

UE-1: Génomes (Biologie Moléculaire)

Nucléosides/Nucléotides, ADN et Génomes
Replication – Réparation de l'ADN
Structure des gènes - Familles de gènes
Mutations
Antibiotiques, antimétaboliques

Pr R.
SALVAYRE
(Rangueil)

ARN
Transcription
Traduction

Pr B. Couderc
(Maraîchers)

Enzymes de restriction, Southern blot, sondes
Inactivation de l'X
PCR, RT-PCR,
Séquençage

Pr T. LEVADE
*
(Rangueil)

*Référent de l'enseignement

Les cours magistraux sont ceux de l'an dernier, sans modifications.

Ils seront accessibles, via Moodle, sous forme de vidéos Inwicast ou sous forme de diaporamas Powerpoint.

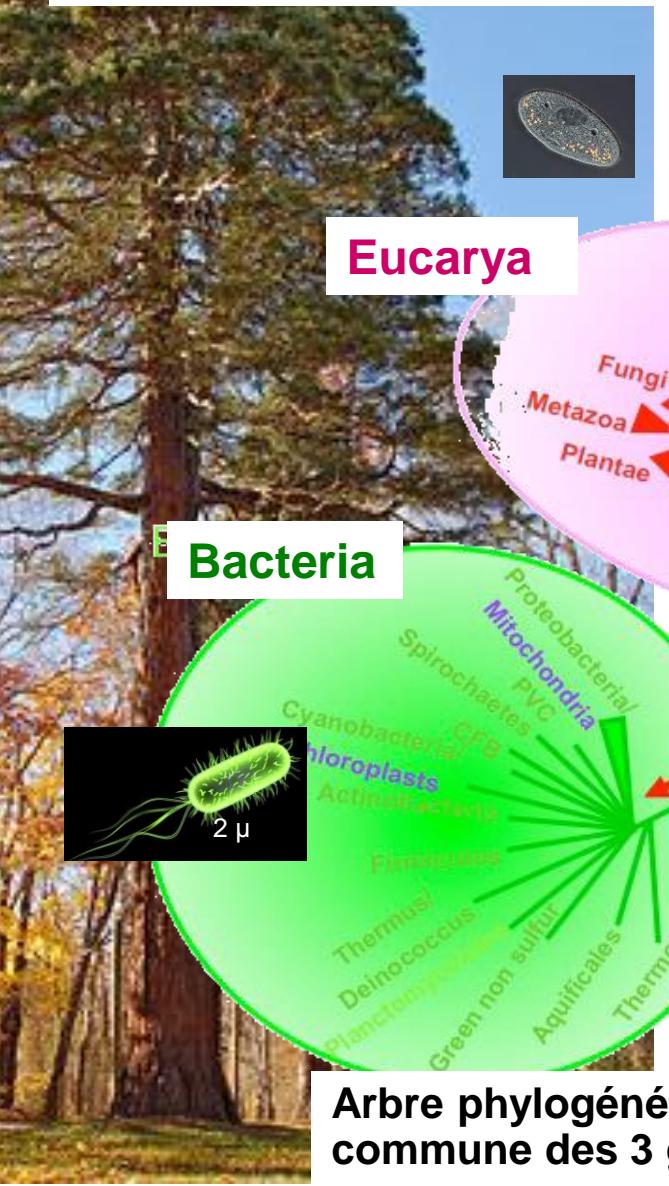
Vous aurez accès aux cours au minimum 1 semaine avant l'ED correspondant.

La Biologie Moléculaire est un domaine spécialisé de la Biochimie et étudie au niveau moléculaire la structure et les fonctions des acides nucléiques qui sont le support matériel du génome et de la génétique.

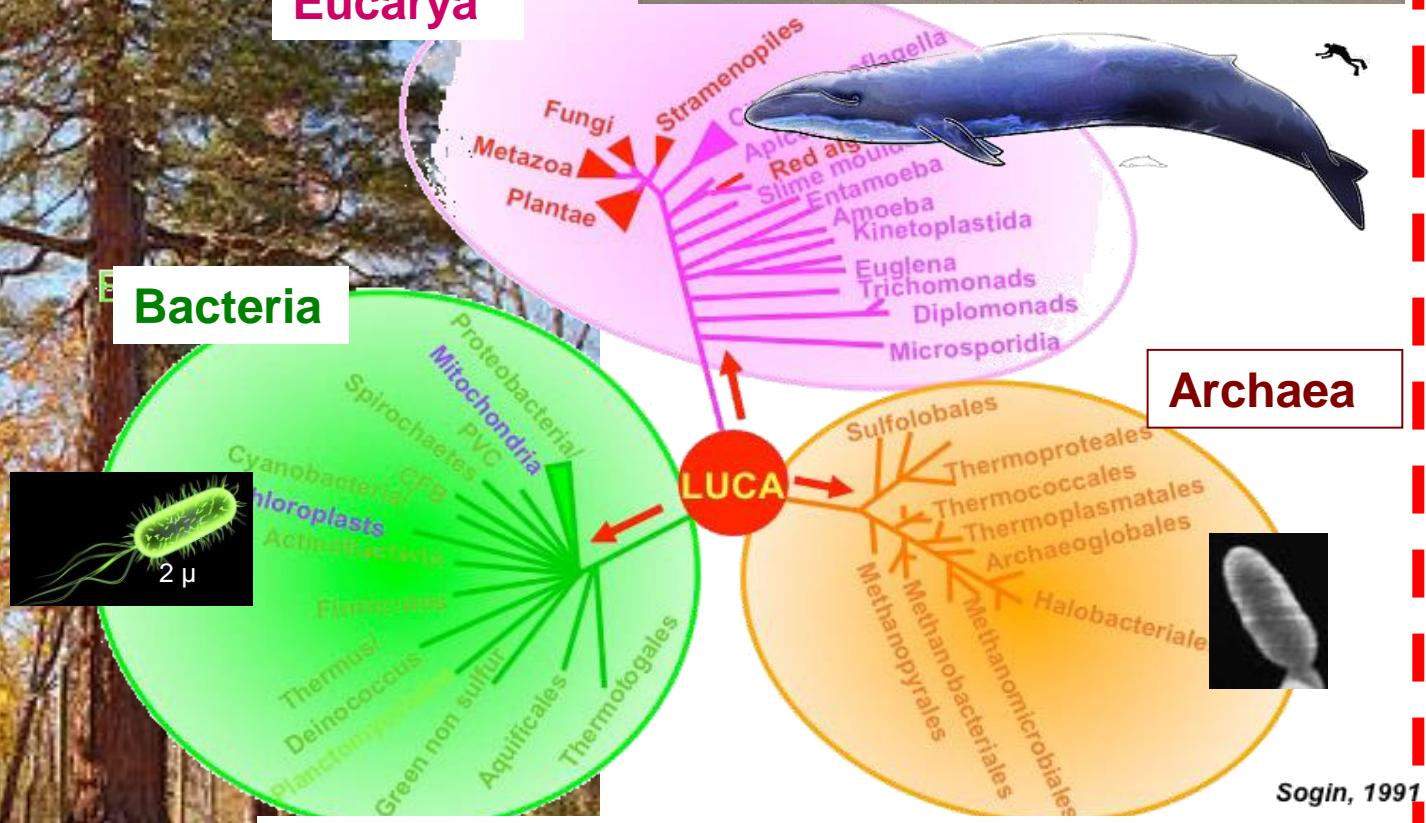
Dans le cadre de la Biologie médicale, la Biologie Moléculaire a (et aura) de nombreuses applications, par exemple pour le diagnostic des maladies infectieuses, des maladies génétiques, des cancers... pour la recherche médicale (manipulation génétiques cellulaires, animaux transgéniques...) et pour la thérapeutique (protéines recombinantes, vaccins...), et, dans un avenir plus ou moins proche, en thérapeutique des maladies génétiques.

Une notion de Biologie Générale

Les grands domaines de la vie et l'arbre phylogénétique du vivant



Eucarya

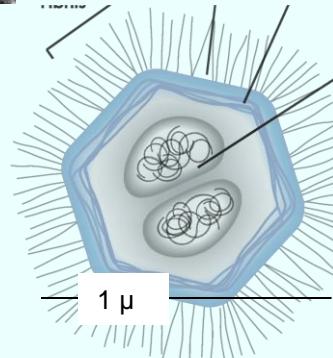
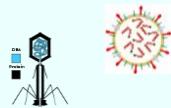


Arbre phylogénétique du vivant montrant l'origine commune des 3 grands domaines du vivant

Virus et viroïdes



Virus



Exemples

- Virophage: sputnik
 - Bacteriophages
 - Virus pathogènes
 - . Ebola
 - . Variole
 - . Grippe (100 nm)
 - . HIV (120 nm)
 - Virus géants (1 μm)
 - . mimivirus
 - . pandoravirus

Viroïdes

**Molécules (50 nm, 300 Nt) de
RNA circulaire apparié, ne
codant pas de protéine,
infectieuses chez les plantes**

UE-1: Génomes (Biologie Moléculaire)

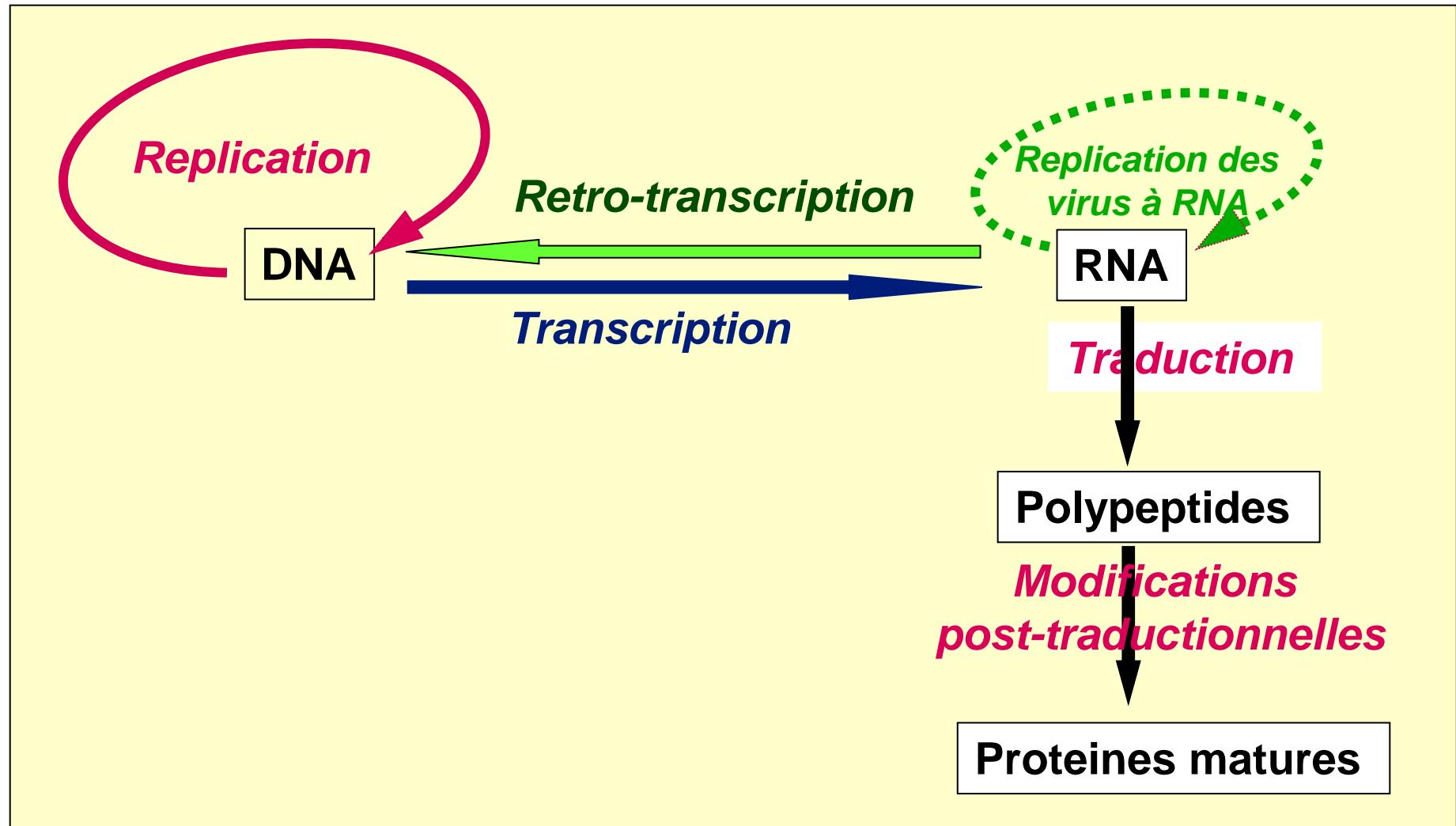
Plan du cours de Biologie Moléculaire générale

- Structure et fonction de Génomes.
 - 1 - Constituants des acides nucléiques et analogues - *Pr R Salvayre*
 - 2 - DNA - Réplication - *Pr R Salvayre*
 - 3 - RNA - Transcription - *Pr D Langin*
 - 4 - Traduction (biosynthèse des protéines) - *Pr D Langin*
 - 5 - Exemples de mutations - *Pr R Salvayre*
 - 6 - Exemples d'antibiotique et antimétabolites - *Pr R Salvayre*
(inhibiteurs d'étapes de Biologie Moléculaire)

Introduction Générale

Les acides nucléiques sont le support de l'hérédité

Schéma des grandes étapes du fonctionnement du génome



Plan du chapitre 1

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Base azotées, Nucléosides, Nucléotides

1.2 - Métabolisme des bases azotées et des nucléotides

1.3 - Dérivés et analogues de bases, nucléosides et nucléotides

1.4 - Polynucléotides

→ Les nucléotides sont les éléments constitutifs des DNA et RNA

Base azotée + Ose + Phosphate(s)

Nucléoside

Nucléotide

Les acides nucléiques constituent le support matériel biologique de l'héritéité et de la machinerie génétique.

Les principaux constituants des acides nucléiques sont les nucléotides.

Chaque nucléotide est formé de:

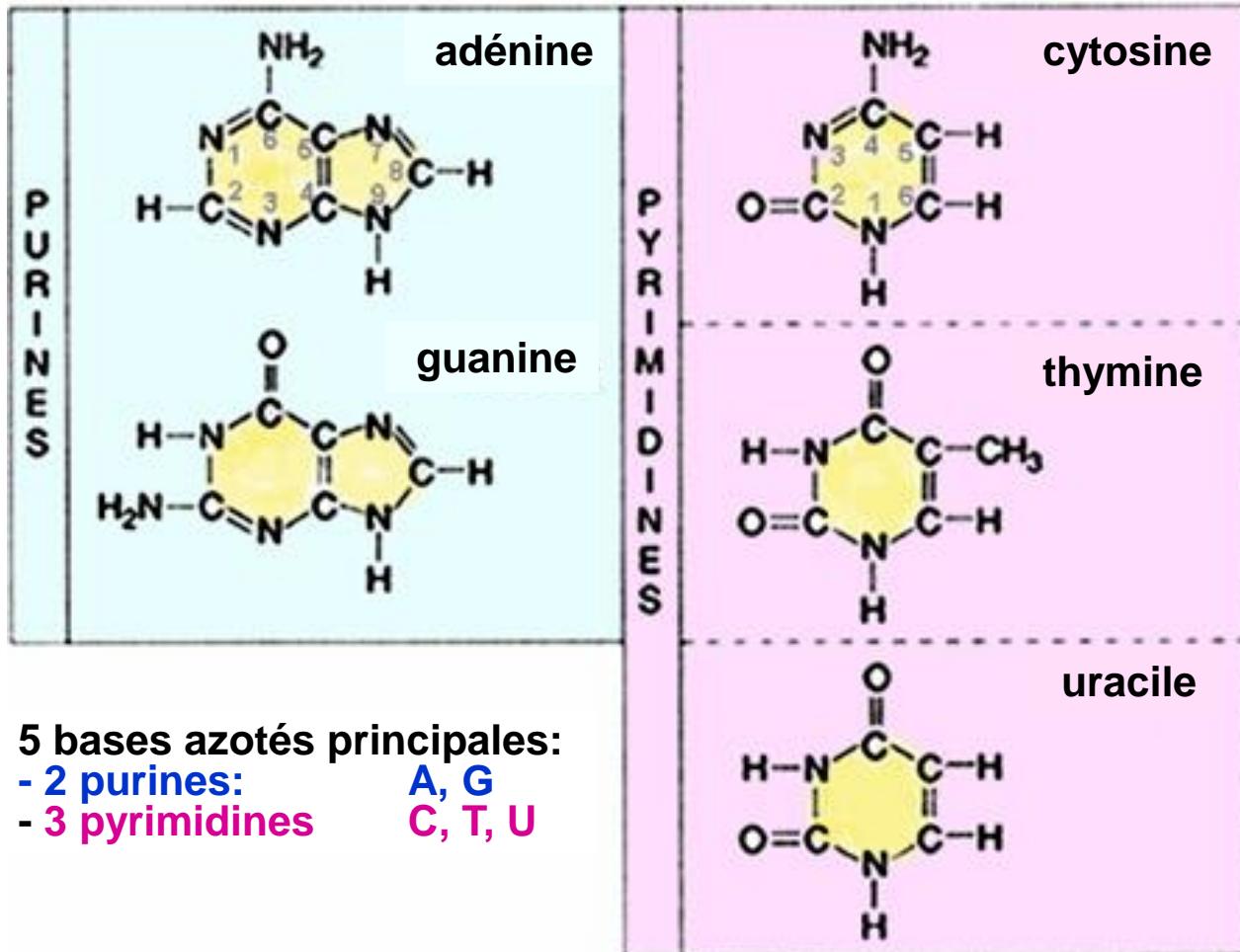
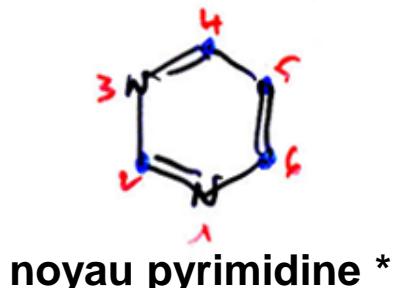
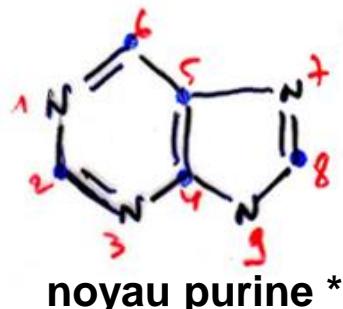
- une base azotée : purine ou pyrimidine
- un oses : ribose ou désoxyribose (ou deoxyribose)
- un ou plusieurs phosphates

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.1. Structure des bases puriques et pyrimidiques

Il existe 2 familles de bases dans les acides nucléiques caractérisées par leur noyau azoté



5 bases azotés principales:

- 2 purines: A, G
- 3 pyrimidines C, T, U

* nb : les formules sont souvent abrégées: C et H ne sont pas écrits

Dans le DNA, on trouve A,G,C,T
Dans le RNA, on trouve A,G,C,U

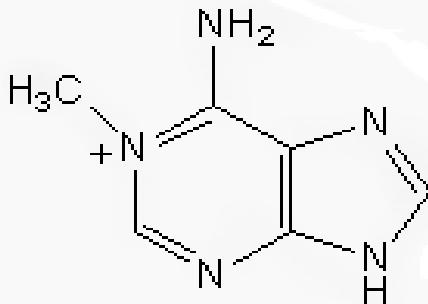
1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

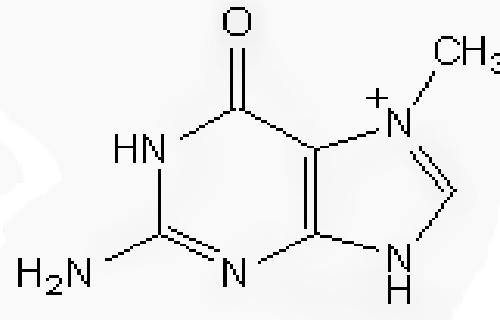
1.1.1. Structure des bases puriques et pyrimidiques

Bases azotées modifiées et dérivés (voir d'autres exemples plus loin)

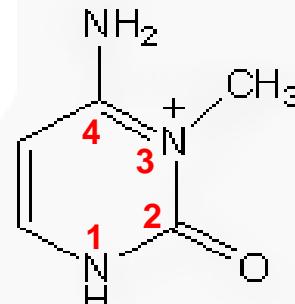
Exemples de bases méthylées



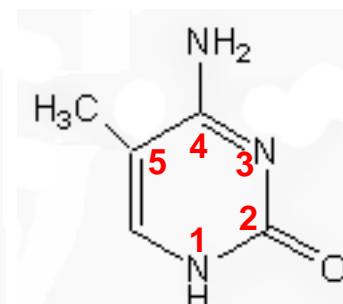
1-méthyladénine



7-méthylguanine

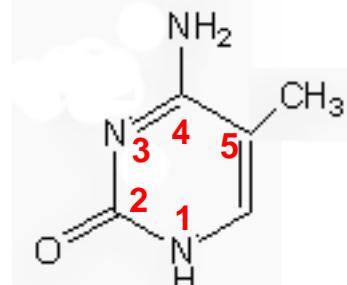
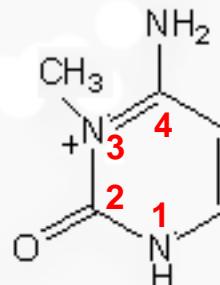


3-méthylcytosine



5-méthylcytosine

Exemples de bases azotées méthylées



* à droite, les mêmes méthylcytosines sont présentées en haut et en bas, vues soit en recto, soit en verso. La numérotation de quelques atomes du cycle est en rouge.

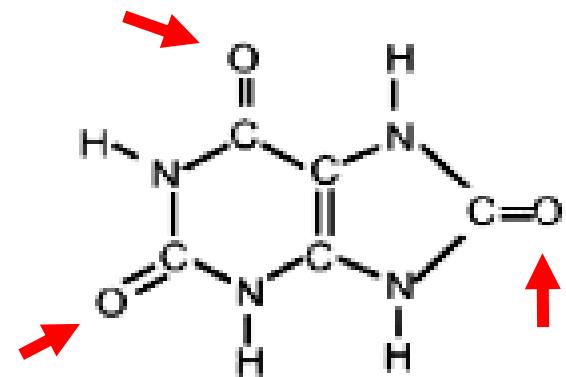
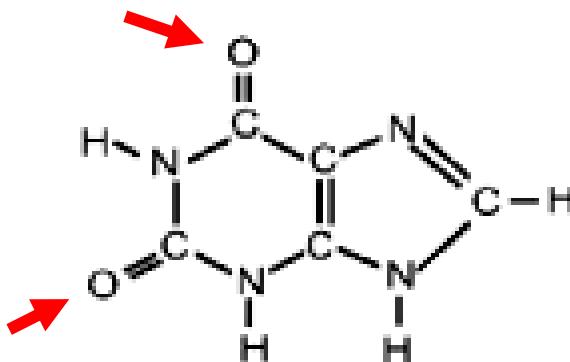
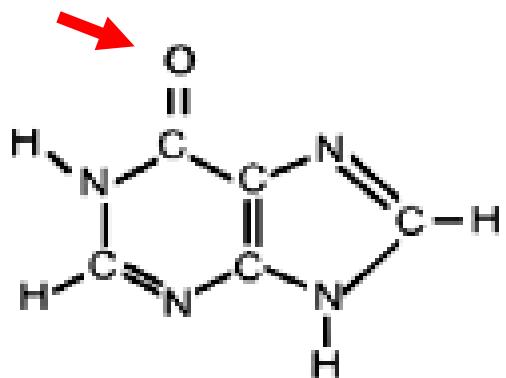
1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.1. Structure des bases puriques et pyrimidiques

Bases azotées modifiées et dérivés

Exemples de dérivés oxygénés des bases



les flèches montrent la position des atomes d'oxygène

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.2. Tautométrie des bases puriques et pyrimidiques

Tautométrie: forme particulière d'isomérie des bases:

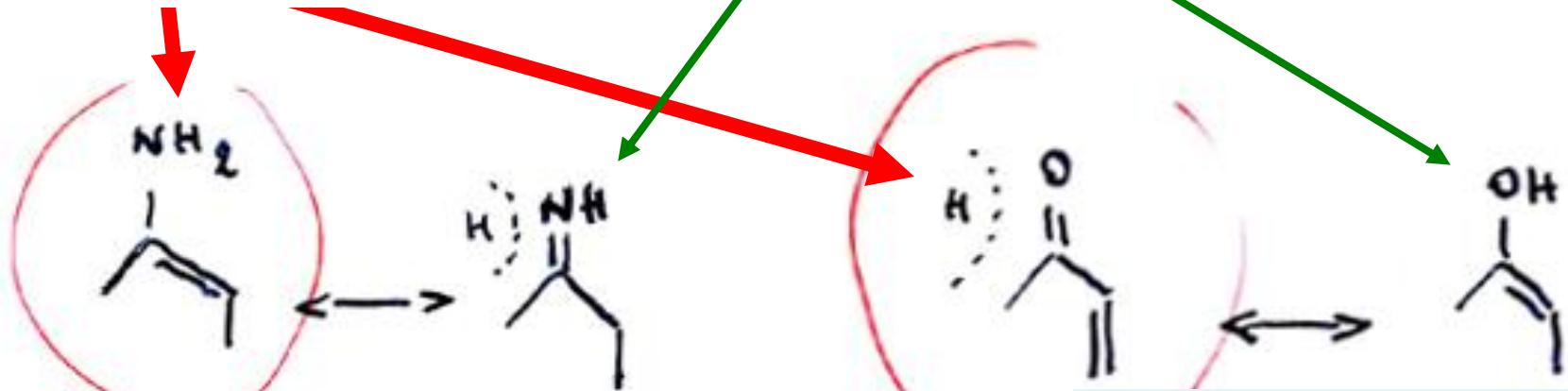
- amine
- cétone

imine
hydroxyle (alcool, énol)

Les formes amines et imines forment un équilibre chimique (interconversion réversible) avec une grande prédominance des formes amine et cétone, plus stables

formes majeures
plus stables

formes mineures moins stables



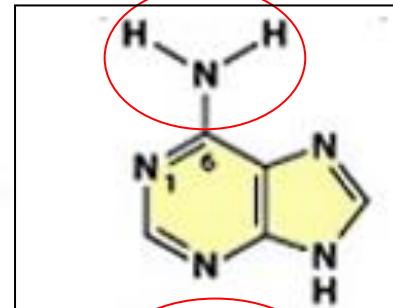
Interconversion et équilibre
entre les deux formes
tautomères

Interconversion et équilibre
entre les deux formes
tautomères

1.1.2. Tautométrie des Bases puriques et pyrimidiques

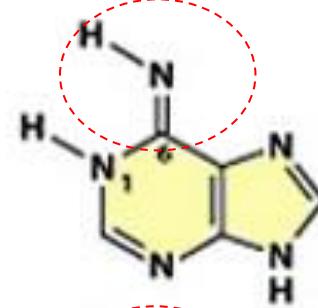
exemples de formes tautomères
 (les formes les plus stables, 'majeures', sont encadrées)

formes majeures

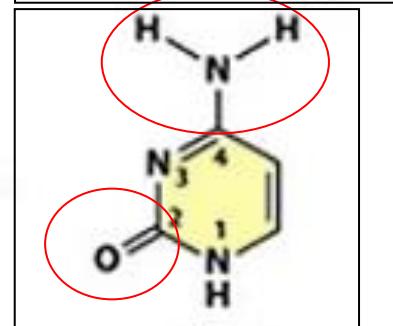


Adénine

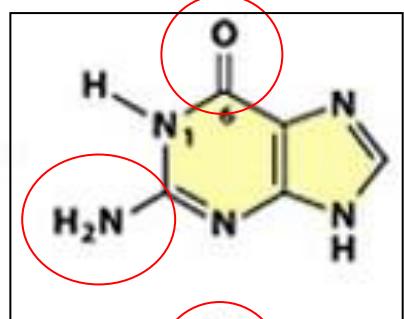
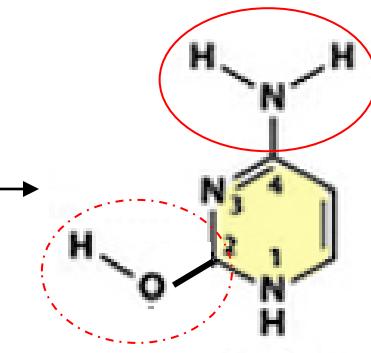
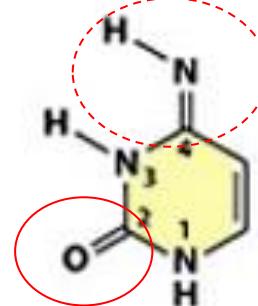
formes mineures



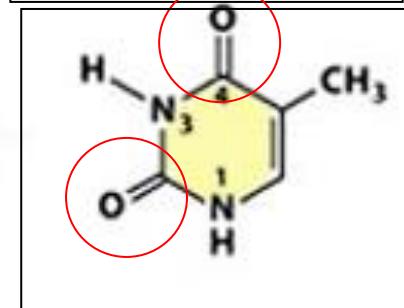
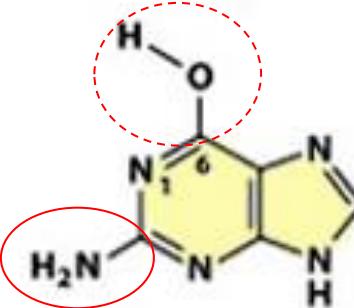
Nb : toutes les formes mineures ne sont pas représentées ici



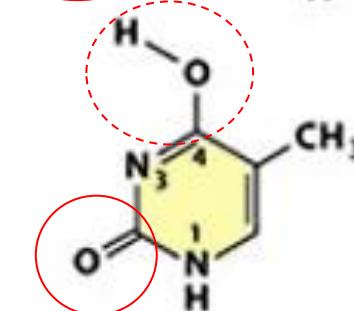
Cytosine



Guanine



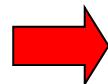
Thymine



1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

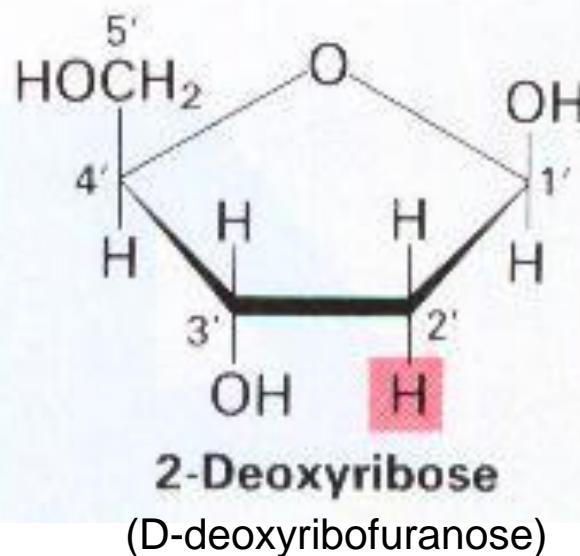
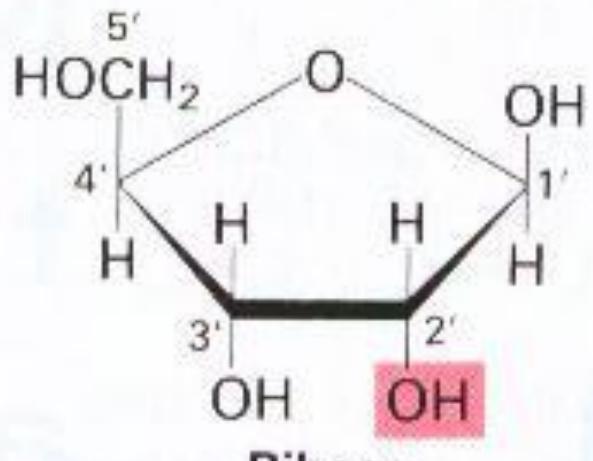
1.1.3. Structure des Nucléosides (Base + ose)



Les Nucléosides sont constitués d'une Base et d'un Ose.

Les 2 oses des acides nucléiques:

- Ribose → Ribonucléosides (du RNA)
- Désoxyribose → Désoxyribonucléosides (du DNA)



1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.4. Structure des Nucléotides (Base + ose + phosphate(s))

Définition

Nucléotide = Nucléoside + phosphate(s)

On distingue

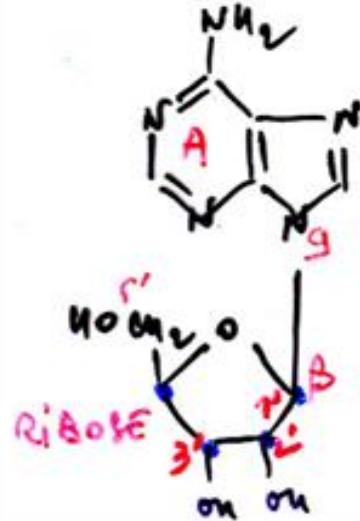
- . des groupes de Nt caractérisés par l'ose:
 - **Ribonucléotides = Nucléotides à Ribose**
 - **Désoxyribonucléotides = Nucléotides à Désoxyribose**
- . des groupes de Nt caractérisés par la base: par exemple, les **nucléotides à adénine, à guanine, à cytosine, à uracile, à thymine...**
- . des groupes de Nt caractérisés par le nombre de phosphates: les **mono-, di- et tri-phosphonucléotides**

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

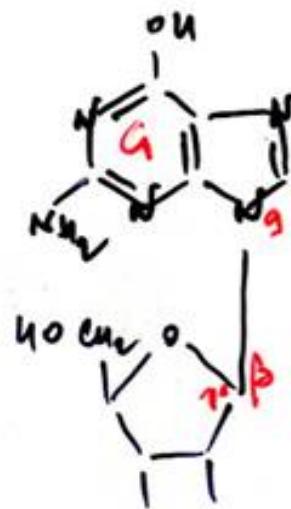
1.1.3. Structure des Nucléosides

Les principaux **Ribonucléosides** : Base + ribose

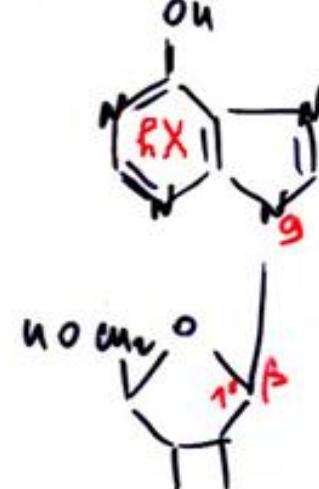
Bases: adénine



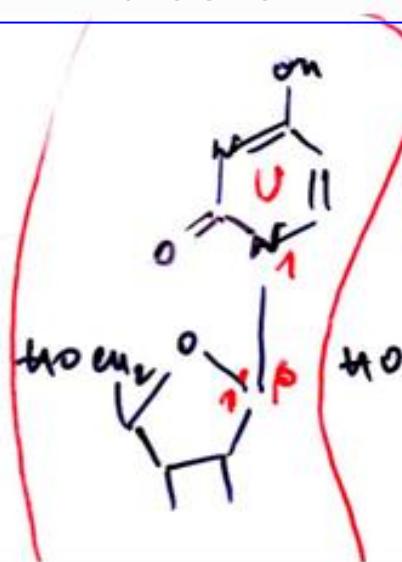
guanine



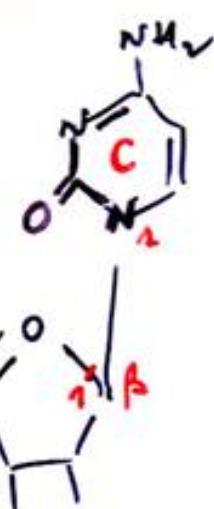
hypoxanthine



uracile



cytosine



Adénosine

A

Guanosine

G

Inosine

I

Uridine

U

Cytidine

C

Nom et abréviation des Ribonucléosides

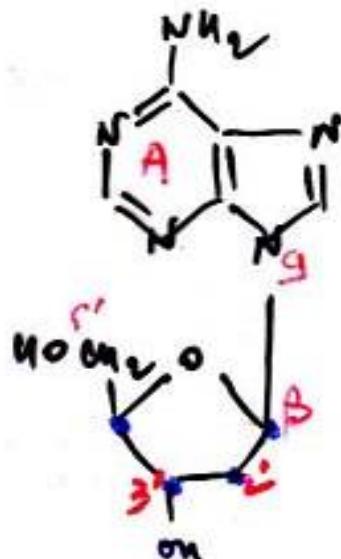
Attention à la nomenclature (les suffixes sont parfois trompeurs !)

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

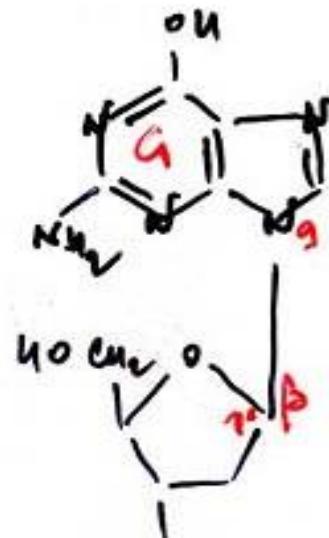
1.1.3. Structure des Nucléosides

Les principaux **Désoxyribonucléosides** : base + désoxyribose

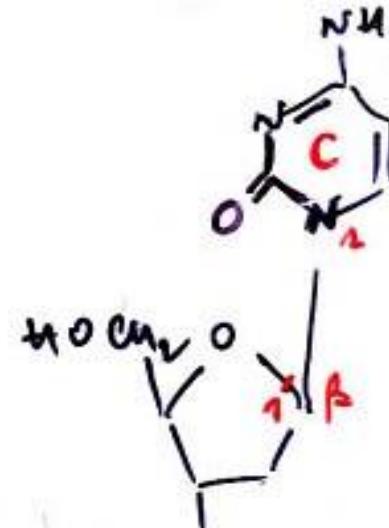
Bases: adénine



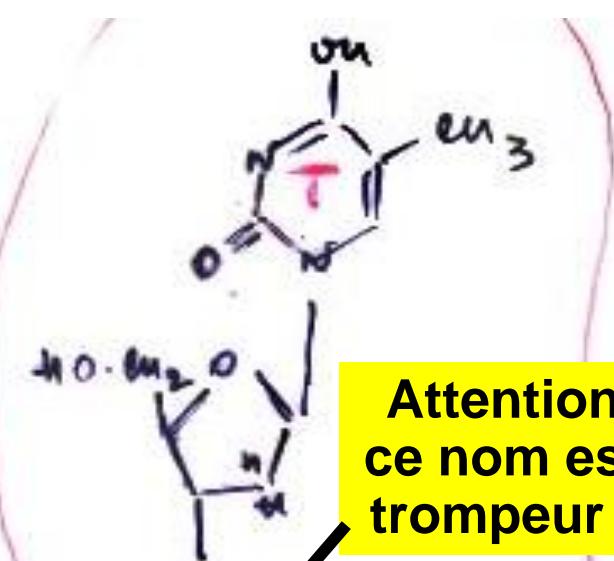
guanine



cytosine



thymine



Attention
ce nom est
trompeur !

Désoxy-
adénosine

Désoxy-
guanosine

Désoxycytidine

Thymidine
(Désoxythymidine)

dA

dG

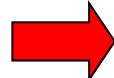
dC

dT

Nom et abréviation des Désoxyribonucléosides

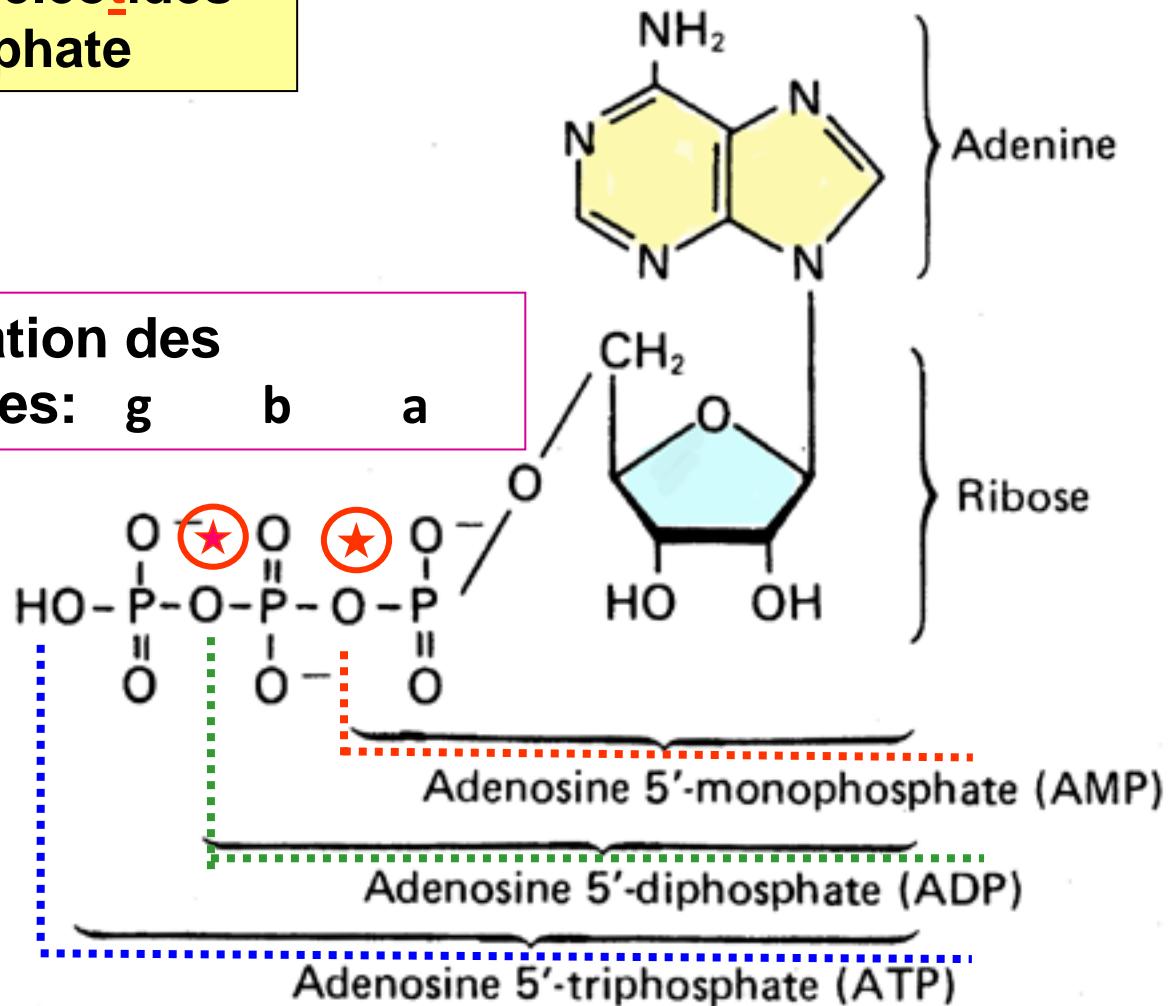
1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.3. Structure des Nucléosides et nomenclature



Exemple de **Ribonucléotides**
mono, di et tri-phosphate

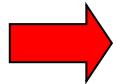
Numérotation des
phosphates: g b a



★ les liaisons
anhydride d'acide
(P-O-P) sont riches
en énergie

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.4. Structure des Nucléotides et nomenclature



Nomenclature des Ribonucléotides → mono, di, tri-phosphate

Ribonucléotides 5' MonoPhosphate (RMP ou NMP ou XMP)

- adénine = AMP (Adénosine 5' MonoPhosphate)
- guanine = GMP (Guanosine 5' MonoPhosphate)
- cytosine = CMP (Cytidine 5' MonoPhosphate)
- uracile = UMP (Uridine 5' MonoPhosphate)

Ribonucléotides 5' DiPhosphate (RDP ou NDP ou XDP)

- adénine = ADP (Adénosine 5' DiPhosphate)
- guanine = GDP (Guanosine 5' DiPhosphate)
- cytosine = CDP (Cytidine 5' DiPhosphate)
- uracile = UDP (Uridine 5' DiPhosphate)

Ribonucléotides 5' TriPhosphate (RTP ou NTP ou XTP)

- adénine = ATP (Adénosine 5' TriPhosphate)
- guanine = GTP (Guanosine 5' TriPhosphate)
- cytosine = CTP (Cytidine 5' TriPhosphate)
- uracile = UTP (Uridine 5' TriPhosphate)

1.1.4. Structure des Nucléotides et nomenclature

Nomenclature des Désoxyribonucléotides (à désoxyribose)

Les désoxyribonucléotides 5' MonoPhosphate (dNMP ou dXMP)

- adénine = dAMP (désoxyAdénosine 5' Mono Phosphate)
- guanine = dGMP (désoxyGuanosine 5' Mono Phosphate)
- cytosine = dCMP (désoxyCytidine 5' Mono Phosphate)
- thymine = dTMP (désoxyThymidine 5' Mono Phosphate)

Les désoxyribonucléotides 5' DiPhosphate (dNDP ou dXDP)

- adénine = dADP (désoxyAdénosine 5' DiPhosphate)
- guanine = dGDP (désoxyGuanosine 5' DiPhosphate)
- cytosine = dCDP (désoxyCytidine 5' DiPhosphate)
- thymine = dTDP (désoxyThymidine 5' DiPhosphate)

Les désoxyribonucléotides 5' TriPhosphate (dNTP ou dXTP)

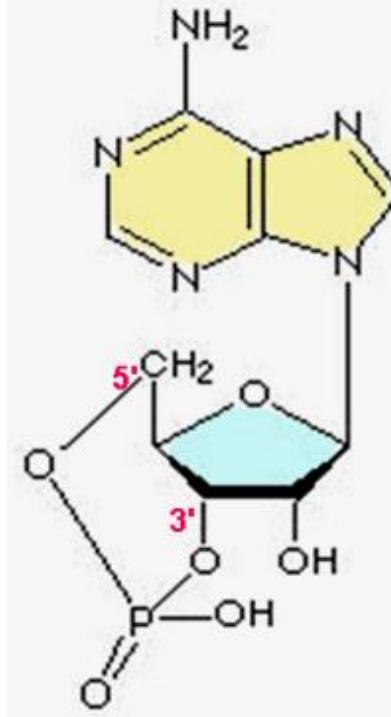
- adénine = dATP (désoxyAdénosine 5' TriPhosphate)
- guanine = dGTP (désoxyGuanosine 5' TriPhosphate)
- cytosine = dCTP (désoxyCytidine 5' TriPhosphate)
- thymine = dTTP (désoxyThymidine 5' TriPhosphate)

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

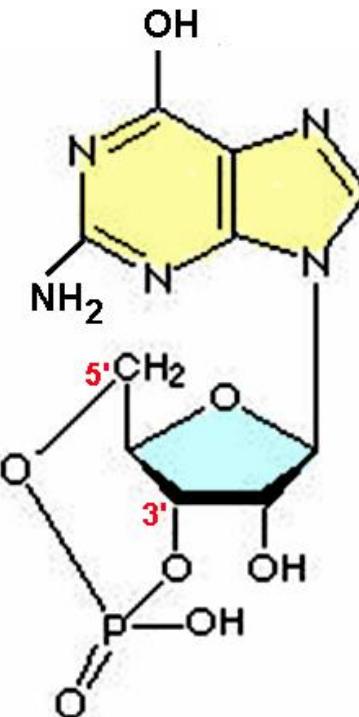
1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.4. Structure des Nucléotides

- Nucléotides cycliques - Exemples



AMPc
(ou AMP cyclique 3',5')



GMPc
(ou GMP cyclique 3',5')

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

- 1/ Les nucléotides sont les éléments constitutifs des ADN et ARN
- 2/ Les appariements entre les bases se font par l'intermédiaire de liaisons hydrogène
- 3/ Les appariements "normaux" (habituels)
- 4/ Les formes tautomères mineures des bases → appariements "anormaux" (inhabituels) et effet mutagène
- 5/ Les nucléotides sont des composés riches en énergie qui sont nécessaires à la vie de la cellule.
- 6/ Les nucléotides forment des composés avec divers métabolites (qui sont nécessaires au métabolisme cellulaire).

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

1/ Les nucléotides sont les éléments constitutifs des acides nucléiques (ADN et ARN)

Les ribonucléotides

- . contiennent les bases A, G, C, U (et parfois hX)
- . servent à la biosynthèse des RNA
- . jouent un rôle important dans divers métabolismes

Les désoxyribonucléotides

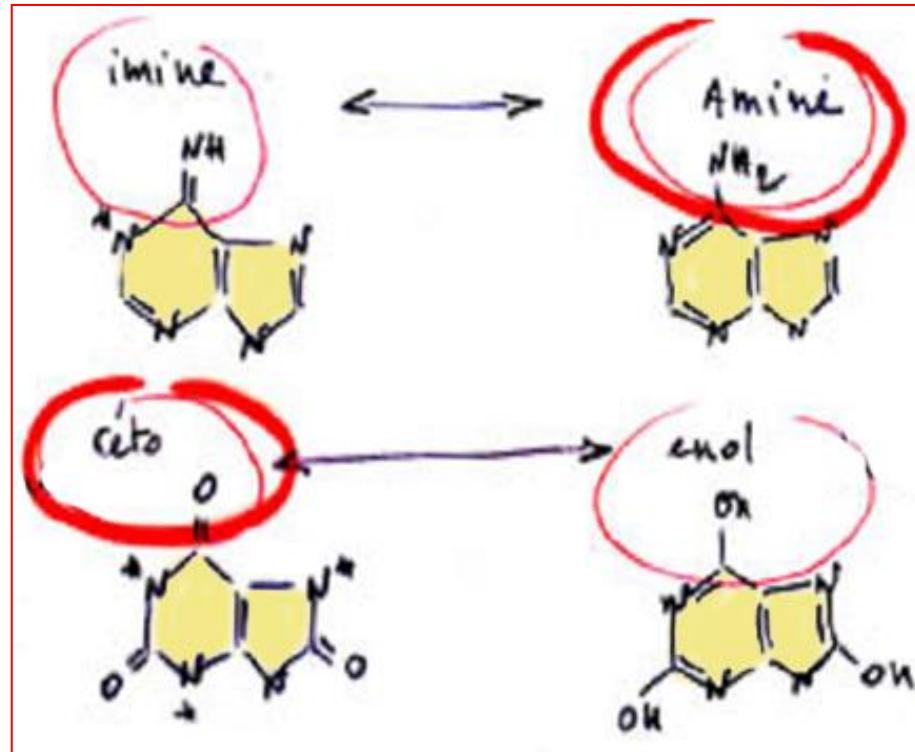
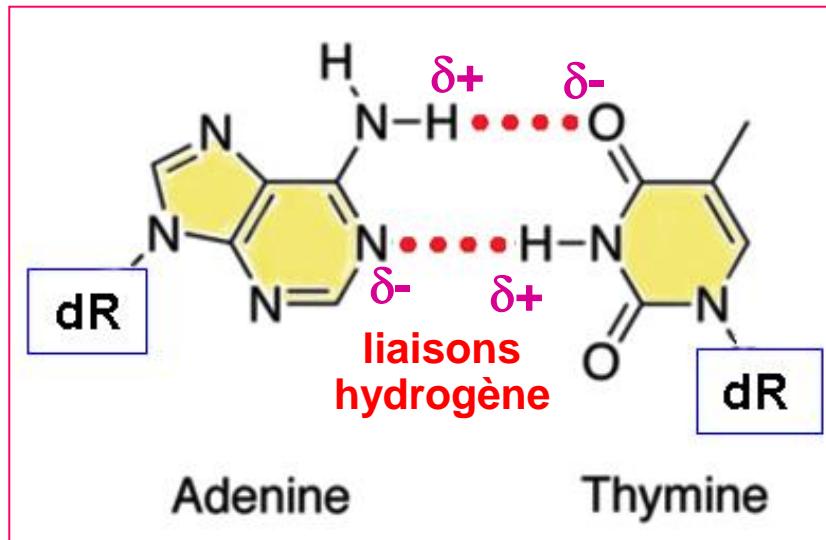
- . contiennent les bases A, G, C, T
- . servent à la biosynthèse du DNA

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

2/ Appariement des bases (par des liaisons hydrogène)

L'appariement des bases se fait par des liaisons hydrogène entre les bases azotées situées en vis-à-vis



Les formes "amino" et "céto" sont les formes prédominantes (majeures, les plus stables) qui participent à la formation des liaisons hydrogène des paires tautomères majeures, mais l'existence de formes tautomères mineures peut induire la formation d'appariements "anormaux" (inhabituels)

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

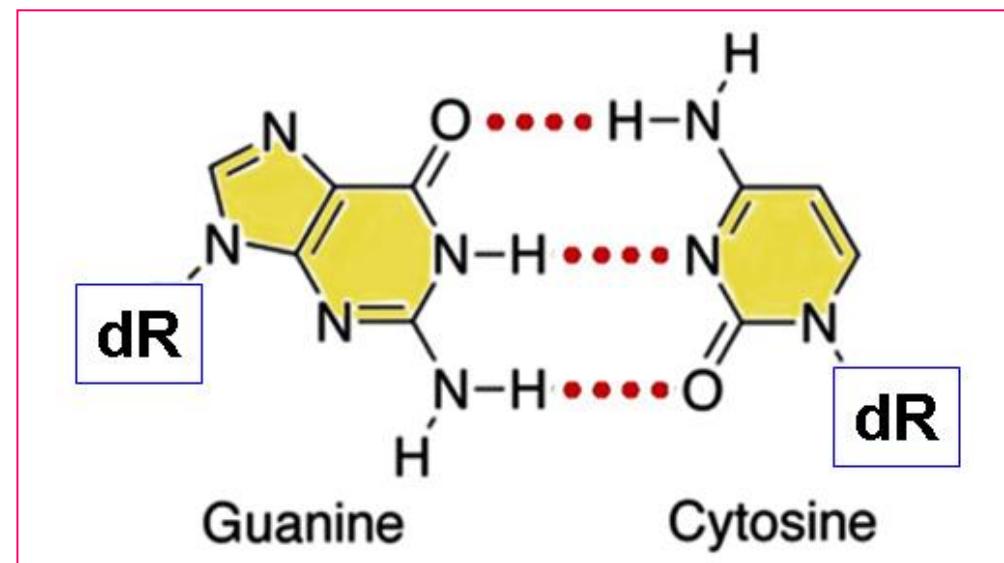
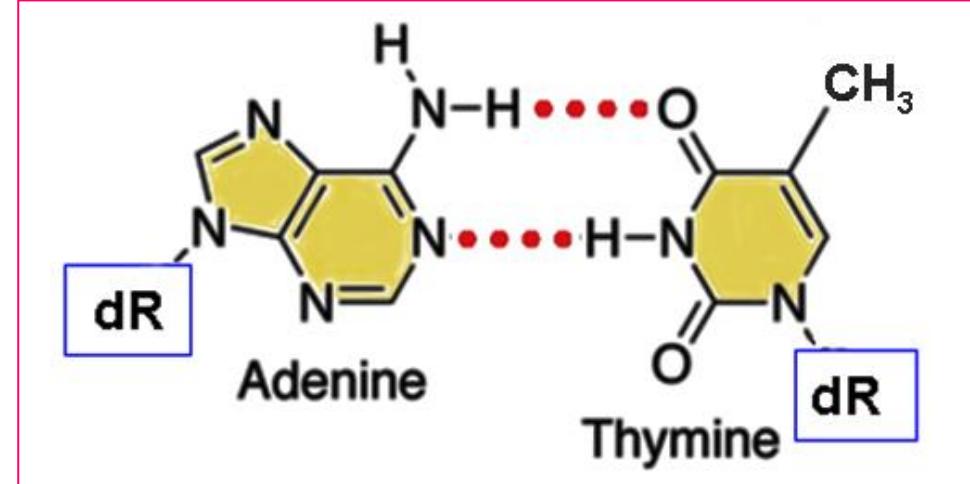
1.1.5. Propriétés et rôles importants

3/ Appariements "normaux" (habituels) des bases

Les appariements 'normaux' des formes majeures des bases sont:

A - T (2 liaisons hydrogène)
et

G - C (3 liaisons hydrogène)



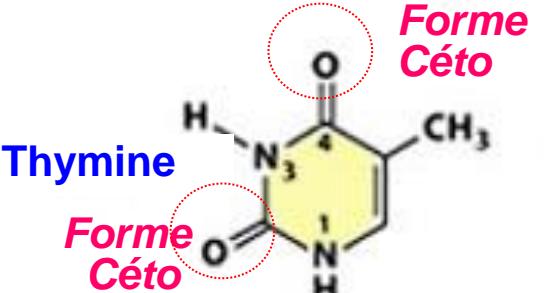
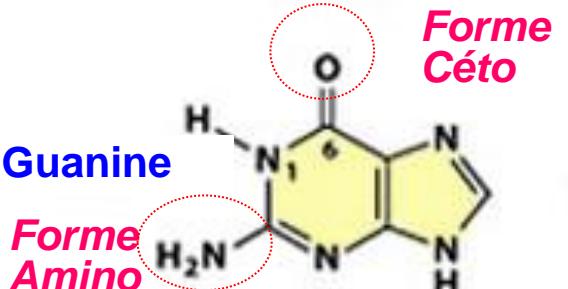
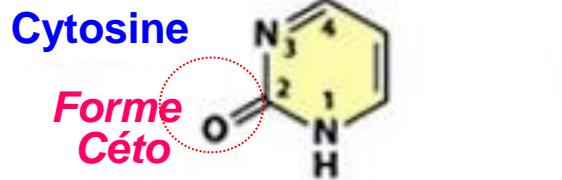
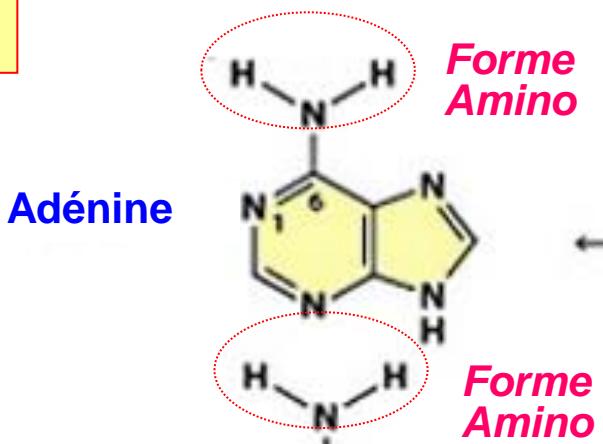
dR = désoxyribose

4/ Appariements des bases

Exemples de formes tautomères majeures et mineures (rares) des bases

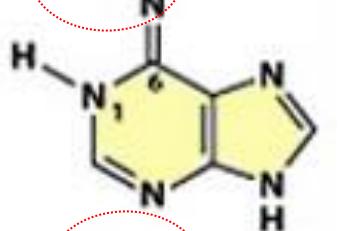
Dans les appariements de bases dits "normaux", les bases sont sous formes tautomères majeures. Les formes tautomères mineures (rares) des bases peuvent provoquer des appariements "anormaux" (inhabituels) (voir dia suivante)

Formes majeures

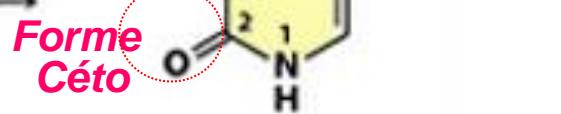


Formes mineures exemplaires

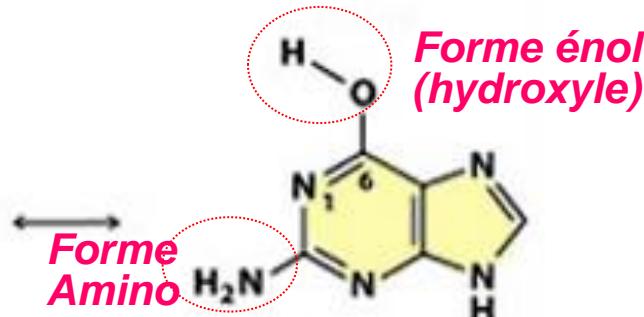
Forme Imino



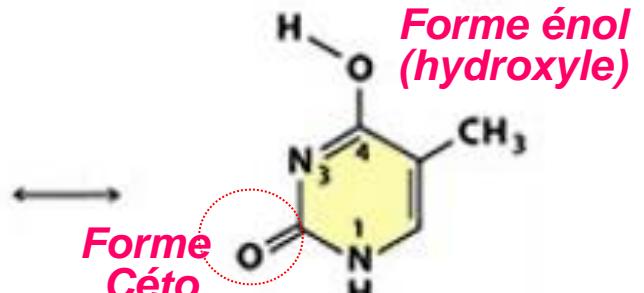
Forme Imino



Forme énol (hydroxyle)



Forme énol (hydroxyle)

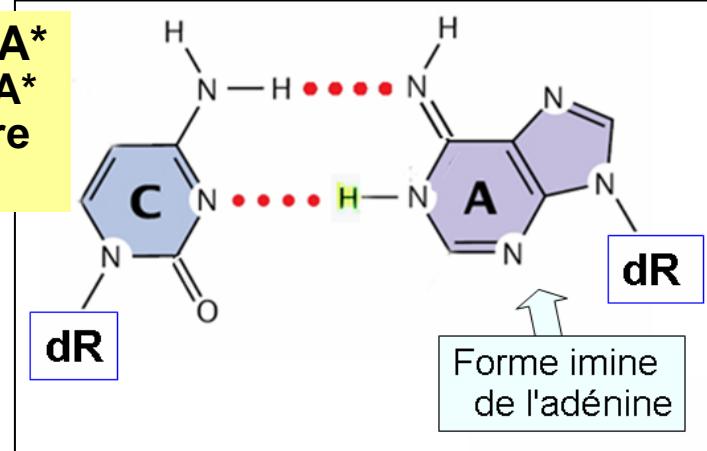


1.1.5. Propriétés et rôles importants

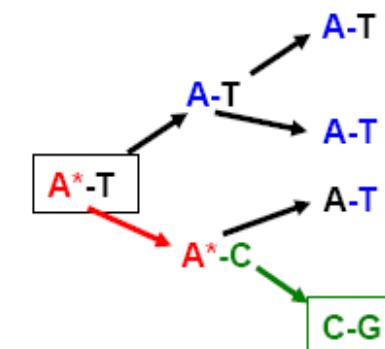
4/ Appariements "anormaux" (inhabituels) des formes tautomères mineures

Exemples

Appariement "anormal" C-A*
forme tautomère mineure de A*
avec forme tautomère majeure
de C

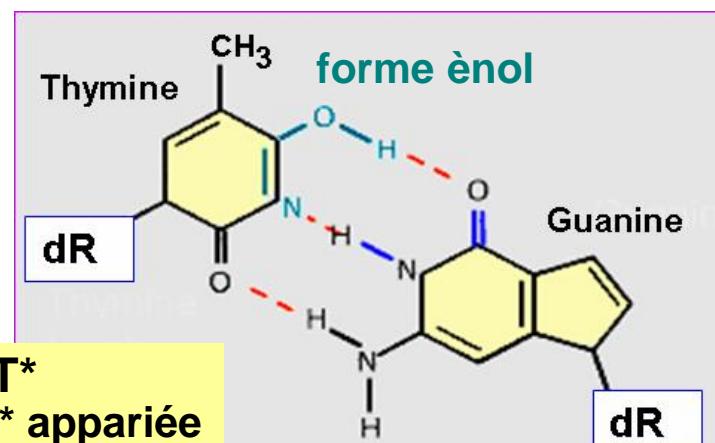


Conséquence sur la réPLICATION

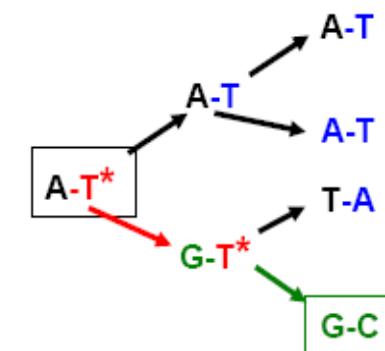


Mutation 'fixée'

Appariement "anormal" G-T*
forme tautomère mineure de T* appariée
avec la forme tautomère majeure de G



Conséquence sur la réPLICATION



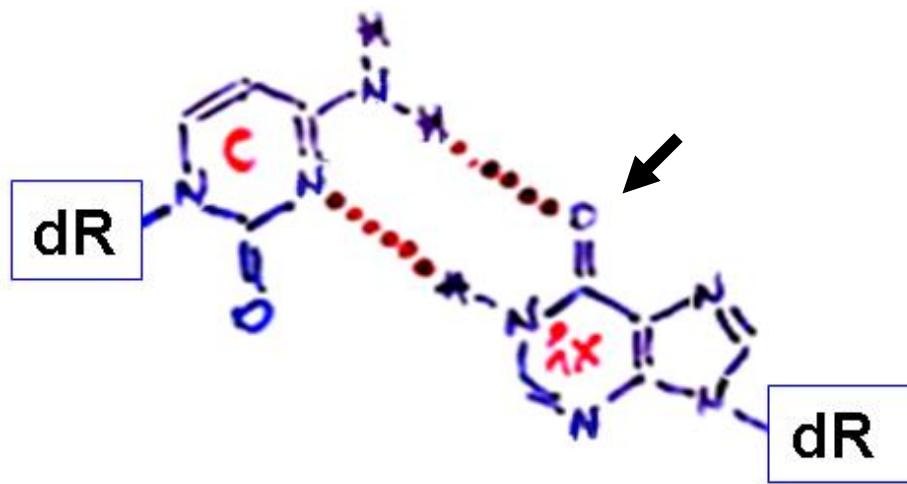
Mutation ('fixée')

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

4/ Appariements "anormaux" de bases modifiées

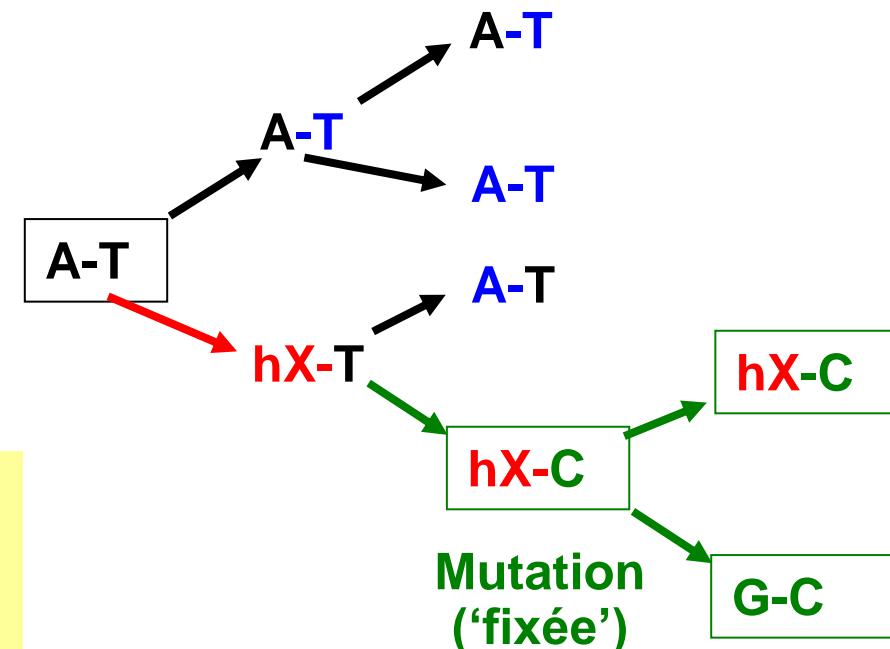
Exemple: l'hypoxanthine (**hX**) peut se former accidentellement par désamination oxidative de l'adénine. Si elle persiste (si non réparation de cette anomalie - cf chapitre réparation de l'ADN), elle s'apparie avec la cytosine (donc, peut induire une mutation)



Appariement "anormal" C - hX.

Forme tautomère majeure de hX (l'anomalie est la présence d'hX dans l'ADN) qui s'apparie avec la forme tautomère majeure de C.

