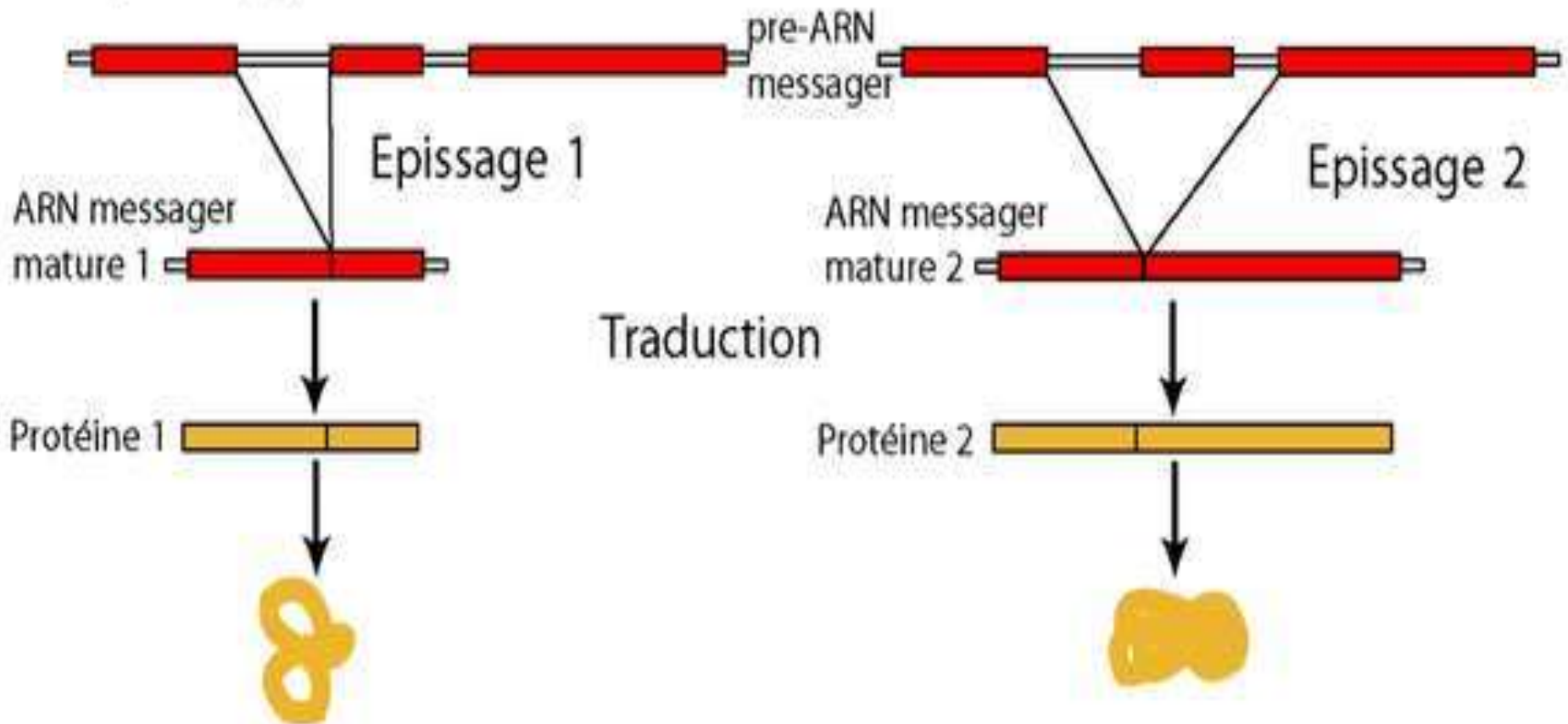
- **L'excision-épissage**

- introns parties non codantes, bornées par des séquences de bases spécifiques : **5'GU et 3'AG** ils sont d'abord intégralement copiés dans l'ARNpm.
- opération d'excision des introns (ou partie d'exons) suivi d'un épissage (splicing), i.e. réunion bout à bout des exons restants qui constituent l'ARNm.
- Épissage alternatif

