

CHAPITRE I: GENETIQUE MOLECULAIRE

1. STRUCTURE DE L'ADN

1.1. Eléments constitutifs de l'ADN

L'ADN est constitué de 3 éléments qui constituent des **nucléotides monophosphates**.

- **Un groupe phosphate (phosphoryle)**
- **Un sucre, le désoxyribose: un pentose (5 carbones)**
- **Une base azotée qui peut être l'une des 4 bases azotées suivantes (Fig.1):**
 - o **Adénine: A**
 - o **Guanine: G**
 - o **Cytosine: C**
 - o **Thymine: T**

Les bases **A et G** sont des **purines** ou bases puriques

Les bases **C et T** sont des **pyrimidines** ou bases pyrimidiques.

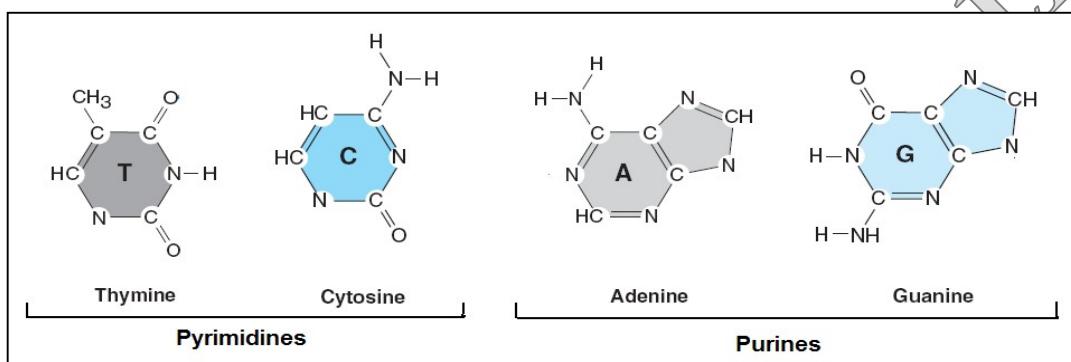


Figure 1

L'association de chaque **base** avec une molécule de **sucré** constitue un **nucléoside**, et l'ajout d'**un groupe phosphate** donne un **nucléotide monophosphate** (Fig.2).

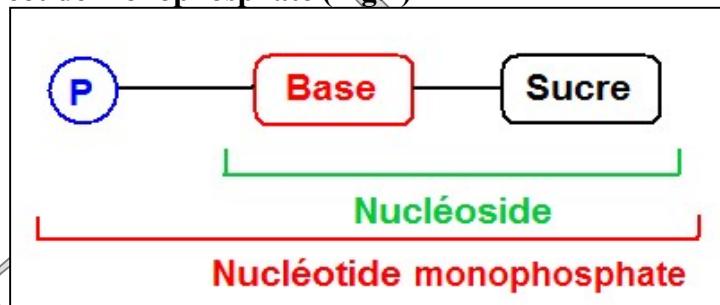


Figure 2

Le désoxyribose se lie au groupe phosphate par son carbone 5' et à la base azotée par son carbone 1'. Les nucléotides sont des esters de nucléosides et de phosphate (Fig.3).

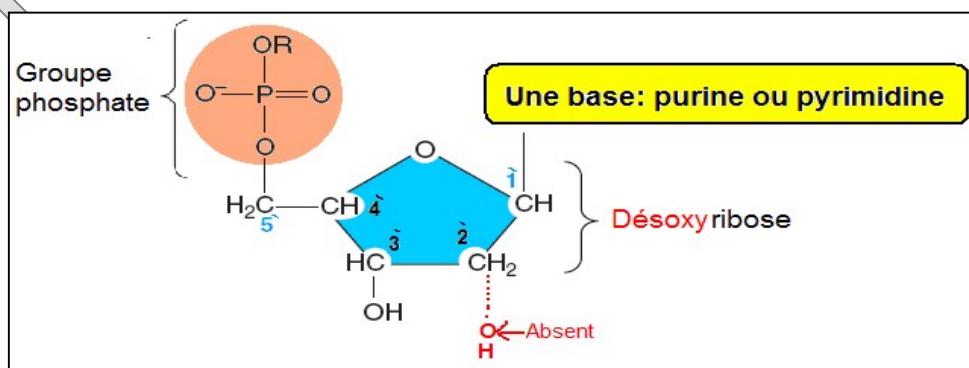


Figure 3

Tous les nucléotides peuvent exister sous une forme qui contient plus d'un groupement phosphate en 5': Nucléoside mono-, di-, ou triphosphate (Fig.4).

Les liaisons entre les groupements phosphate sont riches en énergie et sont utilisés comme **source d'énergie** dans différentes activités cellulaires.

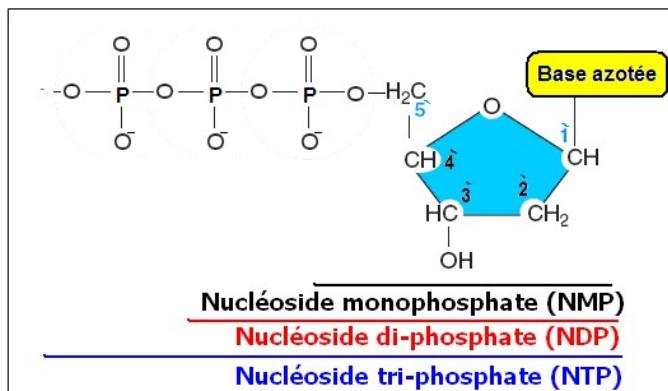


Figure 4

Exemple:

Adénine + désoxyribose + 1 phosphate = dAMP

Adénine + désoxyribose + 2 phosphates = dADP

Adénine + désoxyribose + 3 phosphates = dATP

1.2. Structure primaire de l'ADN

L'acide nucléique ADN est une macromolécule formée de nucléotides.

Les nucléotides s'enchaînent l'un après l'autre.

Les bases azotées sont branchées sur un **squelette Phosphate-Sucre** (Phosphate-Sucre- Phosphate-Sucre-...etc.).

Leur ordre de succession constitue la **structure primaire de l'ADN** que l'on appelle la **séquence de l'ADN** (Fig. 5).

Les nucléosides triphosphates (NTP) sont utilisés dans la synthèse de l'ADN (Fig. 6): l'extrémité 5' du nouveau nucléoside triphosphate réagit avec le groupement hydroxyle (OH) à l'extrémité 3' de la chaîne polynucléotidique. Une **liaison phospho-diester** née et les deux derniers groupements phosphates du NTP sont libérés sous forme d'une molécule appelée **pyrophosphate** (ou PPi).

L'addition des nucléotides donne ainsi une **polarité à la chaîne d'ADN** qui a ainsi une **extrémité 5' phosphate** et une **extrémité 3' hydroxyle**.

Par convention, on dit que la **séquence de l'ADN est toujours orientée de 5' vers 3'**.

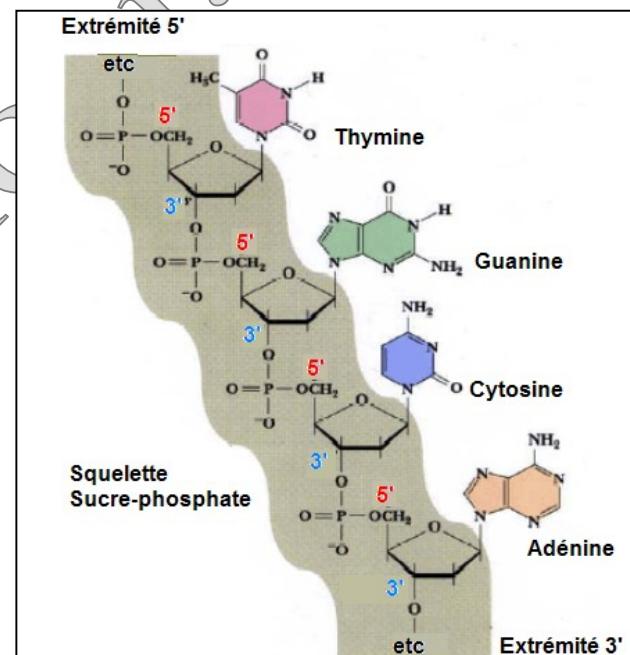
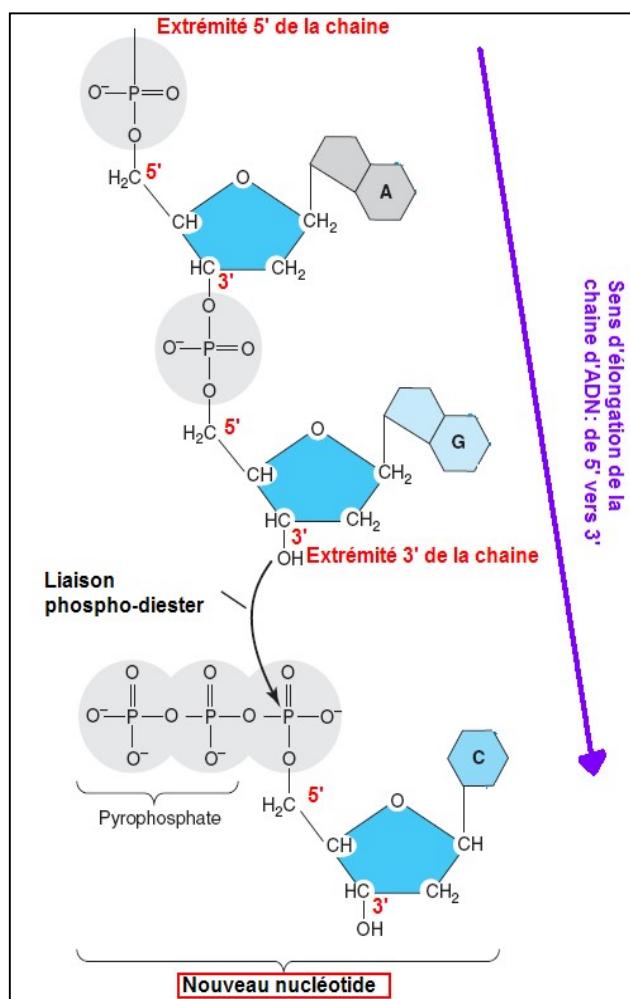


Figure 5



1.3. Structure secondaire de l'ADN

En 1953 Watson, Crick, Wilkins et Franklin découvrent la structure de la molécule d'ADN.

La molécule d'ADN est constituée de deux chaînes (polymères). Ces deux chaînes sont appelées "brins d'ADN".

Les bases azotées des deux brins sont reliées par des liaisons faibles : liaisons hydrogènes (Fig. 7).

Les bases sont associées par paires. Dans chaque paire il y a toujours une purine associée à une pyrimidine:

- Les bases A sont associées aux bases T par 2 liaisons hydrogènes
- Les bases G sont associées aux bases C par 3 liaisons hydrogènes

Les deux brins sont complémentaires l'un de l'autre mais ne sont pas identiques. En connaissant la séquence de l'un on peut déduire la séquence de l'autre.

Ils sont orientés de manière opposée par rapport aux extrémités 3' et 5': l'un est orienté dans le sens 5' → 3' et l'autre dans le sens 3' → 5': on dit qu'ils sont antiparallèles.

Le squelette sucre-phosphate est à l'extérieur et porte des charges négatives sur ses groupements phosphates.

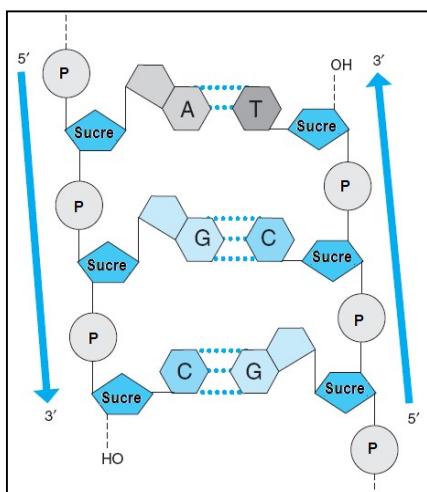


Fig. 7

1.4. Structure tertiaire de l'ADN (double hélice d'ADN)

Chaque brin d'ADN ressemble à une hélice, les deux brins forment alors une structure en "double hélice". La double hélice présente deux types de sillons : les grands sillons et les petits sillons. (Fig. 8). C'est au niveau de ces deux types de sillons que se fixent les protéines nécessaires aux processus de transcription, de réPLICATION ou de réPARATION de l'ADN (voir plus loin).

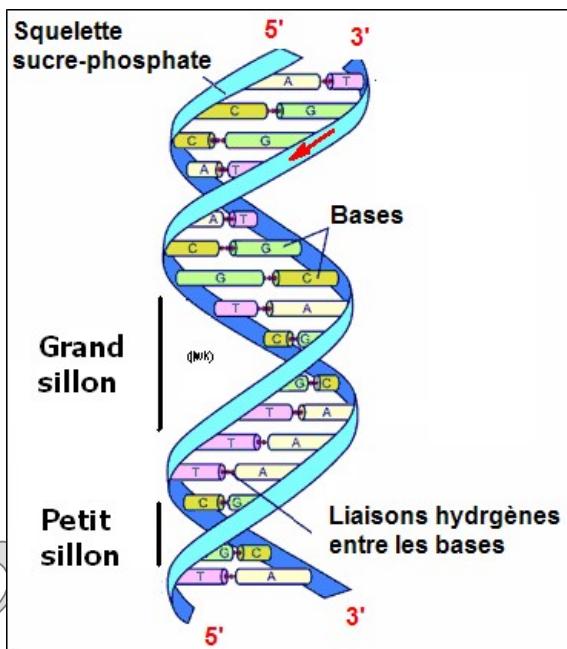


Fig. 8

2.

PROPRIETES PHYSIQUES DE L'ADN

2.1. Taille :

Les acides nucléiques (ADN et aussi ARN) sont les plus grandes macromolécules naturelles.

Trois caractéristiques peuvent être utilisées pour exprimer la taille :

- **La longueur** (en µm ou en nm),
- **La masse moléculaire** en Dalton (Da): 1 dalton = la masse d'un atome d'hydrogène. 1 kilo Dalton (KDa) = 1000 Da.
- **Le nombre de nucléotides ou de bases** (noté b) pour les molécules monocaténaires (simple brin) ou de **paires de bases** (noté pb) pour les bicaténaires (double brin): 1 kilo paires de bases (Kpb) = 1000 pb.

Une paire de bases d'ADN correspond en moyenne à 660 daltons.

2.2. Spectre d'absorption de l'ADN:

L'ADN présente une absorption de la lumière (densité optique) qui est **maximale dans l'ultraviolet UV** (c.-à-d. à une longueur d'onde = 260 nm).

2.3. Dénaturation ou fusion de l'ADN:

C'est la séparation des 2 brins d'un ADN bicaténaire sous l'effet de la chaleur ou de solutions salines faiblement concentrées. Elle correspond à la destruction des liaisons hydrogènes.

La dénaturation s'accompagne d'une augmentation brusque de l'absorbance en UV: c'est l'**effet hyperchrome** (Fig. 9).

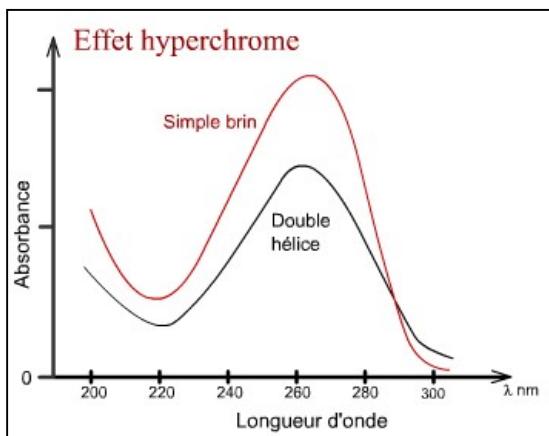


Fig. 9

On appelle **température de fusion ou Tm** (melting temperature) : la température qui correspond à la dénaturation de 50% des molécules d'ADN dans une solution.

Elle est généralement de **83°C** (Fig. 10).

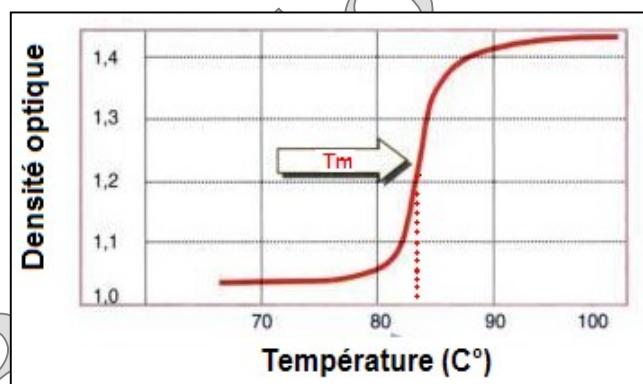


Fig. 10

En chauffant à des températures supérieures à la Tm (85-95°C), tout l'ADN est dénaturé.

Les ADN qui sont riches en paires de bases G≡C ont une T_m plus élevée que les ADN riches en A=T, puisque trois liaisons hydrogène lient G et C alors qu'il n'y en a que deux entre A et T.

2.4. Renaturation de l'ADN

La fusion est un phénomène réversible : en abaissant lentement la température, il y a une réassocation des 2 brins, c'est la renaturation de l'ADN.

Deux simples brins provenant de 2 ADN différents chauffés peuvent aussi se réassocier. C'est une propriété qui s'appelle l'**hybridation**.

2.5. Densité de l'ADN

Quand on centrifuge le produit de lyse cellulaire à haute vitesse (ultracentrifugation) dans une éprouvette contenant un gradient de densité formé par une solution de chlorure de césum (CsCl), les

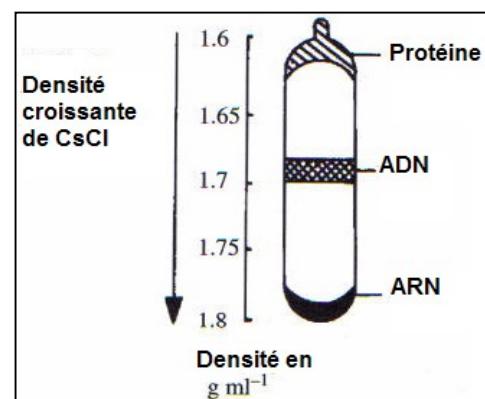


Fig. 11

macromolécules (protéines, ADN, ARN) présentes dans la solution de CsCl forment des bandes distinctes selon leurs densités flottantes:

La densité de l'ARN > la densité de l'ADN > la densité des protéines (Fig. 11).

2.6. Solubilité de l'ADN

L'ADN est soluble dans l'eau mais pas dans l'éthanol.

NB: notion de procaryotes et d'eucaryotes

Les cellules de tous les organismes vivants peuvent être classées en deux grandes catégories: Les eucaryotes et les procaryotes.

(Caryo = noyau, eu = vrai, pro = avant).

Les différences essentielles entre eucaryotes et procaryotes sont les suivantes:

Procaryotes	Eucaryotes
<ul style="list-style-type: none"> - Pas d'enveloppe nucléaire, c.-à-d. pas de vrai - Le matériel génétique est constitué d'un seul chromosome - Généralement absence d'organites intracellulaires développés <p>Ex.: les bactéries</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Vrai noyau avec enveloppe nucléaire - Le matériel génétique est formé de plusieurs chromosomes - Présence d'organites développés: mitochondries, appareil de golgi, réticulum endoplasmique... <p>Ex.: les cellules animales.</p>

3. REPLICATION DE L'ADN

La réPLICATION de l'ADN est le **processus de duplication à l'identique d'une molécule de ADN** en deux molécules filles.

Le modèle accepté de réPLICATION de l'ADN est le **modèle semi conservatif**: chaque molécule nouvelle d'ADN est formée d'un brin parental et d'un brin nouvellement synthétisé (Fig. 12).

