

CHAPITRE 1: LES MECANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX

1 Les bases moléculaires de l'hérédité

1.1 Les acides nucléiques

1.1.1 Les nucléotides

1.1.2 Structure et caractéristiques de l'ADN

1.2 Réplication

1.2.1 Réplication semi conservative

1.2.2 Oeil de répliation

a Fonctionnement

b Origine

1.2.3 Sens d'élongation du brin fil

a Amorce = Primase

b Homogénéisation

1.2.4

1.2.5 Enzymes de répliation

1.2.6 Réplisome

1.3 Réparation

1.3.1 Lésions

1.3.2 Réparation des liaisons

a Durant la répliation

b Durant l'activité cellulaire

2 Synthèse protéique

2.1 Transcription

2.1.1 Caractères généraux et définition

a ADN transcrit / ADN non-transcrit

b ARN et ARN polymérase

c Bulle de transcription

d Modalités d'ajout des nucléotides sur l'ARN

e Brin transcrit

f ?

g Convention de numérotation des nucléotides

h Unité de transcription

i Produits de la transcription

j Comparaison répliation / transcription

2.1.2 La transcription des ARNm (eucaryotes)

a Initiation

b Elongation

c Terminaison

2.1.3 La transcription des ARNr chez (eucaryotes) SAUF ARNr 5S

a Organisation des gènes ARNr (sauf ARNr 5S)

b Transcription

2.1.4 La transcription des ARNr 5S et ARNE (eucaryote)

a Organisation des gènes ARNE et ARNr 5S

b Transcription

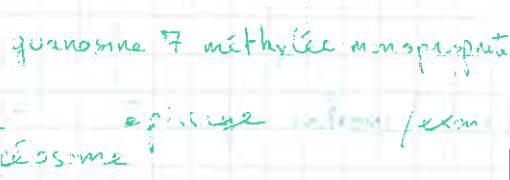
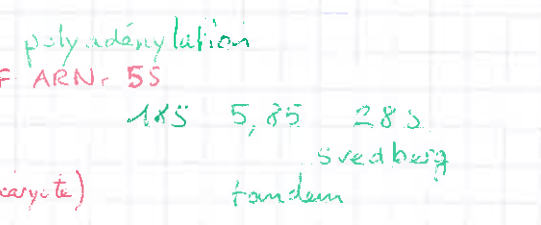
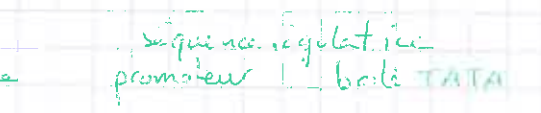
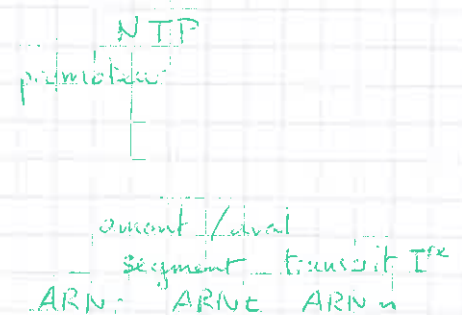
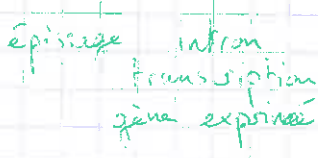
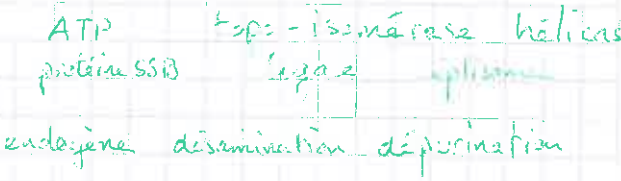
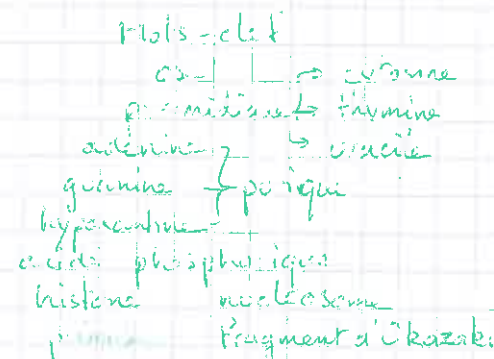
2.2 Les modifications post-transcriptionnelles des ARN (eucaryote)

2.2.1 Maturation des ARNm

a Ajout de la coiffe 5'

b Ajout d'une queue poly A en 3'

c Epissage des introns



levillon petit
noir

222 Maturation des ARN^r

223 Maturation des ARN^t

23 Traduction

231 Généralités

- Code génétique
- Cadre de lecture
- ARN^t anticodon et wobble
- Le ribosome

wobble

232 Initiation

- Repérage du site d'initiation
- Formation du complexe d'initiation
- Bilan

séquence de Kozak

233 Elongation

- Accrochage d'un nouveau aa-ARN^t au site A
- Formation de la liaison peptidique
- Bilan

234 Terminaison

235 Modifications post-traductionnelles

236 Schéma bilan

24 Régulation de l'expression des gènes

241 Niveau chromatinien

- Accessibilité de l'ADN
- Méthylation de l'ADN

divuges - ponts disulfures - glycosylation - (lipide)

forme nucléosomique/hétérochromatine des fibres chromatinées

242 Niveau transcriptionnel

- Facteurs de transcription spécifiques
- Séquences régulatrices

proximale distale

243 Niveau post-transcriptionnel

- L'épissage alternatif
- La retouche des ARNm
- Durée de vie de l'ARNm dans le cytoplasme

244 Niveau traductionnel

245 Niveau post-traductionnel

3 Mécanismes permettant la variation de l'ADN

31 Mutations

311 Différentes sortes de mutations

- Dans une région non transcrite de l'ADN
- Dans une région transcrite de l'ADN

312 Héritabilité de la mutation

32 La recombinaison

33 La méiose

NE
brin antisens = transcrit = antiparallèle - complémentaire
brin sens = non transcrit = parallèle - identique (T → U)

CHAPITRE I

LES MECANISMES GENETIQUES FONDAMENTAUX

1. Les bases moléculaires de l'hérédité

1.1. Les acides nucléiques

1.1.1. Les nucléotides

acides nucléiques = longues molécules formées par la répétition de sous-unités = les nucléotides

ADN Acide DésoxyriboNucléique

ARN Acide RiboNucléique

Nucléotide = base + ose (sucre) + acide phosphorique (planche 1)

- * Bases
 - * Oses
 - * Liaisons
- Ref. polycopié

Notes hypoxanthine et thymine dans l'ARNE

Liaison

1.1.2 Structure et caractéristique de l'ADN

La double hélice d'ADN est associée à des molécules compactées : les histones

les histones sont H1 H3 H4 → elles forment les nucléosomes

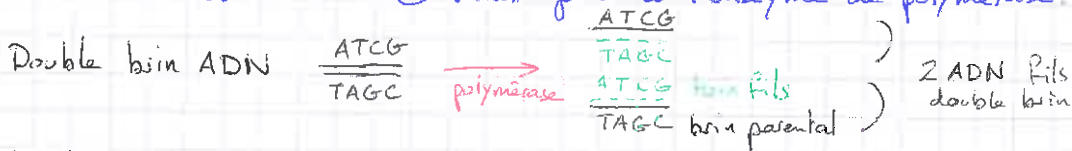
H2A H2B → les nucléosomes s'enroulent sur eux-mêmes grâce à H+ (ce sont 2 niveaux de compactage)

(planche 2)

1.2. Réplication

1.2.1. La réplication est semi-conservative

La réplication permet la copie de l'ADN : elle se produit dans le noyau, une molécule d'ADN donne deux (2) filles grâce à l'enzyme de polymérase.



(planche 3)

1.2.2 L'œil de réplication

a - Fonctionnement

La double hélice d'ADN s'ouvre en des points précis : les origines de réplication.

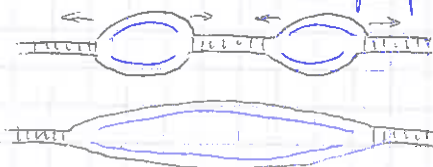
L'œil de réplication est une séparation locale des deux brins.

L'œil s'agrandit par les deux fourches et ne se déplace pas.

Les nucléosomes sont démantelés pour l'ouverture de l'œil et se reconstituent après la formation du brin fils.

b - origine de la réplication

- séquence d'ADN de 100 à 200 paires de base
- reconnue par l'ADN polymérase
- riche en AT : liaison fragile donc rompue
- de 10000 à 100000 origines par (2) chez l'homme



Dans le cycle cellulaire



1.2.3 Sens d'élongation du brin fils

a - nécessité d'une amorce

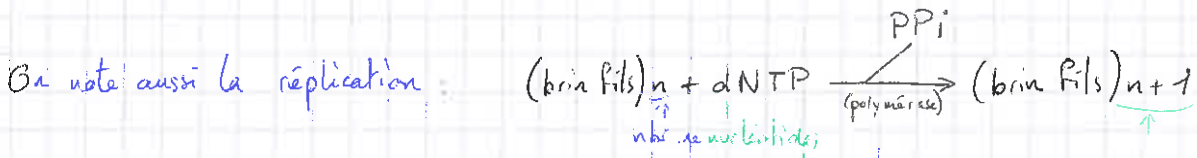
Aucune ADN polymérase ne peut se fixer sur un simple brin, il faut une amorce.

- amorce synthétisée par une primase
- elle est formée de 4 à 12 nucléotides
- elle est complémentaire et antiparallèle au brin parental
- sur elle est un Nucléotide TriPhosphate (NTP)

alors ?

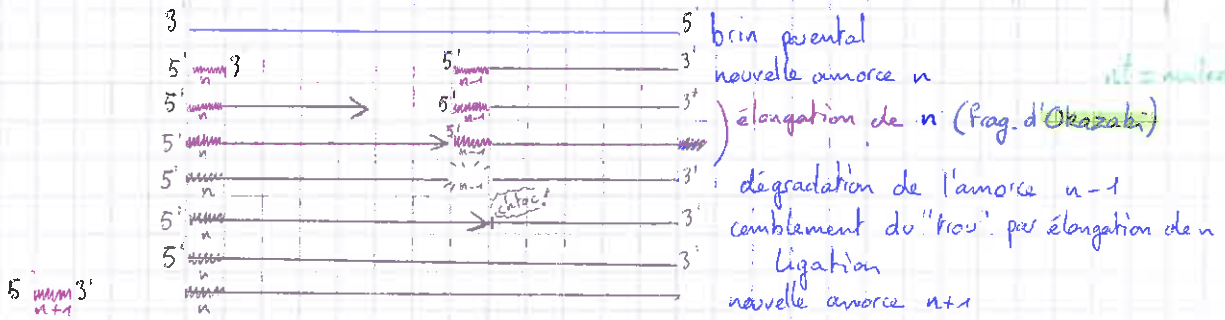
NTP → ARN
dNTP → ADN

Ref. - Fig. 15



Toutes les ADN polymérase connues ajoutent un nucléotide du côté 3' des brin fils (le brin fils de construit de 5' vers 3') le nucléotide ajouté est un dNTP et est complémentaire au brin parental.

b Homogénéisation du brin fils



⇒ sens local d'allongement des fragments (de 5' vers 3')
 ⇐ sens global d'allongement du brin fils

1.25 Les enzymes de la répliation

les topoisomérases relâchent des superenroulements. (Fig. 16, 17)

1.26 Le réplisome

Le réplisome est un complexe qui regroupe toutes ses enzymes et protéines à la fourche de répliation. Il avance dans une seule direction alors le brin retardé fait une boucle autour de l'ADN polymérase.

Quand le fragment n a rejoint le fragment n-1, le boucle se défait pour se reformer plus loin et plus petite. Elle grandit avec l'élongation n+1 (Ref. Fig. 18)

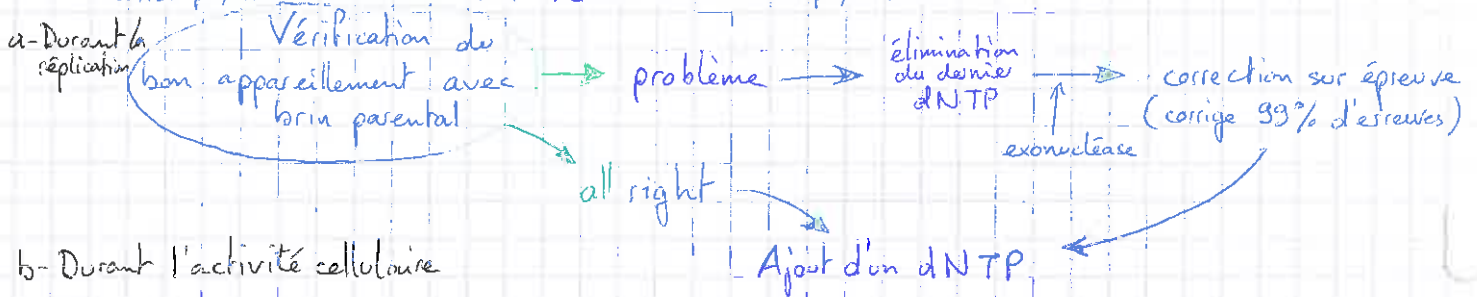
1.3 la réparation de l'ADN

1.3.1 Les lésions

- Causes de lésions → répliation : il arrive que des ADN polymérase passent des erreurs (bases erronées, nucléotides manquants...)
- facteur endogènes, liés à l'activité cellulaire : lors du métabolisme, il y a production de molécules oxydantes qui peuvent générer la désamination oxydative des cytosines (retrait d'un groupement NH₂) qui les transforme en Uracile ou générer une dépurination (perte de bases A et G)
 - facteur exogènes : radioactivité, désherbants, UV, produits toxiques... soit les agents génotoxiques

1.3.2 Réparation des liaisons

Une ADN polymérase bactérienne fait 1 erreur sur 100 000 polymérisation (elles ont aussi une action exonucléase)



b- Durant l'activité cellulaire

→ mécanisme de recombinaison post répliation : si il reste des lésions à la répliation, l'ARN polymérase "saute" la lésion et laisse une "brèche"

2 La synthèse protéique

épissage: séparation des introns de l'ARNm

ADN → transcription → maturation → traduction → maturation

gène: ensemble de séquences d'ADN nécessaire à la synthèse d'une protéine ou d'un ARN fonctionnel(s).
→ séquence codante + seq. régulatrice

Escherichia coli 1 chromosome circulaire = $9 \cdot 10^6$ nucléotides

Homme • 46 @ d'ADN

• 23 K de chacun de nos parents

Chaque groupe code pour une copie complète de notre génome | $6 \cdot 10^9$ nucléotides
 $3 \cdot 10^9$ paires de br

Plus les organismes sont complexes plus le contrôle des gènes par des séquences régulatrices est efficace.

épissage alternatif → production de protéines différentes à partir d'un même gène

2.1 La transcription

2.1.1 Caractères généraux et définitions

Def: La transcription (ou synthèse d'ARN) est le processus par lequel l'information contenue dans la séquence des nucléotides de l'ADN est transférée à l'ARN

ARNr: ribosomique

ARNt: de transfert

ARNm: messenger

Un gène est exprimé lorsque son info. génétique est transférée à un ARNm puis à une protéine

a ADN transcrit / ADN non-transcrit

ADN transcrit → protéines ou ARN de structure

ADN non transcrit → rôle de régulation de la transcription
→ séquence sans fonction connue

b ADN et ARN polymérase

ADN } ARN
désoxyribose } ribose
double brin } simple brin (en g^{ale})
ATGC } AUGC
5' } 3'
mm

* l'ARN polymérase transcrit l'ADN en ARN

* elle reconnaît le début du gène

* elle catalyse la formation de liaisons phosphodiester entre les nucléotides

* ajoute un NTP du côté 3'

c La bulle de transcription

* La bulle ouvre en des points précis: les sites d'initiation, signalés par des séquences conservées, les promoteurs.

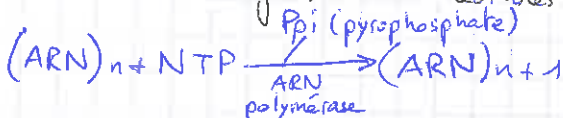
* l'ARN polymérase ne transcrit qu'un seul brin

* la bulle se déplace sans s'agrandir (taille constante)

* la bulle se ferme à un signal de terminaison

* seule une partie de l'ADN est transcrite

d Modalités d'ajout des nucléotides sur l'ARN

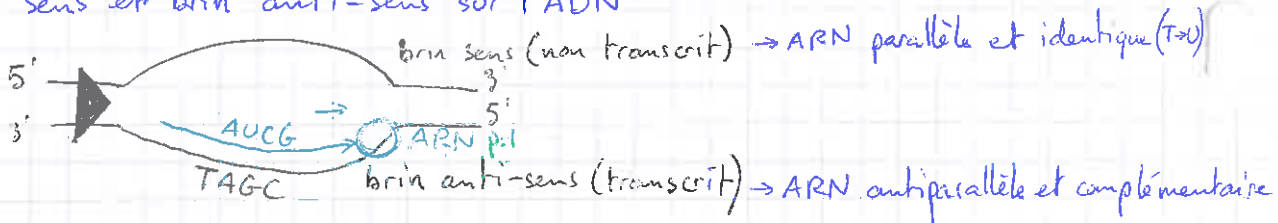


Nucléotide ajouté → NTP
→ compléture...
NTP → ARN
→ ajout sur brin transcrit

e Quel brin est transcrit ?

Le brin transcrit n'est pas tjrs le m^e d'un gène à l'autre

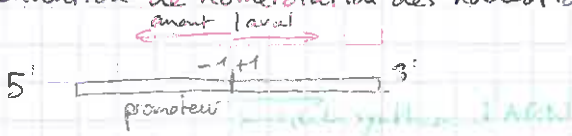
* les brin sens et brin anti-sens sur l'ADN



PAR CONVENTION : on donne tjrs le brin sens (de 5' vers 3') quand on lit l'ADN d'un gène

ex : le gène : 5' ATT CGACATTC 3'
 le pr¹ ARN = 5' AUUCGACAUUC 3'

g Convention de numérotation des nucléotides



avant = côté 5' (brin sens)

aval = côté 3'

+1 : premier nucléotide transcrit

-1 : nucléotide qui le précède

PAS DE ZERO!

Soit la séquence :

ADN 5' ATT AGC ATC GGA TAT 3'
 3' TAA TCG TAG CCT ATA 5'

ARN 5' UC GGA UAU 3'

h Unité de transcription

- L'unité de transcription est un segment d'ADN.
- Il est borné en 5' par le site d'initiation et en 3' par le site de terminaison.
- Il est transcrit en 1 seule fois ~~et une seule fois~~
- Une unité de transcription donne naissance au transcrit primaire.

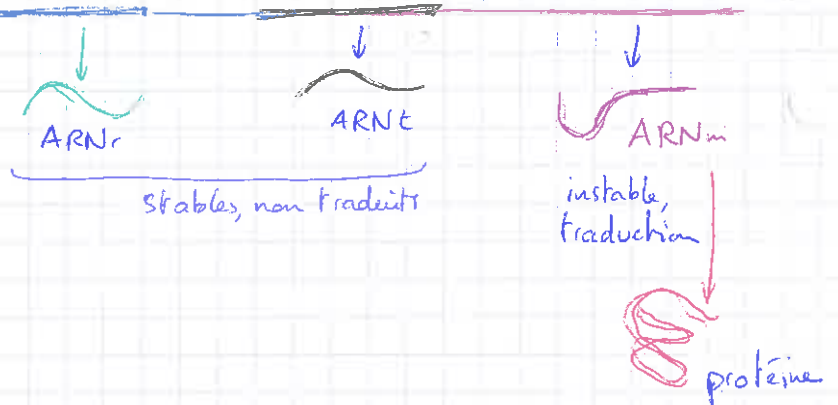
i Quels sont les produits de la transcription ?

3 types de gènes sur l'ADN :

gène ARN_r

gène d'ARN_e

gène de structure



Comparaison répliation / transcription

	Répliation	Transcription
modèle	ADN <ul style="list-style-type: none"> ◦ double brin ◦ toute la molécule 	ADN <ul style="list-style-type: none"> ◦ simple brin ◦ parties (ontés de transcription)
produit	ADN: 2 m filles identiques	ARN - transcrit primaire
nucleotide polymérisés	dNTP (A, T, C, G)	NTP (A, U, C, G)
enzyme	ADN polymérase	ARN polymérase
amorce	nécessaire	non
vitesse	100 nt/s	30 nt/s
correction surépreuse	oui	non
signal départ	origine de répliation	promoteur
signal fin	\emptyset	signal de terminaison
bulle	s'agrandit sans se déplacer	se déplace sans s'agrandir

2.12 La transcription des ARN_m chez les eucaryotes

a Initiation

On dirige le promoteur au sens large et le complexe d'initiation.

* Le promoteur (sens large)

pb = paire de base

⊠ le promoteur au sens restreint

- séquence immédiat^{et} en amont +1
- 100 à 200 pb de long
- il contient une séquence très conservée = la boîte TATA
- il permet le démarrage de la transcription en toute circonstance.

(Fig 25)

- séquence consensus TATAAA brin sens
- autour de la position [-30; -25]

Quand il n'y a pas de boîte TATA...

- ... en g^{at} sur des gènes domestiques qui codent pour des protéines nécessaires de la c
- ... promoteur boîte est GC / GGGGC GGGGC
- ... la protéine supplémentaire Sp1 est capable de reconnaître cette boîte et de recruter le complexe de transcription contenant l'ARN polymérase

⊠ les séquences régulatrices

- en amont ou en aval du +1 (parfois très éloignée)
- permet une activation plus ou moins forte* de la transcription et plus ou moins sélective selon le type de cellule, les besoins du moment.

* Formation du complexe d'initiation (Fig. 26)

boîte TATA et ARN polymérase II et facteurs de transcription TF II D, A, B, F, E, H, J

La formation du complexe d'initiation correspond à 70% d'un ribosome.

b L'élongation (Fig. 28)

la bulle de transcription se déplace au fur et à mesure de la transcription. Sa taille est celle d'environ 12 pb

c la terminaison

Signal de fin de transcription (signal de polyadénylation) = AATAAA (sur brin sens)
la transcription continue pourtant sur 500 à 2000 pb environ et s'arrête sans site précis. Ainsi pour un même gène, on a des tailles variables de transcription.

MECANISME: deux facteurs protéiques fixés sur l'ARN pol se détachent lors du passage sur le signal poly A → l'ARN pol est moins bien attachée puis s'arrête et se détache.

2.1.3 La transcription des ARNr chez les eucaryotes (sauf ARNr 5S)

a Organisation des gènes d'ARNr (sauf ARNr 5S)

- Les 3 ARNr sont regroupés sous une seule unité de transcription
- Ils sont toujours dans le m^{ême} ordre chez les eucaryotes
- On observe que 25 à 50% du transcrypt primaire est éliminé lors de la maturation
- Cette unité de transcription est répétée un grand nombre de fois (150 à 500) en tandem.



un valeur S. Svedberg correspond à une vitesse de sédimentation.
Plus la molécule est grosse, plus cette valeur est élevée.

b Transcription (Fig 29) et 30)

ARN m	ARNr	ARNr 5S + ARNE
ARN polymérase II	ARN polymérase I	ARN polymérase III
boîte : TATA	Ø	2 séquences consensus à +10 et +50
7 facteurs de transcription TFI, D, A, C, F, E, H, J	simple : UBF, SL1	3 facteurs : TFIII C, B, A
Régulation	Ø	Ø
Transcription discontinue	Transcription continue	Transcription continue

2.1.4 La transcription des ARNr 5S et ARNE chez les eucaryotes

a Organisation des gènes

ARNr 5S : 1 seul gène - répété en tandem de 100 à 20 000 fois!

ARNE : ≈ 30 gènes répétés en tandem de 10 à 100 fois

Il y a une dizaine d'ARNE différents

b Transcription

2.2 Les modifications post-transcriptionnelles des ARN eucaryotes

2.2.1 Maturation des ARNm

a. Ajout de la cafte 5'

- un nucléotide supplémentaire ajouté par une autre polymérase
- c'est une guanosine 7 méthylée monophosphate
- liaison 5'-5' ! (Fig 33)

Le transcript primaire est ramassé avant d'entrer dans le cytoplasme où il sera traduit en protéine.

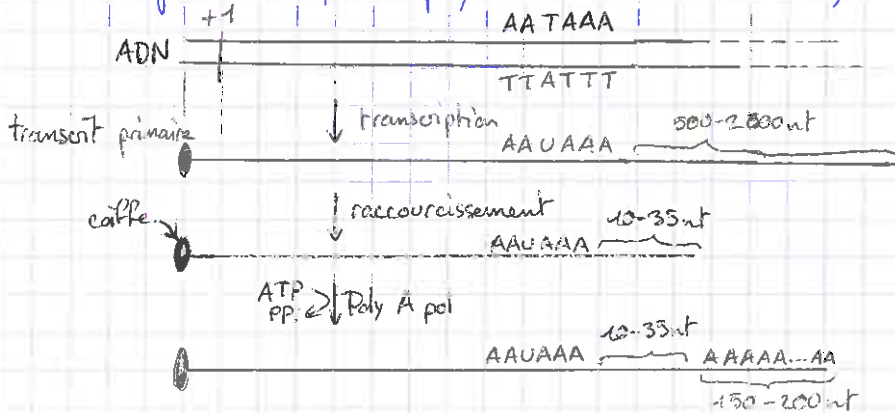
Très tôt dans la transcription, le groupe triphosphate 5' terminal est modifié par l'addition d'une guanosine au moyen d'une liaison 5' diester-phospho

Rôles de cette guanosine 7 méthylée monophosphate

- reconnaître l'ARNm au niveau des pores nucléaires
- protéger l'ARNm contre les enzymes attaquant les extrémités 5' libres
- faciliter l'initiation de la traduction de l'ARNm.

b. Ajout d'une queue poly A en 3'

- après la transcription
- raccourcissement de l'ARNm jusqu'à 10-35 nt du signal de polyadénylation
- ajout d'une queue poly A : 100-250 A (adénines) à la suite, sans modèle, poly A polymérase



Rôles

- aider à la sortie du noyau
- protéger l'ARNm contre les enzymes attaquant les extrémités 3' libres

c. Excision (épissage) des introns

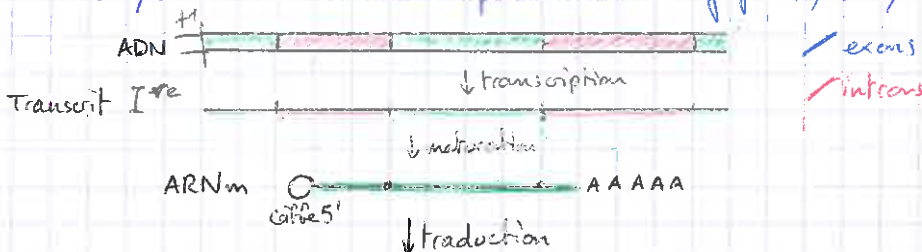
Structure discontinue des gènes eucaryote (discontinue, morcelée, en mosaïque)

exons : portions non-éliminées présentes dans l'ARNm fonctionnel
introns : " éliminées.

