Module de BIO 121

Cours de biochimie des acides nucléiques

(Enseignante : Eve de Rosny)

Plan

I - Introduction = présentation rapide Les acides nucléiques Rôle de l'ADN et de l'ARN Les nucléotides Cours 1 II - Structure chimique des acides nucléiques Les différentes bases azotées Nucléosides et nucléotides **Nomenclature** III - Chaines d'ADN et d'ARN **Structure primaire** Conventions d'écriture Cours 2 IV - Structure tridimensionnelle (structures secondaires et tertiaires) **ADN** (la double hélice, compaction) ARN (transfert, ribosomiques et messagers) V - Propriétés physico-chimiques de l'ADN **Absorbance** Stabilité (dénaturation) Cours 3 VI - Méthodes d'étude de l'ADN Manipulation de l'ADN (plasmides et enzymes de restriction)

Principales techniques d'analyse (électrophorèse)

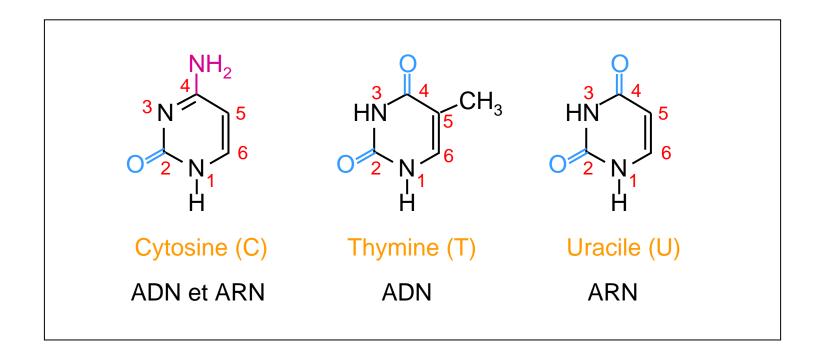
Applications pour la police scientifiques

Pyrimidine

Formule développée

Formule semidéveloppée

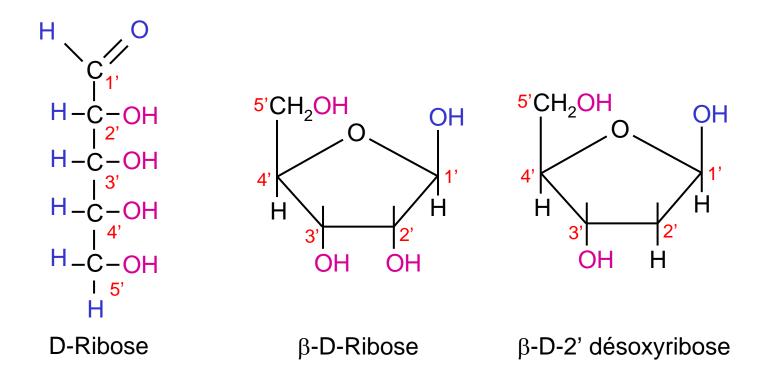
Formule semidéveloppée simplifiée (sans les H)



Purine

Formule semi-développée

Le pentose



Le pentose : liaison N-osidique

Nucléoside (adénosine)

L'acide phosphorique

$$pK_a = 11,9$$

$$O$$

$$HO - P - OH$$

$$OH$$

$$OH$$

$$PK_a = 2,1$$

$$PK_a = 7,2$$

Nucléoside mono-phosphate

Fonction ester phosphorique

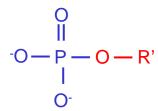
Nucléoside di-phosphate (liaison anhydre d'acide)

