

UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale  
B.P. 25000 - Constantine - ALGERIE



جامعة الاخوة منتوري  
**UNIVERSITÉ**  
FRÈRES MENTOURI

Filière : 3<sup>ème</sup> ANNEE LMD

PHYSIOTOXICOLOGIE (S6)

**MATIÈRE :**

**BIOLOGIE MOLECULAIRE**

Mr: BOULDJADJ.R

E.mail : rbouldjadj@gmail.com

Année Universitaire 2019-2020

# AVANT PROPOS

La biologie moléculaire (parfois abrégée bio mol ou BM) est une discipline scientifique au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique, dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire. Le terme « biologie moléculaire », utilisé la première fois en 1938 par Warren Weaver, désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques (ADN, ARN), appelées aussi techniques de génie génétique.

Après la découverte de la structure en double hélice de l'ADN en 1953 par James Watson (1928- ), Francis Crick (1916-2004), Maurice Wilkins (1916-2004) et Rosalind Franklin (1920-1958) la biologie moléculaire a connu d'importants développements pour devenir un outil incontournable de la biologie moderne à partir des années 1970.

## Plan du cours

### Chapitre I

- Structure des acides nucléiques (ADN et ARN) et relations structure/fonction.

### Chapitre II

- Réplication d'ADN chez les procaryotes.
- Réplication d'ADN chez les eucaryotes.

### Chapitre III

- La transcription chez les procaryotes.
- La transcription chez les eucaryotes.

### Chapitre IV

- Traduction et code génétique.

### Chapitre V

- Expression génétique et systèmes de régulation.

### Chapitre VI

- Système de mutation & réparation d'ADN *in vivo*.

# CHAPITRE I

## LA STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES & RELATIONS STRUCTURE/FONCTION

### I. STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES

Les acides nucléiques ont été isolés initialement des noyaux des cellules. En fait, il existe des acides nucléiques non seulement au noyau mais aussi dans le cytoplasme.

On peut en distinguer deux grands types:

- **Les acides désoxyribonucléiques (ADN):** essentiellement localisés dans le noyau des cellules.

- **Les acides ribonucléiques (ARN):** essentiellement localisés dans le cytoplasme cellulaire.

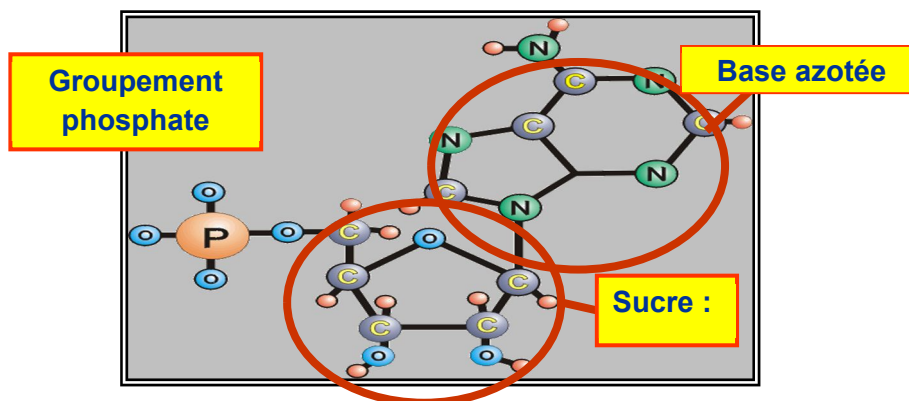
Ces molécules biologiques (les acides nucléiques) représente le support de l'information génétique : l'ADN (et ARN pour certains virus) et le support de l'hérédité et du codage des composés biologiques (les ARN, les protéines).

Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont des macromolécules et comportent des sous-unités appelées nucléotides.

#### I.1. Les nucléotides

- Un nucléotide est une molécule formée de trois unités moléculaires :

- Un sucre
- Une base azotée
- Un groupement phosphate  $H_3PO_4$

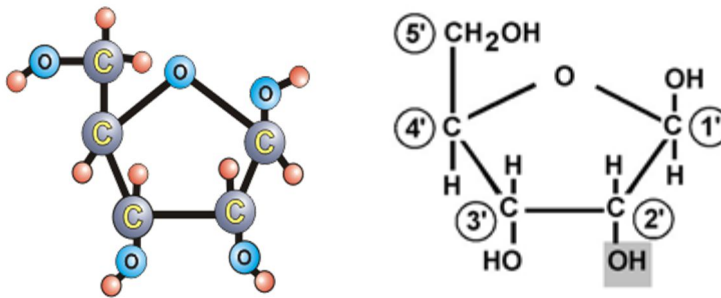


**Fig1 : structure d'un nucléotide**

### I.1.1 L'ose

#### A- Ribose

Le ribose est un pentose de la série D, dont tous les hydroxyles sont orientés à droite (représentation de Fisher). Dans les acides ribonucléiques (RNA), il est cyclisé en ribofuranose : anomère  $\beta$  spécifiquement (Fig : 2).

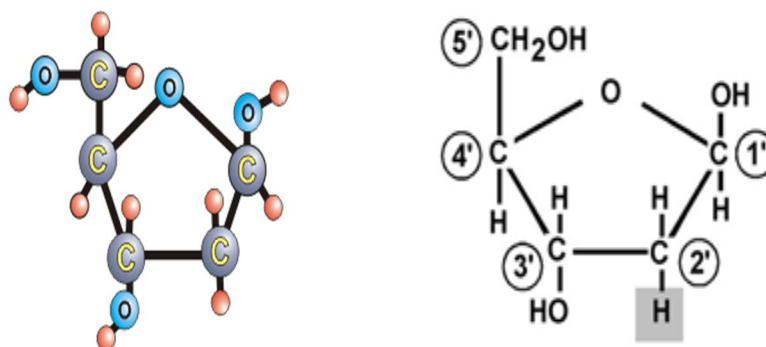


**Fig2 : structure du - $\beta$ -D-ribose**

#### B- désoxyribose

Le désoxyribose, composant des acides désoxyribonucléiques (DNA) est dérivé du ribose par une réduction de la fonction alcool secondaire du carbone n°2. Le désoxyribose confère à cet acide nucléique une plus grande stabilité propre à sa fonction de conservation de l'information génétique (Fig : 3).

La numérotation les atomes C de l'ose porte des primes «C' » pour ne pas les confondre avec ceux de la base azotée.



**Fig3 : structure 2- désoxy- $\beta$ -D-ribose**

**I.1.2. les bases azotées :**

Il existe deux types possibles de bases ; de type pyrimidique et de type purique.

**A. Bases pyrimidiques**

Elles possèdent un cycle pyrimidine, elles possèdent aussi de divers substituants qui viennent se greffer sur ce cycle (Fig : 4).

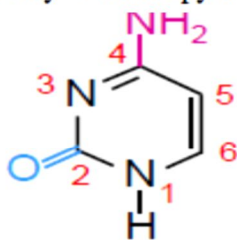
Les bases pyrimidiques sont au nombre de 3 : la cytosine, l'uracile et la thymine :

• **Les pyrimidines** ont un noyau aromatique hexagonal de 4 carbones et 2 azotes.

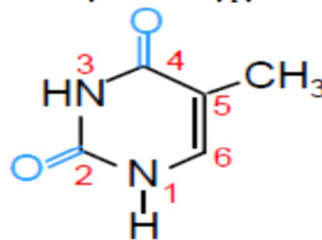
- **La cytosine** est constituée d'un noyau pyrimidine dont le carbone 4 est substitué par une fonction amine et le carbone 2 par une fonction cétone.
- **L'uracile** est constitué d'un noyau pyrimidine dont les carbones 2 et 4 portent des fonctions cétone.
- **La thymine** est aussi constituée d'un noyau pyrimidine dont les carbones 2 et 4 portent des fonctions cétone, mais dont le carbone 5 est substitué par un méthyl.

**Pyrimidine**

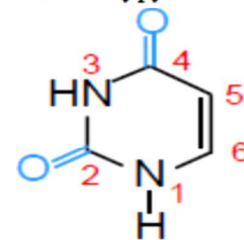
2-oxy-4-aminopyrimidine

**Cytosine (C)**

5-méthyl-2,4-dioxypyrimidine

**Thymine (T)**

2,4-dioxypyrimidine

**Uracile (U)****Fig4 : structure d'un cycle pyrimidine et des bases pyrimidiques**

Les noms courants des différentes bases n'ont aucun lien avec la nomenclature classique de la chimie organique, certains font référence à leurs conditions de découverte (thymine : thymus de veau).

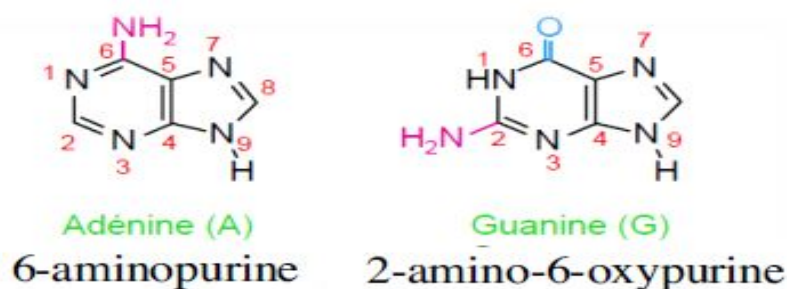
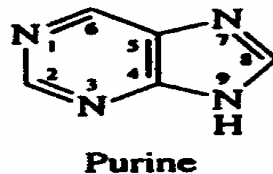
## B. Bases puriques

Elles possèdent un cycle purine, elles possèdent aussi de divers substituants qui viennent se greffer sur ce cycle (Fig : 5).

Les bases puriques sont au nombre de 2 : l'adénine et la guanine :

• **Les purines** ont un double noyau aromatique comportant à gauche un cycle hexagonal de 4 carbones et 2 azotes et à droite un cycle pentagonal de 3 carbones (dont 2 communs avec le précédent) et 2 azotes.

- **L'adénine** est constituée d'un noyau purine dont le carbone 6 est substitué par une fonction **amine**. Elle est la seule des bases nucléiques dont la formule ne contient pas d'atome d'oxygène.
- **La guanine** est constituée d'un noyau purine dont le carbone 2 est substitué par une fonction **amine** et le carbone 6 par une fonction **cétone**.