Conséquence sur la réPLICATION



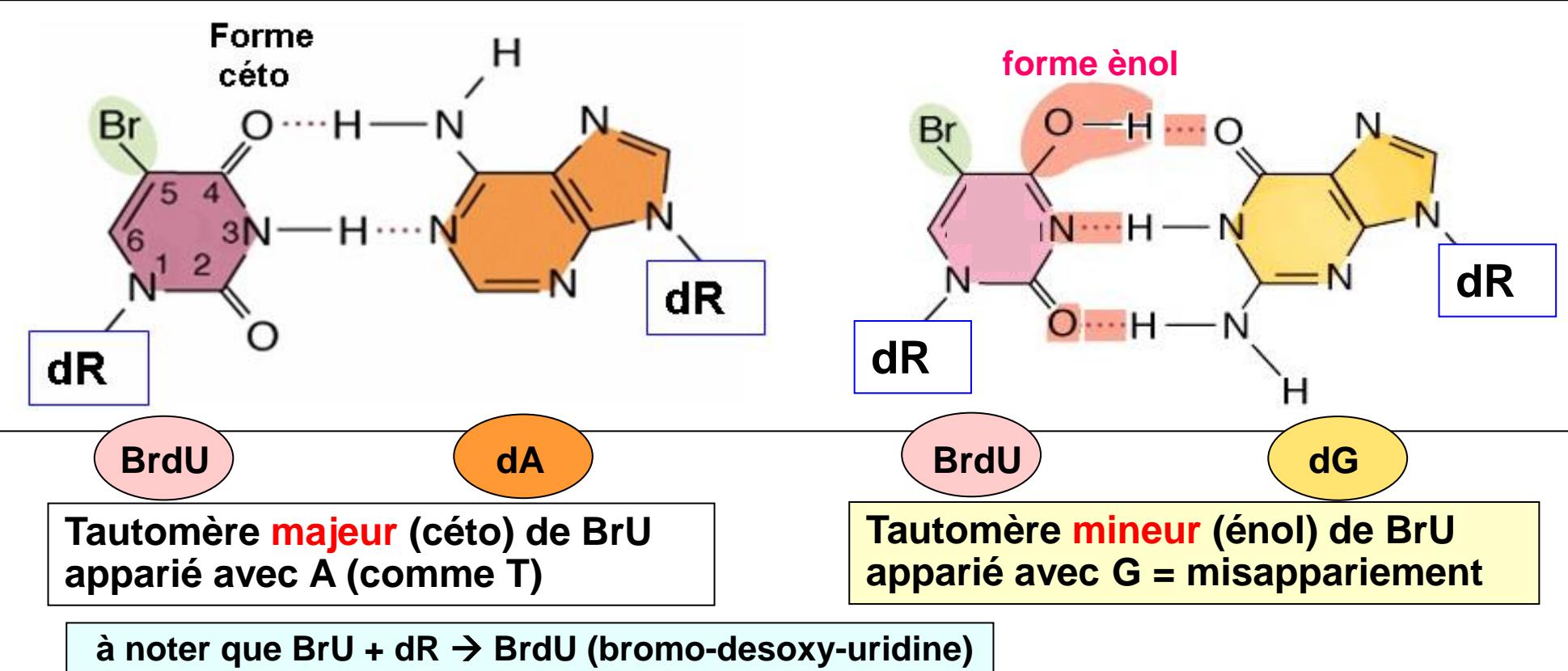
1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

4/ Appariements "anormaux" d'analogues de bases

Exemple: BrU (5-bromo-uracile est un analogue de la thymine) qui présente une plus grande fréquence de tautomères mineurs (et donc augmente le risque de misappariement)

* Les misappariements sont cause de mutations, malgré les systèmes des réparation)



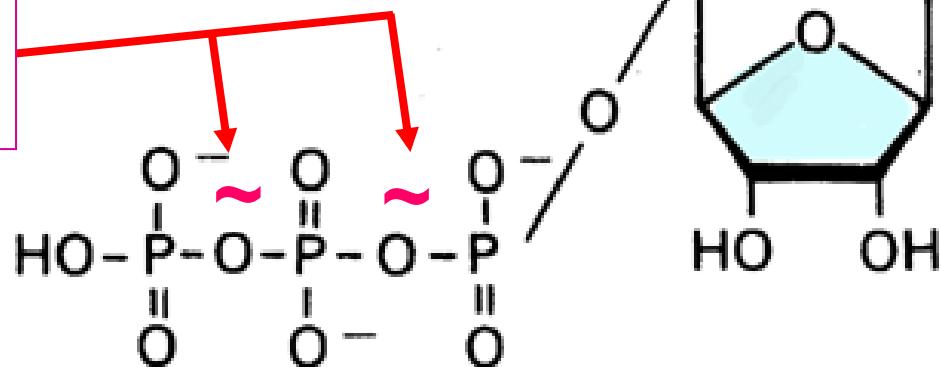
1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

5/ Liaisons riches en énergie

Les nucléotides triphosphates ont deux liaisons riches en énergie et constituent donc des réserves biochimiques d'énergie

Les liaisons (~) anhydride d'acide sont riches en énergie

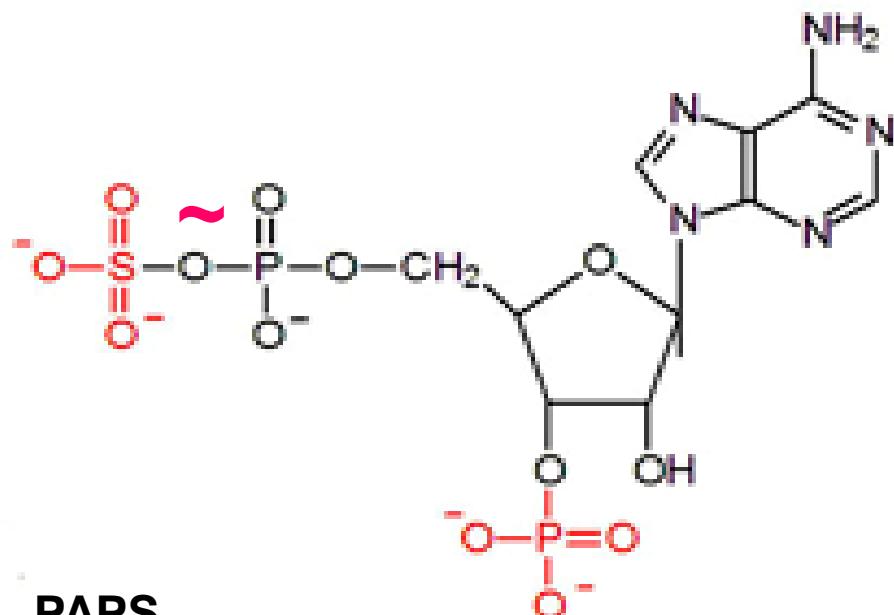


1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

6/ Les nucléotides forment avec divers métabolites des composés qui sont nécessaires au métabolisme cellulaire

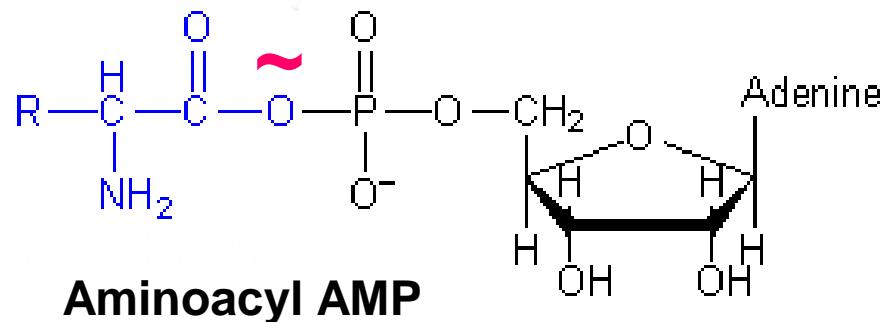
Exemple de dérivé d'acide sulfurique (un acide inorganique)



PAPS

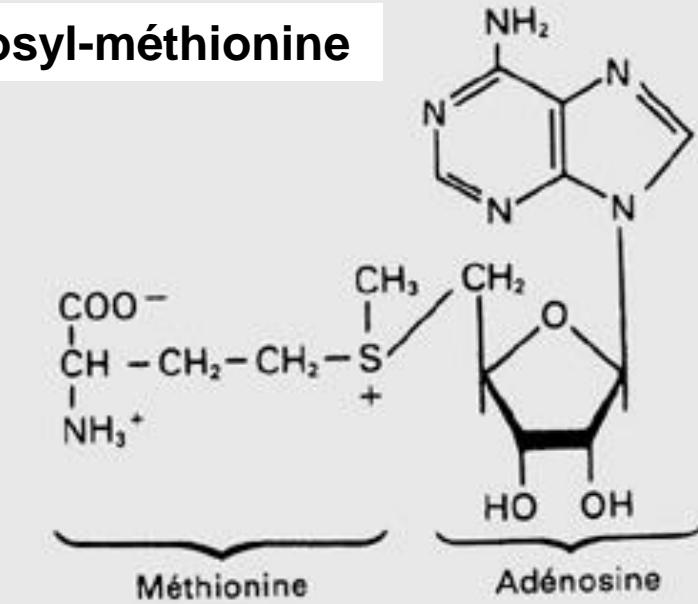
Phosphoadénosine phosphosulfate

Exemples de dérivés d'acides aminés



Aminoacyl AMP

S-adénosyl-méthionine

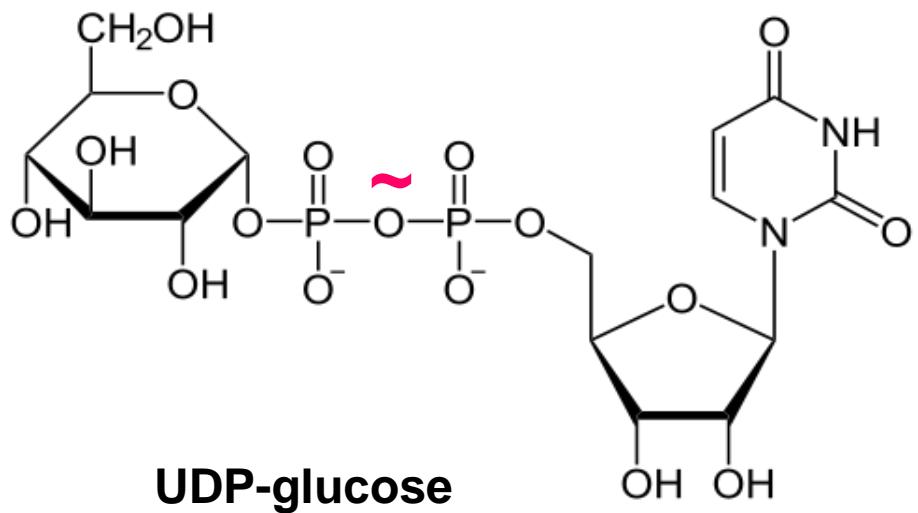


1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

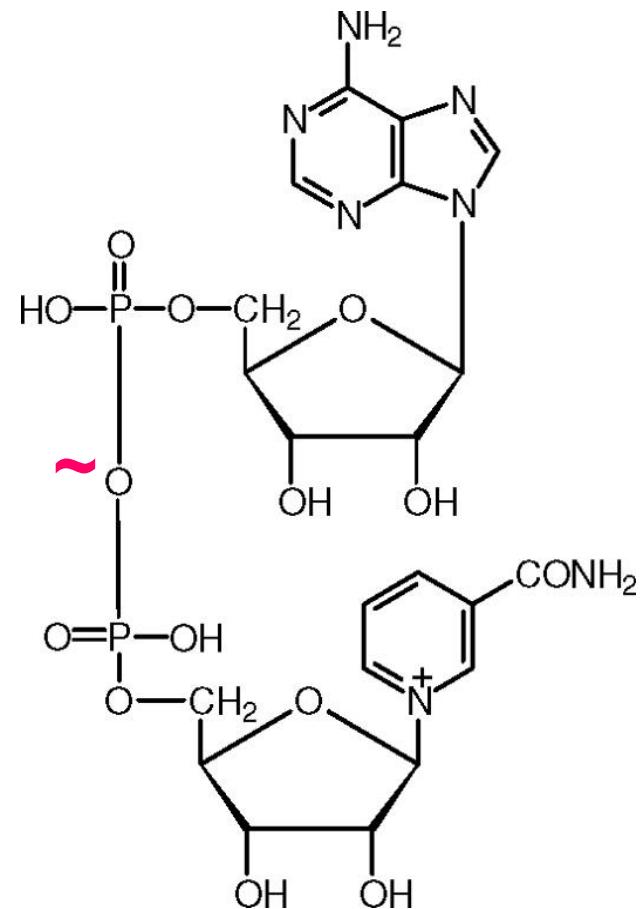
1.1.5. Propriétés et rôles importants

6/ Les nucléotides forment avec divers métabolites des composés qui sont nécessaires au métabolisme cellulaire

Exemple de dérivé glucidique



Exemple de dérivé d'un autre nucléotide



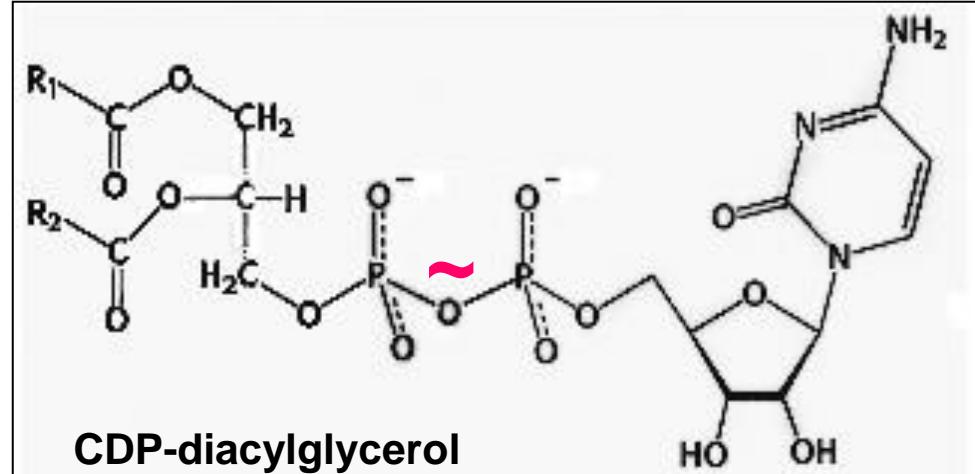
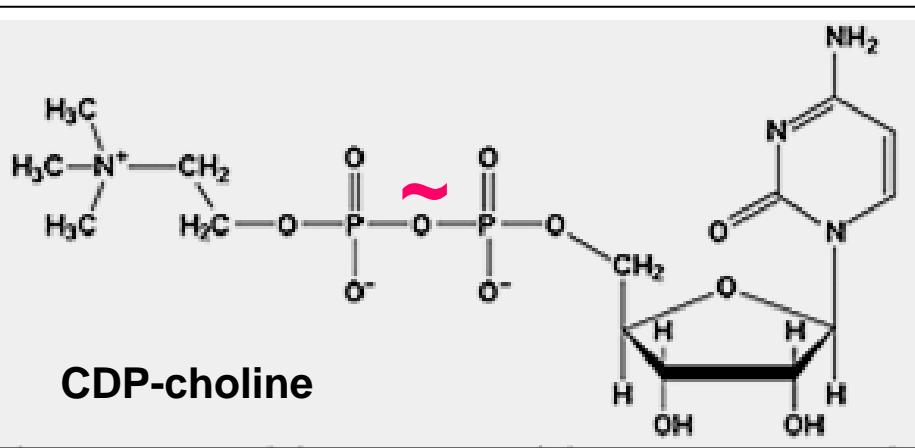
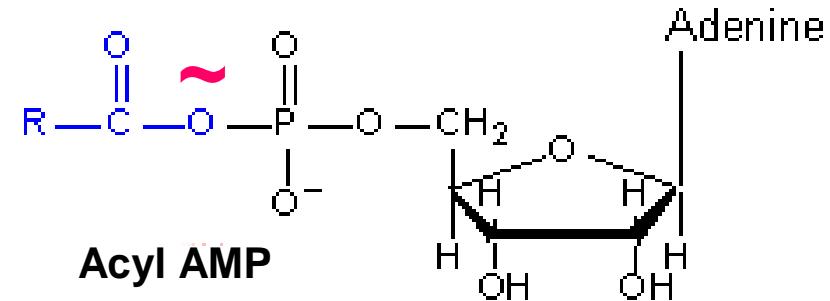
Nicotinamide Adénine Dinucléotide

1.1 - Bases azotées, Nucléosides et Nucléotides

1.1.5. Propriétés et rôles importants

6/ Les nucléotides forment avec divers métabolites des composés qui sont nécessaires au métabolisme cellulaire

Exemples de dérivés de lipides ou de substance entrant dans la composition de lipides.



1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

Les voies métaboliques de biosynthèse et de dégradation des bases et des nucléotides sont des voies importantes pour la physiologie des cellules et de l'organisme.

Les anomalies de ces métabolismes peuvent aboutir à des pathologies plus ou moins graves.

Certaines étapes de ces métabolismes sont des cibles de divers agents pharmacologiques utilisés en thérapeutique humaine.

1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

1.2.1 - Biosynthèse des Bases et nucléotides

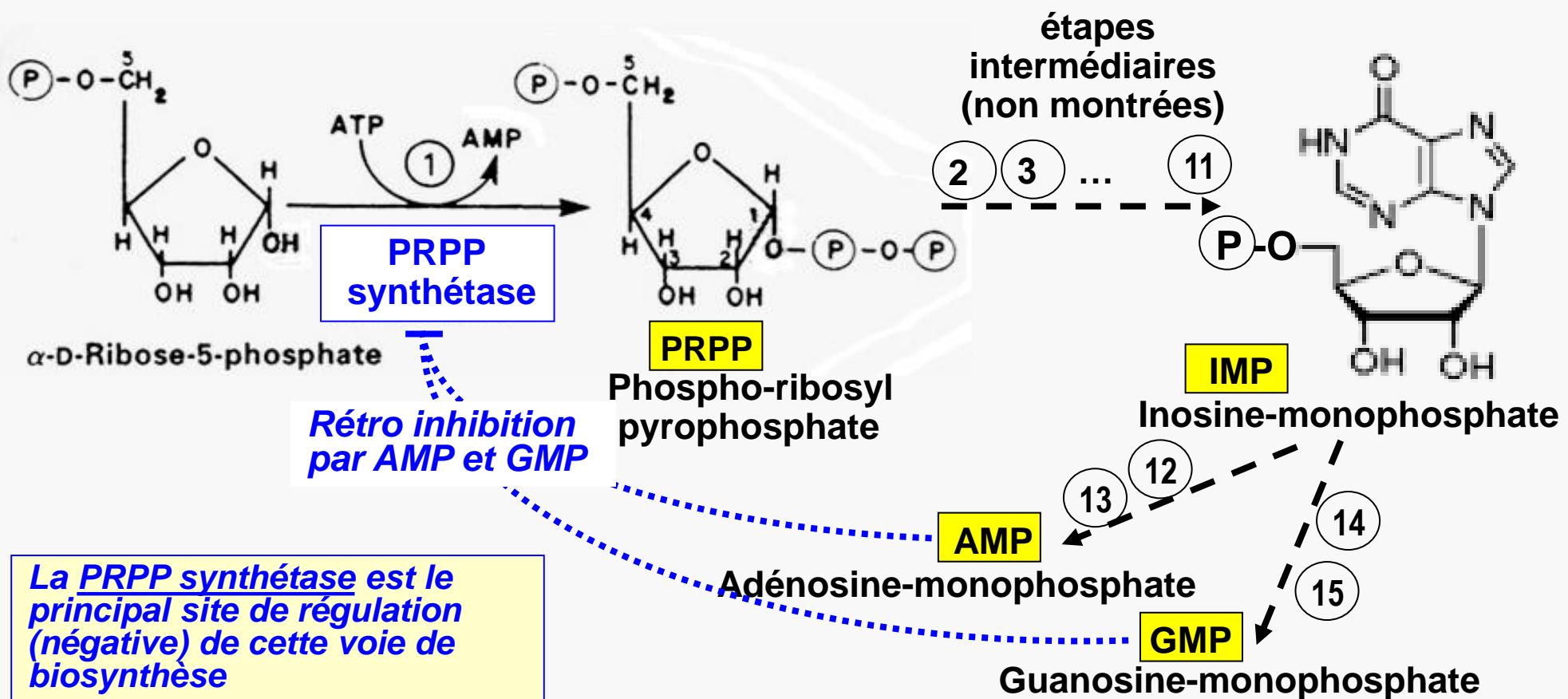
- . Voies de biosynthèse *de novo*
- . Voies de réutilisation
- . Nucléotides polyphosphates

1.2.2 - Dégradation (catabolisme)

1.2.1 - Biosynthèse des bases et nucléotides

. Biosynthèse de novo des nucléotides puriques (ou puriniques)

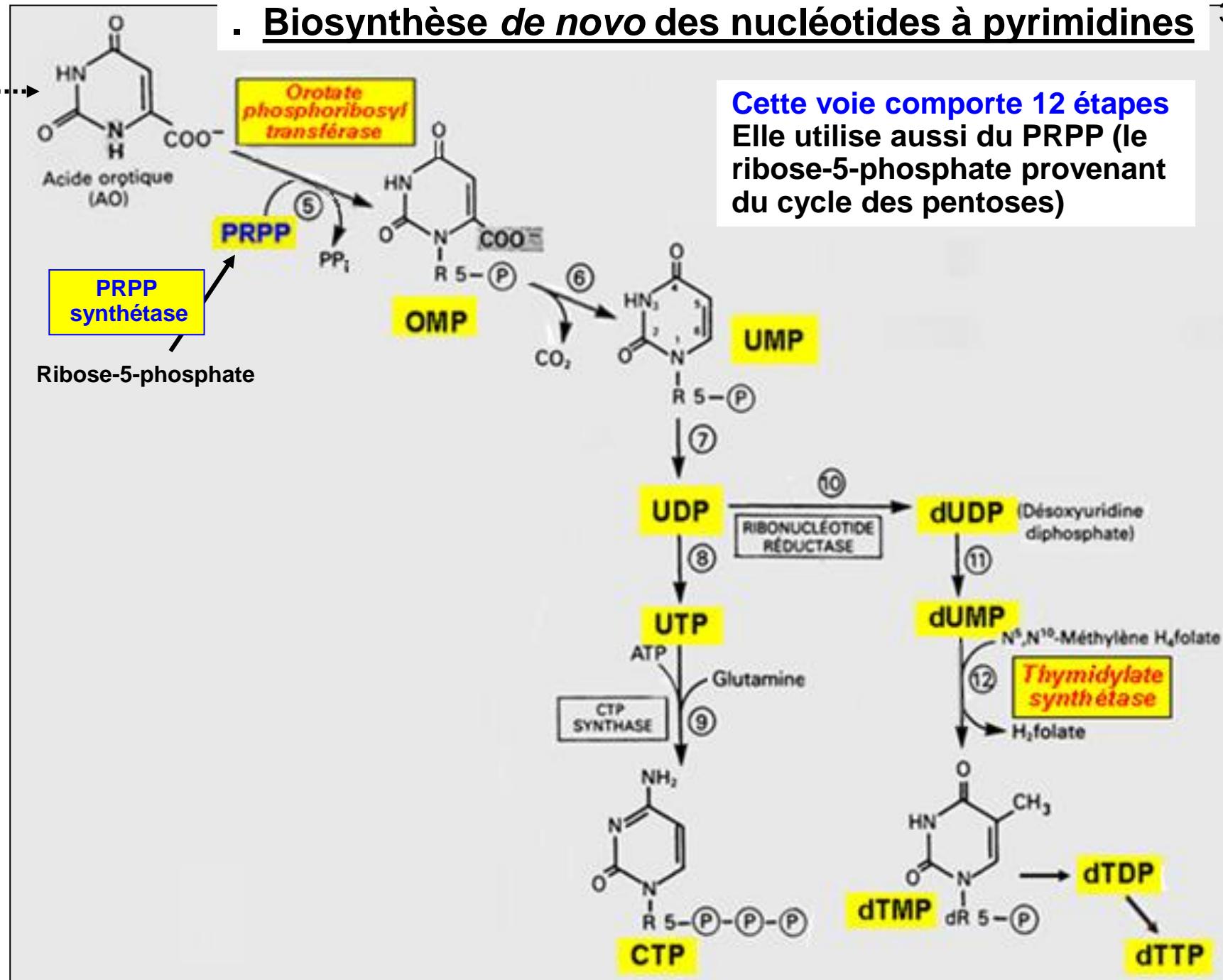
Cette voie complexe comporte 15 étapes à partir du ribose-5-phosphate (qui provient du cycle des pentoses)



Un défaut d'inhibition de la PRPP synthétase induit un excès de production de Nt à purine, et enfin un excès d'acide urique (avec hyperuricémie et goutte)

. Biosynthèse de novo des nucléotides à pyrimidines

1ères étapes
non montrées

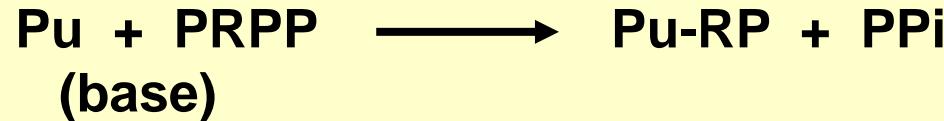


1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

1.2.1 - Biosynthèse des bases et nucléotides

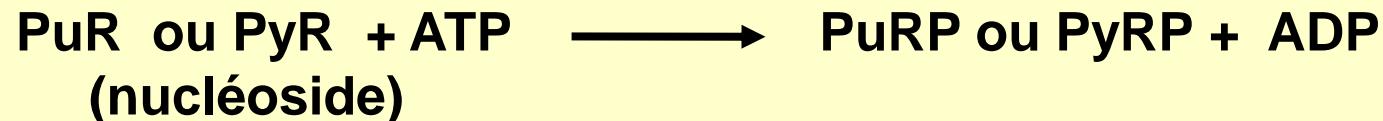
. Les 2 voies de réutilisation des purines et pyrimidines

1er mécanisme : Réutilisation des bases puriques



2ème mécanisme

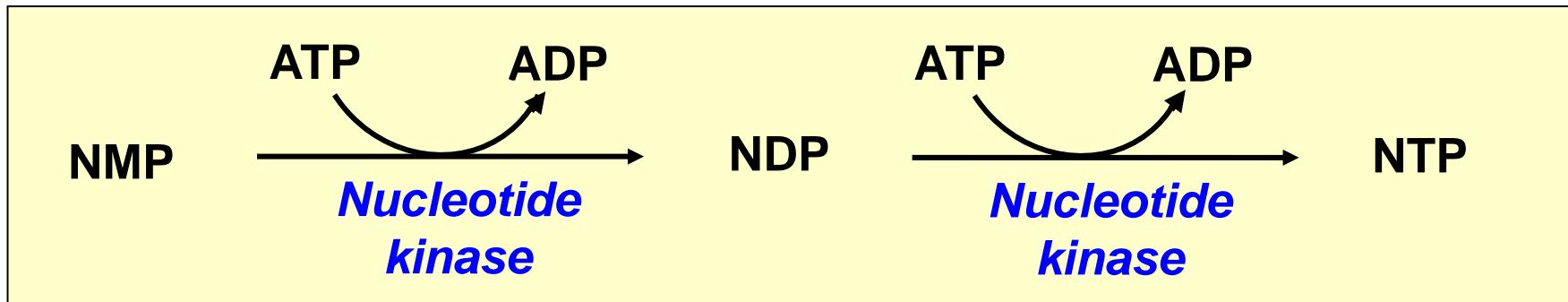
Réutilisation de nucléosides à purines ou pyrimidines



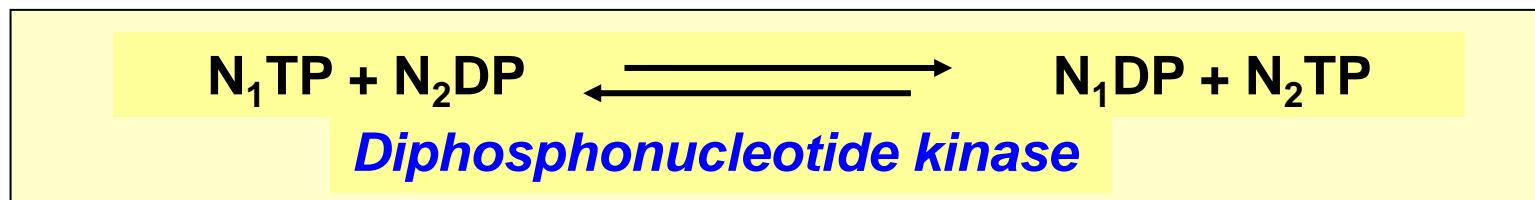
1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

1.2.1 - Biosynthèse des bases et nucléotides

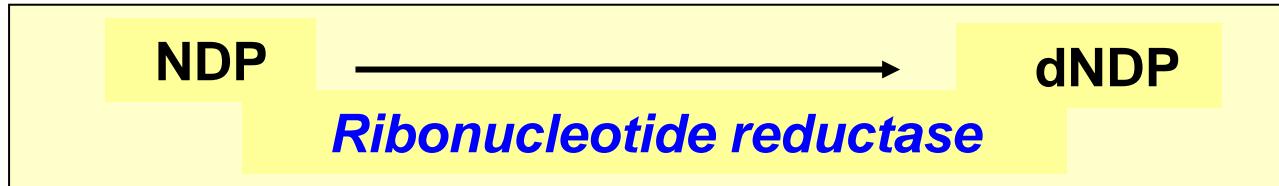
. Biosynthèse des Nucléotides polyphosphates



. Interconversion des Nucléotides polyphosphates



. Biosynthèse des désoxyribonucléotides polyphosphates



1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

1.2.1 - Catabolisme (dégradation) des bases et nucléotides

. les pyrimidines sont complètement dégradées, chez l'homme normal.

. le catabolisme (oxydatif) des purines aboutit à la formation d'acide urique (éliminé dans l'urine), chez l'homme normal,

Adénosine → Inosine → Hypoxanthine

Xanthine oxydase

Xanthine → Acide Urique

Guanosine → Guanine

. Il existe chez l'homme des pathologies du métabolisme des purines qui induisent un excès d'acide urique (hyperuricémie) qui provoque une maladie, la 'goutte'. L'hyperuricémie (donc la goutte) peut être traitée en freinant la formation d'acide urique par un inhibiteur de xanthine oxydase (allopurinol).

1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

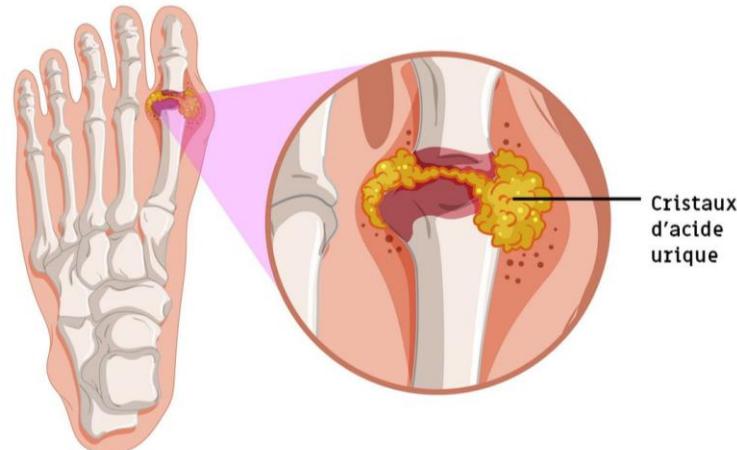
1.2.1 - Catabolisme (dégradation) des bases et nucléotides

Exemple de pathologie du métabolisme de l'acide urique

Chez l'homme, des pathologies du métabolisme des purines peuvent aboutir à un excès d'acide urique (dans le sang = hyperuricémie).

Par exemple, le défaut génétique de rétro-inhibition (rétro-régulation négative) de la PRPP synthétase provoque un excès de synthèse endogène des purines, donc un excès de catabolisme qui aboutit à une surproduction d'acide urique et une hyperuricémie.

La solubilité de l'acide urique est limitée et un excès d'acide urique induit une précipitation d'acide urique qui forme des cristaux qui induisent une inflammation douloureuse des articulations, caractéristique de la 'goutte' (articulation gros orteil...), pouvant aboutir à former un **tophus** (tuméfaction articulaire permanente)

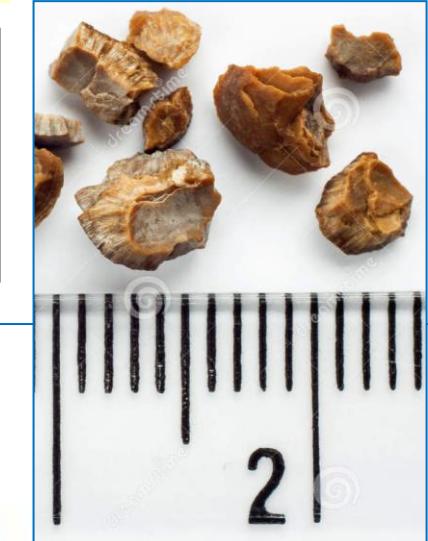


1.2 - Métabolisme des bases azotées et Nucléotides

1.2.1 - Catabolisme (dégradation) des bases et nucléotides

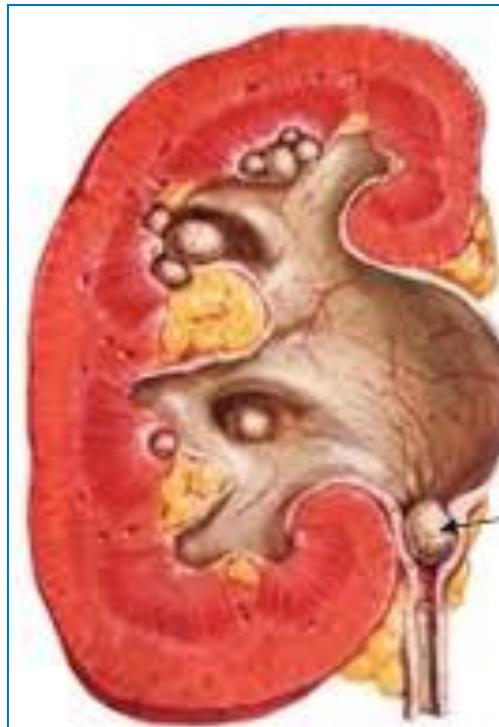
Exemple de pathologie du métabolisme de l'acide urique

De plus, au cours de la 'goutte', l'acide urique peut précipiter et former des cristaux dans les voies urinaires (lithiase ou calculs, ou anciennement 'gravelle') et provoquer des crises de coliques néphrétiques quand ils migrent dans les uretères.



L'hyperuricémie (donc la goutte) peut être traitée en freinant la formation d'acide urique par l'allopurinol, un inhibiteur de la xanthine oxydase.

D'autre part, on diminue le risque de lithiase urinaire en alcalinisant les urines (en buvant de l'eau riche en bicarbonates), car l'acide urique est plus soluble (donc précipite moins) à pH alcalin.



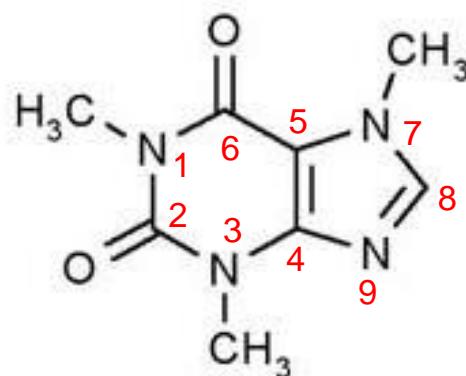
Calcul s'engageant dans l'uretère

1 - Constituants des acides nucléiques et analogues.

1.3 - Exemples de dérivés et d'analogues des bases, des nucléosides et des nucléotides

Exemples d'analogues naturels des bases puriques

Exemple des méthylxanthines



Caféine

1,3,7-triméthylxanthine



Théophylline

1,3-diméthylxanthine



Théobromine

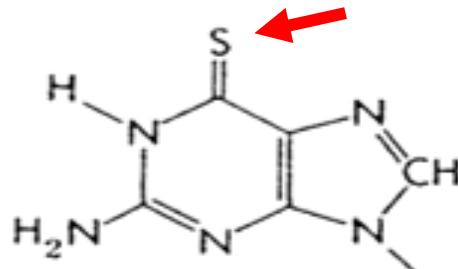
3,7-diméthylxanthine

1.3 - Exemples de dérivés et d'analogues des bases, des nucléosides et des nucléotides

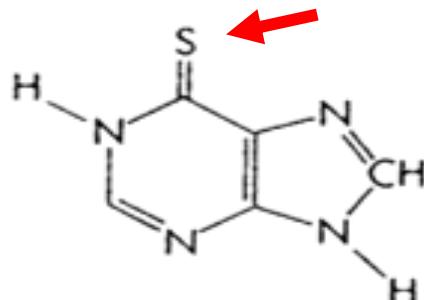
Analogues synthétiques des bases purique ou pyrimidiques

Exemples de modification de la base

(voir chapitre à la fin du cours de Génomes)

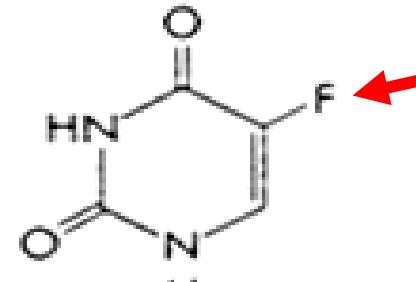


Thioguanine

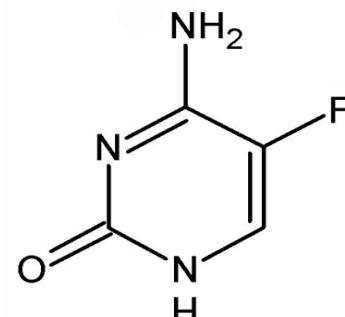


Mercaptopurine

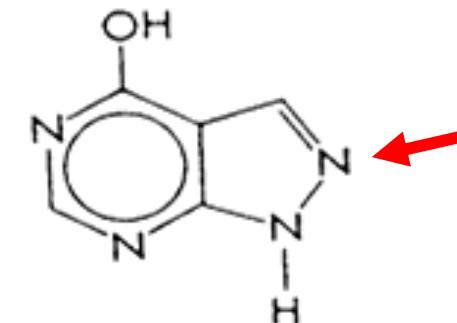
Anticancéreux (leucémies)



5-fluorouracile
Anti-cancéreux



5-fluorocytosine
Anti-fongique

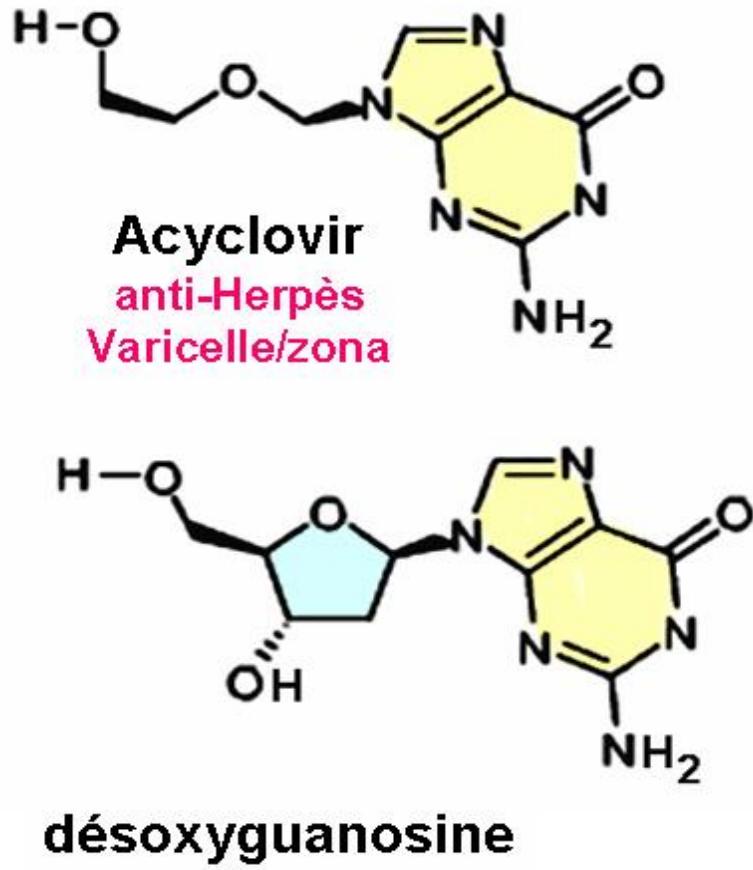
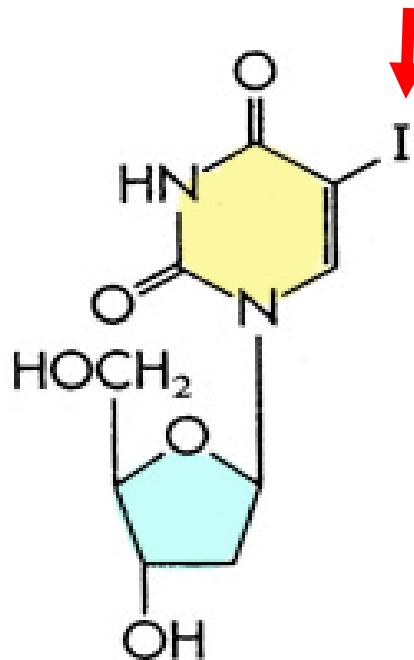
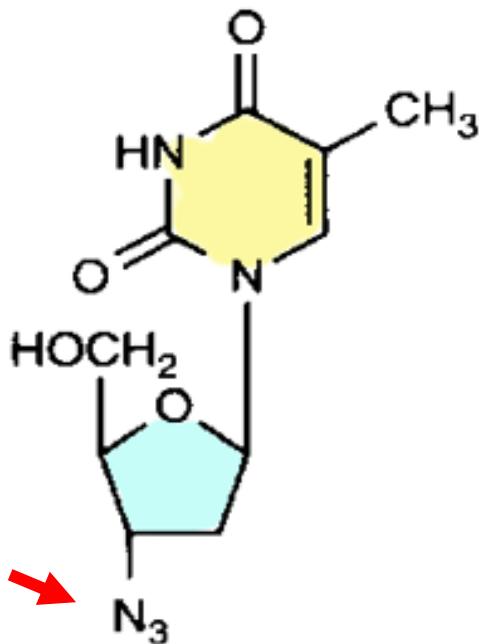


Allopurinol
Inhibiteur de la xanthine oxydase
Traitement des hyperuricémies

1.3 - Exemples de dérivés et d'analogues des bases, des nucléosides et des nucléotides

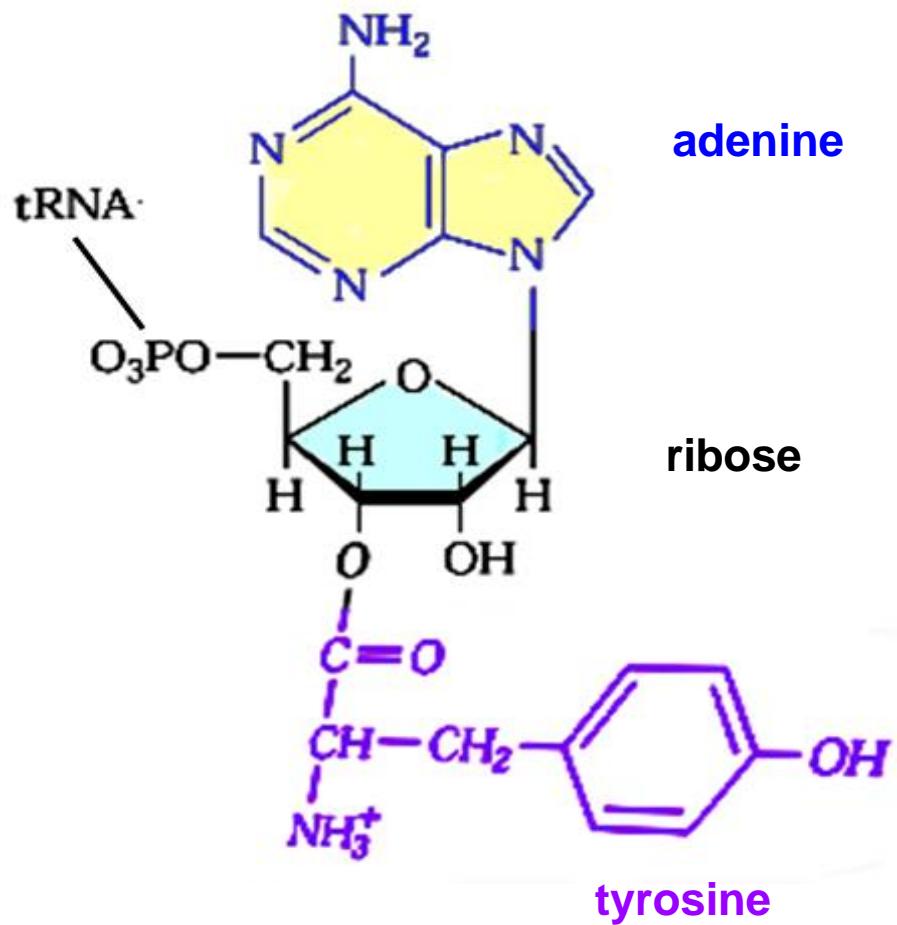
Analogues synthétiques des nucléosides

Exemples de modification de la base ou de l'ose

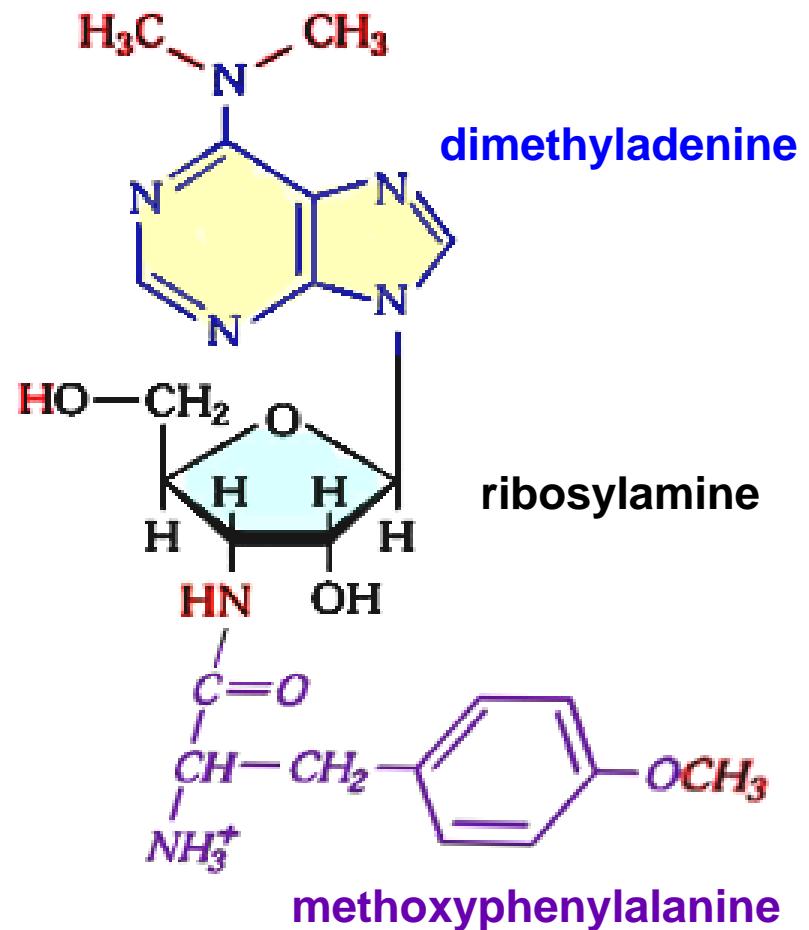


Analogues synthétiques des nucléosides

Exemples de modification de la base et de l'ose

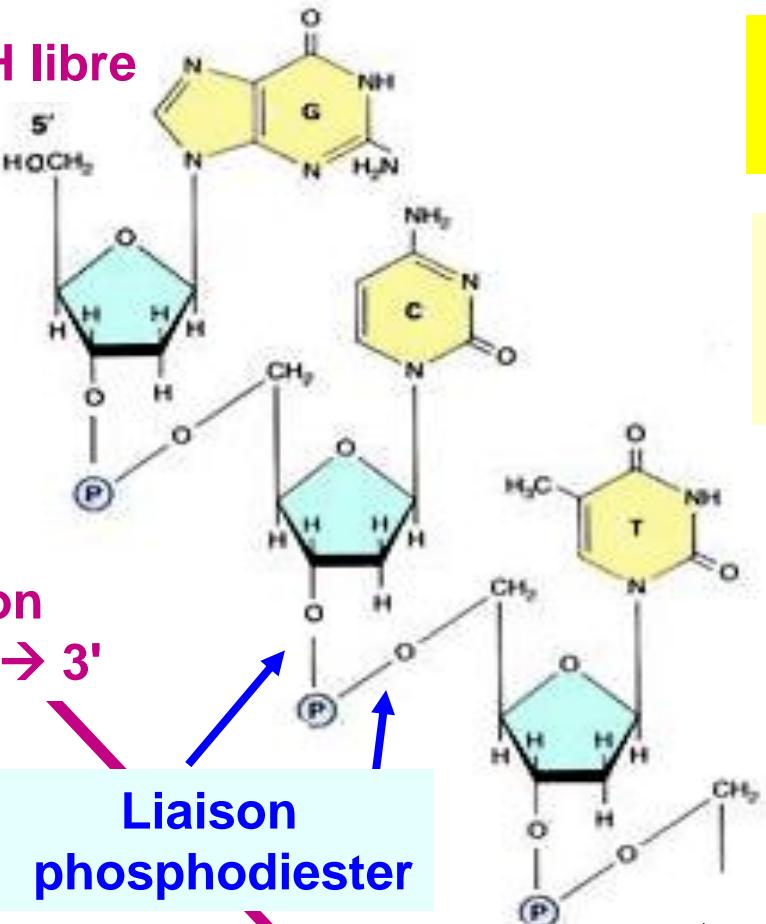


Extrémité CCA terminale d'un tRNA chargé avec Tyr



Puromycine → synthèse de polypeptides tronqués

Extrémité 5' OH libre



par convention
orientation 5' → 3'

Liaison
phosphodiester

- liaisons phosphodiester 3' → 5'
- orientation des brins 5' → 3'
(extrémités libres 5' → 3')

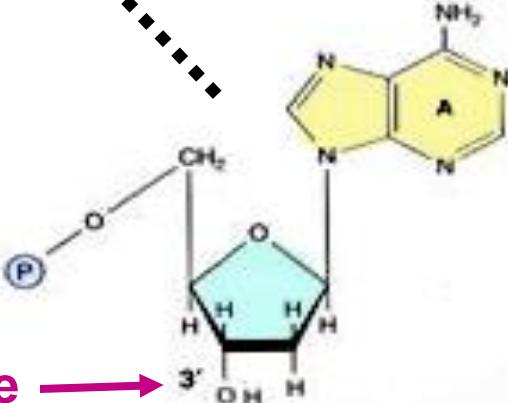
Extrémité 3' OH libre

1.4 - Polynucléotides

1.4.1. Structure

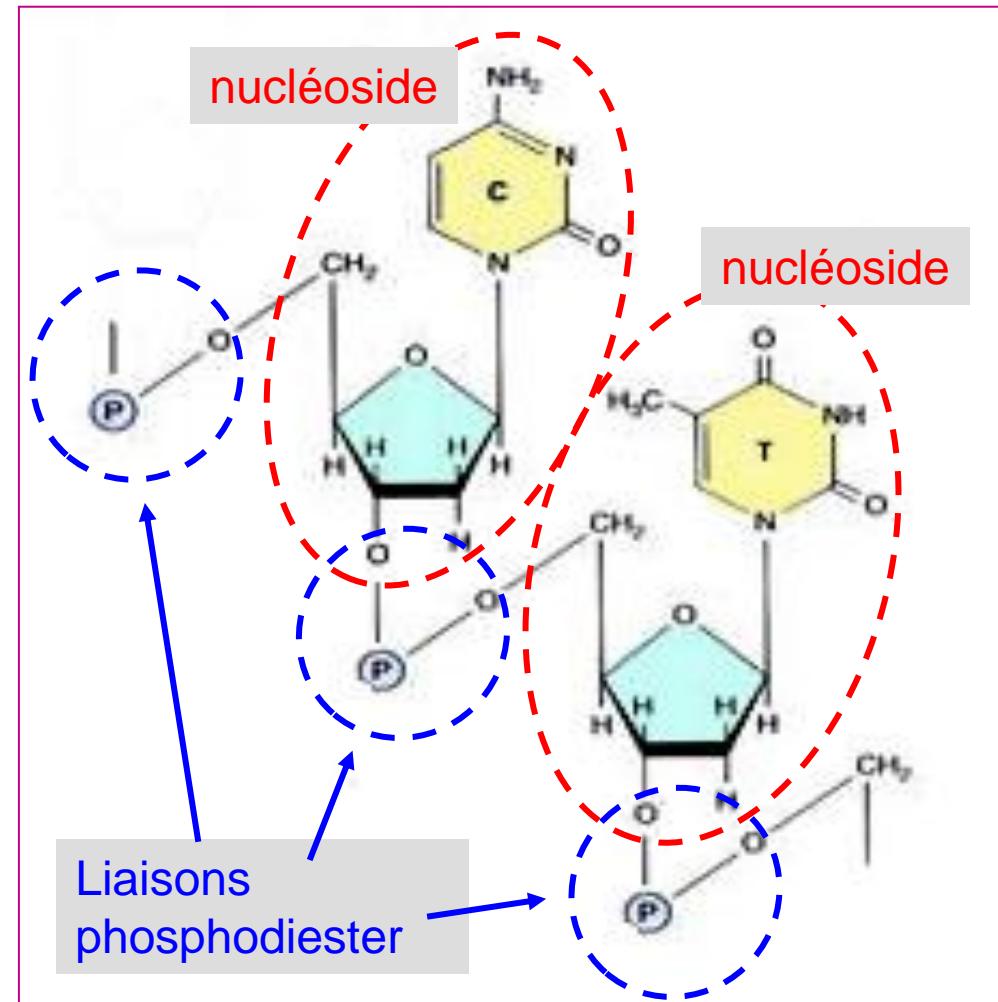
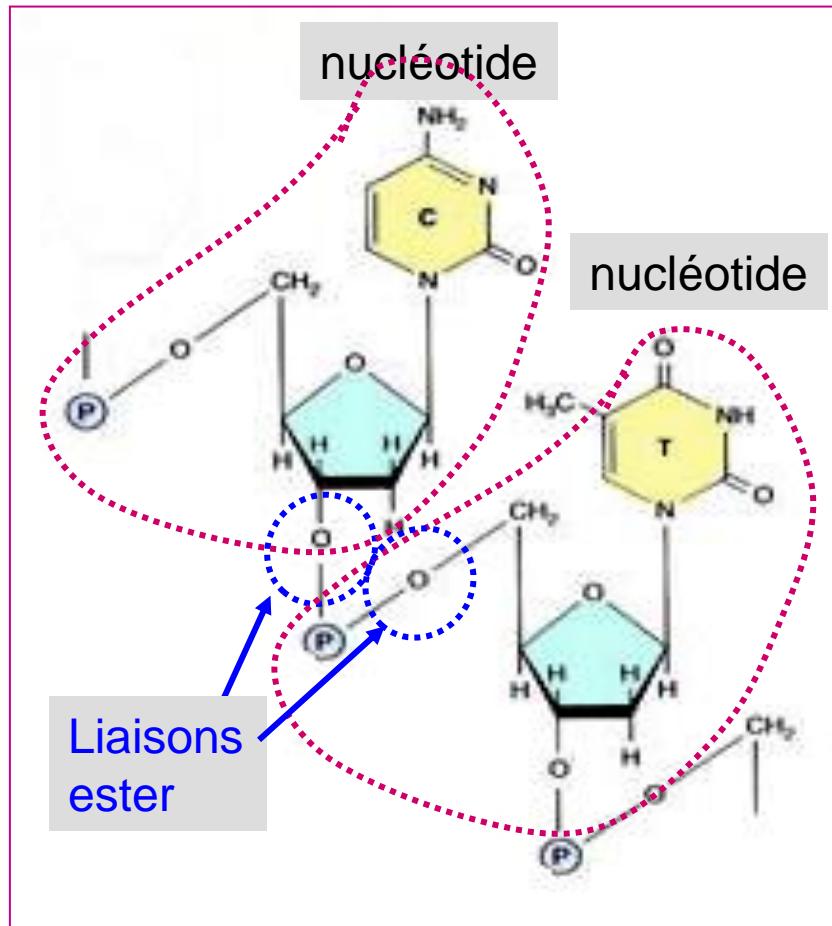
Les polynucléotides sont constitués par une séquence de nucléotides

Les acides nucléiques sont des polynucléotides naturels (ici exemple de segment de DNA).



1.4 - Polynucléotides (acides nucléiques: DNA et RNA)

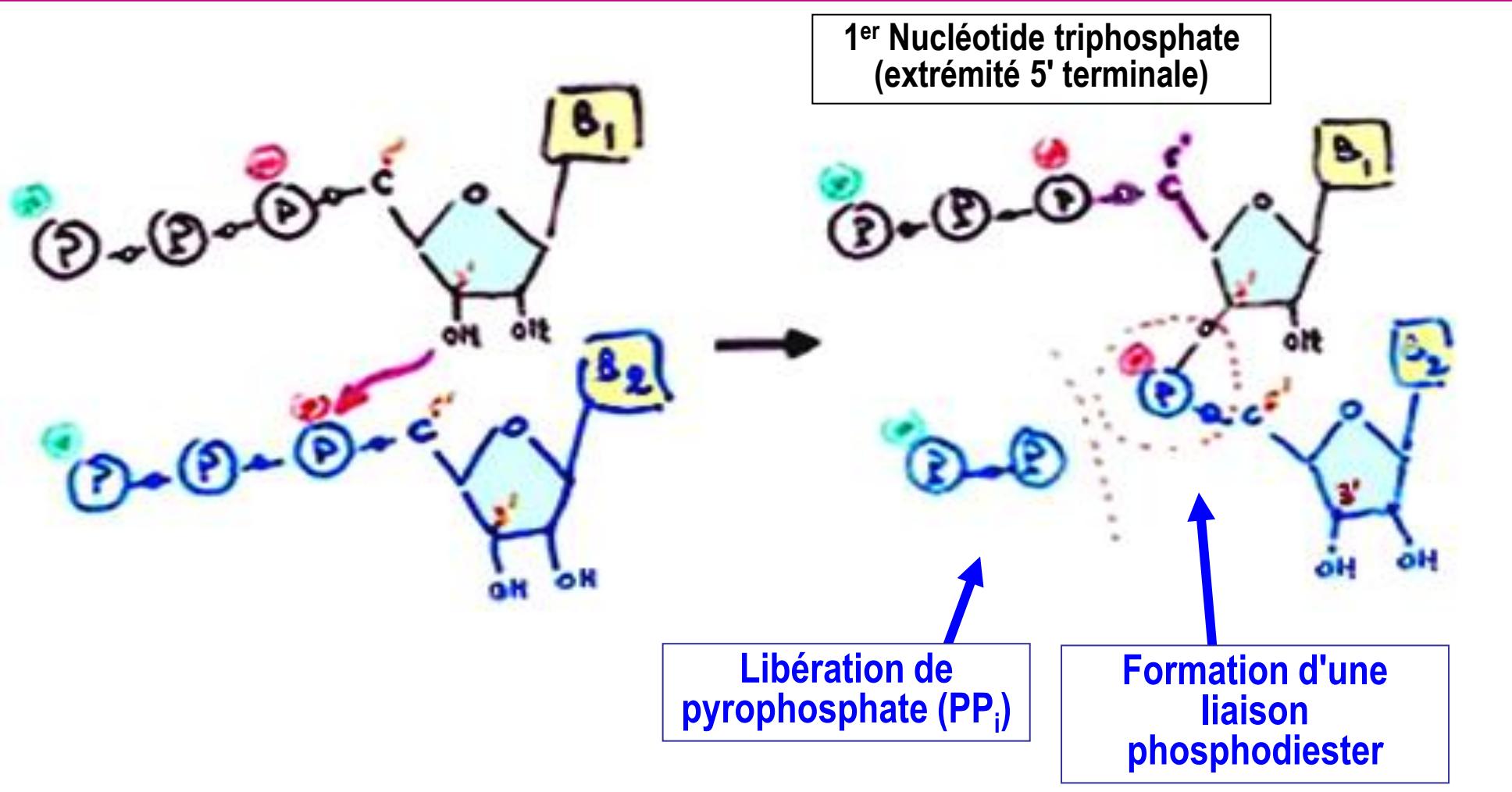
Les acides nucléiques naturels (ADN et ARN) sont des polynucléotides constitués par l'enchaînement de nucléotides (ou de nucléosides) reliés entre eux par des liaisons phosphodiester reliant les oses successifs)



1.4 - Polynucléotides (acides nucléiques: DNA et RNA)

Acides nucléiques : Principes de Biosynthèse

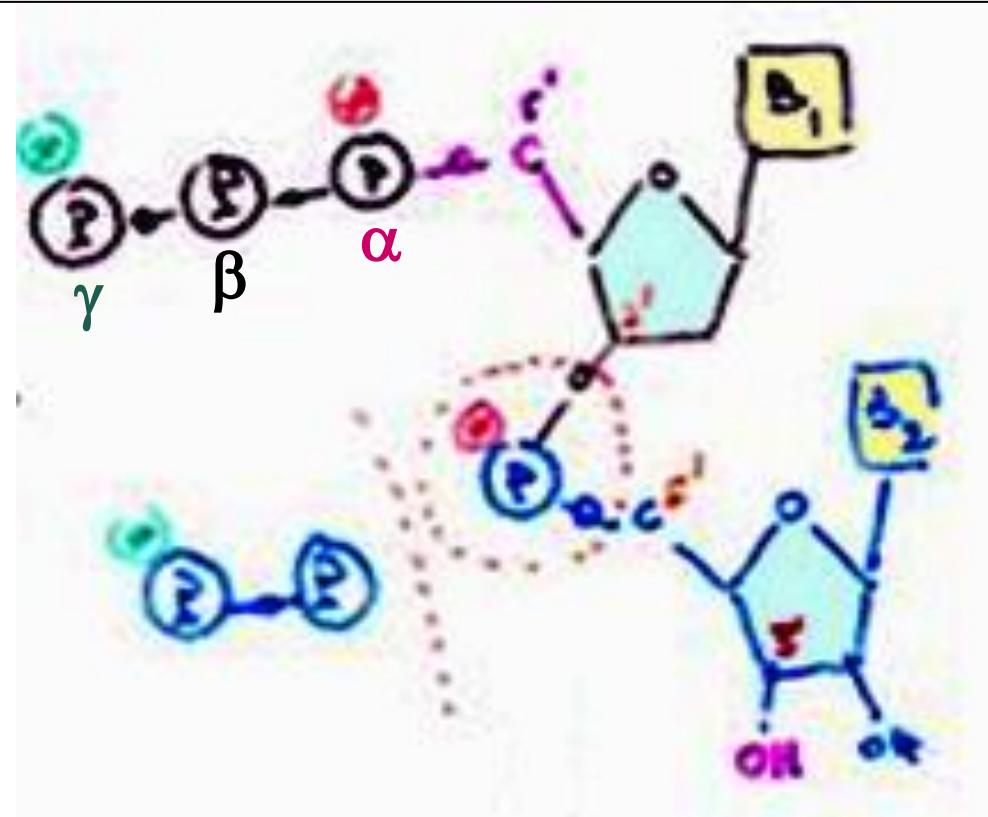
La biosynthèse des polynucléotides, RNA et DNA, utilise des NTP et des dNTP comme substrats



1.4 - Polynucléotides (acides nucléiques: DNA et RNA)

Acides nucléiques : Principes de Biosynthèse

Le phosphate α (alpha) du NTP est utilisé pour former la liaison phosphodiester. Ceci a été démontré en utilisant des NTP marqués sur les phosphates avec des isotopes radioactifs: ici, phosphates α (en rouge) et γ (en vert)



Les polymérases (exemple, DNA polymérase, RNA polymérases, polyA polymérase) sont des enzymes qui utilisent des NTP et catalysent la formation des liaisons phosphodiesters entre le OH en 3' du nucléotide amont et les OH en 5' du nucléotide suivant.

Chapitre 2 - DNA et Génomes (et Génomes à RNA)

2 - DNA - Génomes à DNA et Génomes à RNA

2.1 - Structure du DNA et de la chromatine

2.2 - Quelques propriétés du DNA

2.3 - Superstructure du DNA

2.4 - DNA et génome

2.5 - Constance et variabilité du Génome

2.6 - RéPLICATION (E coli, eucaryotes, virus)

2.7 - Altérations du DNA et réparation

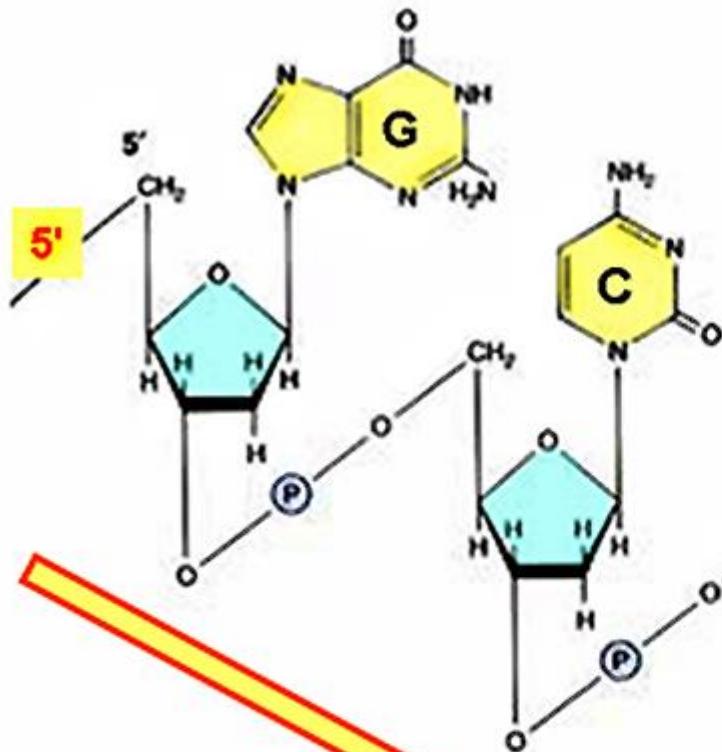
2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.10 - Structure des gènes

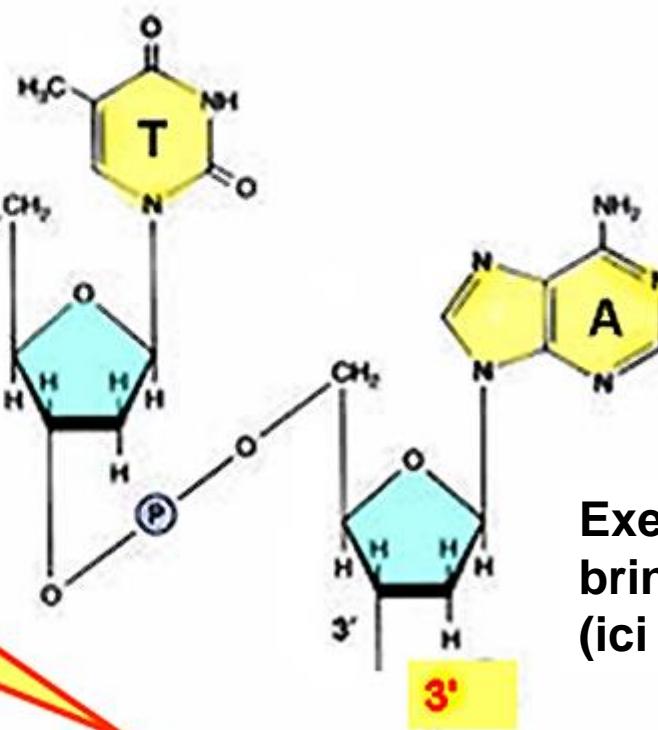
2.1 - Structure du DNA

2.1.1. Généralités



par convention
orientation 5' >> 3'

Chez les procaryotes, les eucaryotes et certains virus, le génome est constitué par du DNA bicaténaire (2 chaînes). Mais, le DNA fonctionnel est monocaténaire pendant les phases 'actives' (réPLICATION, transcription), Chez certains virus, le génome est constitué par du DNA monocaténaire
Par ailleurs, certains virus ont un génome constitué par du RNA.



Exemple de chaîne (ou brin) de polynucléotide (ici du DNA).

2.1 - Structure du DNA

2.1.1. Généralités

La taille du DNA (génome) est-elle en relation avec la complexité des organismes ? Oui et non !!

Organisme	Nombre de kb ^a	Longueur (μm)
<i>Virus</i>		
Polyome SV40	5	1,7
Bactériophage λ	48	17
Variole de la poule	280	193
<i>Bactéries</i>		
<i>Mycoplasma hominis</i>	760	260
<i>Escherichia coli</i>	4.700	1.600
<i>Eucaryotes</i>		
Levure (pour 17 chromosomes haploïdes)	13.500	4.600
Drosophile (pour 4 chromosomes haploïdes)	165.000	56.000
Homme (pour 23 chromosomes haploïdes)	3.000.000	990.000
Un Dipneuste (pour 19 chromosomes haploïdes)	102.000.000	34.700.000

^akb = kilopaires de bases = 1000 paires de bases (bp)

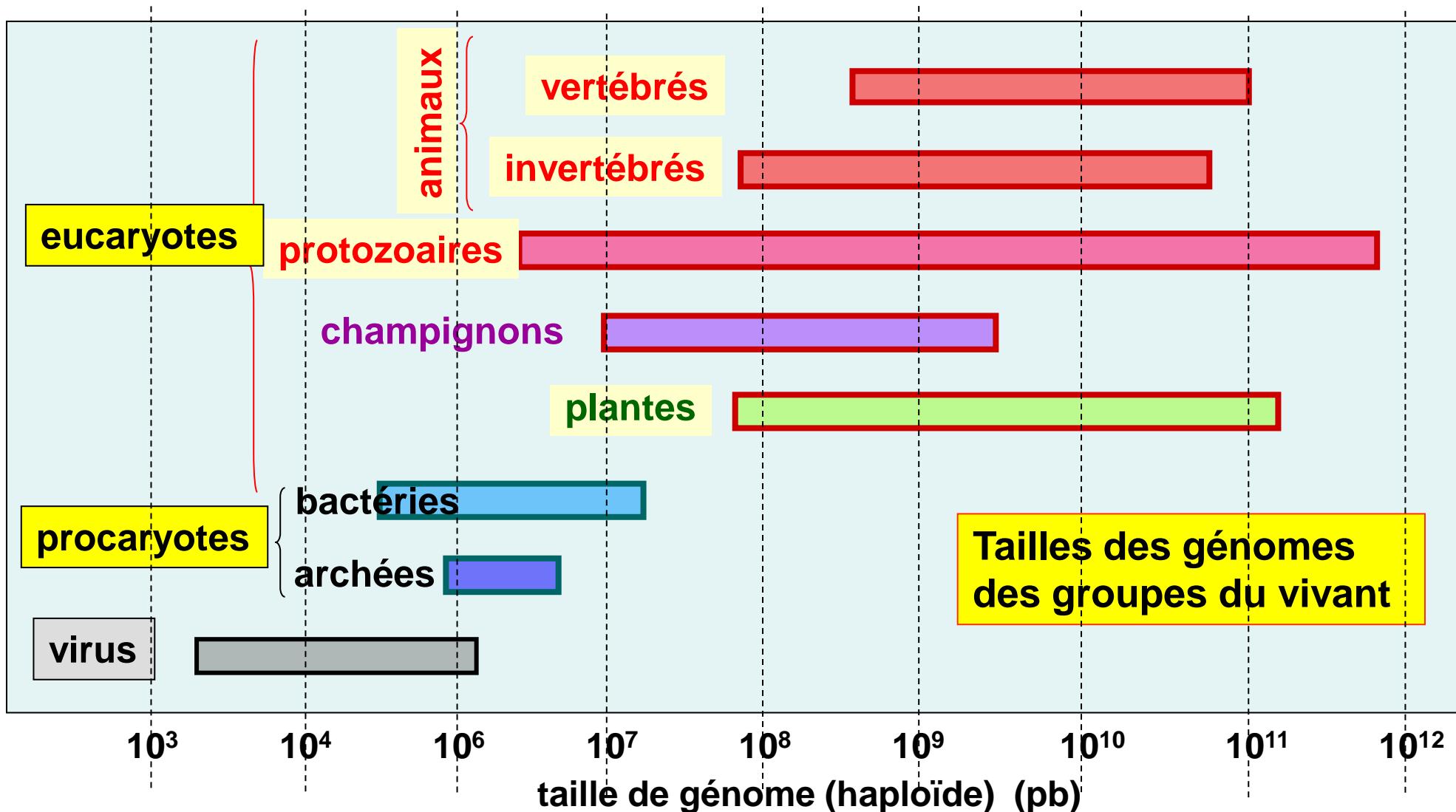


Génome humain
- 1 m de DNA/cellule
- pour écrire cette séquence en base:
6 000 km de lignes
ou 500 000 pages
(25 m de rayonnage)

2.1 - Structure du DNA

2.1.1. Généralités

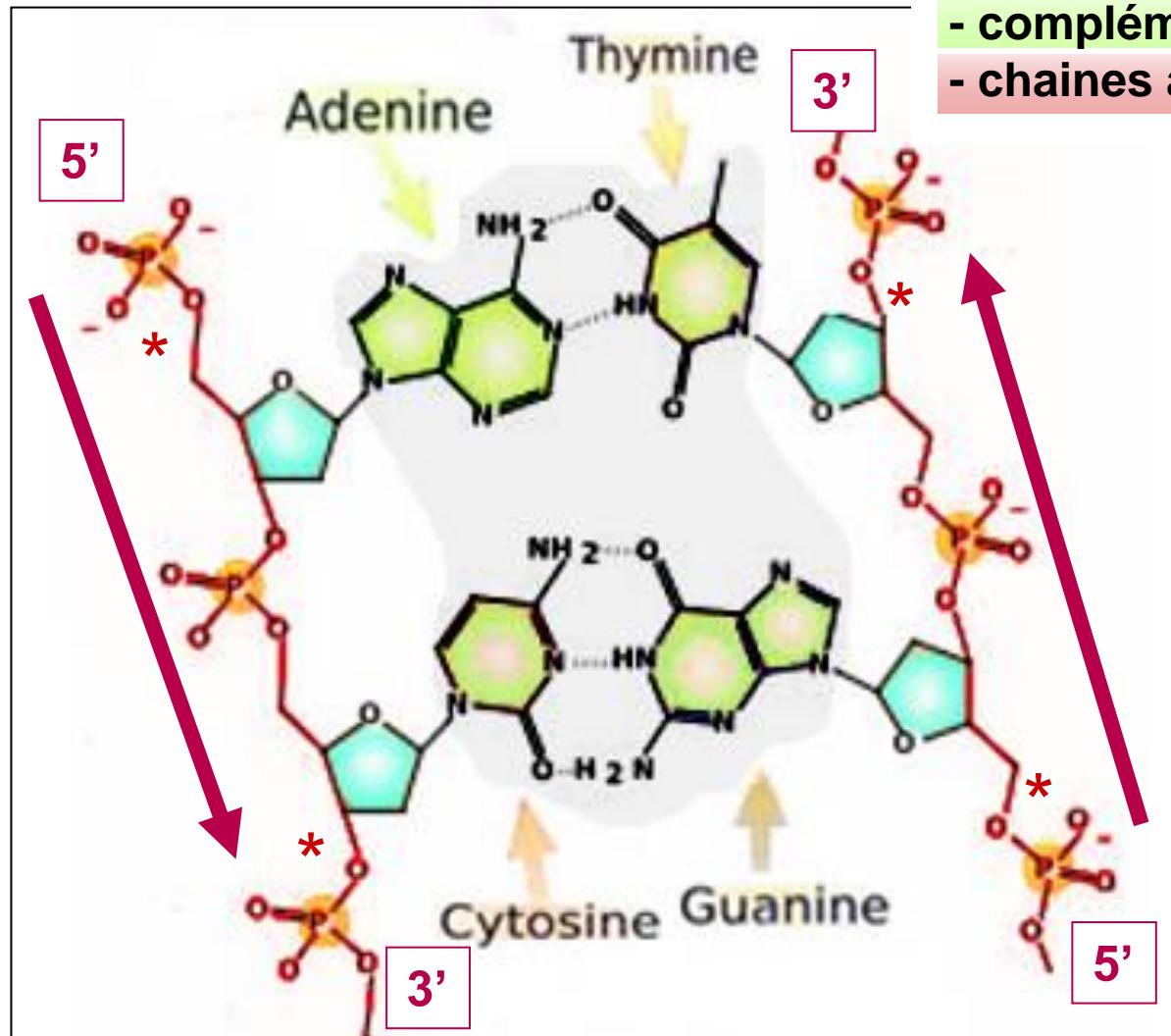
La taille du DNA (génome) est-elle en relation avec la complexité des organismes ? Oui et non !!



