

Biologie Moléculaire



Tut' Rentrée Cours 1

I. INTRODUCTION

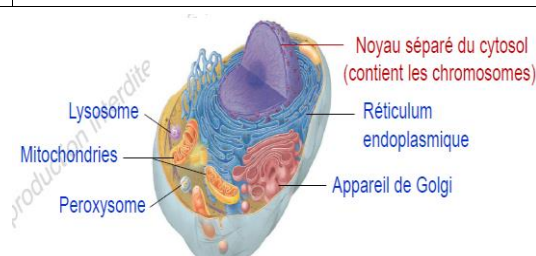
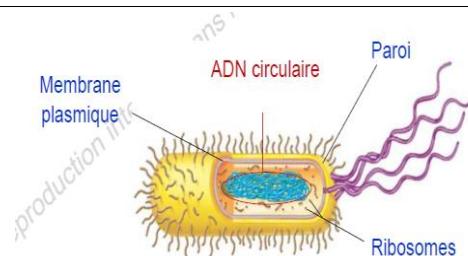
A. Procaryotes et eucaryotes

Tous les êtres vivants sont constitués de cellules

Cellule : unité de base des êtres vivants qui comprend *au minimum* :

- une **membrane lipidique**
- un **cytosol** (phase liquide)
- un **noyau** (contient l'ADN en K)
- des **organites** (en suspension)

PROCARYOTES	EUCARYOTES
UNI cellulaire (ex : bactéries)	UNI cellulaire (ex : levures) OU MULTI cellulaire (ex : homme)
1 à 10 µm	10 à 100 µm
Noyau rudimentaire non délimité : nucléoïde	Noyau délimité par une membrane
Unique K circulaire	Plusieurs K linéaires
Pas de sous-compartiments délimités par une membrane => peu d'organites (ribosomes)	Présence de sous-compartiments délimités par une membrane => beaucoup d'organites
Membrane doublée par une paroi	Absence de paroi



Remarque : Dans toutes les cellules (procaryotes ou eucaryotes), le matériel génétique (ADN) est **toujours contenu dans le noyau**.

B. Cellules eucaryotes humaines

SOMATIQUES	GERMINALES (= gamètes)
DIPLOÏDES => 23 paires de K homologues identiques deux à deux	HAPLOÏDES => 23 K (1 seul de chaque paire , pas d'homologues)
2n = 46 K 22 paires d'autosomes 1 paire de gonosomes	n = 23 K 22 autosomes 1 gonosome
Femme = XX Homme = XY	Ovocyte = X Spermatozoïde = X ou Y

Remarque : Une paire de k **homologues** est composée d'1K maternel et d'1K paternel pouvant contenir différents **allèles** (= versions d'un gène). Ainsi, chaque cellule **somatique** contient **2 exemplaires** de chaque gène !

C. Double origine du génome eucaryote

NUCLEAIRE	<u>M</u> ITOCHONDRIALE / <u>M</u> ATERNELLE
ADN dans le noyau	ADNmt dans les mitochondries
Hérédité transmise par les deux parents	Hérédité transmise uniquement par la mère
Matériel génétique linéaire	Matériel génétique circulaire

Remarque : Le **zygote** ne contient que des **mitochondries** d'origine **maternelle** (provenant donc de l'**ovocyte** et non du spermatozoïde) !

Remarque 2 : Chaque mitochondrie contient **de multiples molécules** d'ADNmt.

Remarque 3 : Les **procaryotes** et certaines cellules **eucaryotes** (ex : les globules rouges) ne contiennent pas de mitochondries et n'ont donc **pas d'ADNmt** !

II. LES ACIDES NUCLEIQUES

A. Deux types d'acides nucléiques

Acide <u>Déoxyribo</u> Nucléique (ADN)	Acide RiboNucléique (ARN)
Constitue le matériel génétique (=génom), forme de stockage et de transmission de l'information génétique	Participe (in)directement à l' expression de l'information génétique (il en existe plusieurs types)
Double brin	Simple brin
Polymère de désoxyribonucléotides (dNTs) : A/ T /C/G	Polymère de ribonucléotides (rNTs) : A/ U /C/G

Remarque : L'ADN permet de synthétiser d'autres molécules (ARNs ou protéines).