**Fig5 : structure d'un cycle purine et des bases purique**

## C. Les bases modifiées dans l'ADN ou l'ARN

Les modifications peuvent avoir lieu sur des sites cycliques ou exocycliques :

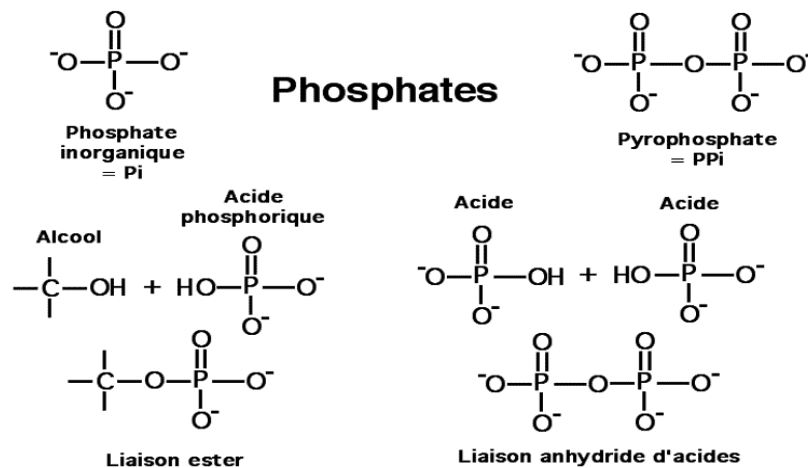
- la **5-méthylcytosine** est trouvée dans l'ADN des plantes et des animaux sauf les insectes. Cette méthylation est un signal négatif de la régulation de l'expression des gènes, le groupe méthyle favorisant une conformation de l'ADN qui ne peut fixer un facteur de transcription.

- la **N6-méthyladénine** est présente dans les bactéries. Cette méthylation permet aux enzymes de restriction de la bactérie de reconnaître son propre ADN vis-à-vis d'ADN étrangers (virus). D'autres méthylations permettent le fonctionnement d'un système de correction des éventuelles erreurs de réplication de fonctionner.
- Les ARN et principalement les ARNt contiennent une variété étendue de dérivés : des dérivés hydrogénés (5, 6-dihydrouracile) ou soufrés (**thiouracile** ou 2-oxy-4-thiopyrimidine) des pyrimidines, ou encore des formes altérées de la guanine, la **xanthine** (2, 6-oxypurine) et l'**hypoxanthine** (6-oxypurine).

### I.1.3. L'acide phosphorique:

Le phosphate inorganique est un ion stable formé à partir de l'acide phosphorique  $\text{PO}_4\text{H}_3$ . On l'écrit souvent Pi.

L'acide phosphorique possède trois fonctions acides. Deux de ces fonctions sont estérifiées dans les ADN et les ARN. La troisième fonction est libre (Fig : 6).

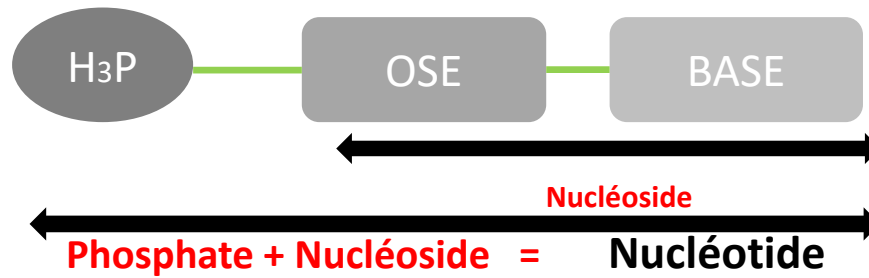


**Fig6 : structure de l'acide phosphorique**

### I.2. L'association des trois éléments constituant un nucléotide

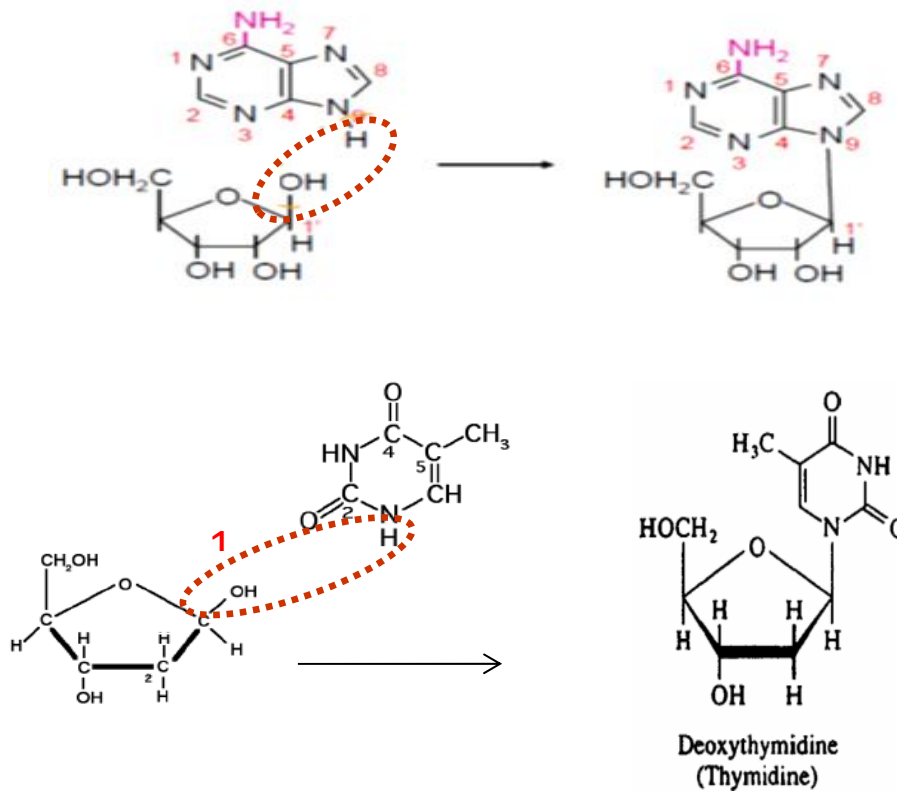
Un nucléotide résulte de :

- 1) la condensation d'un ose (pentose) avec une base nucléique (hétérocycle azoté) qu'on appelle **nucléoside**.
- 2) l'estérification de l'ose d'un nucléoside par l'acide phosphorique produit un **nucléotide**.



**I.2.1. La liaison ose-base**

La liaison ose –base est une liaison glycosidique de type β-N- osidique qui se forme par élimination d’une molécule d’eau entre la fonction hydroxyle (OH) située en C’1 de l’ose et un H de l’azote N1 de la base pyrimidique (H en N1) ou de l’azote N9 de la base purique (H en N9) (Fig7).



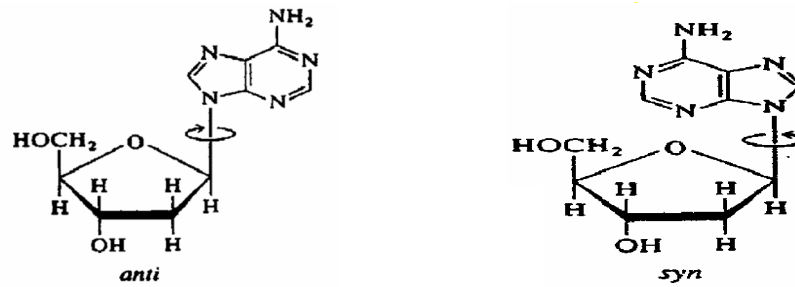
**Fig7 : Association OSE-BASE=Nucléoside**

**- Conformations SYN et ANTI**

La formation de la liaison glycosidique peut conduire à deux types de conformation : SYN et ANTI (Fig : 8). Autrement dit, il existe deux positions qu’une base peut occuper par rapport au sucre.

Le passage d’une forme à l’autre implique de très fortes contraintes stériques.

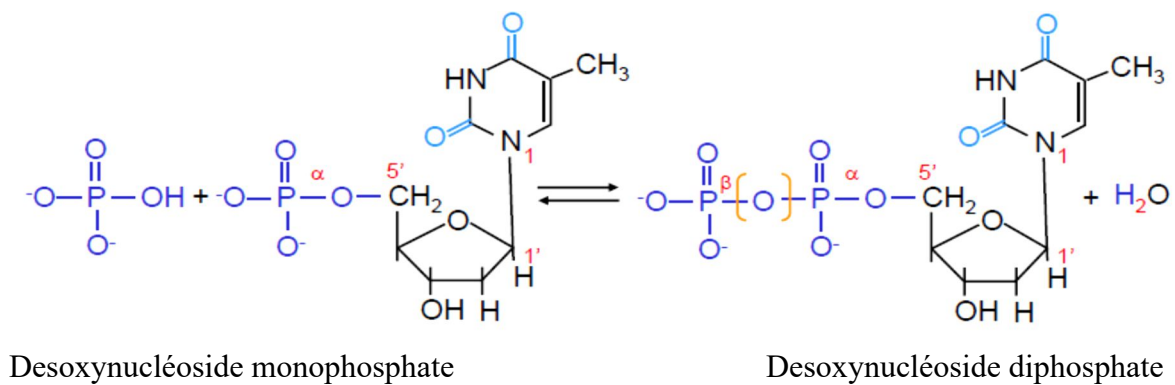
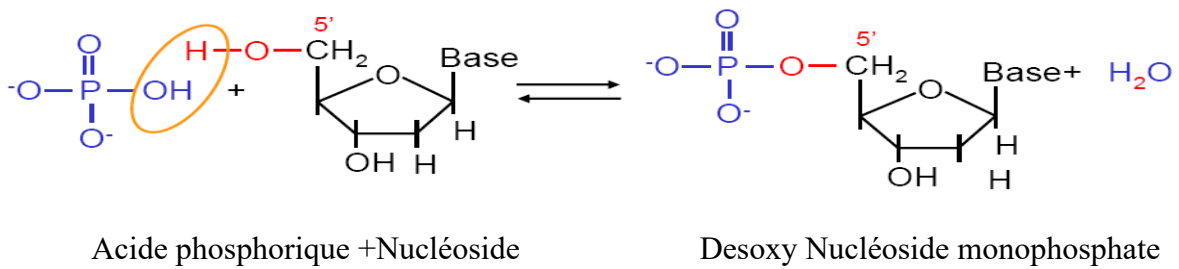


