

Master : Biochimie Appliquée

Dr.REFES Ines**UEF1 : Biologie, physiologie et régulation métabolique****Biologie Moléculaire**

Crédit 8, coefficient : 4

I. Bases moléculaire de l'hérédité : le génome

Objectifs spécifiques :

- Préciser la composition en bases, sucre, nucléotides de l'ADN
- Citer les différents constituants d'un nucléotide
- Décrire les caractéristiques de la molécule d'ADN et ARN
- Citer les propriétés physicochimiques de l'ADN et ARN

1- Introduction

Développée depuis les années 30, la biologie moléculaire est une discipline scientifique (au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique), permettant d'étudier les mécanismes de fonctionnement des cellules au niveau moléculaire.

La biologie moléculaire est parfois abrégé Bio mol ou BM, Le terme Bio mol utilisé pour la première fois en 1938 par **Warren Weaver**, désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques (ADN, ARN), appelée aussi techniques de génie génétique.

Pour cela, les techniques d'étude et de modification des gènes et de leur expression font partie intégrante de la biologie moléculaire. Ainsi qu'est une discipline scientifique qui décrit la manière dont l'information génétique est conservée, transmise et exprimée.

Après la découverte de la structure en double hélice de l'ADN en 1953 par James Watson (1928), Francis Crick (1916-2004), Maurice Wilkins (1916-2004) et Rosalind Franklin (1920-1958), la biologie moléculaire a connu d'importants développements pour devenir un outil incontournable de la biologie moderne à partir des années 1970.

Depuis la fin des années 1950 et le début des années 1960, les biologistes moléculaires ont appris à caractériser, isoler et manipuler les composants moléculaires des cellules et des organismes. Ces composants incluent l'ADN, support de l'information génétique, l'ARN, proche de l'ADN dont les fonctions vont de la copie provisoire d'ADN jusqu'aux réelles fonctions structurelles et enzymatiques et qui est une partie fonctionnelle et structurelle de l'appareil traductionnel, et les protéines, molécules structurelles et enzymatiques les plus importantes des cellules.

La biologie moléculaire est connue aussi par l'analyse, dans les molécules, la structure du génome et ses altérations (mutations) ainsi que les mécanismes de l'expression, normale et pathologique, des gènes. L'expression biologie moléculaire est parfois employée pour désigner les techniques d'étude des gènes.

Par ailleurs, la molécule d'ADN est organisée en unités appelées gènes. Un gène est fait d'une succession de nucléotides. C'est un facteur transmissible qui détermine un caractère. Sur le plan fonctionnel, un gène est une séquence d'ADN avec une structure nécessaire à la synthèse d'un produit fonctionnel qui peut être sous la forme d'ARN ou de polypeptide.

- **Quelque date de la structure de l'ADN à la régulation de l'expression des gènes**
 - **1953** : Découverte de la double hélice (Watson et Crick)
Analyse de clichés de diffraction de rayon X par des cristaux d'ADN
 - **1953** : un modèle du code génétique (Gamow)
 - **1956** : l'ARN est découvert.
 - **1958** : La démonstration du modèle semi-conservatif de la réplication de l'ADN (Meselson et Stahl).
 - **1960** : Découverte de l'ARN messenger (Monod).
 - **1961-1966** : le décryptage du code génétique (Nirenberg et Matthaei) grâce à la synthèse de protéines in vitro à partir d'un ARN poly-U.
 - Affinage du "dogme central" de la biologie moléculaire
 - **1965** : L'opéron lactose (Jacob et Monod)
Etude de l'activité de la Beta-galactosidase
Modèle de la régulation de l'expression des gènes

2. L'ADN, Support de l'information génétique

L'information génétique gouverne les fonctions cellulaires, détermine largement l'apparence externe des individus, leurs aptitudes physiques et mentales et assure le lien entre générations chez toutes les espèces

L'information génétique est transmise sous deux formes d'une génération à l'autre :

- Soit sous la forme d'un œuf fécondé (reproduction sexuée) qui reçoit un exemplaire de chaque gène parental.
- Soit sous la forme d'une cellule fille (reproduction asexuée) qui reproduit à l'identique la cellule-mère.

Le mot « **génome** » est la combinaison des mots « gène » et « chromosome ».

Génome : Ensemble de l'information génétique d'un organisme contenu dans chacune de ses cellules sous la forme de chromosomes. Le support matériel du génome est l'ADN, sauf chez certains virus où il s'agit d'ARN.

Gène : Fragment d'ADN contenant toutes les informations nécessaires pour produire un ARN ou, le plus souvent, une protéine. Un gène correspond à une instruction à effectuer par la cellule.

Chromosome : Élément constitutif du génome, composé d'une longue molécule d'ADN. Le génome humain est constitué de 46 chromosomes (23 paires).

2.1. La nature chimique des gènes

En 1928, **Fred Griffith** découvre le phénomène de "transformation" : une coinjection chez une souris de pneumocoques non pathogènes (R) et de pneumocoques virulents (S) mais tués préalablement entraîne la mort de l'animal.

