

Année 20256– 2027

Licence Science pour la Santé

UE BASES EN SCIENCES DE LA VIE

Biologie Moléculaire

Hubert Lincet

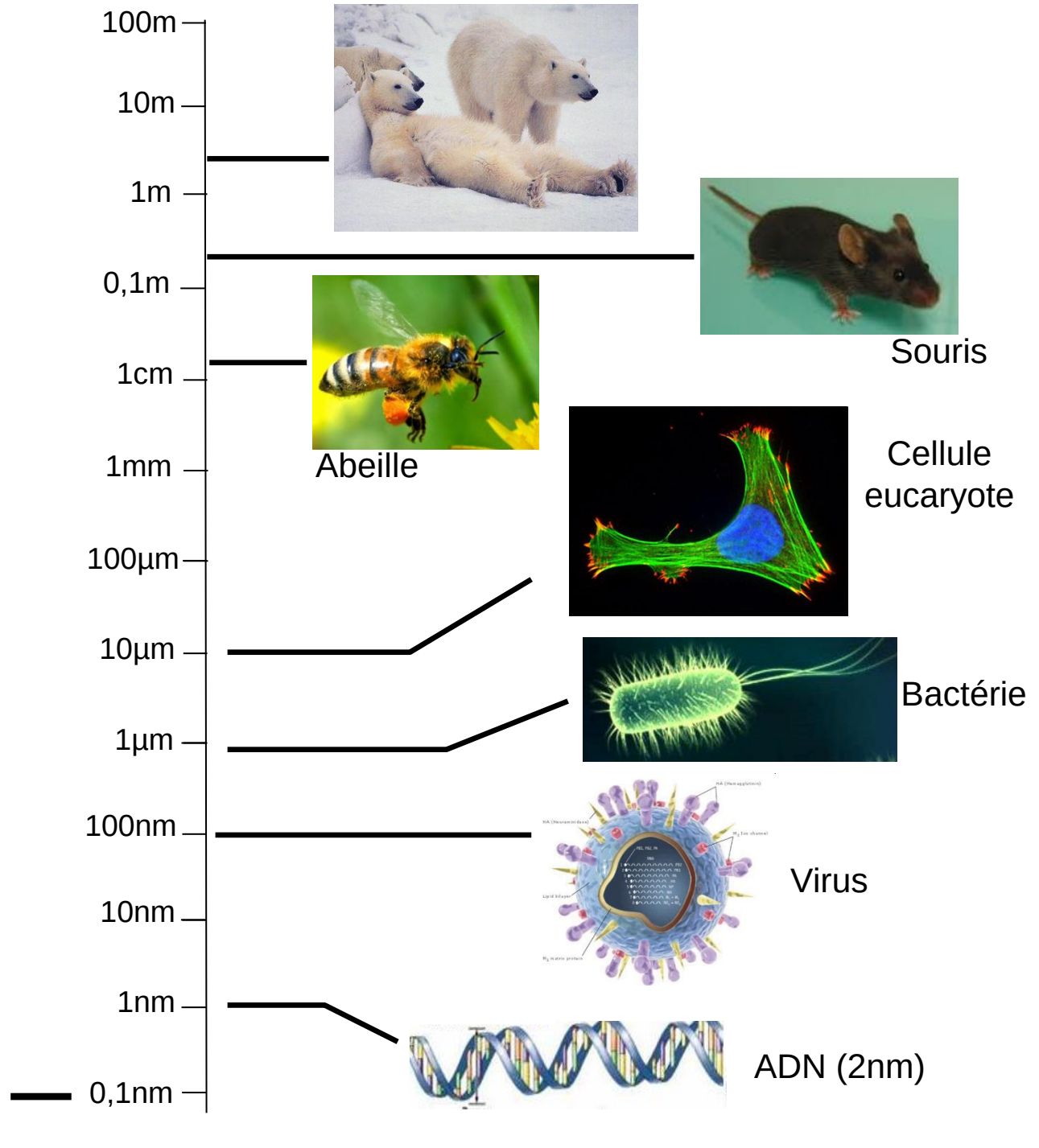
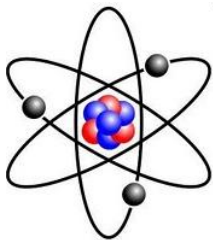
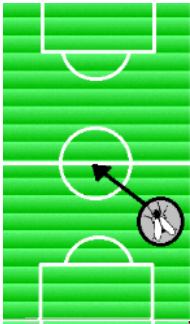
hubert.lincet@univ-lyon1.fr



Microscopie électronique

Microscopie optique

Oeil





Un seul génome...

...plusieurs protéomes !



23 paires
de chromosomes
 $3 \cdot 10^9$ nucléotides

**ADN:
information**

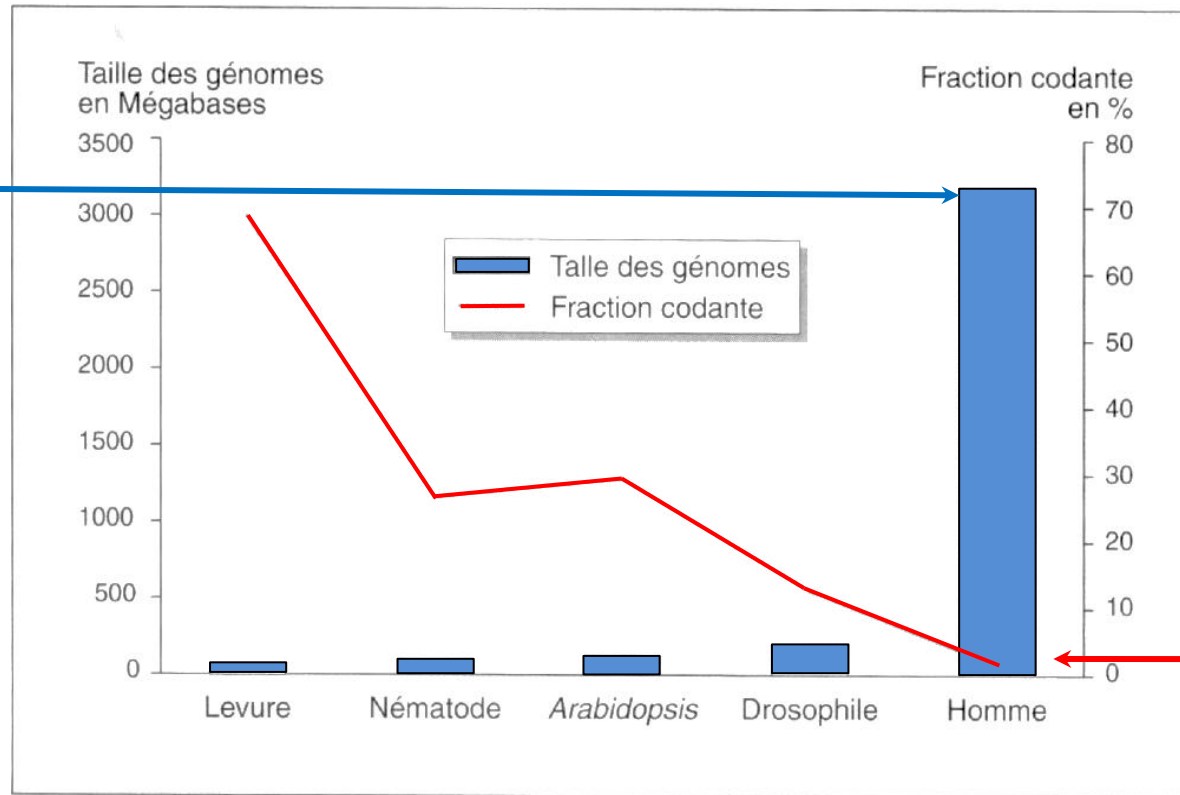
Réplication

Transcription

**ARN:
messager**

Traduction

**Protéines:
effecteur**

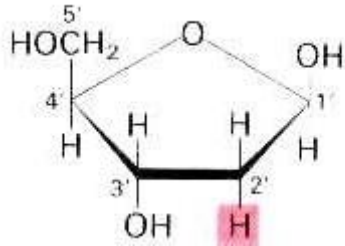


1 à 3% de séq.
codantes

Les composants

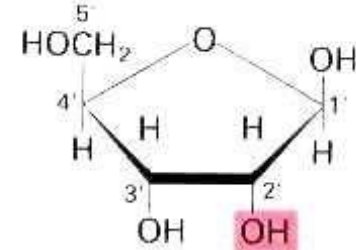
ADN

- Groupe sucre



2-Déoxyribose

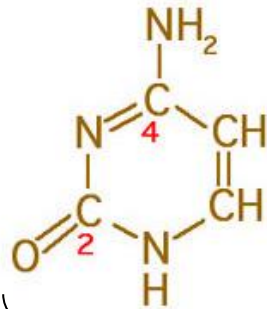
ARN



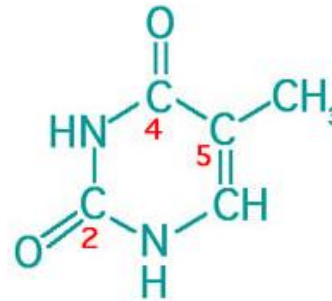
β -D-Ribose

- Bases :

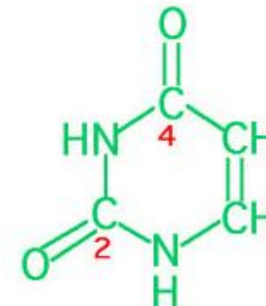
Cytosine



Thymine

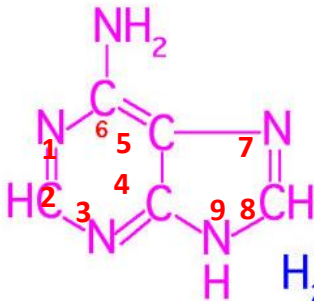


Uracile

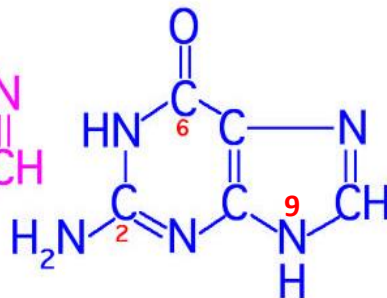


Purines

Pyrimidiques

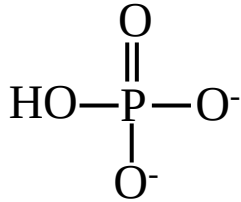


Adénine



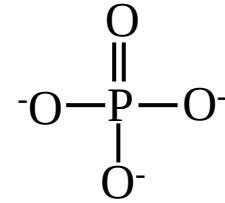
Guanine

- **Groupe phosphate**



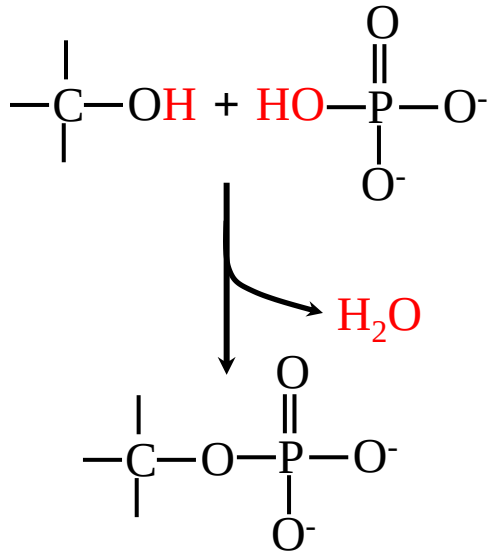
Acide phosphorique

Les phosphates

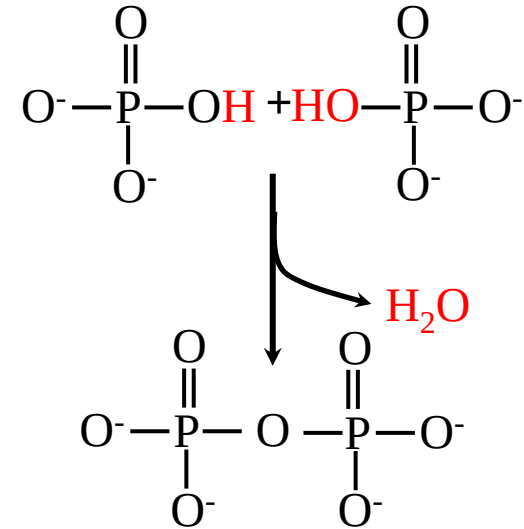


Phosphate inorganique: Pi

Les liaisons



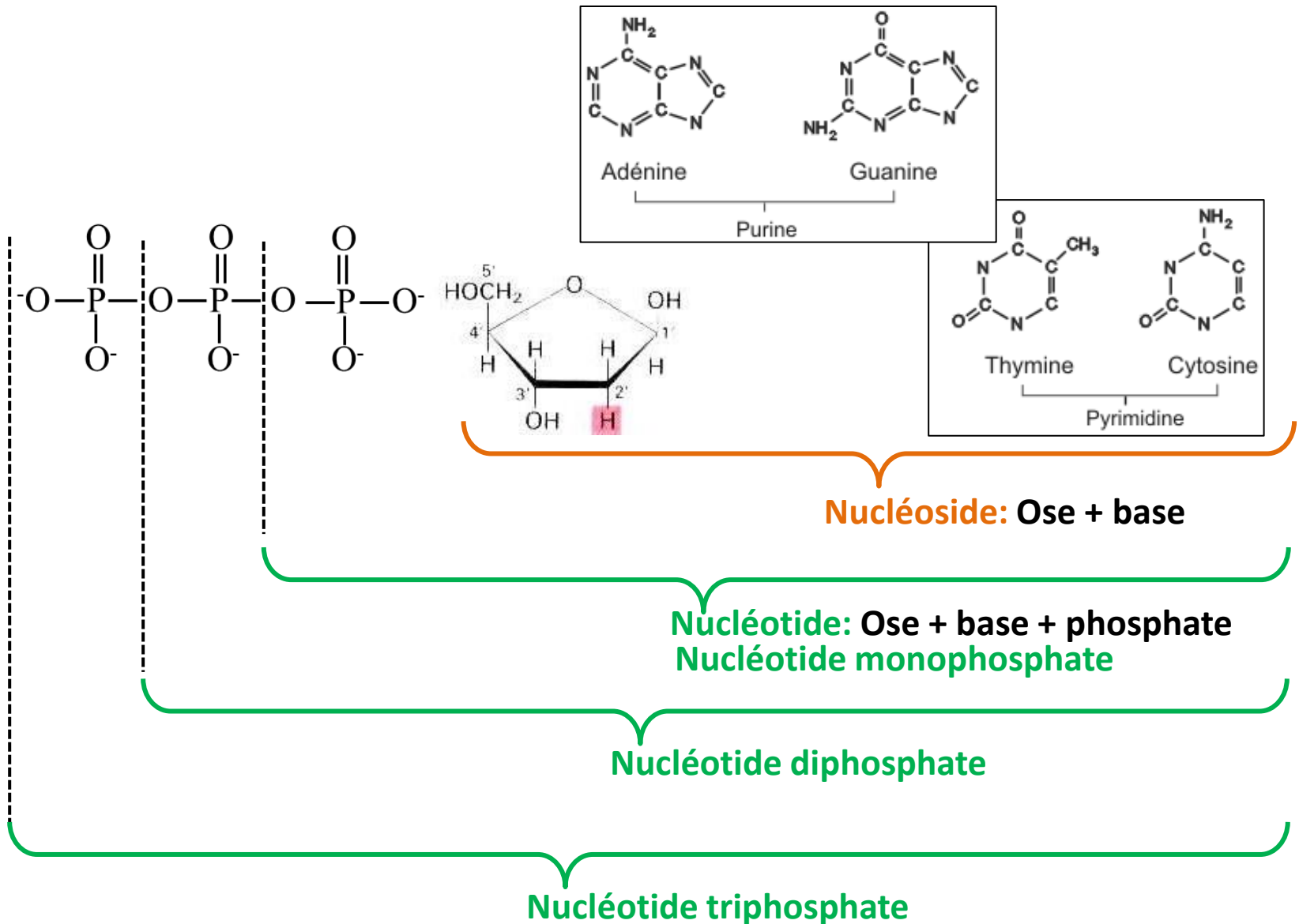
Liaison ester: Alcool + acide phosphorique

