



Introduction à la biologie moléculaire et au génie génétique: Chapitre 2

LES MOLÉCULES SUPPORT DE L'HÉRÉDITÉ »
Biochimie des acides nucléiques

S6: biologie moléculaire

Les Acides Nucléiques

Les Nucléotides

C'est l'unité de structure des acides nucléiques.

Un nucléotide est composé de 3 parties :

- Une **BASE AZOTÉE**

- variable en fonction du nucléotide
- de nature purine ou pyrimidine

- Un **SUCRE** à 5 atomes de carbone (pentose)

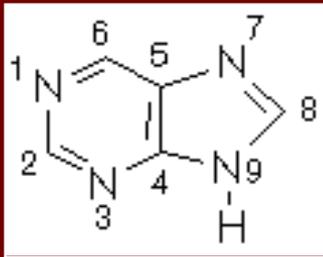
- Le désoxyribose pour l'ADN
- Le ribose pour l'ARN

- Un **GROUPEMENT PHOSPHATE** (ou acide phosphorique)

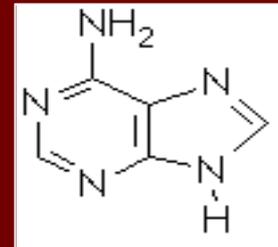
identique pour les nucléotides de l'ADN et de l'ARN.

Les Acides Nucléiques

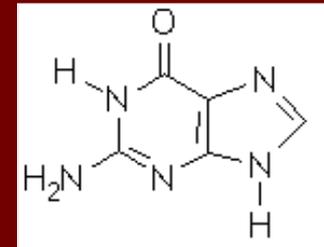
1) Les bases azotées



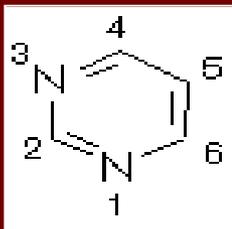
→ bases puriques :



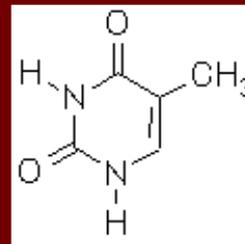
ADENINE
(ADN/ARN)



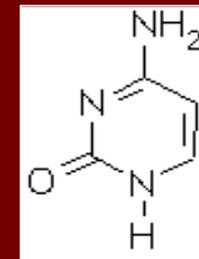
GUANINE
(ADN/ARN)



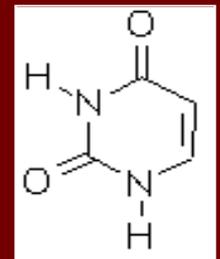
→ bases pyrimidiques :



THYMINE
(ADN)



CYTOSINE
(ADN/ARN)



URACILE
(ARN)

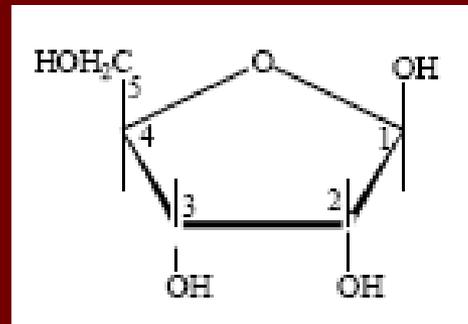
Noyau pyrimidine

Noyau purine

Les Acides Nucléiques

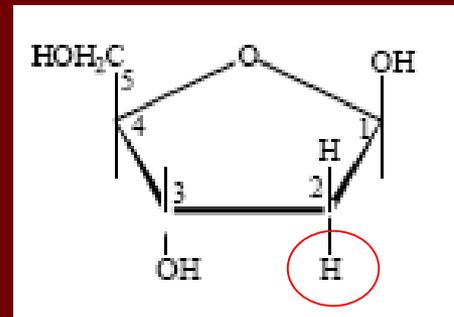
2) Le sucre

Le ribose pour l'ARN



β ribofuranose

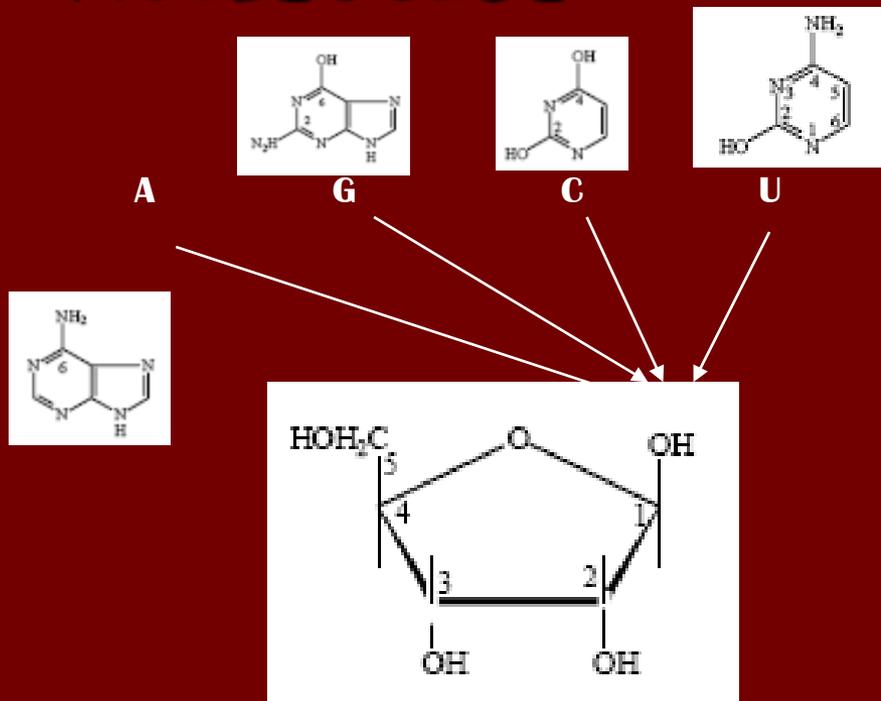
Le désoxyribose pour l'ADN



β 2-désoxyribofuranose

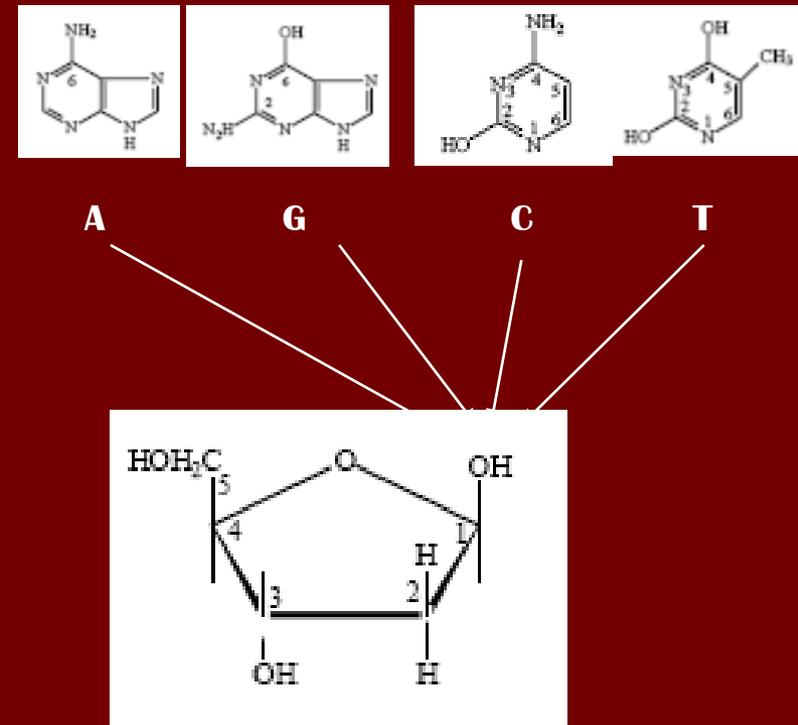
Les Acides Nucléiques

■ Base + sucre =
NUCLEOSIDE



ribose

ARN



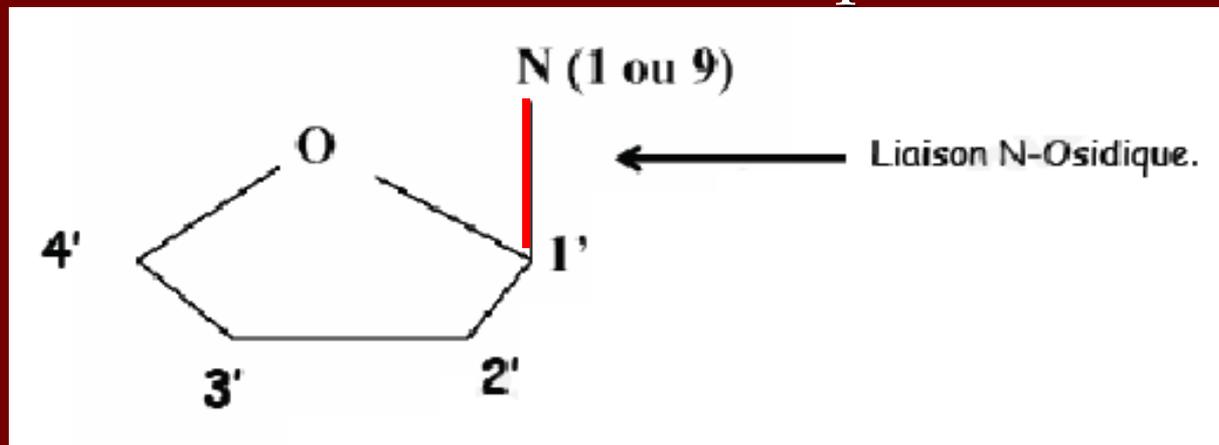
désoxyribose

ADN

Les Acides Nucléiques

- Base + sucre = NUCLEOSIDE

La liaison N-Osifique



L'atome d'azote n°1 des pyrimidines ou l'atome n°9 des purines établit une liaison N- Osifique avec le carbone n°1' du sucre.