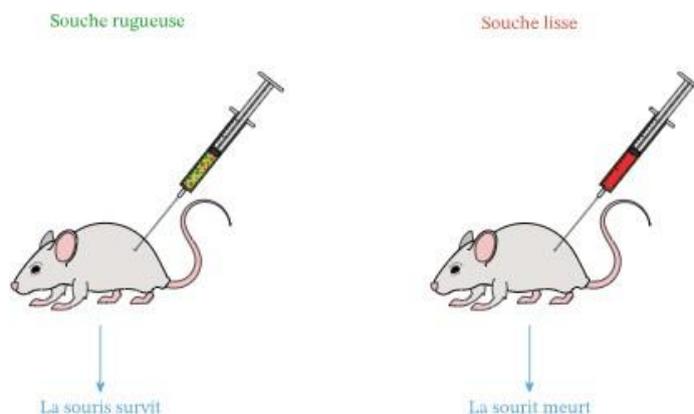
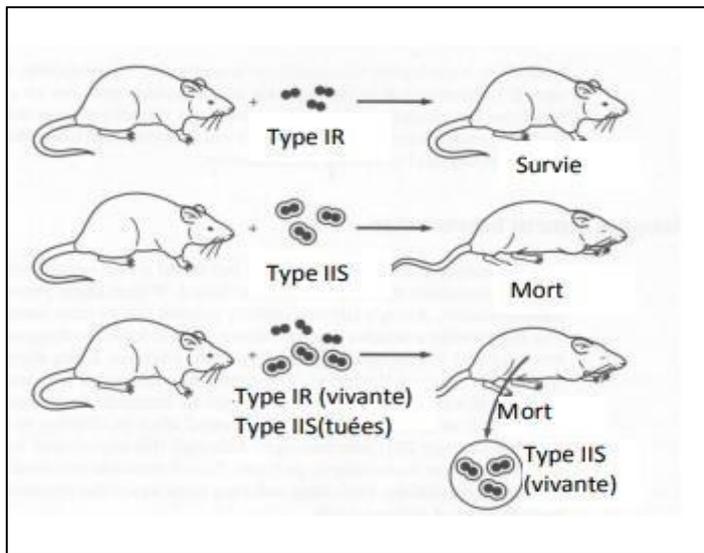


Figure 1 : Schéma montrant l'injection des souches bactériennes R et S dans des souris.

Griffith a ensuite isolé la souche S et, en utilisant de la chaleur, a tué les bactéries. Lorsqu'il a injecté ces bactéries S tuées par la chaleur à des souris, il a observé que les souris survivaient sans développer de pneumonie.

Cependant, lorsque Griffith a introduit un mélange de bactéries S tuées par la chaleur et de bactéries R vivantes chez les souris, celles-ci ont développé une pneumonie et sont mortes, comme le montre la figure 2. En outre, quand il a examiné le sang des souris mortes, il y a trouvé des bactéries S vivantes ! Les bactéries R vivantes ont changé d'aspect et de virulence pour devenir des bactéries S, ce qui a entraîné une pneumonie et tué les souris.

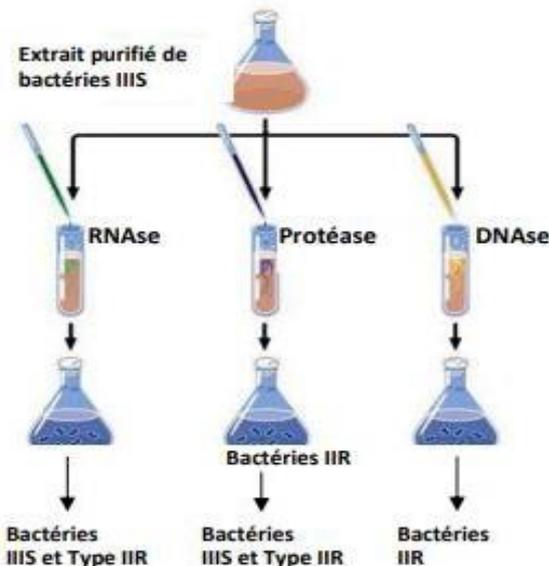


Griffith a constaté une autre différence importante entre les souches de bactéries S et R : la souche S est la souche « virulente », capable de provoquer la mort des souris, tandis que la souche R est la souche « non virulente », qui ne provoque pas la mort des souris.

Figure 2 : Expérience de transformation de Griffith (1928)

Les pneumocoques non pathogènes sont ainsi transformés par un facteur issu des pneumocoques virulents. En 1944, la purification du facteur transformant par Avery aboutit au résultat suivant : ce n'est pas une protéine, mais un acide desoxyribonucléique (ADN), mettant ainsi en évidence le rôle de l'ADN comme support de l'information génétique. Cependant, l'ADN est alors considéré comme un homopolymère dont l'élément de base serait ATGC (Takahashi 1932), et semble donc beaucoup trop rudimentaire pour être le support de l'information génétique.

Oswald Avery et ses collègues déterminèrent par la suite quel constituant des pneumocoques tués par la chaleur était responsable de la transformation de Griffith. Ces chercheurs détruisirent sélectivement les constituants d'extraits purifiés de Pneumocoques virulents (cellules S), au moyen d'enzymes hydrolysant l'ADN, l'ARN ou les protéines. Ils exposèrent par la suite des souches non virulentes (Souches R) aux extraits traités. La transformation des bactéries non virulentes n'avait plus lieu que si l'ADN avait été hydrolysé, ce qui suggérait que l'ADN portait l'information requise pour la transformation.



Ils ont ajouté de la RNase au premier échantillon, des protéases au deuxième et de la DNase au troisième. Grâce aux noms de ces trois enzymes, nous devrions pouvoir comprendre leurs fonctions : les protéases dégradent les protéines, la RNase dégrade l'ARN et la DNase dégrade l'ADN.

Ils ont ensuite mélangé chacun de ces échantillons avec des bactéries R vivantes, comme le montre **la figure 3**

Figure 3 : Purification du facteur transformant par Avery (1943)

En conclusion Ils ont observé que les mélanges traités à la protéase et à la RNase présentaient tous deux des signes de transformation bactérienne. Cela suggère que ces enzymes n'empêchent pas les bactéries R du mélange de se transformer en bactéries S virulentes. Cependant, dans le mélange traité à la DNase, aucune transformation bactérienne n'avait été observée.