En anglais, épissage se traduit splicing

(Fig 34)

s'hybrider : des chaînes complémentaires se joignent, s'hybrident systématiquement.



Excision-épissage

- Toutes les introns commencent et finissent par des séquences conservées : GU et AG (Fig 35)
- Ces séquences sont reconnues par le spliceosome (structure complexe formée de petits ARN nucléaires* et de qlqs protéines (même type de complexe que les ribosomes))
- Le spliceosome coupe l'ARN aux jonctions exon-intron et rapproche les exons pour les souder. Les introns sont ensuite dégradés dans le noyau et les nucléotides éventuellement recyclés.
- L'ARNm fonctionnel peut alors quitter le noyau. (Fig. 35)

* ANA sa small nucle

2.2.2. Maturation des ARNr

ARNr 5S : aucune

ARNr 18S, 5.8S, 28S : • pré-ARN clivé pour éliminer les séquences intermédiaires transcrites

(voir Fig 33)

• ils vont subir des repliements complexes (structure tige-boule)

2.2.3 Maturation des ARNE

• raccourcissement de l'extrémité 5'

• modification chimique = formation de bases atypiques (bases modifiées chimiquement)

(voir Fig 38)

2.3 La traduction

2.3.1 Généralités

Ce mécanisme a lieu dans le cytoplasme, uniquement à partir des ARNm.

a. Code génétique

4 bases \rightarrow 20 acides aminés différents

3 nucléotides (codon) \rightarrow un acide aminé

Exemple : des microbes ont le code des bactéries *E. coli* pour dériver le système de synthèse protéique. Ils ont *multiple start* (sans start) -1 ARN + système complet + 20 acides a.a. Et là ils ont compris comment se fait la traduction.

Codons "stop" \rightarrow pas d'acide aminé associé (UAA, UAG, UGA)

• 64 codons codent pour 1 aa

• 3 codons codent pour un signal de terminaison.

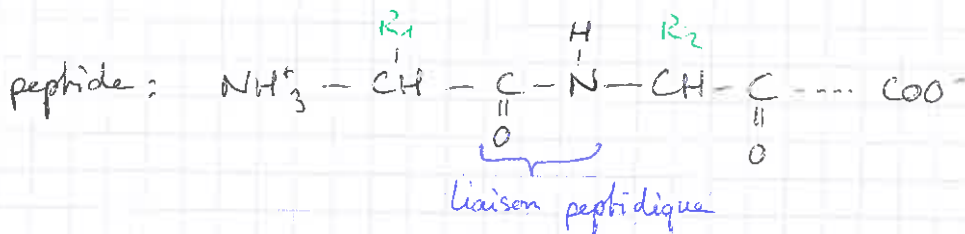
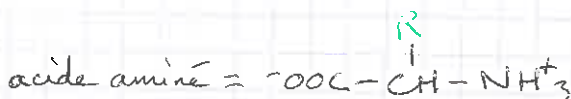
Le code génétique est dégénéré mais non-ambiguë :

\rightarrow pour un acide aminé peut provenir de plusieurs codons

\rightarrow pour chaque codon il n'y a qu'un acide aminé.

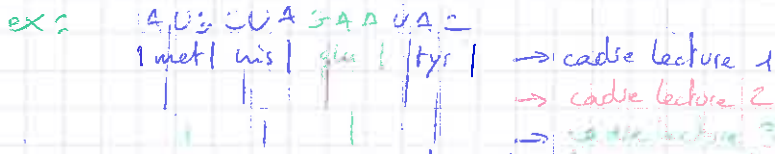
On a 4 codons pour l'adénine -- mais même la 3^e base. La dégénérescence permet la diminution des risques de malformation des protéines (la 3^e base peut muter sans conséquence)

Tous les acides sont formés : - un group^{nt} acide
- un group^{nt} amine
- un radical



b. Cadre de lecture

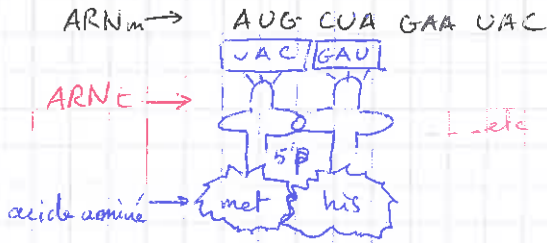
sur 1 ARNm = 3 cadre de lectures dif. selon le point de départ



Pas de reconnaissance directe entre le codon et l'acide aminé : il faut un ARNt

c. ARNt, anticodon et wobble

Un ARNt est associé à un acide aminé. C'est son accroche qui



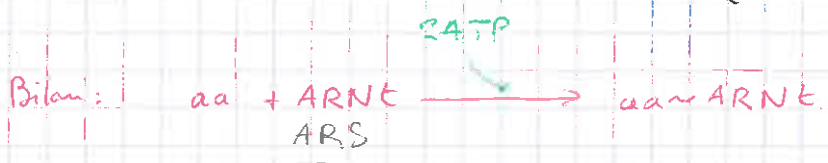
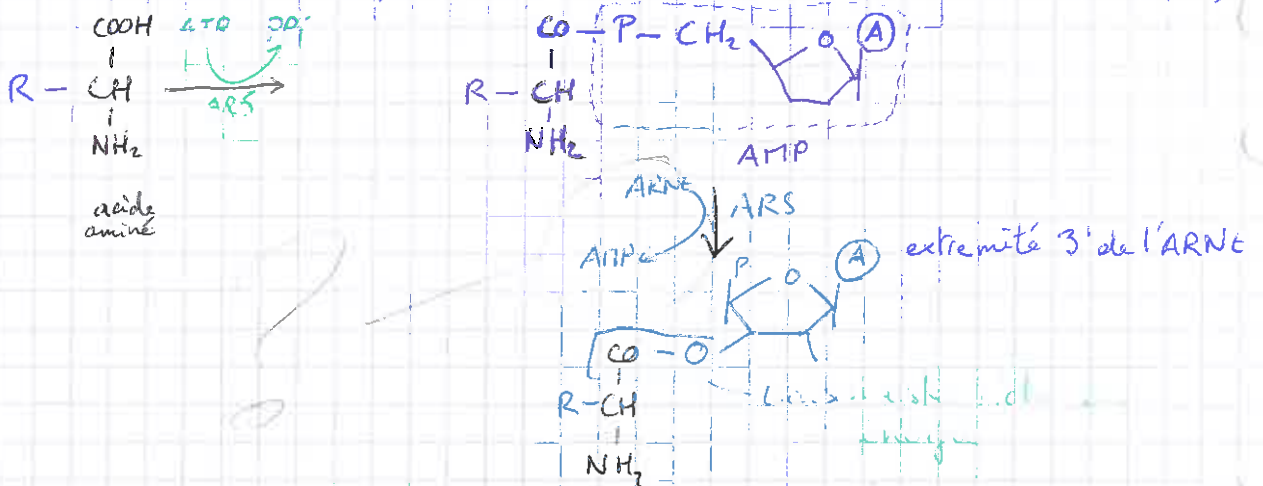
Et codons déterminant 20 acides aminés MAIS il n'y a pas 64 ARNt...
 And here, the WOBBLE arrives! → deux premières bases : appariement G-C et A-U (normal)
 → troisième base : les pyrimidine peut s'adapter à une purine et inversement prop ou ég.

Moreover, we mentioned a different "base" which is l'hypoxanthine qui donne l'inosine (I).
 On observe que l'anticodon de l'ARNt contient I qui peut s'apparier en 3^e position à un C, un U ou un A.

Ainsi, l'isoleucine possède l'anticodon UAI sur l'ARNt qui l'accompagne.
 Elle peut alors, avec le m^{ême} ARNt, se fixer aux codons AUA, AUC ou AUU

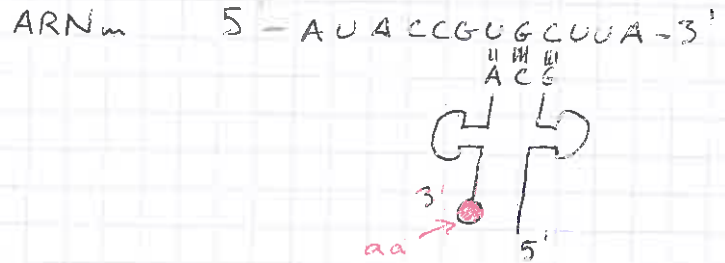
* Extrémité 3'

L'acide aminé se fixe par fixation covalente, qui met en jeu l'ARS soit ARNt Synthétase. Chaque ARS reconnaît 1 acide aminé (ou en a 20 ARS)



* Boucle de l'anticodon (permet l'appariement sur l'ARNm)

- antiparallèle
- complémentaire
- liaison H



d Le ribosome

- particules riboprotéiques = 83 protéines L et S (grosse et petite ss-unité)
4 ARNr
- leur formation nécessite les 3 ARN pol et un circuit complexe de constituants

Chaque ribosome possède (outre le site de liaison de l'ARNm) 3 sites de liaison pour l'ARNt

- site P : retient l'ARNt porteur de la chaîne polypeptidique en formation
- site A : retient l'ARNt porteur du prochain acide am. à apporter à la chaîne.
- site E : permet l'évacuation de l'ARNt sans acide aminé.

(Fig. 45)

2.3.2. L'initiation

a Repérage du site d'initiation.

Codon initiateur = - 1^{er} codon AUG

- 1^{er} acide aminé tjrs la méthionine

- dans la séquence conservée de Kozak (ACC AUG G) qui facilite la formation et fixation du complexe. + sans cette séquence, le complexe commence la traduction au 1^{er} AUG.

b Formation du complexe d'initiation (ci)

- fixation des facteurs eIF₃ et eIF_{4A} sur les 2 sous-unités ribosomales pour les maintenir séparés.

- formation du ci (avec fixation du 1^{er} aa ARNt sur la petite ss-unité et des autres eIF)

- fixation des facteurs protéique d'initiation eIF sur l'ARNm qui permet de détordre les structures secondaires

- le ci repère l'extrémité 5' de l'ARNm par la coiffe, parcourt l'ARNm vers 3' et s'arrête sur le premier AUG trouvé (plus facile avec la séquence de Kozak)

- l'anticodon Met-ARNt s'apparie au codon AUG

- fixation de la grande sous-unité, départ des eIF, et la Met-ARNt se retrouve au site P.

c Bilan



Bilan énergétique:

- hydrolyse d'un GTP en GDP
- consommation d'ATP pour se déplacer sur l'ARNm

2.3.3. L'élongation

a. Accrochage d'un nouvel aa-ARNt au site A du ribosome

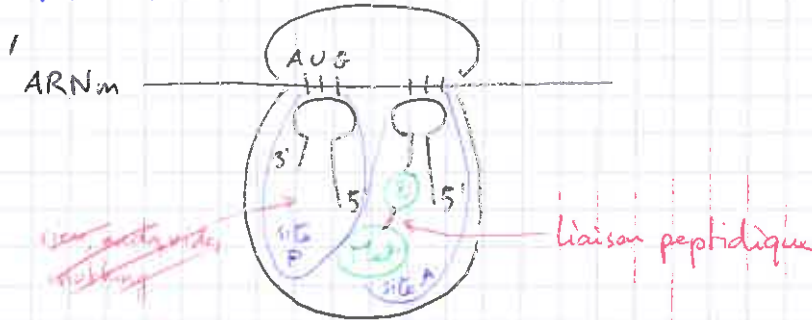
Un cycle d'élongation permet d'accrocher un acide aminé. Il se fait en 3 étapes :

- ① site A au niveau du 2^e codon
- ② aa-ARNt s'y fixe (par codon/anticodon)
- ③ formation de la liaison peptidique

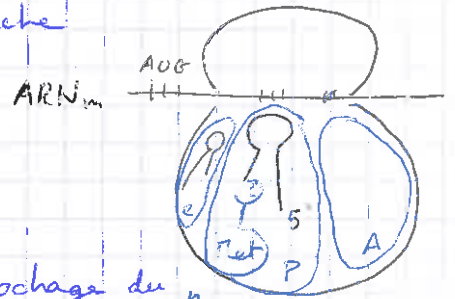
b. Formation de la liaison peptidique

- L'activité enzymatique est assurée par l'ARNr 28S avec l'aide de la peptidyl transférase
- l'énergie nécessaire pour former cette liaison fournie par aa-ARNt du site P.

L'ARNt du site P se retrouve sans acide aminé et celui du site A avec la chaîne peptidique en élongation.



- le ribosome avance d'un codon sur l'ARN_m, vers 3'
- l'ARNt sans aa se retrouve au site E, se détache
- le peptidyl-ARNt se retrouve au site P
- le site A est libre



d. Bilan énergétique de l'élongation

- hydrolyse d'un GTP en GDP lors de :
 - l'accrochage du nouvel aa-ARNt au site A
 - la translocation
- 2 ATP consommés par élongation
- + 2 ATP consommés précédemment pour former l'aa-ARNt
- ⇒ 4 ATP consommés par aa accroché à la chaîne peptidique
- ↳ très consommateur en énergie

2.3.4 La terminaison

- le ribosome arrive sur le codon stop (UAG, UGA, UAA), aucun aa-ARNt ne se fixe au site A (aucun ARNt aa-anticodon correspondant)
- le peptide est libéré de l'ARNt au site P : hydrolyse de la liaison peptidyl-ARNt
- les 2 sous-unités du ribosome se dissocient et libèrent le dernier ARNt et l'ARNm

← Fin = Fig 50 - 1 GTP consommé (néphérotome)

2.3.5 Les modifications post-traductionnelles

- clivages : - celui de la Met initiale, assez fréquent
- celui du peptide signal (10-30aa côté NH₂)
- ceux au milieu de la chaîne peptidique
- Formation de ponts disulfure (dans une chaîne ou entre des chaînes?)
- ajout de lipide (rare)
- glycosylation (svt) : fixation de sucre, ~~et~~ ~~par~~ ~~ailleurs~~, ajout de lipides

Ces modifications permettent d'acquies une protéine fonctionnelle, avec une activité enzymatique adressée au bon endroit.

2.3.6 Schéma bilan (Fig. 51)

2.4. Régulation de l'expression des gènes

Toutes les protéines codées par le génome ne sont pas requises en permanence. Alors, on règle... soit à long terme : inactivation définitive (ex. embryogenèse)
soit à court terme : inactivation/activation.

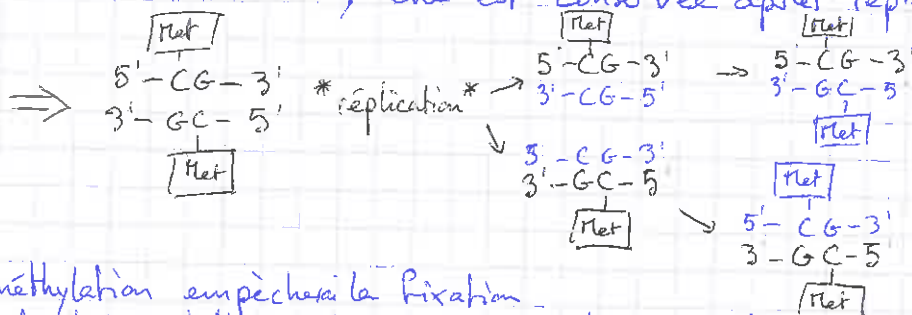
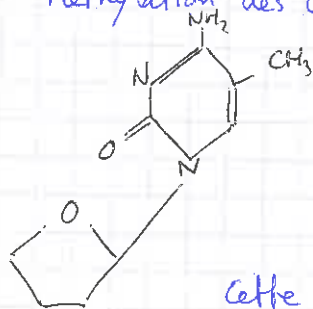
2.4.1 Niveau chromatidien

a. Accessibilité de l'ADN

La structure \bar{n} de la chromatide permet à certains gènes seulement d'être transcrits. Lorsque les fibres sont sous forme nucléosomique, la transcription est possible. Lorsque ils sont sous forme d'hétérochromatine, elle est plus difficile. Certaines zones entières du génome seraient inactivées définitivement lors de la ~~différentiat~~ par compactage définitif.

b. Méthylation de l'ADN

Méthylation des C situées en 5'CG3', elle est conservée après répliation



Cette méthylation empêchera la fixation de facteurs de transcription et rendrait donc la transcription plus difficile.

24.2 Niveau transcriptionnel

- gène avec promoteur minimal (TATA box)
- + Facteurs de transcription généraux (TFII)
- + ARN Pol II
- = Taux de transcription très faible

Dans les condit° standard, le taux de transcript° est faible, il faut de d'autres facteurs de transcript° (dits "spécifiques") qui se fixent sur des séquences de promoteurs pour que le taux de transcript° augmente.

a. Les facteurs de transcript° spécifiques

Ils sont des protéine nucléaire possédant un domaine de fixat° à l'ADN, reconnaissant une séquence régulatrice à l'ADN et pouvant s'y fixer.

La p. nucléaire possède aussi un domaine effecteur (d'activation) qui peut inhiber ou activer la transcription d'un gène.

La protéine forme une protubérance stabilisée par Zn^{2+} . Elle s'insère dans le gros sillon de l'ADN en reconnaissant 3 à 6 nucléotides spécifiques.

Les doigts de zinc reconnaissent la séquence GCGCGC.

Exemples de domaines de fixat° d'une réceptrice d' hormones
Les glyco-corticoïdes sont des hormones produites par le cortex surrénal qui augmente la transcription de plusieurs gènes, important pour le métabolisme des glucides et des protéines. Ces hormones n'étant pas chargées, elles peuvent traverser la membrane plasmique par simple diffusion dans le cytoplasme. Elles y rencontrent une classe de facteurs de transcription qui possèdent un site auquel elles peuvent se fixer. Ce sont les récepteurs de l'hormone glucocorticoïde.

Lorsque l'hormone est présente, la protéine Hsp90 est libérée, alors la séquence d'adressage est exposée, et la protéine est dirigée vers le noyau.

Lorsque l'hormone est absente, le complexe récepteur et HSP90 reste dans le cytoplasme.

Dans le noyau, deux @ du complexe se fixent à une séquence HRE de 15 paires de base, qui se trouve en amont de la boîte TATA.

L'interaction entre ces 2 @ et HRE conduit à l'augmentat° de la vitesse de transcription de l'ARN polymérase.

FIXATION "récepteur + hormone" sur l'ADN

On observe que la séquence HRE est une séquence palindromique. HRE contient deux motifs de reconnaissance: 2 @ de récepteurs se fixent sur 2 séquences séparées par 3 paires de base. Ces 3 paires bases sont un espace subtilisant pour que l'homodimère s'adapte étroitement à la double hélice (peut impacter donc les nucléotides intermédiaires).

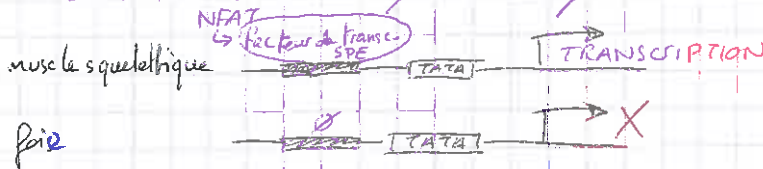
Les @ des organismes multicell. activent ou inactivent la transcript° des gènes en réponse à de nombreuses substances chimiques extra-cellulaires. Contrairement aux hormones stéroïdes (juste avant) la plupart de ces transmetteurs ne peuvent pas pénétrer directement de la cellule. Ils doivent activer des messagers intracell. qui portent le signal de la membrane plasmique.

b. Les séquences régulatrices

2 types → proximales (= activateurs), dans le promoteur (-100 à 200 pb du gène)
→ distales (= amplificateurs ou atténuateurs) & parfois très loin du gène, jusqu'à 50 kb! en avant, aval, dans un intron)
(Fig. 57)

Chaque séquence réglatrice (amplificateur ou atténuateur) fixe 1 facteur de transcription particulier, qui apporte une info particulière sur l'état de la cellule et ses besoins.

exemple: 1 gène est transcrit dans le muscle squelettique et pas dans le foie en raison de la présence ou non d'une protéine qui se fixe à la séquence amplificateur.



NFAT = c'est son nom au facteur de transcription spécialisé.

GENE DE LA MYOSINE IIa

Comment des facteurs de transcript° fixés sur des seq. rég. parfois très éloignées du début du gène peuvent-ils influencer le taux de transcript°?

Ils y a formation de boucles d'ADN amenant les facteurs de transcript° près du promoteur et du complexe de transcription.

On ne comprend pas très bien encore comment l'intégration des tous ces signaux est converti en taux de transcription.

c. Résumons!

Chaque gène possède une succession de séquences régulatrices qui déterminent son profil d'activat°. Le taux de transcription correspond à la somme de tous les signaux apportés par les facteurs de transcription.

1 facteur de transcript° peut activer plusieurs gènes, s'ils ont la séquence réglatrice correspondante.

2.4.3 Niveau post transcriptionnel

Le transcrit primaire peut être mature de différentes manières avant d'être traduit: à partir d'un seul transcrit primaire, on peut obtenir différents ARNm (en fonction de l'épissage)

a. L'épissage alternatif

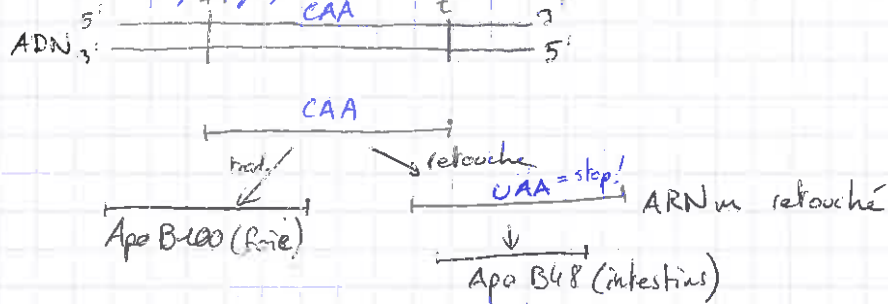
Certains exons seront conservés dans un type de ϕ , mais éliminés dans un autre. Le mécanisme est très fréquent.

b. La retouche des ARNm

Le phénomène est rare chez les eucaryotes supérieurs (courant dans les organismes simples). Modification de la séquence de l'ARNm par ajout/suppression/substitution de nucléotides. L'ARNm a une séquence qui diffère alors de celle de l'ADN sens.

exemples: ① modification d'un C en U grâce à une enzyme qu'on comprends pas trop.

② le gène de l'Apoprotéine B chez l'H.



c. Durée de vie de l'ARNm dans le cytoplasme.

On observe une dégradat° cste des ARNm dans le cytoplasme par l'extrémité 3': quand la queue polyA a disparu, la dégradation est beaucoup plus rapide. On mesure des tps de $\frac{1}{2}$ vie dans le cytoplasme. Ce tps est très variable selon l'ARNm considéré. Il peut être entre 15 et 30 min jusqu'à 24 h (tout ça chez l'H). la demi vie moyenne est de 10h.

2.4.4. Niveau traductionnel

Le contrôle de la traduc' est q est peu fréquent et peu spécifique.

Il modifie la vitesse moyenne de traduction de tous les ARNm

exemple: la phosphorylation d'un facteur E1F2 conduit à un ralentissement de l'initiation de la traduction.

2.4.5 Niveau post traductionnel

Les modif' post traduc' peuvent être inhibées dans certaines conditions. Elles donnent naissance à des protéines non fonctionnelles.

3 Les mécanismes permettant la variation de l'ADN

Pour permettre l'évolution des organismes il faut que l'ADN puisse évoluer

3.1. Les mutations

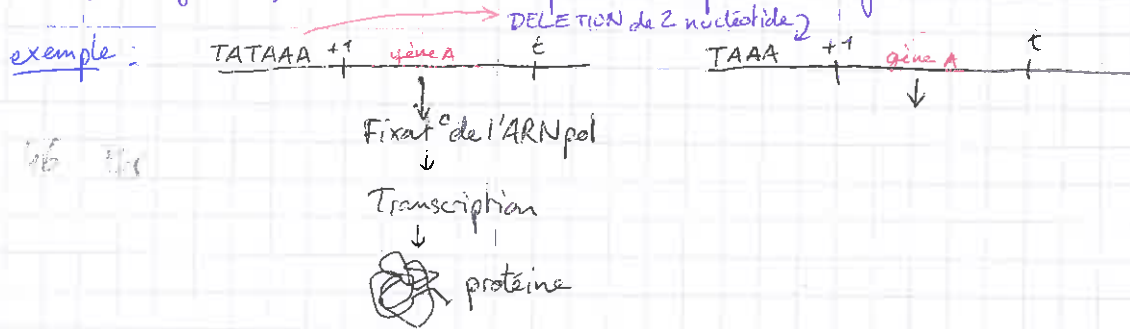
3.1.1 Les différentes sortes de mutations

a. Dans une région non transcrite de l'ADN

Dans

• région sans fct connue → pas d'effet connu.

• région régulatrice → modifie l'affinité du facteur de transcription pour cette séq. (séquence rég modifiée) → modif' du profil d'expression du gène.



b. Dans une région transcrite de l'ADN

Modification du transcrit primaire → mauvais épissage

Base substituée

• mutation silencieuse : le nouveau codon code pour le même acide aminé.

• mutation conservatrice : le nouveau aa a des propriétés proches du précédent (protéine insensiblement modifiée)

• mutation faux-sens : le nouvel aa a des propriétés très différentes (replisements et fct de la protéine très affectés)

• mutation non-sens : le nouveau codon est un codon stop (protéine pas exemple trop courte et rapidement dégradée)

Base délétée ou inversée

• décalage du cadre de lecture qui provoque

→ un long faux sens

→ un non sens immédiat

→ un décalage restreint (si la délétion est proche de la fin)

Mutation non-punctuelle : perte, addition ou inversion d'un fragment d'ADN entraîne un remaniement parfois visible sur un caryotype

3.1.2. Héritabilité de la mutation

Organismes unicellulaires avec reproduction clonale (levure) :

chaque mutation est héréditaire, elle est transmise aux cellules filles par mitose.

Organismes pluricellulaires avec reproduction sexuée

- lorsque les mutations se passent dans les cellules souches germinales, elles sont héréditaires, transmises aux descendants via les gamètes.
- lorsque les mutatio^{ns} se produisent dans les cellules somatiques, elles ne sont pas héréditaires (et disparaissent à la mort de l'individu)

32 La recombinaison

Echange de portions d'ADN entre deux doubles hélices homologues

Ce phénomène est très fréquent et existe chez tous les organismes, des bactéries aux H. Permet un échange de matériel génétique et donc une évolution des génomes

- Procédure:
- incision d'un brin
 - invasion de l'autre double hélice par ce brin
 - migration du branchement
 - coupure et ligature

(Fig. 62)

Les protéines de la recombinaison sont Rec A et Rec BCD (qui est plutôt un complexe de 3 protéines). Rec BCD peut s'insérer à l'extrémité de la double hélice, il possède une compétence hélicase et se déplace sur l'ADN en consommant de l'ATP. Ce complexe reconnaît des sites sur lesquels il peut y avoir l'incision d'un brin. Rec A est un monomère qui polymérise un filament autour de l'ADN simple brin. Il se fixe sur le brin incisé et insère ce brin dans une double hélice homologue.