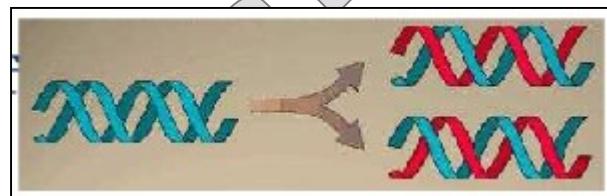


Figure 12

La réPLICATION de l'ADN débute à partir d'une **origine de réPLICATION** (Ori) et progresse dans les deux sens à partir de ce point créant ainsi **deux fourches de réPLICATION**. On dit que la réPLICATION de l'ADN est **bidirectionnelle** (Fig. 15).

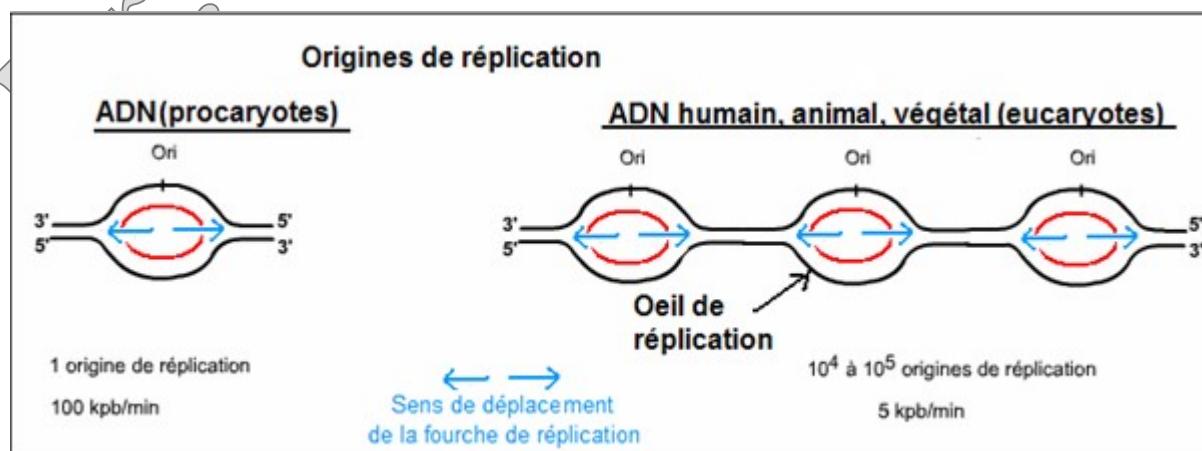


Figure 15

3.1. Mécanisme de la réPLICATION de l'ADN

On distingue trois étapes au cours de la réPLICATION : initiation, élongation, terminaison.

L'initiation.

- Une protéine d'initiation reconnaît une séquence particulière correspondant à l'origine de réPLICATION: il s'agit de la DnaA chez les bactéries et le complexe protéique ORC (Origin Recognition Complex) chez les eucaryotes (Fig. 16).
- Une ADN hélicase se fixe sur cette protéine d'initiation et va dénaturer l'ADN pour former la fourche de réPLICATION (structure en Y).
- Des protéines vont empêcher la fermeture de la double hélice: la SSB (Single Strand Binding) chez les bactéries et la RPA (Replication protein A) chez les eucaryotes.
- Une ARN primase va se fixer au niveau de l'ADN hélicase et constituer ainsi le **primosome**.
- La primase catalyse, à proximité de la fourche de réPLICATION, la synthèse de courtes séquences d'ARN (3-5 nucléotides chez les procaryotes, et environ 10-20 chez les eucaryotes) qui vont par la suite servir d'amorce (ou primer) à l'ADN polymérase III.
- L'ADN polymérase peut commencer la synthèse du brin complémentaire au brin parental. Au bout de quelques déoxyribonucléotides incorporés, l'initiation est terminée.

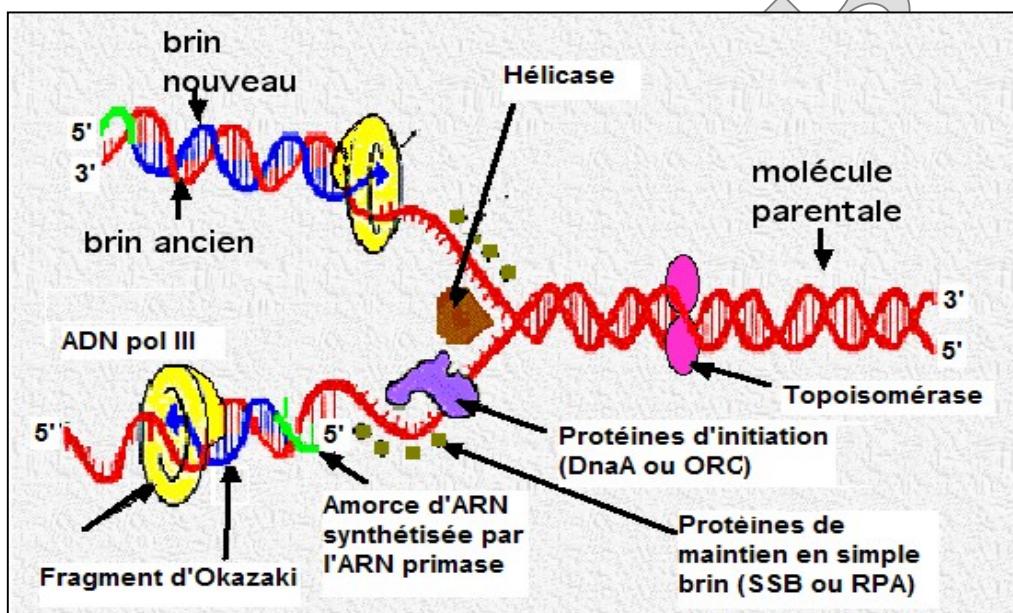
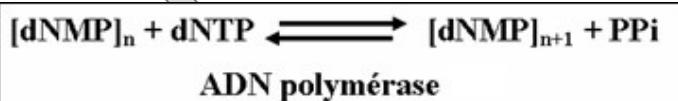


Figure 16

L'élongation.

- Pour que la fourche de réPLICATION puisse continuer à avancer il faut **dérouler la double hélice** ceci se fait par une coupure sur l'un des deux brins de la matrice, le laisser ce brin tourner autour de l'autre puis le raccrocher ; c'est le rôle des **topoisomérasées** (Fig. 16).
- L'ADN polymérase va pouvoir agir facilement:
 - Elle catalyse la réACTION de polymérisATION suivante:



La synthèse s'effectue toujours dans le sens
5' → 3'

- Elle synthétise **en continu**, à partir d'une chaîne parentale un nouveau brin d'ADN, le **brin précoce** (ou avancé ou direct ou leading strand) (Fig. 17).
- Par contre, sur l'autre chaîne parentale, la synthèse s'effectue de manière **discontinue** pour former le **brin tardif** (ou retardé ou indirect ou lagging strand). La primase va régulièrement synthétiser des amorces d'ARN à partir desquelles l'ADN polymérase III va synthétiser les **fragments d'Okazaki** (fragments d'ADN d'environ 200 nucléotides).

- Ces fragments sont reliés les uns aux autres par l'**ADN ligase**, après que l'ADN polymérase ait dégradé l'amorce ARN (grâce à son activité exonucléase 5' → 3') puis re-synthétisé la partie manquante.

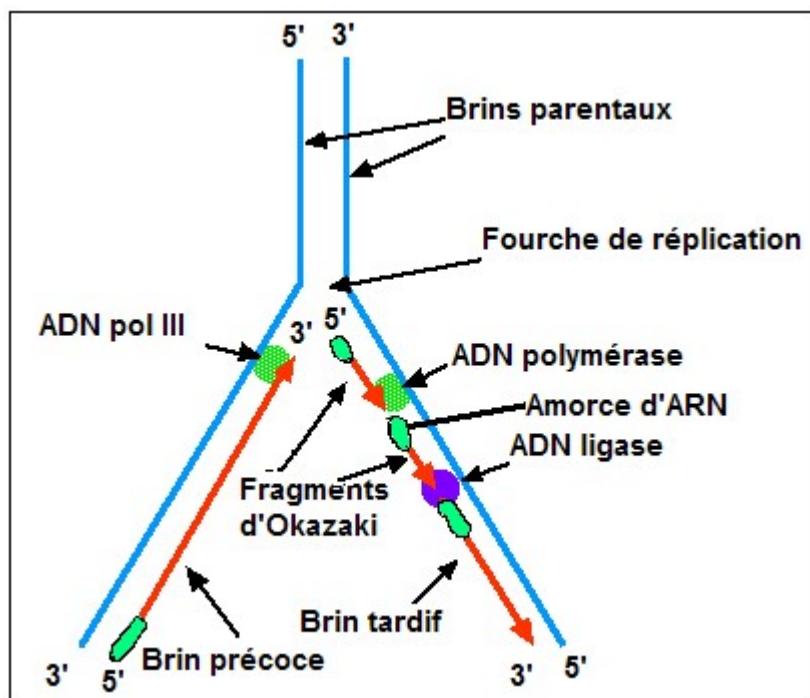


Figure 17

La terminaison.

Pour l'ADN linéaire (eucaryotes), les fourches de réPLICATION s'arrêtent

- Soit lorsqu'elles rencontrent une autre fourche de réPLICATION,
- Soit lorsqu'elles arrivent à l'extrémité d'un chromosome appelé **télomère**: dans ce cas il faut savoir que:
 - L'ADN des télomères est formé par des répétitions très régulières, 5 à 8 paires de bases riches en G qui se combinent entre elles pour former des **structures en épingle à cheveux**. Ces structures protègent contre la dégradation par des endonucléases (**Fig. 18**).
 - La réPLICATION des télomères peut être incomplète, aboutissant à une dégradation progressive des répétitions télomériques (**Fig. 18**). Ceci entraîne le raccourcissement de l'ADN aboutissant, au bout d'un certain nombre de réPLICATIONS, à une absence de répétition télomérique, donc une absence de la protection contre les endonucléases (diminution de la durée de vie d'une cellule).

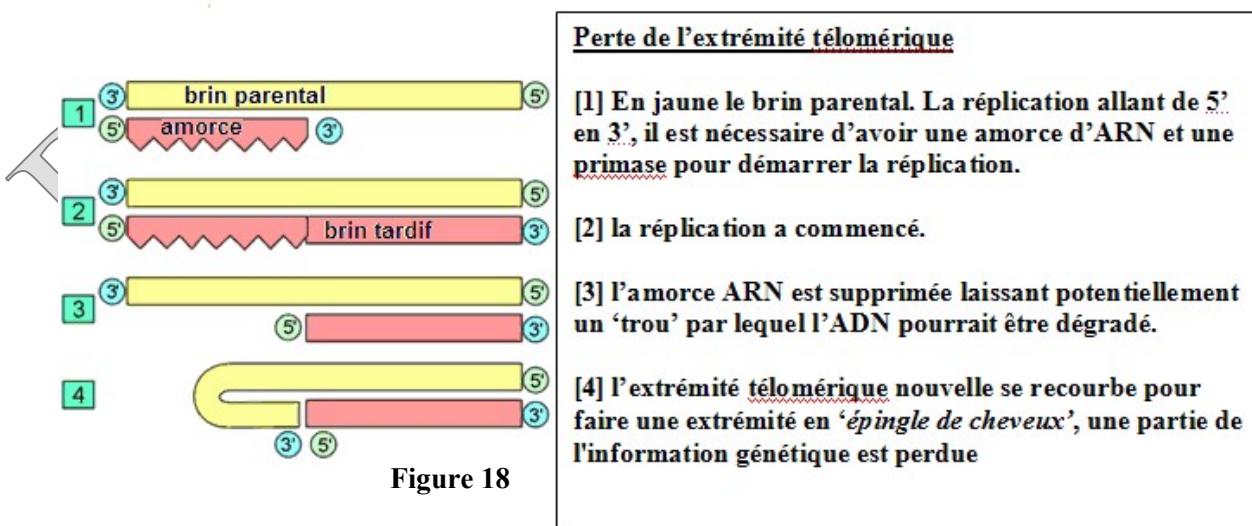


Figure 18

- Dans les cellules souches normales et les cellules cancéreuses (et pas dans les cellules normales différenciées), il existe une enzyme nommée **télomérase** (c'est en fait un complexe protéo-ribonucléique) (**Fig. 19**) qui stabilise les télomères en ajoutant quelques nucléotides (riches en G) à l'**extrémité 3' du brin parental**, les nucléotides ajoutés vont servir de matrice pour la synthèse de nouveaux fragments d'Okazaki, de cette manière, les fragments d'ADN "sacrifiés" à chaque réPLICATION ne seront pas porteurs d'information génétique, celle-ci ne se perdra donc pas ou peu au fil des réPLICATIONS.

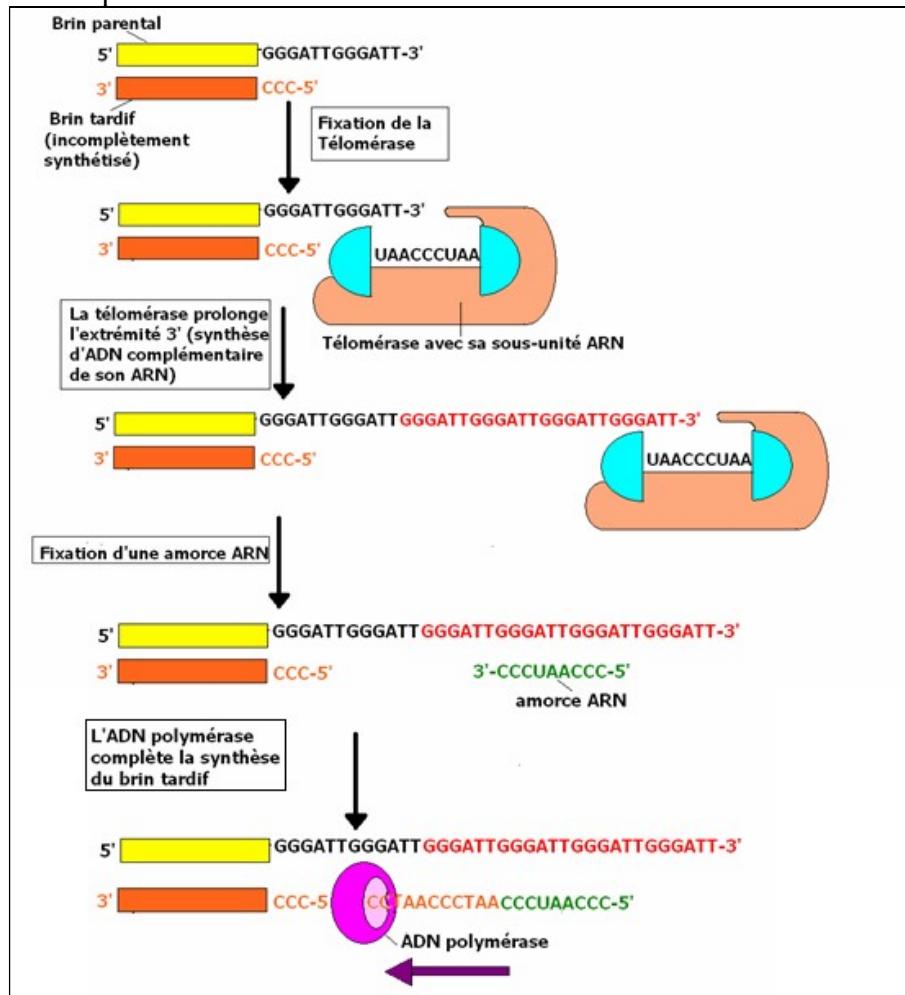


Figure 19

Dans le cas d'un ADN circulaire (bactérie), la terminaison est réalisée lorsque les deux fourches de réPLICATION se rencontrent et se lient grâce à la **topoisomérase de type IV**.

Remarque:

- des recherches sont en cours pour l'**utilisation des inhibiteurs de télomérase dans le traitement des cancers**.
- Des **mutations touchant le complexe de la télomérase** sont responsables d'une maladie nommée: "**Dyskératose Congénitale**" qui est due à un **raccourcissement excessif des télomères dans les tissus hautement prolifératifs**: vieillissement prématûRE (peau, cheveux gris, chute précoce des dents, anomalies des ongles), hypoplasie cérébrale, insuffisance médullaire (de la moelle osseuse), cirrhose du foie,...

4. ORGANISATION DE L'ADN EN CHROMOSOMES

4.1. Condensation de l'ADN cellulaire

L'ADN d'une cellule humaine mesure environ 1.8 mètres et se trouve à l'intérieur du noyau cellulaire qui ne mesure que quelques micromètres. Ceci s'explique par la forme compacte de l'ADN résultant de sa

condensation en présence de protéines dont la **charge positive** va neutraliser sa **charge négative** de l'ADN, le tout formant ainsi les **chromosomes**.

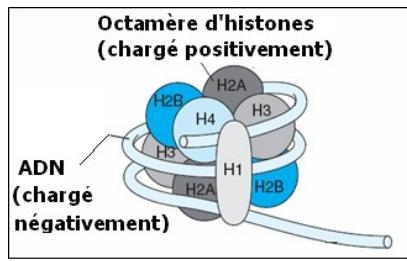


Figure 20

"chapelet" ou "collier de perles" nommée **fibre de chromatine ou nucléofilament**. Elle mesure 11 nm d'épaisseur. Donc l'**élément constitutif de la chromatine est le nucléosome (Fig. 20)**.

- 2- La fibre de chromatine s'enroule autour de l'**histone H1** pour former une **fibre hélicoïdale (ou solénoïde)**, plus courte et plus épaisse, de 30 nm d'épaisseur. Cette fibre représente l'**état de repos de l'ADN en interphase** (phase de repos du cycle cellulaire) (Fig. 21).
- 3- Cette fibre de 30 nm s'enroule sur des protéines pour former une **fibre en boucles de 300 nm avant la phase M** du cycle cellulaire (mitose).
- 4- La fibre en boucles s'enroule encore pour former une **fibre super-enroulée de 700 nm** d'épaisseur.
- 5- L'ensemble de 2 fibres super-enroulées forme le **chromosome métaphasique (1400 nm)**.

La condensation se fait en plusieurs niveaux:

Enroulement de l'ADN (160-180pb) sur des protéines nommées **histones** (deux de chacun des histones: H2a, H2b, H3 et H4 = **octamère**) pour former des **Nucléosomes** qui vont donner une structure en

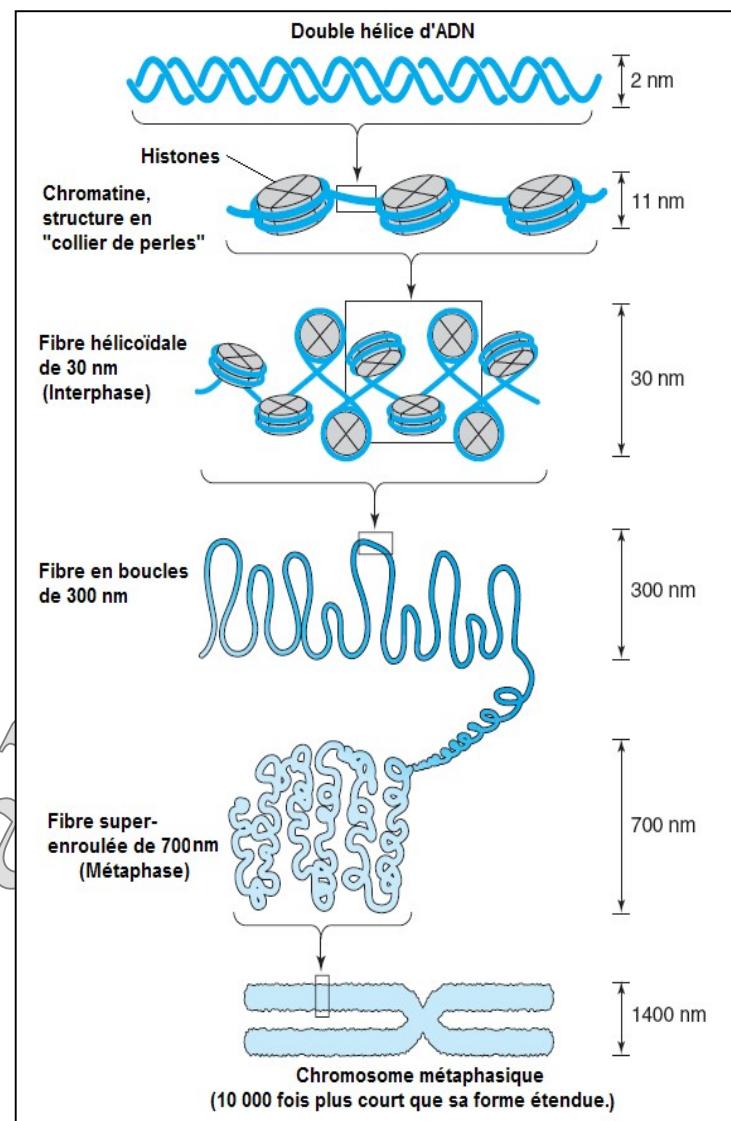


Fig. 21

L'ADN chez l'homme est représenté par **23 paires de chromosomes**:

- 1 paire de **chromosomes sexuels XX ou XY**
- et 22 paires de chromosomes non sexuels dits **autosomes**.