Lorsque les mélanges ont été traités avec des enzymes digérant les protéines ou l'ARN, leur ADN est resté intact et a été capable de transformer les bactéries R en bactéries S. Mais lorsque l'ADN de ces mélanges a été dégradé par la DNase, le matériel génétique n'a pas pu être transmis des bactéries S tuées par la chaleur aux bactéries R vivantes et, par conséquent, la transformation n'a pas pu avoir lieu ! Avery et son équipe ont donc conclu que le principe transformant décrit par Griffith devait être l'ADN.

2.2. Le matériel génétique

On désigne par le terme de génome l'ensemble de l'information génétique codée par l'ADN (ou l'ARN chez les virus à ARN) et plus précisément la séquence d'ADN correspondant à un jeu haploïde de chromosomes. Une cellule somatique humaine diploïde contient donc deux génomes : un génome paternel et un génome maternel, alors qu'une cellule sexuelle (ovule ou spermatozoïde) n'en contient qu'un seul. Le terme génome s'applique aussi bien à l'ADN du noyau cellulaire (génome nucléaire) qu'à l'ADN des organites : génome mitochondrial et génome chloroplastique.

Les gènes sont constitués de brins d'acides nucléiques : acide désoxyribonucléique presque toujours, acide ribonucléique dans certains virus des animaux (rétrovirus, virus de la rougeole, par exemple) et des plantes. Les acides nucléiques sont des macromolécules présentes dans toutes les cellules vivantes, soit à l'état libre soit combinées à des protéines pour former les nucléoprotéines. Ce sont des polymères linéaires de nucléotides, c'est-à-dire formés par l'association de plusieurs nucléotides. Chaque nucléotide est constitué lui-même d'une base hétérocyclique, d'un pentose et d'un acide phosphorique.

2.2.1. Les acides nucléiques

- **L'ADN (Acide DésoxyriboNucléique)** : l'ADN est une longue molécule ressemblant à une échelle où les deux montants (brins d'ADN) est une molécule linéaire composée d'une substitution répétitive d'éléments appelés nucléotides reliés par des liaisons phosphodiester.
- **L'ARN (Acide RiboNucléique)** : l'ARN comme l'ADN est un polymère de nucléotides reliés par des liaisons phosphodiester.

2.2.1.1. Structure des acides nucléiques

2.2.1.1.1. Le nucléotide comporte 3 composants chimiques :

- Acide phosphorique : CH_3PO_4
- Sucre pentose $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ = Ribose dans l'ARN ou Désoxyribose dans l'ADN.
- Base azotée : il en existe deux types :
 - Une purine : structure à deux cycles : Adénine (A) et Guanine (G)
 - Une pyrimidine : structure à un seul cycle : Thymine (T), Cytosine (C) et Uracile (U).

A. les bases azotées :**a. Les bases pyrimidiques :**

Elles sont formées d'un cycle hexagonal à 4 carbones et 2 azotes (tableau 1). Les pyrimidines les plus communes sont :

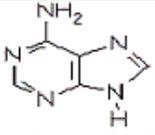
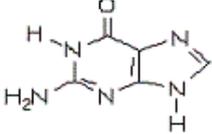
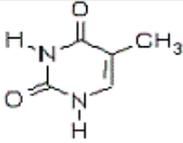
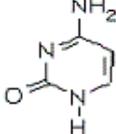
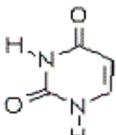
- **La cytosine** :(2-oxy, 4-amino pyrimidine), elle est présente dans les deux types d'acide nucléique (ADN et ARN).
- **L'uracile** : (2, 4-dioxy pyrimidine), présente dans tous les ARN mais n'existe pas dans les ADN.
- **La thymine** :(2, 4-dioxy, 5-méthyl pyrimidine ou 5-méthyl uracile, elle est présente dans tous les ADN où elle remplace l'uracile.

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. Deux bases puriques majeures dérivent du noyau purine :

- **L'adénine** :(6- amino purine), 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), 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 NH₂ sur le carbone 2 et O sur le carbone 6.

Tableau 1 : la structure des bases puriques et pyrimidiques

BASE AZOTEE	NOM, TYPE	PRESENCE	APPARIEMENT
	ADENINE (A) PURIQUE	DNA et RNA	AT
	GUANINE (G) PURIQUE	DNA et RNA	CG
	THYMINE (T) <u>PYRIMIDIQUE</u>	DNA	AT
	CYTOSINE (C) <u>PYRIMIDIQUE</u>	DNA et RNA	CG
	URACILE (U) <u>PYRIMIDIQUE</u>	RNA	AU

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

B. Les sucres :

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, Un ose est un monomère de glucide. Les oses possèdent au moins trois atomes de carbone : ce sont des polyhydroxyaldéhydes ou des polyhydroxycétones.

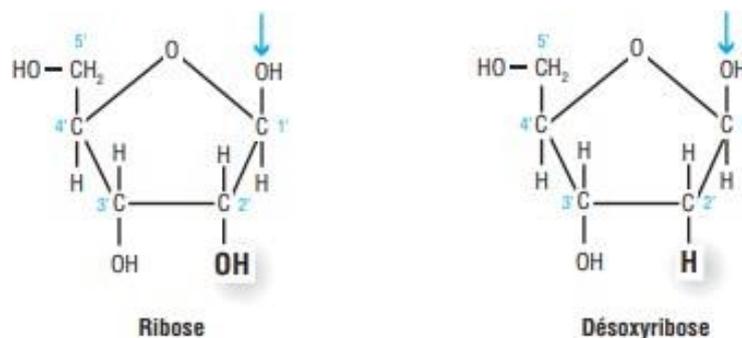


Figure 4 : Les oses impliqués dans la structure des acides nucléiques

C. Acide Phosphorique

Donne un groupement phosphate.

