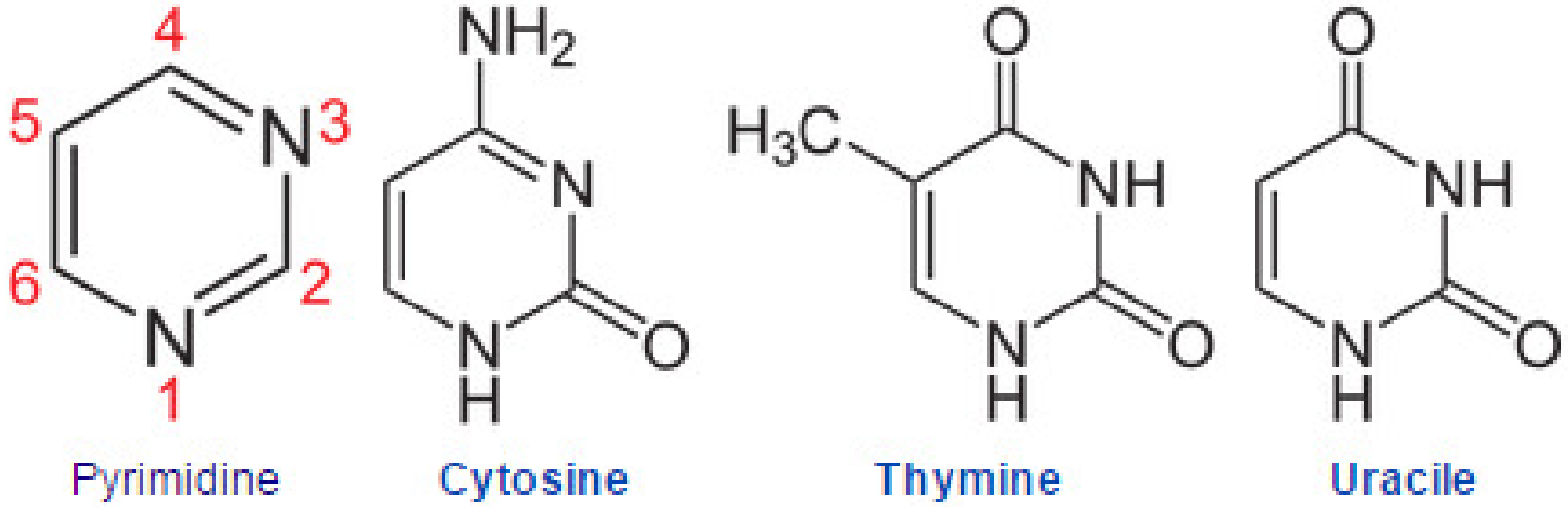
Les acides nucléiques

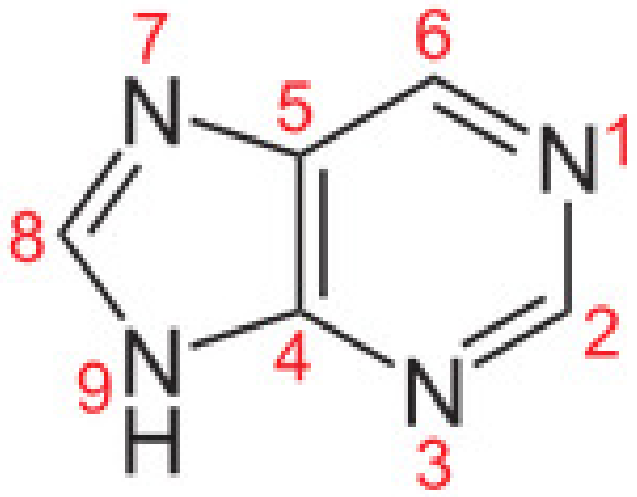
Les bases pyrimidiques



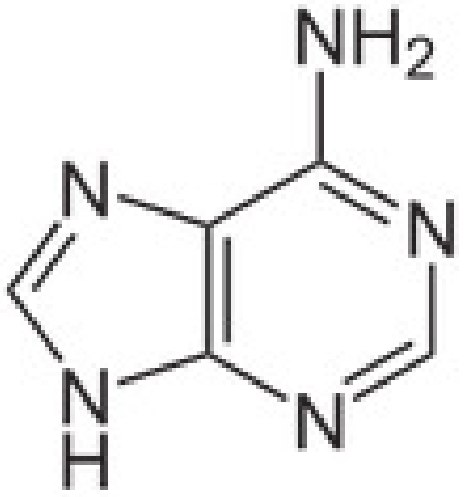
(Formes tautomères C=O)

