

Chapitre 1 :

Structure et biologie moléculaire

1.1. Les nucléotides et les acides nucléiques :

1.1.1. Les nucléotides

Les nucléotides sont de petites molécules formées par l'association de trois constituants distincts :

- Une base, composé cyclique portant un ou des groupements azotés ;
- Un sucre à 5 carbones ou pentose ;
- Un ou plusieurs groupements phosphates liés au sucre.

La classification des différents nucléotides peut se faire en deux groupes selon la nature de leur sucre. Dans chacun de ces deux groupes, plusieurs nucléotides se distinguent par la nature de leur base.

En formant des polymères, appelés acides nucléiques, les nucléotides jouent un rôle crucial dans la conservation du patrimoine génétique et des informations nécessaires à la synthèse des protéines. À l'état monomérique, ils jouent aussi un rôle majeur dans la fourniture d'énergie chimique et la transmission des signaux cellulaires.

1.1.2. Constituants des acides nucléiques :

* L'hydrolyse totale des acides nucléiques montre que chaque nucléotide est constitué de l'enchaînement de trois éléments : une base, un pentose et un acide phosphorique.

1.1. 2.1. Les bases hétérocycliques azotées :

Les bases nucléotidiques sont des composés cycliques azotés dérivent soit de la pyrimidine soit de la purine. Les pyrimidines sont des hétérocycles aromatiques à six atomes numérotés dans le sens des aiguilles d'une montre à partir d'un hétéroatome (dans ce cas c'est l'atome d'azote). Le cycle de la purine résulte de la fusion de deux cycles, celui de la pyrimidine avec le cycle de l'imidazole (voir figure 01).

a. Les bases pyrimidiques :

Elles sont formées d'un cycle hexagonal à 4 carbones et 2 azotes.

Différents substituants viennent se greffer sur ce cycle commun à toutes les bases pyrimidiques au niveau des carbones 4 (substituant R₂) et 5 (substituant R₁)

(figure.01) (tableau 01).

Ces substituant R₁ et R₂ sont des groupements H, O, NH₂ ou CH₃. Les pyrimidines les plus communes sont :

- **La cytosine** : (2-oxy, 4-amino pyrimidine, voir figure 01), elle est présente dans les deux types d'acide nucléique (ADN et ARN).
- **L'uracile** : (2, 4-dioxy pyrimidine, voir figure 01), présente dans tous les ARN mais n'existe pas dans les ADN.
- **La thymine** : (2, 4-dioxy, 5-méthyl pyrimidine ou 5-méthyl uracile, voir figure 01), elle est présente dans tous les ADN où elle remplace l'uracile. Elles diffèrent entre elles par les groupements R₁ et R₂ et le nombre de doubles liaisons sur le cycle.

Tableau 01 : Groupements substituant le cycle pyrimidique des bases nucléotidiques

	Groupements R ₁	Groupements R ₂
Uracile	NH ₂	H
Cytosine	NH ₂	H
Thymine	O	CH ₃

b .Les bases puriques :

Elles sont formées de l'accolement d'un cycle hexagonal à 4 carbones et 2 azotes et d'un cycle pentagonal à 3 carbones et- 2 azotes.

Déférents substituants viennent se greffer sur le cycle hexagonal de l'hétérocycle commun à toutes les bases puriques au niveau des carbones 2 et 6. Deux bases puriques majeures dérivent du noyau purine :

- **L'adénine** : (6- amino purine, voir figure 01), présente dans les ADN et les ARN. A l'état libre elle est présente dans les urines, le lait de vache et certains végétaux comme le thé, le café et le tabac. L'adénine a un groupement H sur le carbone 2 et NH₂ sur le carbone 6.
- La guanine** : (2- amino, 6- oxy purine, voir figure 01), elle est également présente dans les deux types d'acides nucléiques. Elle doit son nom au fait qu'elle ait été isolée à partir du **guano**,

une engrée azotée et phosphorée provenant des excréments d'oiseaux du Mexique. La guanine a un groupement NH_2 sur le carbone 2 et O sur le carbone 6.

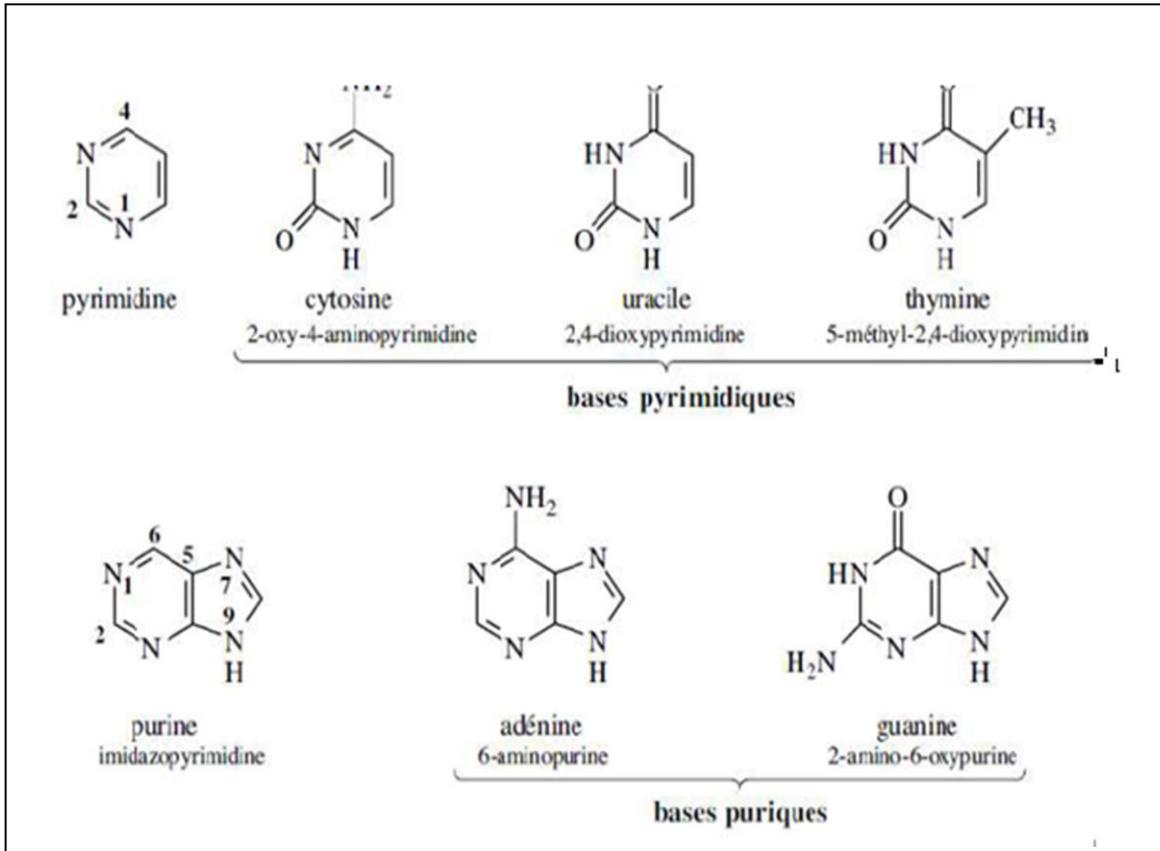


Figure 01: Les principales bases azotées cycliques

1.1.2.2. Les oses (glucides) :

Les oses impliqués dans la structure des acides nucléiques sont des aldopentoses ; le β -D-Ribose pour l'ARN et le β -D-2-Désoxyribose dans l'ADN (figure 02).

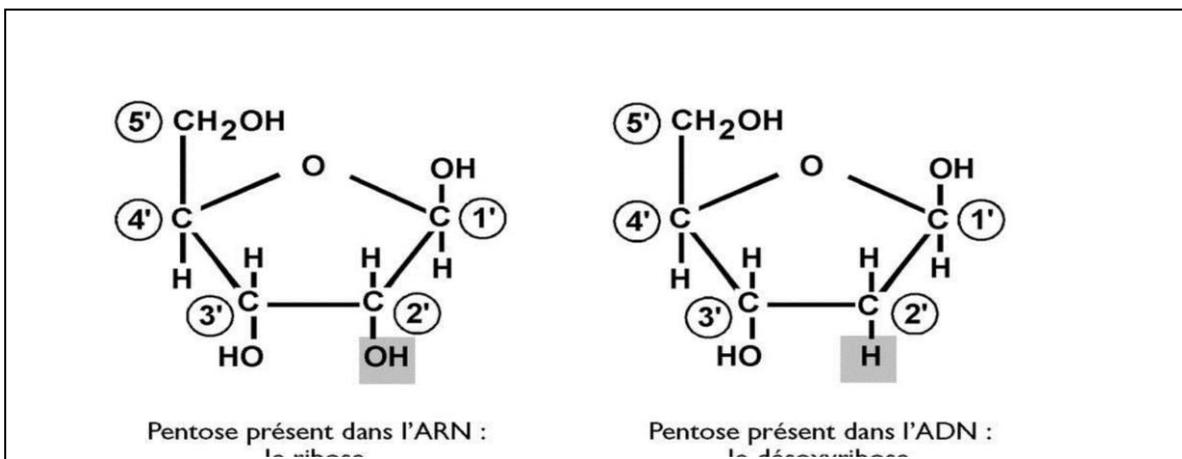


Figure 02 : Les oses impliqués dans la structure des acides nucléiques

1.1.2.3. Les nucléosides :

Ils résultent de l'association d'un sucre et d'une base purique ou pyrimidique par une liaison *N-Osidique* (voir figure 03), ce sont alors des N-hétérosides. Cette liaison unit le carbone 1' du ribose et l'azote 1 de la base pyrimidique ou l'azote 9 de la base purique (voir figure 03). Selon la structure du pentose on distingue les ribonucléosides et les désoxyribonucléosides.

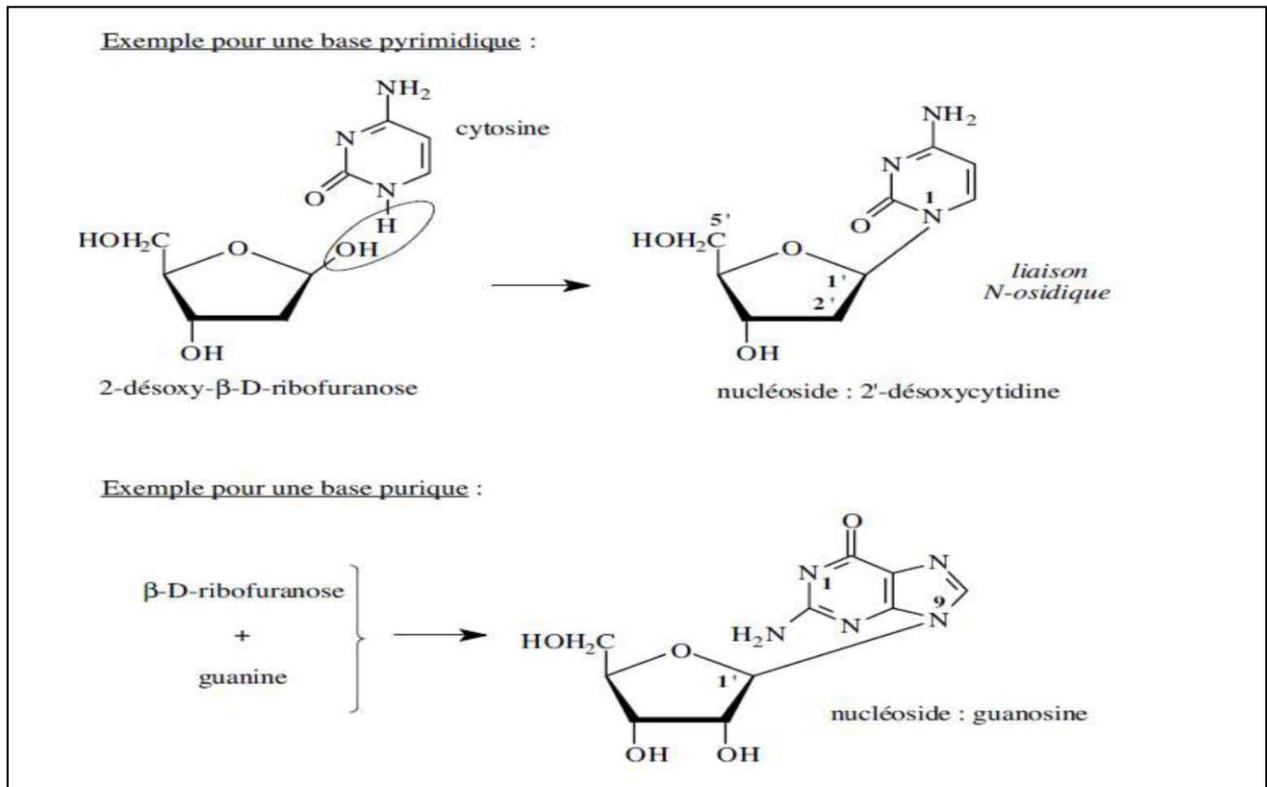


Figure 0 3 : Exemple de nucléosides, liaison base -pentose

1.1.2.4. Les nucléotides :

Les nucléotides sont des nucléosides phosphorylés. En effet, ils résultent de la phosphorylation d'un groupement OH de l'ose du nucléoside. Le cycle du D- ribose a 3 groupes OH phosphorylables : C2', C3', C5', alors que le D- désoxyribose n'en a que deux : C3' et C5'. L'immense majorité de nucléotides cellulaires sont de nucléosides phosphorylés en C5' (voir figure 04). Tous les nucléotides courants existent également dans la cellule sous forme de nucléoside biphosphate et de nucléosides triphosphate (voir figure 04). L'acide phosphorique est un tri acide ce groupement phosphate rend donc le nucléotide chargé négativement. Dans un nucléotide libre, l'acide phosphorique est lié au sucre par une de ses fonctions acides (figure .04).

C'est le groupement hydroxyle (OH) du carbone 5 du pentose qui forme la liaison covalente.

Le nucléotide libre peut contenir un, deux ou trois groupements phosphates. On parle alors de nucléotide mono-, di- ou triphosphates. Les phosphates sont alors liés entre eux par des liaisons « phosphoanhydride », riches en énergie chimique.