2.1 - Structure du DNA

2.1.2. Structure du DNA bicaténaire

Le DNA bicaténaire comporte 2 chaînes
- complémentaires (bases appariées)
- chaînes antiparallèles



2.1 - Structure du DNA

2.1.2. Structure du DNA bicaténaire



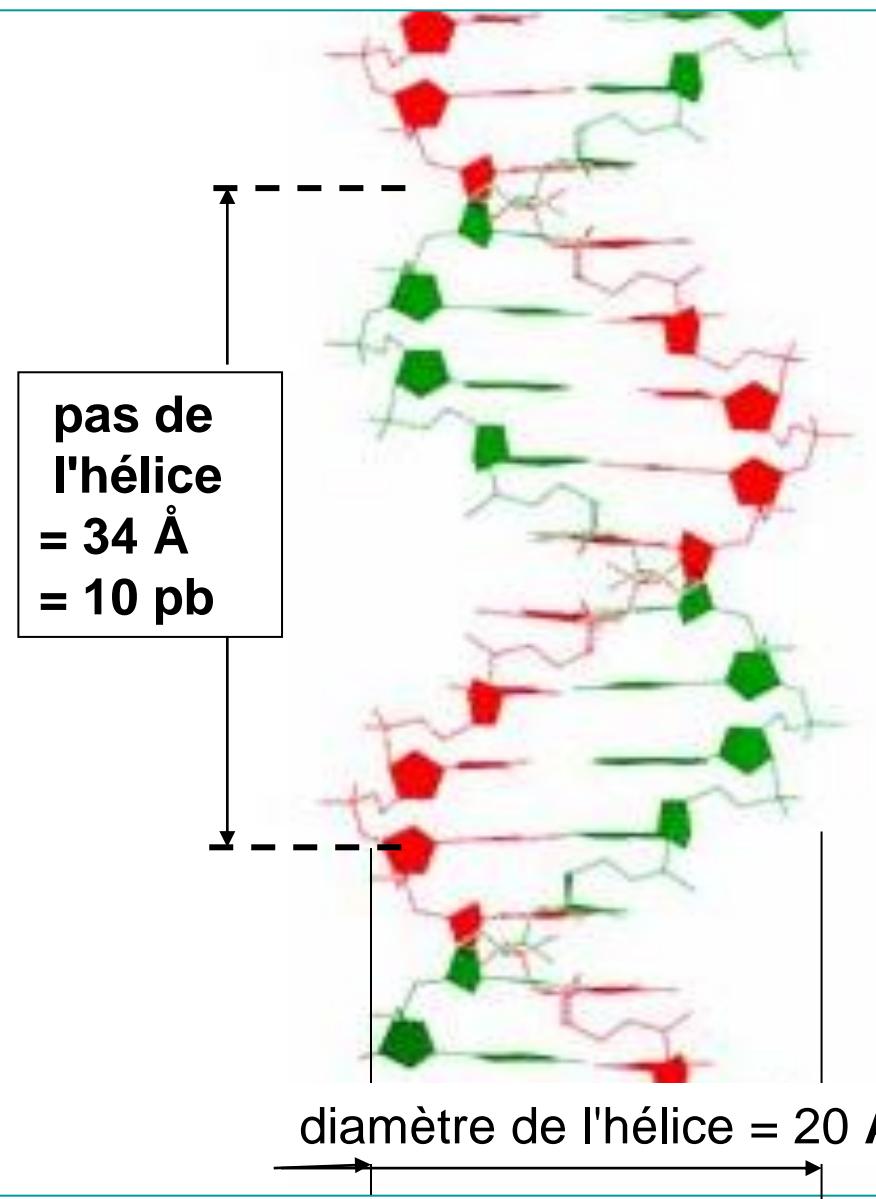
Francis Crick

James Watson

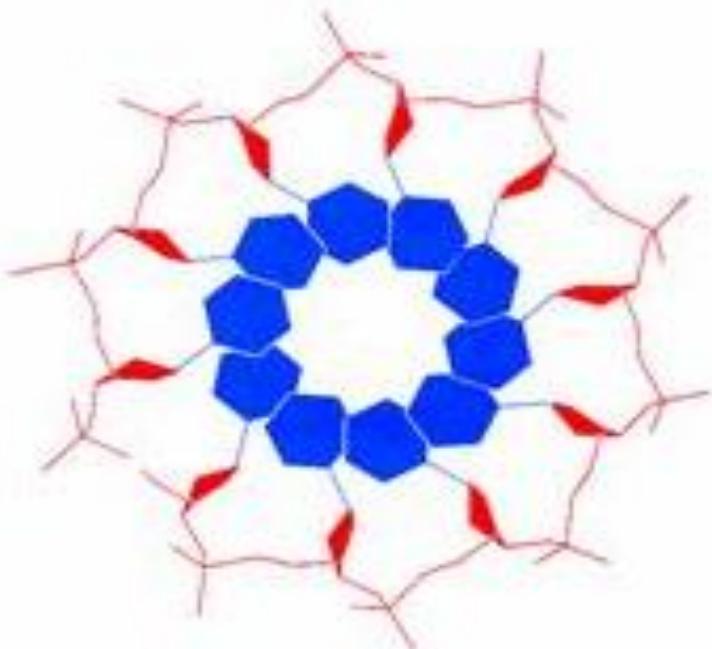
Maurice Wilkins

Rosalind Franklin

J. Watson, F. Crick & M. Wilkins - Nobel 1962



Le DNA bicaténaire a une structure en double hélice
ici DNA_B (forme majoritaire)

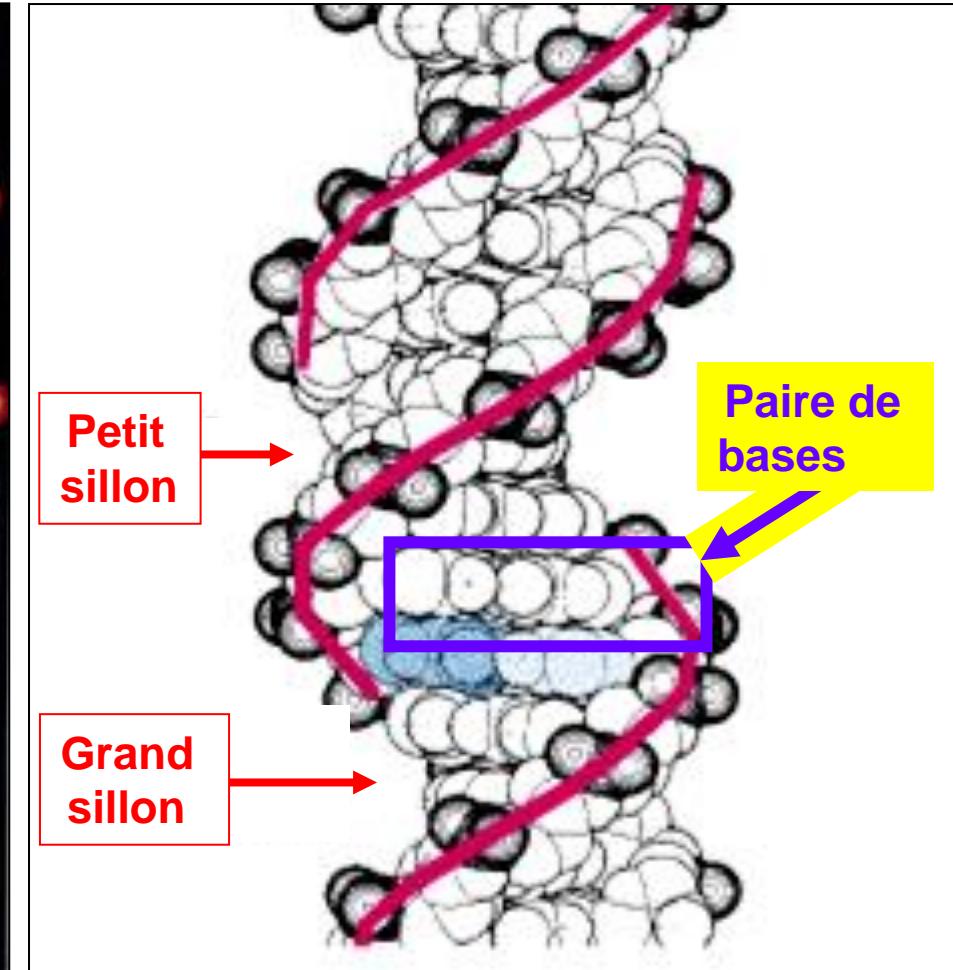
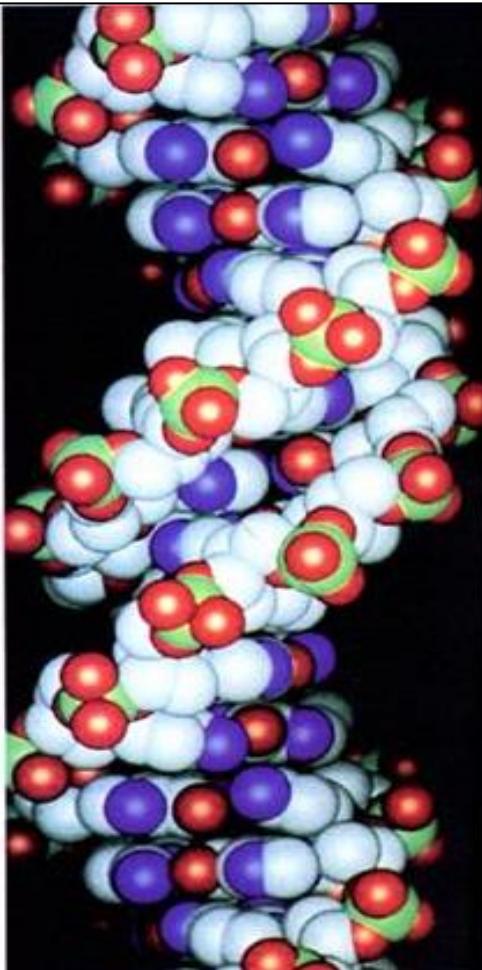
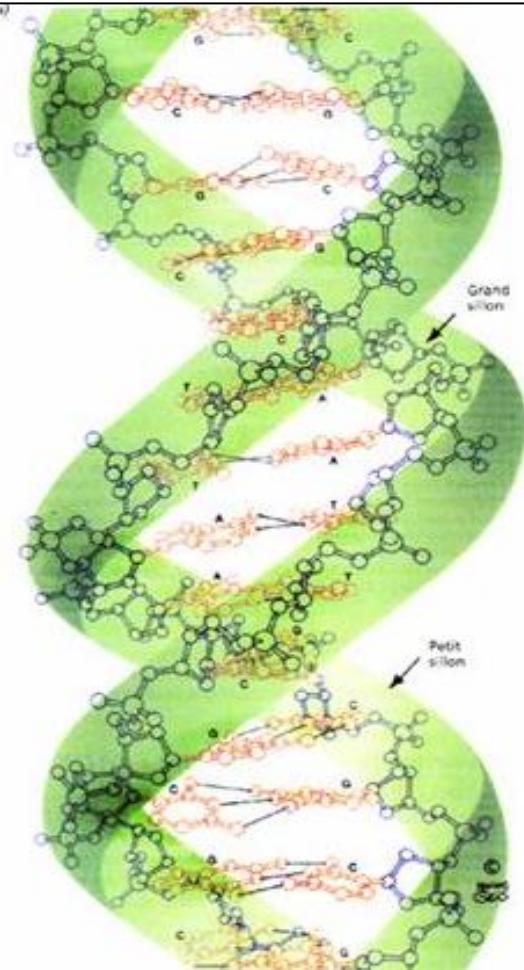


2.1 - Structure du DNA

2.1.2. Structure du DNA bicaténaire

Le DNA bicaténaire a une structure en double hélice

Modèles de DNA_B (forme majoritaire) – Représentation 3D

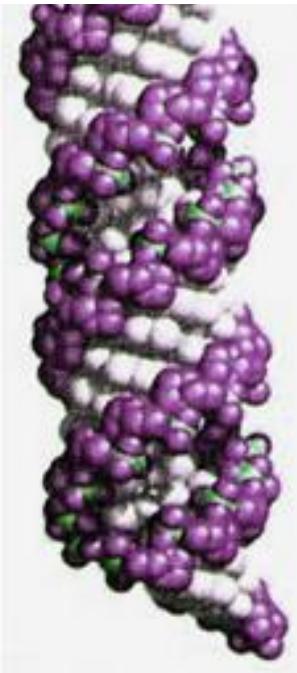


2.1 - Structure du DNA

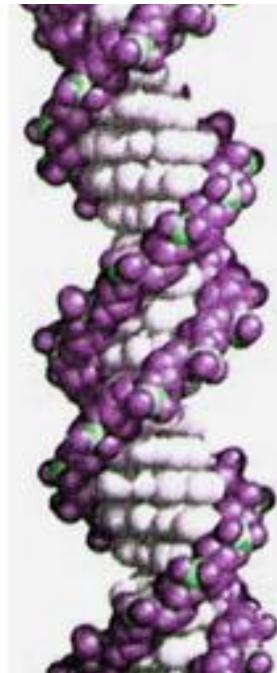
2.1.2. Structure du DNA bicaténaire

I existe 3 formes de double-hélice du DNA

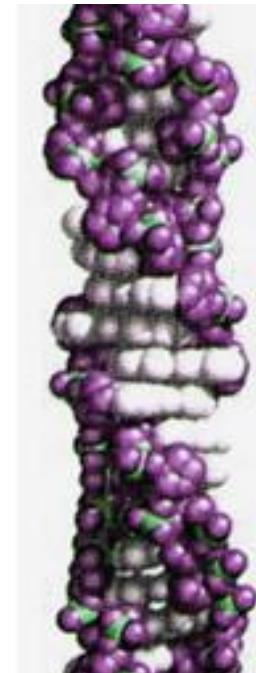
DNA_A



DNA_B



DNA_Z



DNA forme

A

B

Z

Sens du pas de l'hélice

à droite

à droite

à gauche

Diamètre

~26 Å

~20 Å

~18 Å

Paires de bases par tour

11

10

12

Longueur d'hélice par tour

28 Å

34 Å

45 Å

Hauteur d'hélice par paire

2.6 Å

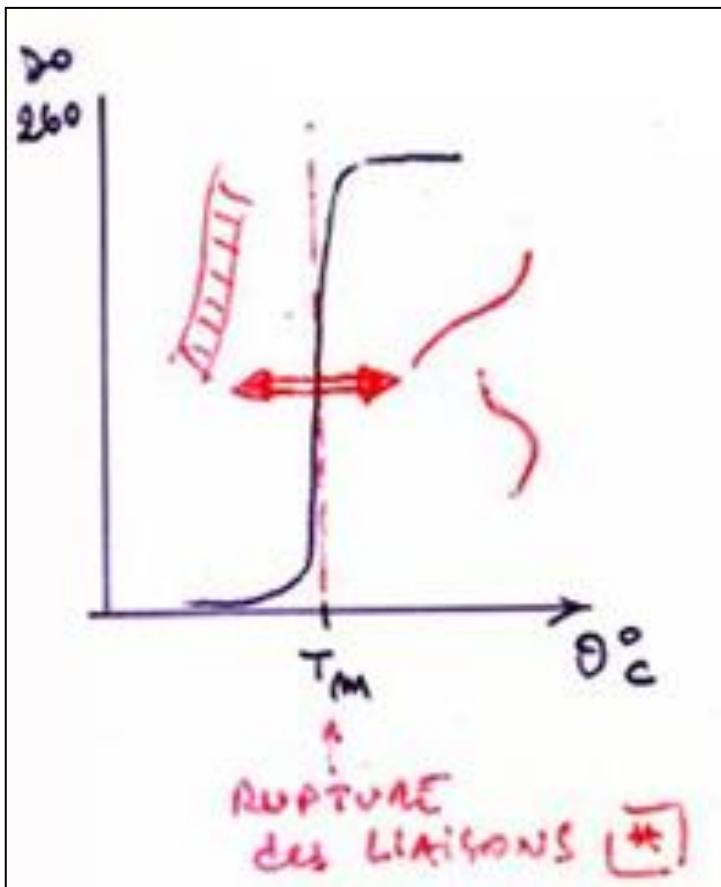
3.4 Å

3.7 Å

2 – DNA

2.2 - Propriétés du DNA

2.2.1. "Fusion" ou "Dénaturation" du DNA et "Renaturation" ou "Hybridation" des brins.



Les facteurs influant sur le T_m

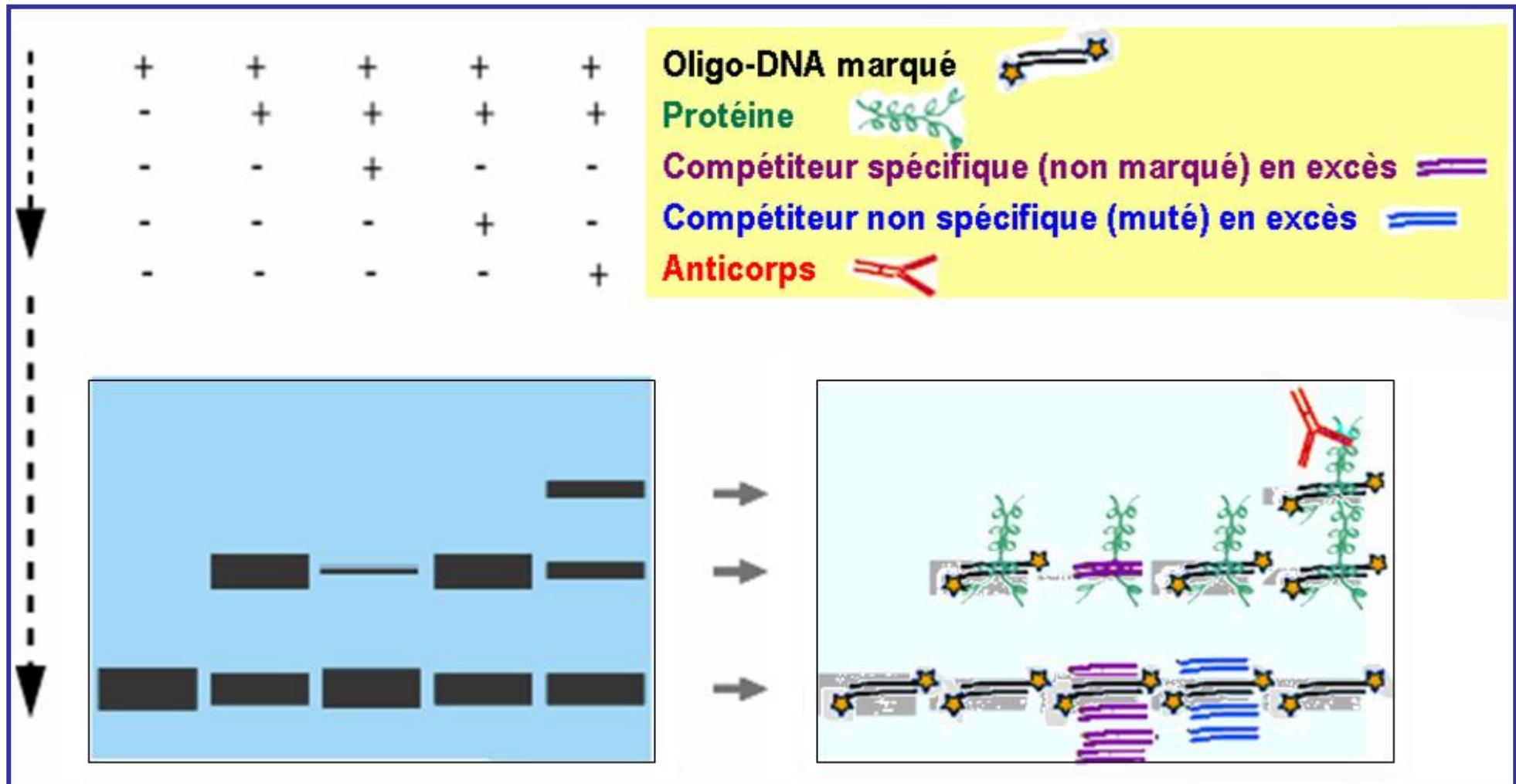
- nombre de liaisons H
 - . longueur de fragments (pour les petits fragments)
 - . composition en bases: rapport AT/GC
- misappariements
 - $1\% \rightarrow T_m$ diminue de $1^\circ C$
- milieu de solution de DNA *
 - . concentration en sels: si diminution de 1 M à 0.1 M $\rightarrow T_m$ diminue de $15^\circ C$
- solvants organiques *
 - . Formamide: concentration de 50 % $\rightarrow T_m$ diminue de $30^\circ C$

* le terme "stringence" est utilisé pour indiquer les conditions expérimentales influant sur le T_m et l'hybridation.

2.2 - Propriétés du DNA

2.2.1. Interaction protéines-DNA : Retardement sur gel.

- Technique de Retardement sur gel ("Gel Retardation Assay") ou EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay)

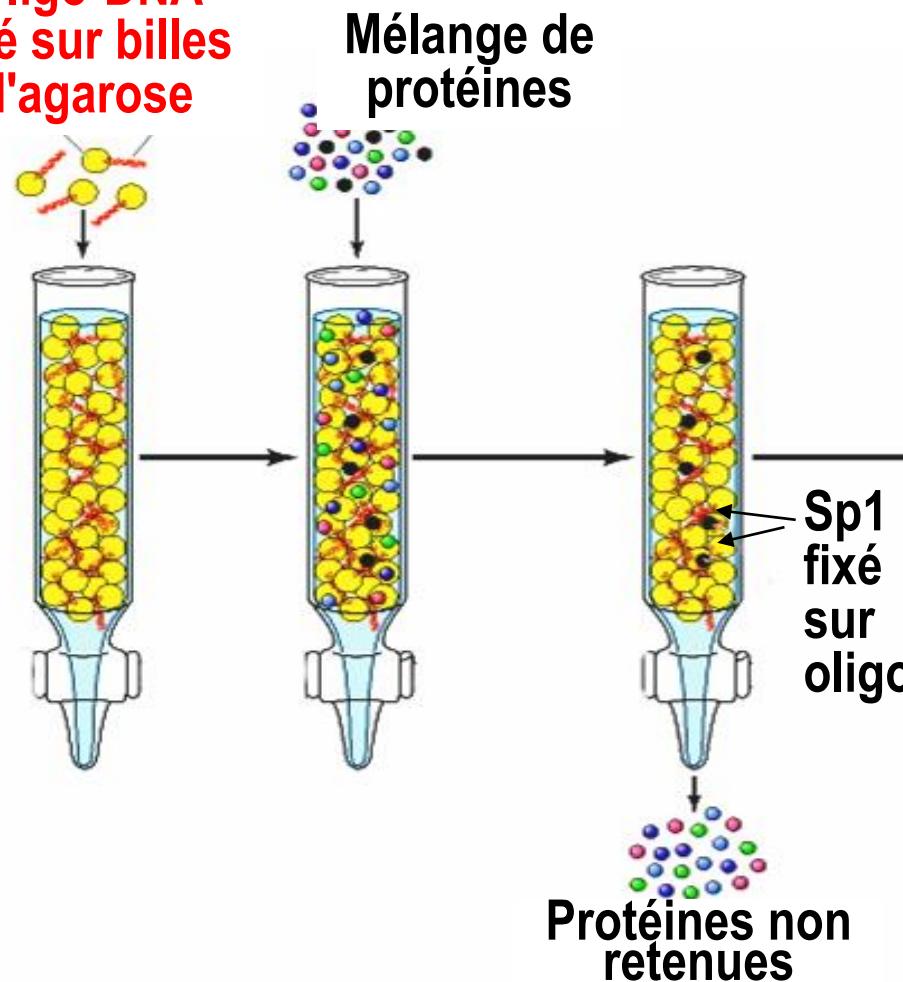


2.2 - Propriétés du DNA

2.2.1. Interaction protéines-DNA

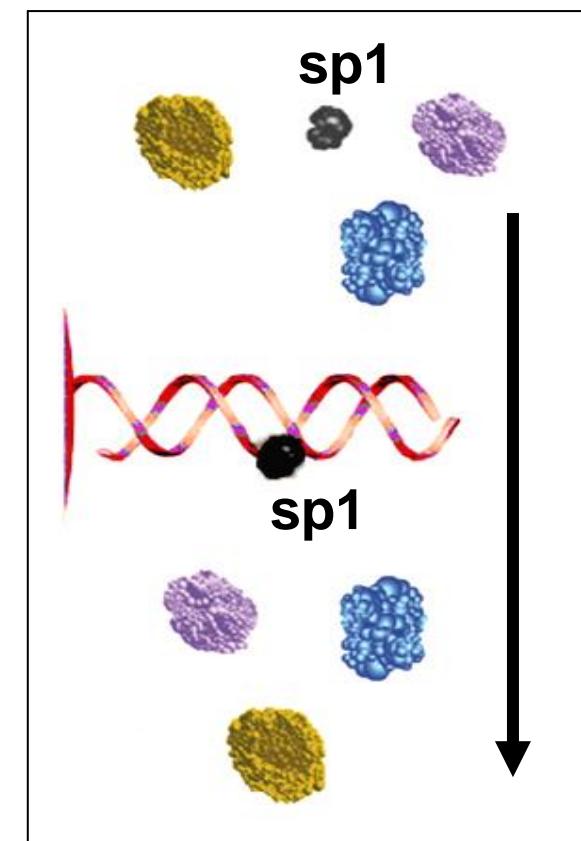
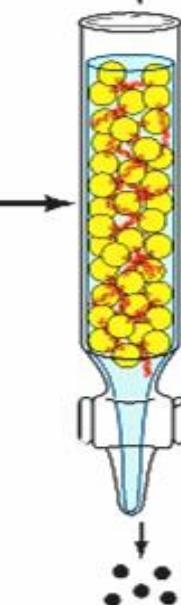
- Chromatographie d'affinité

Oligo-DNA
fixé sur billes
d'agarose



Exemple: le facteur de transcription sp1 se lie très sélectivement à un oligo-DNA contenant une "GC box" (séquence consensus GGGCGG)

Tampon
d'élution



2 – DNA

2.3 - Superstructure du DNA

2.3.1 - DNA des procaryotes

2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Dans toutes les cellules, le DNA est "compacté" et replié (topologie) et assemblé avec des protéines

Cette superstructure permet de faire contenir le DNA du génome dans un petit volume (car la longueur du DNA est très supérieure à celle des cellules qui le contiennent), de renforcer sa résistance (les très longs polynucléotides sont fragiles) et de réguler ses fonctions (par exemple pour se repliquer l'ADN doit être 'dé-compacté').

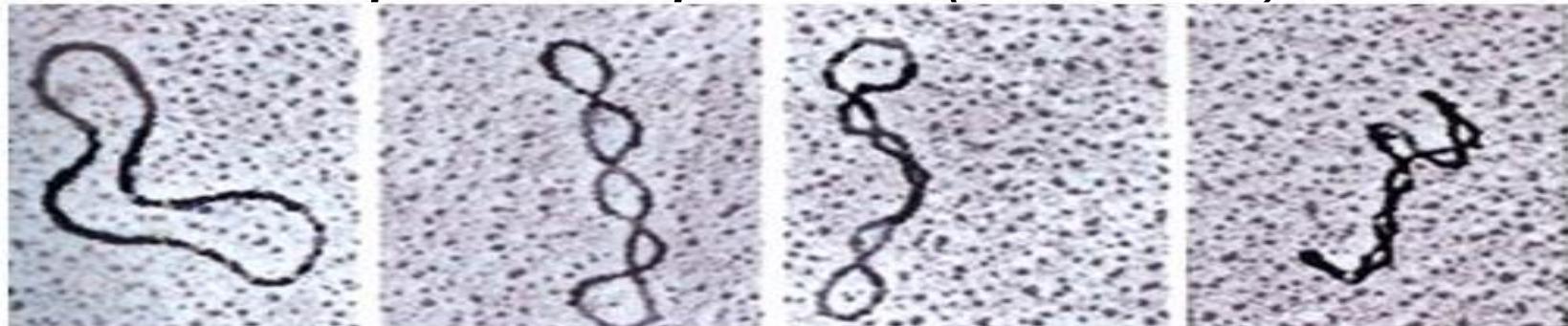
Chez les eucaryotes cet assemblage du DNA (nucléaire) et de protéines spécifiques constitue la chromatine.

2.3 - Superstructure du DNA

2.3.1 - DNA des procaryotes

Chez beaucoup de bactéries, le DNA (chromosome bactérien) est en général sous forme circulaire et super-enroulée ('super tours'), sauf pendant la division cellulaire où l'ADN est circulaire 'relachée'.

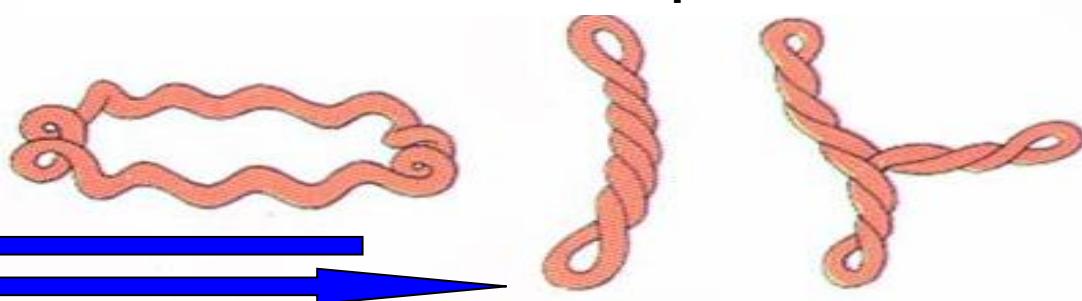
microscopie électronique de DNA (chromosome) bactérien



DNA bactérien
circulaire relâché



DNA bactérien circulaire super-enroulé



La formation et la suppression des 'super-tours' est réversible
(voir plus loin les topoisomérases)

2.3 - Superstructure du DNA

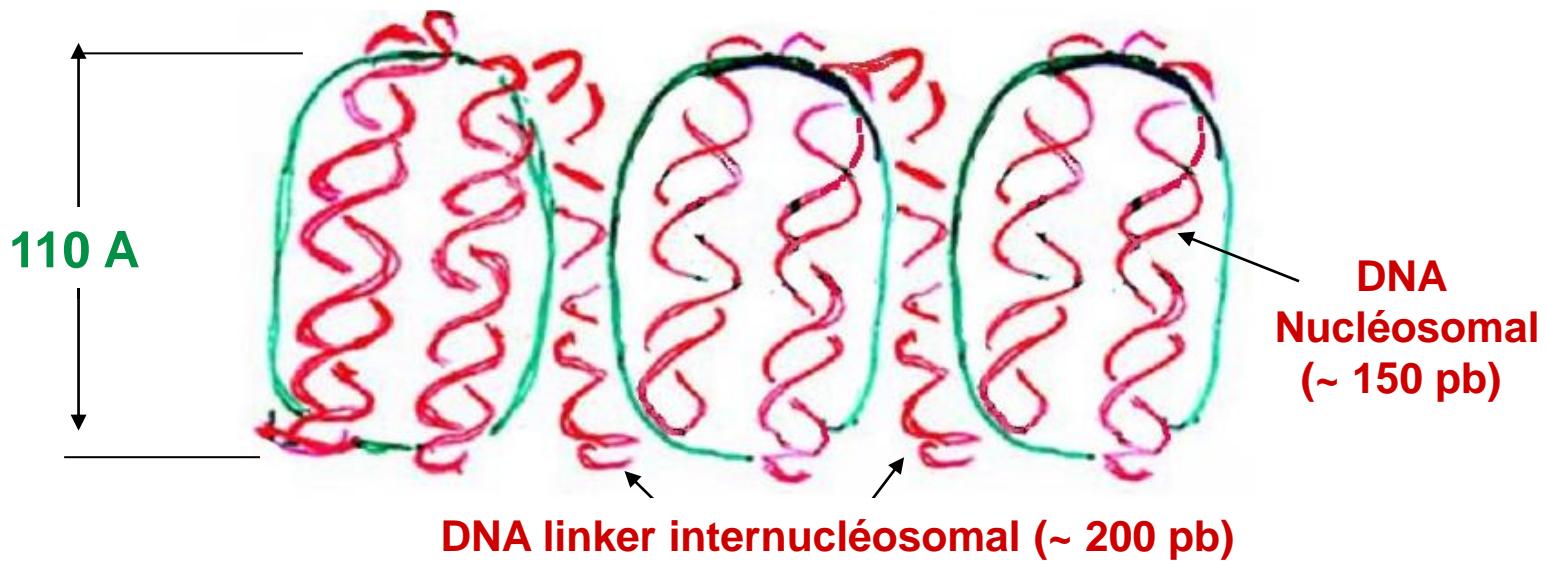
2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Le DNA nucléaire eucaryotes associé à des protéines spécifiques forme la chromatine qui a plusieurs niveaux d'organisation.

- 1^{er} niveau d'organisation: Nucléosomes et fibres de 110 Å
- 2^{ème} niveau d'organisation: fibres de 300 Å
- 3^{ème} niveau d'organisation boucles (3000 Å)

Chromatine - 1er niveau d'organisation
Nucléosomes et fibres de 110 Å (11 nm)

Exemple de 3 nucléosomes reliés par du DNA "linker"



2.3 - Superstructure du DNA

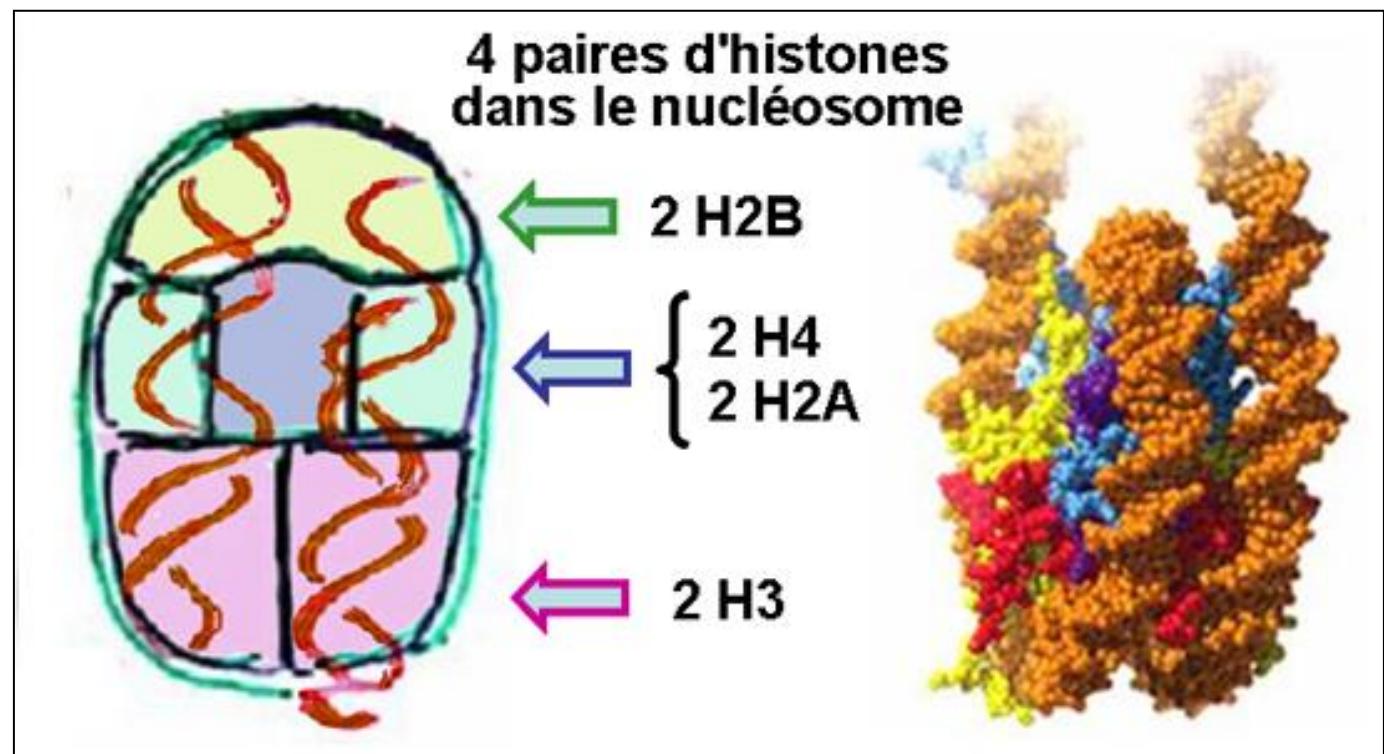
2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Chromatine - 1er niveau d'organisation : Nucléosomes et fibres de 110 A

Un nucléosome est une unité élémentaire de compaction de la chromatine, composée d'ADN enroulé autour d'un octamère d'histones.

Les histones sont des protéines basiques en contact étroit avec l'ADN.
5 types d'histones sont décrits.

Les histones H2A, H2B, H3 et H4 forment un octamère protéique globulaire [2 x (H2A,H2B,H3,H4)] qui permet l'enroulement d'environ 150 paires de bases d'ADN. L'histone H1 permet la compaction des nucléosomes entre eux (l'histone H1 n'est pas dans les nucléosomes, mais est internucléosomale).



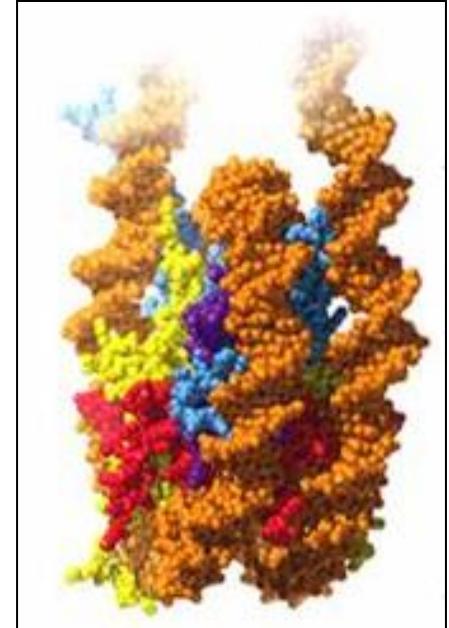
2.3 - Superstructure du DNA

2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Chromatine - Nucléosomes et fibres de 110 Å

- Histones

- . Petites protéines (11-28 kDa) basiques (Arg, Lys)
- . Séquence très conservée au cours de l'évolution (H4)
- . Gènes sans introns
- . Modifications post-traductionnelles
(régulation association-dissociation)



Régulation des interactions Histones-DNA

Les extrémités N-terminales des histones sont à l'extérieur de la partie globulaire du nucléosome et peuvent être modifiées (acétylation, méthylation, phosphorylation..) par des enzymes spécifiques (**histone-kinase, histone-méthylase, histone-acétyltransférase et histone-désacétylase, ubiquitinase, etc.**).

Ces modifications pourraient agir soit en modifiant la compaction du nucléosome, soit en constituant un code signalant le recrutement spécifique de facteurs de transcription. Les nucléosomes peuvent par ailleurs se déplacer le long des brins d'ADN sous l'effet de complexes de remodelage de la chromatine.

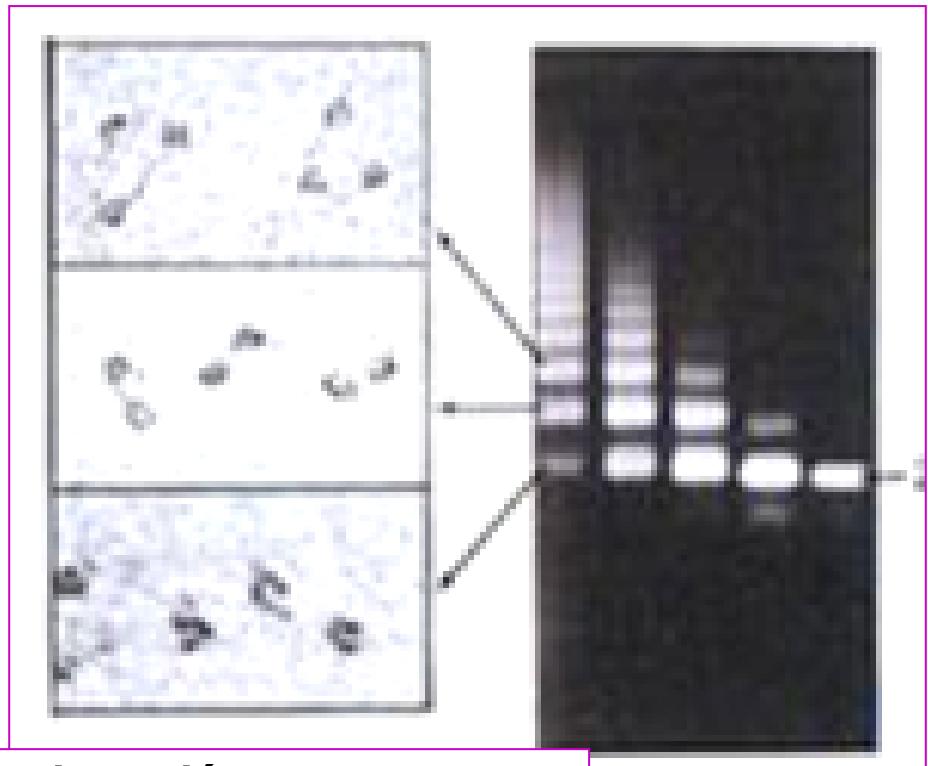
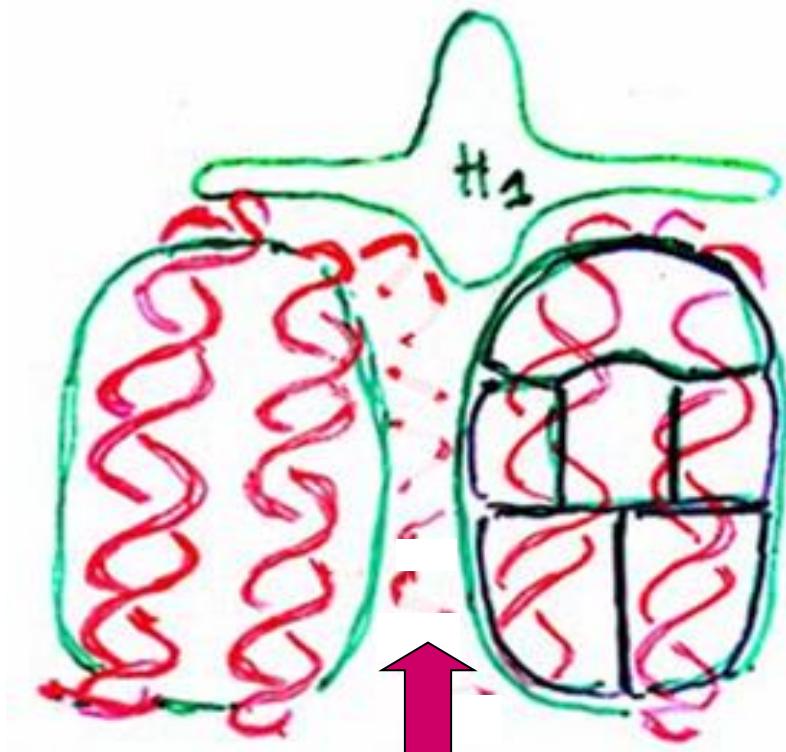
- D'autres protéines (par exemple des protéines HMG..) sont associées au DNA dans la chromatine (en dehors des nucléosomes).

2.3 - Superstructure du DNA

2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Chromatine : 1er niveau d'organisation : Nucléosomes et fibres de 110 A

Les histones H1 sont inter-nucléosomales et stabilisent les nucléosomes entre eux, mais le DNA internucléosomal est fragile et 'exposé' (il est coupé lors de l'apoptose)

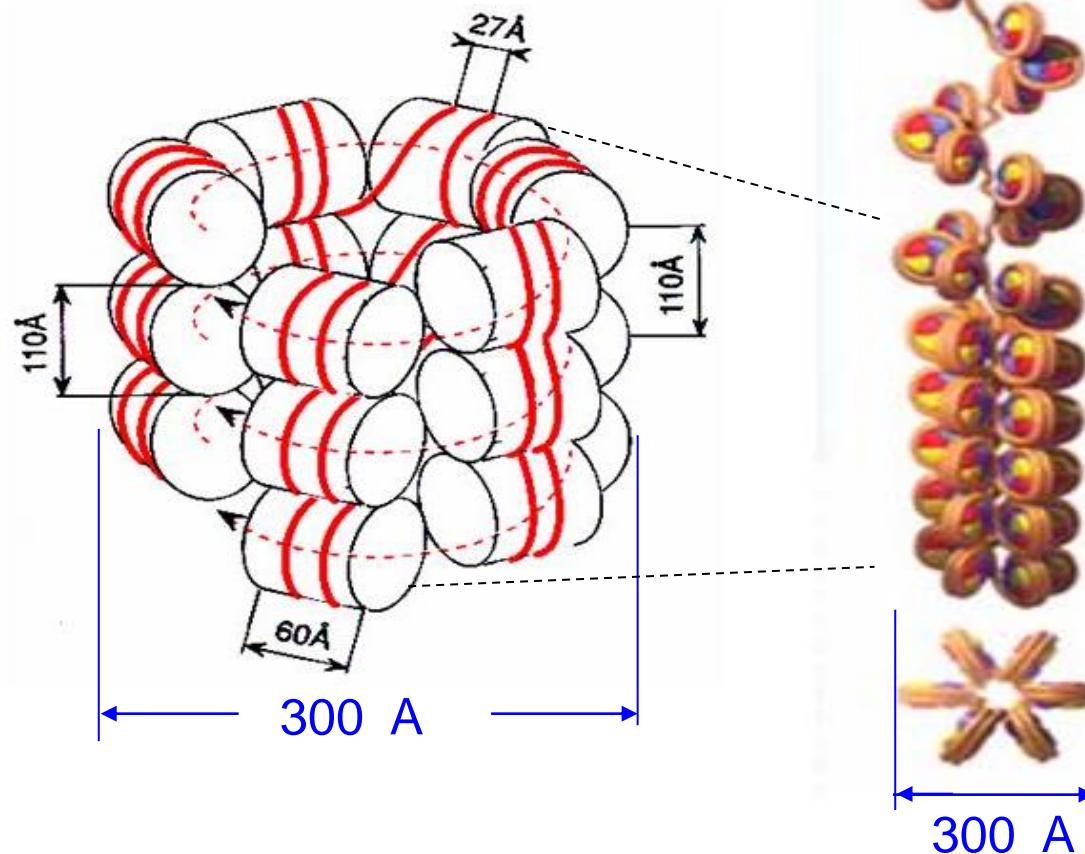


Traitement de la chromatine par une endonucléase:
dégradation (partielle) du DNA linker.

2.3 - Superstructure du DNA

2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

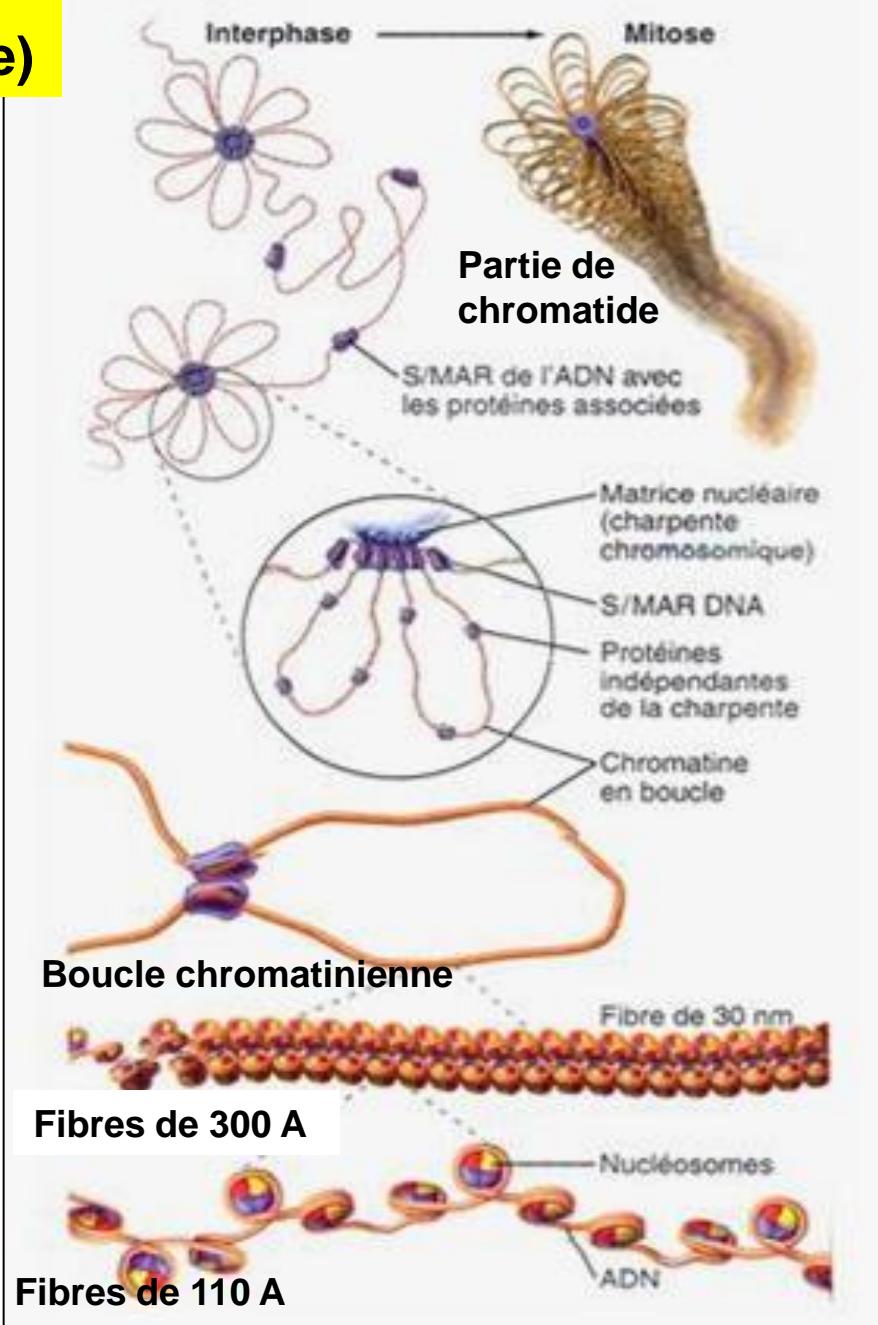
Chromatine - 2ème niveau d'organisation
Fibres de 300 Å



2.3 - Superstructure du DNA

2.3.2 - DNA des eucaryotes (chromatine)

Chromatine : 3ème et 4ème niveaux d'organisation : boucles chromatiniennes et chromosome



Voir détails dans le cours de Biologie cellulaire.

2 – DNA

2.4 - DNA et Génomes

2.4.1 - Génomes : généralités

* Plusieurs définitions de "Génome"

- Matériel génétique d'une cellule (ou d'un virus)
- Patrimoine héréditaire.
- Information génétique.

nb : ces définitions de "génomes" sont voisines, mais pas identiques.

Les génomes des êtres vivants ont des caractéristiques communes, mais aussi des différences notables:

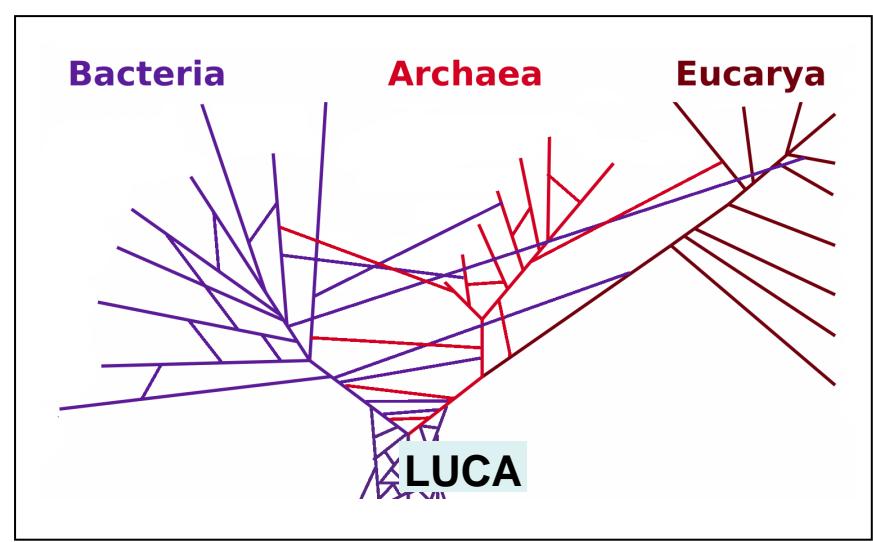
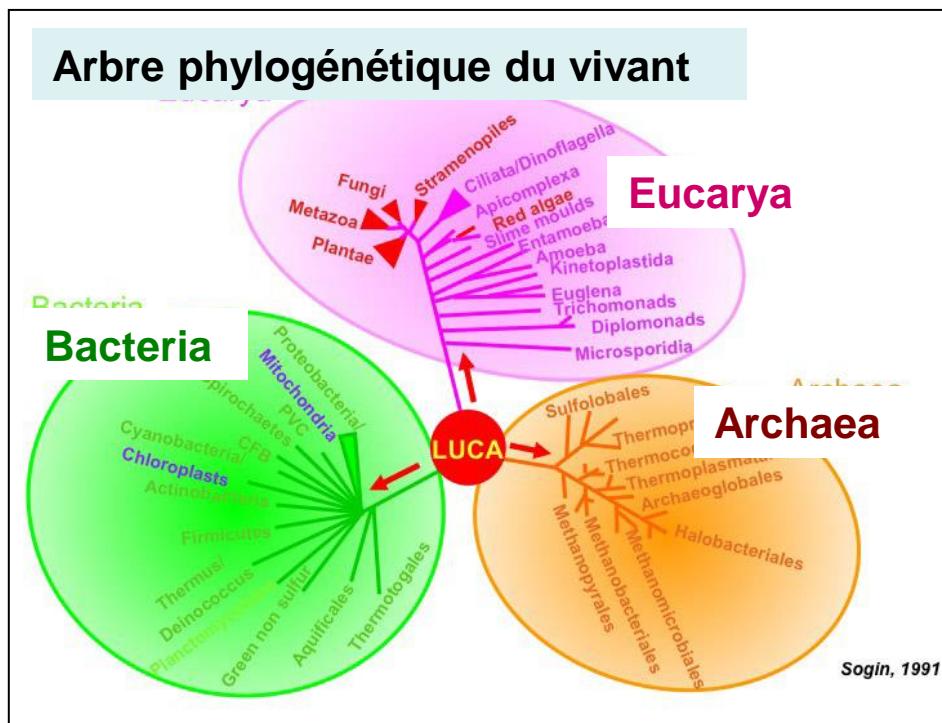
Le support matériel du génome est un acide nucléique:

- . DNA pour les procaryotes et les eucaryotes
- . DNA ou RNA pour les virus

Les génomes peuvent différer considérablement par leur taille, la densité génique, l'organisation et la structure des gènes, leur ploïdie (haploïde = n chromosomes, diploïde = $2n$ chromosomes, polyploïde = plusieurs fois n chromosomes),...

La *phylogenèse* ou *phylogénie* est l'étude des relations de parenté entre les êtres vivants

L'étude comparée des génomes et de la biologie des êtres vivants (procaryotes et eucaryotes) actuels montre une parenté structurale et fonctionnelle qui peut être expliquée par une origine commune (et des échanges de matériel génétique). Donc tous les êtres vivants actuels descendaient d'un dernier ancêtre commun (théorique) désigné par "LUCA" ("Last Universal Common Ancestor")



Autre représentation de l'arbre phylogénétique du vivant montrant les échanges de gènes 'horizontaux' entre les 3 domaines du vivant



Taille des génomes

Les génomes des êtres vivants peuvent avoir des tailles très différentes. La taille des génomes peut varier de quelques milliers de bases (chez les virus) à plusieurs centaines de milliards de bases (chez des eucaryotes).

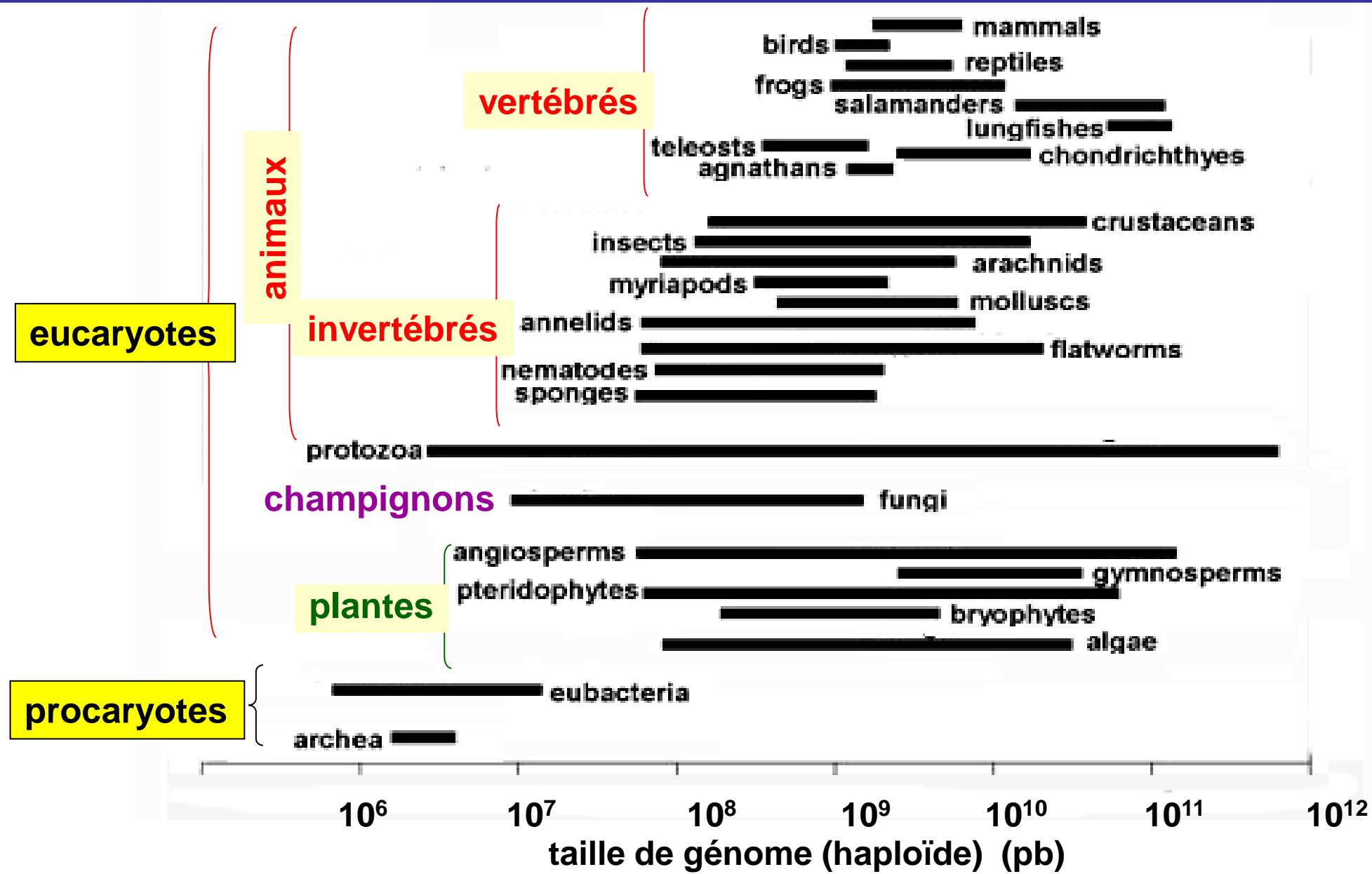
Les plus petits génomes viraux comportent moins de 2000 b (ex: le génome de *agent delta*, *virus de l'hépatite D*, est un ARN simple brin de 1700 b, 1 seul gène), tandis que les virus géants ont des génomes de la taille des génomes bactériens (des virus du genre *pandoravirus* ont des génomes de DNA > 2 millions de pb, et plus de 2000 gènes).

Les plus petits génomes cellulaires connus appartiennent à des bactéries, *Mycoplasma genitalis* (580 000 pb), *Buchnera aphidicola* (400.000 pb) et *Carsonella ruddii* (160.000 pb); les 2 dernières sont endosymbiotiques exclusives.

Les plus grands génomes connus actuellement appartiennent à des eucaryotes unicellulaires : l'amibe *Amoeba dubia* (675 milliards de pb) et la diatomée *Navicula pelliculosa* (> 690 milliards de pb), soit plus de 200 fois plus grand que le génome de *Homo sapiens* (3 milliards de pb).

Les tailles des génomes peuvent être très différentes selon les espèces

72



2.4 - DNA et Génomes

2.4.1 - Génomes : généralités

Densité génique

Le génome est constitué de DNA génique et de DNA non génique

Densité génique : nombre de gènes par Mpb ($/10^6$ pb) de DNA

La densité génique est très variable selon les génomes

* *H. sapiens sapiens*

- DNA 3 000 Mpb

- environ 21 000 genes

gènes
DNA non génique

E. coli ~ 1000



génome mitochondrial humain ~ 2300



génome nucléaires

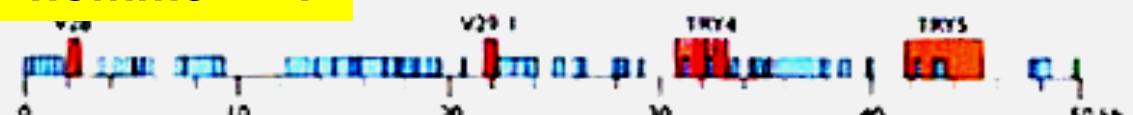
levure ~ 480



drosophile ~ 75



homme ~ 7



2.4 - DNA et Génomes

2.4.2 – Génomes des procaryotes

Quelques caractéristiques générales

Organisation du génome des procaryotes

- Séquences transcrives et codantes (traduites)

- Parties codante en général très majoritaires (*chez E coli* ~ 90% du DNA)
- Taille moyenne des gènes petite (~ 1 kb)
- Nombre des gènes assez variable d'une espèce à l'autre (500 à 8000)
- Les unités transcriptomiques sont fréquemment organisées en opérons.
- Les gènes des ARNr sont souvent agencés en 16S-23S-5S avec des gènes d'ARNt entre les gènes

- Séquences non codantes : séquences régulatrices, quelques rares introns, et régions intergéniques (comportant parfois des séquences répétées).

- Introns de groupe II, autocatalytiques (ribozymes) peu nombreux
- Régions intergéniques de petite taille (*chez E coli*, en moyenne: 118 pb)
- Séquences répétées en tandem comprennent un motif de 1 à 6 Nt répétés de 2 à quelques dizaines de fois
- Peu de pseudogènes (gènes mutés non-transcrits ou non-traduits).

2.4 - DNA et Génomes

2.4.2 – Génomes des procaryotes

Comparaison de quelques génomes procaryotes

Des variations assez importantes de la taille des génomes et de l'information génétique (nombre de gènes)

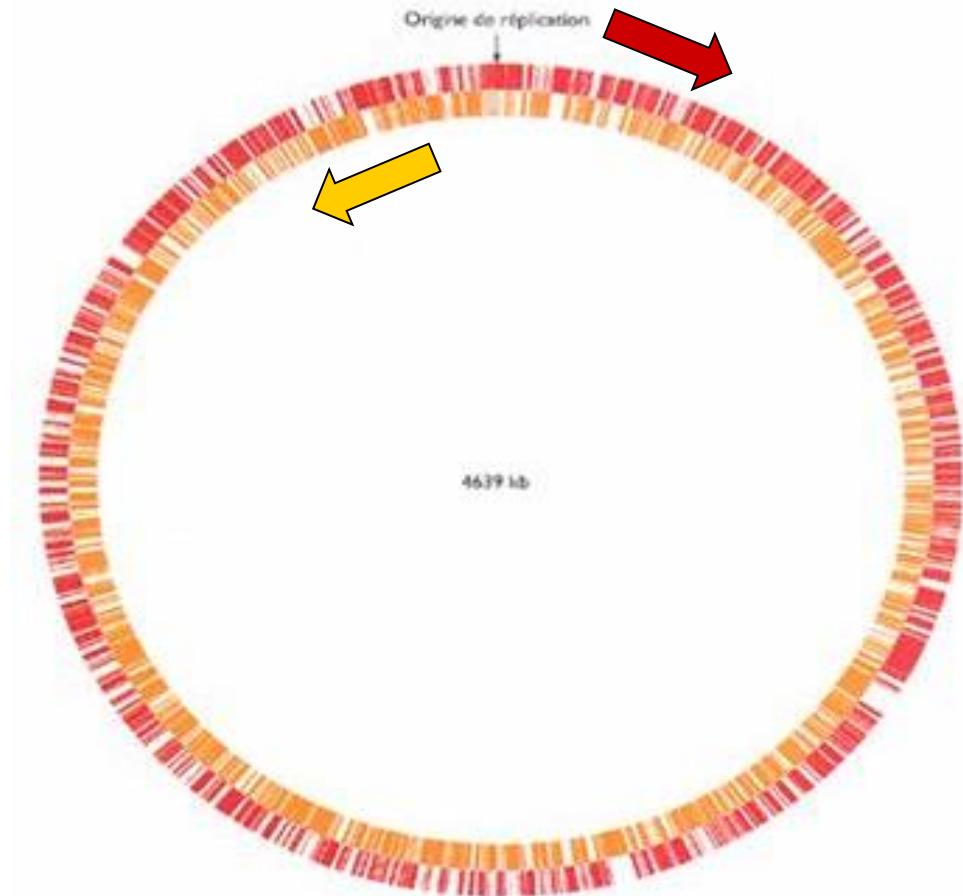
Procaryote	taille DNA (Mb)	nombre de gènes
<u>Eubactéries</u>		
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,8	~ 690
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,8	~ 2620
<i>Escherichia coli</i>	4,6	~ 4300
<u>Archées</u>		
<i>Nanoarchaeum equitans</i>	0,5	~ 540
<i>Pyrococcus abyssi</i>	1,8	~ 1900
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	3	~ 2980

2.4 - DNA et Génomes

2.4.2 – Génomes des procaryotes

Exemple du génome de *E coli*

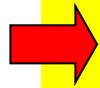
- Carte génétique physique du génome de *E. coli*
 - DNA 4,6 Mb
 - environ 4300 genes



Les gènes sont situés sur les deux brins

La densité génique est élevée (plus de 1000 gènes / Mb)

2.4 - DNA et Génomes



2.4.3 - Génomes des eucaryotes

Les cellules eucaryotes animales contiennent (en général) **2 types de génomes distincts** (3 chez les plantes) : le génome nucléaire et le génome mitochondrial (et le génome des chloroplastes chez les plantes)

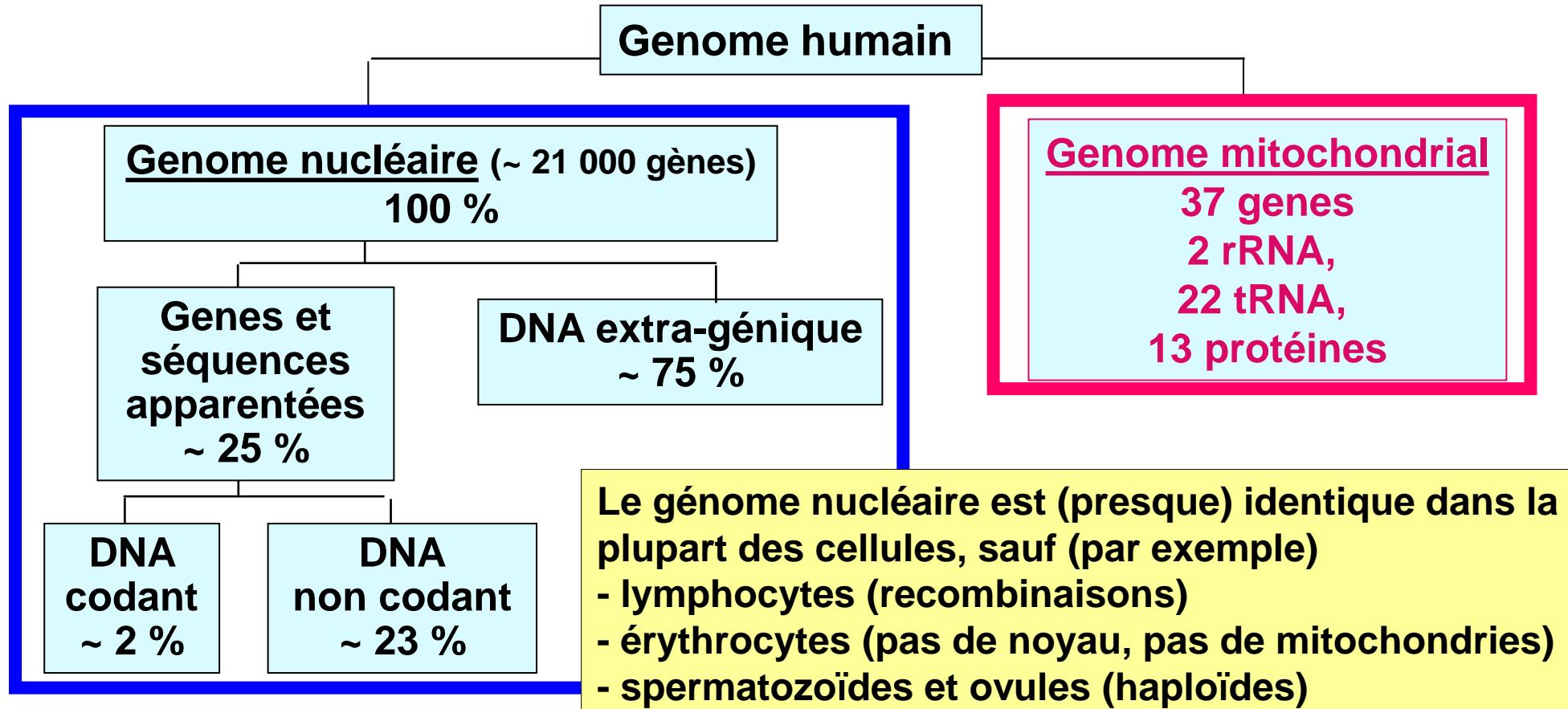
Par ailleurs, les organismes pluricellulaires eucaryotes vivent en association (**symbiose**) avec des **microorganismes** (par exemple, les microorganismes intestinaux, autrefois nommée '**flore intestinale**' et maintenant '**microbiote intestinal**'). Le "**métagénome**", c'est-à-dire l'ensemble des gènes du microbiote intestinal commence à être identifié. Chez l'homme, ce "**métagénome intestinal**" correspond à plus de 1 000 espèces procaryotes différentes et compte plus de 3 000 000 de gènes... ceci explique les capacités métaboliques du microbiote intestinal, capable de réaliser la biosynthèse de nutriments que les cellules humaines sont incapables de synthétiser.