Au ph physiologiques la forme C=O l'emporte sur la forme C-OH

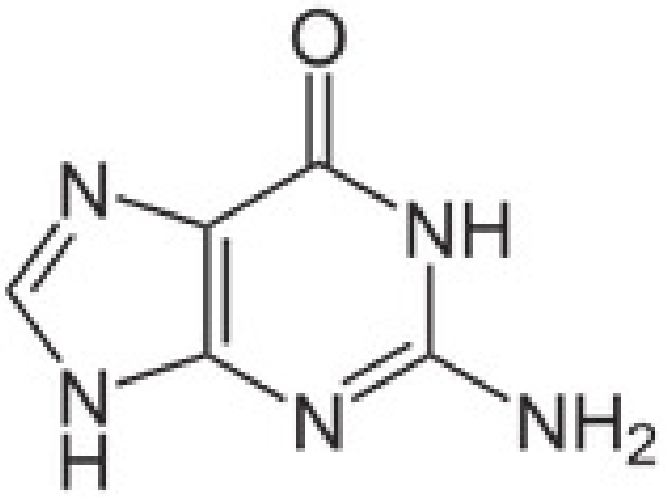
Les bases puriques



Purine



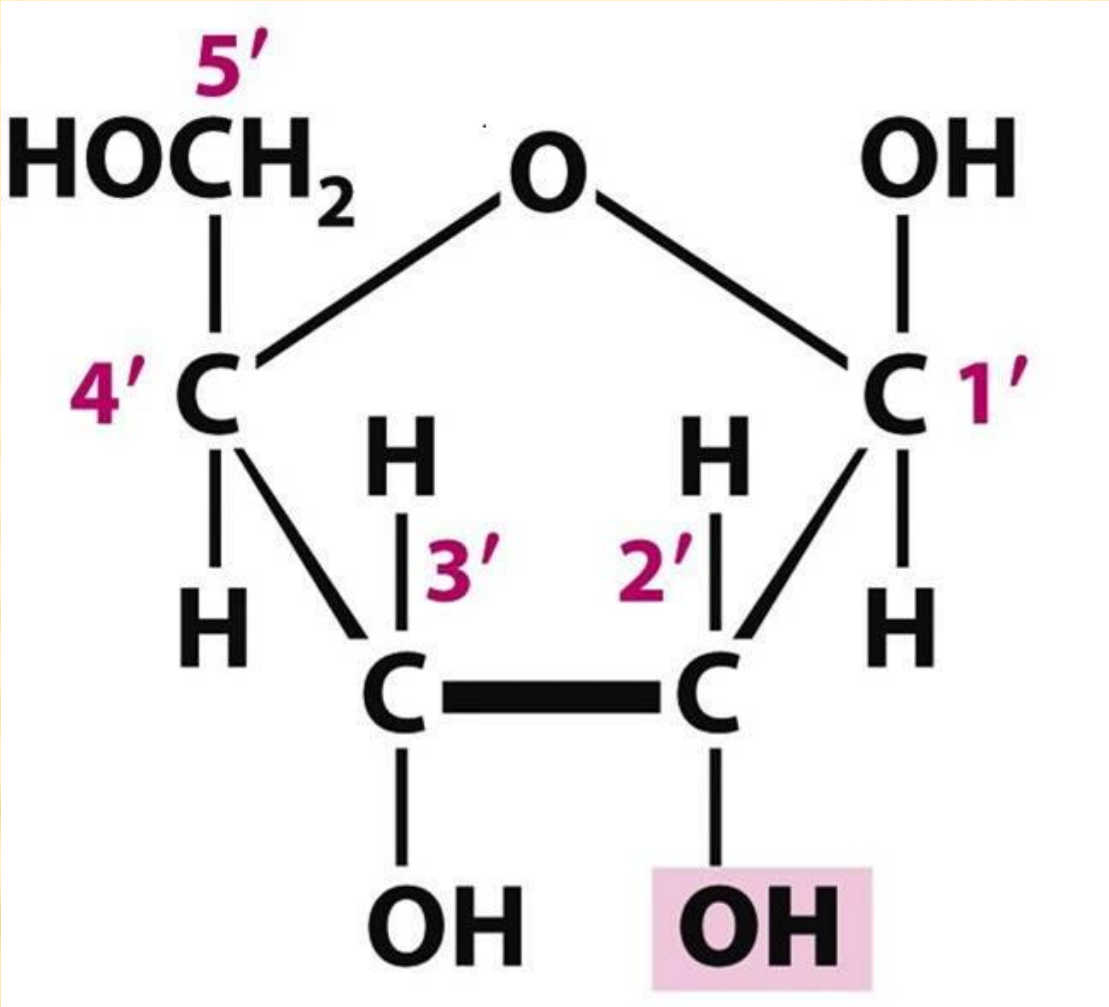
Adénine



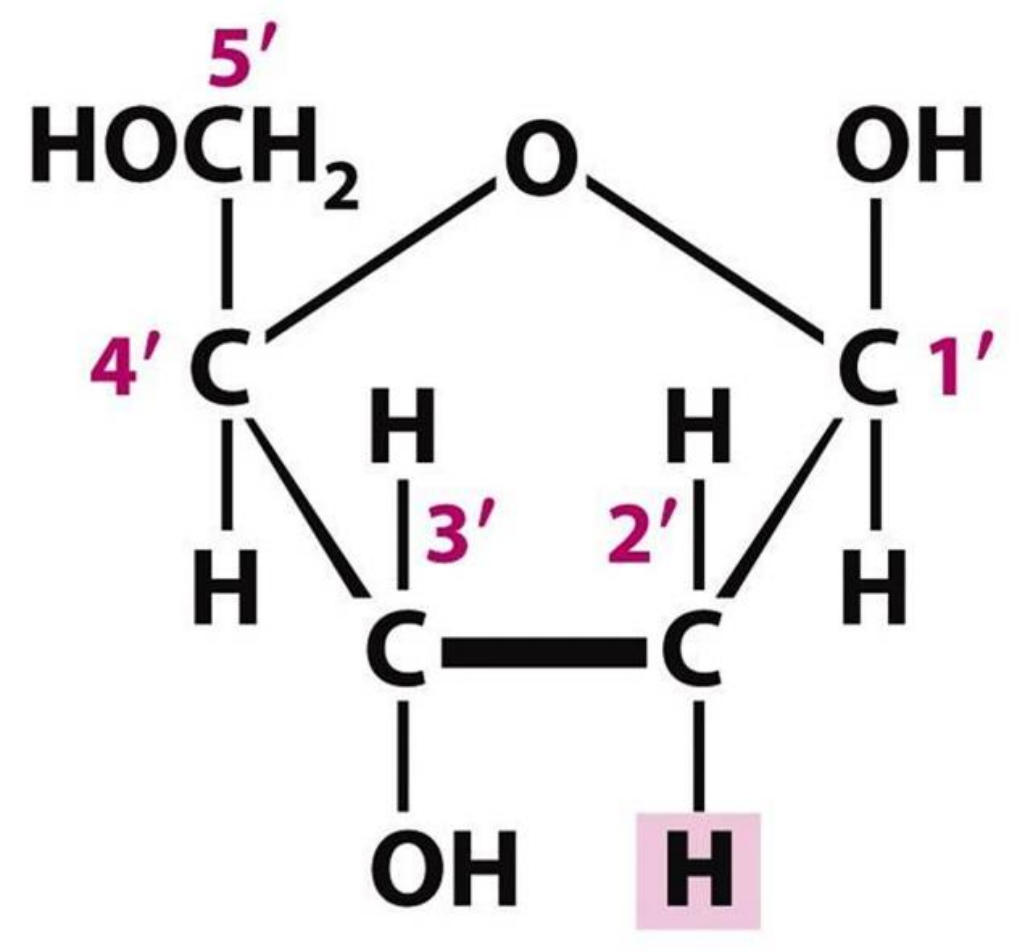
Guanine

(Formes tautomères C=O)