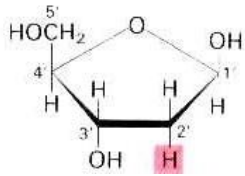


Liaison anhydride d'acides: acide + acide

Liaison pyrophosphate

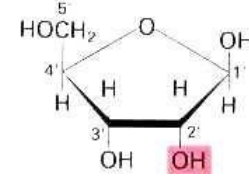
Composition acides nucléiques





2-Déoxyribose

Pentose



β-D-Ribose

+

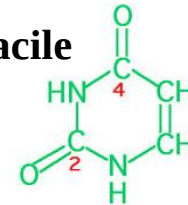


Thymine

Bases

Adénine, Guanine, Cytosine

Uracile



Nucléosides

+

Phosphates



Nucléotides

désoxyAdénosine MonoPhosphate: dAMP; (dADP, dATP)
 désoxyGuanosine MonoPhosphate: dGMP; (dGDP, dGTP)
 désoxyCytidine MonoPhosphate: dCMP; (dCDP, dCTP)
 désoxy**Thymidine** MonoPhosphate: dTMP; (dTDP, dTTP)

Adénosine MonoPhosphate: AMP; (ADP, ATP)
 Guanosine MonoPhosphate: GMP; (GDP, GTP)
 Cytidine MonoPhosphate: CMP; (CDP, CTP)
Uridine MonoPhosphate: UMP; (UDP, UTP)

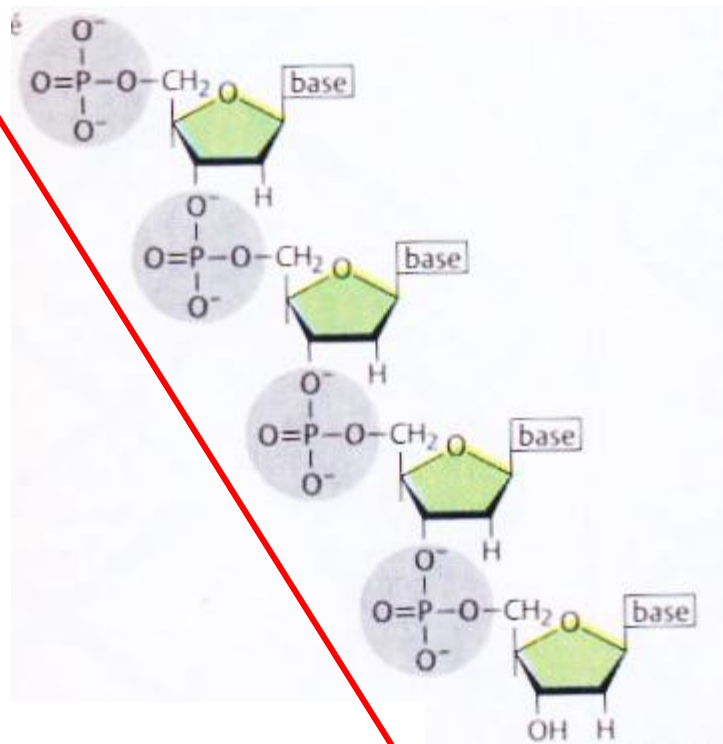
ADN

ARN



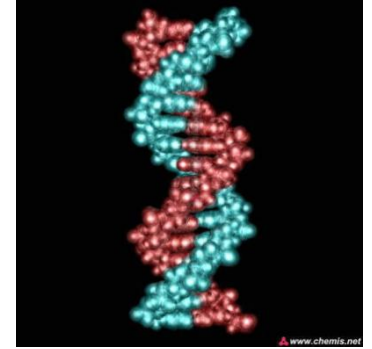
Formation de la chaîne d'acide nucléiques

Extrémité 5'
Phosphate



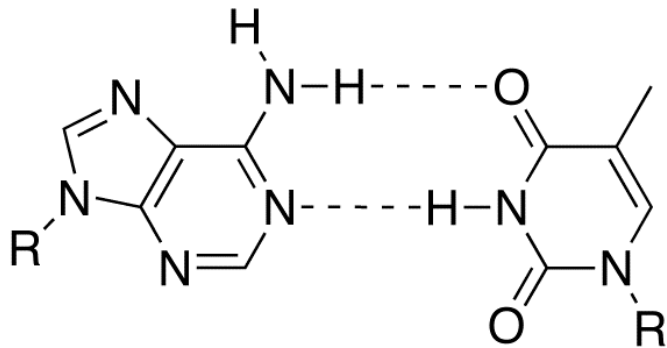
Extrémité 3'
OH

Caractéristique de l'ADN



- Désoxyribose et ses bases
- Polymères de nucléotides **bicaténaire ET antiparallèle ET complémentaire**

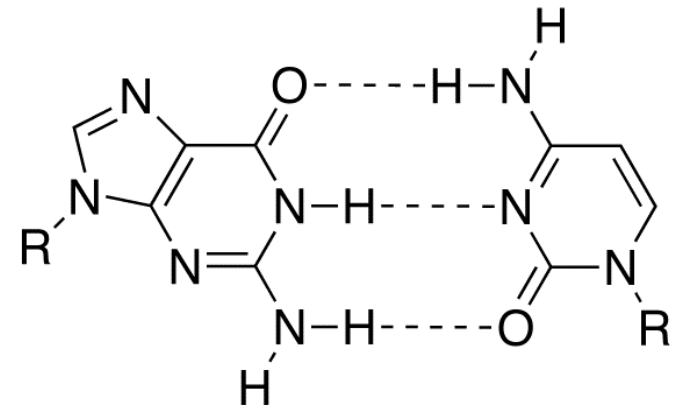
Appariement des bases 2 à 2



Adénine

Thymine

-21 kJ



Guanine

Cytosine

-63 kJ

Différences entre procaryotes et eucaryotes

- **Forme**

- Linéaire (chromosomes eucaryotes)
- Circulaire (génome procaryote, mitochondries ou chloroplastes eucaryotes)

- **Localisation**

Séparé ou non du cytoplasme par une membrane nucléaire (noyau chez les eucaryotes)

- **Séquences des génomes différentes**

Topoisomérases

- Enzymes modifiant le nombre d'enlacements
- Topoisomérase I
- Topoisomérase II

Caractéristiques physico-chimique

Absorbance

DO à 260 nm

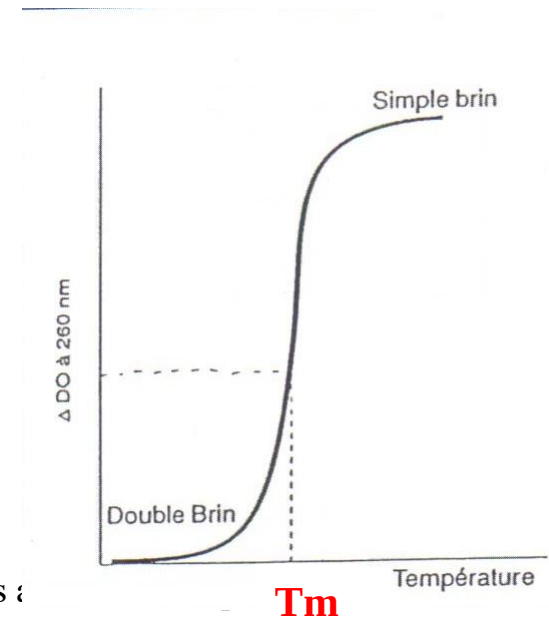
Dénaturation de l'ADN

Phénomène réversible

Rupture double brin : chaleur, urée

T_m: 50%

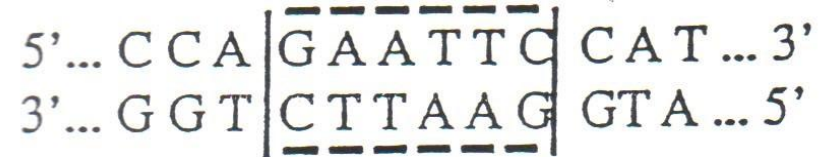
Hybridation: complémentaire et antiparallèle (Cf Technique d'études des :



Particularités de l'ADN

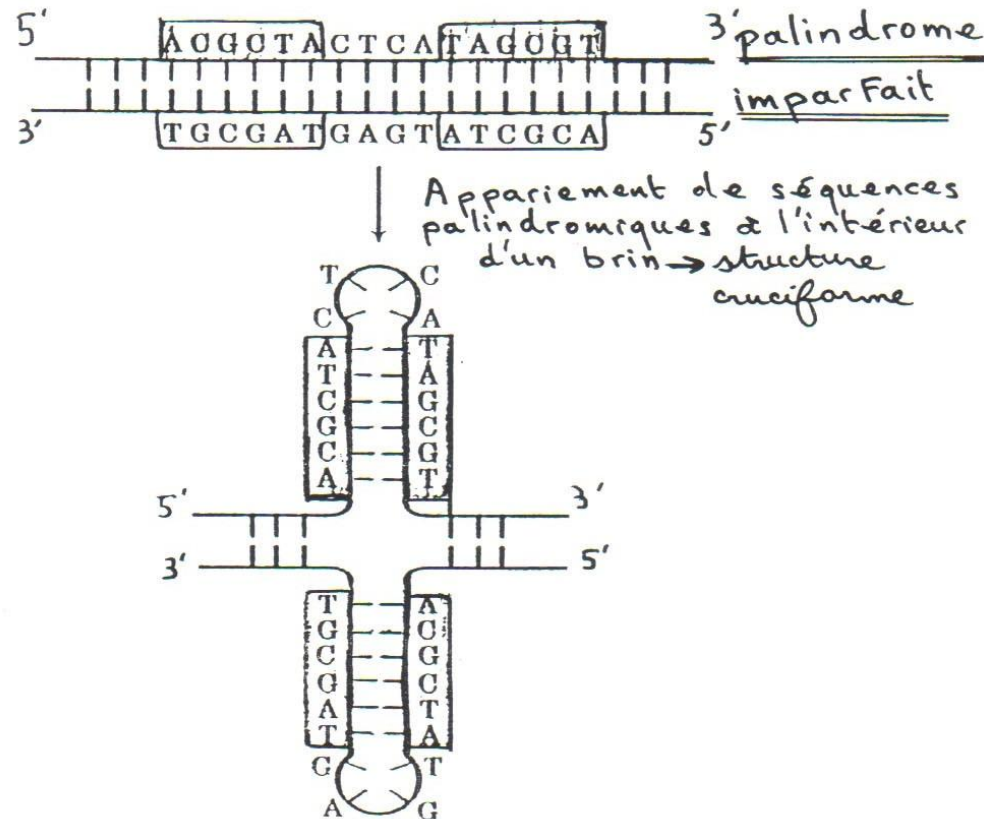
Palindromes : → Séquence pouvant être lue dans le sens 5' → 3' du brin 1 ou 5' → 3' du brin 2

Rotor, Laval



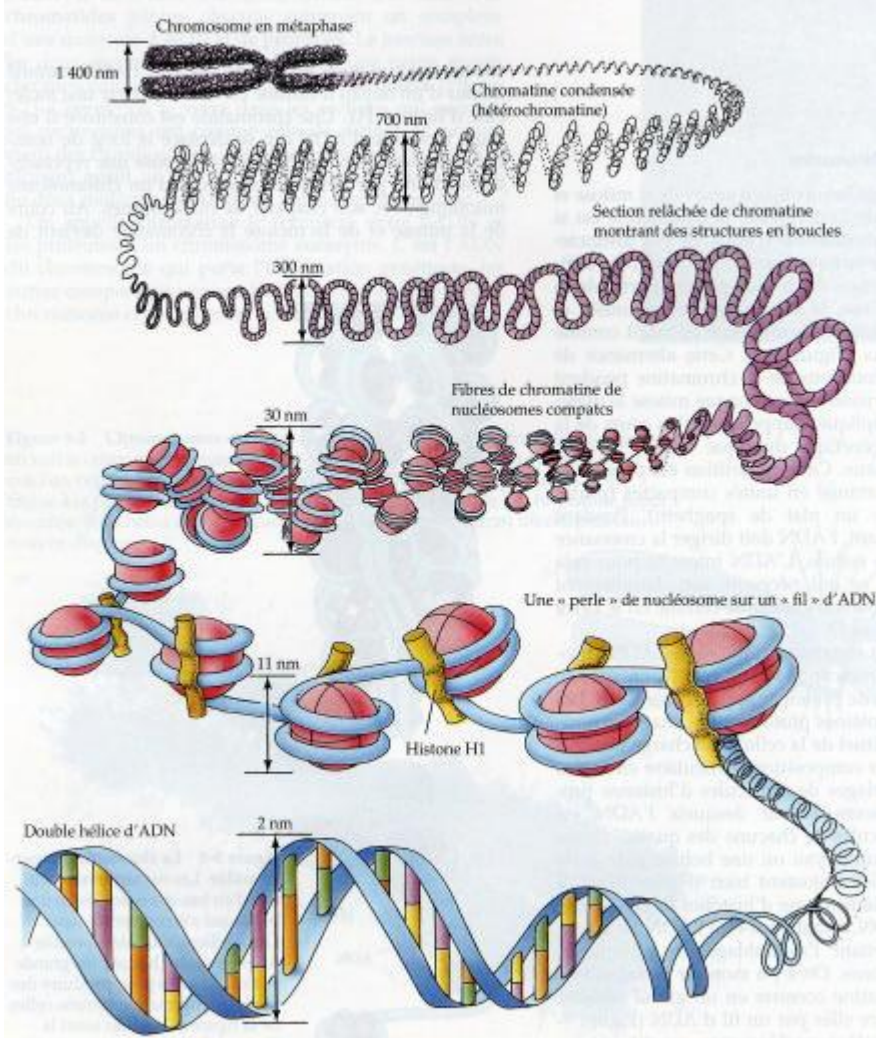
Palindrome imparfait « élu par cette crapule »

séquence palindromique – séquence non palindromique – séquence palindromique



L'ADN constituant des chromosomes

Figure 9-5 Niveaux d'empaquetage de l'ADN Schéma montrant comment l'ADN est « emballé » dans un chromosome en métaphase.



