

CHAPITRE I : LE SUPPORT DE L'INFORMATION GENETIQUE

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.

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).

1- STRUCTURE ET PROPRIETES DES ACIDES NUCLEIQUES

Les acides nucléiques sont des polymères linéaires de nucléotides (nucléosides monophosphates) reliés entre eux par une liaison 3'-5' phosphodiester. Il en existe deux types :

- l'acide désoxyribonucléique (ADN), support de l'information génétique (gènes);
- l'acide ribonucléique (ARN), dont il existe plusieurs formes :
 - **ARN messager**, support transitoire de l'information génétique qui est traduite en protéines,
 - **ARN ribosomique** et ARN de transfert, impliqués dans la synthèse des protéines, petits ARN ayant un rôle de régulation.

L'ADN est situé essentiellement dans le noyau, associé à des protéines (histones) pour former la chromatine. Les ARN, eux, sont situés dans le noyau (synthèse) et dans le cytoplasme (lieu de la traduction en protéines).

1.1. STRUCTURE DES NUCLÉOTIDES

Les acides nucléiques sont constitués d'un enchaînement de nucléotides. Un nucléotide se compose de trois éléments fondamentaux : un sucre, un groupe phosphate, et une base azotée.

a. Les bases azotées

Elles sont classées en bases pyrimidiques et en bases puriques. Les principales bases pyrimidiques sont : l'uracile, la cytosine et la thymine (5-méthyle uracile). Les principales bases puriques sont : l'adénine et la guanine (Fig.1). L'uracile est une base pyrimidique spécifiquement trouvée dans l'ARN ; la thymine est une base pyrimidique spécifiquement trouvée dans l'ADN.

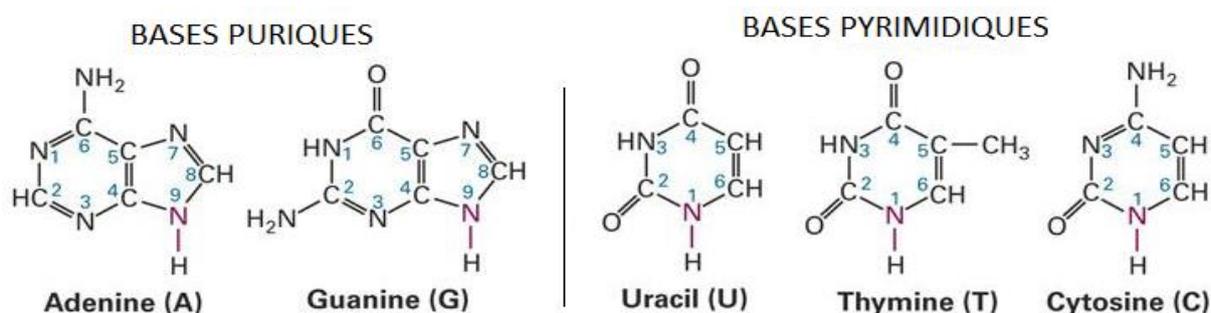


Fig.1 Les cinq bases azotées principales.

b. Le sucre

Deux types d'oses sont présents, le ribose et le 2'-désoxyribose. Ces deux sucres sont des pentoses (oses avec cinq atomes de carbone) sous forme cyclique (Fig.2). On les numérote avec des chiffres accompagnés de l'indication *prime* pour éviter des confusions avec les numérotations des bases. Le 2'-désoxyribose est un ribose dans lequel il manque un OH sur le carbone 2' (remplacé par un H).