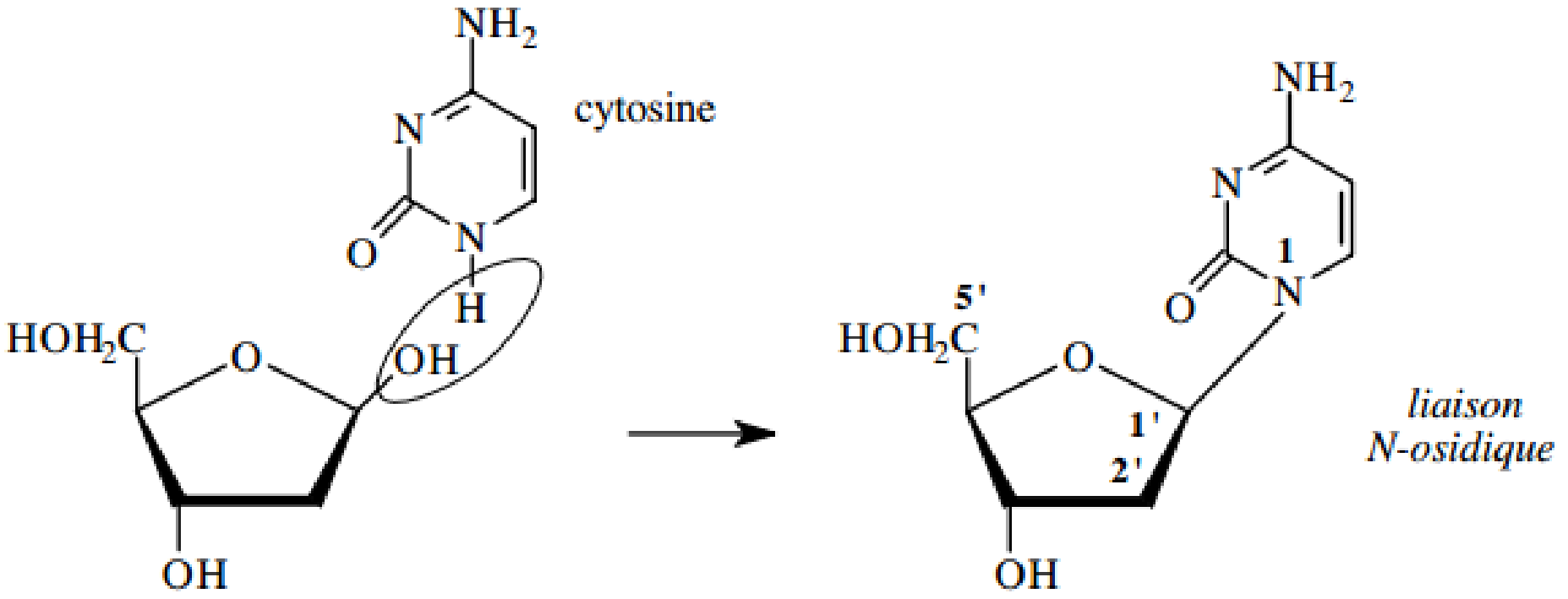
Au ph physiologiques la forme C=O l'emporte sur la forme C-OH