3.10^9 paires de bases par génome haploïde



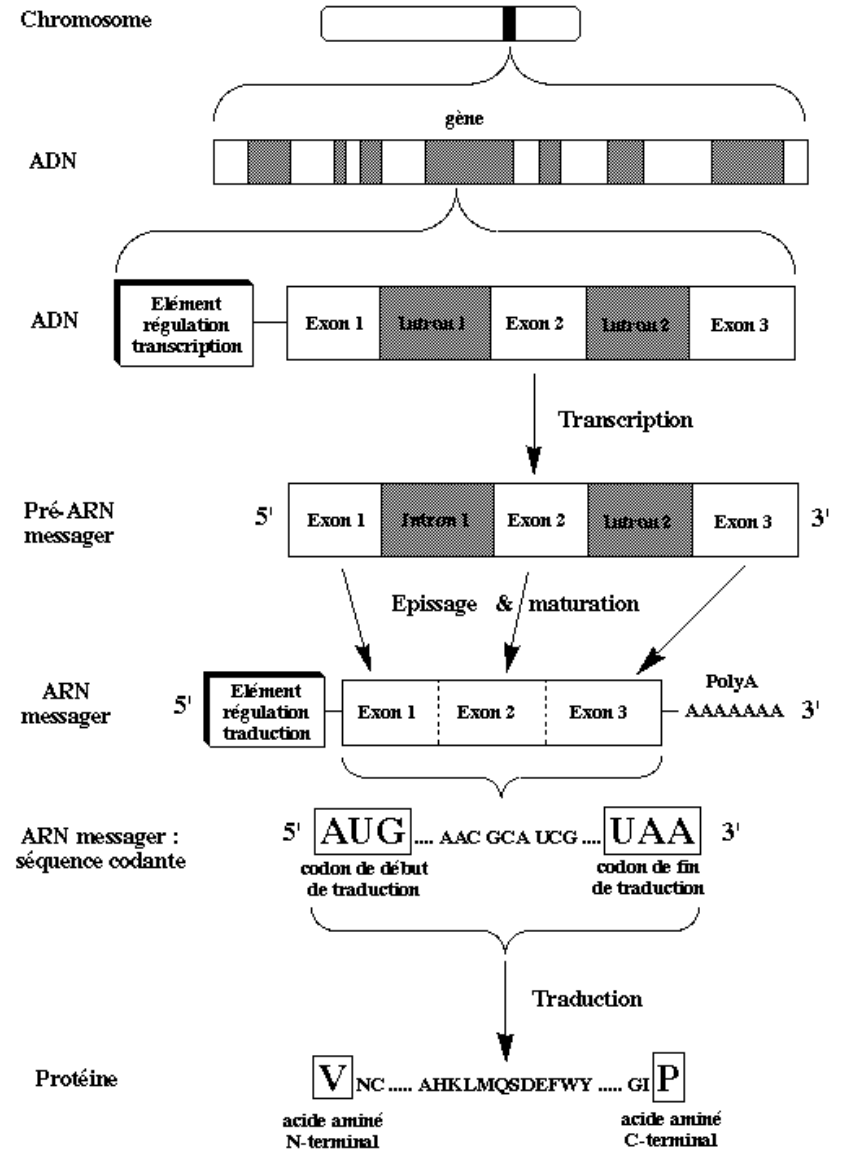
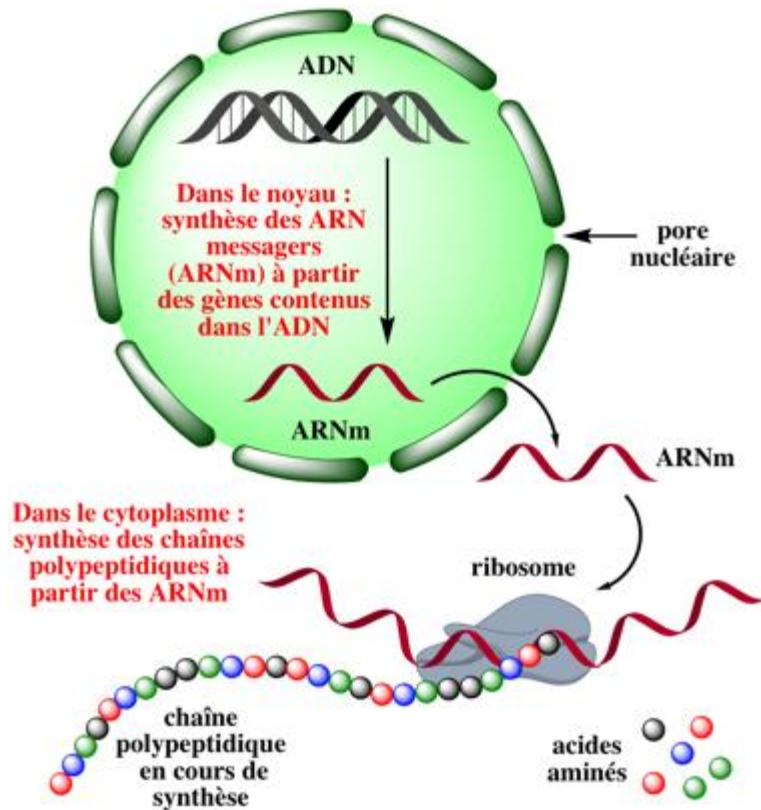
1 à 1,5 m si non compacté



Noyau 5 à 10 μm

Compactage

Du chromosome à la protéine



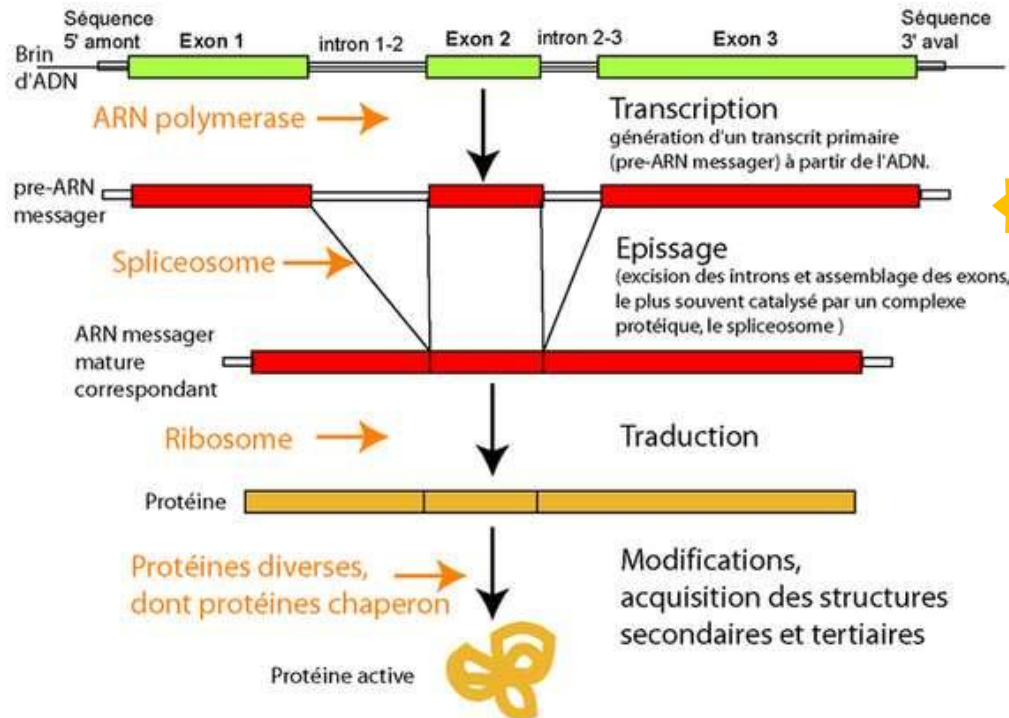
Les gènes

Séquence d'ADN :

- taille variable
- informations qualitatives et quantitatives : ARNm (1 ou plus)
- protéine(s) : effecteur(s) biologique(s)

Séquences codantes pour des protéines = 1 à 3% de notre génome
20 à 23 000 gènes dans le génome humain

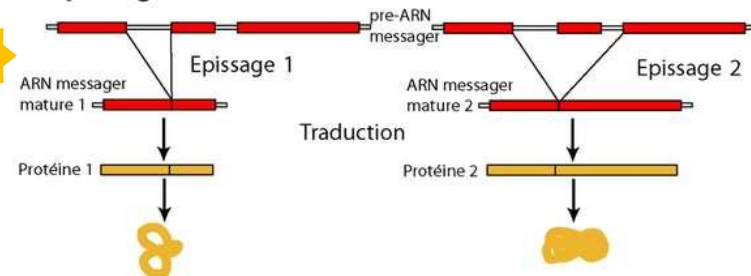
Schéma simplifié de la transcription, l'épissage et la traduction d'un gène



Non codant $\neq$ pas important

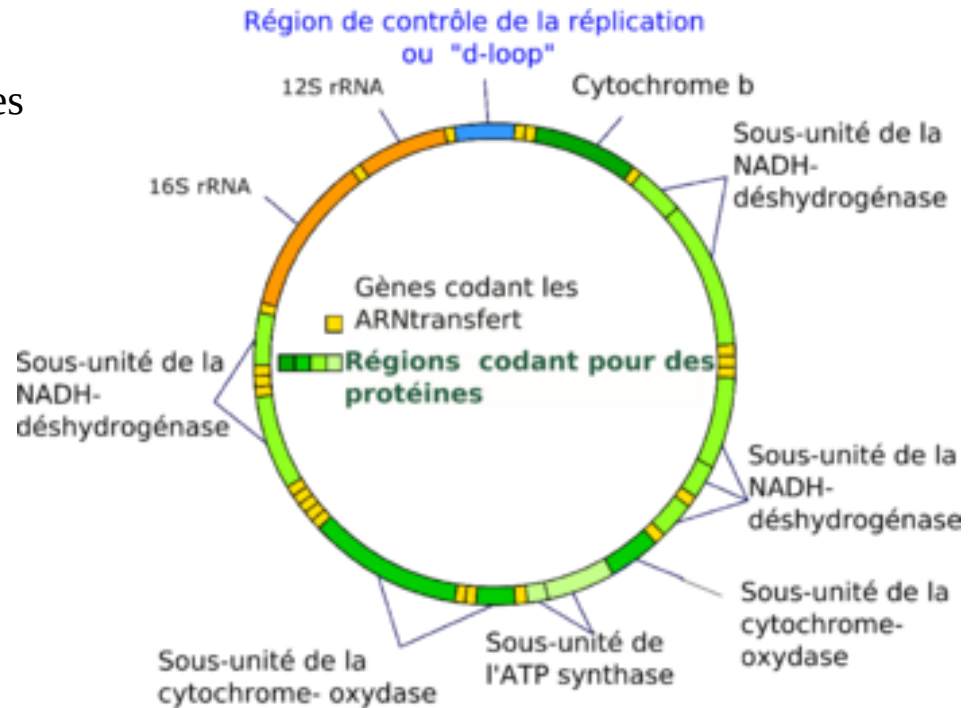
ou

L'épissage alternatif



ADN mitochondrial humain

- organites dans le cytoplasme des cellules eucaryotes
- ADN db, circulaire, 16 659 pb
- ARNr, ARNt et ARNm mitochondriaux
- Pas d'introns
- Code génétique légèrement différent
- Hérité de type cytoplasmique (maternel)



Les ARN

- Différents ARN

– ARNr	82 %
– ARNt	16 %
– ARNm	2 %
– ARNsn	< 1%

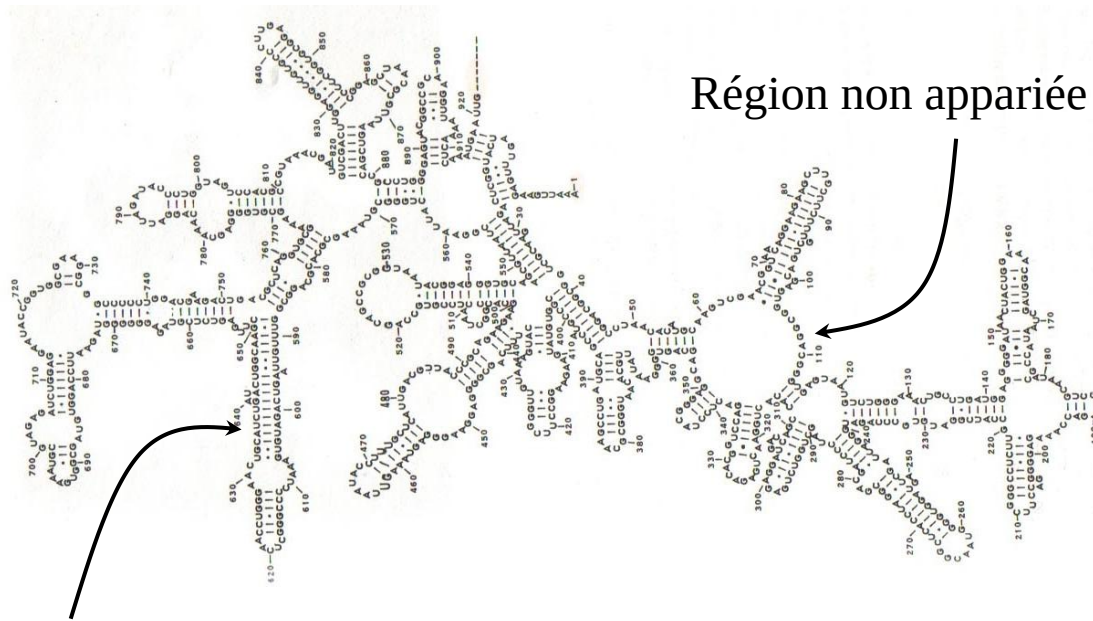
- Complémentarité

A/U (2 l. hydrogène)

G/C (3 l. hydrogène)

G/U possible mais – stable (2 l. hydrogène)

ARNr

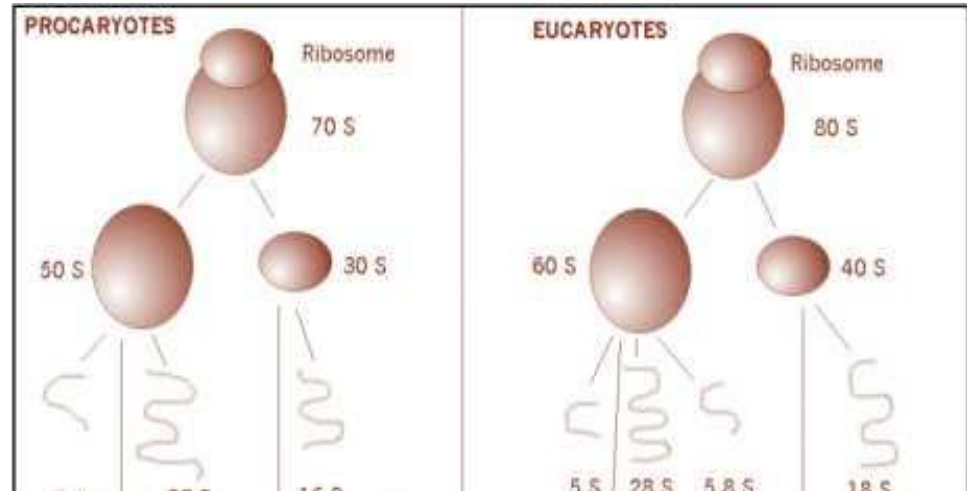


Région non appariée (monocaténaire)

