

Année 2021 - 2022

Licence Science pour la Santé

UE BASES EN SCIENCES DE LA VIE

Biologie Moléculaire

Hubert Lincet

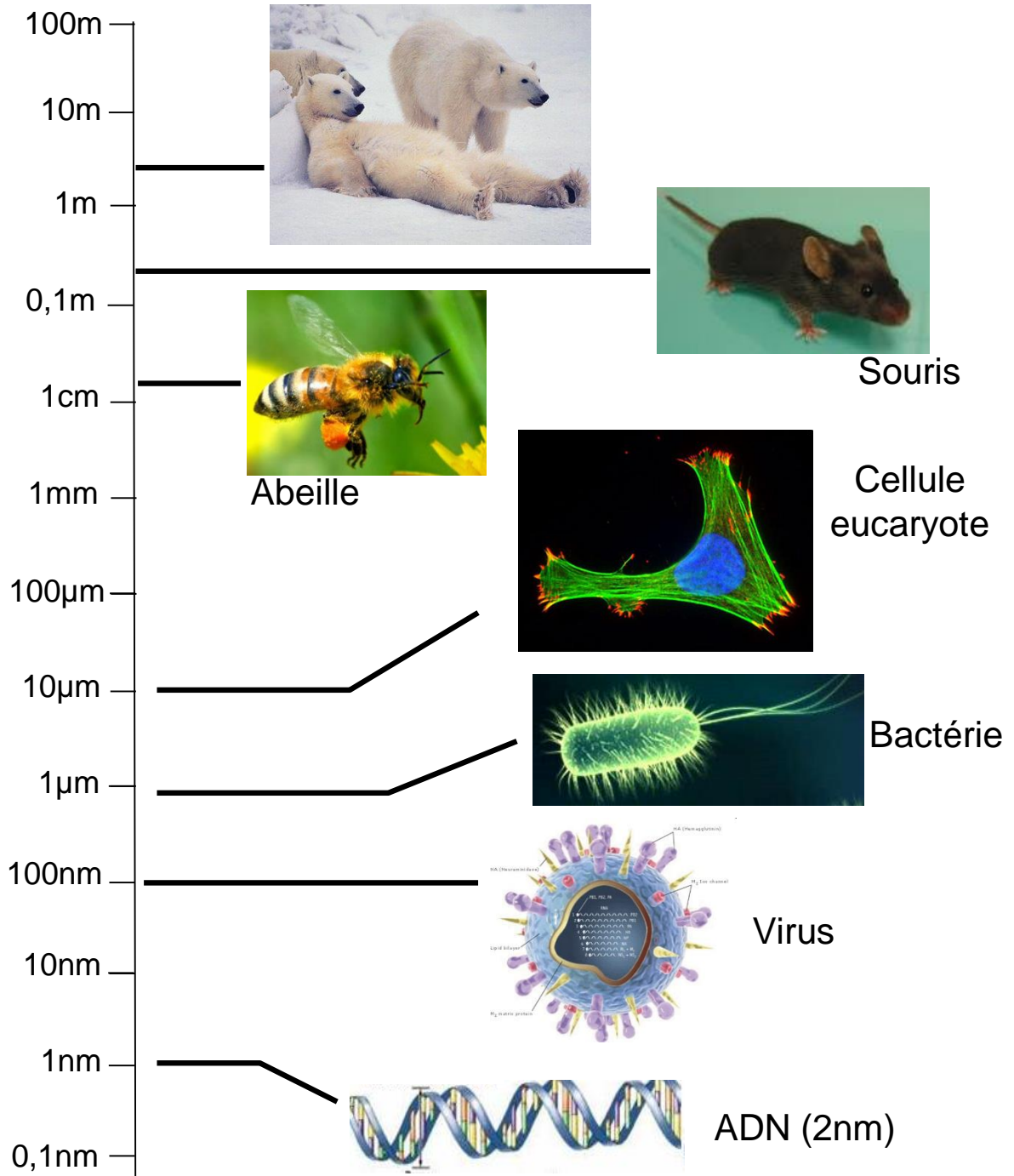
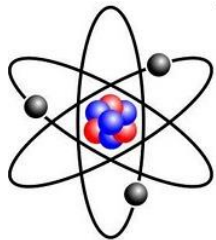
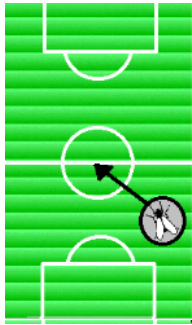
hubert.lincet@univ-lyon1.fr



Microscopie électronique

Microscopie optique

Microscopie optique



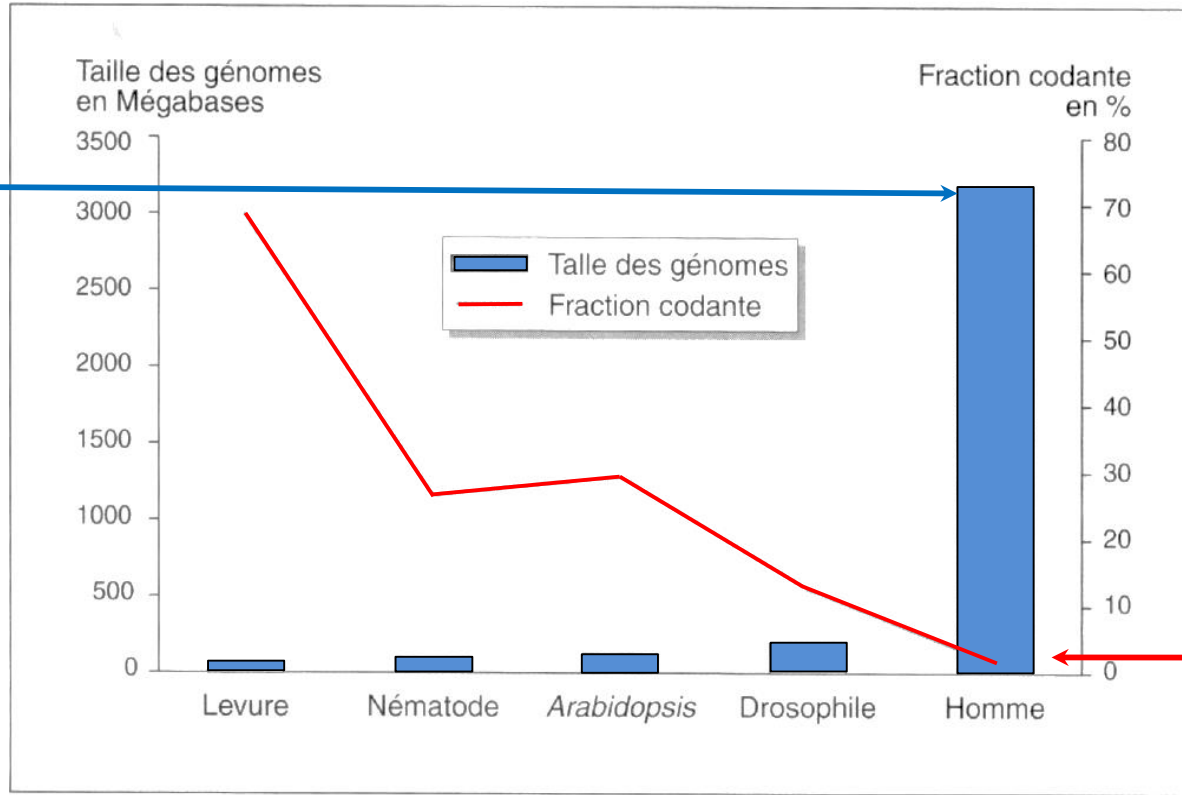


Un seul génome...

...plusieurs protéomes !



23 paires
de chromosomes
 $3 \cdot 10^9$ nucléotides
**ADN:
information**



Transcription

**ARN:
messager**

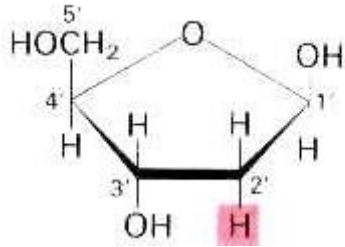
Traduction

**Protéines:
effecteur**

1 à 3% de séq.
codantes

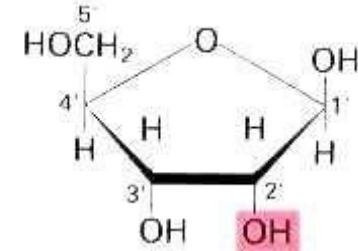
Les composants

ADN



2-Déoxyribose

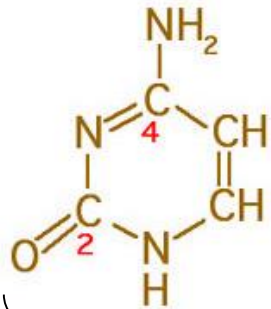
ARN



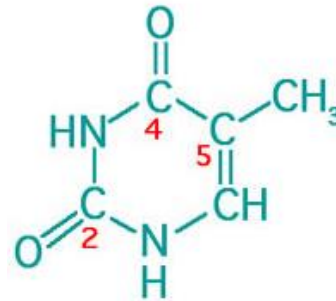
β -D-Ribose

- Groupe sucre

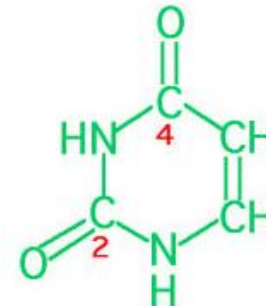
Cytosine



Thymine

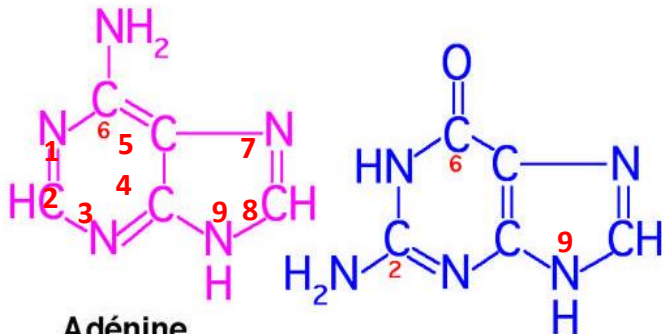


Uracile



- Bases :

Purines

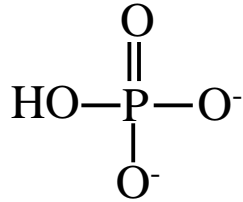


Adénine

Guanine

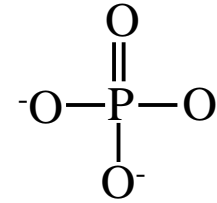
Pyrimidiques

- **Groupe phosphate**

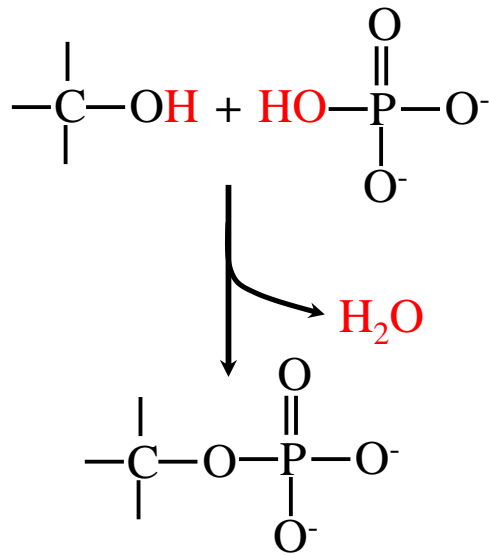


Acide phosphorique

Les phosphates

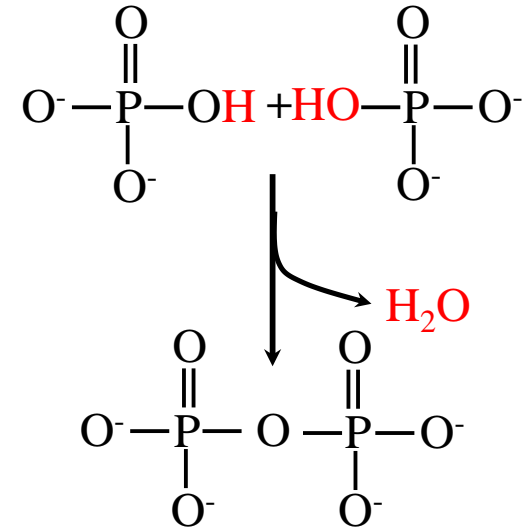


Phosphate inorganique: Pi



Liaison ester: Alcool + acide phosphorique

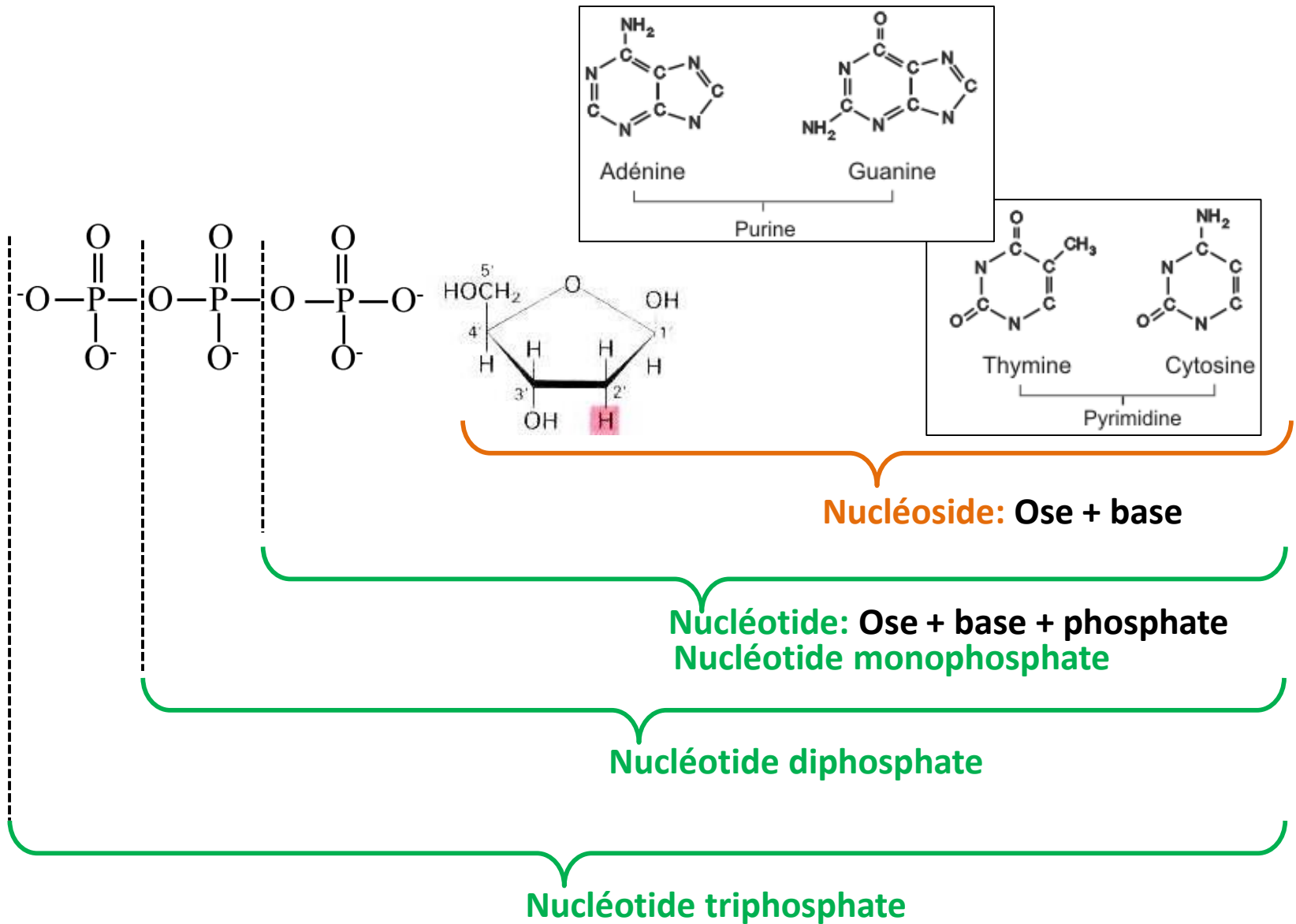
Les liaisons

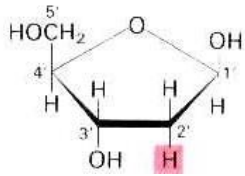


Liaison anhydride d'acides: acide + acide

Liaison pyrophosphate

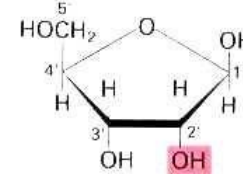
Composition acides nucléiques





2-Déoxyribose

Pentose



β-D-Ribose

+

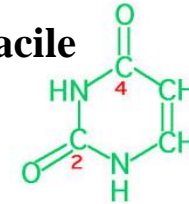
Bases



Thymine

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)