Desoxythymidine 5' monophosphate

Desoxythymidine 5' diphosphate

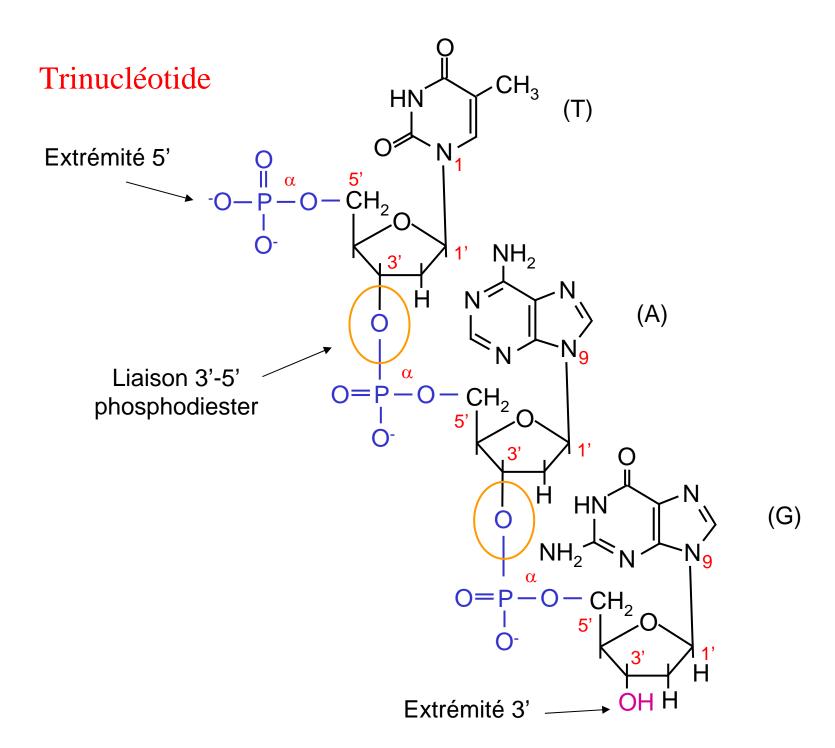
Nucléoside tri-phosphate (liaison anhydre d'acide)

Dinucléotide



Fonction ester phosphorique

Fonction diester phosphorique ou Phosphodiester



Quizz

T Cette molécule est :

A - du ribose
B - du désoxyribose
C - du glucose

IV

Le carbone C6 est porté par

A – la base azotée

B – le ribose

C – le phosphate

II s'agit d'une base :

