Les acides nucléiques

1. Introduction
2. Structure de l'ADN
3. Structure des ARN
4. Techniques d'études

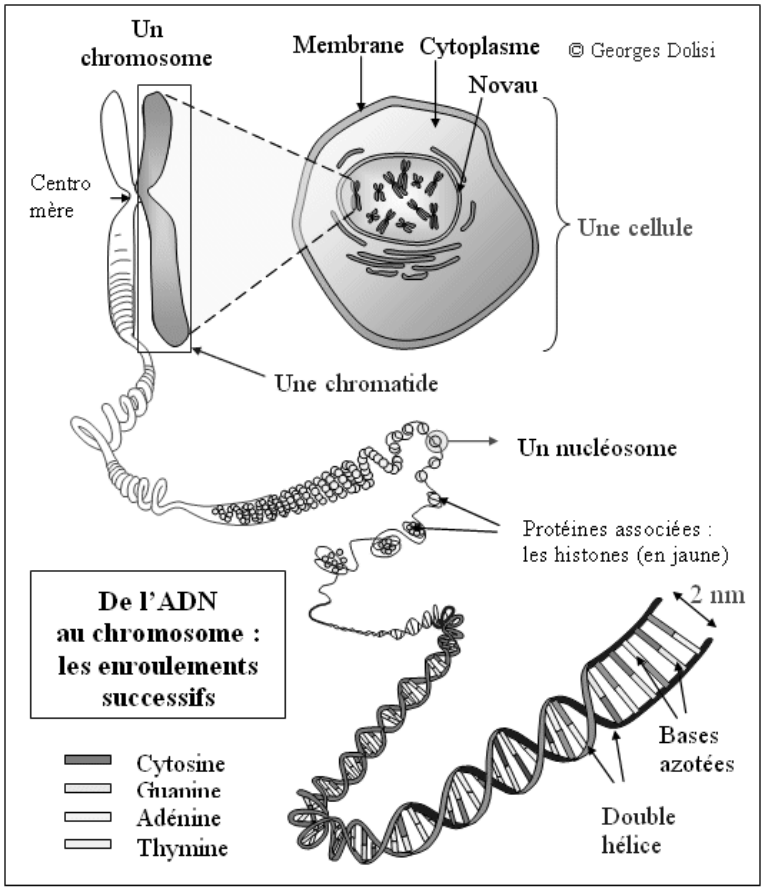
Introduction

- **Reproduction = propriété essentielle des êtres vivants**
- **Chaque génération → une copie du matériel génétique (*réplication*)**
- **Information portée par l'acide désoxyribonucléique (ADN)**
- **Utile que si exprimée :**

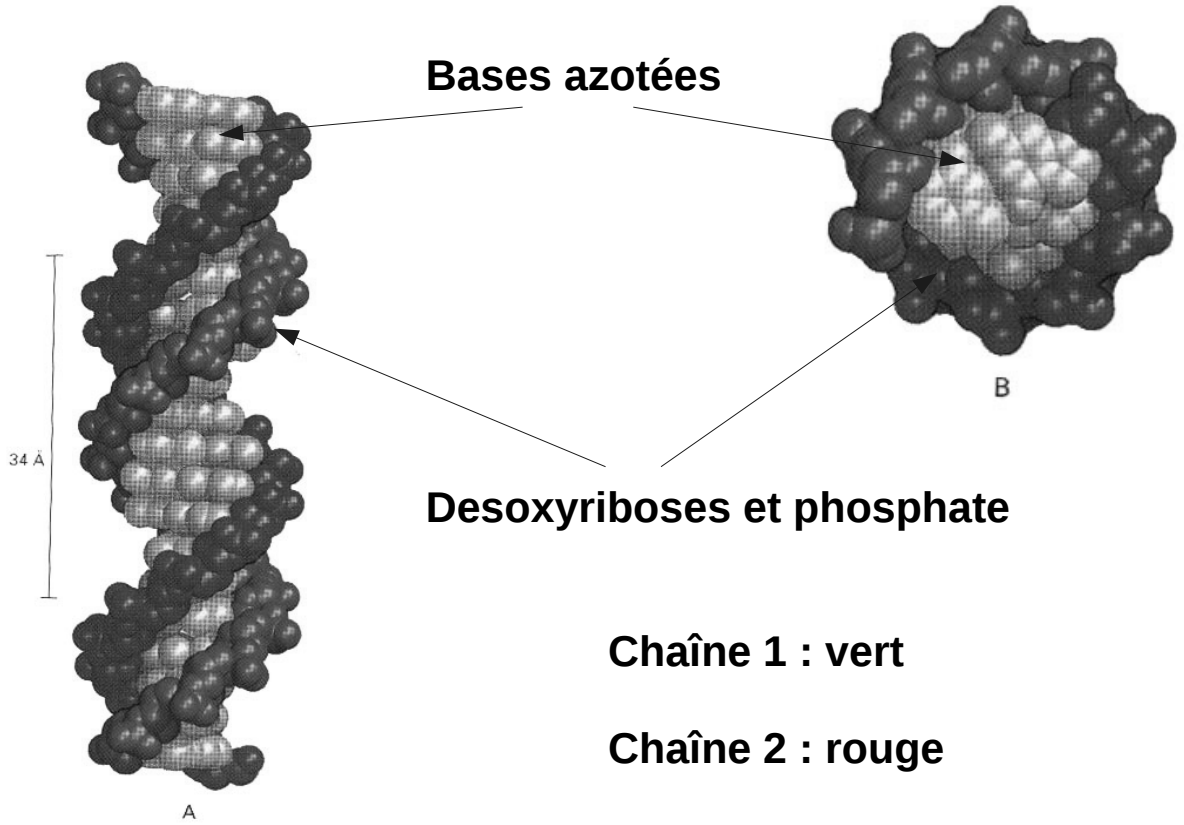
ADN —*transcription*→ **ARN** —*traduction*→ **Protéines**

Structure de l'ADN

Acide desoxyribonucléique



La double hélice



Chaîne 1 : vert

Chaîne 2 : rouge

Structure de l'ADN

1 molécule d'ADN → 2 chaînes (brins) « complémentaires »

- Bases azotées puriques et pyrimidiques
- Désoxyribose
- Phosphate (P)

} **Nucléotide**

Bases azotées = support de l'information génétique : ACGT

Désoxyribose + P = rôle structural

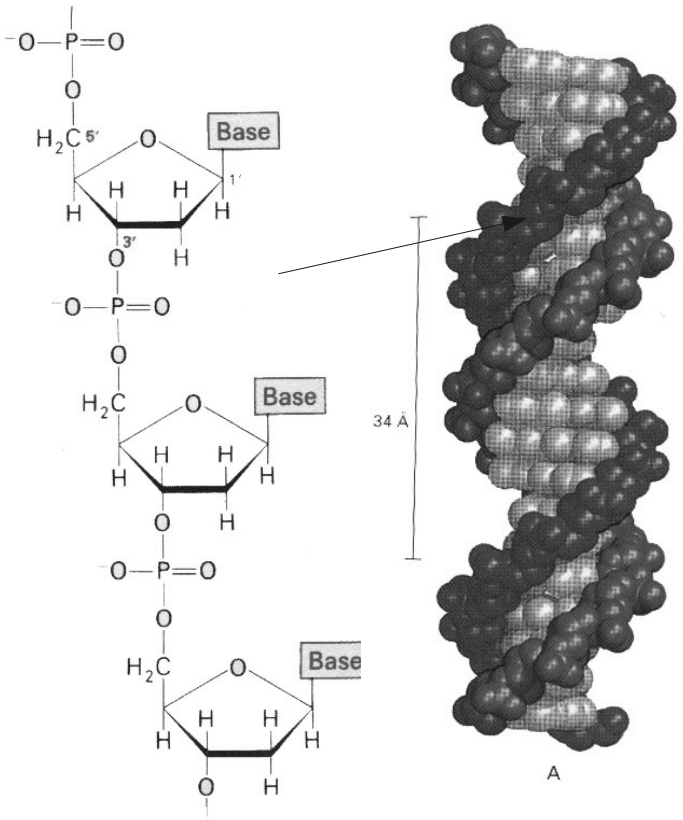
Division cellulaire : chaque brin sert de matrice

Les liaisons phosphodiesters

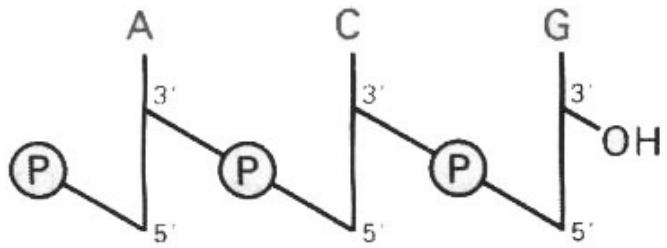
Nucléotides liés entre eux *via* les désoxyriboses

P : relie les positions 5’ et 3’ des désoxyriboses

Variabilité → nature de la base



Représentation de l'ADN



Représentation schématique :

*** Trait vertical = désoxyribose**

*** A, G, C, T = base**

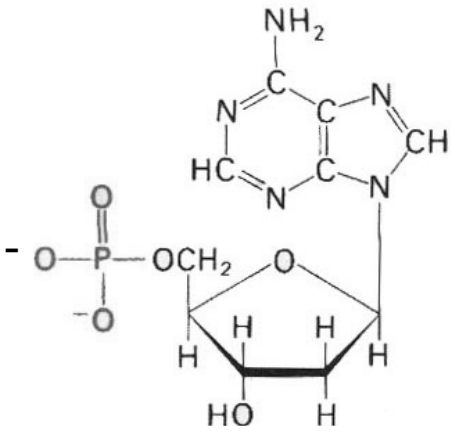
*** P = gpment phosphate**

Chaîne « polaire » : 1 extrémité 5'-P + 1 extrémité 3'-OH

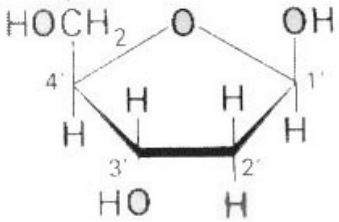
Convention : extrémité 5’ à gauche

Les nucléotides

base azotée + désoxyribose + P



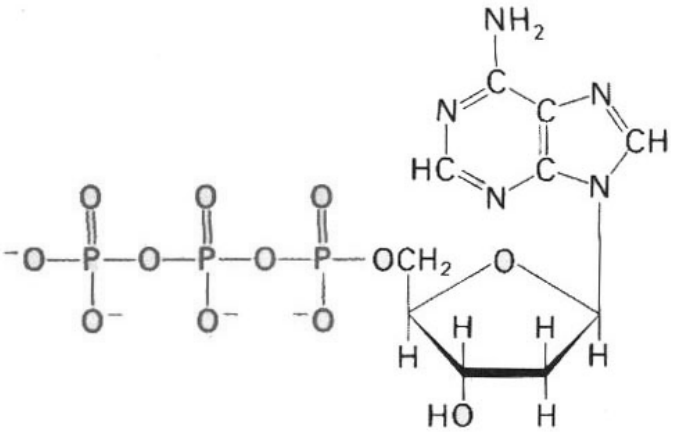
DesoxyAdenosine5`-monophosphate : un nucléotide (dAMP)



β-D-2- **Désoxyribose**

Les nucléotides

Nucléotide = nucléoside + 1 ou plusieurs P



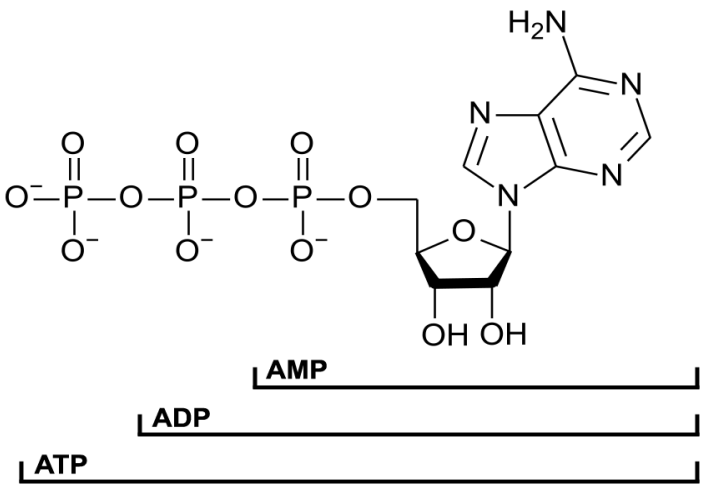
Désoxyadénosine 5'-triphosphate (dATP) (un nucléotide)

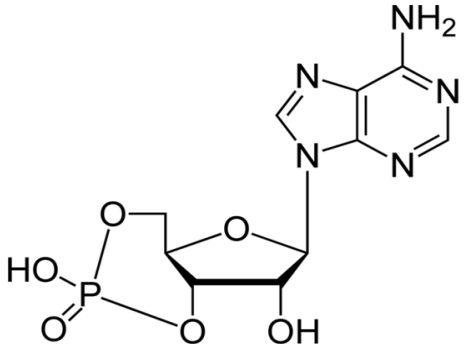
1P fixé en 5' = Nucléoside 5'P

dATP, dGTP, dCTP et dTTP = précurseurs de la synthèse d'ADN

Les nucléotides

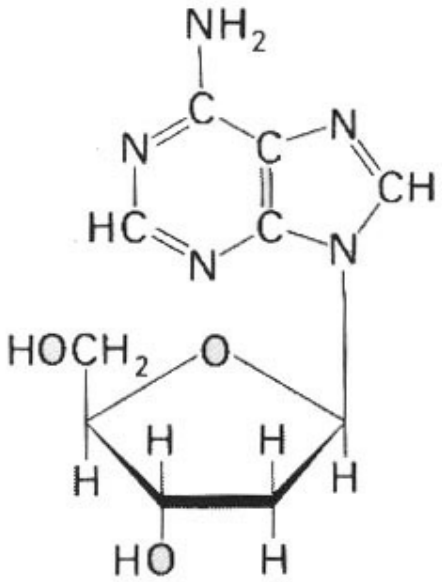
Nucléotide = nucléoside + 1 ou plusieurs P