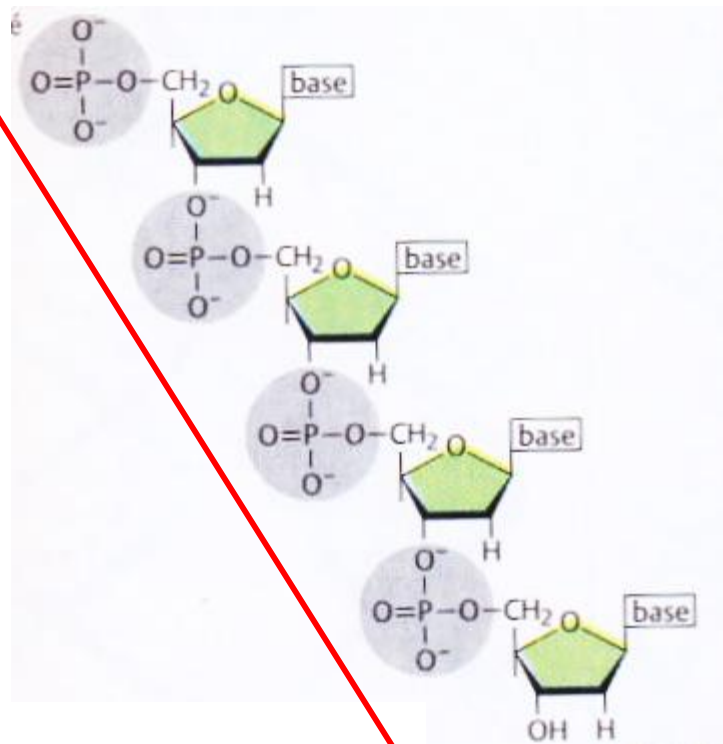
Adénosine MonoPhosphate: AMP; (ADP, ATP)
 Guanosine MonoPhosphate: GMP; (GDP, GTP)
 Cytidine MonoPhosphate: CMP; (CDP, CTP)
Uridine MonoPhosphate: UMP; (UDP, UTP)

ADN

ARN

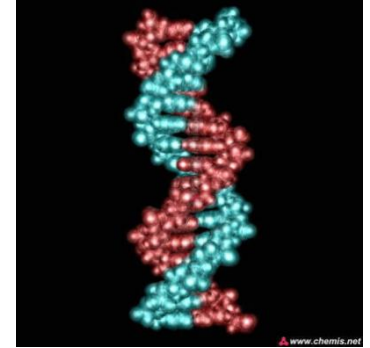
Formation de la chaîne d'acide nucléiques

Extrémité 5'
Phosphate



Extrémité 3'
OH

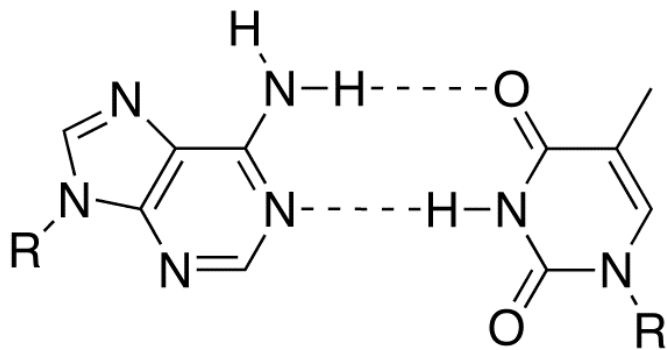
Caractéristique de l'ADN



- Désoxyribose et ses bases

- Polymères de nucléotides **bicaténaire ET antiparallèle ET complémentaire**

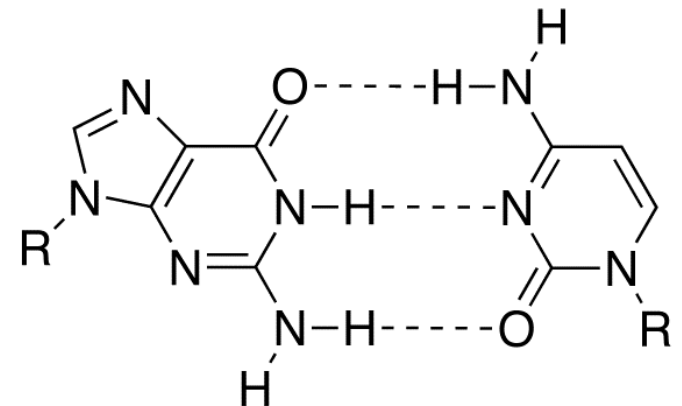
Appariement des bases 2 à 2



Adénine

Thymine

-21 kJ



Guanine

Cytosine

-63 kJ

Différences entre procaryotes et eucaryotes

- **Forme**

- Linéaire (chromosomes eucaryotes)
- Circulaire (génomome 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

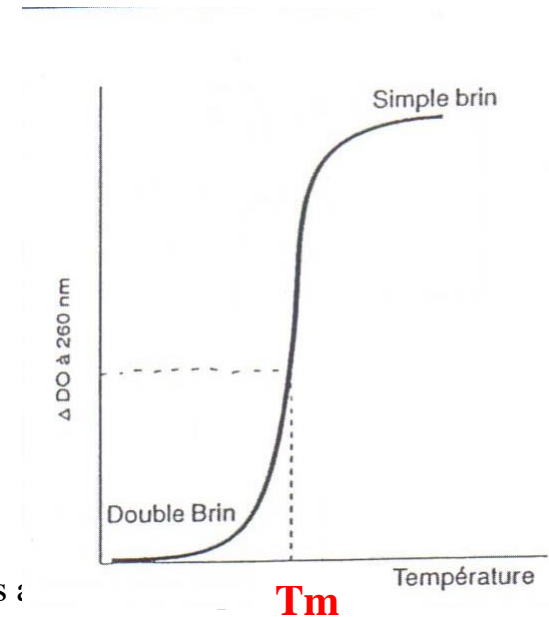
Dénaturation de l'ADN

Phénomène réversible

Rupture double brin : chaleur, urée

T_m: 50%

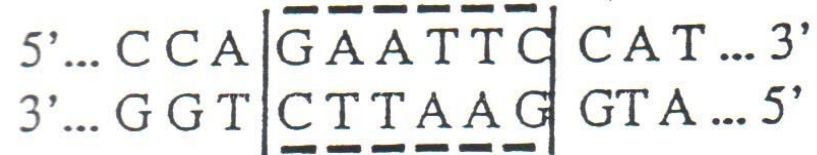
Hybridation: complémentaire et antiparallèle (Cf Technique d'études des :



Particularités de l'ADN

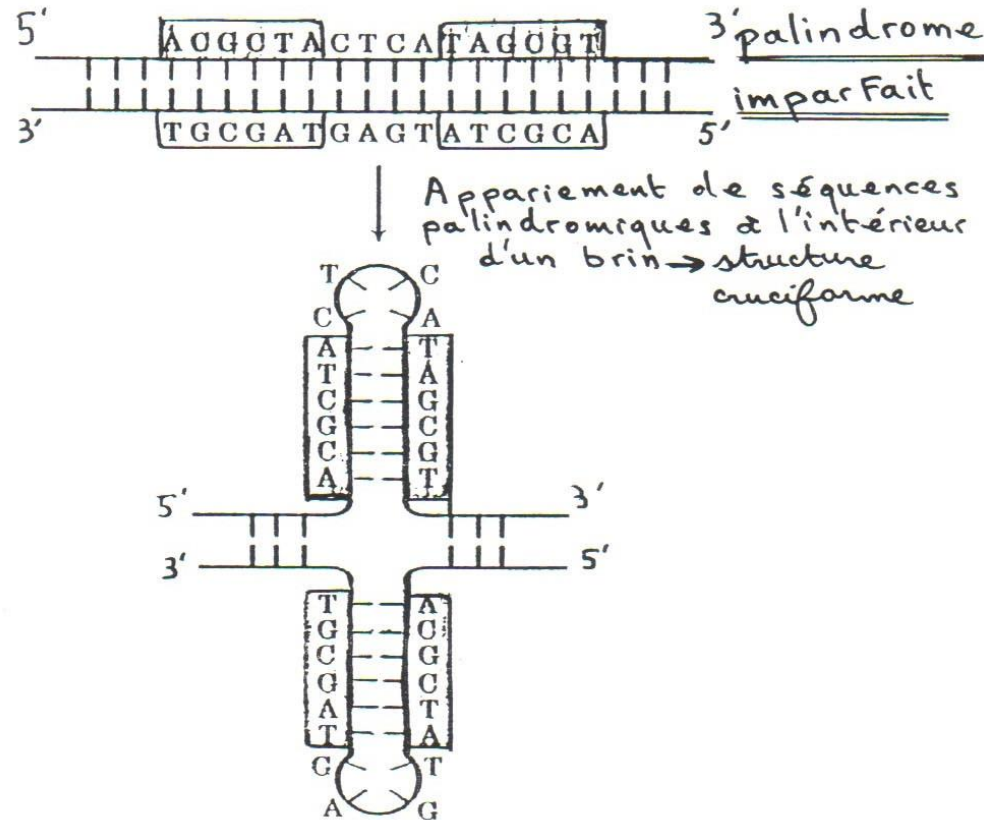
Palindromes : → Séquence pouvant être lue dans le sens 5' → 3' du brin 1 ou 5' → 3' du brin 2

Rotor, Laval

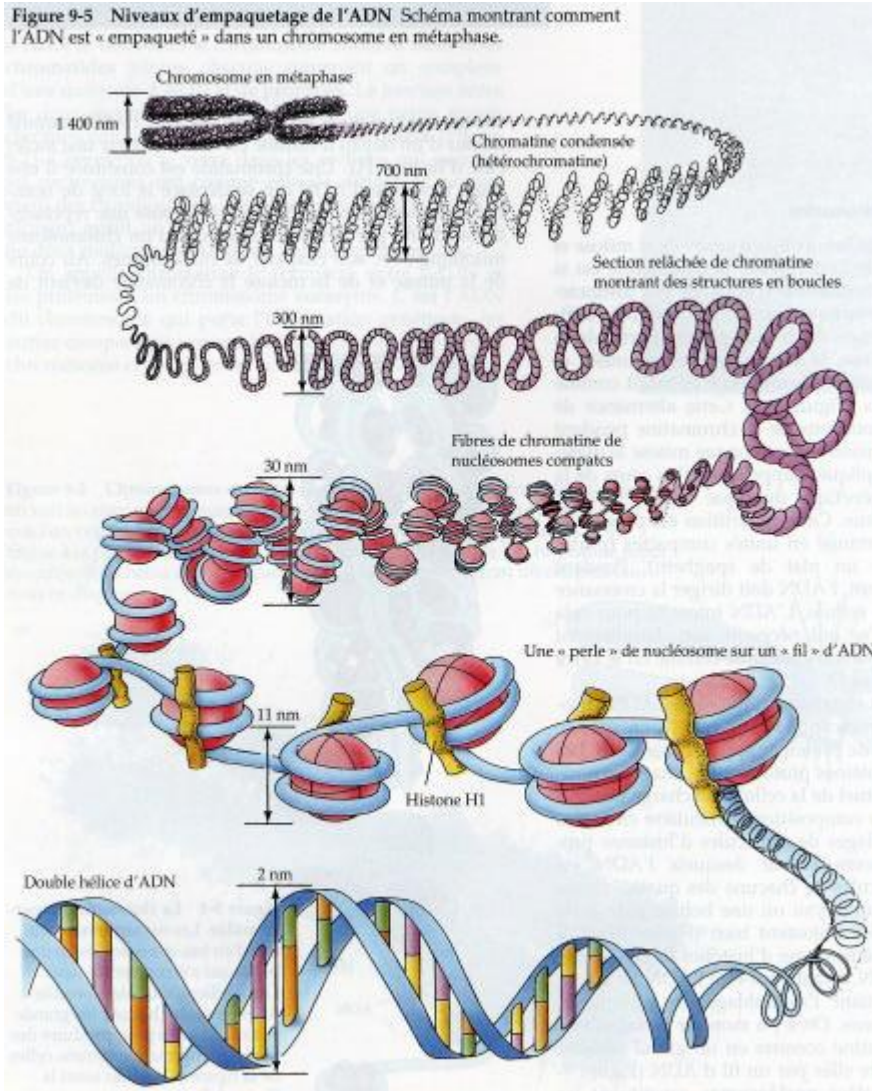


Palindrome imparfait « élu par cette crapule »

séquence palindromique – séquence non palindromique – séquence palindromique



L'ADN constituant des chromosomes



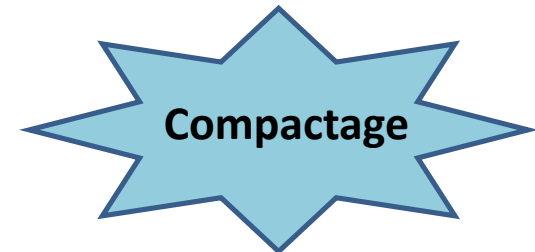
$3 \cdot 10^9$ paires de bases par génome haploïde



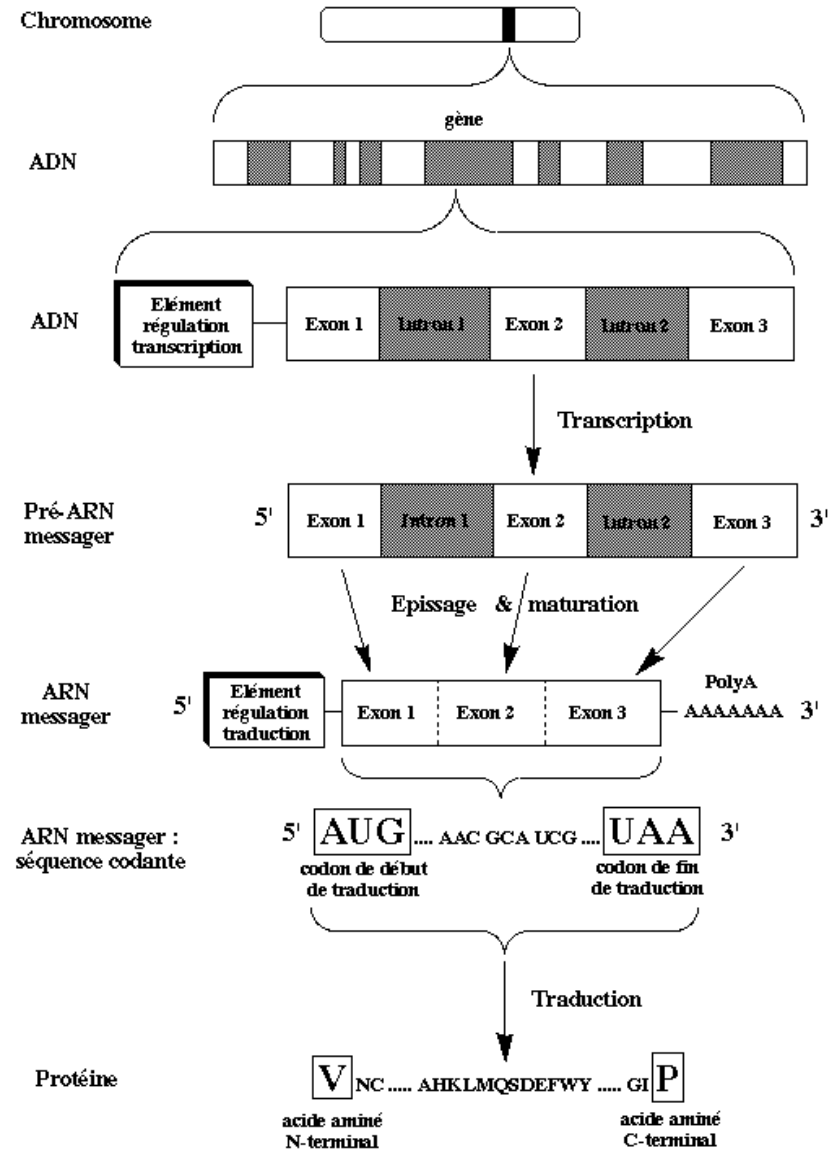
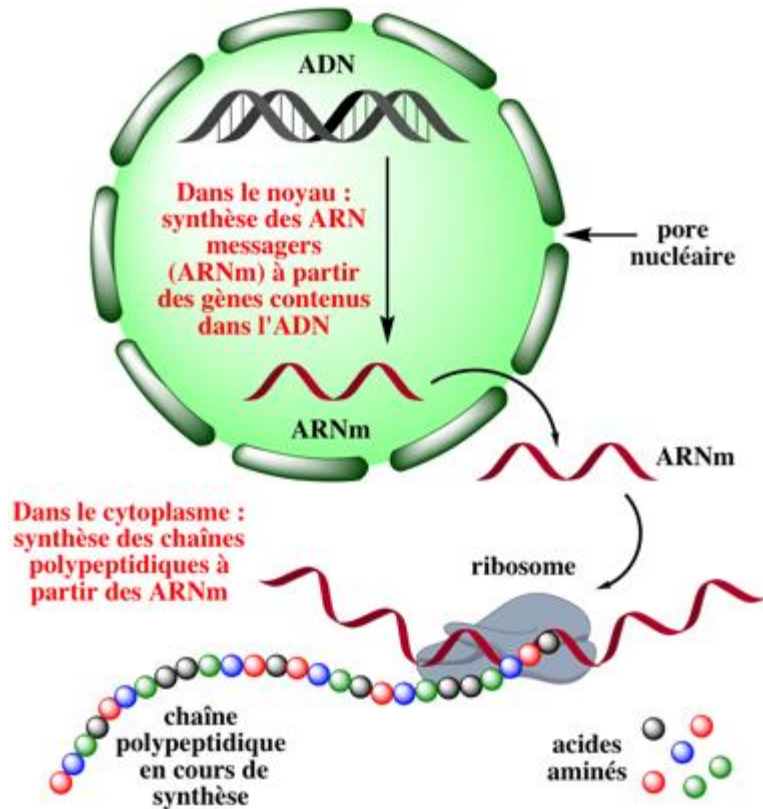
1 à 1,5 m si non compacté