A - purique
B - pyrimidique
C - azotée

Un nucléoside est formé de

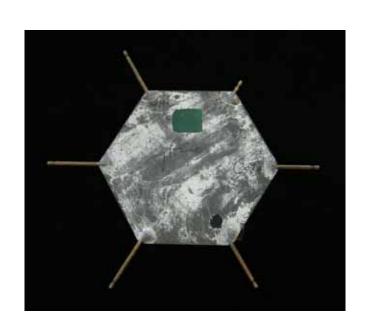
A – une base azotée

B – une base azotée + un ribose

C – une base azotée + un ribose + un phosphate

D – une base azotée + un ribose + deux phosphates

Découverte de la double hélice par Watson et Crick



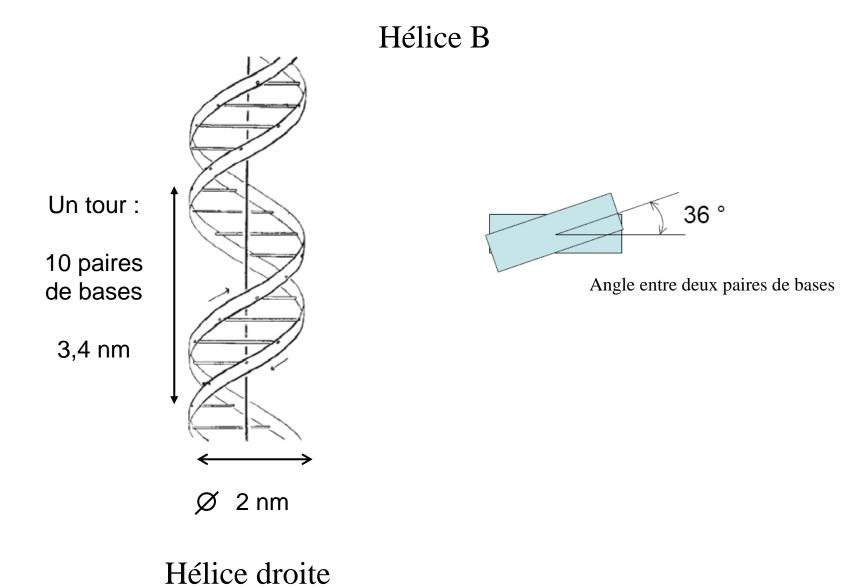




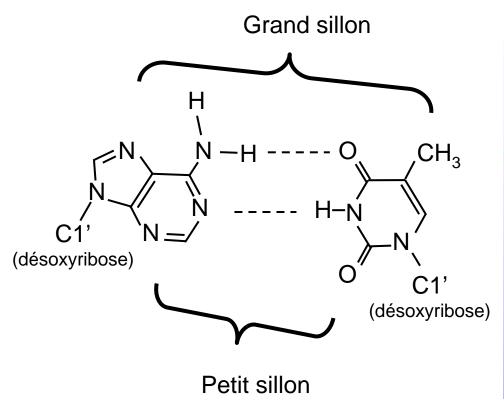
Liaisons hydrogènes entre les bases (paires de bases)

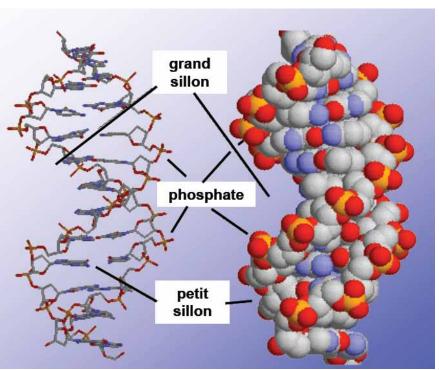
Antiparallélisme

La double hélice en chiffres

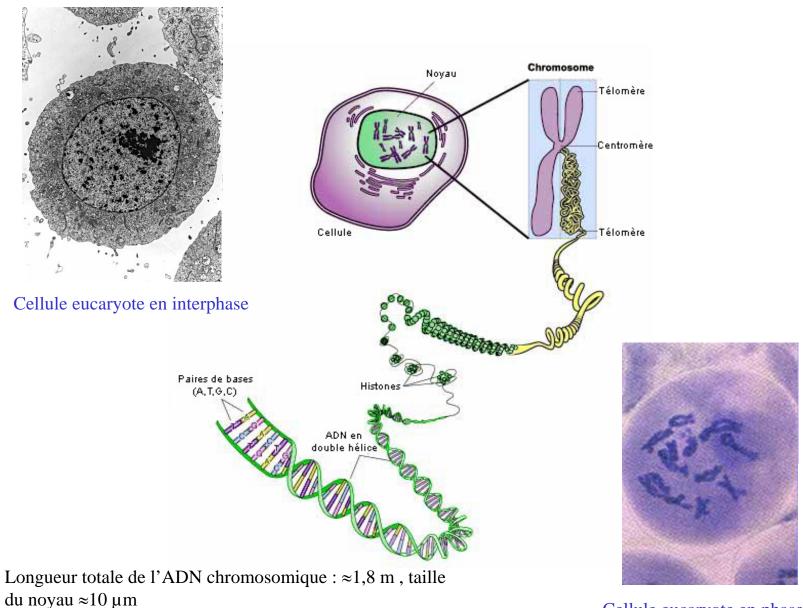


Petit et grand sillon



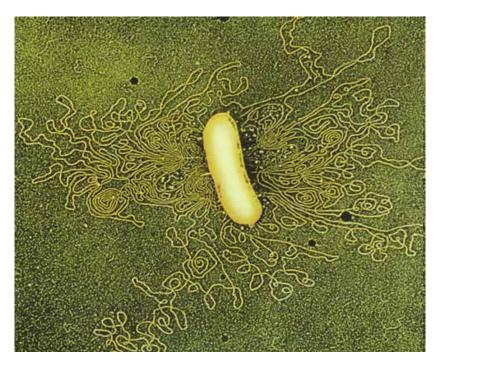


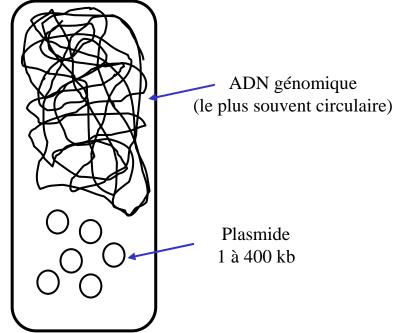
Condensation de l'ADN dans le noyau des cellules eucaryotes