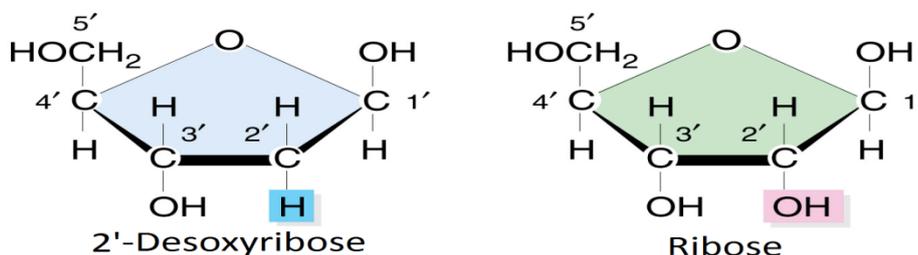


Fig.2 Structure des deux sucres constitutifs des acides nucléiques

c. L'acide phosphorique

Le phosphate (H_3PO_4) possède trois fonctions acides. Deux de ces fonctions sont estérifiées dans les ADN et les ARN, la troisième fonction acide est libre (Fig.3)



Fig.3 Structure de l'acide phosphorique constitutif des acides nucléiques

1.2. LES LIAISONS DANS LES NUCLEOTIDES

a. La liaison ose-base

La liaison ose-base est une liaison glycosidique. Elle se forme par élimination d'une molécule d'eau entre le OH du carbone situé en C1' de l'ose et le H du N⁹ de la base purique ou N¹ de la base pyrimidique. L'association ose-base est appelée nucléoside.

Les liaisons glycosidiques sont de deux types : soit d'une conformation *anti*, soit une conformation *syn* (Fig.4). Dans le type *anti*, le sucre et la base sont éloignés l'un de l'autre. A l'opposé, dans le type *syn*, la base et l'ose sont proches l'un de l'autre.

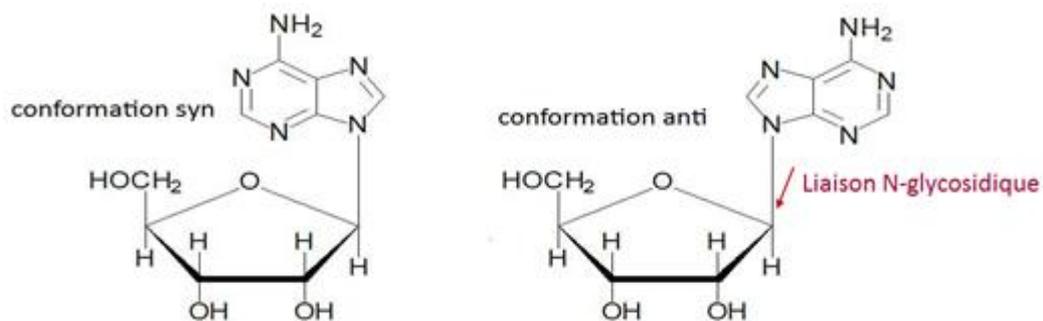


Fig.4 Les conformations *syn* et *anti* de nucléosides

b. La liaison phosphate-ose

Il s'agit d'une liaison ester (phosphoester). Il y a élimination d'une molécule d'eau entre un OH de l'acide phosphorique et l'H en C5' de la fonction alcool en 5' de l'ose (Fig. 5)

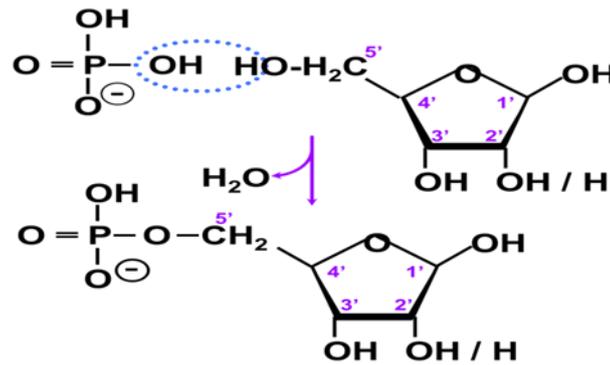


Fig.5 Liaison acide phosphorique-sucre

Les acides nucléiques sont des polymères dont l'unité de base est le nucléotide. Ces nucléotides sont reliés par des liaisons ester. Une molécule d'eau est donc éliminée entre un OH du phosphate et un H de la fonction alcool située en 3' de l'ose. Quand le phosphate présente ses deux fonctions acide bloquées dans la formation d'ester, on parle de la liaison phosphodiester (Fig.6).