Noyau 5 à 10 μm



Du chromosome à la protéine



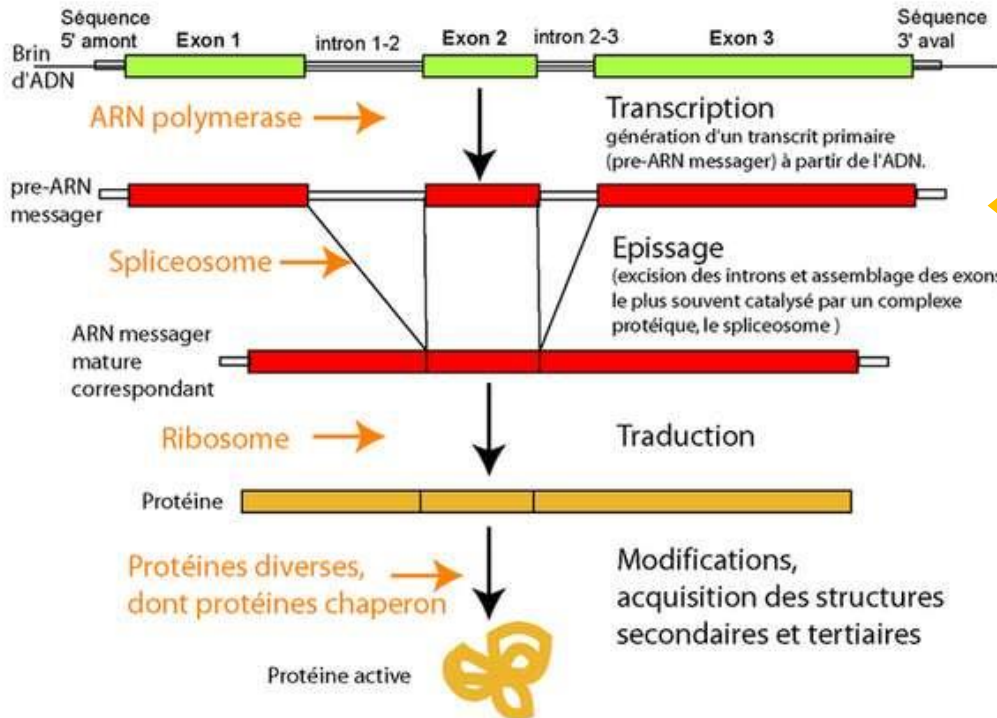
Les gènes

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

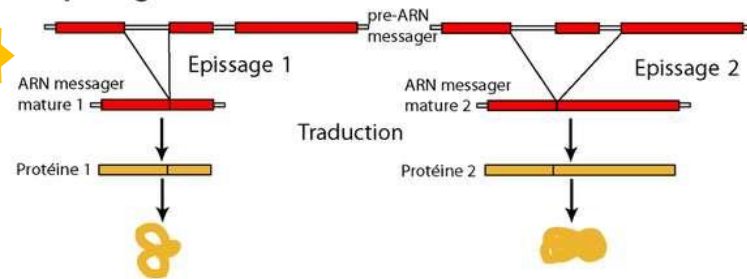
Schéma simplifié de la transcription, l'épissage et la traduction d'un gène



Non codant ≠ pas important

ou

L'épissage alternatif

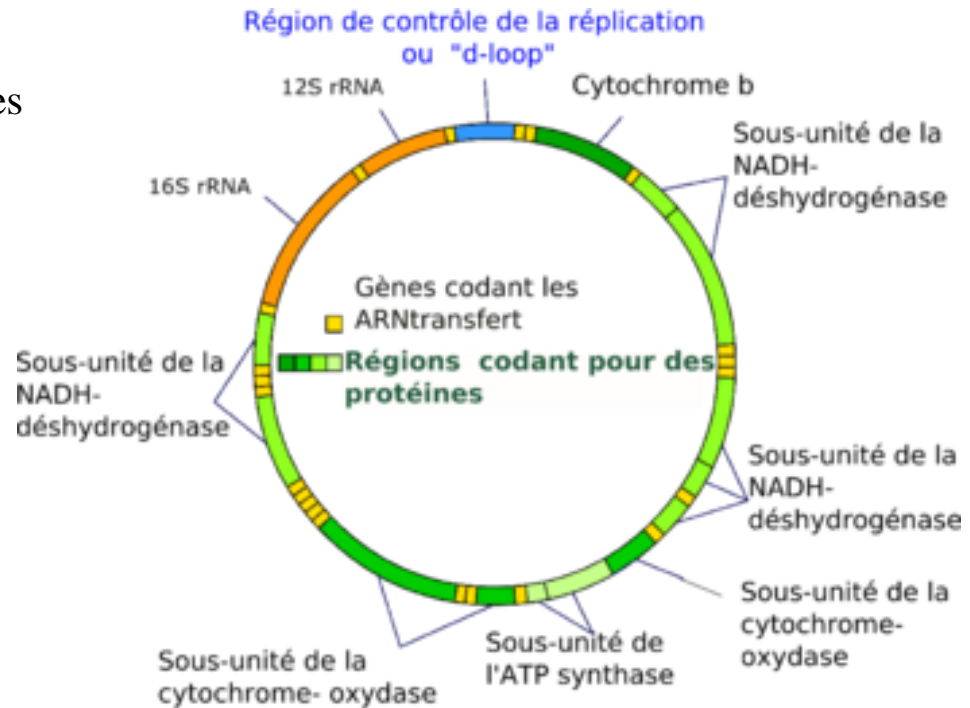


Protéines diverses, dont protéines chaperon

Modifications, acquisition des structures secondaires et tertiaires

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%

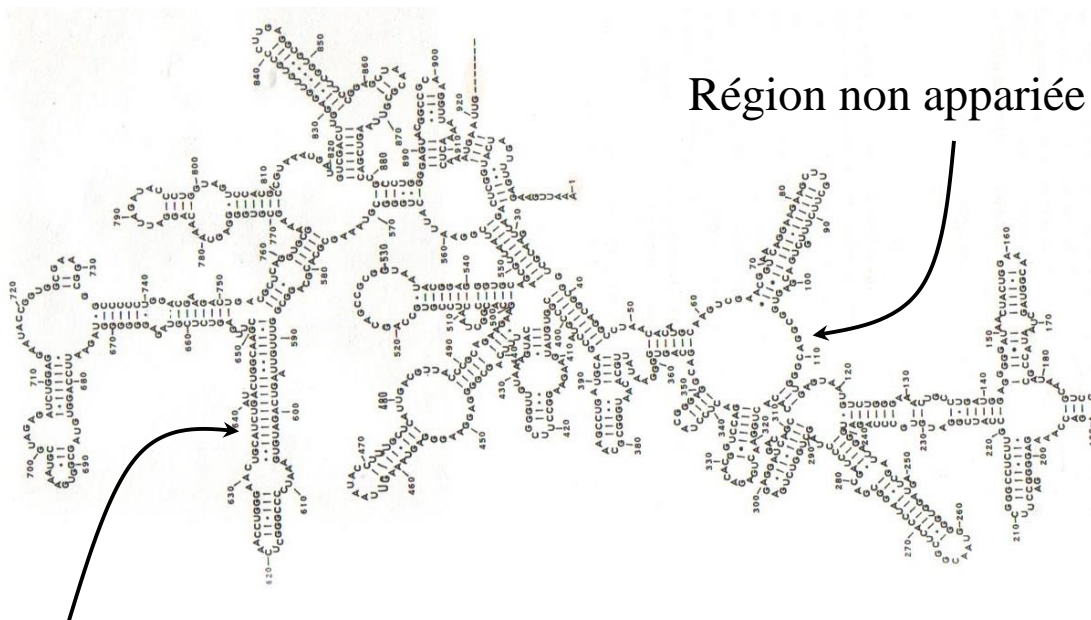
- Complémentarité

A/U (2 l. hydrogène)

G/C (3 l. hydrogène)

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

ARNr

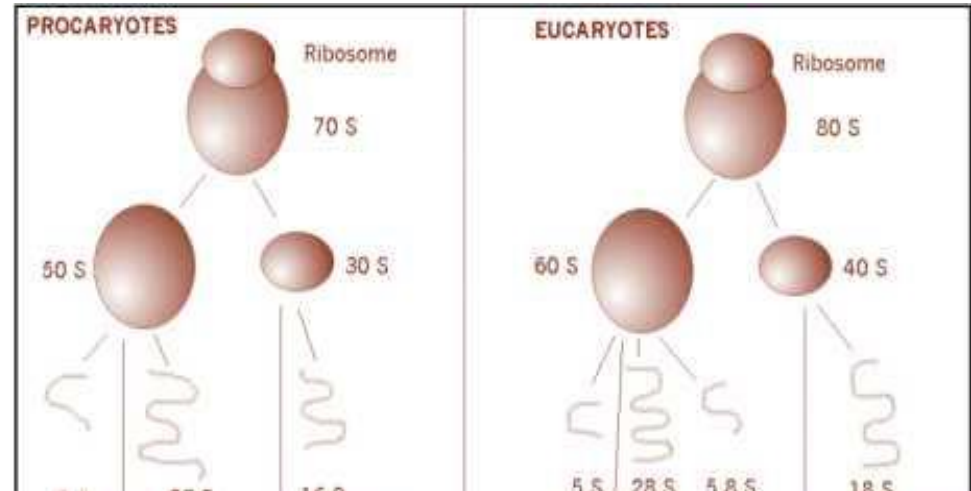


Région non appariée (monocaténaire)

Région en épingle à cheveu

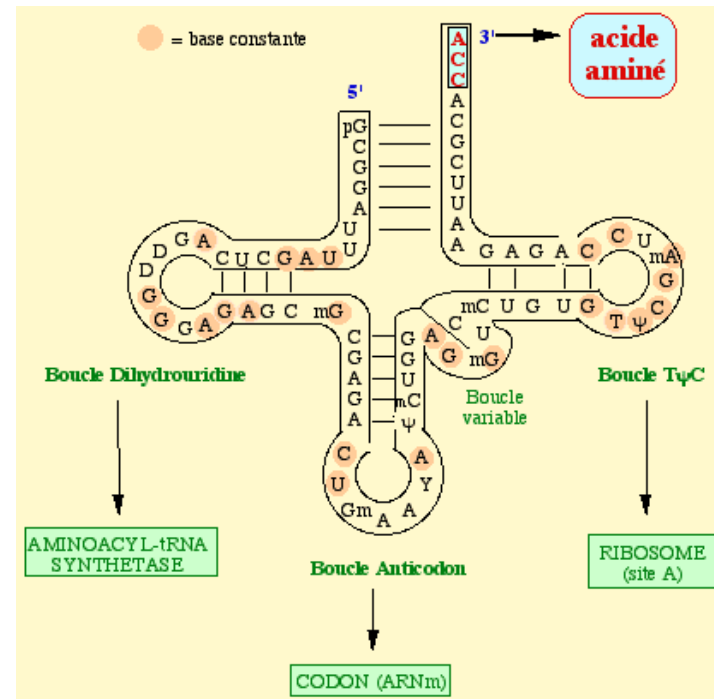
ARNr

- Constituants des ribosomes (synthèse protéique)



ARNt

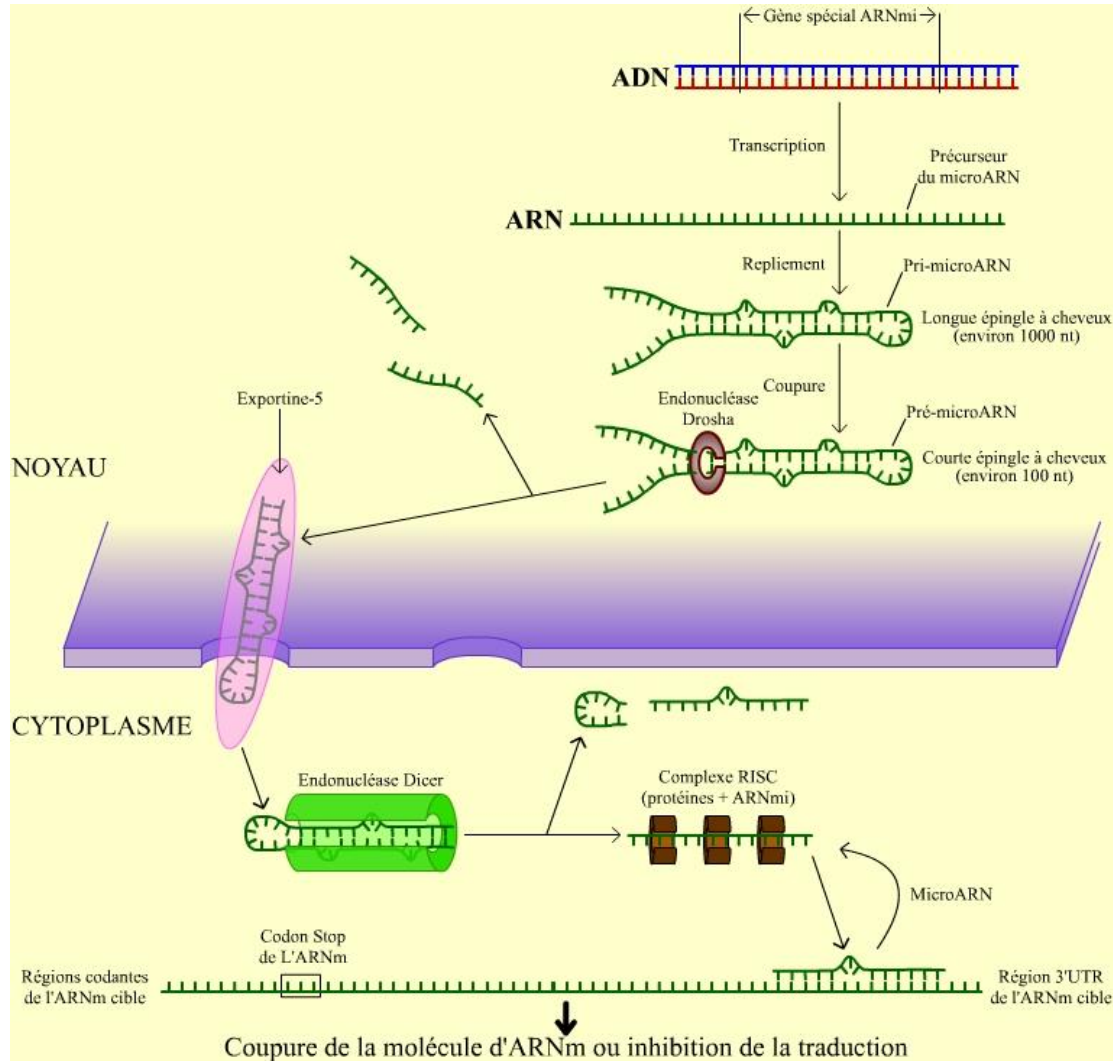
- Transporte et transfère AcA du cytoplasme vers ribosome