Dans les ADN et ARN, le seul groupement phosphate du nucléotide verra deux de ses trois fonctions acides estérifiées. La première fonction estérifiée permet la liaison au sucre du nucléotide précédent.

A. Nomenclature des différents nucléotides

Par convention, l'association d'une base à un sucre de type pentose est appelée nucléoside, alors que l'association d'une base, d'un sucre et d'un phosphate est appelée nucléotide. Le nom du nucléoside ou du nucléotide dérive de celui de sa base (radical) suivi d'un suffixe « osine » (base purique) ou « idine » (base pyrimidique) pour les nucléosides et « ylique » (Base purique) ou « idylique » (Base pyrimidique) pour les nucléotides. Ces règles et les abréviations des nucléotides sont schématisées dans les tableaux 1 et 2 et dans la figure 04 .

Tableau 02 : Bases, nucléosides et nucléotides constituant l'ARN

Base	Abréviation	Nucléoside	Nucléotide	Abréviation
Adénine	A	Adénosine	Acide adénylique	AMP
Guanine	G	Guanosine	Acide guanylique	GMP
Cytosine	C	Cytidine	Acide cytidilique	CMP
Uracile	U	Uridine	Acide uridylique	UMP

Tableau 03 : Bases, nucléosides et nucléotides constituant l'ADN

Base	Abréviation	Nucléoside	Nucléotide	Abréviation
Adénine	A	Désoxyadénosine	Acide Désoxyadénylique	dAMP
Guanine	G	Désoxyguanosine	Acide Désoxyguanylique	dGMP
Cytosine	C	Désoxycytidine	Acide Désoxycytidilique	dCMP
Thymine	T	Désoxythymidine	Acide Désoxythymidilique	dTMP

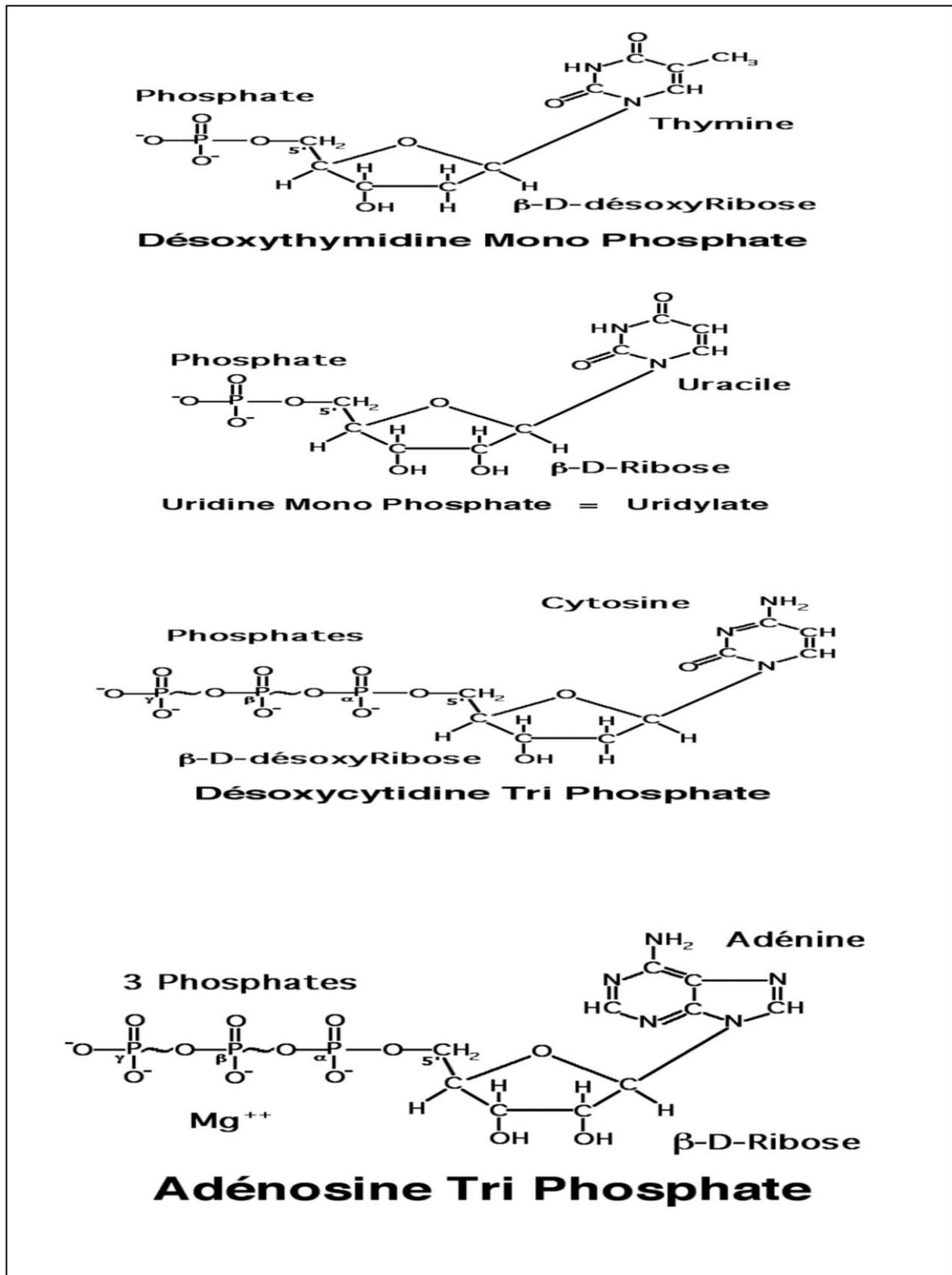


Figure 04 : Exemple de nucléotides mono-, bi- ou triphosphates existents à l'état libre dans la cellule.

B. Fonctions des nucléotides

Les nucléotides triphosphates et tout particulièrement L'ATP sont essentiels dans le transport de l'énergie cellulaire. L'hydrolyse des phosphates de ces nucléotide libère de grandes quantités d'énergie chimique utilisée dans de nombreuses réactions cellulaires ;

. Ils s'associent à d'autres molécules pour former des coenzymes ou favoriser les réactions enzymatiques ;

. Ils jouent le rôle de petits messagers solubles, transmettant le signal des hormones et neuromédiateurs à l'intérieur de la cellule (AMP cyclique) ;

. Mais surtout ils se polymérisent en une longue chaîne non ramifiée appelée acide nucléique, qui contient l'information génétique de la cellule vivante.

C. Liaisons entre les nucléotides dans un acide nucléique

Dans un acide nucléique, les nucléotides sont assemblés entre eux par des liaisons ester (figure 05) Une molécule d'eau est éliminée entre :

L'hydroxyle (OH) d'une fonction acide d'un groupement phosphate ($H_3 PO_4$) porté par un nucléotide ; et l'hydrogène (H) d'une fonction alcool portée par le carbone 3 du pentose du nucléotide suivant. Cette liaison entre deux nucléotides est donc appelée « **phosphodiester** ».

Il se forme ainsi un squelette alternant les résidus pentose et les résidus phosphatés, les bases étant des groupements latéraux, unis au squelette à intervalles réguliers.

Ainsi, l'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans des liaisons dites « **phosphodiester** » (une fonction ester servant à former le nucléotide, la deuxième à relier deux nucléotides entre eux).

La troisième fonction acide du phosphate reste libre et confère donc des propriétés acides aux « acides » nucléiques ADN et ARN.

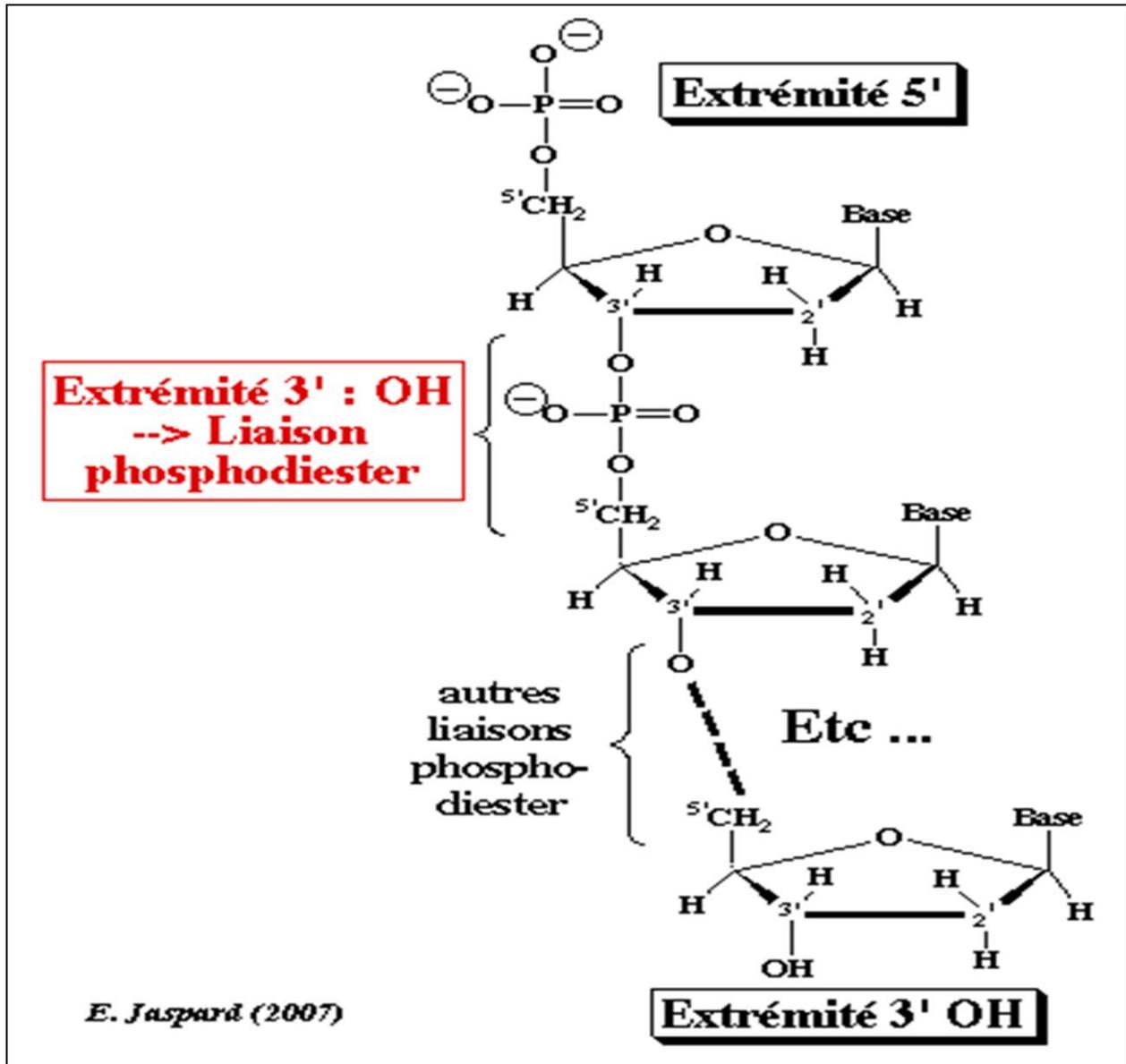


Figure 05 : liaisons entre nucléotides

1.2. Les acides nucléiques :

Les acides nucléiques sont des molécules constituées d'un enchainement linéaire de nucléotides. On distingue deux types d'acides nucléiques :

. L'acide désoxyribonucléique (ADN) ; et l'acide ribonucléique (ARN).

Ces deux molécules se distinguent par la nature de leur pentose : le ribose pour l'ARN et le désoxyribose pour l'ADN. Cette différence de structure est à l'origine de leur nom.

Une autre différence entre ADN et ARN réside dans la nature de leurs bases.

La fonction des molécules d'ADN et d'ARN dans une cellule eucaryote est bien déferente :

L'ADN contient l'ensemble de l'information génétique nécessaire à la structure et au fonctionnement de la cellule et de l'organisme ; Les ARN sont des molécules, qui transféreront cette information génétique et participeront à la machinerie cellulaire pour la fabrication de toutes les protéines.

1.2.1. L'acide désoxyribonucléique (ADN) :

L'ADN est toujours constitué de deux brins de polynucléotides enroulés l'un sur l'autre pour former une longue et fine molécule **hélicoïdale** qui s'enroulent autour d'un axe central imaginaire en formant une **double hélice** (figure 06). Les deux brins sont orientés dans des directions opposées, ils sont donc **anti-parallèles** et des liaisons hydrogènes maintiennent la structure de la double hélice (voir figure 06). Ces liaisons hydrogènes relient les bases des nucléotides d'une chaîne aux bases **complémentaires** de l'autre chaîne pour former des couples de bases. Ces paires sont toujours constituées d'une base pyrimidique sur un brin liée à une base purique sur l'autre brin. L'appariement se fait toujours de la manière suivante : A-T et G-C, par conséquent, la séquence des bases d'un brin est **complémentaire** de la séquence des bases de l'autre brin. En effet, la composition en bases des deux brins n'est pas identique. La stabilité de la double hélice est due aux liaisons hydrogènes entre les bases $G\equiv C$ et $A=T$, donc les zones riches en paires A=T sont dites des zones à appariement faible. Cette complémentarité entre les deux chaînes n'est pas le fruit du hasard, mais répond à des contraintes moléculaires de deux ordres.

- **Des contraintes stériques** : (c'est-à-dire pour des raisons de place, d'encombrement).

En face d'une purine, qui est constituée de deux cycles, on a obligatoirement une pyrimidine, qui ne possède qu'un cycle, et inversement.

Deux purines (= quatre cycles au total) prendraient trop de place.

Deux pyrimidines (= deux cycles en tout) seraient trop éloignée pour former des liaisons stables.

Chaque paire de bases a donc la même dimension et cela rend possible la structure régulière de la double hélice (figure 07).

Cependant à une base purique ne peut pas s'associer n'importe quelle base pyrimidique en raison de leurs interactions chimiques.

- **Des contraintes chimiques** :

Les bases complémentaires situées face à face sont liées entre elles par des liaisons hydrogènes.