33 la méiose

Brassage intrachromosomique
Crossing over, soit enjambement.

Brassage interchromosomique : ségrégation indépendante des chromosomes.

II. Gén

III org. végétal

III org. animale de la cellule

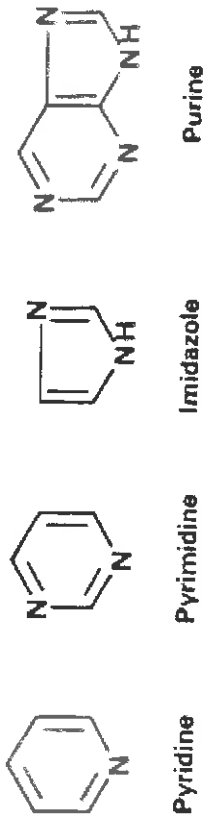


Fig1: formules élémentaires de « bases »

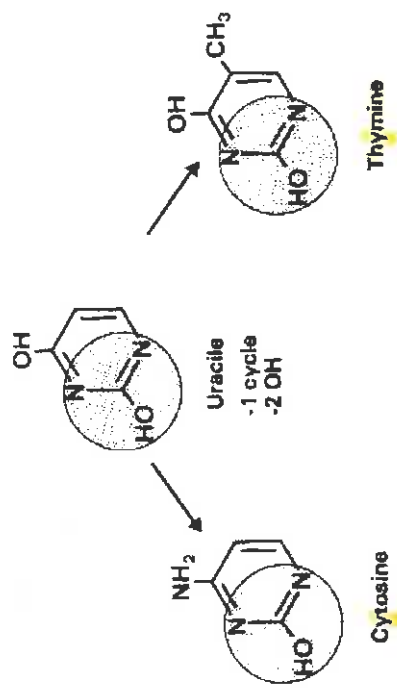


Fig2: bases pyrimidiques

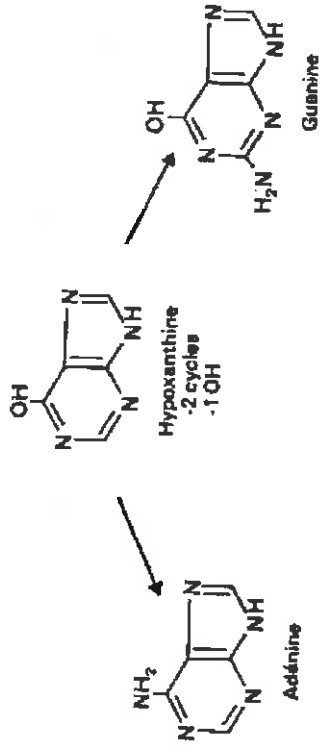


Fig3: bases puriques

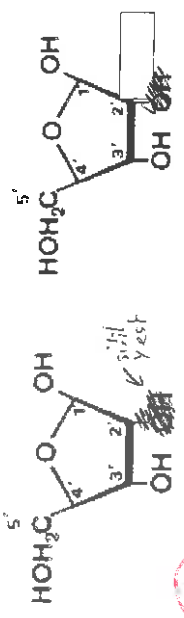


Fig4: ribose (D-ribose)

Fig5: désoxyribose (2'-désoxy-D-ribose)

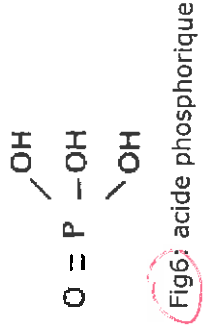


Fig6: acide phosphorique

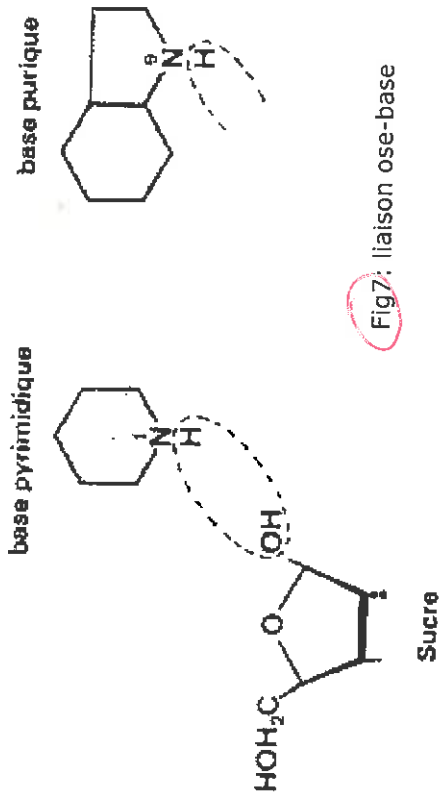


Fig7: liaison ose-base

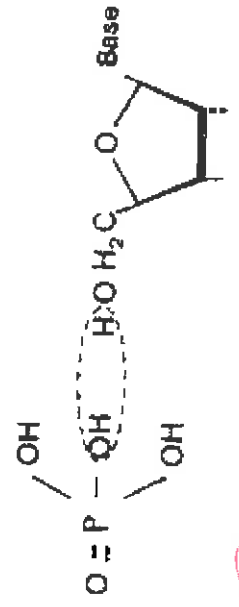


Fig8: liaison acide-base

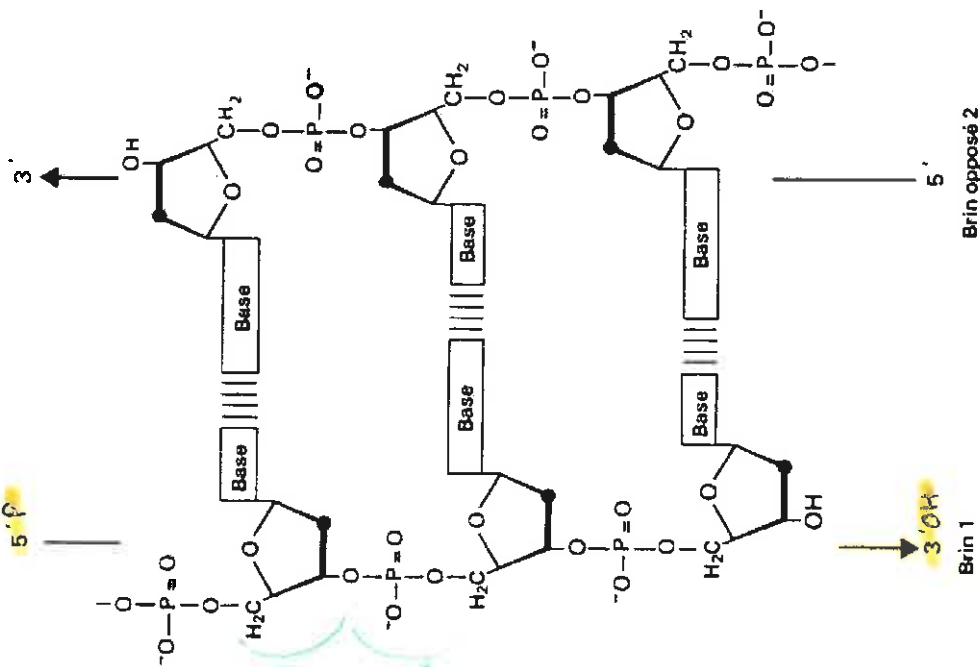


Fig9: les deux chaînes de nucléotides antiparallèles

ADN
 3 Caractéristiques
 → anti parallèles (sens de sens opposé)
 → A≡T
 → G≡C
 → hélicoïdale

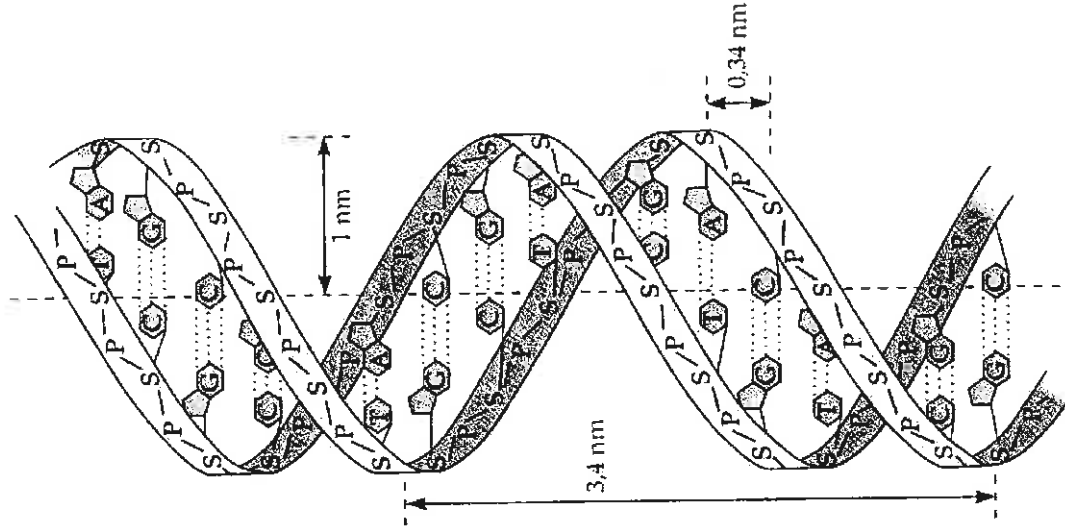


Fig11: la double hélice d'ADN

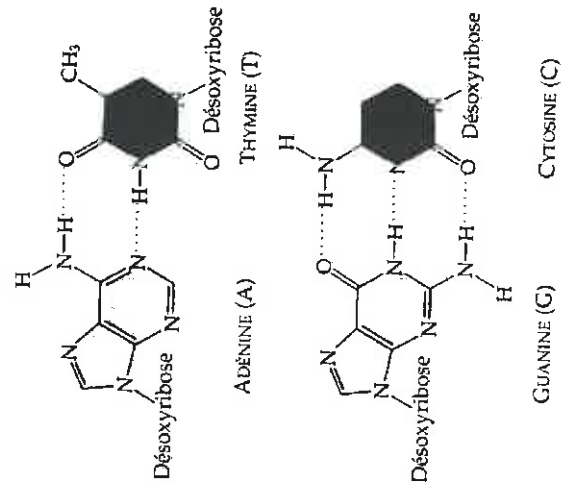


Fig10: liaisons hydrogènes des couples AT et CG

Nota: cas stérique: GRAND CYCLE (A ou G) — petit cycl (T ou C)

1953 → Watson et Crick reçoivent le prix nobel MAIS EN VRAI C'EST qui a découvert la forme hélicoïdale

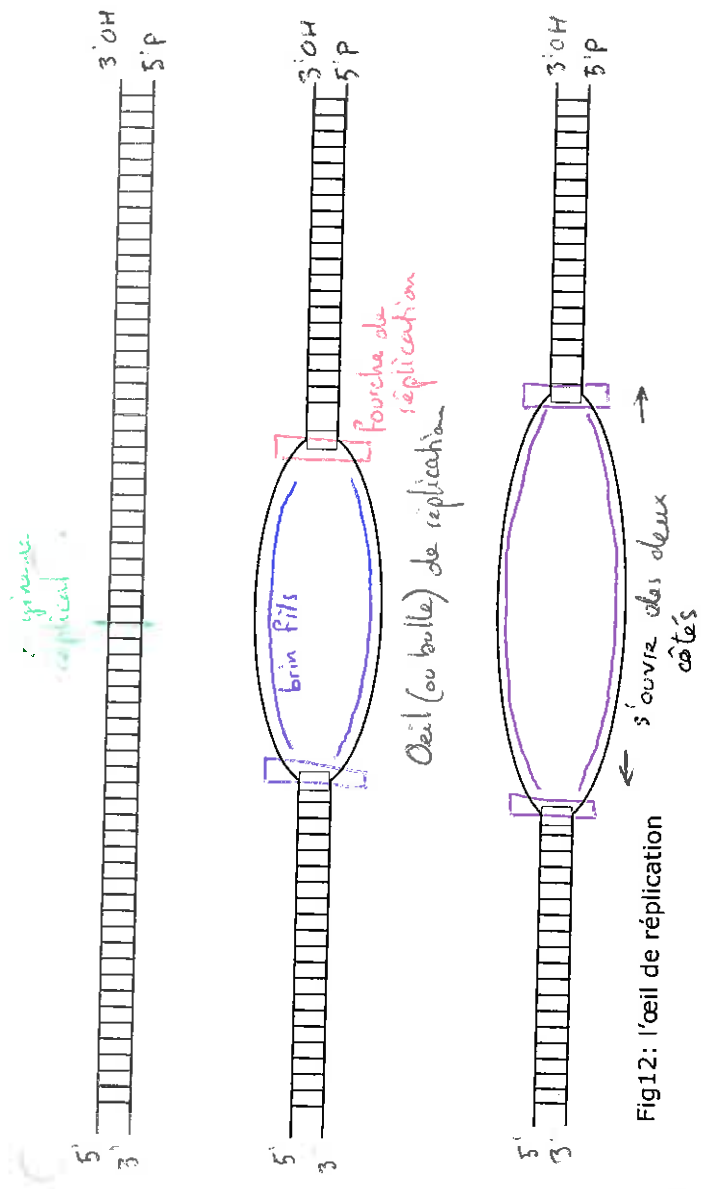


Fig12: l'œil de réplication

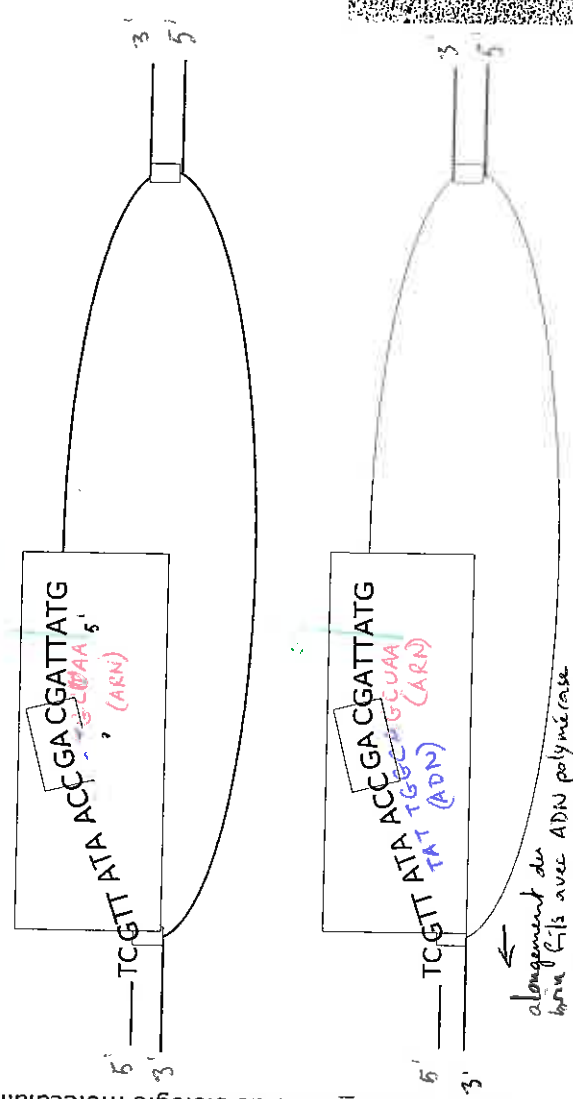
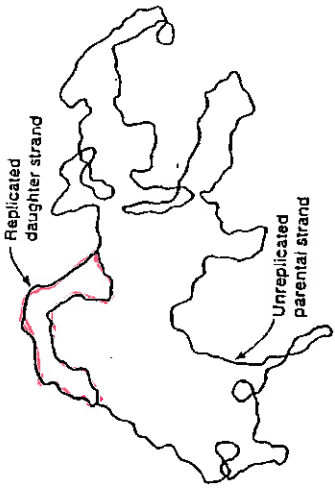
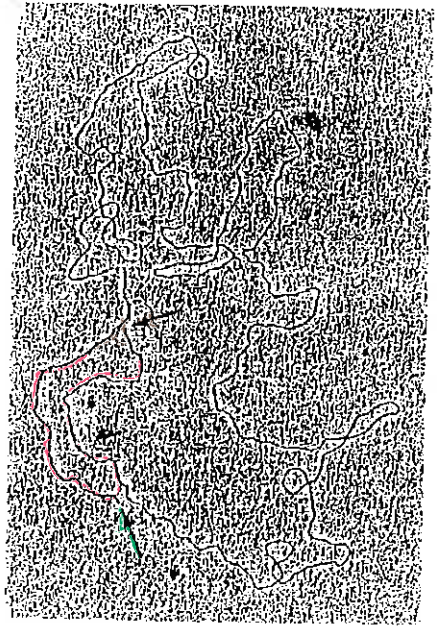


Fig15: élongation du brin fils



(a) A replicating molecule of phage λ DNA. The arrows show the two replicating forks. The segment between each pair of thick lines at the arrows is single-stranded DNA; note that it appears thinner and lighter. (b) An interpretive drawing. (Courtesy of Manuel Valenzuela.)

Fig13: l'œil de réplication

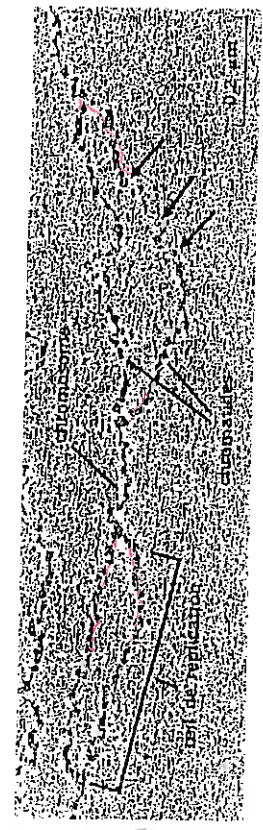


Fig14: chromatine nucléosomique en réplication

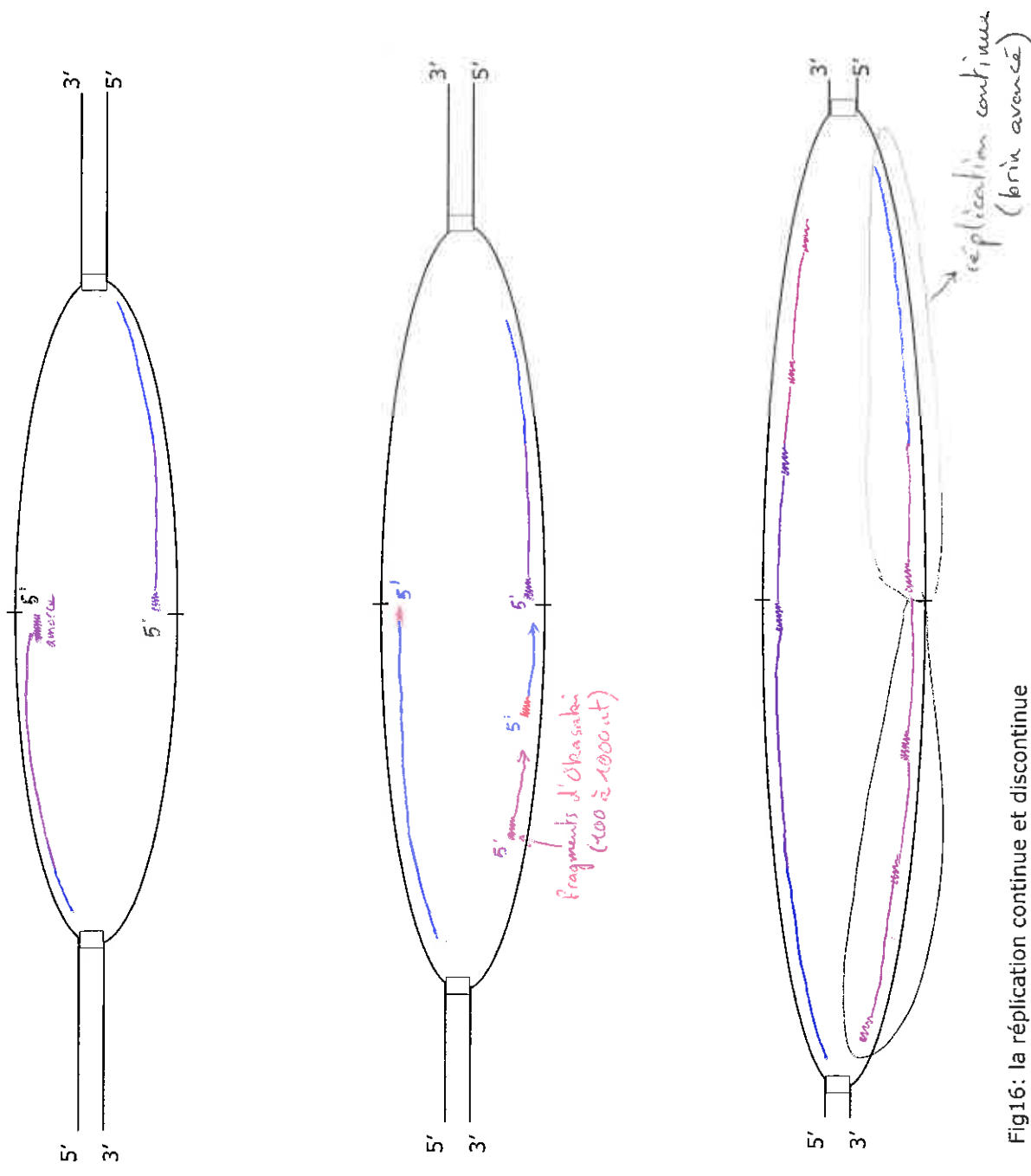
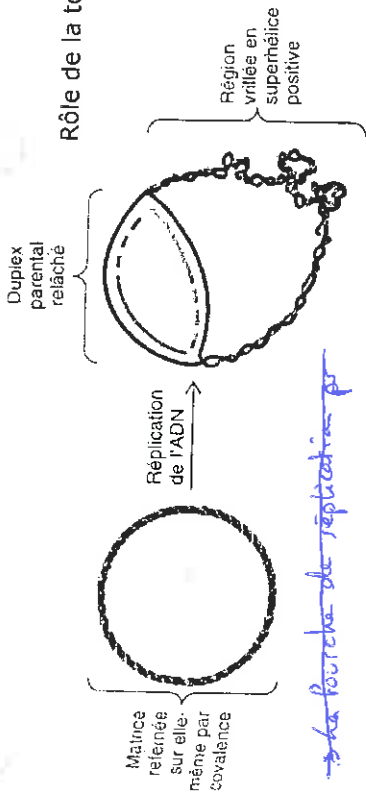


Fig16: la réplication continue et discontinue

Rôle de la topoisomérase



→ la fourche de réplication pr

A mesure que la fourche de réplication d'ADN progresse, des superhélices positives s'accumulent dans le duplex en avant de la fourche ; pour que la synthèse d'ADN puisse continuer, elles doivent être éliminées (état relâché), soit par l'ADN gyrase de *E. coli*, soit par les topoisomérases I et II d'eucaryotes. [Adapté de Kornberg 1 Baker, 1992, *DNA Replication*, 2d ed., W. H. Freeman & Co., p. 380]

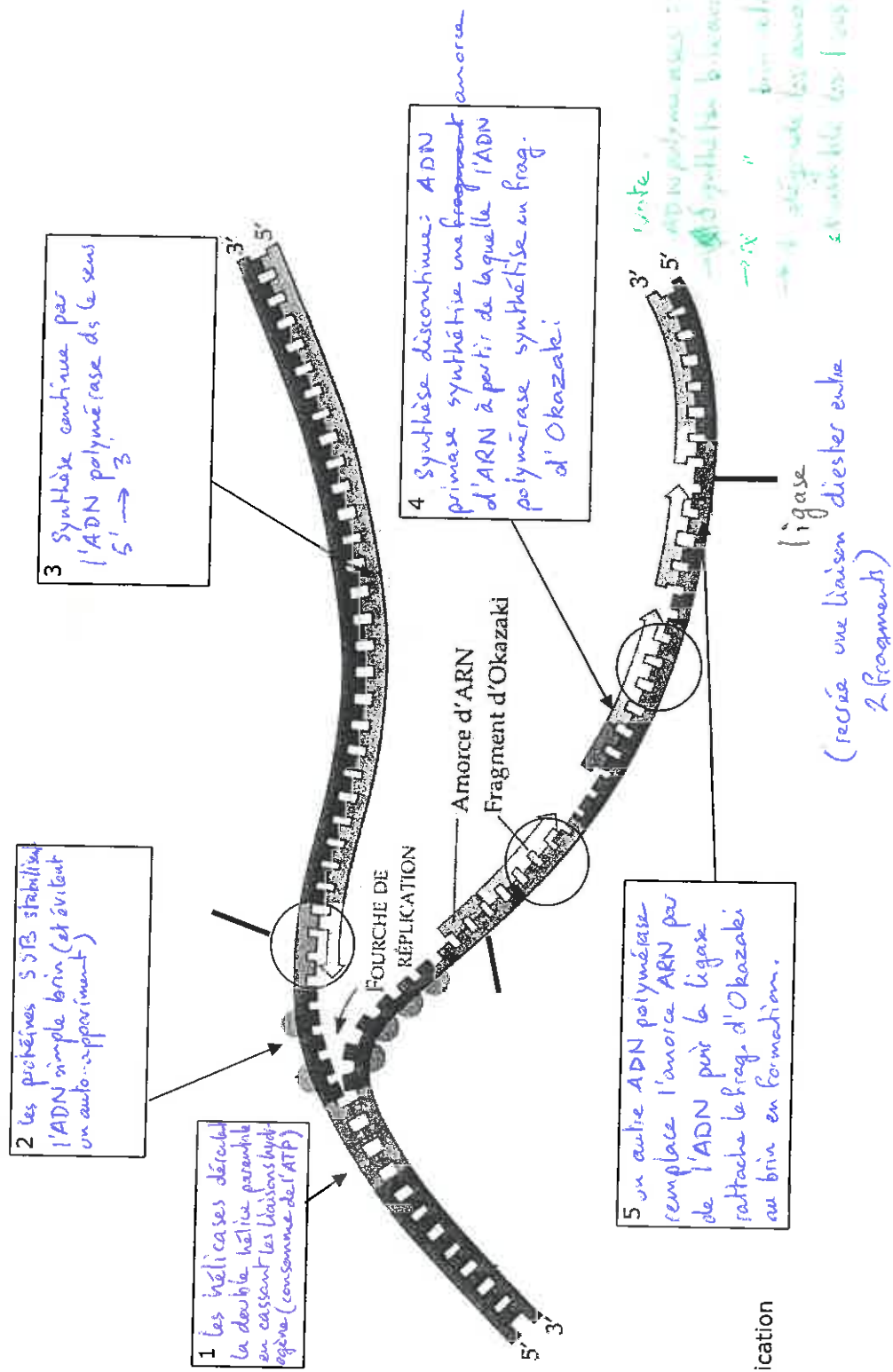


Fig17: les enzymes de la réplication

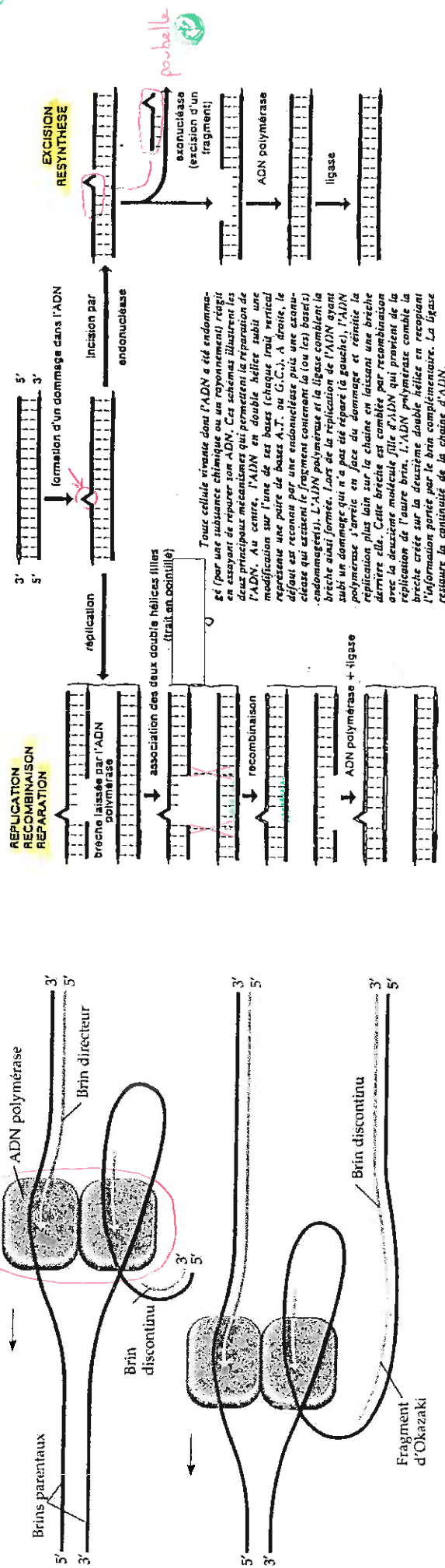
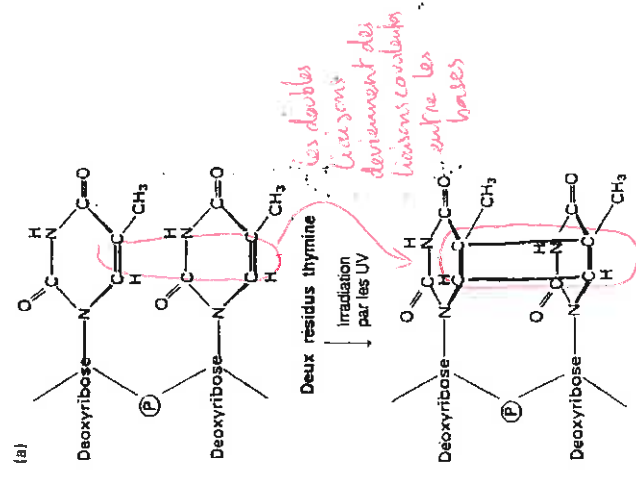