B. Structure primaire

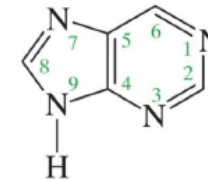
* Un nucléo**T**ide est constitué de **T**rois éléments :

- une **base azotée variable** d'un nucléotide à l'autre (**codant** l'information génétique)
- un **pentose** (sucre à 5 côtés composé de 5 atomes de carbones)
- un **groupe phosphate**

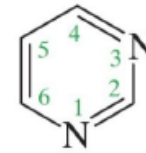
* Il existe **cinq** bases azotées :

PURINES	PYRIMIDINES
Adénine (A) Guanine (G)	Cytosine (C) Thymine (T) Uracile (U) (Issue de la Thymine)

Noyau purique



Noyau pyrimidique

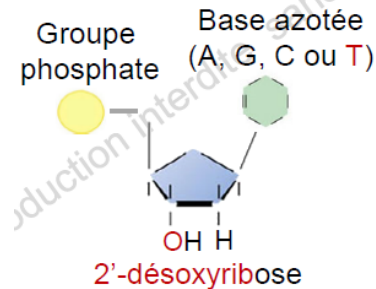


* Il existe **deux** types de pentoses :

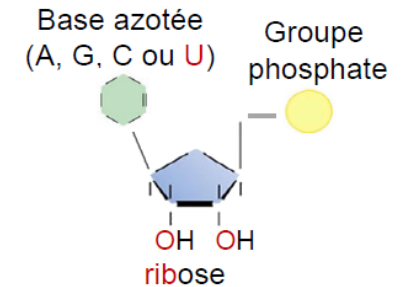
- le **2'-désoxyribose** pour l'ADN
- le **ribose** pour l'ARN

Remarque : Les atomes de carbone des pentoses sont numérotés avec le symbole prime (') pour ne pas les confondre avec ceux des bases azotées.

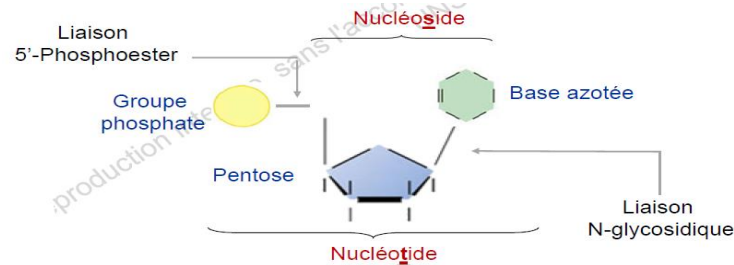
Désoxyribonucléotide (ADN)



Ribonucléotide (ARN)

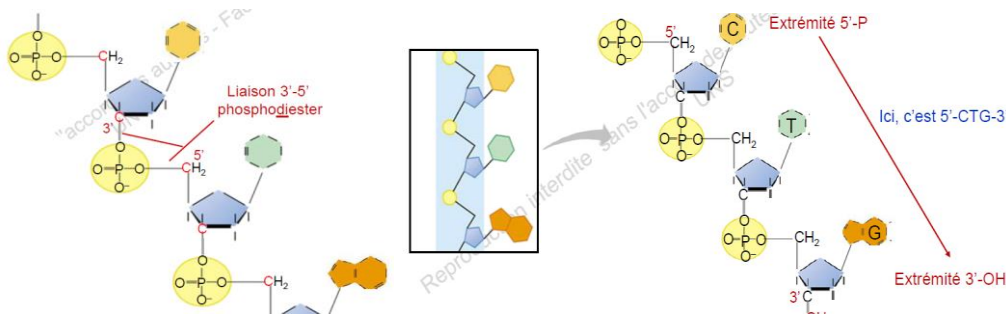


- Base azotée (A/T ou U/C/G)
- Nucléo**S**ide = base azotée + pentose (2'-désoxyribose ou ribose)
- Nucléo**T**ide = nucléo**S**ide + phosphate



- Les dNTs de l'ADN sont reliés entre eux par une **liaison 3'-5' phosphodiester** par l'intermédiaire des **groupes phosphates**.
- Chaque groupe phosphate est lié au **désoxyribose** de **deux** nucléotides (sur un **même brin**) par une **liaison 3'-phosphoester** d'un côté, et **5'-phosphoester** de l'autre.
- La **structure primaire** d'un acide nucléique est ainsi formée d'un **squelette sucre-phosphate** avec les bases reliées aux pentoses. L'enchaînement **variable** des bases (= **séquence nucléotidique**) forme un **message**, toujours lu dans le même sens !

La séquence nucléotidique est toujours lue dans le sens 5'-3', donc de l'extrémité 5'-phosphate libre vers l'extrémité 3'-OH libre



C. Compaction de l'ADN

L'ADN possède une structure secondaire particulière : c'est le modèle de la **double hélice**, contenant deux brins d'ADN formant des paires de bases. Les bases des deux brins s'associent par des **liaisons hydrogènes**.