Cellule eucaryote en phase de mitose

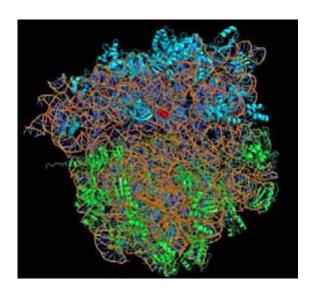
Condensation de l'ADN dans les bactéries





L'ADN a été artificiellement épaissi pour être visible Longueur d'un ADN bactérien : $\approx 1,6$ mm, longueur d'une bactérie $\approx 2~\mu m$

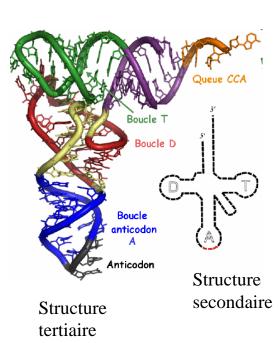
Structure des ARN



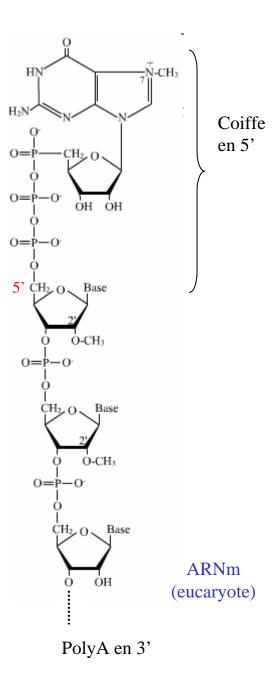
Structure d'un ribosome bactérien

Orange : ARNr

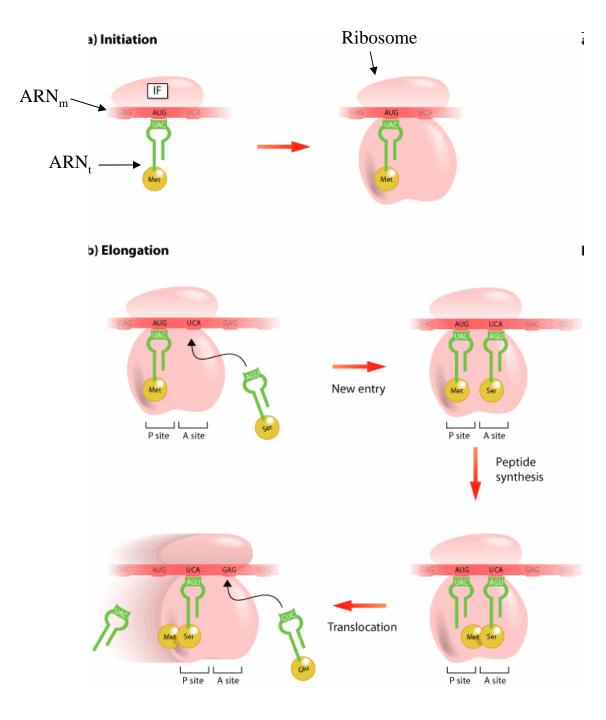
Bleu : protéines de la petite sous unité Vert : protéines de grande sous unité Rouge : antibiotique lié au ribosome



ARN de transfert



Synthèse des protéines



Quizz

Quel est le nombre de liaisons hydrogènes entre une guanine et une cytosine

A - 1

B - 2

C-3

Ouel atome se situe à l'extrémité 5' d'un ADN

A – Carbone

B – Oxygène

C - Azote

D – Hydrogène

Parmi ces types de liaisons indiquez celles qui sont dîtes « faibles ».

Quelles sont celles qui stabilisent la double hélice d'ADN ?