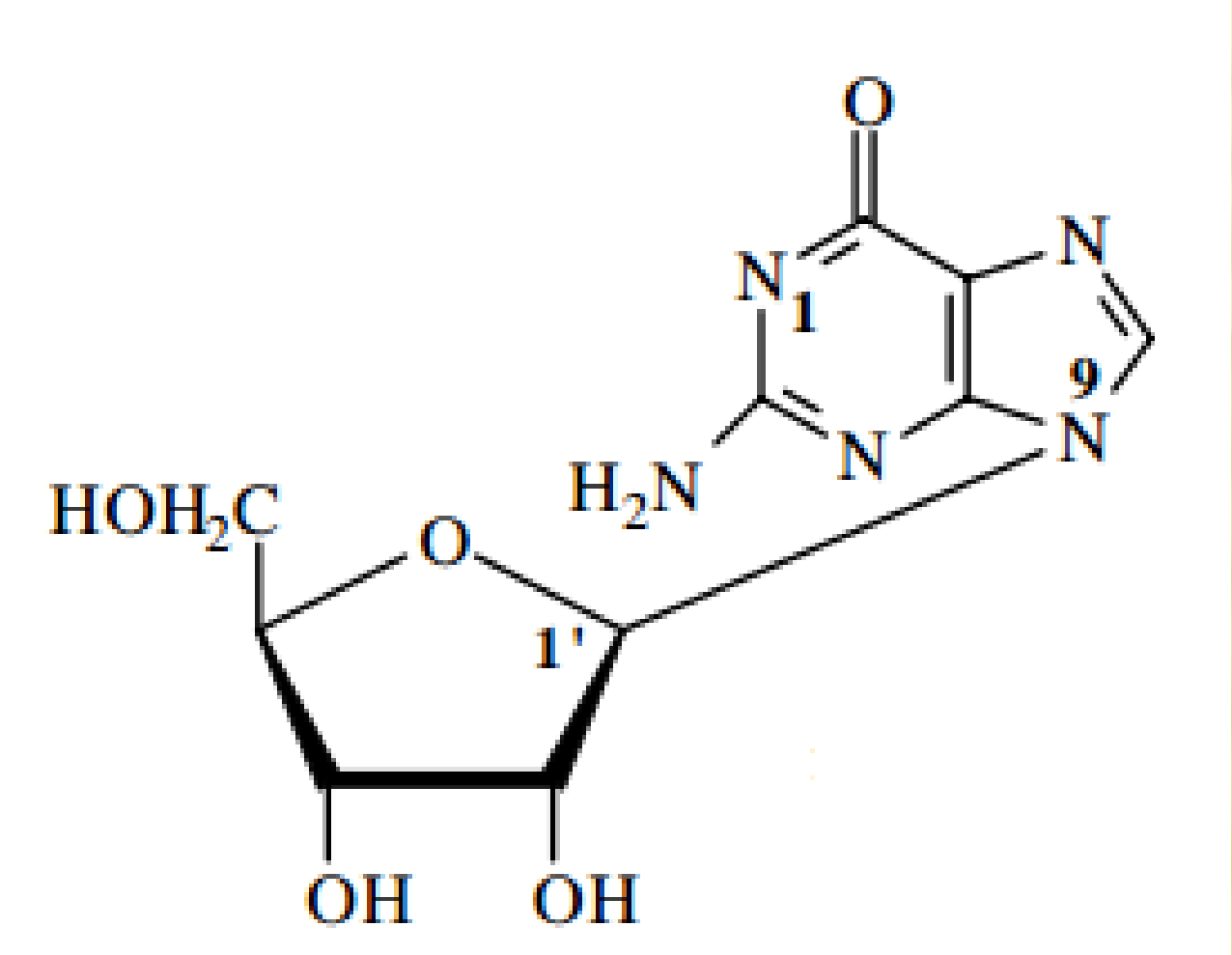
Le D-ribose C5H10O5



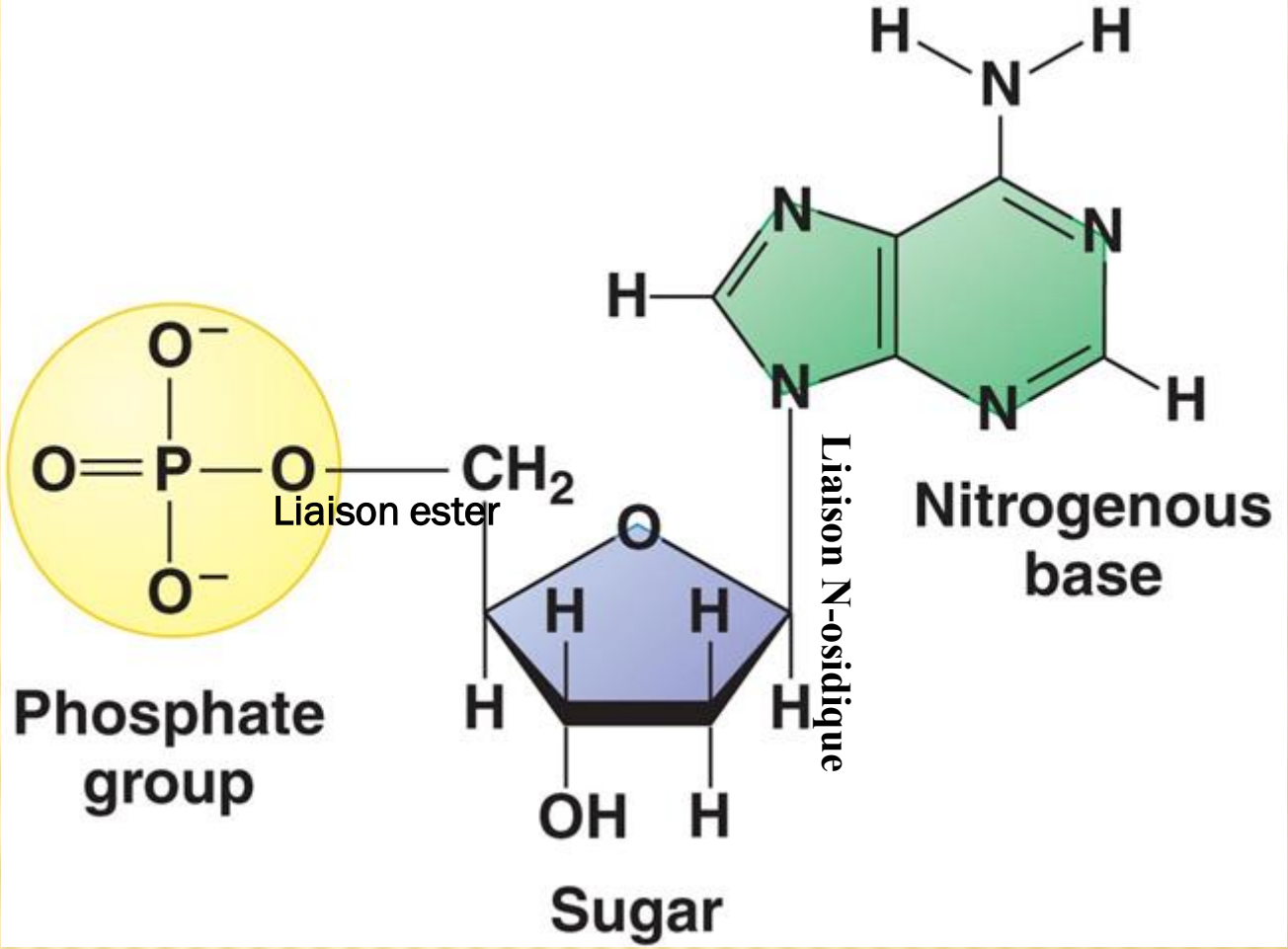
Le 2’-désoxy-D-ribose



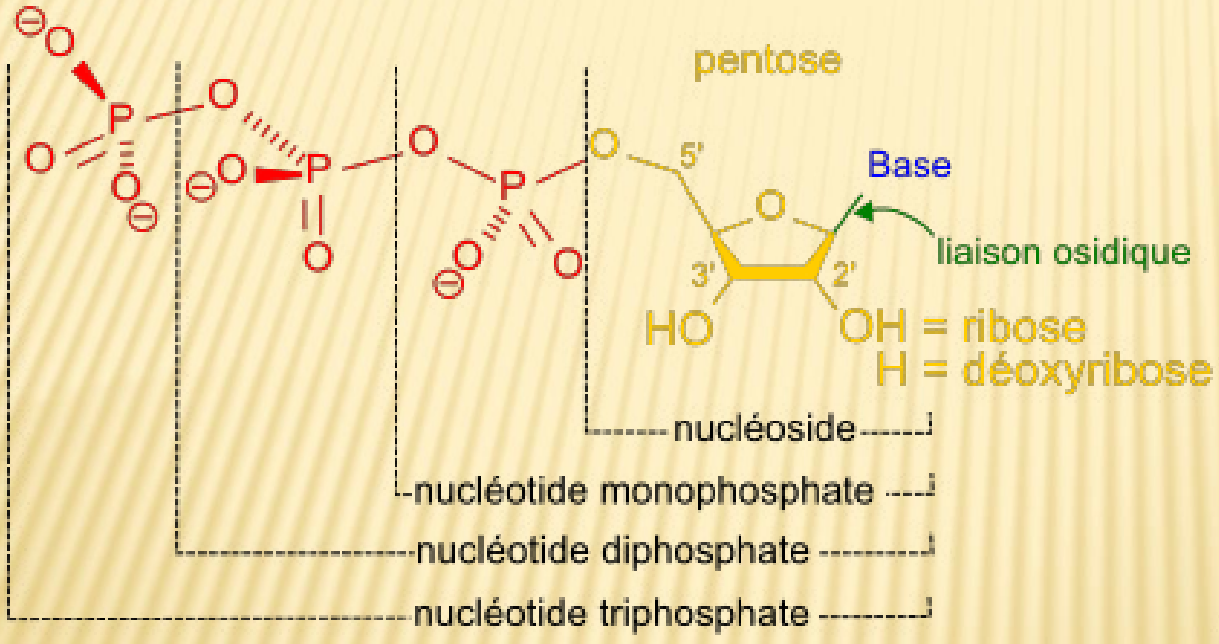
La liaison ose-base pyrimidique (nucléoside)