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 - Génomes des eucaryotes

Exemple génome humain

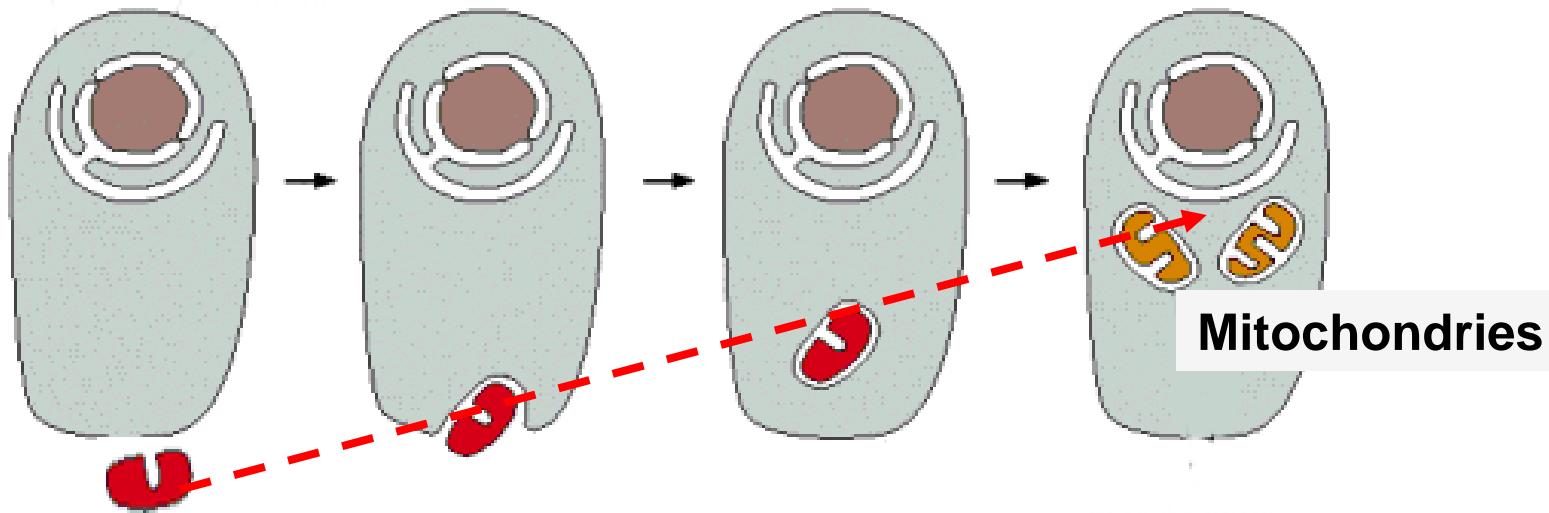
- 2 génomes cellulaires distincts: nucléaire et mitochondrial
- des types de séquences variées



2.4.3.1 - Génome mitochondrial

Origine et évolution du génome mitochondrial

Théorie sur l'origine des mitochondries: une α -protéobactérie aurait formé une (endo)symbiose avec une cellule eucaryote ancestrale (il y a \sim 2 Mds années), puis évolué dans chaque lignée cellulaire.



Bactéries ancestrale (alpha-protéobactérie de la famille des rickettsies)

Le DNA mitochondrial a évolué (de façon variable selon les espèces): réduction de taille et du nombre de gènes (dia suivante).

Question: où sont passés les gènes mitochondriaux ancestraux ?
→ soit transfert de gènes vers le noyau, soit perte de gènes

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.1 - Génome mitochondrial

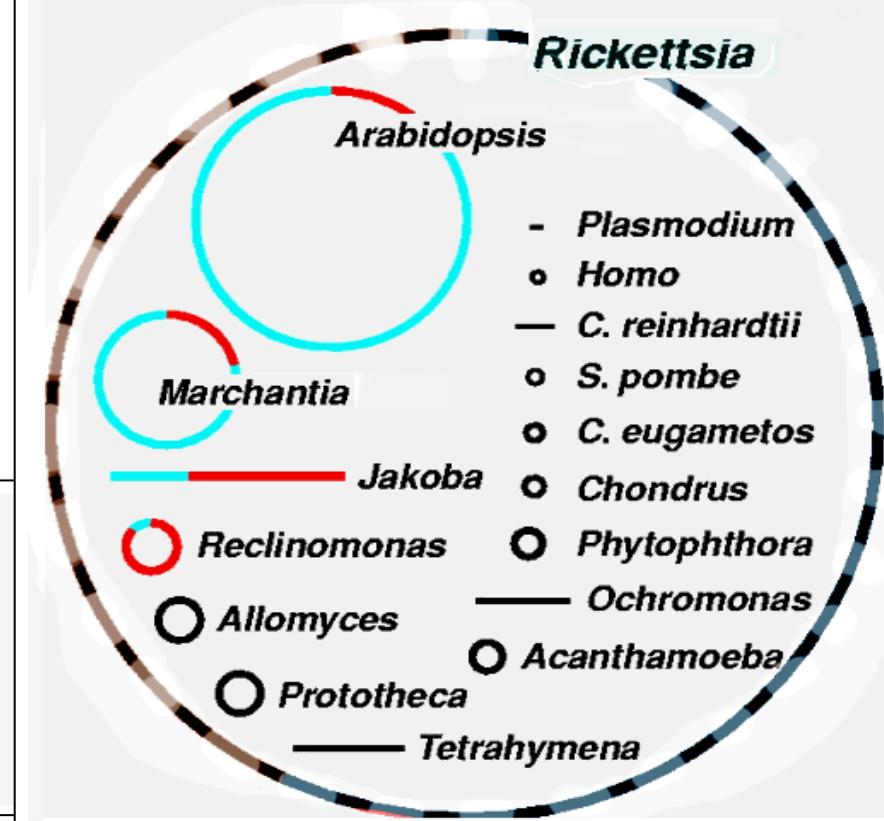
Taille des génomes mitochondriaux de divers eucaryotes

Exemples de taille du DNA mitochondrial dans divers taxons

Organisme	Taille (kb = 10 ³ pb)
Animaux	15-20
Protozoaires	20-40
Champignons (microsc.)	17-80
Algues vertes (microsc.)	16
Plantes supérieures *	variable

Schéma comparatif de la taille du DNA mitochondrial de quelques eucaryotes (et comparaison avec le DNA de rickettsie, bactérie proche du procaryote ancêtre des mitochondries)

Le DNA mitochondrial est souvent circulaire, mais parfois linéaire



2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.1 - Génome mitochondrial

Un paradoxe apparent: la quantité de DNA mitochondrial (par cellule) et la proportion par rapport au DNA cellulaire total peuvent varier notablement, selon les espèces et les types cellulaires.

Comparaison de la quantité de DNA mitochondrial dans une cellule de levure, une cellule de mammifères (foie) et d'une cellule d'amphibien (Œuf)

Organisme	Type cell.	Nb molécule DNA/mitoch.	Nb de mito /cellule	taille DNAm	DNA nucl.	Proportion DNAm/DNA tot
Levure	végét.	20-50	1-50	10^4	10^8	jusqu'à 15 %
Mammifère	Foie	5-10	1000	10^4	10^9	jusqu'à 10 %
Amphibien	Œuf	5-10	10 000 000*	10^4	10^9	jusqu'à >99* %

* $10^4 \text{ pb/DNAm} \times 10^7 \text{ DNAm/cell} = 10^{11} \text{ pb de DNAm/cell}$

* $10^9 \text{ pb de DNA nucléaire pour mammifères et amphibien}$

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.1 - Génome mitochondrial

Carte du génome mitochondrial humain

DNA circulaire double brin 16

569 pb (séquence connue)

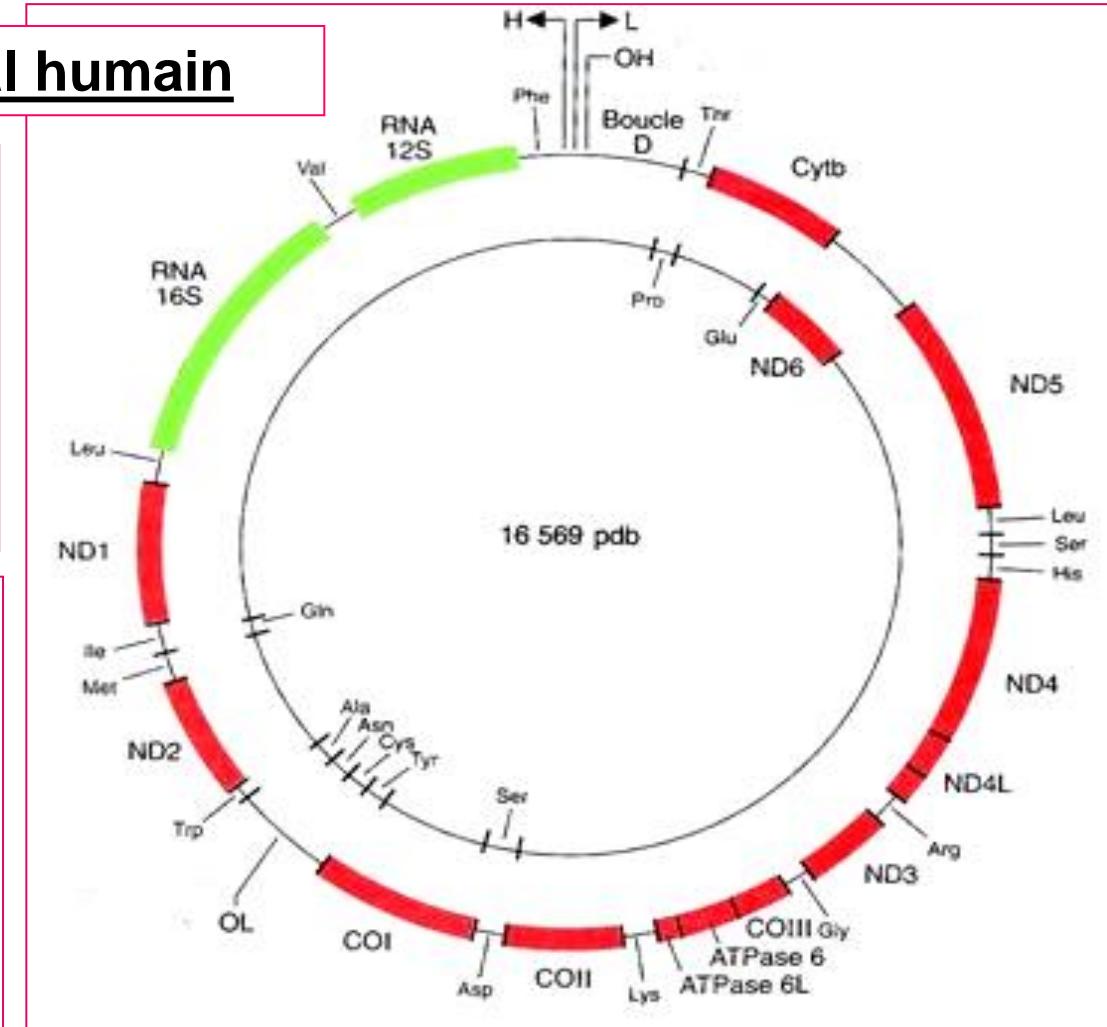
- 37 gènes (sur les 2 brins)

- 2 rRNA

- 22 tRNA

- 13 mRNA (protéines)

Les 13 protéines codées par le DNA mitochondrial sont traduites et synthétisées par des tRNA et des ribosomes mitochondriaux (dans la mitochondrie), selon un code génétique différent (en partie) du code génétique nucléaire (voir chapitre code génétique)



2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.1 - Génome mitochondrial

Particularités de la génétique des constituants de la mitochondrie

- Les constituants de la mitochondrie sont codés par deux génomes:
 - . le génome mitochondrial (pour une petite partie : 37 gènes dont 13 codent des protéines, chez l'homme),
 - . le génome nucléaire (pour la plus grande partie : plus de 1500 gènes nucléaires codent pour des protéines à destinée mitochondriale).

Donc moins de 1% des protéines de la mitochondries est codé par le génome mitochondrial (chez l'homme).

Le mode de transmission des deux génomes est différent:

- transmission mendéienne pour les gènes du génome nucléaire codant des protéines destinées à la mitochondrie.
- transmission exclusivement maternelle pour le génome mitochondrial (non mendélien).

Remarque: il peut donc exister une ambiguïté quand on parle de la génétique des maladies héréditaires mitochondrielles, et il faut donc distinguer et préciser celles dues à des mutations de gènes (codant pour des protéines mitochondrielles) localisés dans le génome nucléaire et celles dues à des mutations du génome mitochondrial, puisque ceci influe sur le mode de transmission (mendéienne vs maternelle) et sur l'expression de la maladie.

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.1 - Génome mitochondrial

Particularités de la transmission du génome mitochondrial

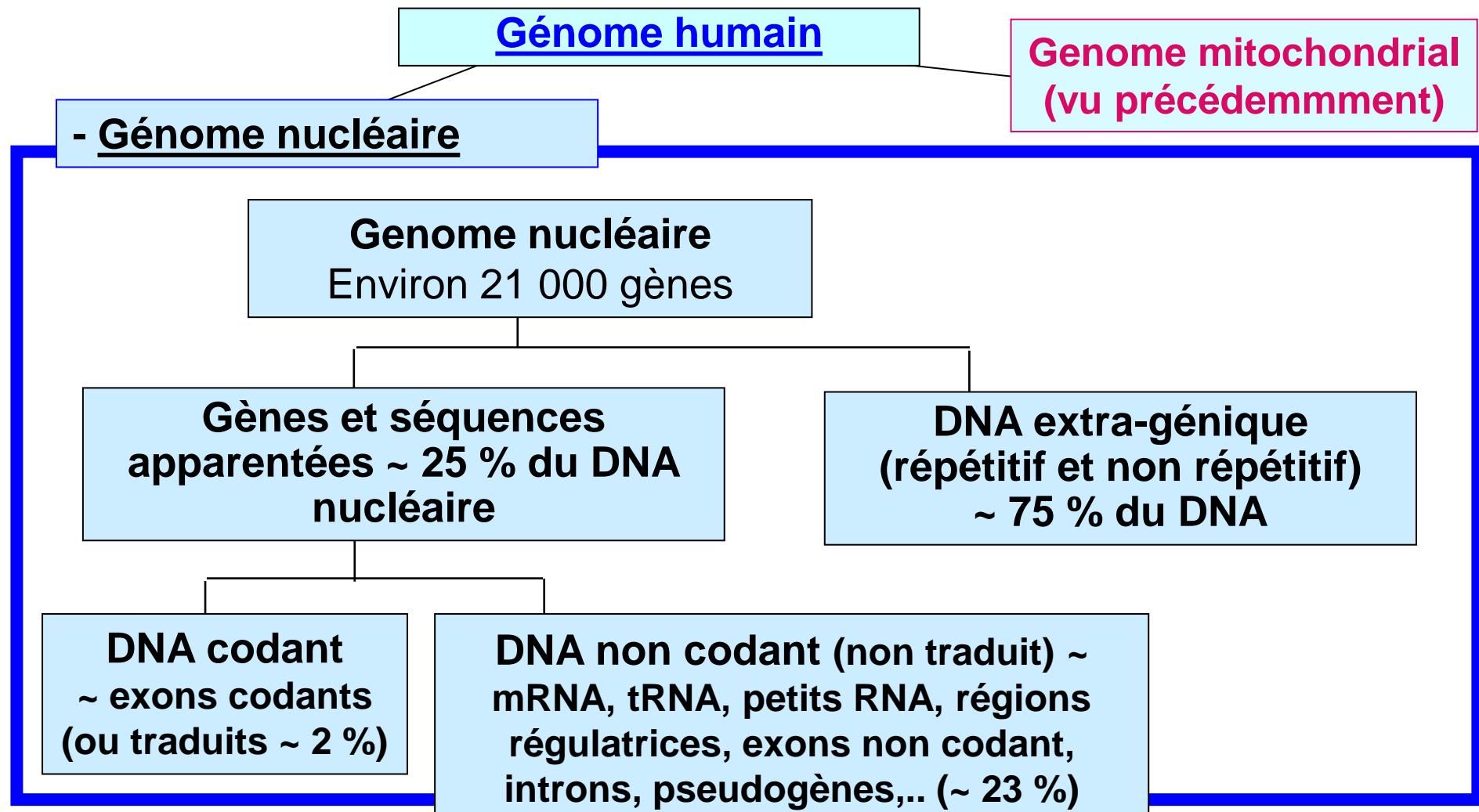
- Transmission maternelle. Les mitochondries de l'œuf proviennent de l'ovule; les mitochondries des spermatozoïdes sont peu nombreuses, et ne semblent pas (ou très peu) retrouvées dans l'œuf fécondé. Donc, la transmission du génome mitochondrial (et des maladies mitochondrielles par mutation de l'ADN mitochondrial) est maternelle (cad de la mère à tous les enfants des deux sexes) et non mendélienne.
- Homoplasmie & hétéoplasmie. Globalement, les mitochondries de l'ovule sont génétiquement identiques (homoplasmie). Parfois (rarement), certaines mitochondries de l'ovule peuvent porter des mutations, tandis que d'autres mitochondries sont normales. Cette hétérogénéité du stock mitochondrial de l'ovule est nommée hétéoplasmie. En cas d'hétéoplasmie, le taux d'hétérogénéité des mitochondries peut varier d'un tissu à l'autre. De plus, parfois, certains DNA mitochondriaux mutants peuvent s'accumuler dans certaines cellules → hétérogénéité clinique des maladies mitochondrielles dues à des mutations du génome mitochondrial.

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

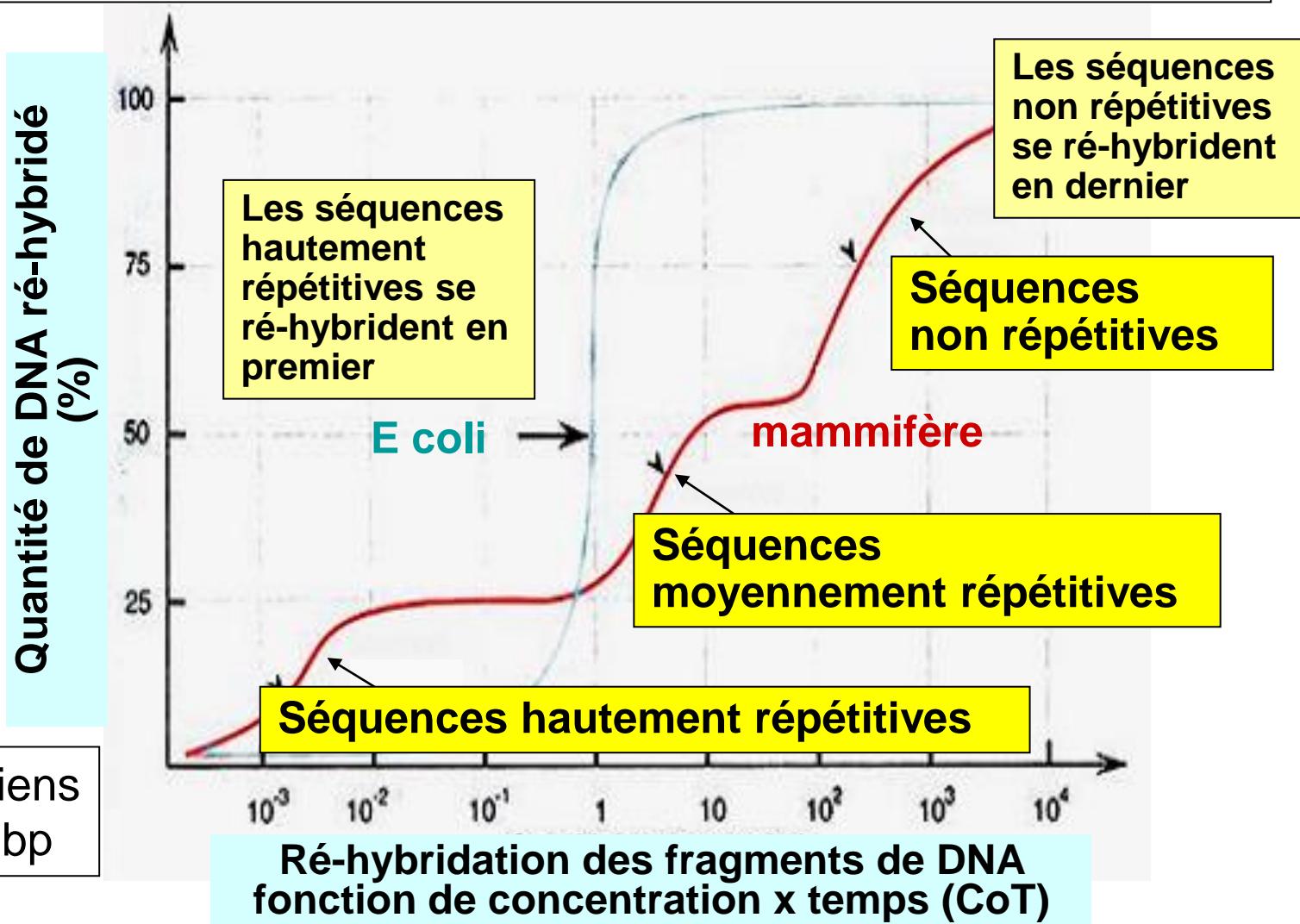
2.4.3.2 - Génome nucléaire

Exemple : génome nucléaire humain



2.4.3.2 – Génome nucléaire (des eucaryotes)

Expérience de dénaturation-renaturation (re-hybridation) du DNA nucléaire (fragmenté). Mise en évidence des divers groupes de séquences: séquences répétitives et non répétitives (les séquences répétitives se réhybrident plus vite)

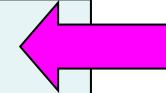


2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.2 - Génome nucléaire

- Génome nucléaire humain: **séquences répétitives**



Séquences répétitives

Les séquences répétitives sont hétérogènes

Elles peuvent être classées selon leur nombre dans le génome:

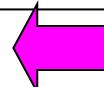
- Séquences hautement répétitives
 - . Exemples: séquences "satellites" et "minisatellites"
- Séquences moyennement répétitives
 - . Non codantes - exemples: séquences "Alu"
 - . Gènes de certains RNA (rRNA, tRNA) et certains gènes codants.

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.2 - Génome nucléaire

- Génome nucléaire humain: **séquences répétitives**

Séquences hautement répétitives (~ 15% du génome nucléaire) 

- "satellites"

- . localisées: hétérochromatine constitutive (centromères)
- . certaines sont courtes 5-10 pb en tandem
- . d'autres sont plus longues 100-200 pb

- "minisatellites"

- . dispersées
- . polymorphes avec un motif central de 10-15 pb et une périphérie variable

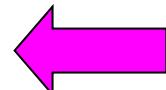
nb : ce sont des caractéristiques héréditaires du DNA. Les séquences polymorphes (variables selon les lignées) peuvent être utilisées pour réaliser les "empreintes" génétiques.

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.2 - Génome nucléaire

- Génome nucléaire humain: **séquences répétitives**

Séquences moyennement répétitives



Elles sont classées en deux groupes: séquences non codantes et séquences codantes

1/ Séquences non codantes (et non fonctionnelles ??)

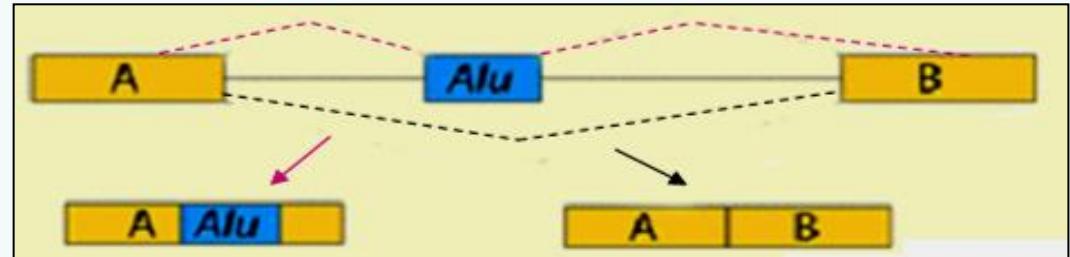
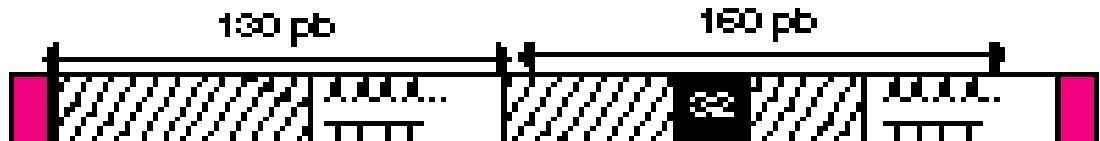
- . représentent 25-40 % du génome
- . assez longues 100-1000 pb
- . dispersées
- . assez polymorphes
- . retroposons
- . exemples : séquences SINE (= short interspersed nuclear elements)
(les séquences Alu appartiennent à ce groupe)
séquences LINE (= long interspersed nuclear elements)

2/ gènes répétitifs des rRNA, tRNA.. et séquences codantes (voir plus loin)

Exemple de séquences moyennement répétitives SINE: les séquences Alu humaines

Les séquences Alu * humaines

- appartiennent au groupe des séquences répétitives SINE (qui font partie du groupe des retroposons)
- comportent environ 300 pb chez les primates (150 chez les murins) (dimère répété en tandem)
- sont non codantes
- sont abondantes chez les primates (~ 1 000 000 copies/génome)
- ont une homologie de séquence avec des petits RNA7SL (cf "Signal Recognition Particle" (voir chapitre 'traduction des protéines sécrétées').
- sont des éléments génétiques mobiles (retroposons).
- ces transpositions peuvent parfois provoquer des modifications du génome (ci-dessous exemple de remaniement du DNA: fusion de gènes), donc favoriser l'évolution, mais aussi provoquer des anomalies génétiques.



* le nom des séquences Alu provient du fait qu'elle est coupée par une enzyme (endonucléase) de restriction nommée AluI (provenant de *Arthrobacter luteus*).

- Génome nucléaire - Séquences moyennement répétitives

1/ séquences moyennement répétitives non codantes (non fonctionnelles ?)

- Séquences non codantes
 - . exemple : séquences Alu

2/ séquences de gènes répétitifs des rRNA, tRNA.. et séquences codantes

- . gènes répétitifs stables dans le génome
- . gènes répétitifs transitoires
- Gènes de certains RNA:
 - . rRNA (transcrits par RNA polymérase I)
 - . tRNA (transcrits par RNA polymérase III)
 - . RNA₅S et RNA₇SL (transcrits par RNA polymérase III)
- Gènes (codant) de certaines protéines – exemples:
 - . Gènes des histones (moyennement répétitifs, groupés en 'clusters')
 - . Gènes codant pour les protéines du chorion (insectes)
 - . Gènes codant pour la DHF réductase (cellules cancéreuses)

- Génome nucléaire - Séquences moyennement répétitives

Exemples des gènes des rRNA

Les rRNA (représentent plus de 80% du RNA cellulaire total) sont formés par transcription de gènes des rRNA (gènes moyennement répétitifs). Lors de la division des cellules eucaryotes, il y a production d'une dizaine de millions de ribosomes → nécessité de synthèse rapide de grandes quantités de rRNA en quelques heures. Pour répondre à ce besoin quantitatif, les gènes des rRNA sont multiples (gènes répétitifs).

Deux mécanismes permettent cette multiplication des gènes:

- gènes répétitifs permanents dans le génome eucaryote (par amplification génique au cours de l'évolution). Un génome haploïde de cellule humaine contient environ 200 gènes de rRNA 45S et 100 gènes de rRNA 5S.
- gènes répétitifs transitoires, formés par amplification sélective de certaines parties du génome, dans certaines cellules et dans certaines circonstances physiologiques. C'est le cas des gènes des rRNA chez certains insectes, amphibiens et poissons. Par exemple, dans l'ovocyte de Xénope (amphibien), il y a, avant amplification, ~ 1 000 gènes de rRNA qui donnent, après amplification ~ 1 000 000 gènes de rRNA (x par 1000). L'amplification a lieu dans le nucléole, par réPLICATION sélective de l'ADN des gènes de rRNA (par un mécanisme mal connu) sous forme d'épisomes (cercles d'ADN extrachromosomiques) qui peuvent représenter jusqu'à 75% de l'ADN nucléaire total dans certaines cellules.

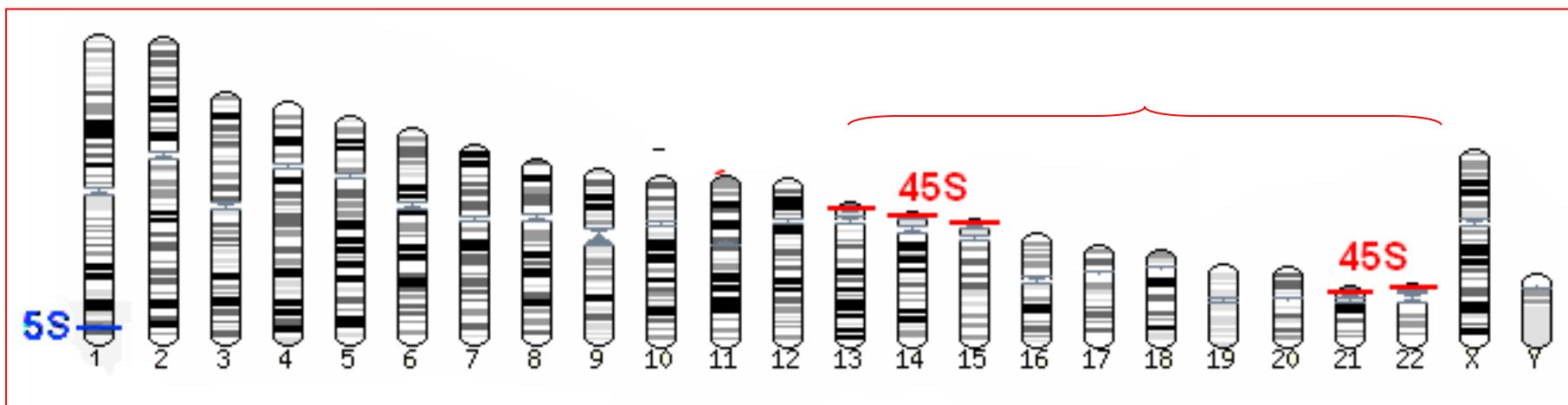
- Génome nucléaire - Séquences moyennement répétitives

Chez l'homme, les gènes des rRNA sont répétitifs et permanents. Ils sont de 2 types:

- les gènes du rRNA 45 S (transcrits par RNA-Pol I).

Il existe environ 200 gènes de rRNA 45S par génome haploïde (soit 400 gènes par génome de cellule diploïde). Ces gènes, disposés en tandem (par deux) ou en séries (plusieurs les uns à la suite des autres), forment des groupes qui sont répartis sur plusieurs chromosomes (13, 14, 15, 21, 22).

- gènes du rRNA 5 S (transcrits par RNA-Pol III). Il existe un groupe d'environ 100 gènes de rRNA 5S par génome haploïde, situé principalement sur le chromosome 1 (plus quelques autres exemplaires de ce gène répartis sur divers chromosomes).





- Génome nucléaire - Séquences moyennement répétitives

1/ séquences moyennement répétitives non codantes (non fonctionnelles ?)

2/ séquences de gènes répétitifs codant (pour des protéines)

- . gènes répétitifs stables dans le génome
- . gènes répétitifs transitoires

- Gènes de certaines protéines (codantes) – exemples:

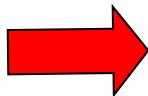
- . Gènes des histones (moyennement répétitifs, groupés en 'clusters')
- . Gènes codant pour les protéines du chorion (insectes)
- . Gènes codant pour la DHF réductase (cellules cancéreuses)

1^{er} exemple de gènes répétitifs codants, stables dans le génome

- gènes codant pour des protéines - exemple: gènes des histones

- . Oiseaux et mammifères 10 à 20 gènes de chacun des 5 types d'histones
- . Drosophile : 100
- . Oursins : plusieurs centaines

- Génome nucléaire - Séquences moyennement répétitives



plasticité du (génome) par amplification DNA

2ème exemple d'amplification génique transitoires (→ gènes répétitifs transitoires pour un besoin quantitatif ponctuel) dans le génome:

Chez certains insectes (drosophile), dans les cellules folliculaires ovariennes, il existe une amplification transitoire de gènes codant pour les protéines du chorion (enveloppe de l'oeuf) par 2 mécanismes successifs:

- polyploïdie: le génome haploïde entier est multiplié x 16
- réplication sélective x 10, des gènes du chorion.

Cette capacité d'amplification génique transitoire est conservée au cours de l'évolution, puisqu'elle se retrouve dans des cellules cancéreuses humaines: le méthotrexate (MTX) est un agent anticancéreux (anologue synthétique du dihydrofolate DHF) qui agit en inhibant la synthèse de l'ADN. Un mécanisme de résistance au MTX est dû à une augmentation de la protéine enzymatique de la voie métabolique de biosynthèse (DHF réductase). Cette augmentation est associée à une amplification génique (jusqu'à 1000 copie, soit intégrées dans le génome, soit dans des mini-chromosomes surnuméraires).

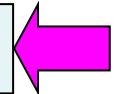
Ce phénomène est réversible: quand on supprime le MTX, les lignées cellulaires en culture, tendent à perdre le matériel génétique excédentaire.

2.4 - DNA et Génomes

2.4.3 – Génome des eucaryotes

2.4.3.2 - Génome nucléaire

- Génome nucléaire: séquences non répétitives (chez l'homme)



Les séquences non répétitives
(ou « uniques ou quasi-uniques)

- . représentent ~ 25 % du génome
- . dispersées
- . polymorphes

Elles correspondent aux

- gènes (séquences codant des protéines)
(environ 2 % du génome pour les parties codantes)
- pseudogènes et régions non codantes des gènes (zones régulatrices, introns, exons non traduits...) (environ 23 % du génome)

Voir cours sur les gènes, pseudogènes...

2 - DNA

2.5 - Constance et variabilité du Génome

Constance (stabilité) génétique

La séquence et l'organisation du génome sont relativement constants (sur des échelles de temps courtes), mais dans certaines cellules cancéreuses, il existe une "instabilité génétique")

Variabilité génétique

La séquence et l'organisation du génome sont relativement variables

- différences dans une population (polyallélisme, polymorphisme...)
- évolutions sur des échelles de temps longues

Nous verrons quelques notions générales illustrant la notion de constance/variabilité puis étudierons dans les chapitres suivants divers processus (réPLICATION, réPARATION, reCOMBINAISON, transfERT DES gèNES, mutations 'accidentELLES'...) expliquant les mécanismes moléculaires de cette constance et variabilité.

2.5 – Constance et variabilité du Génome

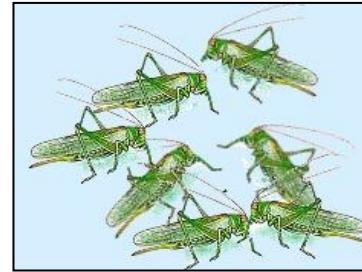
La constance du Génome transparaît dans les phénotypes:
jumeaux, les fratries, les familles, les espèces, les taxons...

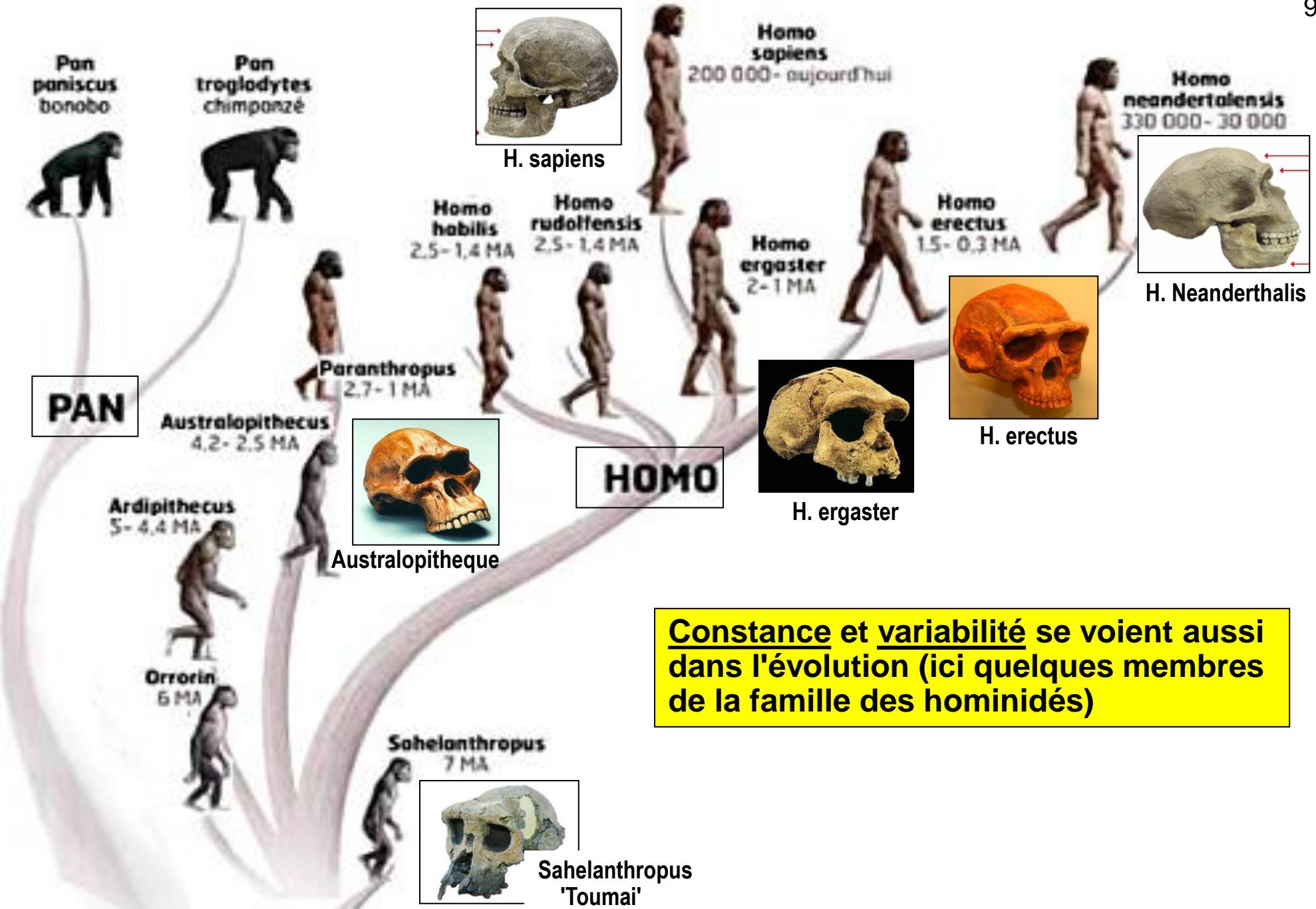


Il existe des différences entre espèces et aussi une variabilité dans une même espèce (polymorphisme)...



	O	A	B	AB
Arabie Saoudite	52	26	18	4
Britanniques	44	42	10	4
Irlande	55	31	11	3
Espagne	45	42	10	3
Basques	56	40	3	1
Français	43	45	9	3
Finlande	33	42	17	8
Inde 38	23	32	7	
Taiwan	44	26	24	6
Mayas	97	1	1	1
Indiens Perou	100	0	0	0





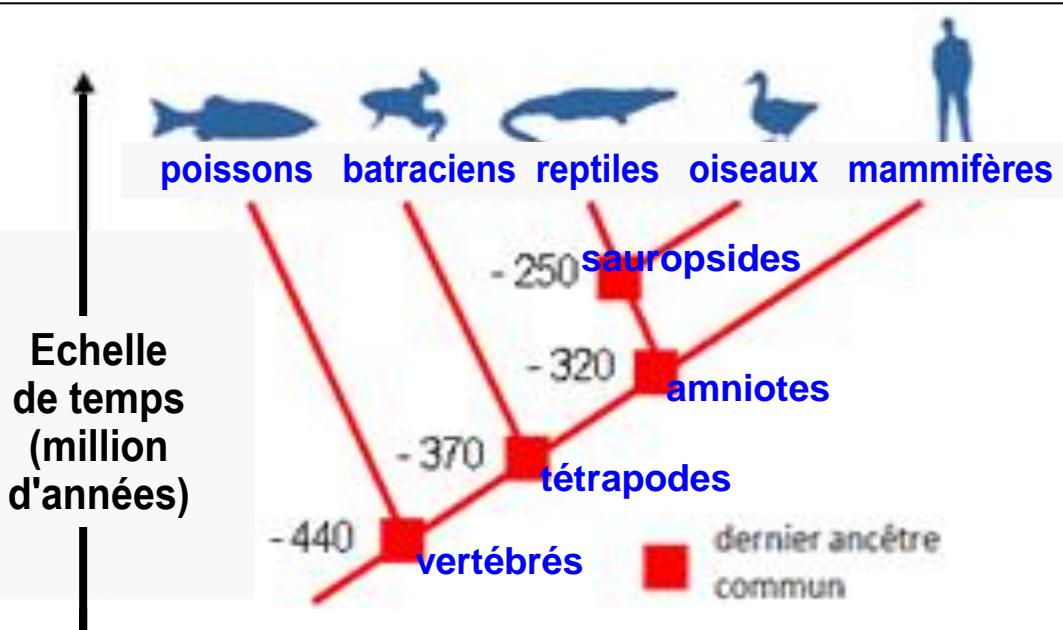
2.5 - Constance et variabilité du Génome

Mammifères

Phylogénie et phylogénie moléculaire.

Plus les différences génétiques (DNA) entre espèces sont importantes, plus elles sont éloignées sur le plan de l'évolution de leur génome (phylogénie).

A noter que ceci n'est pas toujours vrai sur le plan de la morphologie



Arbre phylogénétique de quelques grands groupes de vertébrés



Pan troglodytes



Equus caballus



Elephas maximus



Panthera leo



Delphinus delphis



Pipistrellus pipistrellus



Carcharhinus longimanus



Streptopelia risoria

Poissons

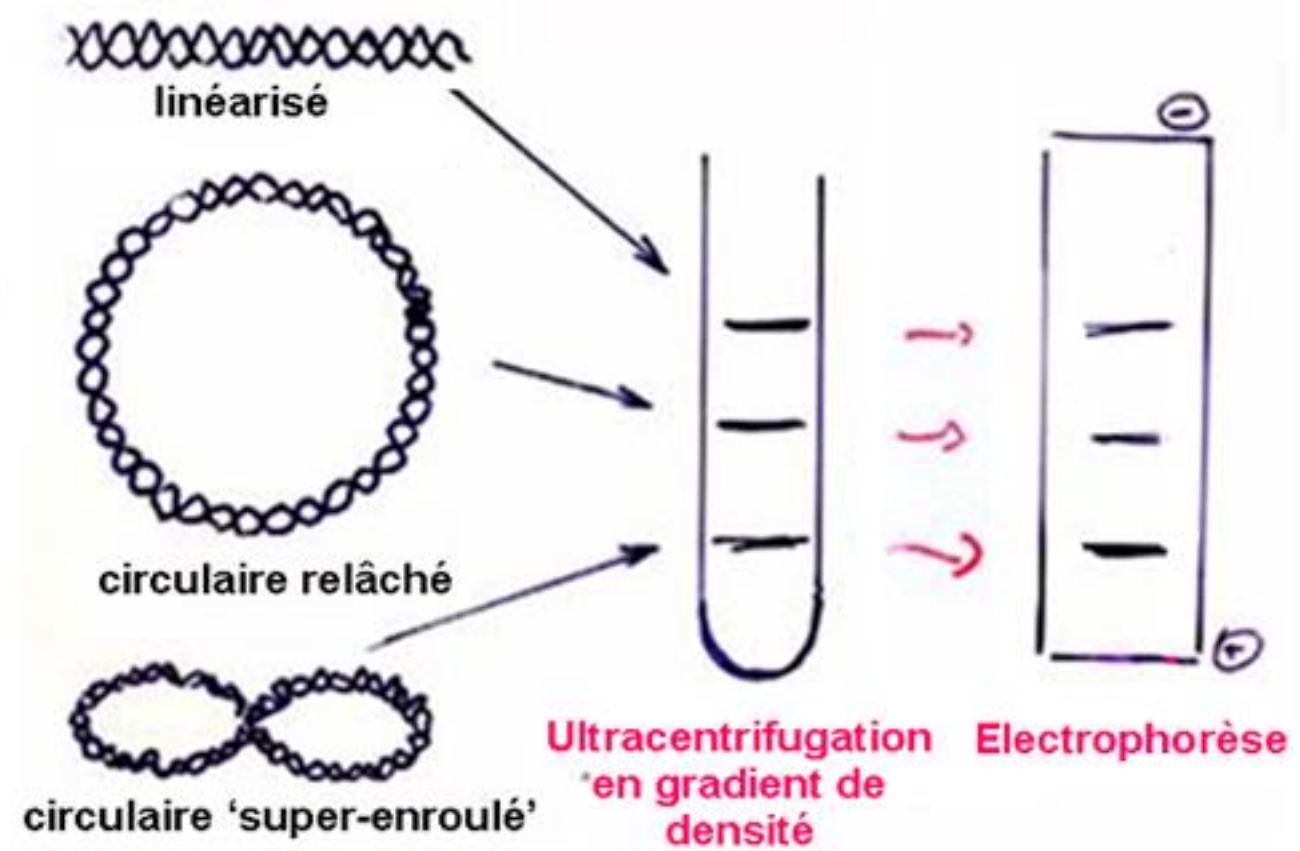
Oiseaux

Nous étudierons principalement la RéPLICATION chez les procaryotes (plus simple et mieux connue que celle des eucaryotes). Nous verrons quelques étapes (simplifiées) de la réPLICATION eucaryote

2.6.1 - RéPLICATION bactérienne (*E. coli*)

Il existe 3 formes 'topologiques' de l'ADN (double hélice) bactérien (*E. coli*): une forme linéarisée et 2 formes circulaires, 'relâchée' et 'super-enroulée'

Lors de la réPLICATION, le DNA bactérien doit être 'relâché'. Ces formes peuvent être séparées par ultracentrifugation ou par électrophorèse



2 - Génomes: DNA (et RNA)

2.6 – RéPLICATION

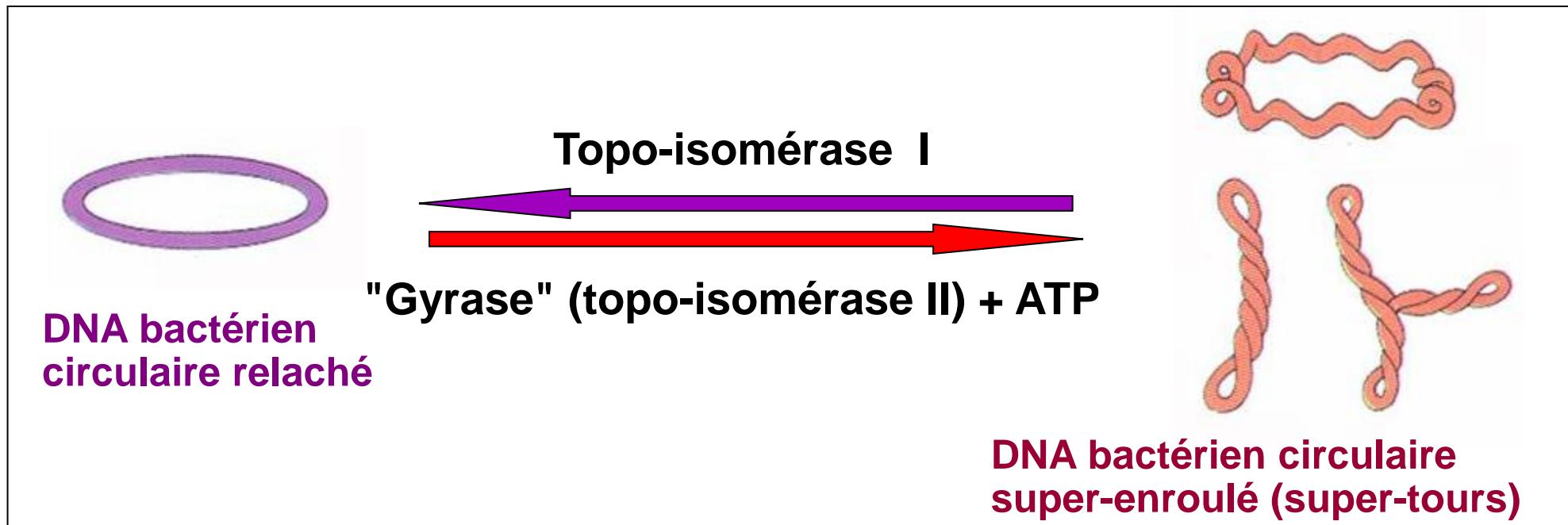
2.6.1 - RéPLICATION bactérienne

Au cours du cycle cellulaire bactérien, le DNA change de topologie. Au repos, le DNA est sous forme super-enroulée (condensée) et, pendant la réPLICATION, le DNA est sous forme relâchée. Ce changement d'état est catalysé par des topoisomérases:

Les topo-isomérases font ou défont les super-tours.

Les topo-isomérases de type II (ou DNA gyrases) catalysent la formation des super-tours

Les topo-isomérase de type I suppriment les super-tours.



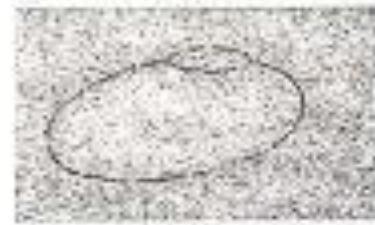
2 - Génomes: DNA (et RNA)

2.6 – RéPLICATION

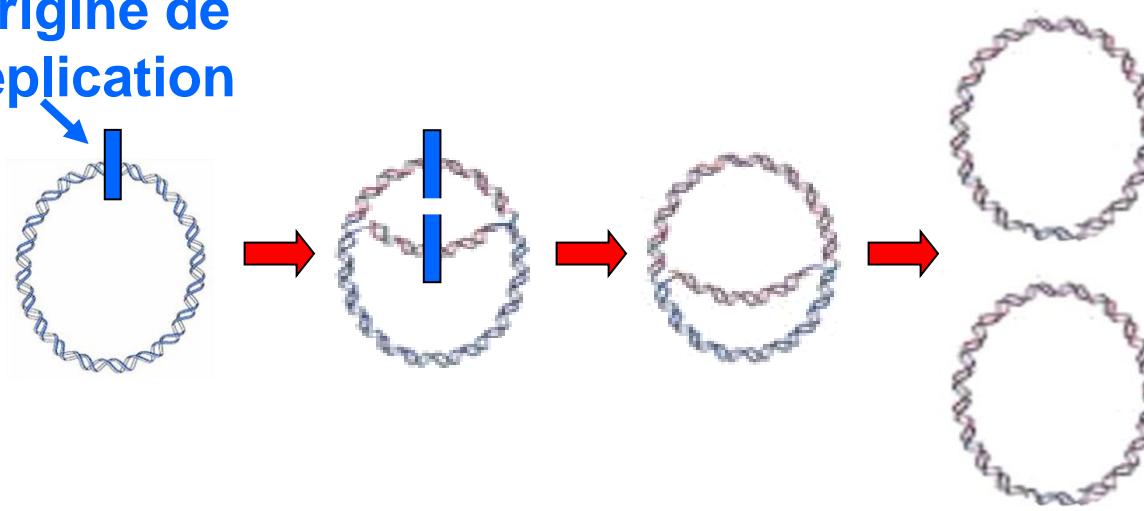
2.6.1 - RéPLICATION bactérienne

Mécanismes de la RéPLICATION bactérienne:
Les 2 chaines se séparent et la réPLICATION du DNA bactérien est réalisée selon un modèle semi-conservatif.

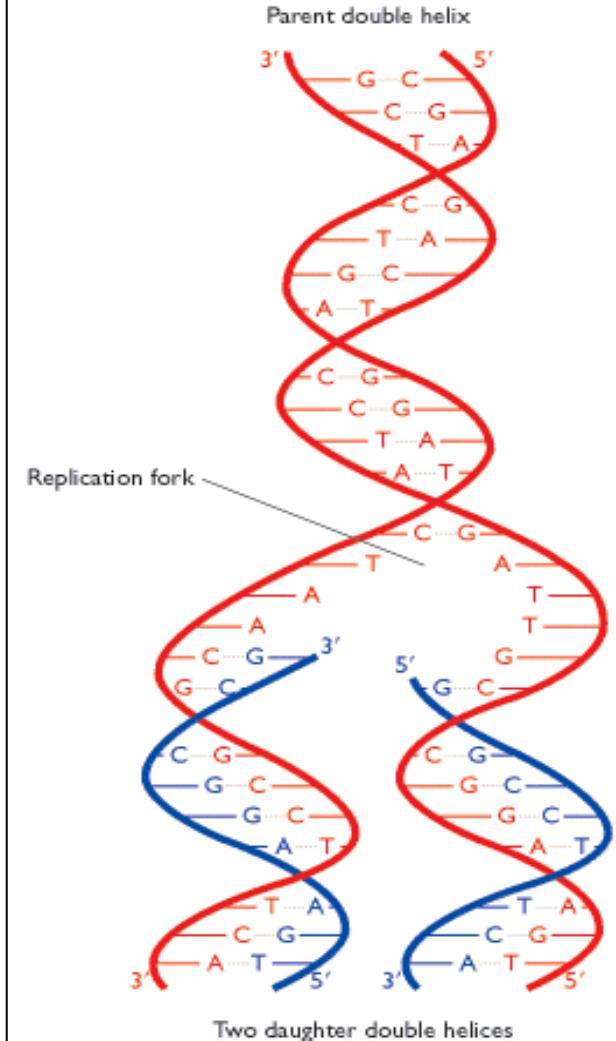
Microscopie électronique



Origine de réPLICATION



Modèle semi-conservatif

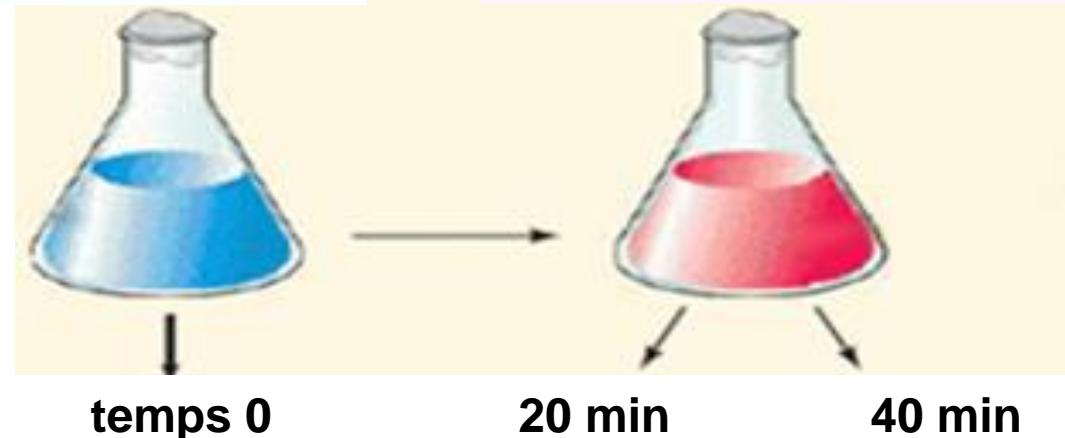


Modèle semi-conservatif (Meselson et Stahl - 1958)

104

Bactéries cultivées dans un milieu contenant ^{15}N (incorporé dans DNA)

puis bactéries cultivées dans un milieu ^{14}N (incorporé dans DNA)



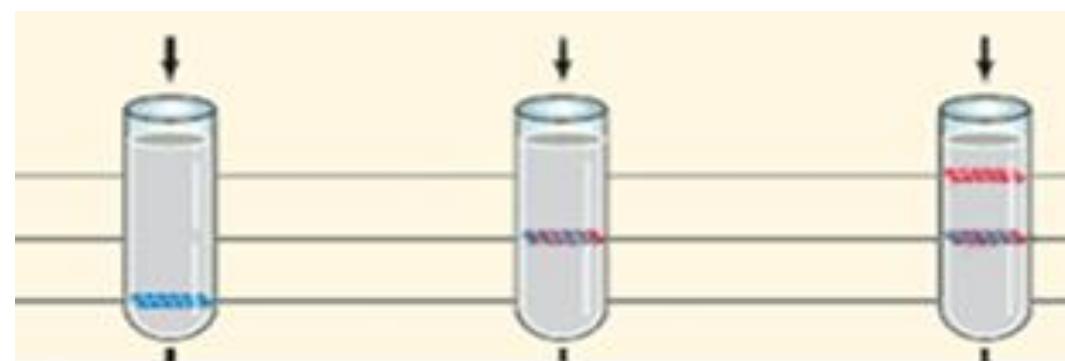
Echantillon analysé au

temps 0

20 min

40 min

Séparation du DNA
(circulaire double brin)
par ultracentrifugation
en gradient de densité



$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$
 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$

Le DNA analysé contient

2 brins ^{15}N

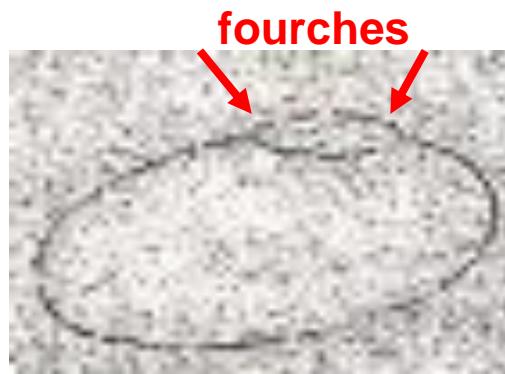
1 brin ^{15}N
1 brin ^{14}N

1 brin ^{15}N
1 brin ^{14}N

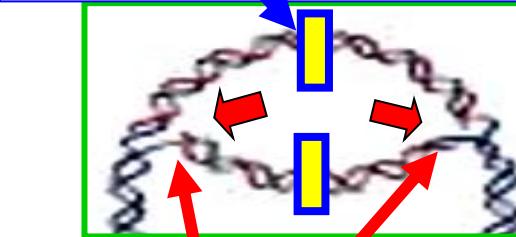
2 brins ^{14}N

La réPLICATION de l'ADN

- commence au niveau de l'Origine de RéPLICATION (ori) (chez *E. coli*, il y a une seule origine de RéPLICATION)
- est bidirectionnelle
- se produit au niveau des fourches de réPLICATION.

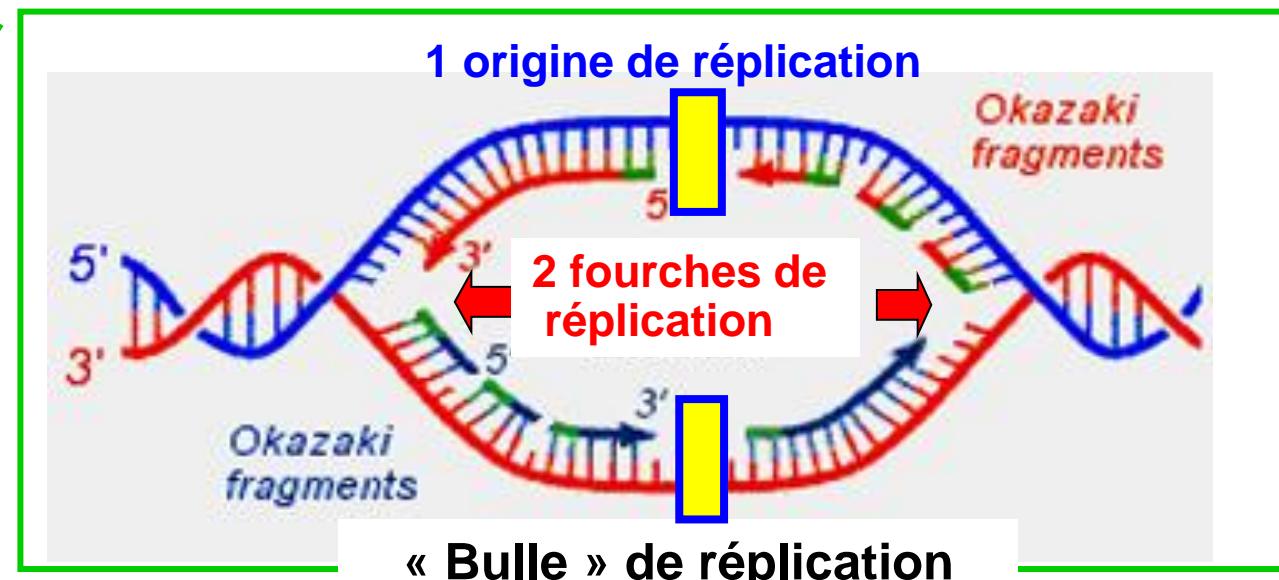


1 origine de réPLICATION



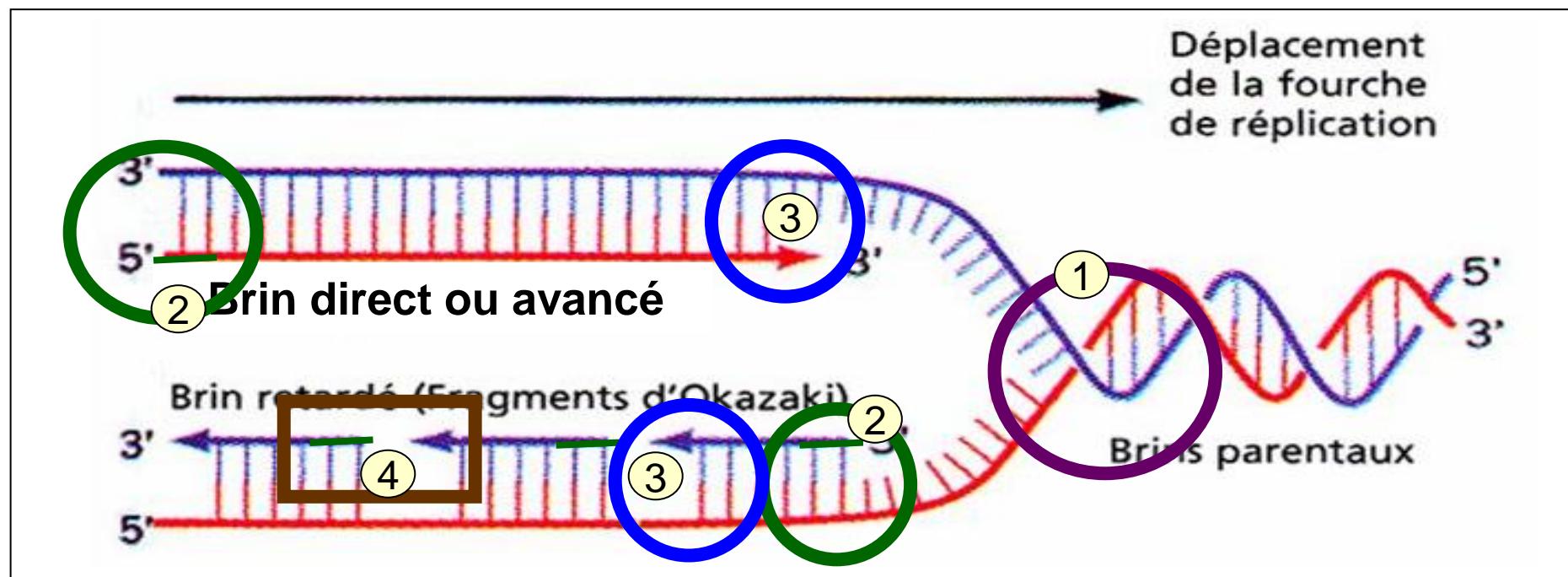
2 fourches de réPLICATION

"Bulle" et "fourches" de réPLICATION
les 2 fourches de réPLICATION sont symétriques et ont chacune un brin direct et un brin retardé
(détails sur les dias suivantes)

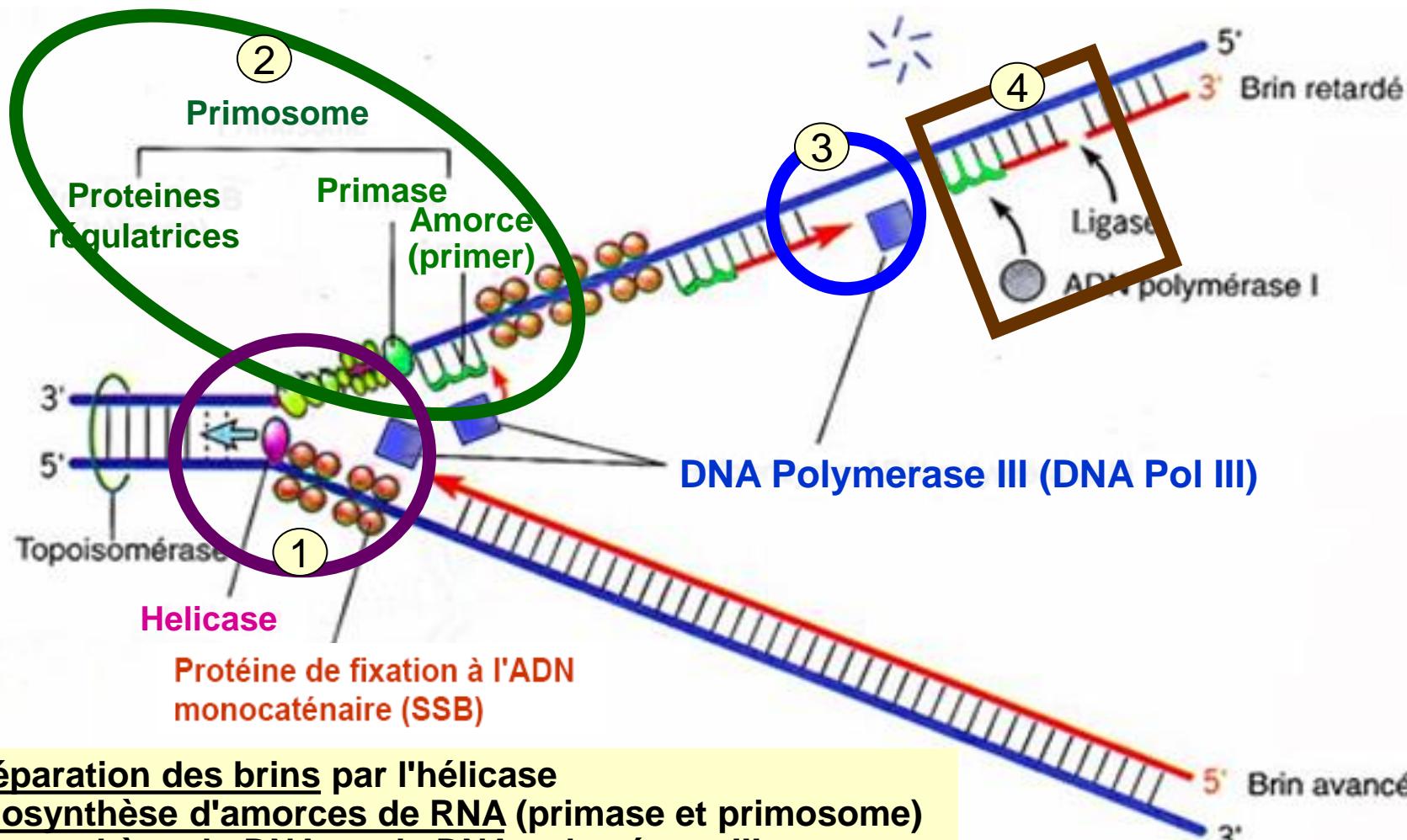


Les étapes de la réPLICATION du DNA (au niveau de la fourche de réPLICATION):

- 1/ séparation des brins par l'hélicase et détorsion de la double hélice
- 2/ biosynthèse d'amorces de RNA (primase et primosome)
- 3/ biosynthèse du DNA (élongation d'amorces dans le sens 5'-3') par la DNA polymérase. Sur le brin direct (ou avancé), synthèse orientée dans le sens d'avancée de la fourche et continue. Sur le brin retardé (ou indirect), synthèse en sens inverse et est discontinue (fragments d'Okazaki).
- 4/ finition des brins



Vue d'ensemble des acteurs moléculaires de la réPLICATION au niveau de la fourche de réPLICATION (détails sur les dias suivantes)

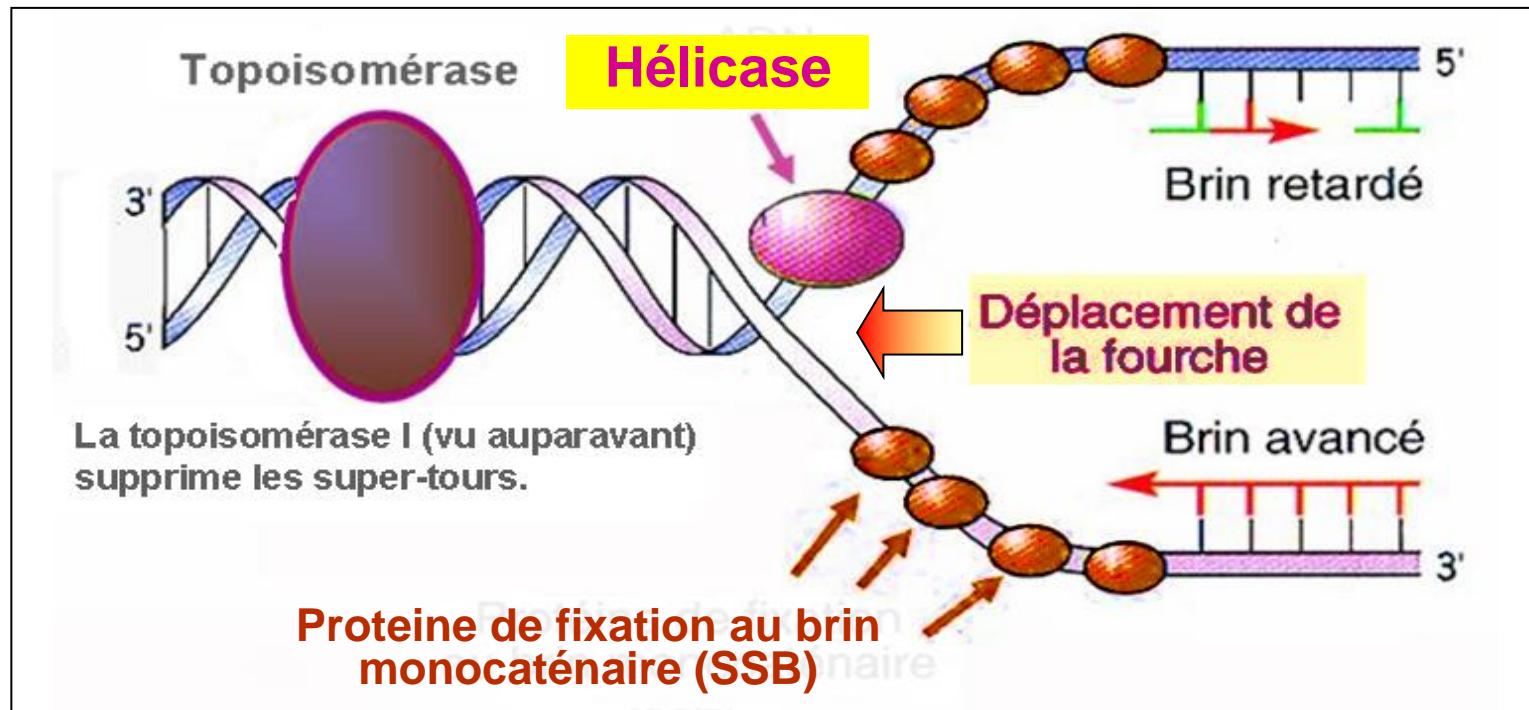


- 1) séparation des brins par l'hélicase**
- 2) biosynthèse d'amorces de RNA (primase et primosome)**
- 3) biosynthèse du DNA par la DNA polymérase III.**
- 4) finition des brins par la DNA polymérase I et ligase**

Les étapes de la réPLICATION du DNA : SéPARATION DES BRINS

1/ SéPARATION DES BRINS (chaines) DU DNA

- Lors de la réPLICATION, les DNA polymérases utilisent du DNA simple brin comme matrice: il est donc nécessaire de séparer les 2 brins du DNA parental.
- L'hélicase (ou dnaB de *E. coli*) effectue la séparation des brins et la détorsion de la double hélice
- Les protéines SSB maintiennent les brins séparés
- La topoisomérase supprime les super-tours formés par la détorsion de l'hélice.