Région en épingle à cheveu

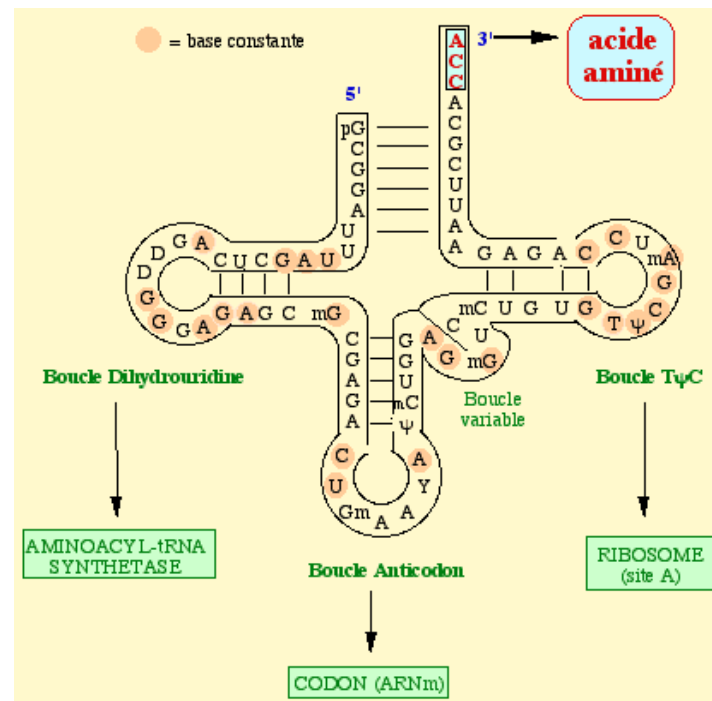
ARN_r

- Constituants des ribosomes (synthèse protéique)



ARN_t

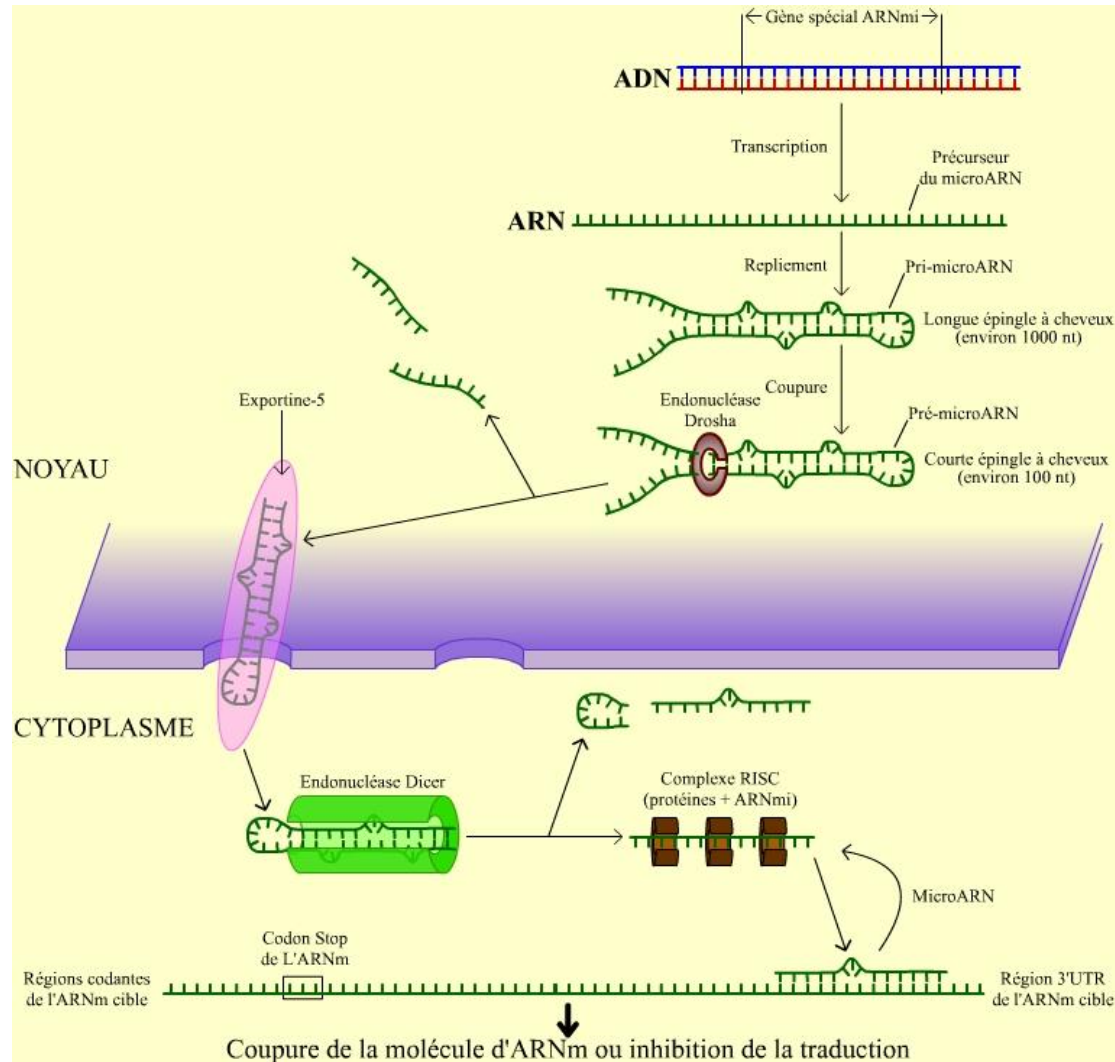
- Transporte et transfère AcA du cytoplasme vers ribosome



ARNsn Ex: ARN splicéosomal U4

Rôle dans mécanismes nucléaires dont l'épissage

miARN et siARN Rôle dans stabilité et traduction des ARNm



miARN

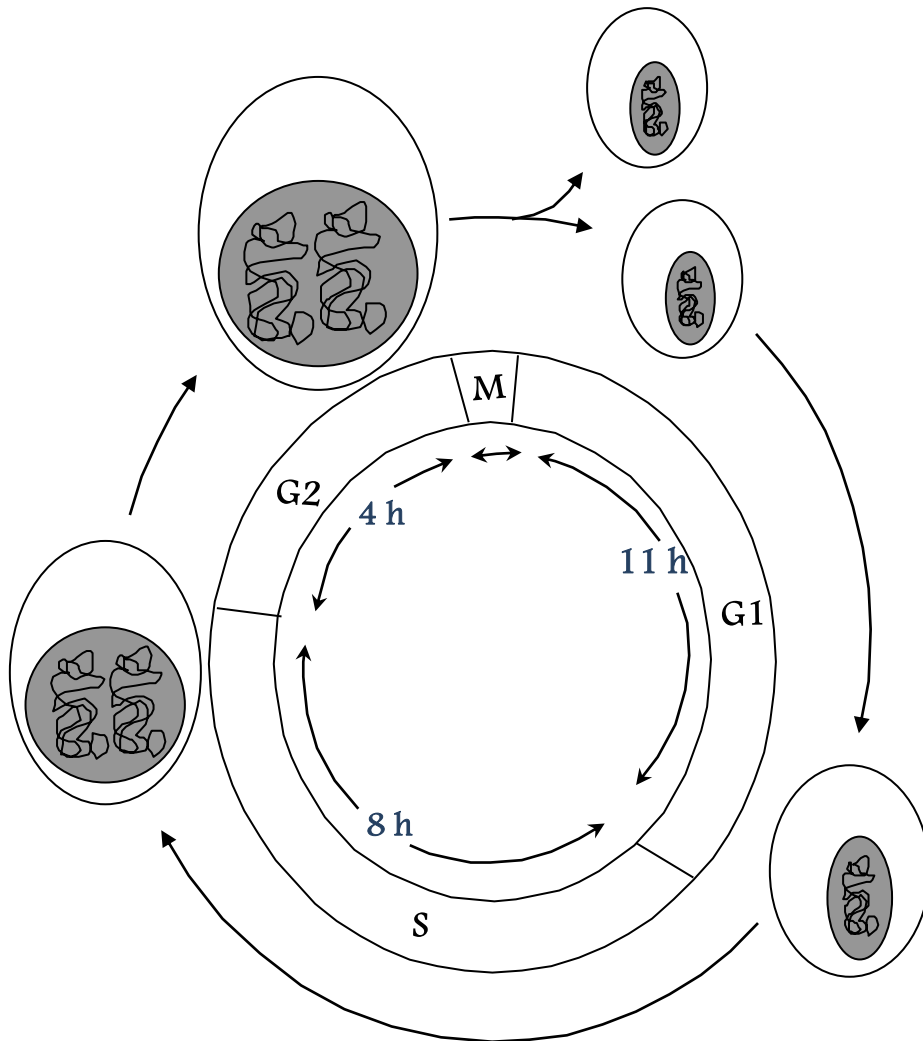
La réplication de l'ADN

Réplication:

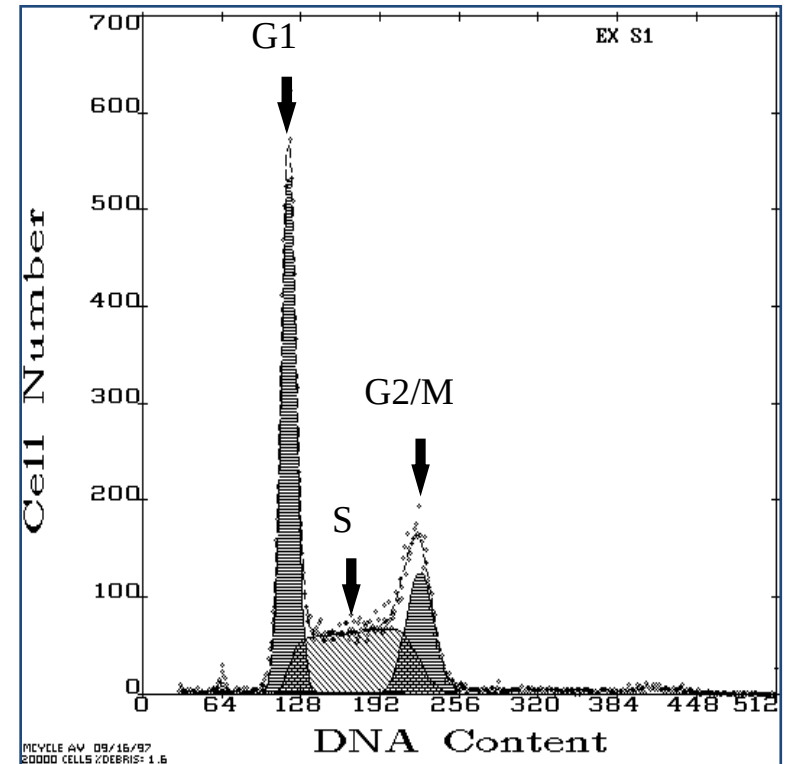
Synthèse d'ADN reproduisant exactement le génome d'une cellule au cours du cycle cellulaire

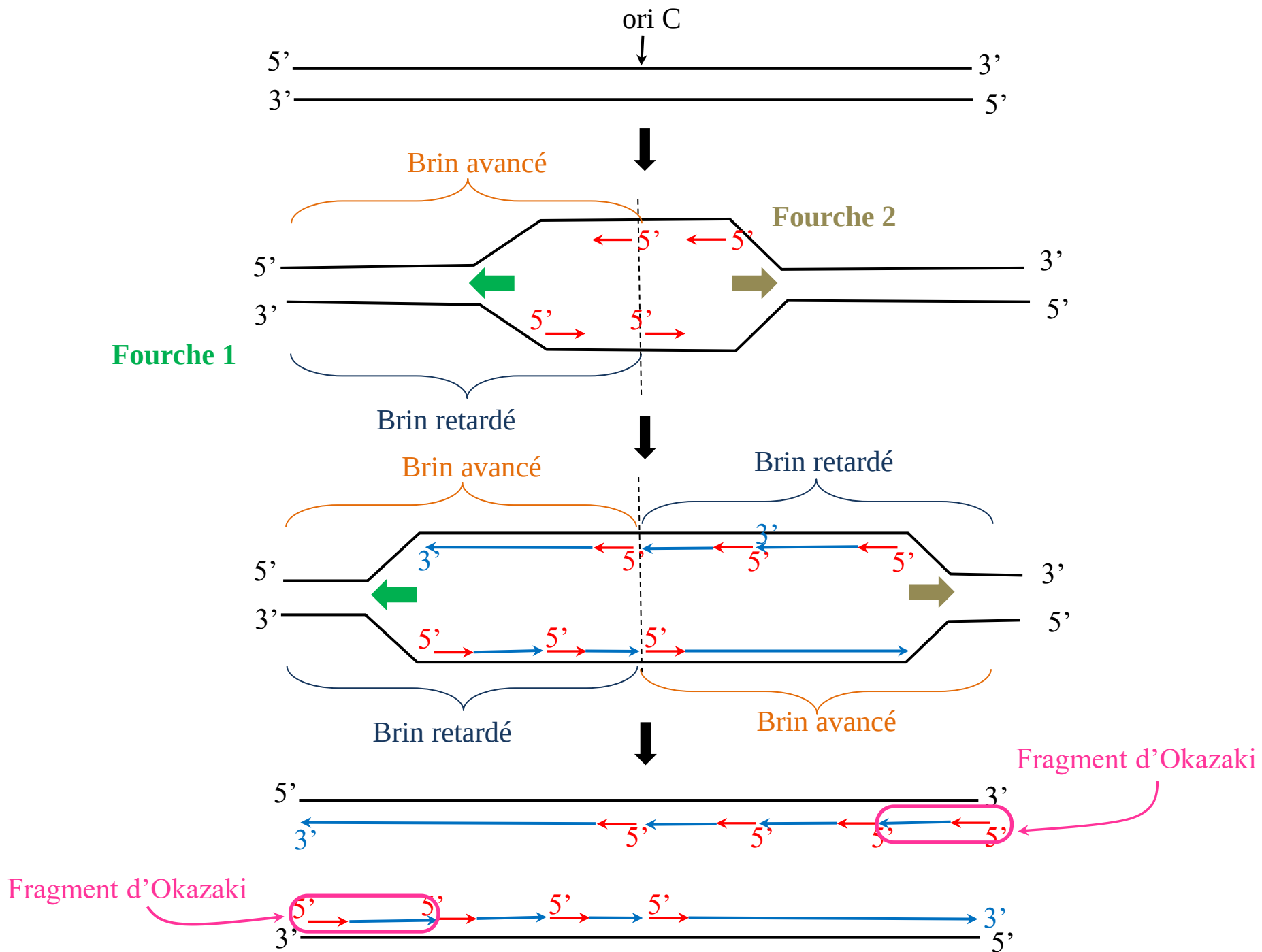
Rappel cycle cellulaire

Les différentes phases du cycle cellulaire

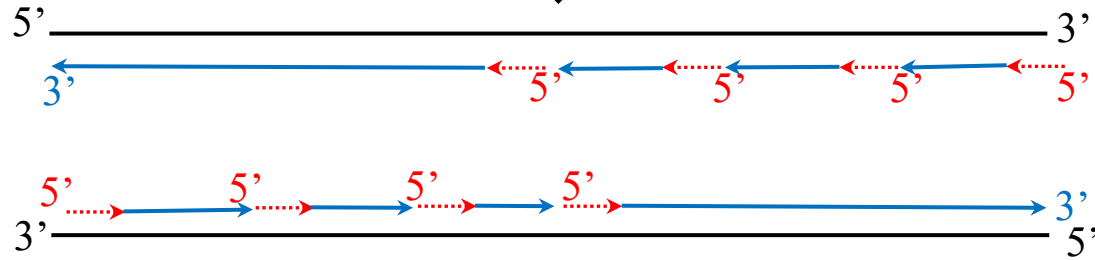


Contenu en ADN au cours
du cycle cellulaire

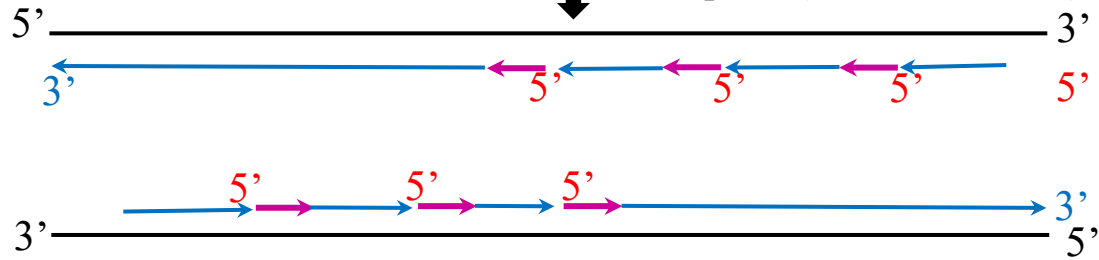




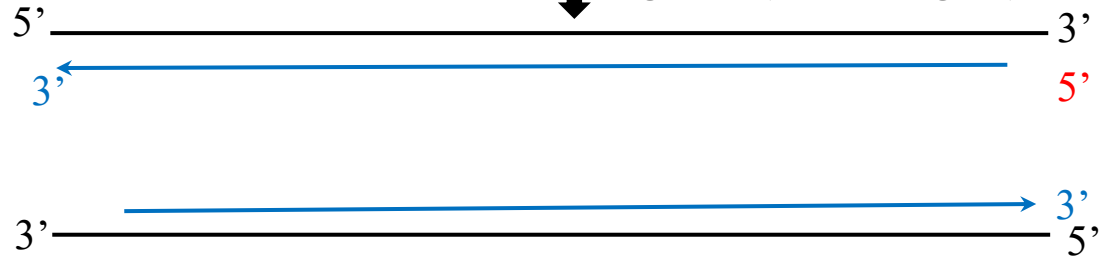
↓ Action RNase H et ADN pol I



↓ ADN pol I (activité 5' → 3')