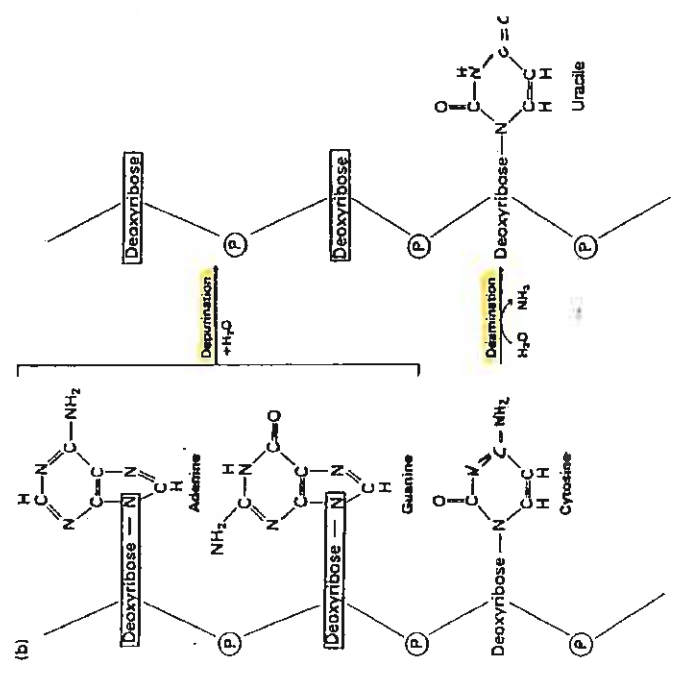
Fig18: modèle de synthèse coordonnée des deux brins



Résidu de dimère de thymine

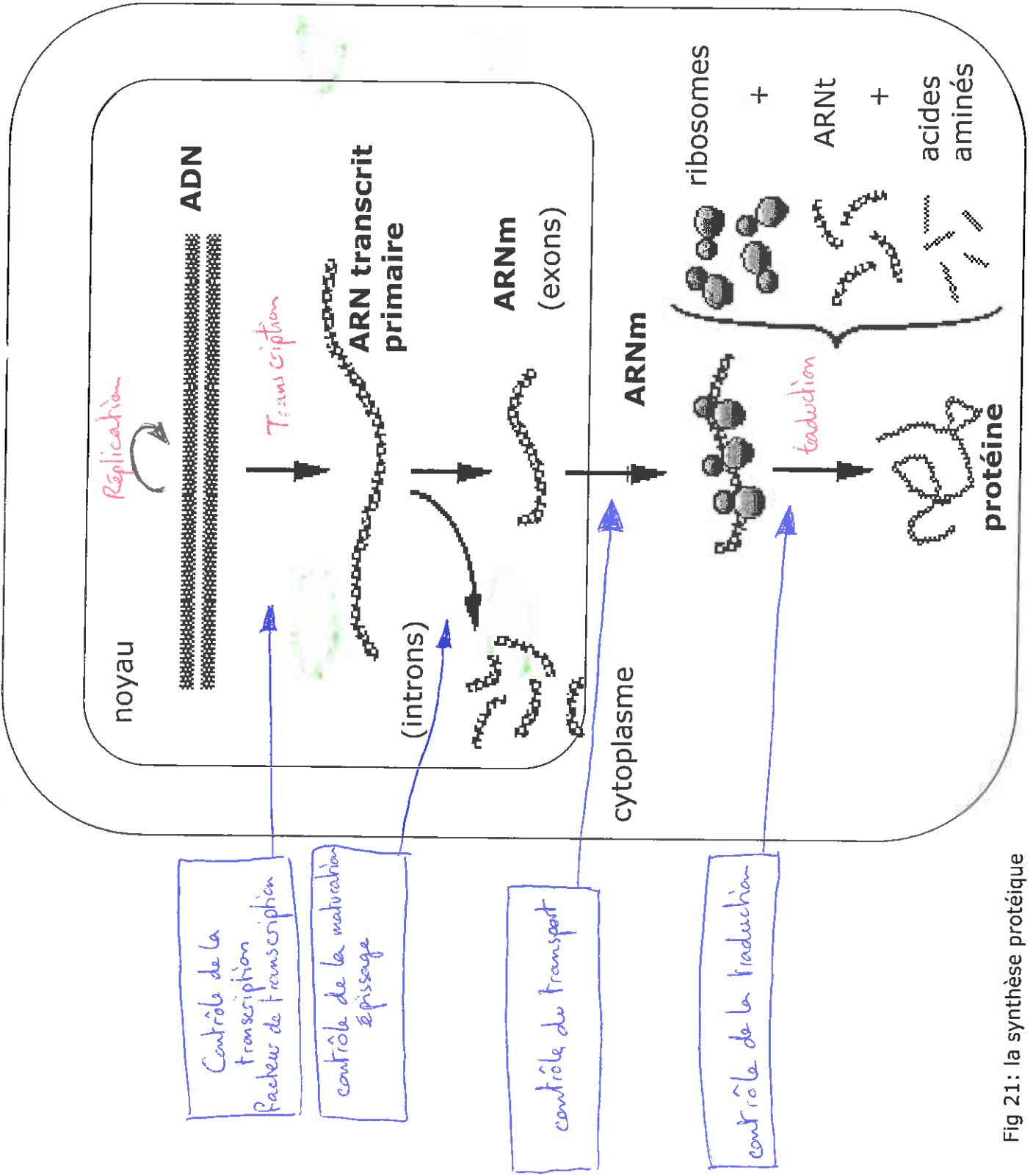
Trois types de lésions de l'ADN. (a) L'irradiation par les UV entraîne la dimérisation par formation de liaisons cyclobutyle (en rouge). (b) A pH et température physiologiques, il arrive que la liaison N-glycosidique entre une base purique et le squelette sucre-

Fig20: réparation des lésions



phosphate se rompt spontanément, en donnant un site apurinique dans l'ADN. La cytosine peut se désaminer spontanément en uracile.

Fig19: lésions de l'ADN



Cellule eucaryote

Fig 21: la synthèse protéique

Fig 22: comportement de la bulle de transcription

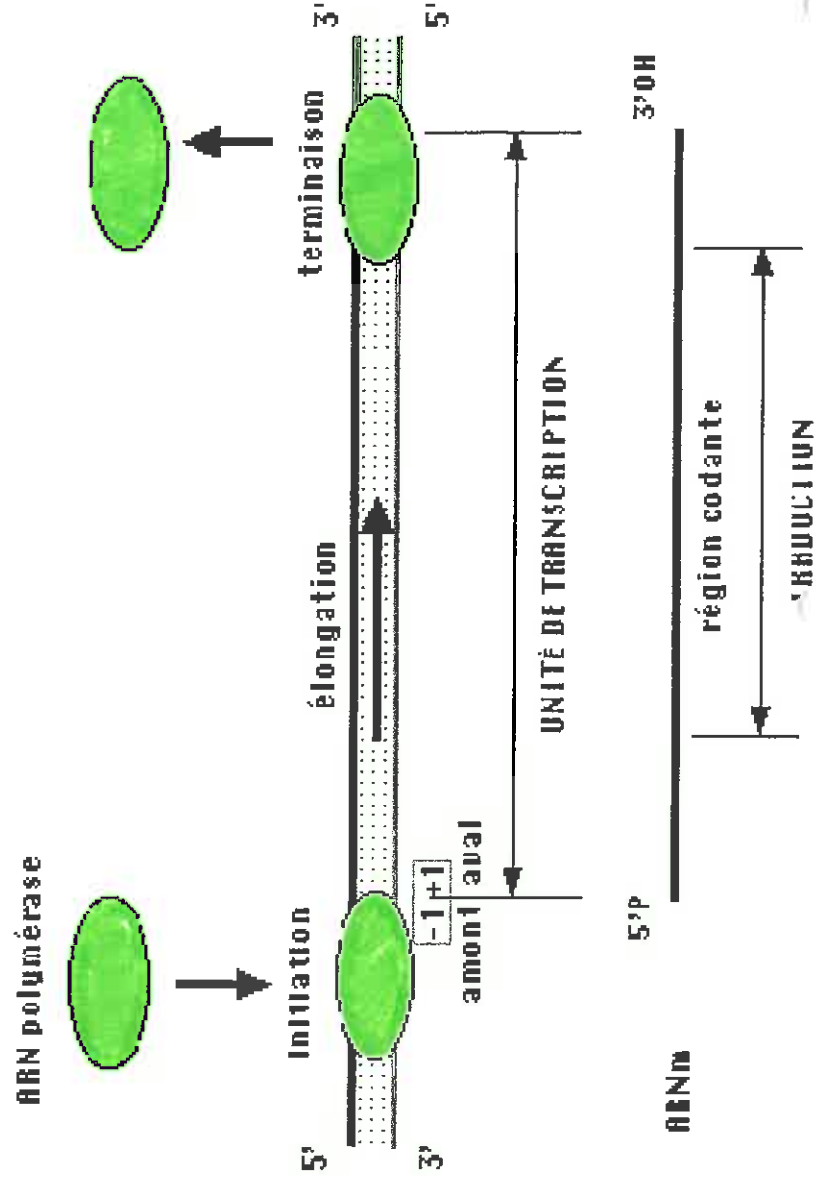
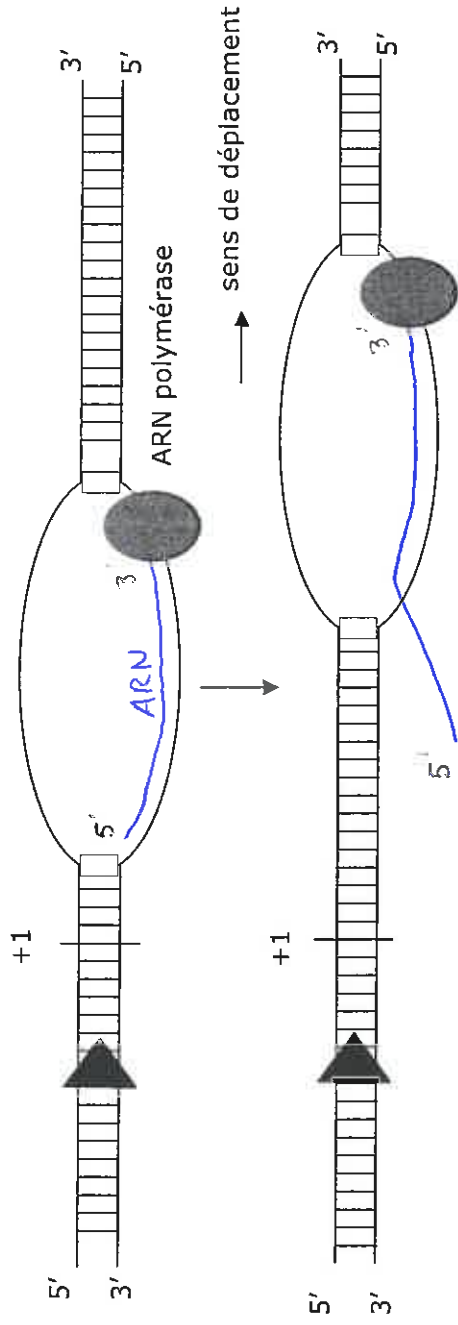
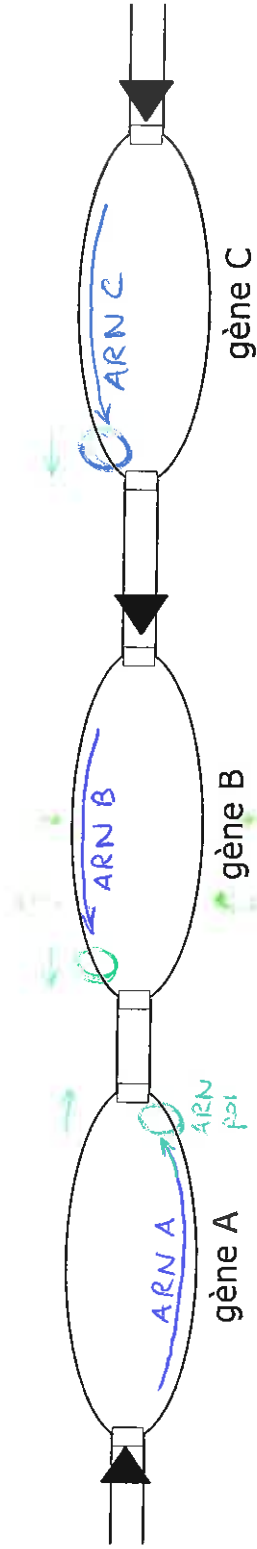


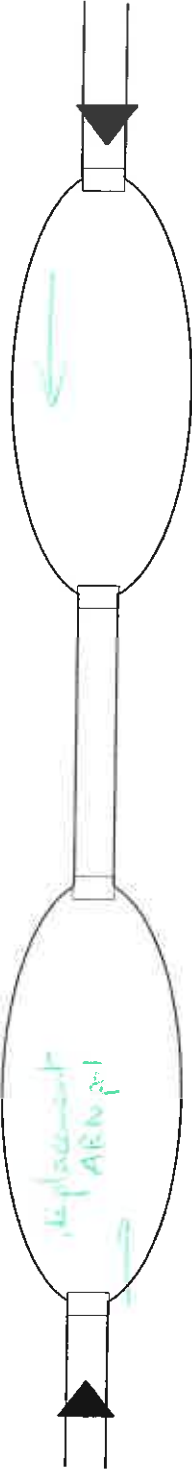
Fig 24: unité de transcription

Fig 23: quel est le brin d'ADN transcrit?

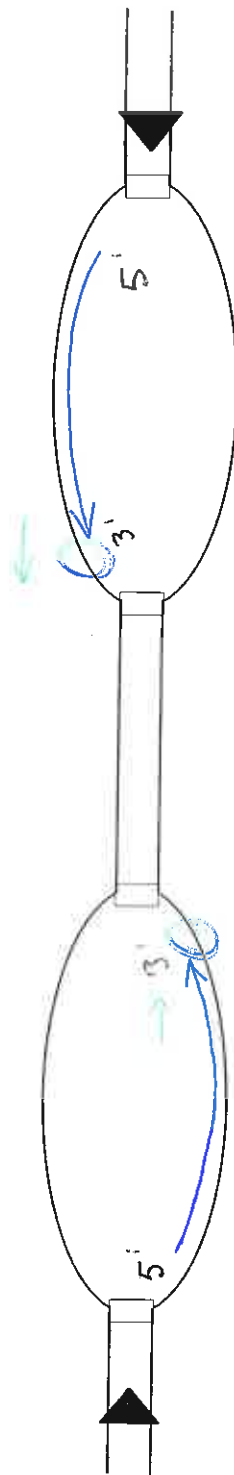
a_ le brin transcrit n'est pas toujours le même d'un gène à l'autre



b_ le sens de déplacement de l'ARN pol est déterminé par l'orientation du promoteur



c_ donc le brin transcrit dépend aussi de l'orientation de promoteur

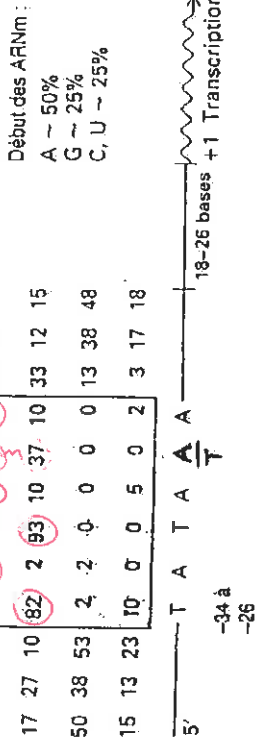


recherche

Séquence consensus

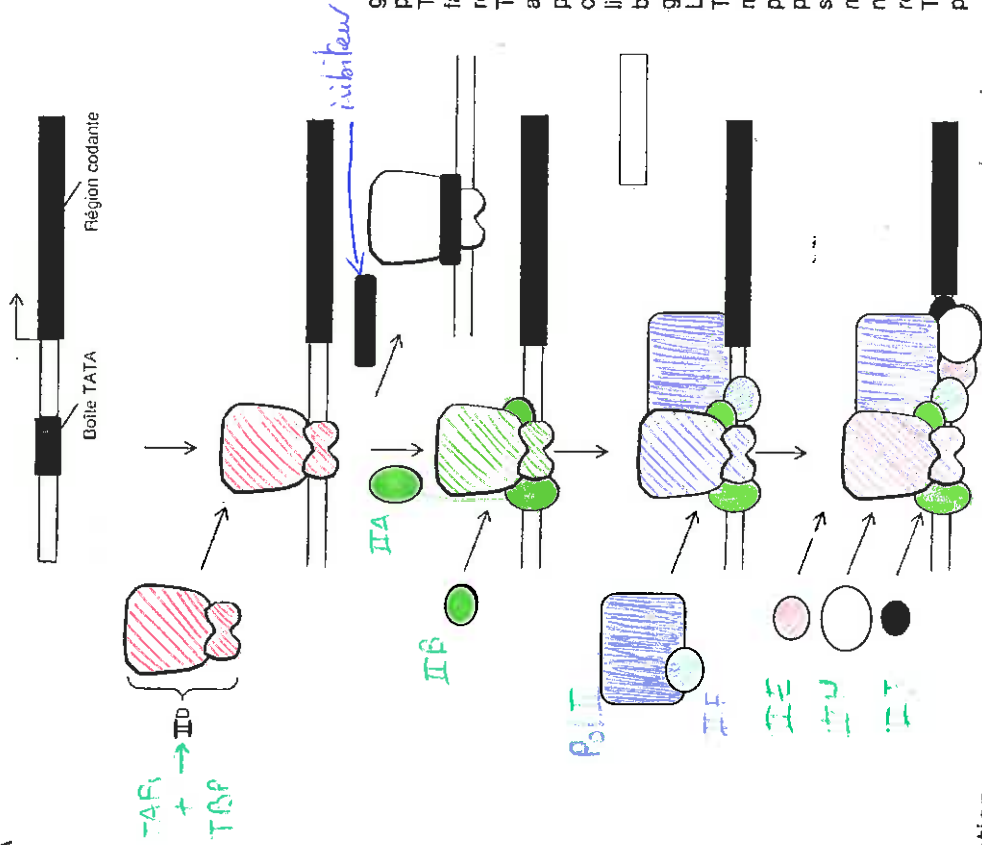
A	17	22	13	7	97	7	65	63	88	50	33	18
T	17	27	10	82	2	93	10	37	10	33	12	15
C	50	38	53	2	2	0	0	0	0	13	38	48
G	15	13	23	10	0	0	5	0	2	3	17	18

Fréquence des bases (%)



Comparaison des séquences en amont du site de départ dans 60 génomes eucaryotes différents codant pour des protéines. Chaque séquence est alignée de façon à obtenir l'homologie maximale dans la région allant de -35 à -20. Les nombres du tableau donnent la fréquence (en %) de chaque base en chacune des positions. L'homologie maximale cadre avec une séquence consensus de 6 bases dont les quatre premières sont TATA. On trouve la boîte TATA à environ 30 bases en amont du site de départ. Le nucléotide initial le plus courant des ARNm est A, mais les pyrimidines (C,U) comptent pour 25%. [Voir R. Breathnach & P. Chambon, Ann. Rev. Biochem., 50 : 349 ; et P. Bucher & E. N. Trifanov, 1986, Nucleic Acids Res. 14 : 10009.]

Fig 25: séquence consensus TATA



Tous ces éléments* se fixent au fur et à mesure. C'est une "chaîne" qui se peut se former si il manque un "maillon", ou si se fixe un initiateur

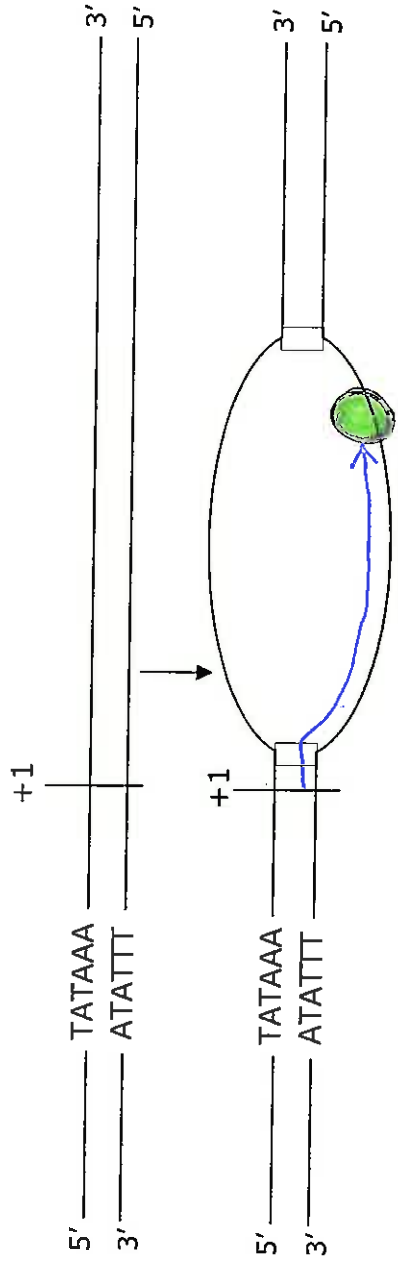
* protéines

Fig 26: l'initiation de la transcription

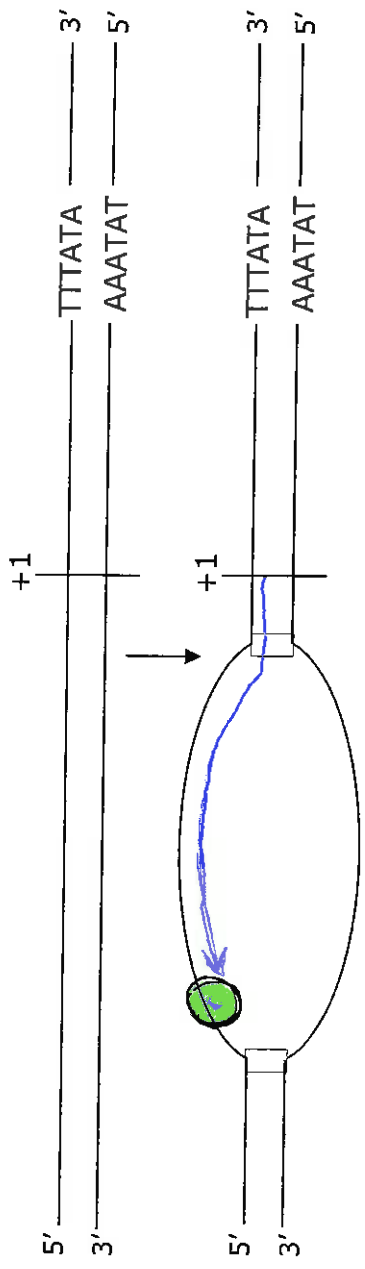
↳ la transcription commence : ouverture de la double hélice,

Modèle d'assemblage du complexe d'amorçage de l'ARN polymérase II sur un promoteur à boîte TATA. Rejoint d'abord la boîte TATA le facteur TFIID, composé d'un protéomère se fixant à la boîte TATA, appelé TBP (en bleu foncé) et de plus de huit autres protéomères (TAFs) représentés par un gros élément (en bleu clair). Au complexe TFIID-promoteur peuvent se lier des inhibiteurs (en vert), ce qui bloque l'arrimage d'autres facteurs généraux de transcription. L'attachement de TFIIF au complexe TFIID-promoteur prévient l'attachement de l'inhibiteur et forme le complexe TFIID-TFIIF-promoteur (complexe D-A). Vient alors s'y fixer TFIIB, suivi par le complexe TFIIF-ARN polymérase II (en rouge). La polymérase ne commencera cependant à transcrire que lorsque, dans l'ordre, TFIIE, TFIIH et TFIIJ auront rejoint le complexe.