En face d'un groupement NH₂ d'une base purique se trouve un groupement C=O d'une base pyrimidique se trouve un groupement C=O d'une base purique.

Pour le couple Adénine Thymine, il ya deux liaisons hydrogène (figure 08) :

- 1 H entre 1 N (liaison covalente) et 1 O (liaison hydrogène) ;
- 1 H entre 1 N (liaison hydrogène) et 1 N (liaison covalente).

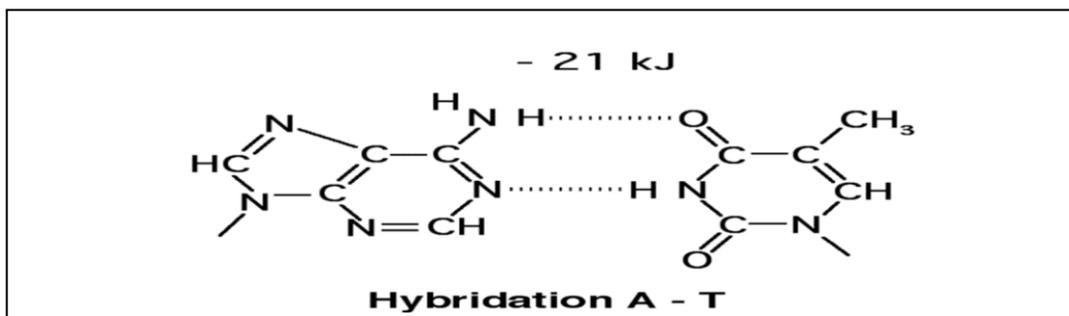


Figure 08 : Les deux liaisons hydrogènes du couple Adénine-Thymine

Pour le couple Cytosine- Guanine, il y a trois liaisons hydrogène (figure 09) :

- 1 H entre 1 O (liaison hydrogène) et 1 N (liaison covalente) ;
- 1 H entre 1 N (liaison covalente) et 1 N (liaison hydrogène) ;
- 1 H entre 1 N (liaison covalente) et 1 O (liaison hydrogène).

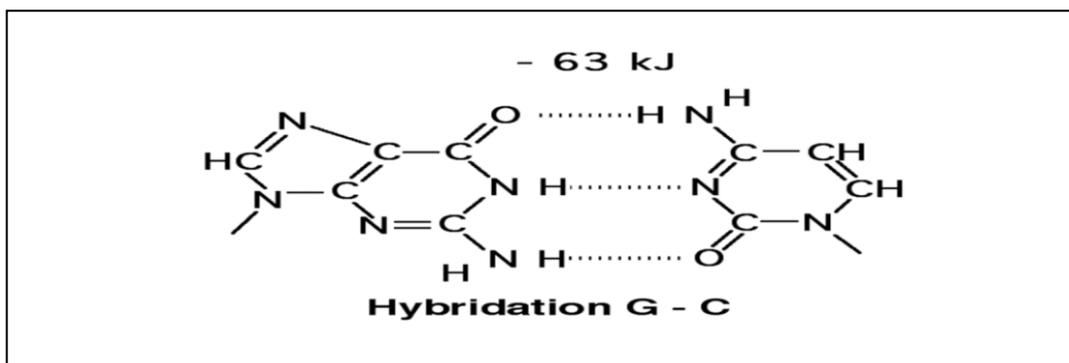


Figure 09 : Les deux liaisons hydrogènes du couple Cytosine-Guanine

A. Topoisomères de l'ADN :

Deux molécules d'ADN, ayant exactement la même séquence de bases, peuvent cependant différer entre elles par ce que l'on appelle le nombre d'enlacements, c'est-à-dire le nombre de tours que fait l'un des brins autre brin.

On appelle alors « topoisomères » ces deux ADN différant uniquement par le nombre d'enlacements. Cependant, si les deux brins d'ADN sont circulaires ou linéaires avec leurs deux extrémités fixées, le nombre d'enlacements devient une constante qui ne peut plus varier.

Le changement du nombre de bp par tour, en un endroit d'une boucle de l'ADN, sera donc nécessairement compensé par un surenroulement opposé (c'est -à- dire positif ou négatif) en amont ou en aval de cet endroit.

B. Différents états de topoisomères :

a. Etat relâché

Dans l'état dit « relâché » la contrainte, ou la tension, sur la double hélice est minimale. C'est la configuration la plus stable de la molécule.

Les analyses physicochimiques effectuées sur des fibres cristallines d'ADN – B ont indiqué que cet état s'observait pour 10 bp par tour.

Dans les cellules, l'ADN a une conformation proche, mais l'état sans contrainte correspond en moyenne à 10,5 bp par tour de spire (Kluge, prix Nobel de chimie 1982), au lieu de 10. Cette valeur peut varier sur de courtes distances en fonction de l'association de l'ADN à des protéines.

b. Etat surenroulé

L'axe de la double hélice peut s'enrouler sur lui – même en formant un nombre d'enlacement est supérieur ou inférieur à la valeur de l'état relâché, (figure 10).

Deux formes de surenroulement (*supercoiling*) sont théoriquement possibles :

- Si le nombre de tours d'hélice est plus grand que la valeur standard correspondant à l'état relâché, l'ADN est dit **surenroulé positivement**.
- À l'inverse, il peut aussi avoir un nombre de tour d'hélices plus faible, il est alors désenroulé ou **surenroulé négativement**.

Pour relâcher la contrainte liée au surenroulement et ramener localement le nombre de paires de bases par tour aux alentours de la valeur standard ~10,5, l'ADN adopte alors une forme vrillée, en formant une superhélice (hélice formée par le double-brin sur lui-même, en plus de l'hélice formée par un brin autour de l'autre). Lorsque le surenroulement est positif, il forme une superhélice gauche et lorsque le surenroulement est négatif, il forme une superhélice droite.
Surenroulement négative = désenroulèrent.

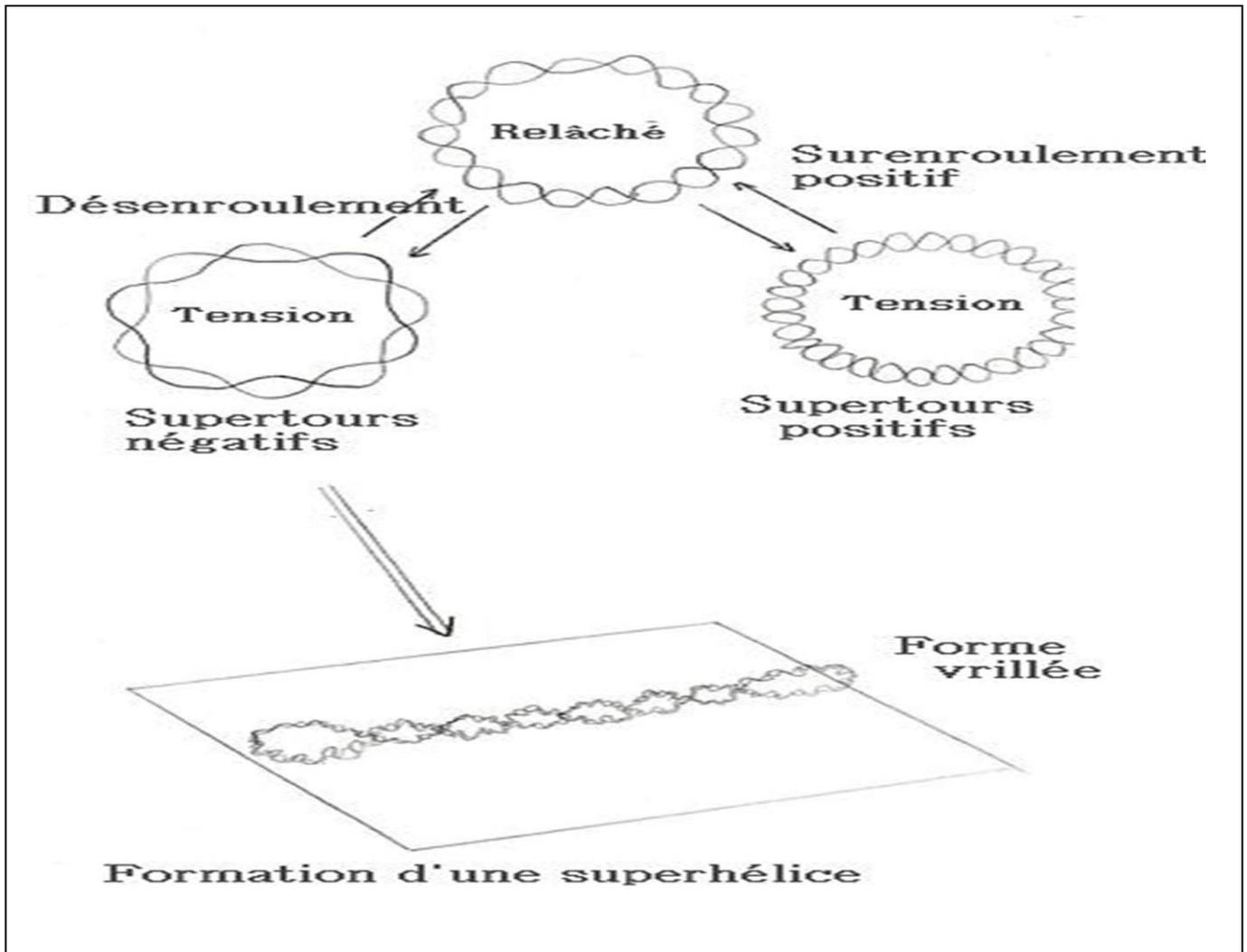


Figure 10 : surenroulement de l'ADN et différents états de topoisomères

La plupart des molécules d'ADN rencontrées dans la nature forment des Surenroulement négatifs (superhélices droites), par désenroulèrent d'environ un tour pour 200bp. Le Surenroulement exerce une contrainte sur la molécule. Cette contrainte provoque un vrillage et cela. Aussi bien avec un ADN surenroulé positivement que surenroulé négativement.

Les formes d'ADN surenroulées négativement présentent le double avantage d'être à la fois plus compactes, mais aussi plus accessibles aux enzymes de la transcription et de la réplication.

❖ **Tropoisomérasés**

Les topoisomérasés sont des enzymes qui modifient le nombre d'enlacements. Elles sont donc capables d'introduire ou d'éliminer des supertours dans une double hélice d'ADN. Pour modifier la topologie de l'ADN et permettre l'interconversion des différents topoisomères, il est nécessaire de couper puis de suturer au moins un des deux brins. Les enzymes qui permettent de réaliser ces conversions sont des topoisomérasés.

On distingue :

- Les **topoisomérases I** qui coupent un seul brin de la molécule d'ADN et ont pour fonction de « relâcher » l'ADN en supprimant les surenroulements ;
- Et les **topoisomérases II**, qui coupent les deux brins d'ADN pour désenrouler l'ADN.
- Ainsi, chez la bactérie, **la gyrase** désenroule l'ADN, permettant une meilleure accessibilité des protéines à l'ADN au cours de la transcription ou de la réplication. Les inhibiteurs de cette gyrase sont donc logiquement des antibiotiques. Chez les eucaryotes, ces topoisomérases II semblent surtout « démêler » les nœuds d'ADN.

B. Les différentes variantes structurales de la molécule d'ADN :

Il existe plusieurs formes d'ADN à double hélice droite, ADN –A, ADN B, etc

- Cette classification est fondée sur des critères physicochimiques. Ainsi ces types d'ADN diffèrent légèrement par le diamètre de leur hélice il existe aussi des molécules d'ADN à hélice gauche (figure 11).

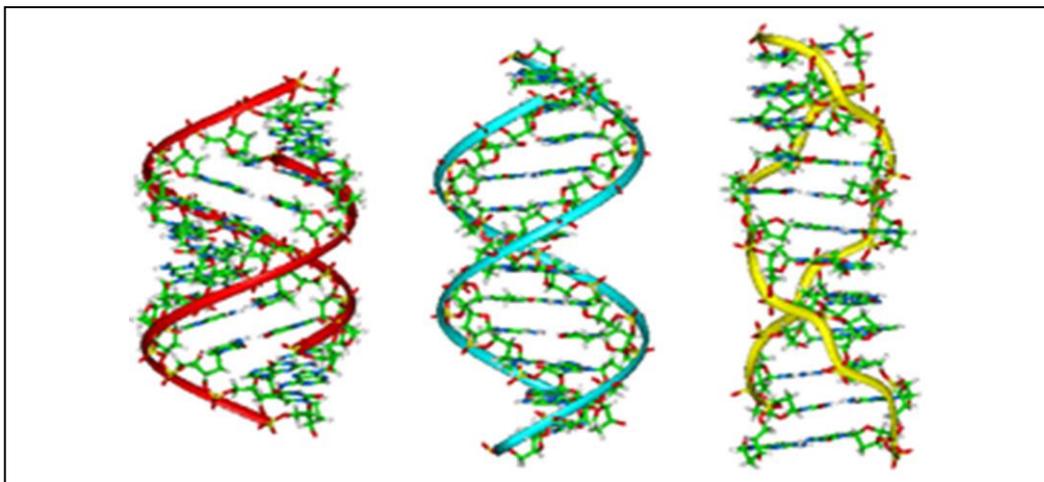


Figure 11 : Les ADN-A, B (hélices droites) et Z (hélices droites).

1. Les hélices droites

La forme structurale de la molécule de l'ADN –B, correspondant à la classique double hélice droite dont chacun des tours correspond à **10/10,5 bp**, a un pas de **3,4 nm** et un diamètre de **2,4 nm**. Il s'agit de la forme de double hélice la plus stable. En solution dépourvue d'eau, il a été obtenu une autre double hélice droite d'ADN appelée ADN –A, qui présente une forme plus

condensée : Chacun des tours comprend **11 bp**, elle a un pas de **2,3 nm** et un diamètre **plus grand** que l'ADN-B.

2. Les hélices gauches

Découvert à la fin des années soixante-dix, l'ADN « gauche » ou **ADN-Z** a d'abord été une curiosité de laboratoire obtenue par synthèse. Rapidement, il est apparu que ces séquences pouvaient exister *in vivo*, jusque dans les chromosomes humains !