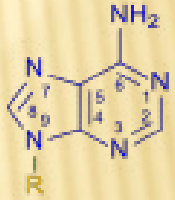
La liaison ose-base purique(nucléoside)



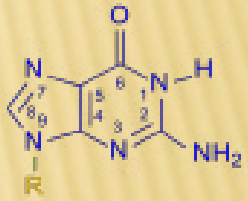
Le nucléotide



Purines

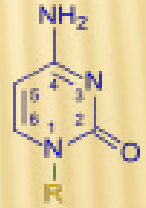


Adénine

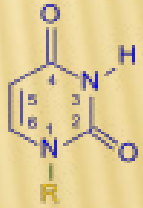


Guanine

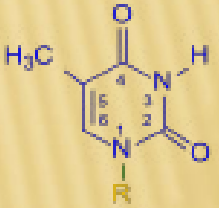
Pyrimidines



Cytosine



Uracile



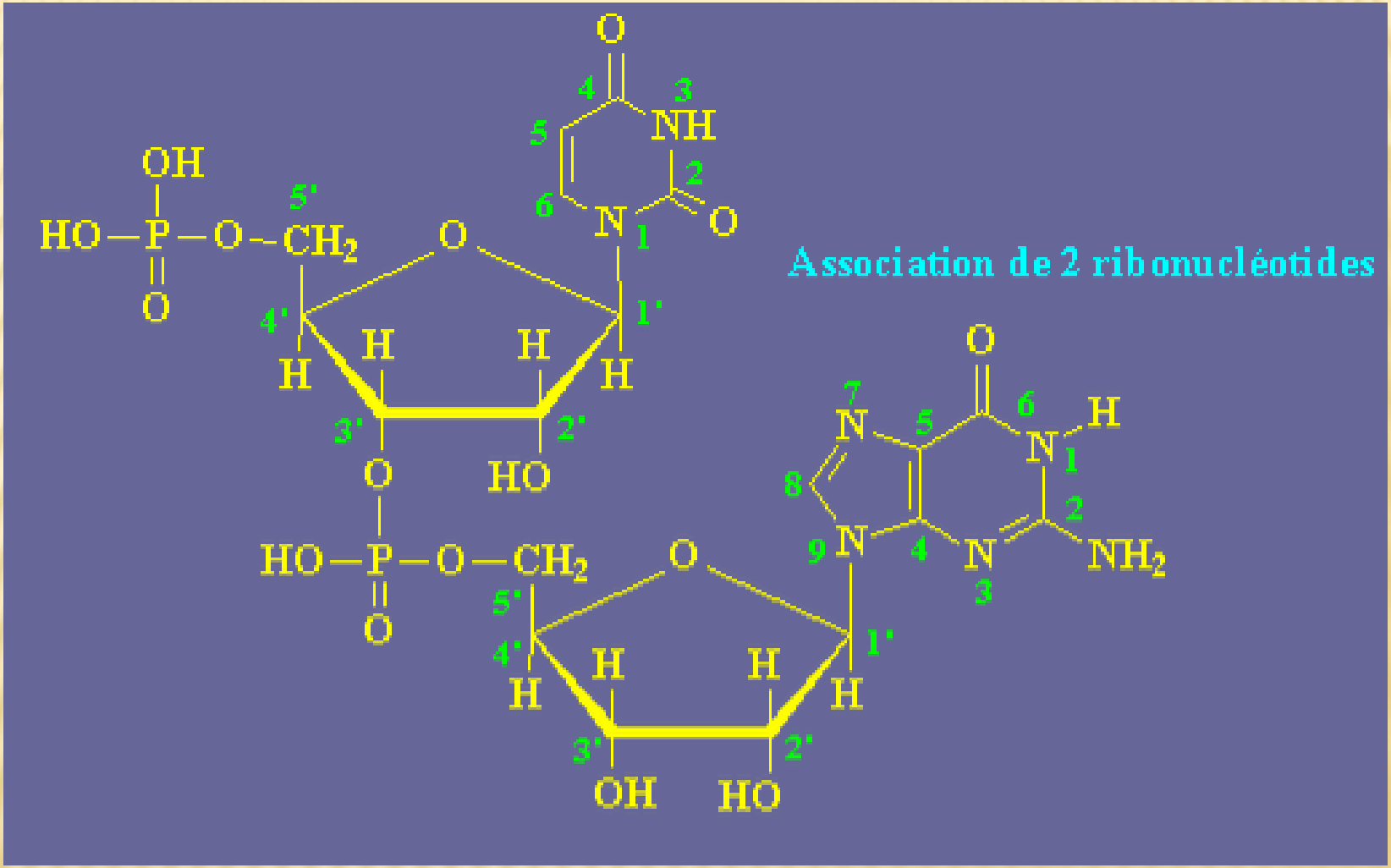