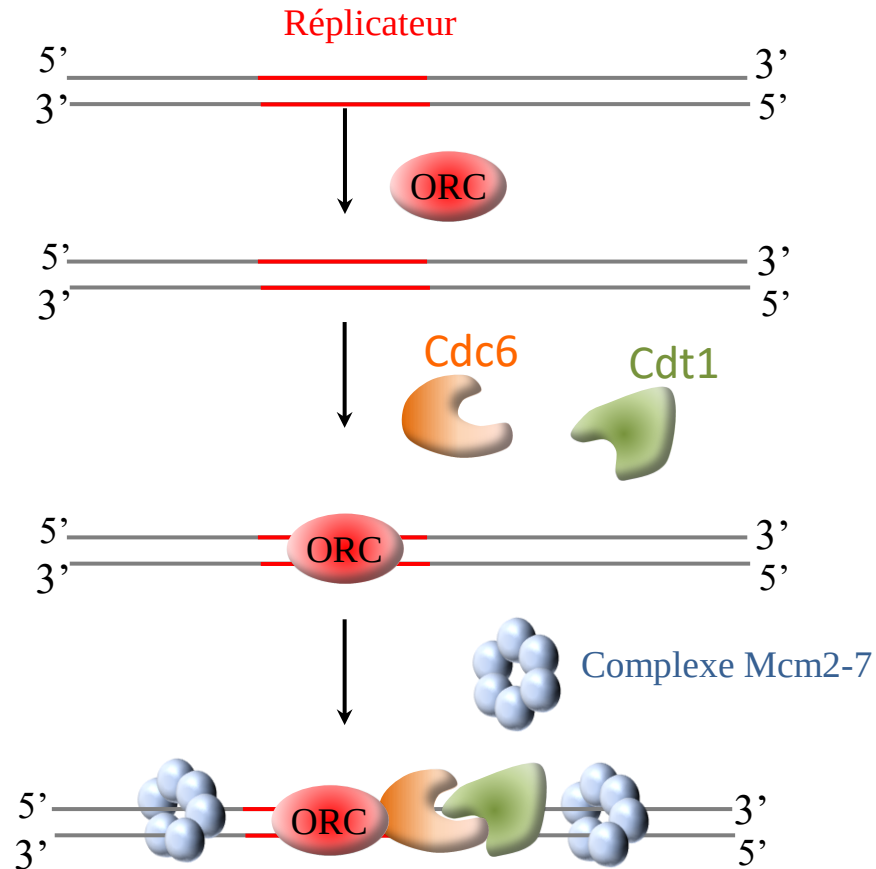
↓ Ligation (activité ligase)



Chez les Eucaryotes

- Similitude avec procaryotes
- Origine de réplication nombreuses

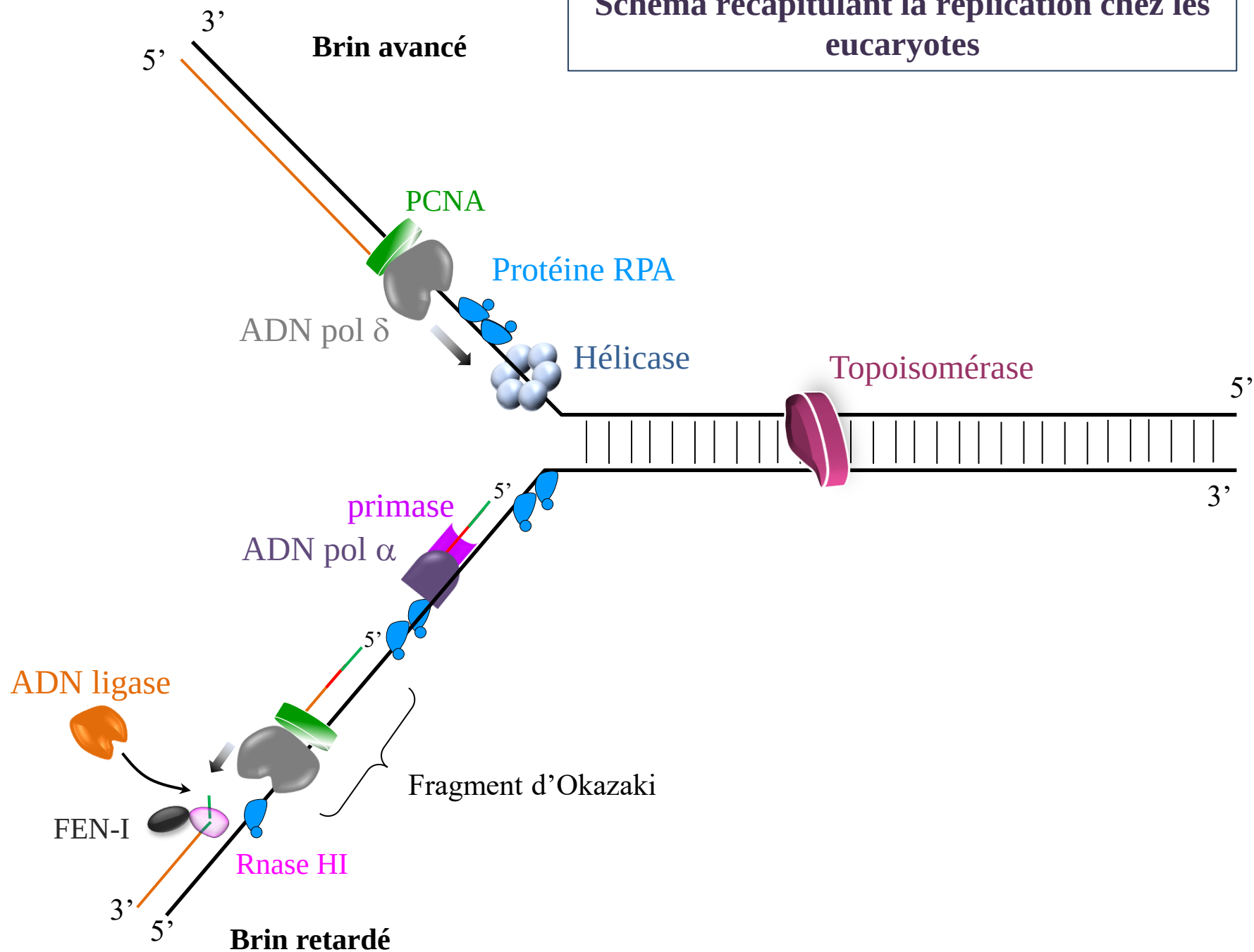
→ Réplicons : unité de réplication (100 – 200 Kpb)



Les principales ADN polymérases chez eucaryotes: α , β , δ , γ , ε

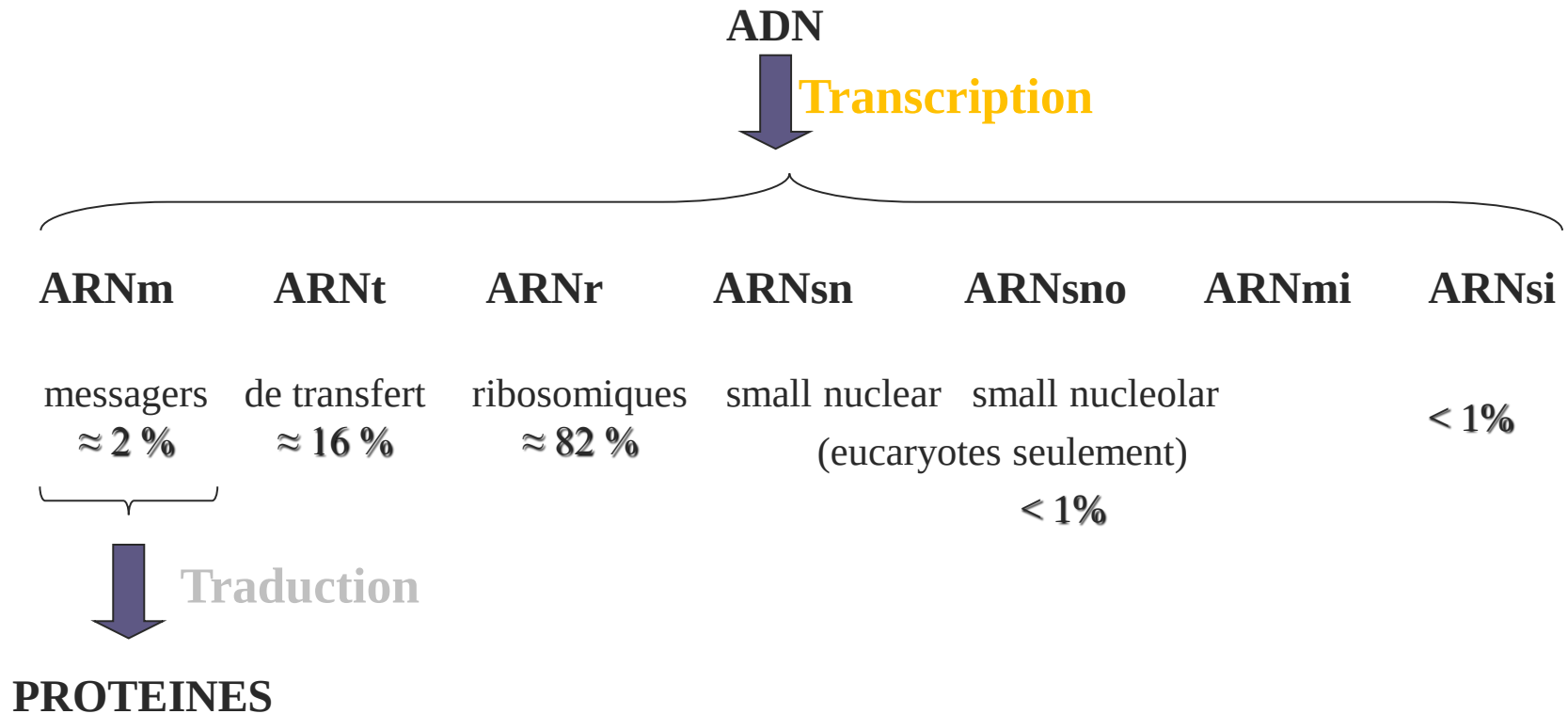
ADN polymérase	localisation	fonction	activité	(Chez procaryote)
α	Noyau	initiation	Primase	ADN pol. I
β	Noyau	réparation finition	-	
δ	Noyau	synthèse finition	$3' \rightarrow 5'$	ADN pol III
ε	Noyau	synthèse réparation	$3' \rightarrow 5'$	ADN pol II
γ	Mito	synthèse réparation	$3' \rightarrow 5'$	

Schéma récapitulant la réplication chez les eucaryotes



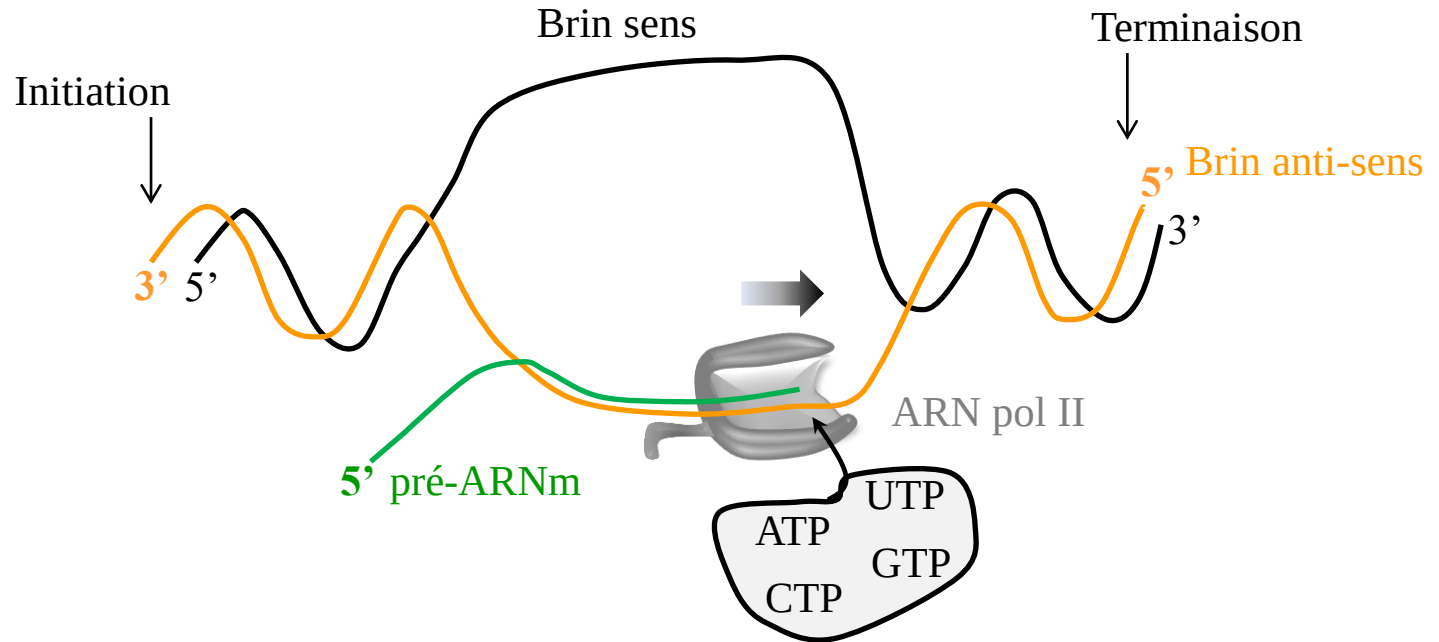
La transcription

- Gène lu par une ARN polymérase ADN dépendante pour obtenir un acide ribonucléique dont la structure primaire est celle du brin « sens du gène