AMP cyclique

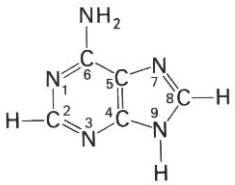
Les quatre nucléosides



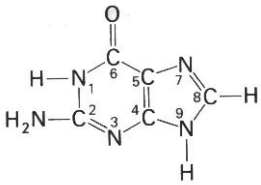
Désoxyadénosine (un nucléoside)

Nucléoside = base azotée
+
désoxyribose

Les quatre bases

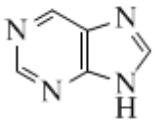


Adénine
(A)

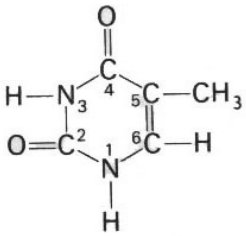


Guanine
(G)

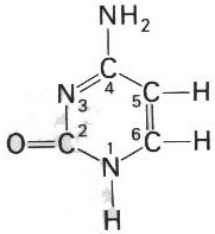
Bases puriques :
Adénine (A) et Guanine (G)



Purine

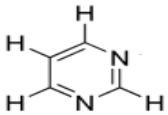


Thymine
(T)



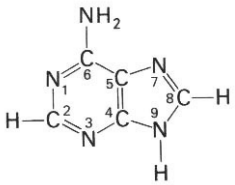
Cytosine
(C)

Bases pyrimidiques :
Thymine (T) et Cytosine (C)

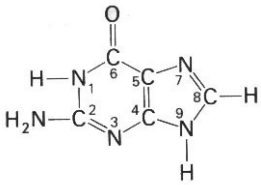


Pyrimidine

Bases puriques

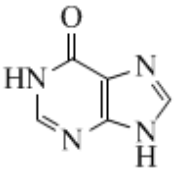


Adénine
(A)

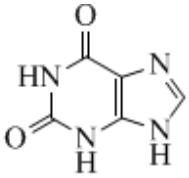


Guanine
(G)

Bases puriques :
Adénine (A) et Guanine (G)



Hypoxanthine



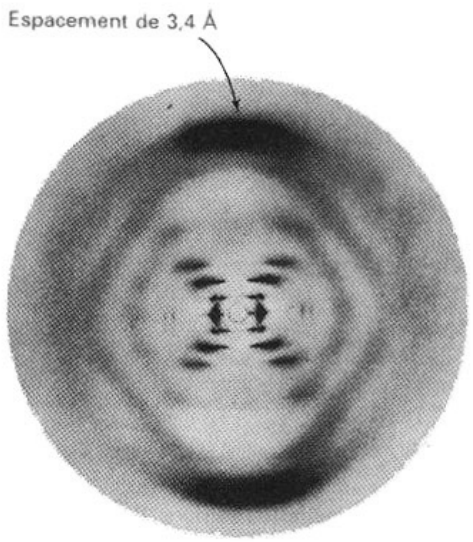
Xanthine

Bases puriques rares (ARN)

Nomenclature

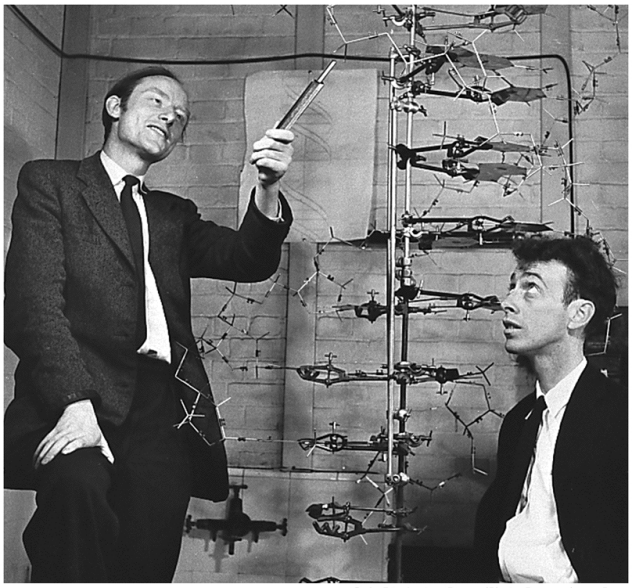
Base	Nucléoside (Base + Ose)		Nucléotide (Base + Ose + Phosphate)	
	ribose	*désoxyribose*	*ribose*	*désoxyribose*
Uracile (U)	uridine	—	UMP	—
Thymine (T)	thymidine	désoxythymidine	TMP	dTMP
Cytosine (C)	cytidine	désoxycytidine	CMP	dCMP
Adénine (A)	adénosine	désoxyadénosine	AMP	dAMP
Guanine (G)	guanosine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

Structure de l'ADN

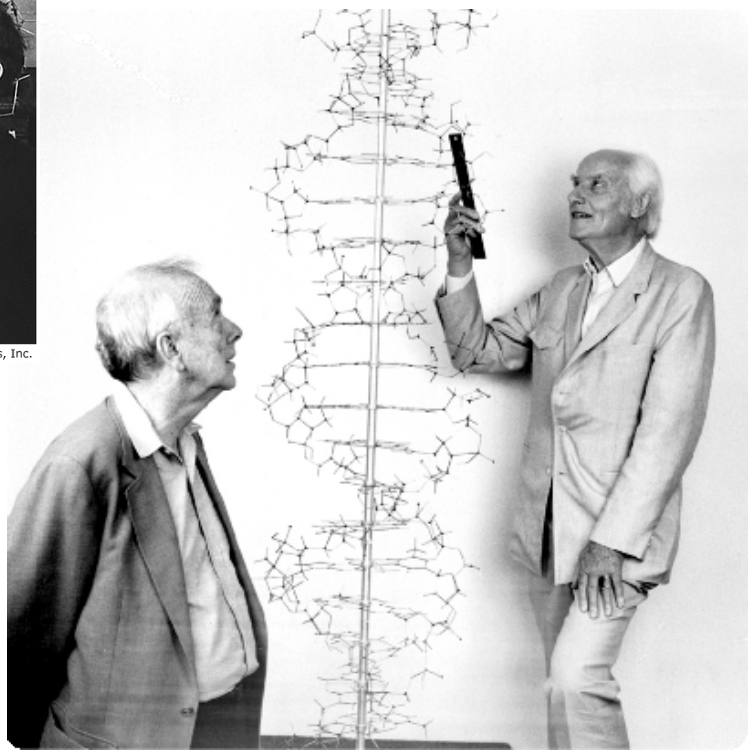


Clichés Rayons X de Wilkins

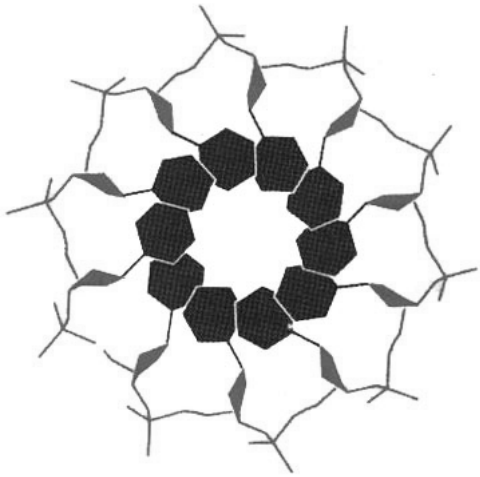
Structure en double hélice découverte en 1953 par Watson et Crick



© A. Barrington Brown/Photo Researchers, Inc.



La double hélice



Enroulement d'un seul brin : bases en bleu

Glucides et P en rouge

Hypothèses du modèle (1953) :

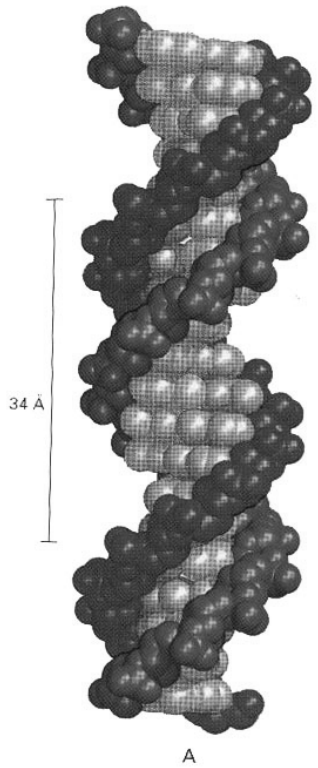
Enroulement de 2 chaînes anti-parallèles

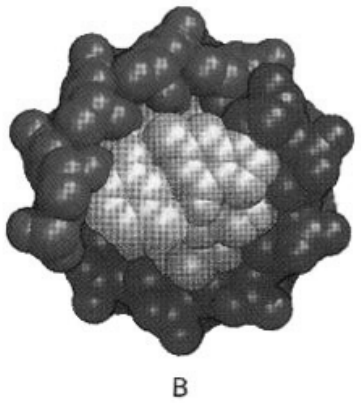
bases à l'intérieur
P et sucres à l'extérieur

Symétrie d'ordre 10 : 1 base / 36°

1 tour = 10 bases
= 34 Å

La double hélice

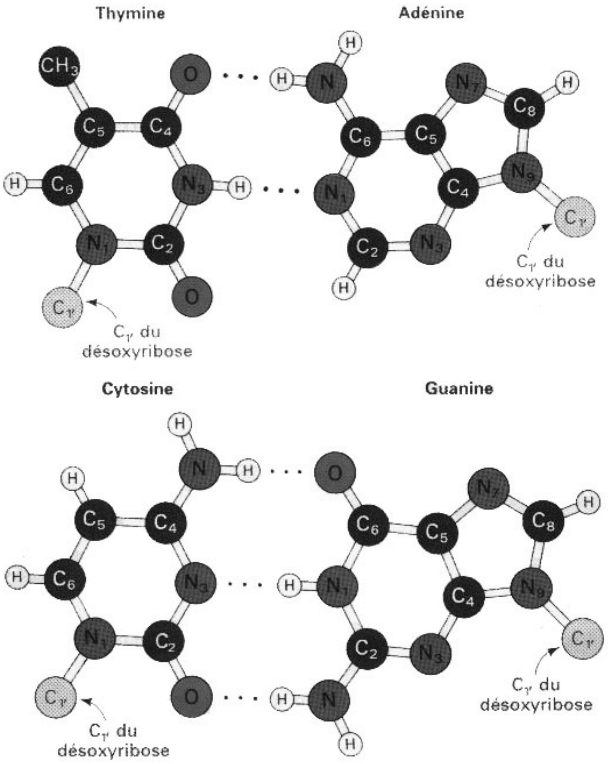




Chaîne 1 : vert

Chaîne 2 : rouge

Appariement des bases

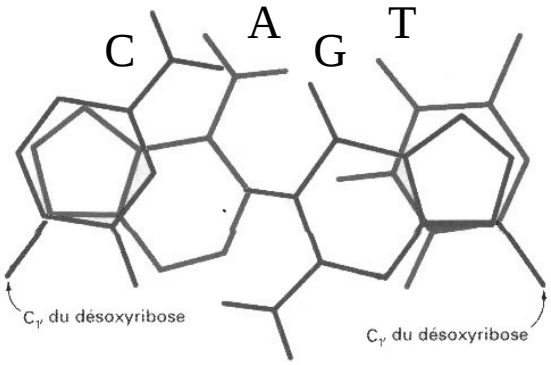


Bases reliées entre elles par des liaisons H

A – T (2 liaisons H)

G – C (3 liaisons H)

Spécificité de l'appariement des bases

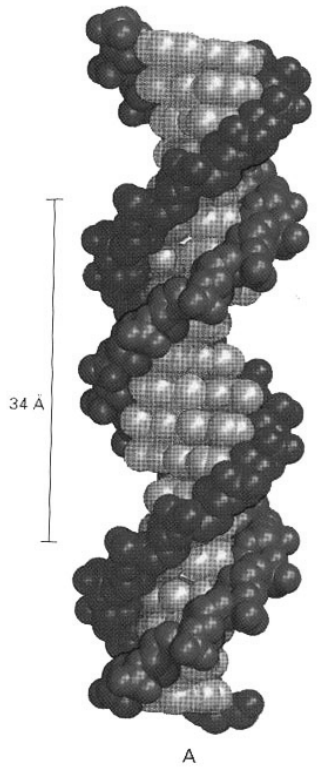


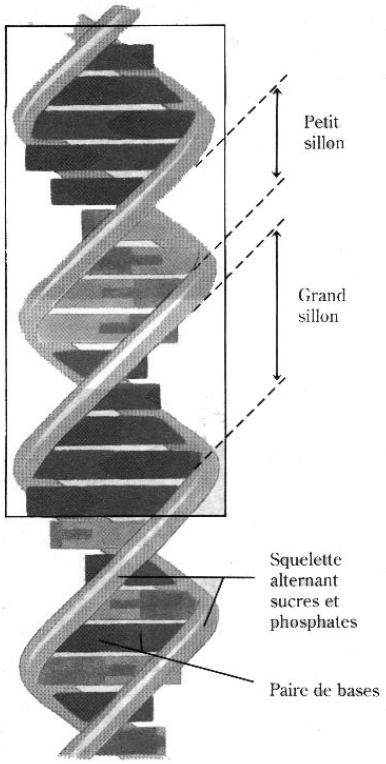
Facteurs stériques => spécificité de l'appariement des bases