2.6 – RéPLICATION

2.6.1 – RéPLICATION bactérienne

Les étapes de la réPLICATION du DNA : biosynthèse des primers

2/ Amorces (ou 'primers').

- Les DNA polymérases (qui synthétisent le DNA) ne sont pas capables de mettre en place le premier désoxynucléotide (et peuvent seulement allonger un polynucléotide préexistant..), donc la biosynthèse d'un nouveau brin nécessite une 'amorce' ('primer') pour la DNA polymérase.
- Biosynthèse des amorces ou 'primers' (oligonucléotide de RNA):
- les amorces sont des oligonucléotides de RNA synthétisées par la primase (une RNA polymérase DNA-dépendante) qui fait partie du primosome.
- le primosome est constitué par la primase et par les protéines régulatrices i, n, n', et n'' et dnaC



2.6 – RéPLICATION

2.6.1 – RéPLICATION bactérienne

Les étapes de la réPLICATION du DNA : **biosynthèse du DNA**

3/ Biosynthèse du DNA

La biosynthèse du DNA est catalysée par des DNA polymérases DNA-dépendantes (DNA Pol) qui :

- utilisent chaque brin (simple brin) de DNA parental comme matrice
- font l'elongation (adjonction de nucléotides) sur l'extrémité 3' d'une amorce (ou primer) ou d'un polynucléotide pré-existant.
- parcourent le brin matrice dans le sens 3'-5'
- synthétisent le nouveau brin dans le sens 5'-3' (anti-sens par rapport au brin matrice)
- mettent en place les nucléotides (par appariement d'un dXTP (ou dNTP) complémentaire d'un nucléotide du brin matrice),
- catalysent la formation des liaisons phosphodiester 3'-5' entre les nucléotides successifs,
- corrigent les erreurs de mise en place des nucléotides ("proof-reading" ou "lecture-correction" des erreurs immédiates). (voir détails dans diapos suivantes)

Chez E. coli, 2 DNA polymérases principales interviennent: la DNA polymérase III pour la réPLICATION du DNA et la DNA polymérase I pour la finition des brins et pour la réparation du DNA.

2.6 – RéPLICATION

2.6.1 – RéPLICATION bactérienne

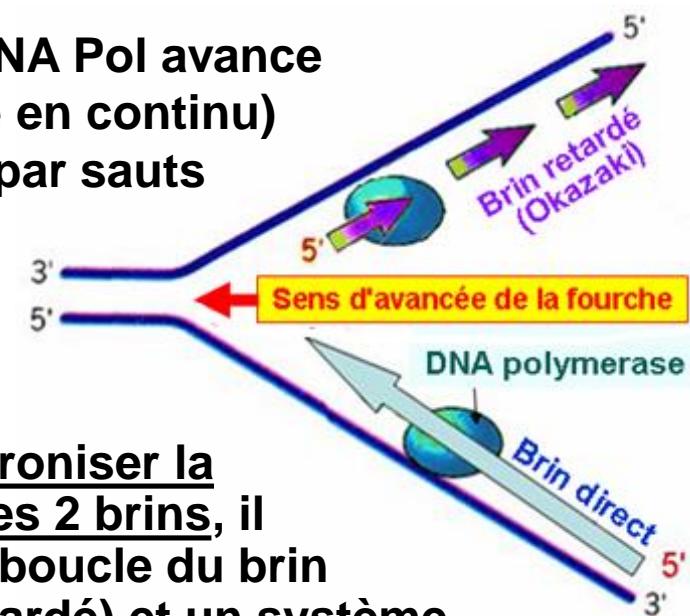
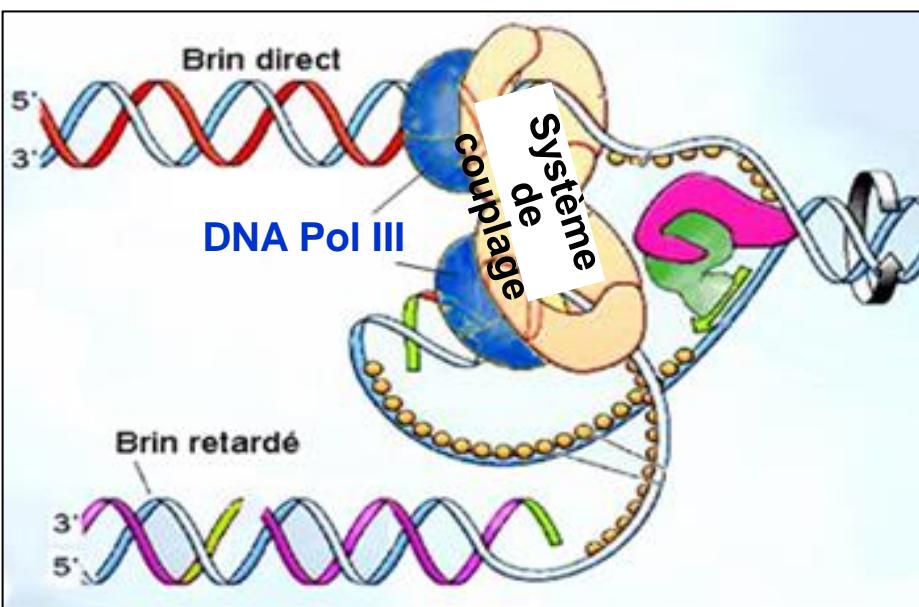
Les étapes de la réPLICATION du DNA : biosynthèse du DNA

Coordination de l'avancée des DNA Pol sur les deux brins du DNA.

Les DNA polymérase DNA-dépendantes (DNA Pol) parcourent chaque brin matrice dans le sens 3'-5'. Comme les brins du DNA parental sont antiparallèles, elles avancent en sens inverse sur les 2 brins matrice.

Par rapport à l'avancée de la fourche de réPLICATION, DNA Pol avance

- dans le même sens sur le brin direct (et donc avance en continu)
- en sens inverse sur le brin retardé (et procède donc par sauts en arrière pour synthétiser les nouveaux fragments d'Okazaki)



Pour synchroniser la synthèse des 2 brins, il existe une boucle du brin matrice (retardé) et un système de couplage qui permet aux 2 molécules de DNA Pol III d'avancer dans le même sens (la boucle du DNA permettant d'inverser l'orientation de la partie matrice du brin retardé).

2.6 – RéPLICATION

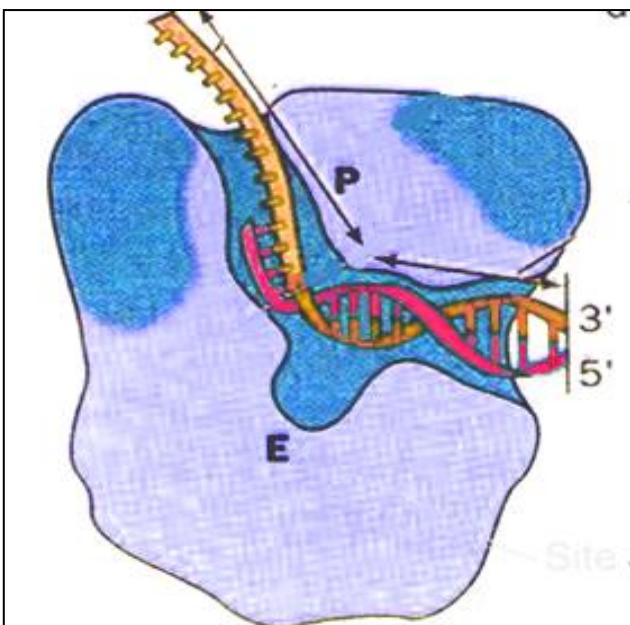
2.6.1 – RéPLICATION bactérienne

Les étapes de la réPLICATION du DNA : biosynthèse du DNA

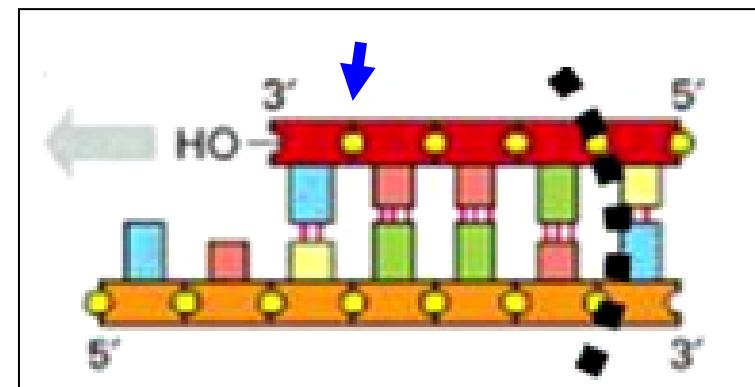
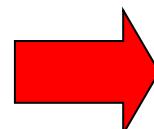
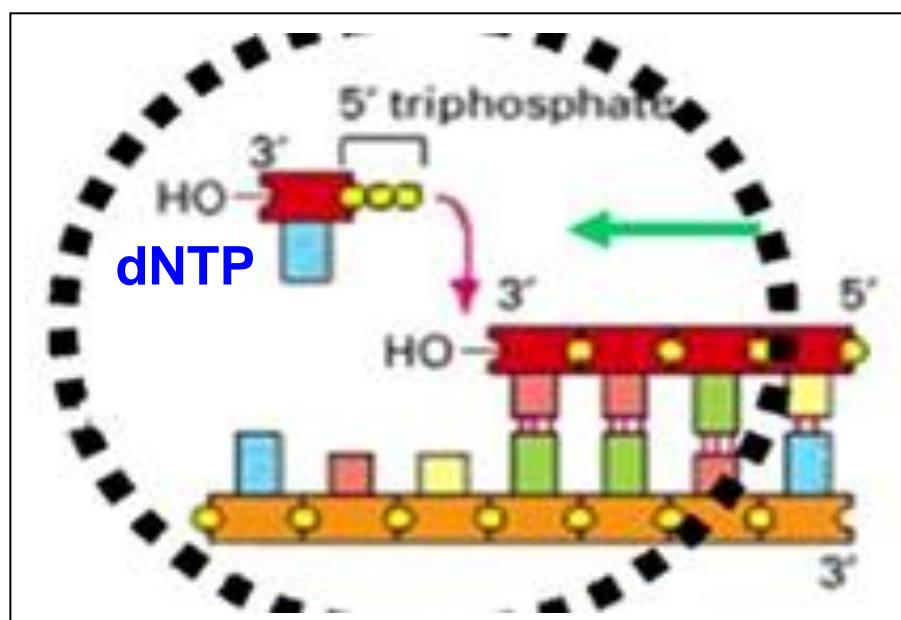
Le DNA est synthétisé par des DNA polymérases qui :

- apparient les nucléotides dNTP avec un nucléotide complémentaire du brin matrice) (AT et GC)
- synthétisent les liaisons phosphodiester 3'-5' entre les nucléotides (entre le 3' OH du dR amont avec le 5' OH du dR suivant)

Chez E. coli, la DNA polymérase III fait la réPLICATION du DNA et la DNA polymérase I la finition des brins.



DNA polymérase III



2.6 – RéPLICATION

2.6.1 – RéPLICATION bactérienne

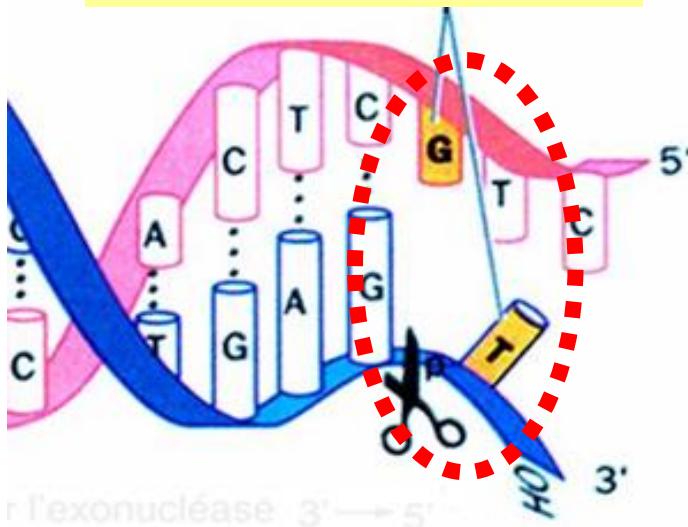
Les étapes de la réPLICATION du DNA: "proof-reading" des DNA polymérases

Les DNA polymérases font des "erreurs" (10^{-4}) d'appariement des nucléotides (par exemple à cause des formes tautomères mineures)

Elles peuvent corriger ces erreurs par leur fonction "proof-reading" (ou "lecture-correction" des erreurs immédiates).

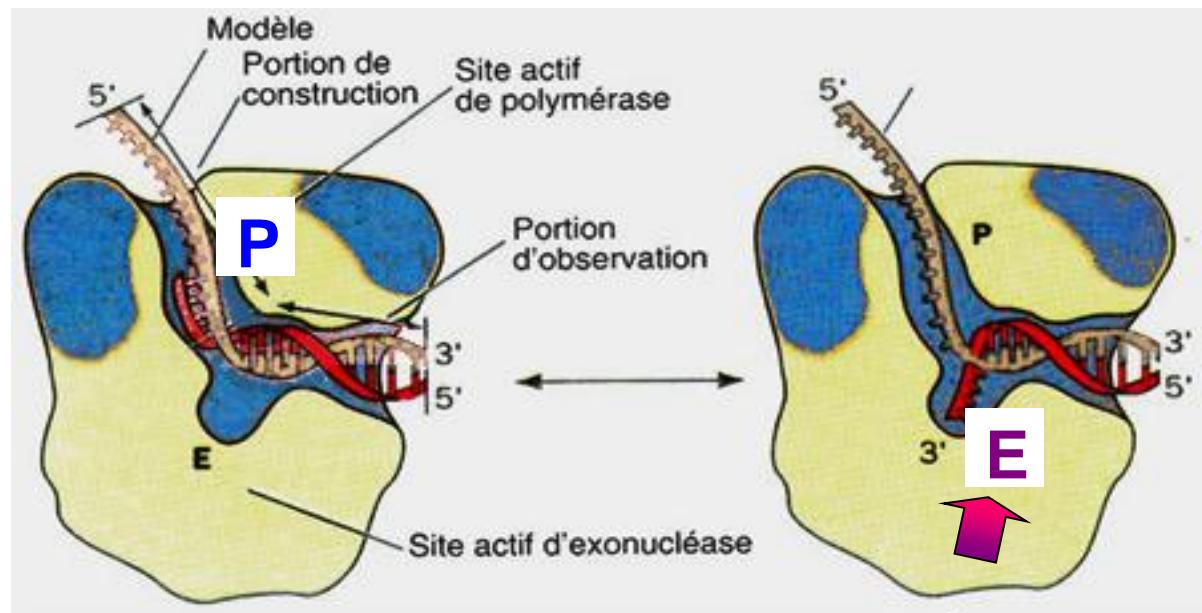
La fonction exonucléase 3'-5' est nécessaire.

Bases mal appariées



Coupure de la base mal appariée par l'exonucléase 3'-5'

Sites actifs des fonctions polymérase (P) et exonucléase 3'-5' (E) de la DNA-polymérase

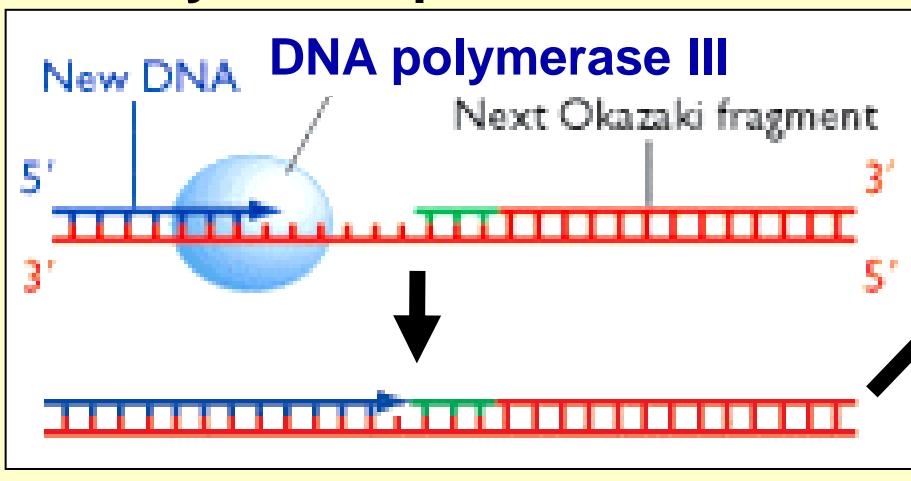


Les étapes de la réPLICATION du DNA: finition des brins

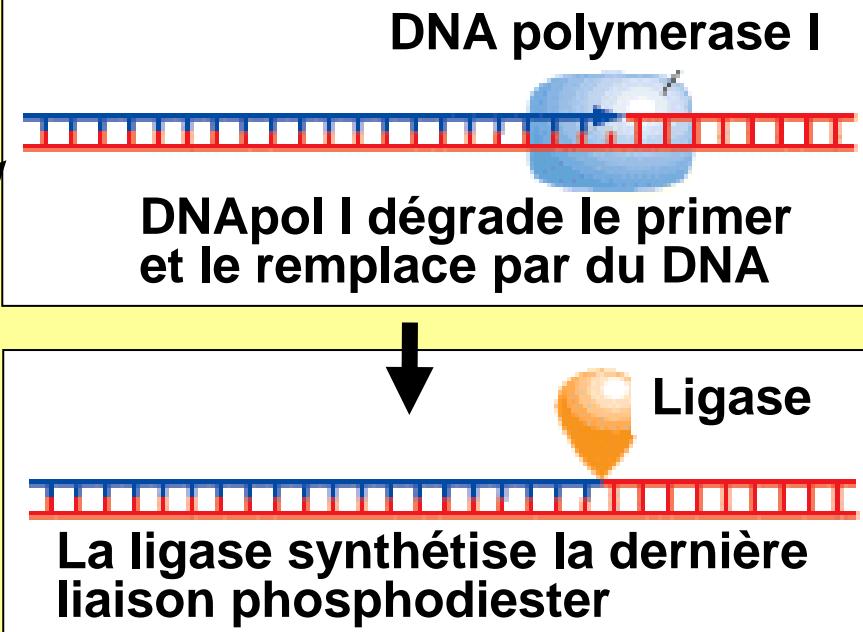
4/ Finition des brins = assemblage des fragments d'Okazaki.

- arrêt de la DNA-polymérase III au contact du fragment d'Okazaki
- fixation de la DNA-polymérase I qui dégrade le primer grâce à sa fonction exonucléase 5'-3' et le remplace par du DNA (grâce à sa fonction polymérase).
- une ligase synthétise la dernière liaison entre le DNA synthétisé par la DNA-Pol I et le DNA du fragment d'Okazaki.

Biosynthèse par DNAPol III



Finition par DNAPol I et ligase



2.6 – RéPLICATION

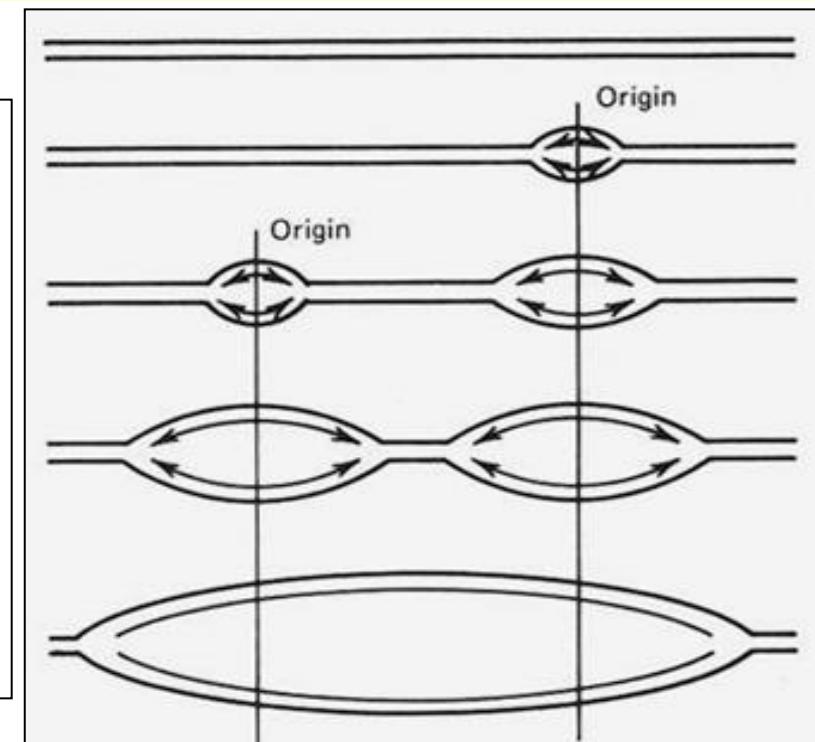
2.6.2 - RéPLICATION DES EUKARYOTES (quelques particularités)

2.6.2.1 - RéPLICATION DU DNA NUCLÉAIRE

Globalement, on peut considérer que la réPLICATION DU DNA DES CELLULES EUKARYOTES ressemble à celle des cellules procaryotes. Mais on peut noter des différences:

- il y a plusieurs types de génomes dans les cellules eucaryotes (nucléaire, mitochondrial et parfois chloroplastique), donc plusieurs types de réPLICATION...
- le génome nucléaire eucaryote a des particularités. Nous allons voir 2 exemples,
 - la grande taille du DNA influe sur la durée de la réPLICATION...
 - le DNA linéaire pose un problème de réPLICATION DES EXTRÉMITÉS.

La grande taille du DNA du génome nucléaire (eucaryote) influe sur la durée de la réPLICATION. Etant donné la vitesse des DNA Pol, une seule origine de réPLICATION induirait une durée de réPLICATION trop longue, non compatible avec la vie de la cellule. Un grand nombre d'origines de réPLICATION fonctionnent en même temps sur chaque chromosome (afin de répliquer tout le DNA dans un temps compatible avec la biologie de la cellule)



2.6 – RéPLICATION

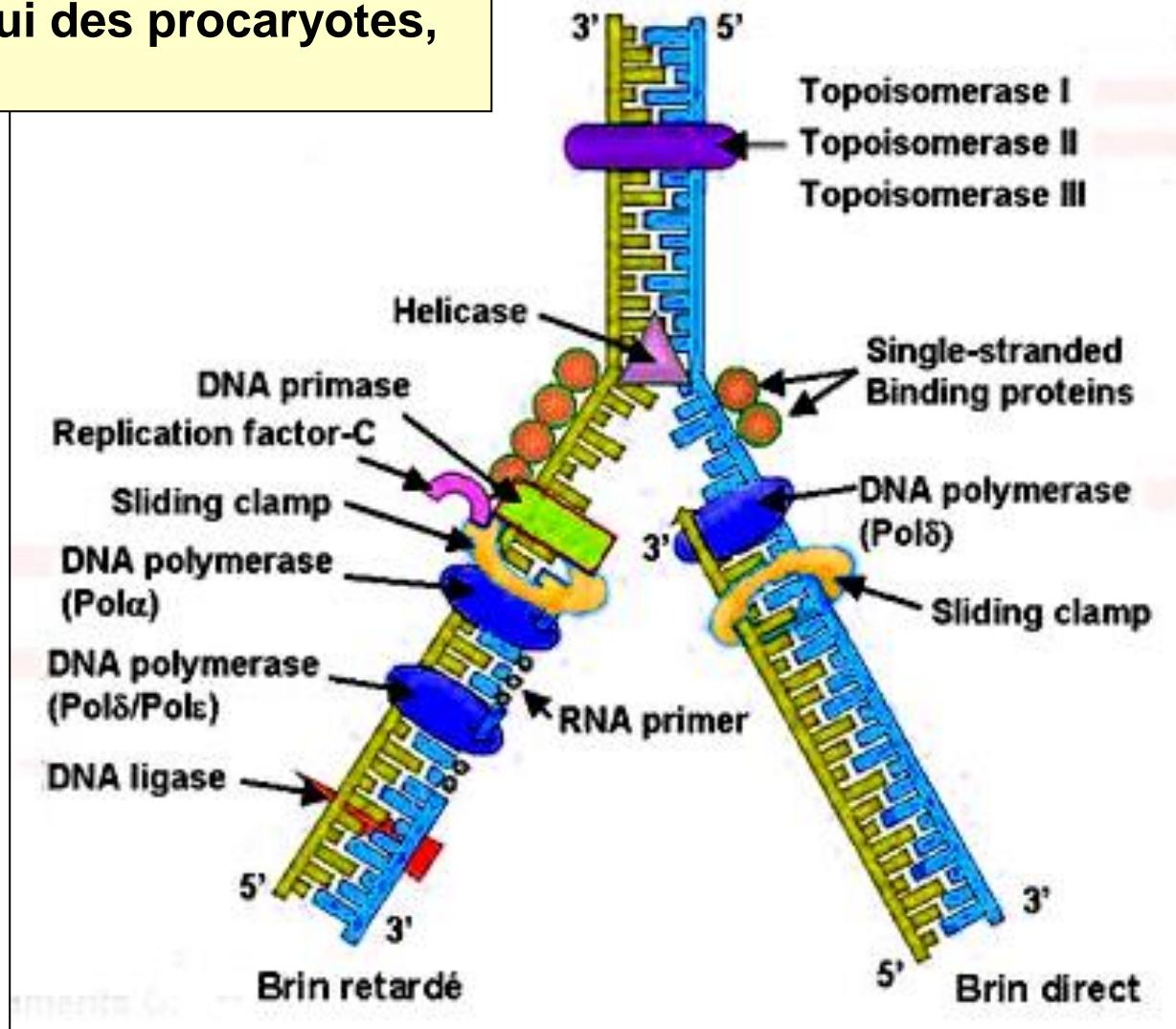
2.6.2 – RéPLICATION des eucaryotes

2.6.2.1 - RéPLICATION du DNA nucléaire

Le mécanisme de réPLICATION du DNA nucléaire (eucaryote) ressemble à celui des procaryotes, mais en plus complexe...

Fourche et acteurs de la replication :

- hélicase, SSB et topoisomérasées
- primosome et primers
- **2 polymérases α et δ** (voir diapo suivante)
- brin direct et retardé

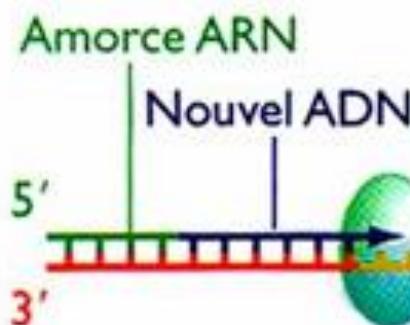


2.6 – RéPLICATION

2.6.2 – RéPLICATION des eucaryotes

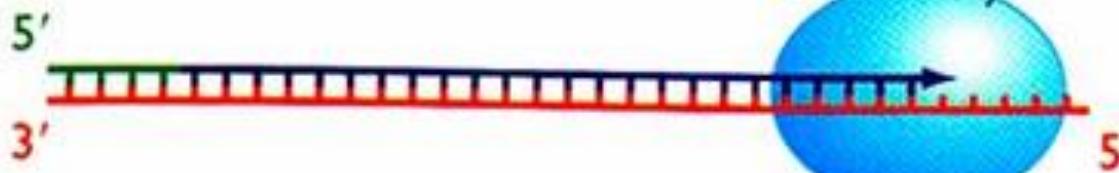
2.6.2.1 - RéPLICATION du DNA nucléaire

Plusieurs **DNA polymérases** interviennent (plus d'une quinzaine de DNAPol eucaryotes sont connues)



La DNA polymérase α est un tétramère qui contient 2 sous-unités de fonction primase (RNAPol DNA-dépendante) qui synthétisent le primer (RNA), et une DNAPol (lente) qui débute la synthèse du DNA.

La DNA polymérases δ (plus rapide) continue la synthèse du DNA



2.6 – RéPLICATION

2.6.2 – RéPLICATION DES EUKARYOTES

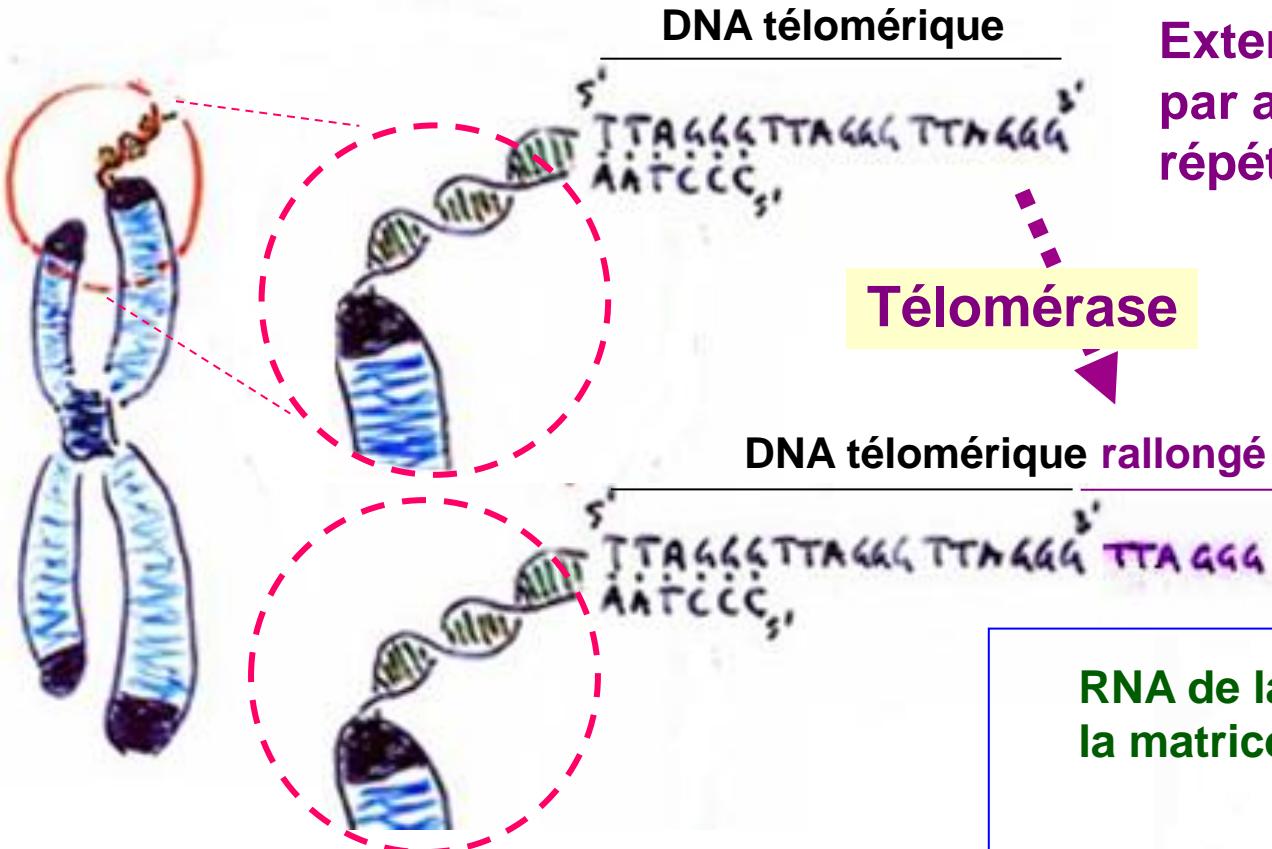
2.6.2.1 - RéPLICATION DU DNA NUCLÉAIRE

Télomères et télomérase

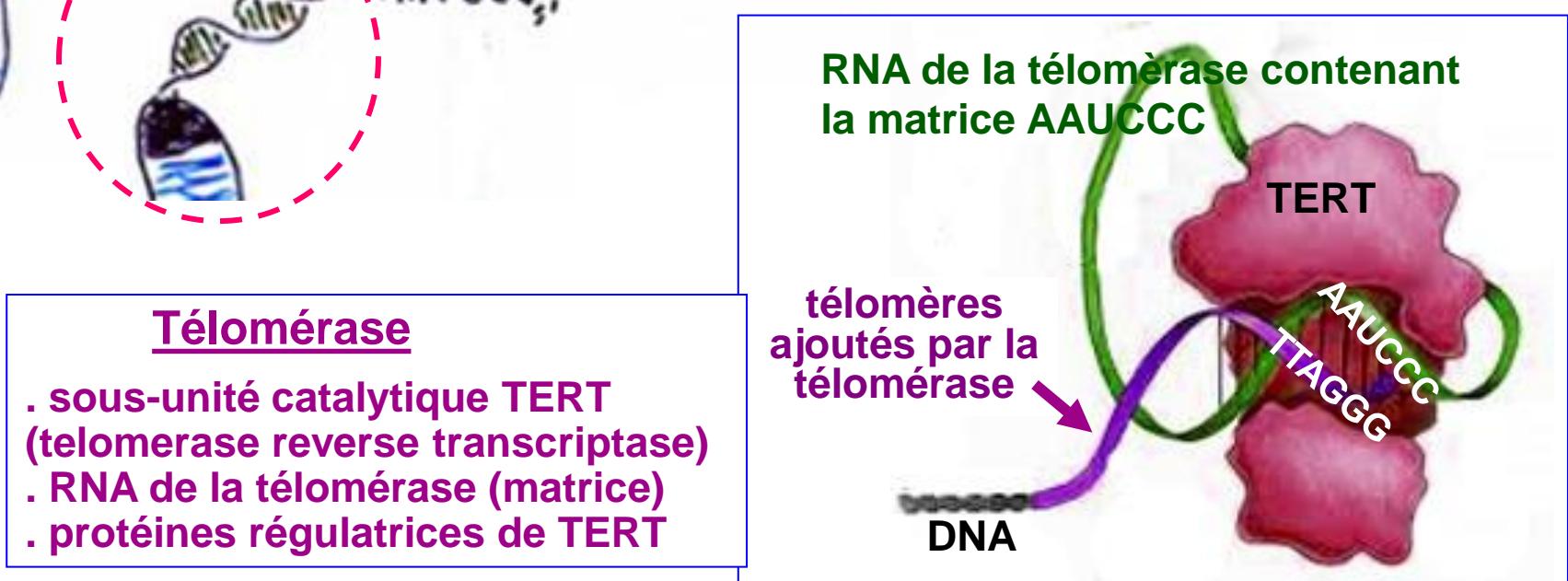
- A chaque replication du DNA eucaryote, les extrémités des chromosomes (linéaires) sont raccourcies, car une partie du DNA n'est pas recopiée (du coté 5').
- Les chromosomes linéaires des eucaryotes ont des extrémités qui sont terminées par des télomères (séquences d'hexanucléotides TTAGGG de DNA répétées un grand nombre de fois; la taille des télomères varie de 3 kb à 20 kb, chez l'homme)
- Les télomères sont synthétisés par la télomérase.
- Les télomères portent des protéines qui protègent l'extrémité des chromosomes.
- Le raccourcissement des télomères est associé à un ralentissement de la prolifération cellulaire et une tendance à l'apoptose.

- La télomérase (complexe ribonucléoprotéique), est constituée par :
 - un RNA (dont une partie sert de matrice pour la télomérase)
 - une sous-unité catalytique, **TERT (Telomérase Reverse Transcriptase)**
 - des protéines régulatrices.
- Chez l'homme, la télomérase est normalement exprimée dans les cellules germinales, les cellules embryonnaires, les cellules souches et certaines cellules sanguines. Normalement, elle est réprimée dans les cellules différenciées.
- La télomérase est souvent réexprimée dans les cellules cancéreuses
- La télomérase active confère un potentiel de multiplication illimité et une résistance à l'apoptose.

Télomères et télomérases



Extension du DNA telomérique par addition d'hexanucléotides répétés par la télomérase



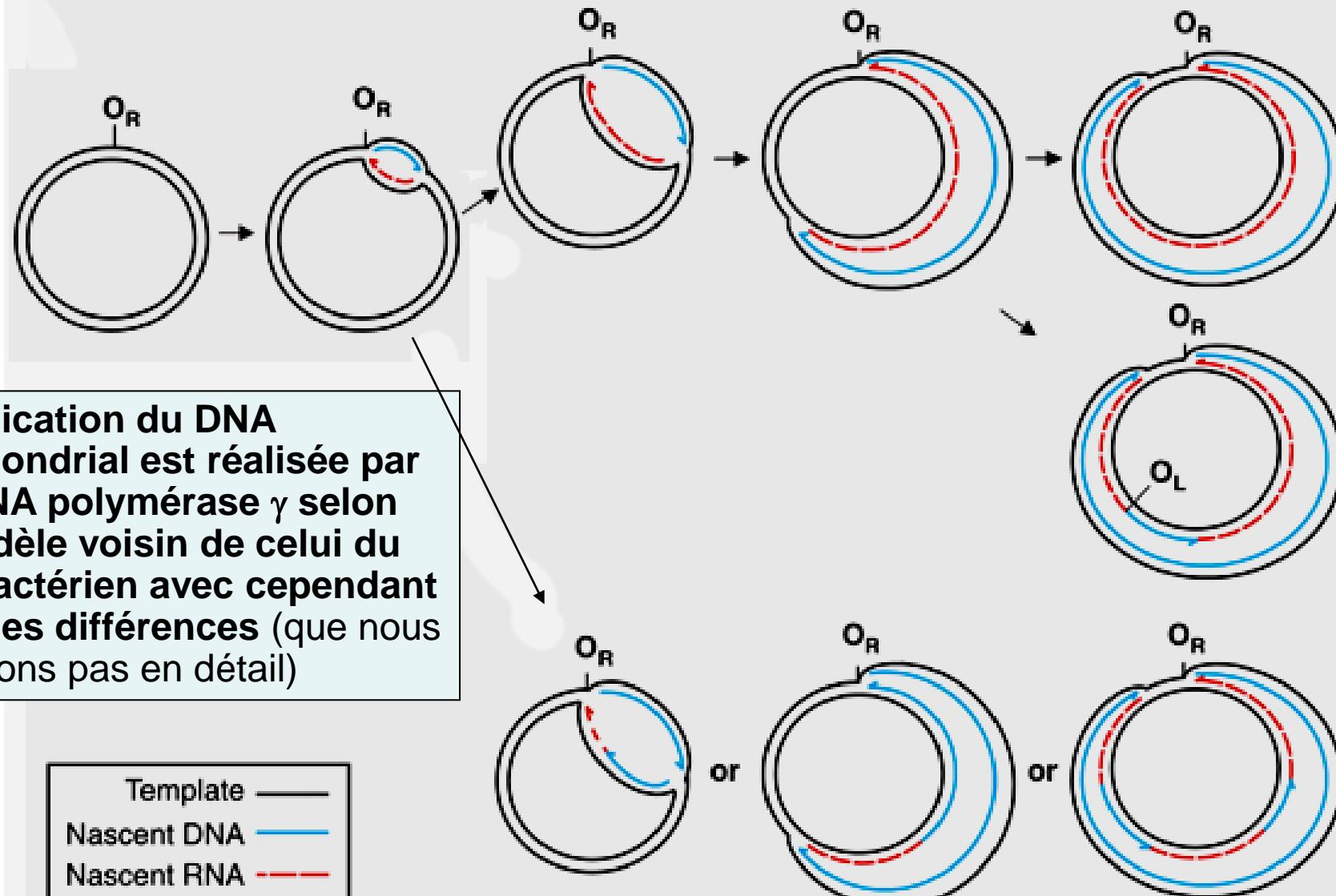
Télomérase

- sous-unité catalytique TERT (telomerase reverse transcriptase)
- RNA de la télomérase (matrice)
- protéines régulatrices de TERT

2.6 – RéPLICATION

2.6.2 – RéPLICATION des eucaryotes

2.6.2.2 - RéPLICATION du DNA mitochondrial



2 - DNA

2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques des altérations du DNA

2.7.2 et 2.7.3 - Conséquences structurales et fonctionnelles altérations et modifications.. mutations, délétions, insertions..

2.7.4 - Les systèmes de protection (contre les altérations du DNA)

- Systèmes de prévention (prévenant les altérations)
- Systèmes de correction (corrigeant les altérations)

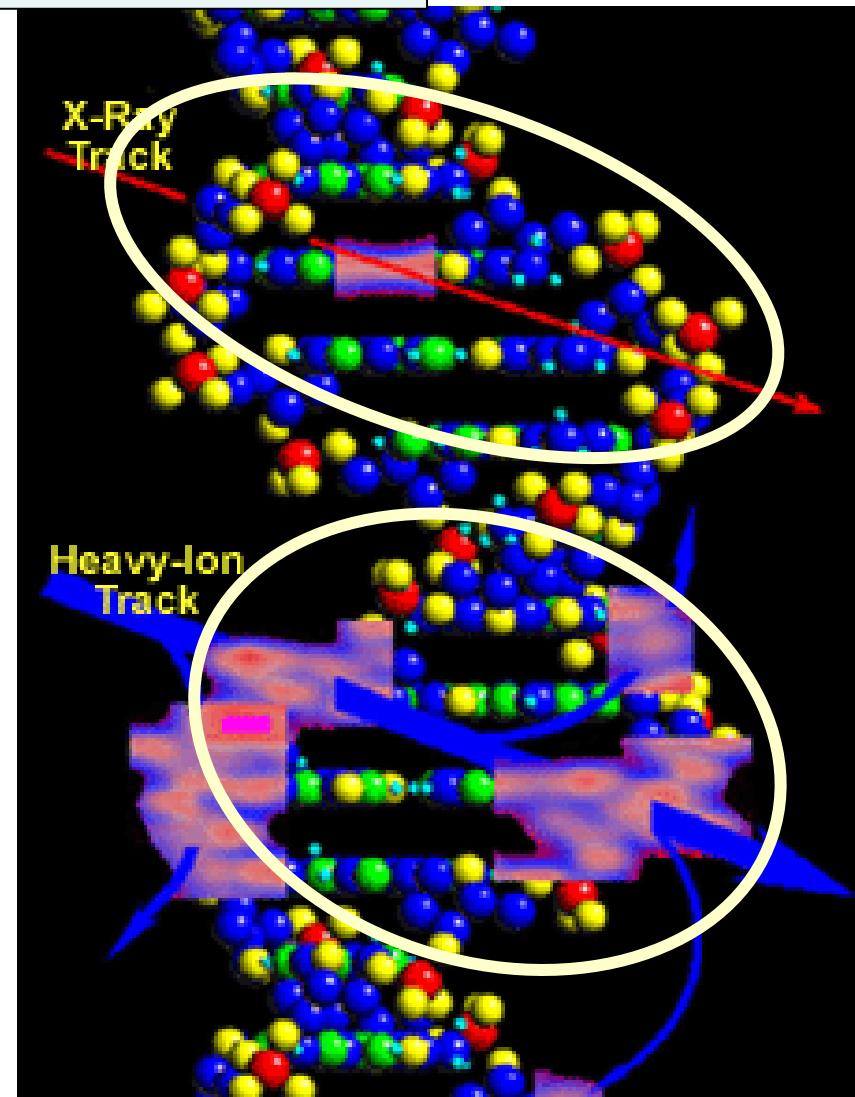
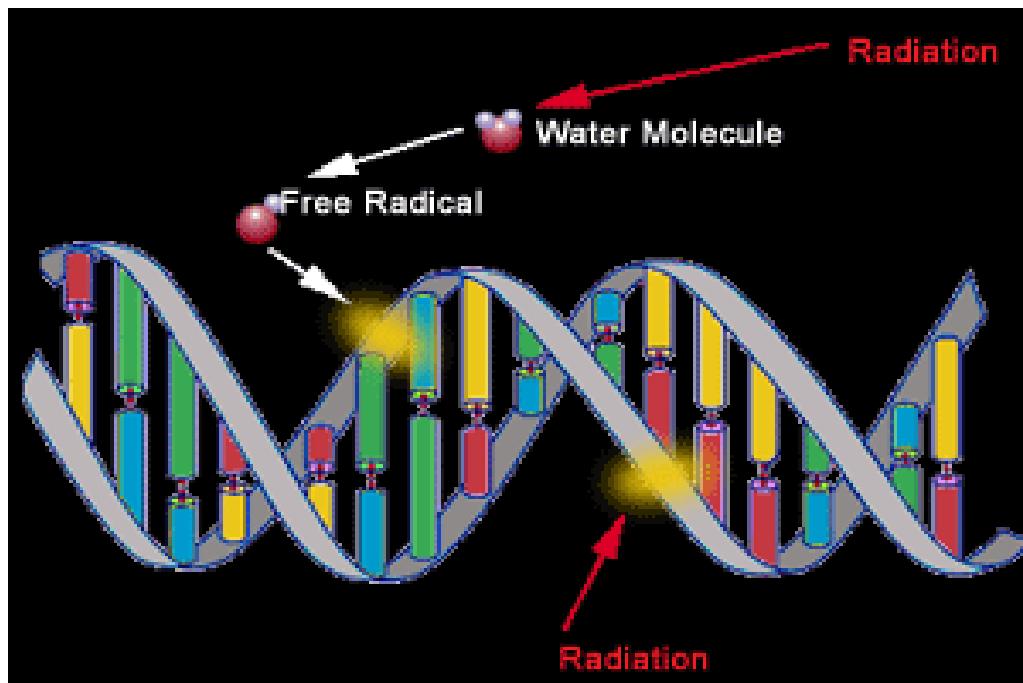
2.7 - Altérasions et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

2.7.1.1 – Exemples de mécanismes physiques

Radiations ionisantes

- . Effets directs : cassures par "choc" des radiations sur des atomes du DNA
- . Effets indirects: radiolyse de l'eau → radicaux oxydants → oxydation DNA

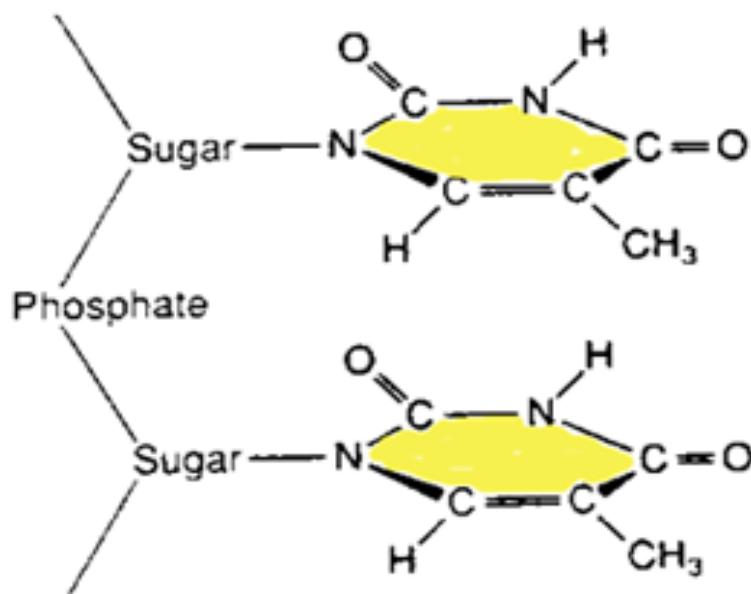


2.7 - Altérations et réparation du DNA

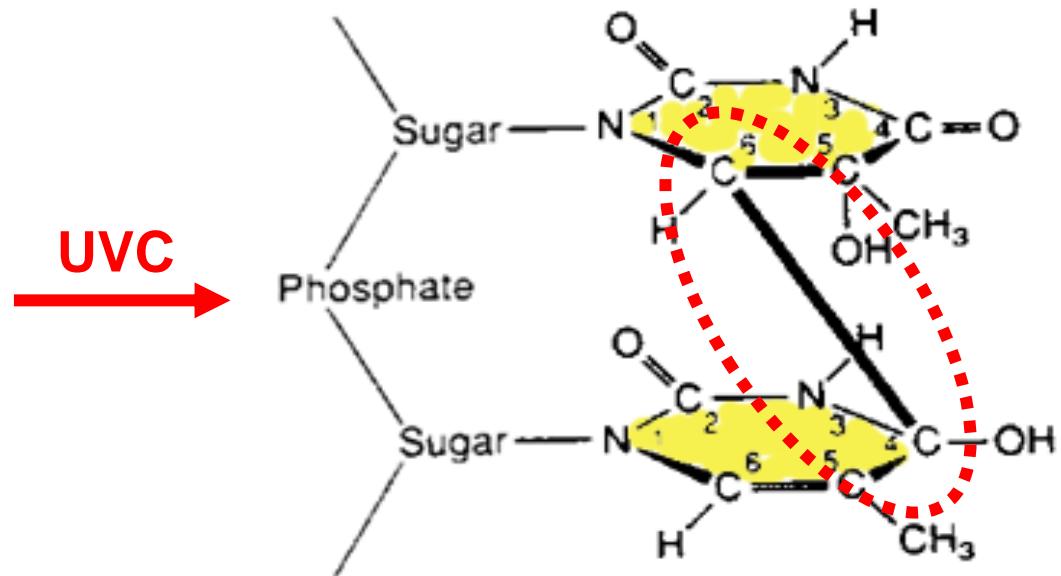
2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

2.7.1.1 – Exemples de mécanismes physiques

. Les UV (UVC) peuvent induire la formation de liaisons covalentes entre deux pyrimidines consécutives (en particulier deux thymine consécutives peuvent se lier au niveau des cycles pyrimidine pour former un dimère de thymine)



deux thymines consécutives



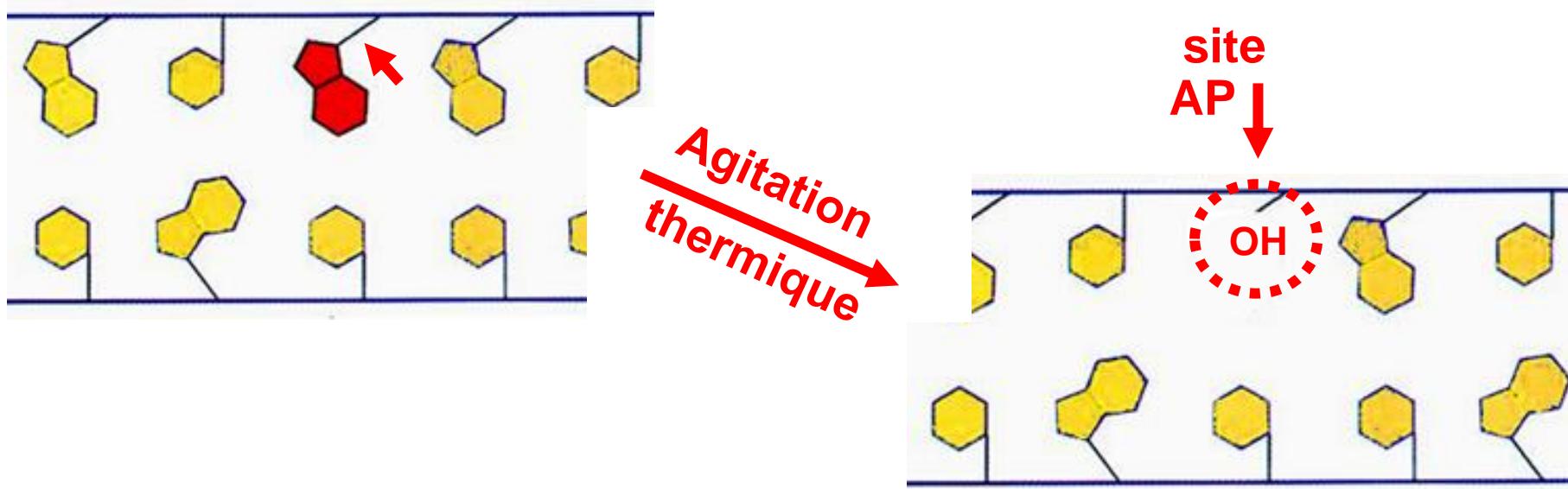
dimère de thymine

2.7 - Altérasions et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

2.7.1.1 – Exemples de mécanismes physiques

. La Chaleur (agitation thermique) peut provoquer la rupture d'une liaison N-osidique, donc la perte d'une base, ce qui aboutit à la formation d'un site AP (site apurinique ou apyrimidinique)



2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

2.7.1.2 – Exemples de mécanismes chimiques

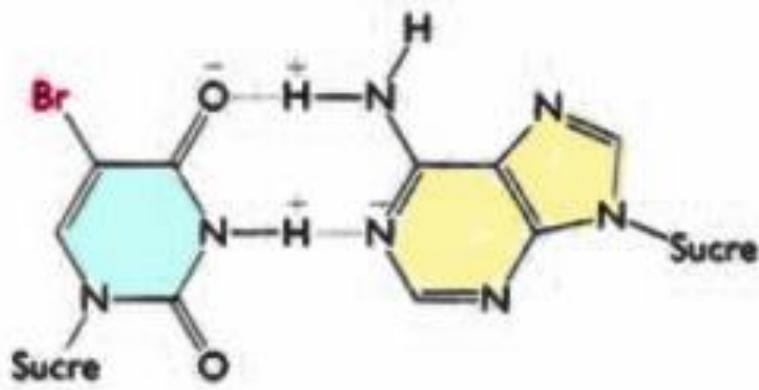
- . **Analogues de bases** - 5BrU mutagène → mutations ponctuelles
(tautomères mineurs fréquents → misappariements)
- . **Oxydants** → altérations des bases, cassures ...
- . **Agents désaminants** - acide nitreux → mutagène
- . **Agents alkylants** → mutations ponctuelles
- . **Agents intercalants** - Bromure d'éthidium (fluorescent intercalant)
→ base supplémentaire : insertion

2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

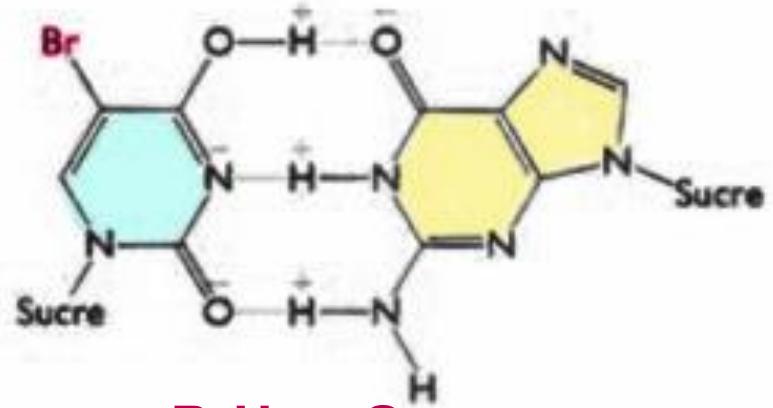
2.7.1.2 – Exemples de mécanismes chimiques

BrU (5-bromo-uracile) est un analogue de la thymine qui présente une plus grande fréquence de tautomères mineurs (et donc augmente le risque de misappariement)



BrU ... A

Appariement normal
(~ 99 %)



BrU ... G

misappariements (~ 1 %)
→ mutation

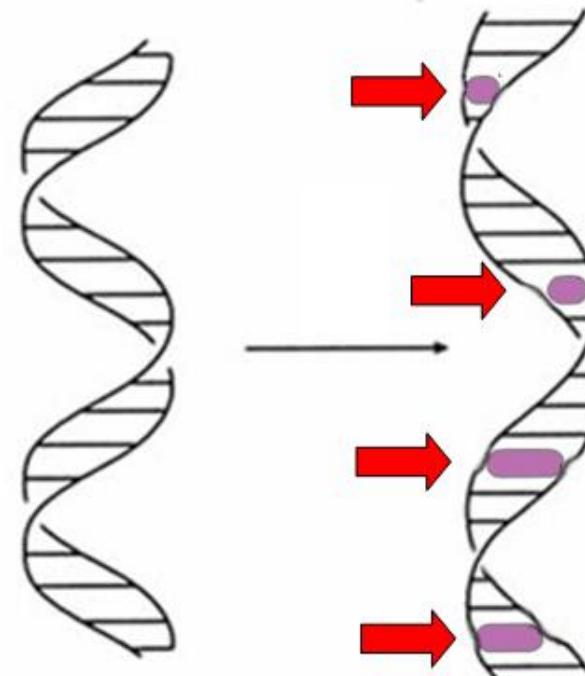
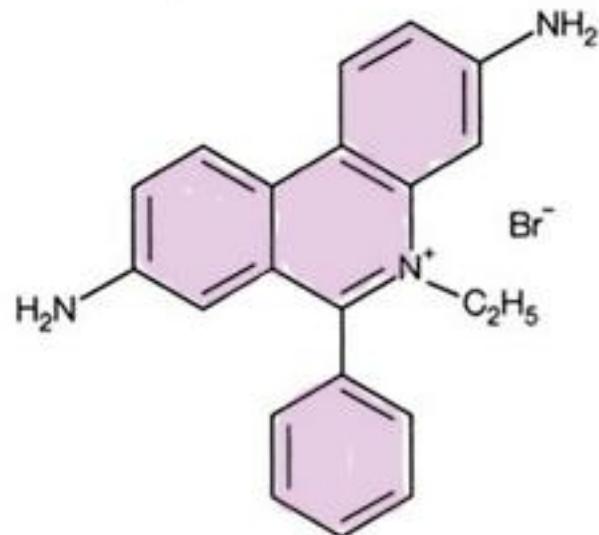
2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques

2.7.1.2 – Exemples de mécanismes chimiques

Bromure d'éthidium

agent intercalaire et fluorescent
(utilisé pour visualiser le DNA)



Effet mutagène → par exemple, additions de nucléotides lors de la replication

2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.2 - Conséquences structurales sur le génome

2.7.3 - Conséquences fonctionnelles (effets biologiques)

2.7.1 - Mécanismes physiques et chimiques des altérations du DNA

2.7.2 - Conséquences structurales sur le génome

- . Altérations de 1 ou quelques nucléotides (bases)
 - mutations ponctuelles, insertions, délétions, répétitions..
- . Altérations de grande taille (bases)
 - inversions, délétions, insertions, duplications
 - anomalie majeures des chromosomes (délétions partielles, cassures chromosomiques, translocations, cyclisation...)

2.7.3 - Conséquences fonctionnelles (effets biologiques)

- . sur le plan moléculaire
 - silencieux (pas d'effet apparent)
 - variations qualitatives (faux sens, non sens) ou quantitatives
 - . sur le plan phénotypique
 - (le plus) souvent délétère : létalité, morbidité...
 - parfois (rarement) avantageux
- ex. mutation de CCR5 → résistance à infection par HIV.

2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.4 – Les systèmes de protection

(contre les altérations du DNA)

Les altérations du DNA étant souvent défavorables (et plus rarement avantageuses), des systèmes de protection ont été sélectionnés au cours de l'évolution pour lutter contre ces altérations : on distingue systèmes de prévention et systèmes de correction (ou réparation).

2.7.4.1 - Systèmes de prévention

Plusieurs systèmes de prévention tentent de prévenir les altérations du DNA; par exemple,

- pendant la réPLICATION: 'proof reading'
- après la réPLICATION: systèmes destinés à capter ou inactiver les agents chimiques génotoxiques.
- . Antioxydants : vitamines E et C..
- . Systèmes antioxydants : superoxyde dismutases, catalase, glutathion peroxydase..
- . 'Piégeurs' ou 'modificateurs' d'agents génotoxiques..

2.7.4.2 - Systèmes de correction (ou réparation)

2.7 - Altérations et réparation du DNA

2.7.4 – Les systèmes de protection

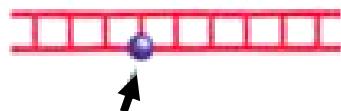
(contre les altérations du DNA)

2.7.4.2 - Systèmes de correction (ou réparation)

Il existe plusieurs mécanismes visant à éliminer les 'anomalies' du DNA.
Certaines altérations sont détectées et réparables, d'autres non.

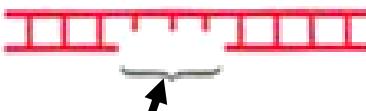
- exemple de systèmes de réparations (en 2 phases)
 - . phase primaire de reconnaissance de l'anomalie
(systèmes de détection spécialisés des anomalies)
 - . phase secondaire de réparation
(système de réparation général).

Phase primaire
Détection de l'anomalie

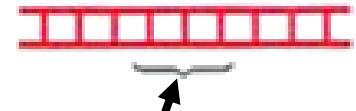


Nucléotide endommagé

Phase secondaire
Réparation



Segment excisé

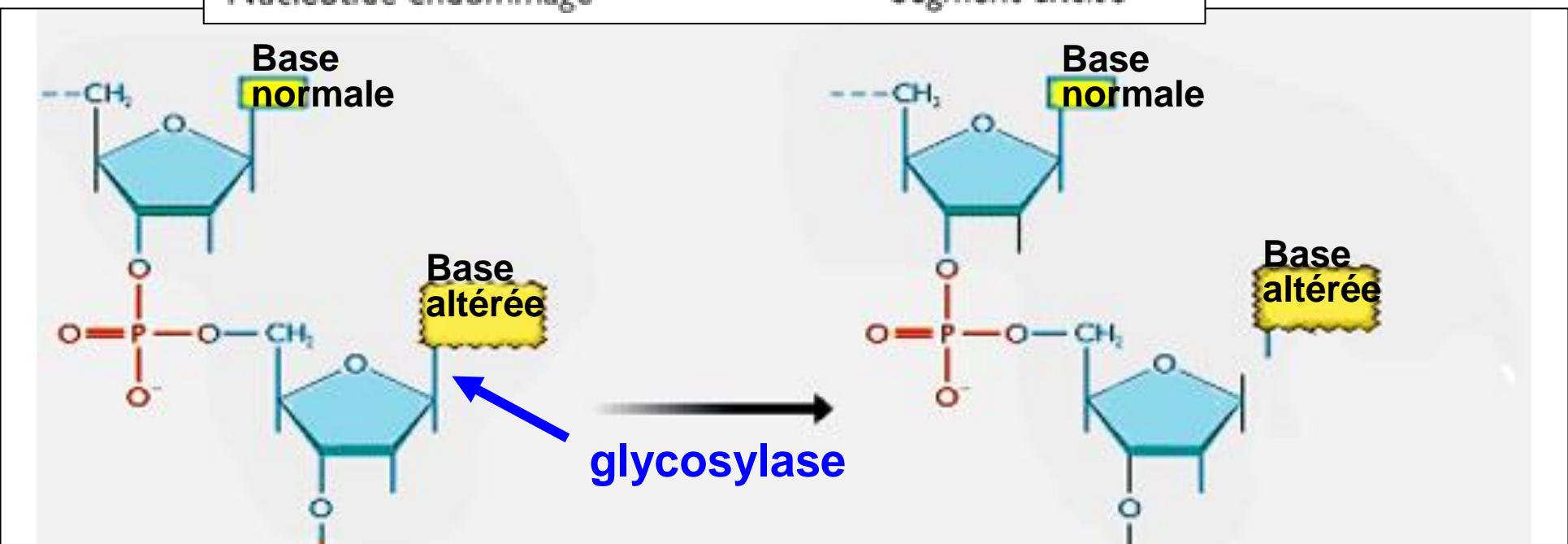


Réparation

2.7.4 - Les systèmes de protection (contre les altérations du DNA)

2.7.4.2 - Systèmes de correction (ou réparation)

- - Exemple de mécanisme d'excision des bases anormales par une glycosylase (→ site AP)



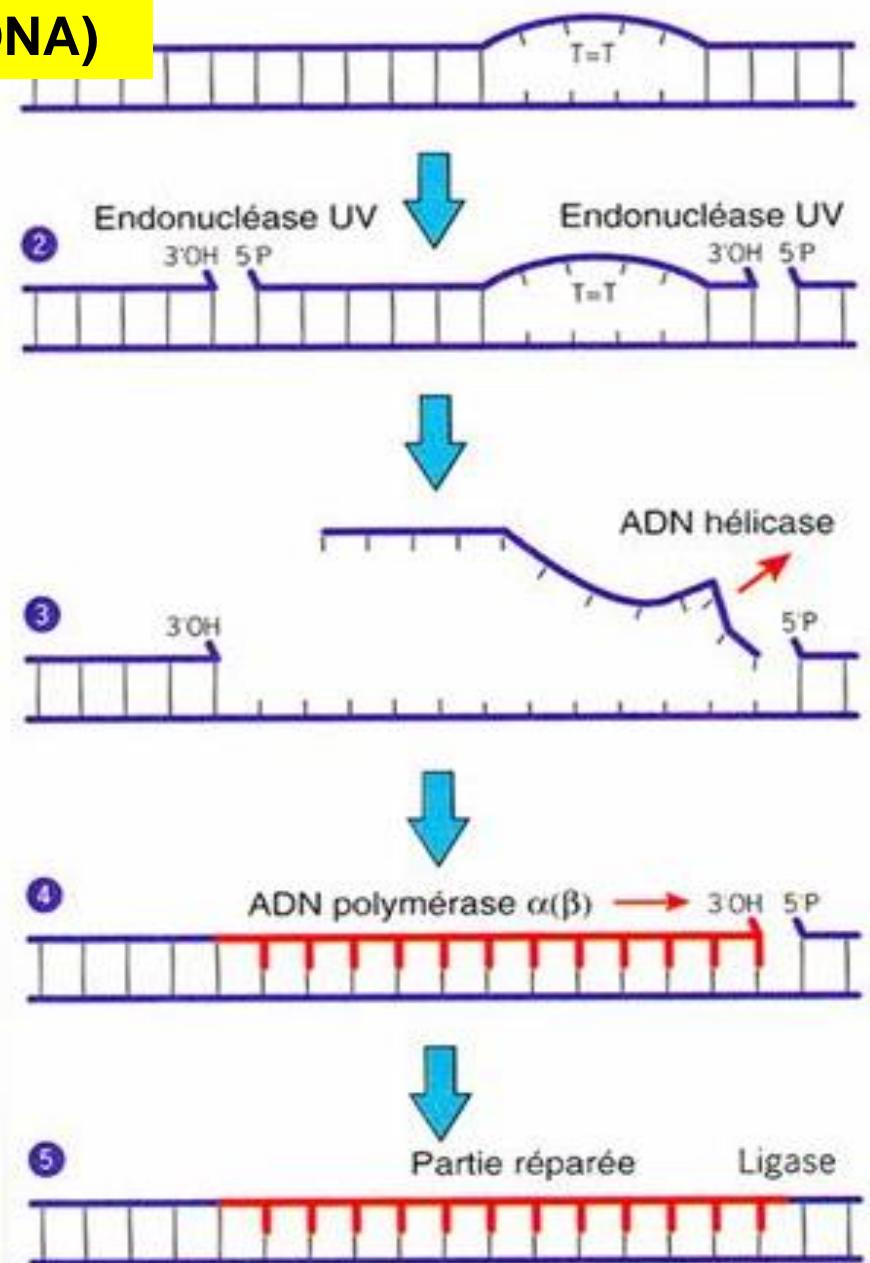
La liaison N-osidique de la base altérée est clivée par la glycosylase → site AP

2.7.4 - Les systèmes de protection (contre les altérations du DNA)

2.7.4.2 - Systèmes de réparation

- - Etapes de la réparation des dimères de thymine

- coupure simple brin du DNA encadrant le dimère de thymine
- excision du segment de DNA contenant le dimère de thymine
- réparation par copie du brin matrice (non coupé)
- finition (rétablissement de la continuité) par une ligase



2 – DNA

2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.1 - Recombinaisons

2.8.2 - Séquences/Eléments Génétiques Mobiles (ou Eléments transposables) et mécanismes de Transposition

2.8.2.1 - Généralités

2.8.2.1 - Plasmides

2.8.2.2 - Phages, phage lysogènes (et virus)

2.8.2.3 - Transposons *, retro-transposons (et autres retro-elements)

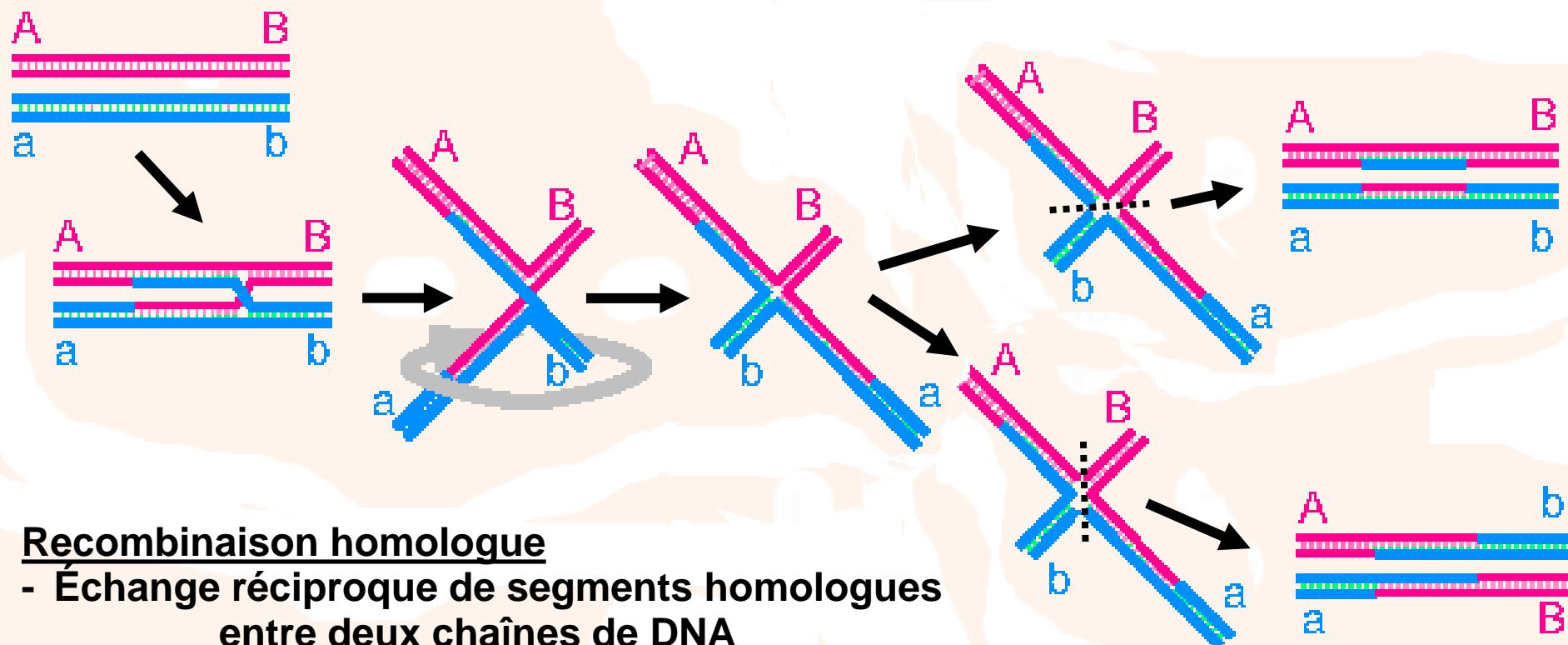
* Remarque : pb de définition des Transposons

- soit (synonyme) d'élément génétique mobile
- soit (sens plus restreint) élément génétique mobile se transposant (avec ou sans duplication) et dans une cellule sans passer à l'état libre (contrairement aux plasmides et virus).