ARNsn Ex: ARN splicéosomal U4

Rôle dans mécanismes nucléaires dont l'épissage

miARN et siARN Rôle dans stabilité et traduction des ARNm



miARN

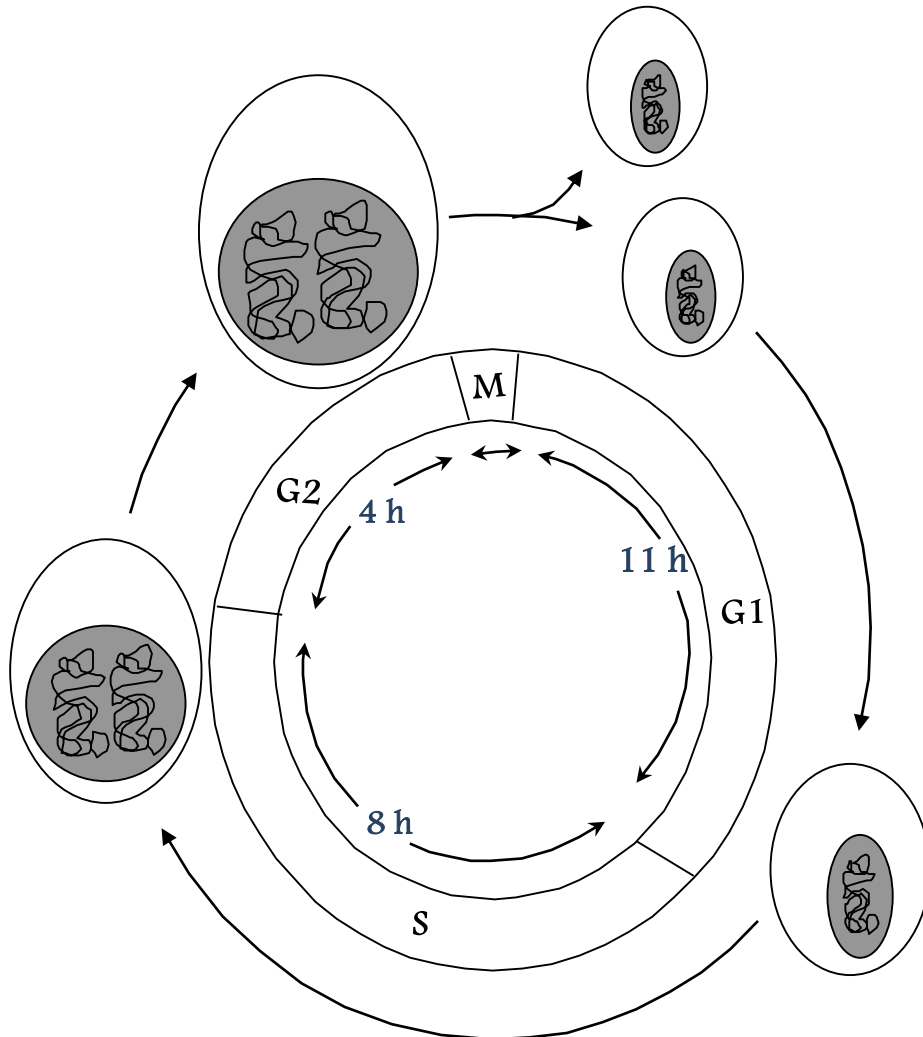
La réplication de l'ADN

Réplication:

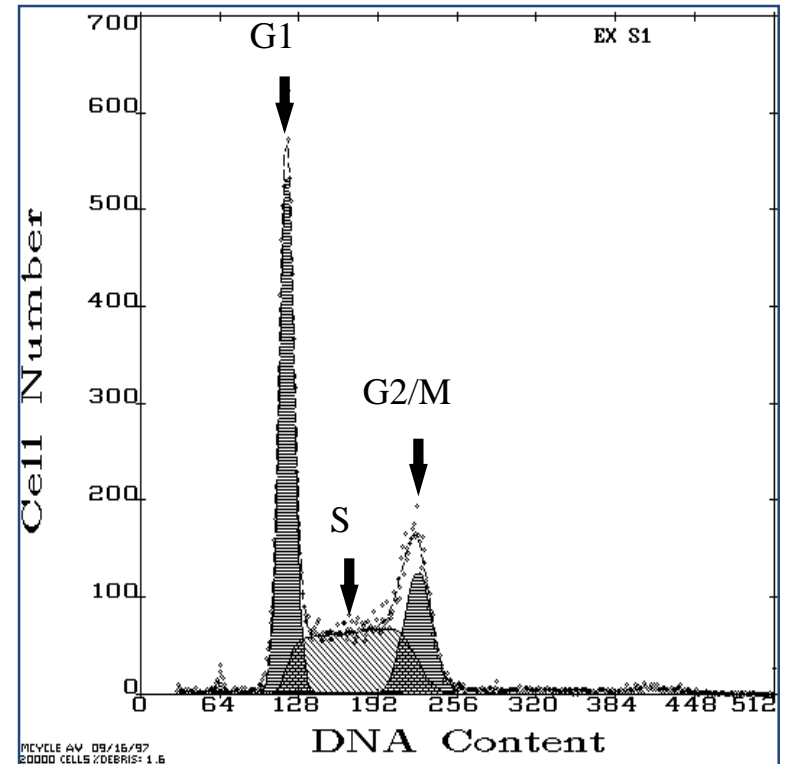
Synthèse d'ADN reproduisant exactement le génome d'une cellule au cours du cycle cellulaire

Rappel cycle cellulaire

Les différentes phases du cycle cellulaire

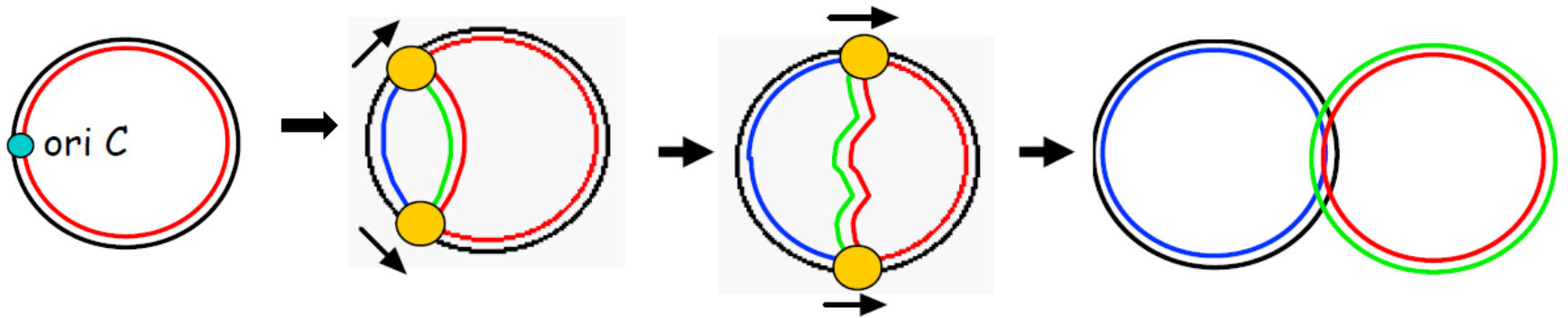
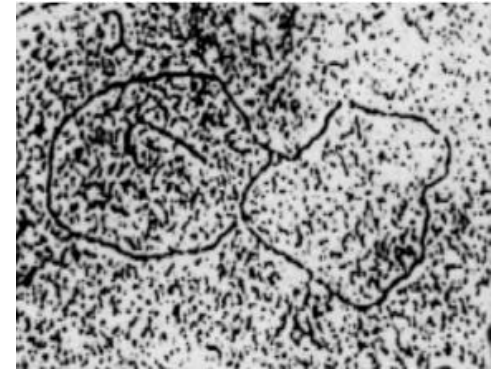
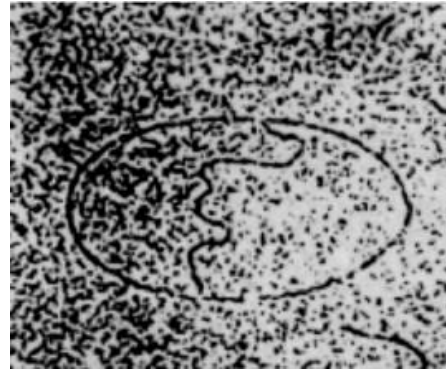
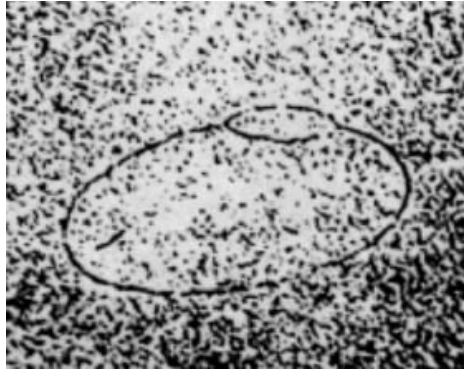


Contenu en ADN au cours du cycle cellulaire



Chez les Procaryotes

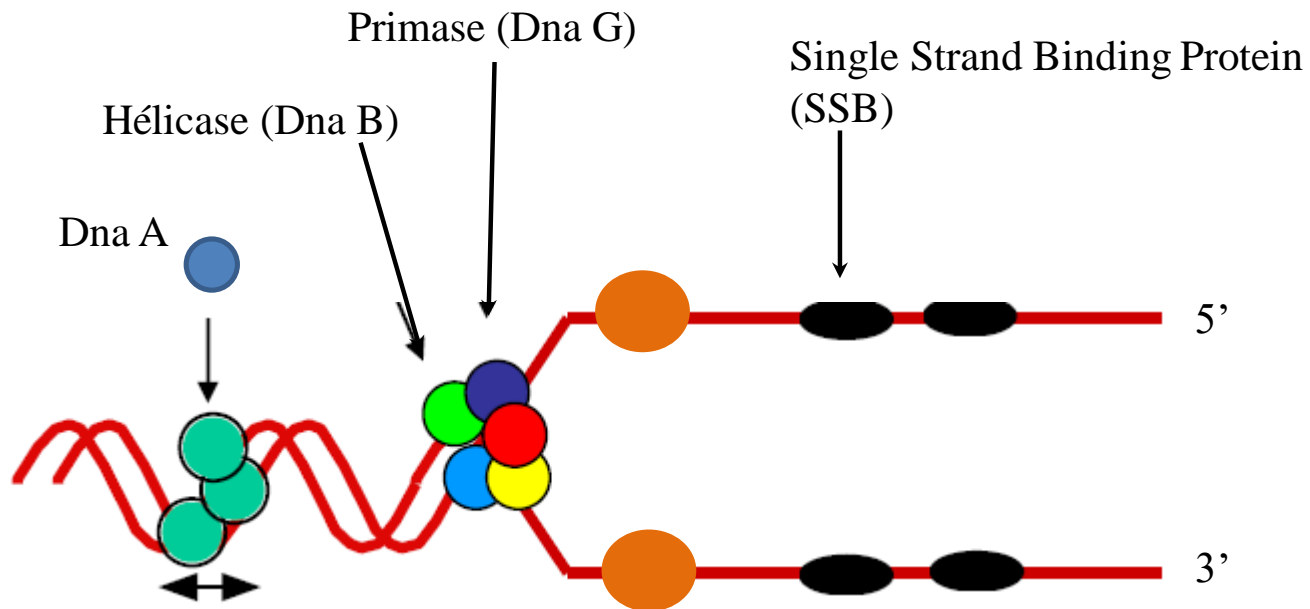
Microscopie électronique
(Cairns 1962)



1. Phase initiation
2. Phase d'élongation
3. Phase de terminaison

1. Phase initiation

- Reconnaissance de l'origine de réplication : Protéine Dna A
- Formation du primosome et stabilisation brin monocaténaire
- Fixation de l'ADN polymérase
- Synthèse de l'amorce : Primase

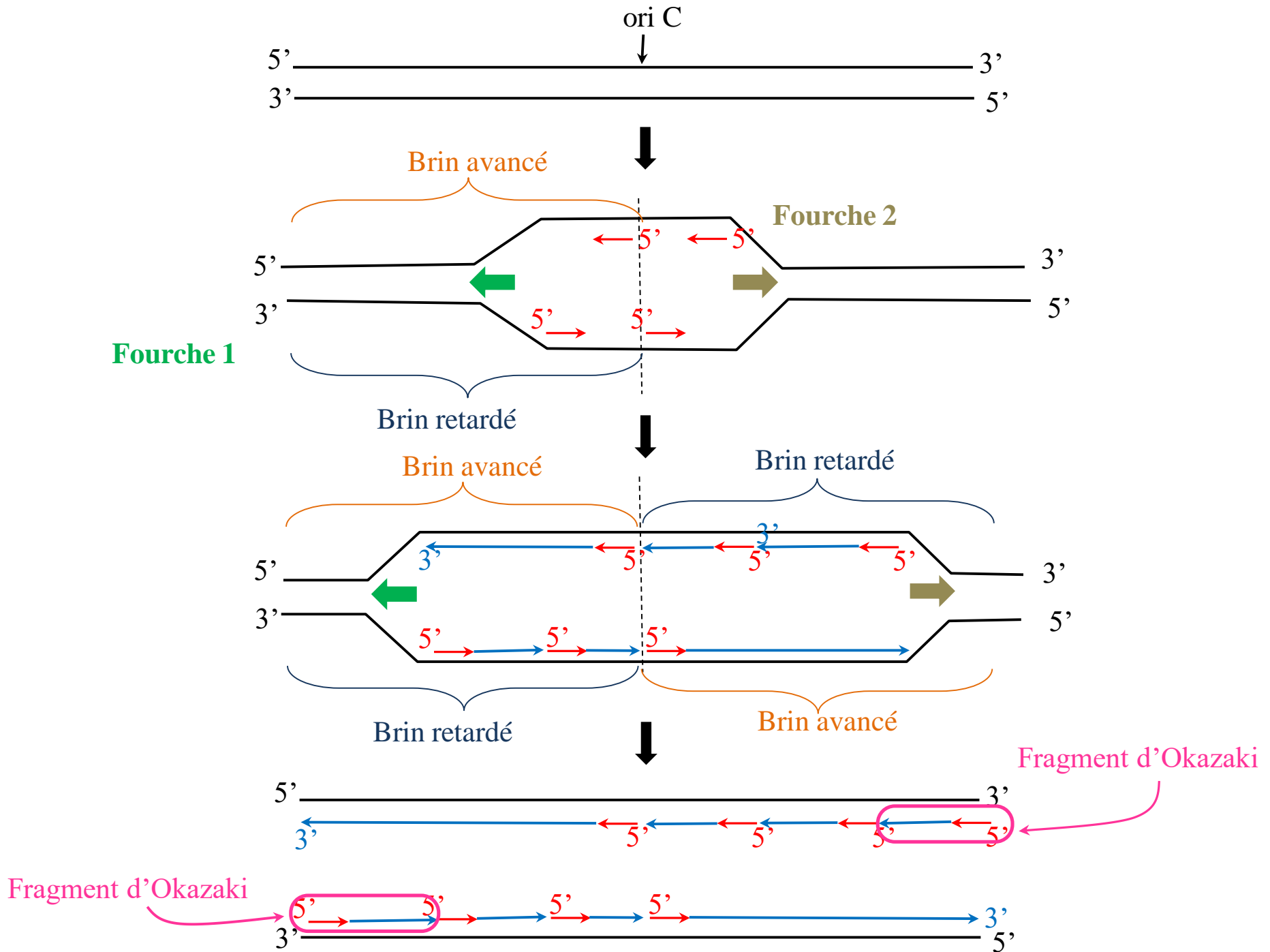


2. Phase élongation

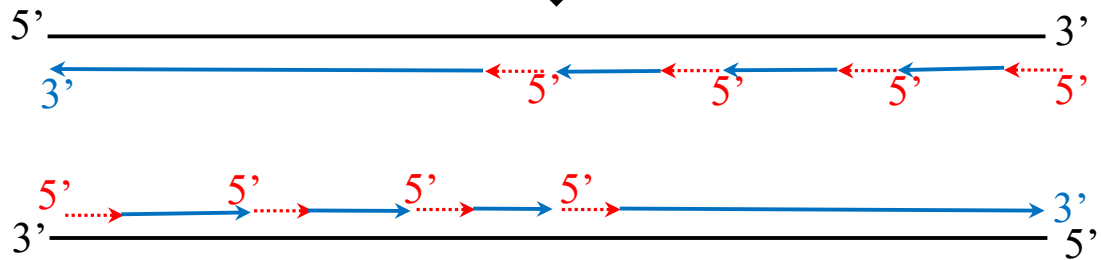
- matrice **monocaténaire**
- amorce (ARN) avec extrémité 3' **OH libre**
- dNTP, ions Mg^{2+}
- Hélicases, topoisomérases (gyrases), etc.
- ADN polymérase : élongation dans le **sens 5' → 3'** (complémentaire et antiparallèle)