Les Acides Nucléiques

(désoxy)nucléoside		(désoxy)ribose	+ Base	
(désoxy)nucléoside monophosphate	(d)NMP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 1 P
(désoxy)nucléoside diphosphate	(d)NDP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 2P
(désoxy)nucléoside triphosphate	(d)NTP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 3P

Base	Nom du nucléoside
Adénine (A)	Adénosine
Cytosine (C)	Cytidine
Guanine (G)	Guanosine
Thymine (T)	Thymidine
Uracile (U)	Uridine

Les Acides Nucléiques

Remarques

- La nature du nucléotide est déterminée par la base azotée qu'il contient.
- Dans la séquence d'un brin d'ADN ou d'ARN, on nomme donc les cinq nucléotides selon leur base azotée : A, G, C, T et U.

ADN	A en face de	T
	C en face de	G

ARN	A en face de	U
	C en face de	G

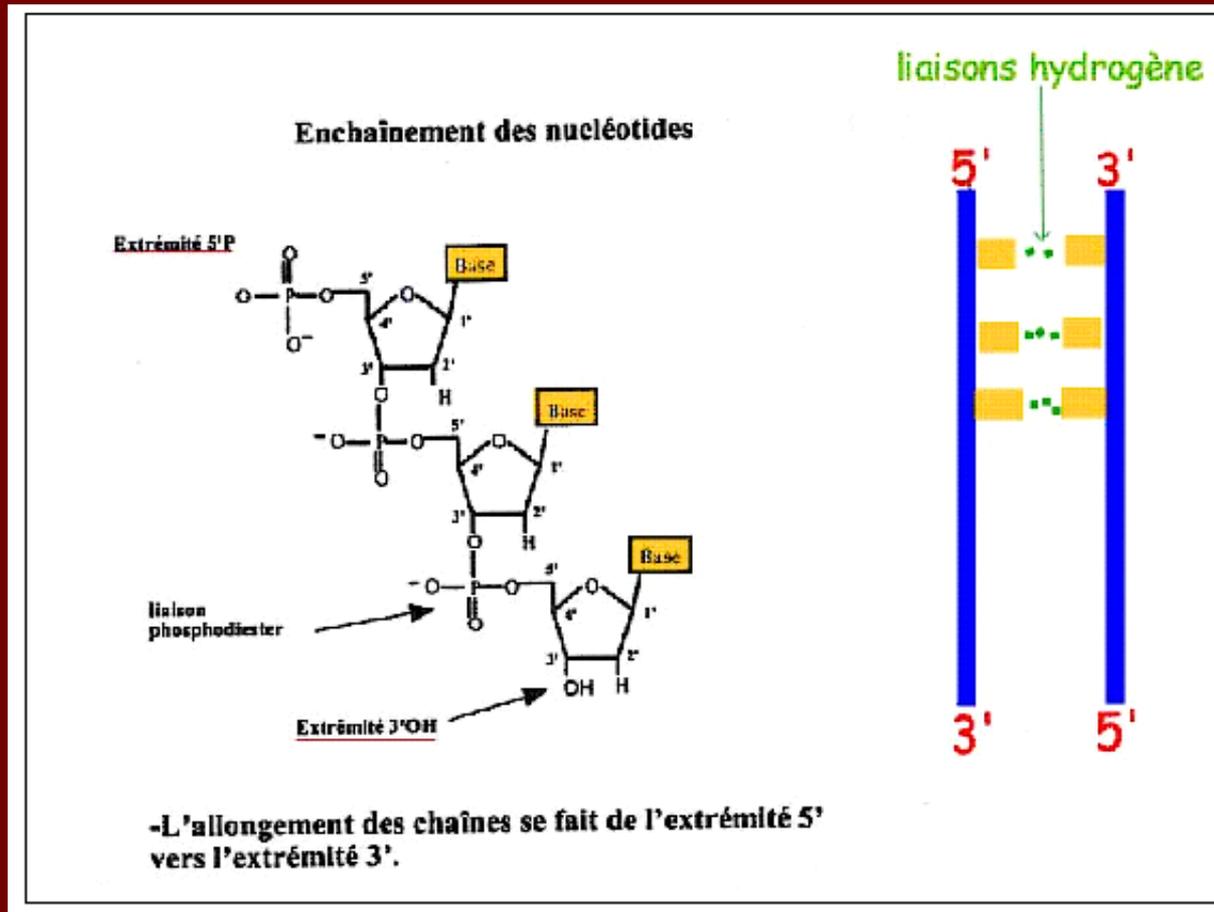
Complémentarité des bases lors de la formation de doubles brins :

Les Acides Nucléiques

- Molécule support de l'information génétique héréditaire : Les gènes sont des segments d'ADN.
- C'est un des constituants des chromosomes.
- L'ADN forme des pelotes microscopiques :
 - Situées dans le noyau chez les eucaryotes+++,
 - Situées directement dans le cytoplasme de la cellule chez les procaryotes.
- les molécules d'ADN déroulées s'étirent en un très long fil : enchaînement (séquence) précis d'unités élémentaires que sont les désoxyribonucléotides.
- Structure l'ADN : formée de deux brins complémentaires enroulés en hélice (double hélice).

Les Acides Nucléiques

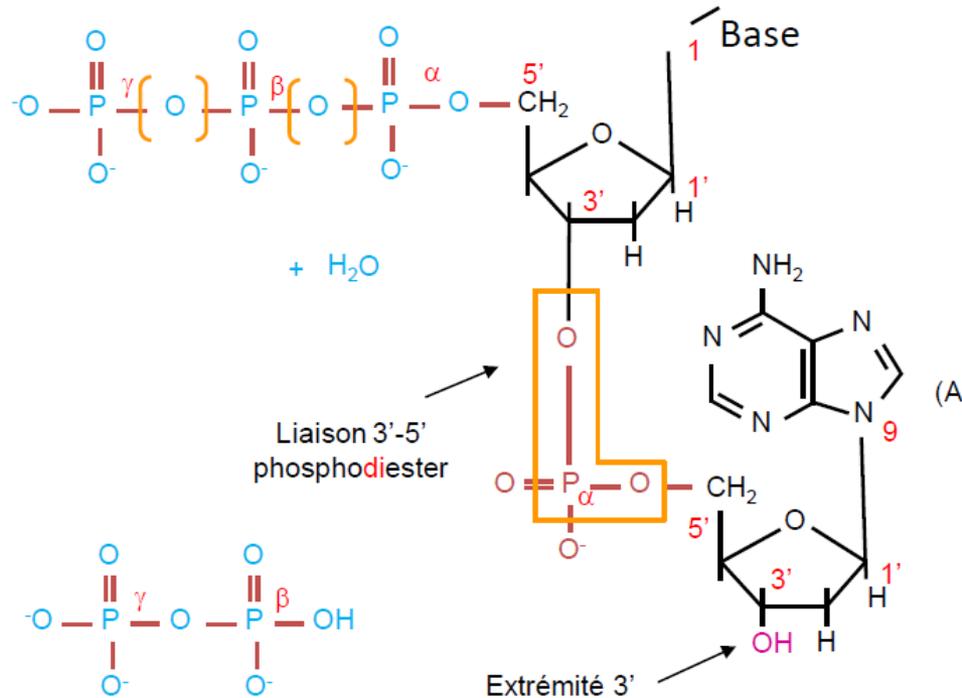
1) Structure de l'ADN



Les Acides Nucléiques

1) Structure de l'ADN

LIAISON 3'-5' PHOSPHODIESTER



ADN Polymérase:
Voir Réplication et module
Technique...

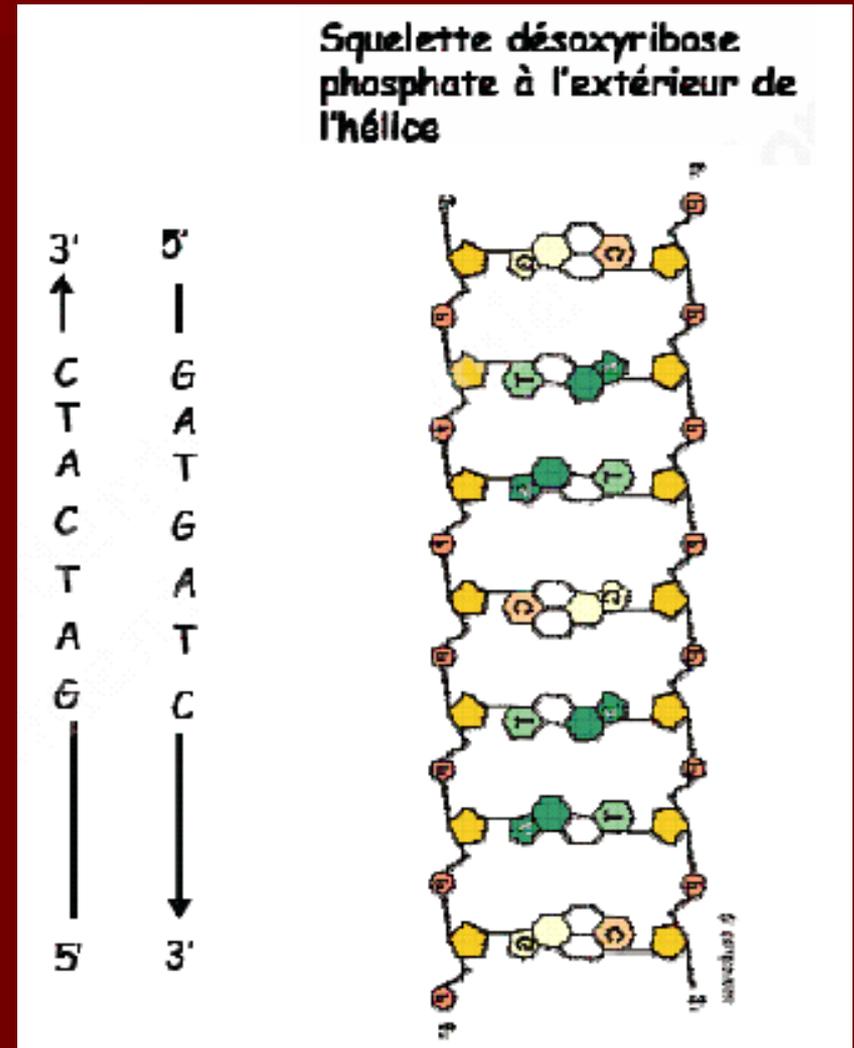
C'est un enzyme qui catalyse cette réaction... l'ADN polymérase