Cet ADN gauche n'est pas l'image en miroir de l'ADN droit. Il a une conformation différente :

- Le squelette sucre- phosphate est en **zigzag**, au lieu de former une spirale régulière comme l'ADN-B, d'où le nom d'ADN-Z qui lui a été donné ;
- L'ADN-Z forme une hélice plus **svelte** et moins **torsadée** que l'ADN-B. Il comporte **12 bp** par tour de spire, le pas de l'hélice est de **4,6 nm** et le diamètre de **1,8 nm** ;
- Les bases sont, comme pour l'ADN-B, situées à l'intérieur de la double hélice. Mais alors qu'elles sont parfaitement inaccessibles dans l'ADN-B, elles sont davantage exposées dans l'ADN-Z ;
- Une alternance de pyrimidines et de purines favorise la conformation ADN-Z, ainsi que la méthylation des cytosines.

1.2.2. L'acide ribonucléique (ARN) :

Les ARN sont des polymères de nucléotides, leur structure générale est très proche de celle des ADN, mais il faut noter 3 différences essentielles : L'ARN est monocaténaire, l'ose est le ribose et il n'y a pas de thymine dans la structure de l'ARN, elle est remplacée par l'uracile. Des molécules d'ARN sont constituées d'une seule chaîne polynucléotidique. Sauf chez certains virus, où des appariements par des doubles hélices peuvent s'établir entre A et U d'une part et entre G et C d'autre part, mais ces appariements se forment entre 2 bases de la même chaîne et n'ont aucun caractère de régularité contrairement à l'ADN.

A. Les différents ARN :

La cellule comporte essentiellement 4 types d'ARN :

ARNr (ribosomique), ARNt (de transfert), ARNm (messager) et ARNsn (smallnuclear).

Ce sont les ARNr qui sont les plus abondants (82%), suivis par le ARNt (16%) et les ARNm (~2%).

1. Les ARN ribosomiques (ARNr) :

Les ribosomes sont les particules nécessaires à la synthèse des protéines. Situés au niveau du cytosol, les ribosomes sont de véritables usines à protéines dans la cellule. Les ribosomes sont également trouvés au niveau des mitochondries. La cellule dont on le plus étudiés les ribosomes est E.coli. Le ribosome de E.coli a un coefficient de sédimentation de 70s(S pour Svedberg – l’unité Svedberg étant l’unité de mesure de la vitesse de sédimentation) et constitué de 2 sous unités, une sous unité à 50s et une sous unité de 30s (figure 12). Le coefficient de sédimentation de la particule dépend non seulement de sa masse mais aussi de sa forme. Chacune de ces unités est constituée de protéines ribosomiques (r-protéines) et d’ARNr. Les ARNr sont les constituants majeurs des ribosomes environ 65%.

La sous unité 30s contient un ARNr ayant un coefficient de 16s comportant 1542 nucléotides, et 21 r-protéines différentes. L’ensemble de l’ARNr et r-protéines a une masse de 900.000 D. La sous unité 50s contient un ARNr de 5s ayant 120 nucléotides et un ARNr de 23s ayant 2904 nucléotides et 34 r-protéines. L’ensemble ARNr et r-protéines a une masse de 1.6 millions D.Chez les eucaryotes, les ribosomes sont un peu plus gros et les 2 sous unités étant de 60s et 40s (figure 12), leur composition est légèrement différente, on trouve d’avantage de protéines et les ARNr sont un peu plus longs (on en trouve d’ailleurs quatre au lieu de trois : 18S dans la petite sous-unité ; 5S, 5,8S et 28S dans la grande).

Cette différence de constitution des ribosomes présente un intérêt considérable. Certains antibiotiques, qui agissent au niveau des ribosomes, auront ainsi une action spécifique sur les ribosomes bactériens sans léserons propres ribosomes.

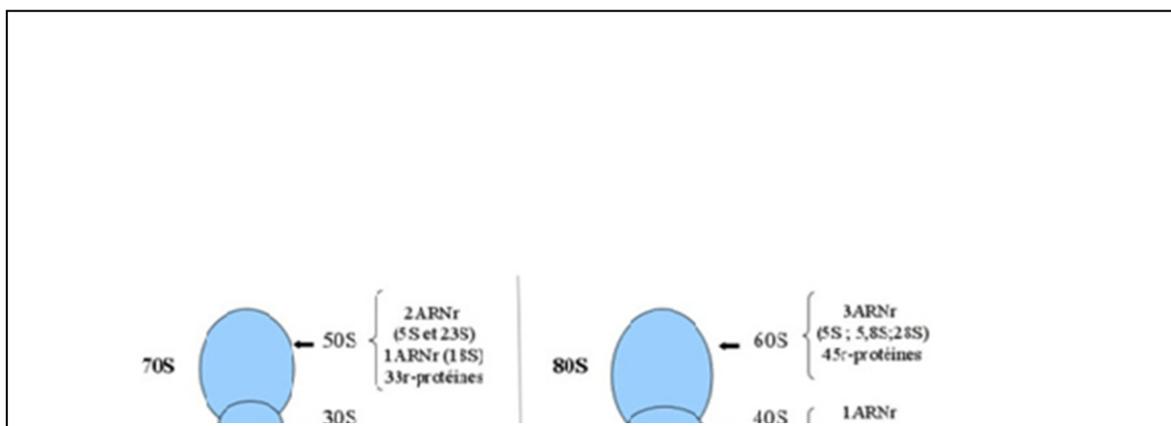


Figure 12 : Les ARNr et les r- protéines.

❖ Rôle des ARNr

Ils ont cependant des rôles :

- Structural, comme nous venons de le voir, puisqu'ils constituent en partie la matière d'un ribosome ;
- De facilitation de la fixation sur le ribosome des autres ARN(ARNt, ARNm)
- Dans la reconnaissance du site d'initiation de la traduction (AUG) sur le ARNm des bactéries : hybridation d'une séquence située à l'extrémité 3 de l'ARNr 16S avec une courte séquence (dite de shine- Dalgamo) située quelques nucléotides en amont d'AUG. Chez les eucaryotes, on ne sait pas encore si un ARNr reconnaît une séquence proche d'AUG ; nous verrons d'ailleurs que l'extrémité 5' cap de l'ARNm eucaryote doit tout d'abord être reconnue.

2. Les ARN de transfert (ARNt) :

Les ARNt sont ainsi appelés car ils vont transporter les acides aminés qui se trouvent dans le cytoplasme jusqu'au ribosome. Les ARNt possèdent la structure générale des ARN, ils sont formés par une seule chaîne d'environ de 73 à 93 nucléotides. Cependant, il existe certaines des caractéristiques propres aux ARNt :

* Les nucléotides atypiques (inhabituels), un ARNt en contient. C'est ainsi que l'on trouvera l'hypoxanthine ou encore la thymine.

* La forme spatiale des ARNt : La chaîne des ARNt se replie pour donner un aspect générale en forme d'un trèfle (figure 13), car les branches du trèfle se forment par des liaisons hydrogènes entre bases complémentaires, ce sont des courtes doubles hélices. Les boucles sont formées de nucléotides non appariés, on y trouve entre autres des nucléotides atypiques.

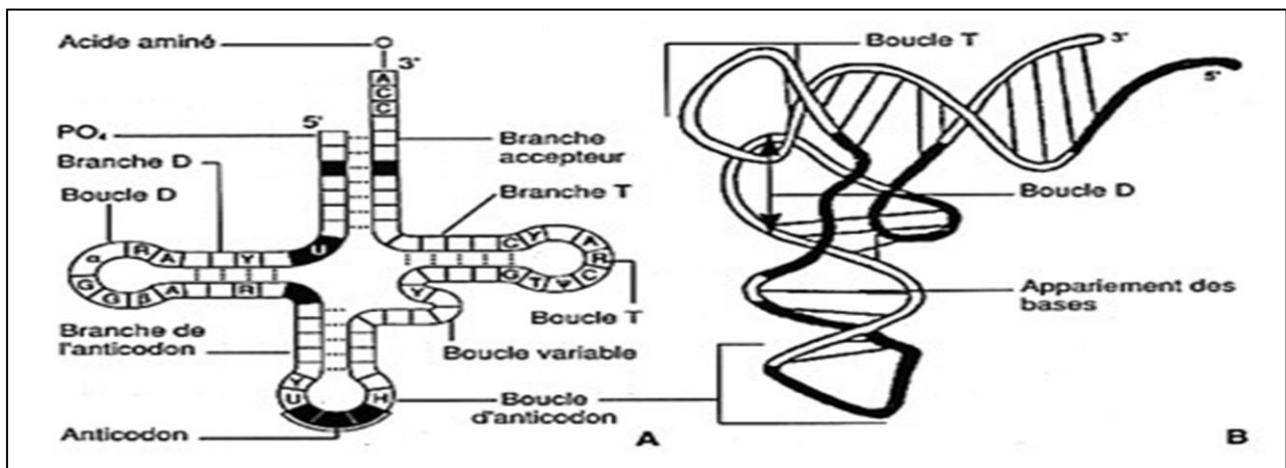


Figure 13 : forme bidimensionnelle en trèfle et forme tridimensionnelle d'un ARNt.

❖ Représentation schématique des ARNt :

Pour simplifier, nous allons utiliser une représentation encore plus schématique des ARNt. Etant donné que les ARNt et l'ARNm vont s'associer de façon anti-parallèle, nous prendrons la convention de toujours écrire l'ARNm dans le sens 5' → 3' et l'ARNt dans le sens 3' ← 5' (de droite à gauche, figure 14).

* Deux sites sont importants dans l'ARNt :

a. L'extrémité 3'-OH : L'extrémité 3'-OH de tous les ARNt se terminent par les 3 nucléotides CCA ou CMP, CMP, AMP. C'est cette extrémité qui fixera l'acide aminé à transporter (figure 14).

b. L'anticodon : On appelle anticodon un groupe de trois nucléotides (on dit un triple de nucléotides) situé sur une boucle de l'ARNt.

Cet anticodon joue un rôle très important car il reconnaîtra le codon, groupe de trois nucléotides situé sur l'ARNm.

Cet appariement codon-anticodon se fait avec des liaisons faibles (liaisons hydrogènes) de manière :

- Antiparallèle ;
- Complémentaire entre les bases du codon et de l'anticodon puisqu'il existe quatre bases différentes et qu'un codon ou un anticodon est formé de trois nucléotides, il existe 4^3 soit 64 possibilités différentes de codons ou d'anticodons.

Les protéines sont composées de vingt acides aminés différents. On peut donc en déduire que le nombre d'ARNt différent est compris entre ces deux chiffres. Ce nombre est supérieur à vingt et donc plusieurs ARNt ayant des anticodons différents peuvent transporter qu'un seul acide aminé.

Ce nombre est cependant inférieur à soixante-quatre car certains codons ne sont pas reconnus par des ARNt (codons stop) et certains ARNt ou plutôt leur anticodon est capable de reconnaître plusieurs codons (paragraphe sur la dégénérescence du code génétique).

❖ La liaison ARNt- acide aminé (aa-ARNt) :**a. Nature et synthèse de la liaison aa- ARNt**

L'ARNt apporte son acide aminé au ribosome « après l'avoir accroché » par une liaison covalente. Il s'agit d'une liaison ester. Cette liaison s'effectue par élimination d'une molécule

d'eau entre une fonction acide apportée ici par l'acide aminé et une fonction alcool apportée ici par l'ARNt et correspondant à l'OH fixé au carbone C2 ou C3 du ribose du dernier nucléotide de l'ARNt, qui est un nucléotide AMP.

La réaction d'estérification se fait en 2 étapes :

1^{er} étape : accrochage de l'acide aminé sur l'AMP. Cette étape est appelée activation de l'acide aminé. Elle aboutit à la formation d'un aminoacyl- AMP (aa- AMP). La liaison entre l'aide aminé et l'AMP est une liaison anhydride d'acide, riche en énergie ;

2^e étape : transfert de l'acide aminé sur l'ARNt. Ceci aboutit à la formation de l' aminoacyl-ARNt : (aa- ARNt) (figure 14).

Il s'agit maintenant d'une liaison ester entre l'aa et la fonction alcool du ribose porté par le dernier nucléotide de l'ARNt, c'est-à-dire par l'AMP.

L'OH du ribose participant à cette liaison ester peut être soit l'OH en 2 ; soit l'OH en 3 ; Une fois la liaison constituée, le groupement aminoacyl peut « sauter » entre position 2 et 3.

La liaison ester aa- ARNt est riche en énergie. Ainsi, les différents ARNt apporteront non seulement les acides aminés mais également l'énergie nécessaire à l'accrochage des aa les uns aux autres au moment de la synthèse protéique.

The diagram illustrates the formation of an aminoacyl-tRNA and the subsequent esterification reaction. It includes a genetic code table and chemical structures.

Genetic Code Table:

		2nd base in codon				
		U	C	A	G	
1st base in codon	U	Phe Phe Leu	Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP	Cys Cys STOP	U C A
	C	Leu Leu Leu	Pro Pro Pro	His His Gln	Arg Arg Arg	U C A
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr	Asn Asn Lys	Ser Ser Arg	U C A
G	Val Val Val	Ala Ala Ala	Asp Asp Glu	Gly Gly Gly	U C A	
						3rd base in codon

Diagram 1: tRNA and mRNA interaction
 Shows two tRNAs with anticodons UCA and AUG. The first tRNA has Ser attached to its 3' end. The second tRNA has Tyr attached. They are shown interacting with an mRNA strand with codons AGU and UAC. The anticodon UCA of the first tRNA is base-paired with the codon AGU of the mRNA.

Diagram 2: Esterification reaction
 Shows the reaction between an aminoacyl-tRNA (aa-ACC) and an mRNA codon (AUG). The amino group (H2N) of the amino acid is reacting with the hydroxyl group (OH) of the ribose sugar of the tRNA, forming an ester bond (Ester) and releasing water (H2O). The resulting structure is H2N-CH(CH2-)-CO-O-ACC.