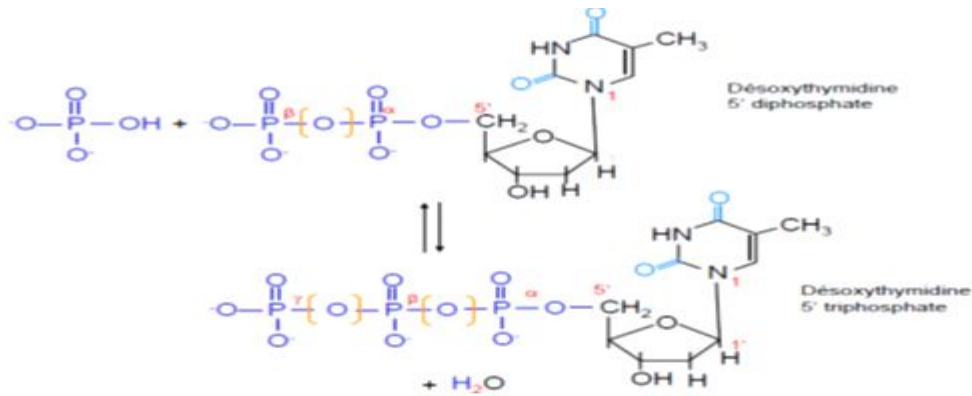


**Fig 8: Conformation syn et ANti**

**I.2.2. Liaison acide phosphorique- ose**

La liaison entre l'ose et acide phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) est une liaison Ester. Cette liaison se forme par élimination d'une molécule d'eau entre le OH de l'acide il s'agit de l'OH de l'H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et un H de l'alcool il s'agit du H en 5' de la fonction alcool en 5' de l'ose. (FIG : 9)





**Fig 9: Liaison acide phosphorique – ose**

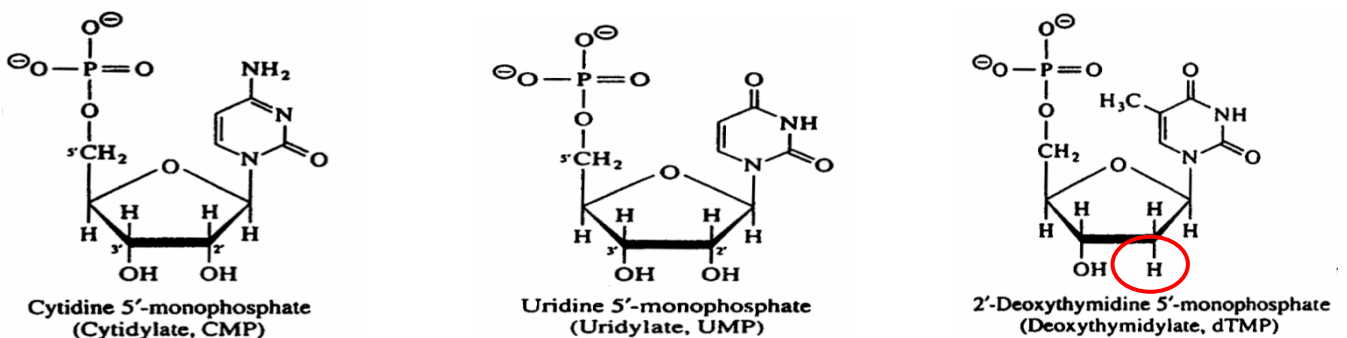
Tous les nucléosides peuvent exister sous forme de 5' monophosphate, de 5' diphosphate et de 5' triphosphate.

Nous avons donc trois séries de nucléosides 5' phosphorylés. La position des trois groupements phosphorylés est indiquée par la lettre  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .

Tous ces 5' NTP et les 5' dNTP sont les précurseurs dans la synthèse des acides nucléiques et existent sous forme libres dans la cellule.

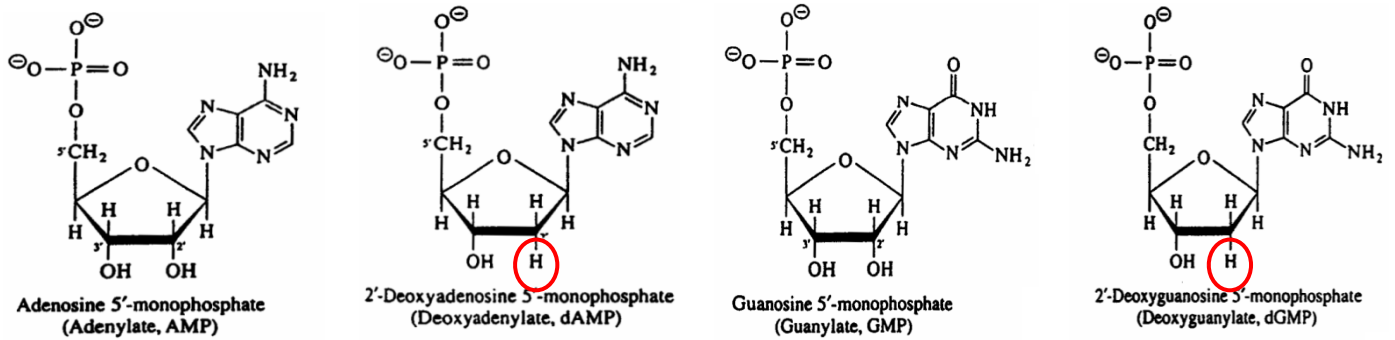
**I.3. Nomenclature des principaux Nucléosides et Nucléotides**

Les nucléotides à base pyrimidique, par exemple la base Uracile, le nucléoside et le nucléotide correspondants sont appelés respectivement URIDINE (Terminaison idine) et acide uridylique (Terminaison idylique). L'appellation est complétée si l'ose est un désoxyribose en faisant précéder l'abréviation du nucléoside la lettre «D » (pour desoxy) (Fig 10(a)) ( Tab : 1).



**Fig10 (a) : structures et noms des nucléotides**

Les nucléotides à base purique par exemple la base ADENINE, le nucléoside et le nucléotide correspondants sont appelés respectivement ADENOSINE (Terminaison osine) et acide adénylique (Terminaison ylique). L'appellation est complétée si l'ose est un désoxyribose en faisant précéder l'abréviation du nucléotide la lettre «D » (pour desoxy) (Fig 10(b)).



**Fig10 (b) : structures et noms des nucléotides**

**Tableau 1 : Nomenclature des principaux Nucléosides et nucléotides**

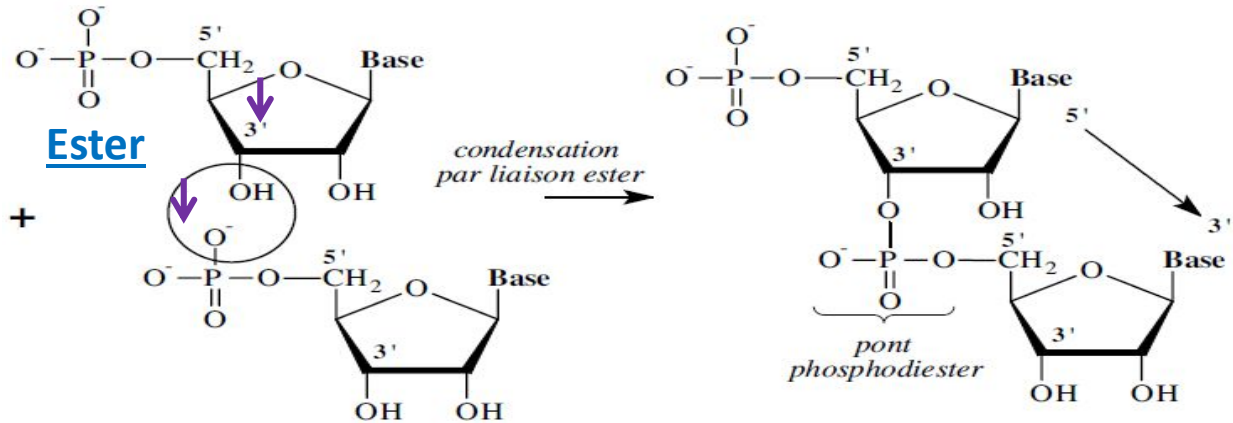
Bases	Nucléosides	Nucléosides 5'-mono, di, triphosphates	Unités nucléotidiques des acides nucléiques
A = Adénine	(désoxy-) adénosine	AMP, ADP, ATP dAMP, dADP, dATP	(d-) adénylate
G = Guanine	(désoxy-) guanosine	GMP, GDP, GTP dGMP, dGDP, dGTP	(d-) guanylate
C = Cytosine	(désoxy-) cytidine	CMP, CDP, CTP dCMP, dCDP, dCTP	(d-) cytidylate
U = Uracile	uridine	UMP, UDP, UTP	uridylate
T = Thymine	désoxy-thymidine	dTMP, dTDP, dTTP	d-thymidylate

**I.4. Association des nucléotides dans un acide nucléique**

Dans un acide nucléique (ou polymère de nucléotide), les nucléotides sont rassemblés entre eux par des liaisons Ester. Une molécule d'eau est donc éliminée entre un OH de l'acide phosphorique et le H de la fonction alcool située en 3' de l'ose.

L'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans des liaisons dites phosphodiester (Fig :11).

La 3eme fonction acide de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> reste libre et confère donc des propriétés acides aux acides nucléiques (ADN et ARN).



**Fig11 : structures secondaire des acides nucléiques (liaison des nucléotides)**

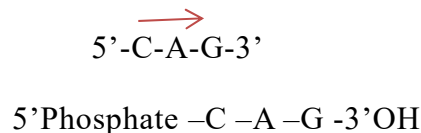
**I.5.Sens de lecture d'un acide nucléique.**

Un acide nucléique possède deux extrémités:

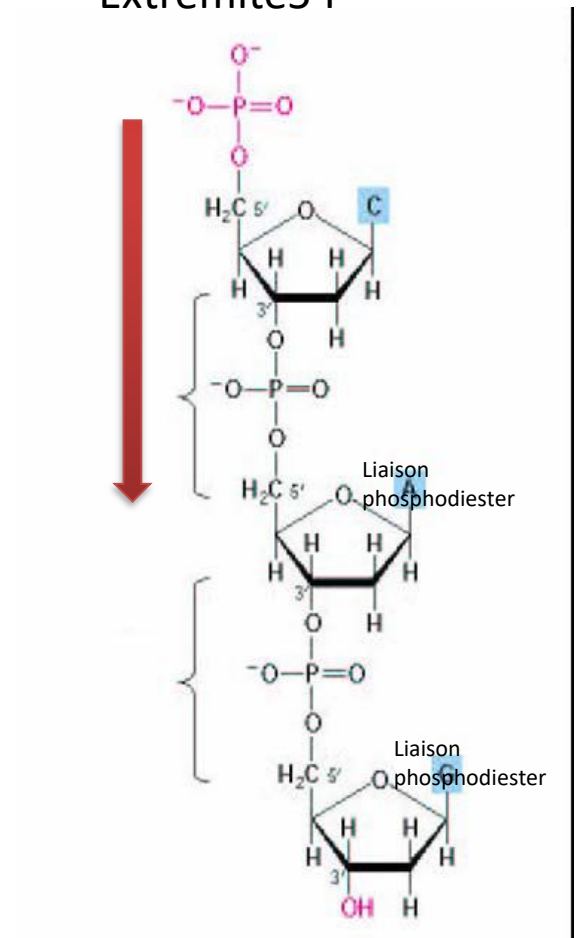
- Une extrémité qui contient le Groupements Phosphate avec deux fonctions acides libres; on l'appelle l'extrémité 5'P (Fig :12).
- L'autre extrémité contient un OH libre en 3' sur l'ose; on l'appelle l'extrémité 3'OH (Fig :12).