A – liaison hydrogène

B – liaison covalente

C – interactions hydrophobes

IV

Quelle est la molécule représentée ?:

A - ADN

B – ARN messager

C – ARN ribosomique

D – ARN de transfert



V

Que montre la flèche :

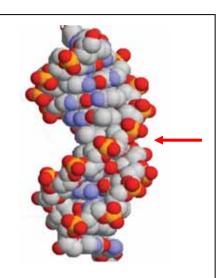
A – le grand sillon

B - le petit sillon

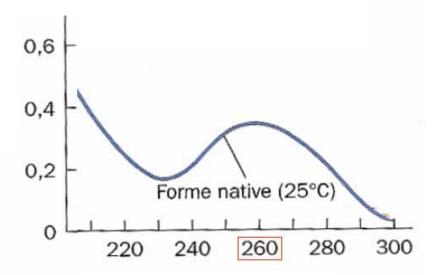
Les protéines qui reconnaissent l'ADN se fixent :

A – dans le grand sillon

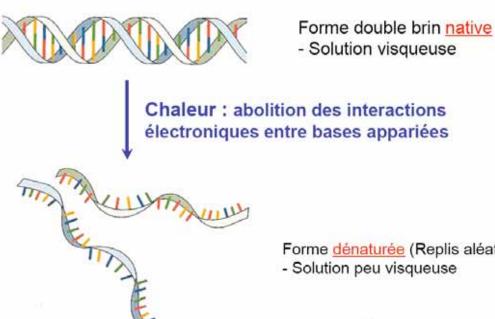
B – dans le petit sillon



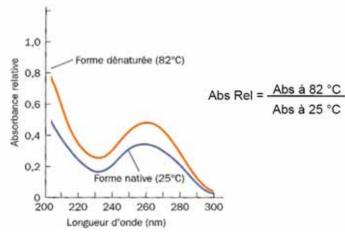
Spectre d'absorbance de l'ADN



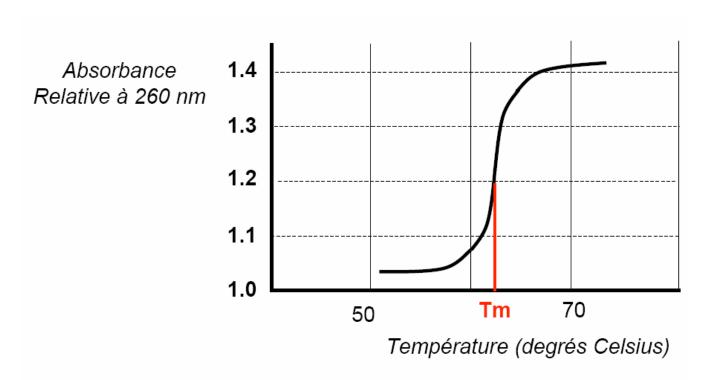
Stabilité de l'ADN



Forme dénaturée (Replis aléatoires)

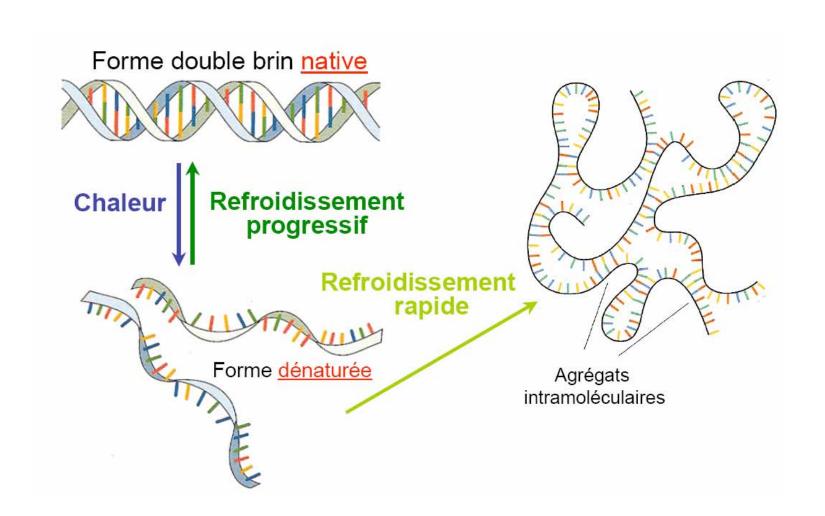


Suivi de la dénaturation de l'ADN



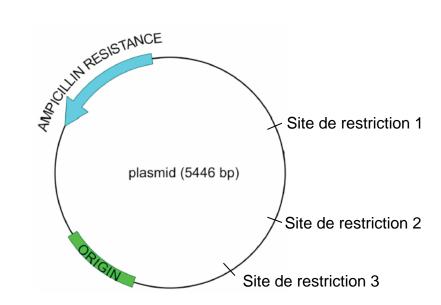
Température d'hybridation ou Tm (m=melting)