Thymine

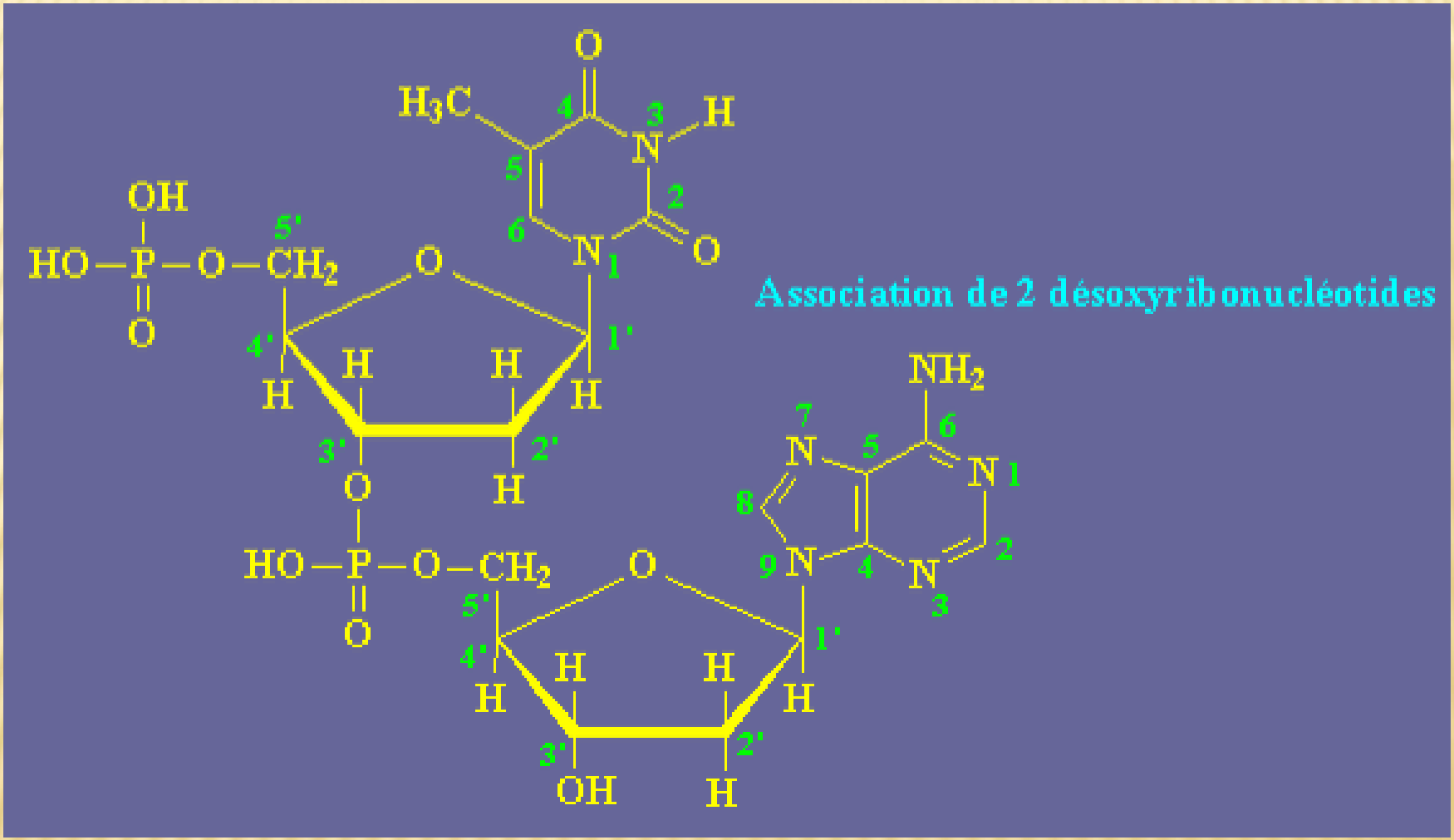
Nomenclature des nucléosides

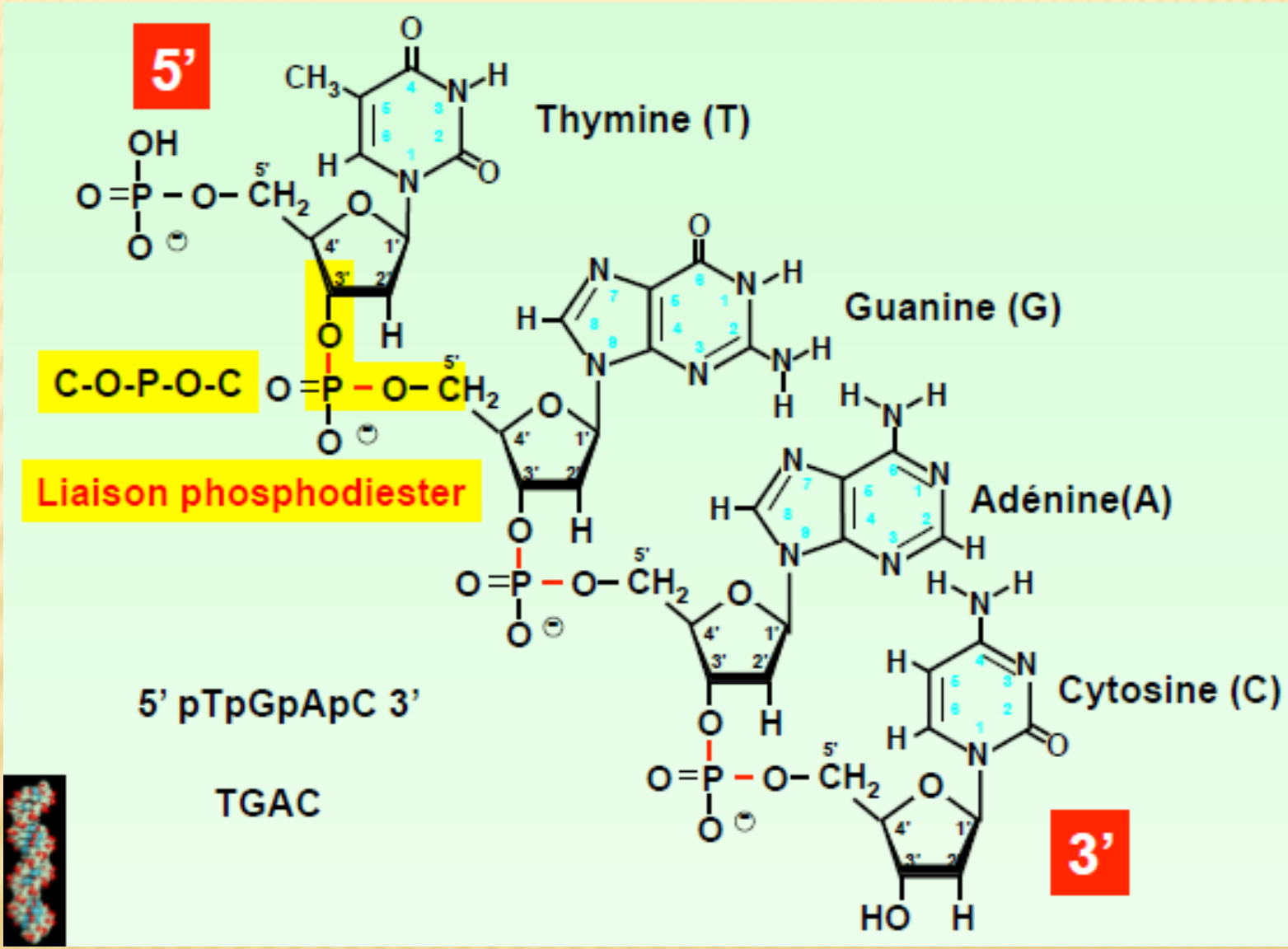
Base	Ribonucléoside	Désoxyribonucléoside
Adénine	Adénosine	Désoxyadénosine
Guanine	Guanosine	Désoxyguanosine
Uracile	Uridine	Désoxyuridine
Cytosine	Cytidine	Désoxycytidine
Thymine	Thymine ribonucléoside (rare)	Désoxythymidine