2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.1 - Recombinaisons

Mécanisme général des recombinaisons



Recombinaison homologue

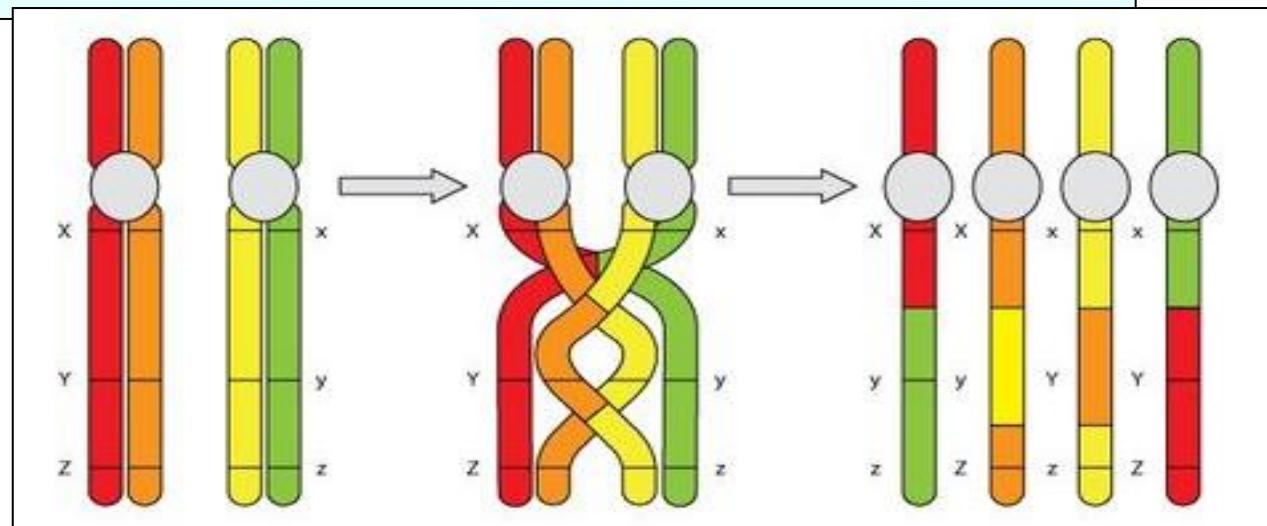
- Échange réciproque de segments homologues entre deux chaînes de DNA
- appariement partiel entre les deux chaînes homologues (hétéroduplex)
- structure en X de Holliday (qui peut être clivé de plusieurs façons donnant des DNA recombinés différents)
- coupure identique ou différente
- existe chez les bactéries et les eucaryotes

2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.1 - Recombinaisons

Recombinaisons chez les eucaryotes : 'crossing-over'

- mécanisme: analogue à celui des procaryotes
- fréquence : environ 30 'crossing-over' par méiose
- Fonctions des 'crossing-over'
 - . constituent un lien entre les chromatides (nécessaire pour une bonne ségrégation des chromosomes)
 - . permettent des échanges d'allèles (brassage des gènes et diversité génétique)
 - . permettent la réparation du DNA (certaines altérations).



Nb: le crossing over peut survenir dans la lignée germinale lors de la méiose et aussi dans les cellules somatiques lors de la mitose

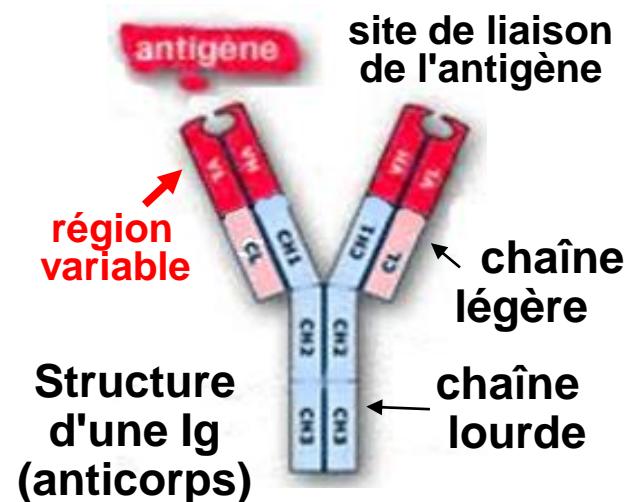
2.8.1. Recombinaisons chez les eucaryotes

Au cours de leur maturation, chaque lymphocytes pré-B subit une recombinaison somatique du DNA des gènes des immunoglobulines (Ig) → clone cellulaire synthétisant ce type d'Ig spécifique.

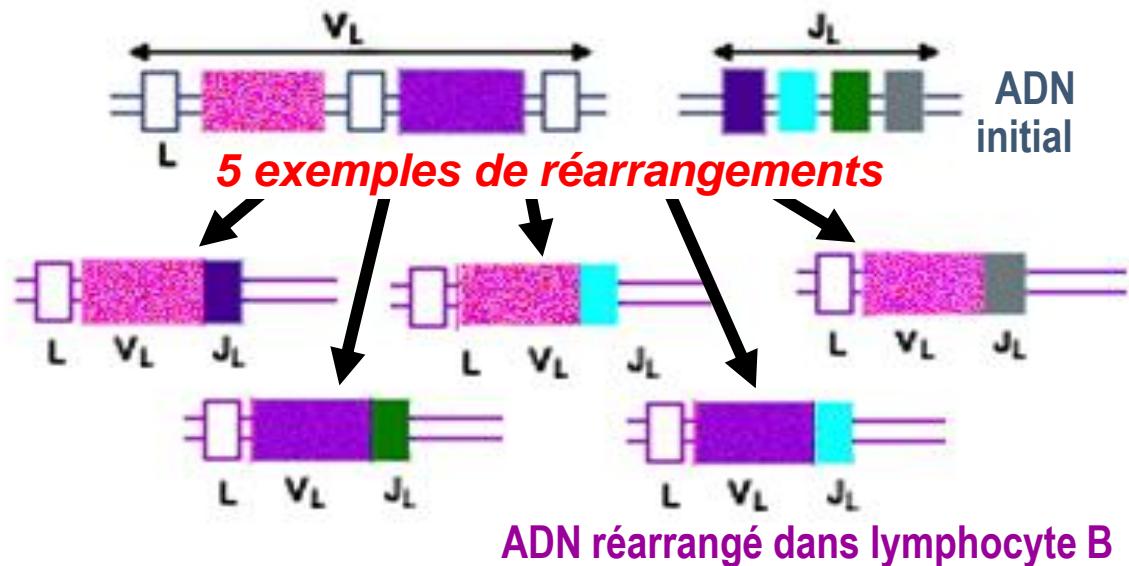
Dans la population des lympho pré-B, les recombinaisons permettent à quelques dizaines de gènes de créer une grande variété d'Ig (plus d'un million d'Ig différentes reconnaissant des antigènes différents).

Exemples de 3 mécanismes participant à la variété des Ig

- Réarrangement des régions variables des chaînes d'Ig
- Recombinaison 'approximative' des extrémités
- Hypermutations



4 exemples de réarrangements (simplifiés) des gènes des chaînes légères k des Ig (sur chromosome 2 humain → 4 types d'Ig différentes



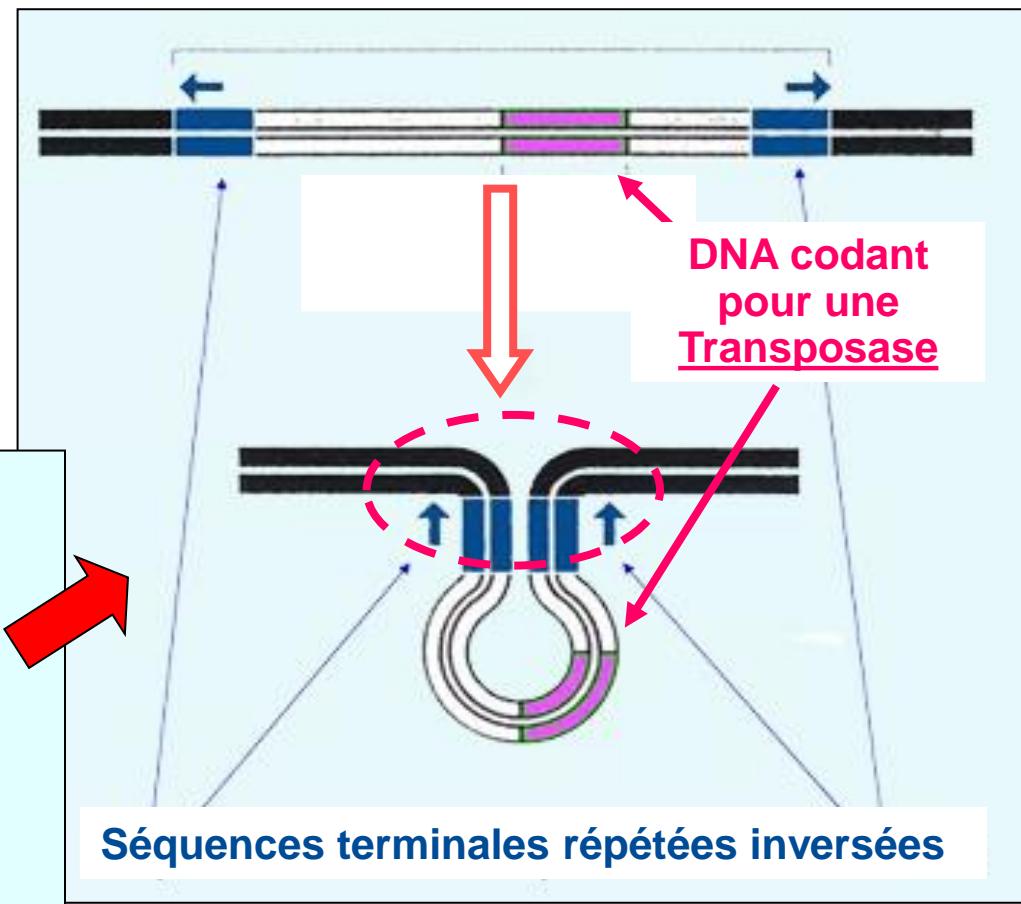
2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

2.8.2.1 - Généralités: mécanismes généraux de transposition

Les séquences génétiques mobiles ou éléments génétiques mobiles ou éléments transposables, ont été découverts à la fin des années 40 par Barbara McClintock chez le maïs. Ce sont des segments d'ADN capables de mouvement à l'intérieur d'un même génome ou entre des génomes.

Structure d'une séquence génétique mobile: exemple de DNA transposon
 Cette séquence de DNA
 - est assez courte
 - a des **répétitions terminales**
 (longues ou courtes, inversées ou non)
 - code pour une **transposase**
 (sauf exception)



2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

138

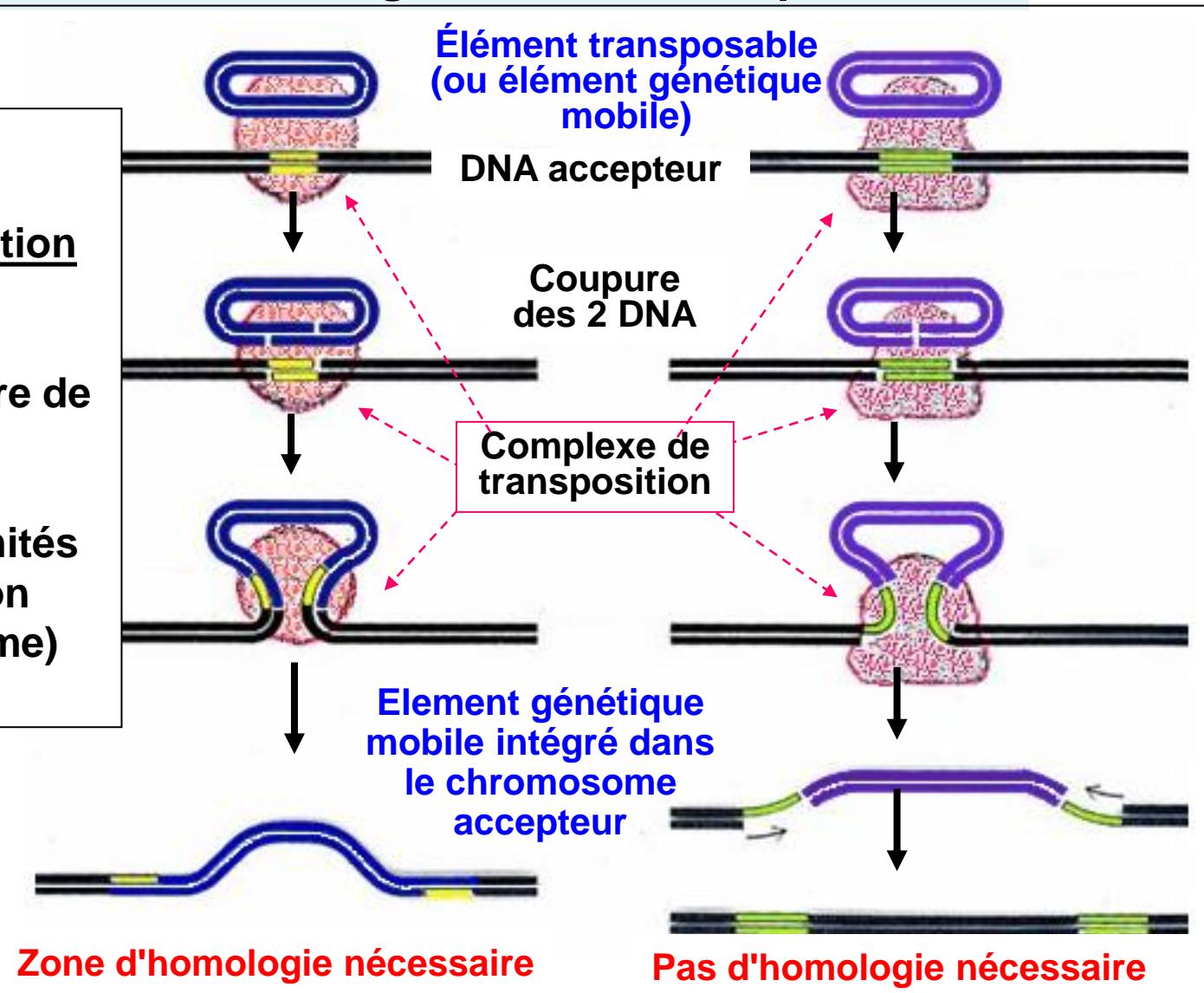
2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

2.8.2.1 - Généralités: mécanismes généraux de transposition

Mécanismes généraux de transposition.

Le complexe de transposition (incluant la transposase) catalyse la:

- coupure du DNA (coupure de l'élément transposable et du DNA accepteur)
- jonction entre les extrémités
- intégration du transposon dans le DNA (chromosome) accepteur



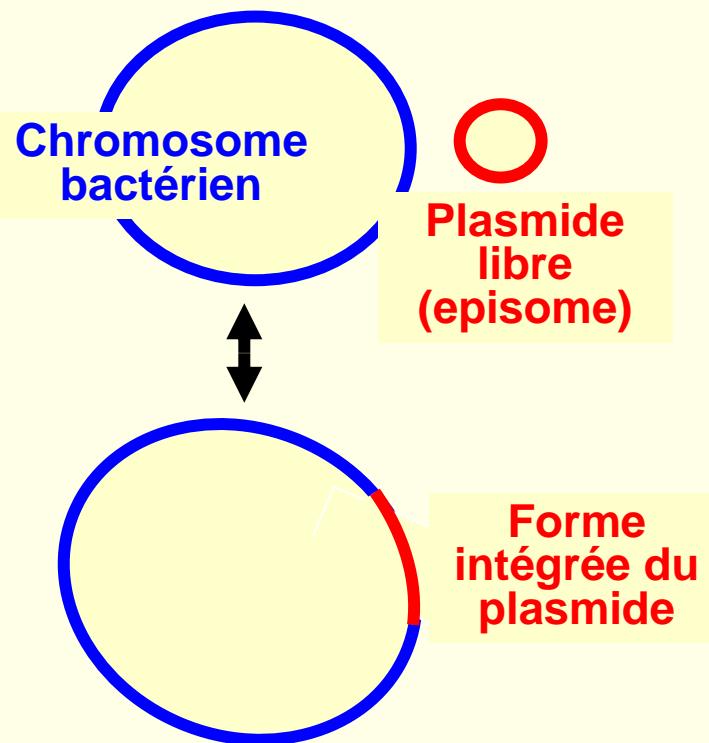
2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

139

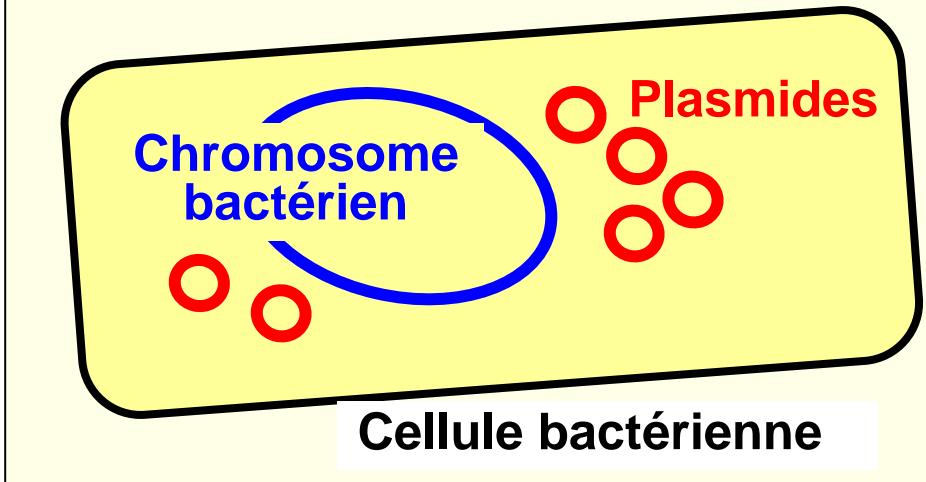
2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

2.8.2.2 - Plasmides (à l'état naturel, chez certaines bactéries)

- DNA extra-chromosomique
- élément génétique mobile
- peut exister sous forme soit 'libre', soit 'intégrée'



- la réPLICATION DES PLASMIDES EST AUTONOME (RÉGULÉE, MAIS PLUS FRÉQUENTE QUE CELLE DU CHROMOSOME BACTÉRIEN: DONC IL Y A SOUVENT PLUSIEURS PLASMIDES PAR CELLULE BACTÉRIENNE)

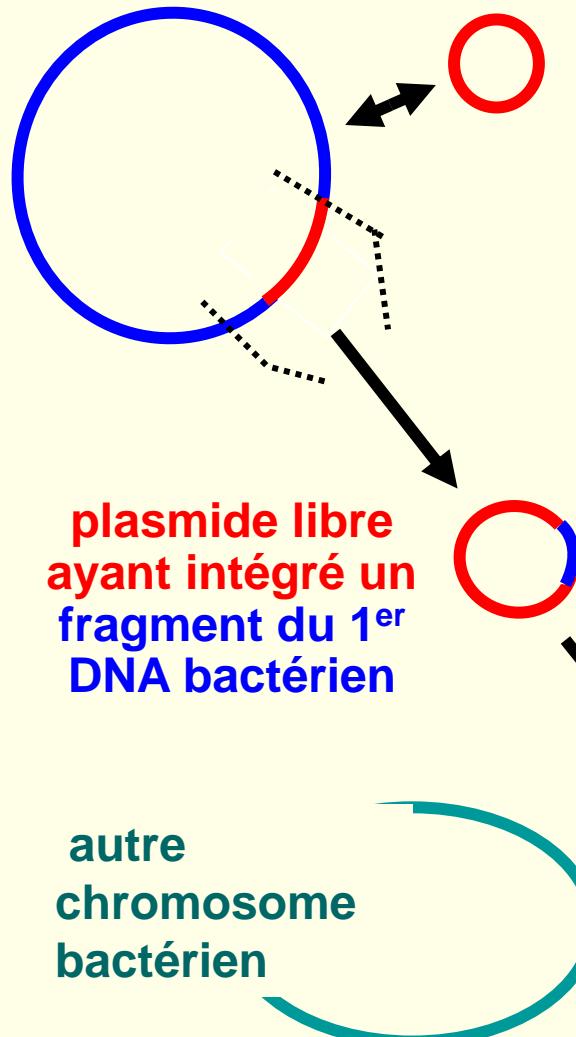


2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

140

2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

2.8.2.2 - Plasmides



Les Plasmides (bactériens)

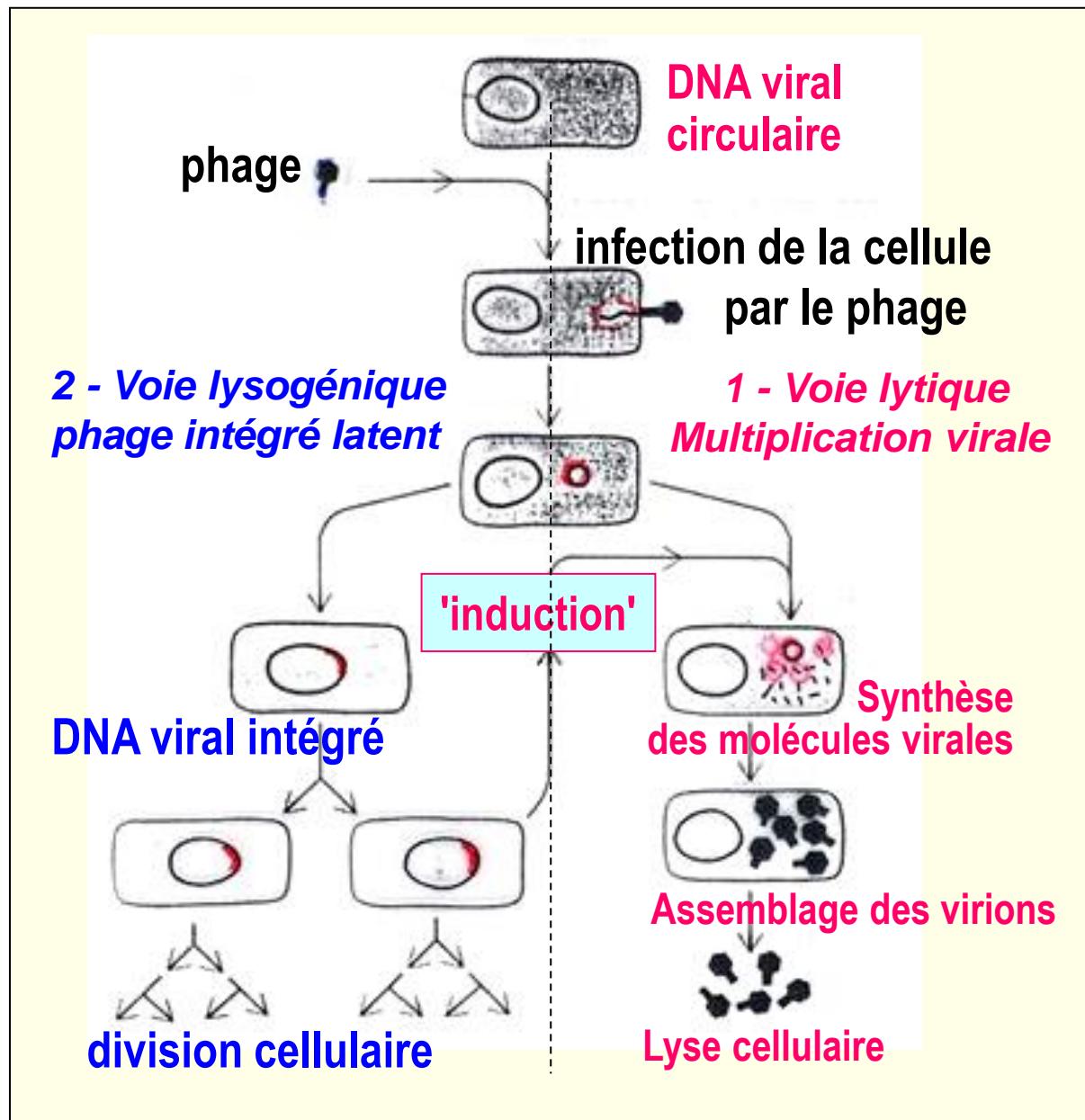
- peuvent intégrer des fragments de DNA (ex. gènes de résistance aux antibiotiques)
- peuvent s'insérer dans un autre chromosome bactérien avec le fragment de DNA bactérien (transfert de matériel génétique = 'transduction')
exemple: transfert de gène de résistance aux antibiotiques
- sont utilisés (modifiés) comme vecteurs (clonage de gènes, transduction dans cellules eucaryotes...)

plasmide intégré avec
le fragment du 1^{er}
DNA bactérien dans
le chromosome
d'une autre bactérie

2.8.2.3 - Phages lysogènes

- Phage ou bactériophage:** virus infectant des bactéries (adhésion et injection du DNA du phage, circularisation) et infection (multiplication) virale
- Phage lysogène:** phage intégré dans le génome de la cellule hôte et dans un état non infectieux (ne se multiplie pas)

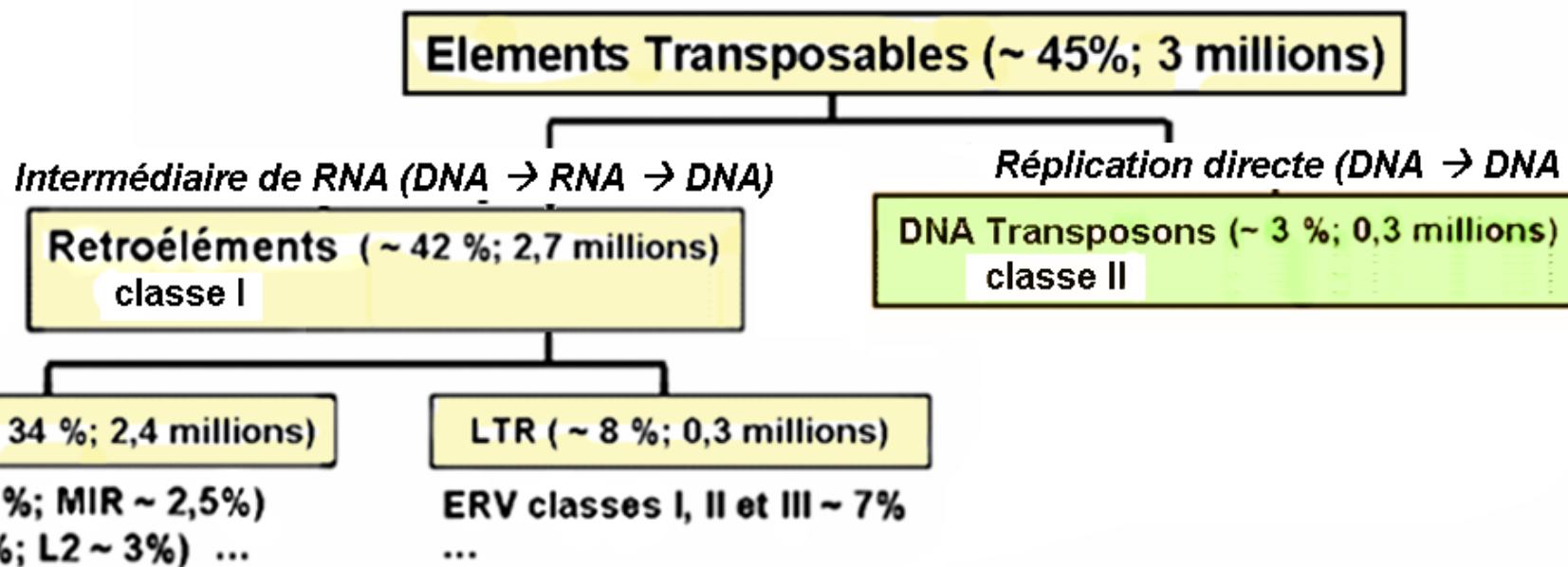
nb: Comme les plasmides, les phages lysogènes peuvent emporter un fragment de DNA chromosomique et le transférer dans une autre cellule ex. gènes de résistance aux antibiotiques



2.8.2.4 - Eléments Transposables des eucaryotes

Les Eléments Transposables 1/ sont des séquences génétiques mobiles (pouvant se déplacer); 2/ avec ou sans duplication; 3/ sans passer par une forme libre (extracellulaire); 4/ sont groupés en 2 classes: classe I (retroéléments) et classe II (DNA transposons); 5/ occupent près de moitié du génome humain.

Classification des Eléments Transposables du génome humain



Entre parenthèses sont indiqués la quantité de DNA occupée par ces ET du génome nucléaire humain (en % de DNA du génome et le nombre de ces ET dans le génome)

SINE, short Interspersed Element
LINE, Long Interspersed Element

ERV, Endogenous RetroVirus
HERV, Human Endogenous RetroVirus
LTR, Long Terminal Repeats (des Retrovirus)

2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

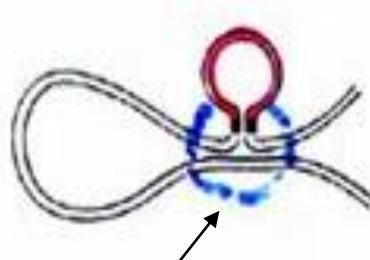
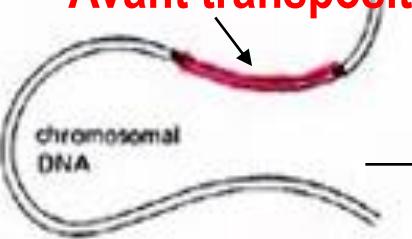


2.8.2.4 - 'DNA transposons' ou E.T. de classe II

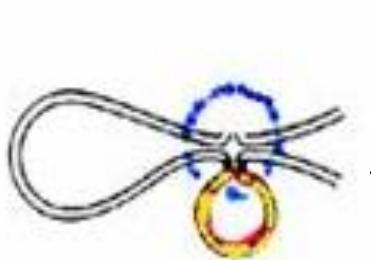
- éléments génétiques mobiles se déplaçant dans le génome avec ou sans duplication (sans passer par une forme libre extracellulaire, à l'inverse des virus, plasmides...)

Transposon initial Avant transposition

Transposition sans duplication



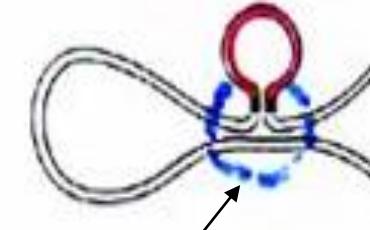
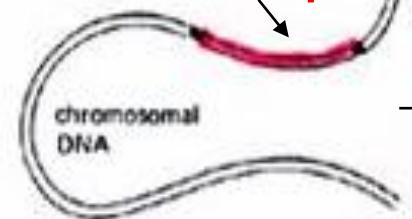
Complexe de Transposition



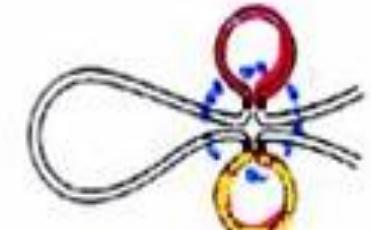
Transposon déplacé (après transposition)

Transposon initial Avant transposition

Transposition avec duplication DNA → DNA



Complexe de RéPLICATION et Transposition



Transposon initial

Transposon dupliqué

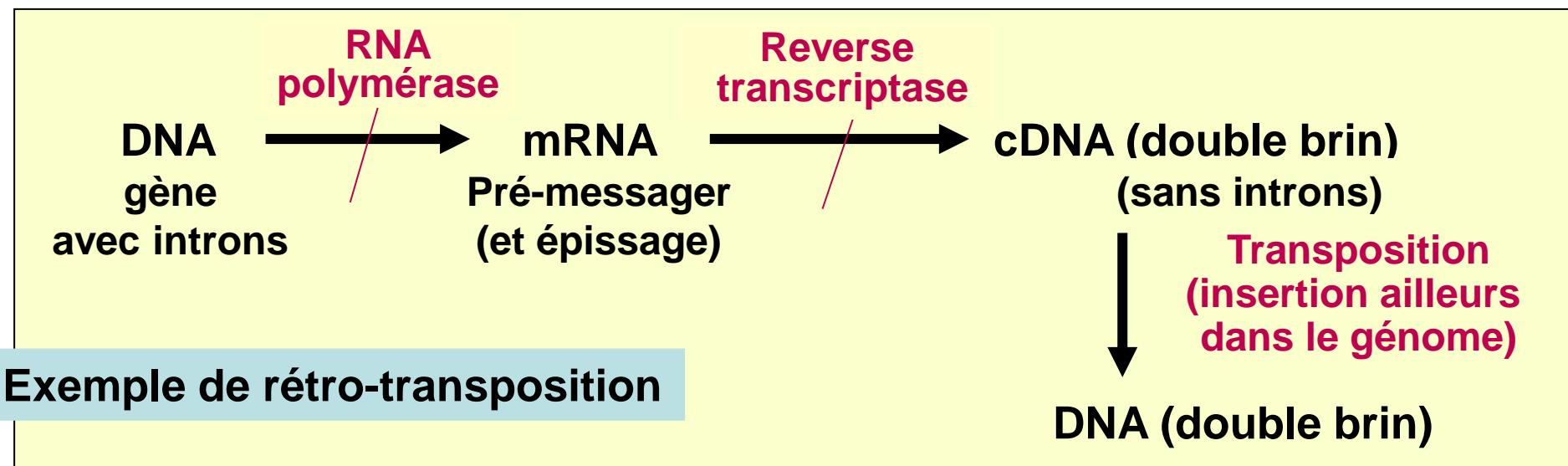
2.8 - Variations du DNA par des mécanismes biologiques

2.8.2 - Eléments transposables (E.T.) ou Séquences Génétiques Mobiles

2.8.2.5 - Retroéléments ou éléments transposables de classe I.

Ils utilisent pour se répliquer un RNA intermédiaire et une Reverse Transcriptase (classe I).

- non LTR
 - . Rétrotransposons (codent leur reverse transcriptase)
 - . Retroposons (ne codent pas de reverse transcriptase)
- à LTR : rétrovirus endogènes (ERV) qui codent leur reverse transcriptase



* Les **Retrotransposons** contiennent la séquence codant la reverse transcriptase (et la machinerie de transposition) et sont autonomes pour la transposition. Les **retroposons** ne sont pas autonomes pour la transposition, car ils ne codent pas de reverse transcriptase (et utilisent celle d'un retrotransposon ou d'un rétrovirus).

Plan 2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.1 - Généralités

2.9.2 - RéPLICATION des virus à DNA

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA

2.9.3.1 - virus à RNA 'classiques'

2.9.3.2 - Rétrovirus

2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.1 - Généralités

- Les génomes viraux présentent une grande variété de structures: certains virus ont un génome constitué de DNA et d'autres de RNA (contrairement aux procaryotes et eucaryotes qui ont tous des génomes constitués de DNA double brin).

- Les virus à DNA ont des génomes de structure variée: selon les groupes le DNA est circulaire double brin, circulaire simple brin, linéaire double brin...

- Les virus à RNA ont des génomes également très variés:

Le RNA est simple brin, mais est soit positif (codant), soit négatif.

Parfois le génome est segmenté (morcélisé) en plusieurs brins (ex. v. de la grippe).

Les rétro-virus sont des virus à RNA qui ont un cycle infectieux particulier, car ils passent par un stade de cDNA intégré dans le génome de la cellule infectée.

Enfin, les rétro-virus endogènes semblent être des vestiges moléculaires de rétro-virus classiques.

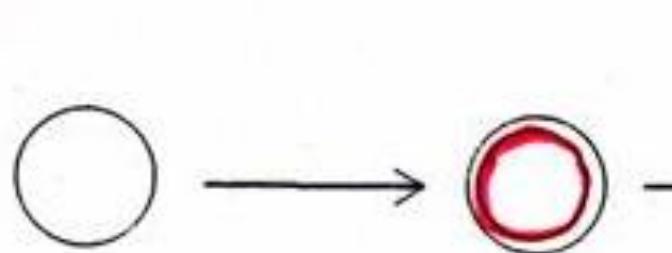
2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.2 - RéPLICATION des virus à DNA

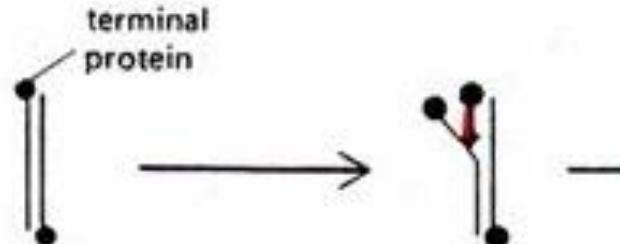
Leur réPLICATION utilise des DNA polymérases DNA-dépendantes qui ont une fonction "proof reading" → faible taux de mutation.



DNA circulaire bicaténaire (SV40)



DNA circulaire monocaténaire (Bactériophage ΦX174)



DNA linéaire bicaténaire (Adénovirus)

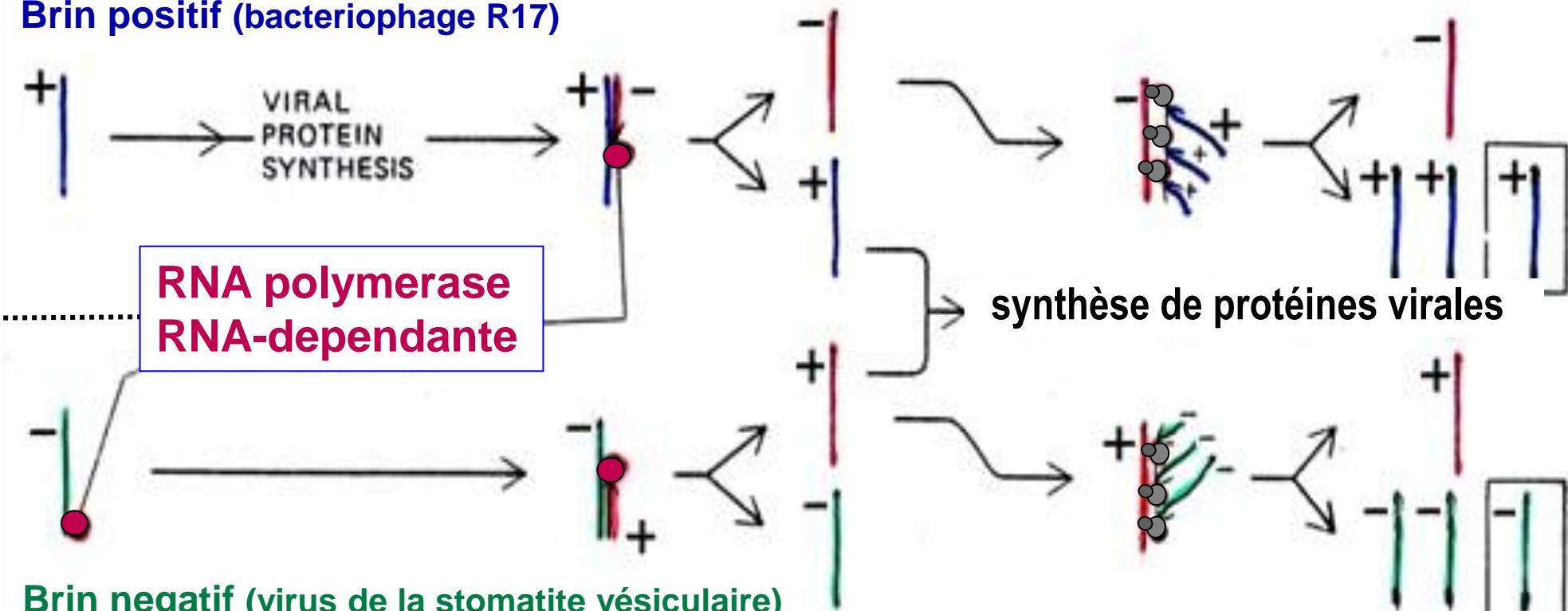
2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA

2.9.3.1 - Virus à RNA 'classiques'

Leur réPLICATION utilise des RNA polymérases RNA dépendantes qui n'ont pas de "proof reading" → taux de mutation élevé.

Brin positif (bacteriophage R17)



Brin negatif (virus de la stomatite vésiculaire)

brin + (positif) portant l'information génétique et traduit

brin - ne portant pas directement l'information génétique et non traduit; il sert de matrice pour une RNA polymérase RNA dépendante qui synthétise un brin + complémentaire.

2.9 - Génomes vitaux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA

2.9.3.2 - Rétrovirus (exogènes)

Retro-virus (virus à RNA particuliers)

- génome viral du virus libre: RNA
- cycle de replication particulier → cDNA viral intégré

Etapes du cycle infectieux des rétrovirus (exogènes)

- entrée du virus dans la cellule
- synthèse d'un cDNA complémentaire du RNA viral par une "reverse transcriptase" (DNA polymérase RNA dépendante), puis converti en double brin
- intégration du cDNA dans le génome de la cellule infectée
- ce génome intégré fonctionne comme des gènes cellulaires (transcription, traduction..) pour synthétiser du RNA viral et des protéines virales
- assemblage pour générer des virus de 2e génération.

2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA 2.9.3.2 - Rétrovirus (exogènes)

Cycle des Retrovirus

"Rétro-transcription"

Synthèse du cDNA par la Reverse Transcriptase



RNA

Reverse Transcriptase

cDNA
circularisé

Intégration du cDNA dans le génome d'une cellule infectée

Integrase

provirus

Transcription des gènes viraux

Traduction des protéines virales



Virus

Production de virus

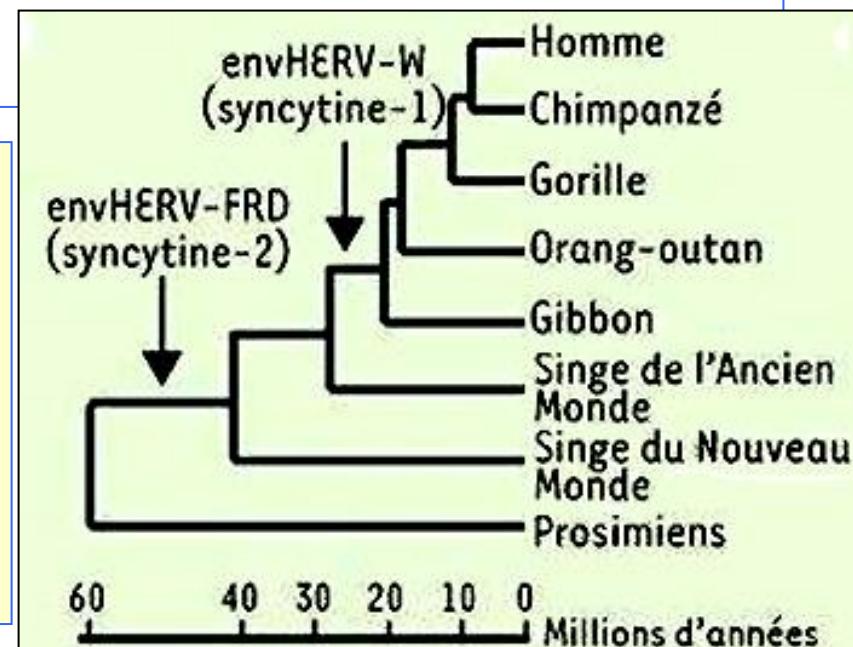
2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA

2.9.3.3 - Rétrovirus endogènes (RVE)

- Vestiges moléculaires (séquences de DNA) de rétrovirus infectieux ancestraux qui ont été incorporés dans le génome de l'hôte.
- Ils sont intégrés (sous forme de 'provirus') dans la lignée germinale et transmis verticalement (de générations en générations).
- Ils peuvent servir des marqueurs de lignages des espèces.
- Ils contiennent des "long terminal repeats" (LTR) et des séquences qui codent (ou ont codé) pour des protéines virales (protéines de structure, d'enveloppe...).
- Ils ont perdu leur capacité infectieuse, mais ont conservé une capacité de transposition (séquences génétiques mobiles)
- Chez l'homme, ils occupent 8 % du génome).

Certains gènes de RVE codent encore pour des protéines qui ont parfois des fonctions cellulaires importantes. Exemple: les syncytines 1 et 2, protéines fusogènes nécessaires à la formation du syncytiotrophoblaste (placenta), sont codées par des gènes de rétrovirus endogènes HERV-W et HERV-FRD (HERV = "Human Endogenous RetroVirus")



2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION des virus à RNA

2.9.3.4 - Reverse transcriptases des Rétrovirus

Les 'Reverse Transcriptases' (RT) (ou transcriptases inverses)

- sont des DNA polymérases RNA-dépendantes (DNA polymérases qui synthétisent le brin complémentaire à partir d'RNA simple brin) en formant un hétéroduplex RNA-DNA
- n'ont pas de "proof reading" (pas d'exonucléase 3'→5')
- sont souvent capables de dégrader du RNA (fonction RNase H)
- peuvent synthétiser un second brin de DNA complémentaire du premier pour donner un cDNA bicaténaire elles agissent alors comme DNA polymérases DNA-dépendantes.
- sont codées par des gènes de Retrovirus (et retrotransposons)
- sont nécessaires à la réPLICATION des Retrovirus, des retrotransposons et des retroposons (ces derniers ne les codent pas).

nb

- 1/ la télomérase est une RT spécialisée importante dans la biologie des cellules eucaryotes.
- 2/ l'utilisation expérimentale des reverse transcriptases sera vue dans le cours des techniques de BM (UE1 et UE8).

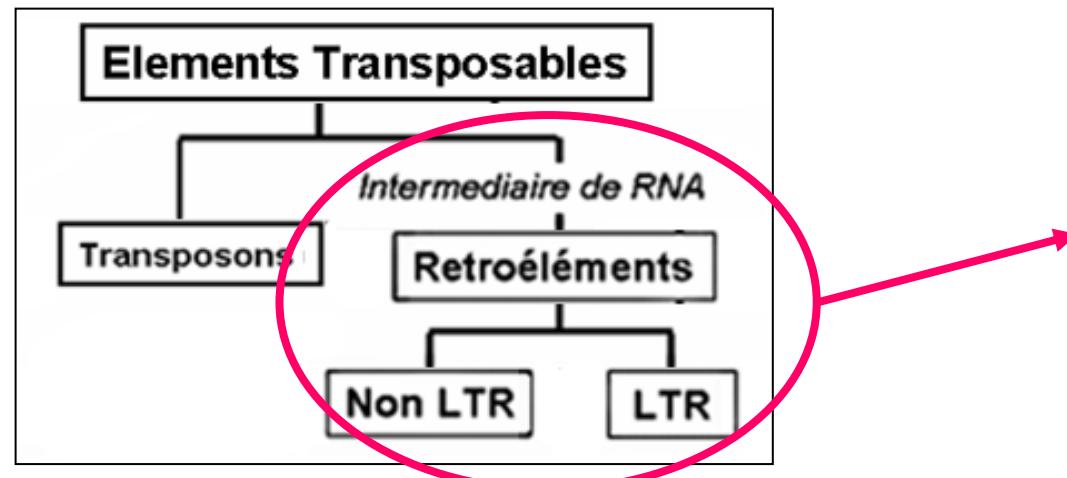
2.9 - Génomes viraux et RéPLICATIONS virales

2.9.3 - RéPLICATION DES VIRUS À RNA

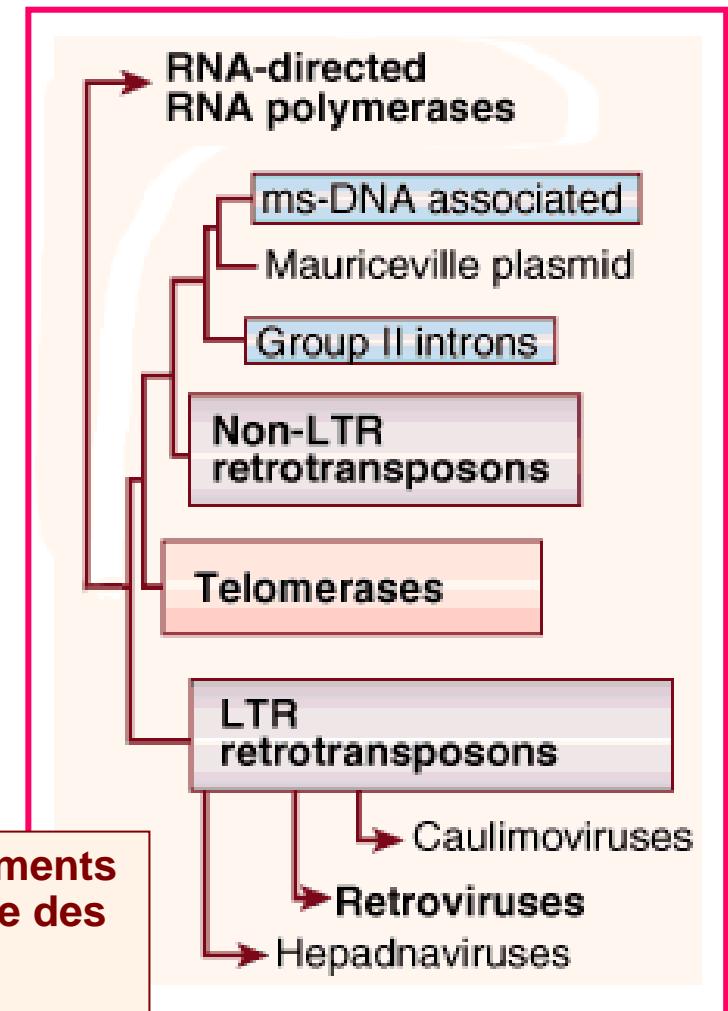
2.9.3.4 - Reverse transcriptases des Rétrovirus

Evolution phylogénétique des Reverse transcriptases et des retroéléments

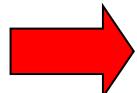
Les Retro-éléments sont caractérisés par leur structure (et leur Reverse Transcriptase RT, quand elle est présente). L'évolution moléculaire des RT s'est faite à partir de RNA polymérases RNA-dépendantes. C'est un argument pour la théorie (hypothétique) d'un 'monde à RNA' ('RNA World') primitif et sa transition vers le monde actuel à DNA.



Arbre phylogénétique des Retro-éléments (établi par comparaison de séquence des Reverse transcriptases et des RNA polymérases RNA-dépendantes)



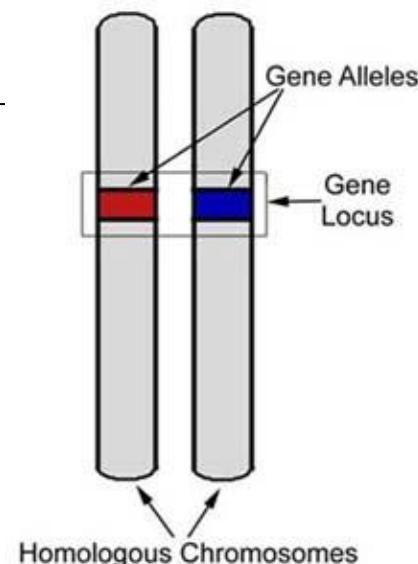
2.10 – Structure des gènes



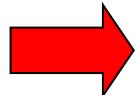
2.10.1 – Quelques Définitions

- **Gène:** chez les procaryotes et les eucaryotes, segments de DNA codant pour un RNA "fonctionnel" (dont certains sont traduits en protéines).
- **Gène régulateur:** gène codant pour une protéine régulant d'autres gènes.
- **Gènes de 'structure':** gènes codant pour des protéines (ayant une fonction autre que régulateur de gènes).
- **Gènes domestiques (gènes de ménage; gènes domestique ou 'housekeeping'; gènes constitutif):** gènes exprimés dans toutes les cellules et impliqués dans le métabolisme général nécessaire à la vie cellulaire.
- **Gènes spécialisés:** gènes exprimés uniquement dans certaines cellules différencierées (spécialisées).
- **Gènes homéotiques:** gènes impliqués dans le développement.

- **Locus :** localisation d'un gène sur un chromosome
- **Gènes homozygotes :** gènes identiques sur le même locus des 2 chromosomes homologues dans une cellule diploïde (autosomes ou XX chez la femme).
- **Gène hémizygote:** gène en un seul exemplaire dans une cellule diploïde (ex. gène de X chez le mâle humain).



2.10 – Structure des gènes



2.10.1 – Quelques Définitions

- **Gène(s) homologue(s)** : gènes ayant des séquences apparentées (partiellement identiques : pour des protéines, homologie de séquence > 20%). Ex : les gènes α et β de l'hémoglobine humaine ont une homologie de séquence (voir dia suivante)
- **Gène(s) paralogue(s)** : gènes homologues dans une même espèce (dérivant d'un gène ancestral commun dupliqué). Ex. gènes α et β de l'hémoglobine humaine
- **Gène(s) orthologue(s)** : gènes homologues dans des espèces différentes. Ex. gènes α de l'hémoglobine de l'homme et grenouille (divergence $\sim 360 \cdot 10^6$ années)
- **Gène polymorphe** : gène (situé à un locus donné) existant sous forme de plusieurs variants (allèles) dans une même espèce (avec une fréquence non négligeable: au moins deux de ses allèles présents dans plus de 1% de la population).
- **Allèles** : versions variables (qui diffèrent par une ou plusieurs mutations) d'un gène, situé à un locus donné, dans une population d'une espèce donnée (et ayant une fréquence > 1%). Ex. pour un gène autosomal donné, dans une cellule diploïde, il y a soit un type d'allèle (homozygote), soit deux allèles différents (hétérozygote).
- **Pseudogène**: séquence d'ADN non fonctionnelle, mais ayant une homologie avec un gène fonctionnel (copie de gène muté qui ne peut plus être transcrit ou traduit)
- **Familles et superfamilles de gènes**: ensembles de gènes ayant une forte homologie de séquence (et formés par duplications successives d'un gène ancestral commun, puis divergence au cours de l'évolution).

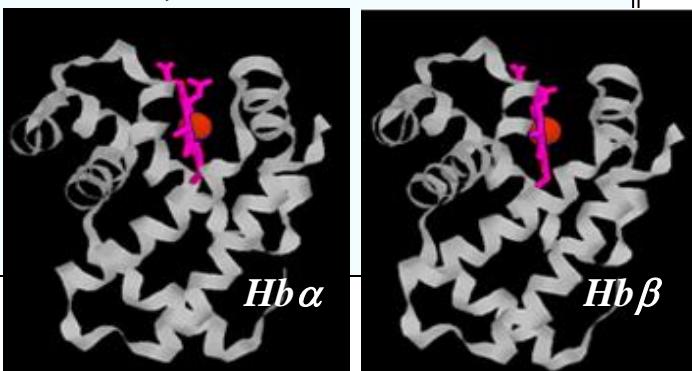
2.10 – Structure des gènes

2.10.1 – Exemples d'homologie de séquence des gènes et de structure de l'hémoglobine (chez l'homme actuel)

Homologie entre α et β de la globine humaine

- gènes alpha et béta ~ 60 % identité de séquence Nt
- Chaînes polypept ~ 43% identité; 74% similarité
- Structure 3D conservée

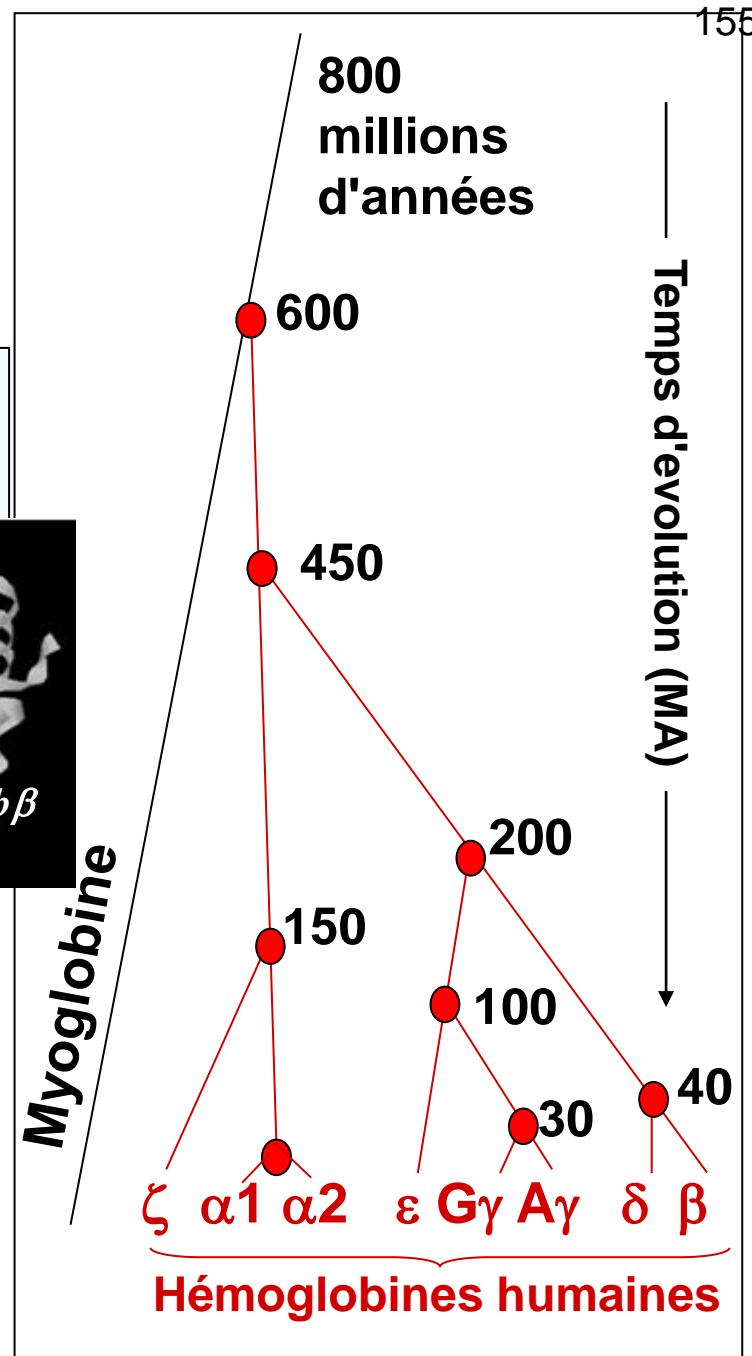
La conformation générale du 'pli globine' (globin fold) et de la poche hydrophobe de l'hème, sont conservées.



Depuis la duplication qui a donné les gènes α et β de Hb, le temps de divergence est estimé à ~ 450 10⁶ années.

Le taux de variation des aa de HbA est estimé à ~ 1 aa par 5 10⁶ ans, ce qui est très inférieur au taux de mutation d'une séquence 'neutre' sans sélection naturelle (estimé à 4 changements d'aa par 5 10⁶ ans).

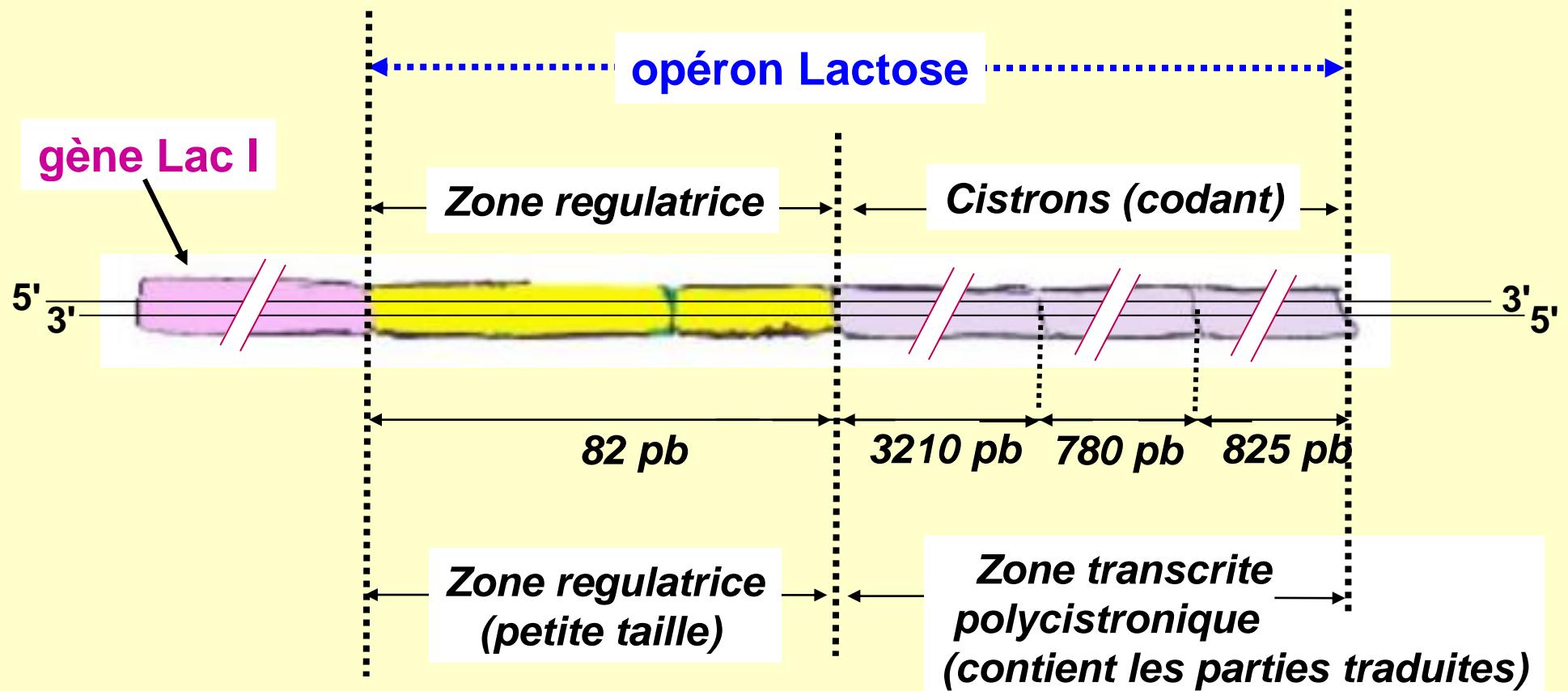
Pour l'Hb, seules persistent les mutations compatibles avec une fonction conservée de transport de O₂.



2.10 – Structure des gènes

2.10.2 – Structure des gènes des procaryotes (*E coli*)

Exemple de l'opéron Lactose

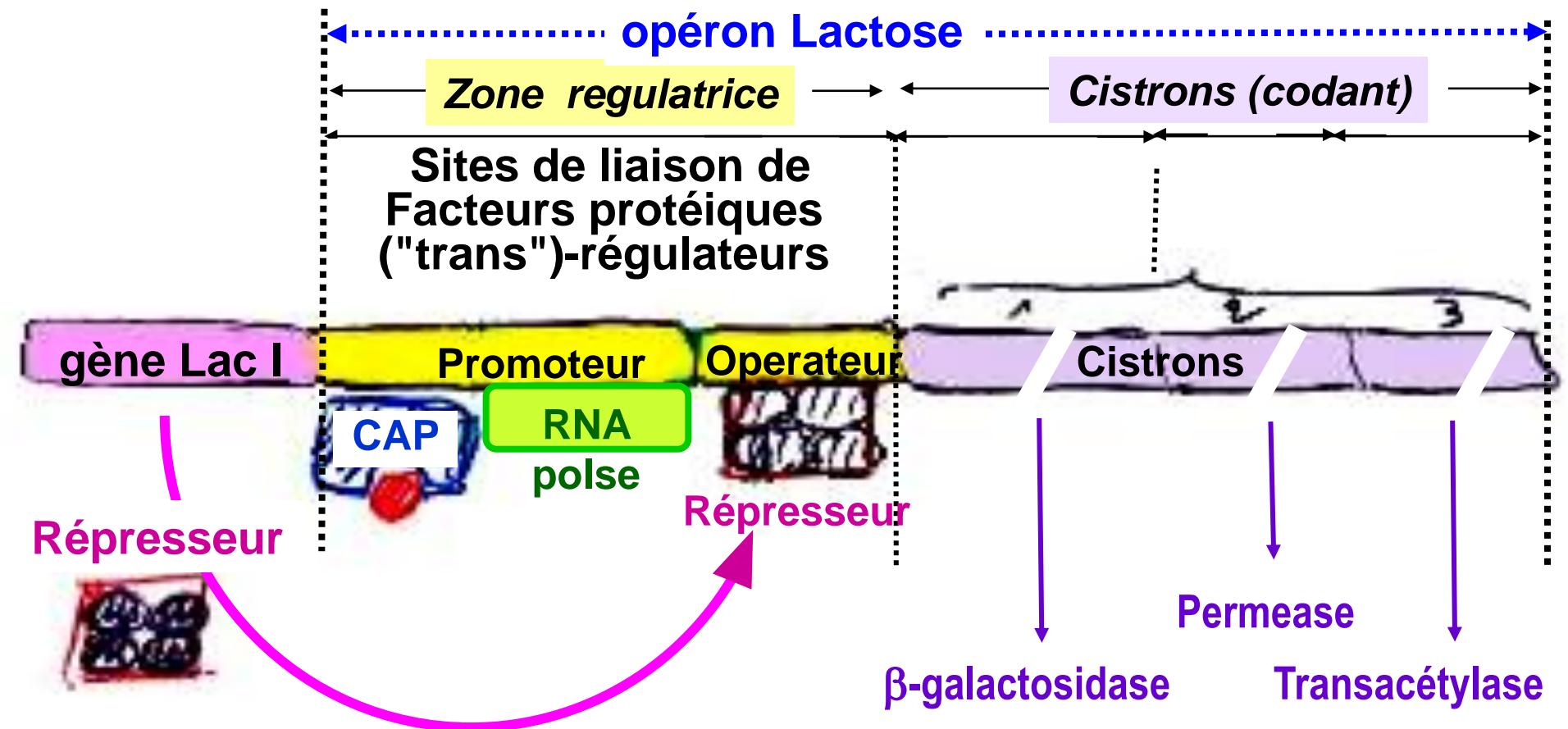


Attention, par convention "codant" signifie "codant pour une protéine" (ou traduit).