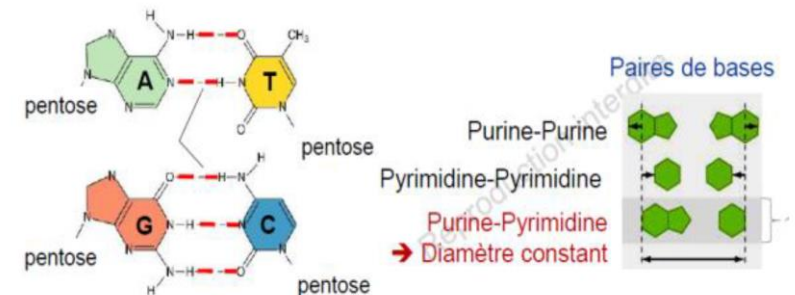
Les nucléotides d'un brin s'associent aux nucléotides de l'autre brin pour former des paires en obéissant à un principe de **complémentarité des bases**.

Remarque : Les nucléotides d'un **même brin** sont reliés entre eux par des **liaisons 3'-5' phosphodiester**, mais ils sont reliés à leur **nucléotide complémentaire** de l'autre brin par des **liaisons hydrogènes**.

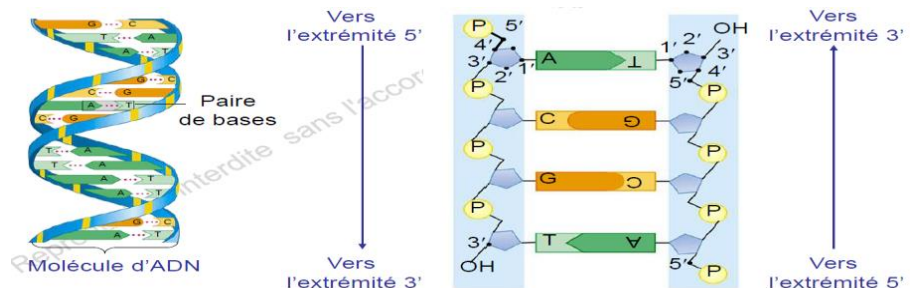
Le **diamètre de l'hélice** étant **constant (2 nm)**, une **purine** **doit** s'associer à une **pyrimidine** :

- L'Adénine s'apparie à la Thymine (2 liaisons hydrogènes)
- La Guanine s'apparie à la Cytosine (3 liaisons hydrogènes)

Remarque : Une liaison entre deux **purines** serait **trop grande** tandis qu'une liaison entre deux **pyrimidines** serait **trop courte**. Seule une liaison **purine-pyrimidine** correspond à un **diamètre de 2 nm** !

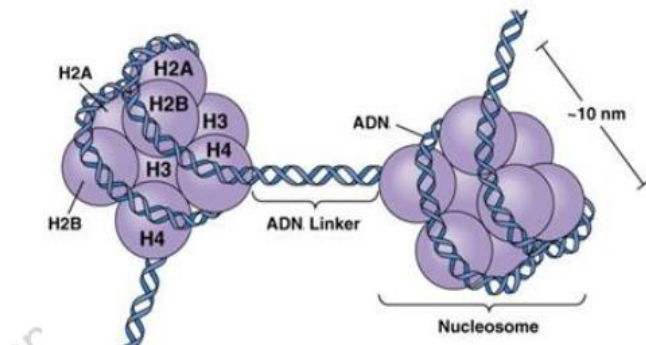


Les deux brins étant ANTIPARALLELES
la séquence de chaque brin est lue en sens inverse (5' → 3')



L'ADN (chargé **négativement**) est **compacté en s'enroulant** autour d'un cœur protéique d'**histones** riches en acides aminés basiques (**lysine** et **arginine**) chargés positivement.

Ce cœur protéique est formé de **8 molécules d'histones : H2A, H2B, H3, H4 (×2)**.
L'ADN enroulé autour du cœur d'histones forme un **nucléosome**.



Les nucléosomes sont reliés entre eux par de l'ADN appelé **ADN linker**.
L'ensemble des nucléosomes reliés forme un « collier de perles » : c'est la fibre de **chromatine de 10 nm de diamètre**.

ATTENTION : à ne pas confondre avec les **chromatides** !

- La **compaction** de l'ADN eucaryote est variable et **conditionne ses fonctions** :

a) **Variable dans le temps** : en fonction du **cycle cellulaire**.