Par convention, on lit toujours un acide nucléique de l'extrémité 5' (groupe phosphate) vers l'extrémité 3' (OH libre) car lors de la synthèse d'une chaîne d'acide nucléique, chaque liaison ester s'établit entre le groupe OH du carbone 3' d'un 1<sup>er</sup> nucléotide et le groupe OH porté par le carbone 5' du nucléotide suivant. C'est la liaison phosphodiester 3'---5' (Fig :12).

Représentation schématique du fragment:



Extrémité 5'P



Extrémité 3'OH

**Fig12 : structures secondaire des acides nucléiques (sens de lecture)**

## I.6. Les rôles des nucléotides

Les rôles des nucléotides sont multiples

- Rôles à l'état polynucléotidique : supports de l'information génétique: ADN et ARN
- Rôles à l'état mononucléotidique :
  - Composés à haut potentiel énergétique Exp : ATP, GTP....etc
  - Composants structuraux des cofacteurs d'enzymes Exp : NAD, FAD.....etc
  - Seconds messagers intracellulaires : Exp AMPc
  - Agents de régulation des protéines.

## II. ADN: STRUCTURE ET CARACTERISTIQUES DU DNA

### II.1. LES CONSTITUANTS DU DNA

Les ADN sont donc formés de très nombreux nucléotides reliés entre eux par des liaisons Ester.

Les ADN possèdent 3 caractéristiques propres et qui les opposent aux ARN

- **L'OSE**: Désoxyribose
- **LES BASES**: A, T, G et C (DNTP)
- **LES DEUX CHAINES DE NUCLEOTIDES**: une chaîne d'ADN est habituellement constituée de deux chaînes (brins) de nucléotides (bicaténaire). (On note des exceptions chez certains virus)

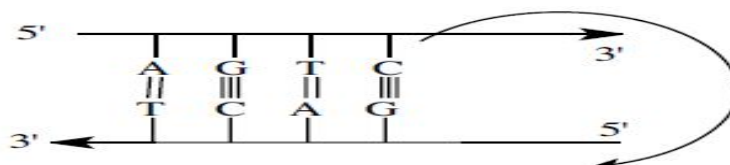
### II.2. Caractéristiques des deux chaînes d'ADN

Les 2 chaînes du DNA ont 3 propriétés essentielles, elles sont dites antiparallèles, complémentaires, et hélicoïdales.

#### II.2.1. Antiparallèles

Signifie que les deux brins des nucléotides sont parallèles mais dans des directions opposées (Fig 13). Prenant l'exemple d'un ADN linéaire :

Pour un brin la direction 5' → 3' se trouve de gauche à droite. Pour le 2<sup>ème</sup> brin la direction 5' → 3' se trouve de droite à gauche



**Fig13 : les 2 brins d'ADN sont antiparallèles**

## II.2.2. Complémentaires (règle de Chargaff 1947)

Selon cette règle, quelle que soit l'origine de l'ADN, les bases puriques d'un brin s'associent toujours à une base pyrimidique de l'autre brin. L'adénine va toujours s'associer avec la thymine et la guanine avec la cytosine. On désigne cette liaison sous le terme d'hybridation.

- En face de A on a T
- En face de C on a G

(Ainsi si on connaît les bases du 1<sup>er</sup> brin, les bases du 2<sup>ème</sup> brin grâce à la règle de complémentarité seront obligatoirement connues)

5'-ATTGCCGTATGTATTGCGCT-3'

3'-TAACGGCATAACGCGA-5'

Cette complémentarité entre les bases s'explique pour les raisons suivantes:

### A. Pour des raisons stériques: (encombrement de place)

En face d'une purine « deux cycles on a obligatoirement une pyrimidine 1 cycle et inversement »

- 2pyrimidine = 2 cycles trop éloignée pour former une liaison stable

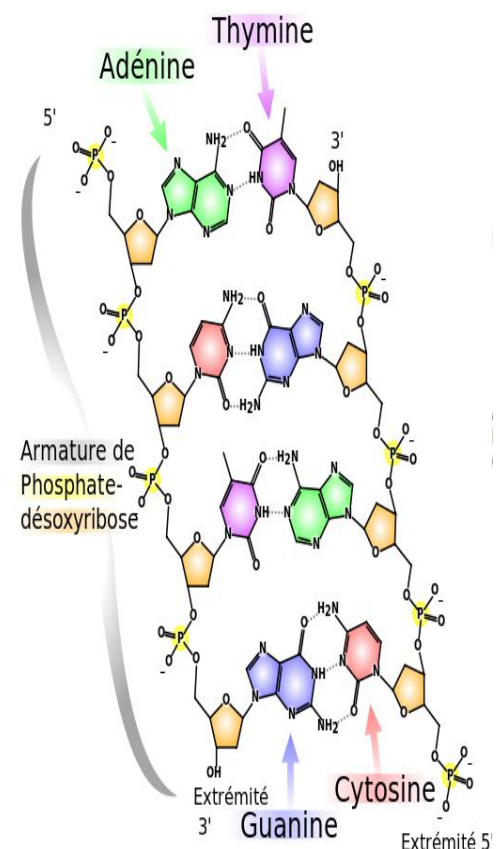
- 2purine = 4 cycles prendraient trop de place

Chaque paire de base a donc la même dimension et ceci rend possible la structure régulière de la double hélice. (Fig :14)

Ceci pourrait supposer qu'en face de A on peut trouver aussi bien T que C

### B. Pour des raisons de liaisons hydrogènes

Une liaison hydrogène est une liaison de faible énergie entre deux atomes attirés l'un vers l'autre pour des raisons électrostatiques l'un étant riche en électrons donc nucléophile (O, N) et l'autre n'ayant que les protons de son noyau donc électrophile (H).

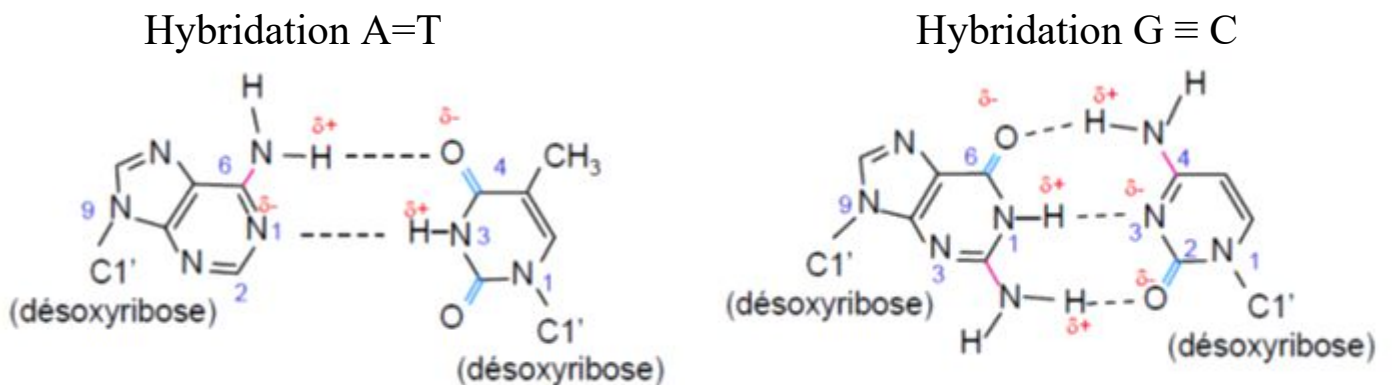


**Fig14 : structures secondaire d'ADN**

Les bases complémentaires situées face à face sont reliées entre elles par des liaisons hydrogènes donc :

- En face de groupement **NH<sub>2</sub>** en **6** d'une base purique se trouve un groupement **C=O** en **4** d'une base pyrimidique.
- En face de groupement **NH<sub>2</sub>** en **4** d'une base pyrimidique se trouve un groupement **C=O** en **6** d'une base purique.
- En face d'un groupement **NH** en **1** d'une base purique se trouve un groupement **N** en **3** d'une base pyrimidique et inversement. De plus pour le couple **G ≡ C** face à un groupement **NH<sub>2</sub>** en **2** de guanine se trouve **CO** en **2** de cytosine (Fig 15).
- 

L'hybridation **adénine-thymine** est moins stable (2 liaisons hydrogène) que celle entre **guanine et cytosine** (3 liaisons hydrogène) (Fig :15).