Principales ADN polymérases procaryotes

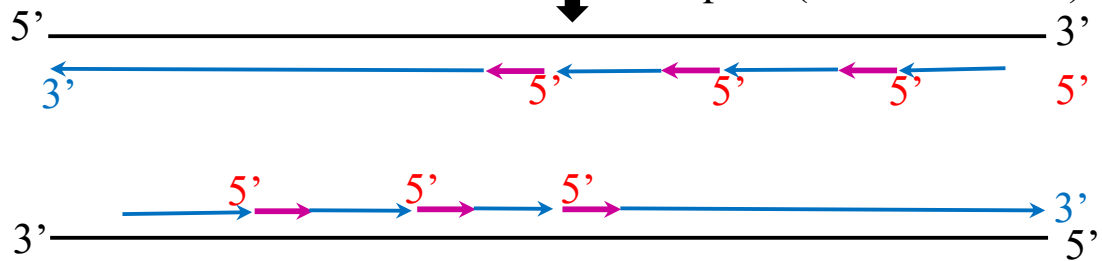
	ADN polymérase I	ADN polymérase II	ADN polymérase III
Structure	Monomérique	> 4 sous unités	> 10 sous unités (core + clamp + protéines associées)
Rôle	Elimine les amorces lors de la réplication + réparation	Réparation de l'ADN	Réplication de l'ADN génomique
Polymérisation 5' → 3'	Oui	Oui	Oui (sous-unité α)
Exonucléase 3' → 5'	Oui	Oui	Oui (sous-unité ϵ)
Exonucléase 5' → 3'	Oui	Non	Non
Vitesse de polymérisation	16-20 bases / sec	5-10 bases / sec	250-1000 bases / sec



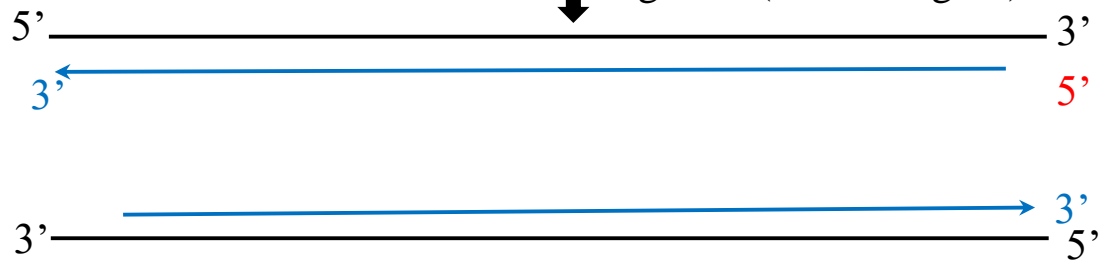
↓ Action RNase H et ADN pol I



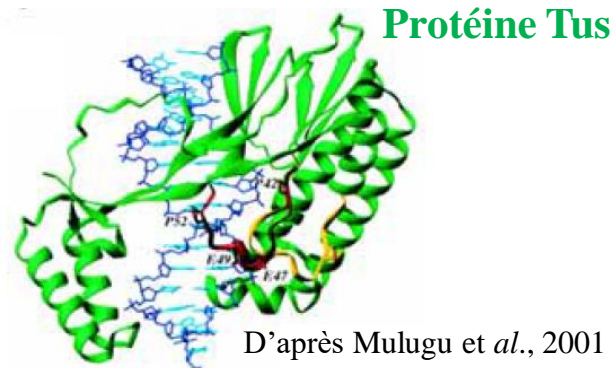
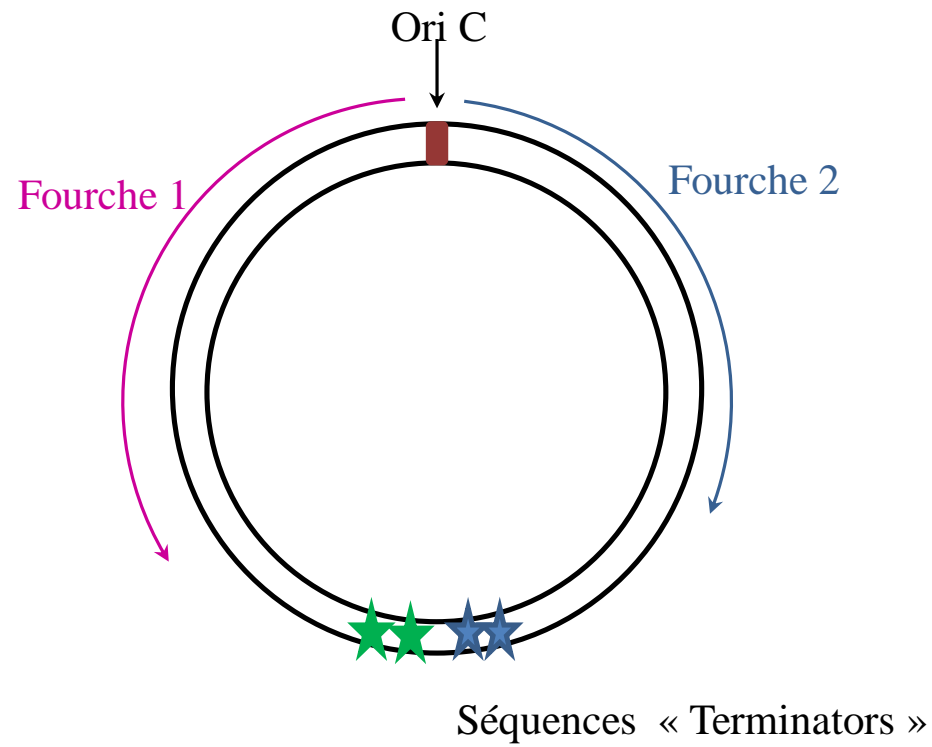
↓ ADN pol I (activité 5' → 3')



↓ Ligation (activité ligase)



3. Phase Terminaison

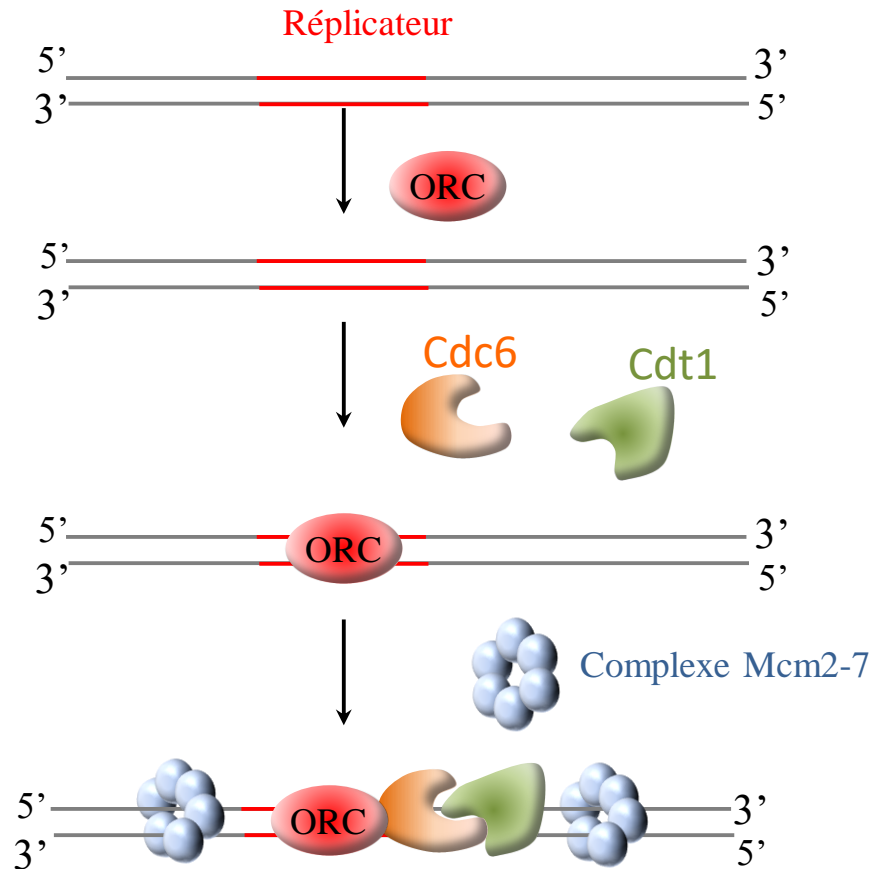


D'après Mulugu et *al.*, 2001

Chez les Eucaryotes

- Similitude avec procaryotes
- Origine de réplication nombreuses

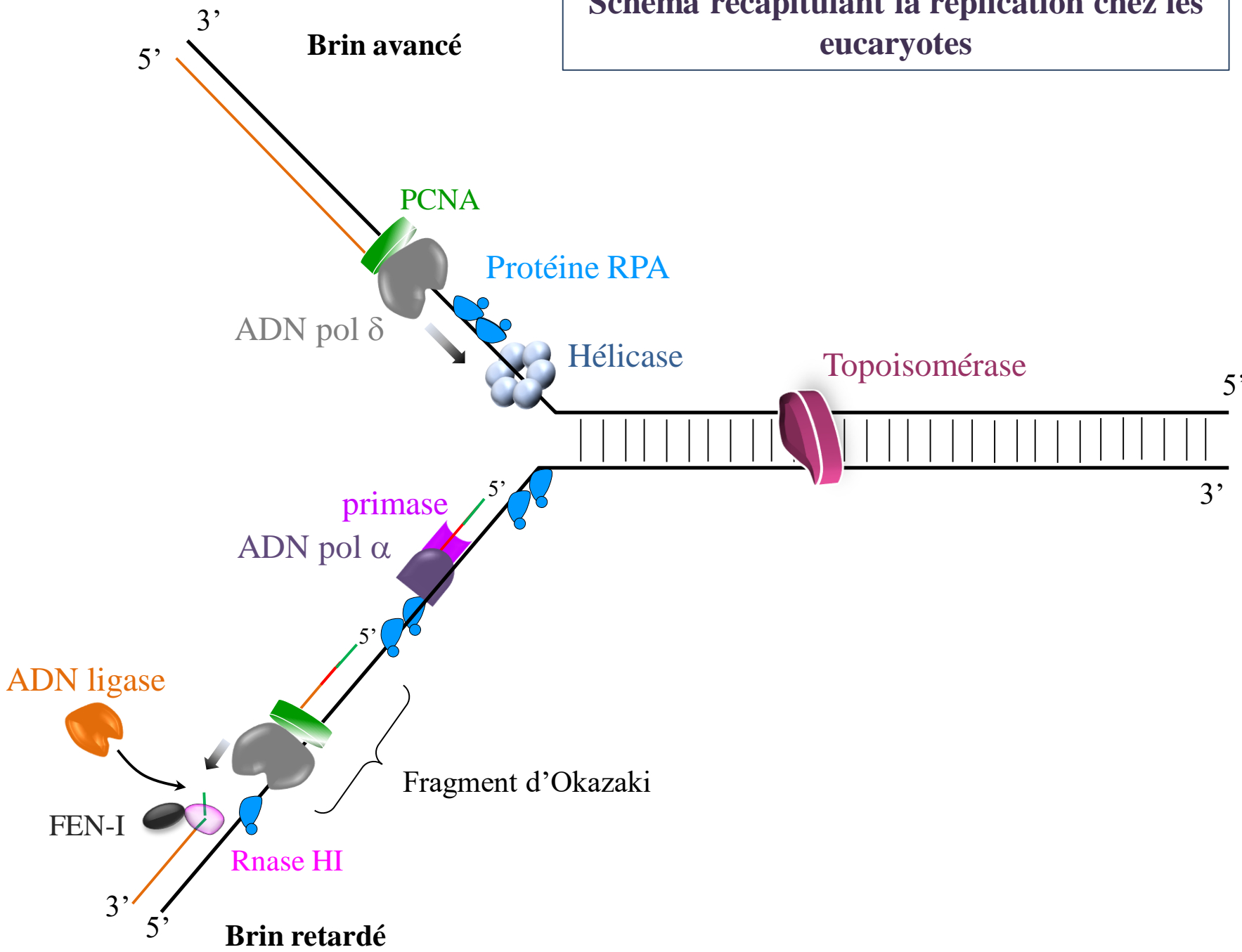
→ Réplicons : unité de réplication (100 – 200 Kpb)



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 récapitulatif de la réplication chez les eucaryotes



« Découverte du mécanisme de protection des chromosomes par les télomères et la télomérase »

Télomérases

Ribonucléoprotéine

Matrice d'ARN interne (~ 450 nt) en 5' -CUAACCCUAACC....