Les cellules où les chromosomes sont organisés en paires (**2n chromosomes**) sont dites: **diploïdes**, celles où les chromosomes ne sont pas en paires (**n chromosomes**) sont dites **haploïdes**.

Chaque chromosome est formé d'**une seule molécule d'ADN** enroulée quand la cellule n'est pas en division: il présente un étranglement nommé **centromère** qui délimite deux bras du chromosome: **un bras long (q)** et **un bras court (p)**. L'extrémité de chaque bras est appelée **télomère** (Fig. 22).

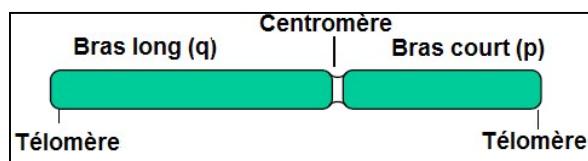


Figure 22

Dès que la cellule commence à entrer en division, cette molécule se réplique pour donner **deux chromatides** (Fig. 23).

Le chromosome métaphasique est la forme la plus visible d'un chromosome formé de deux chromatides.

Selon la localisation du centromère on distingue les formes suivantes (Fig. 24):

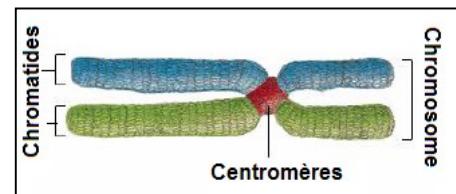


Figure 23

- **Les chromosomes métacentriques:** Le centromère délimite deux bras égaux.
- **Les chromosomes acrocentriques:** Le centromère délimite deux bras inégaux.
- **Les chromosomes télocentriques:** Le centromère se confond avec l'une des extrémités télomériques.

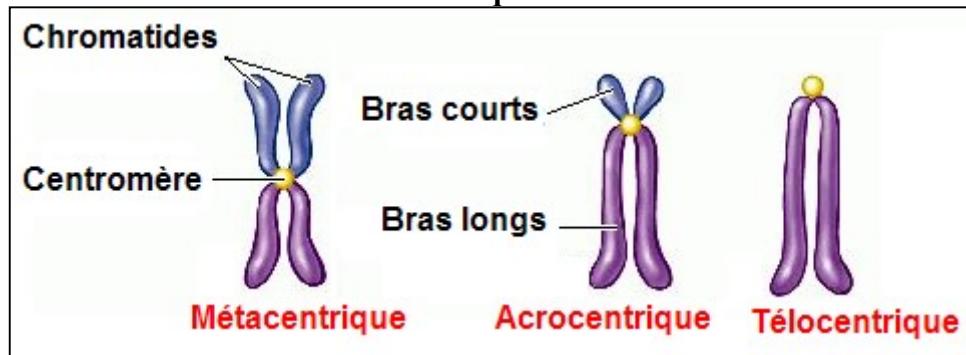


Figure 24

Remarque: Chez les procaryotes (ex. Bactéries): on trouve généralement un seul chromosome circulaire. Avec existence de plasmides. Mais quelques espèces ont plusieurs chromosomes.

4.3. Euchromatine et hétérochromatine

Chez les eucaryotes, l'état de condensation de l'ADN affecte l'activité génétique: Plus l'ADN est condensé plus il est difficile d'utiliser son information génétique (transcription).

A la métaphase, la chromatine se condense en chromosomes visibles, il n'y a pas de transcription. Durant l'interphase, deux types de chromatine peuvent être observées (Fig. 25):

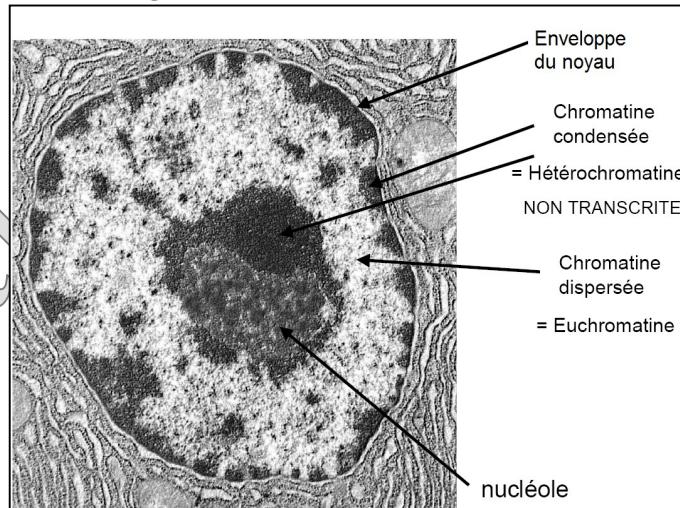


Fig 25

- **L'euchromatine:** ADN qui retrouve son état décondensé interphasique et qui est dit **ADN actif**. Elle est répartie à l'intérieur du **nucléoplasme**.

• L'hétérochromatine,

- ADN qui conserve son état **condensé** et qui est principalement **inactif**.
- Elle est localisée principalement en **périmétrie du noyau et du nucléole**.
- Selon la permanence de l'état condensé on distingue:
 - **L'hétérochromatine constitutive**, qui n'est jamais exprimée. Elle est située autour du centromère du chromosome.
 - **L'hétérochromatine facultative**, qui est parfois exprimée.

5. DIVISION ET CYCLE CELLULAIRE CHEZ LES EUKARYOTES

5.1. Mitose

La cellule somatique (non sexuelle) nucléée peut se diviser pour donner 2 cellules filles ayant les mêmes caractères morphologiques et physiologiques que la cellule mère.

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation par division de la cellule mère et le moment où cette cellule même fini de se diviser à son tour en 2 cellules filles grâce à la mitose. Il comprend des alternances de mitoses et de phases intermitotiques : interphasées (Fig. 26).

Interphase

- Période comprise entre la fin de la division et le début de la suivante.
- C'est la plus grande partie du cycle, et le noyau est mécaniquement inactif.
- La durée est variable en fonction de la cellule : la cellule intestinale se divise 2 fois/j, la cellule hépatique se divise 1 à 2 fois/an.
- Se décompose en une phase G1, S et G2.

Phase G1 :

- G vient de Gap = intervalle, c'est la phase entre la fin de mitose et le début de la synthèse d'ADN.

- Durée variable en fonction de la nature de la cellule.

- La cellule en phase G1 peut :

- * Entrer en phase S et s'engager dans le processus de division, ce passage est irréversible.
- * ou Entrer dans la phase G0 où elle reste même des années sans se multiplier.

- La quantité d'ADN reste constante pendant G1 : 2N chromosomes.

- Chaque chromosome est sous forme d'un seul nucléofilament.

Phase S :

- Synthèse de l'ADN : **réPLICATION de l'ADN**.

- Chaque chromosome devient formé de deux chromatides sous forme de **2 nucléofilaments réunis par un centromère**.

- **Synthèse des ARNm qui vont servir à la synthèse des histones**

- Arrêt de la synthèse des autres ARN.

Phase G2 :

- **Condensation de la chromatine** (fibre en boucle de 300 nm).

- Synthèse des protéines nécessaires à la division

Mitose ou Phase M

La mitose distribue de façon égale l'ADN entre les 2 cellules filles.

Prophase :

Prépare la division des chromosomes par

- La division du centrosome qui est un MTOC (microtubules organizing center : centre organisateur des microtubules.) qui polymérise, à partir du matériel centriolaire, les microtubules qui vont former le fuseau mitotique et qui guidera les chromosomes dans leurs mouvements.

- La condensation des chromosomes : c'est à cette phase que les chromosomes commencent à devenir visibles. Chacun est constitué de 2 chromatides unies par leur centromère.

- L'enveloppe nucléaire se fragmente en petites vésicules.

Métaphase :

- Attachement des chromosomes au niveau de leurs centromères aux microtubules par l'intermédiaire des **kinétochore**s et leur migration vers **plaqué équatoriale** de la cellule où ils vont se localiser. Le kinétochore est un complexe macromoléculaire qui sert de lien entre les microtubules du fuseau et le chromosome mitotique.

- Chaque chromosome métaphasique est constitué de 2 chromatides qui portent chacune un kinétochore.

- Le **fuseau mitotique** est constitué des microtubules

Anaphase :

Séparation des deux chromatides sœurs et migration de chacun vers un pôle opposé de la cellule pour devenir un chromosome indépendant.

Télophase :

- **Regroupement** des chromosomes aux pôles cellulaires.
- Reconstruction du noyau par l'**enveloppe nucléaire** à partir des vésicules dans l'ancienne membrane nucléaire.
- **Décondensation** des chromosomes.
- **Cytodièrèse** : Séparation des éléments cytoplasmiques par formation d'une membrane séparant les 2 cellules filles.

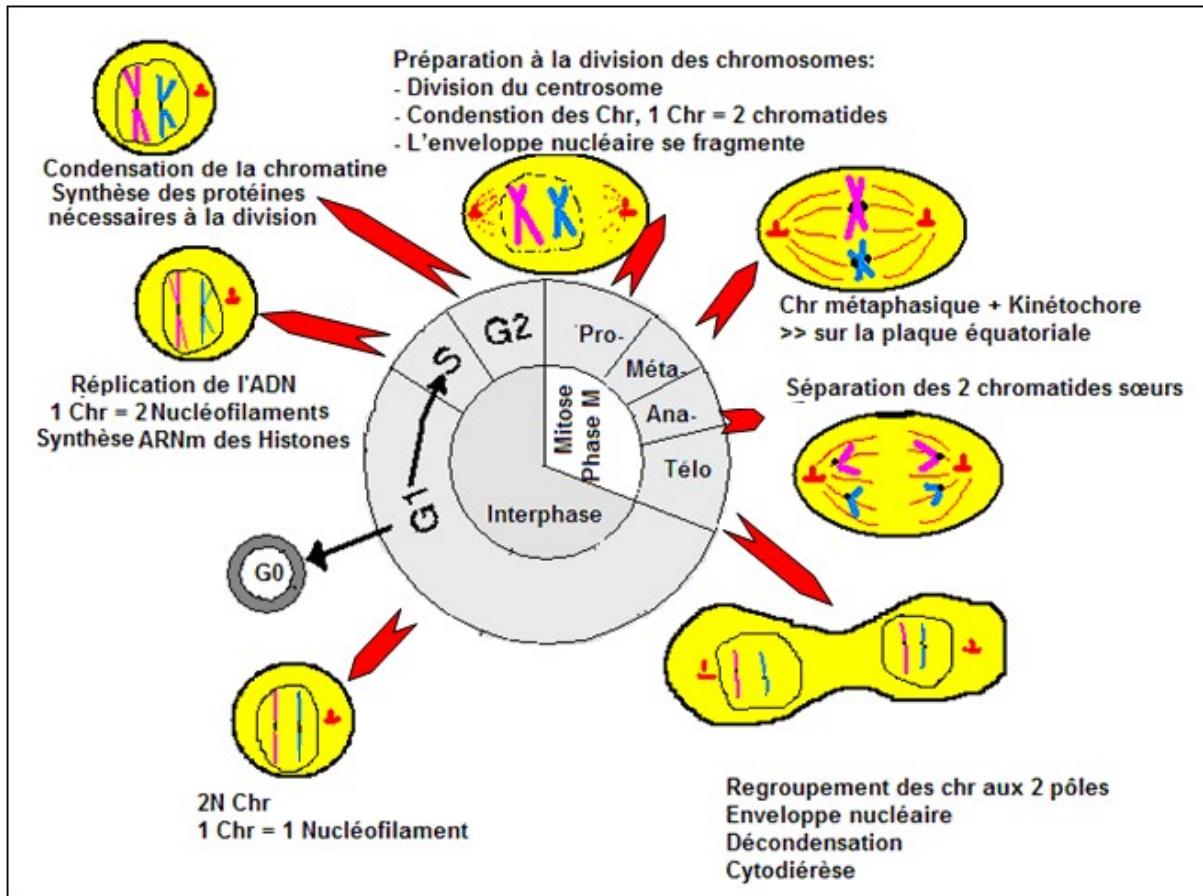


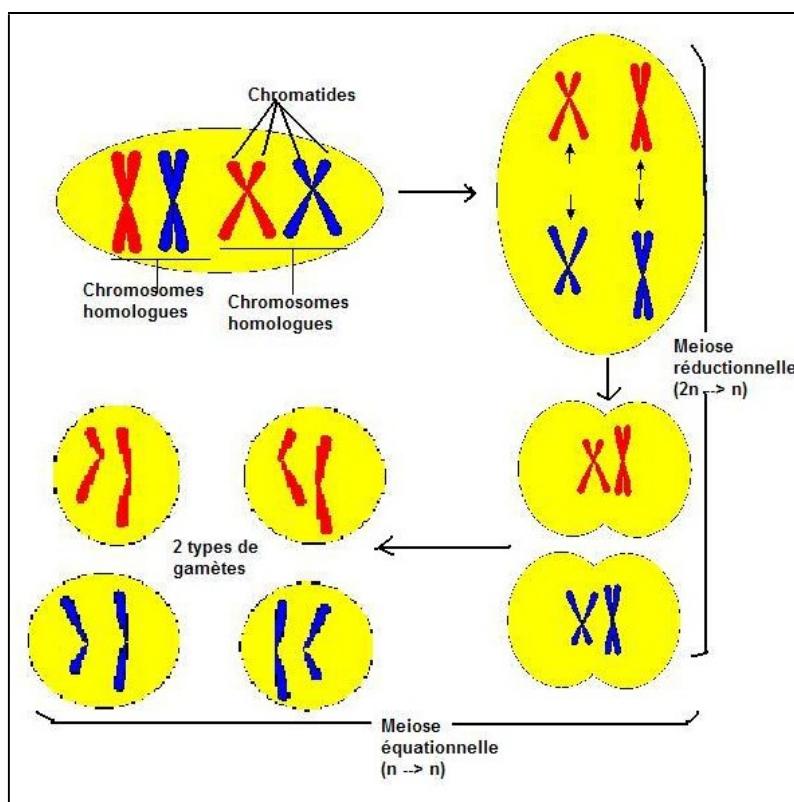
Figure 26

5.2. Méiose

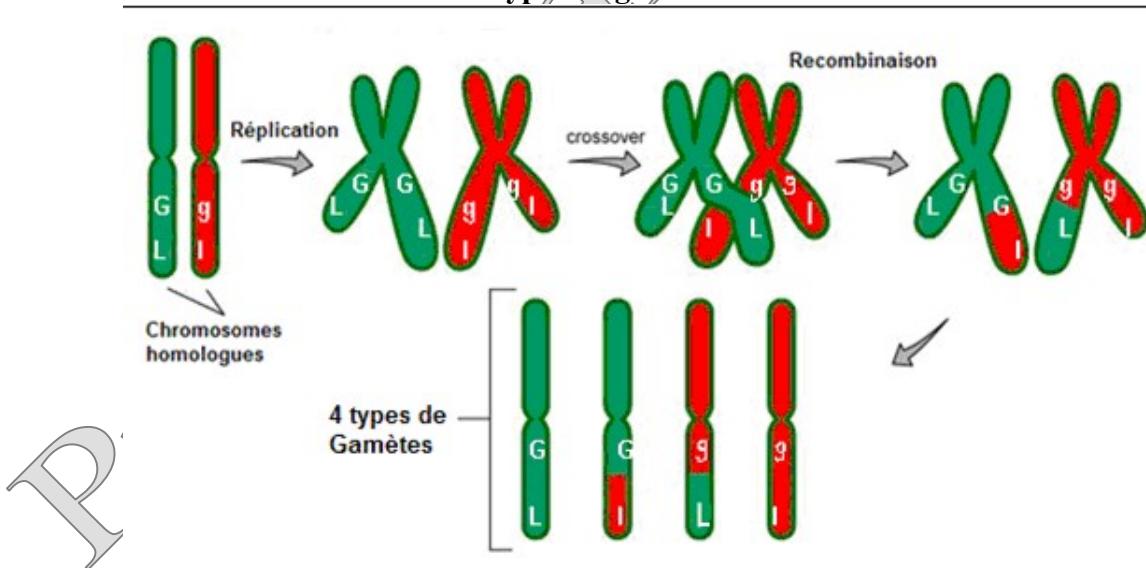
La méiose est une suite de deux divisions qui se produisent pendant la gamétogénèse (la formation des gamètes).

La première: division réductionnelle car elle divise par deux le nombre de chromosomes. Ceux-ci passent de $2n$ à n par séparation des chromosomes homologues.

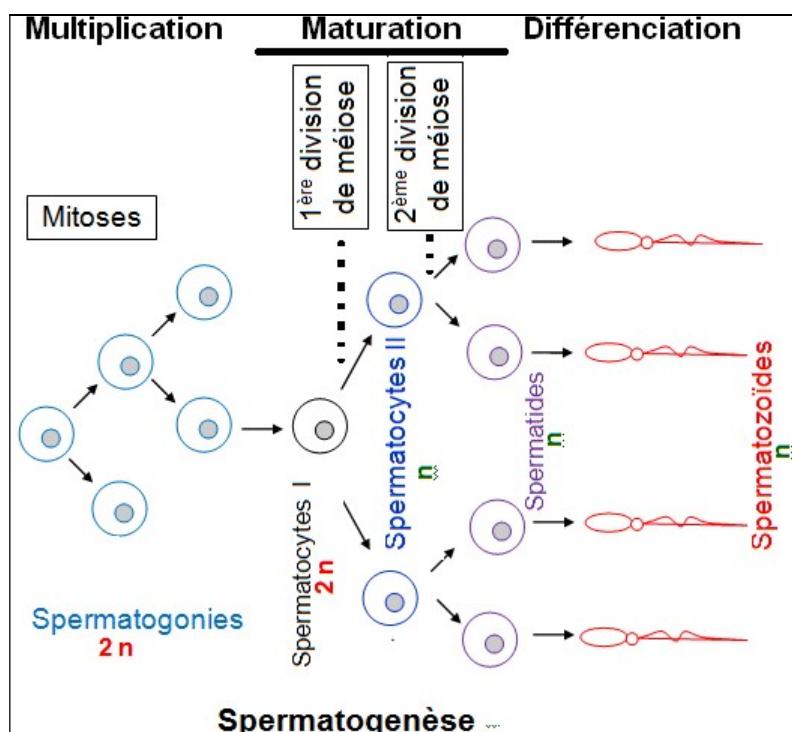
La deuxième : division équationnelle car elle maintient le même nombre de chromosomes dans chaque cellule par séparation des chromatides.



À la première phase de la méiose (méiose réductionnelle), lorsque les **chromosomes homologues** se séparent, ils peuvent s'échanger des morceaux. Un chromosome cède alors à son homologue une ou plusieurs parties de lui-même en **échange** des mêmes morceaux provenant de l'autre chromosome. Après l'échange, les deux homologues se séparent et migrent chacun dans un gamète. Cet **échange de matériel génétique entre ses chromosomes homologues**, est nommé « **Crossing-over** » (ou enjambement). Il survient à la prophase I. Il entraîne la formation de **4 types de gamètes** au lieu de 2 dans une méiose sans échanges.