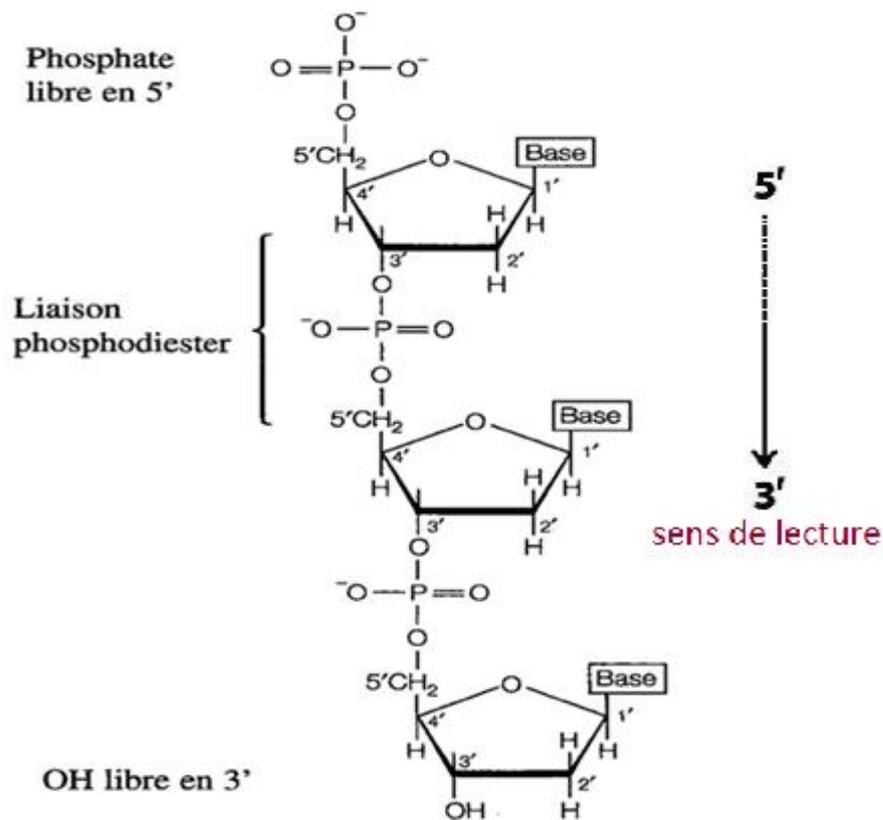


Fig.6 Liaisons phosphodiester relient les nucléotides dans le polynucléotide d'ADN

1.3. LES NUCLEOSIDES

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 1 : 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

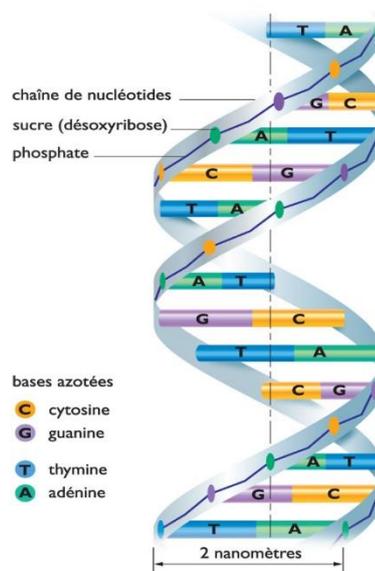
1.4. FONCTIONS DES NUCLEOTIDES

- 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. L'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE (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.