Diagram 3: Chemical structure of the ester bond
 Shows the chemical structure of the ester bond formed between the amino acid and the tRNA. The amino acid is attached to the 3' carbon of the ribose sugar of the tRNA. The structure is H2N-CH(CH2-)-CO-O-ACC.

aa : acide aminé

Figure 14 : l'anticodon est complémentaire et antiparallèle au codon, l'acide aminé est porté à l'extrémité 3 d'un ARNt et la liaison ester ARNt- acide aminé (aa-ARNt)

b. L'aminocyl- ARNt synthétase

La liaison entre un ARNt et son acide aminé n'est pas le fruit du hasard.

L'appariement entre ces ARNt et leurs acides aminés correspondants est réalisé par enzyme appelée aminocyl- ARNt synthétase.

Cette enzyme reconnaît à la fois :

- Le « bon acide aminé » et d'autre part ;
- Le « bon ARNt » correspondant.

C'est sur cette enzyme que se produisent successivement :

- L'activation de l'acide aminé en aa- AMP ;
- La liaison de l'acide aminé activé à l'ARN pour donner finalement l'aminocyl- ARNt.
- L'aminocyl- ARNt synthétases accueille donc acide aminé, ATP,ARNt et toutes les réactions précédemment citées pourront s'effectuer au niveau de l'enzyme.
- L' aa- ARNt synthétase reconnaît l'acide aminé.

Les aminocyl – ARNt synthétases sont des enzymes très spécifiques. Il existe en effet vingt enzymes différentes qui reconnaissent chacune un acide aminé et un seul.

Cette spécificité stricte est très importante, car toute approximation de reconnaissance entre un acide aminé et son ARNt équivaldrait à une mutation sur la protéine. Il ne faut pas que des erreurs se produisent à ce niveau.

Si par hasard le mauvais acide aminé se fixe sur l'aa- ARNt synthétase, l'aa –AMP est formé mais sera détruit par l'enzyme avant sa fixation sur l'ARNt.

- L'aa –ARNt synthétase reconnaît l'ARNt

Comment une aa- ARNt synthétase reconnaît- elle le « bon ARNt » puisque tous les ARNt ont une structure voisine ? Chaque ARNt contient des éléments structuraux qui lui sont propres et permettent sa reconnaissance par l'une des vingt aa – ARNt synthétases différentes.

On distingue essentiellement deux cas :

- L'élément de reconnaissance est l'anticodon. Ainsi pour ARNtMet, l'anticodon 3 UAC 5 est un élément majeur (si ce n'est le seul) de reconnaissance pour la méthionyl-ARNt synthétase ;
- L'élément de reconnaissance est une paire de bases. Pour d'autre ARNt, l'anticodon ne paraît pas jouer un rôle important dans la reconnaissance par l'aa –ARNt synthétase. C'est alors une paire de bases spécifique située aux extrémités de l'ARNt, qui assure la reconnaissance.

❖ Les ARNt supprimeurs :

Sont des ARNt capables de supprimer l'effet de certaines mutations. Ils ont été particulièrement étudiés chez E. coli, et la levure (mais ont été également identifiés chez mammifères).

Une mutation ayant engendré un codon stop (UAA, UGA, UAG) entraîne la terminaison prématurée de la chaîne peptidique en cours de synthèse.

Une seconde mutation, touchant l'anticodon du gène d'un ARNt, peut engendrer un ARNt supprimeur capable de s'apparier au codon stop. Ceci permettra l'incorporation d'un aa à la chaîne peptidique dont la synthèse peut ainsi se poursuivre.

3. Les ARNs messagers (ARNm) :

On appelle messagers ce type d'ARN car il porte une partie de l'information génétiques contenue au niveau de l'ADN jusqu'au ribosome où s'effectuera la synthèse des protéines. La durée de vie des ARNm est très courte, elle s'oppose à celle des ARNt qui est plus longue. Chez les bactéries, la durée de vie d'un ARNm est de quelques minutes environ, chez les eucaryotes les ARNm sont plus stables (quelques minutes à quelques jours).

Comme les autres ARNs, l'ARNm est formé de d'une seule chaîne de nucléotides comprenant le même type de bases (ACGU). Mais où sont-ils donc les messages que les ARNm sont sensés contenir ?

Ce sont de nucléotides, et plus précisément la séquence des bases qui constituent en fait un message sous la forme d'un code. Chaque groupe de 3 nucléotides sur l'ARNm forme un codon, chaque codon codera pour un acide aminé bien particulier. Le décodage du message porté par l'ARNm se fera au niveau du ribosome, c'est ainsi que le codon AUG codera pour l'accrochage d'une méthionine la chaîne protéique en voie de synthèse, et que le codon UUU signifiera accrochage du phénylalanine.

4. Autre petits ARN

A côté des ARN codants (ARNm) et des ARN non codants impliqués dans la machinerie de synthèse des protéines (ARNr et ARNt), il existe plusieurs petits ARN non codants.

✓ **ARNsn**

Les plus connus sont les ARNsn, qui, associés à des protéines, assurent l'épissage des introns, qui suit la transcription d'un gène. Ainsi l'information génétique discontinue dans le gène deviendra continue dans l'ARNm. Ces ARNsn sont situés dans le noyau des cellules.

✓ **ARNsno**

Ces petits ARN localisés dans le nucléole, une région particulière du noyau ou sont synthétisés les ARNr, mais aussi les ARNsn. Ces petits ARNsno participent à leur synthèse.

✓ **ARNmi**

Enfin, il a été découvert des ARN non codants, appelés microARN. Ces ARNmi s'hybrident de façon complémentaire avec les ARNm et favorisent leur dégradation ou du moins leur inactivité. Ces ARN pourraient mettre en jeu la machinerie de l'ARN interférence.

1.3. Mécanismes de réplication et de recombinaison de l'ADN :

Le génome correspond aux molécules d'ADN et est contenu dans les chromosomes localisés dans le noyau de la cellule.

Lors de la division cellulaire, ce génome sera transmis aux deux cellules filles.

Pour cela, les molécules d'ADN doivent se répliquer lors de la phase S du cycle cellulaire.

Cette réplication correspond à un doublement des molécules d'ADN par synthèse ; deux molécules d'ADN « filles » doivent être les copies exactes de la molécule mère, pour conserver le patrimoine génétique.

Au cours de ce processus de réplication des modifications du génome peuvent apparaître :

- Des mutations, qui nécessiteront la mise en œuvre de systèmes de réparation ;
- Des phénomènes de recombinaison homologue, que nous verrons.

A. Caractéristiques fondamentales de la réplication

On dit que la réplication est « semi- conservatrice ».

Cela veut dire que sur les deux brins de toute molécule d'ADN, il ya toujours :

- Un brin d'ADN ancien (qui provient d'un des deux brins d'ADN parental) ; En effet, à chaque réplication les deux brins de l'ADN parental se séparent ;

B. Eléments nécessaires pour la réplication :

➤ **Nécessité d'un ADN parental**

Pour crée une réplique, il faut par définition apporter un modèle.

La synthèse d'ADN n'échappe pas à cette règle.

Nous avons vu que la molécule d'ADN était formée de deux brins complémentaires. Chacun de ces brins va servir de modèle et constitue la « matrice » (Template en anglais) pour la synthèse d'un brin complémentaire.

Ainsi, le brin d'ADN, qui sert de modèle, sera conservé dans la nouvelle molécule d'ADN.

Ce modèle de copie, dit « semi- conservateur », est bien inhabituel dans la vie courante. Imaginez un producteur de matériel électrique qui fabrique des prises mâles et femelles assemblées. Le plus simple est de les produire séparément en copiant les prototypes respectifs, puis de les assembler. Et non d'utiliser une prise femelle comme image en négatif pour fabriquer la prise mâle et vice versa et de vendre ainsi ces assemblages.

➤ **Nécessité de nucléotides**

L'ADN étant constitué de nucléotides, la synthèse de nouveaux brins nécessite leur présence.

Ces nucléotides sont ceux de l'ADN qui sont :

- à désoxyribose ;
- avec A C G et T (et non U) ;
- Sous forme nucléotides triphosphates, d ATP, dTTP, dCTP, Dgtp.

Ces nucléosides triphosphates apporteront en plus l'énergie nécessaire à la réaction.

➤ **Nécessité d'enzymes**

Lors de la réplication, de nombreux enzymes vont intervenir :

- . Pour permettre aux deux brins parentaux d'ADN de s'écarter ;
- . Pour accrocher les nucléotides les uns aux autres ;
- . Et encore pour d'autres réactions que nous allons bientôt découvrir.

➤ **Nécessité de cations divalents.**

La présence de Mg^{2+} est indispensable à la synthèse d'ADN.

C. Mécanismes de la réplication :

• **La réplication suit les règles de la polymérisation de l'ADN**

La réplication se fait dans le sens 5' vers 3' ; de façon complémentaire, selon les règles classiques d'appariement : A-T et C- G et selon un mode antiparallèle.

• **La propagation de la réplication est bidirectionnelle**

Cela veut dire que la réplication se propage simultanément à droite et à gauche du point d'initiation. Alors que dans la transcription, on peut comparer la progression à un œil qui se déplace, ici on peut comparer la progression de la réplication à un œil qui s'agrandit jusqu'à ce que la réplication soit terminée.

• **La fourche de la réplication**

La synthèse de l'ADN a lieu au niveau d'une fourche de réplication. Une enzyme appelée **hélicase** sépare les deux brins de la double hélice et des protéines **SSB** (Single Strand Binding) aident à garder les deux brins séparés (chaque protéine SSB se lie sur un seul brin) (figure 15). L'ADN est synthétisé de façon continue pour le brin précoce et discontinu ou par fragments d'Okasaki pour le brin retardé. Chez *E. Coli*, l'ADN est synthétisé par l'**ADN polymérase III** et la synthèse commence avec une petite amorce (courtes séquences d'ARN comportant de 12 à 14 ribonucléotides et à partir des quelles la synthèse de l'ADN débute) par une enzyme appelée **ARN polymérase** ou **Primase**, ces amorces seront enlevées à la fin de la réplication et remplacées par de l'ADN par la même enzyme qui est l'**ADN polymérase I**. Chez les eucaryotes une enzyme appelée **ADN polymérase α** initie la synthèse de l'ADN grâce à son activité primase et polymérase à la fois (c'est la même enzyme qui synthétise l'amorce d'ARN et qui la rallonge par de l'ADN). Le brin précoce est synthétisé de manière continue et le brin retardé est synthétisé par morceaux, une enzyme appelée **ADN ligase** relie ensuite les fragments d'Okasaki par de liaisons phosphodiester (figure 15).

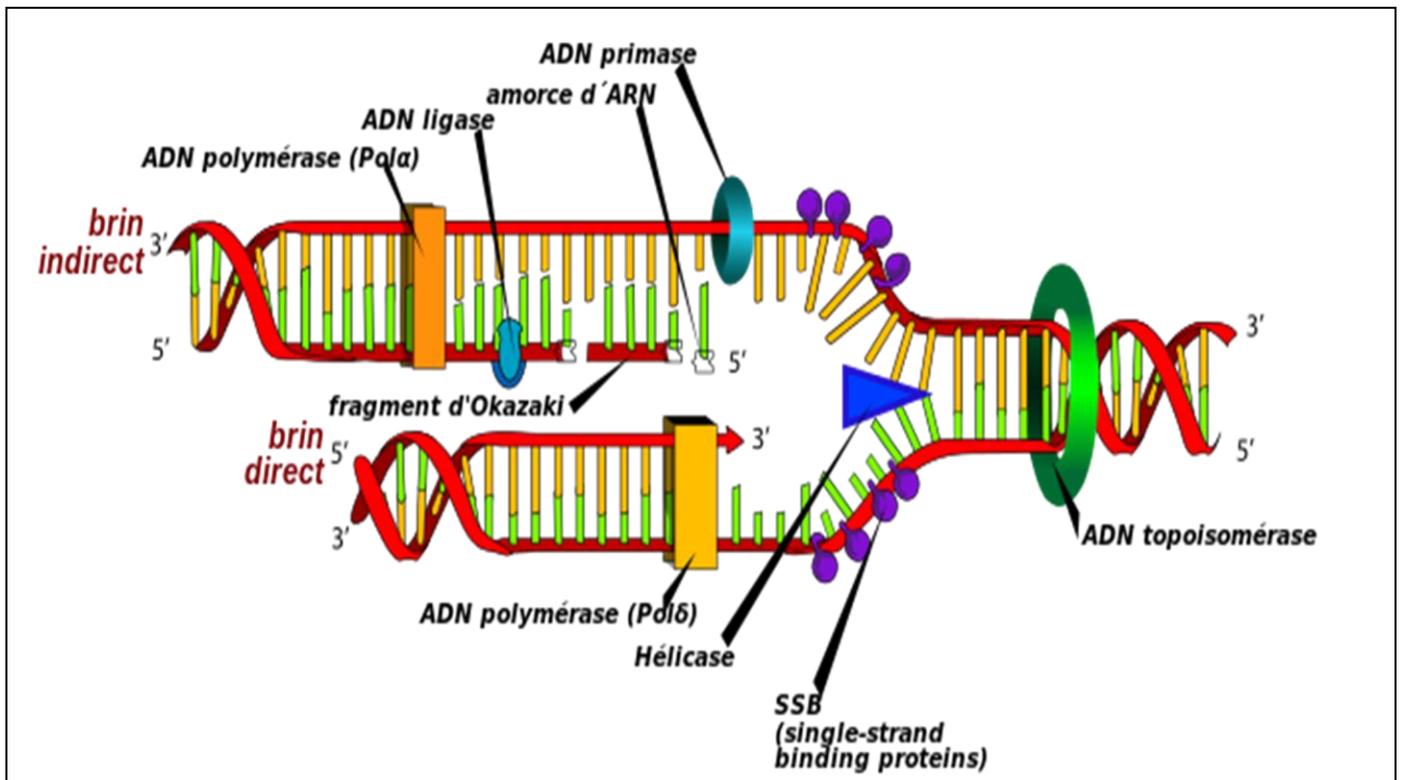


Figure 15 : La fourche de la réplication et système enzymatique de réplication de l'ADN

- **Point de départ et propagation de la réplication**

➤ **Origine de réplication**

La réplication est initiée en un seul point chez les procaryotes, appelé **point d'origine** de la réplication. Il s'agit en général d'une séquence de plusieurs centaines de nucléotides contenant des sites de liaison des protéines de la réplication et dont les deux brins, riches en A-T sont faciles à dissocier. Il n'existe pas de séquence consensus pour ces origines de réplication.