Fig 27: l'orientation du promoteur détermine quel brin sera transcrit, elle est due à l'asymétrie de la boîte TATA (ou a pas "ATAT")



a_premier cas de figure



b_deuxième cas de figure

La boîte TATA est fixée sur le brin sens.

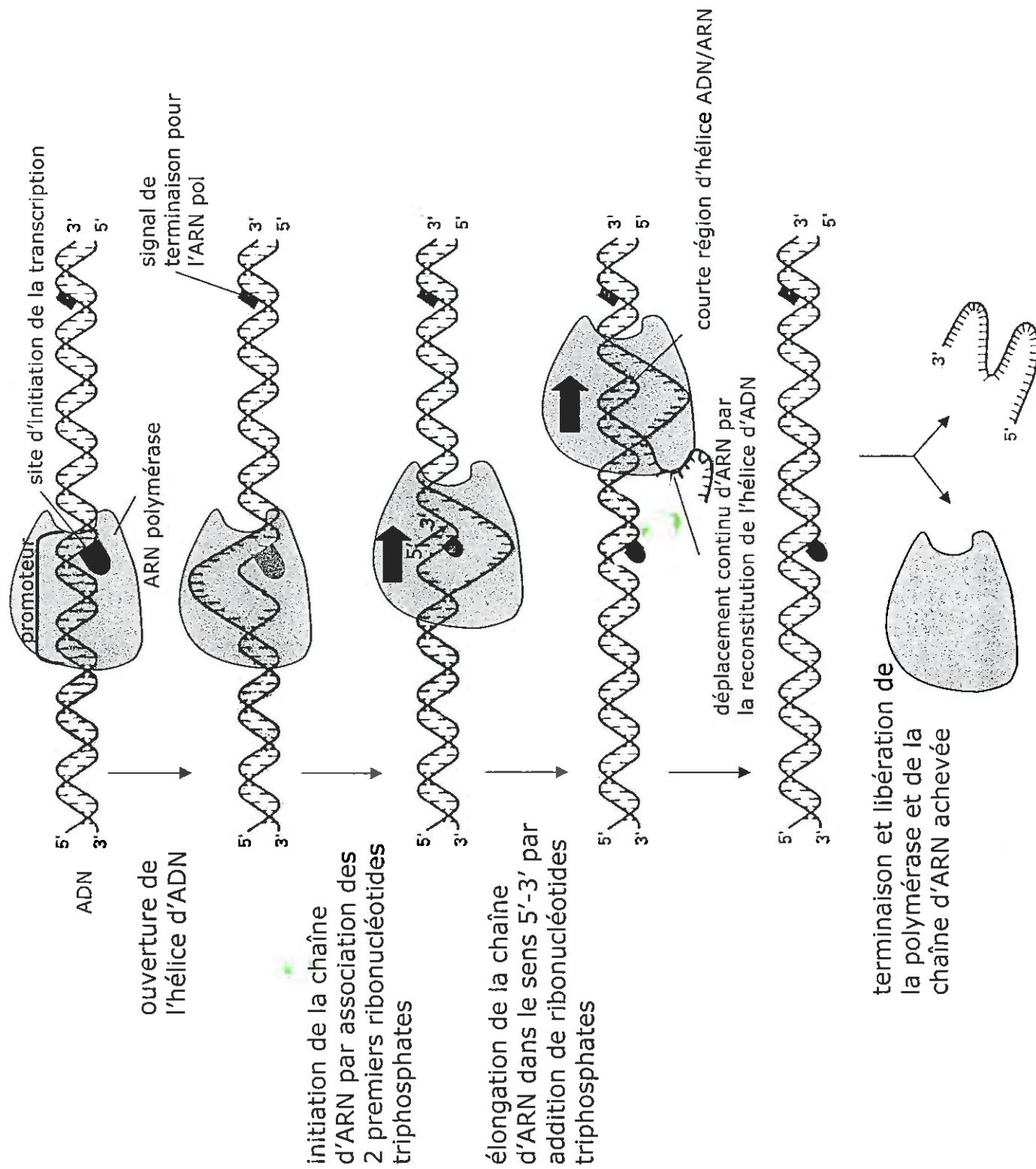


Fig 28: l'élongation de la transcription

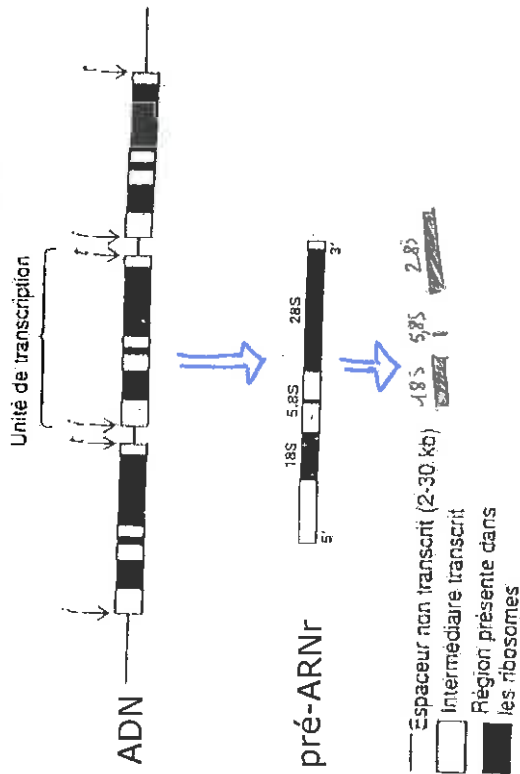
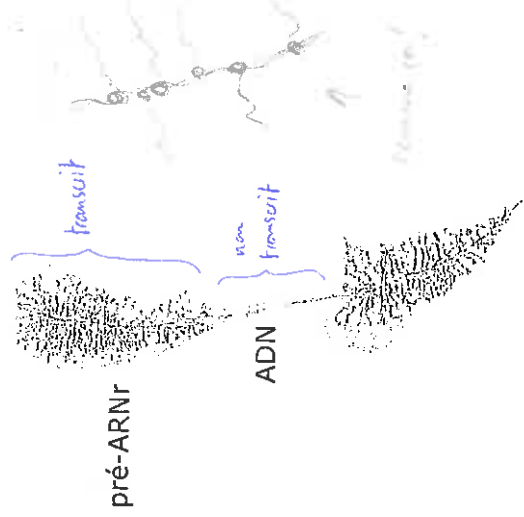


Fig 29: organisation des gènes d'ARNr, disposés en tandem, et transcription du pré-ARNr



Unité de transcription d'ADN ribosomiel, observée au microscope électronique. Sur une grille de microscope électronique, on a étalé le contenu nucléaire d'ovocytes lysés de grenouille, puis on a séché et ombré l'échantillon. Chaque « plume » est l'image connée par l'ensemble des molécules naissantes de pré-ARNr produites sur une unité de transcription d'ADN. Sur la fibre d'ADN, ces unités se suivent à répétitions dans la même orientation (répétition en tandem) et sont séparées par des espacesurs (séquence intercalaires) non transcrites. Cliché aimablement fourni par Y. Oshim et O. J. Miller, Jr.

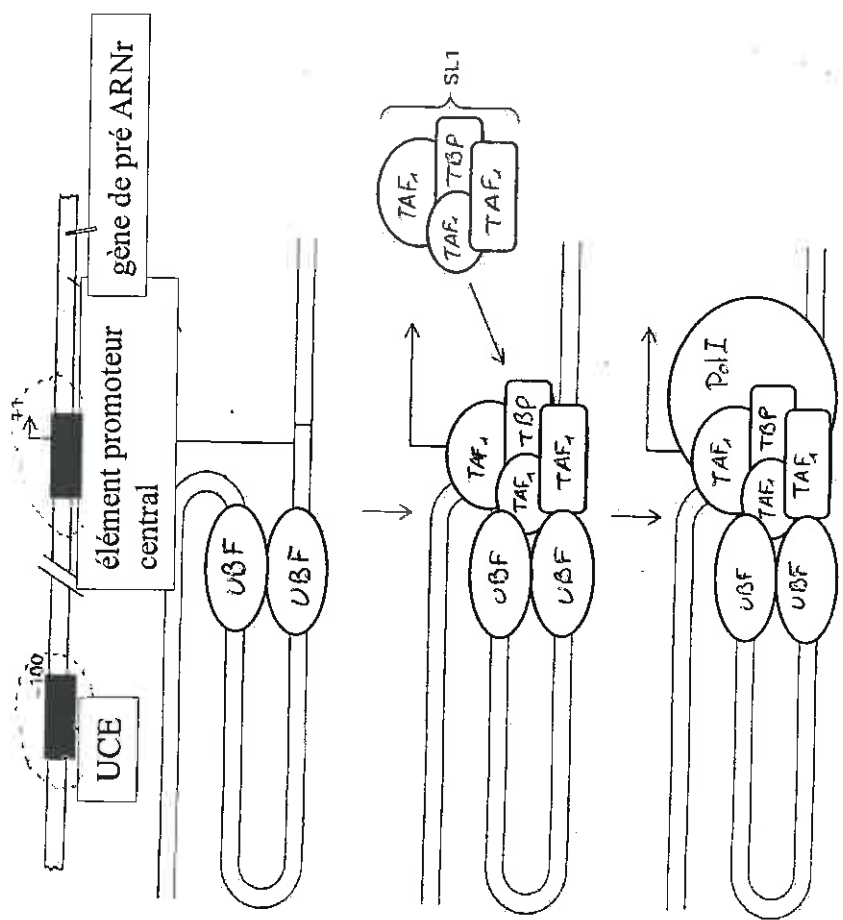


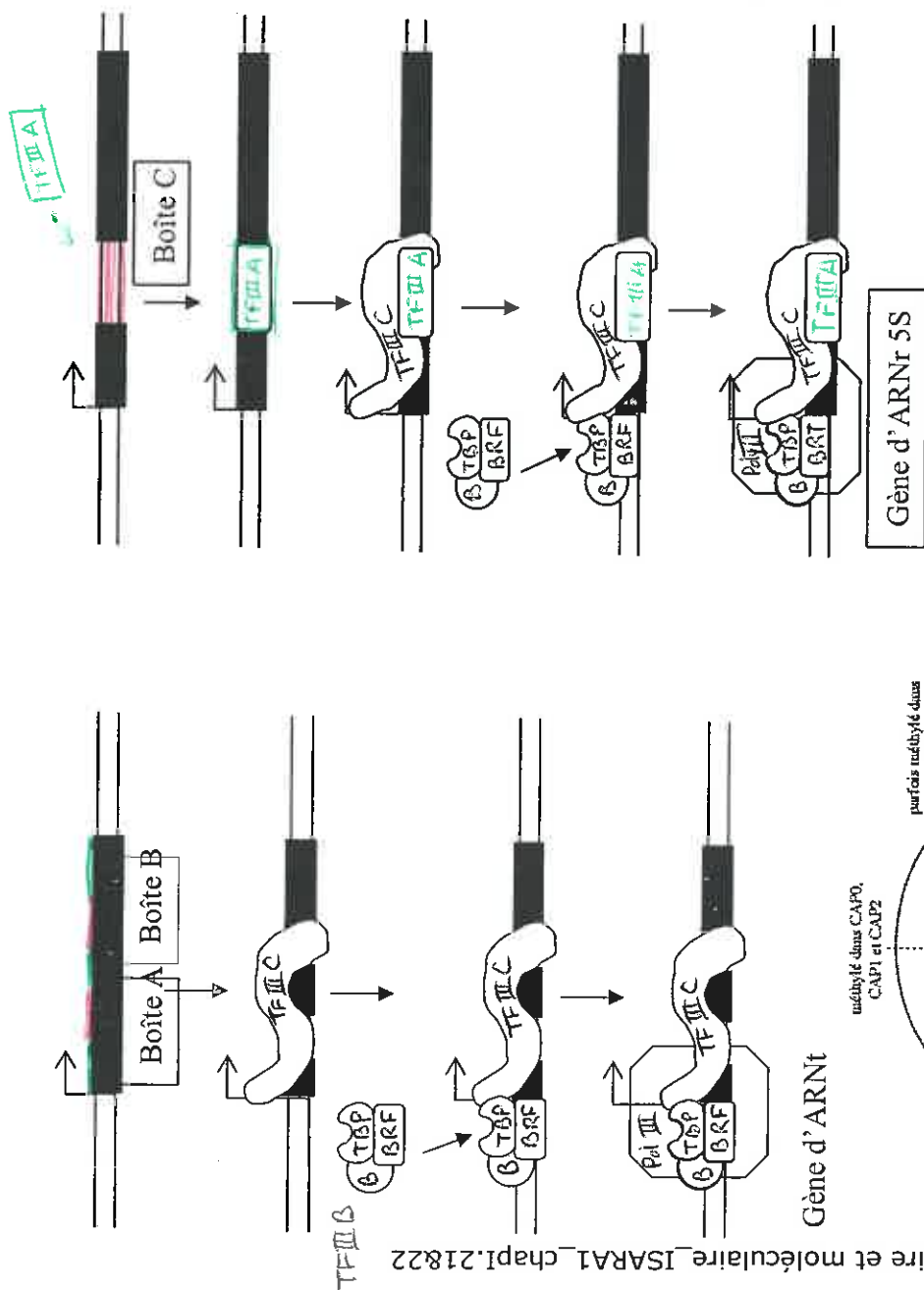
Fig 30: la machinerie de transcription par l'ARN Pol I

Assemblage idéalisé du complexe d'amorçage utilisé par l'ARN polymérase I. La région qui gouverne les unités de transcription de pré-ARNr comporte un élément promoteur central qui débordé le site de départ et un élément de commande amont (UCE) logé à ≈100 pb en amont. Le facteur TBP et de trois facteurs auxiliaires (TAF₁), dont les poids moléculaires sont de 110, 63 et 48 kDa. L'assemblage du complexe d'amorçage s'achève par l'accostage de l'ARN polymérase I.

Fig 31: transcription continue par l'ARN pol I

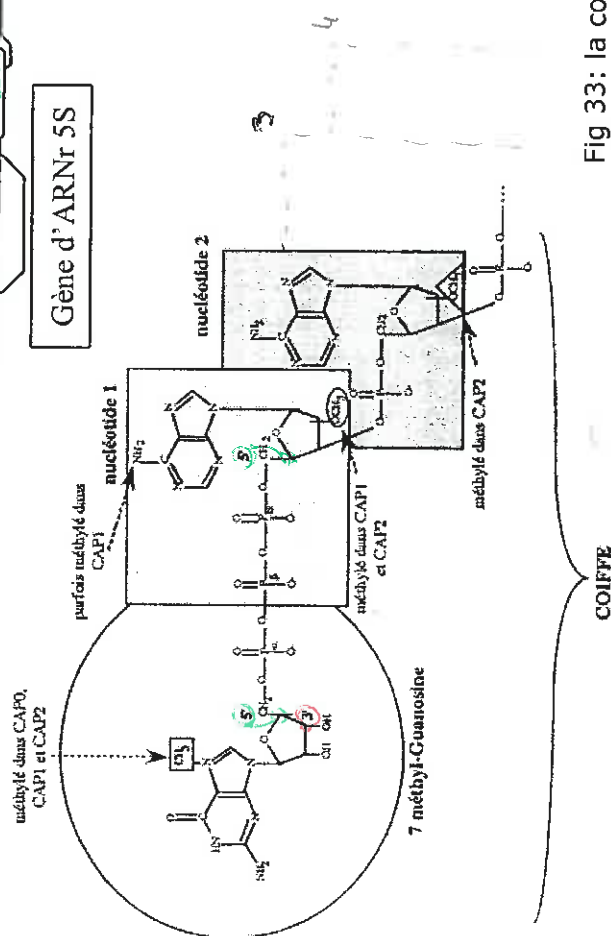


Fig 32: la machinerie de transcription de l'ARN pol III



Croquis d'assemblage d'un complexe d'amorçage de l'ARN polymérase III sur les promoteurs ARNt et ARNr 5S de levure. (a) Dans le processus de transcription des gènes d'ARNt, la grande protéine multimérique TFIIIC s'attache fermement à la boîte B de l'élément promoteur et avec une affinité plus faible à sa boîte A ; ainsi sert-il d'auxiliaire d'assemblage pour amener le trimère TFIIIB au contact de toute séquence d'ADN siégeant en amont du gène d'ARNt. TBP (en bleu foncé) est un des protomères de TFIIIB. Celui-ci une fois fixé, l'ARN polymérase (en rouge) vient accoster au site et commence à transcrire. (b) Dans la transcription des gènes d'ARNr-5S, TFIIIA commence par rejoindre la boîte C de l'élément promoteur, puis TFIIIC vient s'accrocher à TFIIIA et y reste fixé par des interactions de protéine à protéine, dans la même position par rapport au site de départ que celle qu'il occupe sur les gènes d'ARNt. Ensuite vient se fixer TFIIIB, suivi de l'ARN polymérase III, comme dans la transcription des gènes d'ARNt.

Fig 33: la coiffe en 5'



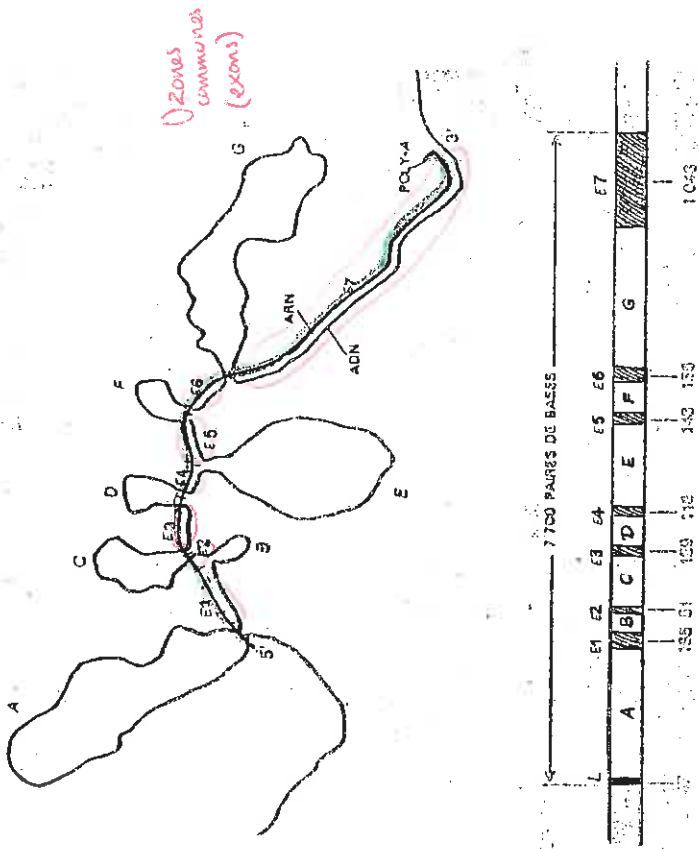


Fig 34: l'organisation morcelée du gène de l'ovalbumine - expérience au cours de laquelle le brin codant de l'ADN contenant le gène de l'ovalbumine (protéine de blanc d'œuf) est hybridé avec l'ARNm correspondant de l'ovalbumine.

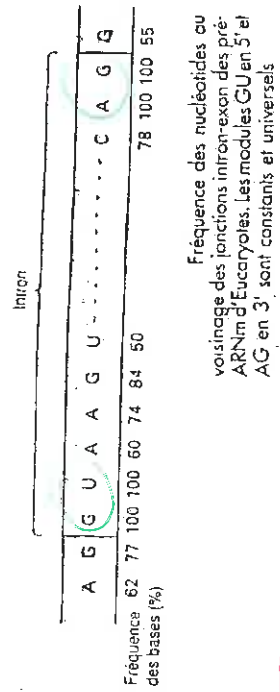
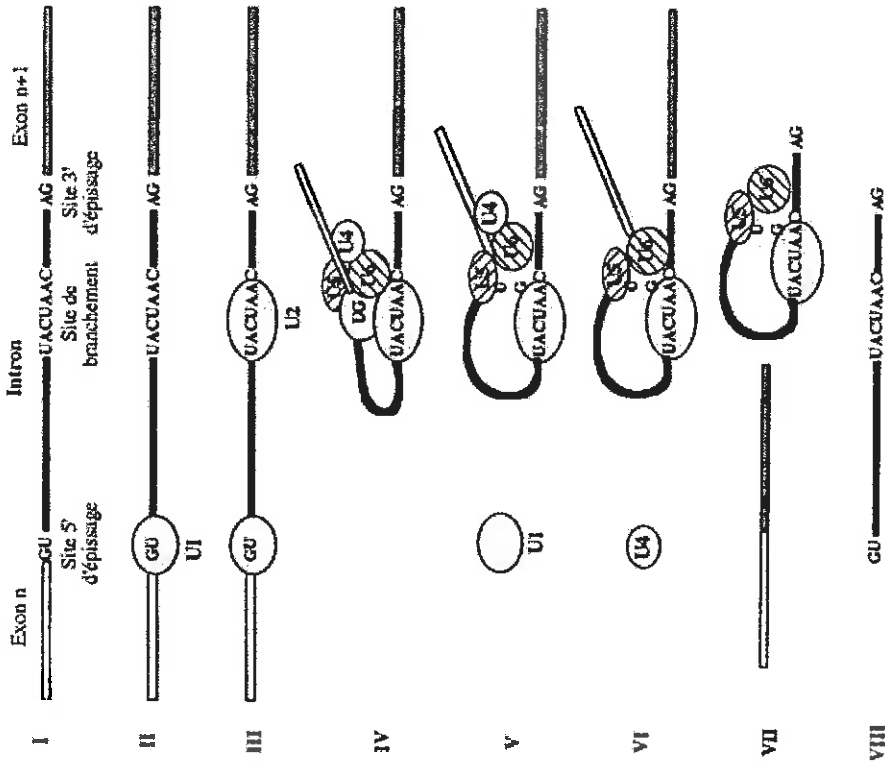


Fig 35: les séquences conservées des introns



- I : Structure du transcrit primaire
- II : U1 reconnaît le site 5' d'épissage par interaction ARN/ARN ;
- III : U2 reconnaît le site de branchement par le même type d'interaction ;
- IV : l'hétérotrimère U4/U5/U6 se lie. U5 reconnaît le site 5' d'épissage. U6 interagit avec U2.
- V : U1 se dissocie. U5 se déplace de l'exon à l'intron.
- VI : U4 se dissocie. U6 catalyse la trans-estérification - le site 5' d'épissage est coupé et le lasso est formé.
- VII : Le site 3' d'épissage est coupé et les deux exons ligaturés. L'ARN épissé est libéré.
- VIII : Le lasso est "débranché"

Fig 36: excision-épissage des introns

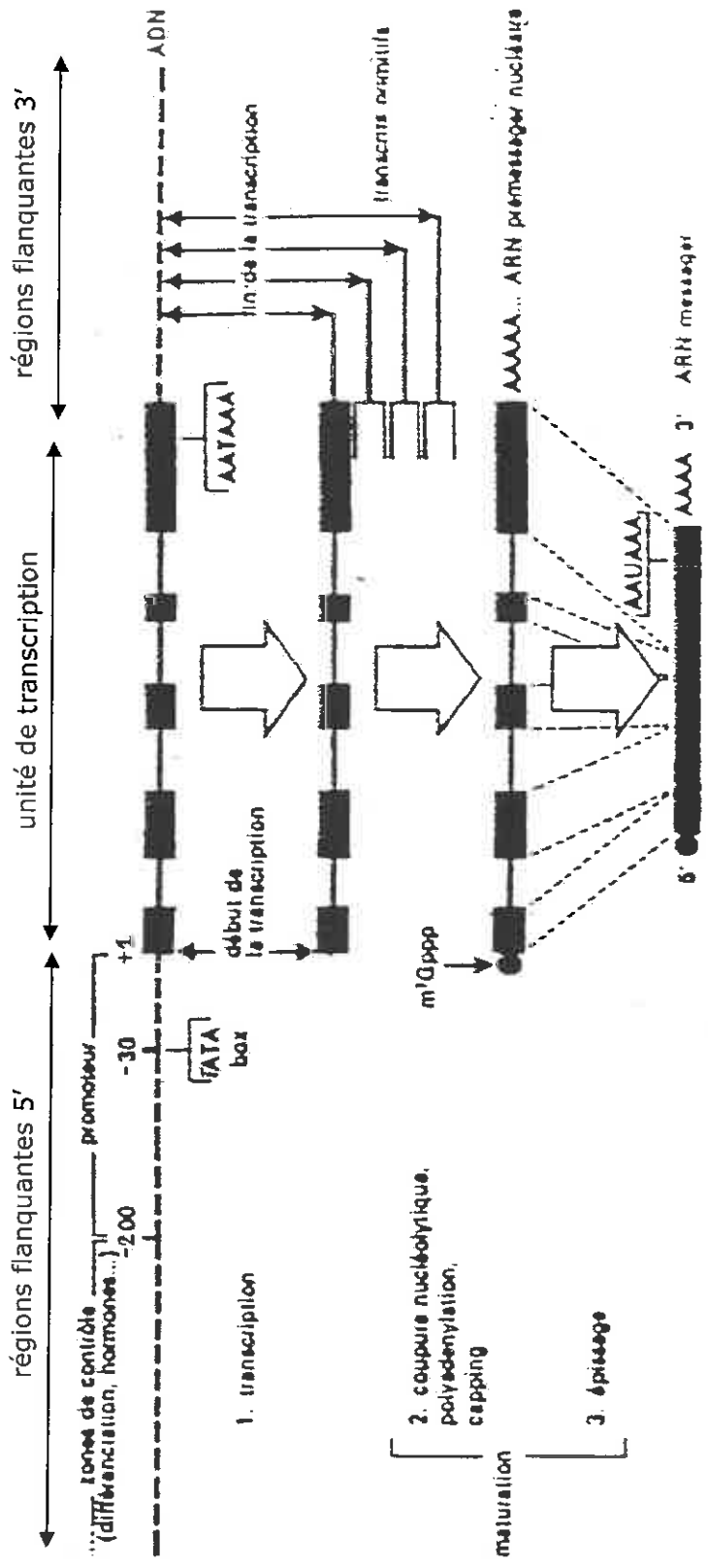
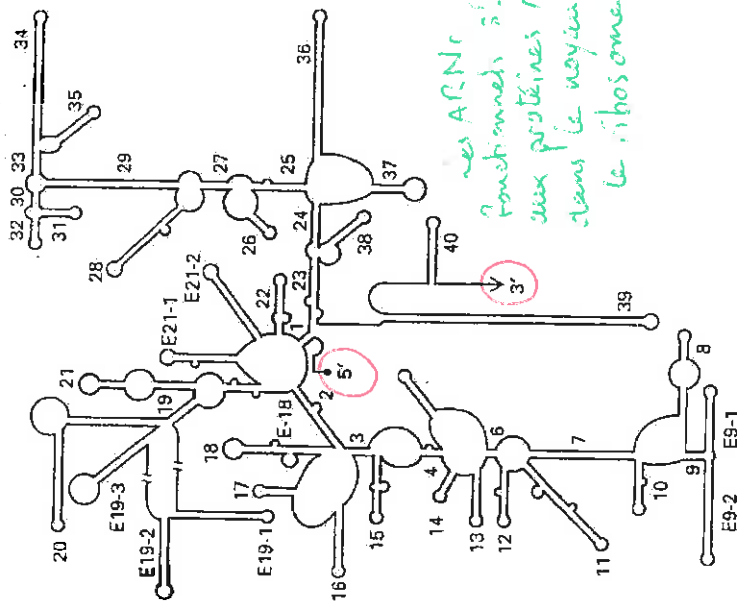