Dénaturation de l'ADN



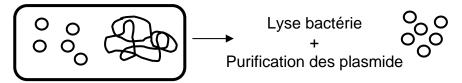
Plasmide

ADN bactérien extra-chromosomique

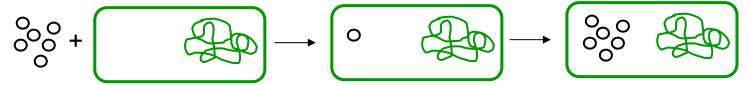


Amplification d'un plasmide

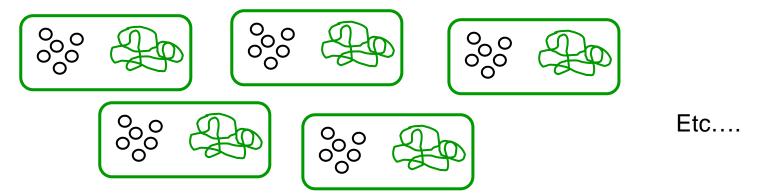
Etape 1 (extraction des plasmide à partir de bactéries)



Etape 2 (entrée du plasmide dans une autre bactérie)

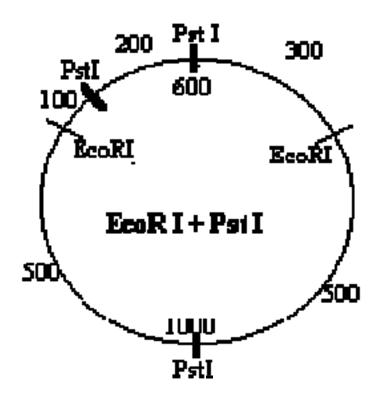


Etape 3 (amplification du plasmide = multiplication de la bactérie)

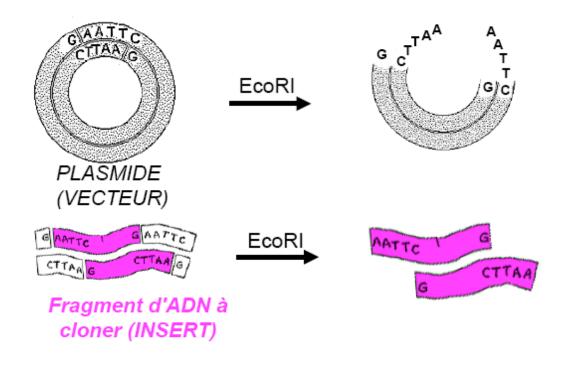


Exemple de carte de restriction

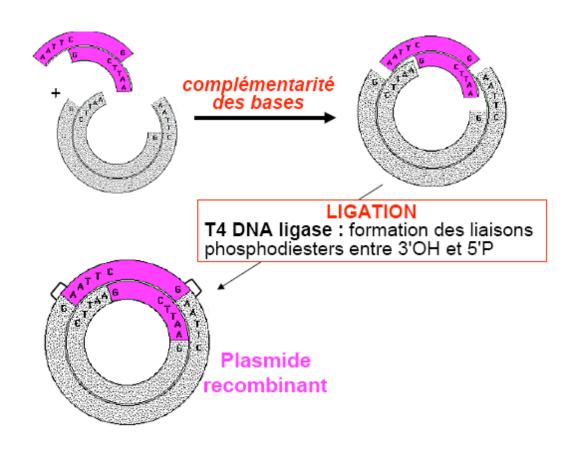
Position relative des sites de restriction sur un plasmide



Digestion enzymatique d'un vecteur et d'un insert par EcoRI



Insertion de l'insert dans le plasmide



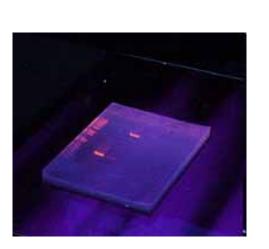
Electrophorèse

Séparation de l'ADN en fonction de la taille (unité = paires de bases ou pb)