Elle progresse à une vitesse de 1000 nucléotides à la seconde.

2.2. Sens bidirectionnel :

La réplication commence à une origine et se poursuit de façon bidirectionnelle. Les boucles de réplication débutent toujours en un point unique appelé **origine**. Ce point de départ renferme des séquences nucléotidiques bien déterminées. Les procaryotes ont une seule origine sur chaque chromosome, alors que les eucaryotes ont des origines multiples sur chaque chromosome.

La réplication se fait simultanément et à la même à partir de l'origine, dans des directions opposées, délimitant deux fourches de réplication au niveau de chaque origine (figure 16).

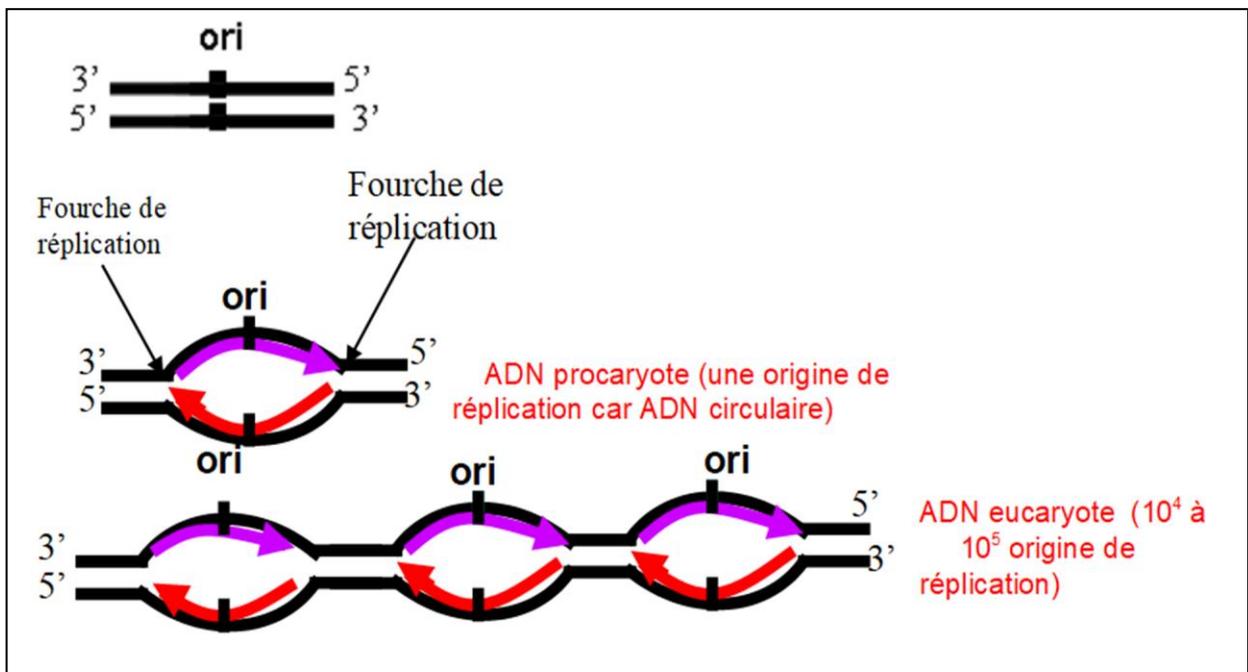


Figure 16 : la réplication est bidirectionnelle

2.3. Orientation :

La synthèse de l'ADN s'effectue toujours dans le sens 5'→ 3'. Les deux brins étant anti-parallèles et en suivant la direction de la fourche, un brin sera synthétisé dans le sens 5'→ 3', mais l'autre devra être synthétisé dans le sens 3'→ 5', ce qui est impossible. Comment ce brin est-il donc synthétisé ?

La découverte de cette synthèse revient à Reiji Okasaki. Ce brin est synthétisé par étape ou par morceaux. Ce sont de petits fragments appelés maintenant fragments d'Okasaki qui sont synthétisés en discontinu dans le sens 5'→3' sur le deuxième brin de l'ADN. Ces fragments peuvent aller de quelques centaines à quelques milliers de nucléotides. Le premier brin est synthétisé donc dans le sens 5'→3' en continu alors que le deuxième brin est synthétisé toujours dans le sens 5'→ 3' mais en discontinu (en petits morceaux) (voir figure 16). On appelle le brin continu le brin précoce ou avancé et le brin discontinu le brin retardé (sens inverse de la progression de la fourche).

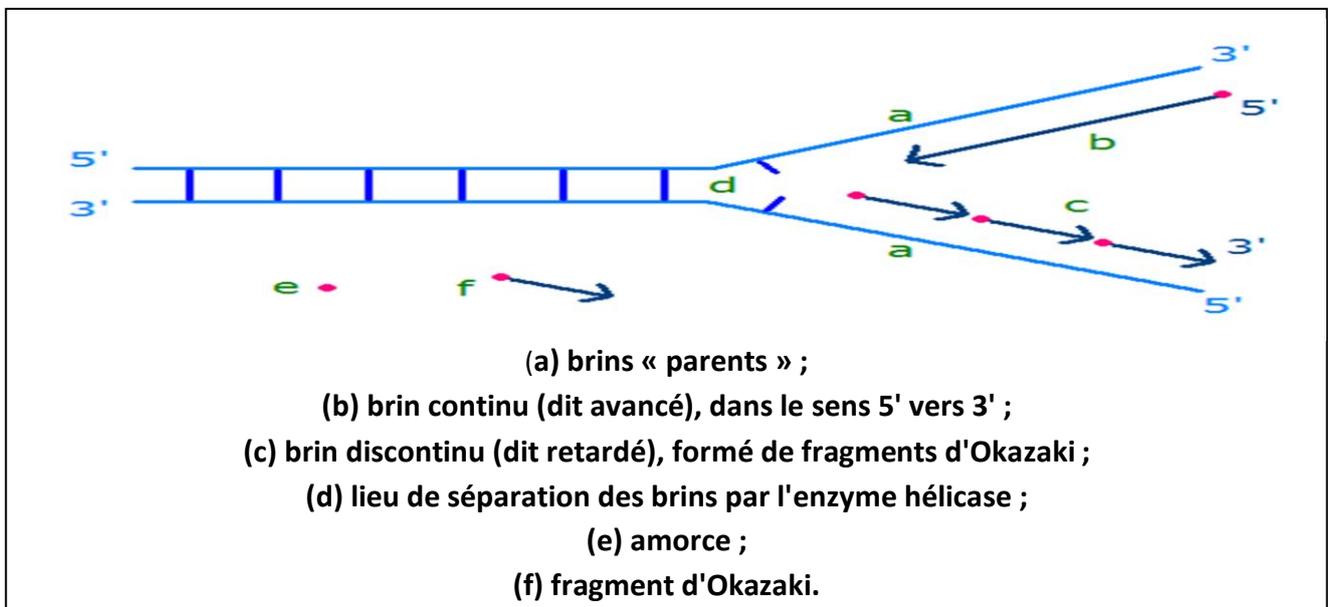


Figure 16 : La réplication est discontinue pour l'un des deux brins

➤ **Brin retardé et brin avancé.**

La réplication est continue pour un brin (le brin dit « avancé »), et discontinue pour l'autre brin (le brin dit « retardé »).

En effet, à partir d'un point d'origine de la réplication, la synthèse d'ADN s'étend dans la même direction pour les deux brins de l'ADN.

Un problème dès lors se pose pour l'un des deux brins (cas du brin retardé) : comment la synthèse de ce brin peut-elle à la fois se produire de 5' vers, sens de la polymérisation de l'ADN, tout en respectant le sens de la propagation de la réplication sur ce brin retardé.

La solution à ce problème a été trouvée lorsque l'on a compris que la synthèse de ce brin était discontinue :

- En effet, de petits fragments d'ADN (1000 à 2000 nucléotides) sont synthésés successivement dans le sens de la propagation de la réplication ; Mais ces petits fragments sont eux-mêmes synthésés « à reculons » (« en tournant le dos » à la direction générale de propagation), et donc bien dans le sens 5 vers 3 et de façon antiparallèle et complémentaire du brin modèle d'ADN. Cette synthèse discontinue est légèrement en retard par rapport à la synthèse continue de l'autre brin, d'où les appellations de brins « retardé » et « avancé ».

- **Mécanisme proposé pour la synthèse simultanée des deux brins d'ADN**

La synthèse des deux brins d'ADN est réalisée par l'ADN polymérase III. Cette enzyme est un dimère complexe contenant notamment deux sous-unités catalytiques. Il a été démontré que l'ADN polymérase III synthétisait les deux brins d'ADN en même temps en avançant dans un seul sens, qui est celui de la réplication. Ceci est apparemment incompatible avec la notion de synthèse discontinue et à reculons du brin retardé.

Pour expliquer cela, un modèle a été proposé en 1988 par Kornberg, selon lequel le brin parental matrice du brin retardé, formerait une boucle autour d'une sous-unité de l'ADN polymérase III. Il se produirait ainsi une inversion de sens du brin retardé, si bien que l'addition de nucléotides en 3' dans le sens 5' vers 3' pourrait se faire simultanément et pareillement pour les deux brins, de cette manière, au brin retardé aura bien été synthétisé de manière antiparallèle au brin avancé, et cependant dans la même direction.

3.1. La réplication chez les procaryotes

L'ADN des bactéries qui est circulaire, et l'ADN des eucaryotes qui est linéaire sont répliqués de façon différente. Les molécules de l'ADN circulaires sont répliquées à partir d'une

seule origine de réplication, cette origine est appelée **réplicon**. La fourche de réplication progresse dans les deux directions et se rencontrent et finissent par s'annuler. Le déroulement de la double hélice génère un ADN circulaire super-enroulé. Ce super-enroulement est diminué ou réduit par une enzyme appelée **Topoisomérase I**. Cette enzyme produit une coupure temporaire dans l'un des deux brins de l'ADN circulaire à un emplacement qui se trouve avant la fourche de réplication, ce qui permet au brin roulé de tourner librement autour de l'autre brin et d'annuler le super-enroulement. L'enzyme relie ensuite les deux bouts du brin coupé pour le refermer. Lorsque la réplication d'un chromosome bactérien est achevée on obtient deux molécules filles circulaires entrelacées. Elles sont séparées par l'action de la **topoisomérase II** qui agit en coupant transitoirement les deux brins de l'une des deux molécules filles, permettant à l'autre molécule de se libérer séparant ainsi les deux molécules d'ADN produites.

3. 2. La réplication chez les eucaryotes

Le mécanisme de la réplication de l'ADN chez les eucaryotes est comparable à celui des procaryotes. En effet, elle se fait de manière bidirectionnelle, anti-parallèle, complémentaire, dans le sens $5' \rightarrow 3'$, continue pour le brin précoce et discontinue pour le brin retardée et nécessite des amorces d'ARN. Sauf qu'au lieu de n'avoir qu'une seule origine de réplication, la réplication chez les eucaryotes débute simultanément en plusieurs points d'un même chromosome, il existe donc plusieurs milliers de points d'initiation.

D. Le mécanisme de recombinaison homologue

On a longtemps cru que la recombinaison entre deux séquences homologues nécessitait la rupture d'un seul brin sur l'une des molécules d'ADN.

On sait aujourd'hui qu'il faut la coupure des deux brins d'une des molécules d'ADN par une endonucléase pour initier cette recombinaison.

Une exonucléase 5 vers 3 digère ensuite les deux extrémités 3 correspondantes sur les brins complémentaires à devenir simples brins (on dit extrémités 3 sortantes).

Ces extrémités 3 sortantes vont alors s'hybrider avec leurs séquences homologues sur la deuxième molécule d'ADN, créant ainsi une molécule d'ADN hybride.

Cette association entre les quatre brins des deux molécules d'ADN est coordonnée par la protéine RecA chez les procaryotes ou ses nombreux équivalents chez les eucaryotes, comme la protéine Rad51.

De nombreuses protéines accessoires à cette recombinaison existent chez les eucaryotes, comme les protéines Barca 1 et Barca 2, dont les altérations sont associées au cancer du sein.

Le point de jonction entre les quatre brins d'ADN est appelé jonction de Holliday (figure 18).