Seuls les couples AT et GC sont possibles

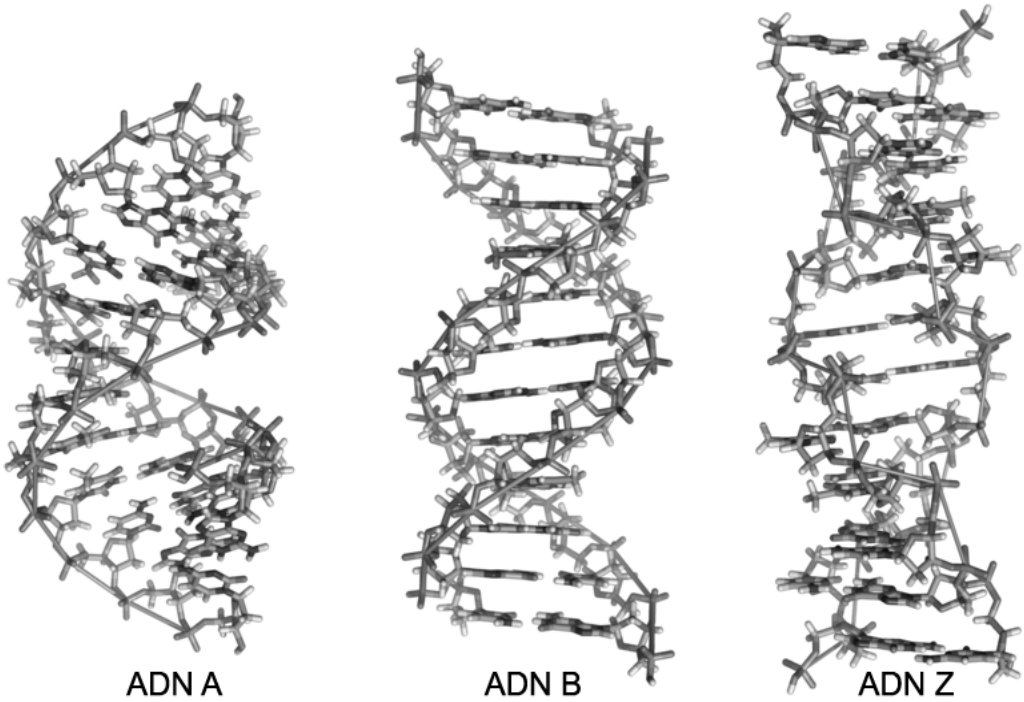
Les 2 chaînes sont distantes de 10,4 Å

Petit sillon - Grand sillon

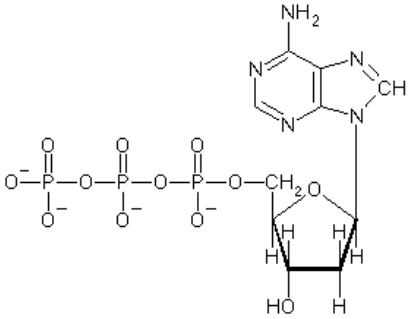




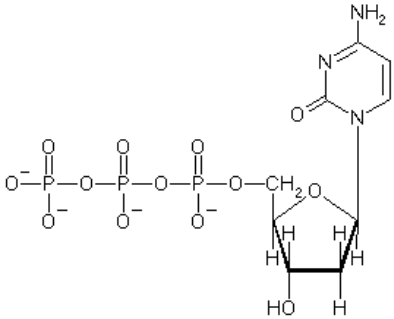
ADN A & Z : autres formes de l'ADN



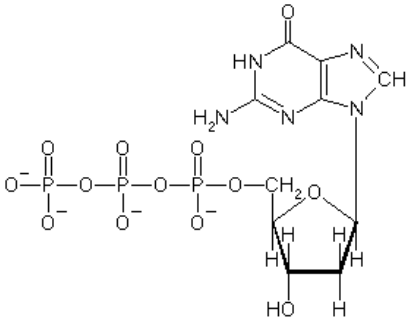
hélices mixtes ADN:ARN



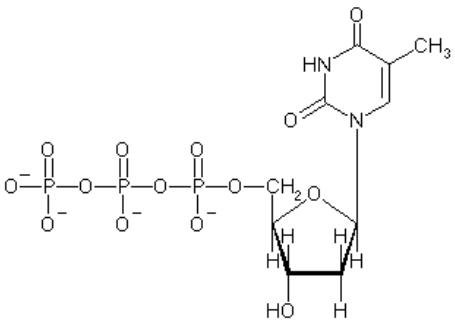
Deoxyadenosine 5'-triphosphate
(dATP)



Deoxycytidine 5'-triphosphate
(dCTP)



Deoxyguanosine 5'-triphosphate
(dGTP)



Deoxythymidine 5'-triphosphate
(dTTP)

Structure en double hélice => réplication

- **Modèle de réplication « semi-conservatif » :**

  Ordre des bases : code pour l'information génétique

  Une chaîne complémentaire de l'autre

  Réplication : rupture des liaisons H

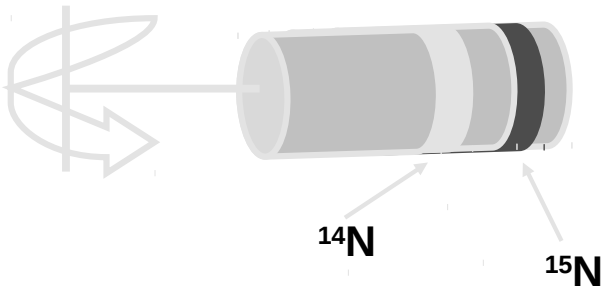
  Chaque chaîne = matrice pour la synthèse d'une chaîne complémentaire

Expérience de Meselson et Stahl

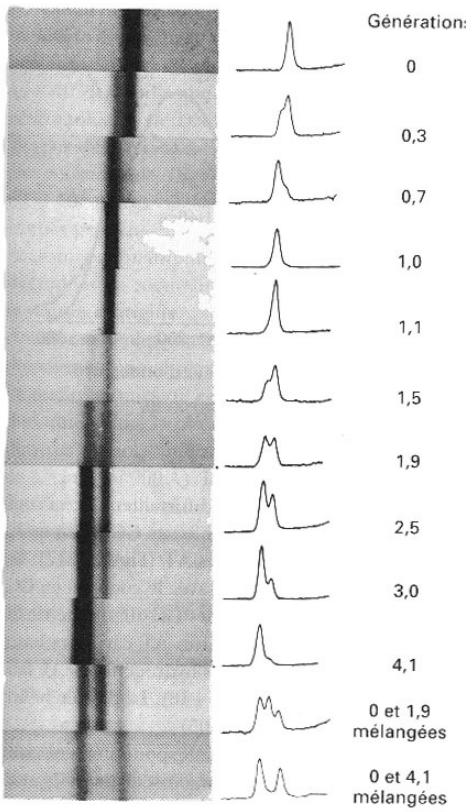
ADN marqué avec du ^{15}N (culture dans un milieu ne contenant que du ^{15}N)

A T=0, transfert de la culture en ^{14}N et observation de la densité de l'ADN en fonction des générations

ADN ^{15}N + dense que l'ADN ^{14}N : séparation possible par centrifugation

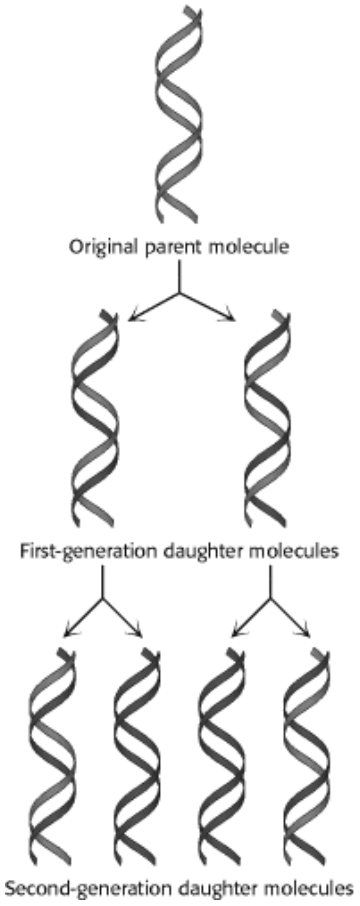


Expérience de Meselson et Stahl



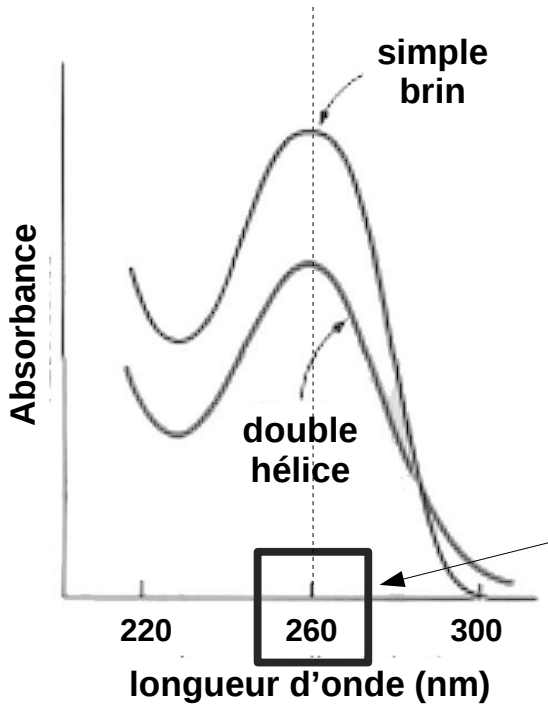
- **T0 : 1 seule bande d'ADN ^{15}N**
- **1ère génération : 1 bande ayant une densité intermédiaire entre ^{15}N et ^{14}N**
- **2ème génération : 2 bandes (une de densité ^{14}N, l'autre intermédiaire)**
- **>4 générations : ADN essentiellement de densité ^{14}N**

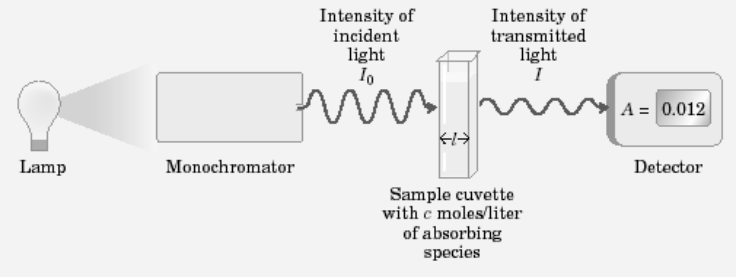
Expérience de Meselson et Stahl



- **T0 : une seule bande d'ADN ^{15}N**
- **1ère génération : 1 bande ayant une densité intermédiaire entre ^{15}N et ^{14}N**
- **2ème génération : 2 bandes (une de densité ^{14}N, l'autre intermédiaire)**

Absorbance et Structure de l'ADN



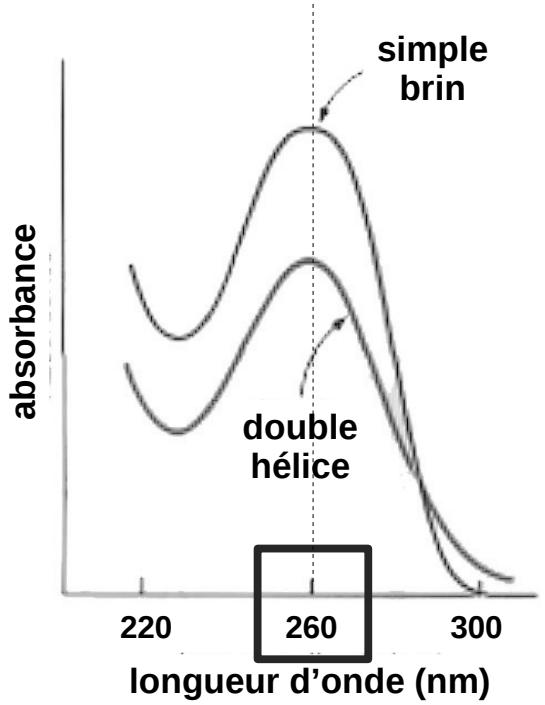


<--Spectre d'absorption
Abs=f(longueur d'onde)
Max d'absorbance à 260 nm
≠Trp (280 nm)

Abs=εl[C] (loi de Beer-Lambert)

$\varepsilon_{\text{simple brin}} > \varepsilon_{\text{double brin}}$ (+ 25%)

Absorbance et Structure de l'ADN



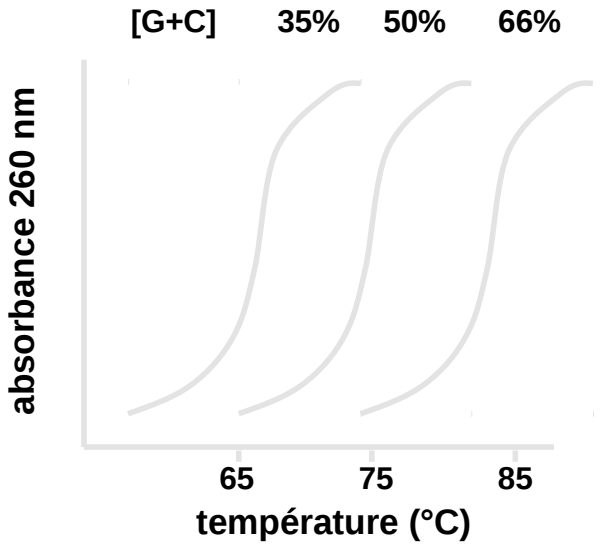
$\varepsilon_{\text{simple brin}} > \varepsilon_{\text{double brin}}$ (+ 25%)