Epissage alternatif



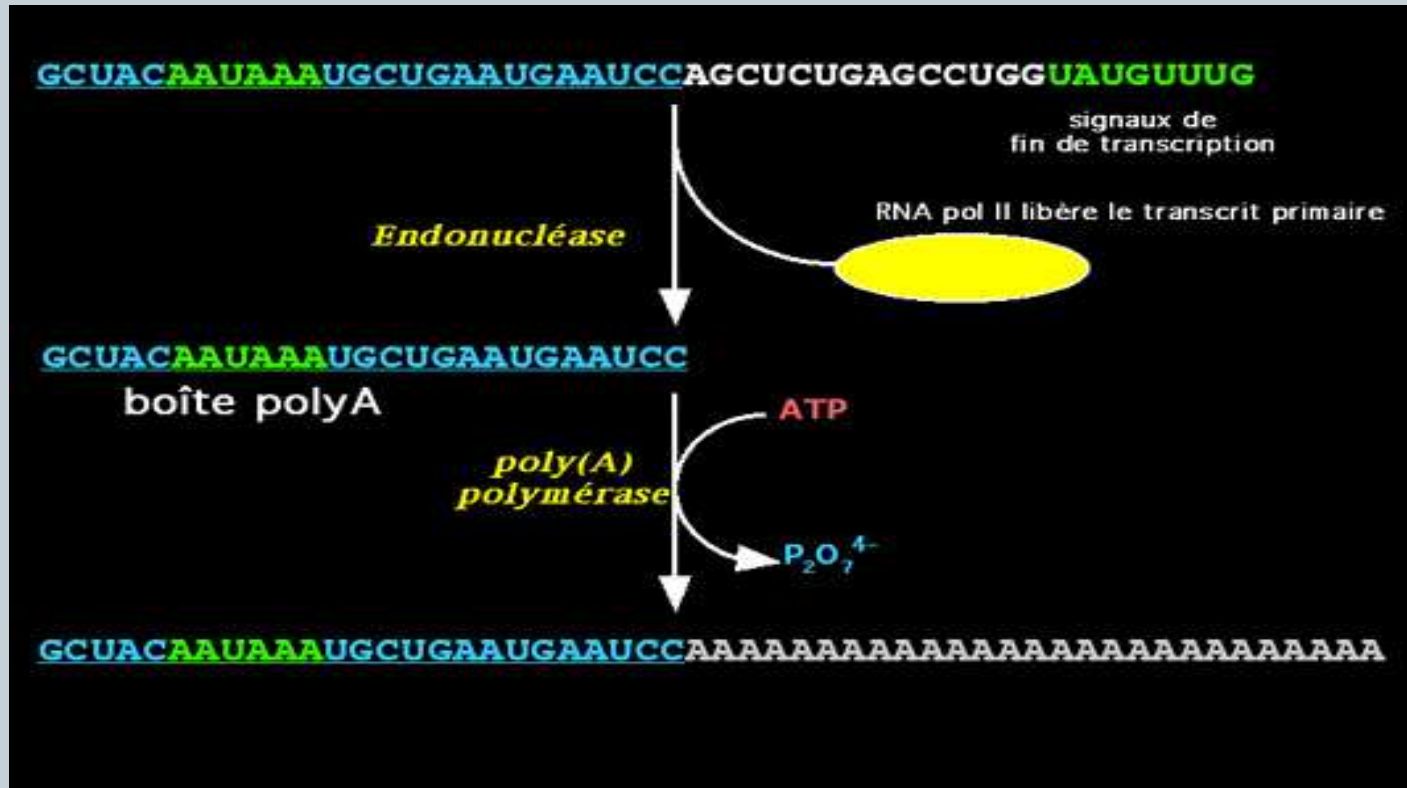
L'épissage alternatif



ARN pré messager  ARN messager



- **Addition d'une queue poly A en 3'**



ARNm



TRADUCTION

TRANSCRIPTION

1 RNA is transcribed from a DNA template.

RNA PROCESSING

2 In eukaryotes, the RNA transcript (pre-mRNA) is spliced and modified to produce mRNA, which moves from the nucleus to the cytoplasm.

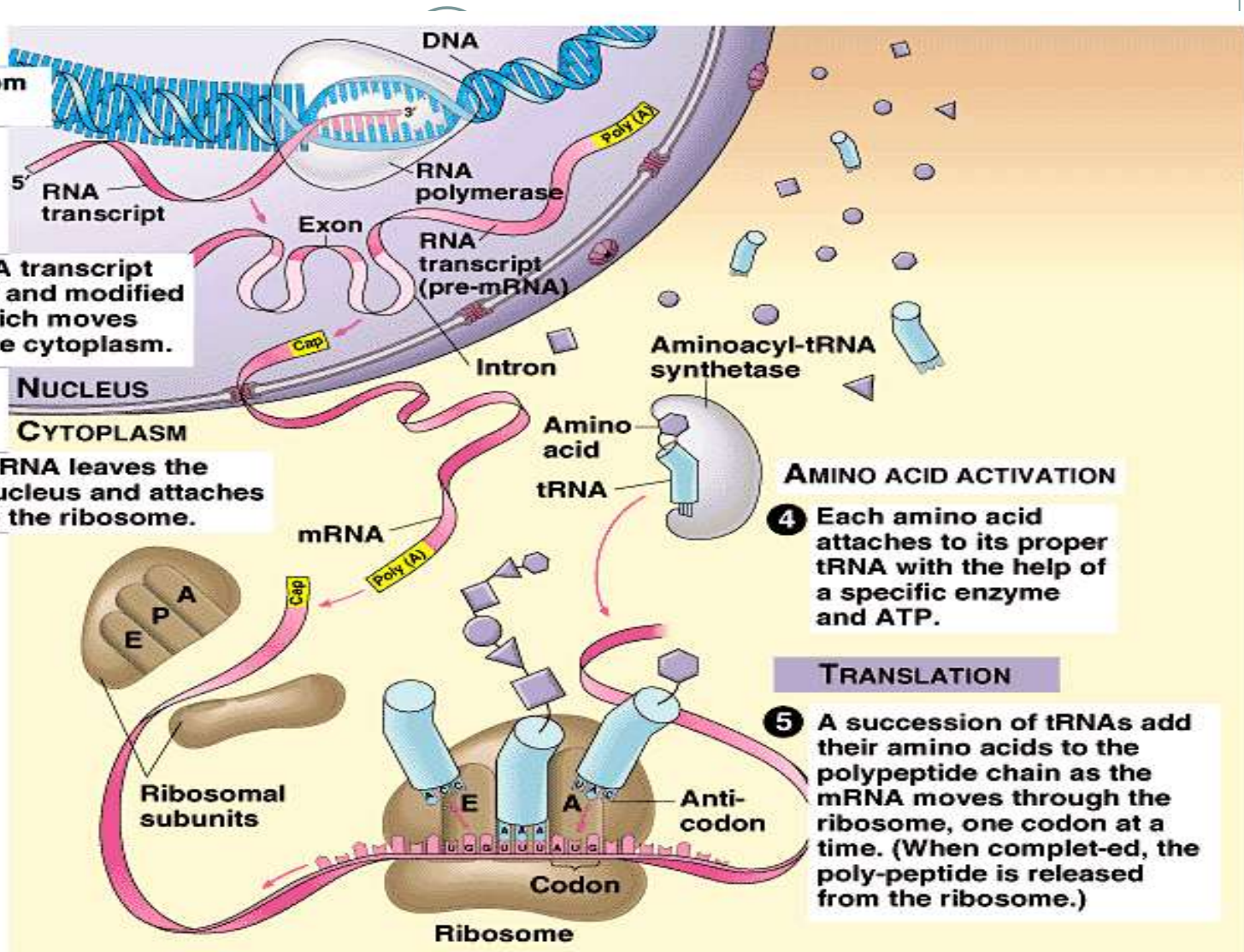
3 mRNA leaves the nucleus and attaches to the ribosome.