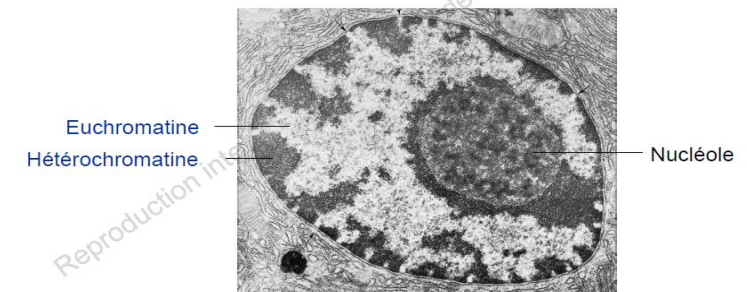
MITOSE (M)	INTERPHASE (G1, S, G2)
ADN sous forme totale ment compactée	ADN sous forme peu compactée
ADN inaccessible	ADN accessible
Hétérochromatine (niveaux de compaction supérieurs)	Euchromatine (= fibre de chromatine de 10 nm)

b) **Variable dans l'espace** : en fonction de sa **localisation** dans le **noyau**.

- L'**hétérochromatine** est à la **périphérie** du noyau
- L'**euchromatine** est plutôt au **centre** du noyau

L'**organisation spatiale** du génome joue un **rôle** dans son **expression** !

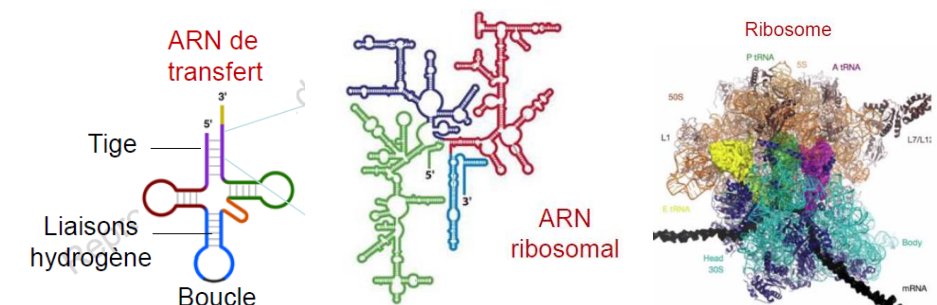
Remarque : Il existe un **compartiment central** dédié à l'**expression génique**, le **nucléole**.



D. Différents types d'ARN

La structure secondaire des ARNs est variée.

Une molécule d'ARN n'est formée que d'**un seul brin** mais elle peut se **replier** par **appariement intramoléculaire de bases complémentaires**.
Ces structures **conditionnent** la **fonction** des différents types d'ARN.



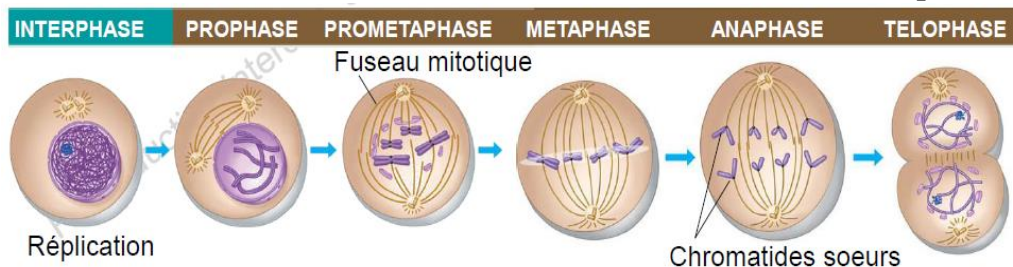
L'ARN messager (ARNm)	L'ARN de transfert (ARNt)	Les ARN ribosomiaux (ARNr)
Intermédiaire entre gène et protéine (véhicule l'information génétique)	Adaptateur entre ARNm et AA	S'associent à des protéines pour former des ribosomes
Fabriqué lors de la transcription Produit une protéine lors de la traduction	Structure en feuille de trèfle qui transporte un AA	La petite sous-unité se lie à l'ARNm La grosse sous-unité accroche les acides aminés entre eux

III. LA REPLICATION DE L'ADN

A. Rappels sur la mitose

La réplication est **couplée** au **cycle cellulaire**, qui comprend **deux phases** principales :

- **Interphase** (G1, S et G2) : **prépare** la mitose
- **Mitose** : **répartit** les chromosomes entre les 2 cellules filles :
 - **PROPHASE** : disparition du noyau et **condensation** des chromosomes
 - **METAPHASE** : **alignement** des chromosomes à **2 chromatides** à l'équateur
 - **ANAPHASE** : **migration** de chaque chromatide à un pôle opposé de la cellule
 - **TELOPHASE** : **division** de la cellule mère en 2 cellules filles **identiques**



B. Rôle et propriétés de la réplication

Elle permet de **dupliquer le génome** d'une cellule avant la division :

- **Avant** : La cellule possède **2n chromosomes à une chromatide**
- **Après** : La cellule possède **2n chromosomes à deux chromatides**

Chaque cellule fille va hériter d'une **copie du génome de la cellule mère**.