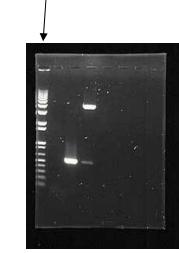
Echelle de poids moléculaire



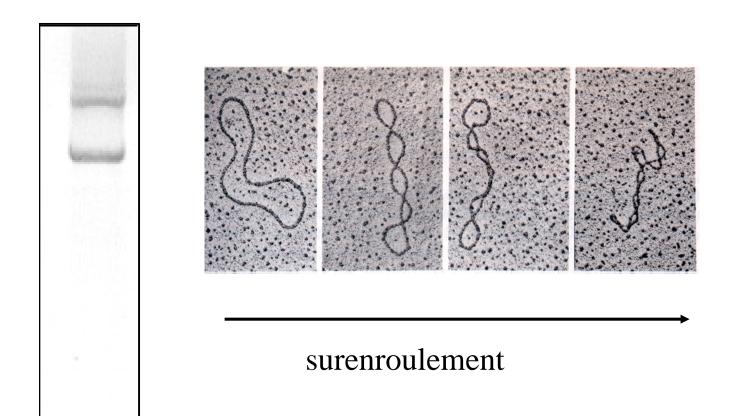
Lumière blanche



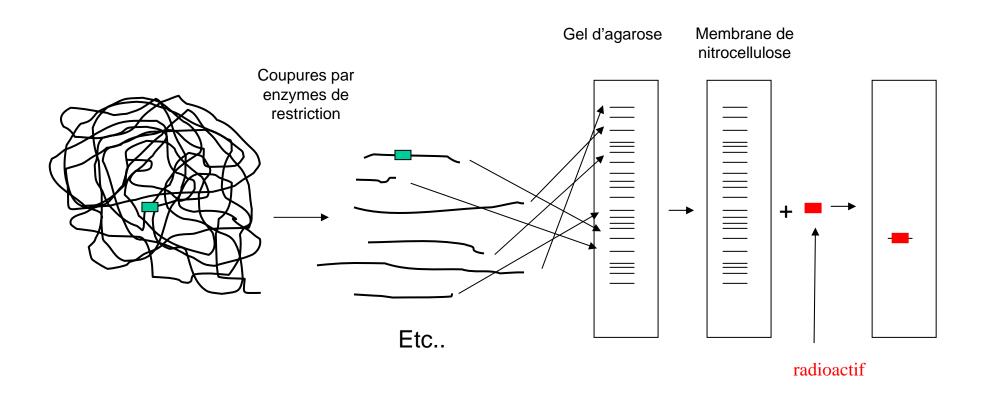
Lumière UV

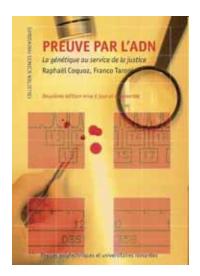


Electrophorèse avec un plasmide



Southern Blot



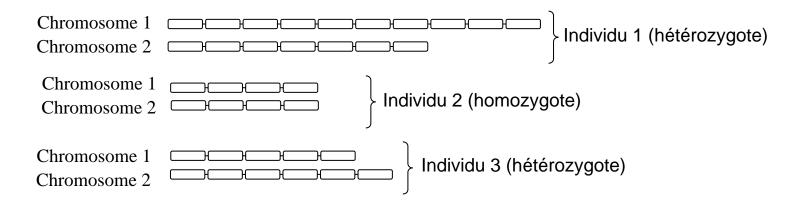


Preuve par l'ADN Raphaël Coquoz

Polymorphisme de longueur

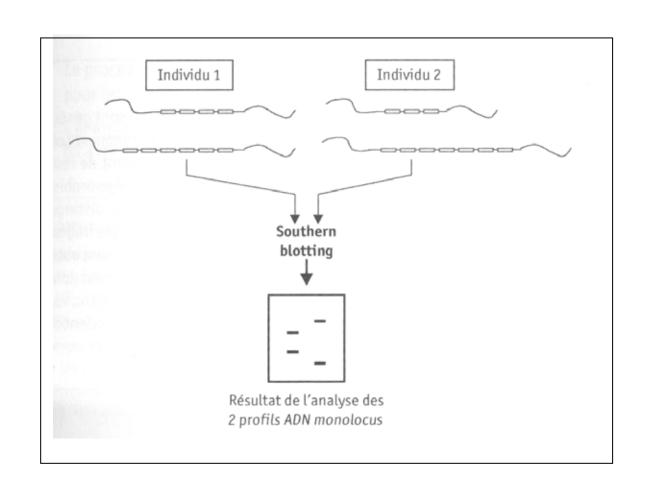
Séquences courtes en tandem

CTGG CTGG CTGG CTGG

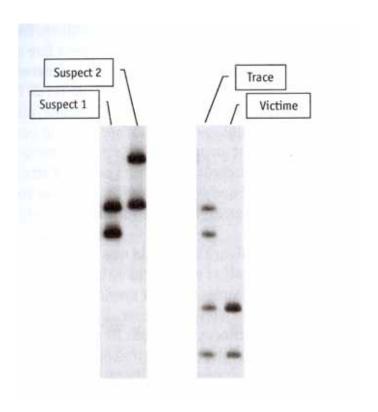


Détection du polymorphisme de longueur de fragments de restriction (par Southern Blot)

- 1 Digestion des ADN par des enzymes de restriction
- 2 migration sur un gel l'électrophorèse
- 3 Southern blot incubation avec un fragment d'ADN radioactif complémentaire des séquences répétées (GACCGACC)

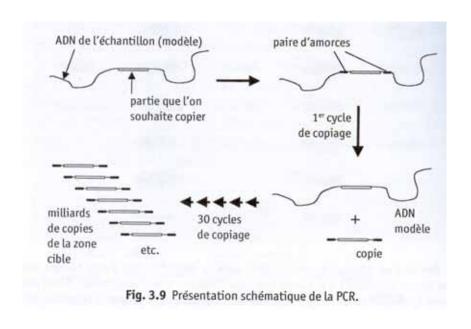


Exemple réel d'un cas de viol



