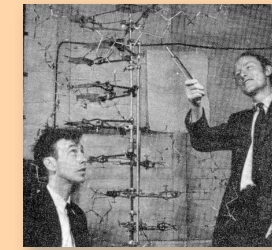
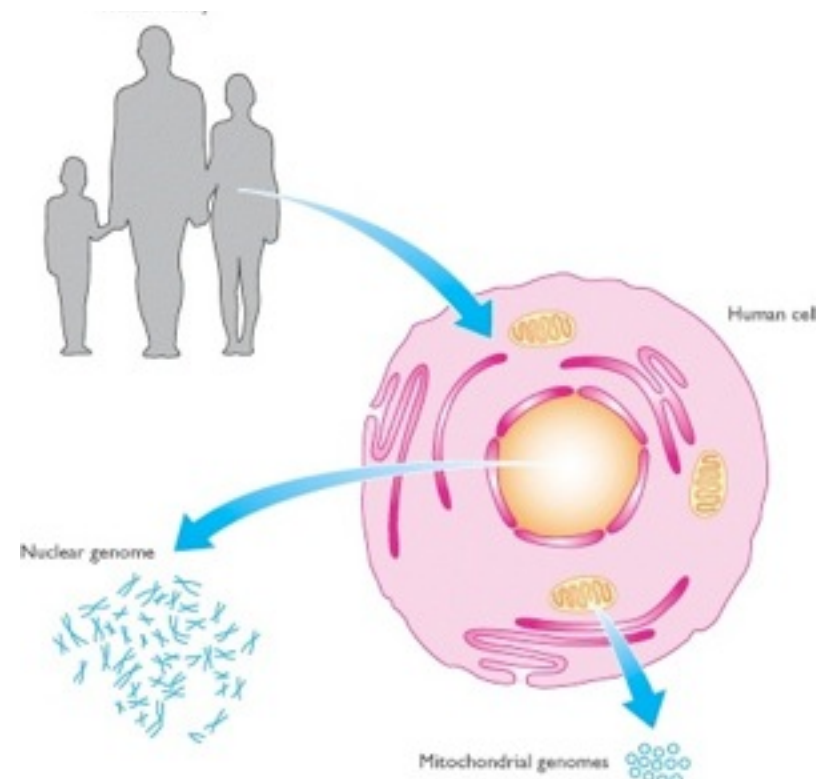
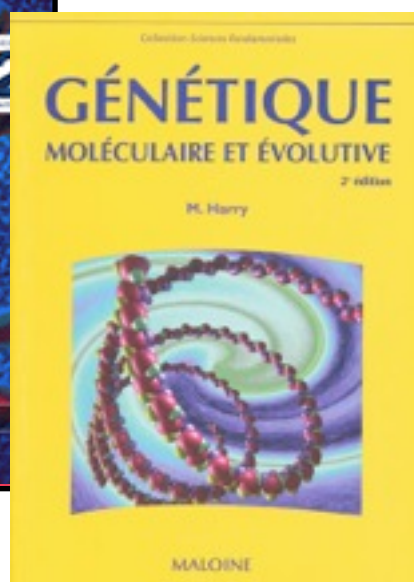
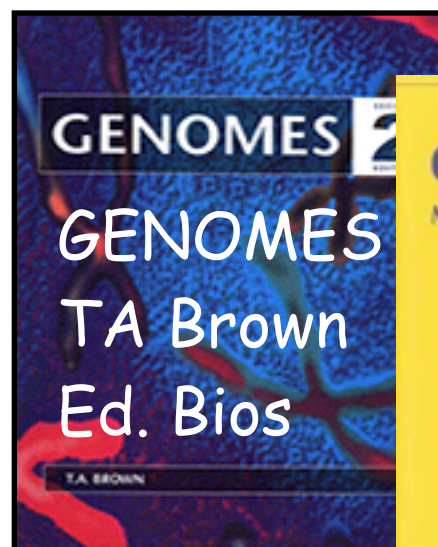
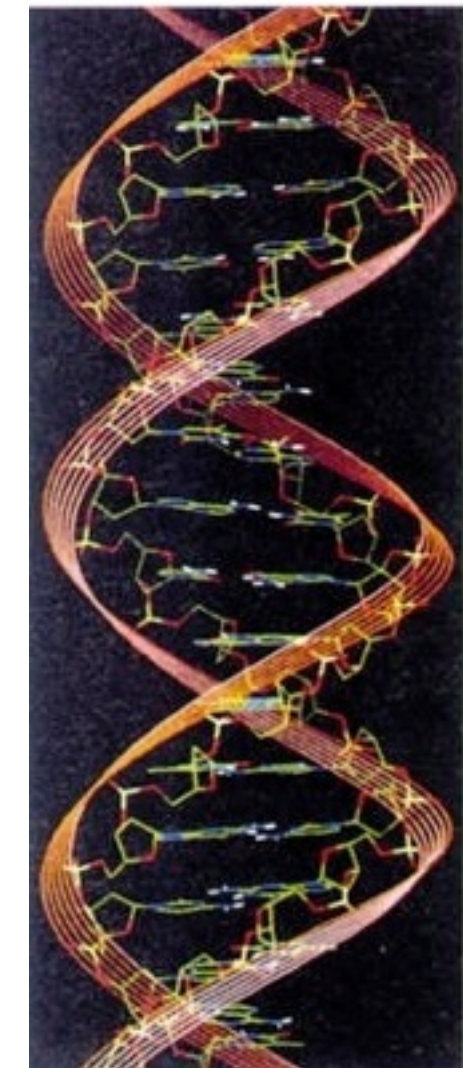


Biologie Moléculaire



La Biologie Moléculaire peut se définir comme l'étude moléculaire du matériel génétique, de sa duplication et de son expression. Nous allons voir ensemble:

- Les concepts de base
- La duplication et la réparation de l'ADN
- L'expression des gènes: transcription et traduction
- La Biologie Moléculaire utilisée comme outil



Les concepts de base

La duplication et la réparation de l'ADN

La transcription des gènes

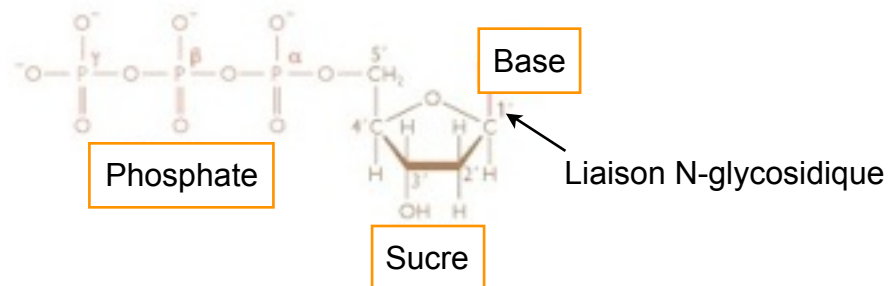
La traduction et la synthèse des protéines

La Biologie Moléculaire utilisée comme outil

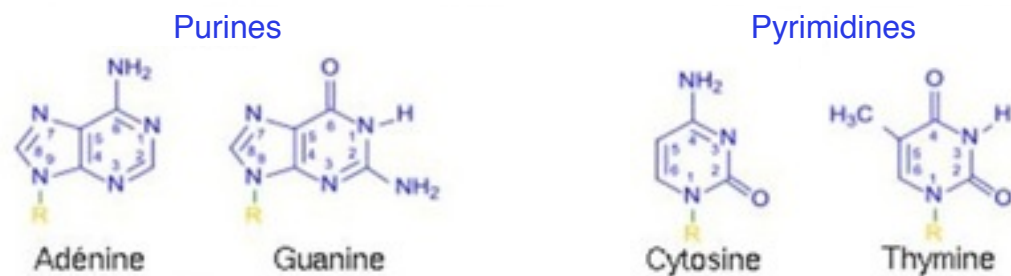
Concept de Base: les acides nucléiques

Base + sucre + phosphate = nucléotide

(A) A nucleotide

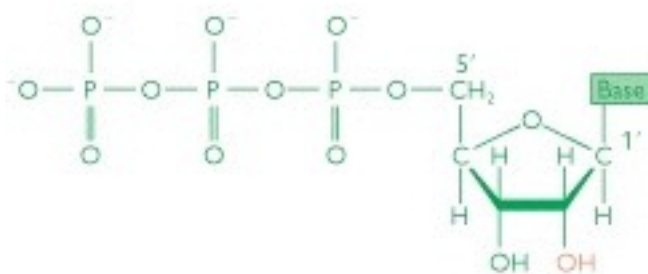


(B) The four bases in DNA

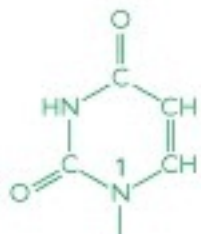


ADN et ARN

(A) A ribonucleotide

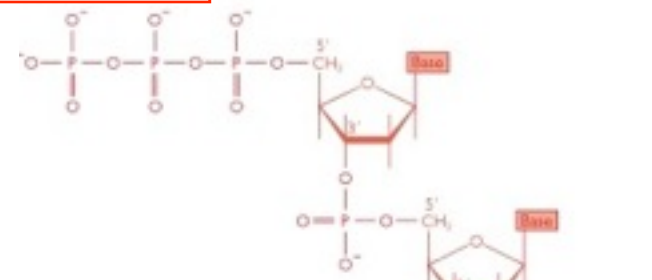


(B) Uracil



La polymérisation des acides nucléiques

Extrémité 5'-P



Liaison phosphodiester

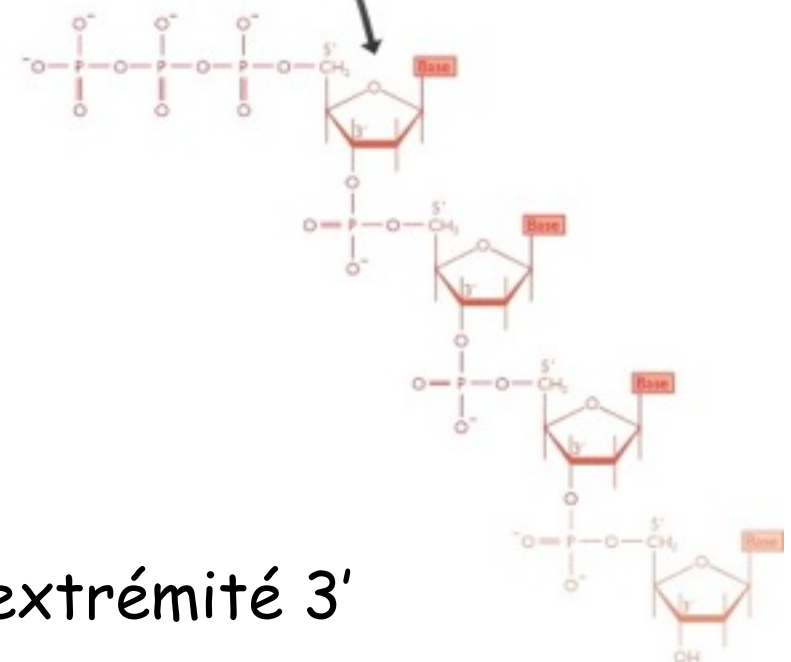
Attaque nucléophile de la liaison phosphodiester par le 3'-OH