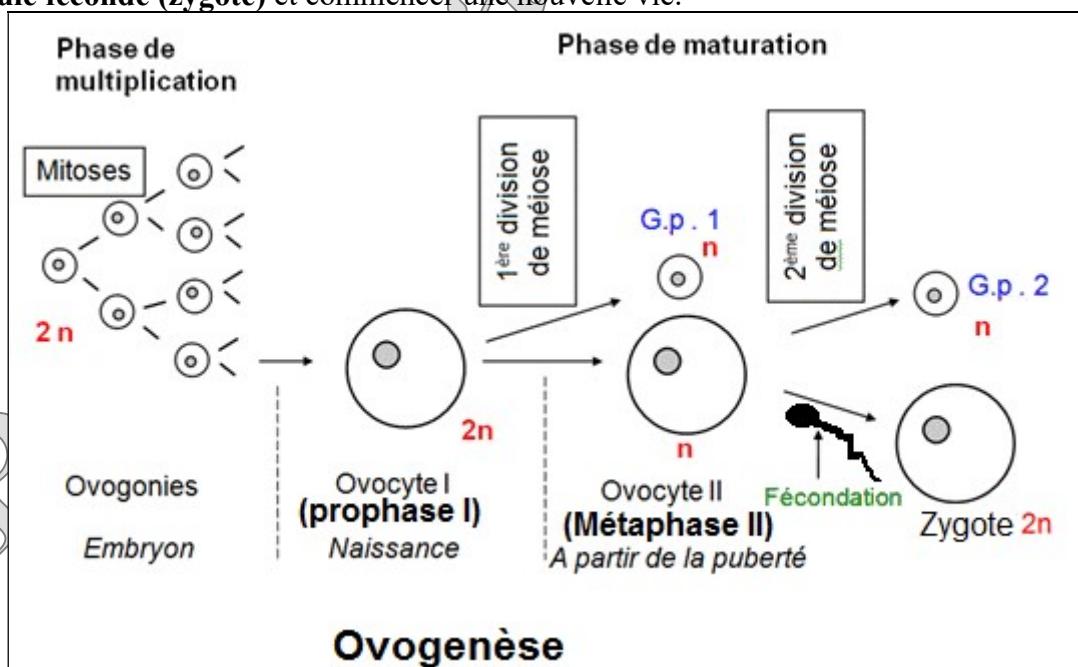


Chez les hommes, la **spermatogenèse** (processus de formation des gamètes) **commence à la puberté** et elle est très **rapide** : Une fois la puberté atteinte, des dizaines à des centaines de millions de spermatozoïdes sont produits par jour. De plus, les deux divisions méiotiques ont une **cytodièrèse égale** (cellules de la même taille).



Cependant, lors de l'**ovogénèse** (formation des gamètes femelles), les deux divisions méiotiques ont une **cydiérose inégale**, résultant en une grande cellule haploïde et trois petites cellules haploïdes qui dégénèrent. Les petites cellules sont appelées **globules polaires**.

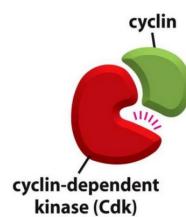
A la différence de l'homme, l'ovogénèse commence **avant la naissance** pour donner à partir des ovogones, **des ovocytes I** qui resteront bloqués au stade de la **prophase I**. Au début de la **puberté**, un ovocyte I terminera la méiose I à chaque mois dans le cadre du cycle menstruel, puis sera libéré dans les trompes de Fallope pour la fécondation. Il s'agit de l'**ovocyte secondaire** qui restera bloqué au stade de métaphase II. S'il est fécondé, il achèvera la méiose II et le noyau final fusionnera avec le noyau du spermatozoïde pour former l'**ovule fécondé (zygote)** et commencer une nouvelle vie.



5.3. Régulation du cycle cellulaire

Rôle des complexes Cdk-Cyclines

Les **complexes Cdk-Cyclines** (Cdk : cyclin dépendant kinase) permettent le passage d'une phase à une autre du cycle.

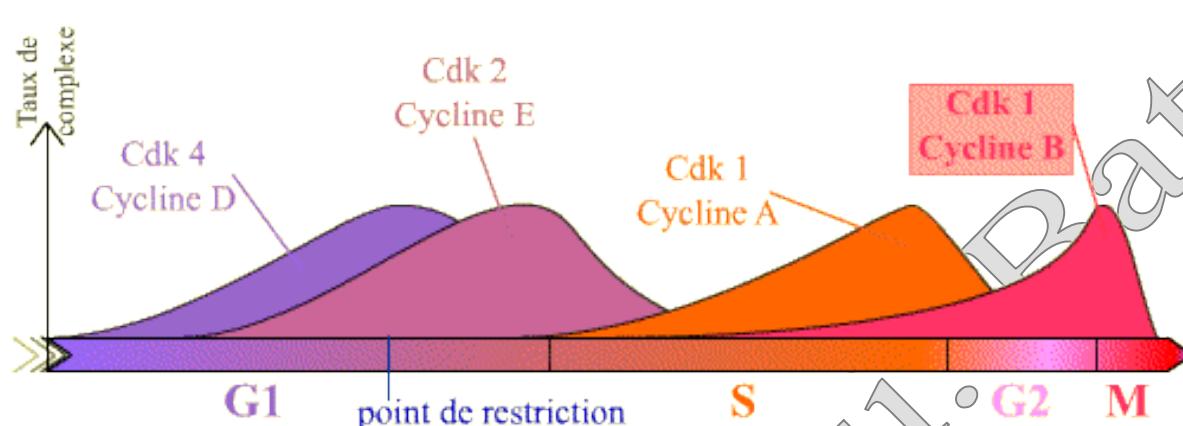


Les Cdk sont des séroline-thréonine kinases, enzymes qui catalysent la phosphorylation de protéines cible jouant un rôle dans les événements du cycle cellulaire (fragmentation de l'enveloppe nucléaire, compaction des chromosomes, réplication de l'ADN). Les Cdk majeures sont Cdk1, Cdk2, CD4 et Cdk6. Elles ne deviennent fonctionnelles que lorsqu'elles sont associées à une cycline.

Les cyclines n'ont pas d'activité enzymatique, ce sont des protéines régulatrices nécessaires aux Cdk pour qu'elles soient enzymatiquement actives.

Le taux de Cdk dans une cellule ne change pas mais celui des cyclines est variable selon différents signaux que reçoit la cellule.

L'activité enzymatique des Cdk est modifiable également par plusieurs protéines inhibitrices et activatrices.



Le contrôle du cycle cellulaire se fait à plusieurs endroits du cycle cellulaire appelés des « check points » :

1. DNA Damage Checkpoints (DDCP):

La surveillance de l'intégrité de l'ADN s'effectue tout au long de l'interphase (G1, S, G2), on parle de checkpoint G1/S, intra-S et G2/M.

2. Replication Checkpoint (RCP):

La surveillance de l'accomplissement de la réplication (RCP) s'étale tout au long de la phase S et de la phase G2. Ainsi, la cellule ne pourra pas commencer la mitose tant que la réplication n'est pas correctement terminée et lorsqu'un défaut de réplication est détecté, la cellule arrête le cycle. La transition G2/M ne pourra donc se faire que si la réplication est correctement terminée et si l'ADN n'est pas lésé.

3. Spindle Assembly checkpoint (SAC) et transition métaphase-anaphase :

Il vérifie si tous les chromosomes sont attachés au fuseau mitotique et si les chromatides peuvent se séparer.

6. GENES

6.1. Généralités:

Le gène est une séquence d'ADN qui occupe un site particulier sur un chromosome, c'est l'unité physique de l'hérédité. Il code pour un produit fonctionnel tel qu'une protéine ou une molécule d'ARN (ex.: ARNr ou ARNt)

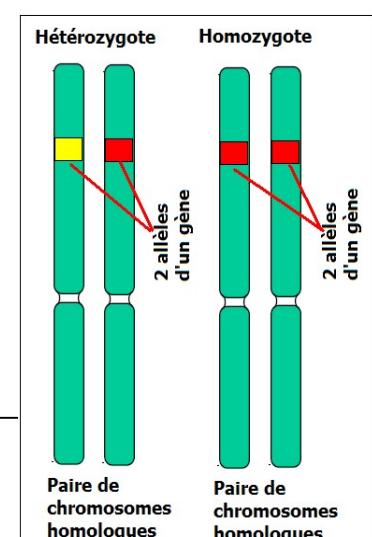
Chaque copie du gène située sur un chromosome homologue est nommée allèle (Fig. 27).

Si les deux allèles sont un peu différents: l'individu est dit hétérozygote pour ce gène

Si les deux allèles sont strictement identiques: l'individu est dit homozygote pour ce gène.

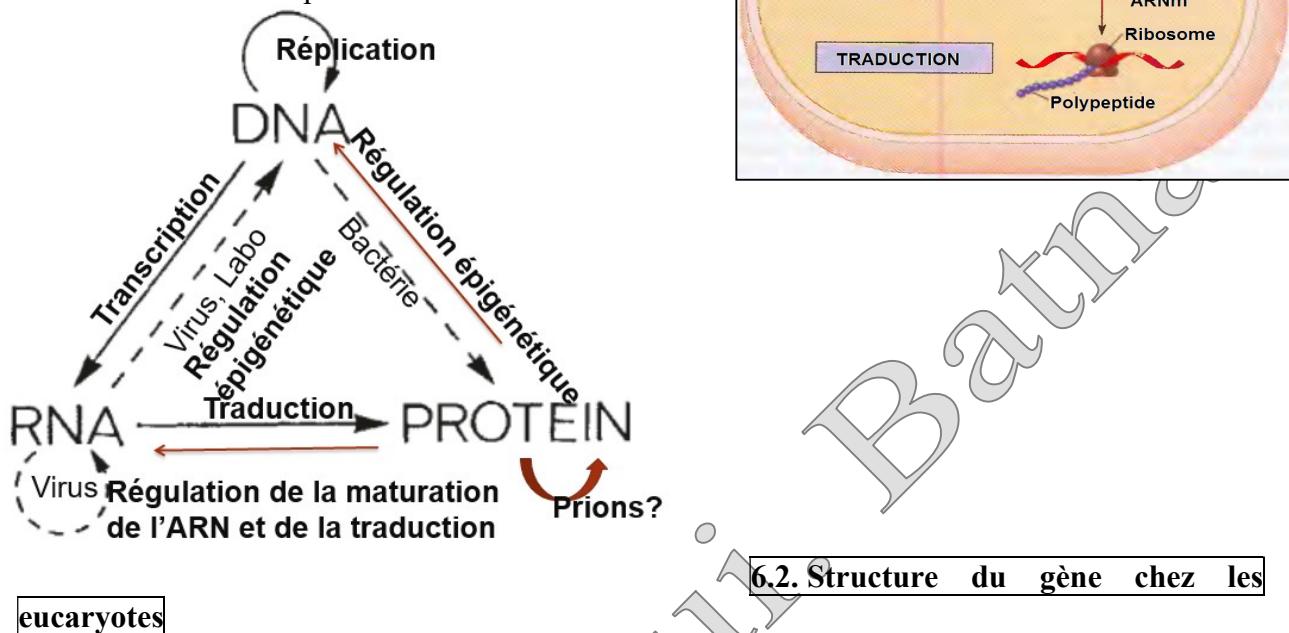
La taille des gènes est variable.

La place occupée par un gène sur le chromosome et sur la carte génétique est appelée le locus du gène (pluriel: loci ou locus)



Le gène codant pour une protéine est d'abord transcrit en ARN messager (ARNm) c'est la **transcription**. L'ARNm est ensuite traduit en protéine: la **traduction** (Fig. 28).

En réalité, l'ADN, l'ARN et les protéines travaillent en réseau et nous allons voir leurs interactions possibles.



6.2. Structure du gène chez les eucaryotes

D'un point de vue structural, un gène au sens strict est formé d'une unité de transcription.

D'un de point de vue fonctionnel, un gène au sens large est formé d'une unité de transcription et d'éléments de contrôle (Fig. 29).

6.2.1. L'unité de transcription:

- Elle commence au site d'initiation de la transcription et se termine au site de fin de transcription.
- **Le site de départ (ou d'initiation) de la transcription** (marqué souvent +1) est le point de commencement d'un gène codant pour une protéine.
- **La séquence de tête non traduite (5' UTR, 5'-UnTranslated Region)**: est la séquence qui suit le site d'initiation de la transcription.

Elle sera transcrise mais pas traduite.

Elle contient quelques dizaines ou quelques centaines de pb.

Elle contient une séquence qui va rendre l'ARNm capable de se lier à un "CAP" (ou chapeau ou coiffe qui est le m7G), après la transcription: c'est le **coiffage ou "capping"** de l'ARNm.

- **Le codon d'initiation ATG est le site de départ de traduction**, il suit la séquence 5'UTR. ATG code pour l'acide aminé méthionine, toutes les protéines débutent leur synthèse par la méthionine qui est éliminée par la suite si elle ne fait pas partie de la séquence protéique.

- Puis vient une succession de séquences tantôt codantes, **les exons** qui seront transcrits et traduits, tantôt non codantes, **les introns** qui seront transcrits mais pas traduits (après la transcription, les introns seront excisés et les exons épissés).

- **Le site de fin de traduction**: il vient à la fin du dernier exon, c'est un **codon STOP (TAA, TAG ou TGA)**.

- **La séquence de queue non traduite (3'UTR, 3' UnTranslated Region)** vient après le codon STOP.

Elle s'achève au **site de fin de transcription**.

Elle peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de bases.

Elle contient une (ou plusieurs) séquence de polyadénylation (séquence AATAAA de l'ADN qui correspond à la séquence AAUAAA de l'ARN) qui va permettre d'ajouter une queue poly(A) à l'ARNm après sa transcription: c'est la polyadénylation.

6.2.2. Eléments de contrôle du gène:

a- Le promoteur:

C'est une séquence située en amont, côté 5' du gène, adjacente du site d'initiation de la transcription.

Elle mesure une centaine de pb,

Elle définit le site d'initiation de la transcription et sa direction.

Elle contient le site de fixation de l'ARN polymérase.

Elle peut comporter des séquences régulatrices.

Le promoteur comprend:

- **Le promoteur minimal** formé d'une séquence consensus à -30pb en amont du site d'initiation de la transcription de gènes, appelée **TATA box**. Elle est formée de la séquence consensus: 5' TATA (A/T) A (A/T) 3'.
- **Des séquences consensus régulatrices proximales** ou "éléments en amont= upstream elements"

b- Les séquences consensus régulatrices distales (voir § 9 pour plus de détails).

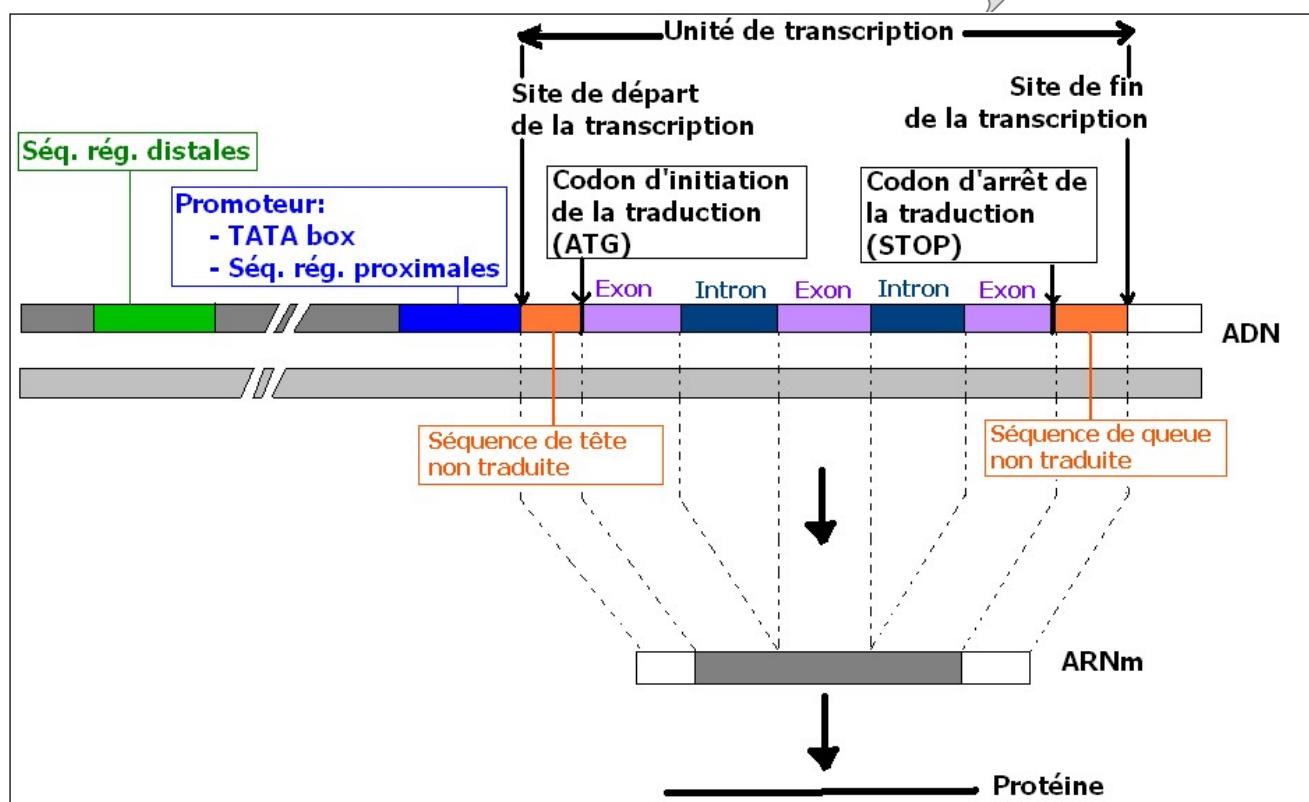


Fig.29

7. EXPRESSION D'UN GENE

Un gène code pour un produit fonctionnel qui peut être une protéine ou une molécule d'ARN.

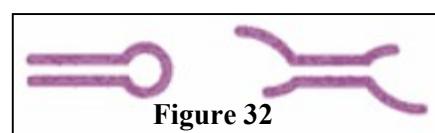
7.1. Structure des ARN

Les ARN (acides ribonucléiques) sont des molécules dont la composition est sensiblement pareille que celle de l'ADN sauf qu'elle contient de l'Uracile à la place de la Thymine et du ribose à la place du désoxyribose. (Pour la nomenclature, le nucléoside de l'Uracile est l'Uridine, ex.: UMP = Uridine monophosphate).

Il s'agit de molécules monocaténaires qui peuvent présenter des appariements (Fig. 32):

- Intramoléculaires: lorsqu'il existe des séquences complémentaires au sein de la même molécule d'ARN.

- Intermoléculaires: lorsqu'il existe des séquences complémentaires entre deux molécules d'ARN différentes.



Les ARN peuvent être classés en différentes classes fonctionnelles de structures différentes.

a- Les ARNt ou ARN de transfert

Ils **transfèrent les acides aminés (aa)** du cytoplasme jusqu'aux ribosomes (lieu de synthèse des protéines).

Ils sont caractérisés par:

- **Une structure en feuille de trèfle (Fig. 33)** résultant d'appariement intramoléculaires donnant **3 tiges ou bras** qui se terminent par **3 boucles et un bras accepteur**.
- L'extrémité 3'-OH, au bout du bras accepteur toujours formée de l'enchaînement CCA, permet de porter **l'aa à transférer qui va se fixer sur sa base A**.
- La boucle en face du bras accepteur porte un triplet de nucléotides qui sont complémentaires du codon complémentaire sur l'ARN messager lors de la traduction, il est appelé: **anti-codon**.

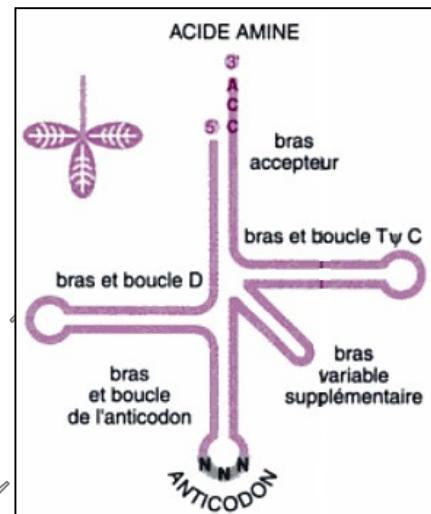


Figure 33

b- Les ARNr ou ARN ribosomaux

Ils sont formés d'un réseau complexe de tiges et de boucles qui lui donne la **forme d'un peloton** (Fig. 34).