**Fig15 : les liaisons hydrogène entre les bases**

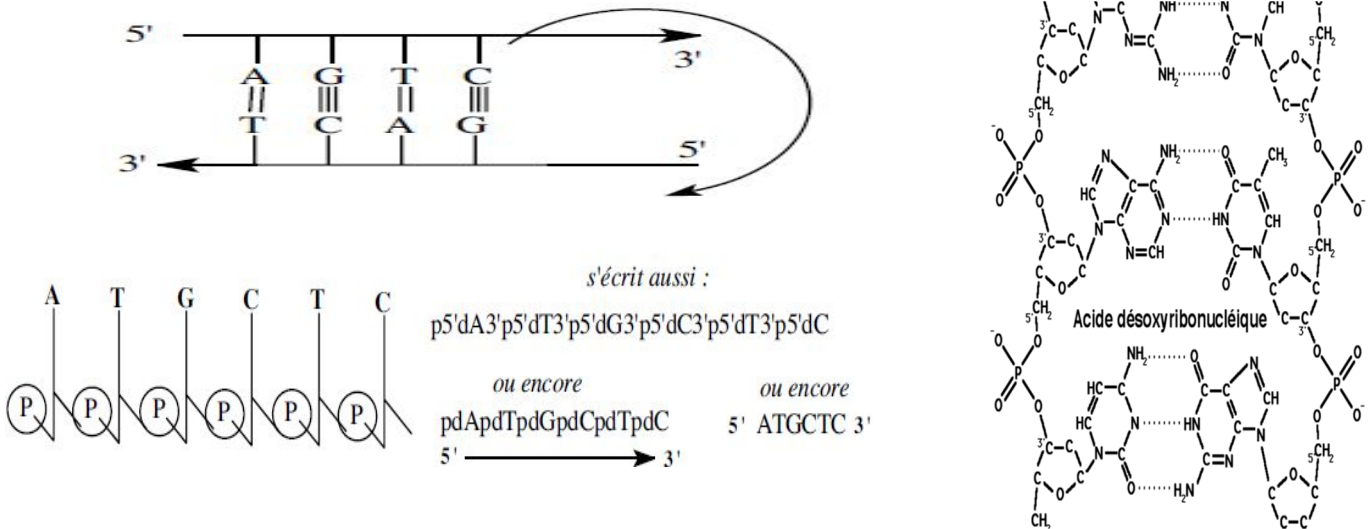
### **- Les règles de Chargaff**

Du nom de la personne qui a remarqué (dans les années 1940) que : Quel que soit l'espèce d'origine, l'ADN contient toujours autant de purine que de pyrimidine soit :

- **(A + G) = (C + T) ou (A+G) / (C+T) = 1**
- De plus, il y a autant de thymine que d'adénine **A/T = 1** et autant de guanine que de cytosine **G/C = 1**
- **(A+T) / (G+C) = variable selon l'espèce** mais constant pour tous les membres d'une espèce donnée.

**- Représentation schématique d'ADN**

En résumé on peut représenter une molécule d'ADN de façon très schématique sans tenir compte de la conformation spatiale où les montants sont formés de sucre et de l'acide phosphorique, les barreaux sont constitués de bases complémentaires situées face à face bases constituent les barreaux de l'échelle (Fig : 16).



**Fig 16 : Formule semi développée d'une chaîne d'acide nucléique**

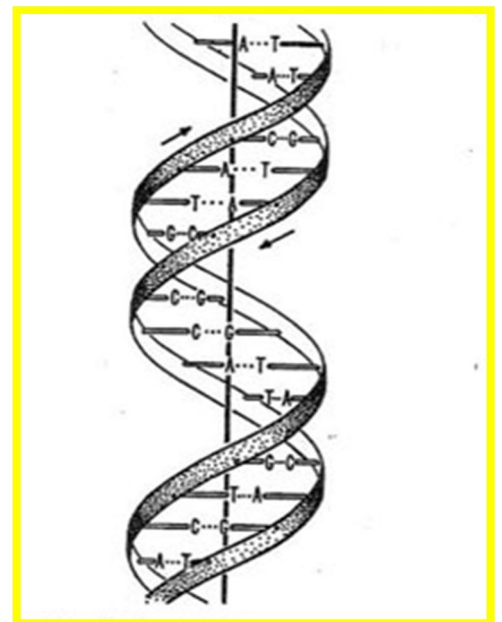
Il faut bien comprendre que le désoxyribose et l'acide phosphorique sont les mêmes toute au long de l'ADN. Il n'en est pas de même pour les bases donc l'ordre dans lequel les bases succèdent est caractéristique pour chaque molécule c'est la séquence de bases.

Par convention, et pour simplifier, on représente une chaîne d'acide nucléique en écrivant seulement les bases soit en verticale soit en horizontale.



**II.2.3. Hélicoïdale**

Les deux chaînes d'ADN présentent dans l'espace une conformation hélicoïdale, elles s'enroulent autour d'un axe central imaginaire en formant une double hélice à droite (A-AND et B-ADN) (Fig :17).



**Fig 17 : structure hélicoïdale de l'ADN**



### II.3. TAILLE DES ADN

La taille est exprimée, selon l'usage, soit par :

- **La longueur**
- **La masse moléculaire en Dalton ou en Pg picogramme**
- **Le nombre de paires de bases (pb)** (car une molécule d'ADN = association de couple de bases). Pour les molécules simples brin, comme les ARN, c'est en fonction de bases ou de nucléotides.

**Remarque : 1 pb = 660 Da ;  $2.10^6$  Da # 3000 pb # 1  $\mu$ m**

**1pg =978 Mpb**

**1Mpb = $10^3$  kpb =  $10^6$  pb**

Cette taille est très variable de plusieurs milliers de pb à quelques milliards de pb.

**Exemples :** virus : phage  $\phi$ X174 : 48 kpb soit  $32.10^6$  Da soit 17  $\mu$ m

Bactérie : E.Coli : 4000 kpb soit  $2600.10^6$  Da soit 1,36 mm

	<b>Organisme</b>	<b>Taille du génome (Kpb)</b>
<b>virus</b>	phage $\phi$ X174	$0,05 \times 10^3$ (Kb) circulaire simple brin
<b>Virus</b>	Virus de la grippe	$0,013 \times 10^3$ linéaires doubles brins
<b>Bactéries</b>	<i>Escherichia coli</i>	$4,64 \times 10^3$ (circulaire double brin)
<b>Eucaryotes</b>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levure)	$12 \times 10^3$
<b>Eucaryotes</b>	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecte)	$118 \times 10^3$ (linéaire double brin 4chro)
<b>Eucaryotes</b>	<i>Zea mais</i> (maïs)	$5\ 000 \times 10^3$ (linéaire double brin 10chro)
<b>Eucaryotes</b>	<i>Homo sapiens</i> (homme) Mitochondrie de l'homme	$3\ 200 \times 10^3$ 23 $16,569$ (circulaire)

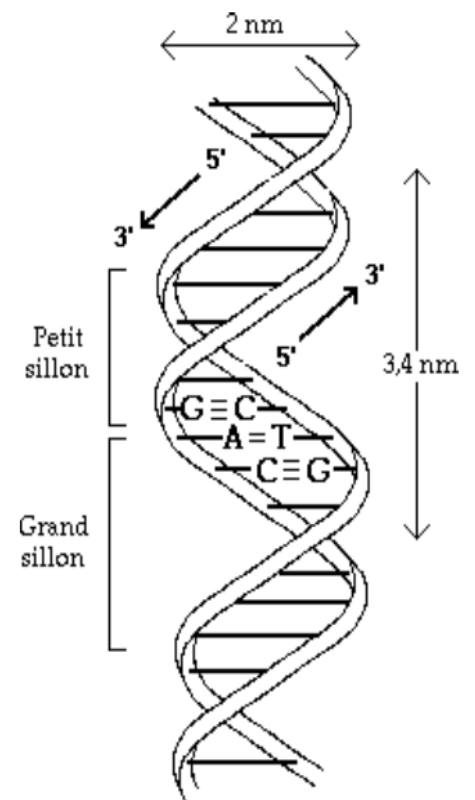
### II.4. Les différentes formes d'ADN

#### II.4.1. La forme B de l'ADN

La forme biologique la plus importante de l'ADN;

- C'est une hélice droite
- Le squelette sucre phosphate est à l'extérieur de la molécule.
- Toutes les bases puriques et pyrimidiques sont à l'intérieur de l'hélice.

- Toutes les bases ont la même conformation par rapport à l'ose, cette conformation est de type *anti*.
- les plans des bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice.
- les plans des oses sont presque perpendiculaires à ceux des bases.
- La distance entre deux plans de bases successifs est de 0,34 nm.
- Chaque tour de spire est constitué de 10 paires de bases.
- Le pas d'hélice ou la distance entre deux tours de spires est de 3,4 nm c'est à dire 10 paires de bases.
- -Le diamètre de l'hélice est de 2 nm;
- -Une caractéristique très importante pour la forme B-DNA est la présence de 2 sillons; le sillon majeur 1,2 nm et le sillon mineur 0,6nm



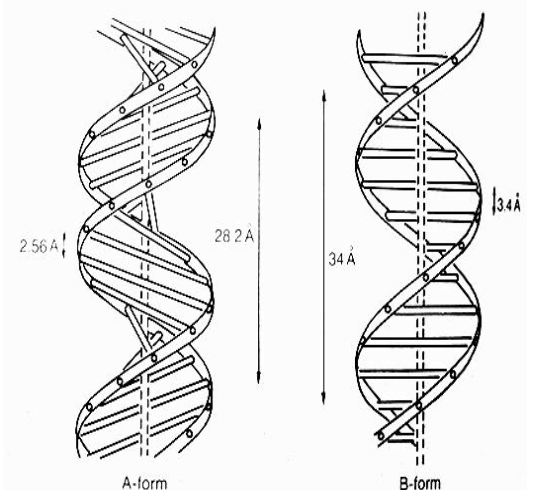
**Fig 18 : Modèle de Watson et Crick**

#### II.4.2. La forme A de l'ADN

C'est la forme déshydraté du B DNA, La conformation « A » a les spécificités suivantes :

- hélice droite (idem conformation B).
- hélice plus compacte.
- Le diamètre de l'hélice est de 2,6 nm;
- pas de 2,8 nm (11 pb par tour)
- distance entre les plans de bases successives de 0,26 nm (Fig14).
- Le diamètre de l'hélice est de 2.3 nm;

FIGURE 4.8. Schemes of the A and B forms of DNA.

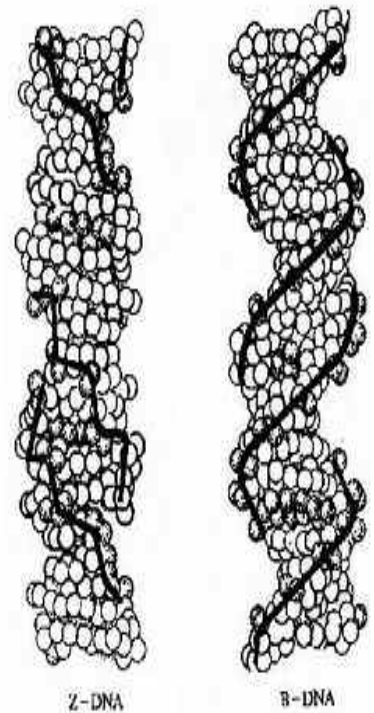


**Fig 19 : Modèle de DNA « A »**

**II.4.3. La forme Z de l'ADN**

Double hélice à rotation gauche; Il n'est pas une image dans un miroir du DAN à droite (il y a une conformation différente. Le squelette ose phosphate est en zigzag au lieu de former une spirale régulière d'où le nom de Z.