Elle est rendue possible par la **structure secondaire de l'ADN**, comme l'énoncent **Watson et Crick** : « *La complémentarité des bases suggère un mécanisme de copie du génome* ».

La double hélice d'ADN est ouverte et chacun de ses brins (brins parents) sert de **modèle** pour la synthèse d'un **nouveau brin** (brin fils).

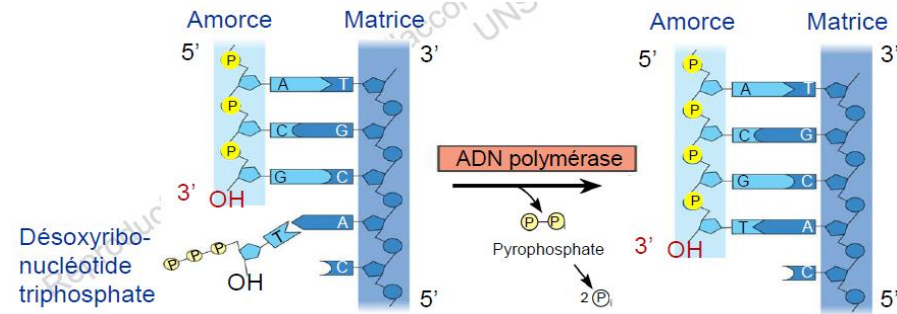
La réplication :

- Est **semi-conservative** : chaque brin de l'ADN parental sert de **matrice** pour synthétiser un brin fils, chaque **nouvelle molécule** comprend **un brin parental et un brin fils**
- Repose sur le **principe de complémentarité des bases** : les nucléotides **complémentaires du brin parent** sont reliés un à un
- Utilise des désoxyribonucléotides triphosphate (**dNTPs**) comme substrats
- Nécessite un brin d'ADN **matrice**, des **amorces** pour initier la réplication, une **ADN polymérase**, des **dNTPs**

ATTENTION : La **polymérase δ/ϵ** ne peut relier les dNTPs qu'à une **extrémité 3'-OH préexistante** du brin fils. Un court fragment d'ADN (**amorce**) synthétisé à partir du brin parent par une autre ADN polymérase (**polymérase α**) fournit cette extrémité.

La polymérase ne **synthétise** les **brins fils** que dans le sens **5'-3'**
La polymérase **lit** la **matrice** dans le sens **3'-5'**

La polymérisation est assurée par l'ADN polymérase δ/ϵ qui nécessite une amorce synthétisée par la polymérase α



C. Les étapes de la réplication

1. Étape d'initiation

L'**initiation** de la réplication se fait en de **nombreux points** (origines de réplication) sur un chromosome.

La double hélice est ouverte (les deux brins parents sont séparés) par des **hélicases** pour former une **bulle de réplication**.

Chaque bulle de réplication comprend **deux fourches de réplication**.

La réplication est bidirectionnelle à partir de chaque point d'initiation

Les **amorces** sont synthétisées dans le sens **5'-3'** par l'ADN polymérase **alpha**, afin de fournir les **premières extrémités 3'-OH** du nouveau brin pour que la polymérase **δ/ε** puisse commencer son travail.

2. Étape d'élongation

La **réplication** = synthèse des brins = polymérisation est **SIMULTANEE** sur les deux brins mais **ASYMETRIQUE** !

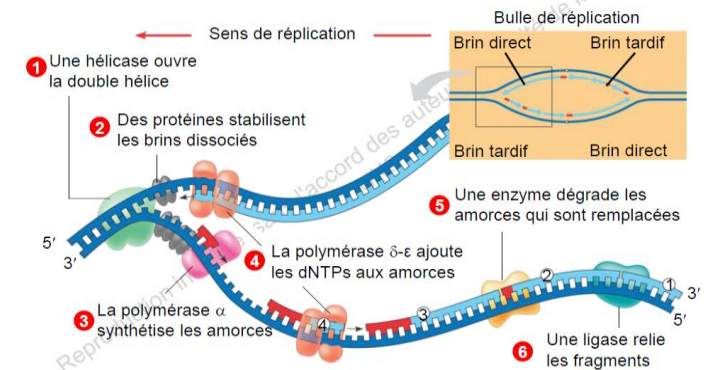
Les brins parents sont **antiparallèles** et les brins fils le sont aussi !