Extrémité 3'-OH

5'-PPP



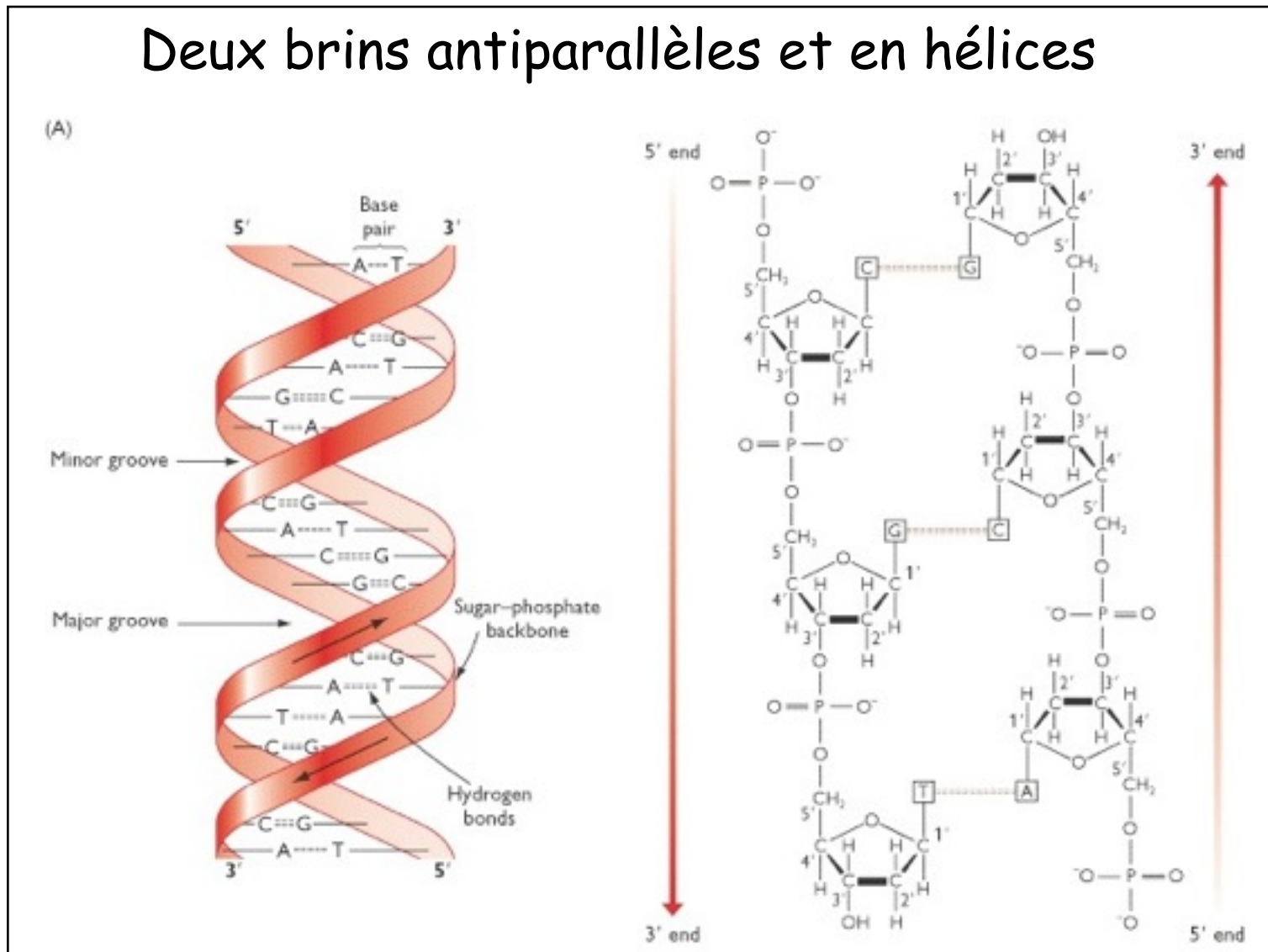
Pyrophosphate



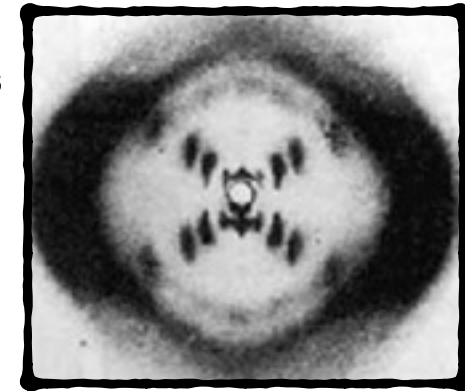
Allongement de l'extrémité 3'

Concept de Base: la double hélice

Deux brins antiparallèles et en hélices

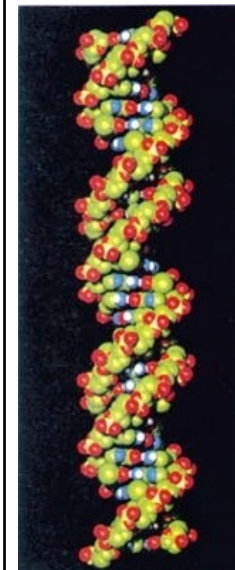


Prix Nobel de Médecine, 1962
J. Watson, F. Crick et M. Wilkins



R. Franklin, 1952

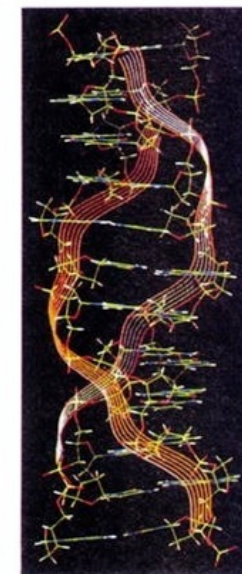
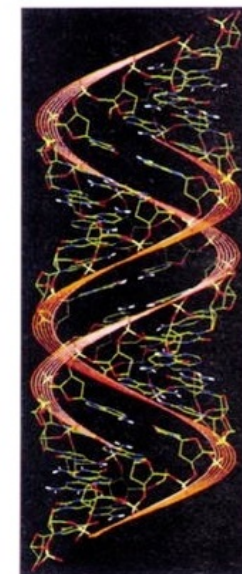
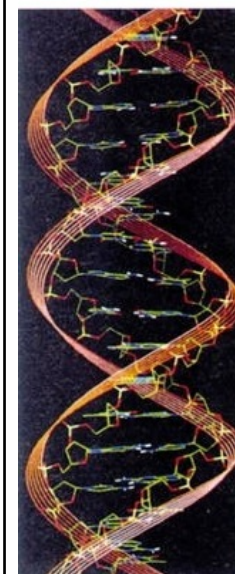
ADN B