ARN polymérase ADN-dépendante

ARN polymérase I, II, III et IV



Elongation: $5' \rightarrow 3'$, anti-parallèle au brin matrice et complémentaire

Pas besoin d'amorce

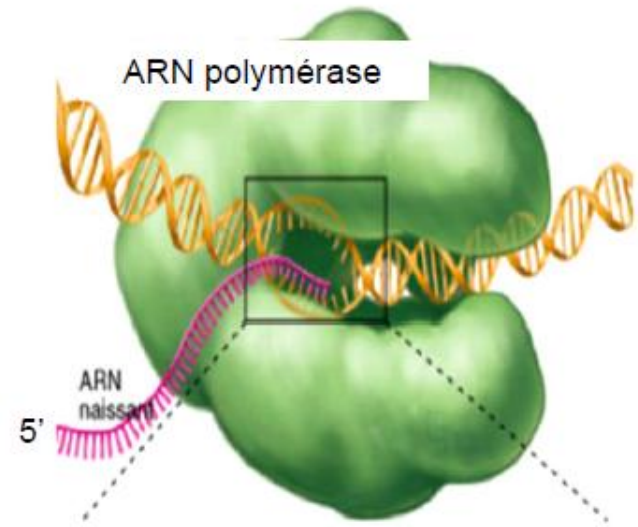
Matrice: les deux brins

2. Phase d'élongation

Ouverture de l'ADN db (modification des histones)

Lecture du brin anti-sens

Réappariement pour reformer ADN db



D'après Pollard and Earnshaw, 2008

3. Phase de terminaison

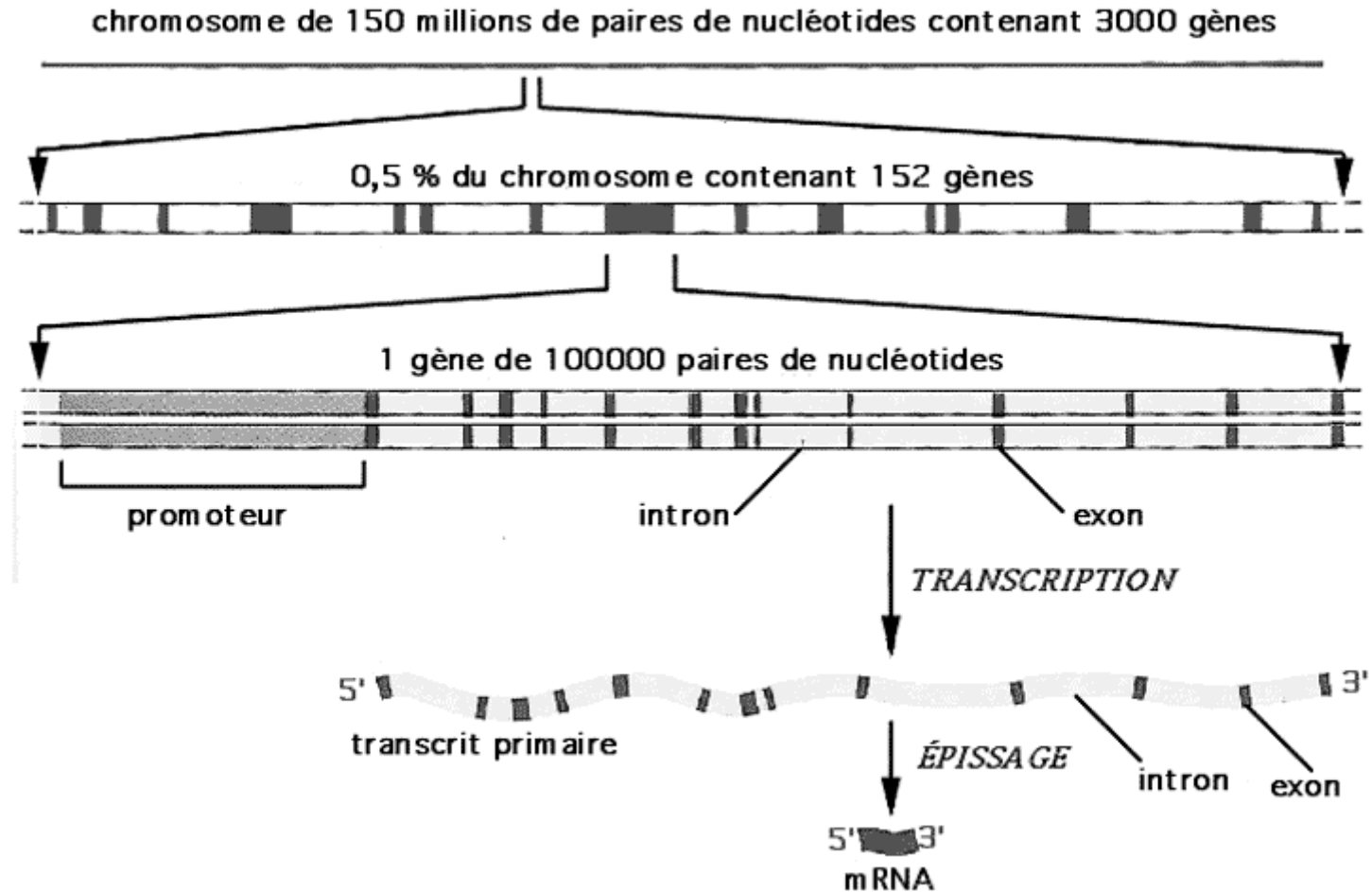
Processus dépendant de l'ARN polymérase

ARN pol I: facteur protéique

ARN pol III: séquences riches en U

ARN pol II: maturation des ARNm (1000nts non traduits)

Répartition des gènes sur un chromosome



Processus de maturation

- Noyau
- Extrémités 5' et 3': modifications covalentes

En 5': Coiffe Me-G-ppp-5'

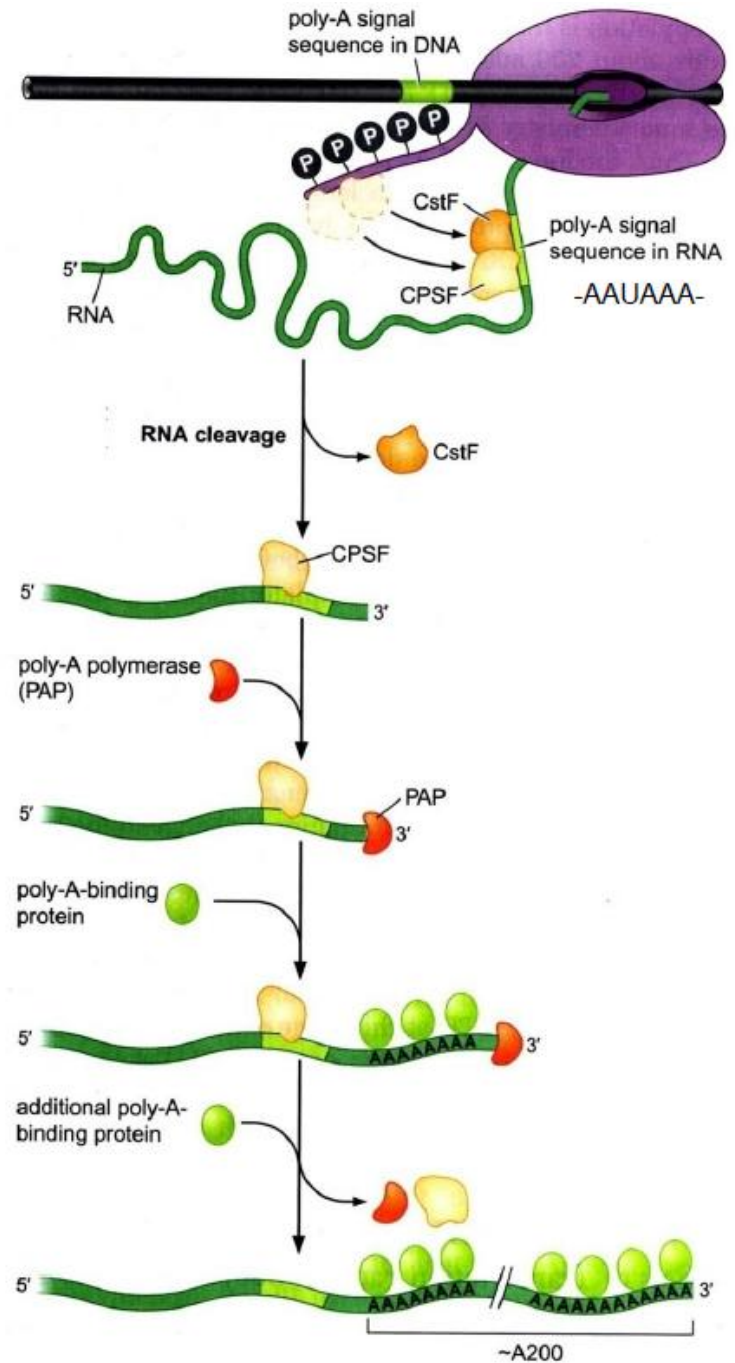
En 3': Queue poly-A: 3'-(AAAA)_n 500<n<2000

- Edition: Changement d'un « C » en « U » CAA→UAA

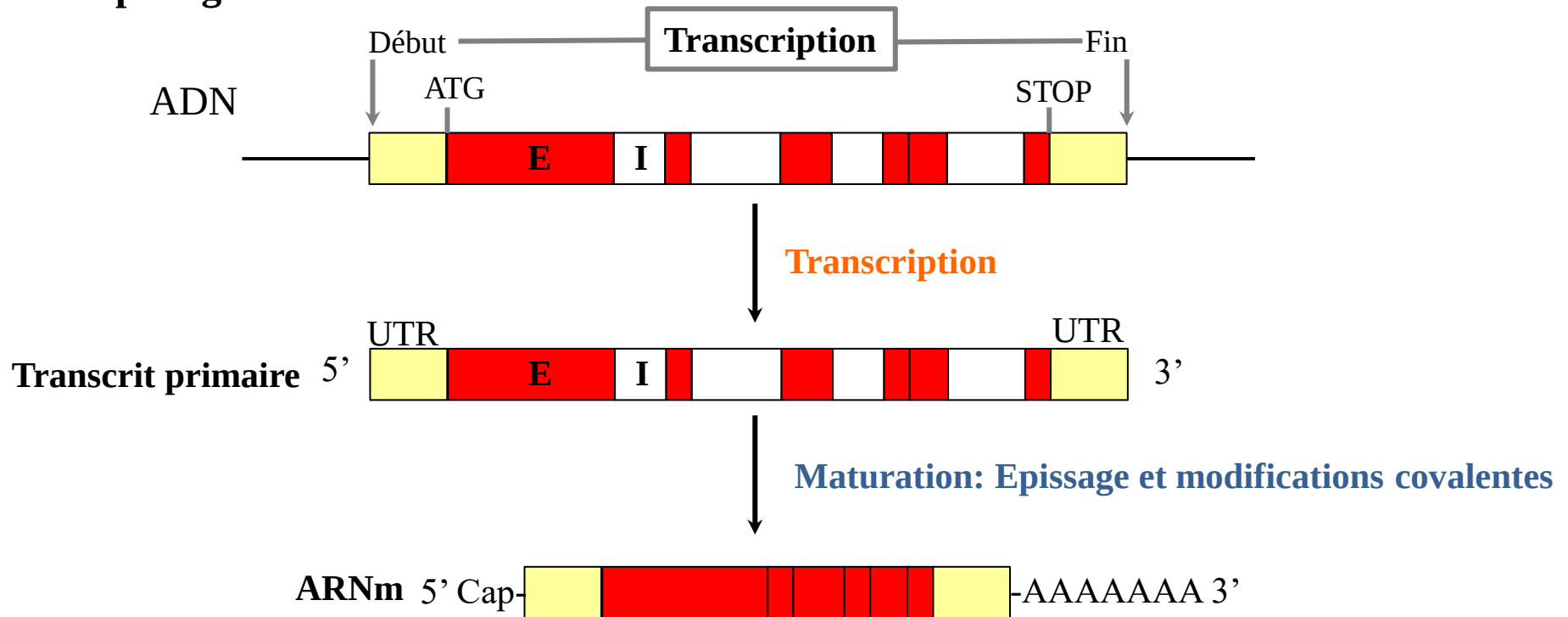
- Excision: Conservation que des exons

Exon: Partie de la séquence d'un gène transcrite et conservée dans la structure de l'acide ribonucléique messenger jusqu'à la traduction

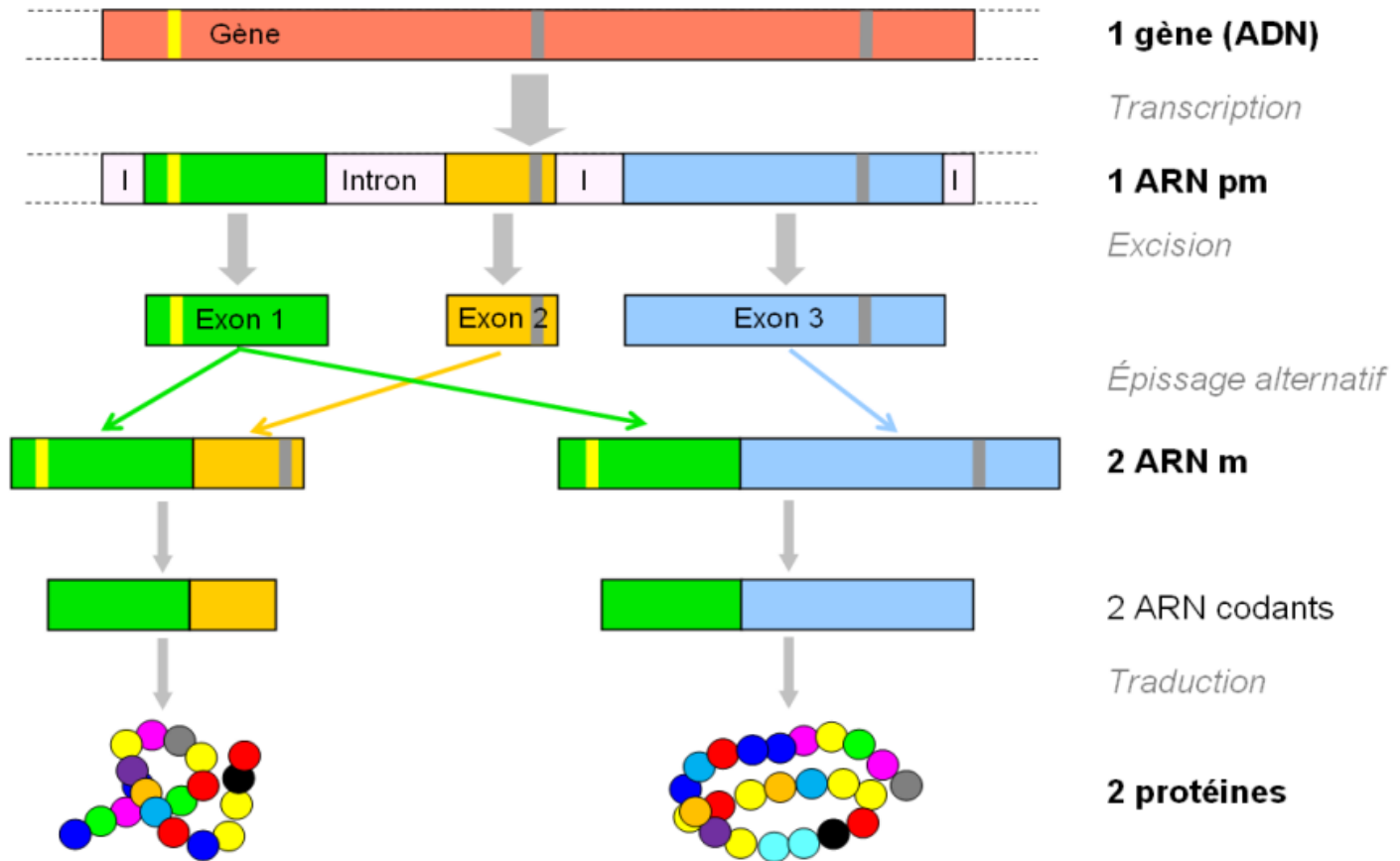
Modification en 3'