- Diamètre de l'hélice est plus petit 1,8 nm;
- 12 paires de bases par tour d'hélice;
- Le pas d'hélice est 4,6 nm;
- Les bases sont enchaînées avec une alternance de conformation; les purines en *syn* et les pyrimidines en *anti*.
- (Présent dans les zones d'ADN où il existe une alternance de CGCG dans lesquelles G est en position "SYN" et C est en position "ANTI" et méthylée).
- Absence des sillons mineurs.



**Fig 20 : Modèle de Z DNA**

Le Z-ADN a été décelé dans des chromosomes de mammifères;

Fonction précise mal connue, (régulation structurale de l'expression génétique). (Fig20)

**Tab 3 : Principales caractéristiques des différents types d'ADN**

	A-DNA	B-DNA	Z- DNA
<b>Diamètre (nm)</b>	2,6	2	1,8
<b>Pas d'hélice</b>	2,8	3,4	4,6
<b>rotation</b>	Droite	Droite	Gauche
<b>Pdb : tour d'hélice</b>	11	10	12
<b>Liaison B N-osidique</b>	ANTI	ANTI	SYN pour G et A ANTI pour C et T

## II.5. Propriétés physico-chimiques de l'ADN

### II.5.1. L'absorption UV

L'ADN absorbe dans l'ultra-violet (UV) à 260 nm à cause essentiellement de ses bases (A,T, C, G) qui sont soit des bases pyrimidiques, soit des bases puriques.

### II.5.2. La dénaturation thermique

Si on chauffe la molécule d'ADN il se produit à une certaine température une rupture des liaisons hydrogènes entre les bases. La double hélice se défait alors et les deux brins se séparent. On dit que l'ADN est dénaturé. Le Chauffage généralement est réalisé de **10 à 15 minutes de 90°C à 95°C**. La dénaturation entraîne des modifications physico-chimiques: Augmentation de l'absorption (l'hyperchromicité) dans l'ultra-violet, diminution de la viscosité, augmentation de la densité.

La dénaturation est réversible dans certaines conditions; si la température est baissée progressivement les deux brins d'ADN peuvent s'hybrider selon la règle de la complémentarité des bases « **renaturation** » d'où la nécessité de refroidir brusquement pour maintenir une dénaturation irréversible.

### II.5.3. La détermination de la Température de fusion T<sub>M</sub>

T<sub>m</sub> d'une molécule d'ADN (Température de fusion ou melting Temperature) : c'est la température moyenne pour laquelle la moitié de cet ADN (50%) est dénaturé (C'est la température à laquelle la moitié de l'ADN est sous forme monobrin et l'autre moitié sous forme double brin).

Pour un oligonucléotide de taille inférieure à 20 nucléotides, le calcul du T<sub>m</sub> est:

$$T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$$

EXP :

$$dAGTCATGCCCCGCGC \quad T_m = 4 \times 11 + 2 \times 4 = 52^\circ\text{C}$$

A partir de N = 20, on corrige d'un multiplicateur proportionnel à la longueur au-delà de ce chiffre :  $1 + [(N-20)/20]$ .

$$T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4 \times (1 + [(N-20)/20]).$$

Plus il y aura de paires G/C et plus la température T<sub>m</sub> sera élevée. La T<sub>m</sub> est donc spécifique à chaque molécule d'ADN.

Le  $T_m$  dépend de nombreux facteurs tels que la longueur du fragment d'ADN considéré, sa richesse en cytosines et guanines et la concentration en ion Na du milieu réactionnel. **EXP :**

- ADN des mammifères a une concentration de GC (39 à 40) %,  $T_m = 87^\circ\text{C}$  .
- E. Coli (une bactérie) a une concentration de GC % = 50,  $T_m = 92^\circ\text{C}$ .
- Serratia marcescens (bactérie) a une concentration de G/C ~ 60 %,  $T_m = 94^\circ\text{C}$ .

## **II.6. ADN des êtres vivants**

### **II.6.1. Différences eucaryotes / procaryotes :**

- ADN isolé (eucaryote) ou non (procaryote) du cytoplasme par une membrane nucléaire.
- plusieurs molécules (chromosomes) dans les cellules eucaryotes / une seule molécule chez les virus et bactéries (procaryotes),
- forme linéaire = eucaryote / circulaire = procaryote,
- nombres de nucléotides : des milliards (répartis sur plusieurs molécules) = eucaryotes / des milliers dans les cellules procaryotes.

### **II.6.2. Similitudes eucaryotes / procaryotes :**

- structure commune : enchaînement des nucléotides,
- bicaténaire (sauf pour quelques virus),
- séquences de bases caractéristiques de chaque molécule d'ADN

#### **A. Les virus**

Sont les êtres vivants qui possèdent le génome les plus courts. On distingue les virus à ADN et les virus à ARN. Leurs génomes sont formés de quelques milliers à plusieurs millions de nucléotides.

#### **B. Les procaryotes**

Chez les procaryotes, EXP E.Coli, l'ADN n'est pas situé dans le noyau, mais on le trouve dans le cytoplasme où il constitue un seul et unique chromosome. Il a une forme circulaire.

L'ADN des procaryotes est plus long que celui des virus approximativement 1000 fois plus. Ainsi, le DNA d'E.Colie comporte environ 4600000 de paires de bases.

Chez les procaryotes on trouve aussi ce qu'on appelle les plasmides. Ce sont des petits morceaux d'ADN circulaires qui se trouvent à côté du chromosome et sont indépendant du DNA principale.

### **C. Les eucaryotes**

Chez les eucaryotes, l'ADN est situé dans le noyau et organisé en une ou plusieurs molécules de chromosomes linéaires où chaque chromosome contient une très longue molécule d'ADN.

Le nombre totale des nucléotides dans une cellule humaine est très grand « environ 1000 fois plus que dans le cas des bactéries ». On trouve ainsi environ 3.2 milliard de paires de bases qui sont organisé en 46 chromosomes.

Il ne faut pas croire qu'il existe une relation systématique entre la quantité de l'ADN et la complexité d'un organisme. L'amoeba dubai « amibes » à 200 fois plus de DNA par cellule que l'on trouve chez l'homme.

Chez les eucaryotes, on trouve aussi du DNA en dehors du noyau. Ainsi les mitochondries et les chloroplastes contiennent de l'ADN.

### **D. L'ADN des mitochondries**

Les mitochondries sont des organites présents dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Elles contiennent essentiellement des protéines de la chaîne respiratoire qui sont impliquées dans la synthèse de l'ATP. Les protéines de la mitochondrie ont une double origine : la plupart sont codées par l'ADN nucléaire synthétisées dans le cytoplasme et transporté par la suite dans la mitochondrie mais quelques-unes sont codées par le DNA mitochondrial

Le DNA de la mitochondrie humaine est circulaire, clos et composé de 2 brins 16569 pb ; il code pour des ARNm, ARNt et ARNr mitochondriaux

## **III. ARN: STRUCTURE ET CARACTERISTIQUES DU RNA**

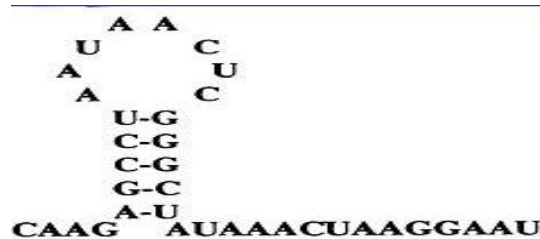
### **III. 1. LES CONSTITUANTS DU RNA**

Les ARN sont donc formés de très nombreux nucléotides reliés entre eux par des liaisons Ester

Les ARN possèdent 3 caractéristiques :

- **L'OSE:** Ribose (remplace le 2'-désoxyribose présent dans les ADN).
- **LES BASES:** A, G, C et U (cette dernière est remplacée par T dans les ADN).
- **UNE SEULE CHAINE DE NUCLEOTIDES :** une seule chaîne nucléotidique (au lieu de deux dans les ADN). Cette chaîne est d'ailleurs beaucoup plus courte que les chaînes d'ADN.

- **La règle d'appariement** : Bien qu'ils soient monocaténares, l'appariement entre les bases complémentaires pourra s'observer soit entre deux molécules d'ARN différentes, soit sur une même molécule d'ARN dans une région repliée en épingle à cheveux.



**Fig 21 : Structure en épingle à cheveux**

La règle d'appariement est la suivante :

- Le A s'apparie avec le U (deux liaisons hydrogène) et le C s'apparie avec le G (trois liaisons hydrogène). Ainsi les régions appariées donnent des tiges et les régions non appariées donnent des boucles (structure en cruciforme)

### **III.2. LES DIFFERENTS TYPES D'ARN**

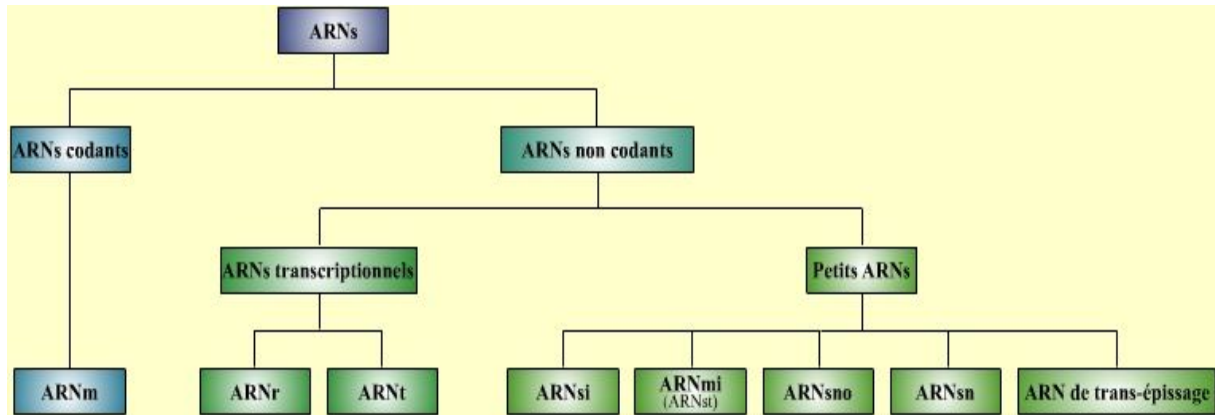
Les cellules contiennent essentiellement quatre types d'ARN:

- Les ARN ribosomiques (ou ARNr).
- Les ARN de transfert (ou ARNt).
- Les ARN messagers (ou ARNm).
- Les ARN nucléaires de petite taille (ou snRNA) (ou small nuclear RNA) (snRNA).