Les Acides Nucléiques

- Macromolécule double brin

Les 2 brins sont antiparallèles

- Squelette désoxyribo-phosphate



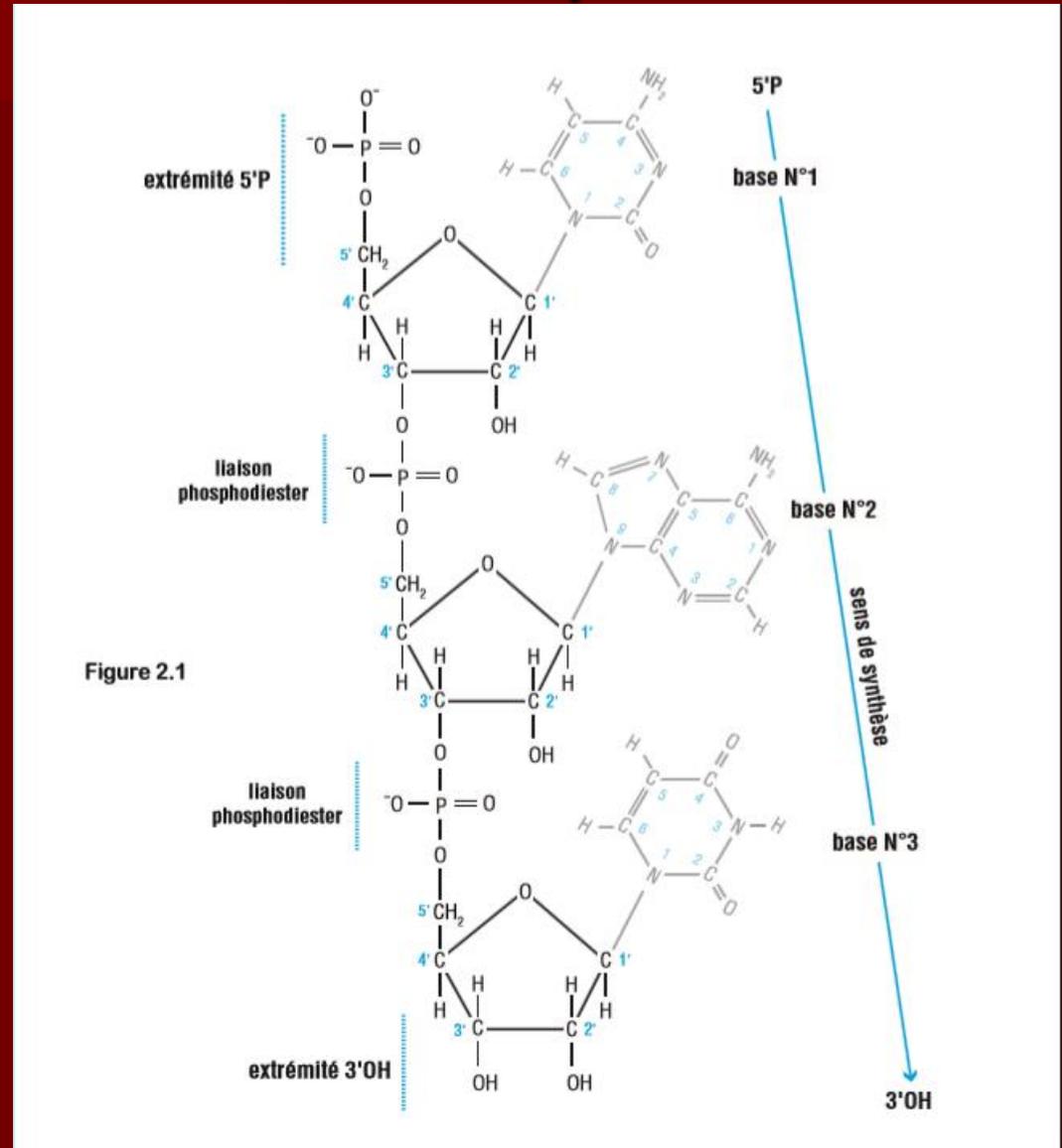
Les Acides Nucléiques

■ ARN

- Macromolécule simple brin (ARNm) mais peut être double brin

(voir plus loin....)

- Squelette ribophosphate

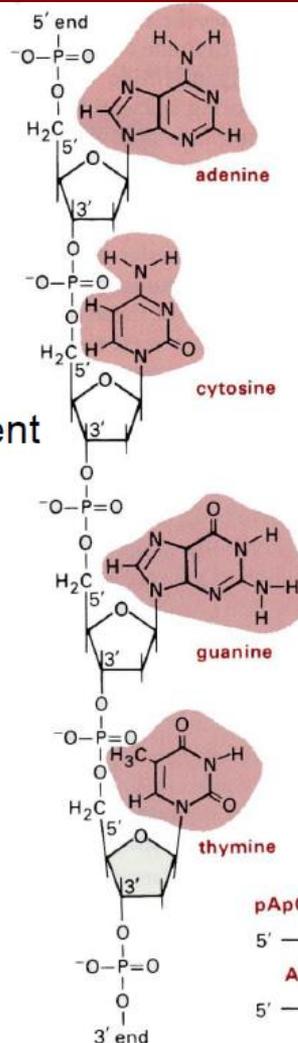


Les Acides Nucléiques

1) Structure de l'ADN

Polarité

Liaison du 5' du dNTP
au 3' du nucléotide précédent



Important pour le module
Technique...

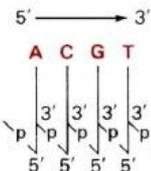
Le brin d'ADN a un sens!

pApCpGpTp

5' → 3'

ACGT

5' → 3'

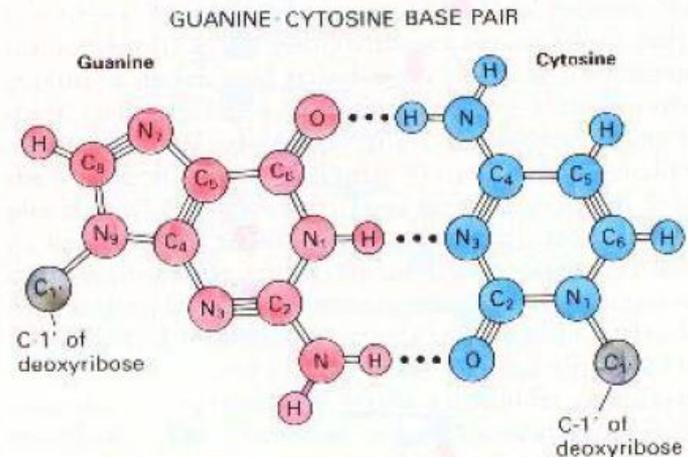
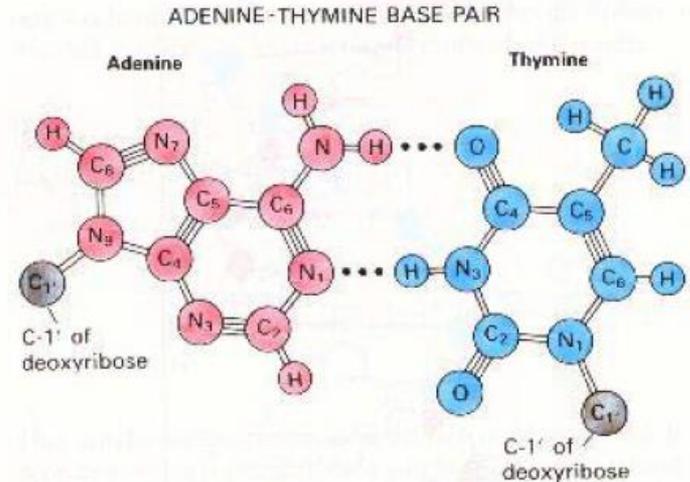