2.1. Les caractéristiques des chaînes d'ADN

Elles sont au nombre de 3 : antiparallèles, complémentaires et hélicoïdales

- **Antiparallèles** : les deux brins d'une molécule d'ADN sont disposés dans des directions opposées. Un brin est orienté dans une direction 5' → 3' et un deuxième brin orienté dans la direction opposée.
- **Complémentaires** : l'appariement des bases des deux brins d'une molécule d'ADN se fait suivant la règle de complémentarité : A apparié avec T, C apparié avec G. cette complémentarité repose sur des raisons stériques (encombrement dans l'espace) et sur la

formation des liaisons hydrogène. Les liaisons hydrogènes sont formées par l'interaction entre un atome d'hydrogène et un autre atome dit électronégatif. Les liaisons hydrogènes sont au nombre de deux entre A et T et de trois entre C et G.

- **Hélicoïdale** : dans l'espace les deux chaînes présentent une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un axe imaginaire pour constituer une double hélice à rotation droite ou plus exceptionnellement à rotation gauche.

2.2. 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.

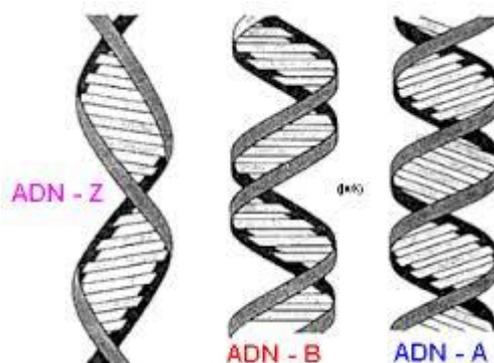
2.2.1. Les hélices droites

- 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.

2.2.2. Les hélices gauches

Découvert à la fin des années soixante-dix, l'ADN « gauche » ou ADN-Z

L'ADN Z forme une double hélice à rotation gauche avec un nombre de paires de bases par tour d'hélice de 12, la longueur d'hélice est plus important (4,5 nm) et le diamètre de l'hélice est plus petit 1,8 nm. Les bases sont enchainées avec une altération de conformation (*anti* et *syn*).



2.3. Propriétés physico-chimiques de l'ADN

Si on chauffe une solution d'ADN, à une certaine température (température de fusion), les liaisons hydrogène qui assurent la cohésion des deux brins appariés se rompent, les deux brins se séparent, on parle improprement de la fusion de l'ADN (dénaturation d'ADN). Cette dénaturation est cependant réversible dans certaines conditions, les deux brins peuvent se réassocier suivant les règles de complémentarité. La dénaturation de l'ADN s'accompagne de modifications physico-chimiques : augmentation de l'absorption dans l'UV, diminution de la viscosité et augmentation de la densité.

- **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**

L'hyperchromocité ou **effet hyperchrome** est la propriété des polymères biologiques, et en particulier l'ADN et l'ARN, de voir leur absorption dans l'UV augmenter lorsqu'ils subissent une dénaturation, c'est-à-dire une perte de leur structure secondaire¹. Cette propriété est couramment utilisée en biologie pour analyser par spectrophotométrie la structuration des acides nucléiques en fonction de paramètres physico-chimiques (température, pH, ions...)

2.4. 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.

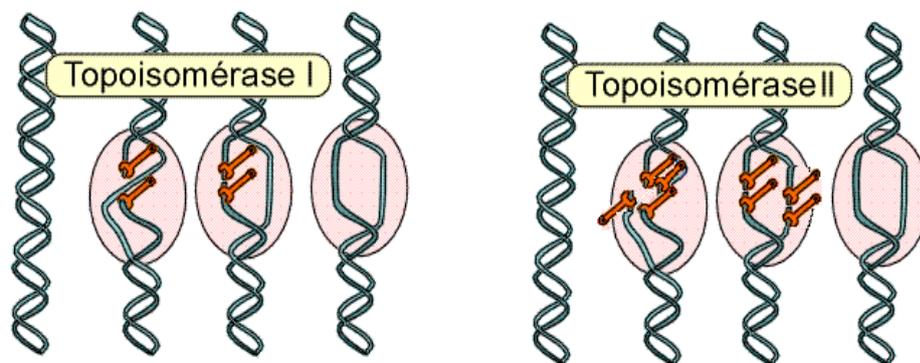


Fig.7 Modes d'action des topoisomérases sur la double hélice d'ADN

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 (surenroulement 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**