De nouvelles classes de petits ARNs :

- snoARN ou small nucleolar RNA ou petit ARN nucléolaire
- Les microARN (ARNmi) et les petits ARN interférents (ARNsi: small interfering RNA) qui remplissent de nombreuses fonctions, en particulier celle de l'inhibition post-transcriptionnelle des gènes.

Dans la cellule, les ARNr sont les plus abondants (au moins 80% de l'ensemble des ARN de la cellule) alors que les ARNt ne présentent que 16% et les ARNm 2% et les snRNA les moins abondants.



**Fig 22 : les différents types des ARN**

### III.2.1. Les ARN ribosomiques : ARNr

- Représentent environ 80% des ARN cellulaires totaux.
- Riche en G et C.
- Ils constituent les ribosomes.
- Les ribosomes sont des organites intracellulaires situés dans le cytoplasme (également dans les mitochondries) et qui sont l'usine de fabrication des protéines de la cellule.
- On peut distinguer les ARNr des procaryotes (E. coli) et les ARNr des eucaryotes.

#### A. LES ARNr et les r-Protéines des procaryotes

Les ARNr des procaryotes (E. coli): constituent les ribosomes dits 70 S (S = unité de sédimentation ou Svedberg) qui sont formés de deux sous-unités, une grande sous-unité (50 S) et une petite sous-unité (30 S).

Chaque sous-unité comporte des protéines dites protéines ribosomales (ou r-protéines) et des ARNr.

- La SU 30S contient 1 ARNr 16S de 1542 nucléotides et aussi 21 r-protéines différentes en un seul exemplaire (M= 900000 Da)
- La SU 50S contient un ARNr 5S de 120 nucléotides avec 31 r-protéines différentes et un ARNr 23,5S de 2904 nucléotides avec 32 r-protéines différentes (M=1,6 million Da).



**B. LES ARNr et le r-protéines des eucaryotes.**

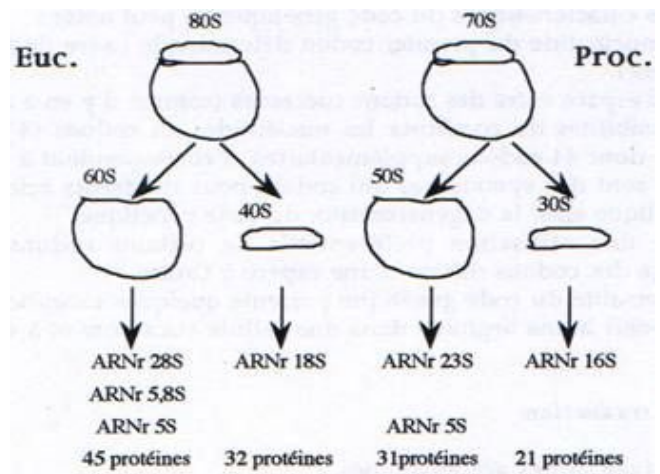
Chez les eucaryotes, les ribosomes sont plus gros (80 S) avec également une structure à deux sous-unités (40 S et 60 S).

- La sous-unité 60 S contient trois ARNr différents (5 S, 5,8 S et 28 S).
- La petite sous-unité 40 S ne contient qu'un seul ARNr (18 S).

Le nombre de protéines ribosomales à l'intérieur de chaque sous-unité est plus important que chez les procaryotes.

**Tab 4 : Composition des ribosomes**

particules	bactéries	mammifères
ribosome	70 S <i>m</i> ~ 2500 kDa % ARN : 66	80 S <i>m</i> ~ 4200 kDa % ARN : 60
sous-unité légère	30 S	40 S
composition	ARNr 16 S (1541 b) protéines* 21	18 S (1874 b) 33
sous-unité lourde	50 S	60 S
composition	ARNr 23 S (2904 b) 5 S (120 b)	28 S (4718 b) 5,8 S (160 b) 5 S (120 b)
protéines*	31-32	49



(S = coefficient de sédimentation en unités Svedberg, m=masse moléculaire en kDa)

**Svedberg: unité de mesure de la vitesse de sédimentation. Le coefficient de sédimentation de la particule dépend non seulement de sa masse mais aussi de sa forme et de sa rigidité**

**III.2.2. LES ARN DE TRANSFERT (ARNt)**

Les ARNt sont les vecteurs qui vont transférer les acides aminés jusqu'à l'usine ribosome où s'effectue la synthèse protéique.

- **Structure des ARNt:** Les ARNt présentent bien entendu la structure générale des ARN. Mais ils possèdent en plus quelques particularités propres. Des bases inhabituelles. Tout d'abord, ils contiennent des nucléotides inhabituels par les bases qu'ils renferment. Ainsi, l'hypoxanthine, dont le nucléotide correspondant est l'IMP

(I = inosine monophosphate), mais aussi la thymine, la dihydrouracil pseudouracil ou des bases méthylées (Fig 24).

- **La structure spatiale des ARNt** : Les chaînes d'ARNt sont constituées d'une centaine environ de nucléotides qui se replient pour donner un aspect général en forme de trèfle (Fig :23).

- **LES SITES IMPORTANTS DANS LES ARNt.**

Plusieurs sites sont importants dans les ARNt.

Tout d'abord:

- **leur extrémité 3'-OH**: l'extrémité de tous les ARNt se termine par les trois nucléotides suivants; -C-C-A-3'-OH. C'est par cette extrémité que sera fixé l'acide aminé qui sera véhiculé par l'ARNt (Fig :24).

- **l'anticodon**: on appelle anticodant un groupe de trois nucléotides (ou triplet) situé sur une boucle du tARN. Ce triplet présente un rôle très important puisqu'il doit s'apparier avec le codon correspondant présent sur l'ARN messenger (Fig :24) .

Cet appariement entre l'anti-codon et le codon se fait par des liaisons hydrogène et suivant les règles de complémentarité. Le codon et l'anti-codon sont disposés de manière antiparallèle.

Pour simplifier nous allons utiliser une représentation encore plus schématisé de l'ARNt (La forme générale est celle d'un U). Etant donné que l'ARNt s'associer aux ARNm d'une façon antiparallèle nous prendrons des maintenant la convention de toujours écrire l'ARNm dans le sens 5'-3' de gauche à droite. Les ARNt sont donc lu dans le sens 5'-3' de droite à gauche.

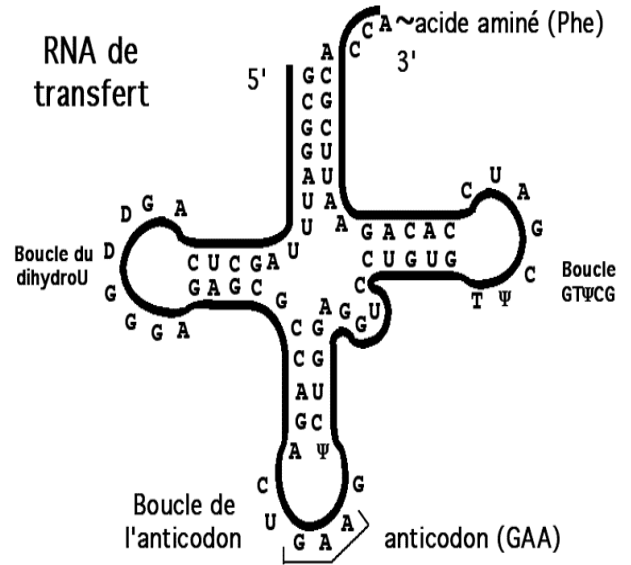
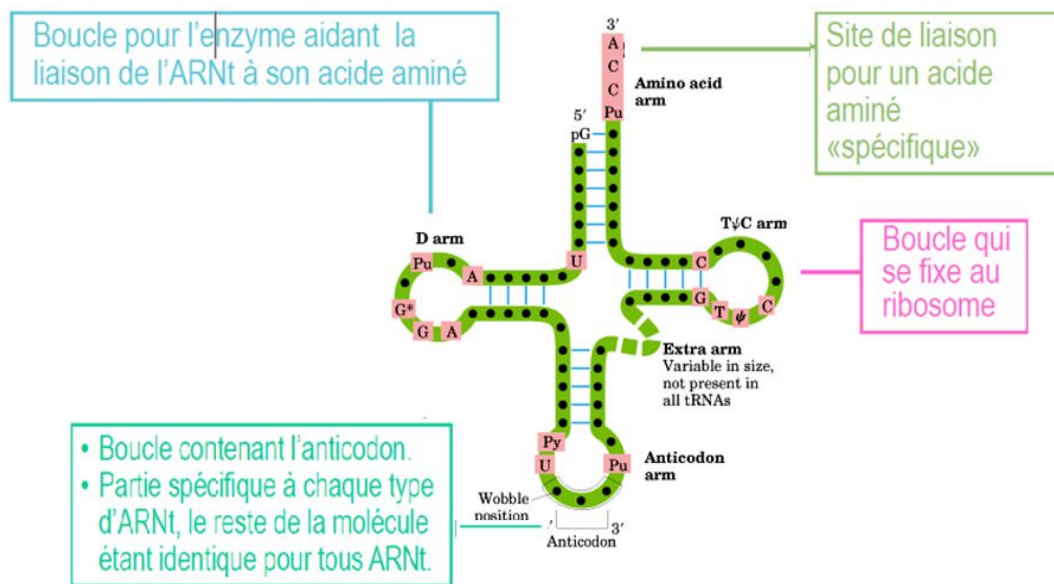


Fig23: Structure secondaire en feuille de trèfle des ARNt



**Fig 24 : les sites importants dans les ARNt**

### III.2.3. LES ARN MESSAGERS (ARNm)

- Les ARN messagers (ou ARNm) constituent le support essentiel de l'information génétique entre l'ADN et le ribosome où s'effectuera la synthèse protéique.
- Leur durée de vie est très courte à la différence des ARNt par exemple. Chez les bactéries, la durée de vie d'un ARNm est de quelques minutes environ. Les ARNm sont très rapidement synthétisés et dégradés.
- Ils sont formés d'une seule chaîne de nucléotides avec les bases communes aux ARN: A, U, C et G.
- Cette chaîne comporte une succession de triplets nucléotidiques.
- Chaque triplet nucléotidique constitue un codon spécifique d'un acide aminé donné.

### III.2.4. LES PETITS ARN NUCLEAIRES

Les petits ARN nucléaires, **small nuclear ARN**, (ou snRNA) sont présents dans le noyau des cellules et sont impliqués dans certaines étapes de la régulation post-transcriptionnelle (épissage alternatif). Ne sont jamais à l'état libre; ils sont liés aux complexes protéiques stables.