Les Acides Nucléiques

1) Structure de l'ADN

Ce qui explique l'antiparallélisme

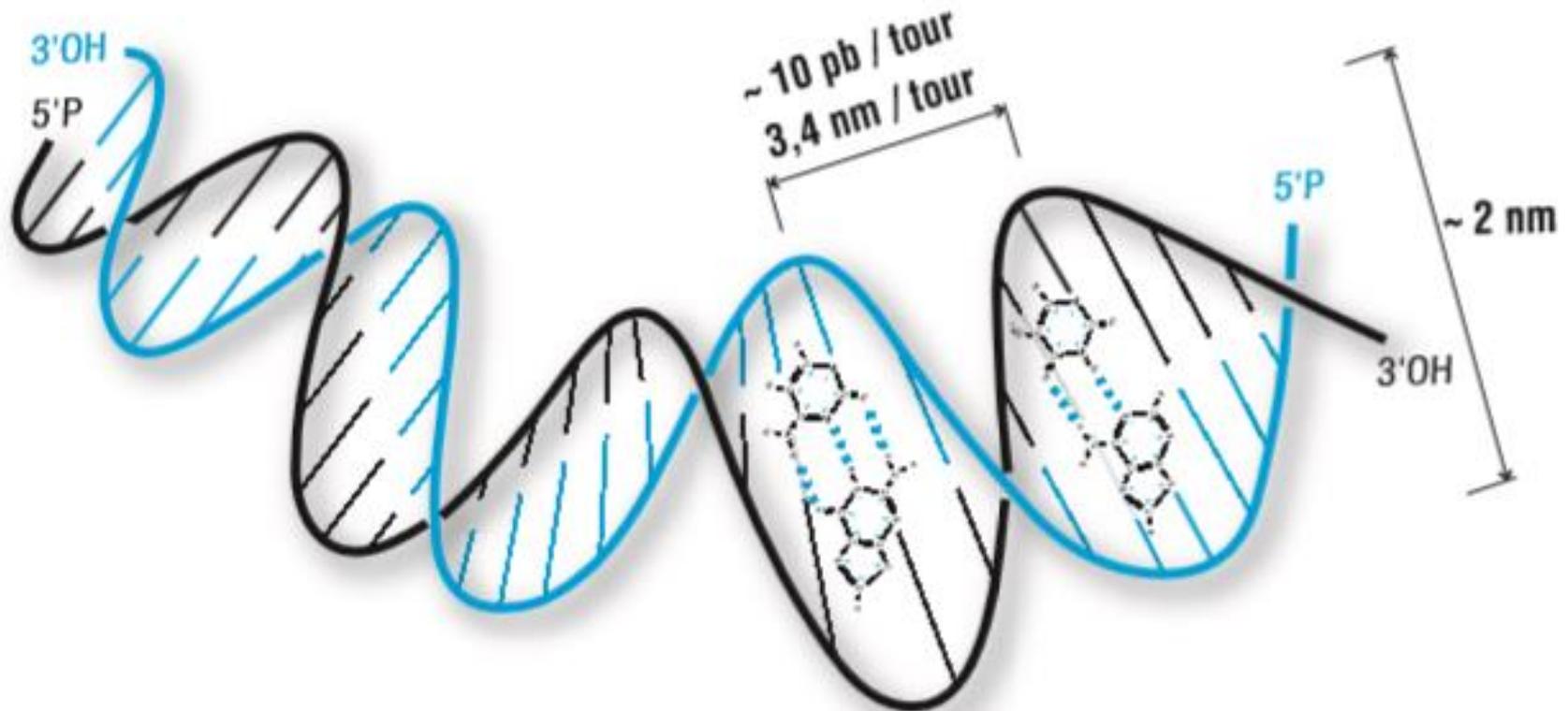
liaison H



I. Les Acides Nucléiques

- La double hélice

Diamètre = 2 nm
Pas de l'hélice 3,4 nm
10 pb par tour d'hélice



Les Acides Nucléiques

2) Propriétés de l'ADN

2 forces antagonistes :

Une force déstabilisatrice :

Au pH de la cellule les groupements phosphates sont chargés négativement



les bords de chaque brin d'ADN se repoussent

Les Acides Nucléiques

Une force stabilisatrice :

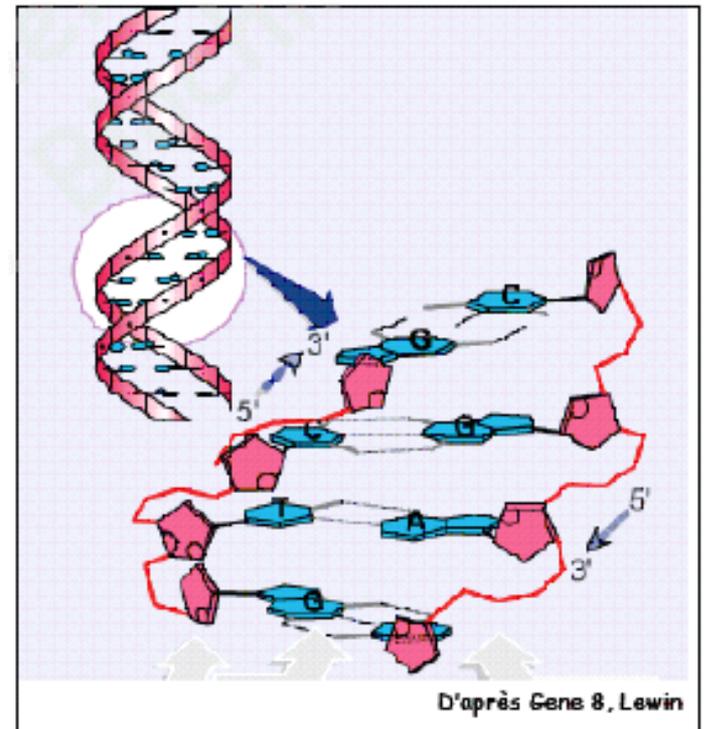
Important pour le module technique (voir plus loin...

Existence de liaisons hydrogènes entre les bases.

Entre A et T : deux liaisons
Hydrogène



Entre C et G : trois liaisons
Hydrogène



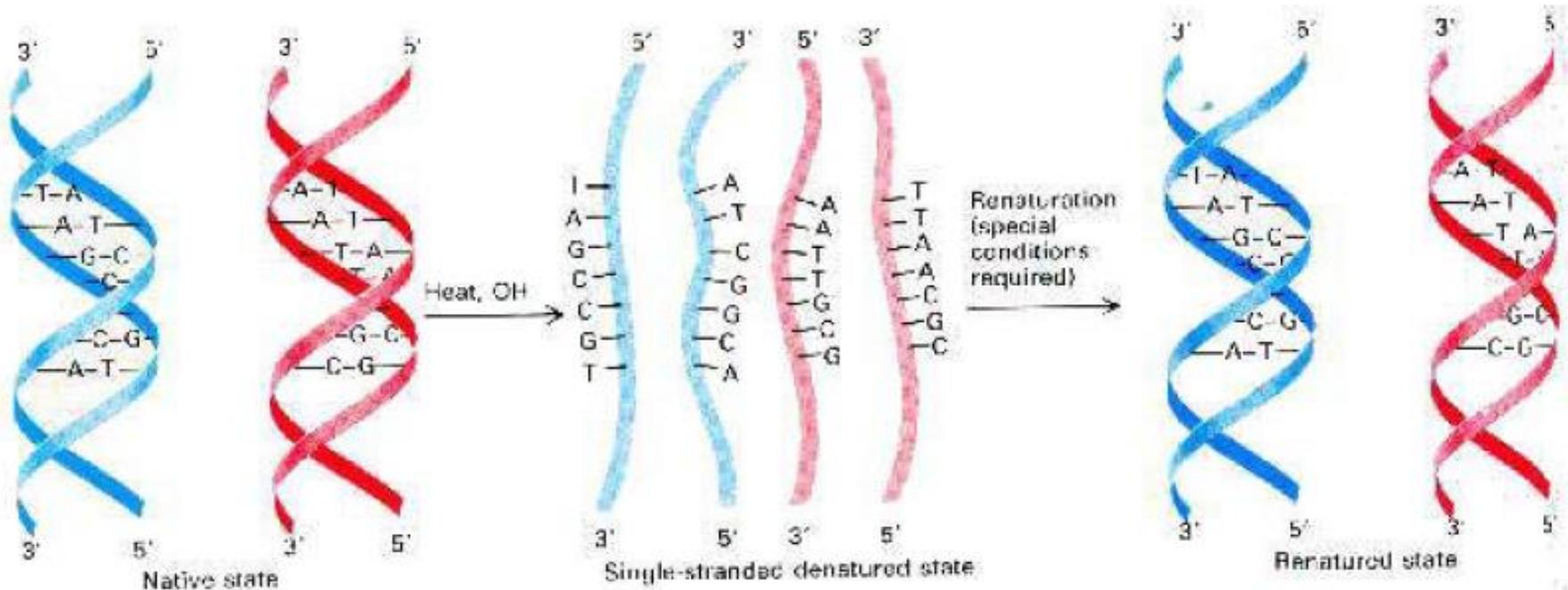
Les Acides Nucléiques

2) Propriétés de l'ADN

Dénaturation, renaturation de l'ADN

Une propriété, physico-chimique qui découle de la structure

Important pour le module Technique...