AMINO ACID ACTIVATION

4 Each amino acid attaches to its proper tRNA with the help of a specific enzyme and ATP.

TRANSLATION

5 A succession of tRNAs add their amino acids to the polypeptide chain as the mRNA moves through the ribosome, one codon at a time. (When completed, the poly-peptide is released from the ribosome.)



III Génétique moléculaire



5. TRADUCTION DE L'INFORMATION GENETIQUE ARN EN POLYPEPTIDES

TRADUCTION chez les eucaryotes



- Elle a lieu dans le **cytoplasme** au niveau des ribosomes et nécessite présence **d'ARNt** chargés avec les **aa** correspondants et de l'énergie sous forme de **GTP**.
- Les ARNt sont synthétisés dans le noyau.
- La synthèse s'effectue de l'extrémité N-terminale de la protéine vers l'extrémité C-terminale.
- modifications co-traductionnelles ou post-traductionnelles comme la glycosylation (liaison covalente d'oses aux protéines) qui a lieu dans le réticulum endoplasmique puis est finie dans l'appareil de Golgi.
- Chez les procaryotes, la transcription et la traduction ont lieu dans le cytoplasme et peuvent être simultanées.

ADN



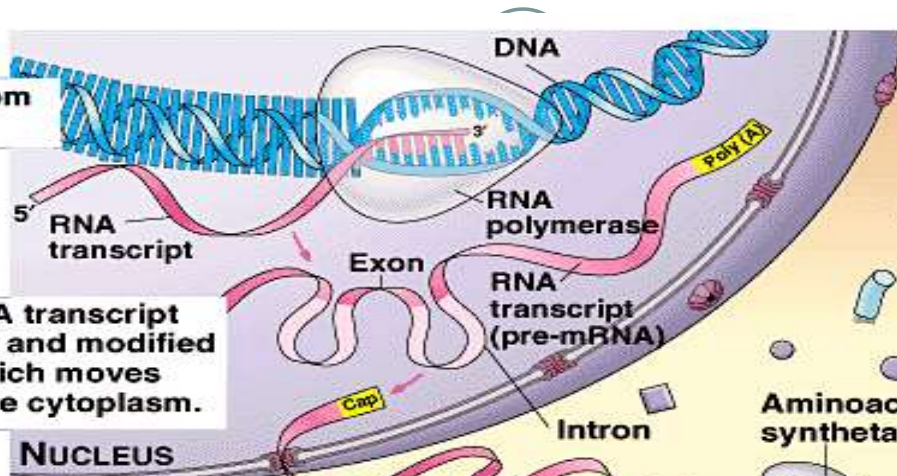
ARNm



PROTEINES

TRANSCRIPTION

1 RNA is transcribed from a DNA template.



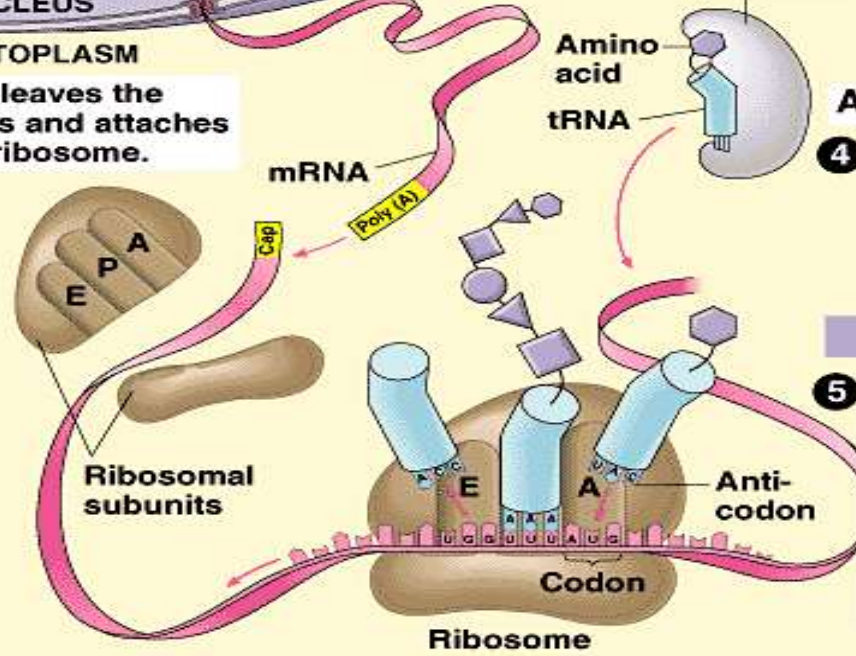
RNA PROCESSING

2 In eukaryotes, the RNA transcript (pre-mRNA) is spliced and modified to produce mRNA, which moves from the nucleus to the cytoplasm.

NUCLEUS

CYTOPLASM

3 mRNA leaves the nucleus and attaches to the ribosome.



AMINO ACID ACTIVATION

4 Each amino acid attaches to its proper tRNA with the help of a specific enzyme and ATP.

TRANSLATION

5 A succession of tRNAs add their amino acids to the polypeptide chain as the mRNA moves through the ribosome, one codon at a time. (When completed, the poly-peptide is released from the ribosome.)

TRADUCTION



- **INITIATION** La séquence codante d'un gène débute toujours par un triplet **AUG/méthionine**
- **ELONGATION** un complexe, le **ribosome**, va se déplacer de triplet en triplet, permettant à chaque fois à ARNt, de venir s'apparier, par complémentarité, sur le codon du messenger, en apportant un aa spécifique de ce codon .
- **TERMINAISON** un triplet **UAA, ou UAG, ou UGA** (triplets STOP).