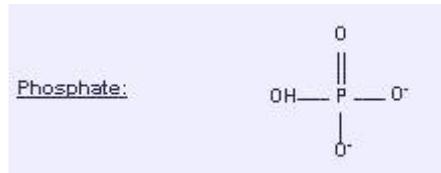


Figure 5 : Acide phosphorique

2.2.1.1.2. Les nucléosides

Le carbone 1' du sucre se lie à l'azote de la base (N1 ou N9) pour former un nucléoside. Cette liaison est appelée N-glycosidique. Un ou plusieurs groupements phosphate (P) peuvent se lier avec le carbone 5' pour former un nucléoside phosphate.

Nomenclature

- Nucléoside = base azotée + ribose.
- Désoxynucléoside = base azotée + désoxyribose
- Nucléotide = nucléoside + groupement phosphate
- Désoxynucléotide = désoxynucléoside + groupement phosphate.

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.

Tableau 2 : Nomenclature des nucléosides et des nucléotides dans l'ADN et l'ARN

Base	Nucléoside (Base + Ose)		Nucléotide (Base + Ose + Phosphate)	
	<i>ribose</i>	<i>désoxyribose</i>	<i>ribose</i>	<i>désoxyribose</i>
Uracile (U)	uridine	—	UMP	—
Thymine (T)		désoxythymidine		dTMP
Cytosine (C)	cytidine	désoxycytidine	CMP	dCMP
Adénine (A)	adénosine	désoxyadénosine	AMP	dAMP
Guanine (G)	guanosine	désoxyguanosine	GMP	dGMP
			ARN	ADN

2.2.1.1.3. 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.

2.2.1.1.4. Liaisons entre les nucléotides dans un acide nucléique

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

- L'hydroxyle (OH) d'une fonction acide d'un groupement phosphate (H_3PO_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 phosphatent, les bases étant des groupements latéraux, unis au squelette à intervalles réguliers.
- La troisième fonction acide du phosphate reste libre et confère donc des propriétés acides aux « acides » nucléiques ADN et ARN.

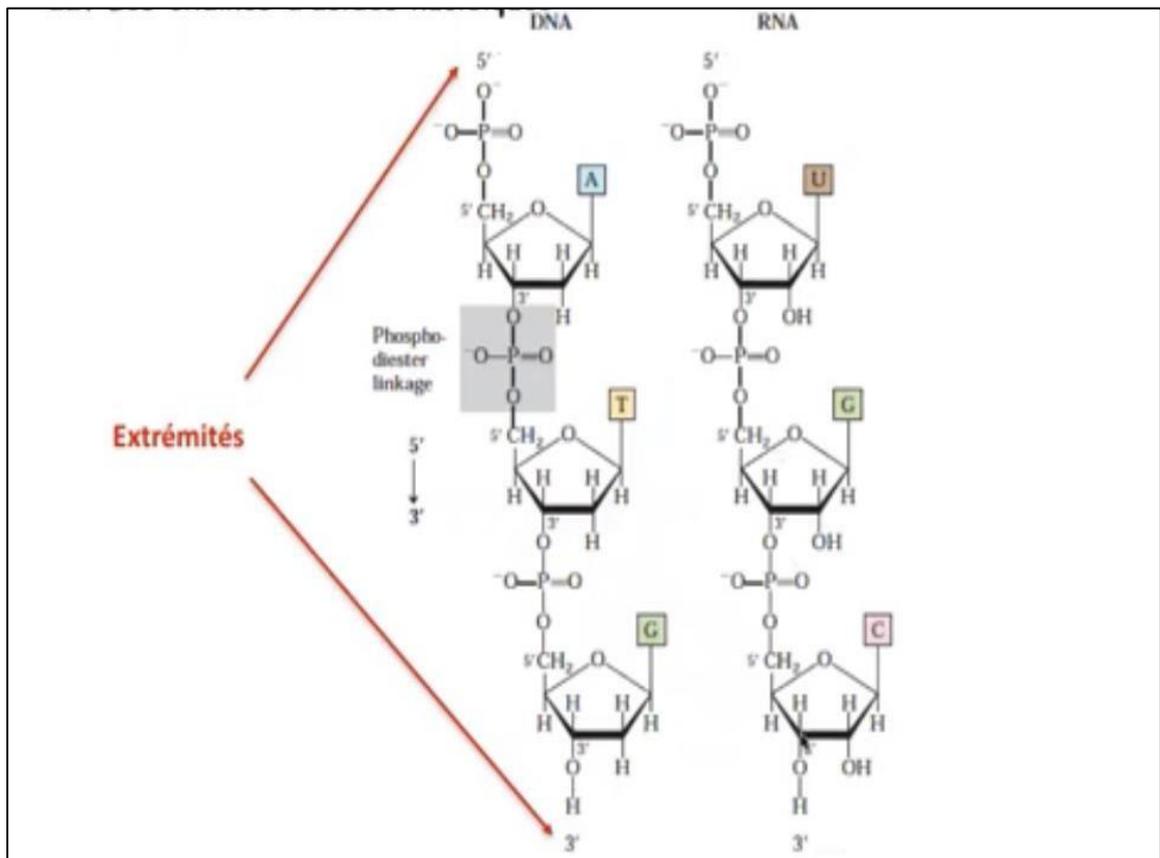


Figure 6 : Liaisons entre nucléotides

2.3. L'acide désoxyribonucléique (ADN) :

L'ADN, ou acide désoxyribonucléique, est une longue molécule porteuse de l'information génétique. Elle constitue les chromosomes des cellules, quand la molécule d'ADN est condensée. On parle de double-hélice de l'ADN : chacun des brins est un assemblage d'éléments appelés nucléotides.