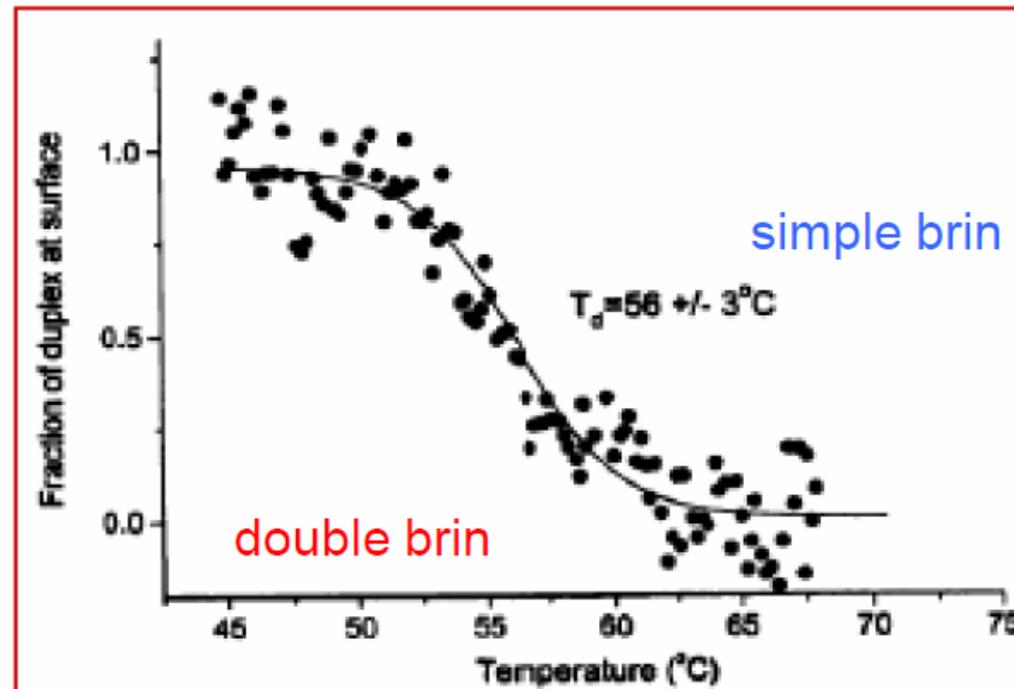
Les Acides Nucléiques

2) Propriétés de l'ADN

$$T_m/(T_d)$$

La température de fusion (ou dénaturation) T_m (melting temperature)

Important pour le module Technique...

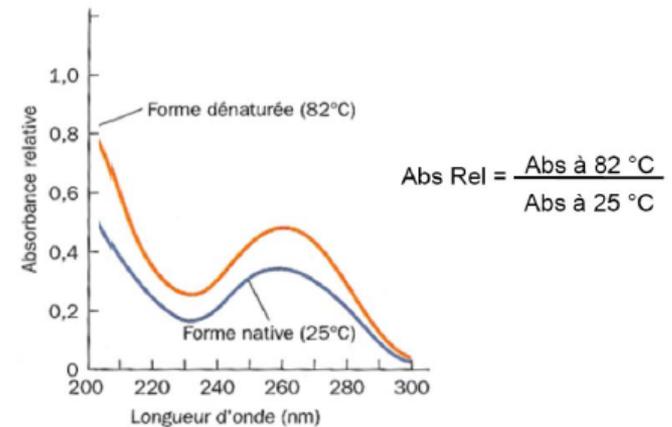
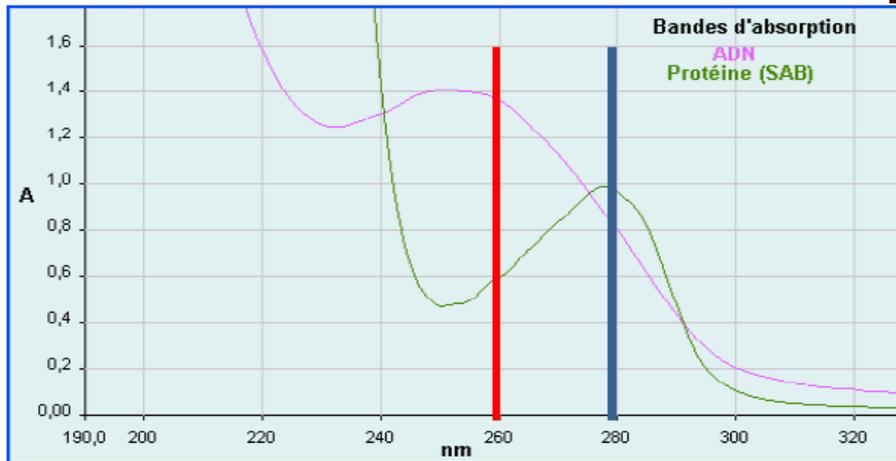


Les Acides Nucléiques

2) Propriétés de l'ADN

Comment doser l'ADN?

Important pour le module Technique...



Une unité d'absorbance à 260 nm correspond à :

- une solution d'ADN double brin à 50 µg/mL
- une solution d'ADN simple brin à 37 µg/mL
- une solution d'ARN à 40 µg/mL

le rapport $A_{260\ nm} / A_{280\ nm}$ constitue un moyen d'apprécier une éventuelle contamination de la solution d'ADN :

- un rapport compris entre 1,8 et 2 correspond à une solution pure d'ADN ;
- un rapport inférieur à 1,7 est le signe d'une contamination par des protéines ;
- un rapport supérieur à 2 est le signe d'une contamination par l'ARN. (ARN et ADNs absorbent plus à 260 nm que ADNdb)

Les Acides Nucléiques

L' Acide RiboNucléique ou ARN

- Molécules ayant de très nombreuses fonctions dans la cellule.
- L'ARN transporte l'information génétique des molécules d'ADN (noyau)

aux ribosomes contenus dans le cytoplasme des cellules.

- L'ARN est constitué par l'assemblage de ribonucléotides.
- Il existe de nombreuses familles d'ARN (ARNr, ARNm, ARNt, siARN, aptamères, miARN...).
Nouvelles découvertes??????

Chacune assure une fonction particulière.

Architecture de l'ADN

Génome nucléaire humain (eucaryote)

1) ADN et chromatine

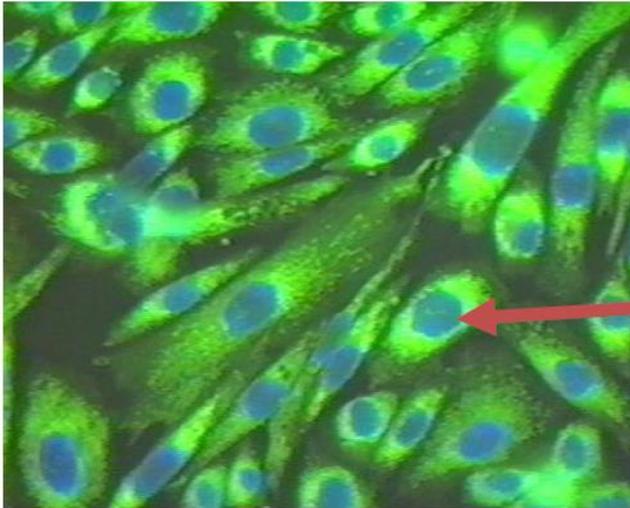
- L'ADN humain est fortement associé à des protéines :
 - Protéines histones
 - Protéines non histones
- ADN nu + protéines = la chromatine

Architecture de l'ADN

Génome nucléaire humain (eucaryote)

1) ADN et chromatine

Chez les eucaryotes



LA CHROMATINE

PROBLEME BIOLOGIQUE :

**COMMENT LE FILAMENT
D'ADN D'UNE LONGUEUR DE
≤ 2 MÈTRES ENTRENT DANS
UN NOYAU D'UNE CELLULE
EUCARYOTE DONT LE
DIAMETRE EST DE
10 MICROMETRE ?**

**l'ADN se présente sous le forme de longues molécules linéaires,
associés à des protéines**

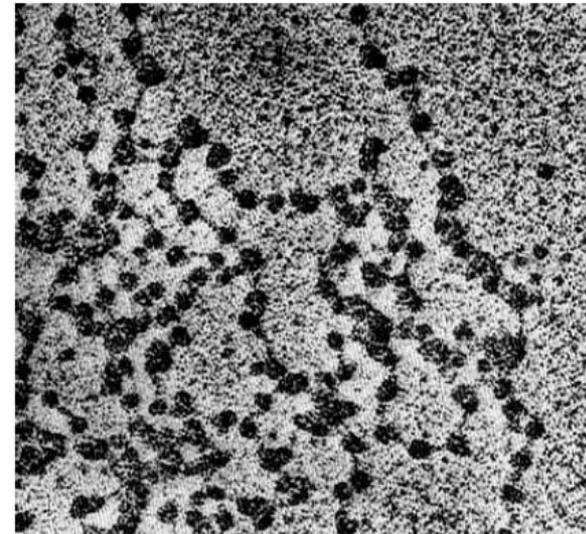
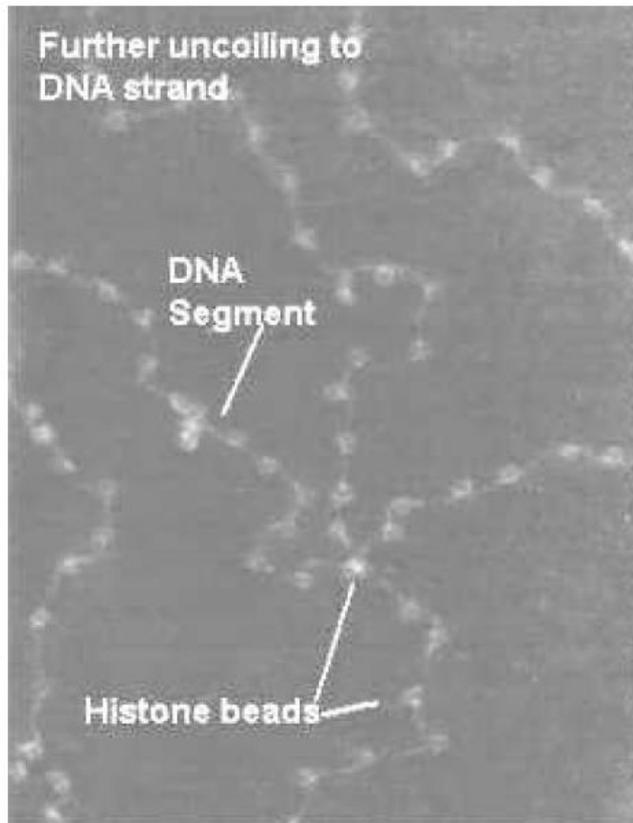
**l'ADN est stocké et agencé sous forme de chromosomes ou de
chromatine à différents degrés de condensation.**