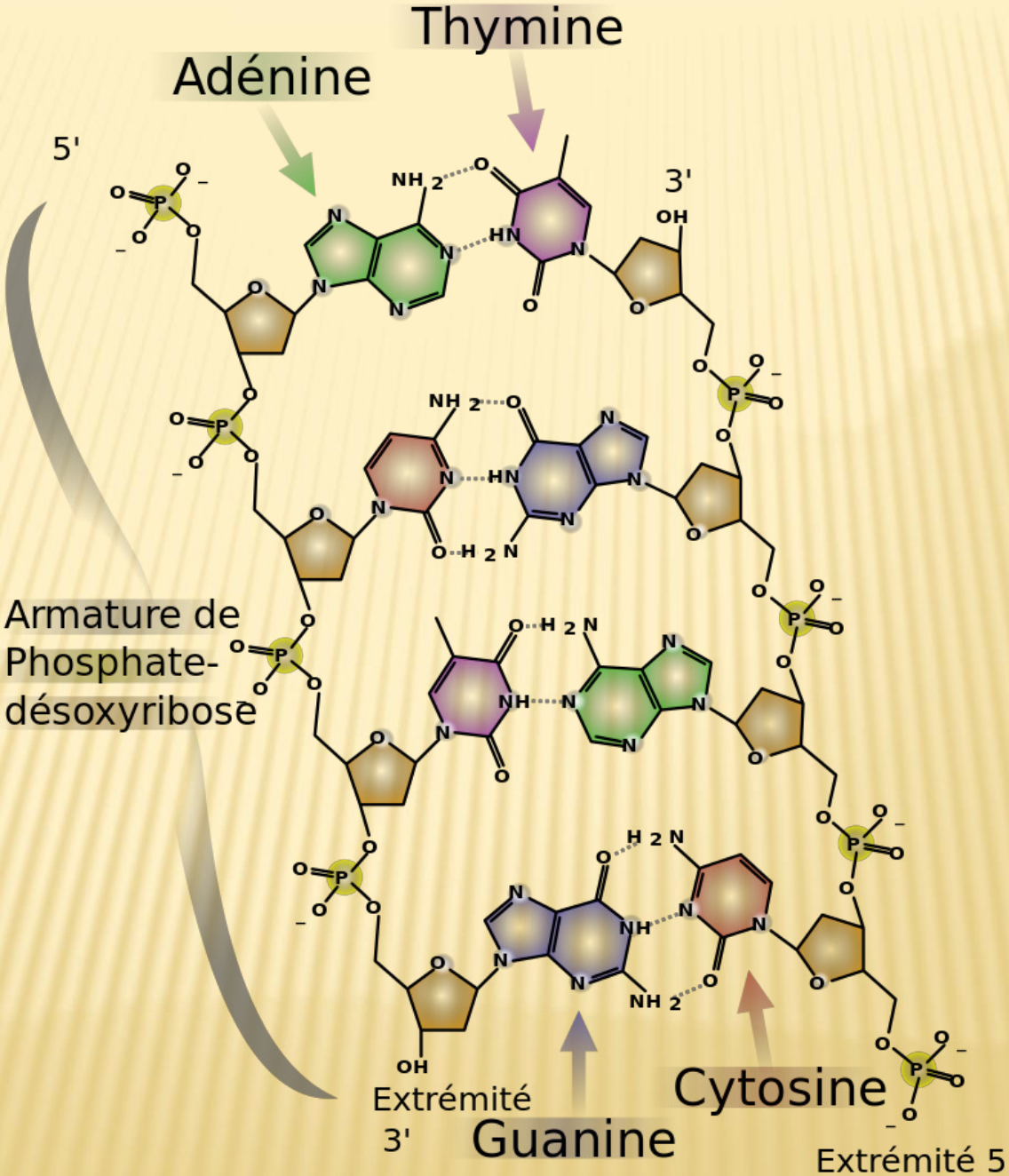
Nomenclature des nucléotides

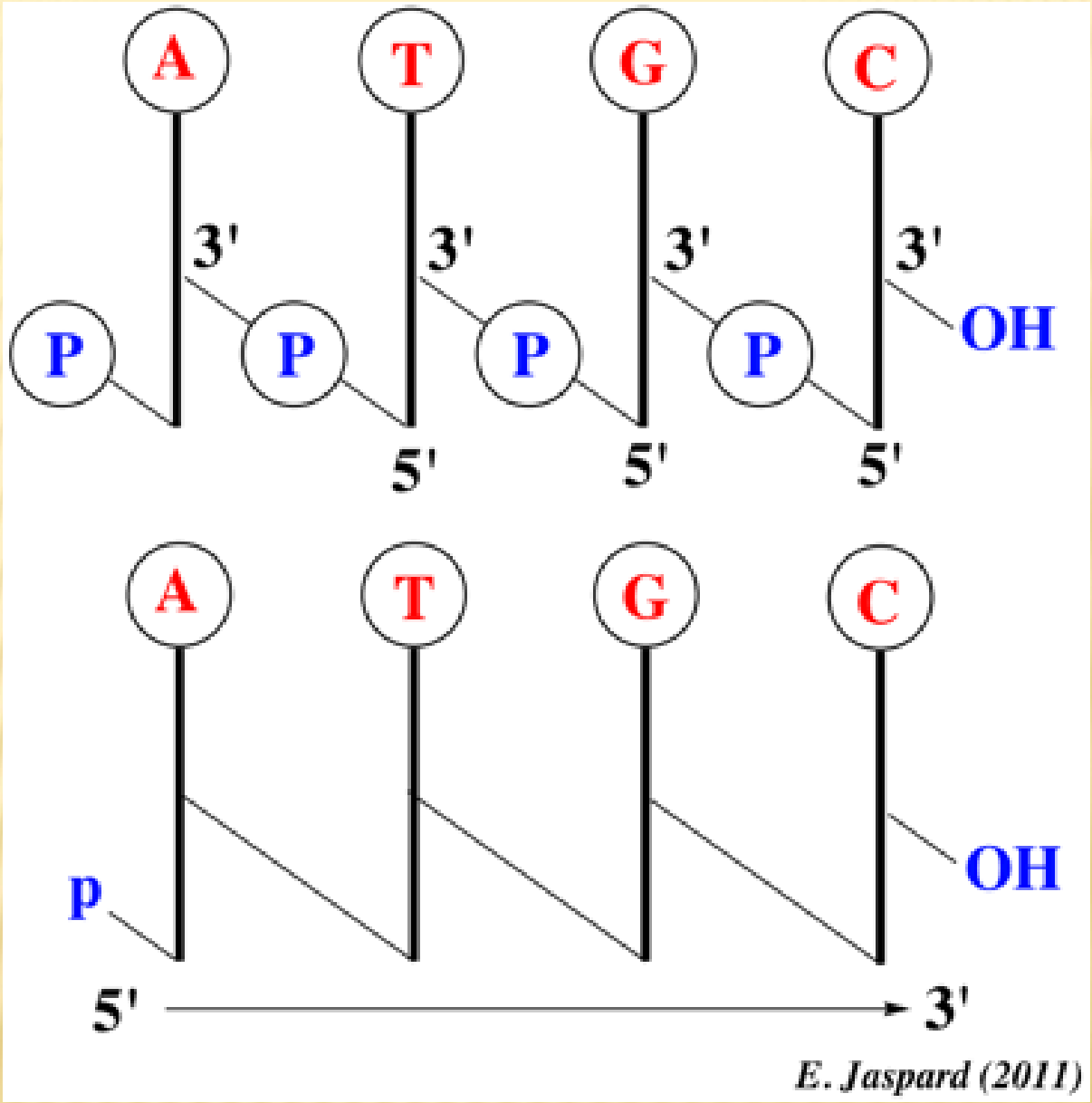
Base	Ribonucléoside-5'-monophosphate	Désoxyribonucléoside-5'-mnophosphate
Adénine	Adénosine-5'-monophosphate = AMP	Désoxyadénosine-5'-monophosphate = dAMP
Guanine	Guanosine-5'-monophosphate = GMP	Désoxyguanosine-5'-monophosphate = dGMP