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.

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 stabilisation de la double hélice s'effectue par des liaisons covalentes à la fois internes et externes :

- 1- Liaisons hydrogène entre les bases.
- 2- Interactions hydrophobes et électroniques entre les bases
- 3- Interactions des groupements sucre et phosphate avec le milieu aqueux (interactions hydrophiles).

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 éloignées 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.

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, et inversement en face d'un groupement NH₂ d'une base pyrimidique se trouve un groupement C=O d'une base purique.

Pour le couple Adénine Thymines, il y a deux liaisons hydrogène :

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

2.3.1. Propriétés physico-chimique de l'ADN

Les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes qui maintiennent la structure en double hélice sont des forces faibles et des quantités relativement petites d'énergie peuvent séparer les deux brins, un processus appelé dénaturation.

- **La Solubilité**

L'ADN est un polyanion dont les sels de sodium sont solubles dans l'eau en formant solutions à viscosité élevée. Les alcools et en particulier l'éthanol, précipitent les molécules d'ADN sous forme agglomérats en longues fibres.

- **La densité**

La densité des molécules d'ADN est telle qu'on peut les séparer par ultracentrifugation dans des gradients de densité (chlorure de césium).

- **La charge**

La charge de ces molécules à pH physiologique est négative et directement proportionnelle à leur longueur (nb de nucléotides). Charge dont la contribution est uniquement du au groupement phosphates (à ce pH les bases ne portent aucune charge). Cette propriété est utilisée pour les séparer par électrophorèse.

- **Propriétés spectrales**

- Le spectre d'absorption de l'ADN natif n'est pas identique à celui du même ADN dénaturé par la chaleur (chauffage à 100°C) ou par l'urée ou encore à pH très alcalin. L'ADN dénaturé a une

absorption à 260 nm plus élevée que l'ADN natif, d'un facteur 1,6. Cette propriété appelée l'effet **hyperchrome ou hyperchromocité**

2.3.2. Les Enzymes

2.3.2.1. Les ADN polymérases procaryotes

- Les **ADN polymérases III** sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN. Elles présentent les activités polymérasique 5' – 3' (mais pas exo-nucléasique 5' - 3'). Elles prolongent les fragments d'Okazaki.

- Les **ADN polymérases I** présentent les activités polymérasique 5' vers 3' et exonucléasiques 5'-3' et 3'-5'. Ce sont des enzymes peu processives, ce qui ne leur permet pas de faire la majorité de la réplication des ADN procaryotes. Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN et pour combler les brèches laissées par l'ADN polymérase III. Elles enlèvent les amorces d'ARN et les remplacent par de l'ADN.

- Les **ADN polymérases II** sont douées d'une activité de réparation.

2.3.2.2. Les hélicases ou déroulases:

Ce sont des enzymes dont le rôle est le déroulement de la double hélice d'ADN (elles séparent progressivement les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes). Elle commence la catalyse au niveau de la fourche de réplication, et se déplace le long de l'ADN tout en séparant les brins utilisant l'énergie chimique de l'ATP.

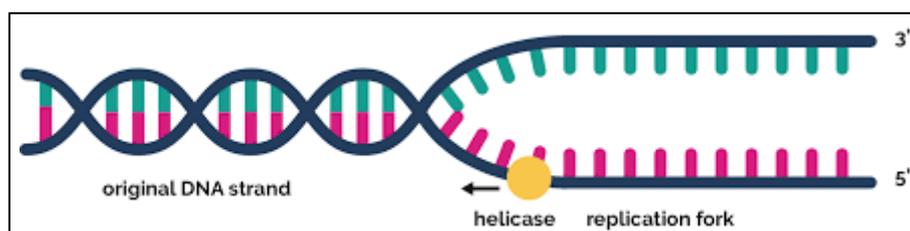


Figure 7 : Positionnement des hélicases au niveau des fourches

2.3.2.3. Les topoisomérases

Les topoisomérases 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 topoisomérases.

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 ;
- **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.

A- la conformation des ADN les topoisomères.

Les topoisomères sont deux molécules d'ADN qui ont la même séquence et diffèrent uniquement par le nombre d'enlacements (superenroulement ou le nombre de tours que fait l'un des brins autour de l'autre brin). Il existe différents états des topoisomères.

- **L'ADN peut exister :**

- **état relâché** : avec une contrainte minimale dans la molécule. C'est la forme la plus stable de la molécule.
- **état sur enroulé** : l'axe de la double hélice d'ADN peut s'enrouler sur lui-même en formant un super enroulement.