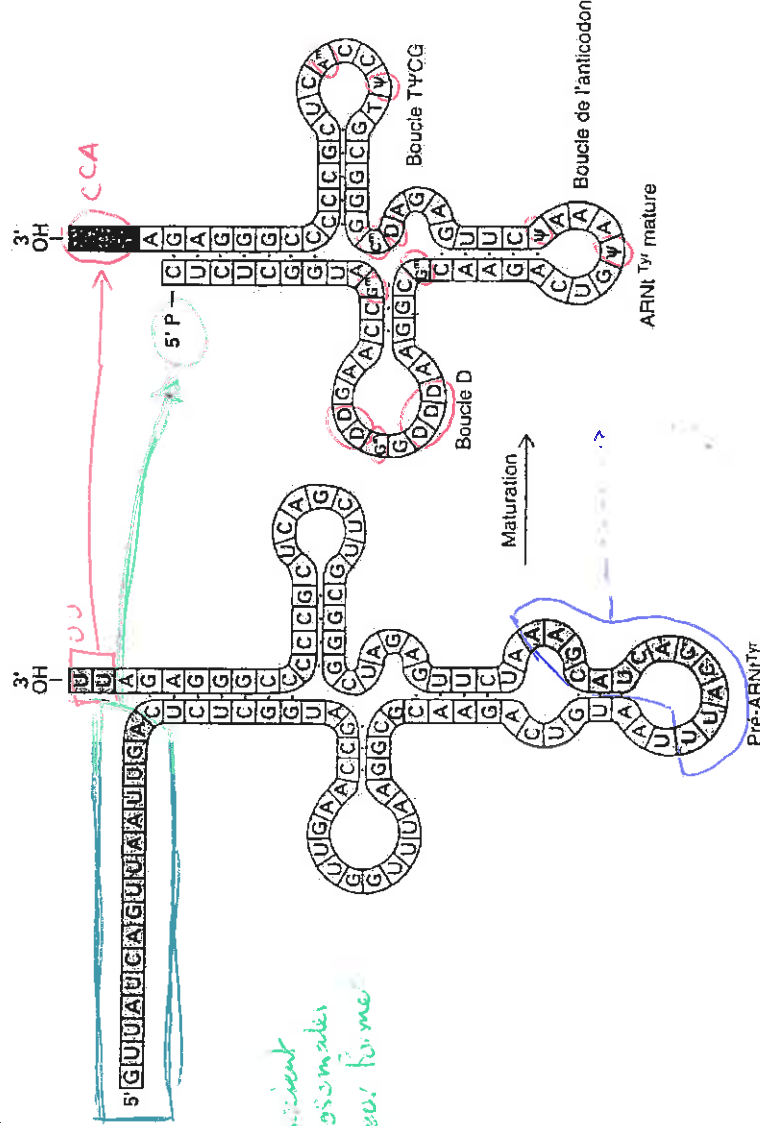
Fig 37 : séquences régulatrices et séquences signal dans la transcription et la maturation des ARNm eucaryotes

Fig 38: maturation des ARNr et ARNt



*les ARNr
fonctionnent directement
avec protéines ribosomiales
dans le noyau pour former
le ribosome.*

Structure secondaire probable de l'ARNr 18S eucaryote



Maturation des pré-ARNt

La maturation du pré-ARNt de tyrosine met en jeu quatre sortes de modifications. Un intron de 14 nucléotides (en bleu) de la boucle de l'anticodon est éliminé par excision-épissage. Une séquence de 16 nucléotides (en vert) est amputée du bout 5' par l'ARNase P. Des résidus U du bout 3' sont remplacés par la séquence CCA (en rouge) présente dans tous les ARNt matures. De

nombreuses bases des boucles en épingle à cheveux sont modifiées de façon caractéristique (en jaune). Si les pré-ARNt ne contiennent pas tous des introns, excisés lors de la maturation, tous subissent les autres types de modifications indiqués. D = dihydro-uridine, Ψ = pseudouridine. Pour la structure des bases modifiées, voir figure 12•56.

ADN 5' — ATG GGC TAC CCC TGC CTG — 3'
 3' — TAC CCG ATG GGG ACG GAC — 5'

↓ transcription

ARNm 5' — AUG|GGC|UAC|CCC|UGC|CUG| — 3'

↓ traduction

Extrémité N-terminale met gly tyr pro cys leu Extrémité C-terminale
 de la protéine M G Y P C L de la protéine

Fig 39: Fondement de la biologie moléculaire

Code génétique (de l'ARN en acides aminés)

Première position (extrémité 5')	Seconde position			Troisième position (extrémité 3')
	U	C	A	
U		Ser	Tyr	Cys
		Sér	Tyr	Cys
		Sér	Ser	Ser
		Sér	Ser	Trp
C		Pro	His	Arg
		Pro	His	Arg
		Pro	Gln	Arg
		Pro	Gln	Arg
A	<small>(leu-asn-codon)</small>	Thr	Asn	Sér
	Ile	Thr	Asn	Sér
	Ile	Thr	Lys	Arg
	Mét	Thr	Lys	Arg
G	Val	Ala	Asp	Gly
	Val	Ala	Asp	Gly
	Val	Ala	Glu	Gly
	Val	Ala	Glu	Gly

Fig 40 a : le code génétique

Fig 40 b: code génétique et chaîne latérale des aminoacides correspondants

Abréviations :		Codons				
3 lettres		1 lettre				
Alanine	Ala	A	GCA	GCC	GCG	GCU
Cystéine	Cys	C	UGC	UGU		
Acide aspartique	Asp	D	GAC	GAU		
Acide glutamique	Glu	E	GAA	GAG		
Phénylalanine	Phe	F	UUC	UUU		
Glycine	Gly	G	GGA	GGC	GGG	GGU
Histidine	His	H	CAC	CAU		
Isoleucine	Ile	I	AUA	AUC	AUU	
Lysine	Lys	K	AAA	AAG		
Leucine	Leu	L	UUA	UUG	CUA	CUC
					CUU	CUU
Méthionine	Met	M	AUG			
Asparagine	Asn	N	AAC	AAU		
Proline	Pro	P	CCA	CCC	CCG	CCU
Glutamine	Gln	Q	CAA	CAG		
Arginine	Arg	R	AGA	AGG	CGA	CGC
					CGU	CGG
Sérine	Ser	S	AGC	AGU	UCA	UCC
					UCU	UCG
Thréonine	Thr	T	ACA	ACC	ACG	ACU
Valine	Val	V	GUA	GUC	GUG	GUU
Tryptophane	Trp	W	UGG			
Tyrosine	Tyr	Y	UAC	UAU		
Stop :			UAG	UAA	UGA	UGA

alanine (Ala) A	asparagine (Asn) N	aspartate (Asp) D	arginine (Arg) R
GCU GCC GCA GCG	AAU AAG	GAU GAC	CGU CGC CGA CGG AGA AGG
cystéine (Cys) C	glutamine (Gln) Q	glutamate (Glu) E	glycine (Gly) G
UGU UGC	CAA CAG	GAA GAG	GGU GGC GGA GGG
histidine (His) H	isoleucine (Ile) I	leucine (Leu) L	lysine (Lys) K
CAU CAC	AUU AUC AUA	UUA UUG CUU CUC CUA CUG	AAA AAG
méthionine (Met) M	phénylalanine (Phe) F	proline (Pro) P	sérine (Ser) S
AUG	UUU UUC	CCU CCC CCA CCG	AGU AGC UCU UCC UCA UCG
thréonine (Thr) T	tryptophane (Trp) W	tyrosine (Tyr) Y	valine (Val) V
ACU ACC ACG ACA	UGG	UAU UAC	GUU GUC GUG GUA
	STOP	UGA	STOP
		UAA UAG	

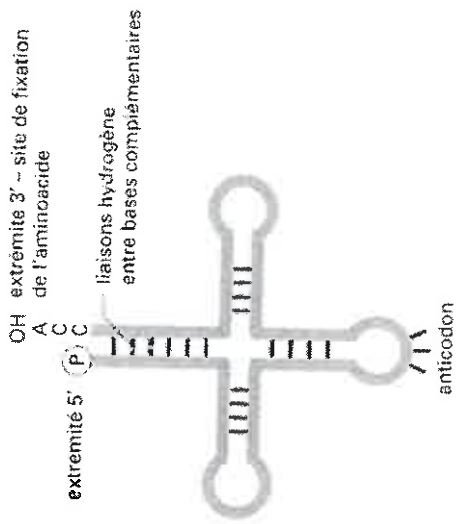


Fig 41: ARNt

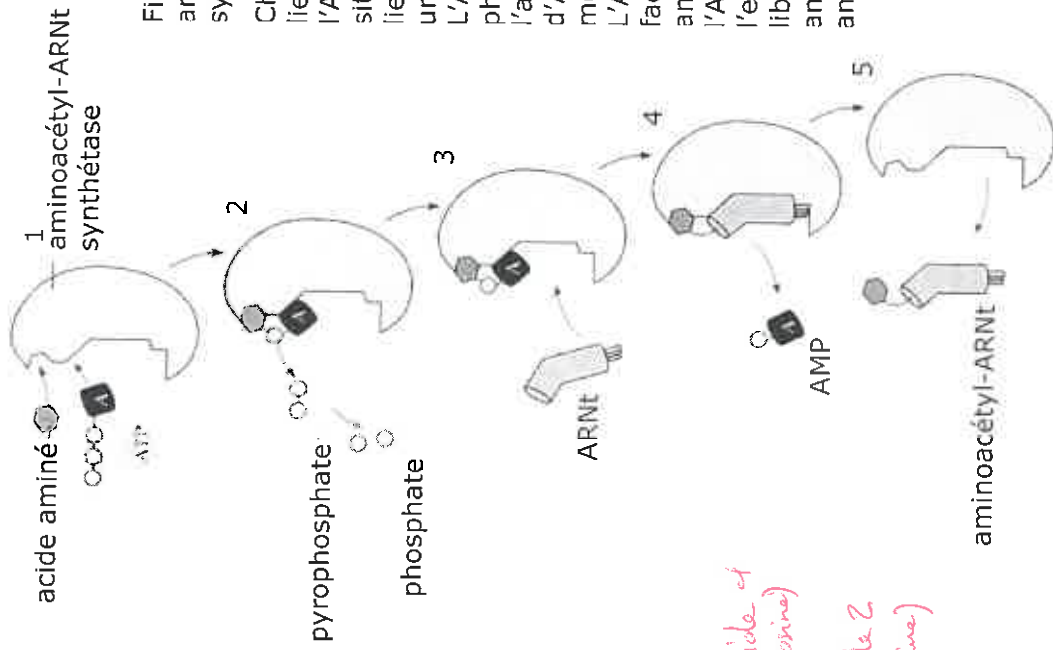


Fig 42: Fonction d'une aminoacyl-ARNt synthetase

Chacune de ces enzymes lie un acide aminé à l'ARNt approprié. 1- le site actif de l'enzyme se lie à l'acide aminé et à une molécule d'ATP 2- L'ATP perd 2 groupements phosphate et se lie à l'acide aminé sous forme d'AMP (adénosine monophosphate) 3- L'ARNt approprié se lie de façon covalente à l'acide aminé 4- en déplaçant l'AMP du site actif de l'enzyme 5- l'enzyme libère le complexe acide aminé-ARNt aussi appelé aminoacyl-ARNt

Cette enzyme permet de fixer l'aa à l'ARNt.

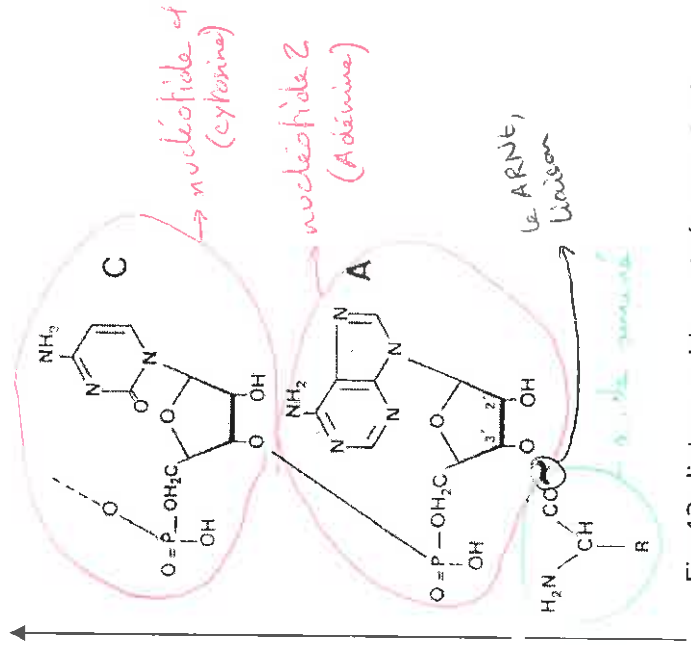
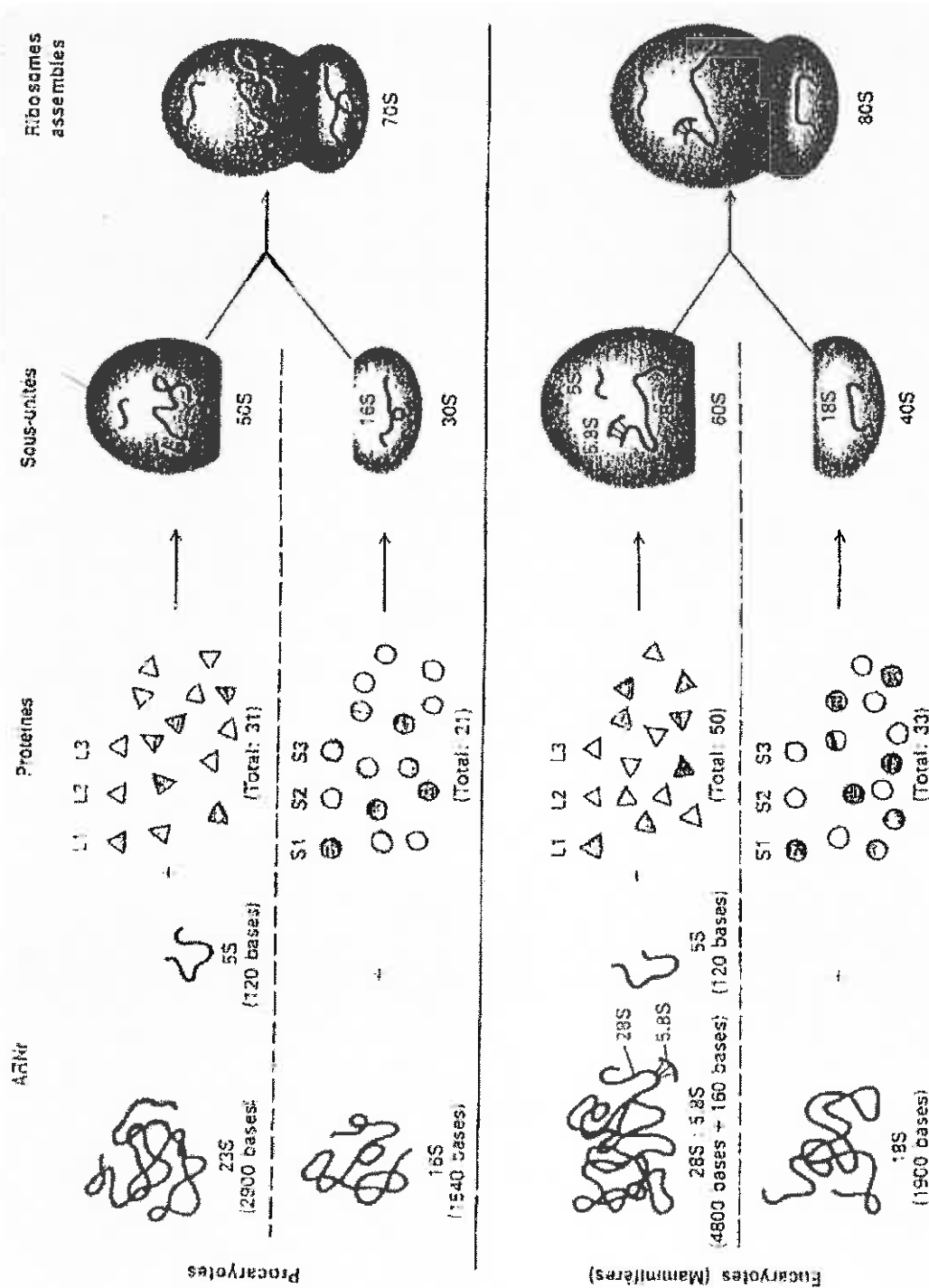


Fig 43: liaison acide aminé-ARNt : détail de la liaison « riche en énergie »

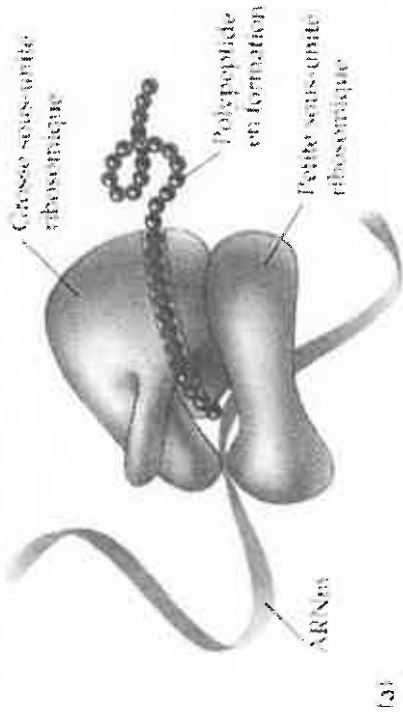
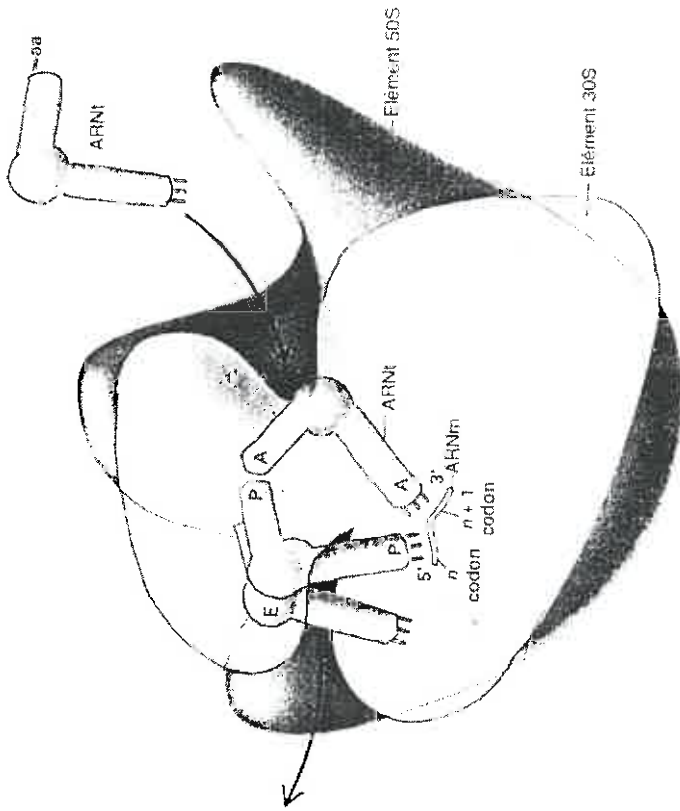


Les ribosomes de toute cellule comprennent une grosse et une petite sous-unités. Ces sous-unités renferment des ARNr de diverses longueurs et un certain nombre de protéines différentes (indiquées par différentes couleurs). Tous les ribosomes contiennent deux molécules principales d'ARNr. En plus, les ribosomes de Procaroyotes ont un petit ARNr 5S d'environ 120 bases, tandis que les Eucaryotes possèdent deux petits ARNr : une molécule 5S

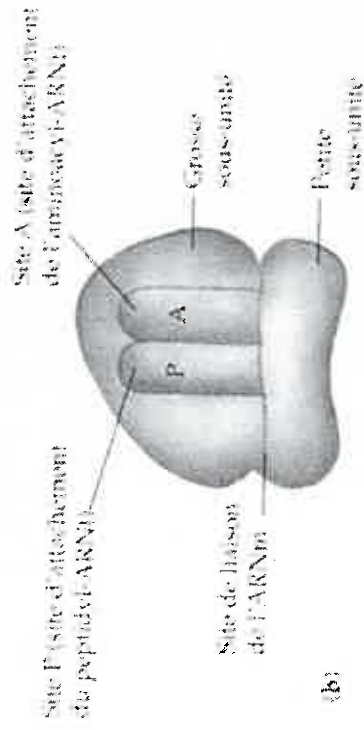
similaire à celle des Procaroyotes et une molécule 5.8S de 160 bases de longueur. Les protéines sont marquées L1, L2, etc et S1, S2, etc selon qu'elles appartiennent à la grosse ou à la petite sous-unité. On trouve aussi des ribosomes dans certains organismes cellulaires : les ribosomes des chloroplastes sont semblables aux ribosomes procaroyotes ; les ribosomes mitochondriaux possèdent de plus petits ARNr et moins de protéines que les ribosomes procaroyotes.

Fig 44: composition des ribosomes

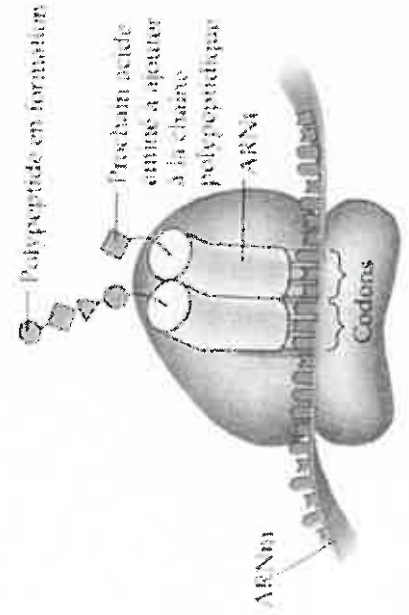
Fig 45: les sites A,P,E de fixation de l'ARNt sur le ribosome



(a)

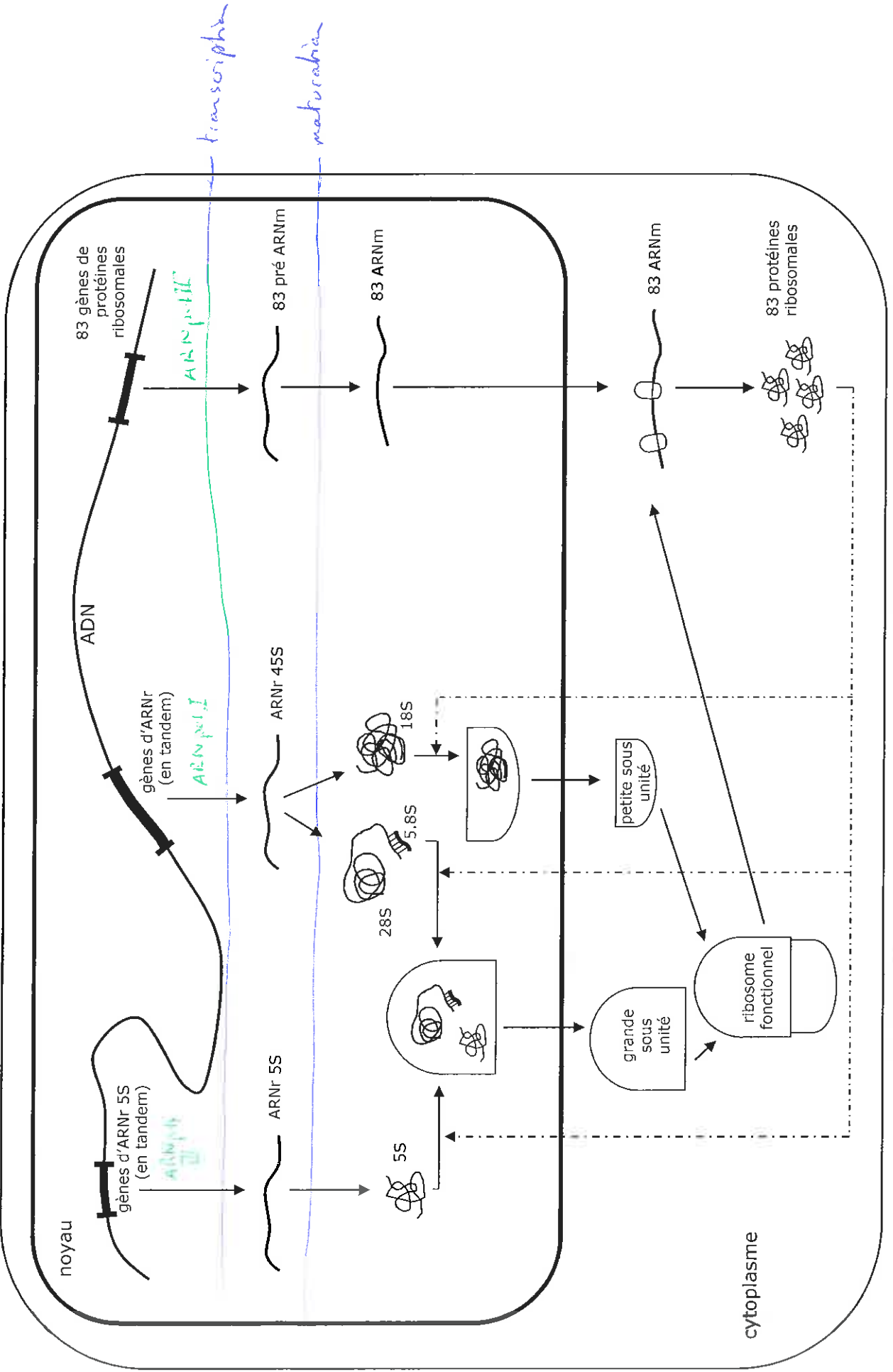


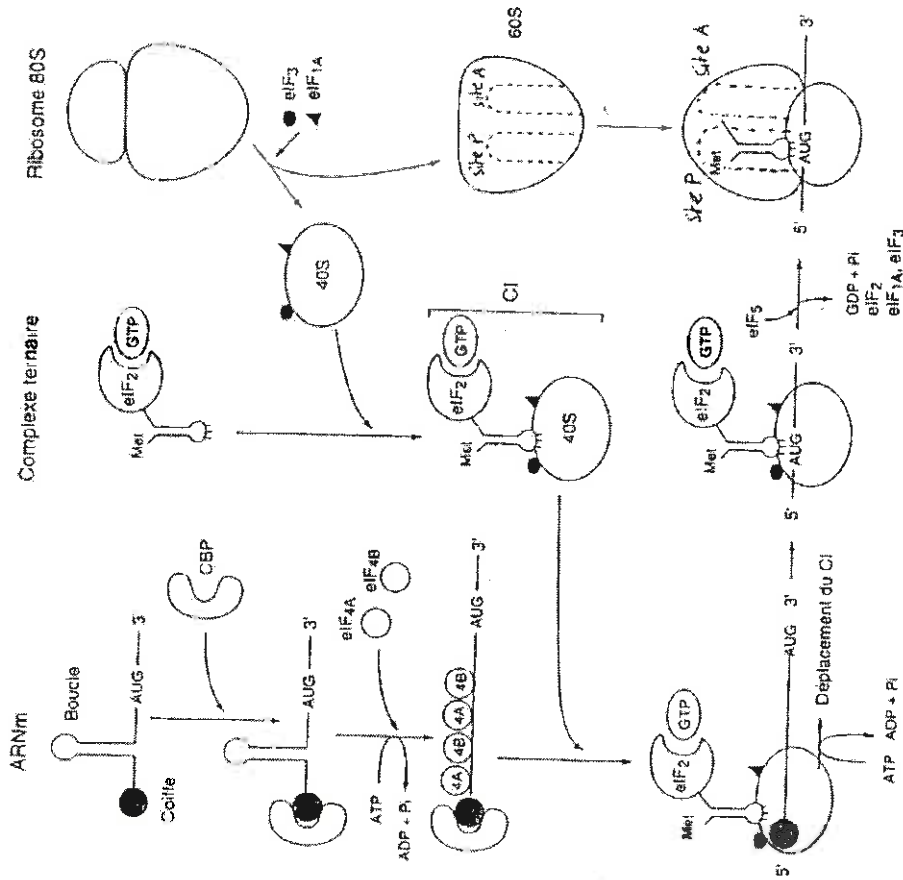
(b)