La réplication se fait toujours **de l'extrémité 5' à l'extrémité 3'**.

ATTENTION : Au niveau de chaque fourche, la réplication se fait en sens opposé :

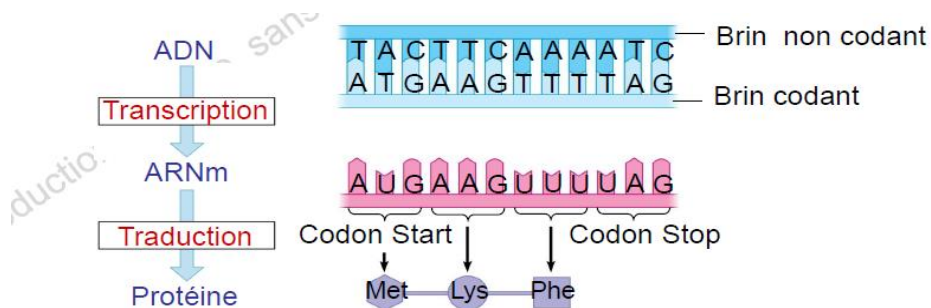
- **Brin direct** (en haut sur le schéma) : synthétisé **en continu** à partir d'une seule amorce.
Par rapport à la progression de la fourche, un brin **direct** est **correctement orienté** pour être synthétisé dans le sens 5'-3' à partir d'une seule amorce !

- **Brin tardif** (en bas sur le schéma) : synthétisé **par fragments** à partir de **plusieurs amorces** réunies par la suite (= **fragments d'Okazaki**).
Pour une synthèse qui respecte le sens 5'-3', la réplication se fait dans **l'autre direction** à partir de **plusieurs amorces**. La polymérase ajoute les dNTPs à une première amorce puis **recule** et **recommence** et ainsi de suite ! Les amorces sont ainsi produites au fur et à mesure de l'avancée de la fourche.



Au cours de la réplication les **amorces** sont **dégradées**. Le trou est comblé par la **polymérase δ/ε** qui avance depuis une autre amorce. Les fragments sont ensuite reliés par l'ADN ligase par des **liaisons 3'-5' phosphodiester**.

III. LA SYNTHÈSE DES PROTEINES



A. Structure d'un gène codant

Un **gène** contient une **information** sous la forme d'une **suite de nucléotides** et **s'exprime** lorsque cette information est **utilisée**.

GENES CODANTS	GENES NON CODANTS
Leur information sert à la synthèse des protéines	Leur information ne sert qu'à la synthèse des autres ARNs (<i>ARNr, ARNt, petits ARN nucléaires ou nucléolaires</i>)
Transcrits en pré-ARNm puis modifiés en ARNm mature (maturation)	Uniquement transcrit dans le noyau (non traduit)
L'ARNm rejoint le cytosol et sa séquence est traduite en acides aminés	Certains de ces ARNs restent dans le noyau , d'autres rejoignent le cytosol Tous participent à l'expression des gènes codants !

L'expression d'un gène codant **début**e par sa **transcription en ARNm** dans le **noyau** et **s'achève** par la **traduction** de l'ARNm en **protéine** dans le **cytoplasme**.

La suite de nucléotides de l'ARNm est **convertie en une séquence d'acides aminés (= protéine)**.

L'information du brin codant est celle qui figure dans le brin d'ARNm. C'est donc le brin complémentaire **non codant** qui sert de **matrice** pour la transcription selon le principe de complémentarité !

ATTENTION : Le brin **codant** contient l'**information** mais le brin **non codant** sert de **matrice** lors de la **transcription**.

Un gène codant eucaryote comprend deux régions :

Une région destinée à être transcrite (unité de transcription) :

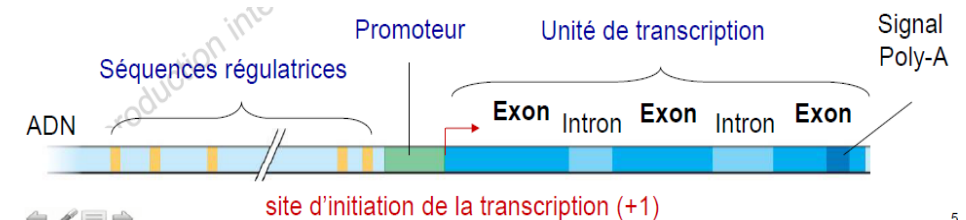
C'est un ensemble de séquences **transcrites** mais **pas forcément traduites** !