Ils participent, avec les protéines ribosomales à la **synthèse des ribosomes** (lieu de synthèse des protéines).

D'une manière générale, les ribosomes sont composés de deux sous-unités: une **petite sous-unité** et une **grande sous-unité** (Fig. 34).

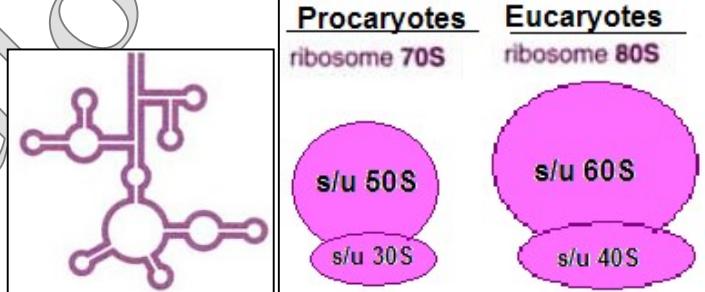


Figure 34

c- Les ARNm ou ARN messagers

Les ARNm résultent de la transcription de l'ADN, ils portent un message du gène vers les ribosomes pour synthétiser la protéine codée par ce gène.

Ils sont formés de **triplets de nucléotides appelés codons**, chacun correspondant à un acide aminé.

Ils portent à leurs extrémités des **marques de maturation post-transcriptionnelle du pré-ARNm** qui sont la coiffe 5' (ou m⁷G) et la queue poly(A).

7.2. La transcription: synthèse de l'ARNm

L'ARNm est transcrit à partir du **brin matrice (ou brin anti-sens)** d'un gène.

- L'ARN polymérase se fixe sur le promoteur pour commencer la transcription.
- L'ARN polymérase écarte les deux brins d'ADN et assemble des nucléotides d'ARN au fur et à mesure que leurs bases s'apparentent avec la matrice d'ADN. Elle synthétise ainsi un brin d'ARN qui s'allonge dans le sens 5'→3'.
- L'unité de transcription est le segment de l'ADN transcrit en ARN.
- **Chez les procaryotes il existe un seul type d'ARN polymérase qui synthétise tous les types d'ARN, alors que chez les eucaryotes il existe 3 types d'ARN polymérasées:**
 - **L'ARN polymérase I:** synthèse des ARNr
 - **L'ARN polymérase II:** synthèse des ARNm et quelques ARNsn (petits ARN nucléaires impliqués dans la maturation de l'ARNm).
 - **L'ARN polymérase III:** synthèse des ARNt, ARNr et la plupart des ARNsn.

La transcription peut être divisée en 3 étapes pour faciliter son étude: l'initiation, l'elongation et la terminaison.

a- L'initiation de la transcription

- Chez les procaryotes, l'ARN pol reconnaît elle-même le promoteur et s'y fixe alors que chez les eucaryotes, elle a besoin d'intermédiaires appelés les facteurs de transcription généraux (il en existe au moins 6) qui vont se fixer sur le promoteur avant qu'elle ne le fait. L'ensemble: **ARN pol + Facteurs de transcription généraux + promoteur = Unité d'initiation de la transcription** (Fig. 35). Le premier facteur de transcription reconnaît une séquence consensus sur le promoteur: la TATA box, puis il recrute l'ARN pol et les autres facteurs de transcription.

- Une fois l'ARN polymérase se fixe sur le promoteur, ce dernier décide du point de départ de la transcription et du brin qui va être transcrit (brin matrice ou brin anti-sens).

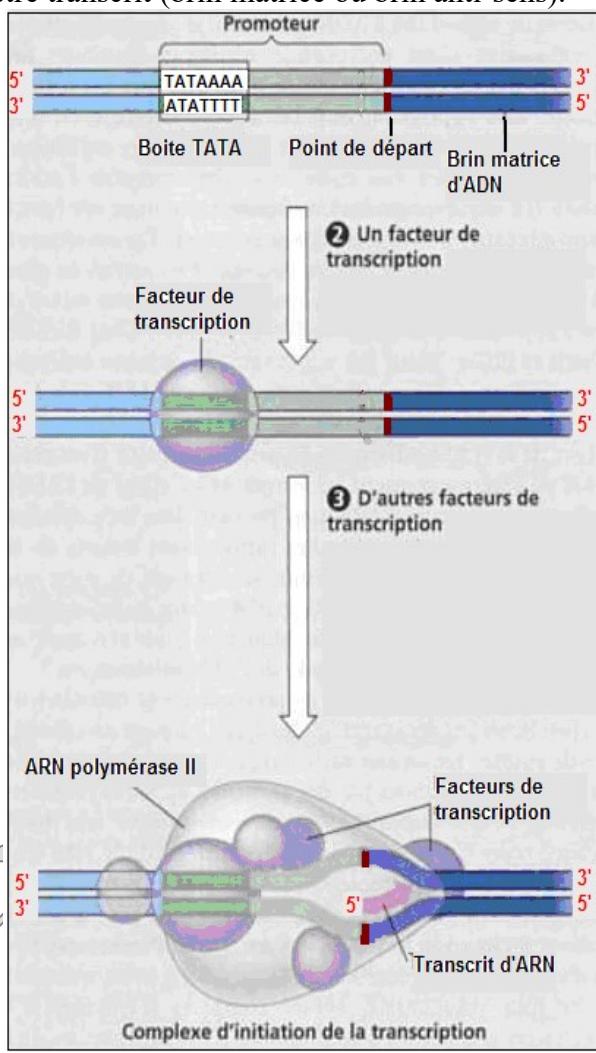


Fig. 35

b- Elongation de la transcription

- L'ARN pol déroule alors l'ADN et commence la synthèse de l'ARN à partir du brin matrice, la molécule d'ARN croît dans le sens 5' → 3'.
- La partie de la double hélice qui se trouve derrière l'ARN pol. se reconstitue et le brin d'ARN synthétisé se détache progressivement (Fig. 36). Chez les eucaryotes, la vitesse de progression de la transcription est de 60 nucléotides par seconde.
- Un même gène peut être transcrit par plusieurs ARN pol. en même temps ce qui permet à la cellule d'avoir une plus grande quantité de la protéine codée par l'ADN.

c- Terminaison de la transcription

La transcription s'étend jusqu'au codon STOP puis va au-delà vers la séquence transcrète et non traduite 3'UTR qui contient la séquence permettant la polyadénylation de l'ARN pré-messager.

Remarque: On peut résumer les différences dans la transcription entre eucaryotes et procaryotes dans: la présence chez les eucaryotes de 3 types d'ARN polymérase, la nécessité de facteurs de transcription et de plusieurs séquences régulatrices ainsi que la nécessité de contourner l'empaquetage de l'ADN dans les nucléosomes.

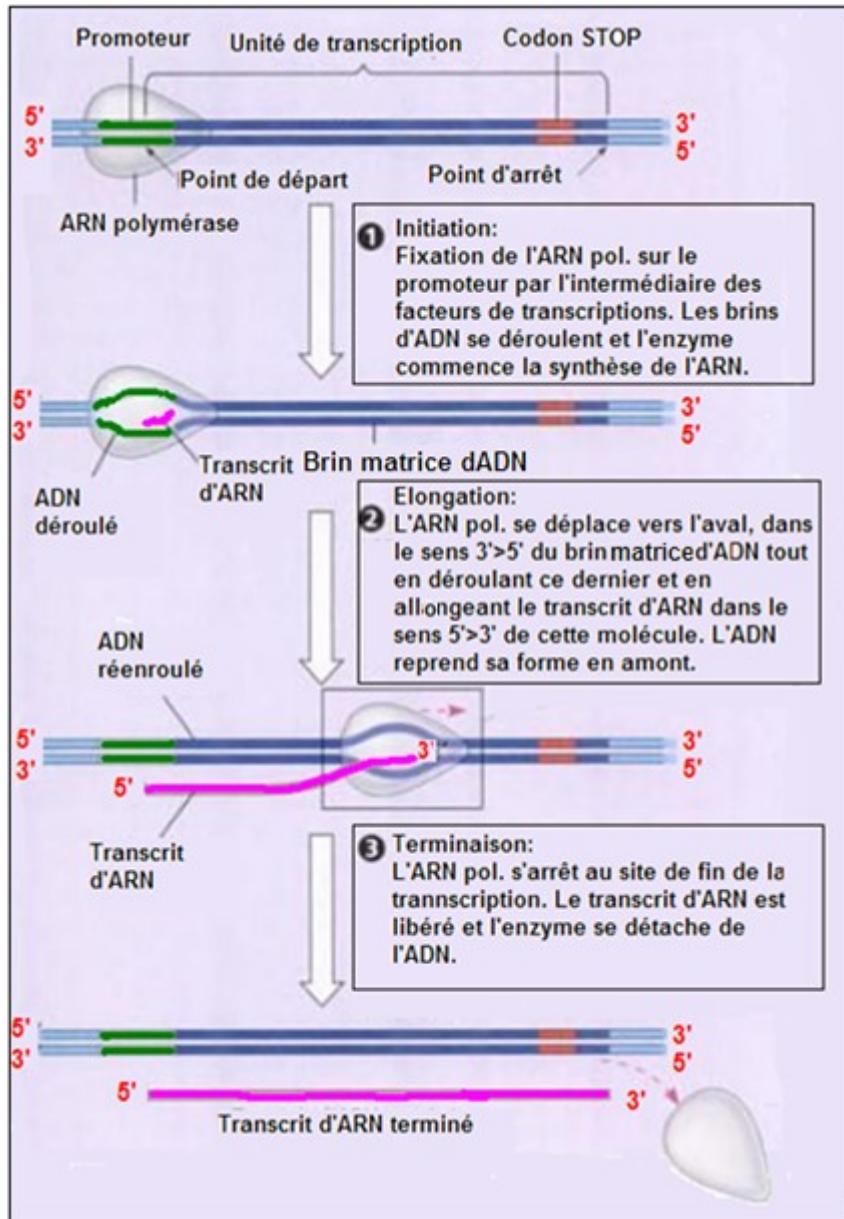


Fig.36

Remarque importante:

Par convention, la séquence d'un gène est toujours indiquée par la séquence du brin d'ADN non transcrit (brin sens) car elle correspond à celle de l'ARN. Elle est donc dans le sens 5' → 3' de l'ARN et doit obligatoirement contenir le codon de départ (ATG) qui code pour la méthionine.

Par convention, on représente aussi le brin sens (non transcrit) dans sa direction 5' → 3' au dessus du brin anti-sens (transcrit ou matrice) (Fig. 37).

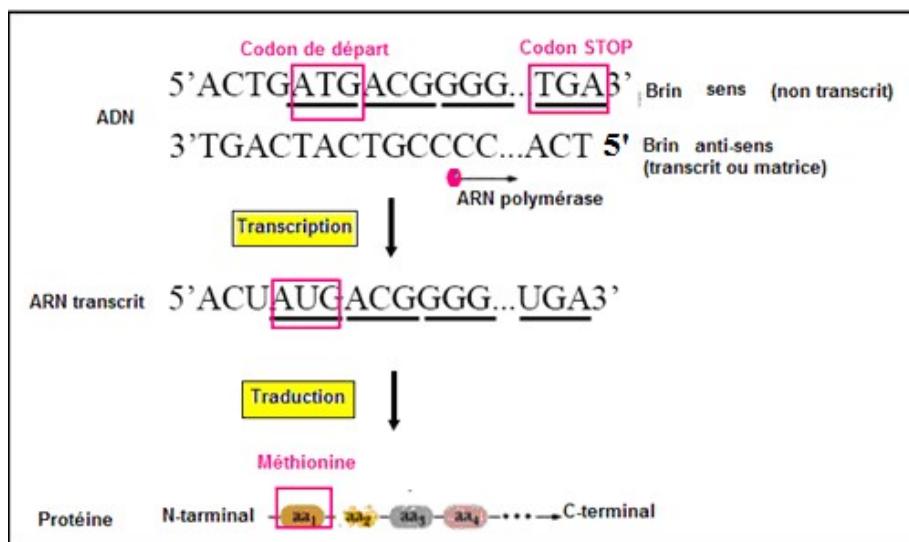


Figure 37

7.3. Maturation de l'ARN pré-messager

Elle ne s'observe que chez les eucaryotes.

Elle concerne dans tous les cas, les extrémités de l'ARN pré-messager plus, dans la plupart des cas, certaines parties internes qui sont excisées et les parties restantes réunies par épissage.

a- Le coiffage ou capping de l'ARN pré-messager:

L'extrémité 5' de l'ARN pré-messager est immédiatement recouverte d'une coiffe qui est formée d'une molécule de: 7-méthyl-guanosine-triphosphate (**m7G-P-P-P**). Elle:

- Protège l'ARN de la dégradation enzymatique (Ribonucléases).
- Participe au transport de l'ARN vers le cytoplasme.
- Elle devient une partie du repère de fixation des ribosomes lors de la traduction.

b- Polyadénylation de l'ARN pré-messager:

L'extrémité 3' de l'ARN pré-messager est aussi modifiée avant de quitter le noyau.

Une enzyme: **poly A polymérase** y ajoute une **queue polyA** formée de 50-250 nucléotides d'adénine (Fig. 38). Elle a pratiquement les mêmes fonctions que la coiffe.

La coiffe et la queue poly-A sont attachées respectivement à une **séquence guide** et une **séquence remorque**, qui ne seront pas traduites mais qui interviennent dans la **régulation de la traduction**.

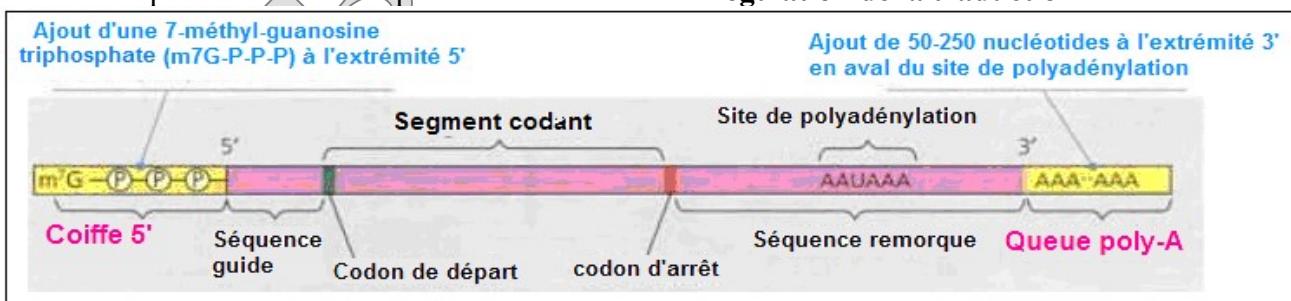


Fig. 38

c- Epissage constitutif et épissage alternatif de l'ARN pré-messager

L'épissage (ou splicing) ne survient que chez les eucaryotes, c'est un mécanisme complexe d'**excision et de recollage**.

Il permet d'enlever le caractère discontinu de l'ARNm résultant lui-même du caractère discontinu du gène (intron, exon, intron, ...), ceci se fait en enlevant les introns.

Les sites d'épissage sont constitués de courtes séquences nucléotidiques situées aux extrémités des introns et reconnues par des particules appelées **snRNP** (small nuclear Ribonucleoproteins) (Fig. 39). **Les snRNP sont formés de protéines et de snRNA**.

Un ensemble de snRNP forment le **complexe d'épissage** qui coupe l'ARN en des points déterminés et libère l'intron, il réunit aussi les exons qui l'encadraient.

On distingue deux types d'épissage (Fig. 40):

L'épissage constitutif: lorsque tous les introns sont enlevés et les exons sont raboutés l'un à l'autre (attachés). Il se fait toujours.

L'épissage alternatif: lorsque les exons aussi sont excisés de manière différentielle donnant ainsi des ARNm de différentes tailles codant pour des protéines ayant des fonctions proches (isoformes) ou différentes. Il se fait souvent selon les gènes.

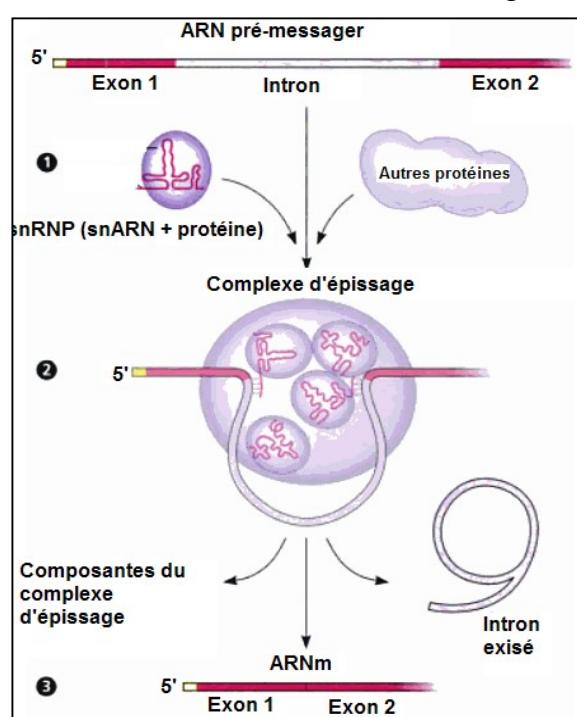


Figure 39

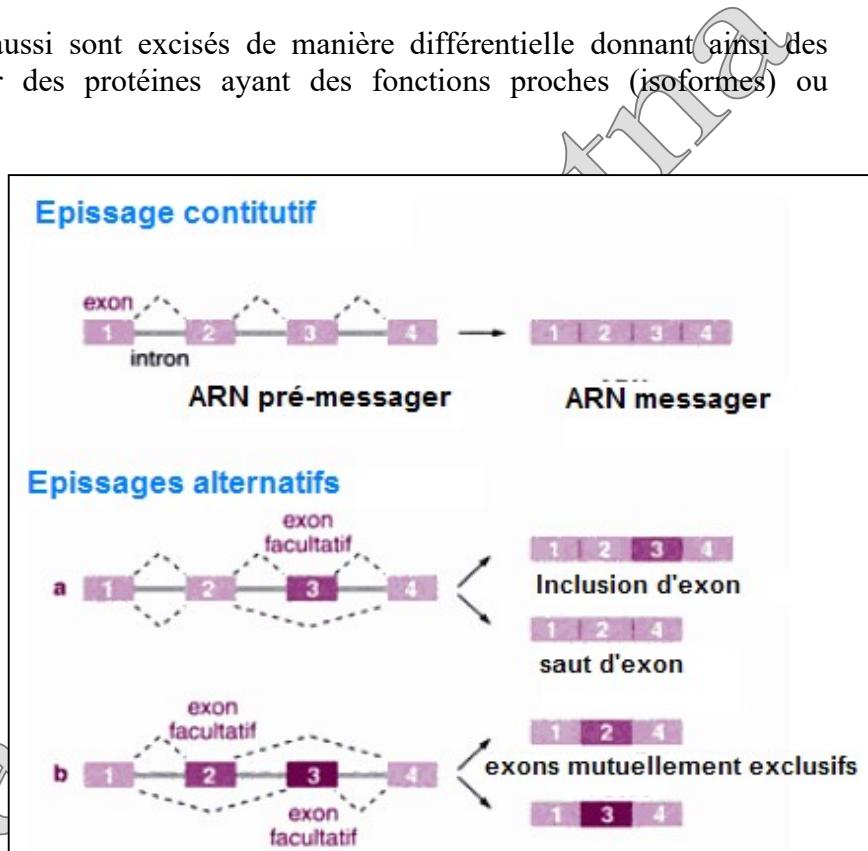


Figure 40

7.4. La traduction: Synthèse des protéines

La traduction est l'expression de l'information génétique portée par l'ARNm sous forme de protéine (polypeptide) synthétisée.

Le code génétique

On dit qu'il y a traduction car on change de "langue": l'ARNm parle "NUCLEOTIDES", la protéine parle "ACIDES AMINES". Pour faire une traduction il faut un **dictionnaire**: ici c'est le code génétique. Il est formé de **toutes les combinaisons de trois à trois possibles entre les 4 lettres désignant les nucléotides de l'ARNm (A, U, G et C)**.