1er nucléotide	2ème nucléotide				3ème nucléotide
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

CODE GENETIQUE



- Le code génétique est **universel**. Il existe quelques variations (codons propres à la biosynthèse des protéines dans les mitochondries).
- Le code génétique comporte **61 codons** pour signifier **les 20 acides aminés** qui participent à la synthèse des protéines : **chaque acide aminé peut être codé par plusieurs codons (de un à six) qui diffèrent en général par leur troisième nucléotide.**
- **On dit que le code est dégénéré.**

signification



- Le code génétique est le fruit d'une longue évolution et sa disposition n'est pas due au hasard. Les correspondances entre les codons et les acides aminés ont été sélectionnées pour que les changements de bases aient le **moins d'effet possible sur la protéine exprimée.**
- Ainsi, tous les codons dont la deuxième lettre est un U correspondent à des **acides aminés hydrophobes, donc ayant des propriétés physiques proches.**
- De même, les acides aminés acides correspondent aux codons commençant par GA, de telle sorte que le changement de la troisième base ne fera pas disparaître la **charge anionique** du radical.

III Génétique moléculaire



6. RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES

Régulation de la transcription

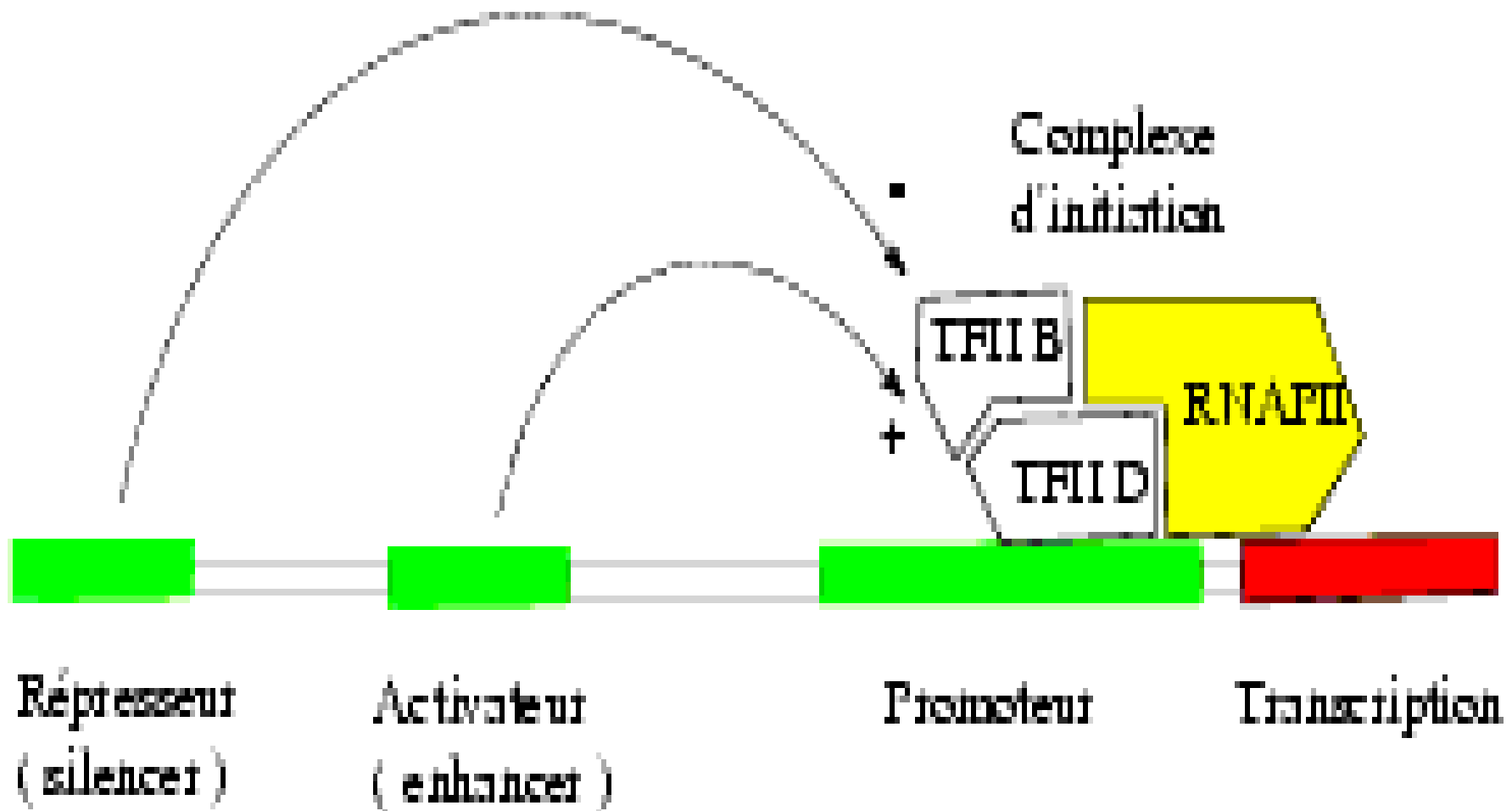


- des éléments régulateurs situés soit en amont (du côté de l'initiation), soit parfois en aval (du côté de la terminaison) de la transcription.
- L'élément régulateur, partie intégrante du gène, promoteur, situé à proximité du site d'initiation de la transcription par la région codante
- A distance du site d'initiation de la transcription , on trouve des régulateurs autonomes : ce sont les **activateurs** (enhancers) qui potentialisent l'action du promoteur ou **des repressseurs** (silencers) qui la répriment.

Régulation de la transcription



- L'activité des promoteurs et des activateurs est régulée par des protéines appelées **TF** (transcription factor) . Ces protéines ont des structures particulières :



RNAPII=RNA polymérase I
 IF = transcription factor
 (facteur de transcription)

Régulation post-transcriptionnelle



- L'une des principales modifications du RNA transcrit est l'épissage (splicing) qui consiste en l'élimination de segments de RNA appelés introns et à la conservation de séquences appelées exons.
- **Régulation qualitative:** par épissage alternatif
- **Régulation quantitative:** mRNA est stable, dans le cytoplasme, il peut servir plusieurs fois de matrice à la traduction et être à l'origine de la synthèse de plusieurs molécules de la protéine correspondante. Les mécanismes intervenant dans la stabilisation du RNA sont mal connus.