Activité rétro transcriptase

1. Appariement



2. Elongation

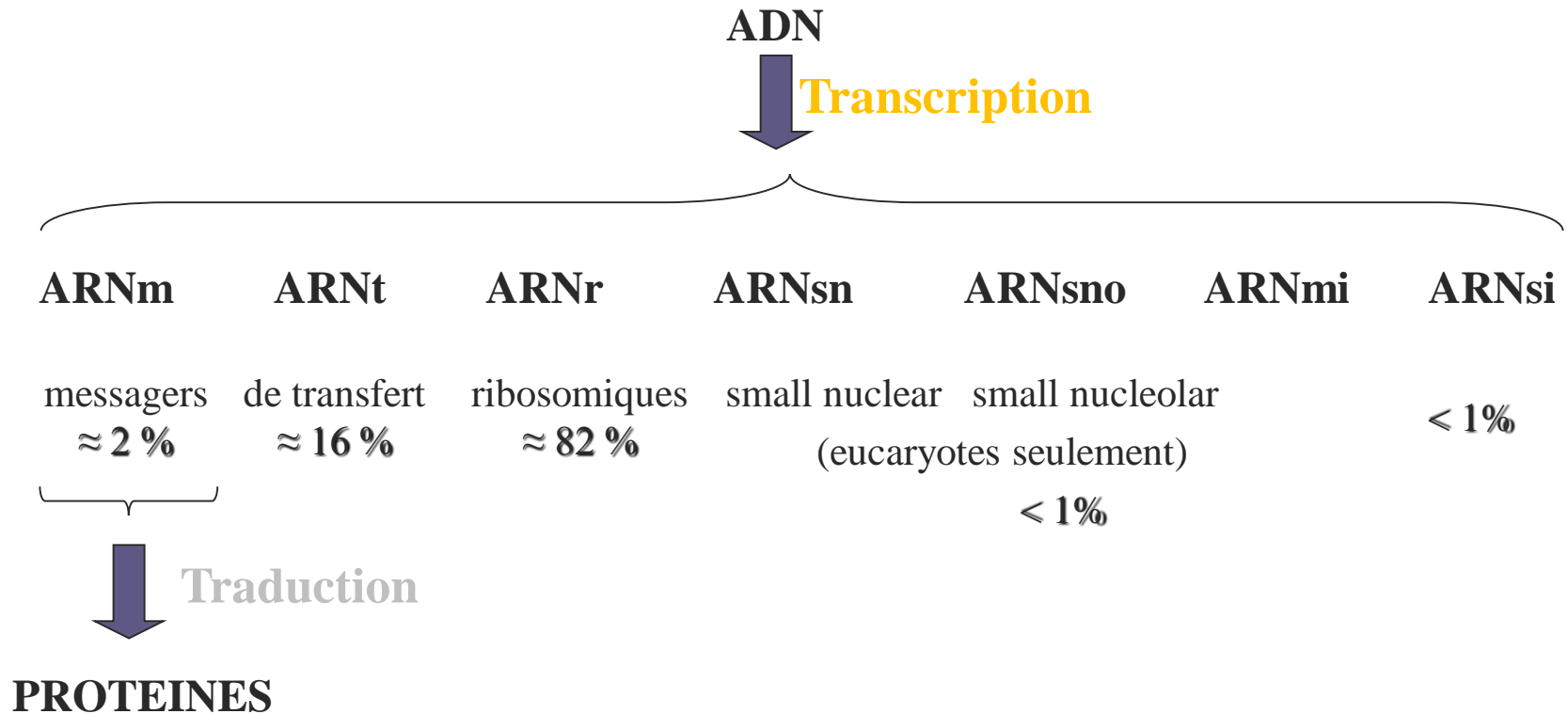


2. Translocation et élongation

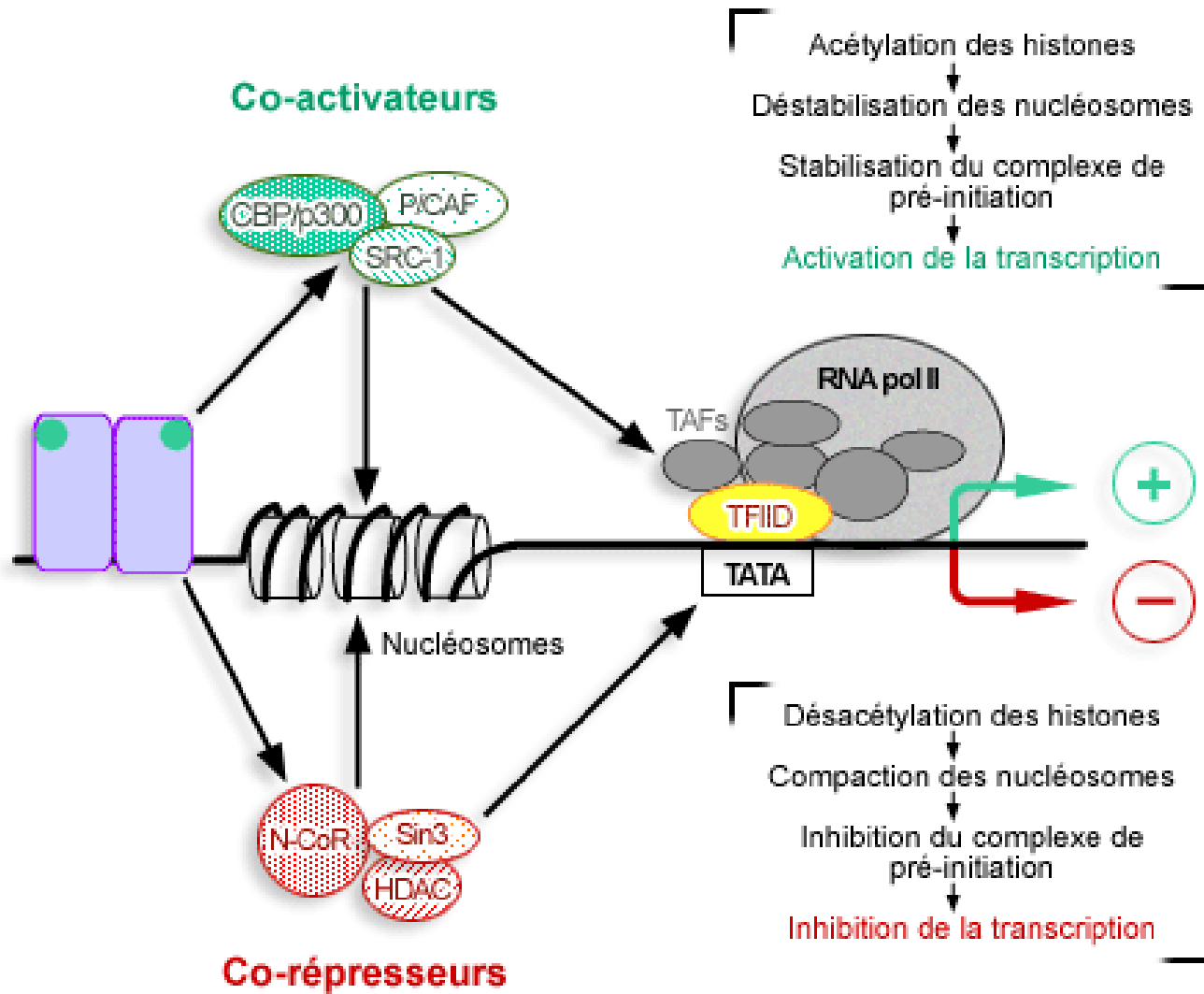


La transcription

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

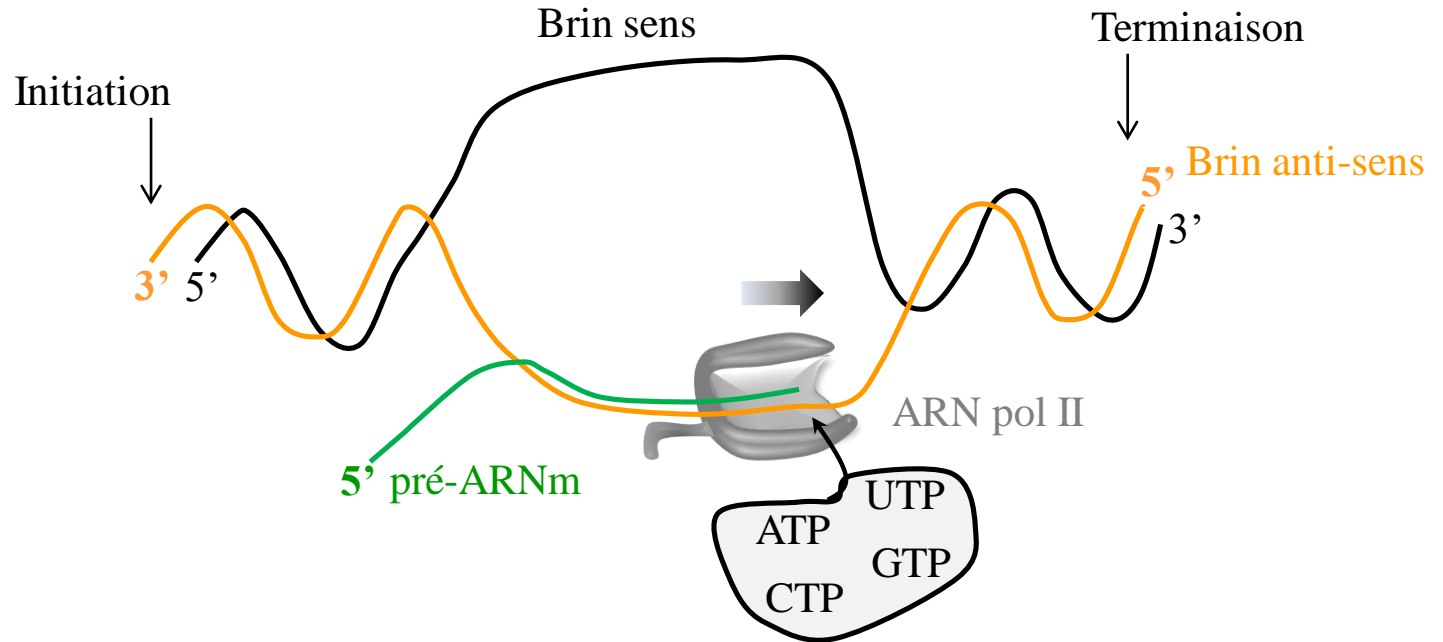


Conformation « active » de la chromatine



ARN polymérase ADN-dépendante

ARN polymérase I, II, III et IV

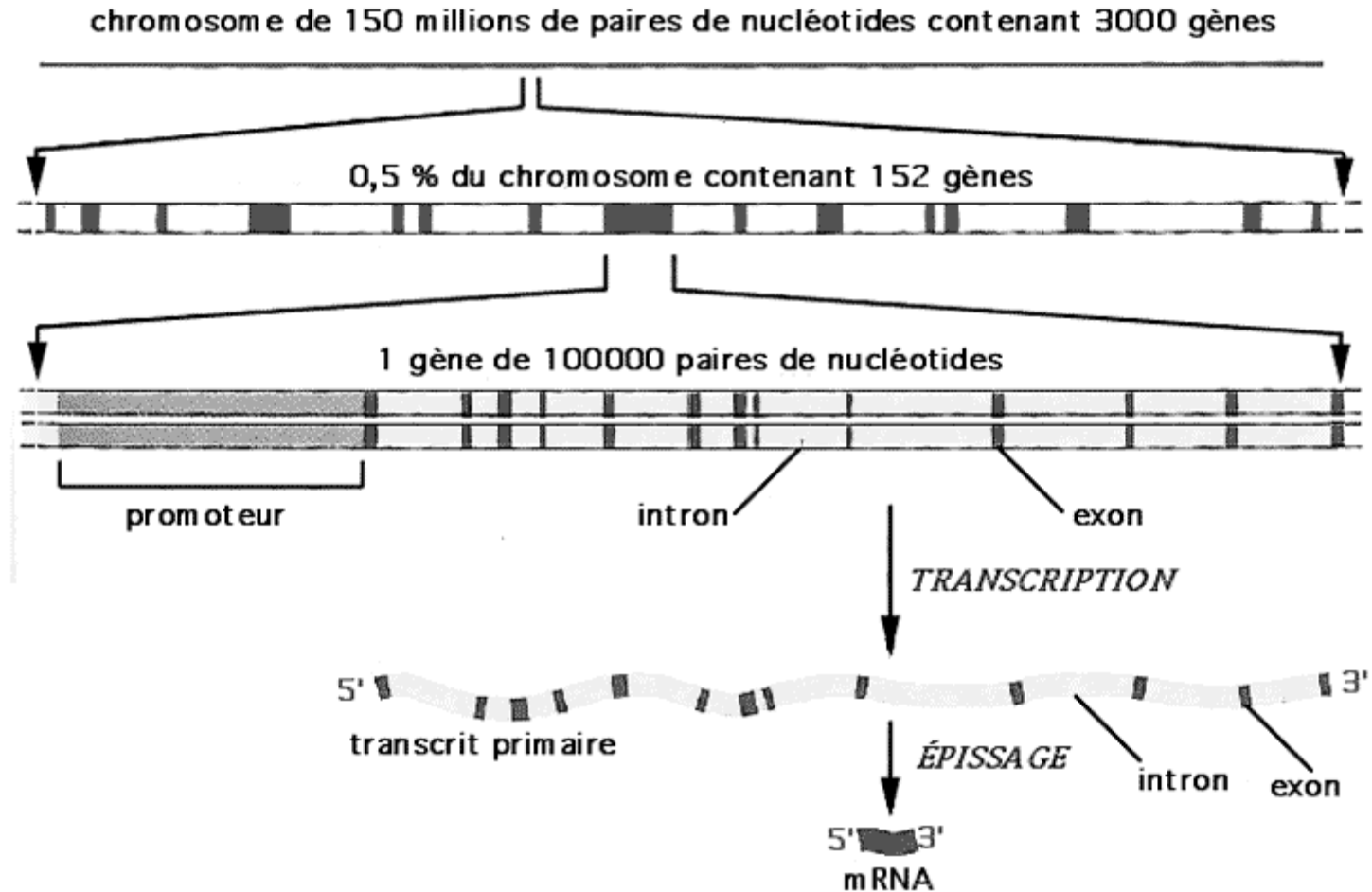


Elongation: 5' → 3', anti-parallèle au brin matrice et complémentaire

Pas besoin d'amorce

Matrice: les deux brins

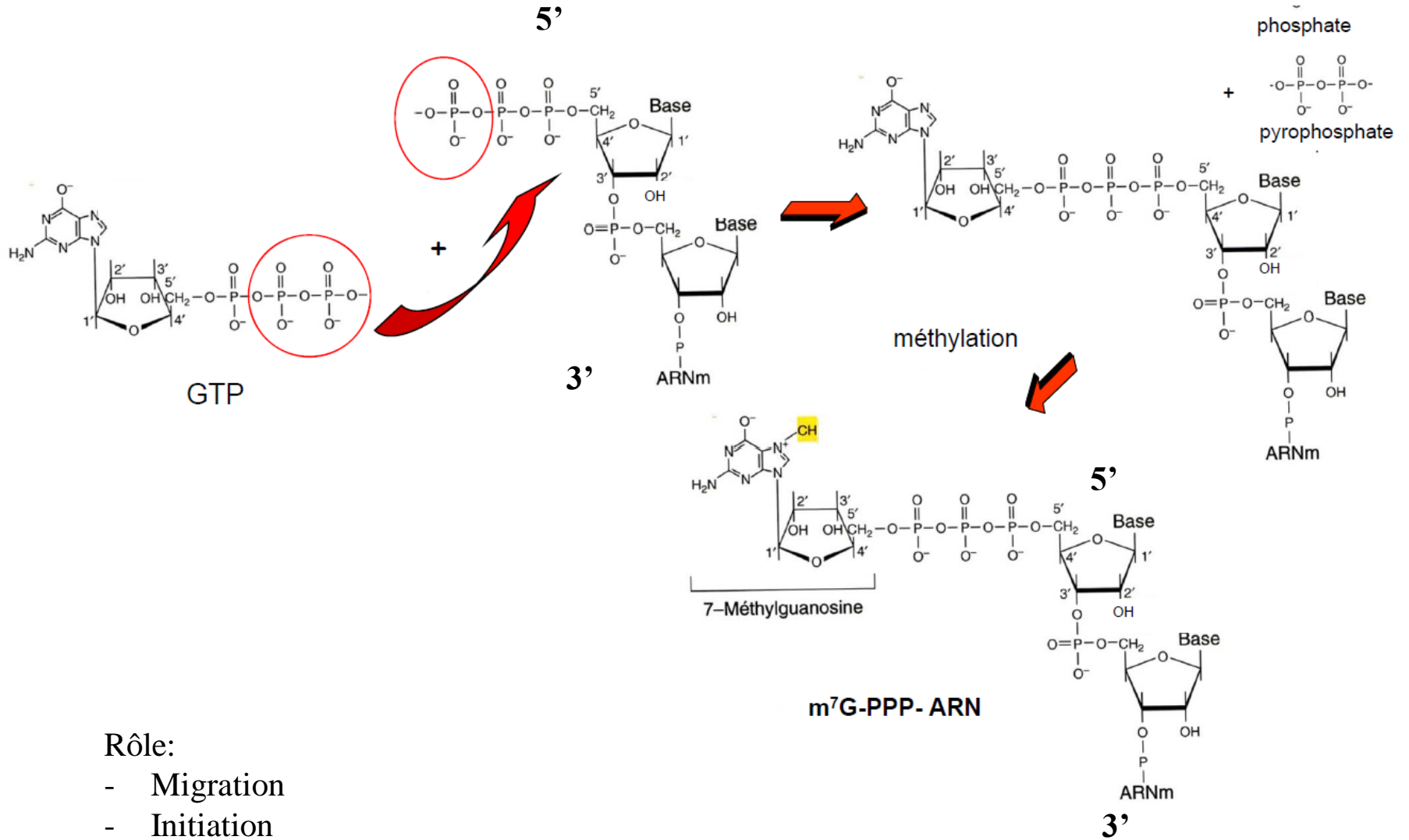
Répartition des gènes sur un chromosome



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

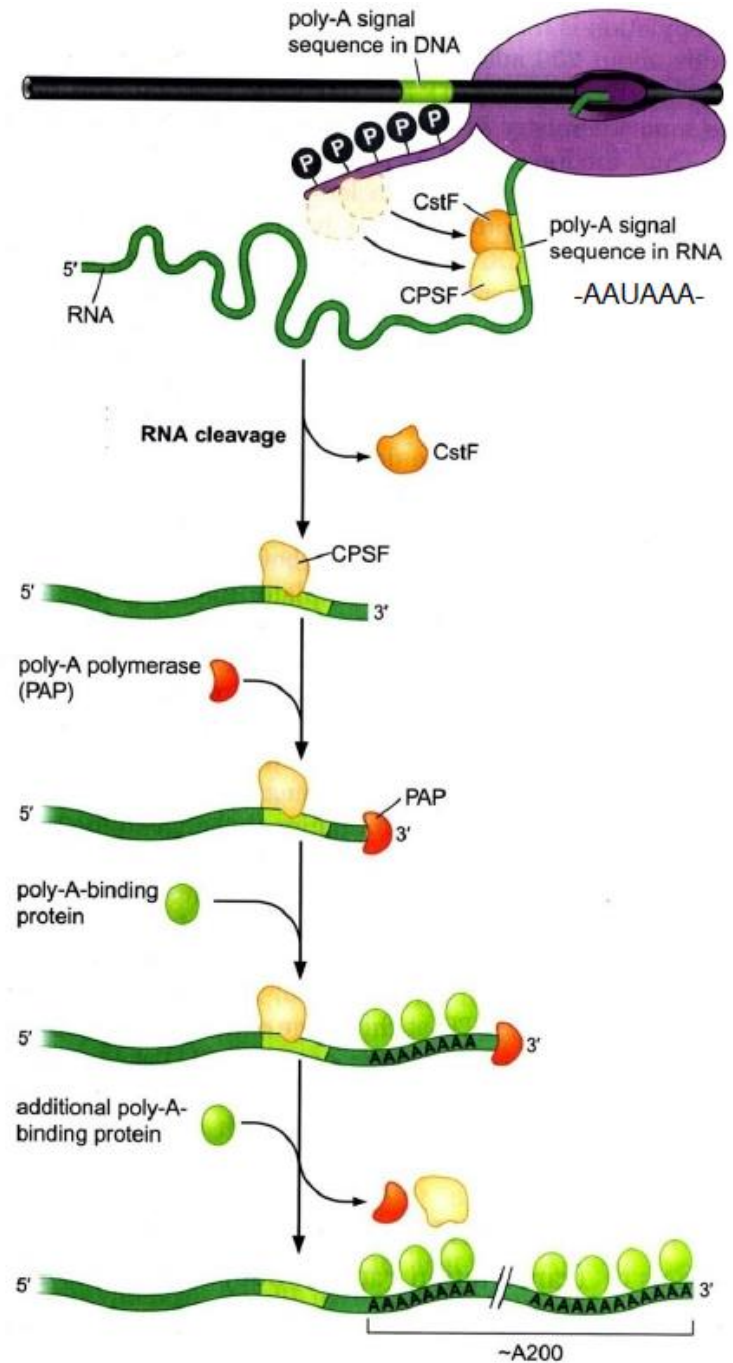
Modification en 5'