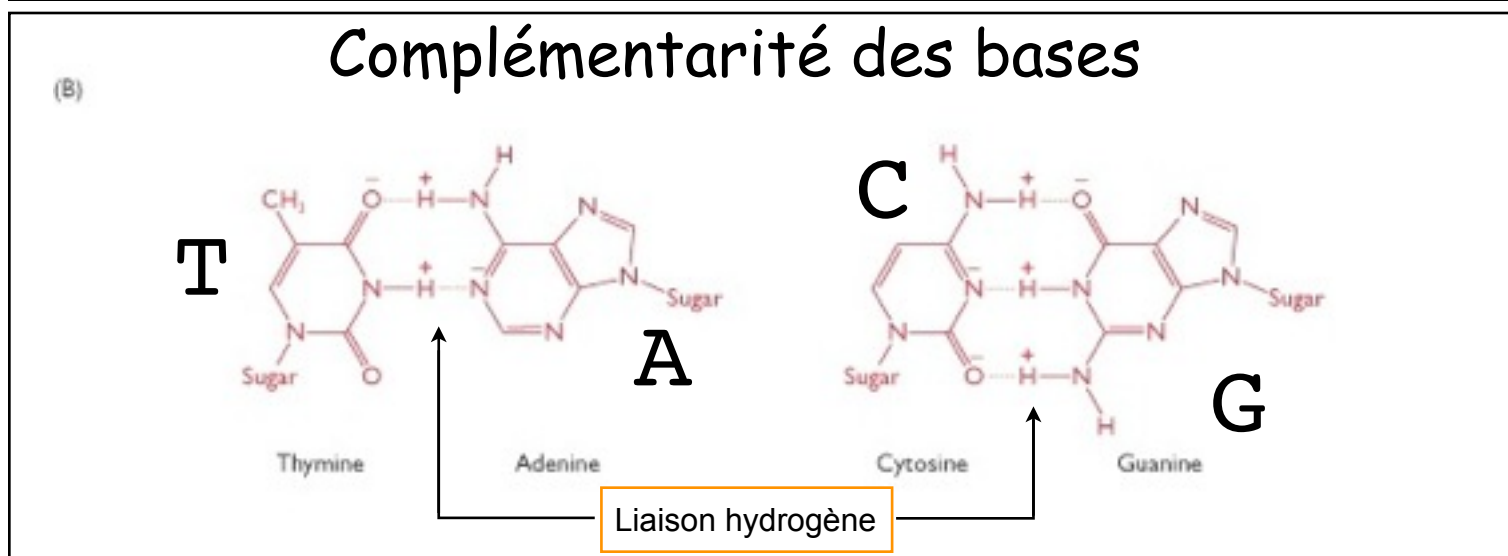
ADN A



ADN Z

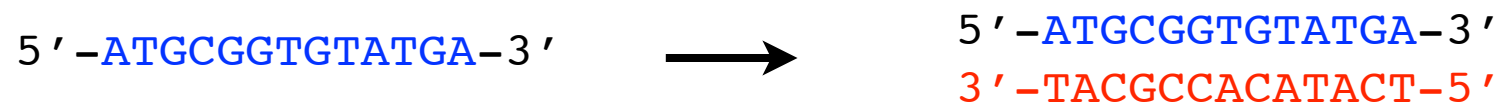


Complémentarité des bases

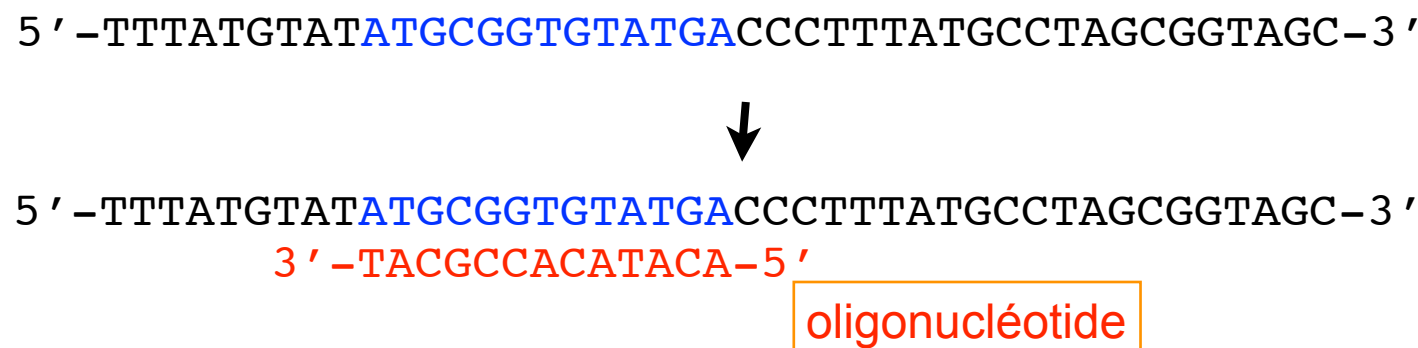


Concept de Base: complémentarité des brins

- Si on connaît la séquence d'un brin on peut en déduire le complémentaire



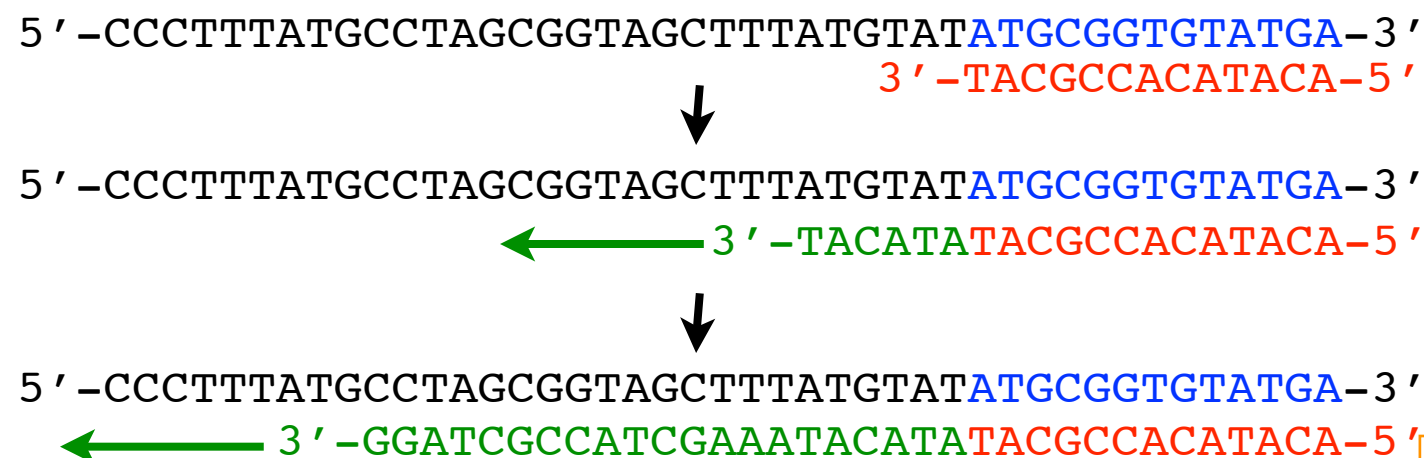
- On peut créer un oligonucléotide spécifique d'une région d'ADN



A ... T

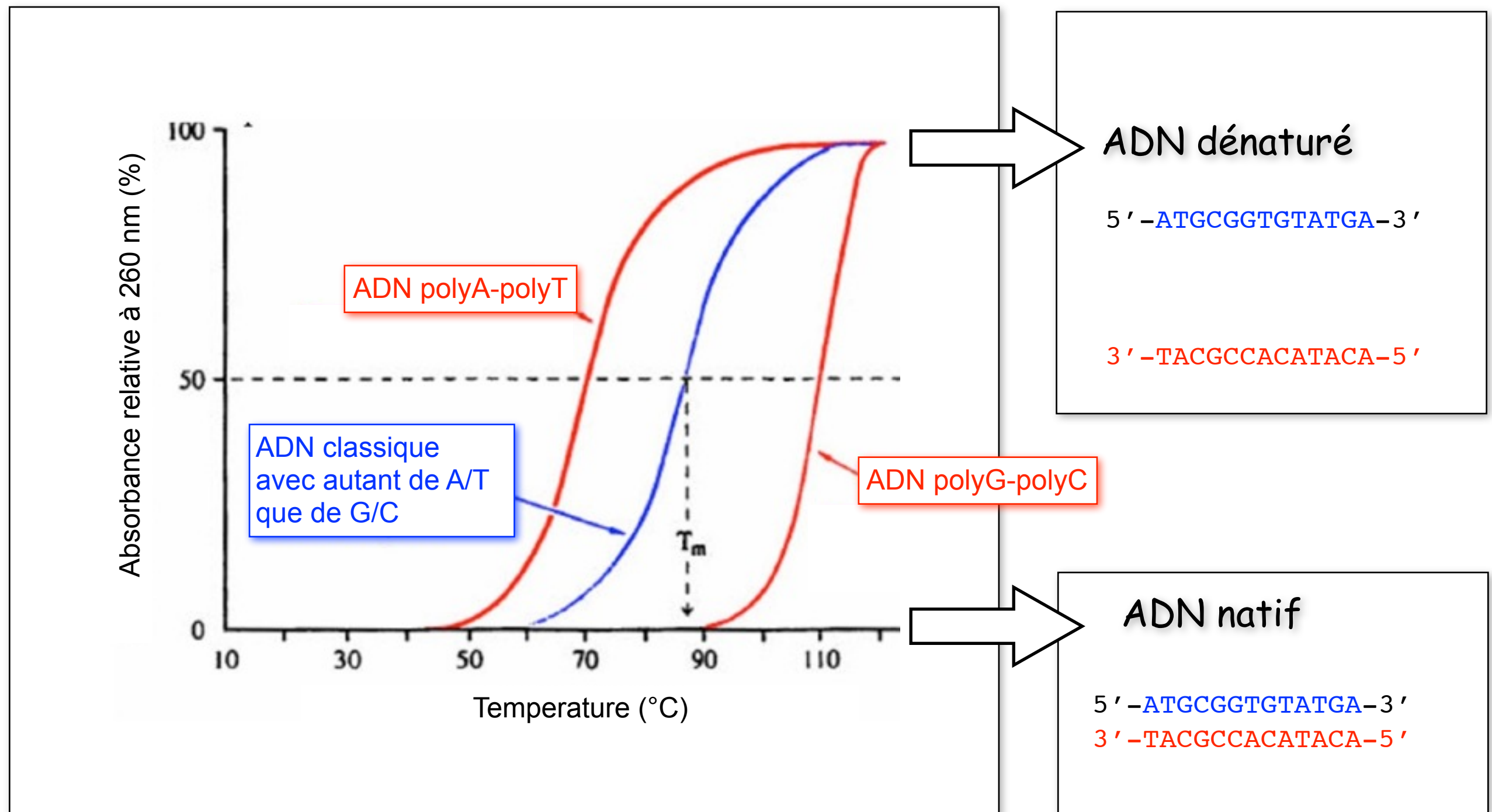
C ... G

- On peut synthétiser un brin complémentaire à partir d'un oligonucléotide



polymérisation d'un
brin complémentaire

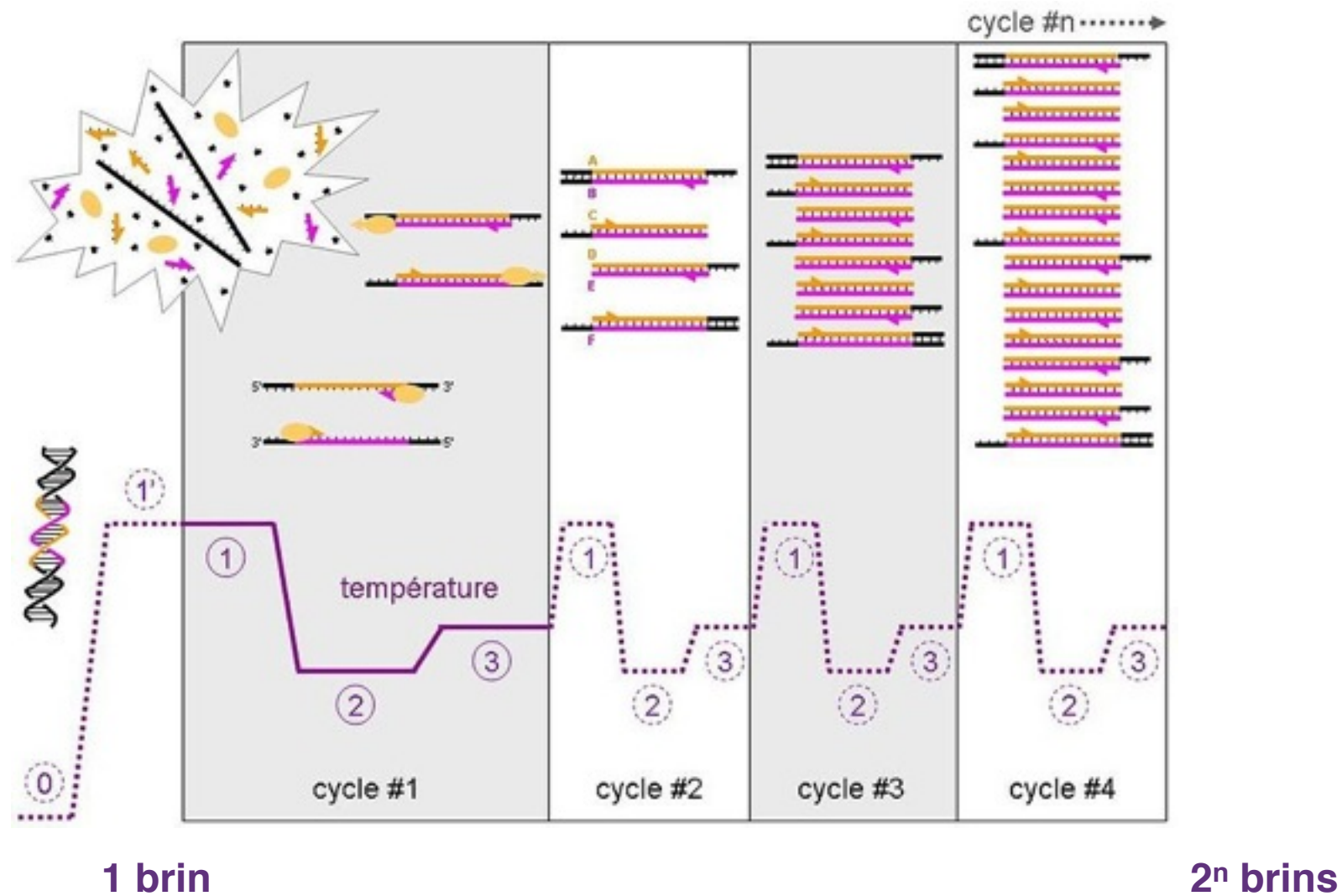
Concept de Base: dénaturation de l'ADN



Les variations de T° (énergie) permettent de dénaturer (deshybridation) ou de renaturer (hybridation) l'ADN.

Une application: la PCR

Prix Nobel de chimie 1993, K. Mullis



Possible grâce à l'utilisation de polymérases thermophiles: *Thermus aquaticus* (Taq) et *Pyrococcus furiosus* (Pfu)

Les concepts de base

La duplication et la réparation de l'ADN

La transcription des gènes

La traduction et synthèse des protéines

La Biologie Moléculaire utilisée comme outil

La réplication de l'ADN est semi-conservative

L'ADN est répliqué en utilisant la complémentarité des bases:

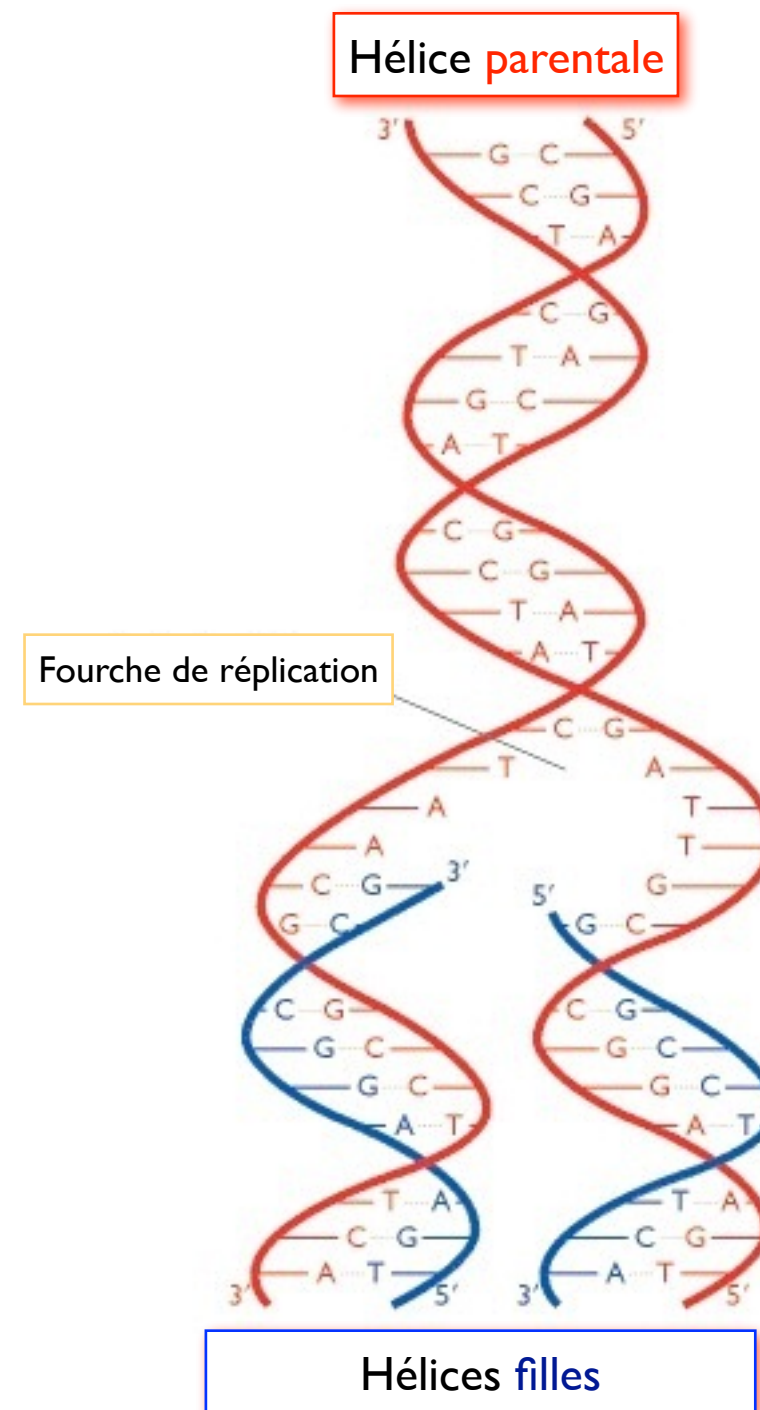
A-T

G-C

L'hélice d'ADN parental (rouge) est ouverte (déshybridée, comme un zip) et de nouvelles bases (bleu) viennent s'apparier

A la division cellulaire, chaque cellule fille recevra une copie du génome constituée d'un brin parental (rouge) et d'un brin néosynthétisé (bleu)

L'ADN polymérase III fait ce travail



Meselson et Stahl, 1958

Copie des deux brins en même temps

Les acides nucléiques polymérisent par extension du brin 3' (Cf. dia n°2)

+

La double hélice est faite de deux brins antiparallèles (Cf. dia n°3)

=

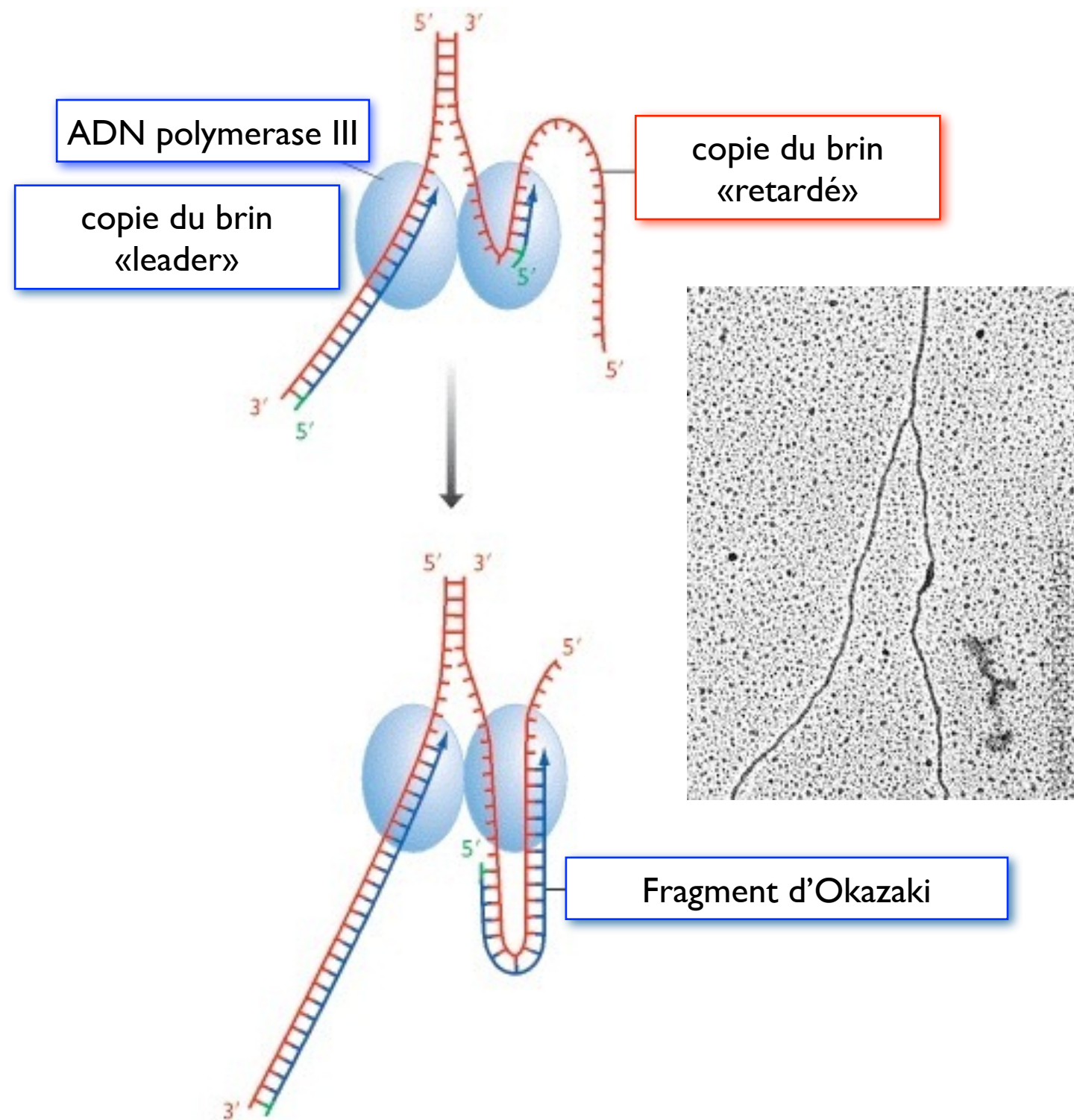
La copie des deux brins ne devrait pas se faire dans la même direction



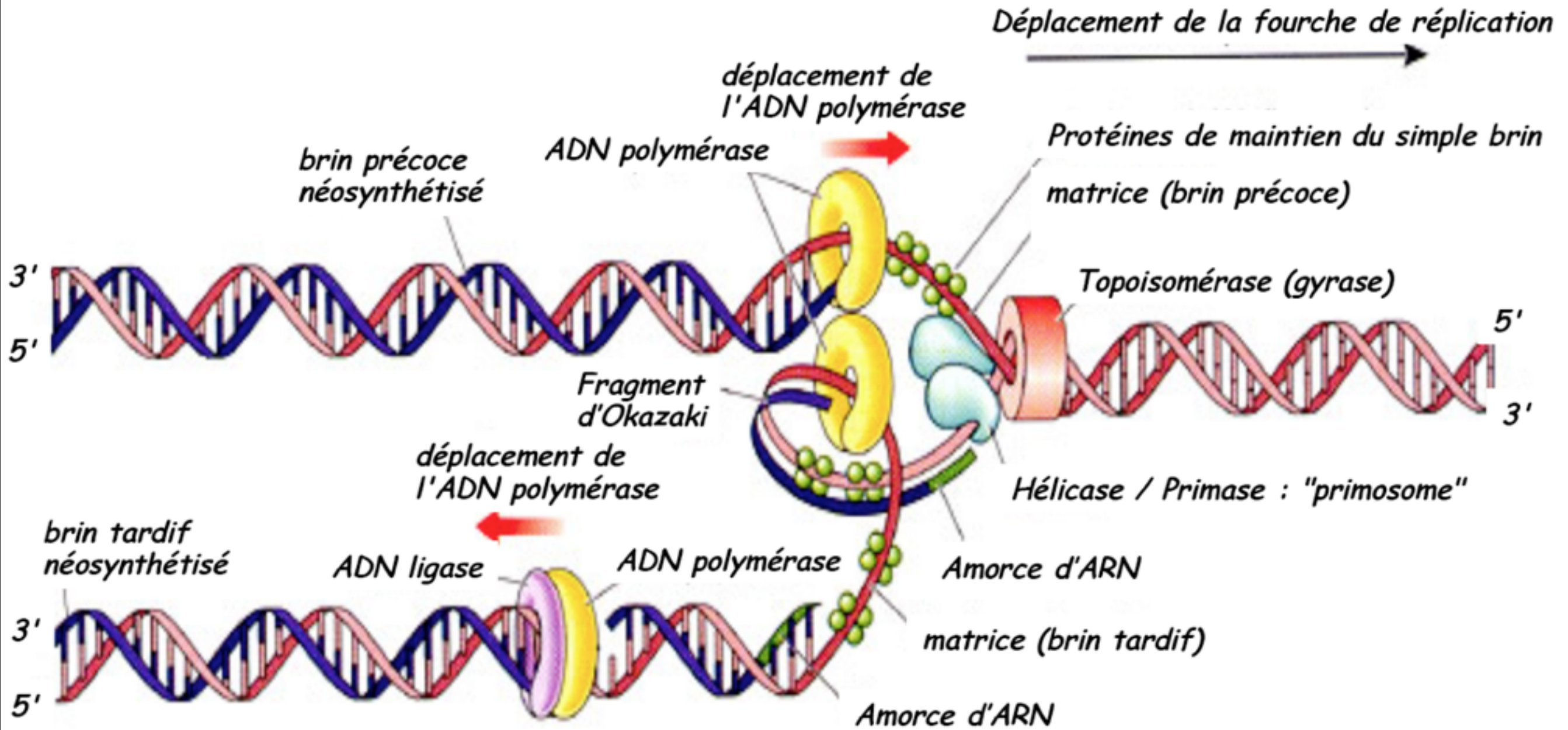
l'ADN polymerase III est multimérique et réplique les deux brins différemment

notion de brin «leader» et «retardé»

notion de fragment d'Okazaki



Le «réplisome» est une machinerie complexe



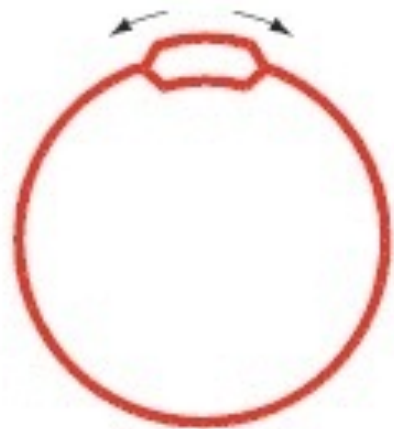
Le «réplisome» est une machinerie complexe