Brins d 'ADN peuvent se dissocier => rupture des liaisons H

↑ température ou pH extrême

Température de fusion (Tm) : 50% de l'ADN est dénaturé

Fusion de l'ADN

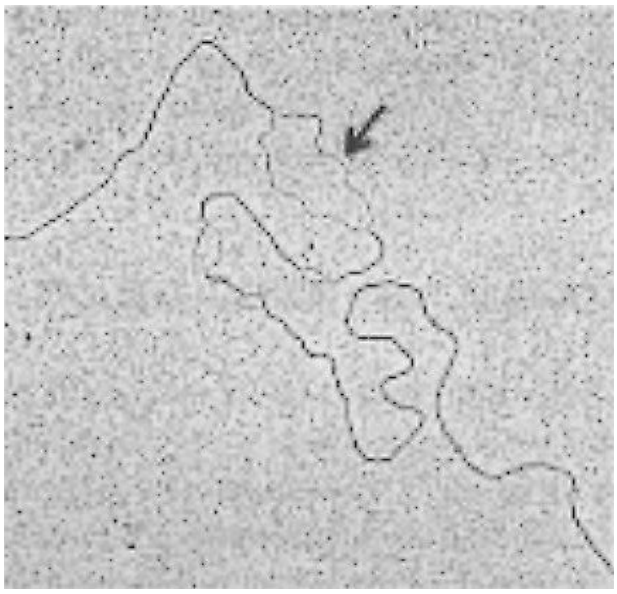


La température de fusion ↑ avec la teneur en GC% de l'ADN

***E. coli* :**
GC% = 50 Tm = 72°C

***P. aeruginosa* :**
GC% = 66 Tm = 79°C

Fusion de l'ADN

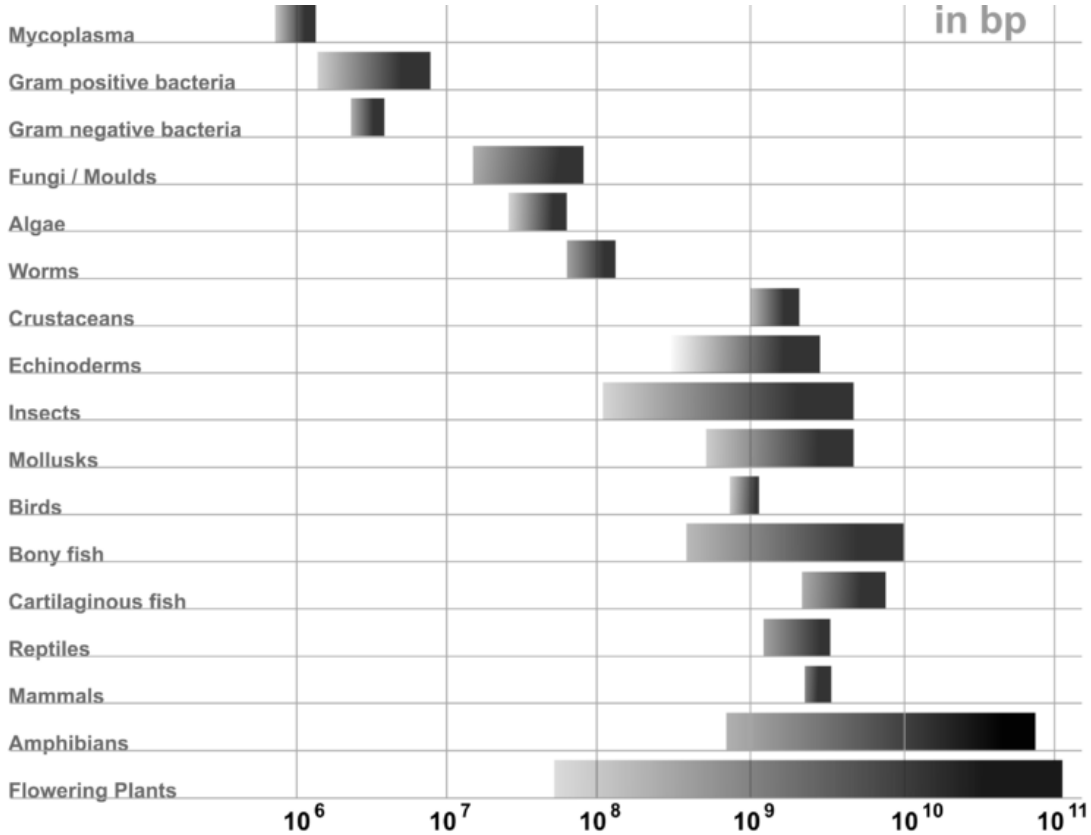


- **Régions riches en AT : premières à fondre (fusion)**
- **Réassociation spontanée quand T ↓ (hybridation)**

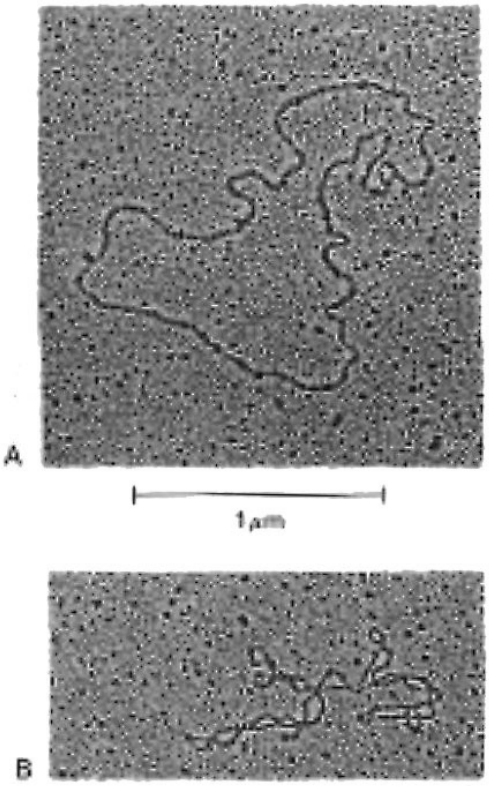
Tailles

Organisme	Génome (en kilo bases)	Longueur (en µm)
Virus SV 40	5,1	1,7
Bactérie *E. coli*	4 600	1400
Mouche	155 000	56 000
Homme	3 200 000	990 000 (~ 1 mètre)

Tailles



Tailles

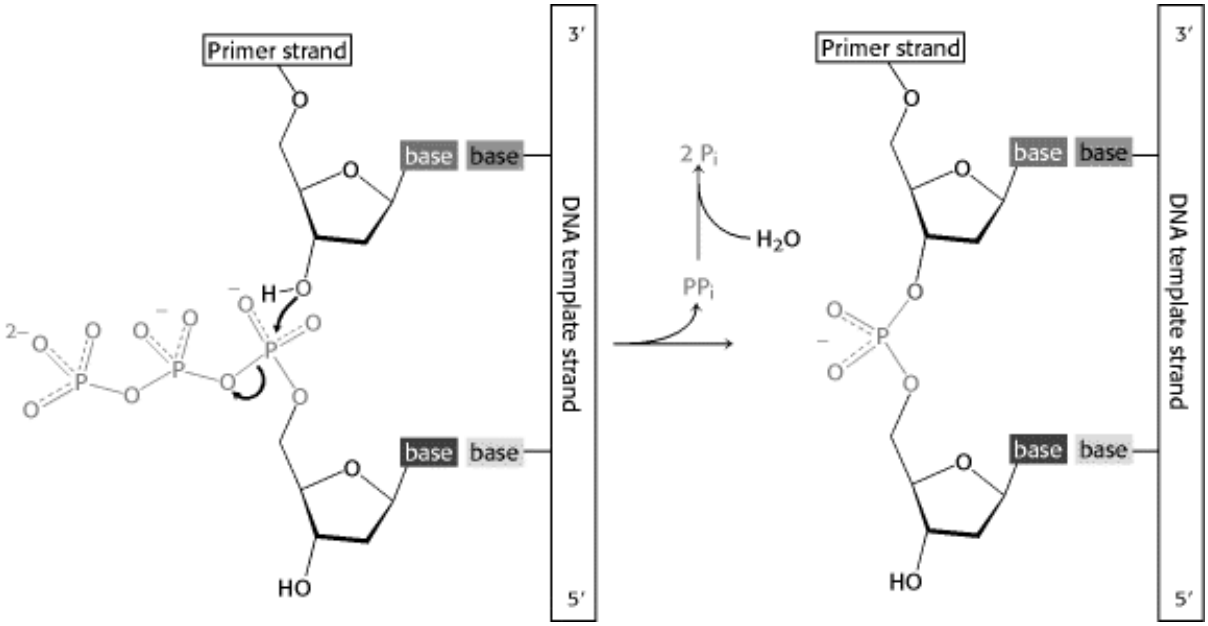


- **Molécules longues, donc fragiles**
- **se fragmente facilement hors de la cellule**
- **Dans la cellule, l'ADN est super-enroulé (enzymes topoisomérases)**

Principe de la réplication

- **L'ADN est répliqué l'ADN polymérase**
- **~ 20 protéines participent à la réplication**
- **dNTP + $(ADN)_n \rightarrow (ADN)_{n+1}$ + Ppi**

Principe de la réplication

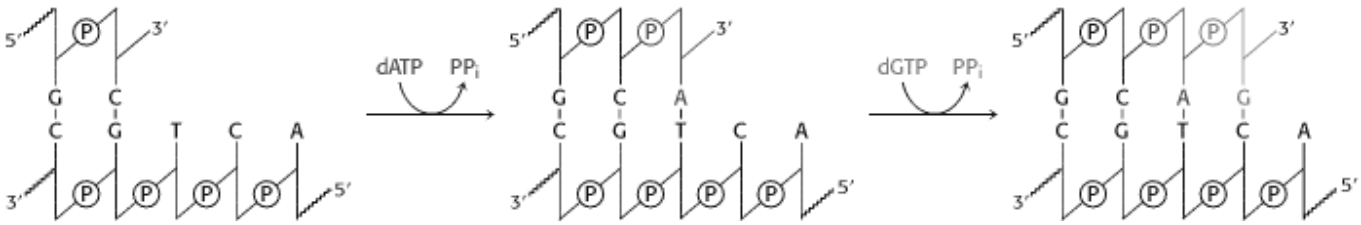


1 . Attaque nucléophile

2 . Elimination de PPi + formation liaison O-P

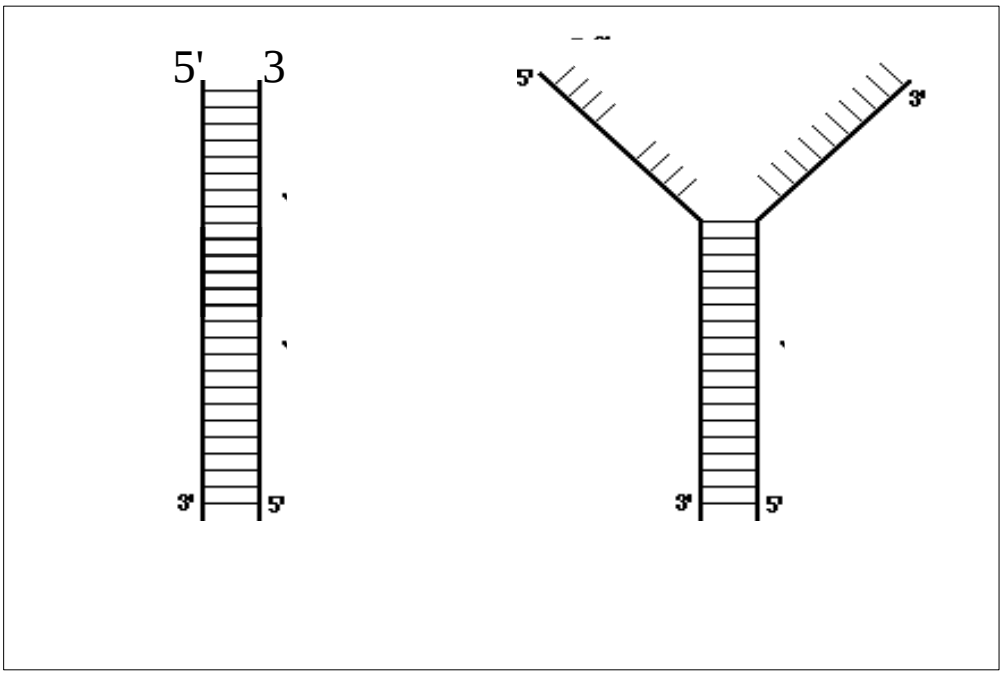
Principe de la réplication

- **Les bases doivent être appariées pour que la liaison phosphodiester se forme => Nécessité d'une matrice**
- **Elongation dans le sens 5’ → 3’**
- **L'enzyme fait peu d'erreurs (1 / 100 millions)**