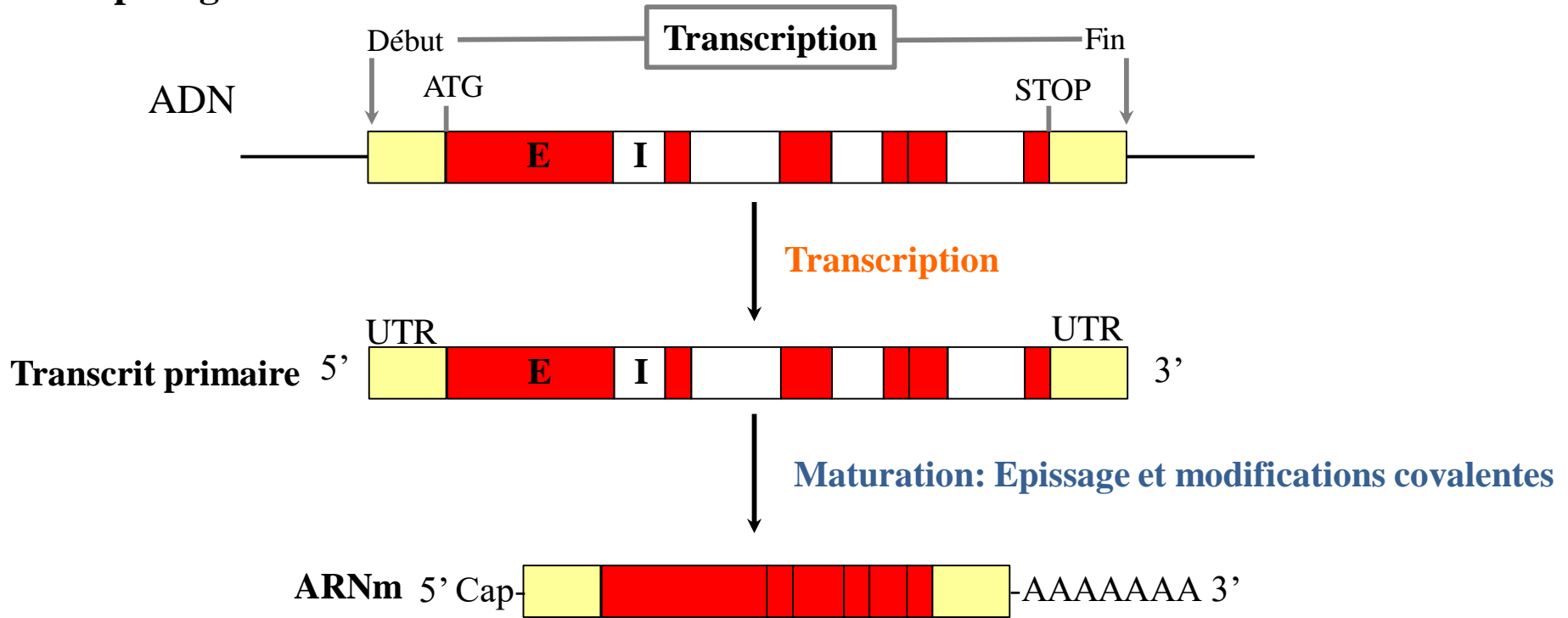
Rôle:

- Migration
- Initiation
- Stabilisation

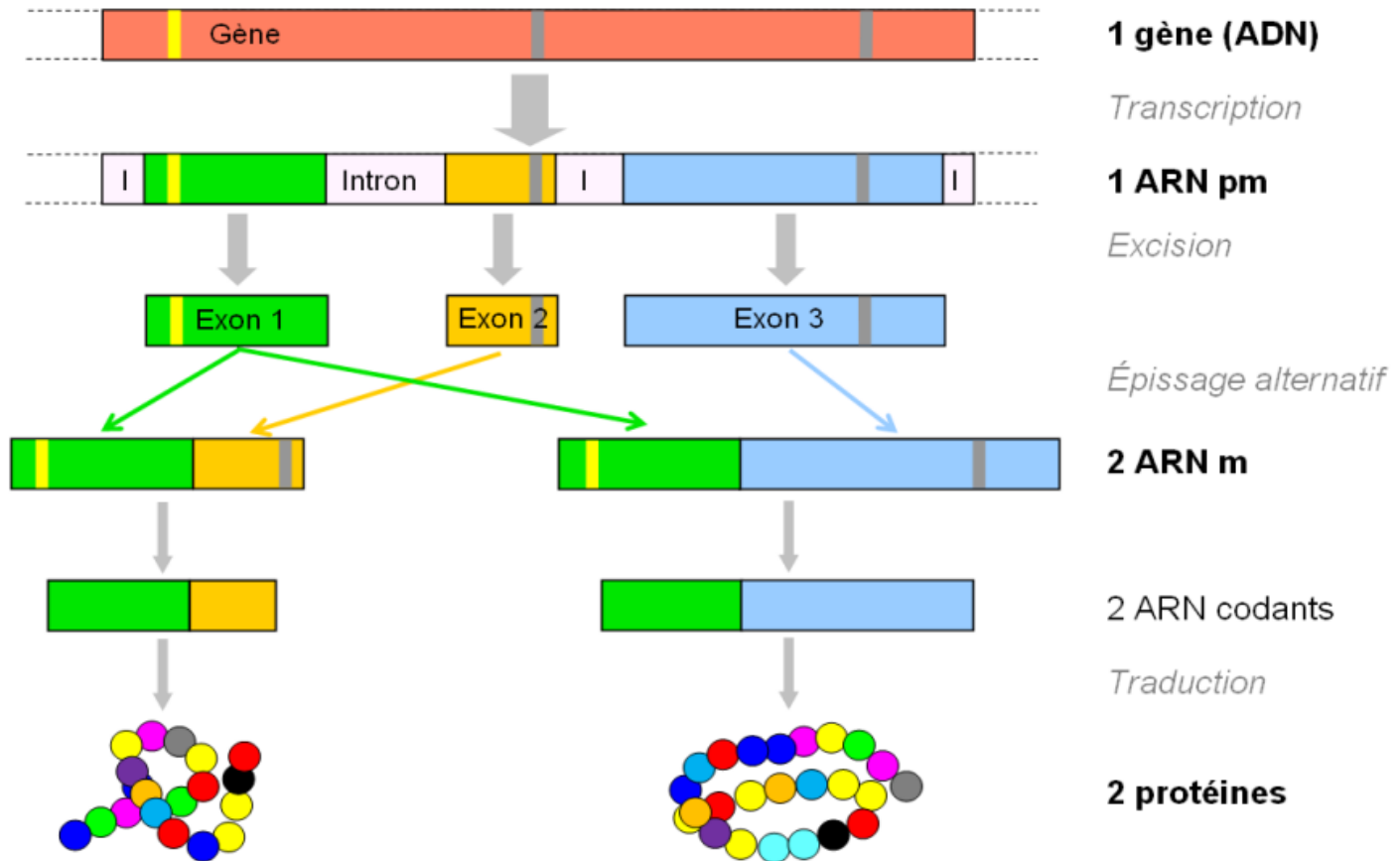
Modification en 3'



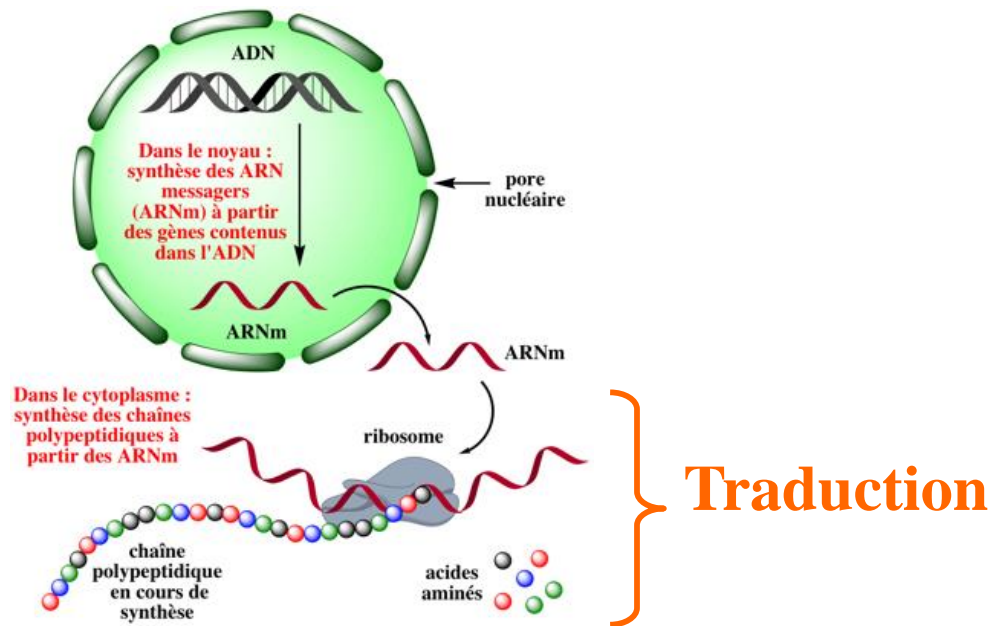
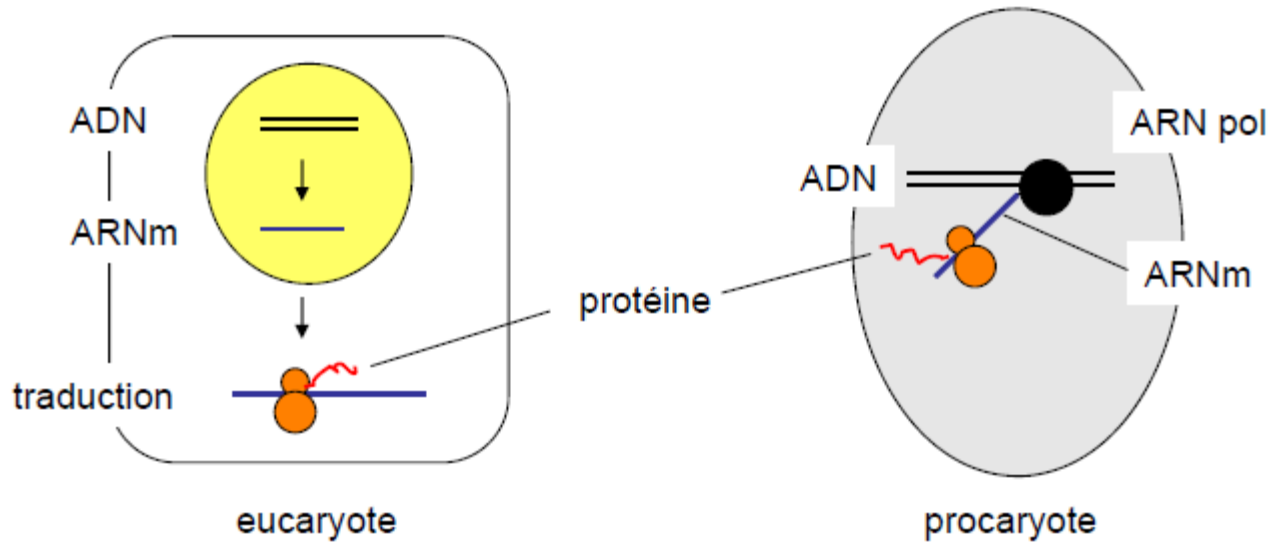
Epissage



Epissage alternatif



Transcription chez les eucaryotes vs procaryotes



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

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

ADN

G A T



ARNm

C U A



ARNt

G A U



Acide aminé

LEU

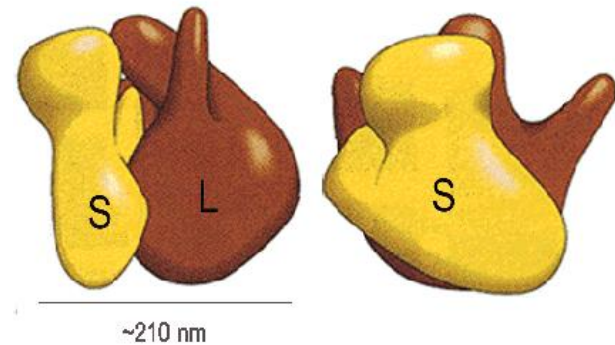
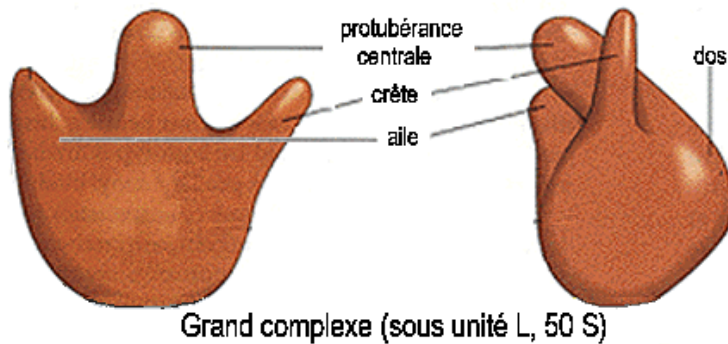
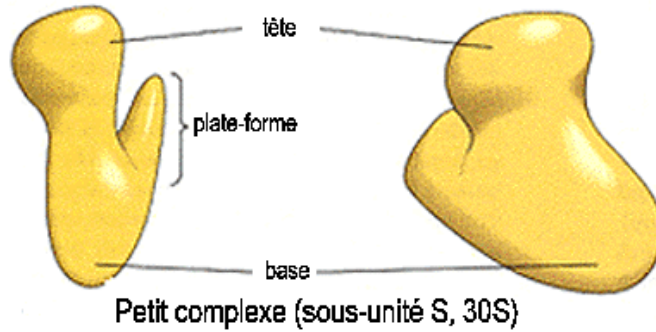
Troisième nucléotide