Architecture de l'ADN

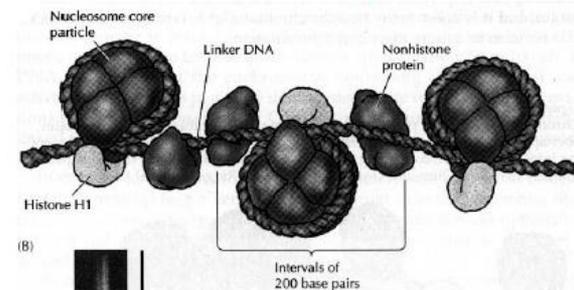
Génome nucléaire humain (eucaryote)

1) ADN et chromatine

Observation de LA FIBRE DE CHROMATINE DE 10 NM

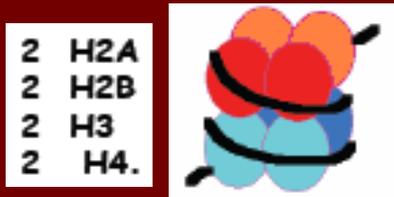
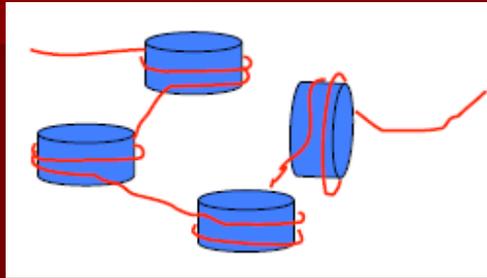


Le collier de perles



Architecture de l'ADN

2) Structure de la chromatine



STRUCTURE NUCLÉOSOMIQUE

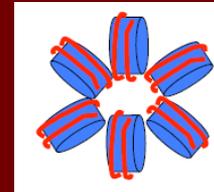
ADN + Histones

Structure en "collier de perles"
= fibre nucléosomique : \varnothing 11 nm

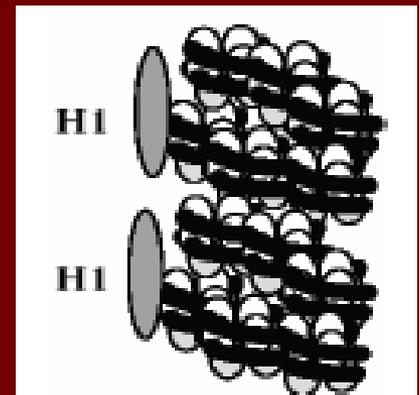


Le NUCLEOSOME = un octamère d'histones

FIBRE DE 30 nm



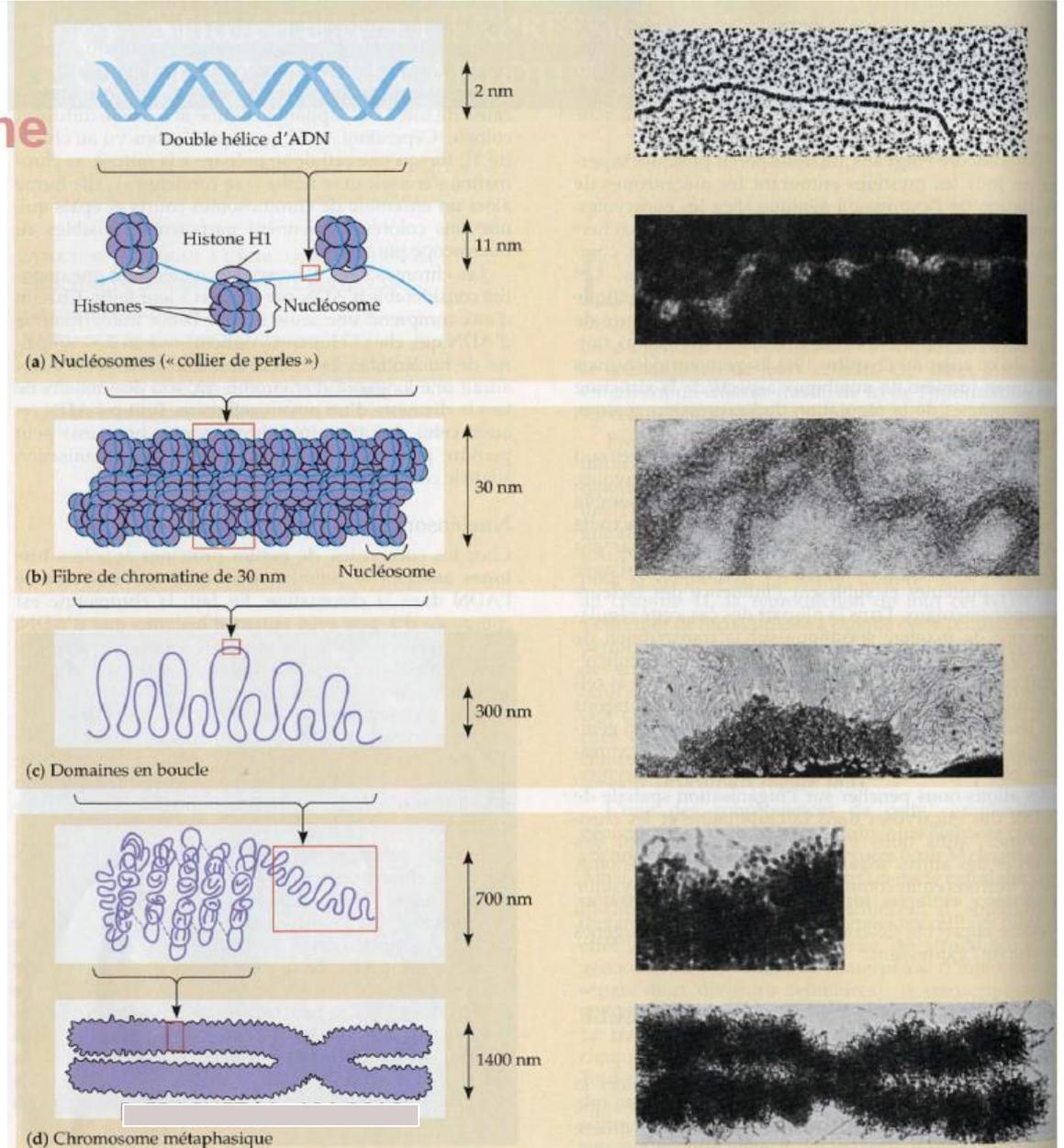
Enroulement des nucléosomes = formation d'une solénoïde



Architecture de l'ADN

3) De l'enchaînement nucléotidique au chromosome

Jusqu'au chromosome condensé



Architecture de l'ADN

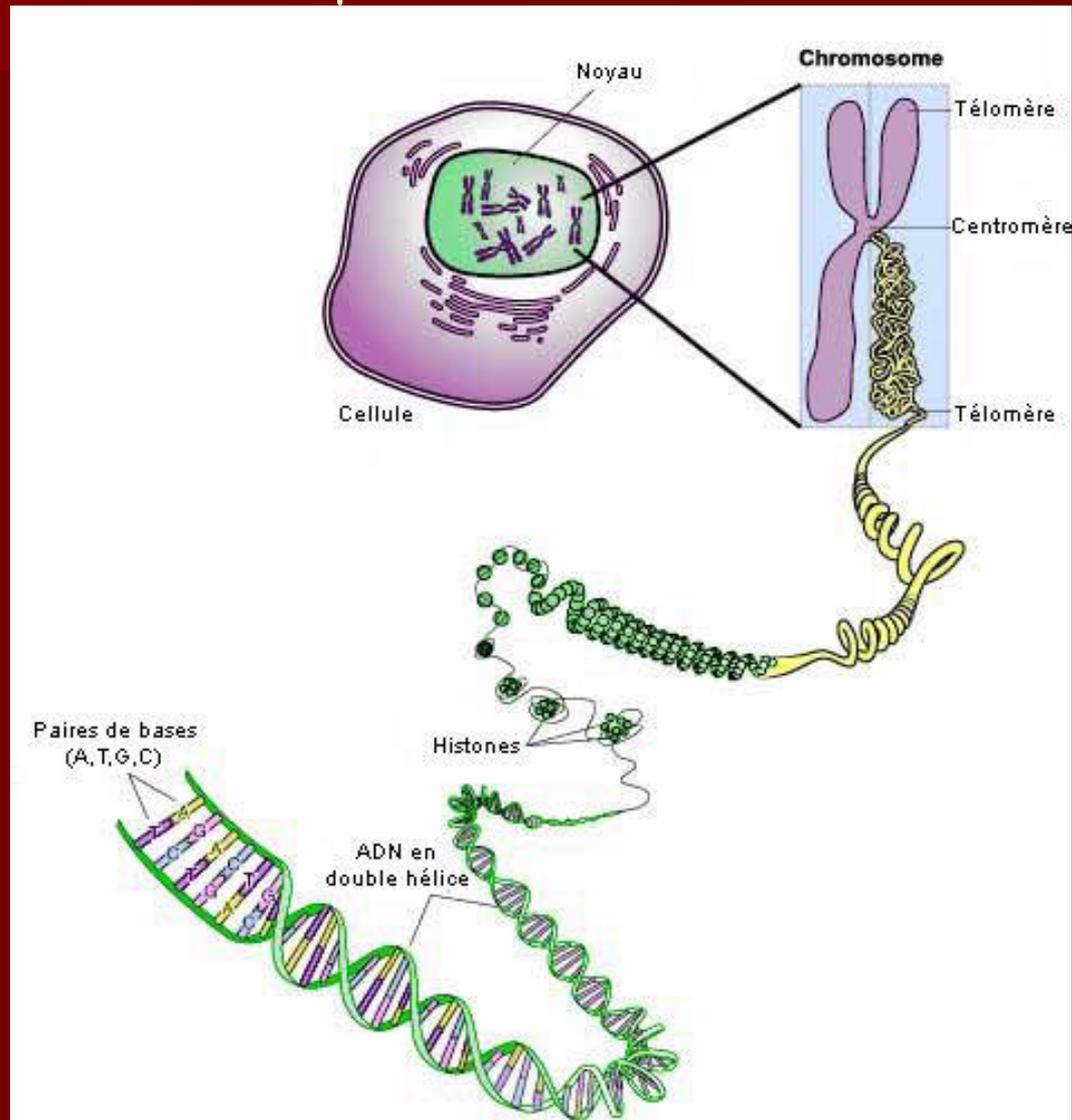
3) De l'enchaînement nucléotidique au chromosome

Techniques de BM:

PCR et autres

Préparation de l'ADN
Génomique en éliminant
Toutes les protéines???