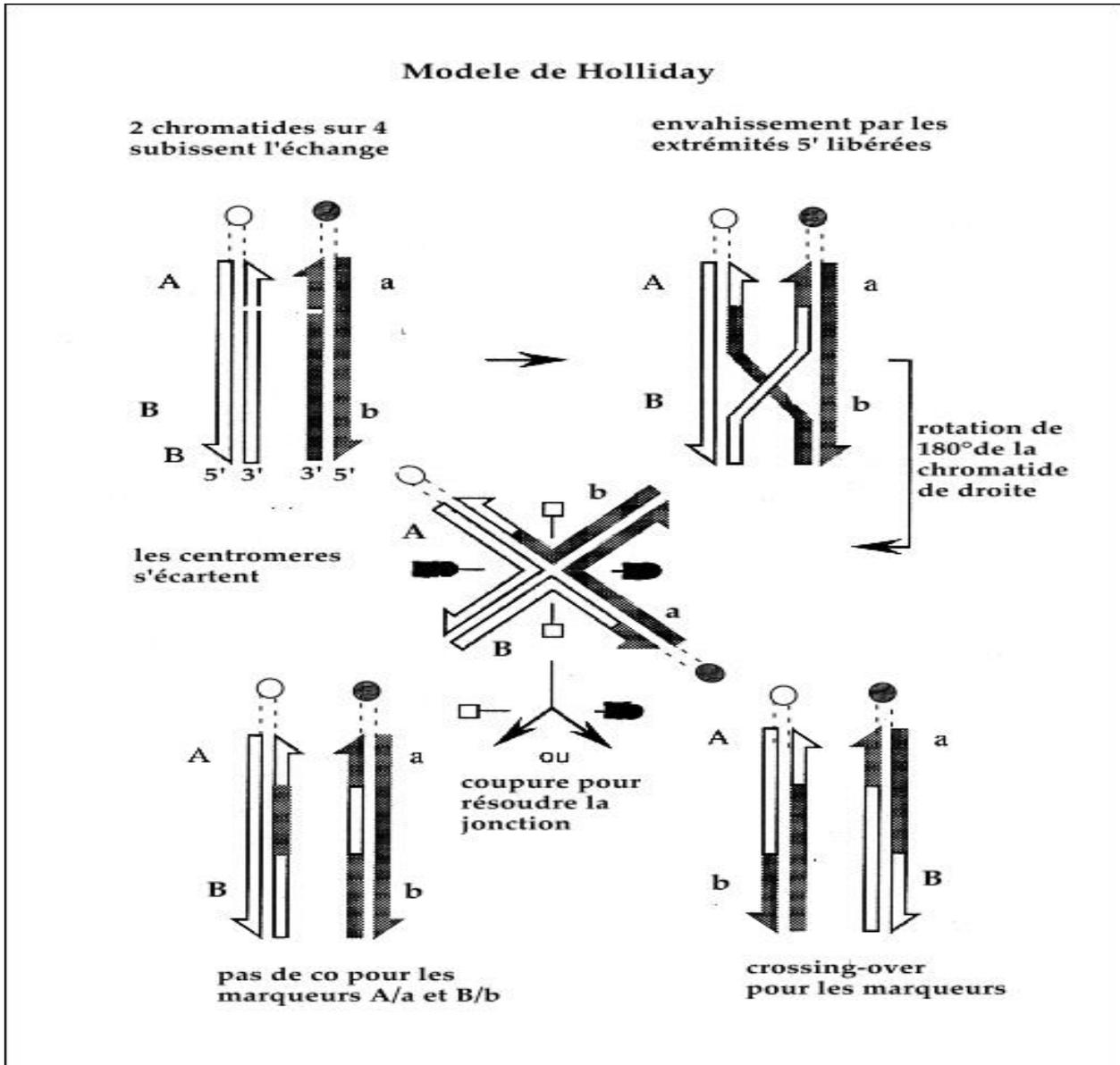


Figure 18 : Mécanisme de la recombinaison homologue

➤ **Crossing over et conversion génique**

L'étape suivante consiste en une courte synthèse d'ADN pour combler les séquences manquantes, puis la coupure et la relégation des brins d'ADN pour reformer deux molécules d'ADN intactes, sans insertion ni délétion du moindre nucléotide. Cependant et selon la nature de la coupure, on obtiendra :

- Soit un réarrangement simple ;

- Soit un réarrangement avec enjambement des deux molécules d'ADN (le classique crossing over). En cas de réarrangement simple, la région digérée puis reconstruite peut conduire à une conversion génique, si elle intéresse un gène. Ainsi les deux chromosomes maternel et paternel auront une courte région, contenant un gène dont les deux allèles seront identiques et proviendront d'un seul des deux chromosomes (Figure 18).

En résumé, la recombinaison homologue est un mécanisme complexe d'échange de matériel entre deux molécules d'ADN homologues, qui peut conduire à des conversions géniques ou des crossing over entre chromosomes. Ce mécanisme cellulaire est mis à profit pour modifier les gènes dans le génome des cellules ou animaux de laboratoire.

1.2. La synthèse protéique :

La synthèse des protéines comprend deux étapes importantes : La transcription et la traduction

1.2.1. La transcription :

1.2.1.1. Définition

La transcription est une biosynthèse d'ARN qui repose, comme celle de l'ADN sur la complémentarité des bases. Cette biosynthèse résulte d'une polycondensation de ribonucléosides monophosphates.

1.2.1.2. Caractéristiques

Ce processus présente des analogies avec celui de la réplication mais également des différences fondamentales:

Contrairement à la réplication qui intéresse la totalité du génome à chaque cycle, le programme de transcription n'est pas fixe : seules, de petites portions (parties) de l'ADN appelées gènes, on appelle gènes des séquences d'ADN transcrites, sont transcrites à une époque donnée de la vie de la cellule et ces portions varient en fonction du développement, de l'environnement etc...

- Seul l'un des deux brins de l'ADN est copié, mais ce n'est pas toujours le même brin qui est copié, pour certains gènes ce sera un brin, et pour d'autres gènes ce sera l'autre brin.
- C'est une réaction enzymatique catalysée par une ARN polymérase
- Contrairement à la synthèse d'ADN qui nécessite une amorce, la synthèse d'ARN débute par condensation de deux ribonucléosides monophosphates l'un des deux constituera (sous forme triphosphate) le premier nucléotide à l'extrémité 5' de la molécule, tandis que l'autre sera incorporé sous forme monophosphate.
- L'élongation se produit toujours à l'extrémité 3' OH de la molécule.

- La condensation se fait à partir d'un substrat activé (un des quatre ribonucléosidetriphosphates ATP, UTP, GTP, CTP) l'hydrolyse des deux dernières liaisons phospho_anhydrides riches en énergie (42KJ /mol) fournit l'énergie nécessaire à la condensation.
- Après libération de deux phosphates, le nucléoside monophosphate restant formera une liaison ester entre une fonction acide de son phosphate et la fonction alcool (OH) libre du carbone 3' du dernier nucléotide de la chaîne par définition, cette réaction de condensation s'accompagne de la libération d'une molécule d'eau le résultat est l'incorporation d'un nouveau ribonucléoside monophosphate qui sera uni au précédent par 'intermédiaire d'un pont phospho_diester.
- La réaction inverse est une réaction d'hydrolyse de la liaison ester qui aboutit à la libération du dernier nucléotide et d'une molécule d'eau, ce qui libère le carbone 3' du nucléotide précédent.
- La vitesse globale d'incorporation des nucléotides dans l'ARN est environ vingt fois supérieure à la vitesse d'incorporation de ces derniers dans l'ADN.
- La synthèse de l'ARNm s'effectue dans le sens 5'→3', de façon antiparallèle par rapport au brin transcrit et de façon complémentaire (figure 19).

1.2.1.3. Eléments nécessaires à la transcription :

Pour synthétiser un ARN il faut que soit présent en particulier :

- **Des nucléotides :** Elles doivent contenir les bases A, C, G et U, et ces 4 types de nucléotides doivent être sous forme activée c'est-à-dire sous forme de nucléosides triphosphate (ATP, GTP, UTP et CTP).
- **Des ARN polymérases :** qui permettent de souder les nucléotides les uns aux autres pour former le polymère qu'est l'ARN. Chez les procaryotes les différents types d'ARN (ARNm, ARNr et ARNt) sont synthétisés par la même ARN polymérase. Chez les eucaryotes ;; voir livre page 54
- **Un modèle d'ADN :** Il est indispensable pour fabriquer un ARNm puisqu'il est une copie anti-parallèle et complémentaire de l'ADN. Comme l'ARN polymérase ne pourrait pas fonctionner sans l'ADN, elle dite ADN dépendante.

1.2.1.4. Mécanisme de la transcription :

La synthèse à partir d'un modèle d'ADN, d'une chaîne d'ARNm, d'ARNt ou d'ARNr se nomme transcription. La molécule d'ADN se déroule laissant accès au brin sens (le brin portant

la séquence à partir de laquelle sera synthétisé l'ARNm). L'enzyme qui contrôle la réaction (l'ARN polymérase) reconnaît sur l'ADN une région de départ (une séquence de 7 paires de bases riche en A et en T) nommée **promoteur** qui donne le signal permettant l'attachement de l'ARN polymérase sur l'ADN. La polymérisation de l'ARN ne commence qu'au niveau de ce site d'initiation (promoteur) (figure 20).

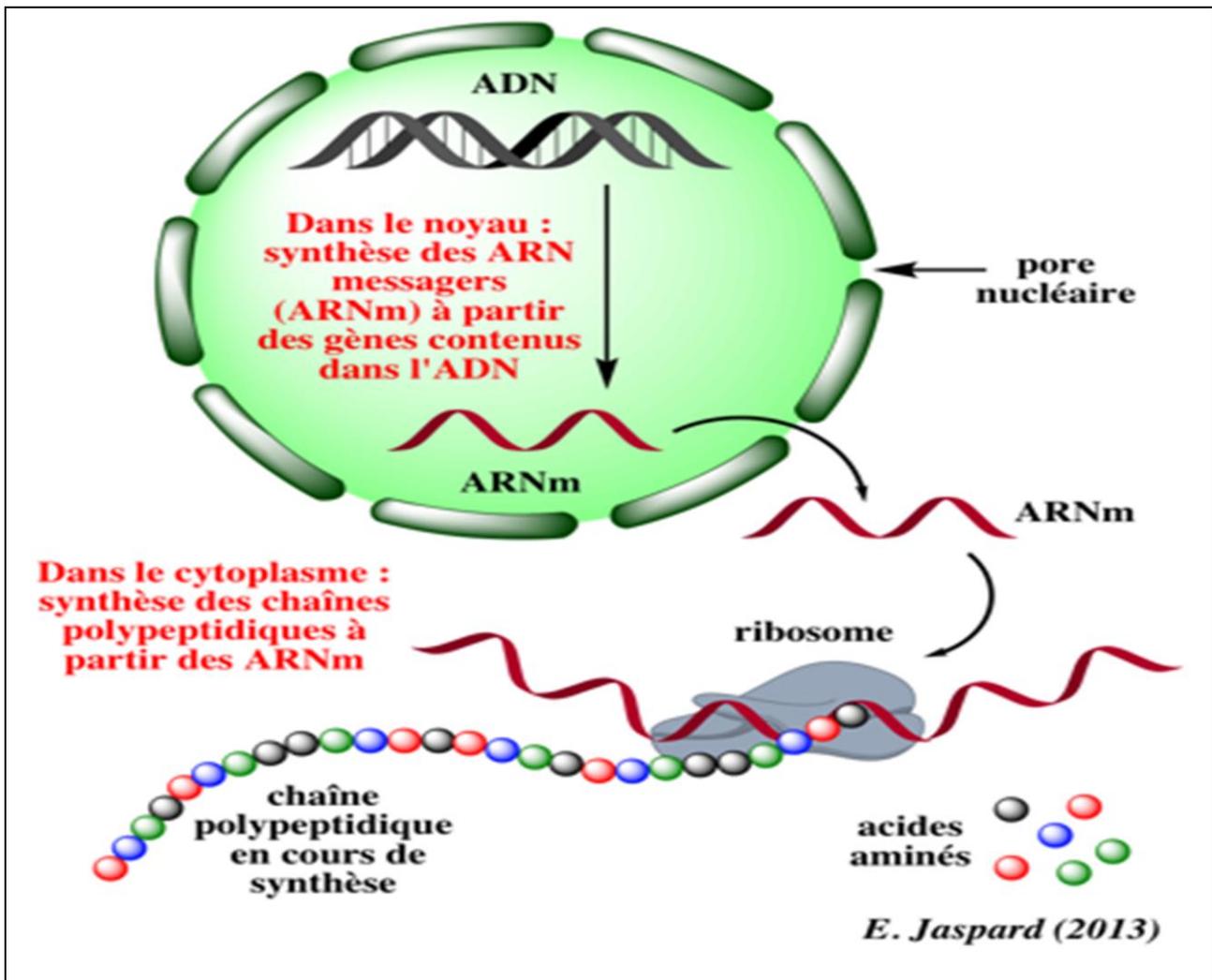


Figure 20 : Schéma des étapes de la synthèse des protéines chez les eucaryotes

La chaîne d'ARN débute par un ribonucléotide triphosphate purique (ATP ou GTP). Les nucléotides sont ajoutés un par un : En face de la cytosine (C) on trouve la guanine (G) et vice versa, et en face de l'adénine (A) on trouve l'uracile (U) et vice versa, c'est l'élongation.

La polymérisation se fait dans le sens 5'→ 3' et elle s'effectue en l'absence de toute amorce préexistante. Quand l'ARN polymérase reconnaît un dernier signal sur l'ADN : **le site de terminaison**, la synthèse s'achève et il y aura dissociation du complexe ADN-ARN polymérase suivie par la libération de la polymérase et de la chaîne d'ARN qui vient d'être transcrite.

Il existe des différences sensibles entre la transcription chez les procaryotes et celle des eucaryotes et des différences encore plus importantes dans son contrôle, c'est pourquoi leur étude sera séparée.

2.1 Transcription chez les procaryotes

L'ARN polymérase d'*E. coli* est une enzyme assez complexe composée de quatre sous unités : deux α , une β , une β' et d'autres éléments protéiques établissent des liaisons temporaires avec ce complexe. Cette enzyme réalise la polymérisation de ribonucléotides face à un brin d'ADN mais, *in vitro*, commence n'importe où et s'arrête n'importe où. Une protéine particulière, le **facteur sigma**, est capable, *in vivo* d'assurer la reconnaissance de séquences spécifiques situées légèrement en amont du point d'initiation de la transcription : les **promoteurs**. L'installation de l'ARN polymérase au niveau précis de ces promoteurs (grâce au facteur σ) va permettre la transcription du bon brin en commençant par le bon nucléotide. C'est le point crucial de **l'initiation**.

Au démarrage de **l'élongation**, le facteur σ quitte le complexe. Cette étape marque le passage à l'allongement de la chaîne d'ARN de 5' vers 3' jusqu'au site de **terminaison**.

1.2.1.5. La maturation des ARNs :

Entre le moment où ils sont synthétisés et celui où ils jouent un rôle dans la synthèse des protéines, les ARNs subissent un certain nombre de modifications post-transcriptionnelles, on dit qu'ils subissent une maturation. Cette maturation est différente selon le type d'ARN:

* **Pour les ARNt** : Un gène d'ARNt donne un précurseur qui subira des clivages et des additions (addition de 3 nucléotides au niveau de l'extrémité 3', CCA) et d'autres modification comme des méthylation (méthylation de U en T) et des désaminations (désamination de l'A en Hypoxanthine).

* **Pour les ARNr** : Ces modifications correspondent à des clivages successifs conduisant à la perte de certains segments du transcrit initial.