<http://www.freesciencelectures.com/video/dna-replication-process/>



La réplication du chromosome

Réplication d'une molécule d'ADN circulaire
ex: chromosome bactérien



1000 pb/s

Ok. Frag 1-2 kb

2 Mb

E. coli: 4,6 Mb

Réplication d'une molécule d'ADN linéaire
ex: chromosome eucaryotes



10-100 pb/s

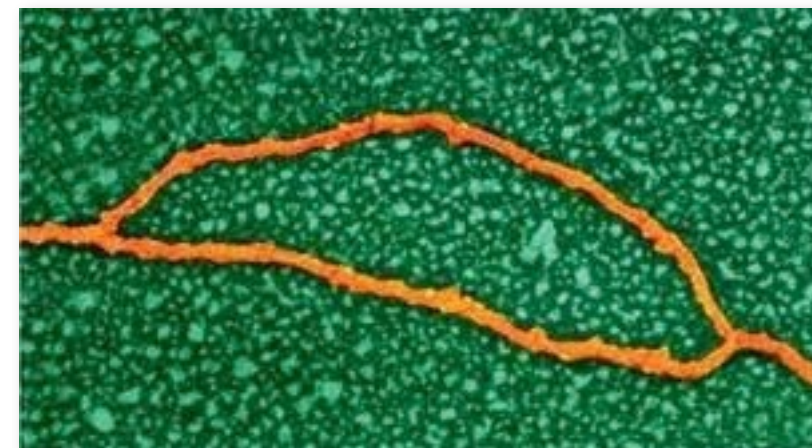
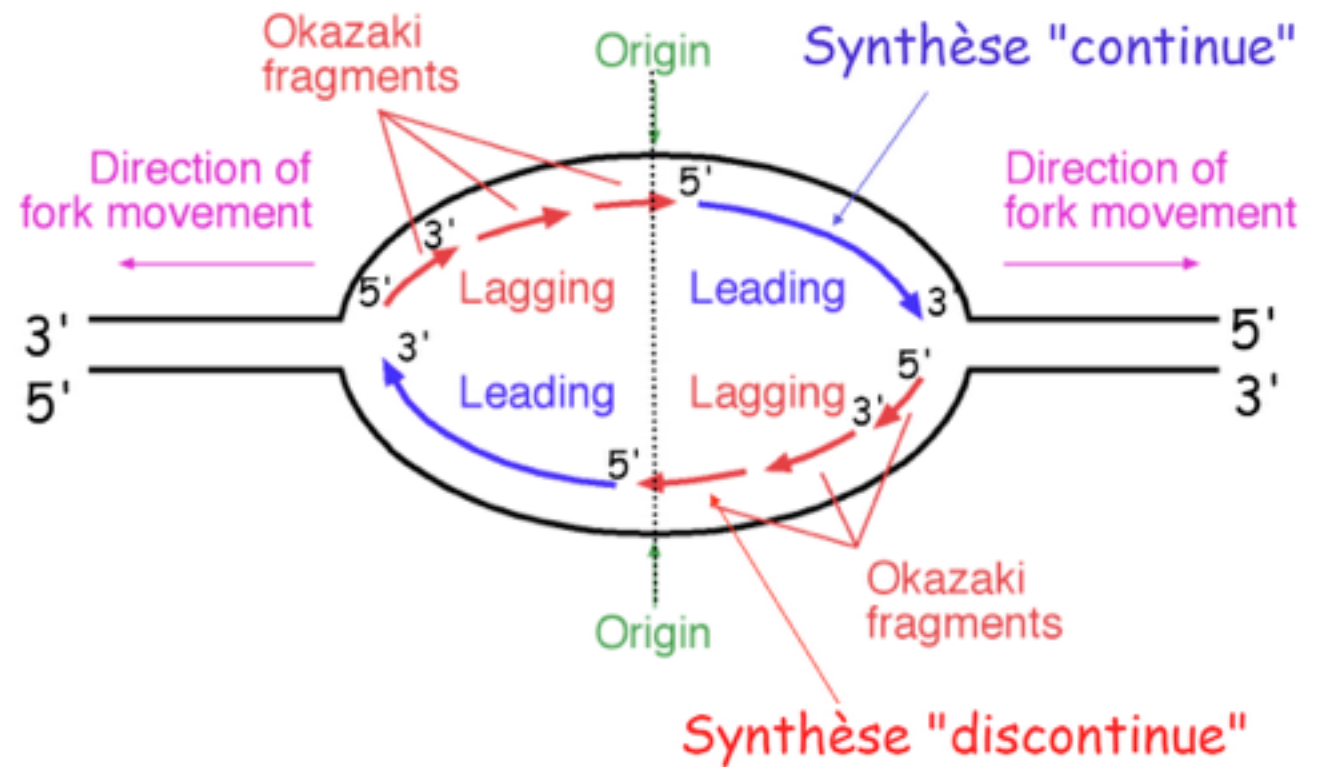
Ok. Frag 100-200 b