- **Deux formes de superenroulement sont alors possibles :**

- Un superenroulement qui correspond à : une augmentation du nombre d'enroulements dans la même direction que la rotation de l'hélice B (rotation droite). On parle de **superenroulement positif**
- Un superenroulement de l'ADN autour de son axe dans la direction opposée au sens des aiguilles d'une montre. Il y a donc au niveau de l'ADN relâchement de la pression de torsion. On parle de **superenroulement négatif**

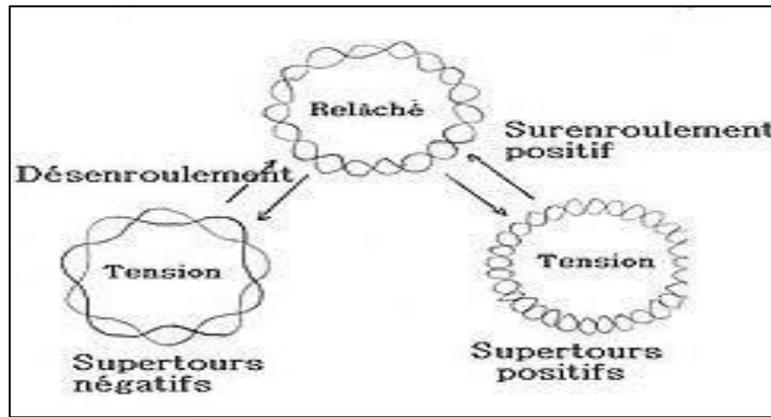


Figure 8 : Les topoisomères de l'ADN

2.3.2.2. La primase : il s'agit d'une ARN polymérase ADN-dépendante. Elle synthétise une amorce de nucléotides d'ARN avec une séquence de bases complémentaire à la matrice d'ADN. En effet, l'ADN polymérase n'a aucun « esprit d'initiative », elle ne sait pas commencer une chaîne. Elle ne sait qu'allonger une chaîne de nucléotides (c'est-à-dire qu'elle ne sait qu'ajouter un nucléotide à l'extrémité 3'OH d'un acide nucléique). C'est l'ARN polymérase qui est capable de commencer une chaîne d'acide nucléique.

2.3.2.3. Les ADN ligases : catalysent la formation de la liaison phosphodiester. Elles ligaturent les fragments d'Okazaki. L'ADN ligase a besoin d'ATP.

Les protéines SSB (Single Stranded Binding protein), appelées aussi « protéines déstabilisant l'hélice » : se lient aux brins exposés et les gardent séparés en bloquant la formation des liaisons hydrogènes. De plus, elles empêchent qu'une chaîne se replie sur elle-même en formant une boucle.

2.3.3. 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 Différent légèrement par le diamètre de leur hélice il existe aussi des molécules d'ADN à hélice gauche.

1. Les hélices droites

- 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.
- 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

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.

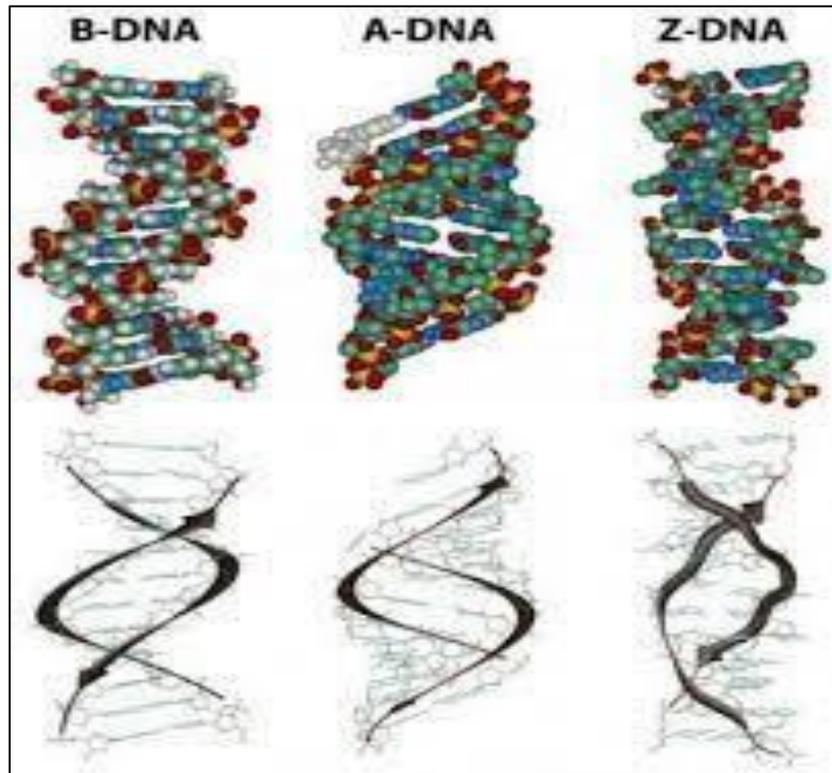


Figure 9 : Les différentes variantes structurales de la molécule d'ADN

2.4. L'ARN : Structure, Différents Types Et Propriétés

ARN l'acide ribonucléique est un acide nucléique formé par une chaîne de ribonucléotides, composé de ribose, de phosphate, d'adénine, de cytosine, de guanine et d'uracile. Il est présent dans les cellules procaryotes et les eucaryotes, et est le seul matériel génétique de certains virus (virus à ARN). Cet acide nucléique résulte de la transcription de l'ADN. L'ARN est constitué d'une chaîne de monomères répétitifs appelés nucléotides. Les nucléotides sont joints les uns après les autres par des liaisons phosphodiester chargées négativement.

2.4.1. Structure de l'ARN :

1. La première différence principale dans la structure de l'ARN est la fonction hydroxyle en 2' du ribose qui permet à l'ARN de faire une liaison phosphodiester intramoléculaire en milieu basique avant de faire la liaison 3'-5'. De ce fait les ARN ont une demi-vie très courte.
2. La deuxième différence principale est le remplacement de la thymine par l'uracile.