* **Pour les ARNm** :

- Chez les procaryotes, il n'existe pratiquement pas de modification de l'ARNm néosynthétisé, d'ailleurs, la traduction de l'ARNm commence ne 5' avant même que la transcription ne soit achevée en 3'.

- Chez les eucaryotes, d'importantes modifications interviennent avant que l'ARNm ne puisse être traduits :

➤ **Addition du CAP au niveau de l'extrémité 5' (CAP vient du terme capuchon) :**

Ce CAP s'agit d'un GMP méthylé sur l'azote en position 7 de la guanine. L'ARNm n'aura donc pas d'extrémité 5' phosphate libre. Le CAP protégerait ainsi l'extrémité 5' de la l'ARNm des attaques des enzymes (phosphatases et nucléases) et il jouerait également un rôle dans l'initiation de la traduction (figure 21).

➤ **Addition du Poly (A) à l'extrémité 3' :**

Ce Poly (A) est une succession de nucléotides à adénines (A) (environ 25 nucléotides) et on pense qu'il aiderait au passage de l'ARNm du noyau vers le cytoplasme et qu'il protégerait l'ARNm au cours de la traduction.

3. L'autre modification observée dans de nombreux cas correspond à l'excision des **introns** (fragments d'ADN internes qui sont dites non codantes), les parties conservées sont appelées **exons** (parties codantes) (figure 21).

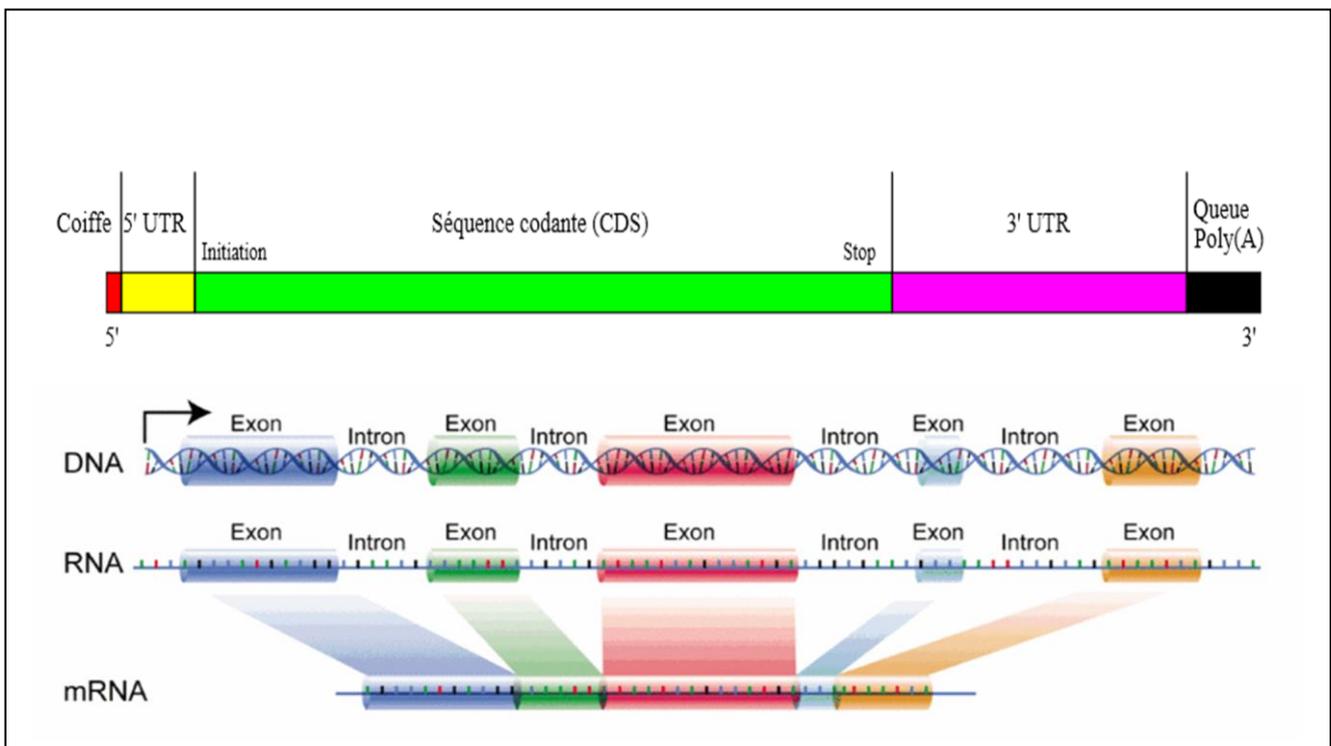


Figure 21 : Structure d'un ARN messager typique d'eucaryote, comprenant la coiffe, la région 5' non traduite, la région codante entre le codon d'initiation et le codon stop, la région 3' non traduite, la queue de poly(A) et L'ADN est transcrit en ARN qui, chez les eucaryotes, est épissé en ARN messager.

1.2.2. La traduction :

1.2.2. 1. Le code génétique :

La seconde étape dans la synthèse d'un polypeptide consiste en la traduction de l'information portée par l'ARNm. Le code génétique (voir tableau du code génétique) permet de passer du langage **nucléique** élaboré par les 4 signes représentés par les 4 bases de l'ARNm, au langage **protéique** élaboré par 20 signes représentés par les 20 acides aminés susceptibles d'entrer dans la constitution d'un polypeptide.

L'unité élémentaire de ce code est le **codon**, formé par trois bases successives sur l'ARNm. Puisqu'il y a 4 nucléotides différents et que chaque codon en comporte 3, il existe au total $4^3 = 64$ codons possibles. Comme il y a 20 acides aminés il y a donc 44 codons supplémentaires. 3 codons correspondent à des codons STOP ou non sens, les autres sont des synonymes qui codent pour différents acides aminés. Le code génétique est dit **dégénéré** puisque chaque acide aminé est codé par plusieurs codons (à l'exception du Tryptophane et de la méthionine). L'initiation des chaînes protéiques est assurée par le codon AUG qui code pour la méthionine, les triplets UAA, UAG et UGA sont des signaux qui assurent la terminaison des chaînes.

Les codons sont lus dans le sens 5'→3' le long de la chaîne de l'ARNm. A un codon correspond un **anti-codon** (séquence de 3 nucléotides successifs sur un ARNt) et donc à un acide aminé spécifique.

1.2.2. 2. Assemblage des acides aminés :

Après activation des acides aminés dont le résultat est la fixation de ceux-ci sur les ARNt, la synthèse d'une chaîne protéique se fait en trois étapes : l'initiation, l'élongation et la terminaison (figure22).

1.2.2. 3. L'initiation :

Près de l'extrémité 5' phosphate de l'ARNm se trouve un codon signal qui indique que la traduction doit débiter, on l'appelle **codon initiateur**. Ce codon est presque toujours AUG qui code pour la méthionine, donc toutes les chaînes protéiques en cours de synthèse ont la Met comme premier acide aminé, cependant cette Met sera enlevée juste après la synthèse peptidique.

Juste avant que la traduction ne commence, le ribosome n'est pas constitué, les 2 sous unités sont en effet dissociées et libres dans le cytoplasme.

A la phase d'initiation, la petite sous unité forme un complexe avec l'ARNm (au niveau du codon AUG) d'une part, et avec l'ARNt portant la méthionine initiale d'autre part. La grande sous unité s'ajoute alors, le ribosome est maintenant constitué et fonctionnel. Les ribosomes ont deux sites de liaisons (voir figure) :

Le site A (site acide aminé) : Où viendra se placer l'ARNt porteur de l'acide aminé.

Le site P (site peptidique) : Où viendra se placer l'ARNt porteur de la chaîne protéique en cours d'élongation.

1.2.2. 4. L'élongation :

Après initiation, le premier acide aminé alors en place, il va falloir maintenant au cours de la phase suivante, appelée élongation, former une liaison peptidique pour chaque acide aminé à accrocher, c'est-à-dire pour chaque liaison à fabriquer, un même cycle à 3 étapes est à chaque fois décrit :

a. Accrochage d'un nouvel aminoacyl ARNt dans le ribosome : Le deuxième ARNt vient avec l'acide aminé n°2 dans le site A de la grande sous unité, c'est le codon n°2 placé sur l'ARNm après le codon AUG qui détermine donc le choix du 2^{ème} anti-codon c'est-à-dire du 2^{ème} ARNt donc du 2^{ème} acide aminé.

b. La formation de la liaison peptidique :

Il y a rupture de la liaison entre la Met et le 1^{er} ARNt, c'est alors que se forme la liaison peptidique entre le COOH libre de la méthionine et le NH₂ de l'acide aminé n° 2 porté par l'ARNt n°2. Mais en fait, le COOH de la méthionine n'étant pas libre puisqu'il est engagé dans la liaison avec le 1^{er} ARNt, la formation de la liaison peptidique donnant le dipeptide et le détachement du 1^{er} ARNt se font simultanément (en même temps), c'est la peptidyl transférase qui intervient à ce stade. A ce moment il y a formation d'un dipeptide logé dans le site A et porté par l'ARNt n°2, l'ARNt n°1 est éjecté du site P et libéré dans le cytoplasme.

c. La translocation :

Le ribosome va avancer d'un cran sur l'ARNm dans la direction 5'→3'. Un cran veut dire 3 nucléotide ou codon. Un nouveau codon n°3 se trouve donc en face du site A, simultanément l'ARNt n°2 qui portait le dipeptide est passé du site A au site P, il adonc changé de loge, d'où le nom de translocation. De nombreux cycles vont se succéder avec à chaque fois les mêmes trois étapes.

1.2.2. 5. La terminaison :

La fin de la traduction se produit lorsque le ribosome en avançant d'un cran sur l'ARNm trouve un codon STOP, UAA, UAG ou UGA. Il n'existe aucun ARNt qui viendra dans le site A, il se produira alors une coupure de la liaison entre le dernier ARNt et la chaîne peptidique, la liaison qui unissait ce dernier ARNt au dernier acide aminé est hydrolysée libérant ainsi la chaîne peptidique. C'est la peptidyl transferase qui fera cette dernière coupure. Le ribosome se redissocie en 2 sous unités qui pourront recommencer de nouvelles lectures de l'ARNm.

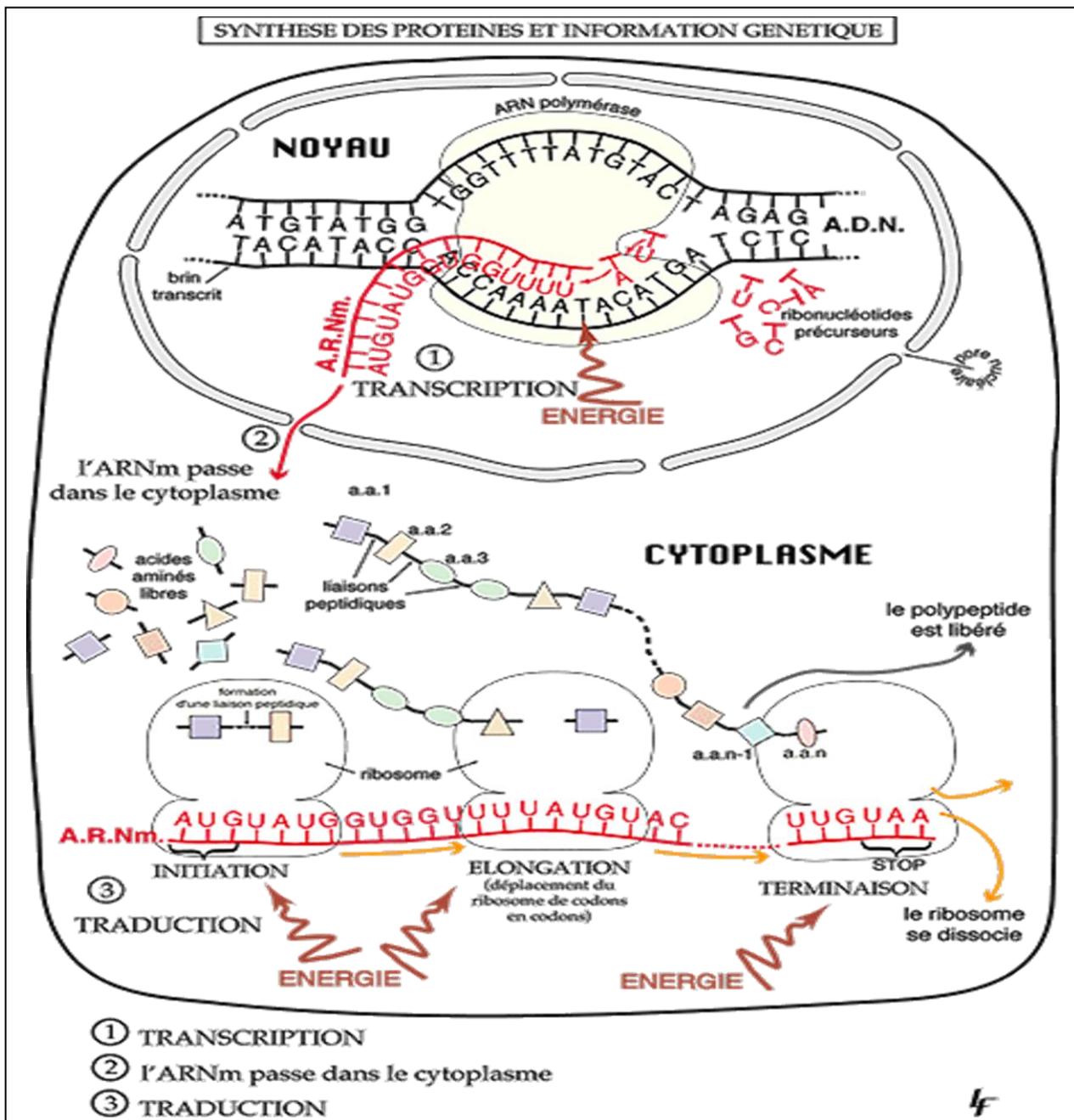


Figure 22 : les étapes de la synthèse des protéines, transcription et traduction