40-150 kb

Drosophile: 140 Mb

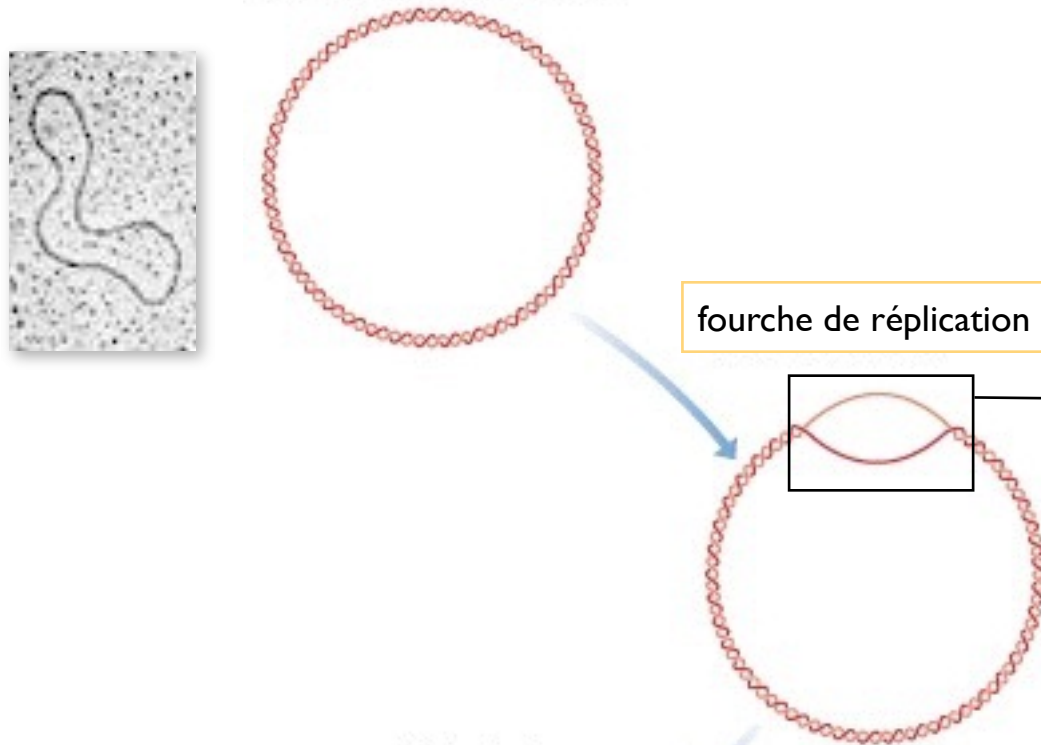
Oursin: 845 Mb

Humain: 3000 Mb



La réplication modifie la superhélicité

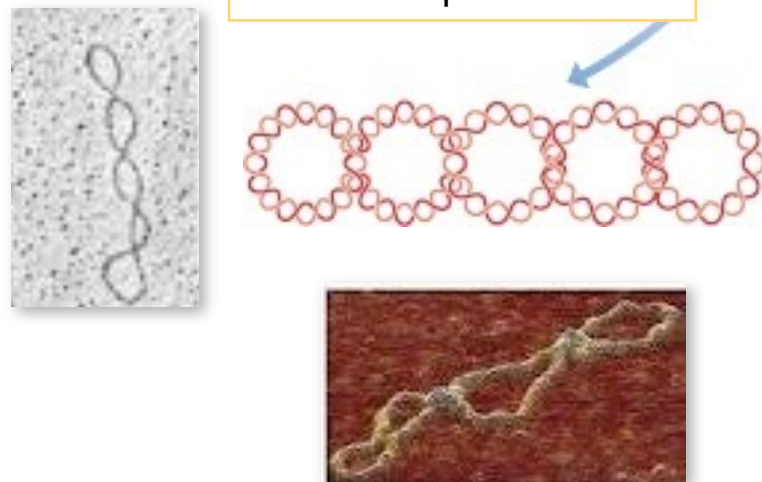
ADN double brin circulaire



hélice ADN = deux câbles enroulés

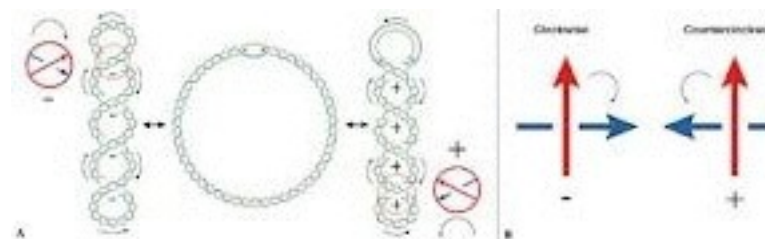


ADN superenroulé

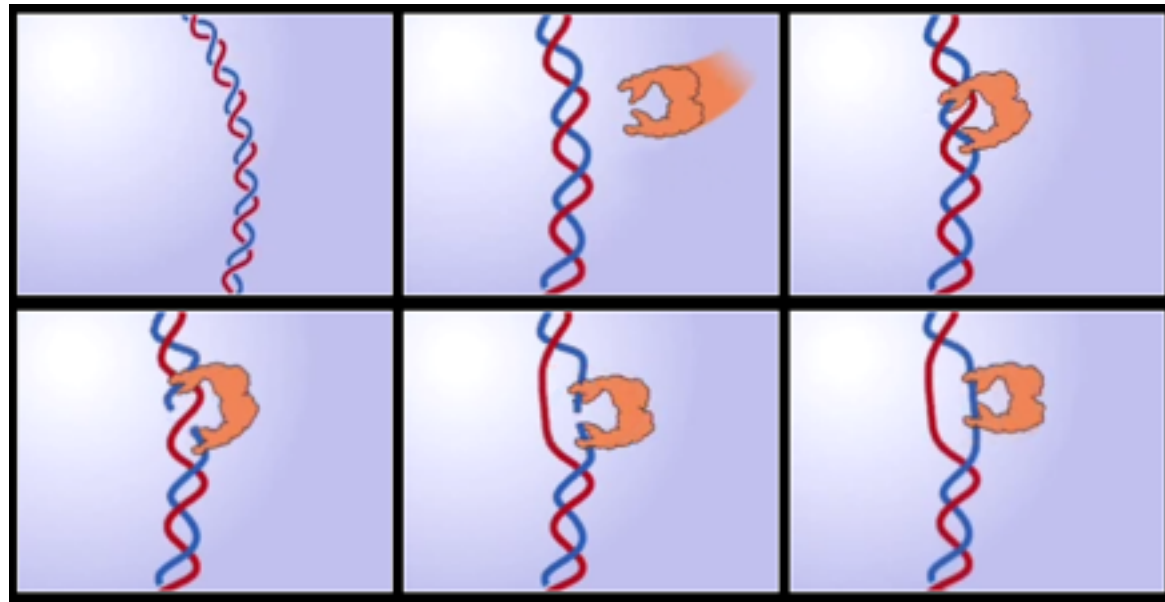


Les Topoisomérases résolvent les problèmes de superhélicité

Superhélicité négative ou positive

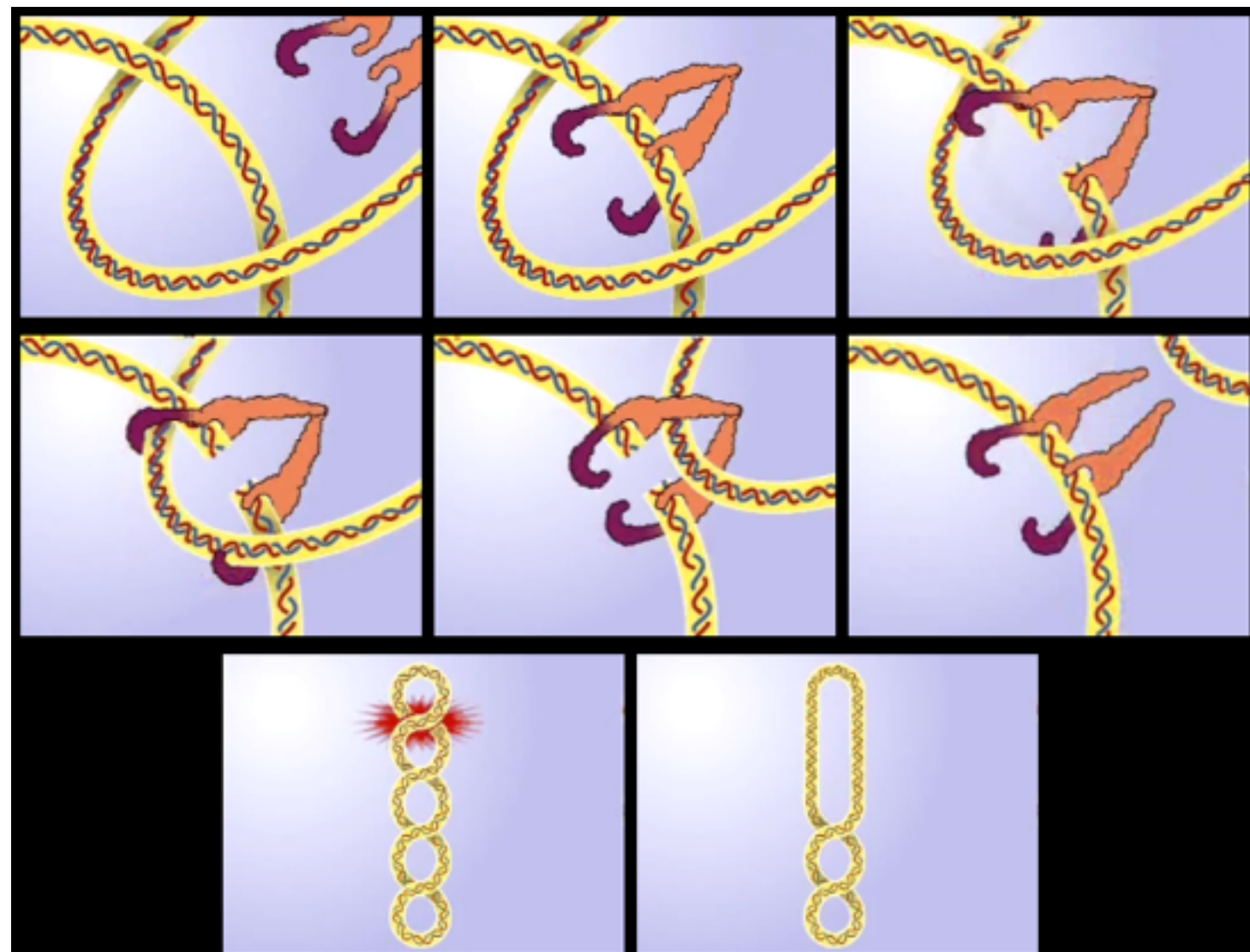


Les topoisomérases



Topoisomérases de Type I: coupent 1 brin d'ADN

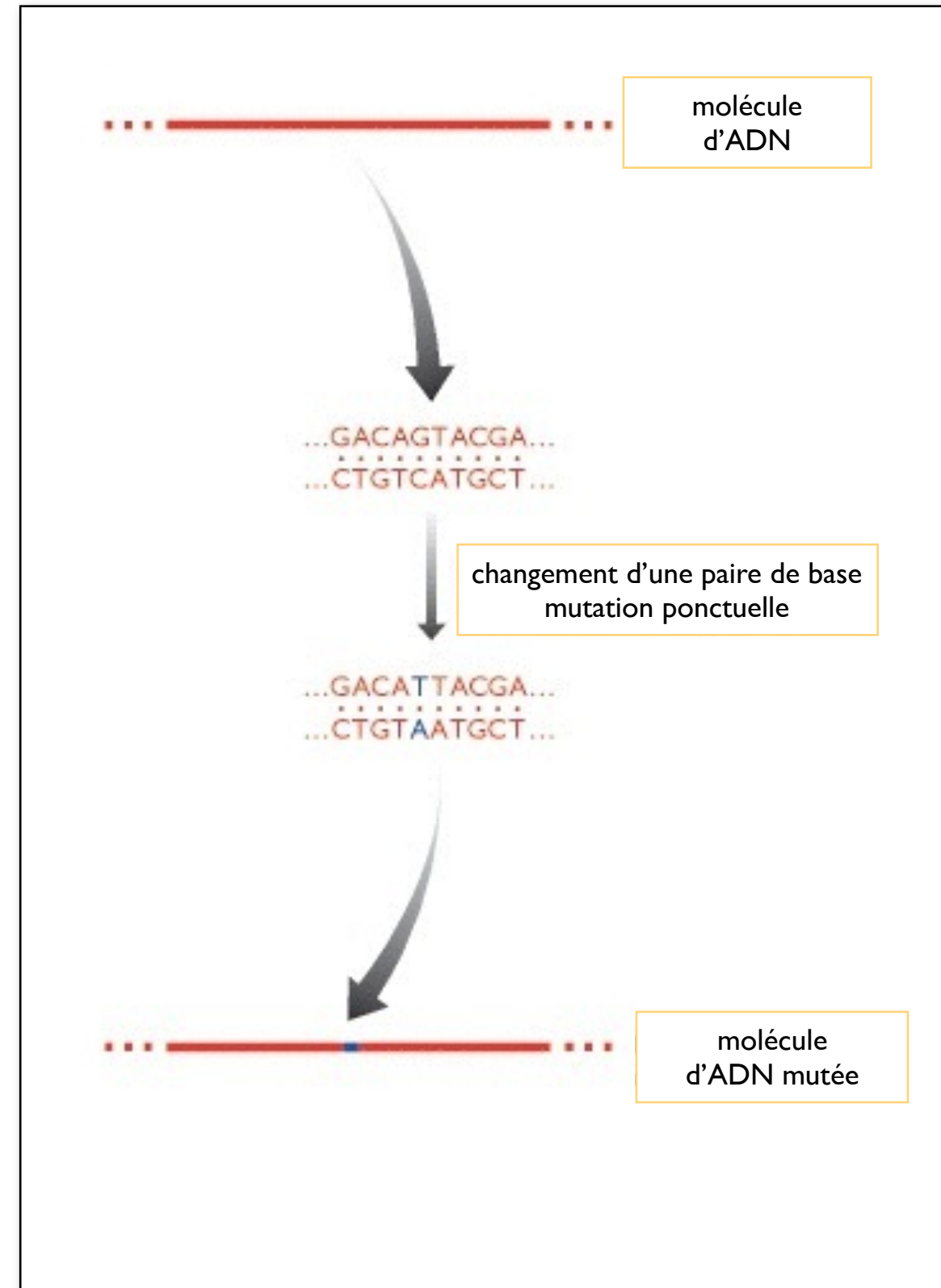
Topoisomérases de Type II: coupent 2 brins d'ADN



La nature chimique de l'ADN et sa fragilité

Notion de Mutation

- Toute molécule chimique est susceptible de subir des **altérations** et le support de l'information génétique ne déroge pas à ce constat
- L'altération de l'information génétique est à la source de l'évolution du monde vivant.
- Le changement d'information génétique : **la mutation**
- On estime qu'environ 10000 bases purines se décrochent spontanément en 24 h par cellule à 37°C.



Les erreurs de réplication: mutations ponctuelles

Mutation: processus par lequel des gènes passent d'une forme allélique à une autre.

Exemple d'une mutation ponctuelle

Altération d'une base.
Etape facilitée par les agents mutagènes:

- rayons UV
- rayons X
- rayons beta et gamma
- acide nitreux
- nitrosoguanidine

ACGTC
TGCAG

AC^{*}GTC
TGCAG

réplication

Génération 1

AC^{*}GTC
TGTAG

ACGTC
TGCAG

réplication

Génération 2

AC^{*}GTC
TGTAG

ACATC
TGTAG

ACGTC
TGCAG

ACGTC
TGCAG

Réparation: Processus enzymatique par lequel la plupart des lésions ou des mutations de l'ADN sont réparées. La défaillance dans un des ces processus enzymatique est à la base d'un phénotype hypermutateur

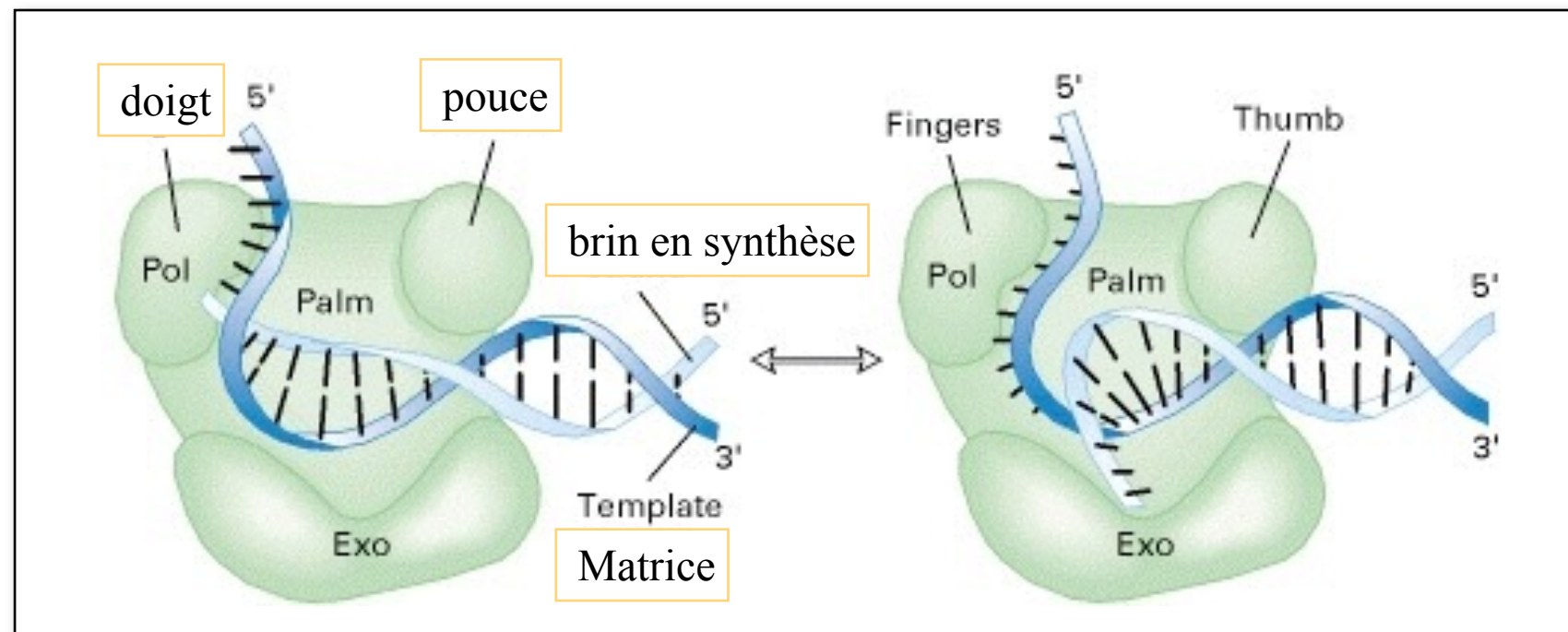
La réplication est fidèle car l'ADN polymérase peut «corriger»