3. Les molécules d'ARN sont simple brin et linéaire, et les seuls appariements de paires se font intramoléculaires par des liaisons hydrogènes sous forme de structures en tiges-boucles aux extrémités de l'ARN et des structures en épingles à cheveux à l'intérieur de l'ARN.

4. Les hélices d'ARN formées lors des appariements sont de type A et sont plus courtes et plus trapues que l'hélice de type B de l'ADN. L'effet hypochrome est également présent et dû aux appariements intramoléculaires. La courbe d'absorption UV en fonction de la température est cette fois-ci par palier correspondant aux différentes boucles à épingles à cheveux dénaturées.

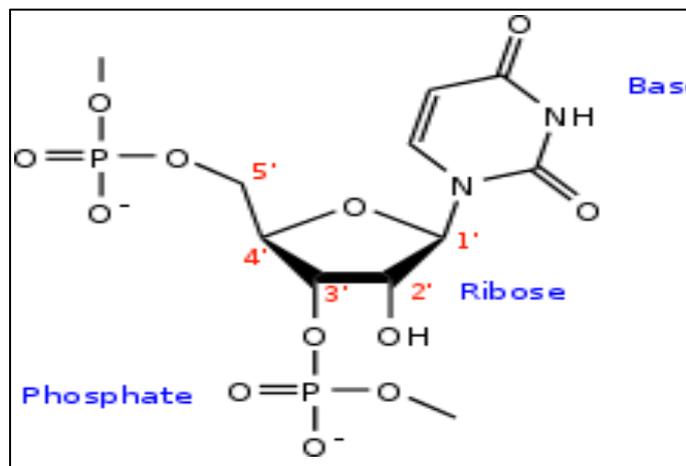


Figure 10 : Structure de l'ARN

2.4.2. Les différents types de l'ARN : Il existe trois grands types d'ARN qui sont impliqués dans différents aspects de la synthèse des protéines et sont par conséquent nécessaires à l'expression de l'information génétique sont :

2.4.2.1. L'ARN messager (ARNm) : qui représente 5% des ARN totaux, est un support temporaire de l'information génétique. Il est utilisé par la cellule pour transmettre l'information correspondant à un gène donné, il provient de la transcription de l'ADN et sert de matrice pour la traduction en protéines. La séquence nucléotidique de l'ARNm est une séquence linéaire, complémentaire et antiparallèle à la séquence matrice de l'ADN dont elle est issue.

2.4.2.2. L'ARN de transfert (ARNt) : représentant 15% des ARN totaux, est un adaptateur qui reconnaît les codons de l'ARNm par appariement de bases complémentaires et insère l'acide aminé adéquat au moment de la traduction. C'est une molécule d'ARN monocaténaire qui peut

se replier et former des structures secondaires par appariements entre ses bases complémentaires, donnant une structure en épingle à cheveux résultant d'alternance de zones formant des doubles hélices (les tiges) et les zones non appariées (les boucles).

- Les ARNt sont donc des polymères, contenant des régions simple brin et double brin, et composés de ribonucléotides.
- Leur fonction dans la cellule est d'assurer la correspondance entre l'information génétique portée par l'ARN messager, et les acides aminés contenus dans la protéine codée par cet ARNm.
- Ils sont les acteurs clés de la traduction de code génétique. Chaque ARNt porte des 20 acides aminés attaché par une liaison ester à son extrémité 3'-OH et transporte ce dernier au ribosome. Trois des nucléotides de chaque ARNt forment un anticodon spécifique de l'acide aminé.
- L'anticodon s'apparie au codon sur l'ARNm assurant ainsi la correspondance entre codon et acide-aminé, conformément au code génétique. L'interaction codon-anticodon s'effectue dans le ribosome qui vérifie la complémentarité des bases de l'ARNm et l'ARNt. Quand celle-ci est réalisée, le ribosome catalyse l'allongement de la chaîne protéique encours de synthèse et avance sur l'ARN messager.

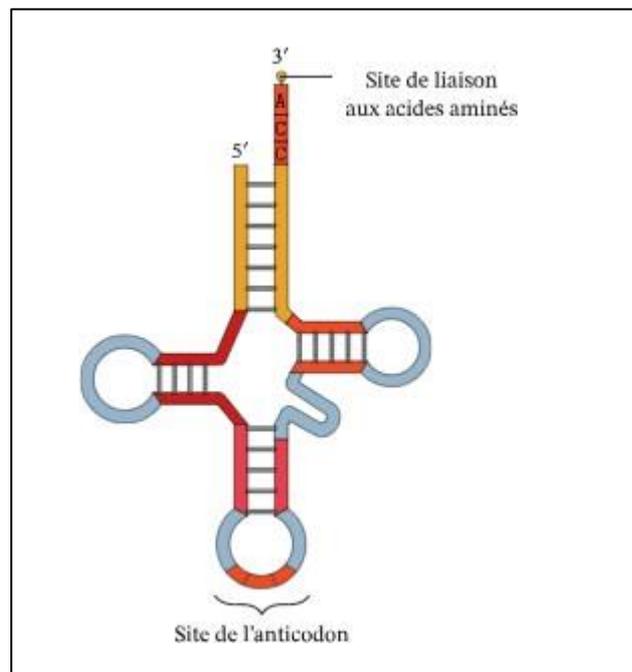


Figure 11 : Structure de l'ARNt

2.4.2.3. ARN ribosomal (ARNr) : Les ARN ribosomiaux représentent plus de 80% des ARN cellulaires totaux s'associent à des protéines pour former le ribosome qui est le support de la synthèse des protéines. Les ribosomes sont une association de 2 sous unités : 50S et 30S chez les procaryotes et 60S et 40S chez les eucaryotes