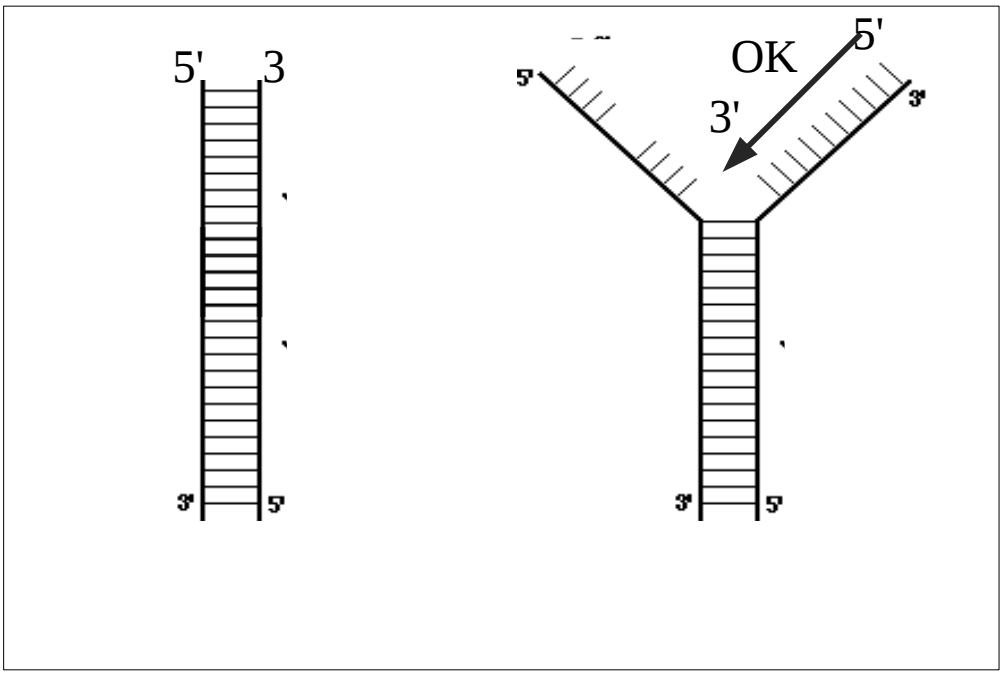
Principe de la réplication

- **Elongation dans le sens 5’ → 3’**



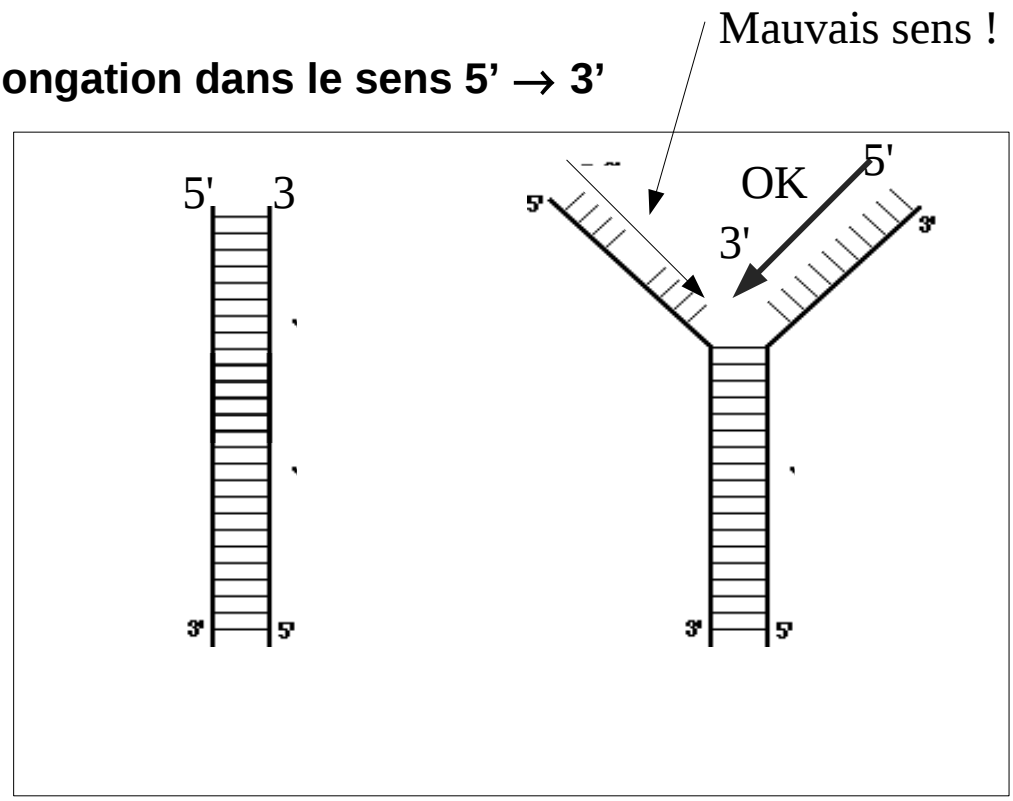
Principe de la réplication

- **Elongation dans le sens 5’ → 3’**



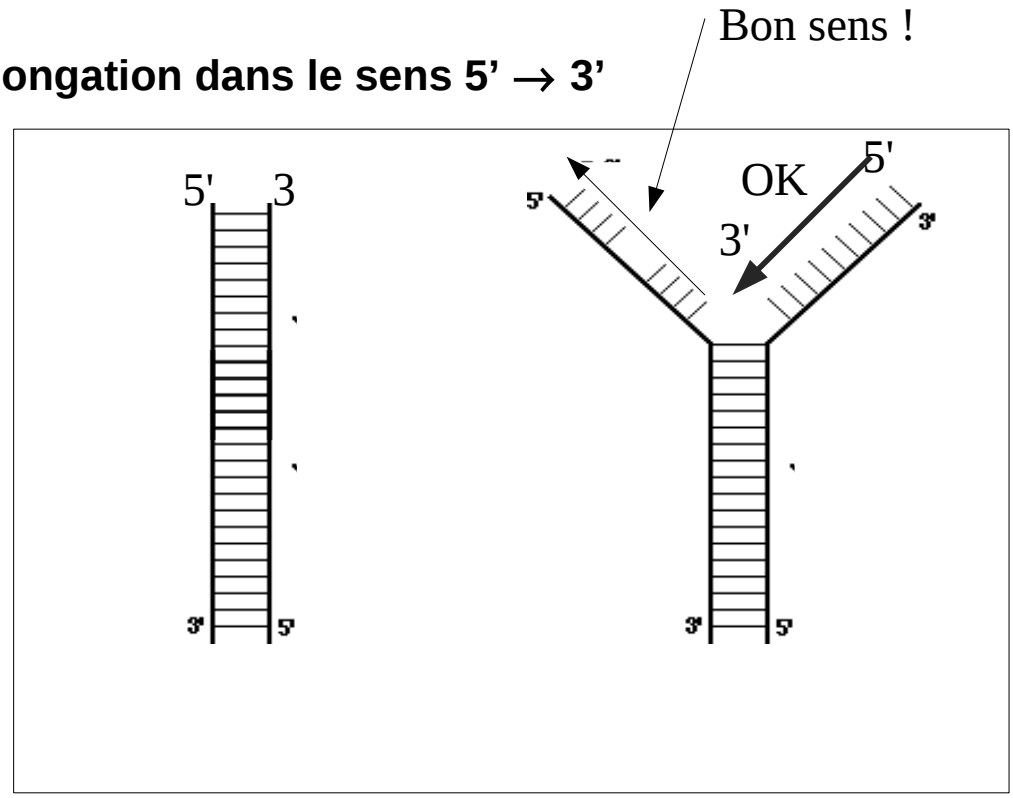
Principe de la réplication

- **Elongation dans le sens 5’ → 3’**



Principe de la réplication

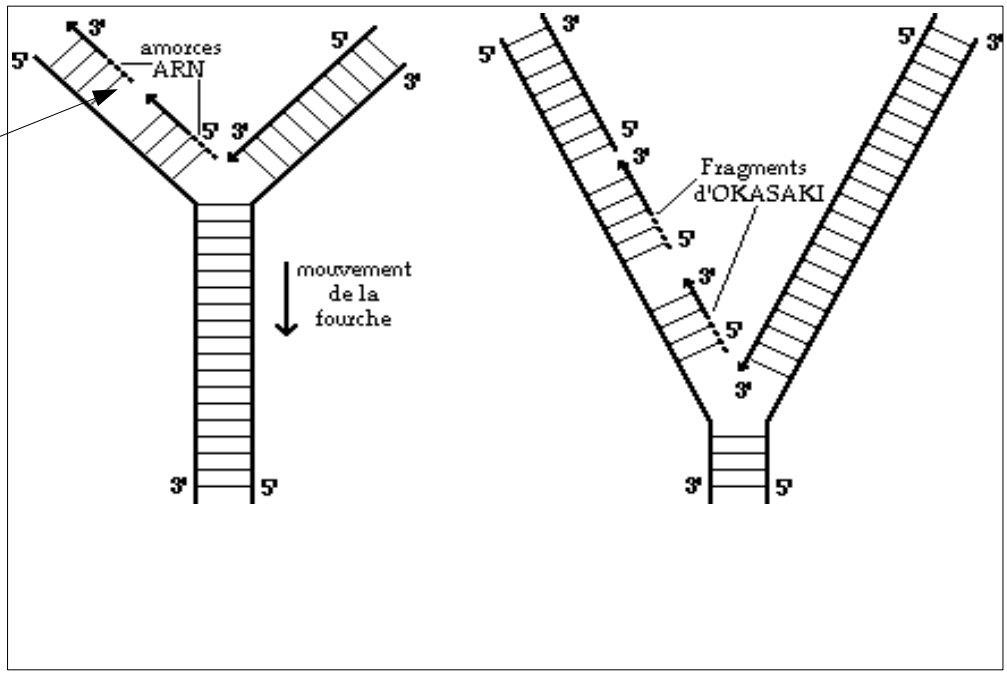
- **Elongation dans le sens 5’ → 3’**



Principe de la réplication

- **Elongation dans le sens 5' → 3'**

Intervention d'enzyme ligase pour souder les morceaux



1. Introduction

2. Structure de l'ADN

3. Structure des ARN

4. Techniques d'études

Les différents types d'ARN cellulaires

Trois types *(principaux)* d'ARN :

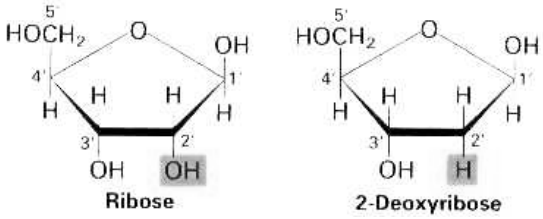
- ARN messagers (ARNm) : transfert d'information de l'ADN

- ARN ribosomiques (ARNr) : constituants du ribosome

- ARN de transfert (ARNt) : fixent les aa et les transportent sur le ribosome

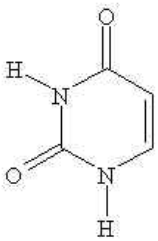
Structure des ARN

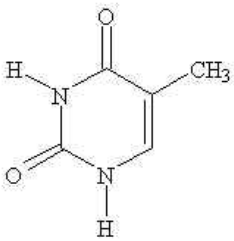
- le ribose remplace le désoxyribose



- l'uracile remplace la thymine

U



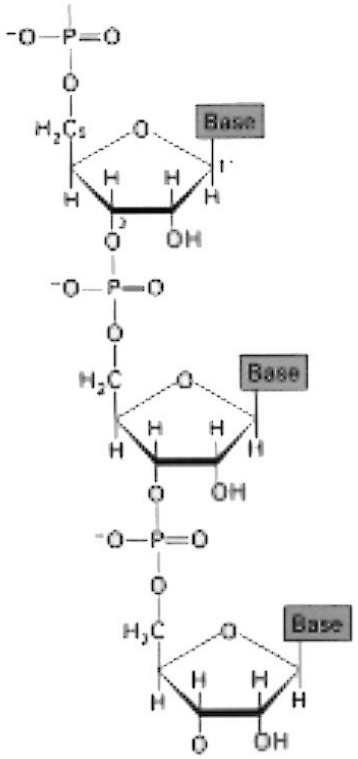


T

Structure des ARN

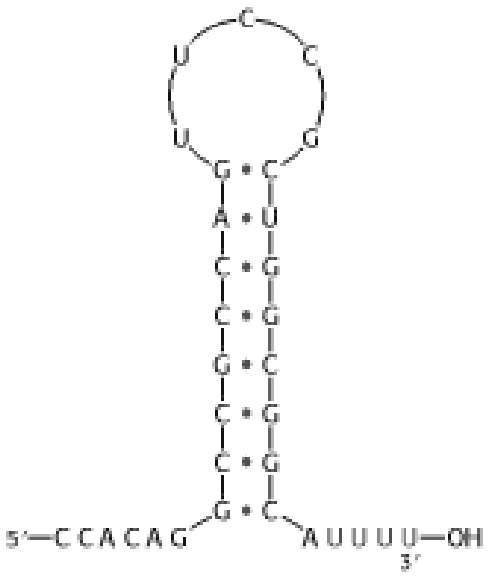
ARN simple brin

Teneur en A-U et G-C ≠



Structure des ARN

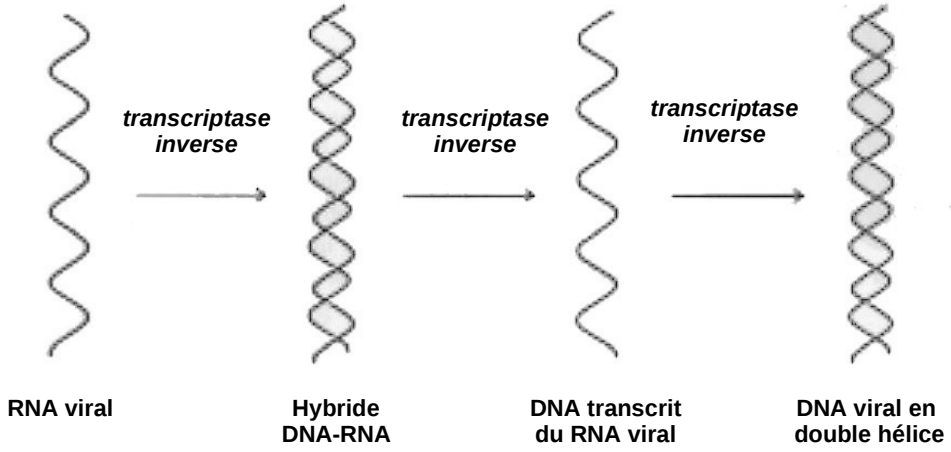
Tige-boucle



Virus à ARN

Plupart des organismes : Génome sous forme d'ADN

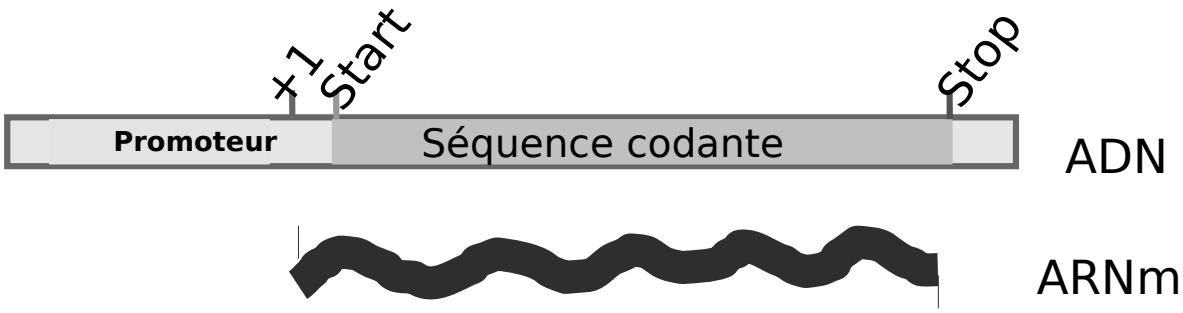
Certains virus : Information génétique portée par l'ARN



Principe de la synthèse de l' ARN messager

- **Nécessite :**
  - **Matrice d'ADN**
  - **ATP, GTP, UTP, CTP + Mg^{2+}**
  - **RNA polymérase :**

$$NTP + (RNA)_n \rightarrow (RNA)_{n+1} + PPi$$



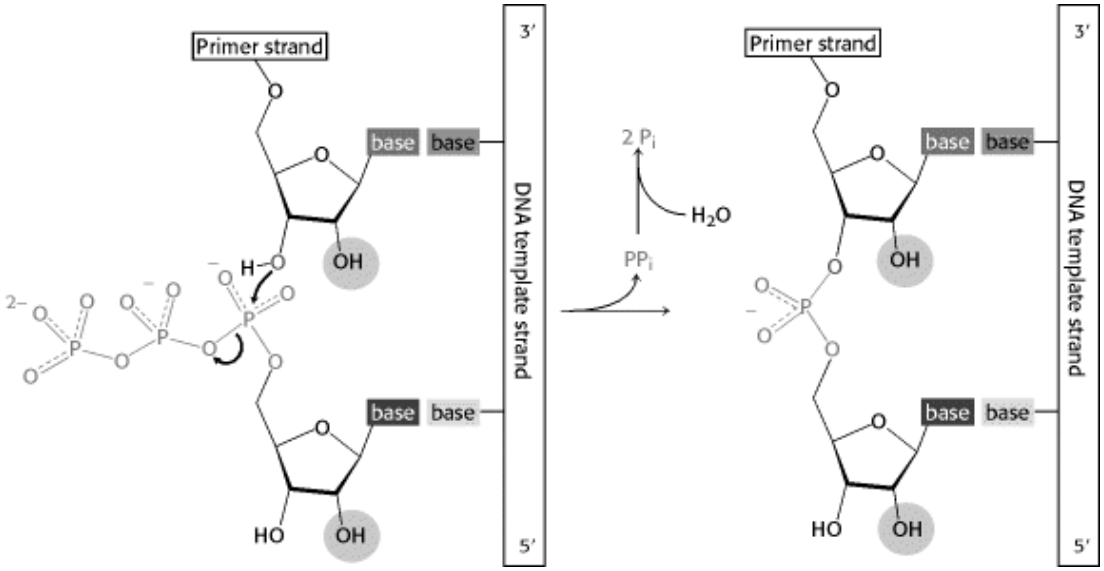
Principe de la synthèse de l' ARN messager