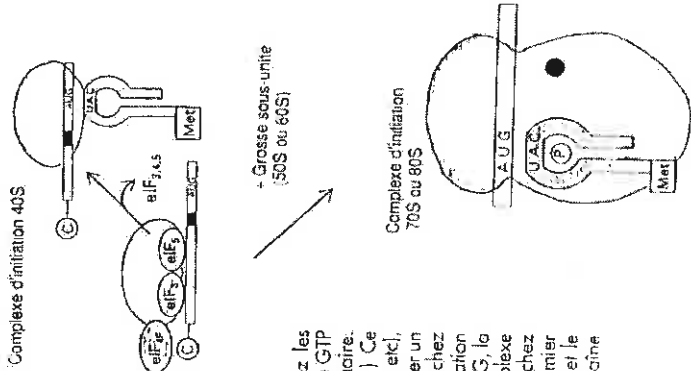
(c)

Fig 46: formation du ribosome eucaryote: synthèse des ARNr et des protéines ribosomiales dans les différents compartiments cellulaires





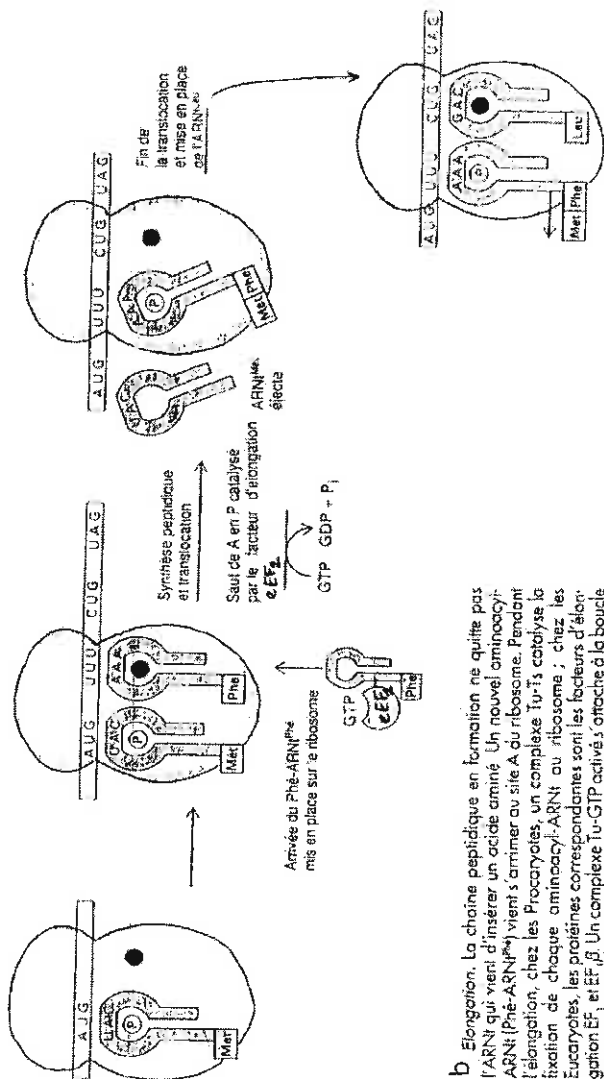
a L'initiation. La fixation de facteurs d'initiation (eIF₁ et eIF_{1A}) sur les deux sous-unités ribosomiales d'initiation (eIF_{4A} et eIF_{4B}) s'attache à l'extrémité 5' du transcript. Le complexe ternaire, composé d'un ARNt initiateur (portant toujours une méthionine (Met), du facteur eIF₂ et de GTP, s'associe avec la petite sous-unité ribosomale (40S) et forme un complexe d'initiation (43S). Utilisant l'hydrolyse de l'ATP, l'activité ARN-hélicase de eIF_{4A} associée à eIF_{4B} déroule les structures secondaires de l'ARNm. Le CI se fixe sur l'extrémité 5' et se déplace, par un mécanisme consommant de l'ATP, de la coiffe jusqu'au codon initiateur AUG reconnu par l'anticodon de l'ARNt initiateur. La grande sous-unité ribosomale (60S) porte un site P (peptidyl) et un site A (aminocatalytique). Elle vient se fixer sur la petite sous-unité 40S, ce qui nécessite la présence d'eIF₅, lequel provoque l'hydrolyse du GTP et le départ des facteurs d'initiation.



b Amorçage (Initiation). Un facteur d'amorçage (IF₂ chez les Procaryotes et eIF₂ chez les Eucaryotes) fixe une molécule de GTP et une molécule de Met-ARNt^{Met} pour former un complexe ternaire. (La méthionine initiale est formylée chez les Procaryotes.) Ce complexe s'attache à d'autres facteurs d'amorçage (IF₃, eIF₃, etc.) à l'ARNm et à une petite sous-unité ribosomiale, pour constituer un complexe d'amorçage de 30S chez les Procaryotes et de 40S chez les Eucaryotes. Quand ce complexe a reconnu le site de fixation ribosomal (rectangle rouge) proche du codon d'initiation AUG, la petite sous-unité ribosomiale s'attache pour compléter le complexe d'initiation 70S ou 80S. À ces étapes, du GTP est hydrolysé chez les Procaryotes. À ce stade, le Met-ARNt^{Met} charge du premier acide aminé est fixé au site P (peptidyl-ARNt) du ribosome et le complexe d'initiation est prêt à démarrer la synthèse de la chaîne.

Fig 47 : initiation de la traduction chez les eucaryotes

a) **L'élongation.** L'aminocyl-ARNt spécifique du premier codon vient se positionner dans le site A du ribosome, ce qui nécessite la présence d'eEF₁ et l'hydrolyse du GTP. La peptidyl-transférase (PT) catalyse la formation d'une liaison peptidique entre la méthionine initiatrice et le premier acide aminé. L'énergie nécessaire à cette réaction est fournie par rupture de la liaison entre l'ARNt du site P et son acide aminé. Puis le ribosome se déplace sur la longueur d'un codon le long de l'ARNm dans le sens 5'-3'. Cette translocation (TR) du ribosome nécessite la présence d'eEF₂ et l'hydrolyse du GTP : elle permet à un autre aminocyl-ARNt spécifique du second codon de se positionner dans le site A. La succession de ces cycles d'élongation aboutit à la mise en place progressive de la chaîne polypeptidique.



b) **Elongation.** La chaîne peptidique en formation ne quitte pas l'ARNt qui vient d'insérer un acide aminé. Un nouvel aminocyl-ARNt (Phe-ARNt^{Met}) vient s'animer au site A du ribosome. Pendant l'élongation, chez les Procaryotes, un complexe Tu-Ts catalyse la fixation de chaque aminocyl-ARNt au ribosome ; chez les Eucaryotes, les protéines correspondantes sont les facteurs d'élongation EF₁ et EF₂. Un complexe Tu-GTP activé s'attache à la boucle T_ΨC_Ψ présente dans tous les ARNt et permet à l'ARNt de s'accommoder correctement au site du ribosome. Le GTP est alors hydrolysé et le cycle recommence avec la réactivation de Tu par Ts. Dès que l'aminocyl-ARNt entrant s'est disposé correctement au site A, autrement dit, quand l'appariement correct du codon à l'anticodon s'est produit, la chaîne peptidique (ici, la méthionine de départ) est transférée au groupe aminé du nouvel aminocyl-ARNt, formant un peptidyl-ARNt agrandi d'un acide aminé. Ici, le produit est le méthionyl-phénylalaniyl-ARNt^{Met}. A ce stade, le peptidyl-ARNt est fixé au site A du ribosome, et le ribosome se déplace d'un codon sur la chaîne de l'ARNm. (Dans un but de clarté, on a espacé les codons de l'ARNm.) La catalyse (par les facteurs d'élongation G chez les Bactéries et EF₂ chez les Eucaryotes) de la translocation

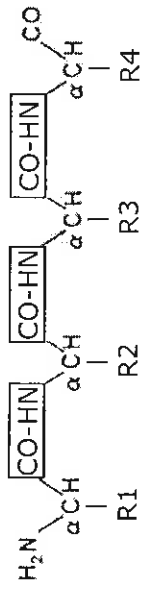
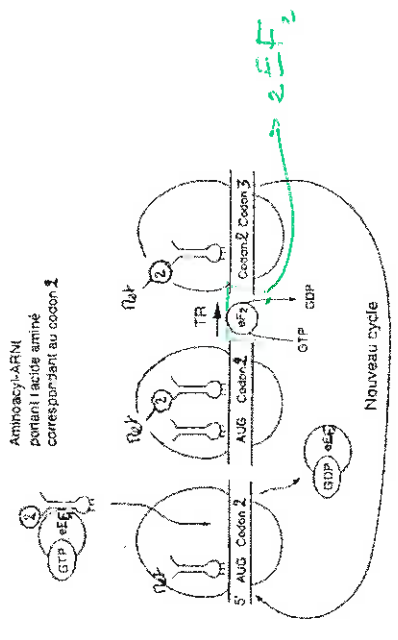
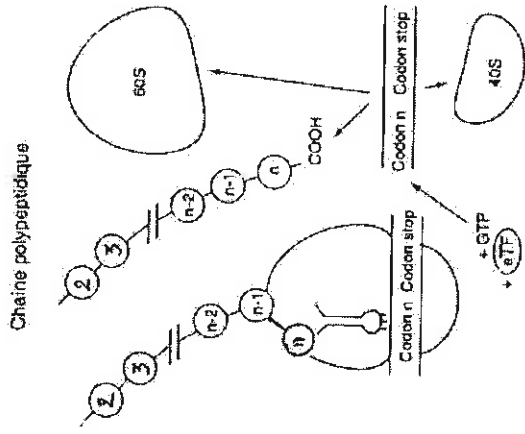


Fig 49: la liaison peptidique

Fig 48: élongation de la traduction chez les eucaryotes

La terminaison. L'apparition dans le site A d'un codon STOP (UAA, UAG ou UGA), auquel ne correspond aucun acide aminé, entraîne à la fois la dissociation des deux sous-unités du ribosome, qui se séparent de l'ARNm, et la libération de la chaîne polypeptidique. Ce désassemblage nécessite du GTP et le facteur eRF.



Terminaison. Dès l'arrivée du ribosome au codon UAG, la traduction prend fin avec l'aide de facteurs de terminaison (trois protéines chez les Procaryotes, une chez les Eucaryotes). L'hydrolyse du peptidyl-ARNt sur le ribosome, libérant le polypeptide et le dernier ARNt, est suivie de la dissociation du ribosome en ses sous-unités. Cette étape finale requiert aussi l'hydrolyse de GTP.

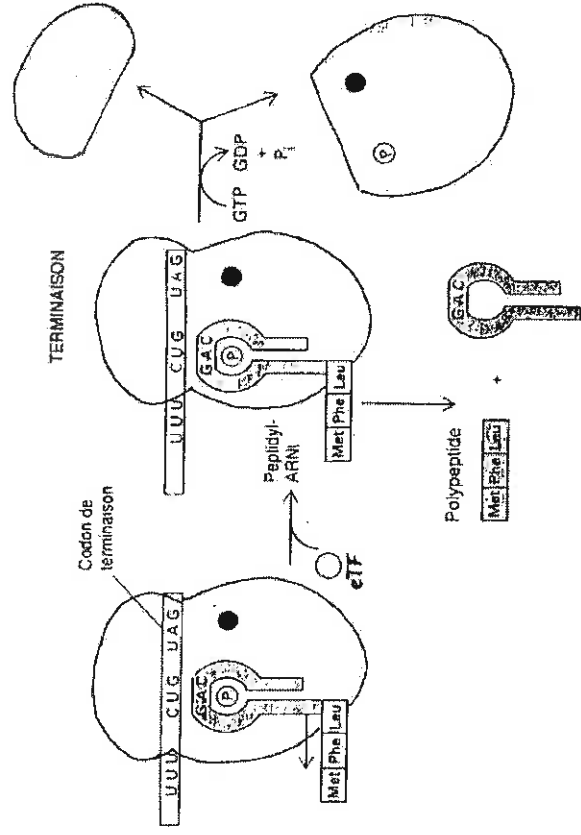


Fig 50: terminaison de la traduction chez les eucaryotes

Fig51: séquences nécessaires pour passer de l'ADN à la protéine mature chez les eucaryotes

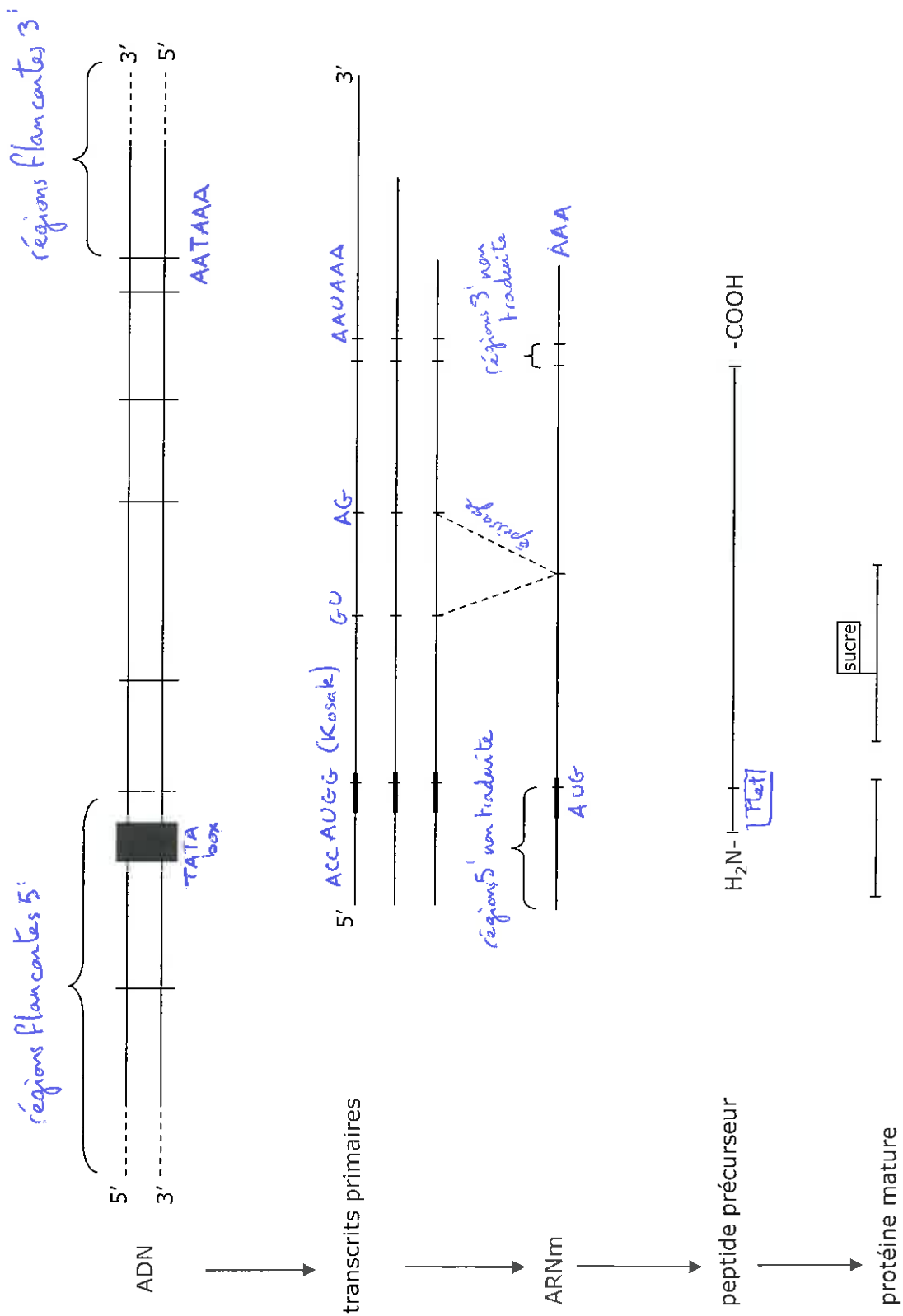
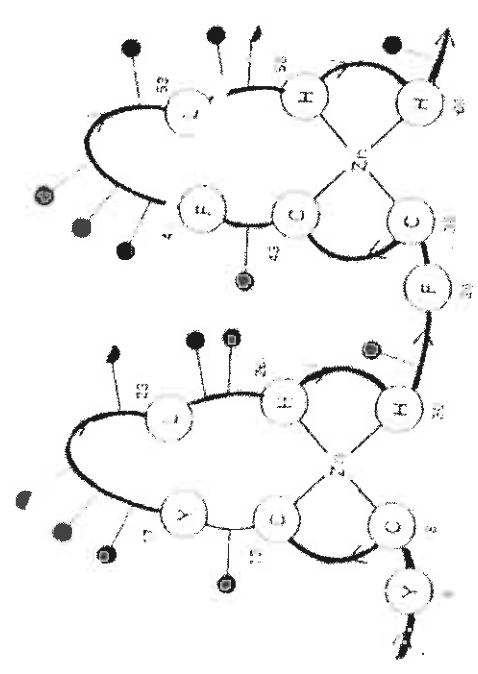
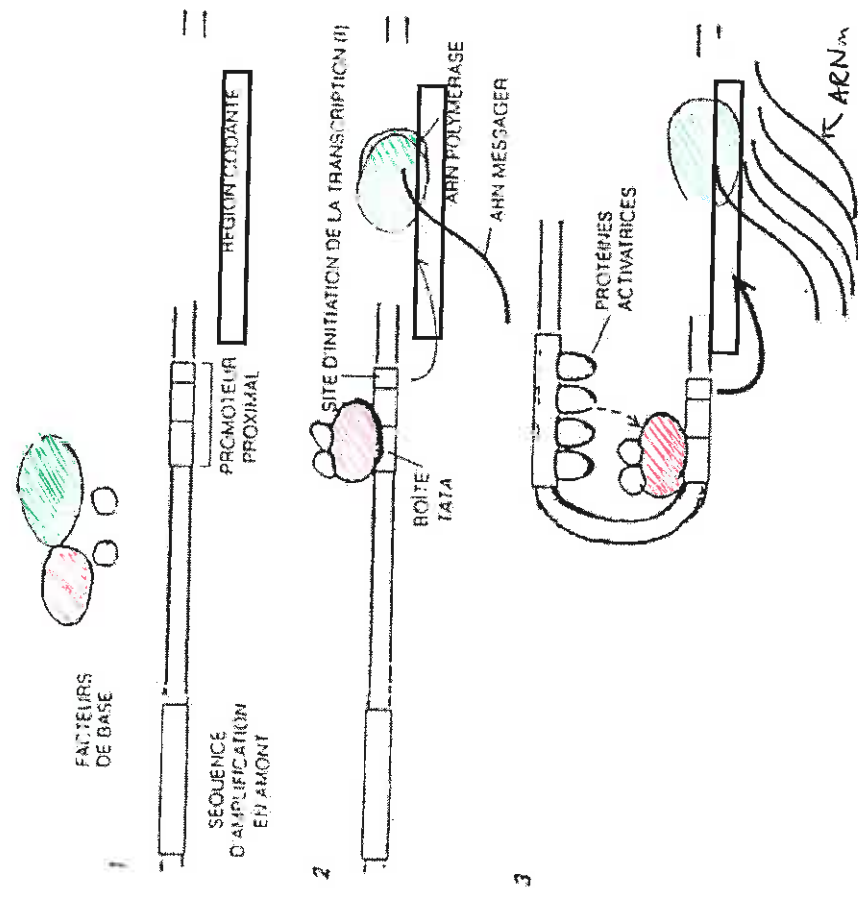


Fig54: Les facteurs de transcription en doigt de zinc

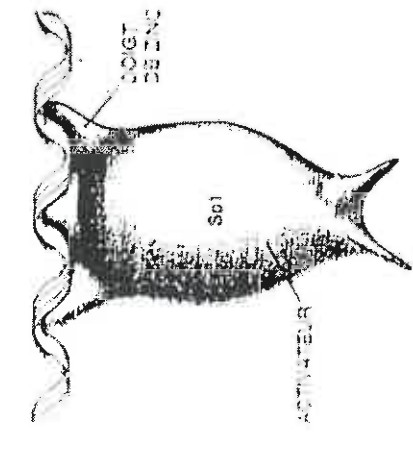


— Motif en doigt de zinc proposé pour la structure des domaines répétés de TF_{MA}, qui résulte de la coordination de paires de cystéines et d'histidines à leur ligand, l'ion zinc. On n'a dessiné que les deux premières des neuf boucles potentielles. Les nombres accolés aux acides aminés, désignent par le code à une lettre, renseignent leur position dans la chaîne (voir figure 1-12). Les cercles noirs indiquent les résidus le plus probablement impliqués dans la liaison avec l'ADN. On retrouve toujours une leucine ainsi qu'un acide aminé aromatique, tyrosine (Y) ou phénylalanine (F), en des positions fixes de chaque boucle. Adapté de J. Milifier, A. D. McLachlan, *Journal of Molecular Biology*, 1982, 157, 1-20.



LES GÉNÈS sont activés par la fixation de protéines sur des séquences de régulation de l'ADN. Les gènes comportent une région codante (bande bleue à l'extrême droite du schéma 1) qui détermine la séquence en acides aminés d'une protéine, et deux principales régions régulatrices. Le promoteur proximal (bande jaune) et la séquence d'amplification en amont (bande verte), qui déterminent à quel moment et en quelle quantité la protéine est synthétisée. Lorsqu'un gène est activé (2), des protéines nommées facteurs de base (en rouge) s'assemblent sur la boîte TATA du promoteur (partie gauche du schéma), et l'un de ces facteurs, l'enzyme ARN polymérase, se lie au site d'initiation de la transcription, ou site 1 (partie droite du schéma); l'ARN polymérase effectue alors la copie, ou transcription, de la région codante en ARN messageur, qui sert ensuite de modèle pour la synthèse de la protéine. La fixation de protéines activatrices (en violet sur le schéma 3) sur la séquence d'amplification en amont stimule le complexe des facteurs de base (flèche en pointillés) et intensifie ainsi la transcription (flèche en gras).

Fig53: Rôle des facteurs de transcription généraux et spécifiques dans l'initiation de la transcription et le taux de transcription



Modèle de liaison du facteur de transcription Sp1 à la boîte GC

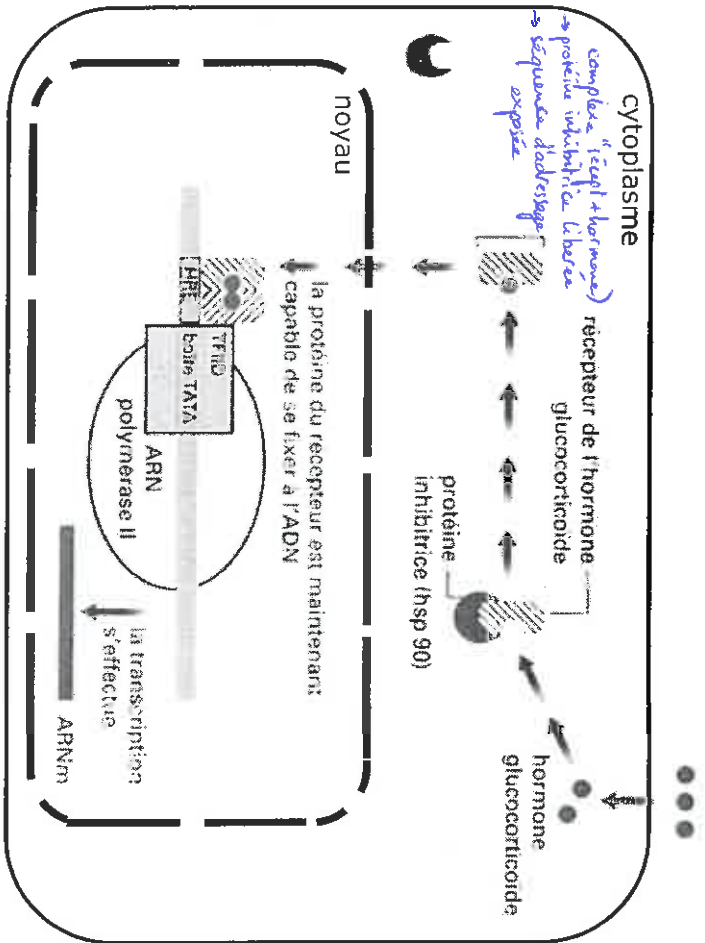


Fig55 Le récepteur des hormones stéroïdes agit en favorisant la transcription du gène en présence de l'hormone.