- 3 étapes:
1. Sélection du nucléotide lié par la polymérase
 2. Sélection du nucléotide lors du transfert dans le site actif
 3. Ajout en 3' seulement s'il y a correspondance avec le brin répliqué
(Compétition entre activité polymérise et exonucléase)
- Puis possible réparation des mésappariements

Erreur
5-10 %

10^{-7}

10^{-10}



Le système MutSH répare les **mésappariements** entre les paires de bases dus à des erreurs de réplication

Brin parental

Méthyl

CH₃

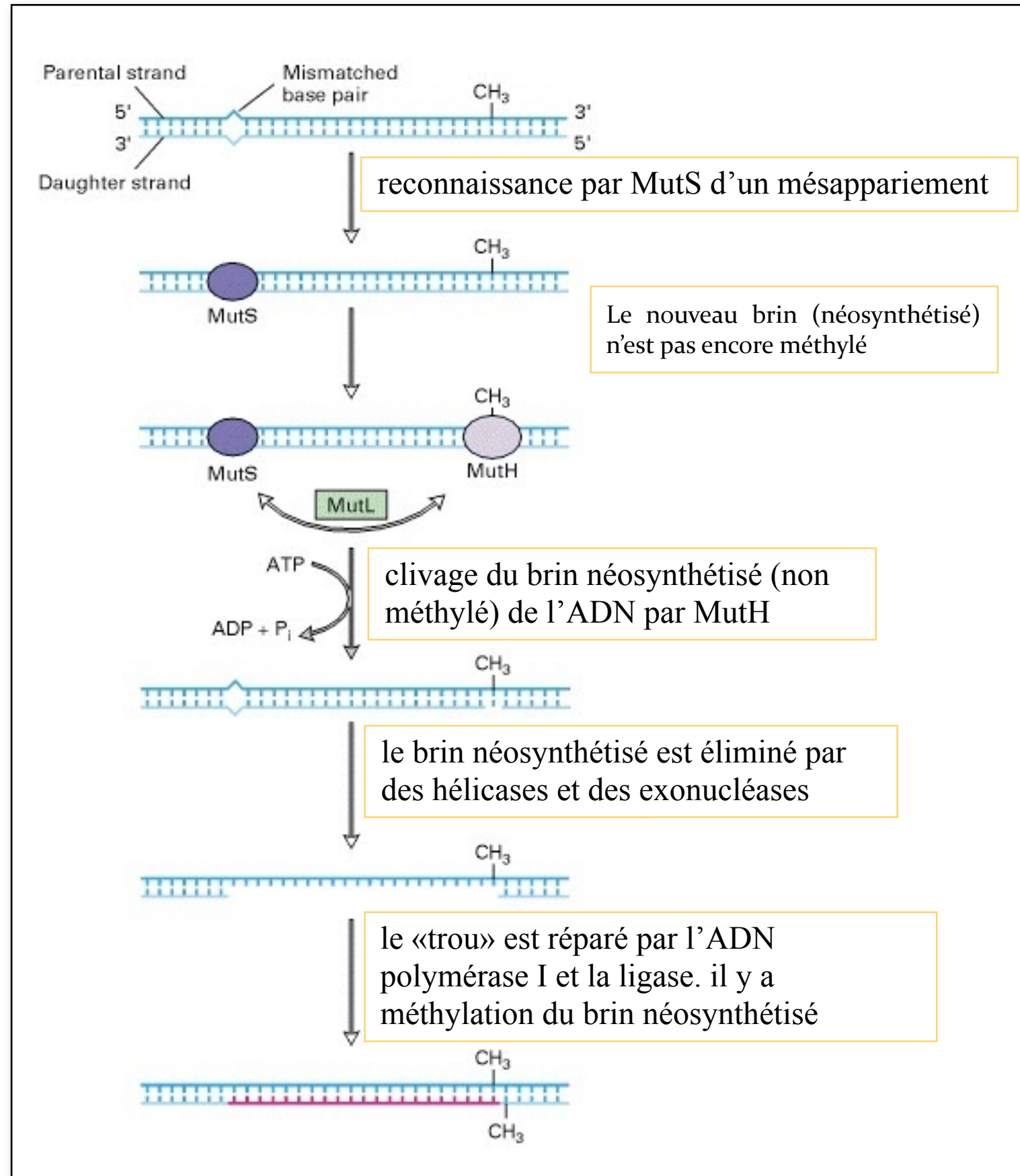
5' -CATGTTATGATC-3'

3' -GTA AATACTAG-5'

Brin néosynthétisé

G

Mésappariement



La réparation de l'ADN: le système UvrABC

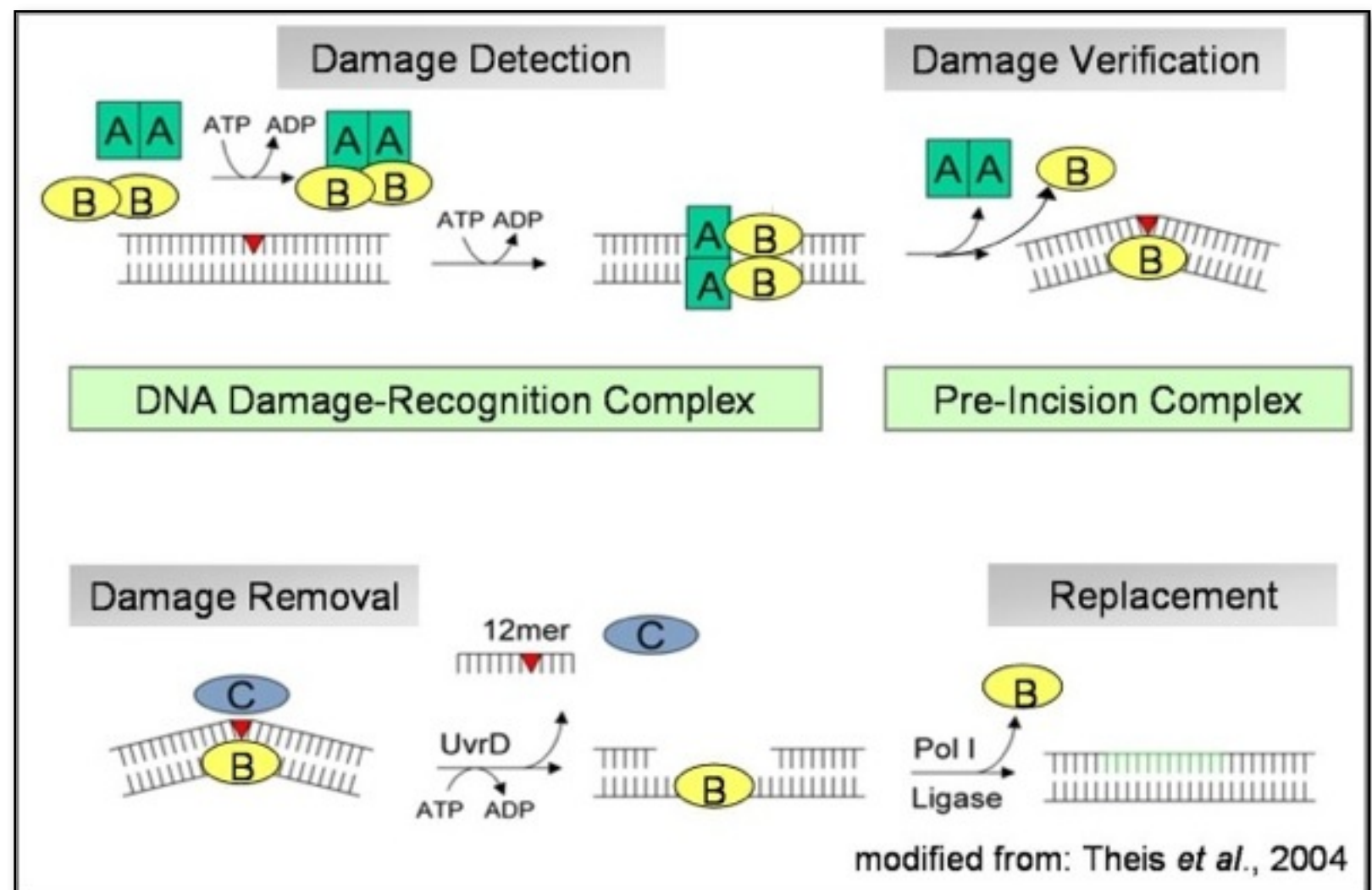
Le système UvrABC répare les dimères de Thymine dus aux irradiations aux UV par **excision de base**

5' -CATTATGATC-3'
3' -GTAATACTAG-5'

UV

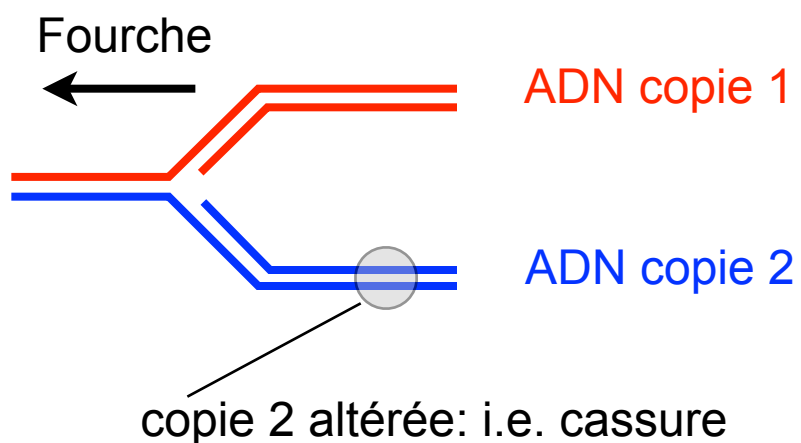
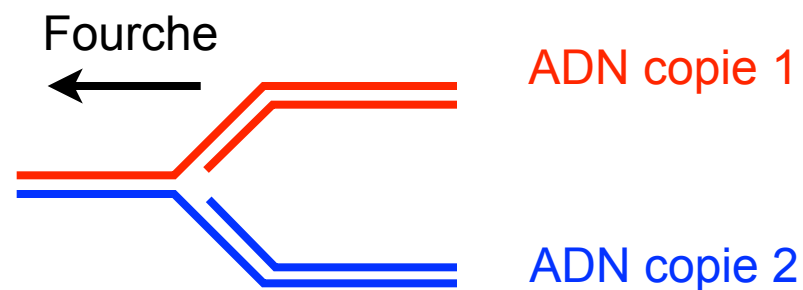
Dimère de Thymine

5' -CATTATGATC-3'
3' -GTAATACTAG-5'



La réparation de l'ADN par recombinaison

La recombinaison homologue permet de réparer l'ADN en utilisant l'autre copie du chromosome comme « copie de sauvegarde »



ADNs homologues

Echange de brin réciproque

DNA ligase

Jonction de Holliday (HJ)

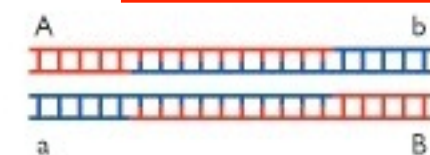
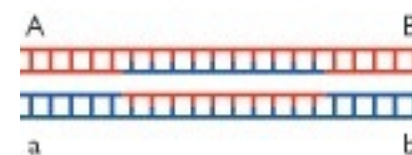
Migration de branche