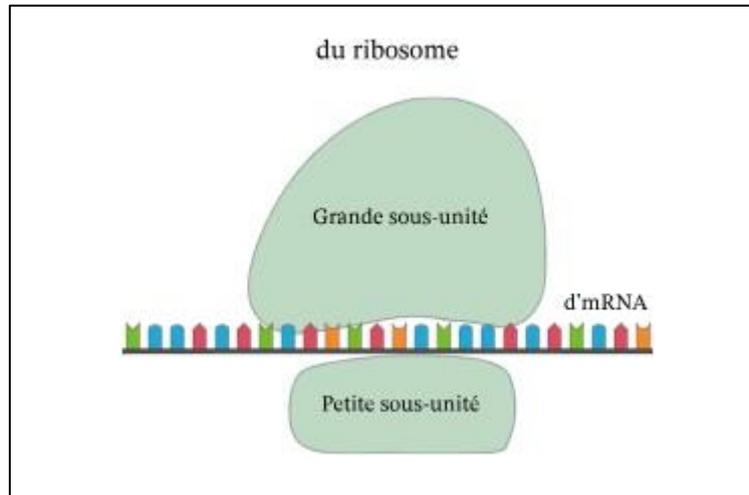


Figure 12 : Structure de l'ARNr

Le coefficient de sédimentation S (Svedberg) est l'unité de mesure de la vitesse de Sédimentation. Le coefficient de sédimentation d'une particule dépend non seulement de sa masse mais aussi de sa forme et de sa rigidité. Par définition, la constante de sédimentation S, est la vitesse de sédimentation par unité d'accélération (force G)

2.4.2.4. D'autre type d'ARN : Au-delà du rôle primaire de l'ARN dans la synthèse des protéines, plusieurs variétés d'ARN existent qui sont impliqués dans la modification du gène, la transcription, la réplication de l'ADN, et le règlement de gène. Quelques formes d'ARN sont seulement en particulier les formes trouvées de la durée, comme dans des eucaryotes ou des bactéries.

2.4.2.4.1. Petit ARN nucléaire (snRNA) : le snRNA est impliqué dans transformer des PRÉ-ARN MESSAGERS (pré-ARNm) en ARNm mature. Ils sont très courts, avec une longueur moyenne de seulement 150 nucléotides.

2.4.2.4.2. ARNs de réglementation : Un certain nombre de types d'ARN sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes, y compris l'ARN micro (miARN), le petit ARN d'intervention (siARN) et l'ARN antisens (aARN).

- **Le miARN (NT 21-22)** est trouvé dans les eucaryotes, et les actes par l'interférence ARN (RNAi). le miRNA peut décomposer l'ARNm qu'il est complémentaire à, à l'aide des enzymes. Ceci peut bloquer l'ARNm de l'traduction, ou accélèrent sa dégradation.)
- **Le siARN (NT 20-25)** sont souvent produits par la dégradation de l'ARN viral, bien qu'il y ait également des sources endogènes des siARNs. Ils agissent assimilé au miARN. Un ARNm peut contenir des facteurs de régulation lui-même, tel que des riboswitches, dans le 5' séquence non-traduite ou 3' séquence non-traduite ; ces éléments cis-de réglementation réglementent l'activité de cet ARNm.

2.4.2.3. ARN de Transfert-messenger (tmRNA) Trouvé dans beaucoup de bactéries et de plastids. La balise de tmRNA les protéines codées par les ARNm qui manquent des codons non-sens pour la dégradation, et empêche le ribosome de caler dû au codon non-sens manquant.

Types of RNA

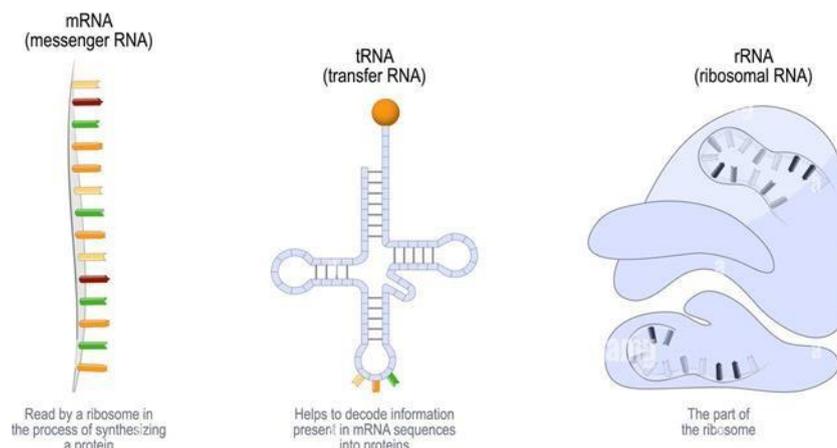


Figure 13 : les Types d'ARN

2.5. Différences entre ADN et ARN

- Au lieu du désoxyribose présent dans les nucléotides de l'ADN, les nucléotides de l'ARN contiennent un sucre ribose.
- A cause du groupe hydroxyle libre sur l'atome de carbone 2' du ribose, l'ARN est rapidement dégradé dans des conditions alcalines. L'absence de ce groupe dans le désoxyribose, rend l'ADN beaucoup plus stable.
- La thymine, une des deux pyrimidines présentes dans l'ADN, est remplacée par l'uracile dans l'ARN.
- L'ARN existe habituellement sous la forme d'une molécule simple brin (monocaténaire), tandis que l'ADN comporte deux brins associés par des liaisons hydrogène entre bases complémentaires.