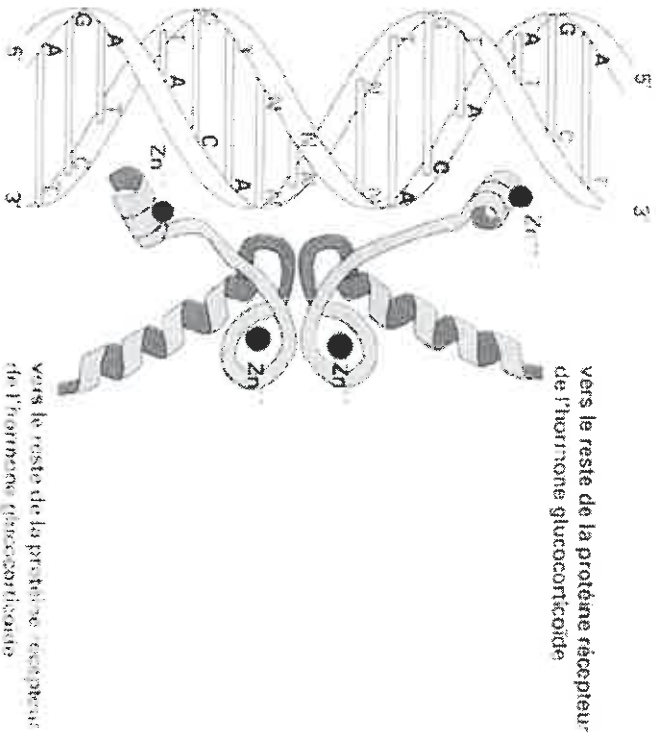
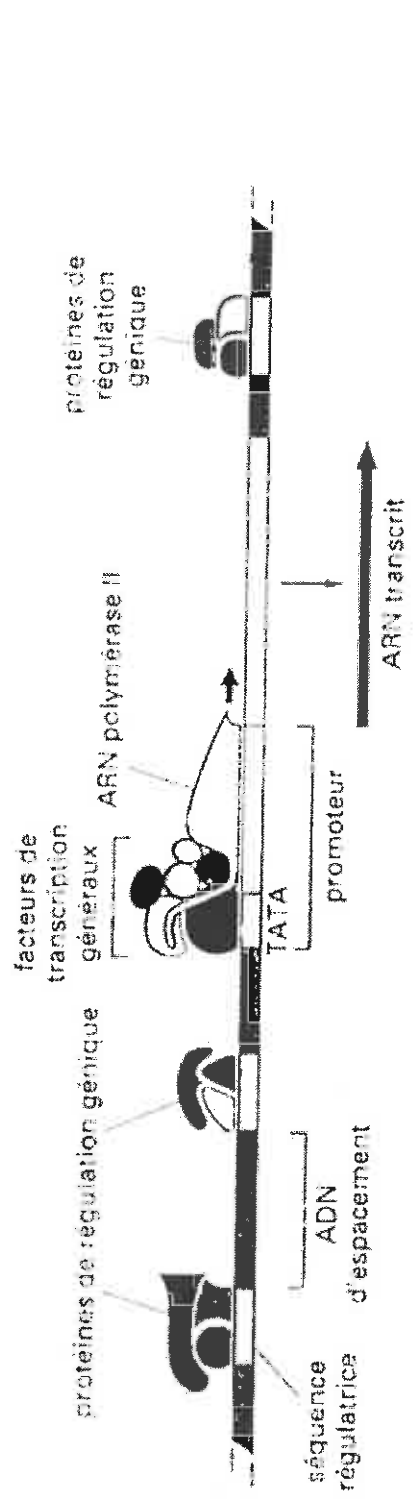


Fig56: protéine en doigt de Zinc récepteur de l'hormone glucocorticoïde

Le HRE palindromique se fixe au récepteur des hormones stéroïdes stérilisé.



Séquence cis régulatrices du gène humain codant pour la β-globuline

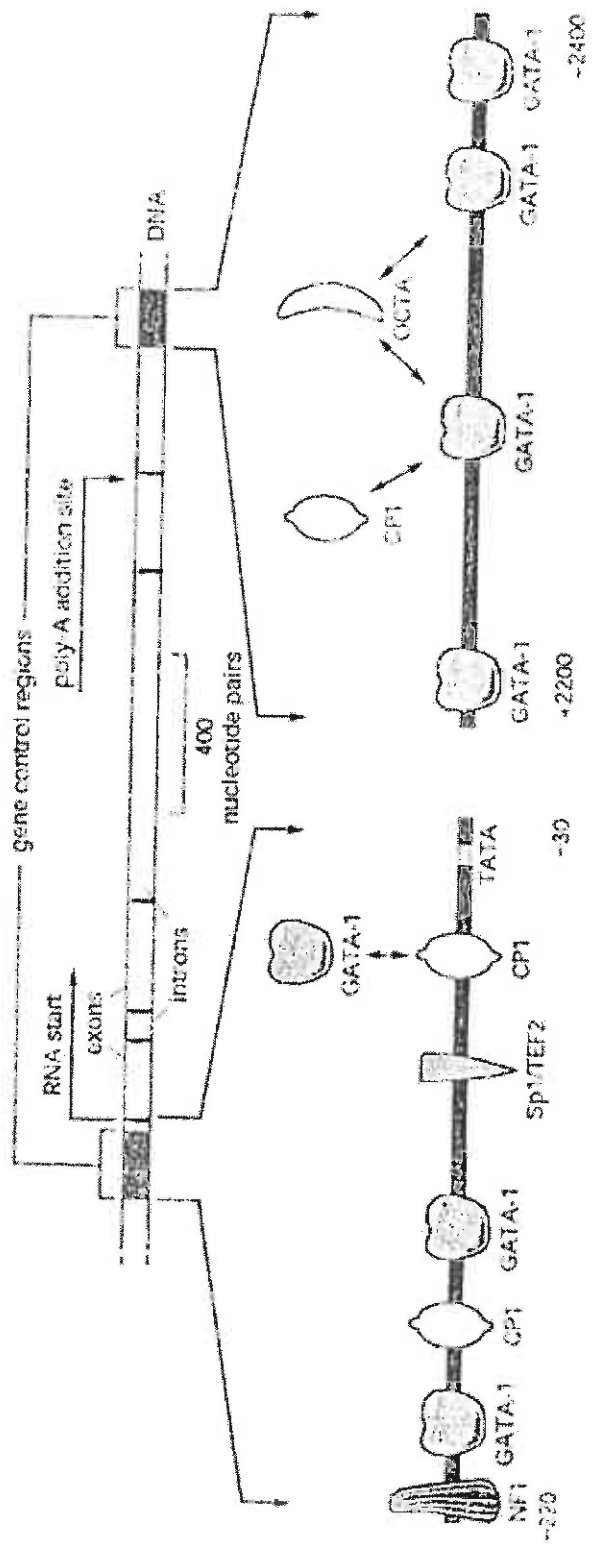


Fig57: les séquences cis régulatrices

Cis element	DNA sequence is identical to, or a variant of	Associated trans-acting factors	Comments
GC box	GGGGGG	Spl	Spl factor is ubiquitous
TATA box	TATAAA	TFIID	TFIIA binds to TFIID-TATA box complex to stabilize it
CAAT box	CCAAT	Many, e.g. C/EBP, CTF/NFI	Large family of trans-acting factors
TRE (TPA response element)	GTGAGTACA	AP-1 family, e.g. JUN/FOS	Large family of trans-acting factors
CRE (cAMP response element)	GTGACGTA/CAAG	CREB ATE family, e.g. ATF1	Genes activated in response to cAMP

Exemples de séquences d'ADN consensus reconnues par des facteurs protéiques de transcription

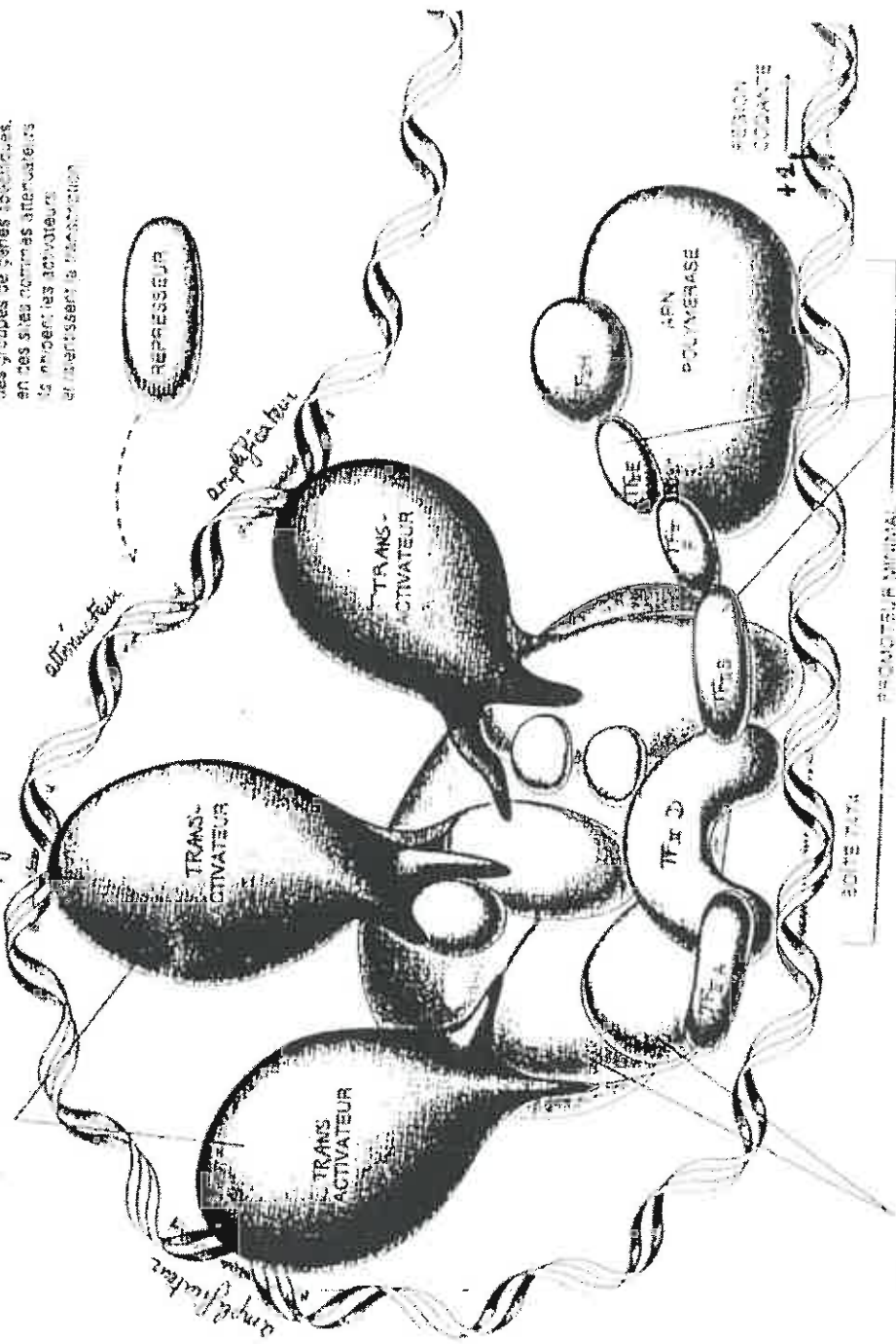
Fig58 : exemples de séquences cis régulatrices

e.g. = exemple spécifique

TRANS-ACTIVATEURS

Ces protéines se lient sur les gènes, en des sites nommés activateurs. Ils servent à déterminer quel gène sera transcrit et à accélérer la vitesse de transcription.

amplification



LES COACTIVATEURS

Ces molécules de petite taille interagissent avec les activateurs et les activateurs et servent à accélérer la vitesse de transcription aux activateurs de base.

LES REPRESSEURS

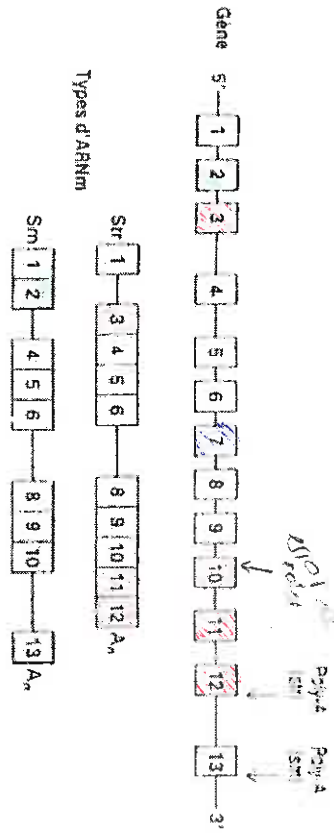
Ces protéines se lient sur des sites nommés répresseurs. Ils servent à ralentir la transcription.

REPRESSEUR

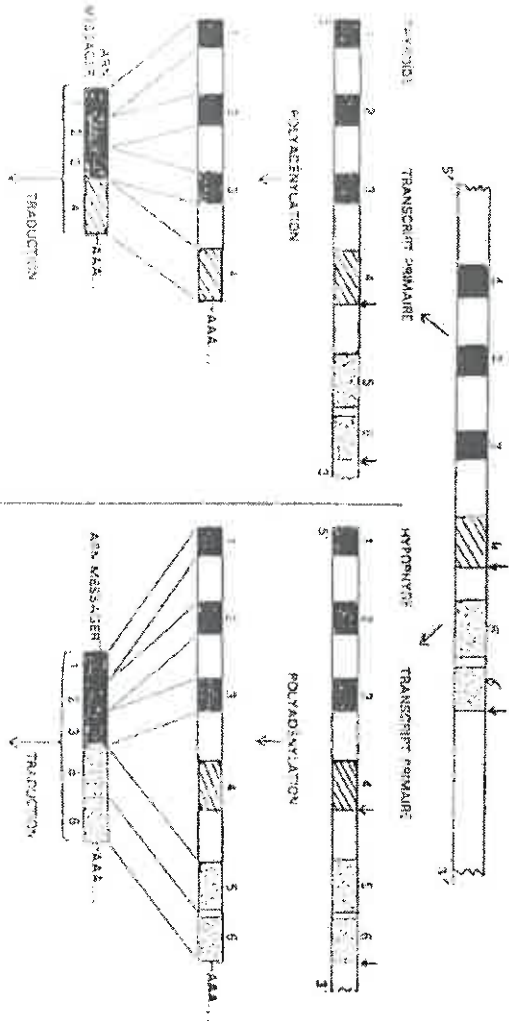
La machinerie moléculaire qui commande la transcription des gènes, dans les cellules normales, contient quatre sortes de constituants. Les facteurs de base (les formes libres, en fait), souvent désignés par ces lettres, sont indispensables pour la transcription, mais se peuvent, par eux-mêmes, accélérer ou la ralentir. De rôle précis, ces molécules régulatrices, nommées activateurs (en rouge) et répresseurs (en gris), qui agissent souvent à un gène à l'autre. Les activateurs, interagissant avec les répresseurs, interagissant avec les facteurs de base par l'intermédiaire de co-activateurs (en vert), ces protéines constituent un complexe avec la protéine responsable à la boîte PII. Cette protéine est le premier des facteurs de base à s'attacher sur la région de régulation d'un gène, nommée promoteur minimal.

Fig59: les facteurs de transcription généraux et spécifiques : rôle dans le contrôle du taux de transcription

Tropomyosine α



Le gène de la tropomyosine α comporte 13 exons qui sont reliés de façon variable dans différents tissus musculaires ; on mentionne ici les formes d'épissage prédominantes dans le muscle strié (srt), ou muscle squelettique, et dans le muscle lisse (sm), présent par exemple dans la paroi artérielle. (Voir R. E. Breitbart & B. Naddi-Ginard, 1986, *J. Mol. Biol.* 188 : 313 ; et D. E. Wiczorek & C. W. Smith & B. Naddi-Ginard, 1988, *Mol. Cell Biol.* 8 : 679.)



LES SITES MATURATIONS différents produisent des ARN messagers différents à partir du même transcript primaire. Le transcript du gène de la calcitonine (une hormone peptidique dans le cerveau) contient deux sites poly-A CGA. Dans le cerveau, le transcript est découpé et polyadénylé au premier site ; l'épissage des quatre exons produit l'ARN messager codant une

préprohormone qui est coupée par une enzyme, forme la calcitonine. Dans l'hypophyse et dans certaines cellules nerveuses, le même transcript primaire est coupé au second site poly-A ; lors de l'épissage, la séquence codant la calcitonine n'est pas excisée avec des extrémités et remplacée par des séquences codant une autre hormone, la CGRH.

Fig60 : épissage alternatif

A nick in one dsDNA molecule allows ssDNA to invade homologous duplex DNA, displacing one of the strands, leading to heteroduplex formation. Extension of heteroduplex through branch migration occurs after nicking of the displaced strand(*) followed by ligation

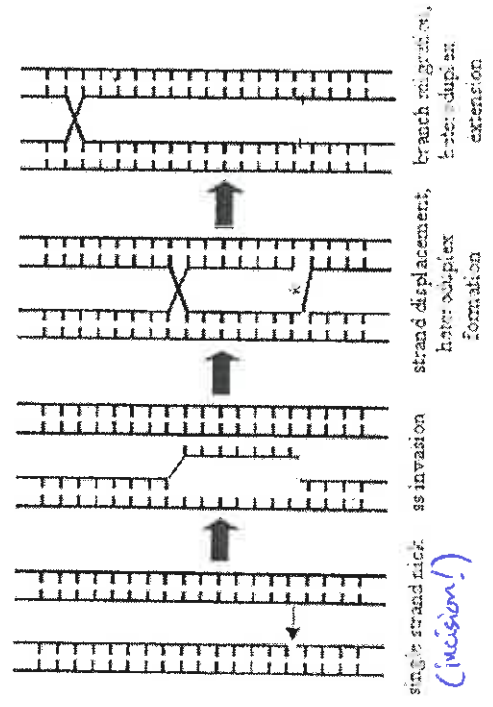
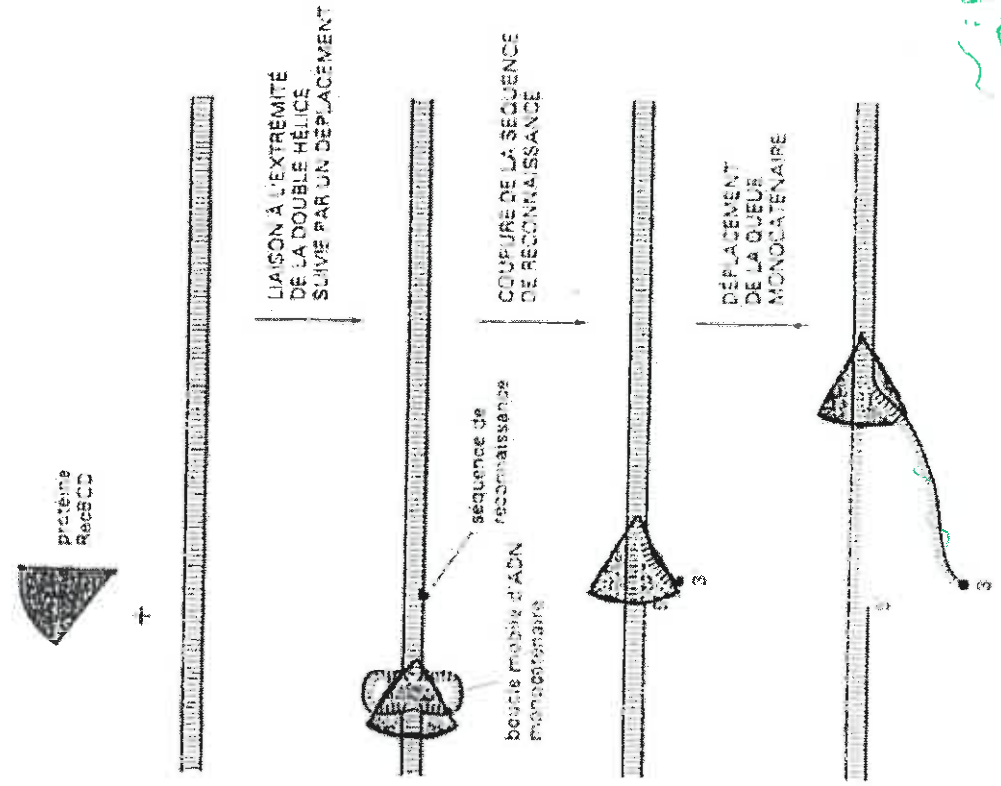


Fig62: Modèle de la recombinaison selon Meselson et Radding

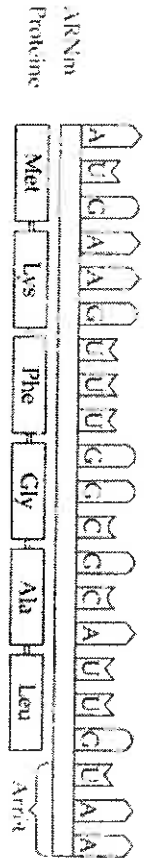
Une façon d'initier un événement de recombinaison. Une réaction catalysée par la protéine RecBCD, une enzyme nécessaire pour la recombinaison génétique générale chez E. coli. La protéine reconnaît dans l'ADN X pour éliminer l'extrémité d'une double hélice et génère ensuite l'extrémité d'un brin de l'ADN. L'ADN X se propage dans une direction le long de l'ADN à une vitesse d'environ 100 nucléotides par seconde. Un site de recombinaison particulier: une séquence d'ADN de huit nucléotides dispersés sur toute la longueur du chromosome X est coupée dans la région des séquences de l'ADN liées par la protéine RecBCD, et une « boucle monocaténaire » est créée de ce site initial, comme le montre la figure. Cette « boucle » peut initier la recombinaison génétique et s'apparente avec une hélice homologue.



~ présence d'un site de recombinaison génétique par RecBCD

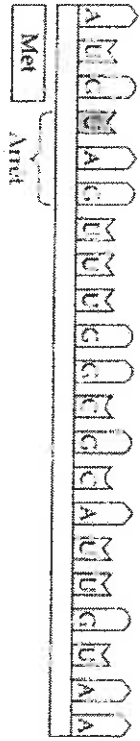
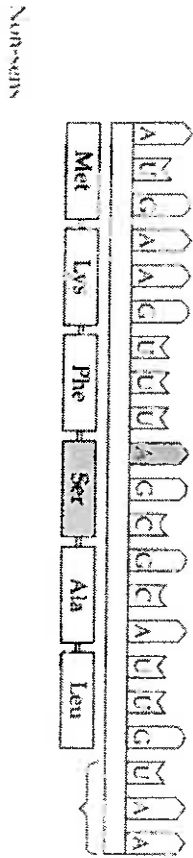
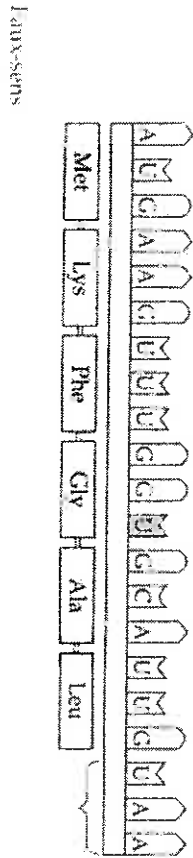
Fig63: Rôle de RecBCD dans la recombinaison

Phénotype sauvage



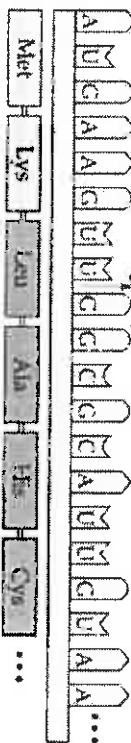
Substitution d'une paire de bases

Aucun effet sur la séquence d'acides aminés (mutation silencieuse)

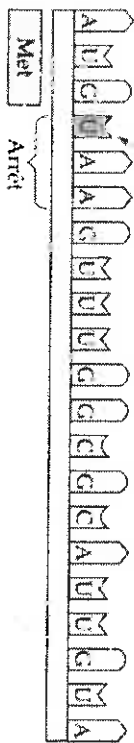


Insertion délétion de paires de bases

Décalage du cadre de lecture provoquant un long faux-sens



Décalage du cadre de lecture provoquant un non-sens immédiat



Insertion ou délétion de 3 nucléotides : décalage restreint du cadre de lecture

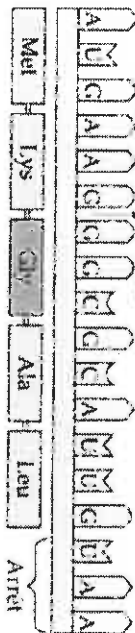


Fig61: Les mutations des paires de bases et leurs conséquences

CHAPITRE 2 : LE GÉNIE GÉNÉTIQUE

1 Obtention d'un maïs transgénique pour le gène Bt

1.1 Clonage du gène Bt

1.1.1 Isolation du gène Bt

polypeptide toxique à 6 chaînes
protéolysé en 6 unités / 1 chaîne

1.1.2 Construction du gène recombinant

a. Linéarisation du plasmide

b. Ligation

1.1.3 Amplification du gène recombinant par clonage

Escherichia coli

1.1.4 Purification du gène recombinant

a. Préparation de l'ADN plasmidique

b. Extraction du gène recombinant

c. Vérification de la construction par électrophorèse

d. Vérification de la construction par séquençage

gels d'agarose

1.2 Transformation du maïs

1.2.1 Introduction du gène dans le cytoplasme de cellule de maïs

a. Transformation par électroporation

peut être *Agrobacterium protoplastes*

b. Transformation par biolistique

→ ou tungène

c. Transformation par *Agrobacterium tumefaciens*

gène de virulence

1.2.2 Sélection et régénération de cellules transformées

1.3 Étude du maïs transformé

1.3.1 Vérification du profil d'expression du gène par Southern Blot

présence de Bt

1.3.2 Vérification du profil d'expression du gène par Northern Blot

expression de Bt

2 Exemple de clonage d'ADN humain

glutamate

2.1 Préparation du clone

2.2 Stratégie d'identification du clone contenant le gène

2.3 Autres techniques de criblage d'une banque d'ADNc

3 Étude du gène polygalacturonase (pg) chez la tomate

3.1 Étude du promoteur pg par gène rapporteur

gène GFP *shale cyanobact*

3.2 Stratégie anti-sens pour inactiver le gène

3.2.1 Vérification de la présence du gène anti-sens par PCR

3.2.2 Étude de la quantité de pg produite dans les plantes transgéniques par Western Blot

4 Synthèse de la protéine médicamenteuse AT III du lait de chèvre

Antithrombine

4.1 Amélioration du potentiel thérapeutique par mutagenèse dirigée

4.2 Obtention de chèvres transgéniques

104 chèvres = le monde

5 Exemple d'utilisation à des fins de recherche : les souris transgéniques

5.1 Obtention de souris transgéniques

5.2 Identification de la séquence activatrice qui agit sur le gène de la métallothionéine

5.3 Démonstration de la fonction d'une protéine par mutagenèse insertionnelle

6 Génie génétique et éthique

6.1 Étude de l'ADN dans le cas d'une maladie héréditaire

6.2 Les plantes OGM peuvent-elles aider à nourrir le monde ?

6.3 Les OGM en France : les peupliers de l'INRA