Chaque **combinaison de 3 lettres (ou codon) correspond à un acide aminé**.

Le nombre théorique de combinaisons est de 4^3 (soit 64 possibilités), mais il n'existe que 20 acides aminés. L'explication vient du fait que certaines combinaisons codent pour le même acide aminé.

Le code génétique est **universel**, ou presque, il est retrouvé chez tous les organismes vivants, une exception est le code génétique au niveau des mitochondries qui présente quelques différences.

Le code génétique est représenté par le **tableau 2**:

Tableau 2

		Deuxième lettre													
		U	C	A	G										
Première lettre (côté 5')	U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U									
	U	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C									
	U	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A									
	U	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	G									
	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U									
Première lettre (côté 5')	C	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C									
	C	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A									
	C	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G									
	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U									
	A	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C									
Première lettre (côté 5')	A	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A									
	A	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G									
	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U									
	G	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C									
	G	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A									
Première lettre (côté 5')	G	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G									

En vert: codon d'initiation En rouge: codon de terminaison

Parmi les 64 combinaisons possibles:

- 3 codons ne correspondent à aucun acide aminé, ils sont dits **codons STOP ou codons non-sens (UAA, UAG, UGA)**.
- 61 codons, dits **codons sens**, codent pour les 20 aa.
- Les codons qui codent pour le même aa sont dits "**synonymes**". Cette caractéristique est appelée "**dégénérescence du code génétique**".
- La séquence codante d'un ARNm située entre le codon de départ et le codon d'arrêt (codon STOP) est appelée: **cadre ouvert de lecture ou ORF (Open Reading Frame)**. La traduction est réalisée codon par codon, dans un seul cadre de lecture (un nucléotide ne peut appartenir à deux codons), de rares exceptions existent chez les virus. On dit alors que le **code génétique est non chevauchant ou presque**.

Les étapes de la traduction (à comprendre seulement)

Elle comprend trois étapes principales: Initiation, élongation et terminaison.

Les deux premières étapes nécessitent de l'énergie apportée par l'hydrolyse de **GTP**.

La structure du ribosome lui permet de rapprocher l'ARNm et l'ARNt. Elle comprend un site de liaison à l'ARNm et trois sites de liaison à l'ARNt (**Fig. 41**):

- **Le site P (peptidyl-ARNt)**, retient l'ARNt qui porte la chaîne polypeptidique en cours de synthèse.
- **Le site A (aminoacyl-ARNt)**, retient l'ARNt qui porte le prochain acide

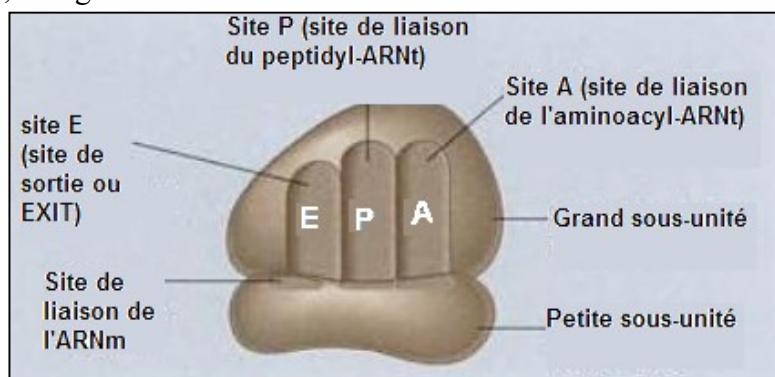
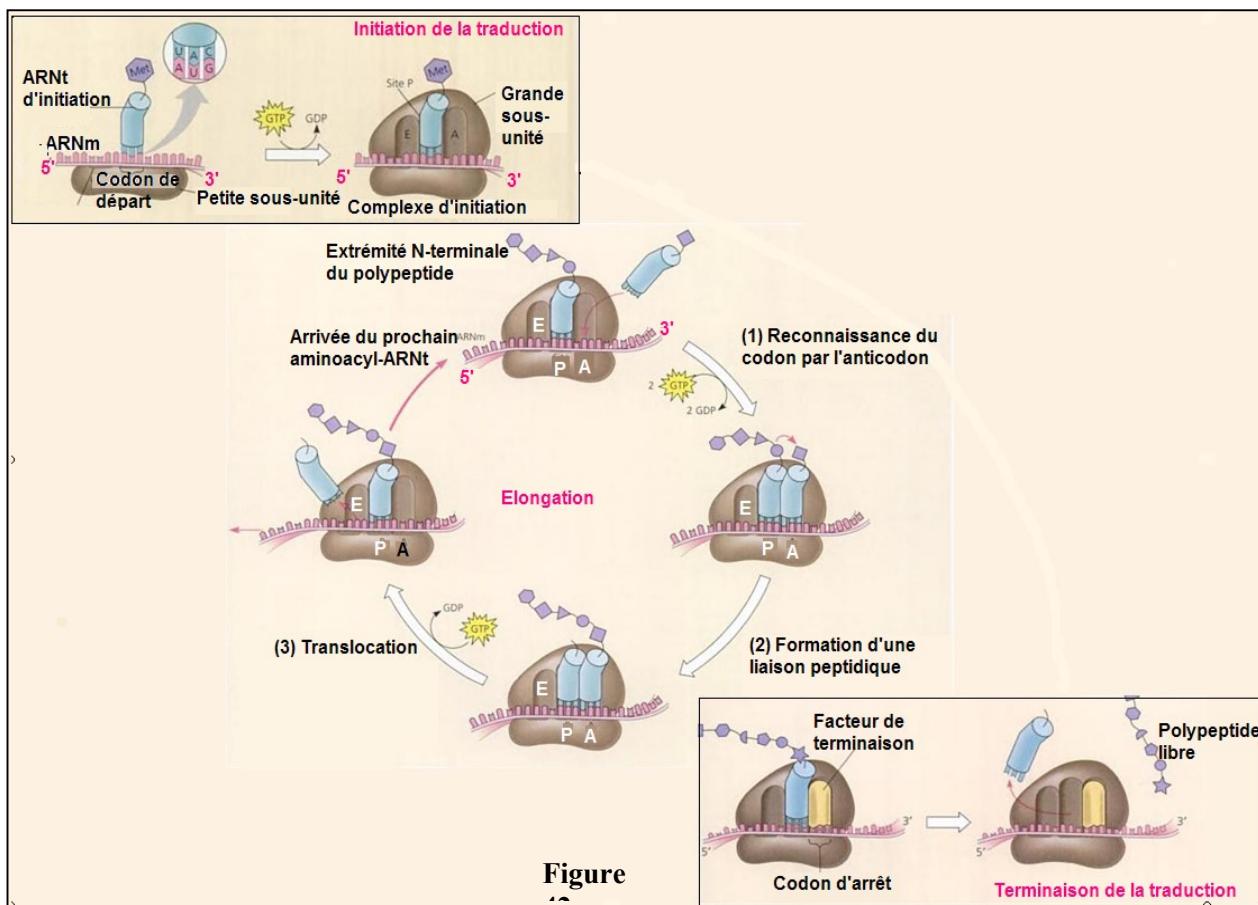


Figure 41

aminé qui sera ajouté à la chaîne.

- **Le site E (Site de "Sortie"):** site par lequel l'ARNt quitte le ribosome.

Les trois étapes sont représentées sur la (Fig. 42):



Remarque:

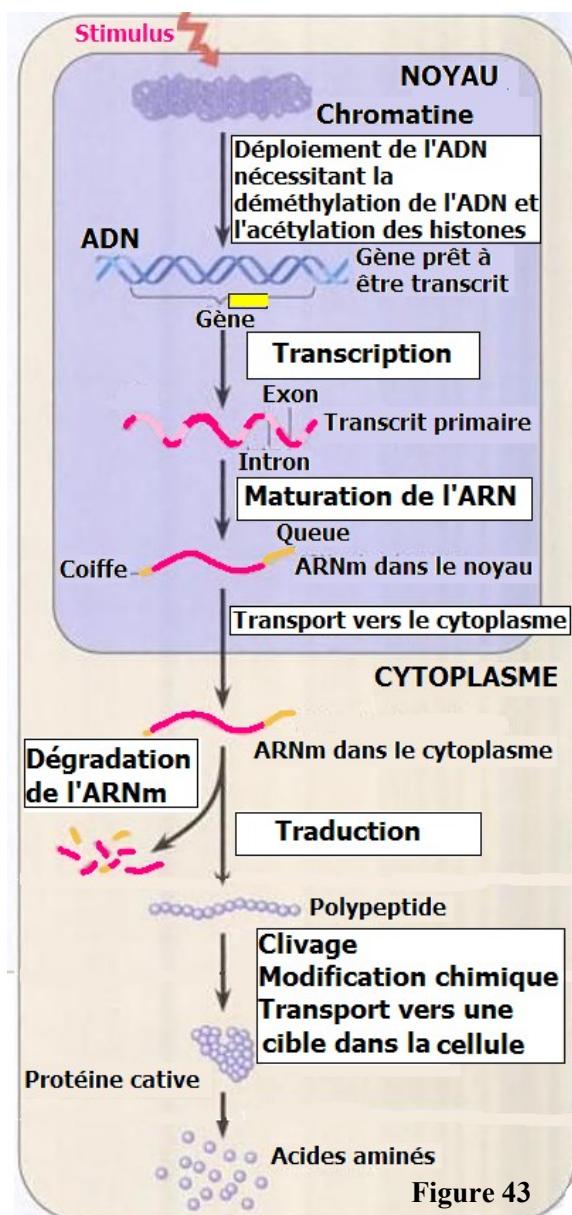
- La synthèse d'un polypeptide commence toujours par son extrémité N-terminal qui correspond alors à l'extrémité 5' de l'ARNm (Fig. 37).
- Il n'existe pas de différences fondamentales entre la traduction chez les eucaryotes et celle chez les procaryotes, sauf le fait qu'elle soit couplée à la transcription chez les procaryotes, l'ARNm aussitôt transcrit est traduit.

8. REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES

8.1. Régulation de l'expression génique chez les eucaryotes

Au cours de la différenciation des cellules, ces dernières voient l'expression de certains de leurs gènes s'éteindre et celle de d'autres gènes s'allumer. Ceci dépend de stimuli internes et externes. L'expression des gènes est donc régulée et son déséquilibre entraîne de sérieuses maladies, notamment des cancers.

Elle se fait à **différents niveaux** de la voie qui part du gène et qui mène à la protéine fonctionnelle (Fig. 43):



Modifications de la chromatine

a- Niveau de condensation de la chromatine

Il interfère avec l'expression des gènes:

Les gènes de l'hétérochromatine sont moins exprimés que ceux de l'euchromatine, fort probablement car les protéines de la transcription les atteint difficilement.

b- Les modifications épigénétiques:

L'Epigénétique : est l'étude des modifications (activation ou inactivation) transmissibles et réversibles de l'expression des gènes sans changements des séquences nucléotidiques.

Ces modifications peuvent se produire au **niveau de l'ADN** (par méthylation des cytosines) ou des **protéines liées à l'ADN** (par acétylation (ou méthylation aussi) des histones).

* Méthylation de l'ADN

C'est l'addition de groupements méthyle (-CH₃) à des bases d'ADN après synthèse de celui-ci.

Elle se fait au niveau de certaines cytosines qui précèdent des guanines au niveau de régions riches en dinucléotides CG et appelés îlots CpG.

La méthylation entraîne généralement la répression des gènes.

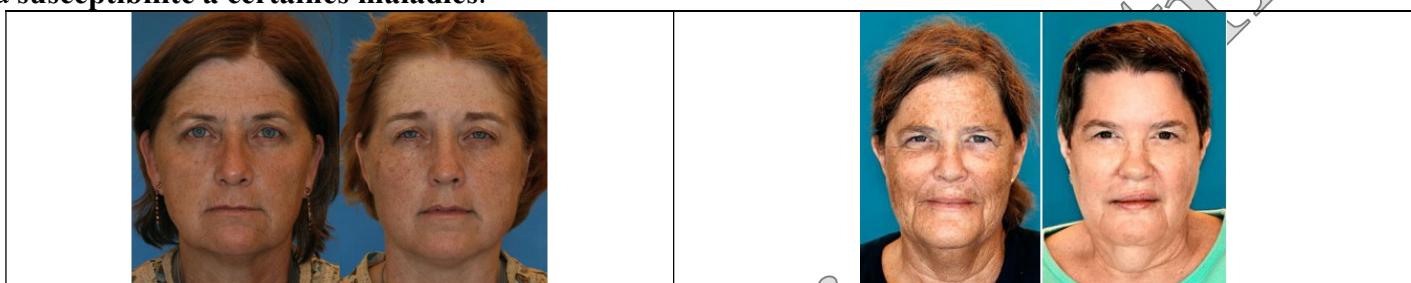
60 % des promoteurs de gènes possèdent des îlots CpG (dont la plupart ne sont pas méthylés).

* **Les modifications des histones (acétylation, désacétylation, phosphorylation, méthylation...)**

Elles entraînent soit une activation soit une répression d'un gène. Par exemple: Acétylation des histones → ils enserrent l'ADN moins étroitement → les facteurs de transcription ont plus de facilité à accéder aux gènes → **expression de ces gènes**. L'inverse peut se dire pour la désacétylation.

Facteurs influençant les modifications épigénétiques

Les modifications épigénétiques se font spontanément ou en réponse à plusieurs facteurs de l'environnement tels que : le régime alimentaire, le tabagisme, la pollution, les drogues et le stress. Ainsi, un même génotype peut donner différents phénotypes en fonction de l'environnement comme on peut le constater chez des jumeaux monozygotes (qui ont le même génome) mais exposés à différents facteurs environnementaux ; ces jumeaux peuvent différer dans leur vitesse de vieillissement ainsi que dans la susceptibilité à certaines maladies.



Les jumelles de gauche paraissent plus vieilles que leurs sœurs à cause du tabac et d'une histoire d'exposition prolongée au soleil

En effet, de plus en plus de données scientifiques convergent vers l'**implication de l'épigénétique dans plusieurs maladies comme le cancer, le diabète, les allergies, certaines maladies psychiatriques**. Le caractère **réversible** de l'épigénétique ouvre des perspectives pour le traitement et même la prévention de ces maladies.

Régulation de la transcription

C'est le point de régulation le plus important et le plus souvent mis à contribution.

a- Rôle des facteurs de transcription

Chez les eucaryotes, les facteurs de transcription sont indispensables au travail de l'ARN polymérase avec laquelle ils forment le complexe d'initiation de la transcription qui se fixe sur le promoteur.

b- Rôle des éléments de contrôle

Le complexe d'initiation de la transcription n'aboutit pas à une transcription efficace: très peu d'ARN transcrits. Les séquences régulatrices situées à des distances variables du promoteur permettent alors d'ajuster le débit de la transcription (Fig. 44).

Le promoteur:

C'est une séquence située en amont, côté 5' du gène, adjacente du site d'initiation de la transcription. Elle mesure une centaine de pb,

Elle définit le site d'initiation de la transcription et sa direction.

Elle contient le site de fixation de l'ARN polymérase.

Elle peut comporter des séquences régulatrices.

Le promoteur comprend:

- **Le promoteur minimal ou TATA box:**

Située à -30pb en amont du site d'initiation de la transcription de gènes. Elle est formée de la séquence consensus: 5' TATA (A/T) A (A/T) 3'. Elle est essentielle au **positionnement correct de l'ARN polymérase II** sur le site d'initiation de la transcription en présence de **facteurs de transcription généraux**.

- **Des séquences consensus régulatrices proximales ou "éléments en amont = upstream elements"**

Elles sont reconnues par des **facteurs de transcription spécifiques en amont** "upstream factors". On a, par exemple:
 Elles permettent l'**augmentation de la vitesse de transcription** (celle de l'assemblage du complexe d'initiation).

Les séquences consensus régulatrices distales

Elles sont présentes à des **distances très variables** du promoteur, en amont, en aval, voire dans un intron du gène (voire sur l'autre brin d'ADN).

Elles sont reconnues par des "**facteurs de transcription spécifiques**".

Parmi les séquences consensus régulatrices distales on a:

- **Les séquences amplificatrices ou "enhancers" ou amplificateurs:** elles activent la transcription de base (accélèrent l'assemblage du complexe d'initiation).
- **Les séquences extinctrices ou "silencers" ou répresseurs:** qui la dépriment (ralentissent l'assemblage du complexe d'initiation).

Les séquences consensus régulatrices distales sont responsables de:

- **La spécificité tissulaire de la transcription**, ce sont une sorte de **mots de passe** qui permettent l'accès de l'ARN pol à certains gènes spécifiques de tissus et qui en régulent l'expression.
- **L'ajustement du taux de transcription aux besoins de la cellule**.

Remarque:

- Les séquences consensus régulatrices distales et proximales sont appelées **éléments cis-régulateurs**, les facteurs de transcription spécifiques qui s'y lient sont appelés **éléments trans-régulateurs**.
- **Exp de facteurs de transcription spécifiques:** les **récepteurs des hormones stéroïdes** (comme les hormones sexuelles) qui se trouve dans le cytoplasme ou dans le noyau et qui sont activés après fixation de ces hormones. Cette activation leur permet d'activer la transcription des gènes cibles.

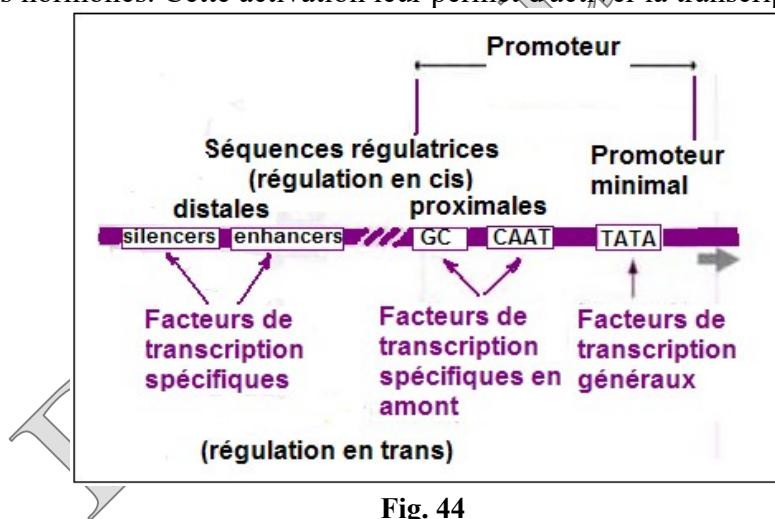


Fig. 44

Comment est-ce que les facteurs de transcription spécifiques peuvent avoir une influence sur la transcription alors qu'ils sont loin du promoteur?

La courbure de l'ADN semble permettre aux facteurs de transcription spécifiques déjà liés aux séquences régulatrices de se lier au complexe d'initiation de la transcription (Fig. 45).