2.10 – Structure des gènes

2.10.2 – Structure des gènes des procaryotes (*E coli*)

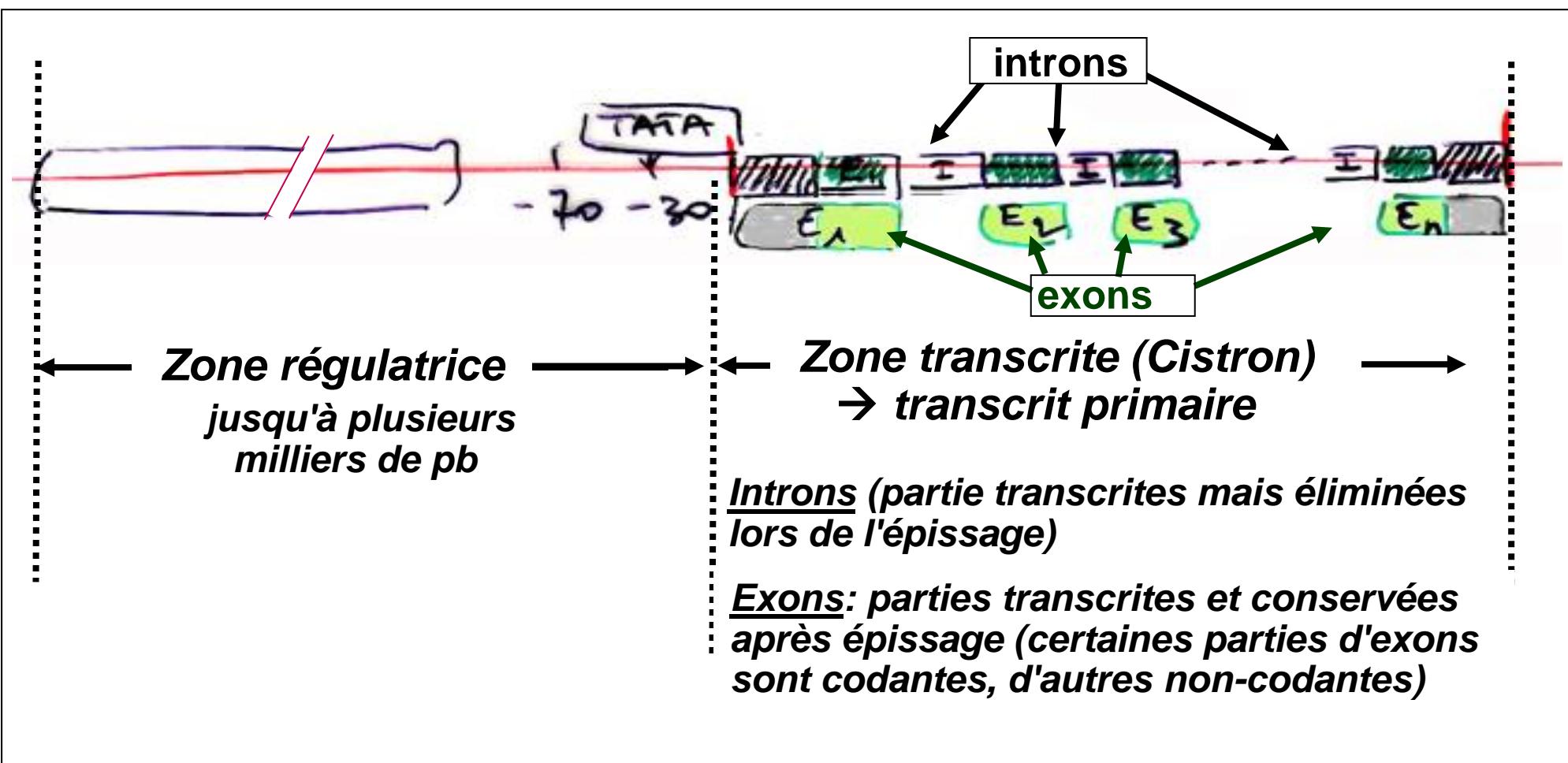
Exemple de l'opéron Lactose (prix Nobel Jacob, Lwoff, Monod).
Interaction de protéines fonctionnelles avec le DNA génique



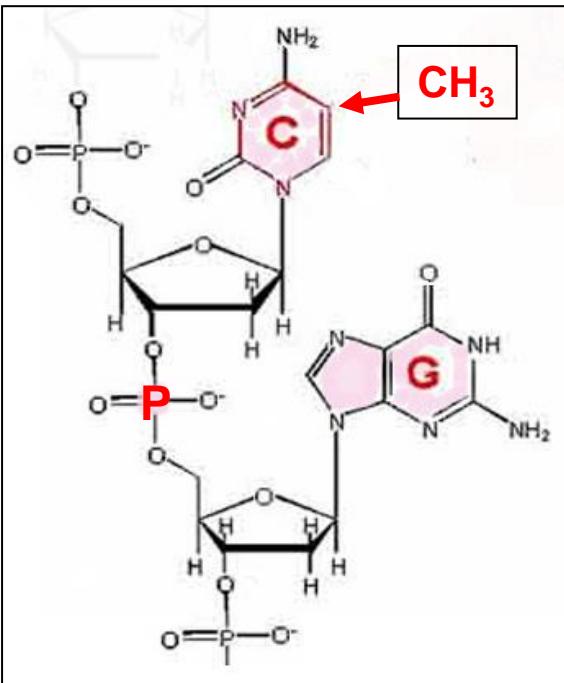
nb: pour le fonctionnement des gènes : voir chapitre "Transcription"

2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes

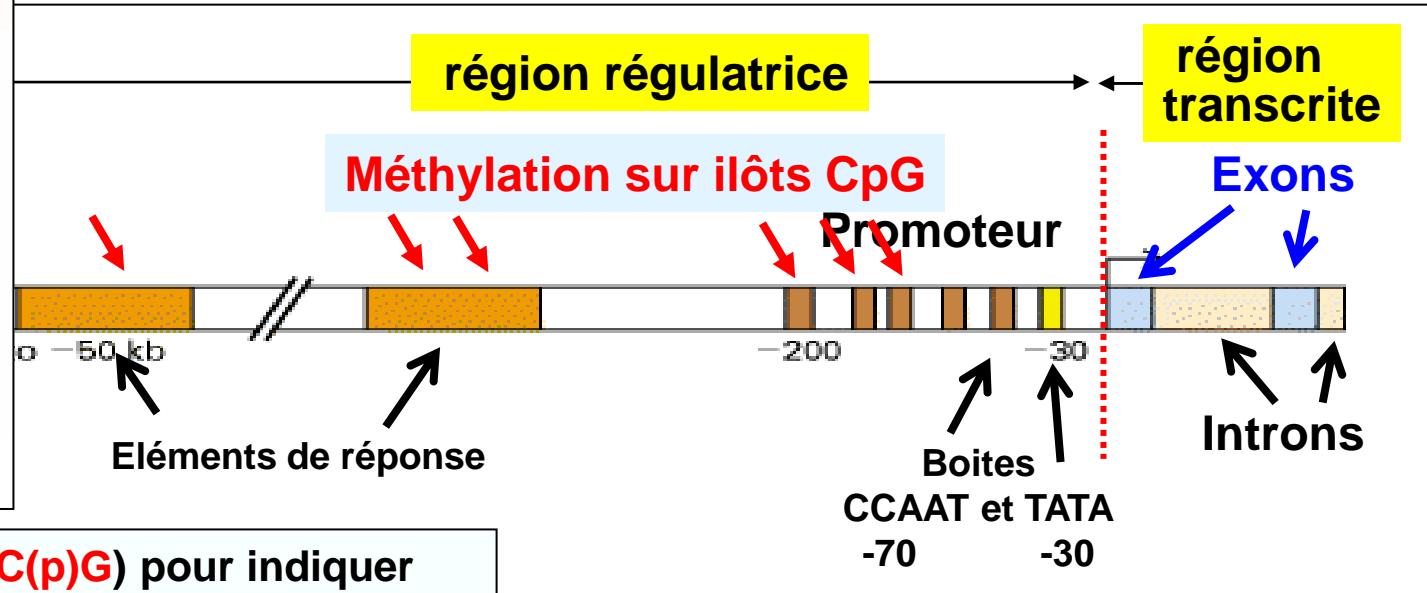
- Zone régulatrice de taille très variable, parfois très vaste (plusieurs kpb)
- Zone transcrive (mono-cistronique) comprend des exons et des introns, de taille très variable (jusqu'à plusieurs kpb)



2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes : zone régulatrice



Modification (réversible) de structure des gènes (DNA) :
Méthylation des îlots CpG des régions régulatrices (↓)
 → inhibition de liaison des facteurs de transcription



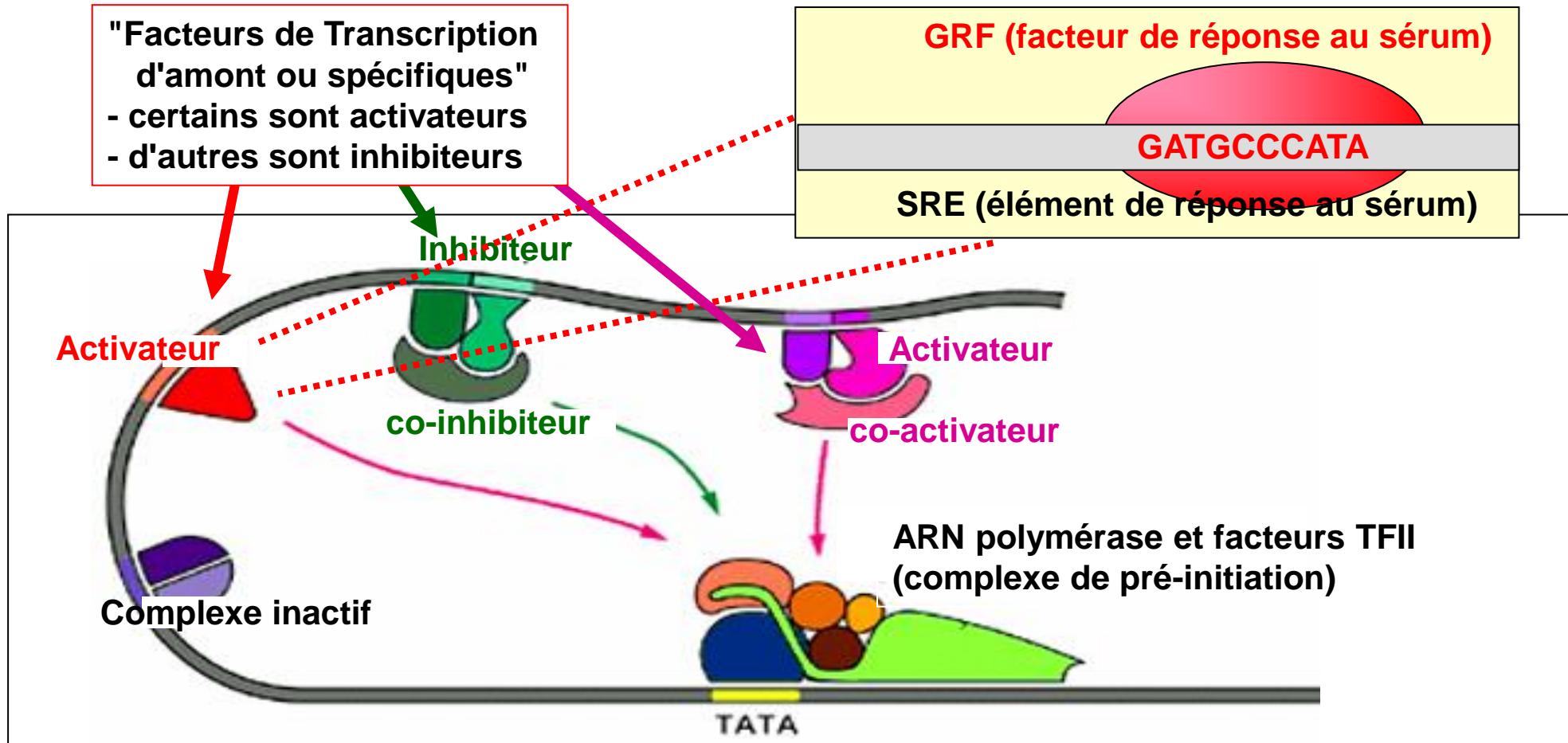
Îlot CpG: on écrit **CpG** (ou **C(p)G**) pour indiquer qu'il s'agit d'une séquence (sur le même brin) et non d'un appariement (inter-brin)

Cette méthylation du DNA est régulée par une signalisation activées par des facteurs (stress) extracellulaires et participe à la régulation dite 'épigénétique' de l'expression du génome. Elle peut jouer un rôle en physiologie, par exemple, au cours du développement (la méthylation des chromosomes maternels et paternels peut être différente) ou en pathologie (par exemple, dans les cellules cancéreuses, la méthylation est souvent différente de celle des cellules normales)

2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes : zone régulatrice

La zone régulatrice (de taille très variable, parfois très vaste (plusieurs kpb) contient :

- le site de liaison (TATA box) du complexe de pré-initiation (facteurs de transcription généraux et RNA polymérase II)
- des 'Eléments de réponse', sites de liaisons des facteurs de transcription spécifiques

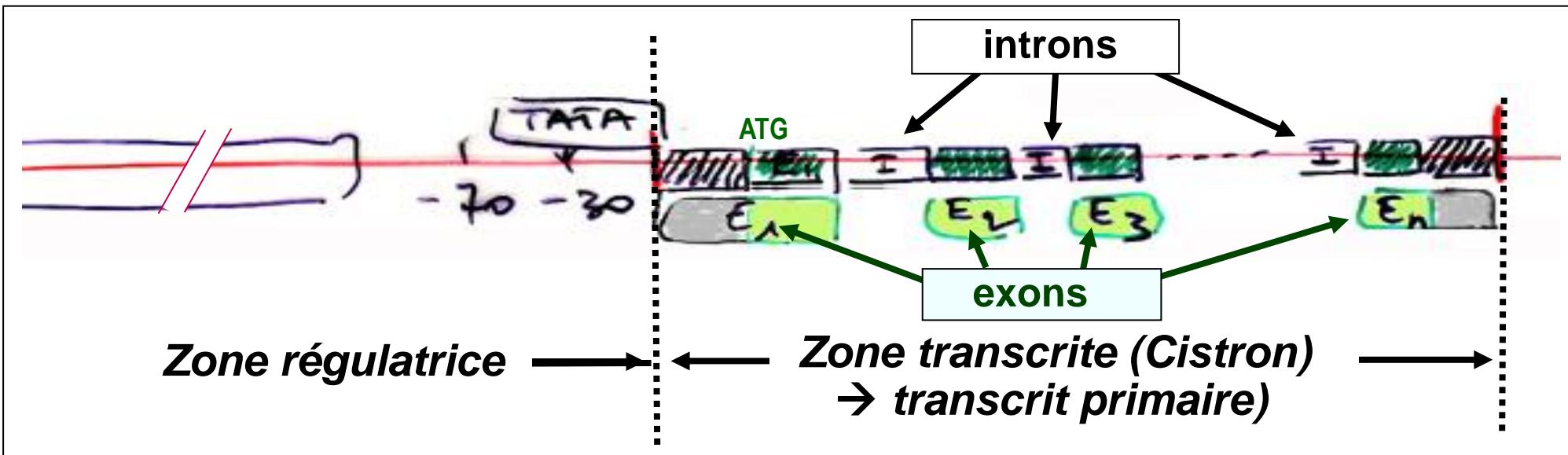


Co-activateur: facteur protéique qui interagit et renforce l'effet d'un activateur.

Co-inhibiteur: facteur protéique qui interagit et renforce l'effet d'un inhibiteur.

2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes : zone transcrise

La zone transcrise (mono-cistronique) comprend des exons et des introns, de nombre (de 0 à plusieurs dizaines) et taille très variables (jusqu'à plusieurs kpb)



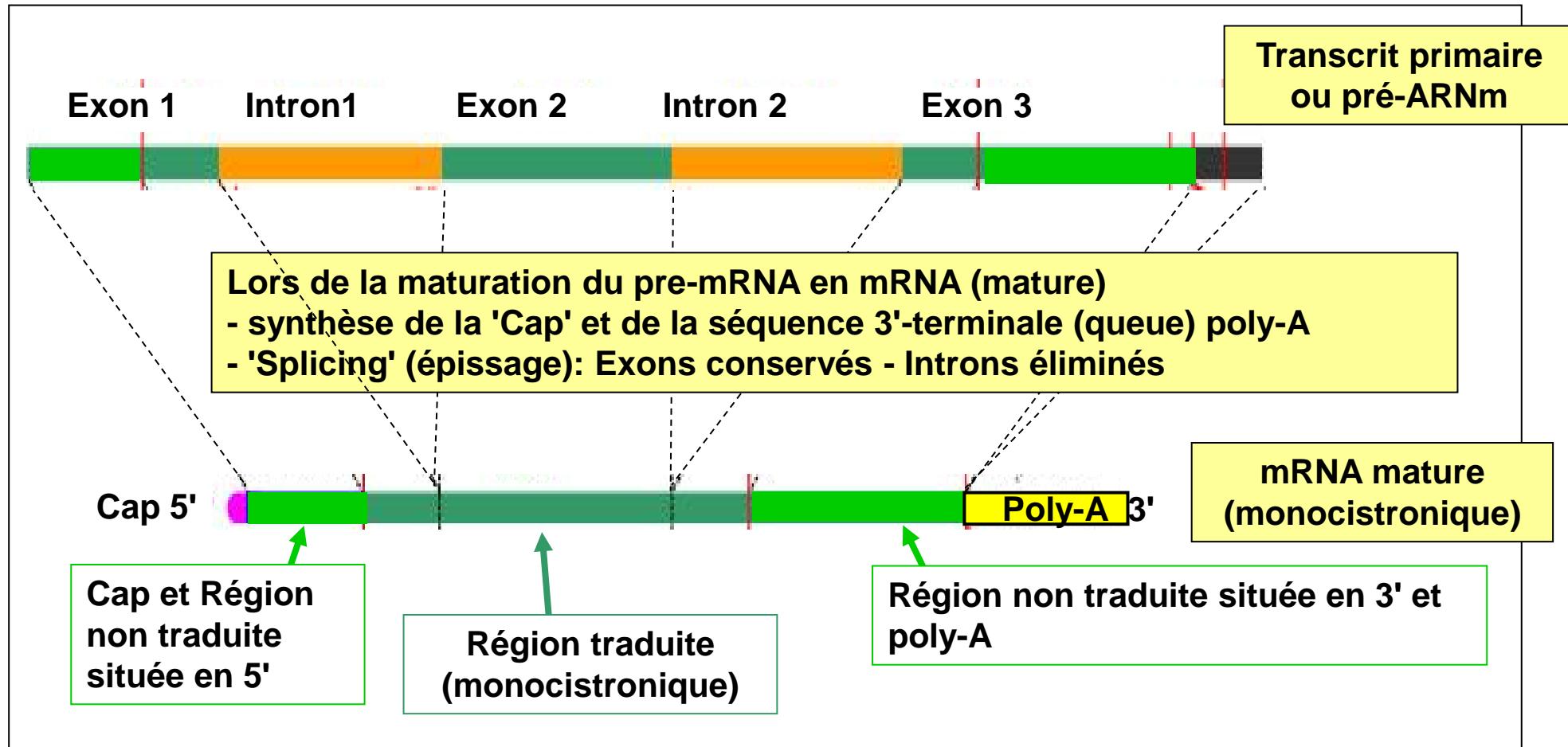
Les Introns sont des parties transcrives mais éliminées lors de l'épissage): taille et nombre très variable selon les gènes: (gène dystrophine: 2,4 Mb, 79 introns)

Les Exons sont des parties transcrives et conservées après épissage

en Gris, parties non traduites des exons

en Vert, parties traduites (codantes) des exons

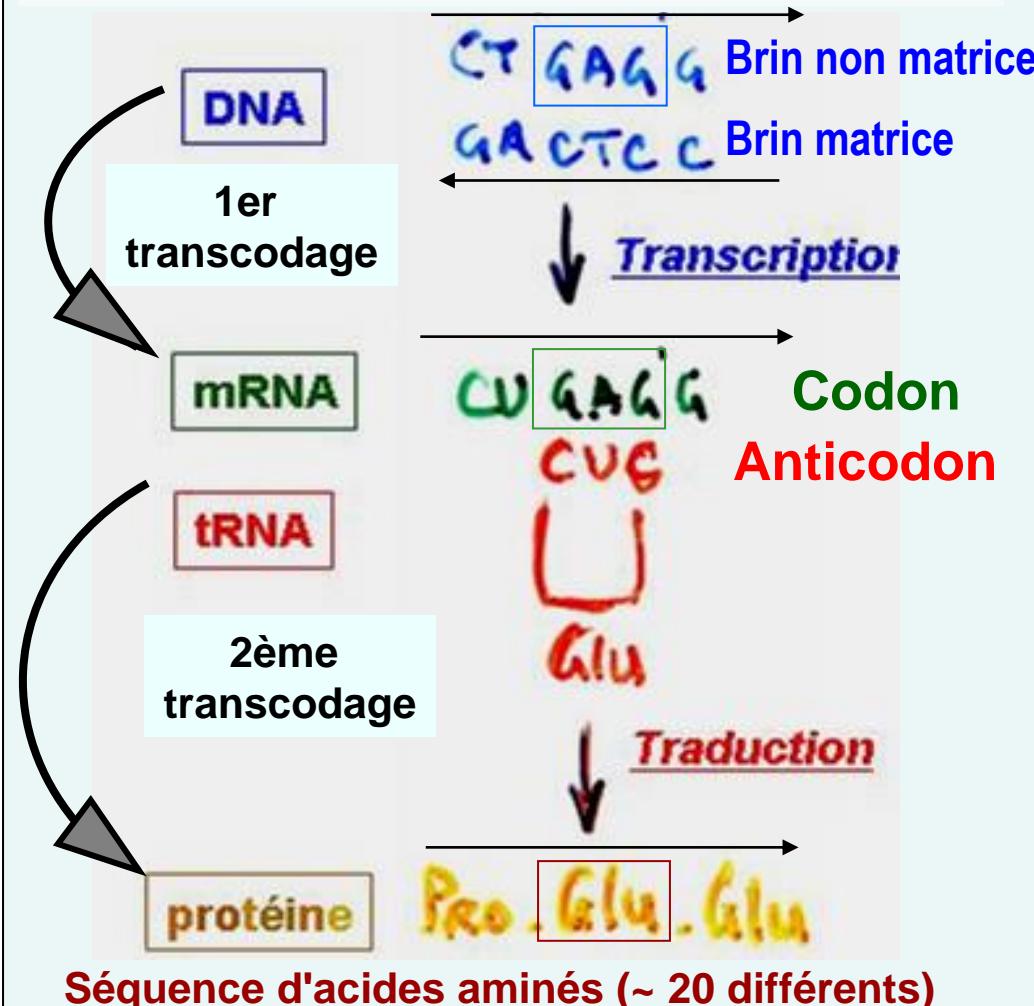
2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes : zone transcrise (voir chapitre transcription)



2.10.3 – Structure des gènes des eucaryotes

Code génétique : du gène à la protéine (chaîne polypeptidique)

Séquence de 3 nucléotides (parmi 4 différents)



Concernant les parties traduites des exons sont les parties codantes, cad qui portent l'information génétique pour la synthèse des chaînes polypeptidiques.

Cadre de lecture
Code génétique (mRNA)

Code génétique

Règles de Transcodage (correspondance) entre message du DNA et du mRNA (séquence de Nt) et la structure primaire des protéines (séquence d'acides aminés).

Cadre de lecture et décalage du cadre de lecture ('frame shift')

Le transcodage (la lecture) de l'information du DNA et mRNA nécessite un Cadre de lecture (point de départ donné par le codon d'initiation AUG du mRNA) qui définit les unités d'information : codons (3 bases successives). Selon le point de départ, il existe 3 cadres de lecture possibles, mais les codons sont différents.

Exemple montrant les 3 cadres de lecture possibles d'une séquence de DNA et du mRNA correspondant et les conséquences du décalage du cadre de lecture.

DNA (brin 'non matrice' ou 'sens') de vertébré

5' ...nnn... **gccgcccgc**atgg**catggat**gaatggcgtagaggggtttcatcattttag... 3'

Séquence de Kosak

mRNA

1 . 5'.nn... **gccgcccgc**a**ug** **gca** ugg aug aau ggc gua gag ggg uuu uc ac auu gag.. 3'
M A W M N G V E G F S S S F E

Cadre de lecture ouvert (ORF)

1 **gca** ugg aug aau ggc gua gag ggg uuu uc ac auu gag..
A W M N G V E G F S S F E ...

fermé (stop) *

2 **g**cau gga uga aug gcg uag agg ggu uuu cau cau uug ag..
H R * M A * R G F H H L

fermé (stop) *

3 **g**c/aug gau gaa uag cgu aga ggg guu uuc auc auu uga g..
M D E * R R G V F I I *

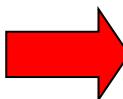


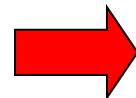
Tableau du Code génétique ("standard")

Correspondance des codons (du mRNA) avec les acides aminés

		Second letter								
		U	C	A	G					
First letter	U	UUU UUC UUA UUG	Phenyl-alanine Leucine	UCU UCC UCA UCG	Serine	UAU UAC UAA UAG	Tyrosine Stop codon Stop codon	Third letter		
	C	CUU CUC CUA CUG	Leucine	CCU CCC CCA CCG	Proline	CAU CAC CAA CAG	Histidine Glutamine	CGU CGC CGA CGG	Arginine	
A	A	AUU AUC AUA AUG	Isoleucine Methionine; start codon	ACU ACC ACA ACG	Threonine	AAU AAC AAA AAG	Asparagine Lysine	AGU AGC AGA AGG	Serine Arginine	Third letter
	G	GUU GUC GUA GUG	Valine	GCU GCC GCA GCG	Alanine	GAU GAC GAA GAG	Aspartic acid Glutamic acid	GGU GGC GGA GGG	Glycine	

Codons particuliers : **AUG**, codon d'initiation; **UAA**, **UAG**, et **UGA**, codons stop

2.10 – Structure des gènes



2.10.4 – Comparaison de la structure des gènes des eucaryotes et des procaryotes

	procaryotes	eucaryotes
- taille des gènes	petite	grande
- séquences régulatrices	petites	grandes
- introns	non	oui
- cistrons *	polycistroniques	monocistroniques
- information *	condensée	morcelée
- densité génique	forte	faible

* l'exemple du gène humain de la dystrophine est particulièrement frappant: à lui seul il occupe 2,4 Mbp, alors que dans le génome de *E. coli* la même quantité de DNA contient plus de 2000 gènes !

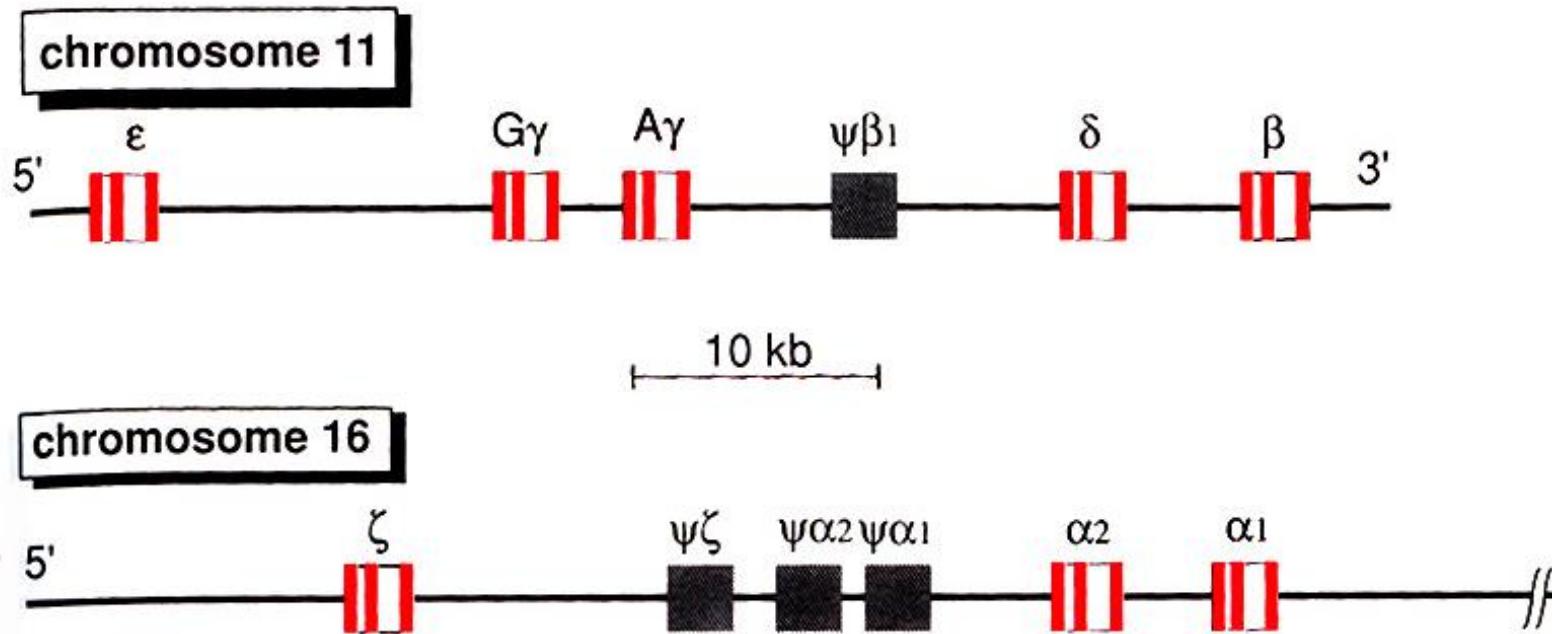
** attention les notions d'exon et de séquence codante ne sont pas superposables ! (les séquences codantes sont les parties codantes, cad traduites, des exons).

2.10 – Structure des gènes

2.10.5 – Familles de gènes (eucaryotes)

Exemple: famille des gènes de la globine de l'hémoglobine

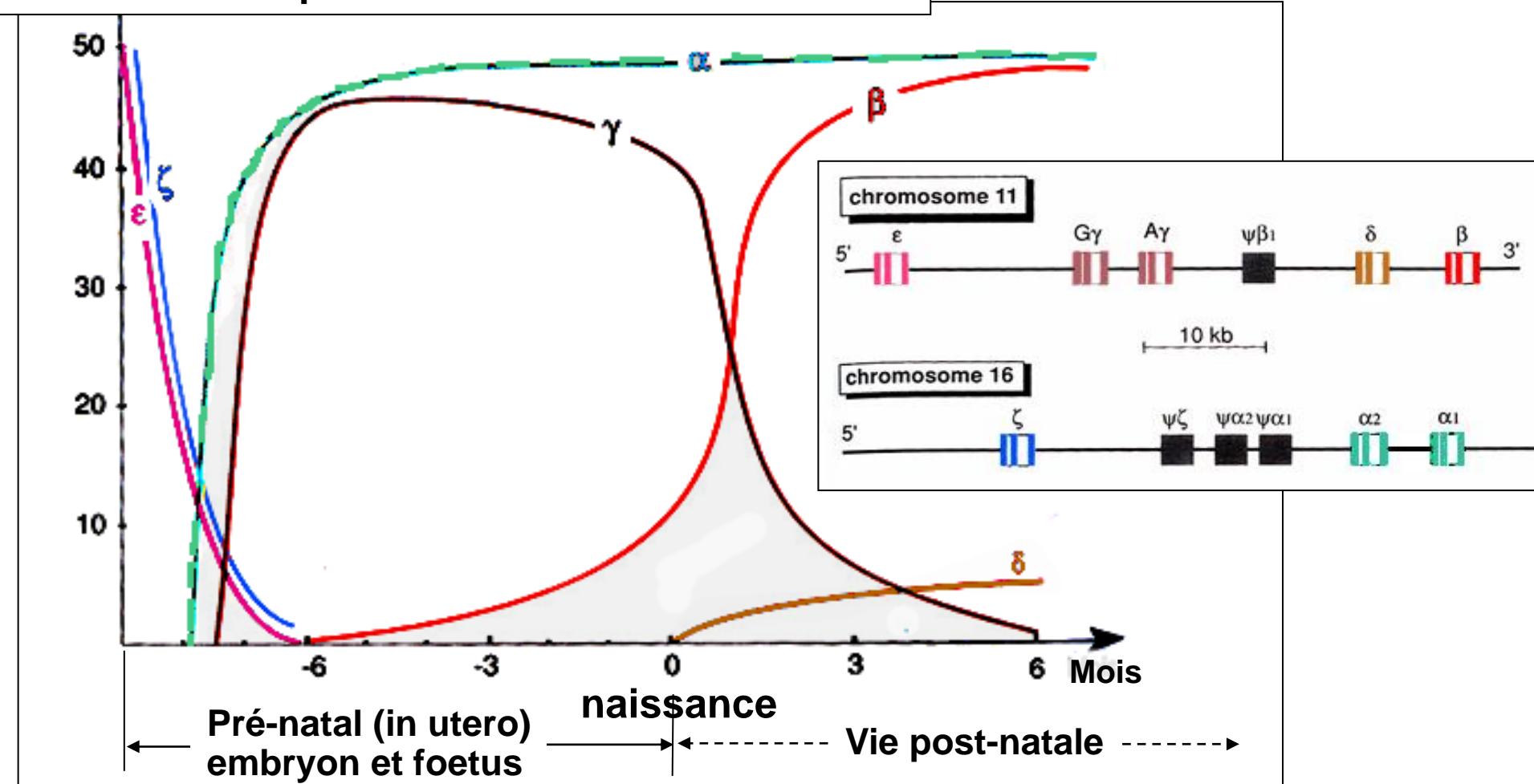
Organisation des gènes et pseudo-gènes sur les chromosomes 11 et 16, chez l'homme



2.10.5 – Famille de gènes (eucaryotes)

Exemple: famille des gènes de la globine de l'hémoglobine

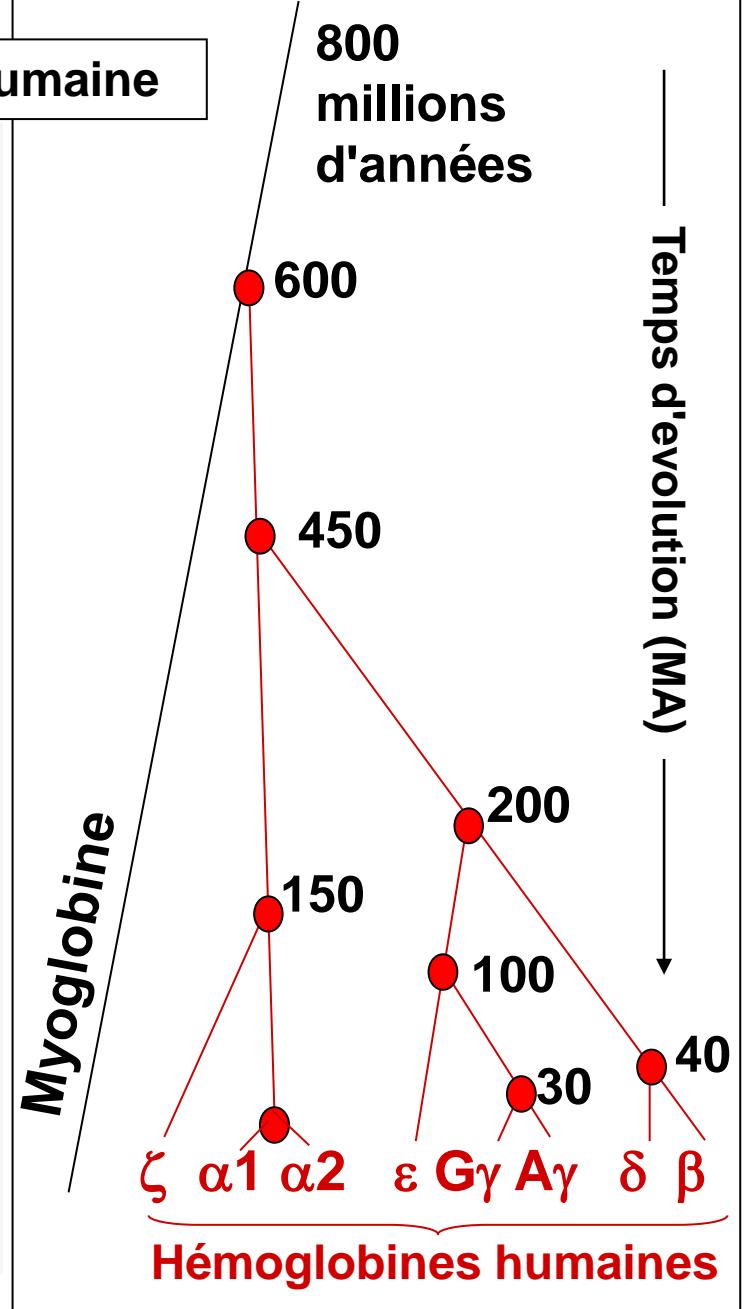
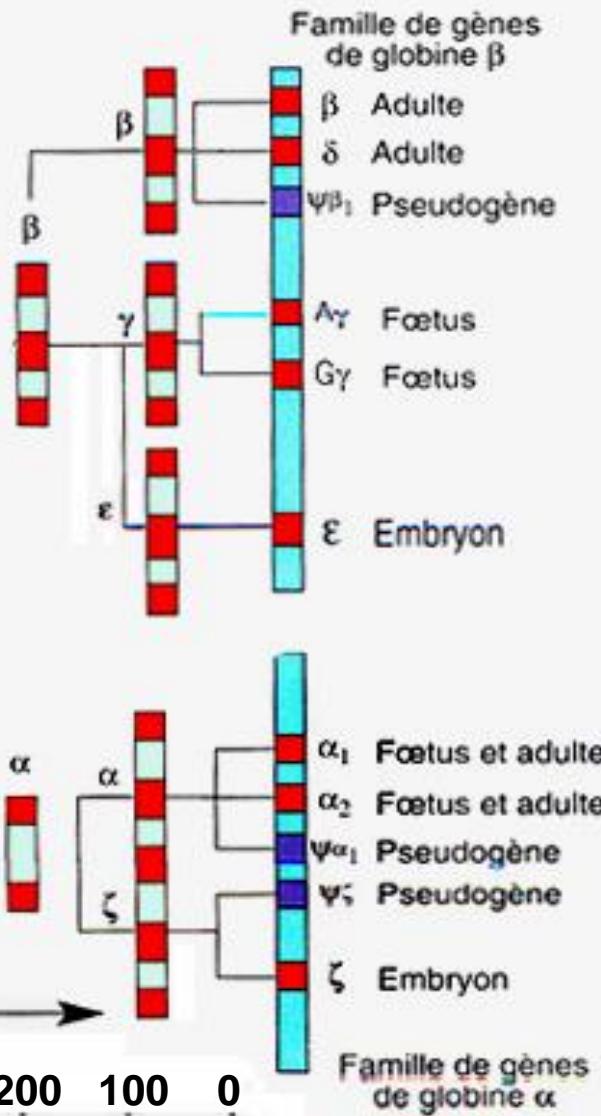
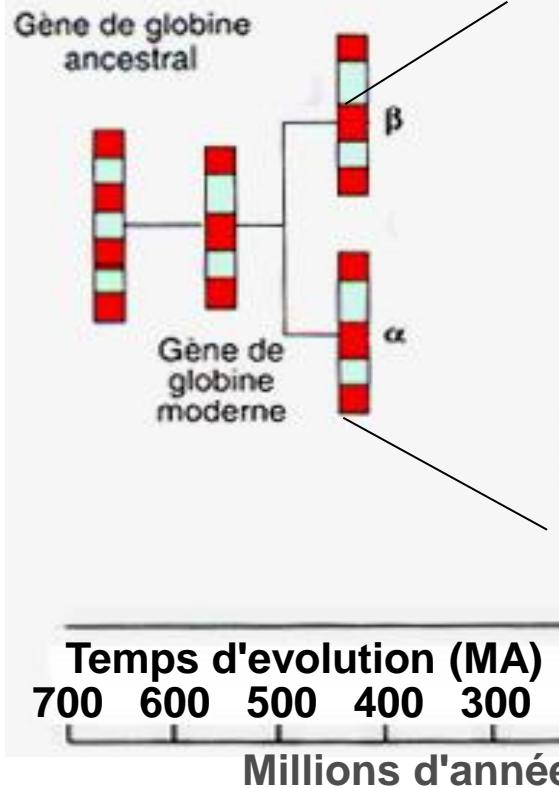
Expression des gènes de la globine au cours de la vie anté-natale et post-natale.



2.10.5 – Famille de gènes (eucaryotes)

Evolution de la famille des gènes de la globine humaine

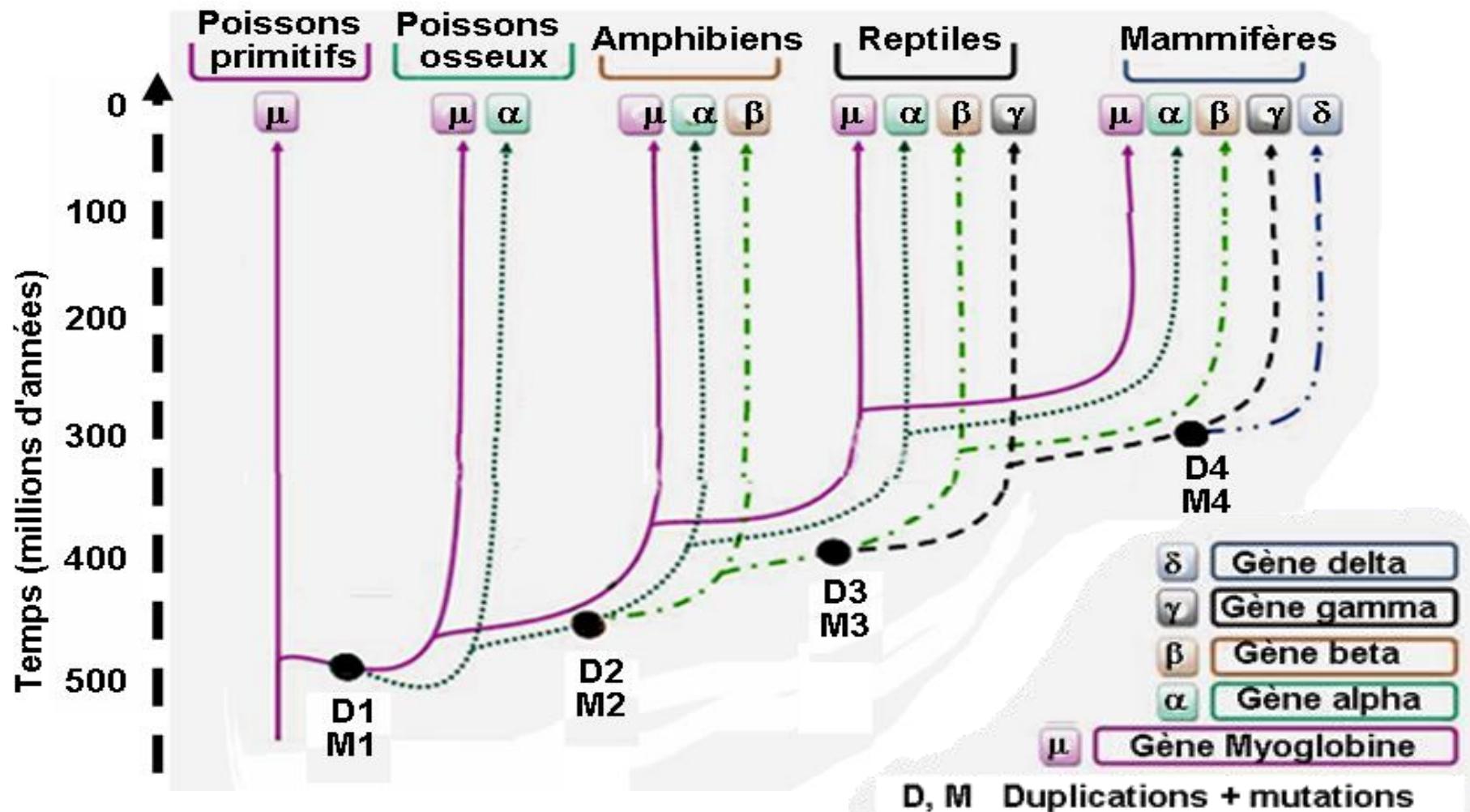
- duplications
- remaniements
- délétions
- divergences (mutations)



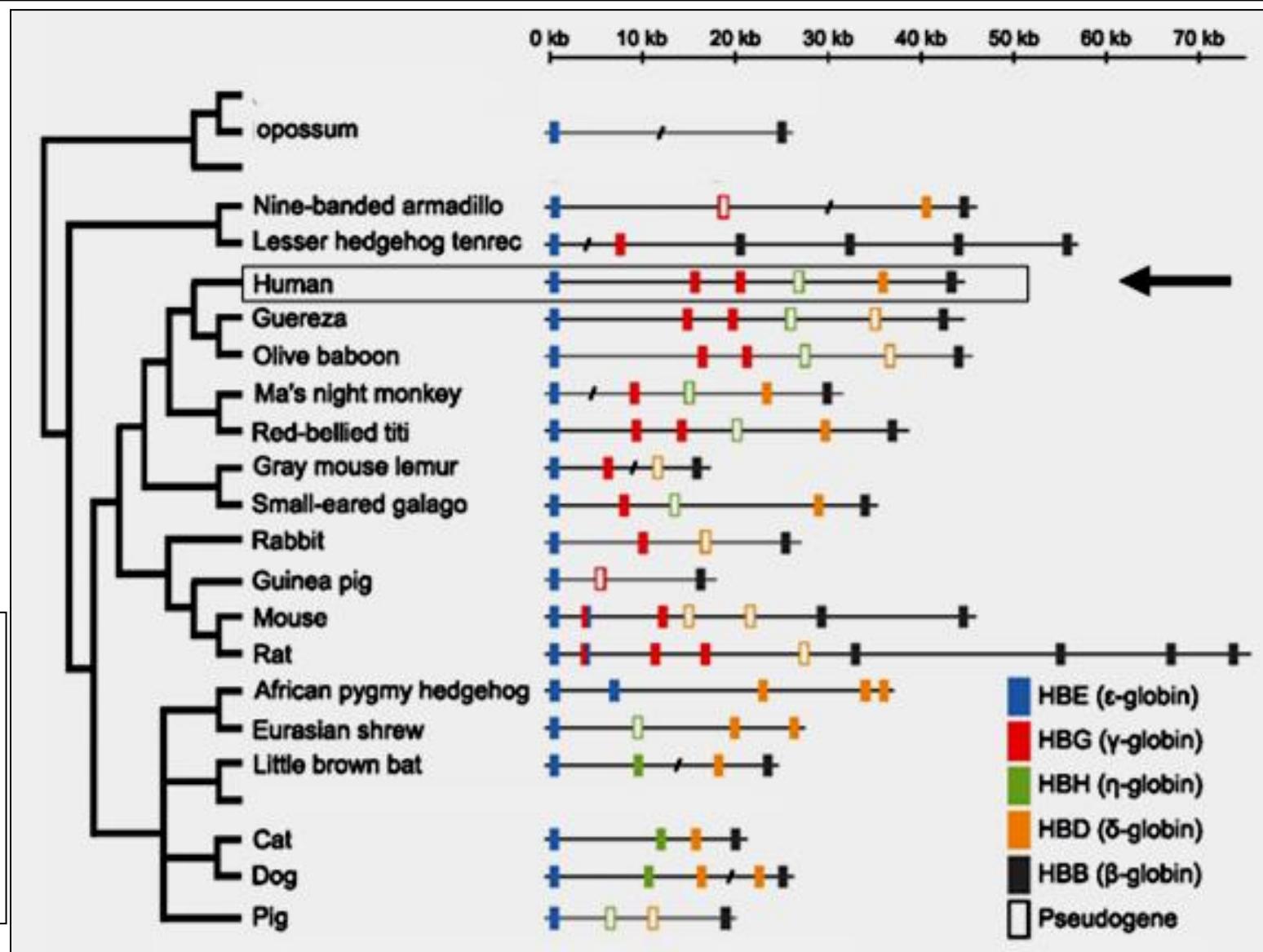
2.10.5 – Famille de gènes (eucaryotes)

170

Schéma évolutif (simplifié *) de la formation de la famille des gènes de la globine des vertébrés



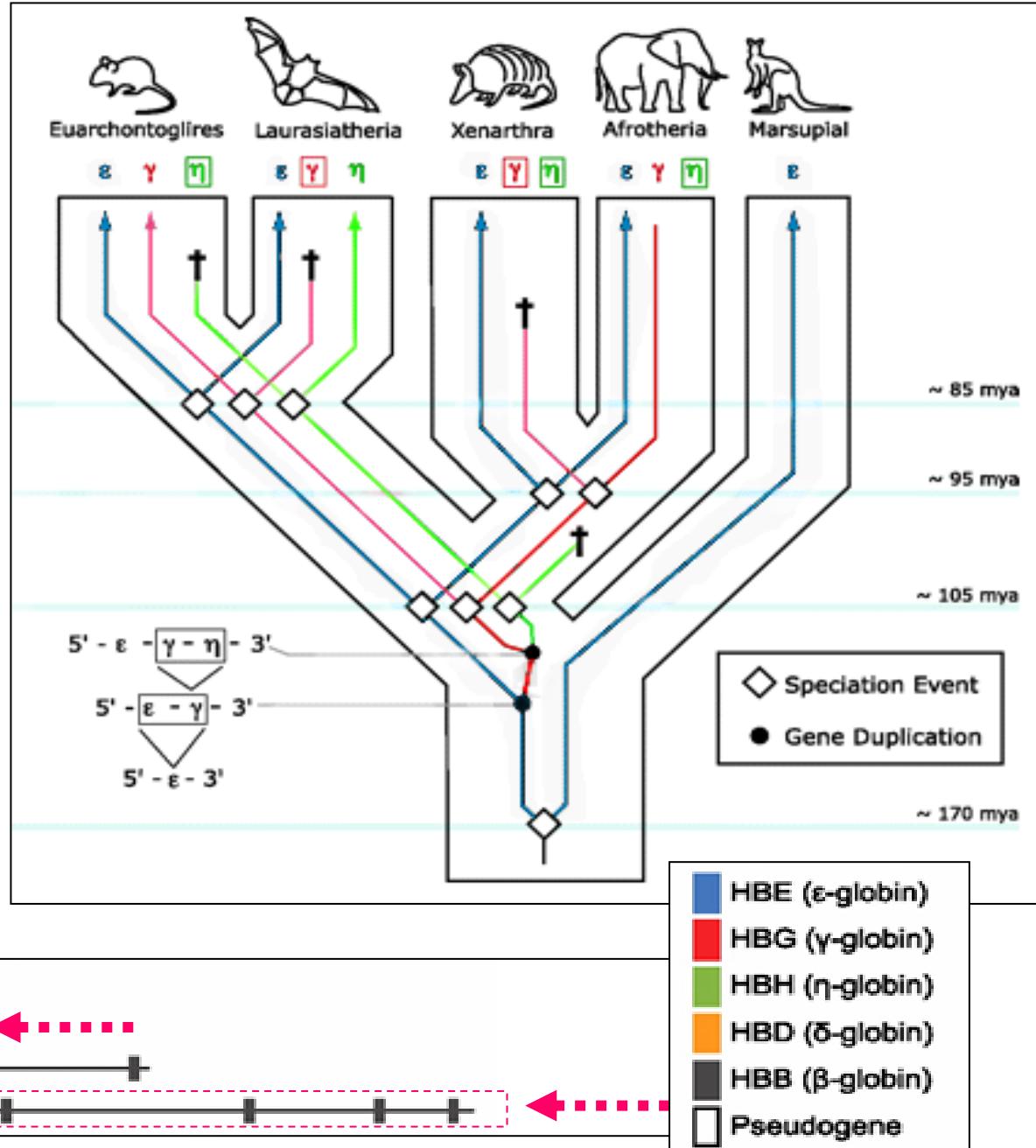
* simplifié, car toutes les duplications de gènes ne sont pas représentées: ex. ε et η)

Evolution de la sous-famille β (ou ϵ) des gènes de la globine chez les mammifères

2.10.5 – Famille de gènes (eucaryotes)

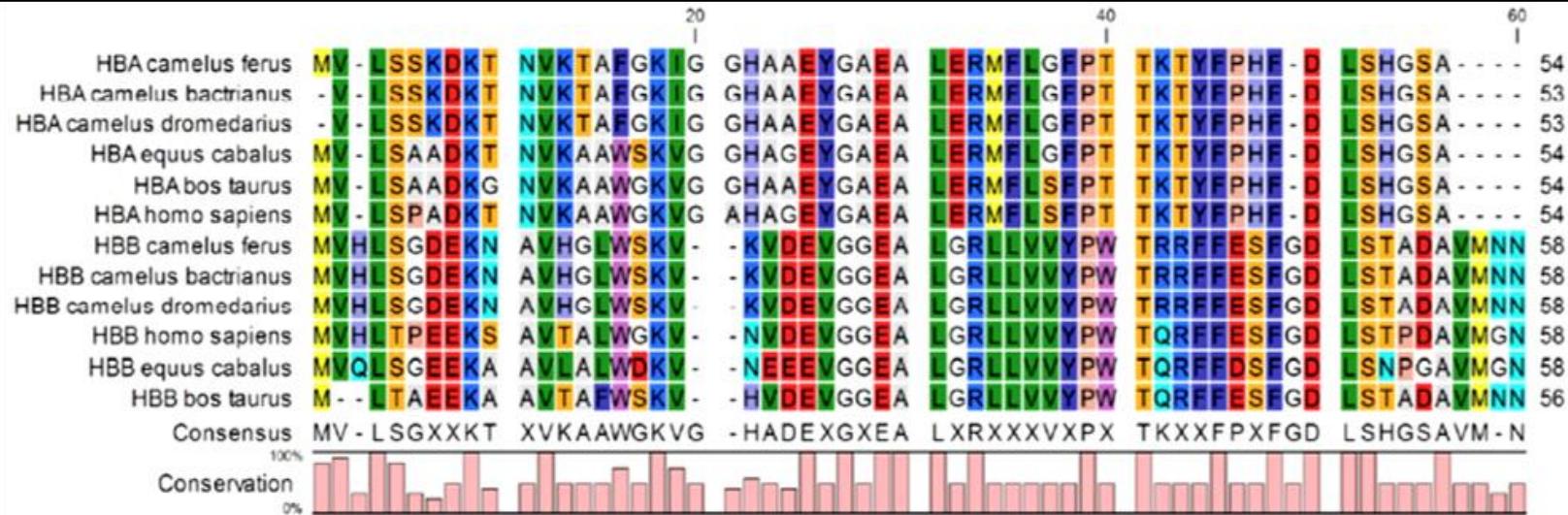
Evolution des gènes de la globine des mammifères : à droite, une partie (ϵ , η et γ) de la sous-famille ϵ (ou β)

À partir d'ancêtres communs, les gènes ont continué à évoluer dans chaque lignage. Chez le **rat**, les gènes β et γ se sont dupliqués, mais chez le **cobaye**, δ a disparu et γ est inactif (pseudogène)

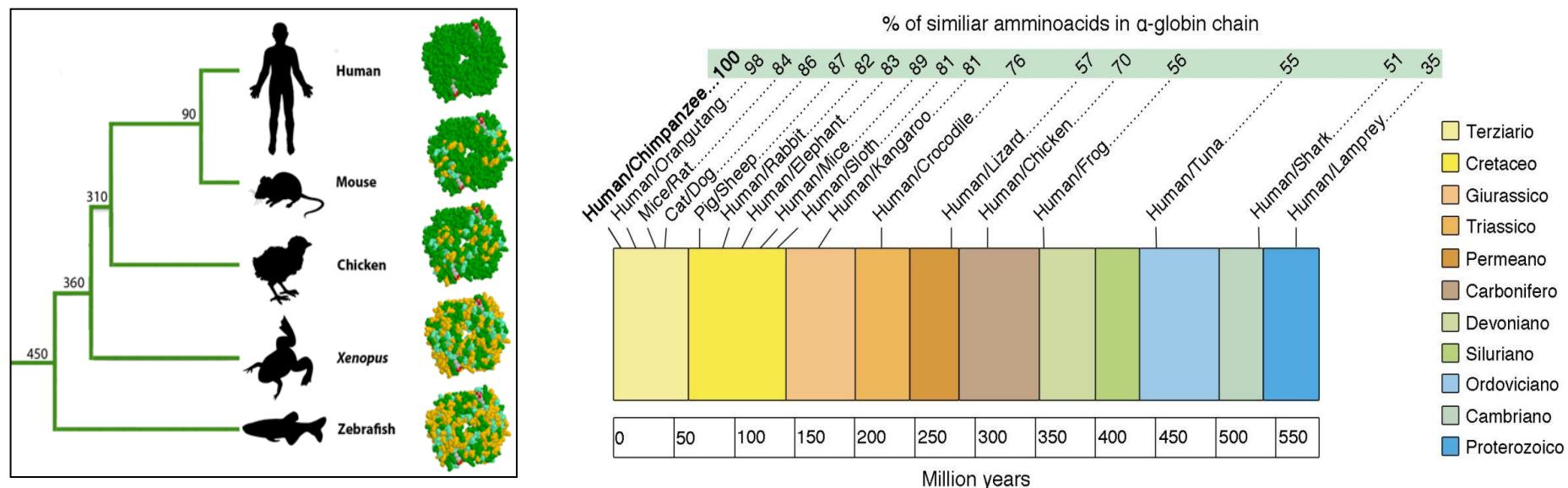


2.10.5 – Famille de gènes (eucaryotes)

Evolution (variation) moléculaire des gènes dans le temps (taux de mutation)



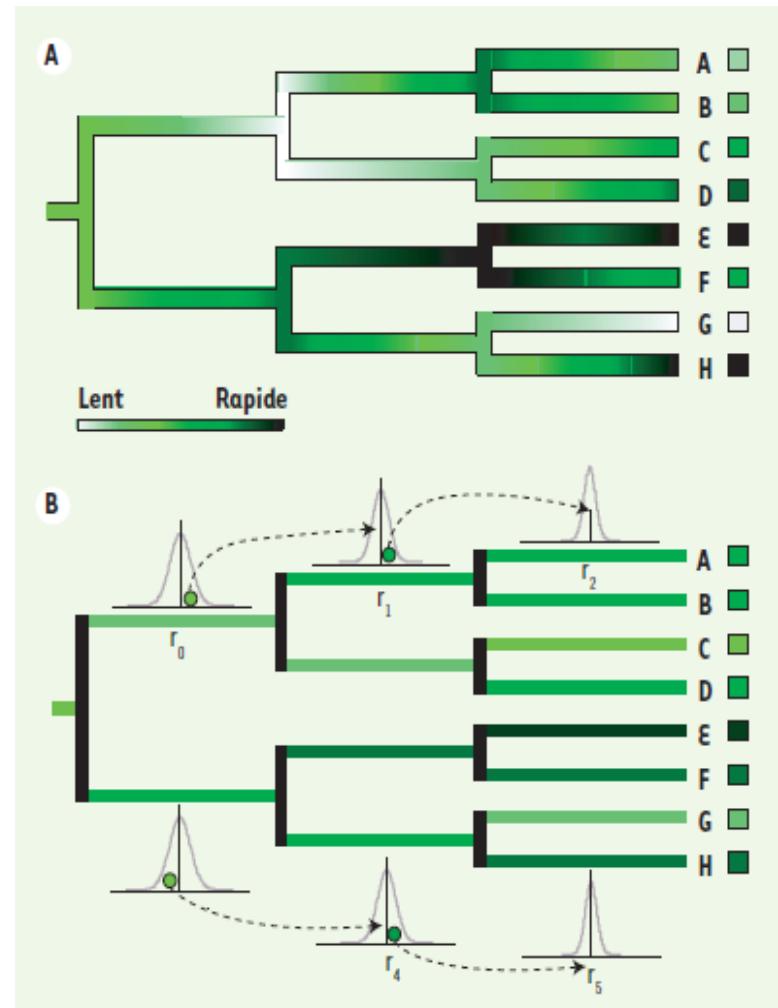
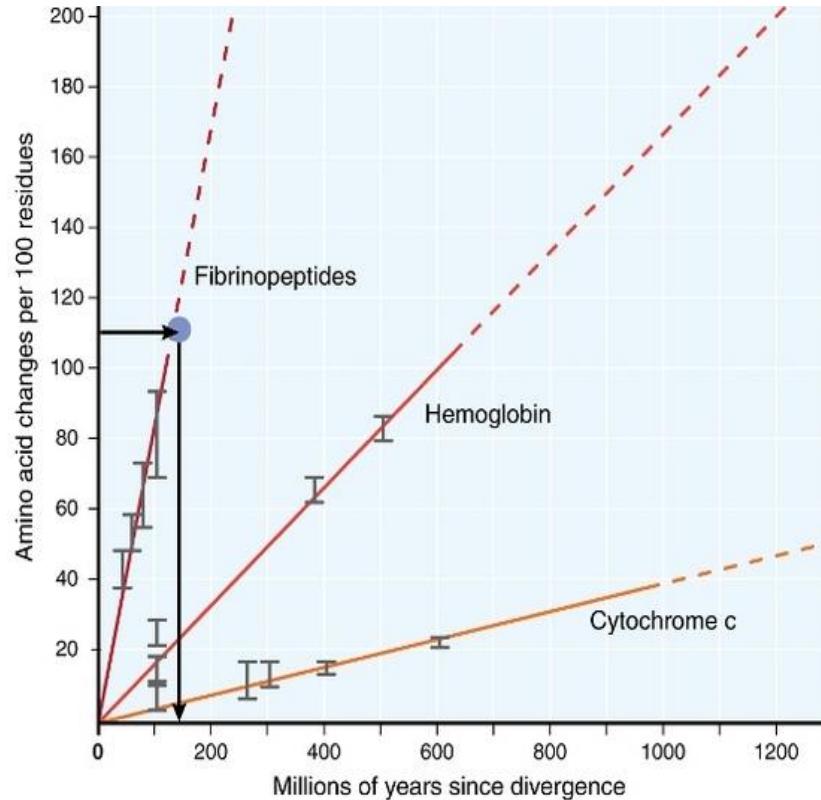
Variations de séquence en fonction du temps et phylogénie moléculaire



Evolution (variation) de séquence des gènes: Taux de mutation, horloge moléculaire

Des horloges moléculaires variables:

- tous les gènes n'évoluent pas à la même vitesse
- la vitesse d'évolution n'est pas toujours constante dans le temps

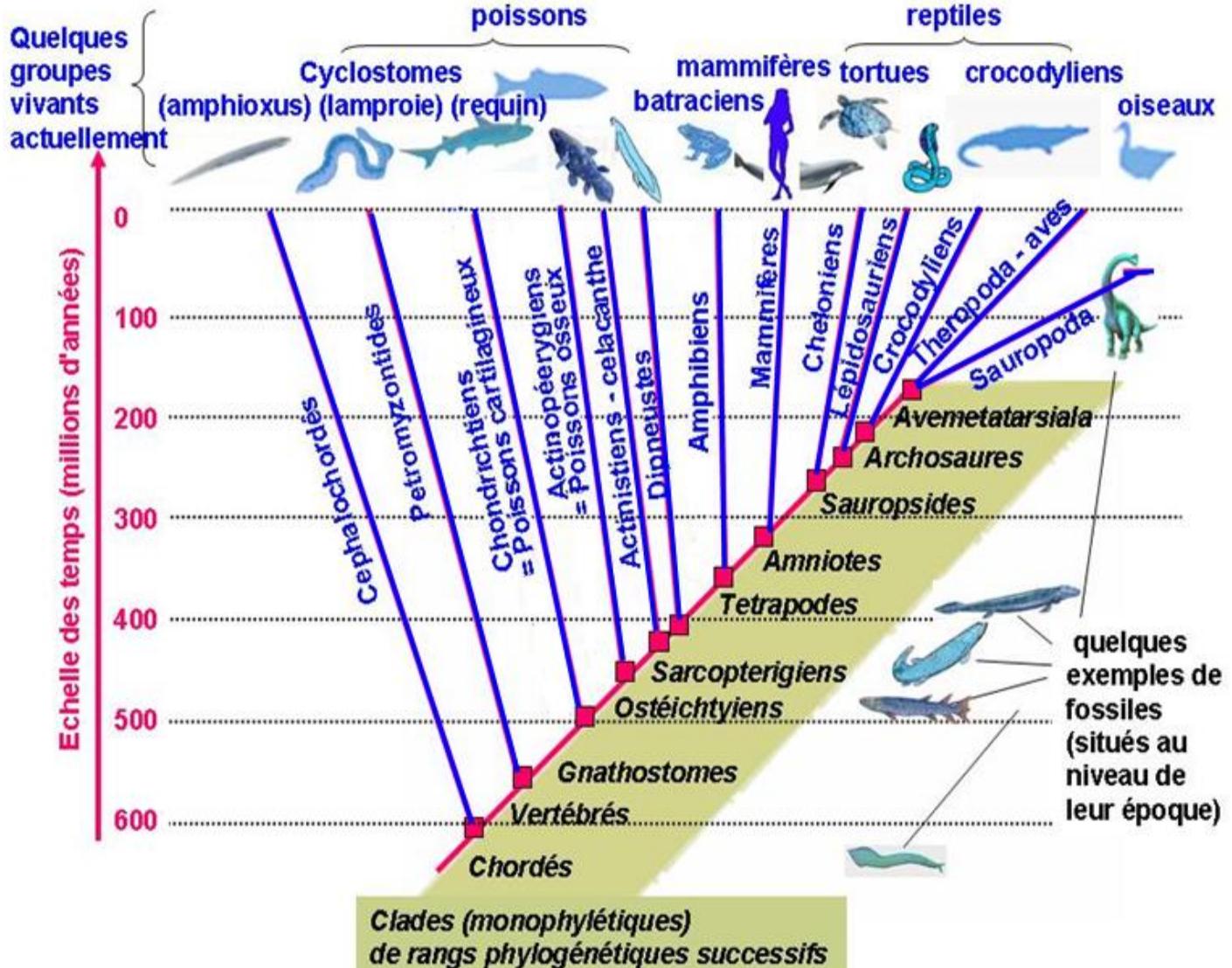


Arbre phylogénétique (simplifié) des vertébrés (utilisant des données paléontologiques et moléculaires)

175

- Un "groupe monophylétique" ou "**clade**" inclut l'ancêtre commun (virtuel) de ce groupe et l'ensemble de sa descendance (exemple: mammifères).
- Un "groupe paraphylétique" est un groupe dérivé d'un même ancêtre commun, mais qui n'inclut pas tous les descendants de l'ancêtre commun (exemples: reptiles, poissons..).

- en gris-vert, exemples de clades successifs (des animaux à partir des chordés)
 - les carrés indiquent la position du dernier ancêtre commun des groupes considérés.
 - en bleu, exemples de sous-groupes (phylum, classe..) de ces clades.
 - la distance (ou la proximité) phylogénétique entre deux espèces peut s'évaluer par la période de temps (estimée) de divergence des deux espèces (ou du temps séparant les espèces actuelles de leur dernier ancêtre commun).
 - sur un plan phylogénétique, deux lignées sont d'autant plus proches que leur temps de divergence par rapport au présent est court (ou que leur dac est récent): par exemple, un mammifère est plus proche d'un crocodylien (dac ~ 320 Ma) que d'un amphibien (dac ~ 360 Ma).