Votre avis???

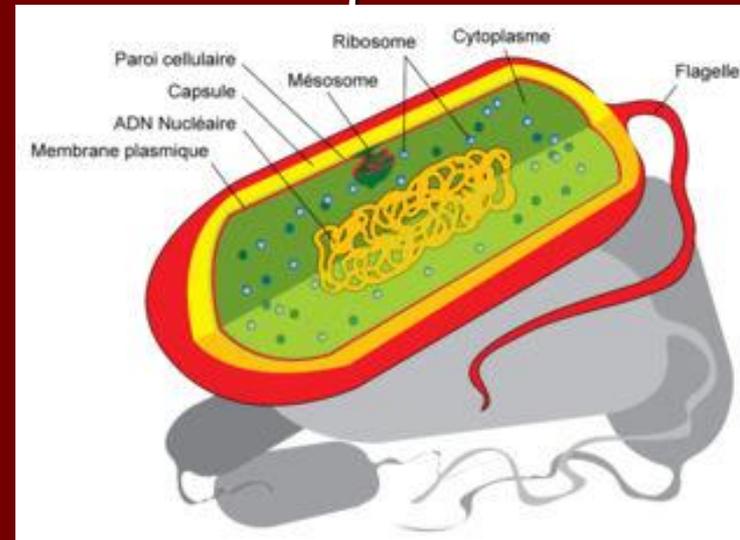


Architecture de l'ADN

ADN des bactéries (procaryote)

- Pas de structure aussi régulière que chez les eucaryotes
- Présence de protéines qui ressemble à des histones : protéines HU
- Structure plus flexible et plus accessible que chez les eucaryotes

(division cellulaire plus rapide)

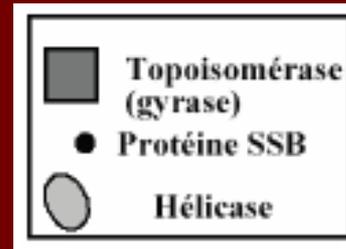
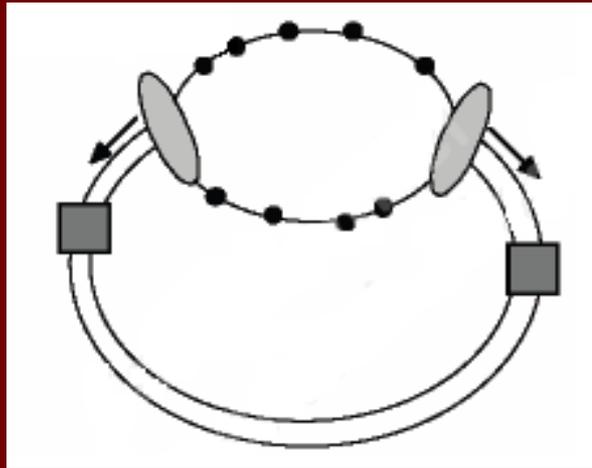


Réplication de l'ADN

La réplication procaryote

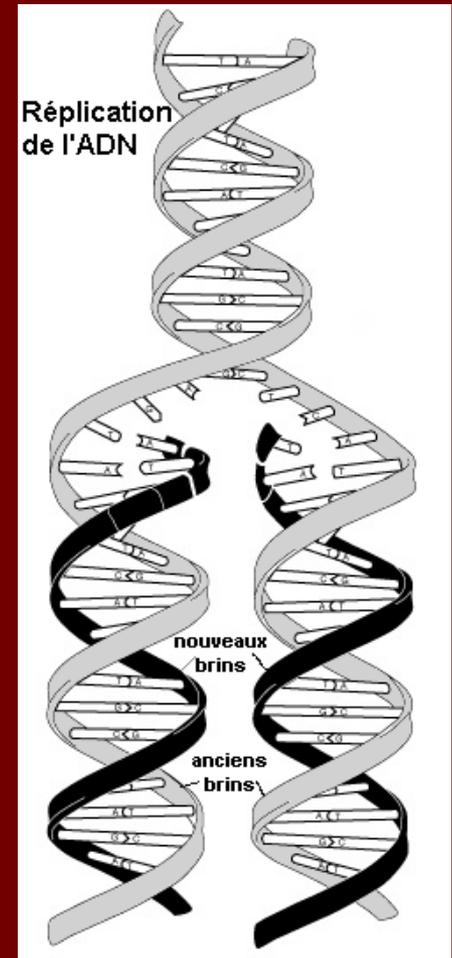
1) Généralités

Voir chapitre suivant...



Attention figures
Web ??????

- Une seule origine de réplication (important pour le clonage) **TECHNIQUES voir plus loin en génie génétique**



Réplication de l'ADN

Réplication : Formation de nouveaux brins d'ADN à partir des 2 brins initiaux.

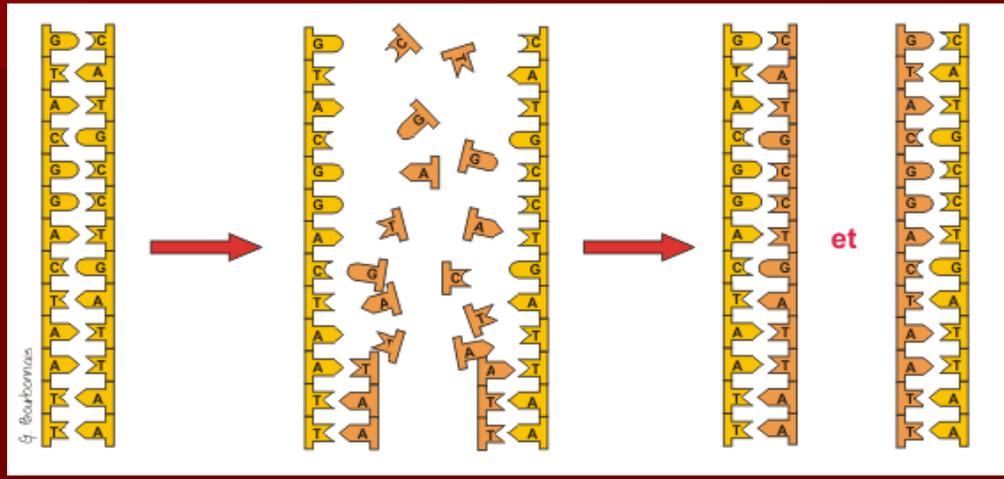
2) Mécanisme

ADN polymérase (ADN Pol) = complexe enzymatique .

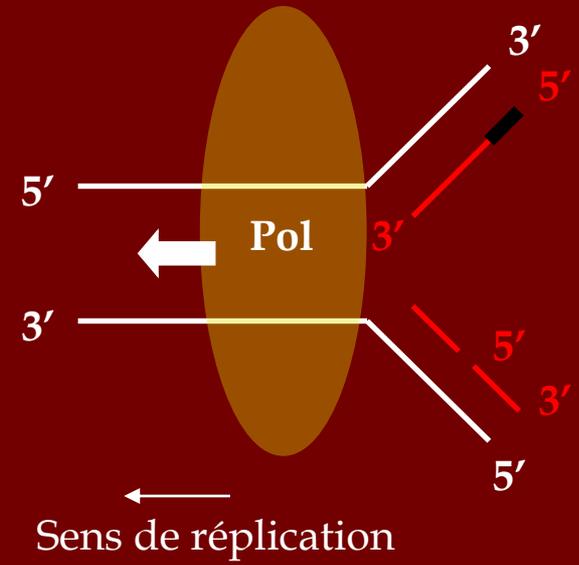
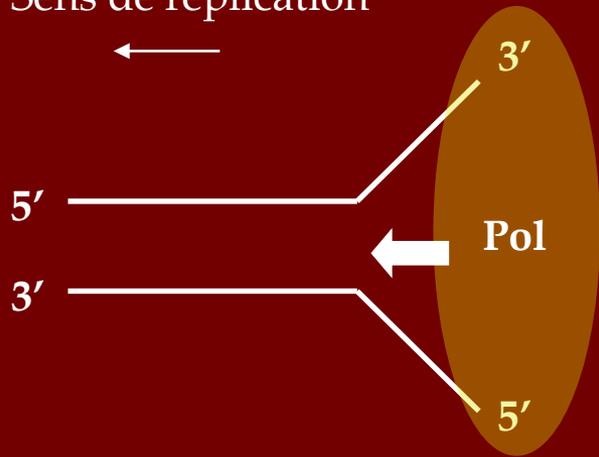
- Synthétisent l'ADN : polymérisation des nucléotides dans le sens 5' → 3'
- ne peuvent que rajouter des nucléotides à partir d'une **amorce préexistante voir Techniques PCR et autres????**
- **Activité de correction (exonucléase) dans le sens 3' → 5'.**
- Production de 2 cellules filles identiques.