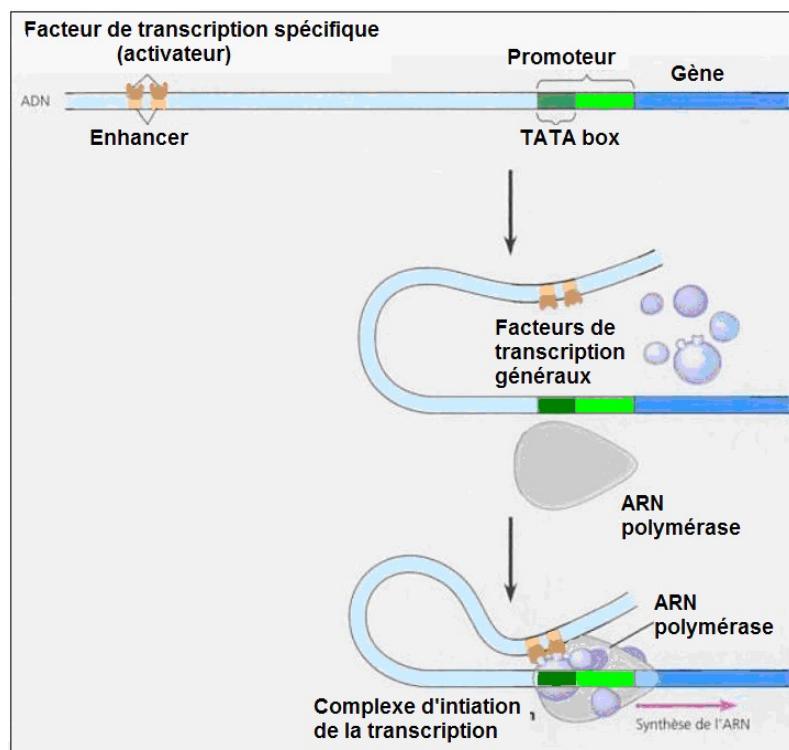


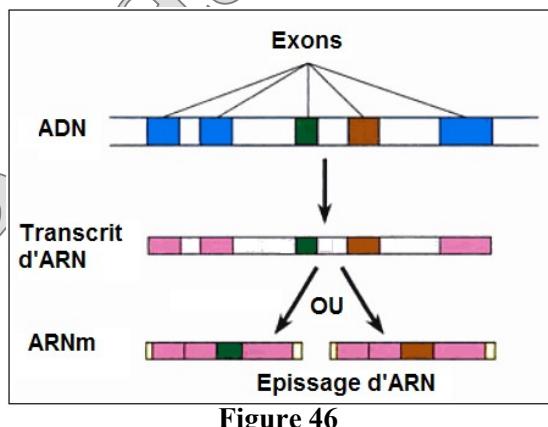
Figure 45

Régulation post-transcriptionnelle

C'est une régulation qui peut se faire rapidement permettant à la cellule de répondre à des modifications rapides de son environnement.

a- Régulation de la maturation de l'ARN

Les transcrits d'ARN peuvent être épissés de plusieurs façons, ce qui donne des molécules d'ARNm différentes (Fig. 46).



b- Régulation de la dégradation de l'ARNm

La dégradation de l'ARNm affecte la durée de vie de l'ARNm et donc la quantité de protéine synthétisée. Elle commence par la dégradation de la queue poly(A) puis de la coiffe 5' ce qui rend l'ARNm vulnérable aux nucléases.

Rôle des ARN non codants:

Récemment des ARN non codants ont été impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. Il existe des :

ARN non codants Long: long ncRNA

ARN non codants Petits: small ncRNA comme: microRNA (miRNA), small interfering RNA (siRNA),

Ils agissent de différentes manières:

- **Liaison avec les ARNm empêchant leur traduction en entraînant leur dégradation**
- Remodelage de la chromatine: en recrutant des protéines qui provoquent la méthylation de l'ADN
- Contrôle de la transcription: en se liant à des protéines qui peuvent la réprimer.

c- Régulation de la traduction

La traduction de certains ARNm peut être suspendue par des **protéines régulatrices** qui se lient à des segments spécifiques de la séquence guide située à l'extrémité 5' de l'ARNm. Cela empêche les ribosomes de se lier à l'ARNm.

d- Régulation de la maturation et dégradation des protéines

Une maturation de la protéine synthétisée est souvent nécessaire pour qu'elle soit fonctionnelle, par exemple:

- le polypeptide d'insuline doit être coupé pour donner une hormone fonctionnelle.
- Modification chimique de certaines protéines: glycosylation, phosphorylation, ...
- Transport de la protéine vers un site particulier
La cellule est capable de réguler la durée de vie d'une protéine en contrôlant sa dégradation.

9. MODIFICATIONS DU MATERIEL GENETIQUE (MUTATIONS)

9.1. Définitions

- Les mutations sont des modifications du matériel génétique des cellules. On distingue:

- Les mutations chromosomiques:

Ce sont les modifications de la structure ou du nombre de chromosomes (elles seront étudiées dans un chapitre à part).

- Les mutations ponctuelles ou alléliques:

Ce sont les modifications qui touchent une ou plusieurs bases de l'allèle d'un gène. Créant ainsi un allèle mutant.

Selon le type de cellule touché, on doit distinguer entre

- **les mutations germinales** qui affectent les gamètes ou les cellules productrices de gamètes; elles peuvent être transmises à la descendance directe ou aux générations suivantes.
 - o Si elles ont des effets nocifs sur le phénotype de l'individu, on parle d'anomalie génétique ou de **maladie héréditaire**.
 - o Si elles n'ont pas d'effet nocif, elles participent au **polymorphisme génétique** des individus
- **les mutations somatiques** qui affectent les autres cellules et qui peuvent être une cause importante de cancers.

9.2. Les catégories de mutations ponctuelles

a- Les substitutions des paires de nucléotides

C'est le **remplacement** d'un nucléotide et de son vis-à-vis sur le brin d'ADN complémentaire par une paire de nucléotides différente.

Il peut s'agir de:

Transition : purine remplacée par une purine ($A \leftrightarrow G$) ou pyrimidine par une pyrimidine ($T \leftrightarrow C$)

Transversion : pyrimidine remplacée par une purine ou l'inverse ($A \leftrightarrow C$ ou $T \leftrightarrow G$).

Les conséquences des substitutions sont (**Fig. 48**):

Mutation synonyme

- Le codon résultant spécifie le **même aa**.
- Elle s'explique par la dégénérescence du code génétique: par exemple, si CCG devient CCA après substitution, le codon d'ARNm CCG devient CCA, or ces deux codons donnent le même aa: la glycine.

- C'est une substitution qui, généralement, n'a aucun effet sur la protéine synthétisée (**mutation muette**).

- Cependant, les mutations synonymes peuvent affecter le devenir de l'ARNm de différentes manières :

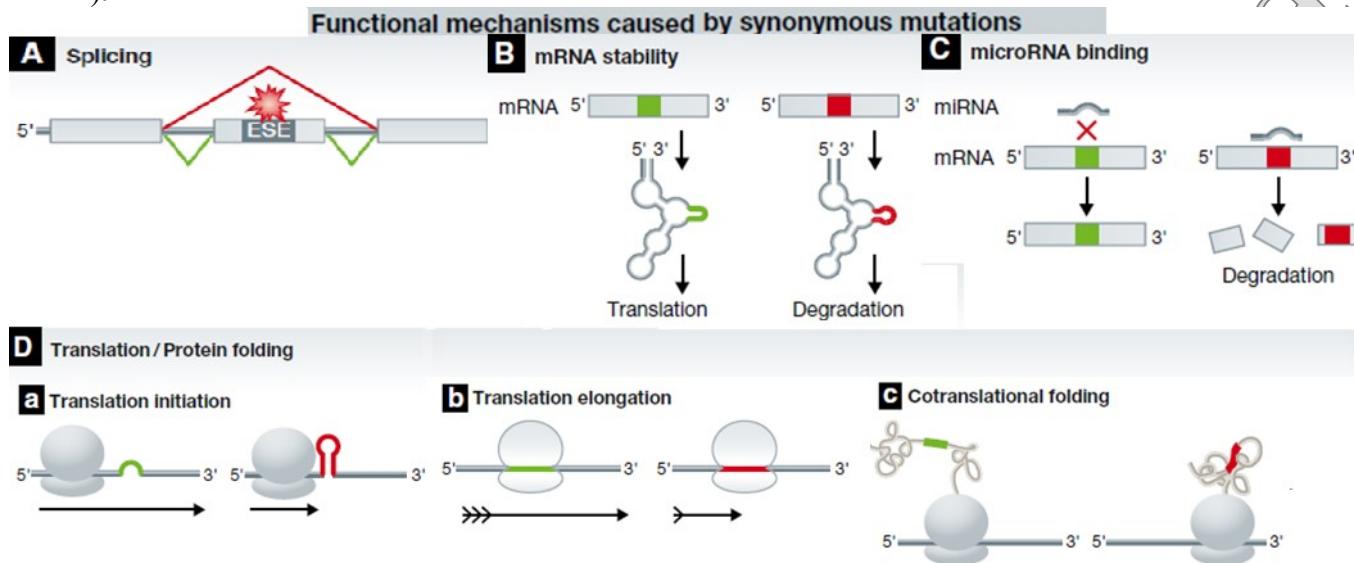
* **Affecter l'épissage de l'ARN :**

Les séquences nommées ESE (Exonic Splicing Enhancer) augmentent l'épissage d'un ARN, sa mutation pourrait diminuer l'affinité des facteurs d'épissage et donc affecter ce dernier.

* **Modifier la structure secondaire de l'ARNm :** entraînant sa dégradation ou sa traduction.

* **Création ou suppression d'un site de fixation de microARN :** affectant la demi vie de l'ARN

* **Création d'un site affectant l'initiation/élongation de la traduction ou d'un site de pause ribosomique** (affectant l'enroulement d'un domaine de la protéine seul ou avec le domaine suivant de la protéine).



Mutation faux-sens

Le codon résultant code pour un **aa différent de l'ancien**. Il a un sens mais qui est erroné. Il peut s'agir de:

Mutation faux-sens conservative

Le nouvel aa est chimiquement similaire à l'ancien:

- Il possède des propriétés très proches de celle de l'ancien aa
- Et/ou, il est situé dans une région qui n'est pas essentielle aux fonctions de la protéine.

Mutation faux-sens non conservative

Les codons touchés codent encore pour des aa et ont donc un sens mais qui est erroné.

Mutation non-sens

Le codon correspondant à un aa est remplacé par un codon STOP. Ceci entraîne un arrêt prématuré de la traduction et la formation d'un polypeptide plus court que la normale ou même son absence totale. Le plus souvent ceci aboutit à une protéine non fonctionnelle.

b- Les insertions et les délétions

Les **insertions** correspondent à l'**ajout** (insertion) ou la **perte** (délétion) d'une ou plusieurs paires de nucléotides dans un gène. Leurs conséquences sont généralement **plus désastreuses que les substitutions**.

Elles dissocient les codons originaux du message génétique et peuvent entraîner des **mutations par décalage du cadre de lecture quand le nombre de nucléotides insérés ou enlevés n'est pas un multiple de trois et/ou quand elle se fait à l'intérieur d'un codon**. Les nucléotides situés après la modification sont alors regroupés en des codons erronés. Il en résulte un long **faux-sens** qui se termine tôt ou tard par un **non-sens**. La protéine formée ne sera probablement pas fonctionnelle.

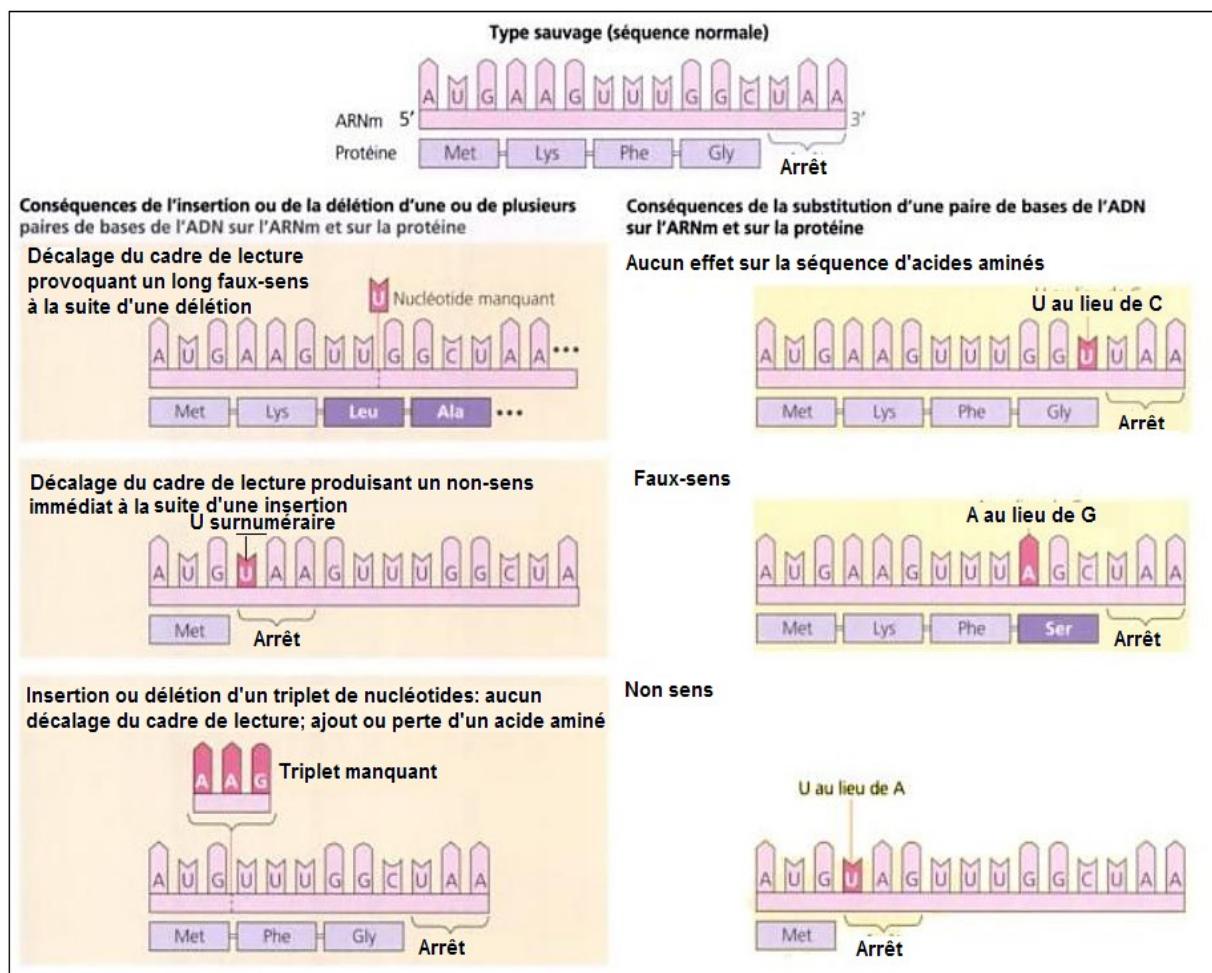


Fig 48

9.3. Origine des mutations ponctuelles

Les mutations peuvent être induites ou spontanées.

a- Les mutations induites:

Ce sont les mutations qui surviennent suite à l'exposition à des **agents mutagènes chimiques ou physiques**. L'induction des mutations par une exposition à des mutagènes s'appelle la **mutagénèse**.

Il existe **au moins 3 mécanismes** (**A comprendre seulement !**) d'induction des mutations:

* Remplacement de bases

Certains composés chimiques ont une structure chimique qui rappelle celle des purines et pyrimidines. Ils peuvent être incorporés à l'ADN lors de la réplication. Ce sont les **analogues de bases**.

- Le 5-bromo-uracile (5-BU) est un analogue de la Thymine qui peut s'apparier avec l'Adénine mais il peut aussi changer de forme pour faire un mésappariement avec la Guanine.

Il entraîne donc des substitutions par transition: GC → AT ou AT → GC au cours de la réplication (**Fig. 49**).

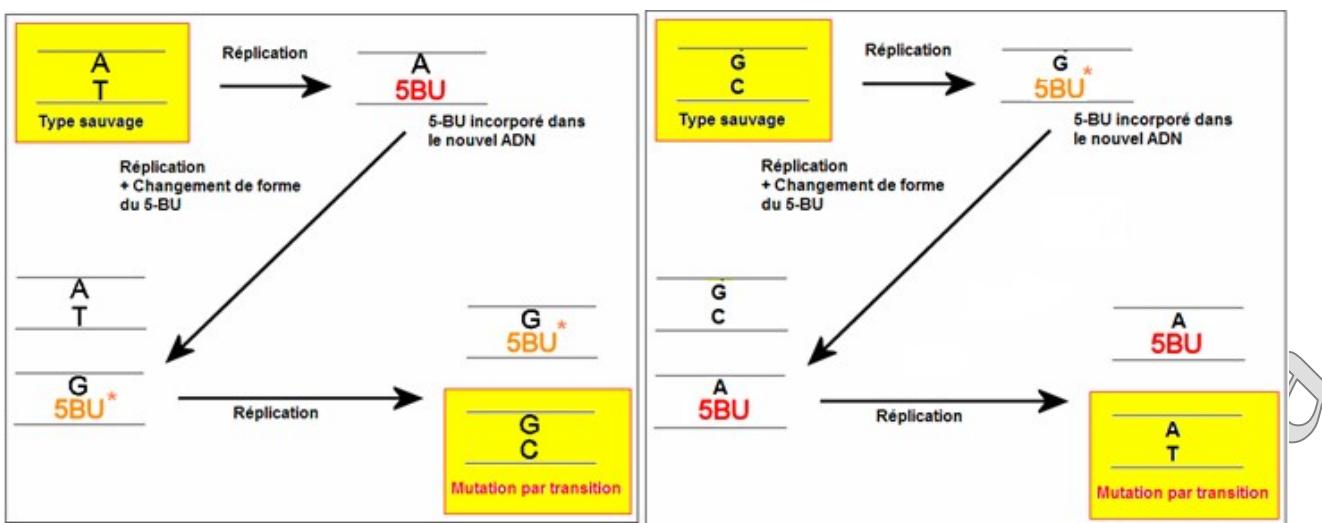


Figure 49

* Modifications des bases

Certains mutagènes modifient une base et provoquent un **mésappariement**.

Alkylation:

C'est l'ajout de groupements alkyles (éthyle ou méthyle) en de nombreuses positions dans les 4 bases. Pourtant, l'apparition d'une mutation est **plus probable quand il s'agit de guanine**.

Ex: la nitrosoguanine (NG) peut transformer la guanine en O₆-méthylguanine, ce qui entraîne la rupture de liaisons hydrogènes entre la guanine et la cytosine. Par ailleurs, la O₆-méthylguanine peut s'apparier par erreur avec la thymine, ce qui pourrait conduire à une transition GC → AT.

Désamination:

L'acide nitreux provient de la digestion des nitrates (conservateurs des aliments). Il est à l'origine de désaminations = perte d'un groupe NH₃.

Il peut entraîner la transformation de la C en U ce qui provoque la transition GC → AT

Il peut entraîner aussi la transformation de l'A en hypoxanthine ce qui provoque la transition AT → GC.

Les mutations induites par l'acide nitreux sont donc **réversibles**.

Oxydation

Les **formes actives d'oxygènes** (radicaux supreoxyde O₂^{•-}, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les radicaux hydroxyles OH[•]) sont des sous produits du métabolisme aérobie normal mais leur production peut augmenter après exposition à des **radiations ionisantes** (les rayons X et gamma produisent des ions réactifs) quand elles interagissent avec les molécules biologiques

Les radicaux libres possèdent des électrons non appariés et sont chimiquement très réactifs. Ils interagissent avec l'ADN et peuvent entraîner une oxydation de certaines bases causant ainsi des **mésappariements**.

En plus de leur effet sur l'ADN par les **radicaux libres** qu'elles créent, les radiations ionisantes ont une **action directe** sur l'ADN :

- ruptures dans l'un ou les deux brins.
- altération ou perte de bases.

Les sources des radiations ionisantes sont soit

Naturelles: rayons cosmiques (incluant le rayonnement solaire) et les éléments radioactifs du sol ou des produits du sol (bois, pierre),

Artificielles : rayons X pour le diagnostic, essais nucléaires, TV, etc.

* Agents intercalants :

Acridine, proflavine, bromure d'ethidium (BET) sont des molécules qui **s'insèrent entre les bases de l'ADN**. Ceci entraîne un étirement de l'ADN. La polymérase peut insérer alors une base surnuméraire en face de la molécule étrangère (**Fig. 50**).

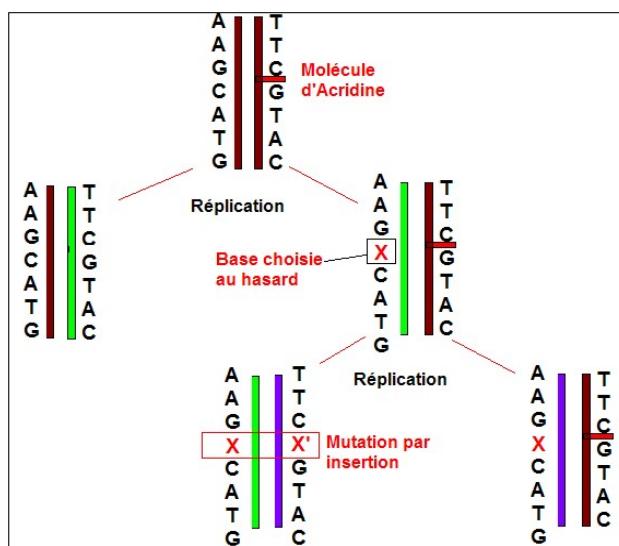


Fig. 50

* Lésion des bases

Un grand nombre de mutagènes **endommagent une ou plusieurs bases**, empêchent alors tout appariement spécifique de celles-ci. Le résultat peut être un **blocage de la réplication**.