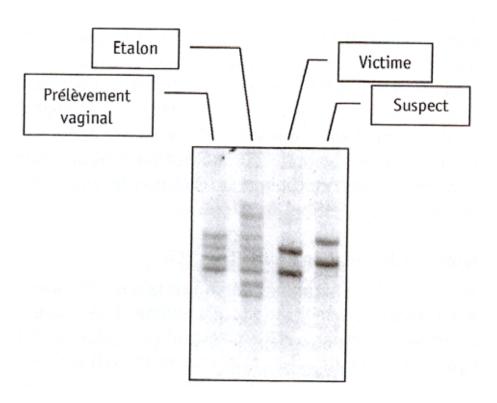
Qui est l'agresseurs ?

Méthode utilisée aujourd'hui (PCR)

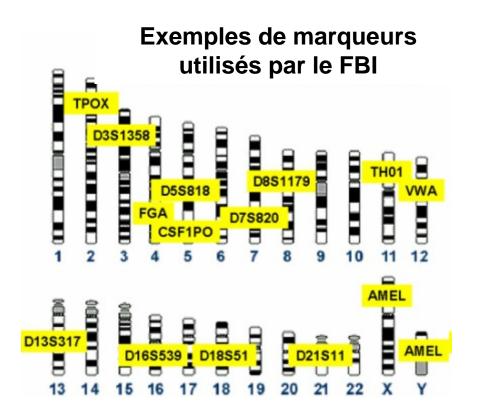


- 1 Amplification des séquences répétées
- 2 migration sur un gel d'électrophorèse
- 3 coloration du gel par du bromure d'éthidium. Ne vont être visibles que les fragments amplifiés.

Exemple réel



Le suspect est-il coupable ?



Quizz

L'ADN et l'ARN absorbent fortement la lumières à :

A - 280 nm?

B - 260 nm?

C-400 nm?

IV

L'électrophorèse sépare l'ADN en fonction

A – de la charge

B – de la taille

C – de la séquence

II

Quelle séquence a la température de dénaturation (Tm) la plus élevée ?

A – CACGATGA GTGCTACT

B – TGACTAGC ACTGATCG

Ш

Parmi ces séquences laquelle est susceptible d'être reconnues par une enzymes de restriction ?

 $\begin{array}{c} A-TCGATT\\ AGCTAA \end{array}$

B – AAGCTT TTCGAA V