- **Nécessite :**
  - **Matrice d'ADN**
  - **ATP, GTP, UTP, CTP + Mg^{2+}**
  - **RNA polymérase :**

$$NTP + (RNA)_n \rightarrow (RNA)_{n+1} + PPi$$

- **Synthèse ~ celle de l'ADN :**
  - **Polarité 5' → 3‘**
  - **Mécanisme d'élongation identique**

Principe de la synthèse de l' ARNm



- **Attaque nucléophile**
- **Formation de la liaison O-P**

Principe de la synthèse de l' ARNm

La séquence des bases de l'ARN est :

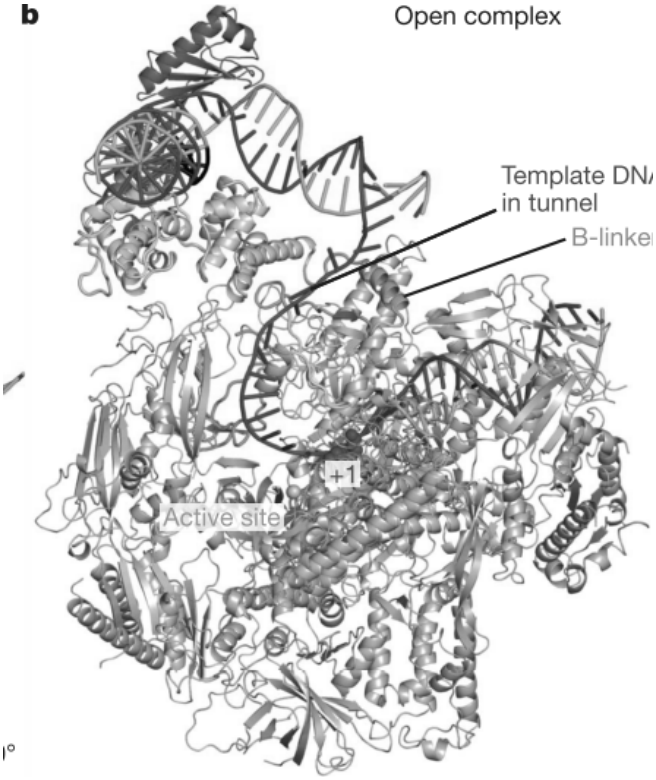
- complémentaire de celle du brin matriciel

- identique à celle du brin codant

5′—GCGGCGACGCGCAGUUAAUCCCACAGCCGCCAGUUCCGCUGGCGGCAUUUU—3′	**ARNm**
3′—CGCCGCTGCGCGTCAATTAGGGTGTCGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAAA—5′	**ADN matriciel**
5′—GCGGCGACGCGCAGTTAATCCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCATTTT—3′	**ADN codant**

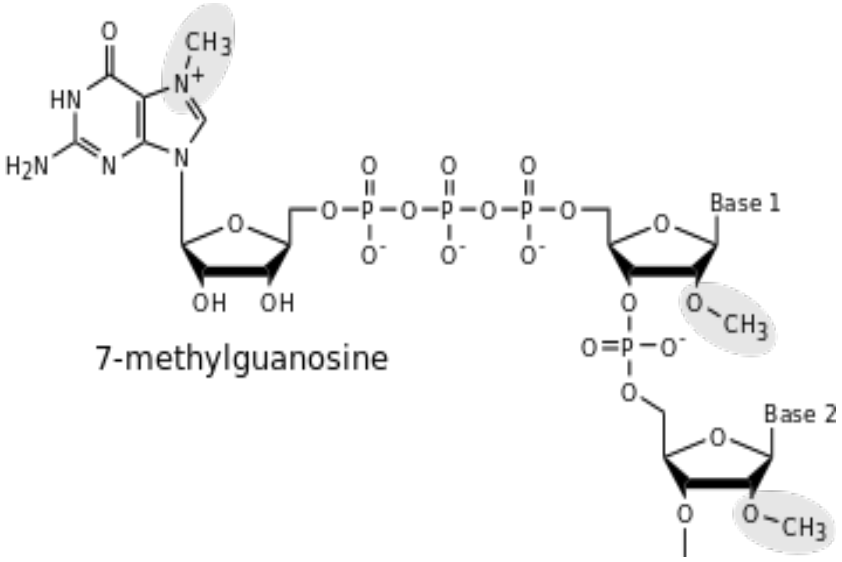
Principe de la synthèse de l' ARNm

RNA polymerase



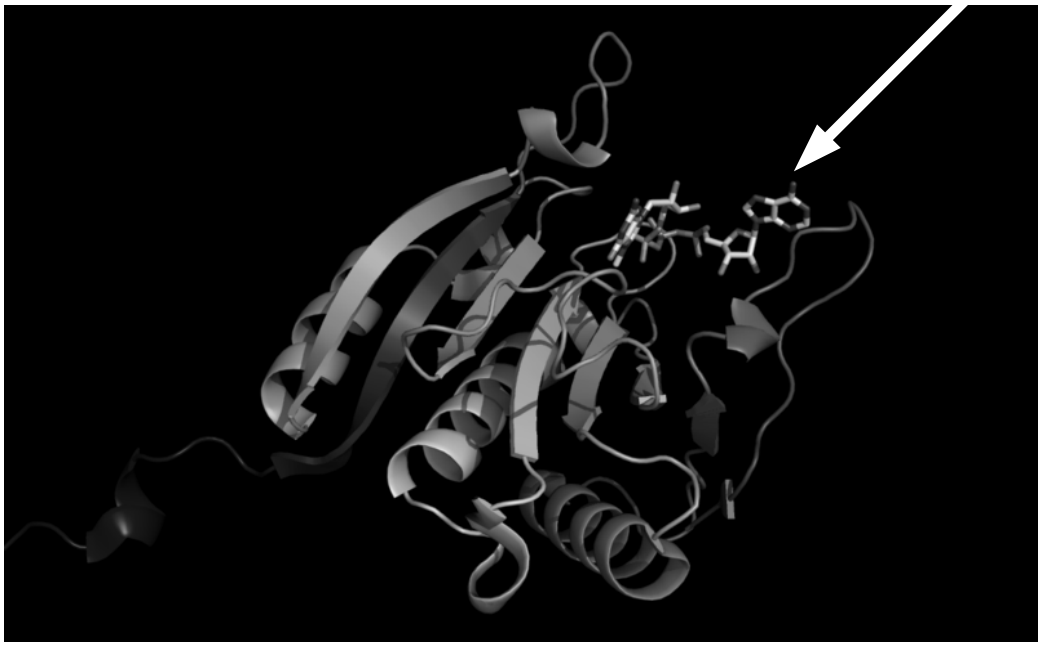
ARN messager

Source wikipedia



Coiffe 5' de l'ARNm (modification post-transcriptionnelle de l'ARNm)

ARN messager

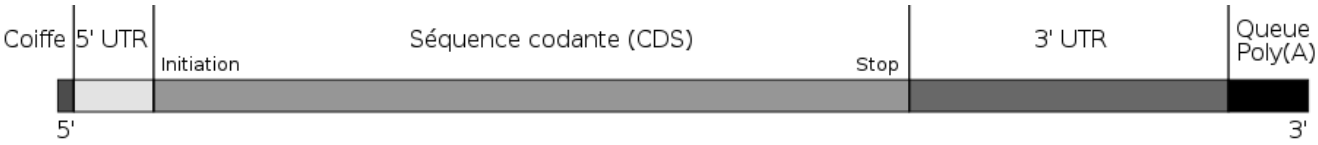


Structure de la coiffe (m7GpppA) liée au facteur d'initiation de la traduction eIF4E

Source wikipedia

ARN messager

Source wikipedia



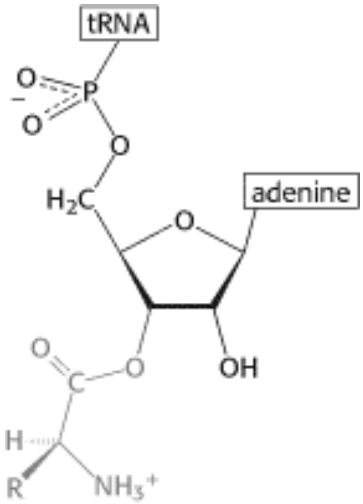
Région non traduite (UTR : untranslated Regions)
Queue PolyAdénosine

Les ARN de transfert

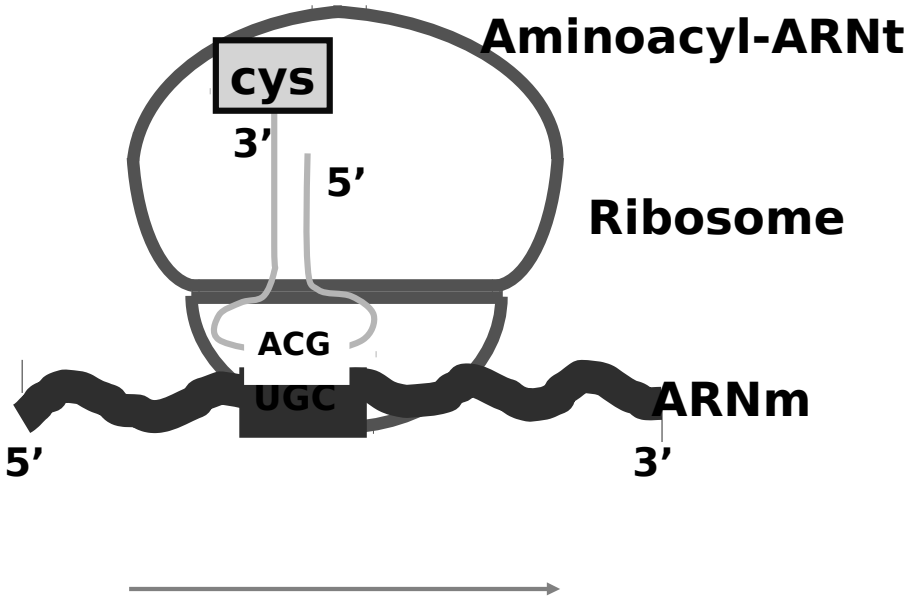
2 fonctions :

- liaison à un aa en 3'

- reconnaissance spécifique de l'ARNm au niveau des ribosomes

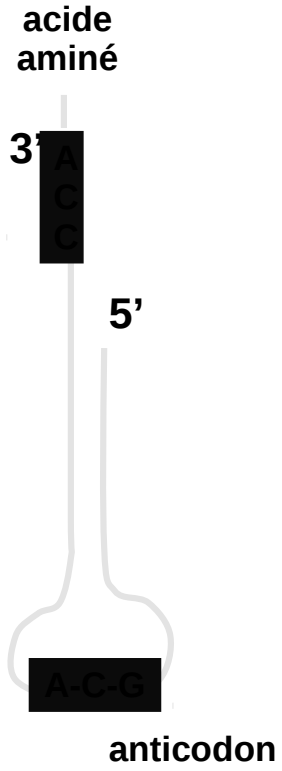


Les ARN de transfert

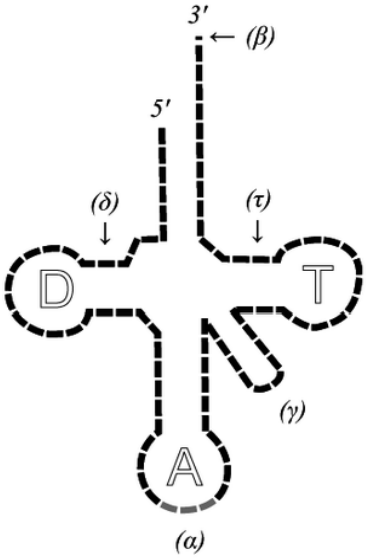


Les ARN de transfert

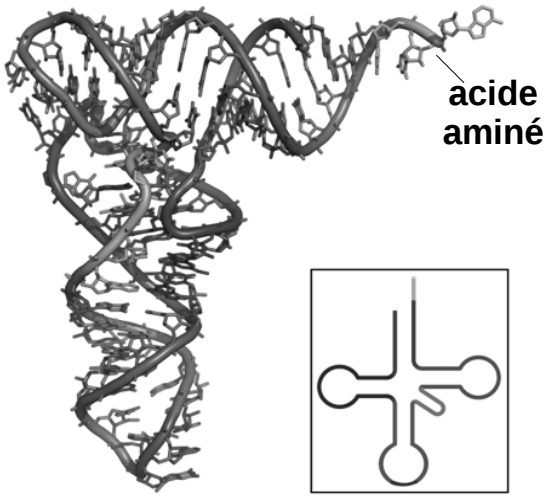
- **Anticodon = site de reconnaissance**
- **Fixation de l'aa sur l'ARNt catalysé par une enzyme spécifique : l'aminoacyl-tRNA synthétase**
- **ARNm → protéine : Traduction**



Les ARN de transfert

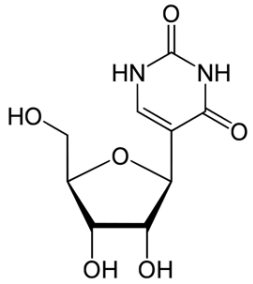


Structure simplifiée des ARNt
(rouge : anticodon)

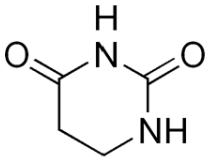


Structure 3D des ARNt
(noir : anticodon ; orange : fixation acide aminé)