3. LES NUCLEOSOMES ET LES CHROMOSOMES

- Dans les cellules eucaryotes, la molécule d'ADN nucléaire est fortement associée à des protéines pour constituer la chromatine.
- L'image la plus classique est celle du collier de perles. La molécule d'ADN relie les «perles» qui sont des complexes protéines-ADN appelés nucléosomes.
- Le nucléosome contient environ 200 paire de bases d'ADN associées à des protéines appelées histones. Les histones sont des protéines de petit poids moléculaires riches en acides aminés basiques.
- Dans un nucléosome, elles sont au nombre de 8 avec deux exemplaires de chacune des histones : H2A H2B, H3 et H4. Au niveau d'un nucléosome, l'ADN (200 pb) est donc associée à un octamère (huit protéines) d'histone. L'histone H1 n'appartient pas au nucléosome, mais interviendrait dans le contact entre deux nucléosomes.

Un nucléosome est un ensemble de protéines, les histones, autour desquelles est enroulé un brin d'ADN. Le nucléosome est le premier niveau de compactage de l'ADN.

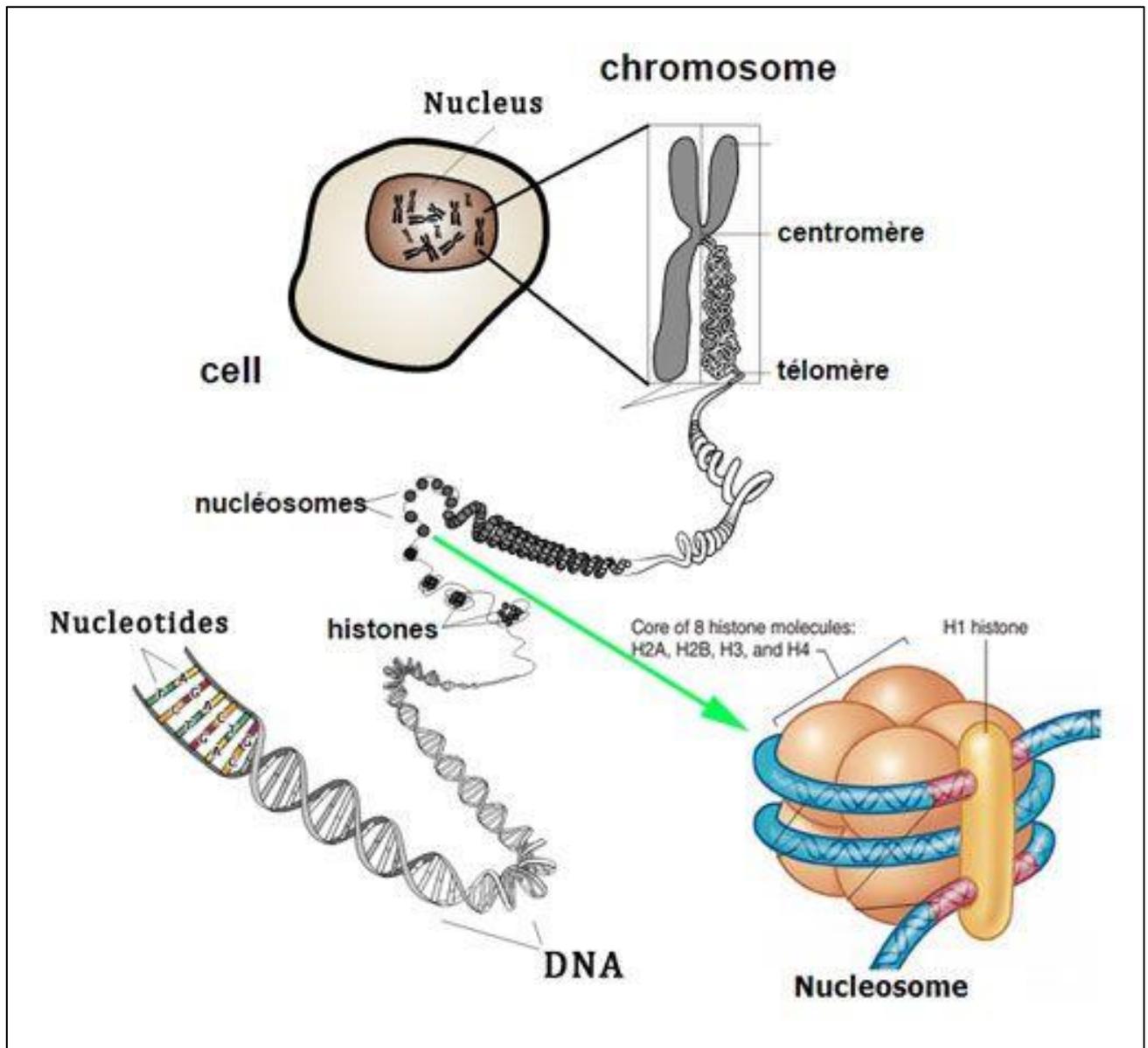


Fig.8. Organisation des chromosomes, structure des nucléosomes et des histones.