III Génétique moléculaire



7. VARIATIONS GENETIQUE MUTATION ET POLYMORPHISME

Mutations



- Ce sont les anomalies de l'ADN que l'on cherche à mettre en évidence dans le cas d'un test génétique.
- Les mutations peuvent être
 - neutres
 - nocives
 - bénéfiques



- Cette notion de mutation « + » ou « - » peut varier en fonction de l'environnement ou d'autres paramètres.
- l'ADN support de l'information génétique ; ce qui détermine l'effet néfaste ou non d'une mutation dans un gène, c'est son **impact sur la protéine codée par ce gène, et ceci, dans un contexte environnemental donné.**

MUTATION INDUITE/SPONTANNEE



- **Mutations induites** : agents de l'environnement qui augmentent le taux de mutations.
- **Mutations spontanées** : variation génétique naturelle que l'on observe dans les populations. Deux des lésions spontanées les plus courantes sont la **désamination** et la **dépuration**, cette dernière est la plus fréquente.

Mutations spontanées



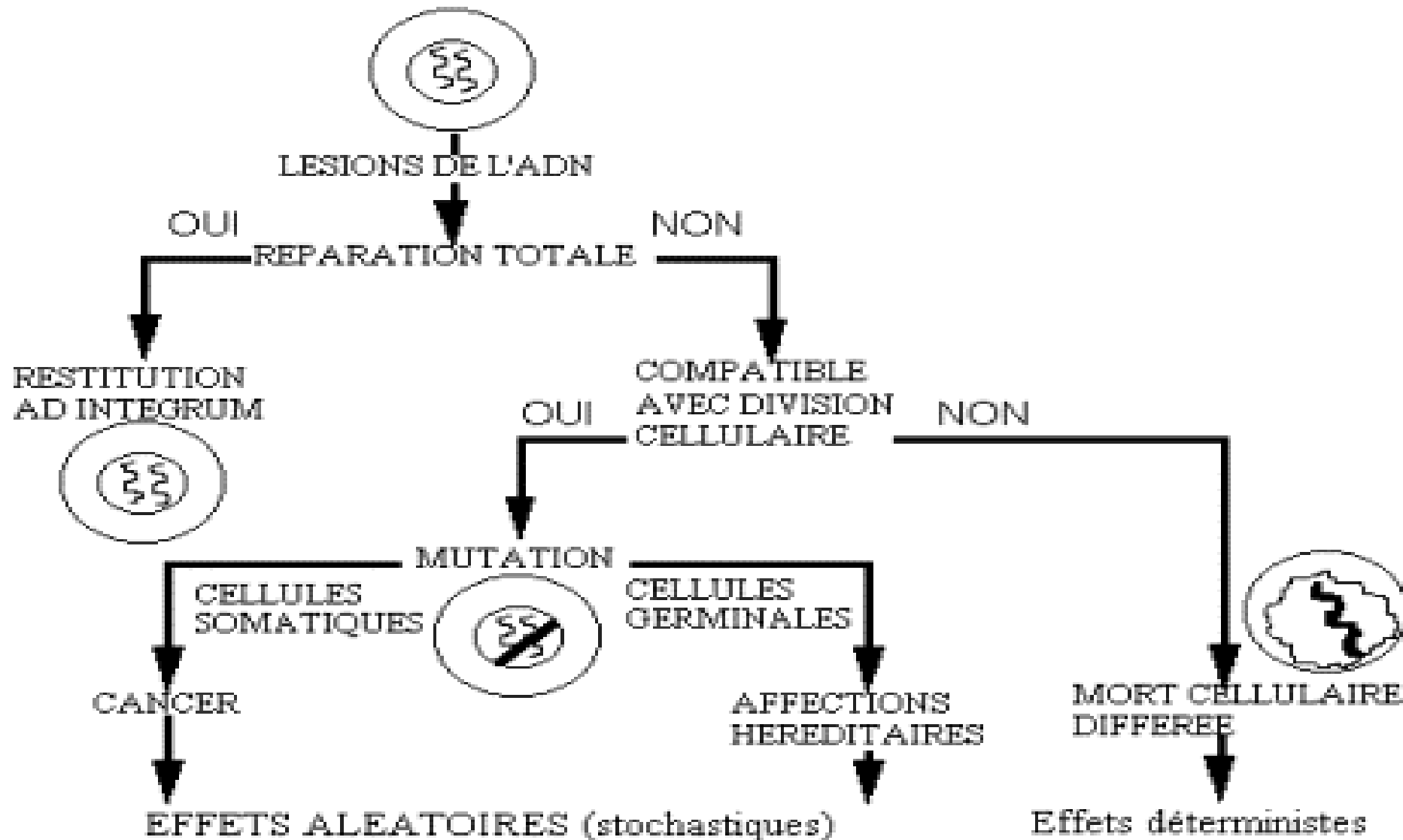
- **dépurination** : c'est la perte des bases purine de l'ADN.
- **désamination** : La désamination de la cytosine produit l'uracile. Les résidus uraciles non réparés s'apparieront avec l'adénine pendant la réplication.

EVENEMENTS GENETIQUES



- modifications sont de trois sortes :
 - **Substitution:** remplacement d'un nucléotide par un autre
 - **Délétion:** suppression d'un ou de plusieurs nucléotides
 - **Insertion:** addition d'un ou de plusieurs nucléotides
- **Transitions:** substitutions de purine à purine ou de pyrimidine à pyrimidine sont les plus fréquentes :
 - $A \rightarrow G, C \rightarrow T, G \rightarrow A$ et $T \rightarrow C$
- **Transversions:**
 - $A \rightarrow C, A \rightarrow T, G \rightarrow C, G \rightarrow T,$
 - $C \rightarrow A, C \rightarrow G, T \rightarrow A$ et $T \rightarrow G$

Effet d'une mutation?