Photodimères:

Lorsque deux pyrimidines sont adjacentes (TT ou CC ou TC) sur le même brin d'ADN, elles peuvent former un **dimère** sous l'action des UV, ces produits sont appelés des **photodimères**.

Ceci entraîne une perturbation de la structure locale de l'ADN, interfère avec l'appariement normal des bases et bloque la transcription et la réplication (**Fig. 51**).

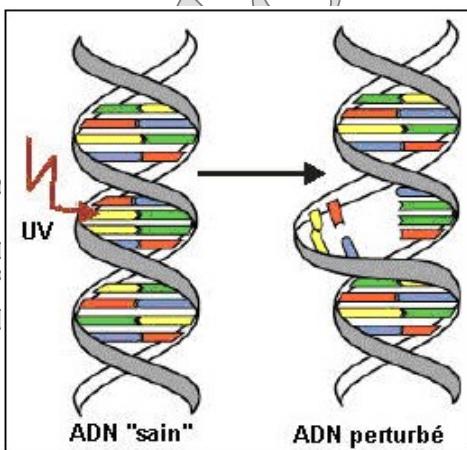


Fig. 51

Dépurination

L'aflatoxine B1, un puissant cancérogène hépatique (produit par certains champignons proliférant sur des arachides et le maïs) se fixe sur la G et la dissocie du sucre d'où formation d'un **site apurinique**.

Il a été remarqué qu'une A se forme en face de ce site. Ceci conduit donc à des **transversions GC → TA** (Fig. 52).

Des agents provoquant la dépurination existent aussi dans la fumée de tabac et dans les aliments trop grillés.

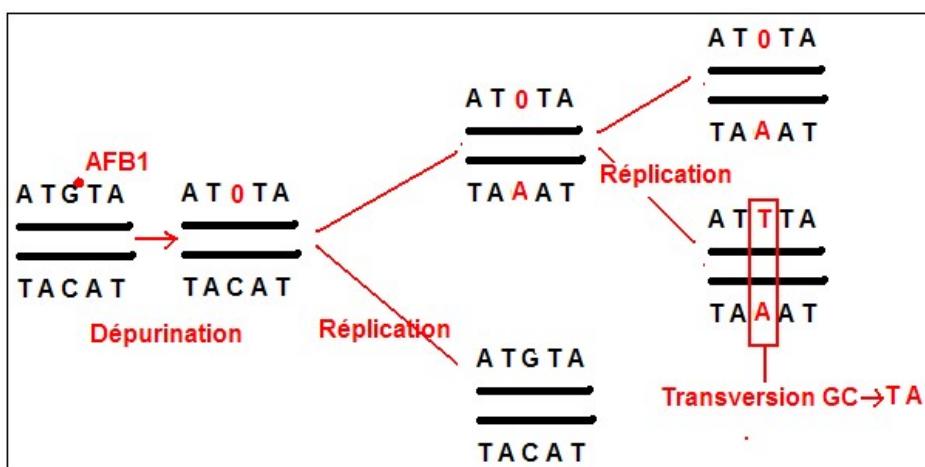


Figure 52

b- Les mutations spontanées :

Ce sont les mutations qui surviennent en l'absence d'agent mutagène connu.

Leur fréquence est plus faible que celle des mutations induites.

Leurs mécanismes peuvent être

*** Lésions spontanées**

- Dépurination
- Déamination
- Oxydation

*** Erreurs lors de la réPLICATION**

- Substitutions de bases

Aucune réaction chimique n'est parfaitement efficace. Une erreur de réPLICATION peut survenir avec mise en place d'un nucléotide incorrect, ce qui entraîne une mutation lors de la réPLICATION suivante.

- Insertion et délétion de base

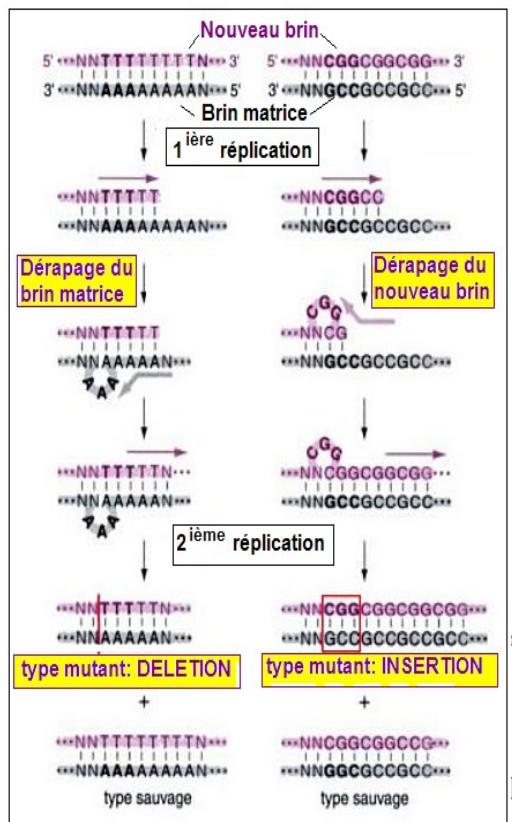
Elles entraînent un **décalage du cadre de lecture**.

Elles sont observées très fréquemment en des points précis de certains gènes que l'on appelle **points chauds de mutation**. On a pu montrer que ces points chauds résultent de la présence de séquences répétées dans le gène concerné.

Ces séquences favorisent le glissement d'un brin d'ADN sur l'autre, c'est ce qui appelé "**dérapage réPLICatif**" (Fig. 53):

- Si le brin matrice (parental) dérape en direction de son extrémité 3', formant à l'extérieur du brin une boucle (d'une ou de plusieurs unités de séquences répétitives), le brin néo-synthétisé se trouve "raccourci" d'une unité de séquence répétitive; lors de la réPLICATION suivante, le brin néo-synthétisé précédent, devenu brin matrice, donne naissance à un nouveau brin également "raccourci". **Le dérapage réPLICatif du brin matrice entraîne donc une délétion.**

- Si le brin néo-synthétisé dérape en direction de son extrémité 5', formant à l'extérieur du brin un boucle (d'une ou de plusieurs unités de séquence répétitive), le brin néo-synthétisé se trouve "allongé" d'une unité de séquence répétitive; lors de la réPLICATION suivante, le brin néo-synthétisé précédent, devenu brin matrice, donne naissance à un nouveau brin également "allongé". **Le dérapage réPLICatif du brin néo-synthétisé entraîne donc une insertion.**



F. 10

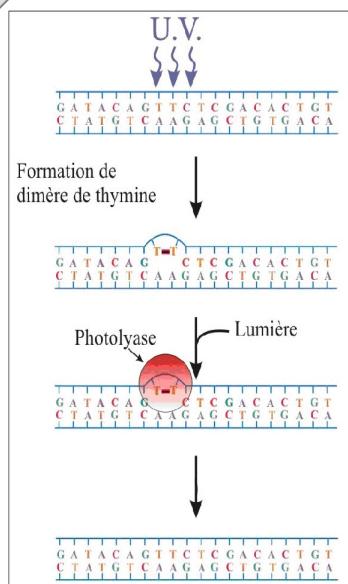
9.4. Mécanismes de réparation des mutations

Ils peuvent être classés en 3 catégories:

La restauration de la zone endommagée: retour à l'état antérieur

a- La photoréactivation :

C'est la réparation des photodimères induits par les UV grâce à une enzyme qui n'est fonctionnelle que dans la lumière visible, c'est la **photolyase**. Elle existe chez de nombreuses bactéries, les eucaryotes inférieurs mais elle semble absente chez les mammifères.



F. 54

b- Réparation des alkylations

Elle se fait grâce à des alkytransférases.

La réparation dépendant de l'homologie

Elle est basée sur l'homologie (ou complémentarité) entre les deux brins d'un ADN

a- La réparation par excision de bases ou BER (base excision repair):

- Des **ADN glycosylases** clivent les liaisons base-sucre, libérant ainsi les bases endommagées et produisant des sites apuriniques ou apirimidiniques.
- Une **endonucléase AP** coupe ensuite le squelette sucre-phosphate auquel il manque une base.
- La **désoxyribophosphodiestérase** nettoie le squelette en enlevant un segment de résidus sucre-phosphate voisins, ce qui permet ensuite à l'**ADN polymérase** de combler le vide avec des nucléotides complémentaires de l'autre brin.
- L'**ADN ligase** relie ensuite les nouveaux nucléotides au squelette (**Fig. 55**).

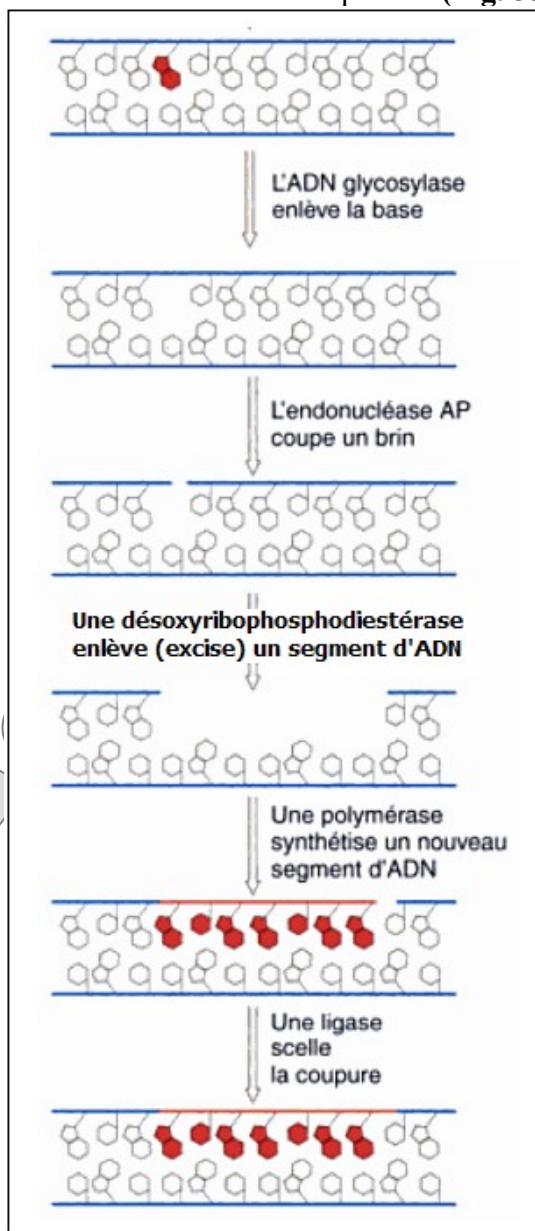


Figure 55

b- La réparation par excision de nucléotides ou NER (nucleotid excision repair):

Il n'existe pas autant d'ADN glycosylases que de manières d'endommager une base, un autre système est alors nécessaire pour réparer les dégâts sur lesquels les glycosylases ne peuvent pas intervenir, c'est le système de réparation par excision des nucléotides (NER).

Ce système détecte les déformations de la double hélice dues à la présence de base anormale (ex.: les photodimères) et met en place un processus de réparation impliquant plusieurs protéines (Fig. 56).

Chez l'homme, un complexe protéique est capable de reconnaître l'ADN endommagé, d'exciser environ 30 nucléotides autour de la lésion et de combler le vide en utilisant le brin complémentaire comme matrice, il est appelé **Réparosome**.

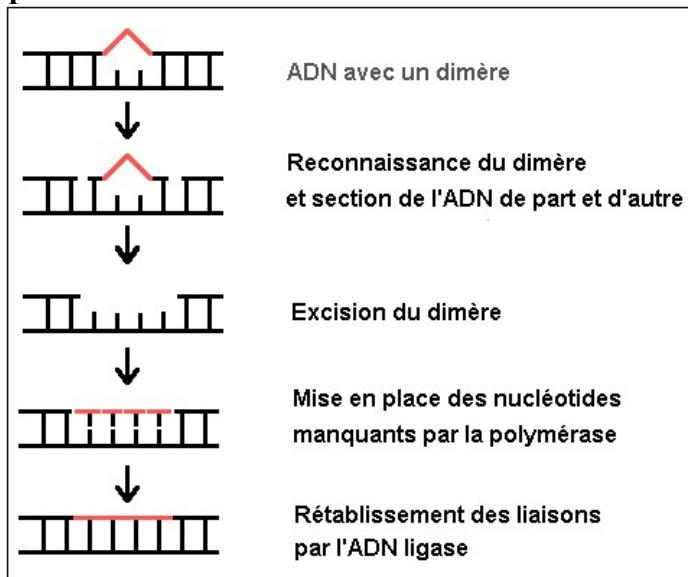


Figure 56



Figure 57

Une maladie héréditaire **Xeroderma pigmentosum** (Fig. 57) est due à un défaut dans les gènes responsables des NER. Ce défaut est responsable d'une sensibilité anormalement élevée aux rayons UV. Ceci entraîne une sensibilité élevée au soleil et l'apparition de cancer de la peau dans les zones qui lui sont exposées.

c- La réparation des mésappariements: (DNA mismatch repair (MMR) system)

Le système de réparation des mésappariements est une sorte de correcteur orthographique. Il permet de:

- Reconnaître les paires de bases mal appariées
- Déterminer la base incorrecte à l'intérieur du mésappariement
- Exciser la base incorrecte et effectuer une synthèse réparatrice.

Chez l'homme, l'une des cibles importantes de ce système est constituée de **courtes séquences qui peuvent subir un dérapage réplicatif**.

Des mutations dans certains composants de ce système sont responsables de plusieurs maladies humaines, en particulier des **cancers**. Notamment: le **cancer colorectal héréditaire sans polyposse (syndrome de Lynch)**.

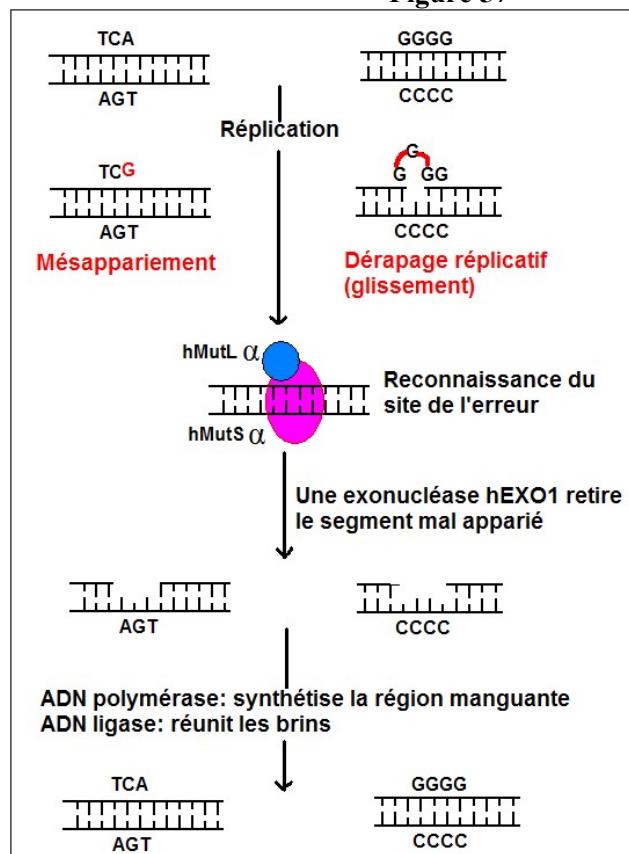


Figure 58

Réparation des cassures double-brin

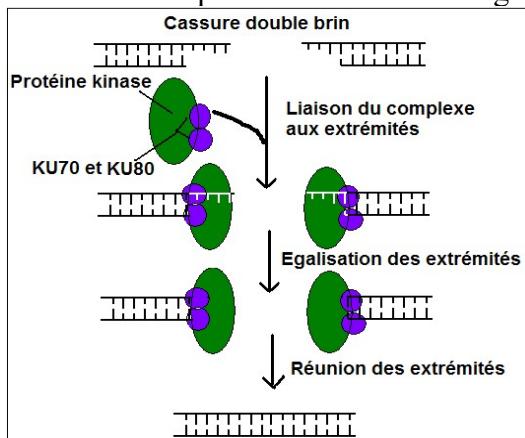
Les cassures double-brin d'ADN peuvent apparaître spontanément (ex. **formes réactives d'oxygènes**) ou être causées par les **radiations ionisantes**.

Deux mécanismes de réparation sont possibles:

a- Réunion d'extrémités non homologues ou raboutage ou "end-joining"

Elle est observée dans les **cellules qui ont arrêté de se diviser** (ex. neurones..) (Fig. 59):

C'est une **réparation imparfaite** mais ses conséquences sont moins dangereuses que l'absence de réparation.

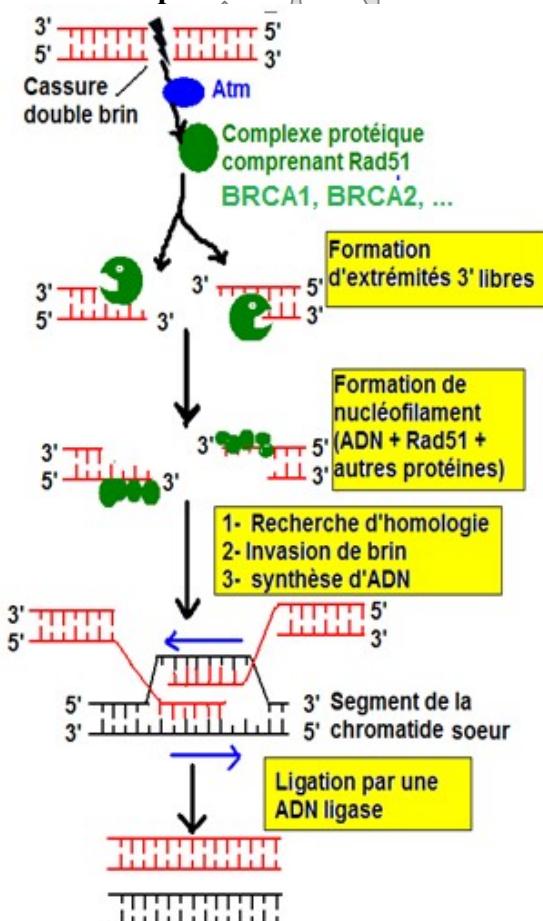


Figure

b- Recombinaison homologue

C'est un mécanisme qui **se sert de la chromatide sœur pour réparer les cassures double-brin**.

C'est une réparation qui est **généralement dépourvue d'erreur**.



Les déficits dans les systèmes de réparation des cassures double-brins entraînent des **cancers** variés (ex. Cancer du sein familial (BRCA1/2), anémie de Fanconi, ataxie télangiectasie...etc.).

10. GENOME DES EUKARYOTES

10.1. Définition du génome

Le génome est l'ensemble du **matériel génétique d'un individu**. Chez l'homme il est composé d'environ **3 milliards de pb** et il comprend :

- L'**ADN** des chromosomes **nucléaires**.
- L'**ADN** présent hors des noyaux dans les **mitochondries** :
 - o Il est **petit** : 16 559 pb,
 - o Il code pour des **ARNt**, **des ARNr** et **des enzymes** de la chaîne respiratoire,
 - o **très compact** et presque **sans introns**.
 - o **Il se réplique indépendamment de l'ADN des chromosomes.**

10.2. Composition du génome

L'ADN nucléaire humain contient environ **19 000 gènes** ce qui représente seulement **1% environ du génome** (quand on ne prend que les parties codantes de ces gènes et environ 33% quand on prend aussi les parties non codantes)

La plus grande partie de l'ADN humain (et des eucaryotes) est donc non codante: séquences répétées non codantes et ADN "espaceur".