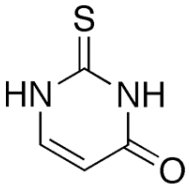
Les ARN de transfert



Pseudouridine (ψ)



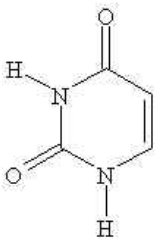
5, 6-dihydrouracile (DHU)



4-thiouracile

- **Nucléoside et base rare présents chaz les ARNt**

Uracile (rappel) -->



Les ARN ribosomiques

- **Constituants essentiels du ribosome**

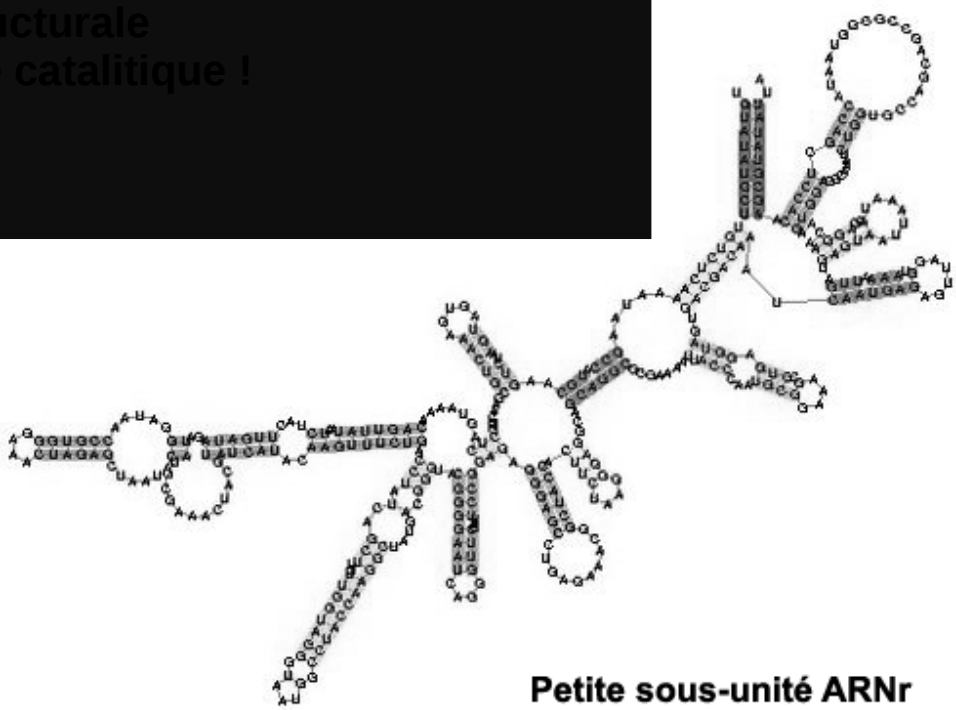
3 chez les procaryotes (ribosome = 70 S -Svedberg1-)

grande sous-unité (50 S):
ARNr 5 S (120 nucléotides)
ARNr 23 S (2 900 nucléotides)
petite sous-unité (30 S):
ARNr 16 S (1 540 nucléotides)

4 chez les eucaryotes (ribosome = 80 S):
grande sous-unité (60 S):
ARNr 5 S (120 nucléotides)
ARNr 5,8 S (160 nucléotides)
ARNr 28 S (4 700 nucléotides)
petite sous-unité (40 S):
ARNr 18 S (1 900 nucléotides)

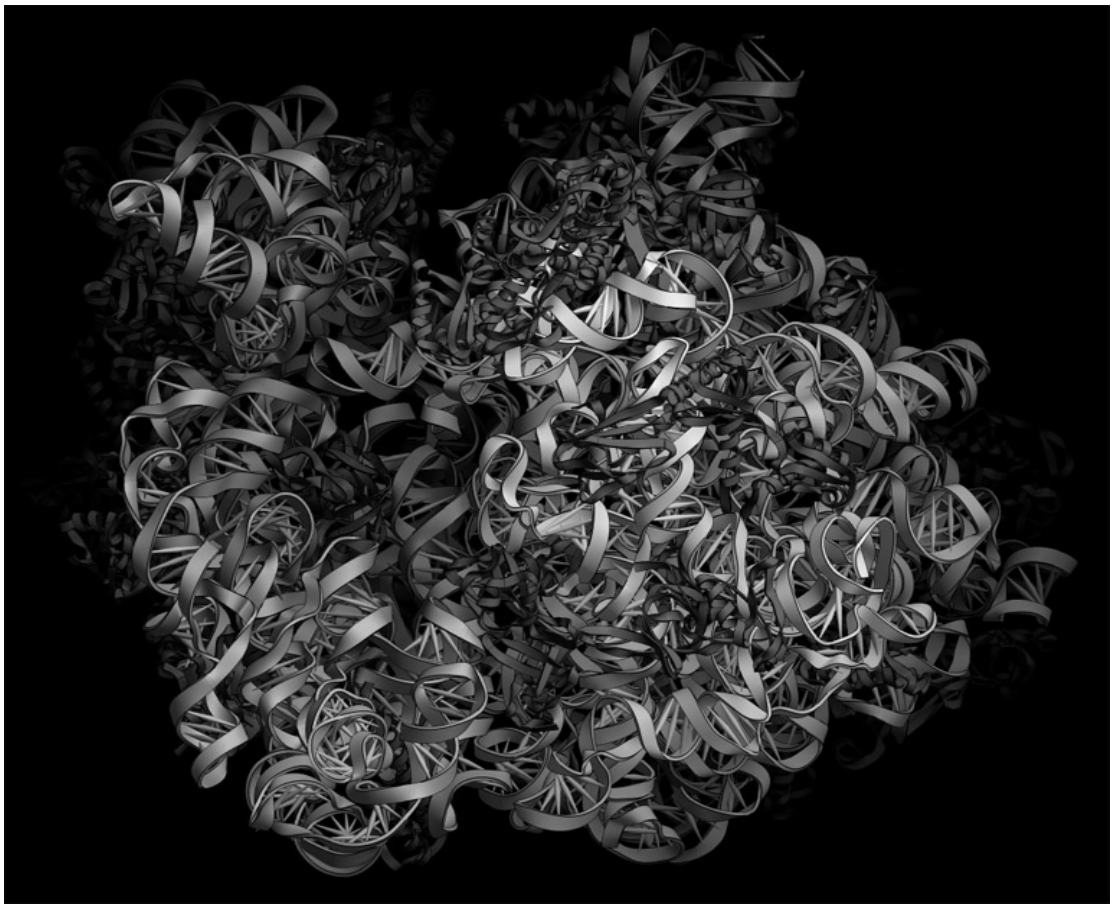
Les ARN ribosomiques

- **Constituants essentiels du ribosome**
  - **Rôle structurale**
  - **Capacité catalitique !**

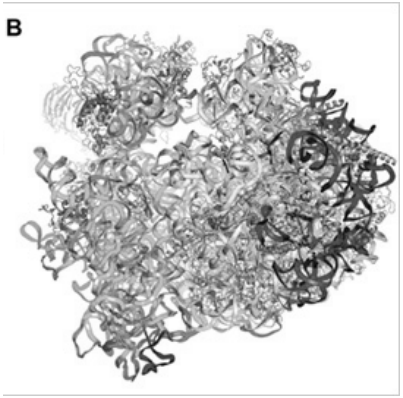


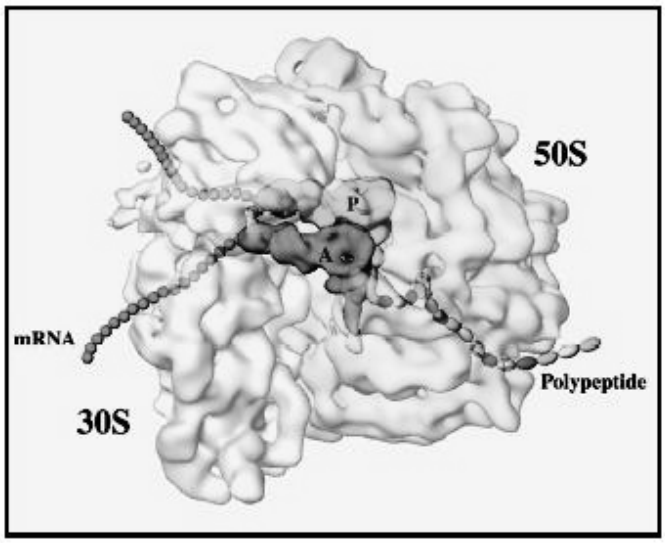
Petite sous-unité ARNr

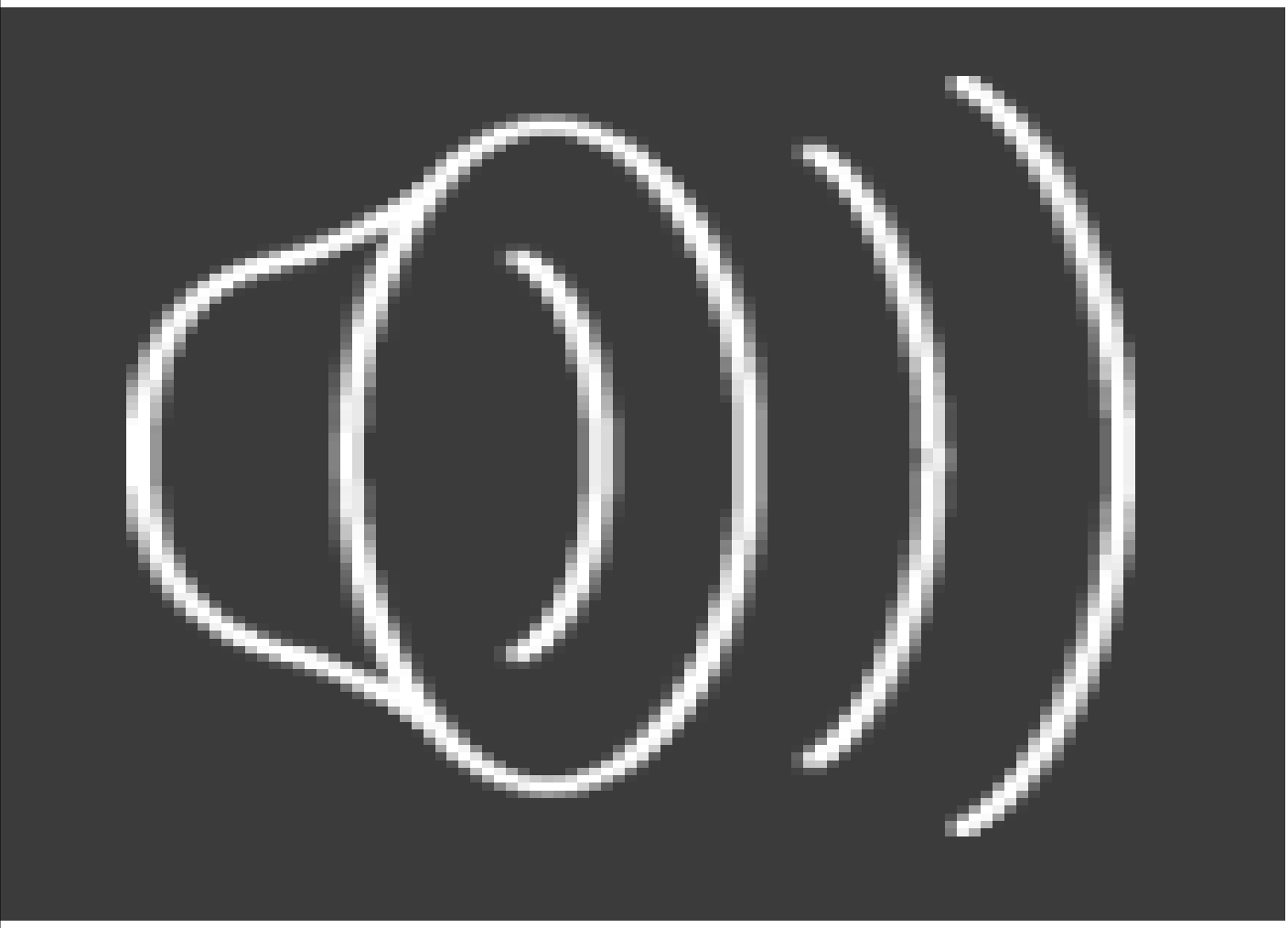
Les ARN ribosomiques



Les ARN ribosomiques







1. Introduction

2. Structure de l'ADN

3. Structure des ARN

4. Techniques d'études

Les enzymes de restriction

- **Nucléases : coupent les liaisons phosphodiesters des AN**
- **Chez les bactéries => défense contre les ADN étrangers**
- **On distingue les endo- et les exonucléases**

Séquence palindromique

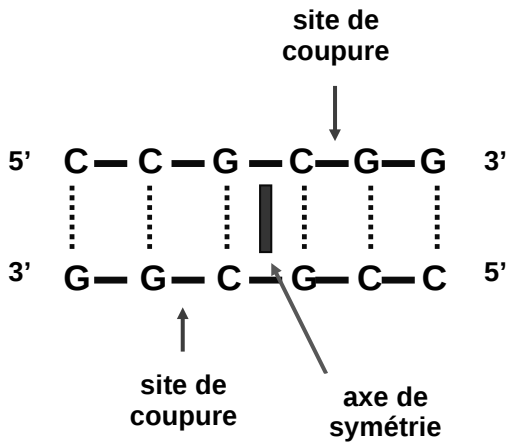
Peut se lire à l'identique dans les 2 sens :