De nouvelles classes de petits ARNs :

- **snoARN (small nucleolar ARN)**= sont présent dans le nucléole de la cellule ; maturation des ARNr
- **miARN (micro ARN)**= régulation de l'expression génétique.
- **siARN (small interferant ARN)** = régulation de l'expression génétique.

## QCM ET EXERCICES

### QCM 1-Le génome est :

- a- Chez tous les organismes, composé d'ADN.
- b- L'ensemble des gènes de chaque cellule d'eucaryotes ou de procaryotes.
- c- Dans les cellules eucaryotes, localisé uniquement dans le noyau.
- d- Chez les bactéries, porté par le chromosome bactérien.
- e- De taille différente dans chaque espèce

### QCM 2-La molécule d'ADN :

- a- Est composée de bases azotées, de riboses et de phosphates.
- b- Contient des bases azotées pyrimidiques et puriques.
- c- Contient autant de bases azotées pyrimidiques que puriques.

### QCM 3-Concernant la double hélice d'ADN :

- a- C'est un enroulement de deux brins d'ADN parallèles.
- b- Chacun de ses brins a une extrémité 5'hydroxyle et une extrémité 3'phosphate.
- c- Chaque brin est constitué d'une séquence de bases azotées différente.
- d- L'appariement de ses brins est stabilisé par des liaisons covalentes.
- e- In vitro les deux brins peuvent se séparer par chauffage.

### QCM 4-Un gène :

- a- Est une unité d'information héréditaire.
- b- Est une unité de fonction gouvernant la réalisation d'un caractère d'un individu.
- c- Code toujours une protéine.
- d- Occupe une position précise sur le chromosome.
- e- Contient un seul site mutable.

### QCM 5-Le caryotype humain comprend :

- a- 46 chromosomes
- b- 48 chromosomes
- c- 45 chromosomes plus une paire de chromosome sexuel.
- d- 23 paires d'autosomes plus une paire de chromosome sexuel.
- e- 12 paires de chromosomes.

### QCM 6-Les membres d'une paire chromosomique sont :

- a- Des chromosomes homologues.
- b- Des chromosomes sexuels.
- c- Hérite tous les deux de la mère.
- d- Hérite tous les deux du père.
- e- Porteurs d'une information génétique homologue.

**QCM7- Cocher la (les) proposition(s) exacte(s) :**

- A- La double hélice d'ADN fait un tour complet toutes les 10 paires de désoxy nucléotides.
- B- Soit la séquence nucléotidique 5' CTGGAC 3' sur l'un des deux brins de la double hélice d'ADN ; la séquence complémentaire de l'autre brin est : 5' GACCTG 3'.
- C- La dénaturation thermique de l'ADN sépare les deux brins de la double hélice.
- D- Le chauffage d'une solution diluée d'ADN conduit à une augmentation de densité optique à 260 nm.
- E- Si le Tm de l'ADN d'une espèce A est inférieur à celui d'une espèce B c'est que l'ADN de l'espèce A contient une plus grande proportion de paires A-T que l'espèce B.

**QCM8- Parmi les paramètres suivants s'appliquant à l'acide désoxyribonucléique, quels sont ceux qui sont identiques chez tous les organismes cellulaires et quels sont ceux qui varient selon les espèces ?**

- A- Rapport A/T
- B- Rapport  $\frac{A + T}{G + C}$
- C- Rapport  $\frac{A + G}{T + C}$
- D- Pourcentage de paires G – C
- E- Nombre de paires de bases par tour de spire.
- F- Température de fusion.

**QCM9- Les affirmations suivantes concernant la structure des nucléosides, sont-elles justes ?**

- A- Un nucléoside peut être une purine liée à un pentose.
- B- Un nucléoside peut être une pyrimidine reliée par un azote à un désoxyribose.
- C- L'adénine liée à un désoxyribose forme l'adénosine.
- D- La thymine liée à un désoxyribose forme la désoxythymidine.
- E- L'uracile liée à un ribose forme l'uridine.

**QCM10- Les affirmations suivantes concernant la structure des nucléotides, sont-elles justes ?**

- A- Un nucléotide est formé de deux nucléosides.
- B- Un nucléotide est le phosphoester d'un nucléoside.
- C- Un nucléotide peut porter plusieurs phosphates.
- D- L'ATP est un nucléotide.
- E- Un nucléotide absorbe en ultra-violet à 260 nm.

**QCM1.: Cocher la (les) proposition(s) exacte(s) :**

- A- Un nucléotide comprend une base purique ou pyrimidique, un pentose et un ou plusieurs groupements phosphate.
- B- L'association ribose-base constitue un nucléoside.

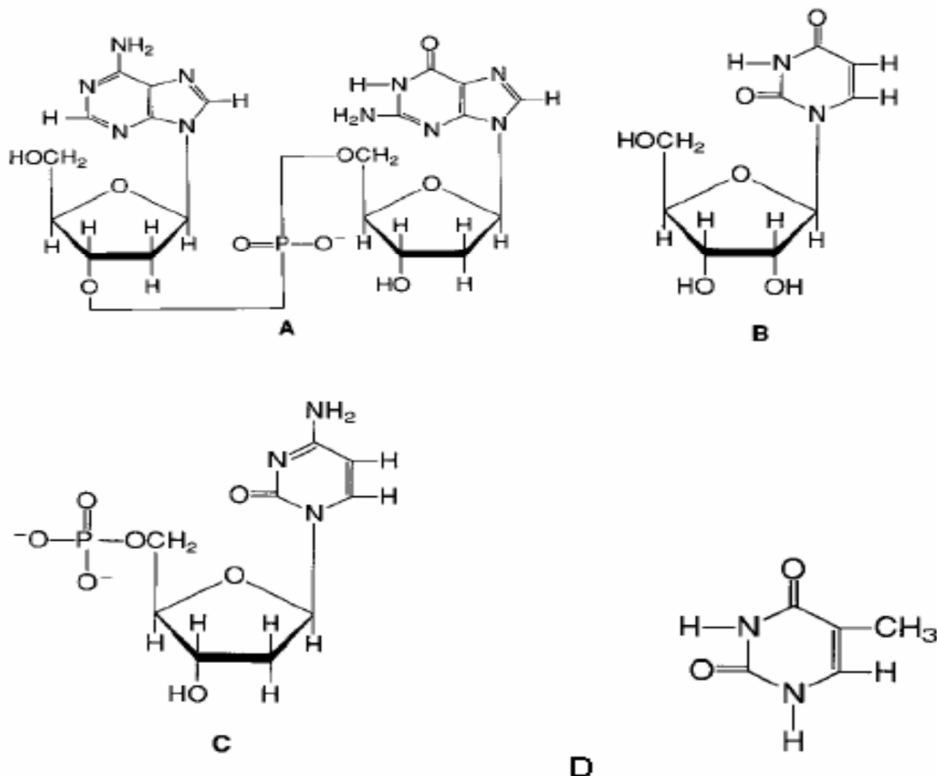
C- Le pentose des désoxyribonucléotides ne porte pas de fonction hydroxyle sur le carbone 3'.

D- Dans la chaîne polynucléotidique les nucléotides sont liés les uns aux autres par des liaisons covalentes phosphodiesteres entre les positions 5' et 3' des pentoses.

E- Le maximum d'absorption des bases puriques et pyrimidiques est proche de 260 nm.

**Exercice 1**

1) Identifier les bases présentes dans les structures suivantes :



2) Parmi ces bases, lesquelles :

- a) contiennent du ribose.
- b) contiennent du désoxyribose.
- c) contiennent une purine.
- d) contiennent une pyrimidine
- e) contiennent de la guanine.
- f) sont des nucléosides.
- g) sont des nucléotides.
- h) se trouvent dans l'ARN.
- i) se trouvent dans l'ADN.

3) indiquer les extrémités 5' et 3' de la molécule A

**Exercice 2**

La séquence 5'ATCGTTCG3' se rapporte à l'un des brins de l'ADN bicaténaire A.

- 1- A quoi correspondent les valeurs et symboles 5' et 3' et quelle est leur signification ?
- 2- Parmi les poly-nucléotides (A), (B) et (C) ; déterminer celui qui correspond au brin de l'ADN A, justifier votre réponse.

A= 5'TAGCAAGC3'

B= 5'CGAACGAT3'

C= 3'CGAACGAT5'

**Exercice 3**

Ecrire les formules développées :

Des bases azotées suivantes A, T, C et U.

Des nucléosides suivants Guanosine, désoxythymidine

Représenter une liaison phosphodiester

**Exercice 4**

Ecrivez la formule d'un nucléotide thymidylique au sein de l'ADN est représentez les liaisons qui l'unissent aux nucléotides voisins

**Exercice 5**

Quelle est la séquence complémentaire d'ADN et d'ARN transcrit dans le sens 5'→ 3' de :

a-GATCAA

c-ACGCGT

b-TCGAAC

d-TACCAT

**Exercice 6**

Une molécule d'ADN est représentée ci-dessous :

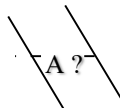
5'AAATGCCC ATGGCC3'

3'TTT ACGGGTACCGG5'

- 1-Vérifier si les règles de CHARGAFF s'appliquent à cet ADN.
- 2-Si une molécule d'ADN contient 10% d'adénine, quels seront les différents pourcentages des trois autres bases de cet ADN ?
- 3-Si cet ADN subit une dénaturation ménagée, quels sont les sites où l'on observera la séparation des deux brins et pourquoi ?
- 4-calculer la Tm de cet ADN.

**Exercice 7**

Soit le schéma ci-dessous :



Indiquer sur ce schéma quelle base s'apparie à l'adénine :

- 1-Dans le cas d'une molécule de DNA ?
- 2- Dans le cas d'une molécule de RNA ?

**Exercice 8**

Quelle sera la séquence nucléotidique des anticodants d'un ARNt qui reconnaît les 3 codants :

a-5'GGU 3'

c-5'GGA 3'

b-5'GGC 3'

**Exercice 9**

Un ADN monocaténaire (brin+) présente la composition molaire en base suivante :

G= 24%, C= 18%, A=25% et T=33%

-En présence d'ADN polymérase, le brin complémentaire (brin-) est formé. Quelle est la composition en base du brin néoformé ?

-L'ARN polymérase ne transcrit que le brin-, quelle sera la composition du brin d'ARN néoformé ?