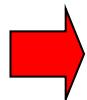


**Fin
du Chapitre 2
DNA**

Chapitre 5 - Mutations Pathologie Moléculaire

- 1 - Macro-lésions**
- 2 - Micro-lésions**
- 3 - Exemples**

Pathologie Moléculaire du DNA et des Protéines



1 - Macro-lésions : lésions altérant de grands segments de DNA

Les macro-lésions

- Délétions (perte de DNA) de grands fragments et fusions de gènes
- Duplications et amplifications (gain de DNA supplémentaire)
- Inversions et translocations

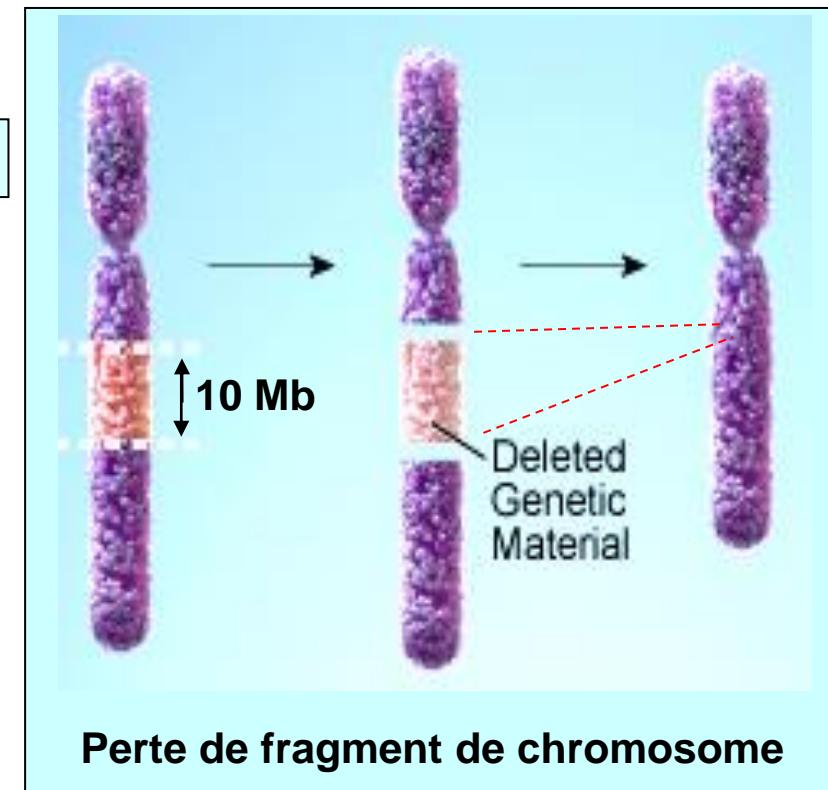
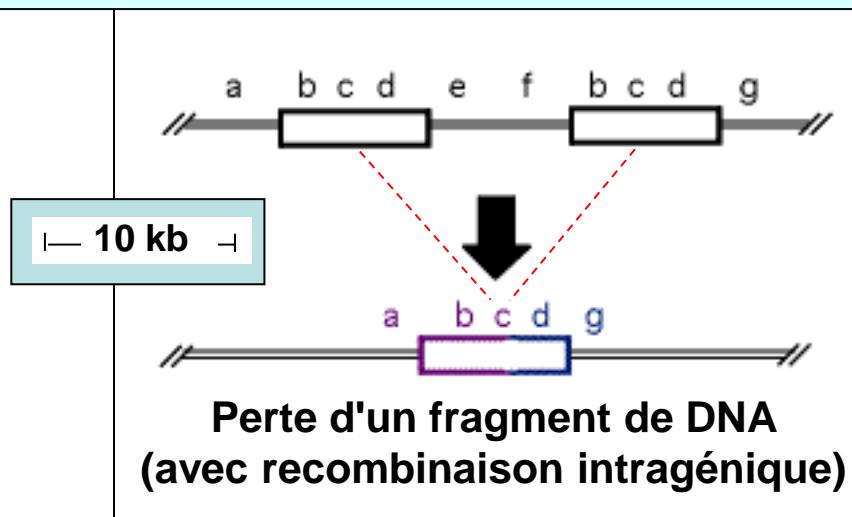
Les mécanismes des macro-lésions

- Recombinaisons inégales
- Transposition
- Cassures et réparations imparfaites
(ex. excision de boucles chromatинienne)

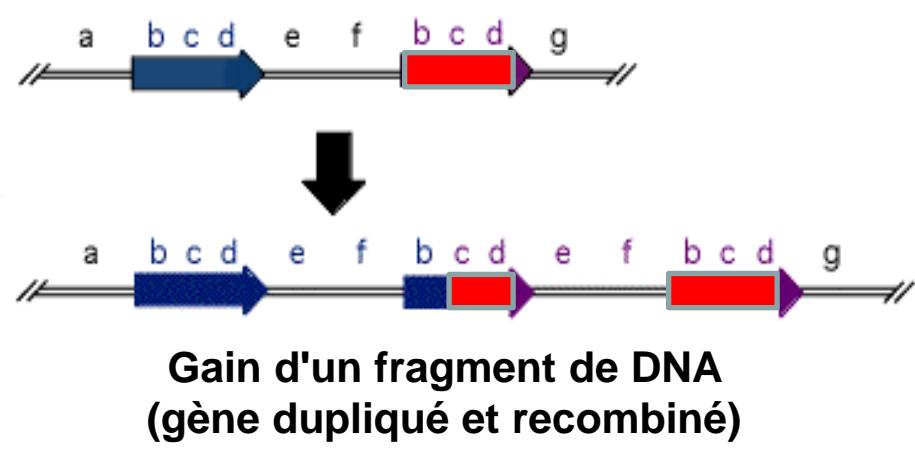
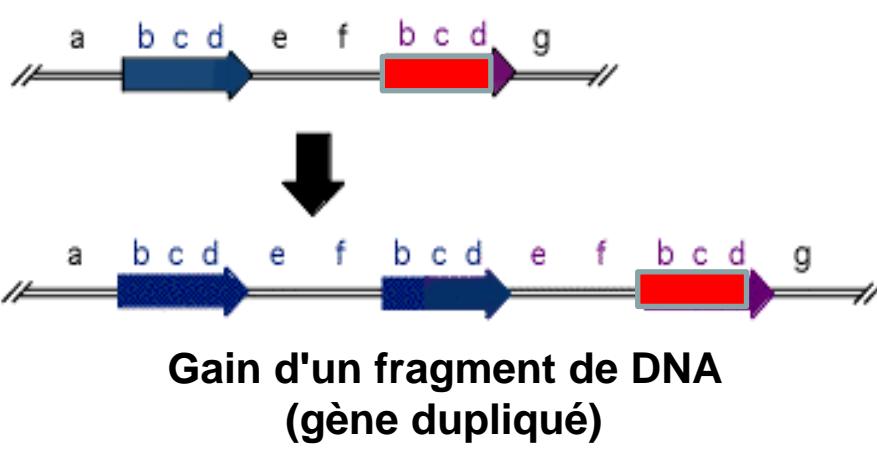


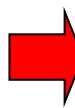
1 - Macro-lésions

- Délétions de grands fragments de DNA



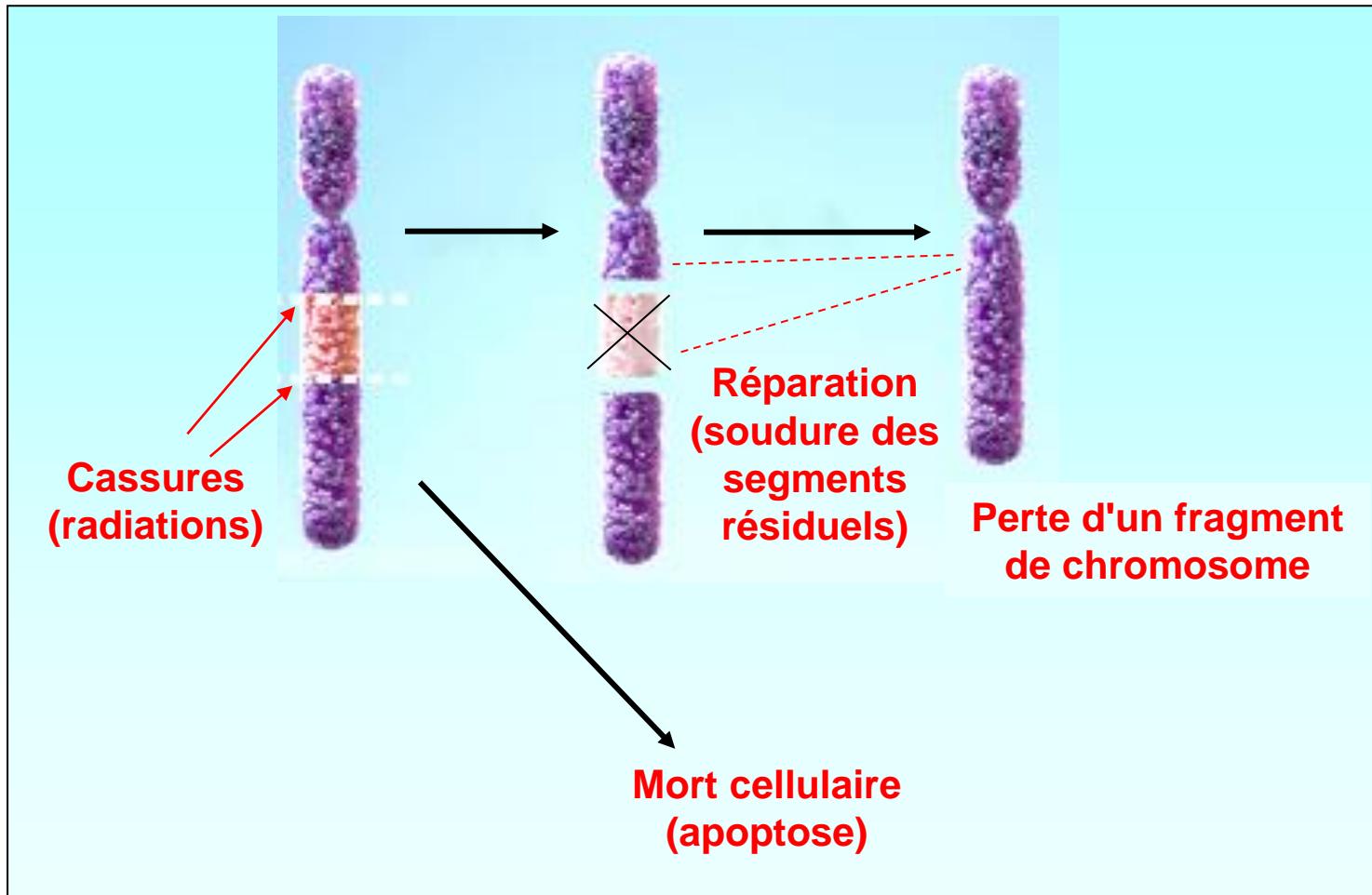
- Duplication de grands fragments de DNA





1 - Macro-lésions

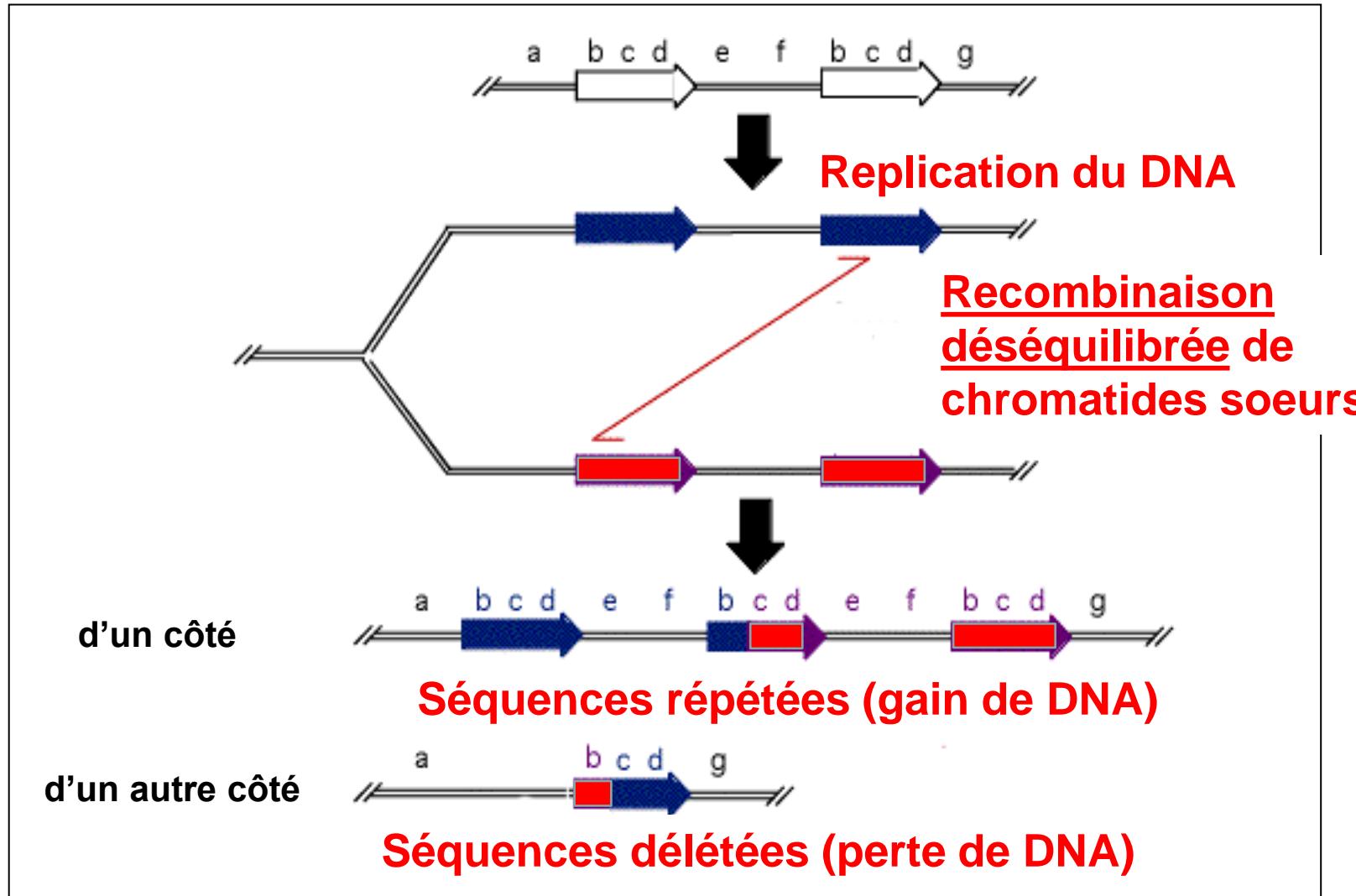
- Exemple de mécanisme de délétion partielle
d'un bras de chromosome

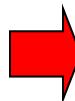




1 - Macro-lésions

- Exemple de mécanisme de duplication de grands fragments de DNA par recombinaison déséquilibrée (inégale) de chromatides sœurs.



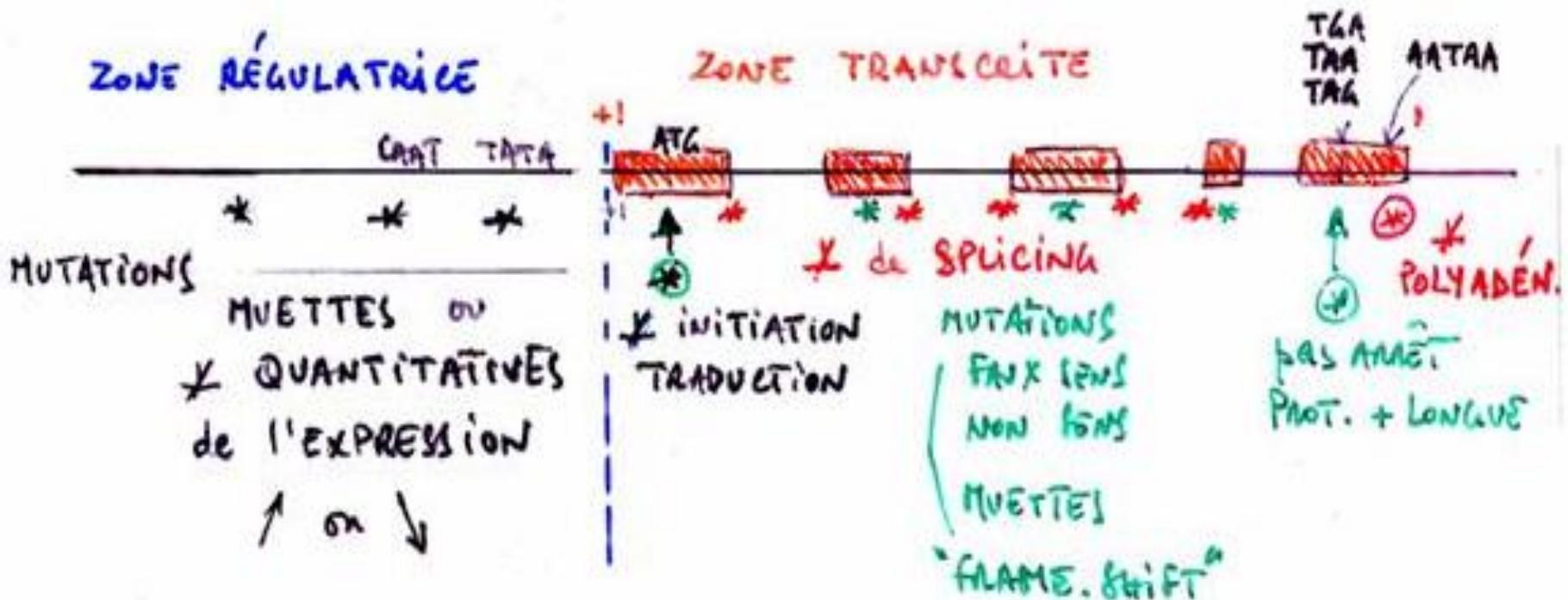


2 - Micro-lésions

Microlésions ~ Mutations ponctuelles

- Changement d'une base
- Délétion ou insertion d'une (ou quelques) base(s)

- MUTATIONS PONCTUELLES

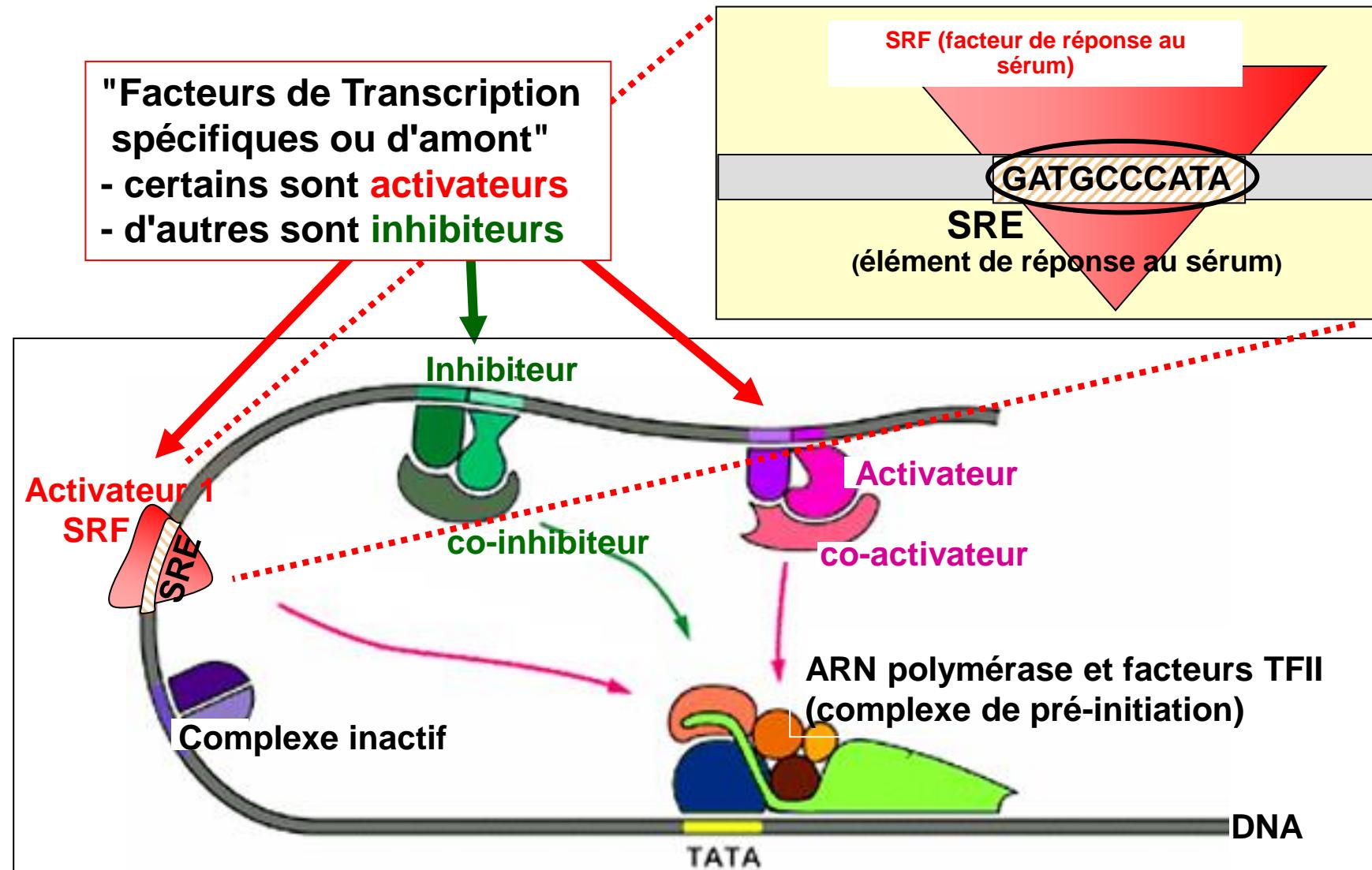


2 - Micro-lésions

Mutations (ponctuelles) dans les zones régulatrices

- Mutation des zones ‘neutres’
(en dehors d'une ‘box’ ou d'un Elément de Réponse)
→ pas (ou peu) d'effet
 - Mutation d'une ‘box’ ou d'un Eléments de Réponse
→ effet quantitatif (expression du gène augmentée ou diminuée)
- (voir dia suivante)

Mutation d'un ER (élément de réponse) → baisse d'affinité pour le facteur de transcription spécifique (FTS, soit activateur, soit inhibiteur)



Co-activateur: facteur protéique qui interagit et renforce l'effet d'un activateur.
Co-inhibiteur: facteur protéique qui interagit et renforce l'effet d'un inhibiteur.

2 - Micro-lésions

Mutations (ponctuelles) dans les zones transcrrite et codante

Exemple: Changement d'une base d'un codon

- Mutations "faux sens" : changement de l'acide aminé
- Mutations non sens (nouveau codon stop) : amputation de la protéine
- Mutations silencieuses : pas de changement de l'acide aminé

Exemples

Faux sens

UUA → UCA

Leu → Ser

Non sens

UUA → UGA

Leu → stop

Silencieuse

UUA → UUG

Leu → Leu

AUG initiateur →
pas de traduction

		Second letter					
		U	C	A	G		
First letter	U	UUU UUC UUA UUG	Phenylalanine Leucine	Serine	Tyrosine Stop codon Stop codon	Cysteine Stop codon Tryptophan	
	C	CUU CUC CUA CUG	Leucine	Proline	Histidine Glutamine	Arginine	
A	AUU AUC AUA	Isoleucine	Threonine	Asparagine Lysine	Serine Arginine		
	AUG	Methionine; start codon					
	GUU GUC GUA GUG	Valine	Alanine	Aspartic acid Glutamic acid	Glycine		
		Third letter					
		U	C	A	G		

2 - Micro-lésions

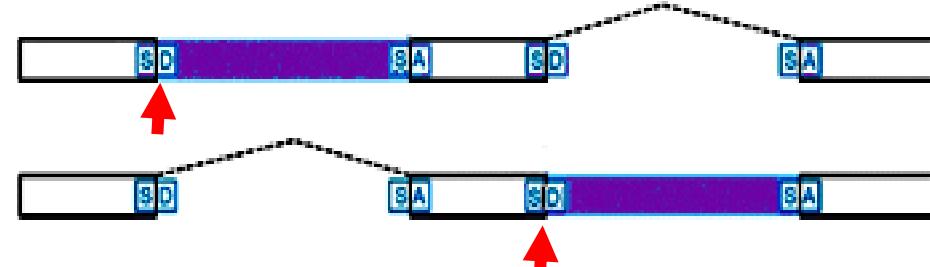
Mutations (ponctuelles) dans les zones transcrive non codante (par exemple intron):

- Dans certains cas → pas d'effet
- Dans d'autres cas → perturbation fonctionnelle, par exemple par mutation dans des zones nécessaires au splicing
→ anomalie de splicing

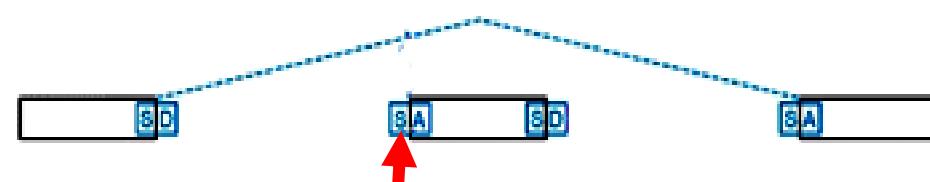
Splicing normal



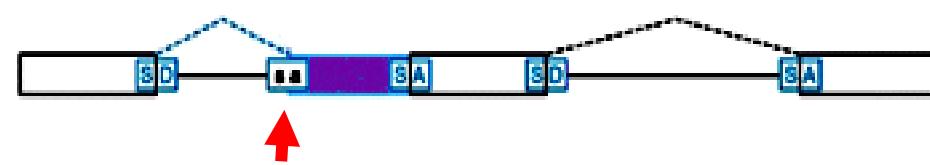
Rétention d'intron

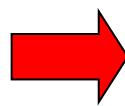


Perte d'exon ("exon skipping")



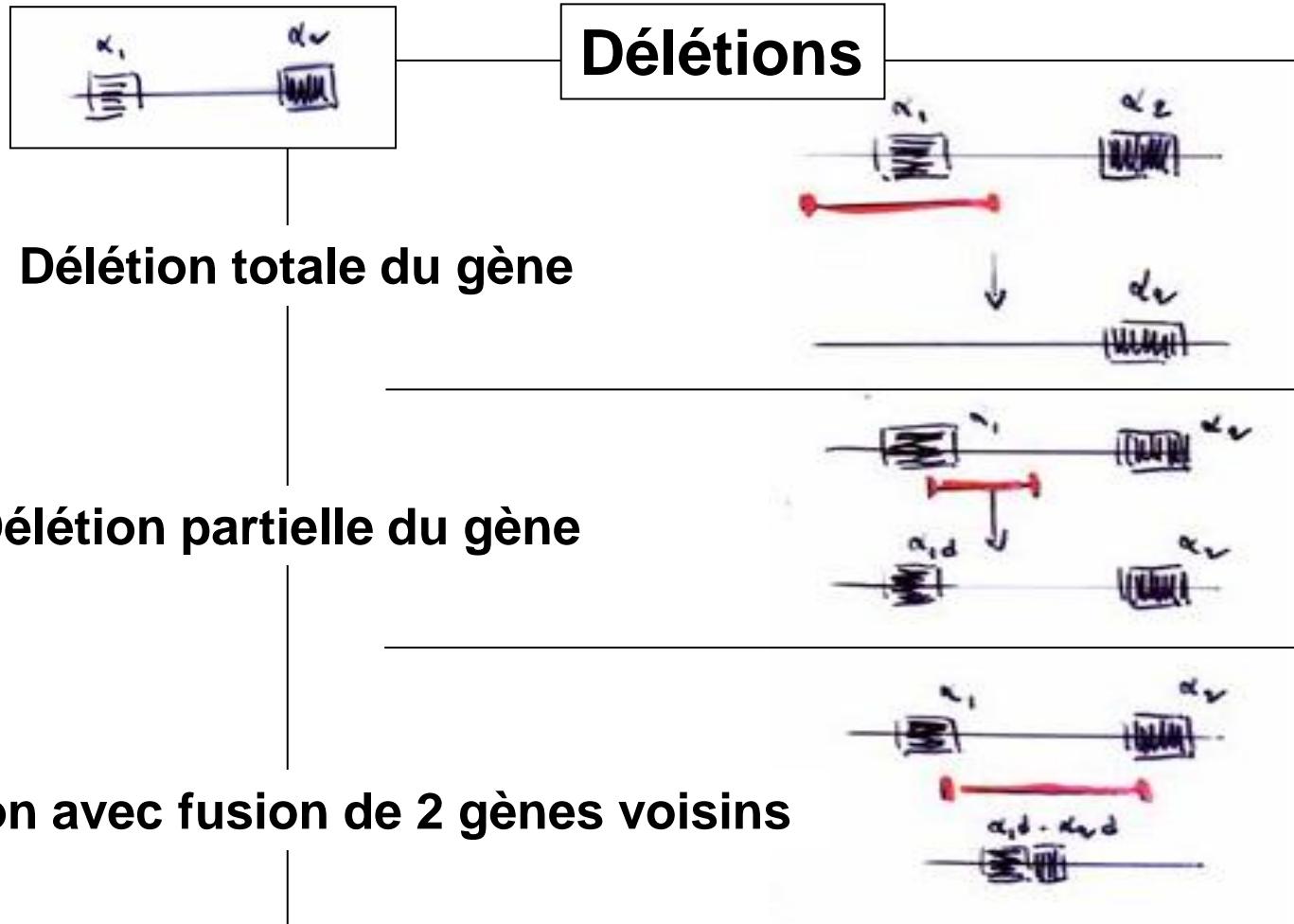
Activation d'un site cryptique





3 – Exemples observés en médecine

- Délétions touchant des gènes de la famille de la globine α

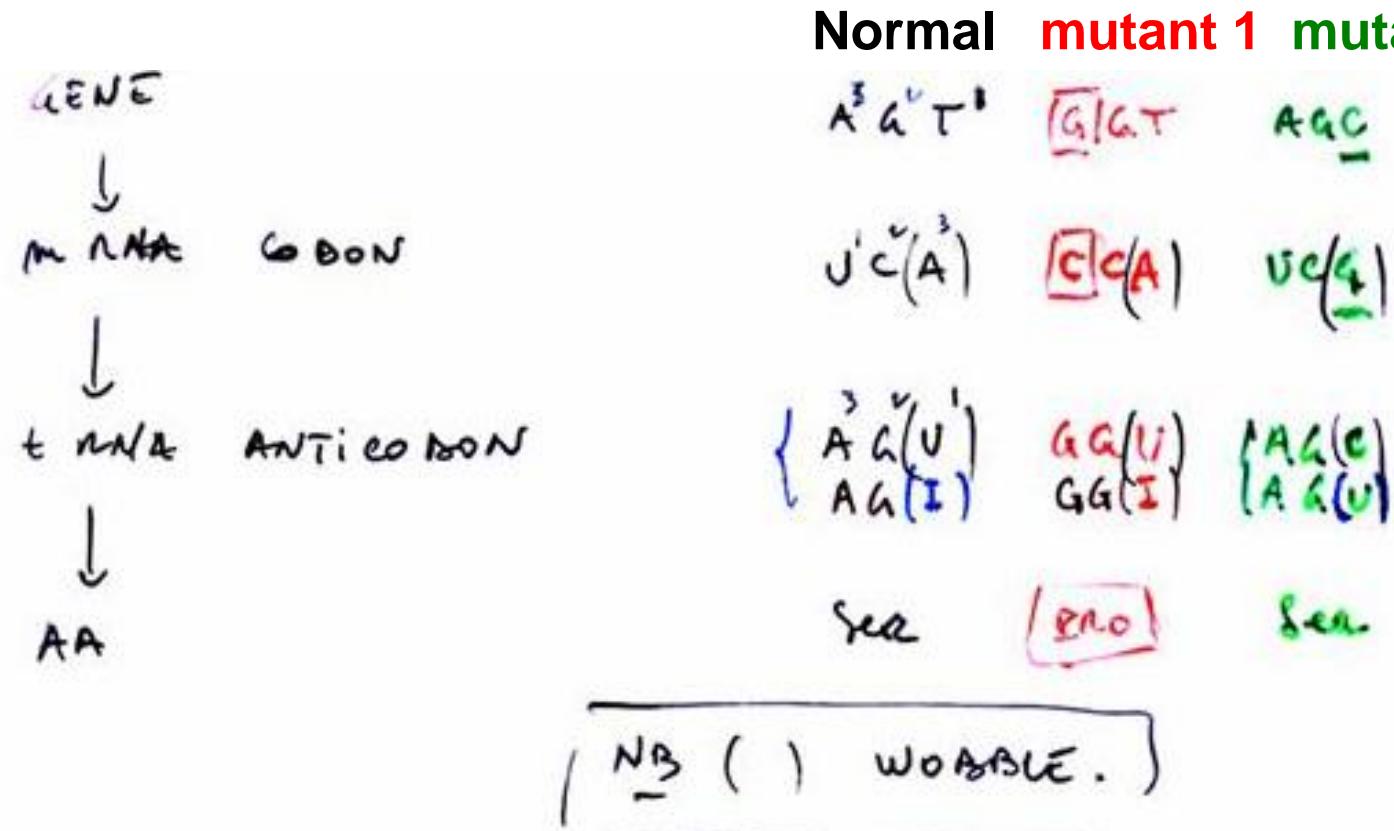


3 – Exemples de mutation ponctuelle sur la zone codante

Substitution de Bases

- Transition (même groupe: Pu → Pu ou Py → Py) ex. : AT → **GC**
- Transversion (groupe différent: Pu → Py ou Py → Pu) ex. : TA → **GC**

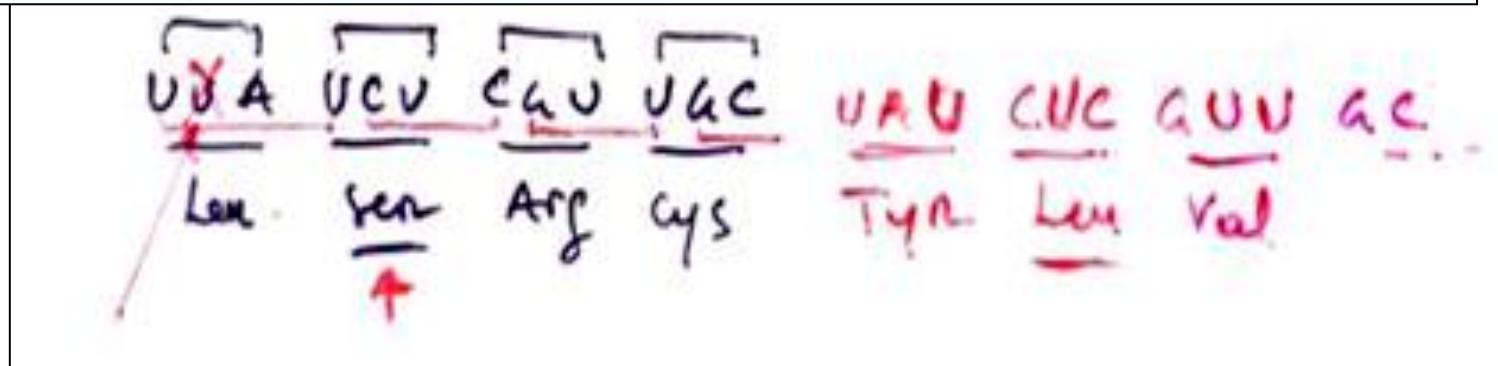
NB - Savoir raisonner sur ces mutations



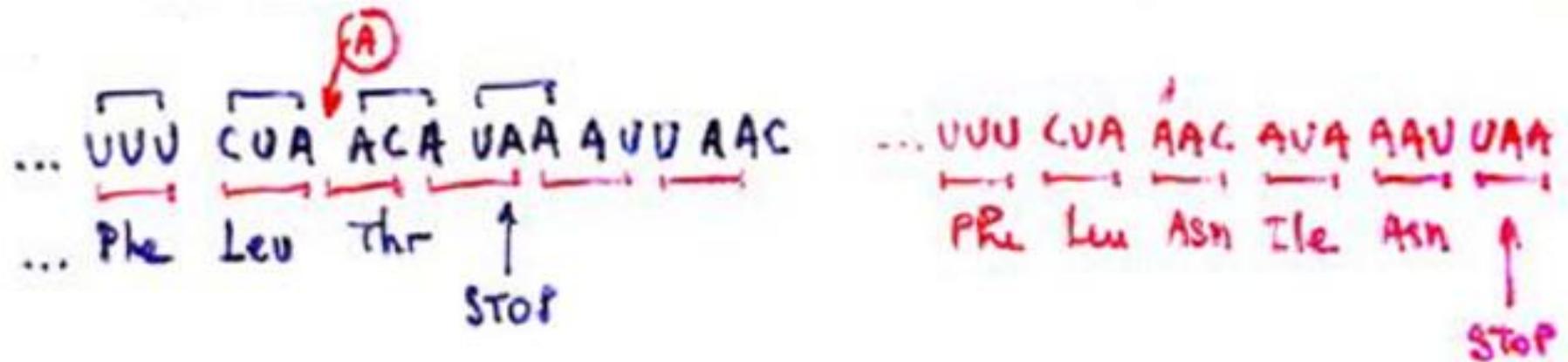
3 – Exemples de mutation ponctuelle sur zones codantes

Mutation "frame shift" (changement du cadre de lecture)

Exemple 1 : Délétions ponctuelles (perte d'une base) dans une zone codante



Exemple 2 : Insertions ponctuelles (insertion d'une base supplémentaire)

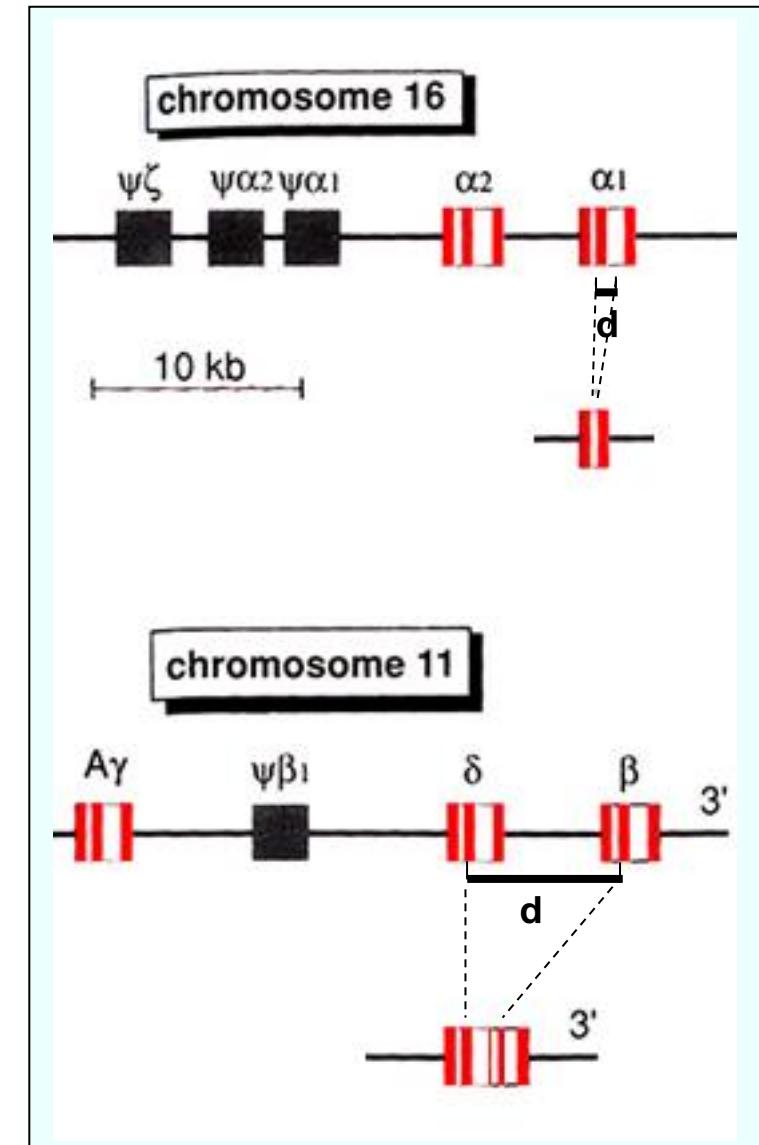


3 – Exemples de mutations sur les gènes de la globine

Une grande variété de mutations des gènes de la globine

- Exemples de Macro-lésions

Types de lésion	Conséquences
Délétion intra-génique partielle de α_1	gène non exprimé α -thalassémie
Fusion entre les 2 gènes $\delta\beta$	gène faiblement exprimé et protéine chimère Hb Lepore $(\delta\beta)^\circ$ thal (Inde)



3 – Exemples de mutations réellement observées

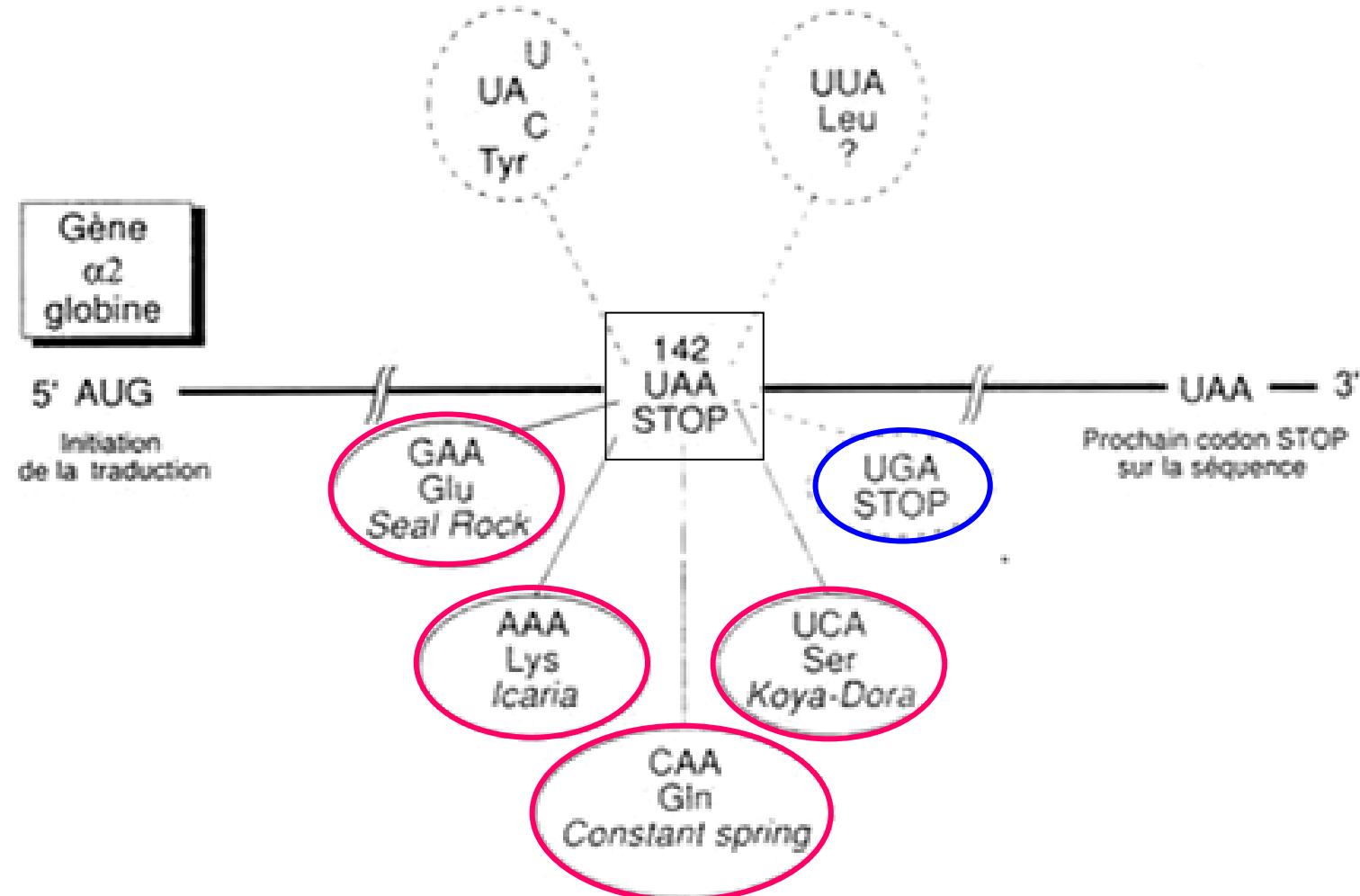
Mutations des gènes de la globine - Divers types de Micro-lésions

	<i>Microlésions</i>	<i>Phénotype (pathologie)</i>
Mutation ponctuelle faux sens	protéine anormale	Hb S
Mutation non-sens	gène non exprimé	β -thal° ³⁹
Mutation « frame-shift »	gène non exprimé	certaines β -thal°
Mutation codon d'initiation ou de terminaison	gène non exprimé	
Mutation promoteur	expression diminuée	certaines β -thal ⁺
Mutation affectant la maturation du mRNA :		
1. à un site d'épissage (donneur ou accepteur)	mRNA absent	certaines β -thal°
2. création d'un nouveau site d'épissage dans un intron	mRNA diminué ou aboli	certaines β -thal ⁺ et β -thal°

3 – Exemples de mutations réellement observées

Mutations des gènes de la globine

- Micro-lésions : mutations du codon stop (fin de traduction)

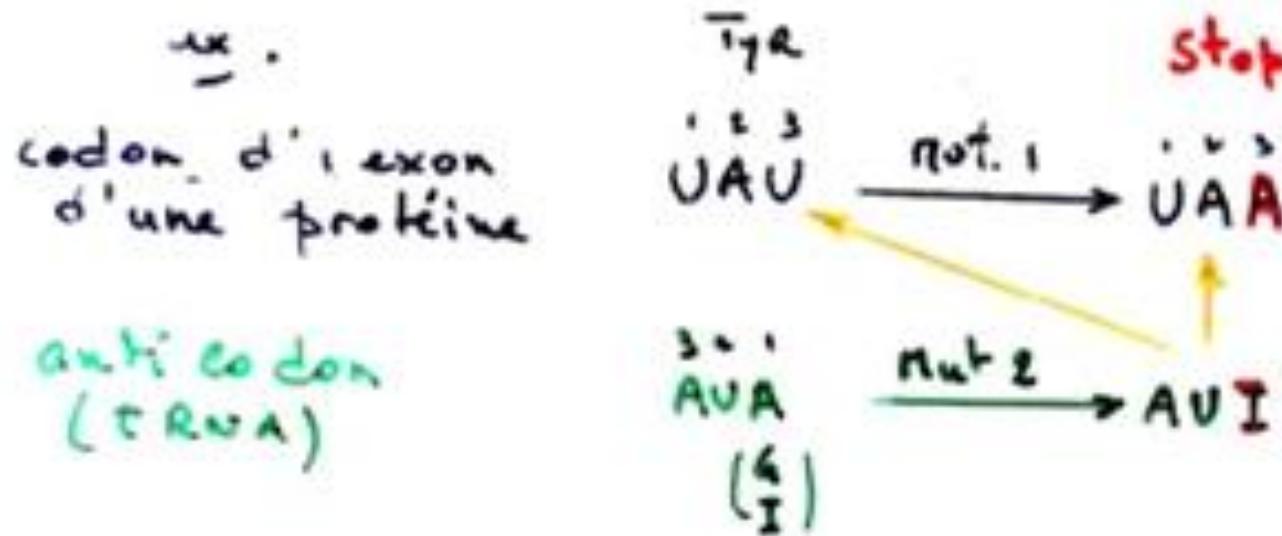


4 – Réversion des mutations ponctuelles

1 – Réversions du codon muté



2 – cas particulier : tRNA suppresseurs (bactéries)

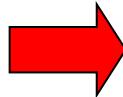


NB – Il y a bien réversion de la 1ère mutation, mais des anomalies de traduction altèrent (partiellement) d'autres protéines...

Fin du chapitre : Mutations

Chapitre 6

**Exemples d'inhibiteurs
(antibiotiques et antimétabolites)
interférant avec des étapes
de Biologie Moléculaire**



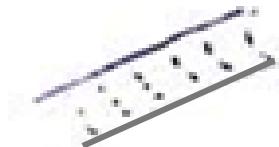
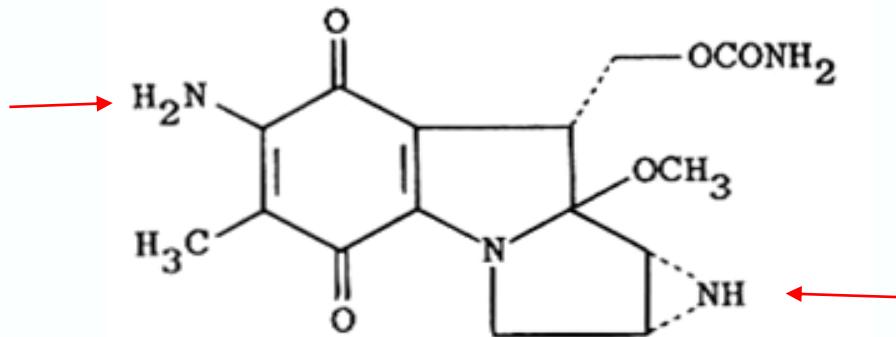
Modifications du DNA : liaisons covalentes

Mitomycine C

Utilisée en médecine dans le traitement de cancers

Mitomycine C → activation métabolique → agent alkylant bifonctionnel

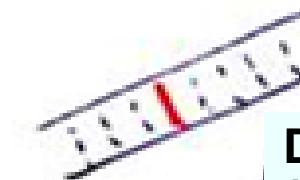
→ pontages covalents
intercaténaires du DNA →
blocage de la réPLICATION



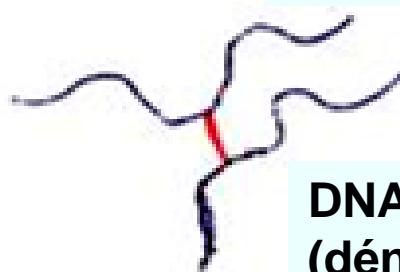
DNA normal natif



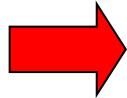
DNA normal dénaturé



DNA ponté par la mitomycine
(non dénaturé)

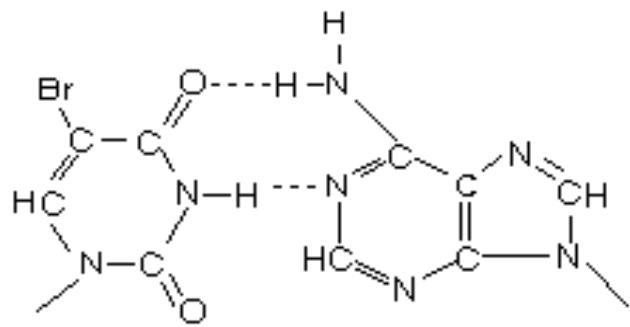


DNA ponté par la mitomycine
(dénaturé)

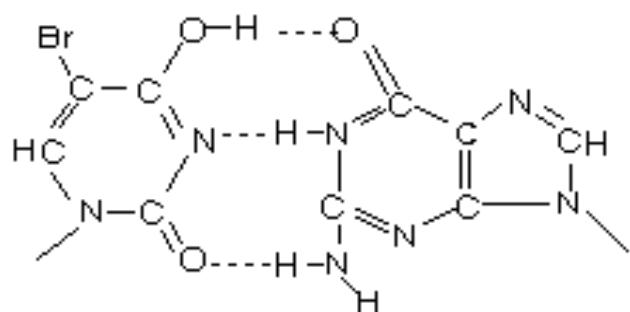


– Agents mutagènes

- BrU (5-bromo-uracile)



5-Bromouracil
forme céto



5-Bromouracil
forme ènol

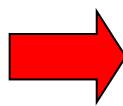
BrU (5-bromo-uracile) est un analogue de la thymine, métabolisé (en BrdU) et incorporé dans le DNA comme la thymine.

Mais l'électronégativité de Br modifie l'équilibre des tautomères en stabilisant les formes mineures (qui sont donc plus abondantes)

La forme majeure (céto) s'apparie avec A comme le thymine, tandis que la forme mineure (enol) s'apparie avec G (misappariement).

Comme les formes mineures sont plus nombreuses, les misappariements sont plus nombreux et le taux résiduel d'anomalies après proof reading est plus élevé qu'avec la thymine → mutations ponctuelles (transitions AT → GC) plus nombreuses.

Donc, BrU est un agent mutagène.

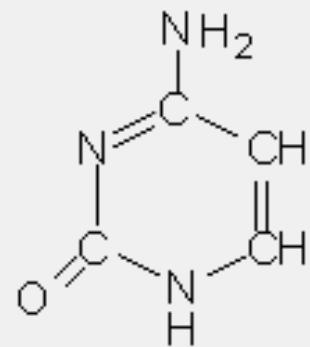


– Agents mutagènes

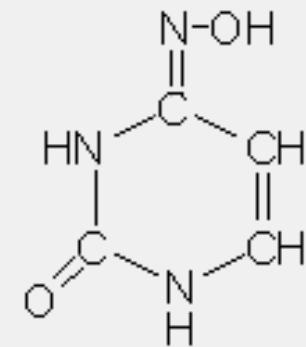
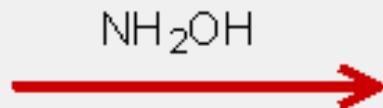
- Hydroxylamine (NH_2OH)

L'Hydroxylamine (NH_2OH) peut réagir avec la cytosine pour donner de l'hydroxylaminocytosine qui s'apparie avec A (au lieu de appariement de C avec G) → mutation (transition) CG → AT

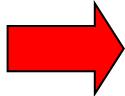
L'Hydroxylamine est donc mutagène.



Cytosine



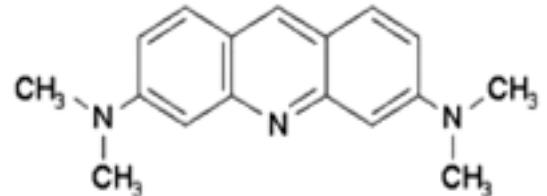
Hydroxyl-amino-cytosine



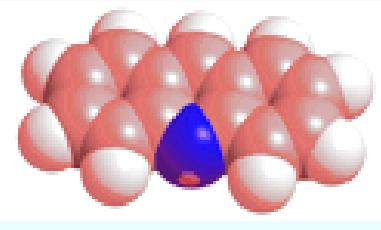
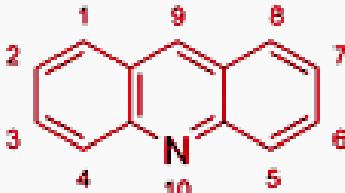
– Agents intercalaires (et mutagènes)

- Acridine orange et Ethidium

Acridine orange



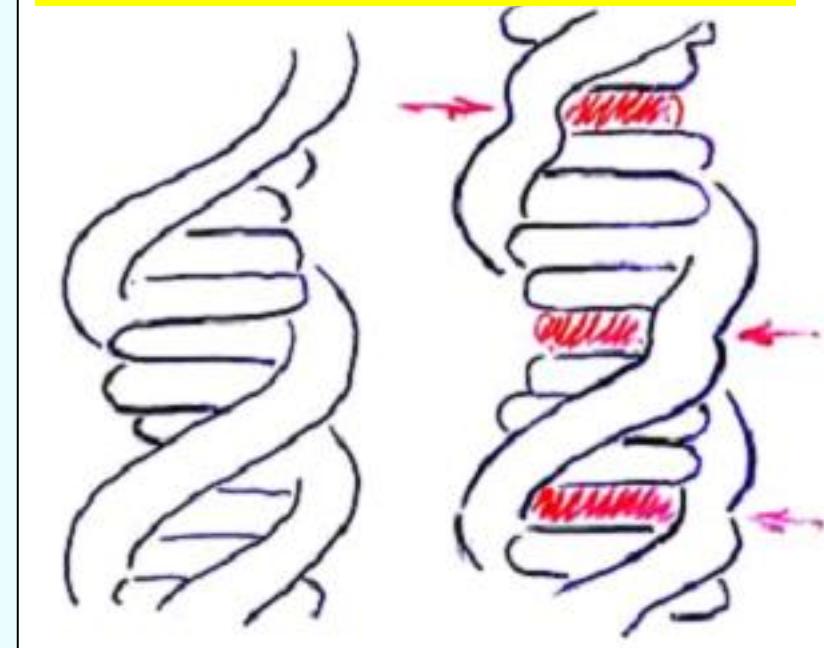
noyau acridine
(tricyclique plan)



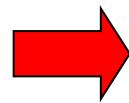
Ethidium



Agent intercalaire → insertion entre les plateaux de paires de bases de l'ADN

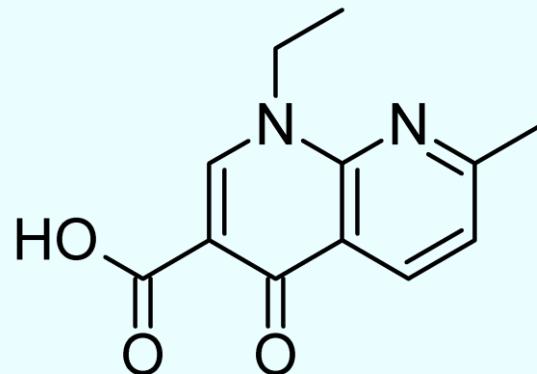


Les agents intercalaires sont mutagènes → anomalies de réPLICATION (par exemple, insertions qui peuvent provoquer des mutations « frame shift »)



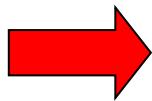
– Inhibiteurs d'enzymes du DNA

Acide nalidixique (famille quinolones)



Inhibition de la DNA-gyrase
(Topo-isomérase II)
bactérienne → alteration de
la structure du DNA (pas de
super-tours)

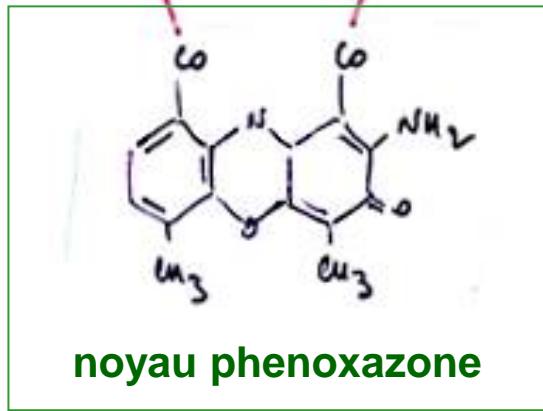
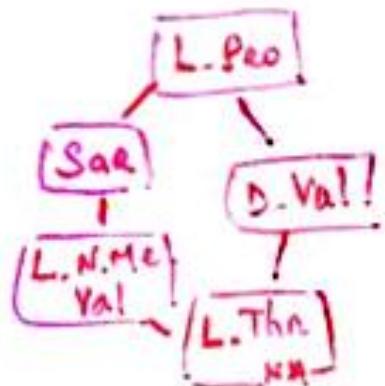
Utilisé en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)



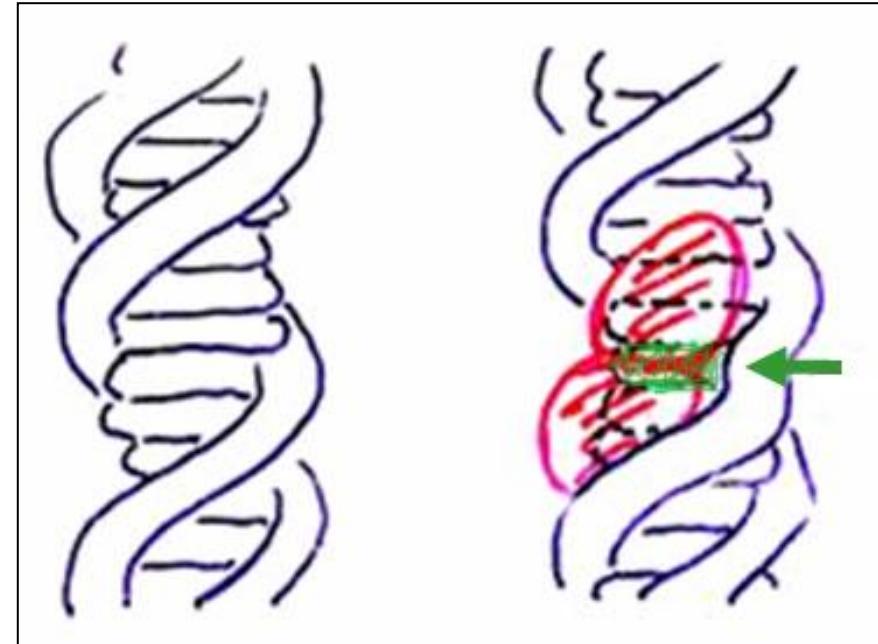
– Inhibiteurs de la Transcription

Actinomycine D

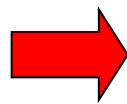
2 peptides cycliques



Intercalation du noyau phenoxyzone entre 2 plateaux de paires de bases.
 → inhibe la transcription (à faible dose, perturbe peu la réplication)
 → perturbe les topoisomérasées

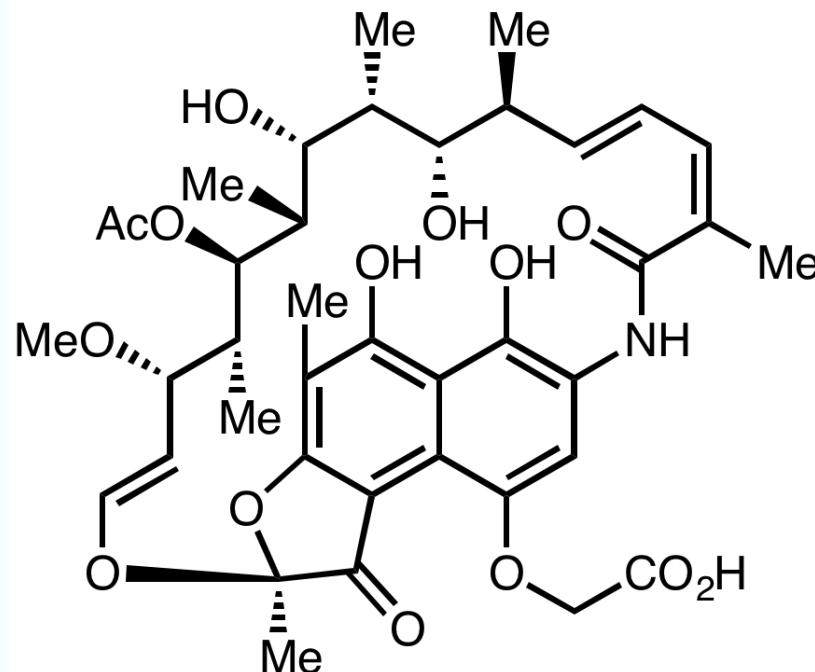


Utilisée en biologie cellulaire expérimentale et en médecine comme anticancéreux



– Inhibiteurs de la Transcription

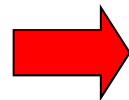
Rifamycine B



Inhibition de la sous-unité β de la RNA-Polse bactérienne

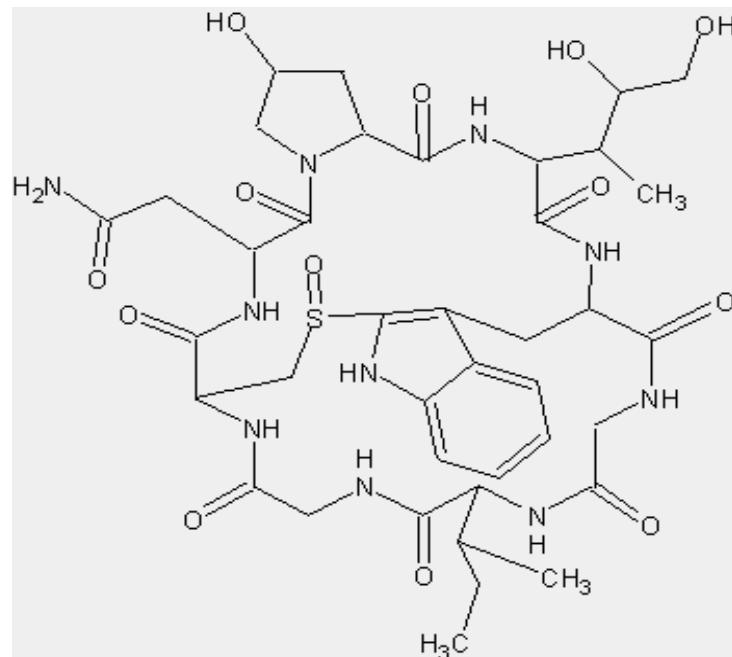
→ blocage du début de la transcription (blocage de l'initiation de la transcription, mais pas de l'elongation des RNA)

Utilisée en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)

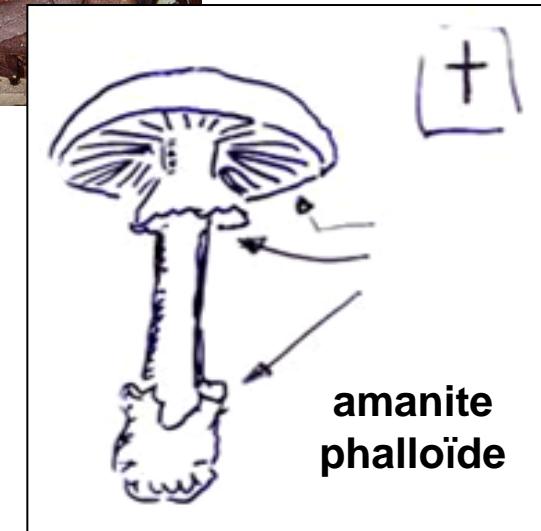


– Inhibiteurs de la Transcription

α -amanitine



α -amanitine: octapeptide cyclique

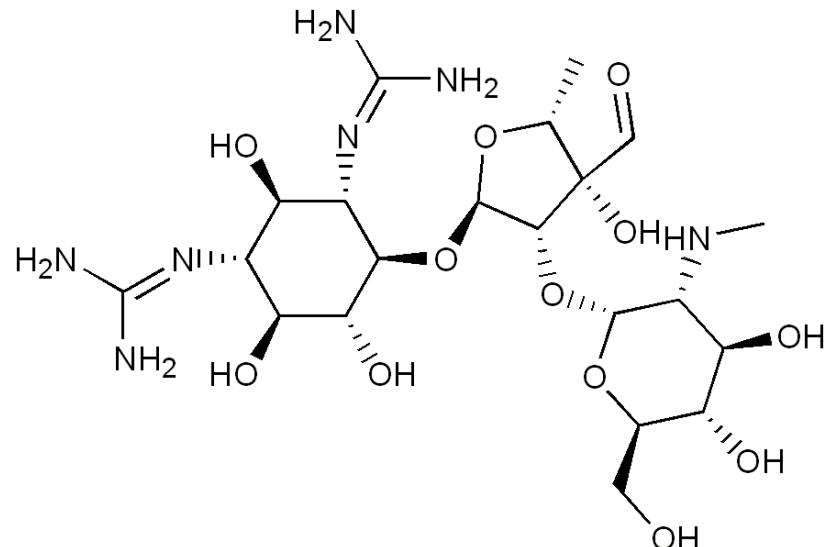


L' α -amanitine inhibe
 - la RNA-polse II ($K_i 10^{-8}$)
 - RNA-polse III ($K_i 10^{-6}$)

Intoxication par ingestion de champignons (amanites phalloïdes)

→ – Inhibiteurs de la Traduction

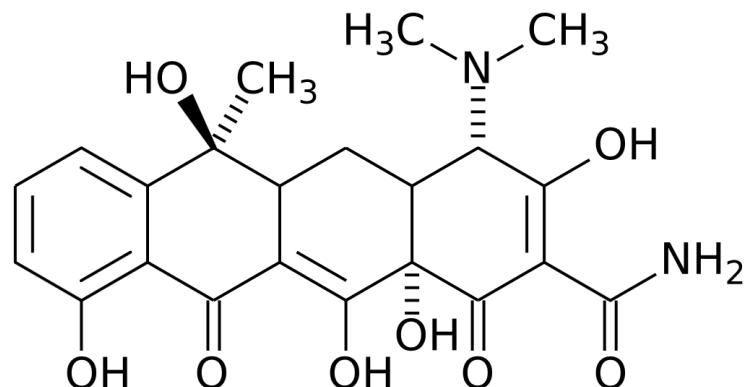
Streptomycine



La streptomycine inhibe l'Initiation de la Traduction des procaryotes et induit des erreurs de lecture (erreurs faux sens) → protéines de structure primaire anormale

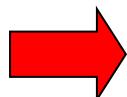
Utilisée en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)

Tetracycline



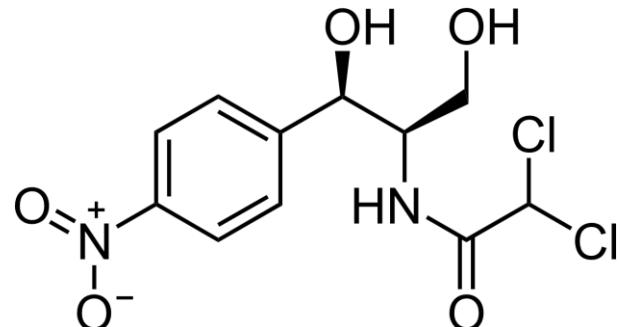
La Tetracycline se lie à la sous-unité 30 S et inhibe la liaison des tRNA-AA sur le site A du ribosome procaryote

Utilisée en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)



– Inhibiteurs de la Traduction

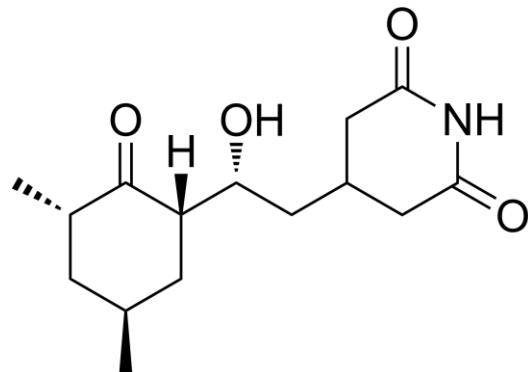
Chloramphenicol



Le Chloramphenicol inhibe spécifiquement la peptidyl-transferase de la sous-unité 50 S (des procaryotes et des mitochondries)

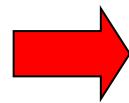
Utilisé en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)

Cycloheximide



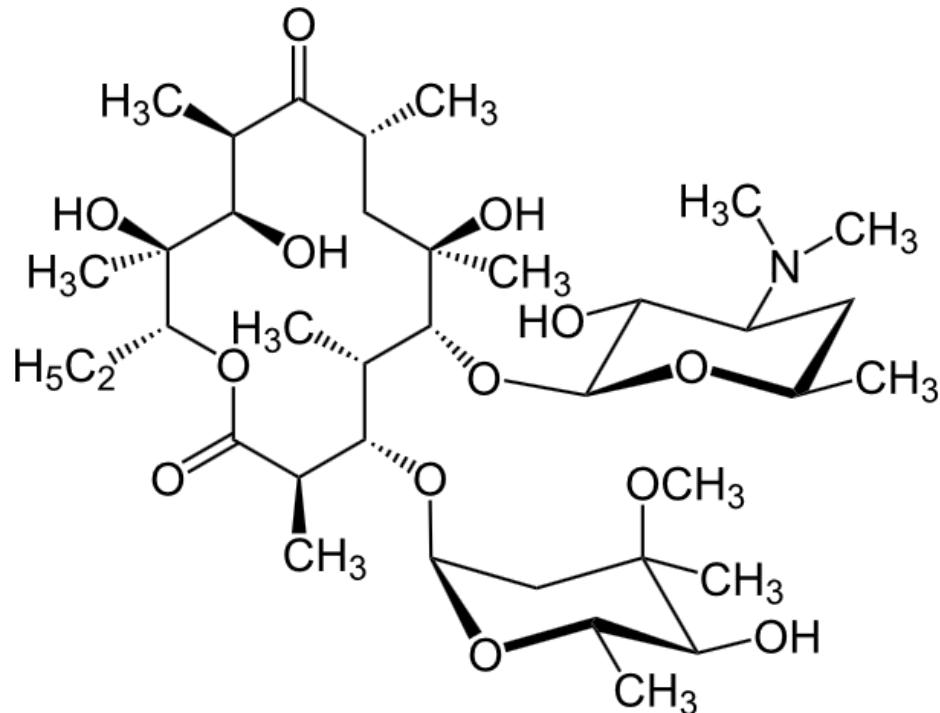
Le Cycloheximide inhibe spécifiquement la peptidyl-transferase de la sous-unité 60 S (des eucaryotes), mais n'inhibe pas la traduction des procaryotes, ni des mitochondries.

*Utilisé *in vitro* en Biologie cellulaire (inhibiteur de la synthèse protéique)*



– Inhibiteurs de la Traduction

Erythromycine



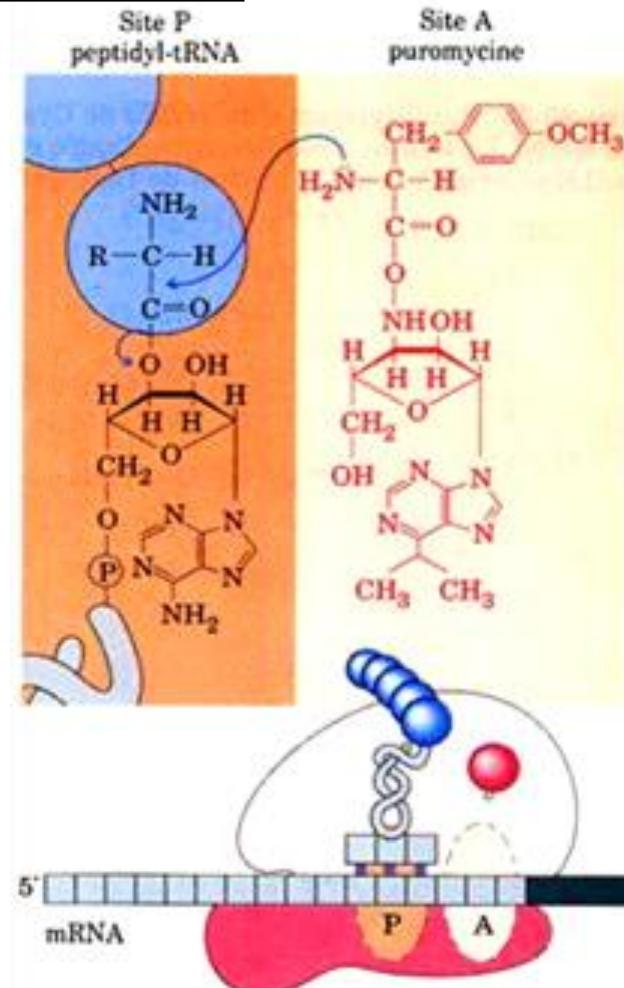
L'érythromycine se lie à la sous-unité 50 S et inhibe la translocation au niveau des ribosomes procaryotes

Utilisé en médecine comme antibiotique (anti-infectieux)

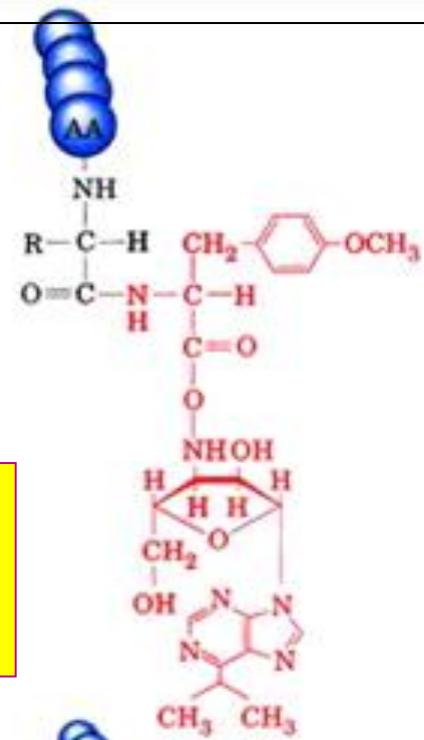


– Inhibiteurs de la Traduction

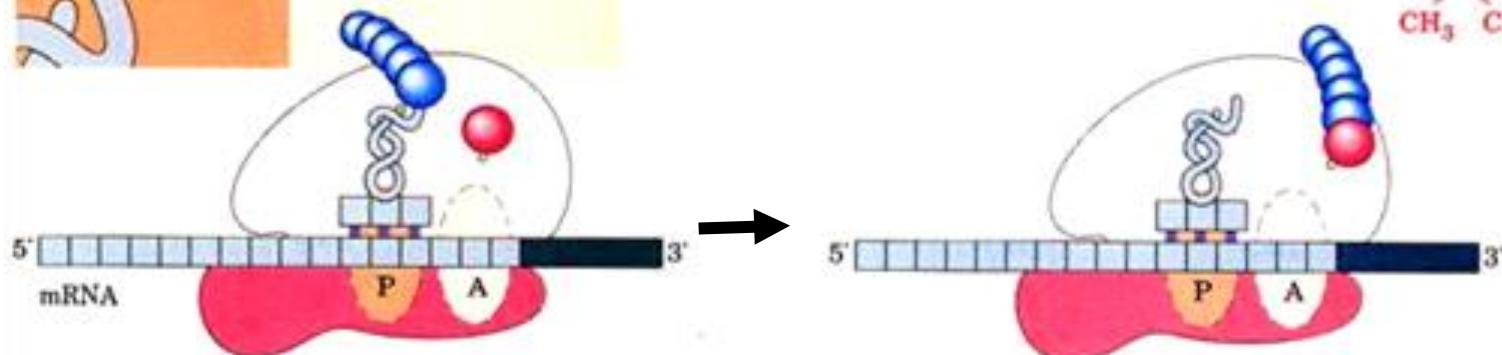
Puromycine



Utilisée in vitro en Biologie expérimentale (mais n'est pas utilisée en Médecine car trop toxique).



Site d'action de la puromycine au niveau des ribosomes



La puromycine est un analogue structural de l'extrémité CCA3' d'un tRNA chargé. Elle se lie au site A et sert d'accepteur pour le peptide. Le peptidyl-puromycine se détache et est tronqué, donc non fonctionnel.

Fin du chapitre

Exemples d'antibiotiques et d'antimétabolites