Epissage



Epissage alternatif



La traduction

- Lecture d'un ARNm par des ribosomes qui forment des protéines dont la structure primaire est déterminée par celle de cet ARNm

Forme acide nucléique (4 lettres) → forme protéine (20 lettres) selon un code universel

- Codon: 3 nucléotides de la séquence d'acide nucléique portant l'information génétique permettant l'incorporation d'un acide aminé dans la séquence primaire d'une protéine

4 lettres à 3 possibilités: 4^3 soit 64 codons

Le code génétique

Deuxième nucléotide

U			C		A		G		Troisième nucléotide						
U	UUU UUC	phényl- alanine	UCU UCC UCA UCG	sérine	UAU UAC	tyrosine	UGU UGC	cystéine		U C A G					
	UUA UUG	leucine			UAA UAG	STOP	UGA UGG	STOP tryptophane		A G					
C	CUU CUC CUA CUG	leucine	CCU CCC CCA CCG	proline	CAU CAC	histidine	CGU CGC CGA CGG	arginine		U C A G					
	CAA CAG				glutamine										
	A				AAU AUC AUA AUG	isoleucine	ACU ACC ACA ACG			thréonine	AAU AAC	asparagine	AGU AGC	sérine	U C
					AAA AAG						lysine	AGA AGG	arginine	A G	
G		GUU GUC GUA GUG	valine	GCU GCC GCA GCG	alanine	GAU GAC		acide aspartique			GGU GGC GGA GGG	glycine	U C A G		
		GAA GAG				acide glutamique									

ADN

G A T



ARNm

C U A



ARNt

G A U



Acide aminé

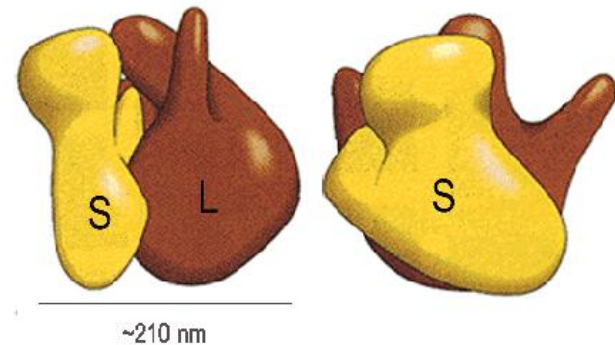
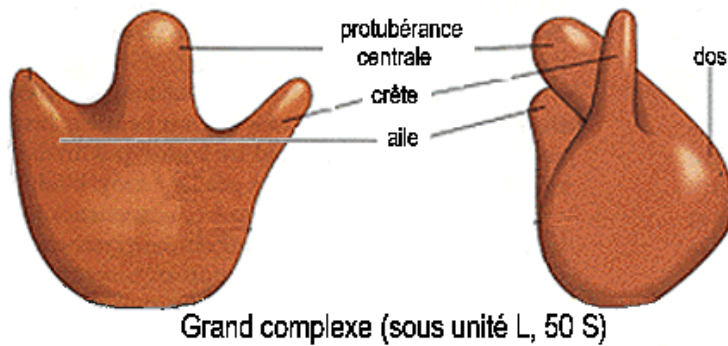
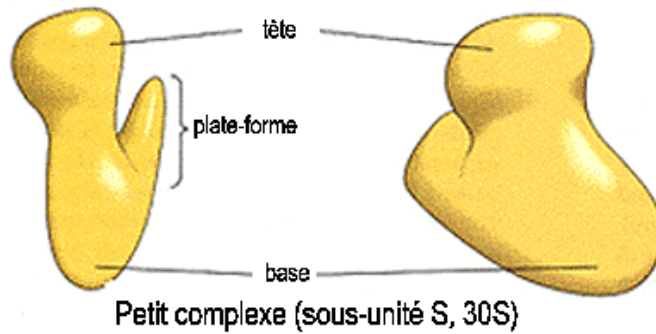
LEU

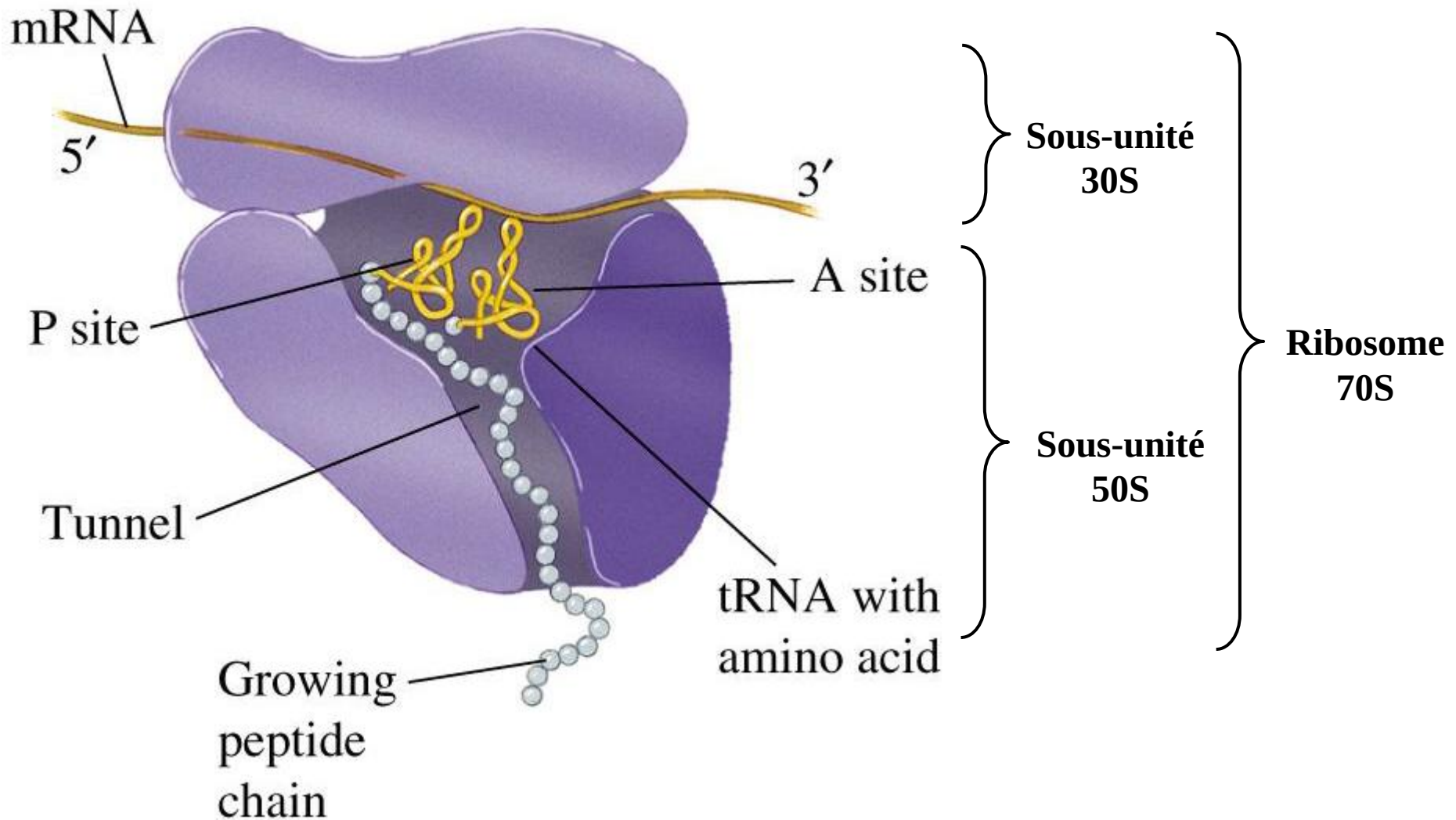
Il faut:

- ARNm
- Ribosome
- AA
- ARNt

Les ribosomes

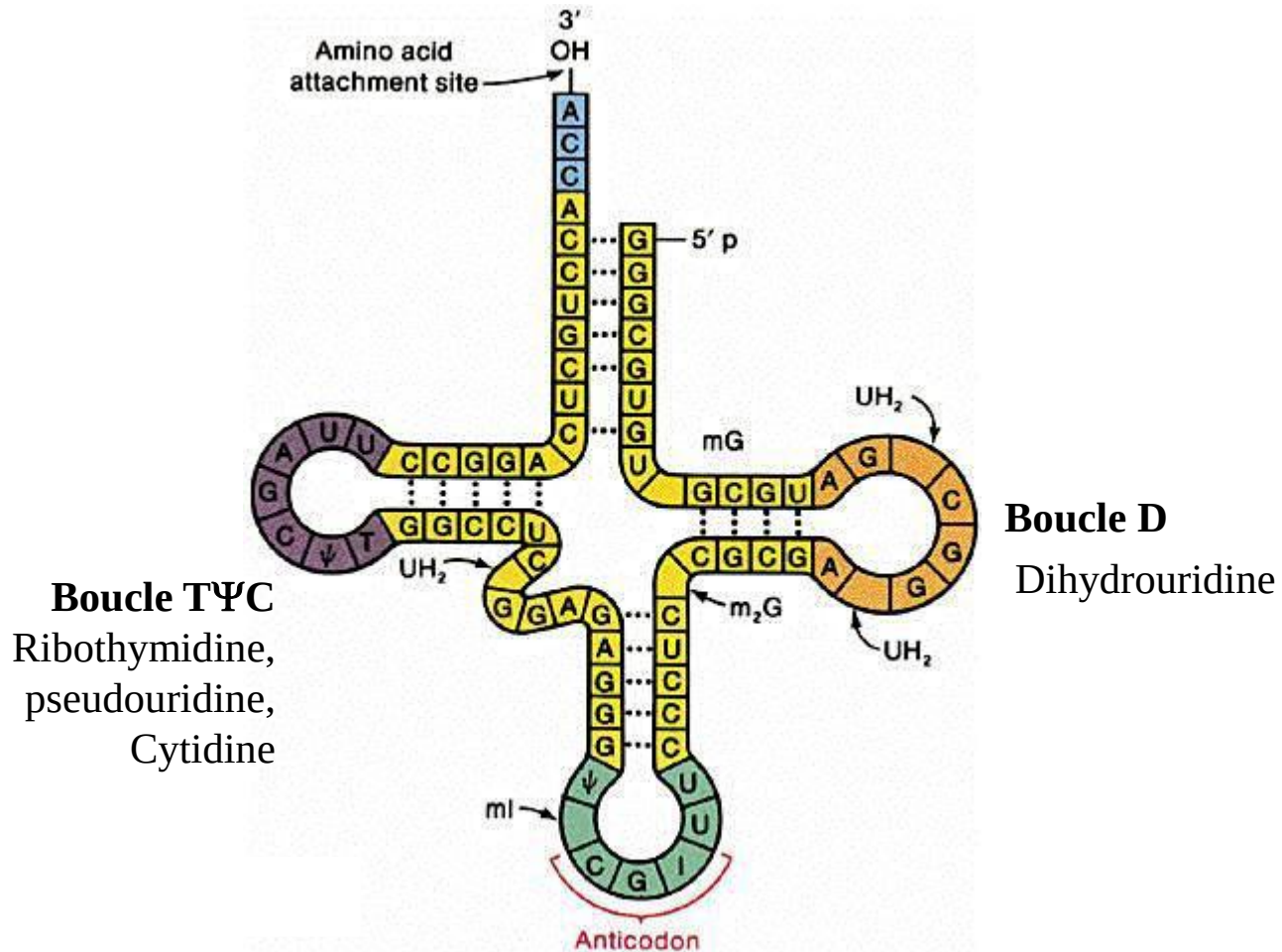
- Deux sous unités
- ARNr et protéines





L'ARNt (ARN de transfert)

Structure en « feuille de trèfle »



3. Phase de terminaison

Codon STOP : UAA, UAG ou UGA.

Coût énergétique:

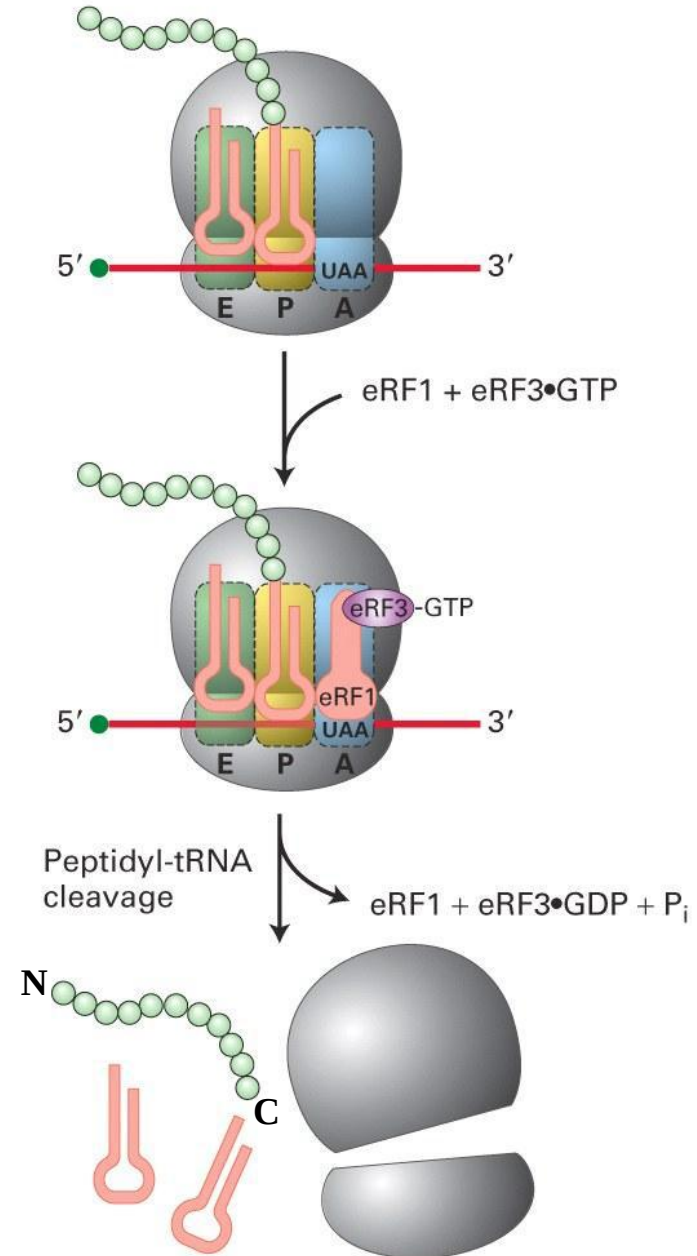
Initiation: 1 GTP

Incorporation tRNA-aminoacyl : 1 GTP

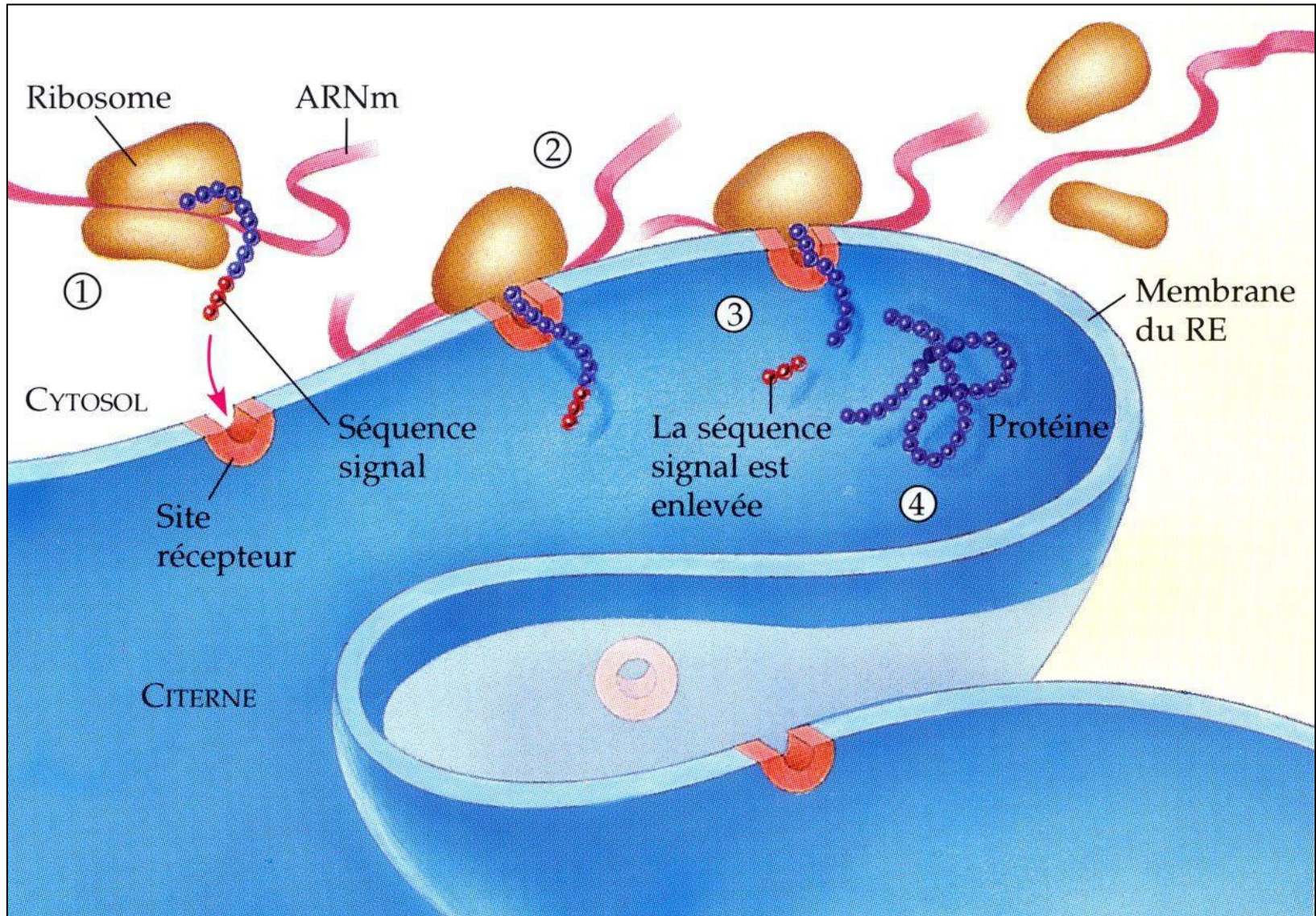
Translocation de chaque codon: 1 GTP

Terminaison : 1 GTP

Ex **100 AA** : (200 GTP + 2 GTP) et 100 ATP
Soit **302** liaisons riches en énergie



Processus post-traductionnels



Maturation protéique

- Repliement et contrôle des protéines par les chaperonnes
- Modifications post-traductionnelles

Activation par clivage : peptide signal

Glycosylation: Ser; Asn

Acylation : Farnésylation, Géranylation

Hydroxylation, méthylation, acétylation, déamination

ubiquitinylation

Phosphorylation

Liaison avec co-facteur (hème)



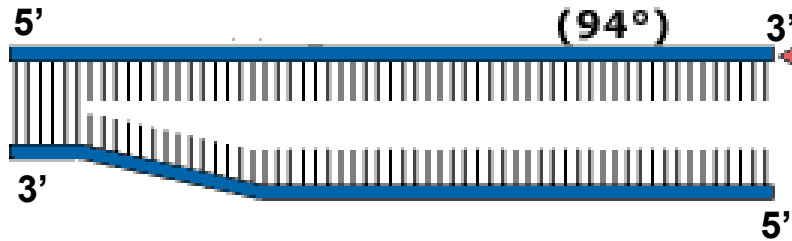
Un seul génome...

...plusieurs protéomes !

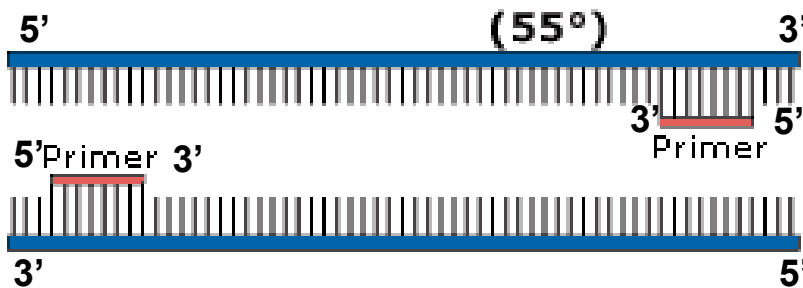


La technique de PCR

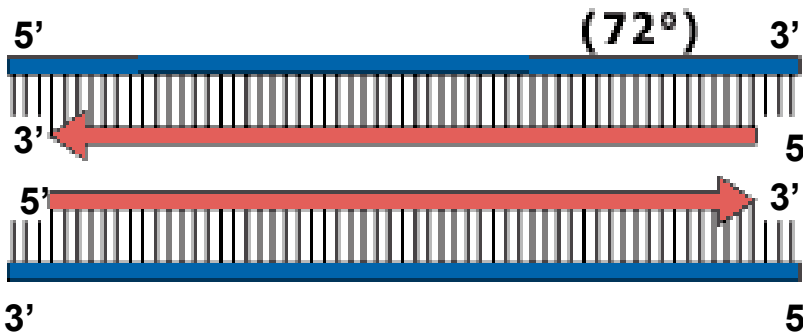
1 cycle de PCR



Dénaturation de l'ADN
à haute température
(92-95°C)



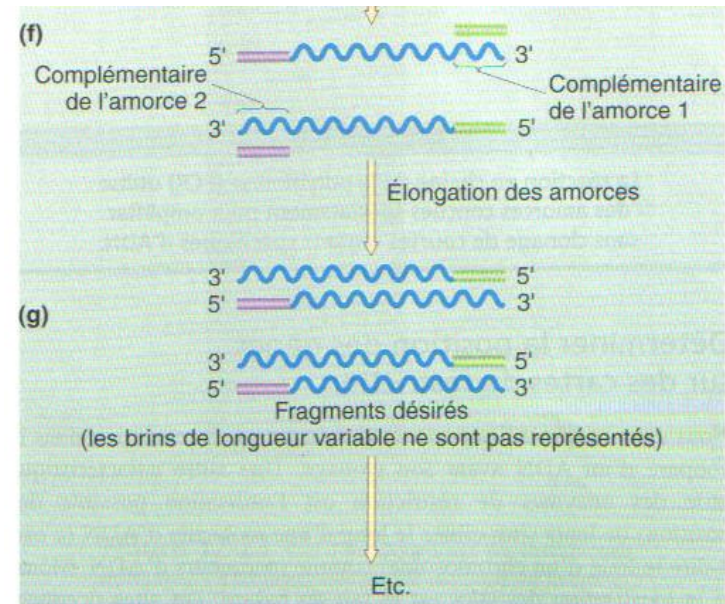
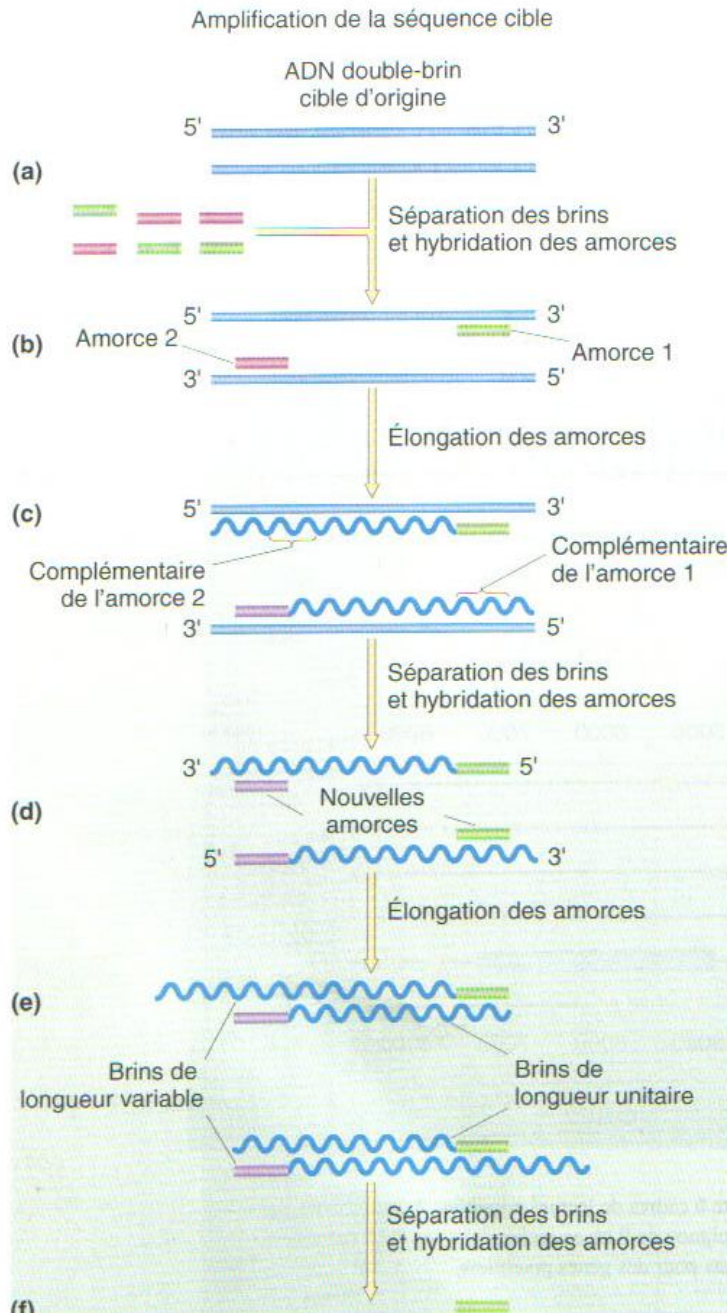
Hybridation des amorces en 3'
de chaque brin
(50-65°C)



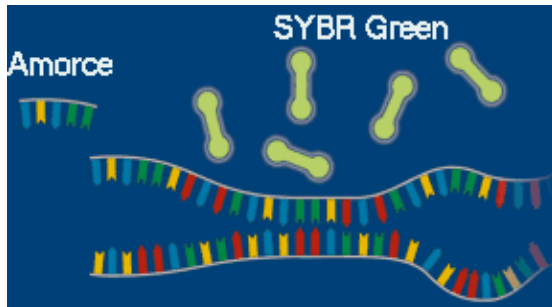
Elongation par la Taq polymérase
(72°C)

30 à 40 cycles

La technique de PCR

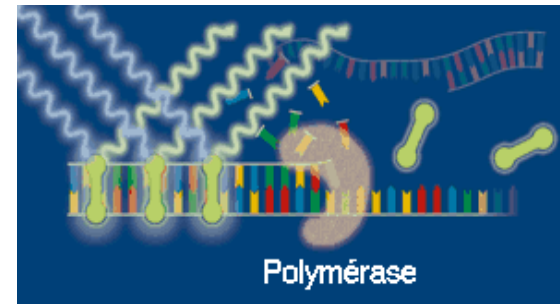
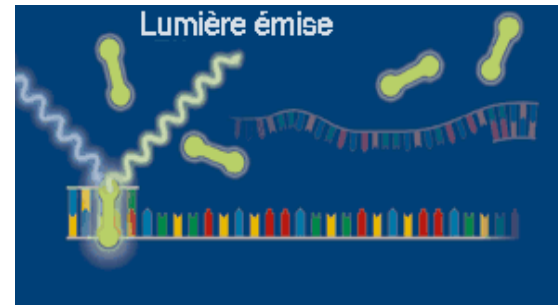


❶ Principe SYBR Green



Avant amplification

SYBR Green **libre** : pas de fluorescence

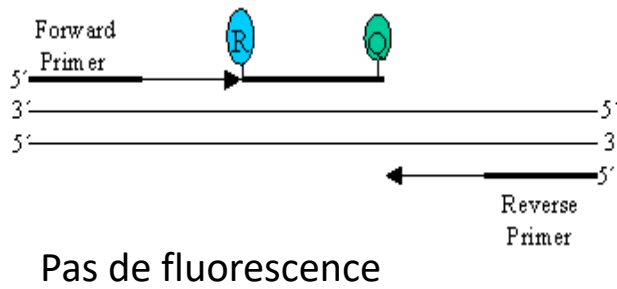


Après amplification

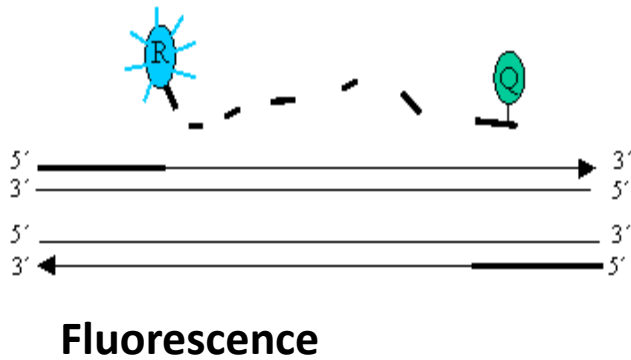
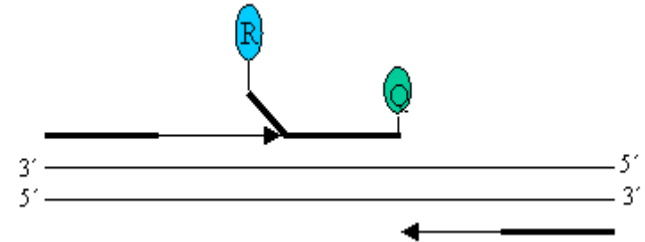
SYBR Green est un fluorophore capable de se lier à l'ADN double brin

Principe de qPCR

② Principe Taq man



Polymérisation



Principe de qPCR

① Principe SYBR Green

- Même couple d'amorce:
T°C hybridation identique
- Moins onéreuse
- Moins spécifique: Faux positif

② Principe Taq man

- Très spécifique
- Amorce supplémentaire:
choix T°C hybridation
- Plus onéreuse