Conséquences?



- L'effet d'une mutation est **différent**
- **cellule somatique mutée**: clone de cellules mutées qui présente des caractères différents de ceux du tissu d'origine. De tels clones constituent souvent des tumeurs cancéreuses.
- **cellule germinale est modifié**: mutation transmise par les gamètes et apparaîtra dans la descendance : la mutation est alors héréditaire.



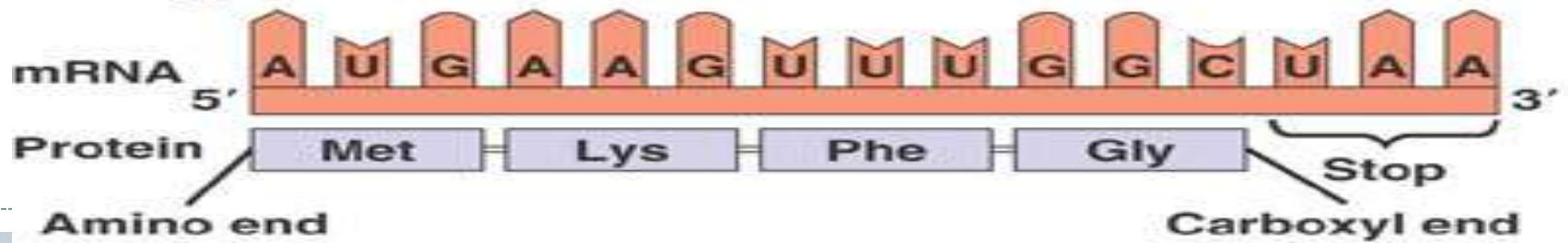
- Une substitution peut aboutir à des résultats très différents après la traduction.
- Cela dépend de sa position par rapport au cadre de lecture.
- **Les transversions font plus de mutations que les transitions.**

Substitution et conséquences



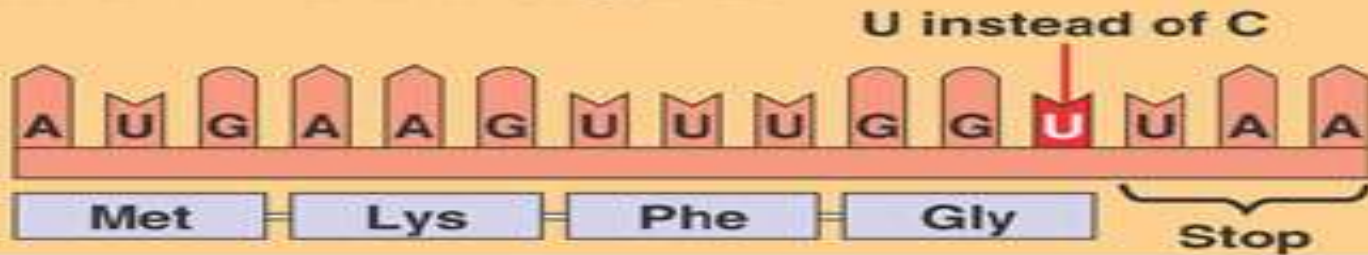
- **Une substitution synonyme:** dans un codon peut se traduire par le même acide aminé . **pas de modification de l'aa traduit.**
- **Une substitution faux-sens: acide aminé différent.** Elle sera d'autant plus délétère pour les fonctions de la protéine que le nouvel acide aminé sera différent de celui qui aurait du être traduit.
- **Une substitution non-sens: codon de terminaison.** La protéine traduite sera tronquée à cet endroit.

Wild type

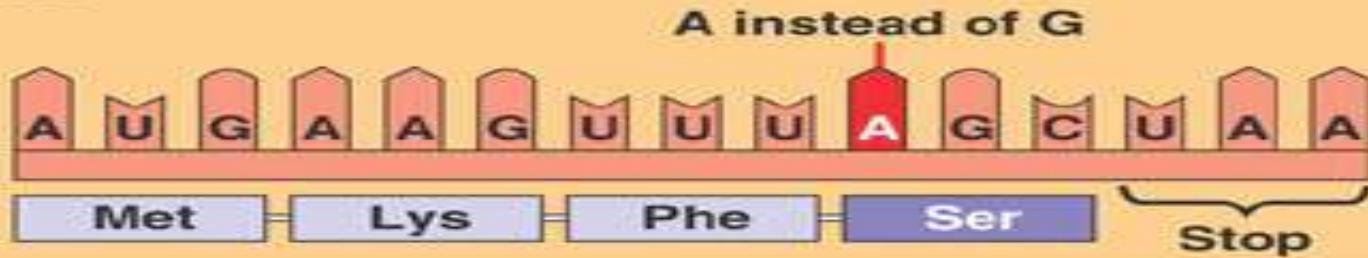


Base-pair substitution

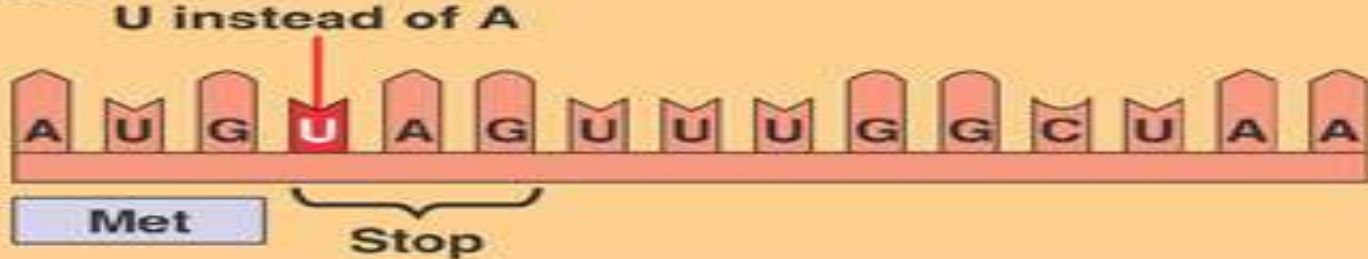
No effect on amino acid sequence



Missense



Nonsense



EX MUTATION NON SENS?