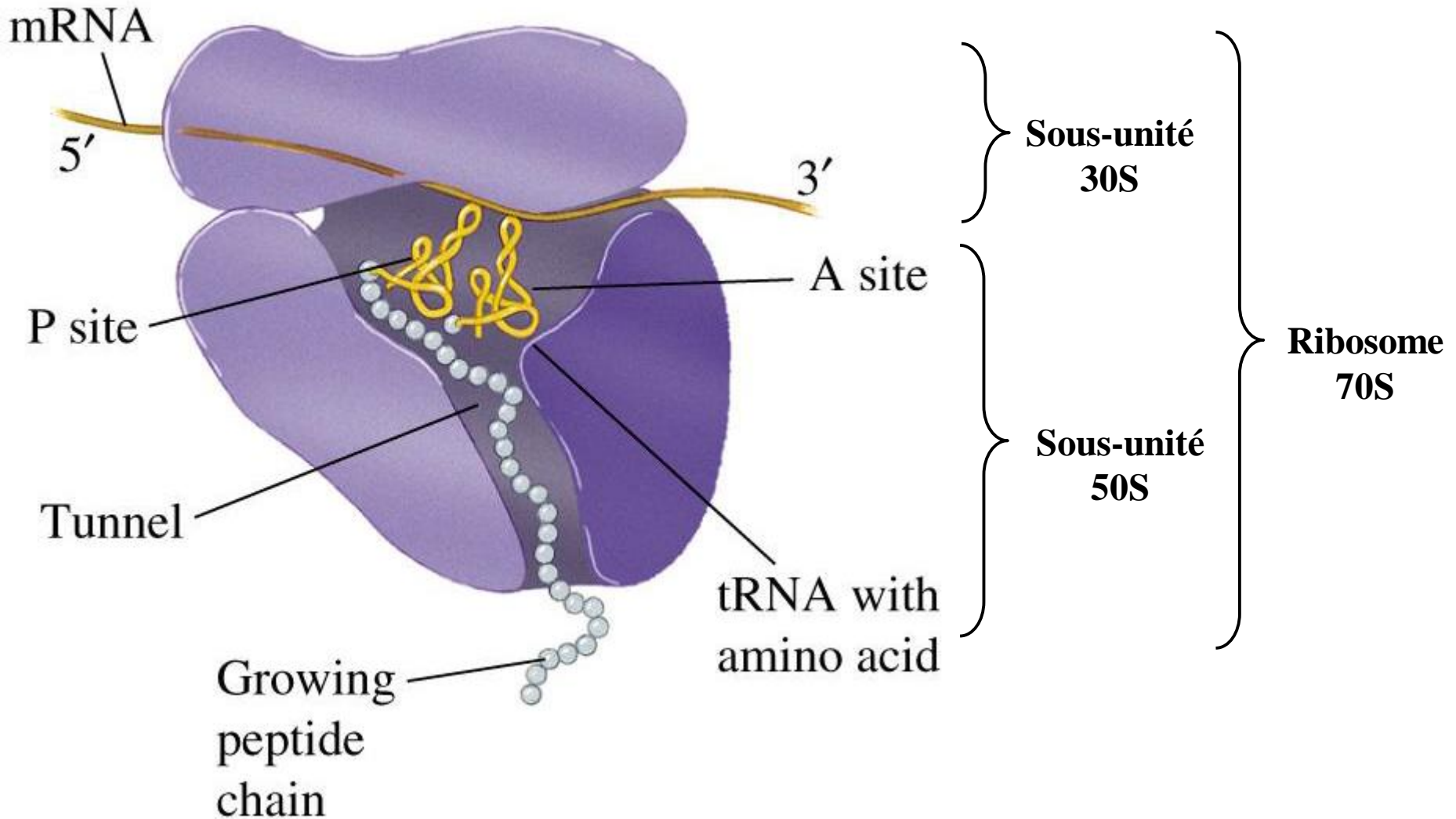
Il faut:

- ARNm
- Ribosome
- AA
- ARNt

Les ribosomes

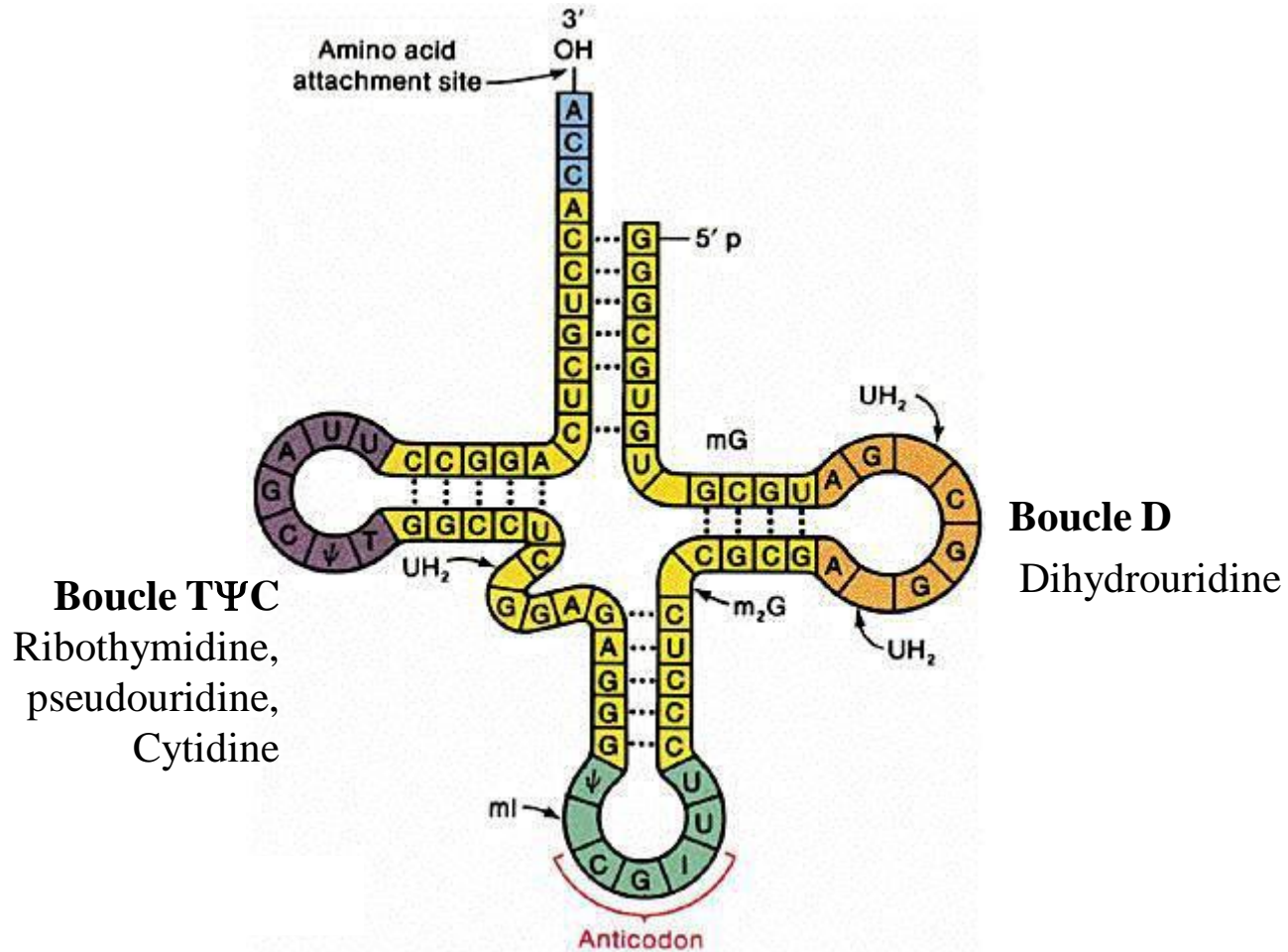
- Deux sous unités
- ARNr et protéines



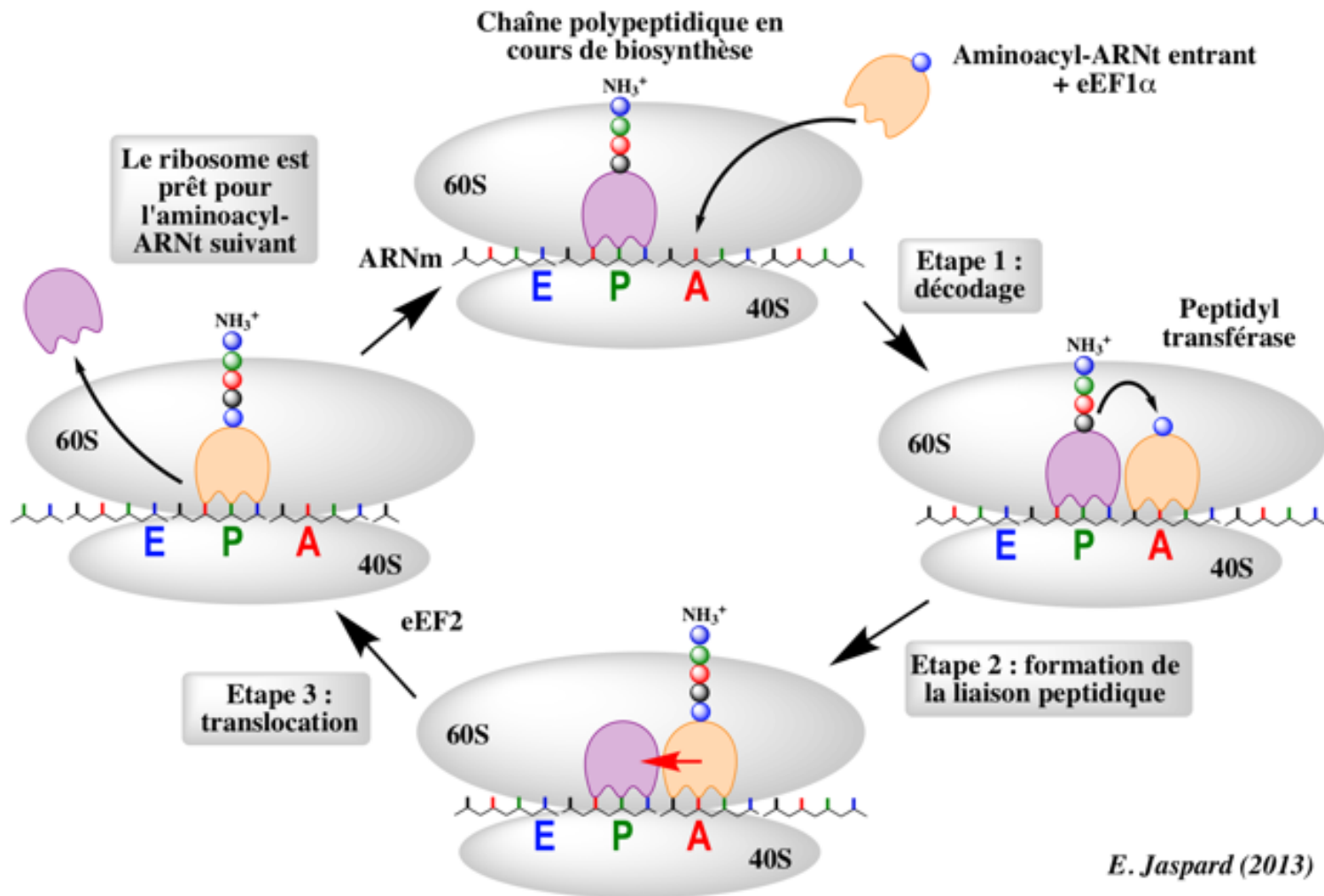


L'ARNt (ARN de transfert)

Structure en « feuille de trèfle »



2. Phase d'élongation



E. Jaspard (2013)

3. Phase de terminaison

Codon STOP : UAA, UAG ou UGA.

Coût énergétique:

Initiation: 1 GTP

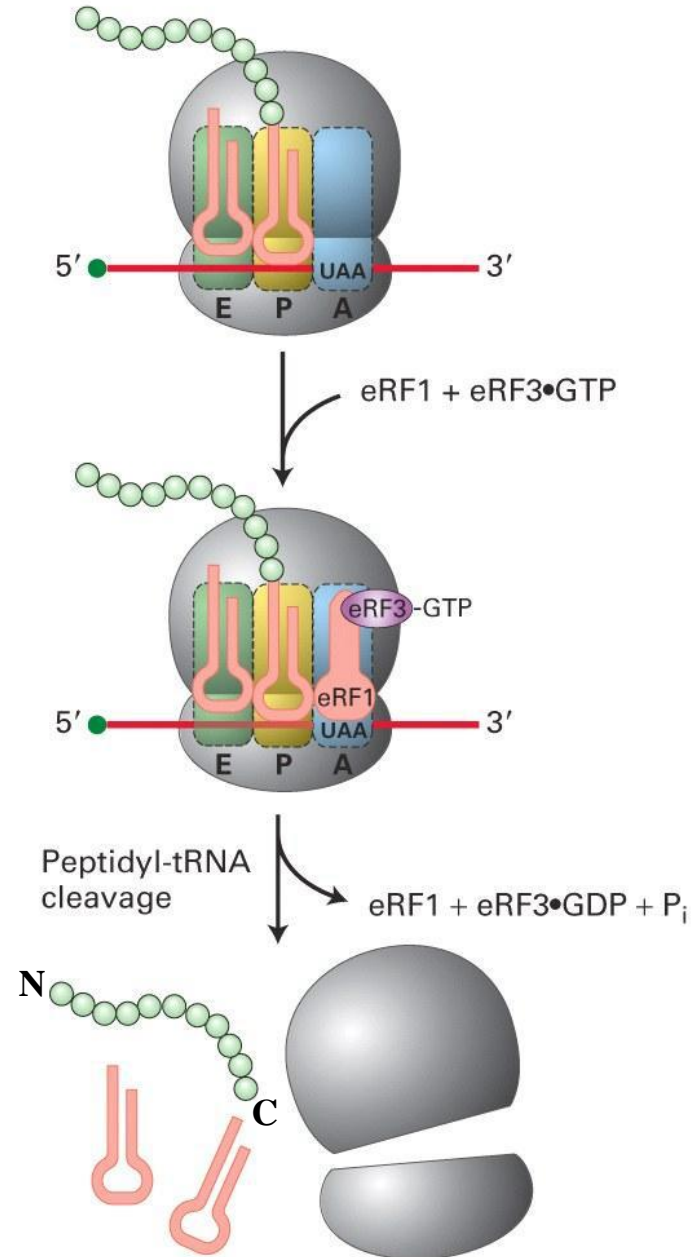
Incorporation tRNA-aminoacyl : 1 GTP

Translocation de chaque codon: 1 GTP

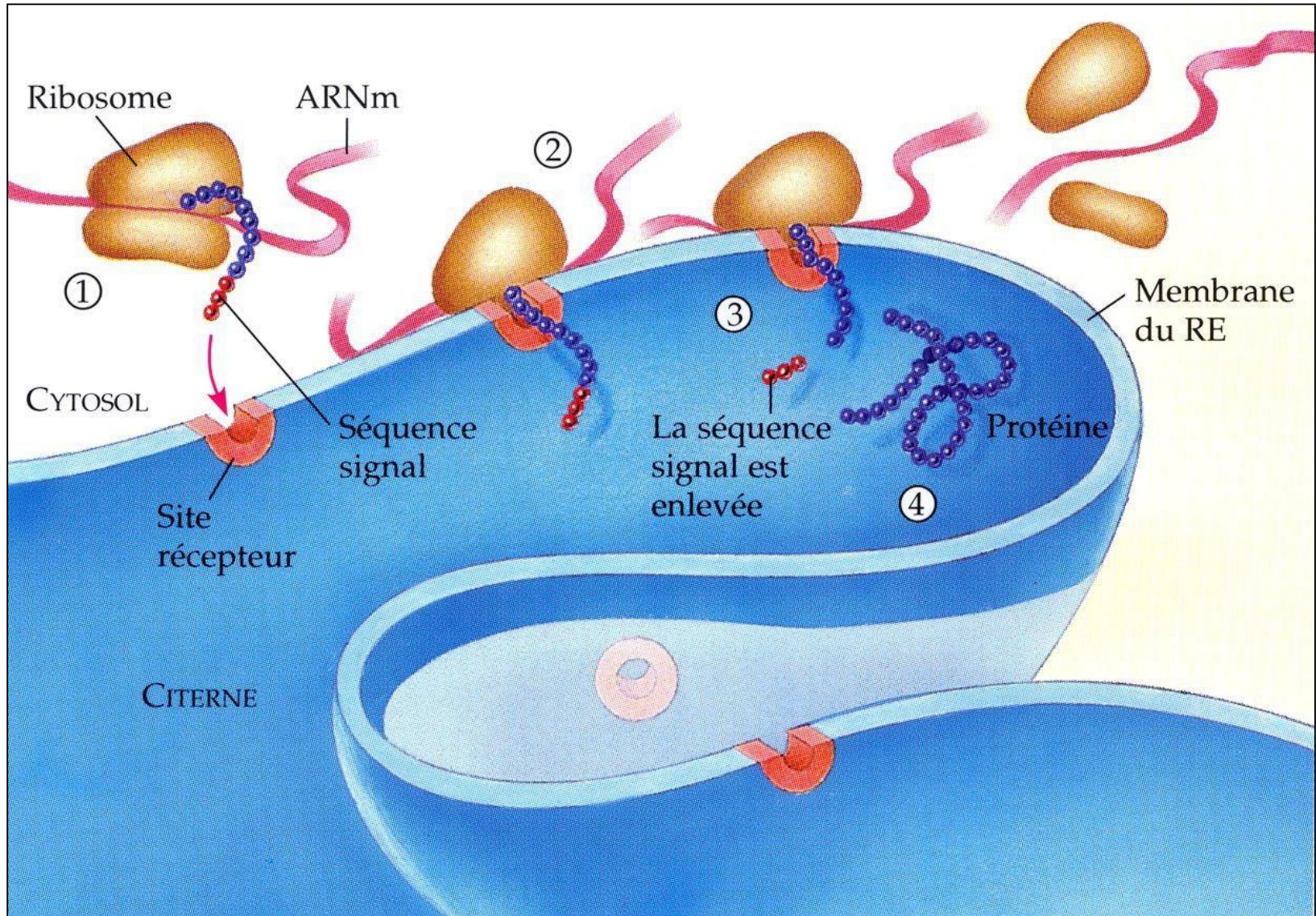
Terminaison : 1 GTP

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 !