Cette succession de séquences **codantes (EXONS)** et **non codantes (INTRONS)** est transcrite du signal d'**initiation (nucléotide +1)** au signal de **terminaison (signal Poly-A)**.

ATTENTION : Transcription et traduction commencent et ne finissent pas au même endroit !

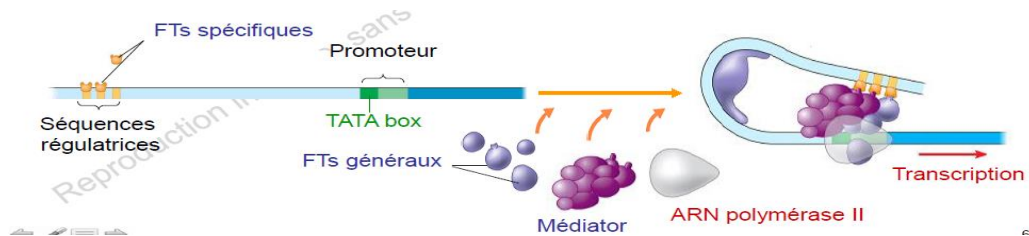
Des régions situées en amont et non transcrites :

- **Le promoteur** : situé **près du site d'initiation** de la transcription et constitué de la séquence TATAA (**TATA box**), il fixe le complexe assurant la transcription
- **Des séquences distales et proximales** : plus éloignées, elles assurent la **régulation de la transcription**.



B. Les étapes de la transcription

Chez les eucaryotes, c'est l'**ARN polymérase II** qui transcrit les gènes codants.



La TATA box **recrute la machinerie basale** de transcription qui comprend :

- L'**ARN polymérase II**, dont l'extrémité **C-term** peut être phosphorylée
- Les facteurs généraux de transcription (**TFII A, B, D, E, F, H**) qui permettent à l'ARN polymérase II de se fixer au promoteur et l'activent

D'autres protéines se fixent à l'ADN et **régulent la transcription** : ce sont les **facteurs de transcription spécifiques** et le **complexe Médiateur**.

Les séquences régulatrices des gènes codants varient.

Chaque gène possède sa **propre combinaison** de séquences régulatrices.

Une séquence donnée peut fixer un facteur de transcription **spécifique**.

Ainsi, chaque gène est régulé par une **combinaison** de facteurs de transcription.

**Le gène ne s'exprimera qu'en leur présence,
variable selon le type cellulaire**

Chaque gène recrute donc une combinaison variable de FT spécifiques qui permettent l'assemblage de la machinerie basale de transcription.

1. Initiation de la transcription

1. Des facteurs de transcription **spécifiques** se fixent aux **séquences régulatrices** du gène.

2. Des facteurs de transcription **généraux** se fixent sur la **TATA box** du promoteur : **TFIID** en premier puis TFII A, B, E, F, H.

3. L'**ARN Polymérase II** se fixe sur les facteurs de transcriptions généraux : l'ensemble forme la **machinerie basale de transcription** encore **INACTIVE** !

L'ARN polymérase II ne peut pas se fixer seule au promoteur !

4. La transcription ne débute pas avec le recrutement de l'ARN polymérase mais grâce à **TFII H** :

- Il **ouvre la double hélice** pour former la bulle de réplication (activité **hélicase**)
- Il **phosphoryle l'extrémité C-terminale** de l'ARN Pol II ce qui l'**active** ! (activité **kinase**)

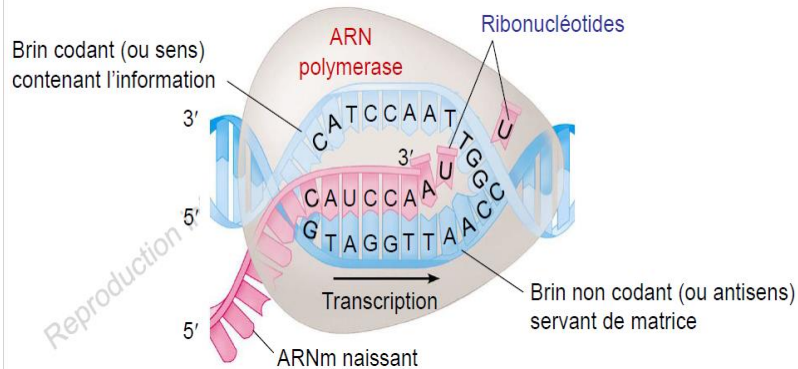
**La transcription débute avec
la phosphorylation de la polymérase**

2. Élongation de la transcription

La maturation de l'ARNm débute **SIMULTANEMENT** à la transcription (couplage élongation/maturation) : d'autres **phosphorylations** de l'extrémité C-term de l'ARN Pol II recrutent **successivement** les enzymes de **maturation du pré-ARNm**.