Portion du gène de la β -globine :
... C **CAG** ...
□ □□
... G **GTC** ...

→

... C **TAG** ...
□ □□
... G **ATC** ...

Séquence de la protéine β -globine correspondante :
... **glutamine** ...

→

... **stop** ...

Ex de mutation non sens



- l'effet d'une mutation ponctuelle non-sens dans le gène de la b-globine. Le remplacement d'une seule base, C par un T au niveau du codon 39 du gène de la bêta-globine provoque **l'incorporation d'un signal stop à la place de la glutamine**, et donc l'arrêt de synthèse de la protéine.
- b-thalassémie (AR), caractérisée par un défaut de fabrication de l'hémoglobine .

mutations



- dans l'ADN les substitutions de base nucléiques conduisent :
 - soit à l'incorporation d'un acide aminé différent dans la protéine (substitution non-synonyme),
 - soit à l'incorporation du même acide aminé dans la protéine (substitution synonyme). Les substitutions synonymes résultent de la dégénérescence du code génétique.

Substitution non synonyme



- dans le DNA d'un sujet (génotype) si une substitution **non-synonyme** se produit
 - aboutit à l'incorporation d'un **acide aminé fonctionnellement différent** dans la structure primaire d'une protéine,
 - il en résulte l'apparition d'un caractère différent (**mutation**) dans le phénotype de l'individu.

DELETION

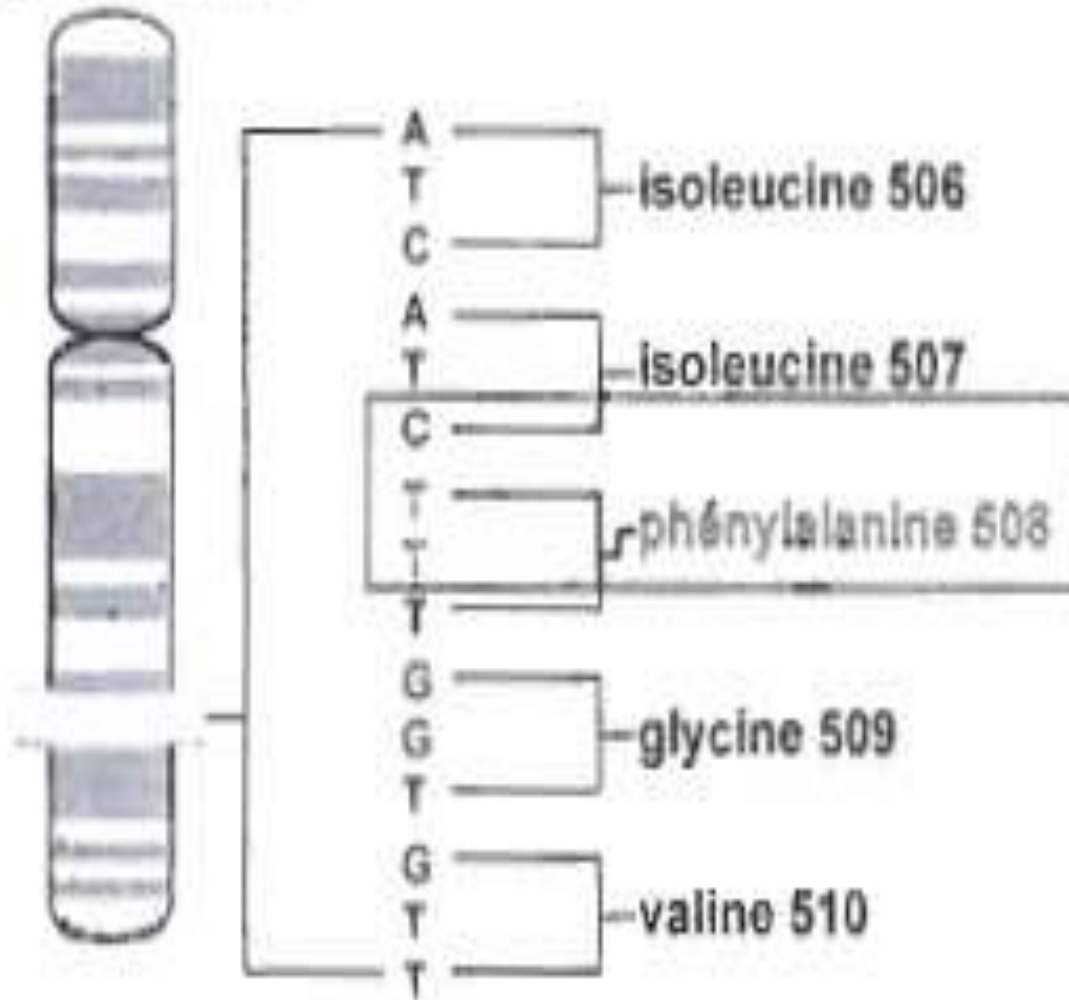


- Les délétions sont d'importance variable **selon leur longueur** :
 - de **1 ou 2 nucléotides**, elles **décalent** le cadre de lecture (codons)
 - de **3 nucléotides**, elles aboutissent à la **suppression** d'un **acide aminé** dans la protéine exprimée
 - de grande longueur, elles peuvent **supprimer** l'**expression d'un ou de plusieurs exons**, voire **d'un gène entier**.

EXEMPLE DELETION ET CONSEQUENCE



Chromosome 7



Le gène de la mucoviscidose chromosome 7 synthèse d'une protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator)

délétion de 3 nucléotides absence de la phénylalanine

Délétion de 3 nucléotides? ex. mucoviscidose (AR)



- Altération de la protéine CFTR canal ionique, dont la fonction est de réguler le transport du chlore.
- Son dysfonctionnement induit
 - une augmentation de la viscosité du mucus
 - accumulation dans les voies respiratoires et digestives.