HJ

résolution 1

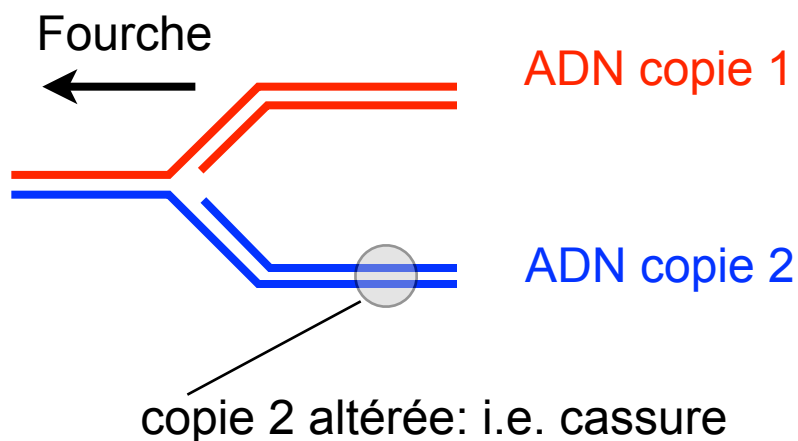
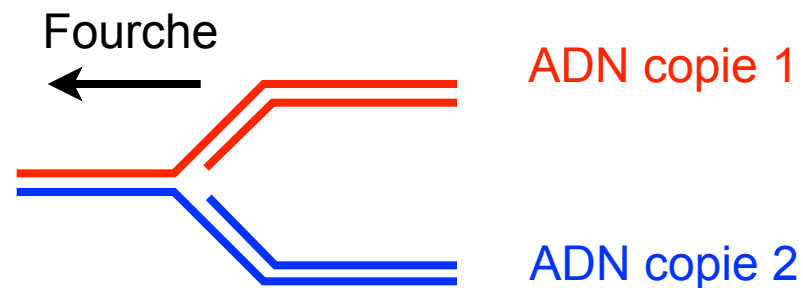
résolution 2

Crossing over

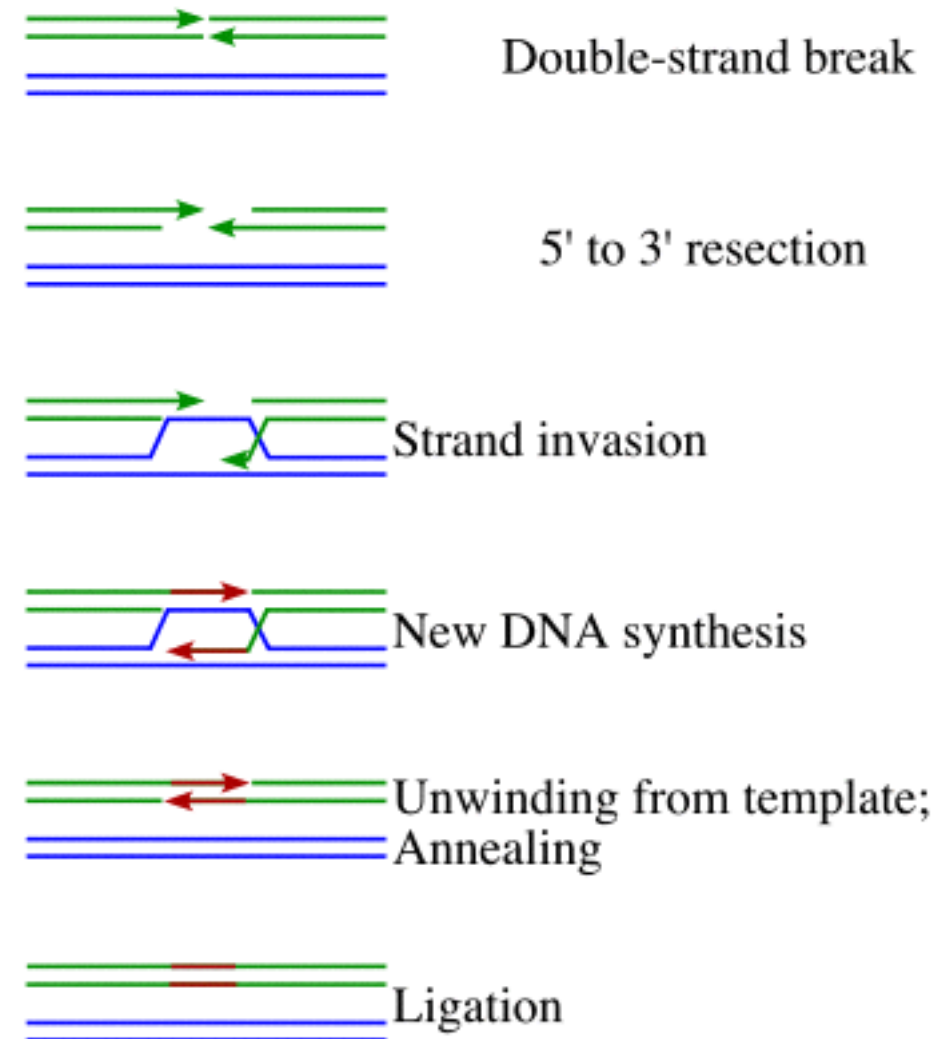


La réparation de l'ADN: Rec BCD

Le système RecBCD répare l'échange de brins réciproques: invasion de brin

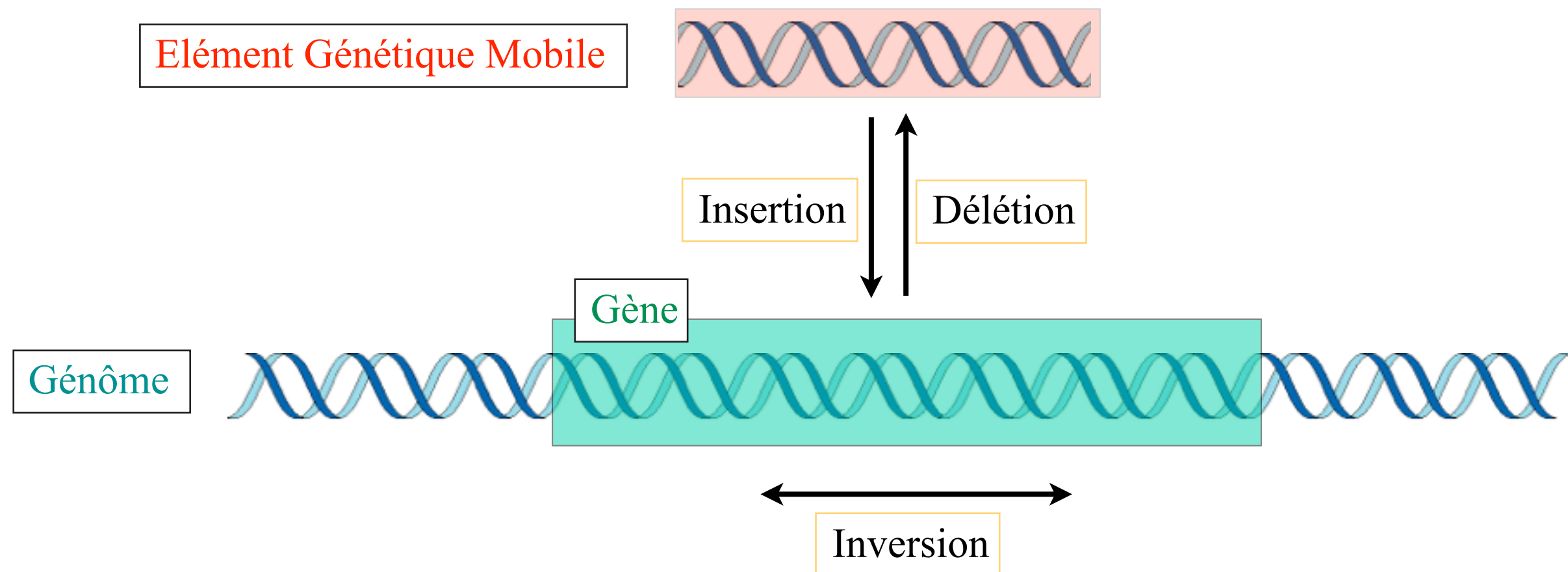


Synthesis-dependent strand annealing



La jonction de Holliday (HJ) peut avancer par «branch migration» puis être résolue grâce à RuvABC

Autres exemples de mutations



Le plus souvent ce type de remaniements génomiques amène à une destruction de la phase codante et donc à une perte de fonction du gène.

Ils sont difficiles à réparer.

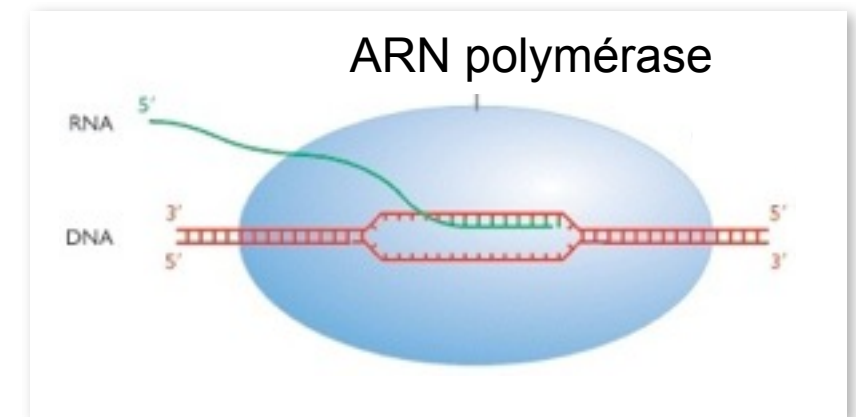
Unité fonctionnelle et physique élémentaire de l'hérédité qui transmet l'information d'une génération à la suivante.

Un fragment d'ADN, constitué d'une région transcrite et de séquences régulatrices.

La structure du gène reflète sa fonction: Assurer l'expression du matériel génétique.



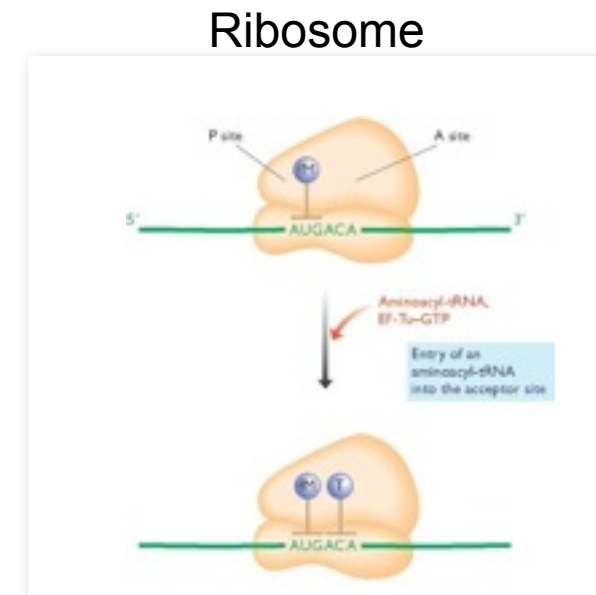
Transcription



ARN messenger

AAAAA- 3'-OH

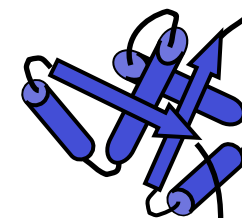
Traduction



Enzyme



=



Protéine