RADAR

ENGAGE LE JEU QUE JE LE GAGNE

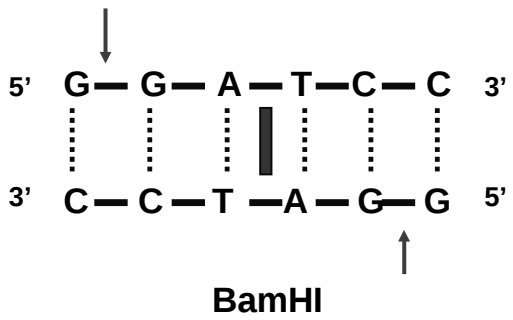
MADAM I'M ADAM

enzymes de restriction : reconnaissent les palindromes sur l'ADN

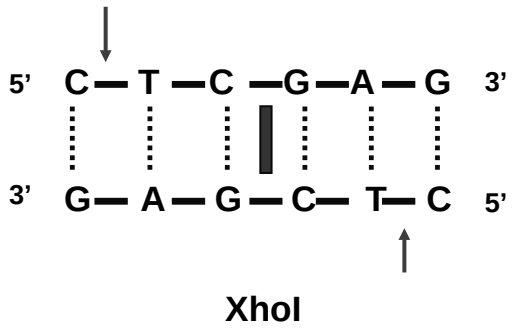


Séquence palindromique

Une enzyme de restriction => séquence et clivage spécifiques



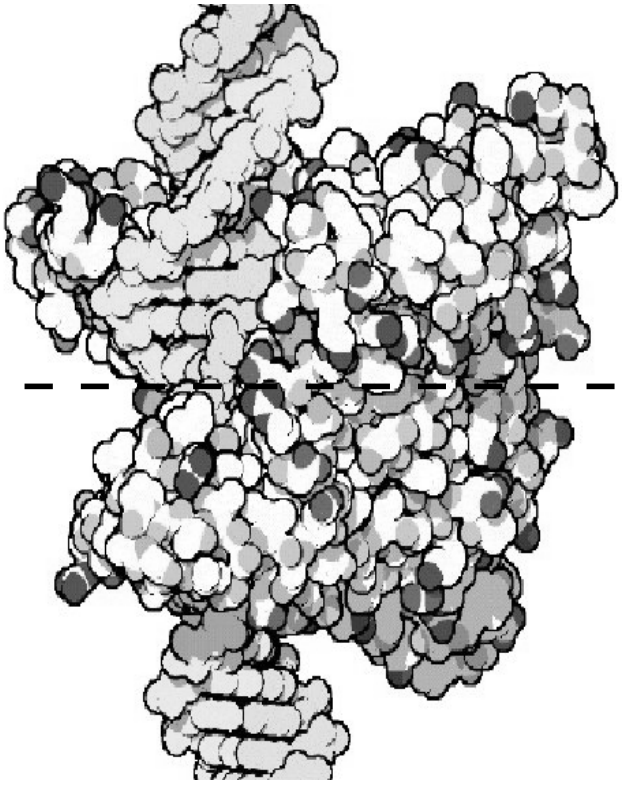
Coupure franche ou décalée



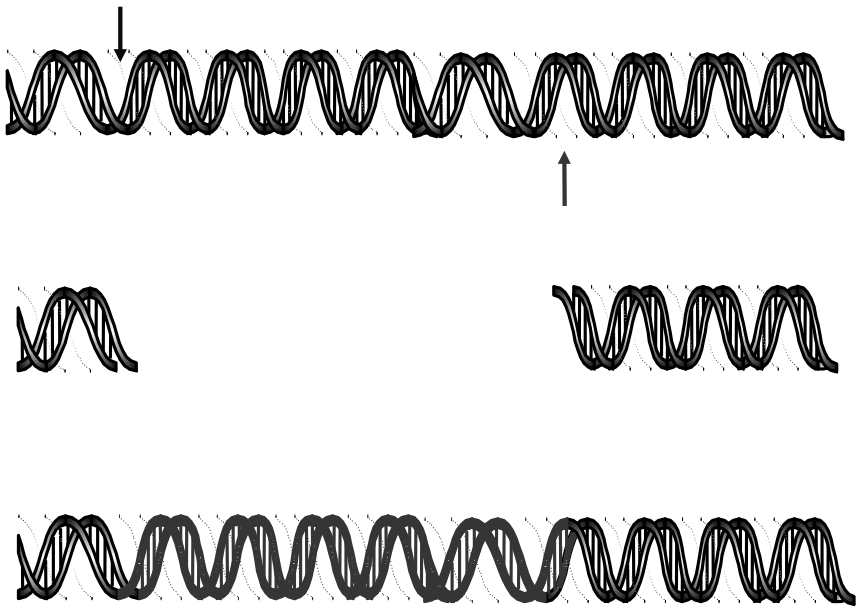
Séquence palindromique

Une enzyme de restriction => Homodimère

Mêmes interactions (symétriques) dans les 2 sillons de l'ADN



Principe du clonage



coupure par enzymes de restriction

insertion d'un gène «étranger»

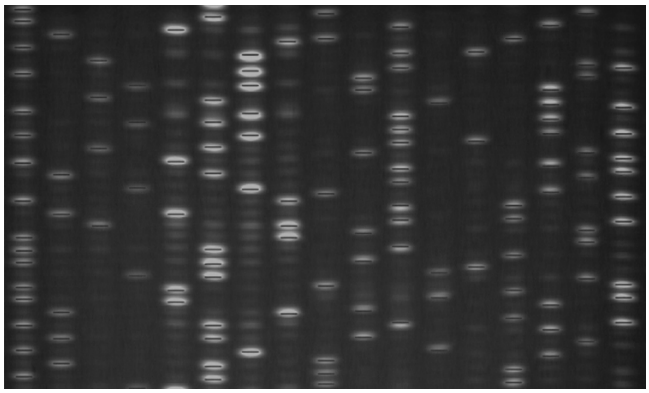
Séparation de fragments d'ADN

Electrophorèse : sépare les fragments d'ADN de taille différente

Polyacrylamide :
10 - 1000 pB

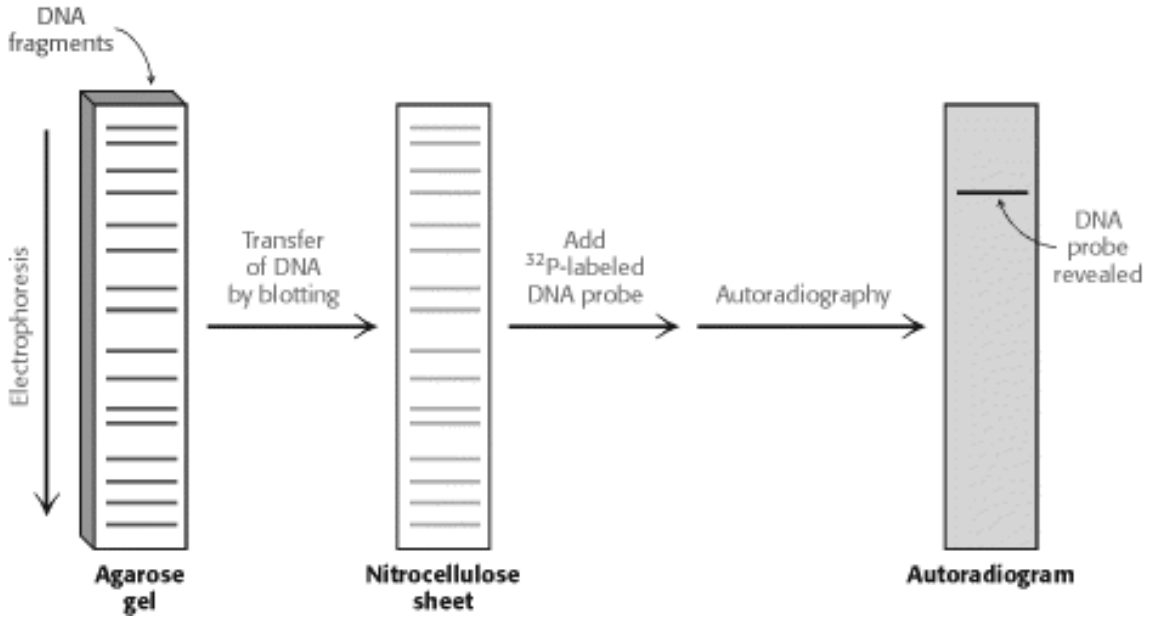
Agarose :
100 - 20.000 pB

Révélation :
Bromure d'éthydium



Southern Blot

Un fragment d'ADN peut être identifié par hybridation avec un oligonucléotide marqué :



Southern Blot

- **Technique mise au point par Ed Southern**

- **Par analogie :**

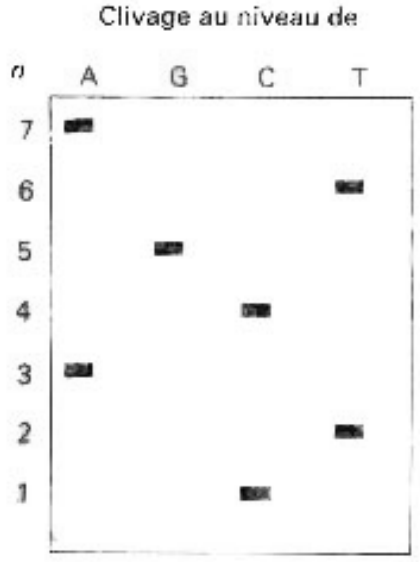
  "Northern blot" : ARN identifié par hybridation avec une sonde ADN

  "Western blot" : protéine identifiée par un anticorps spécifique

Séquençage d'ADN : méthode de Maxam et Gilbert

- Coupure chimique spécifique après les 4 bases

- Séparation des fragments par électrophorèse



Lecture de l'électrophorèse :

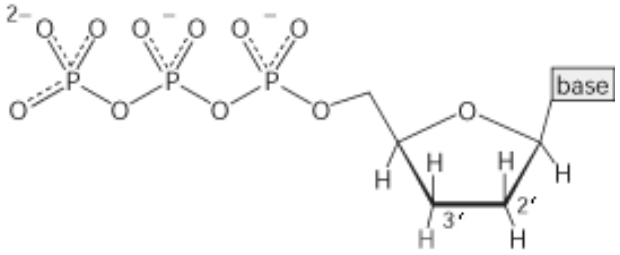
5’ CTACGTA 3’

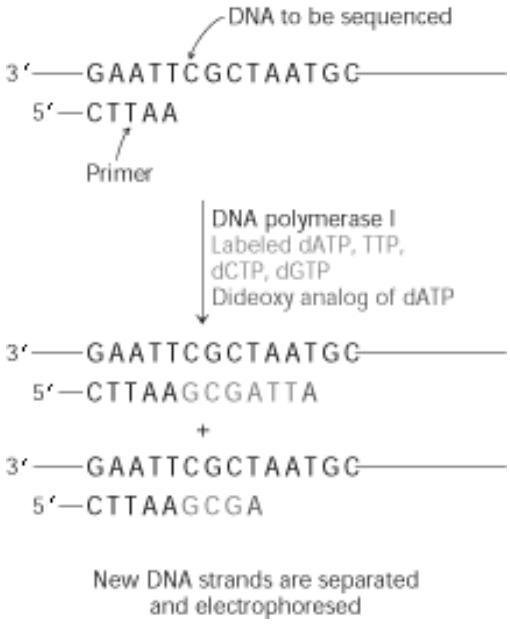
Séquençage d'ADN : méthode de Sanger

Principe : Interruption contrôlée de la réplication de l’ADN

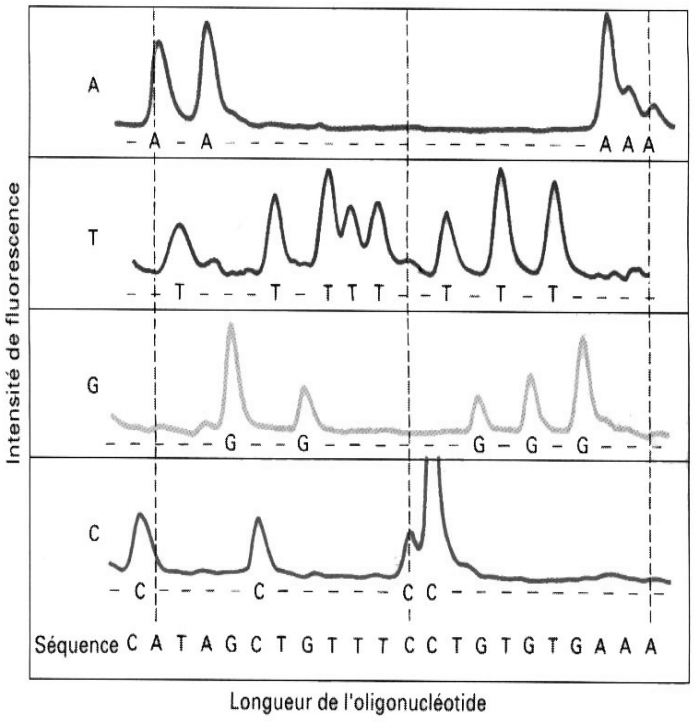
ADN simple brin + amorce de petite taille complémentaire + ADN polymérase

Elongation de la chaîne stoppée par un analogue de chacun des dNTP (4 expériences différentes) : un didésoxy (ddNTP)





Séquençage d'ADN méthode de Sanger



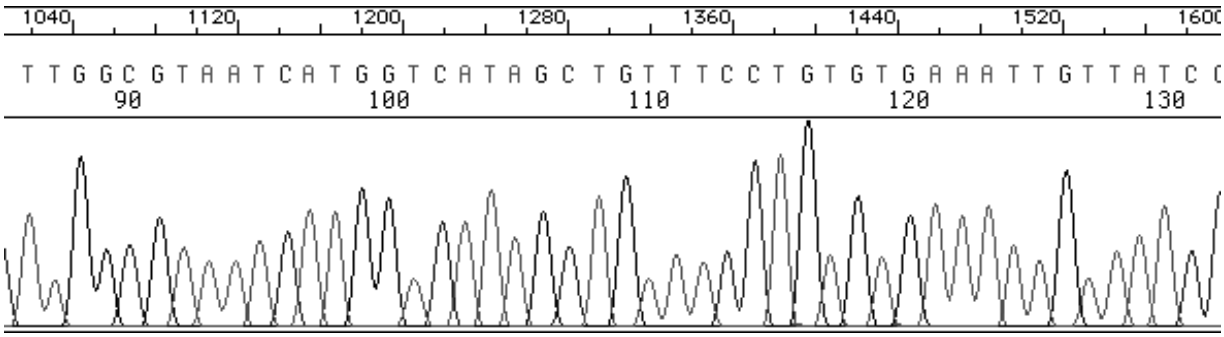
4 réactions ≠

Sépation par électrophorèse

Séquençage d'ADN méthode de Sanger

Alternative : Détection par fluorescence

(ddNTP)-FLUO



nature
the human genome
Nuclear fission
Seafloor spreading
Career prospects

Science
THE HUMAN GENOME