INSERTION



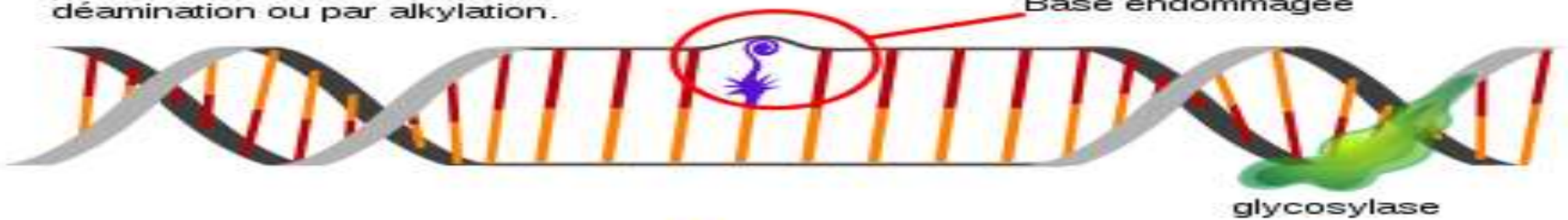
- Les insertions sont d'importance variable selon leur longueur :
 - **de 1 ou 2 nucléotides**, elles décalent le cadre de lecture
 - **de 3 nucléotides**: addition d'un acide aminé
 - **de grande longueur**: peuvent modifier complètement la traduction des exons
 - dans les introns ou dans les exons non-traduits: sans effet apparent sur l'expression du gène.

Notion de réparation de l'ADN

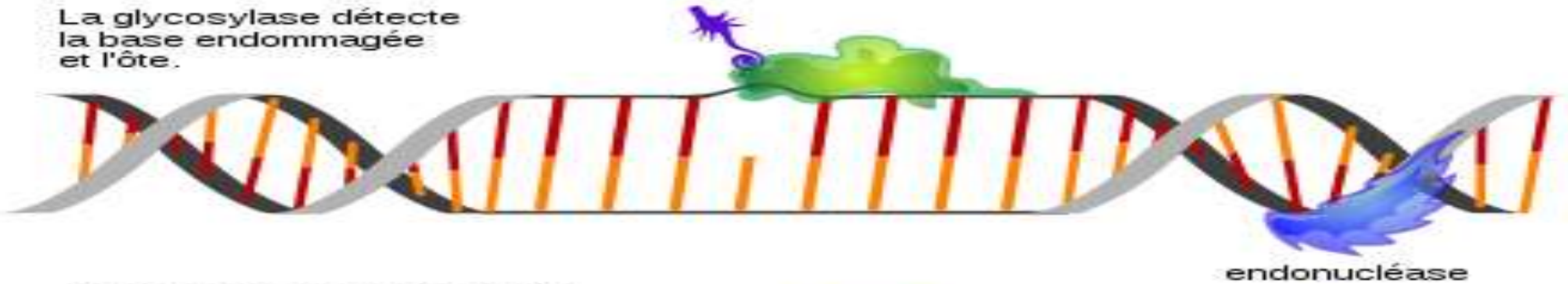


- **La prévention des erreurs** : certains systèmes enzymatiques neutralisent les composés susceptibles d'endommager l'ADN. Ex **superoxyde dismutase** agit contre les radicaux superoxydes
- **Le retour à l'état antérieur** : régénérer la base normale par inversion de la lésion.
- **Le système de réparation par excision**

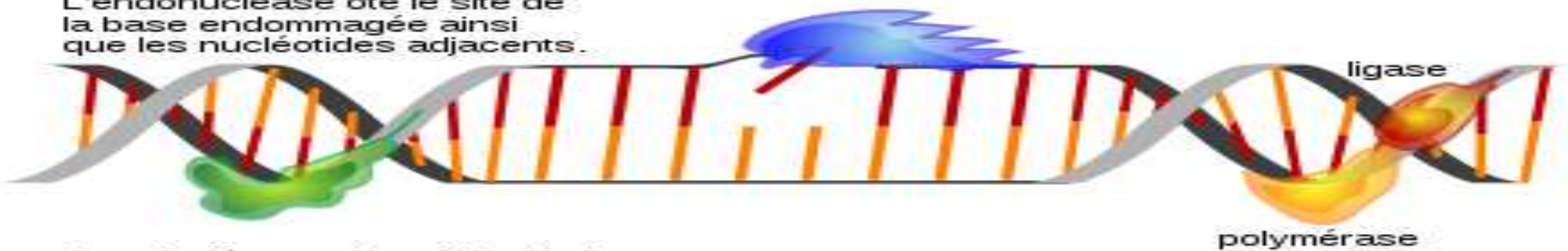
Les bases constituant l'ADN peuvent être modifiées par déamination ou par alkylation.



La glycosylase détecte la base endommagée et l'ôte.



L'endonucléase ôte le site de la base endommagée ainsi que les nucléotides adjacents.



La polymérase polymérise les bases manquantes complémentaires de celles du brin opposé (en jaune). La ligase finit la réparation liant ces nouvelles bases à celle qui les suit.



NOTION DE POLYMORPHISME



- Les mutations génétiques peuvent avoir des conséquences et conduire éventuellement à une maladie, mais dans la plupart des cas, elles ne sont pas pathogènes, voire même n'ont pas de conséquence détectable.
- On parlera alors de polymorphisme correspond donc à **des variations *naturelles*** d'une séquence d'ADN au sein d'une population. Ces variations de séquences sont dues à des mutations successives au cours de l'évolution et **qui rendent compte d'une certaine diversité entre les individus.**

NOTION DE POLYMORPHISME



- Le polymorphisme peut intervenir
 - soit au niveau des séquences codantes des gènes mais sans perturber leur expression correcte
 - soit dans les autres régions de l'ADN.
- Ce sont ces polymorphismes génétiques qui sont détectés lors des tests de paternité ou lorsque la police scientifique réalise des empreintes génétiques sur un suspect.