Rappel : Notion de gène

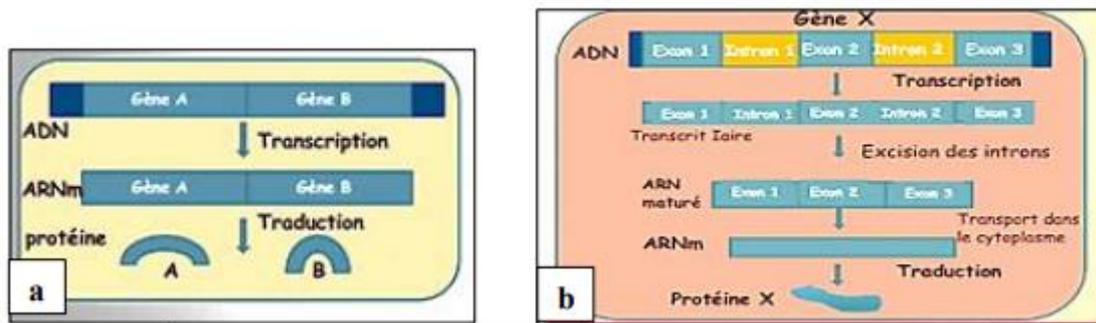
La molécule d'ADN est organisée en unités appelées gènes. Un gène est fait d'une succession de nucléotides. C'est un facteur transmissible qui détermine un caractère. Sur le plan fonctionnel, un gène est une séquence d'ADN avec une structure nécessaire à la synthèse d'un produit fonctionnel qui peut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

Notions de locus et d'allèles

Chaque gène occupe un emplacement particulier le long du chromosome. Cet emplacement est appelé locus (loci au pluriel). Les allèles sont les différentes formes que peut prendre un même gène à un locus donné. Exemple : pour le caractère « forme des grains chez le petit pois », lisse et ridé sont les deux allèles possibles du gène responsable de ce caractère.

L'organisation du gène

La plupart des gènes eucaryotes contiennent une alternance de régions codantes appelées exons et de régions non codantes appelées introns. Chez les procaryotes, toutes les régions d'un gène sont codantes.



a- information génétique continue chez les procaryotes

b- exons et introns chez les eucaryotes