L'ARN polymérase utilise le **brin non codant** (=antisens) comme **matrice**, afin de **transcrire** le message qui est celui du **brin sens** par complémentarité des bases puisque les deux brins sont ... **complémentaires** ! L'**ARN Pol II** relie donc entre eux les **rNTPs** complémentaires du brin non codant.

**La synthèse se fait dans le sens 5'- 3'
et s'arrête au signal Poly-A**



3. Terminaison de la transcription

Les gènes eucaryotes ne possèdent pas de séquence signalant à la machinerie basale de transcription où s'arrêter.

La transcription s'arrête vers la **séquence de polyadénylation AAUAAA**.

C. Modifications co-transcriptionnelles

Un gène codant eucaryote est transcrit dans un premier temps en **ARN pré-messager** (transcrit primaire).

Des modifications co-transcriptionnelles assurent sa maturation en ARNm :

- L'ajout d'une **coiffe** à l'extrémité 5' (coiffe) et de la **queue Poly-A** en 3'
- L'**excision** (élimination) des introns et l'**épissage** des exons (ligation)

L'ARNm mature aura une séquence codante ininterrompue et encadrée par les signaux Start/Stop

1. La coiffe de l'ARNm

La coiffe comprend plusieurs modifications de l'**extrémité 5'**.

La coiffe **protègera** le transcrit de la **dégradation**, **augmentant** sa durée de vie, et est nécessaire à sa **reconnaissance** par la **machinerie traductionnelle**.

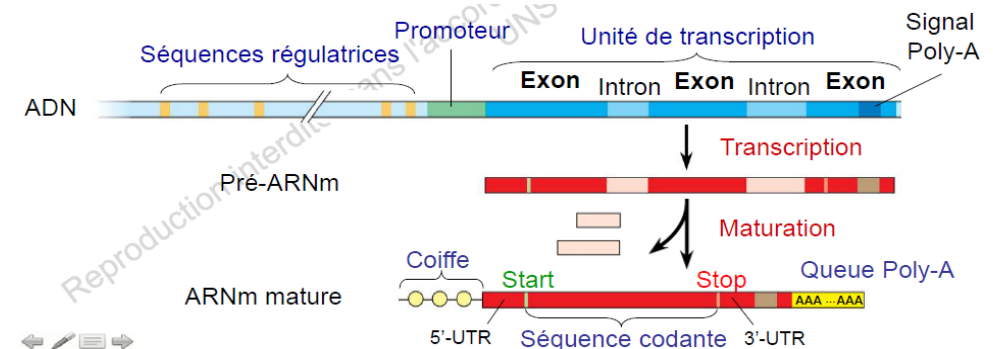
2. L'épissage des introns (= régions transcrites mais non codantes)

La séquence codante des différents exons est mise bout à bout (=ligation). Pour cela l'épissage fait intervenir des séquences introniques appelées **consensus** (invariables, communes à tous les gènes), et un **spliceosome** (complexe enzymatique).

3. La polyadénylation de l'ADN

La polyadénylation **ralentit** aussi la **dégradation** du transcrit mature.

- La transcription s'interrompt à la **séquence de polyadénylation**
- Le **pré-ARNm** est coupé quelques nucléotides après ce signal
- La **Poly (A) polymérase** vient ajouter une **queue poly A** d'environ **250 nucléotides**



D. La transcription procaryote

PROCARYOTES	EUCARYOTES
Les gènes sont compacts et regroupés (absence d'introns) et régulés par les mêmes séquences régulatrices	Les gènes sont morcelés (grâce aux introns) et régulés individuellement
ADN non associé à des protéines histones La transcription débute sans décompaction des nucléosomes	ADN associé à des protéines histones
Une séquence régulatrice unique contrôle un ensemble de gènes (= opéron)	Plusieurs séquences régulatrices proximales et distales
Opéron transcrit en un long ARNm ne nécessitant pas de maturation	Gène transcrit en un pré-ARNm nécessitant des maturations
Transcription et traduction simultanées Pas de membrane séparant le nucléoïde du cytosol	La transcription précède la traduction Membrane séparant le noyau du cytosol