Réplication de l'ADN

Attention figures
Web ??????



Sens de réplication



Eucaryotes / Procaryotes

■ ADN Eucaryote

- Structure régulière
- + Histones → chromatine
- Moins accessible (nucléosomes)
- Division cellulaire plus lente

- Nombreuses origines de réplication
- Transcription complexe + maturations
- **1,5 - 3 -10 % d'ADN codant???**

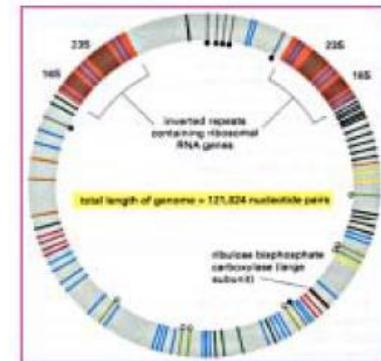
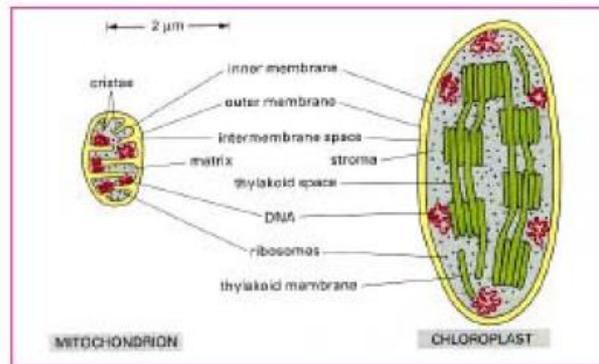
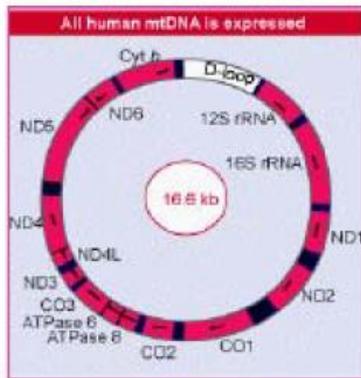
■ ADN Procaryote

- Structure irrégulière
- Protéines ≈ histones
- Plus flexible et plus accessible
- Division cellulaire rapide

- 1 seule origine de réplication
- Transcription et traduction simultanées
- ADN codant +++ PAS DE maturations???

Le génome mitochondries+chloroplastes

Le Génome Des Organites



L'ADN des mitochondries chez:

Une algue verte	16 kb
L'Homme	16 kb
La drosophile	19 kb
La levure	75 kb
Le maïs	570 kb
Le melon	2 500 kb

L'ADN des chloroplastes chez:

Une algue verte	195 kb
L'Hépatique	121 kb
Le riz	136 kb
Le tabac	156 kb
Le pois	120 kb

Le génome Humain

■ Le génome nucléaire

- Les chromosomes : 24 molécules différentes.
 - 22 autosomes
 - 2 chromosomes sexuels (X et Y)
- Code pour plus de 30000 gènes.

■ Le génome mitochondrial

- Petit ADN circulaire (16,6 Kb) contenu dans la mitochondrie.
- Code pour 37 gènes.
- Plusieurs copies par cellule.
- Transmis par la mère.

La taille des génomes

Petit Virus: 3000 nt, soit 1 page de 3000 caractères

Bactérie: 3×10^6 nt (moyenne), soit 1 livre de 1000 pages

Homme: 3×10^9 nt, soit 1000 livres

ou encore, 1 pile de livres de 50 m de haut

1,40-2 m d'ADN dans chaque cellule

10^{13} à 10^{14} cellules/ Homme
faites le calcul...

remarque: distance terre lune
384 400 km..

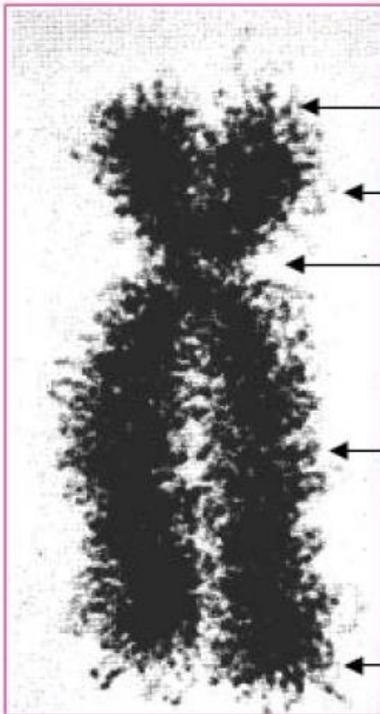
Le génome Humain



Le Chromosome Eucaryote

(exemple pris chez l'homme)

Il est **linéaire**



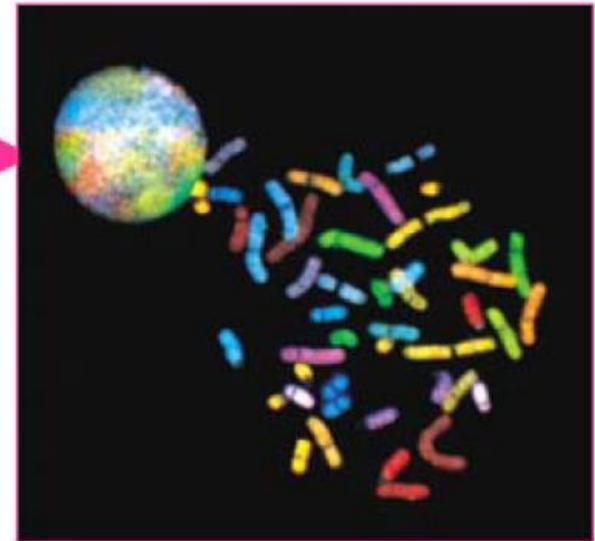
télomère

Bras court

centromère

Bras long

télomère



État « ordinaire »

Cet aspect en X est **transitoire**!!

Le génome Humain

ADN GÉNIQUE :

- ADN codant (exons) code pour ARNm (Protéines)
- ADN non codant code pour ARNr et ARNt
- séquences régulatrices
- Introns
- SiARN et miARN ????

Le génome Humain

Séquences Uniques, Gènes Et Séquences Répétées

Définition fautive ou erronée du gène.

Attentions aux définitions



Réussite Matière

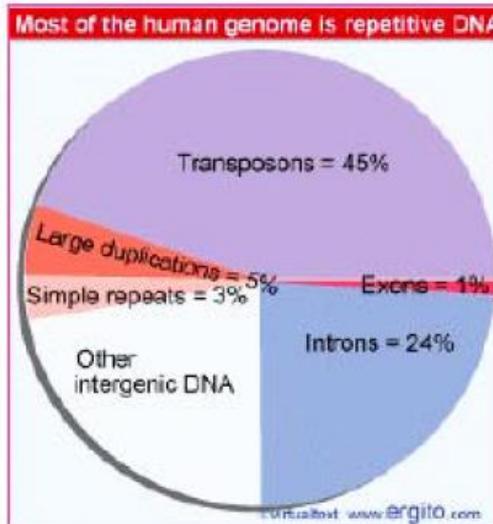


Attentions à internet

ADN non répété : correspond aux gènes

ADN répété:

- Séquences courtes, 10 à 1000 répétitions, dispersées (dont transposons)
- Séquences très courtes (<100pb), plusieurs milliers de répétitions, souvent en tandem



Qu'est-ce qu'un gène?

C'est la totalité d'un segment de chromosome nécessaire pour fabriquer un produit fonctionnel (protéine ou ARN)

Webographies:

Publicity

-  Nature (<http://www.nature.com/>)
-  New Scientist (<http://www.newscientist.com/>)
-  Naked Scientist (<http://www.thenakedscientists.com/>)
-  LabTube (<https://www.labtube.tv/>)

Search engines for journals

-  Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)
-  Google Scholar (<https://scholar.google.co.uk/>)

Institute websites

-  Wellcome Trust Sanger Institute (<https://www.sanger.ac.uk/>)
-  Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>) Genome databases for vertebrates and other eukaryotic species.
-  Human Genome (<https://www.genome.gov/11006943>)
-  British Society of Gene and Cell Therapy (<http://www.bsgct.org/en/>)
-  European Society of Gene and Cell Therapy (<http://www.esgct.eu/>)
-  American Society of Gene and Cell Therapy (<http://www.asgct.org/>)

Company websites

-  GSK (<http://uk.gsk.com/>)
-  Medimmune (<https://www.medimmune.com/>)
-  Babraham Research park (<http://www.babraham.co.uk/about/about.html>)
-  Pfizer (<http://www.pfizer.co.uk/>)
-  OxfordBiomedica (<http://www.oxfordbiomedica.co.uk/>)

Biotechnology websites

-  Life Technologies (<https://www.lifetechnologies.com/uk/en/home.html>)
-  Abcam (<http://www.abcam.com/>)
-  New England Biolabs (NEB) (<http://www.neb.uk.com/>)
-  Illumina (<http://www.illumina.com/>)
-  Horizon (<http://www.horizondiscovery.com/>)

Ce qu'il faut retenir

- Synthèse du chapitre
- Voir cours magistral...
- Architectures génomes;
- Chromatines;
- Structures nucléotides ADN/ARN
- Mécanisme réplication...