Uracile	Uridine-5'-monophosphate = UMP	Désoxyuridine-5'-monophosphate = dUMP
Cytosine	Cytidine-5'-monophosphate = CMP	Désoxycytidine-5'-monophosphate = dCMP
Thymine	Thymine riboside-5'-monophosphate (rare)	Désoxythymidine-5'-monophosphate = dTMP

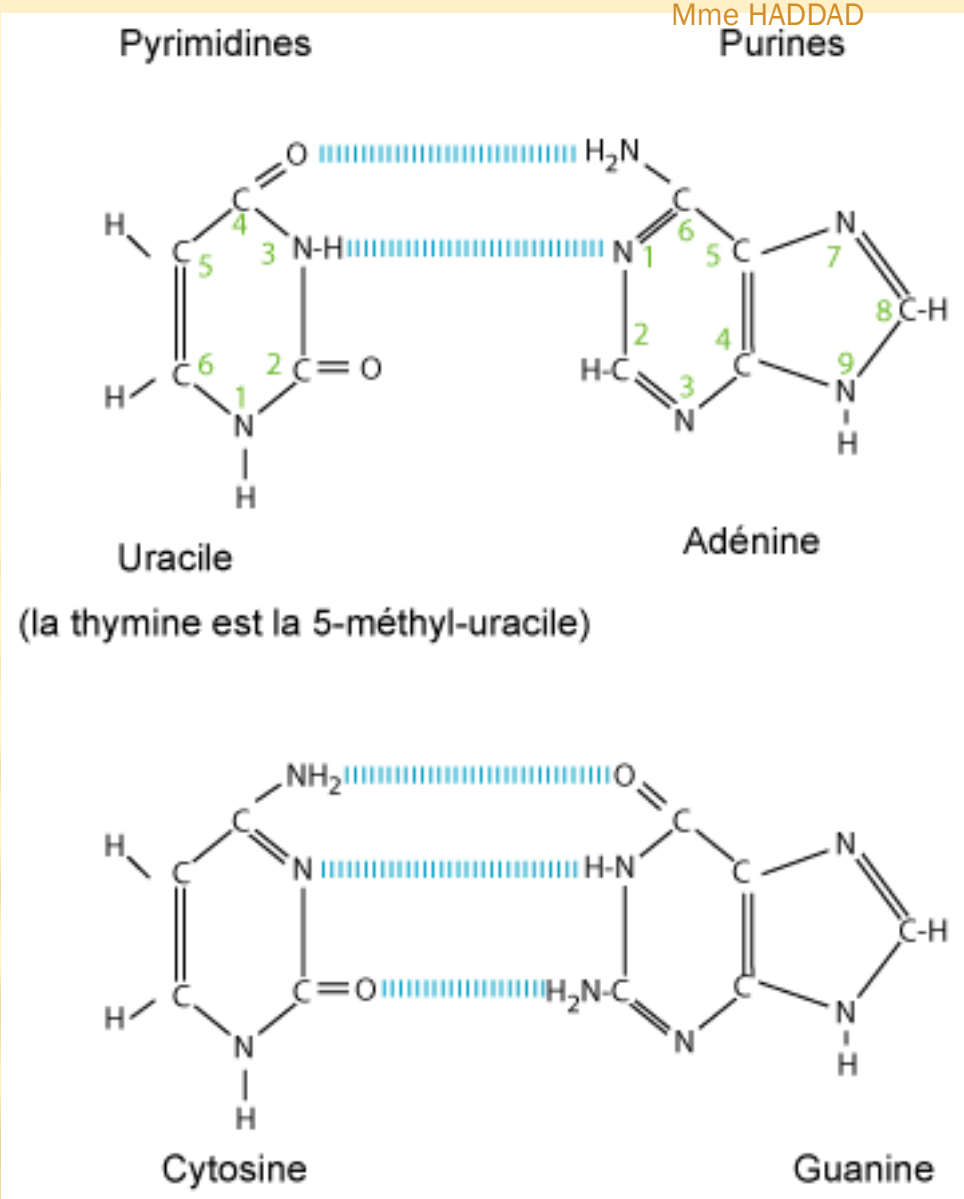

Association de 2 ribonucléotides


Association de 2 désoxyribonucléotides

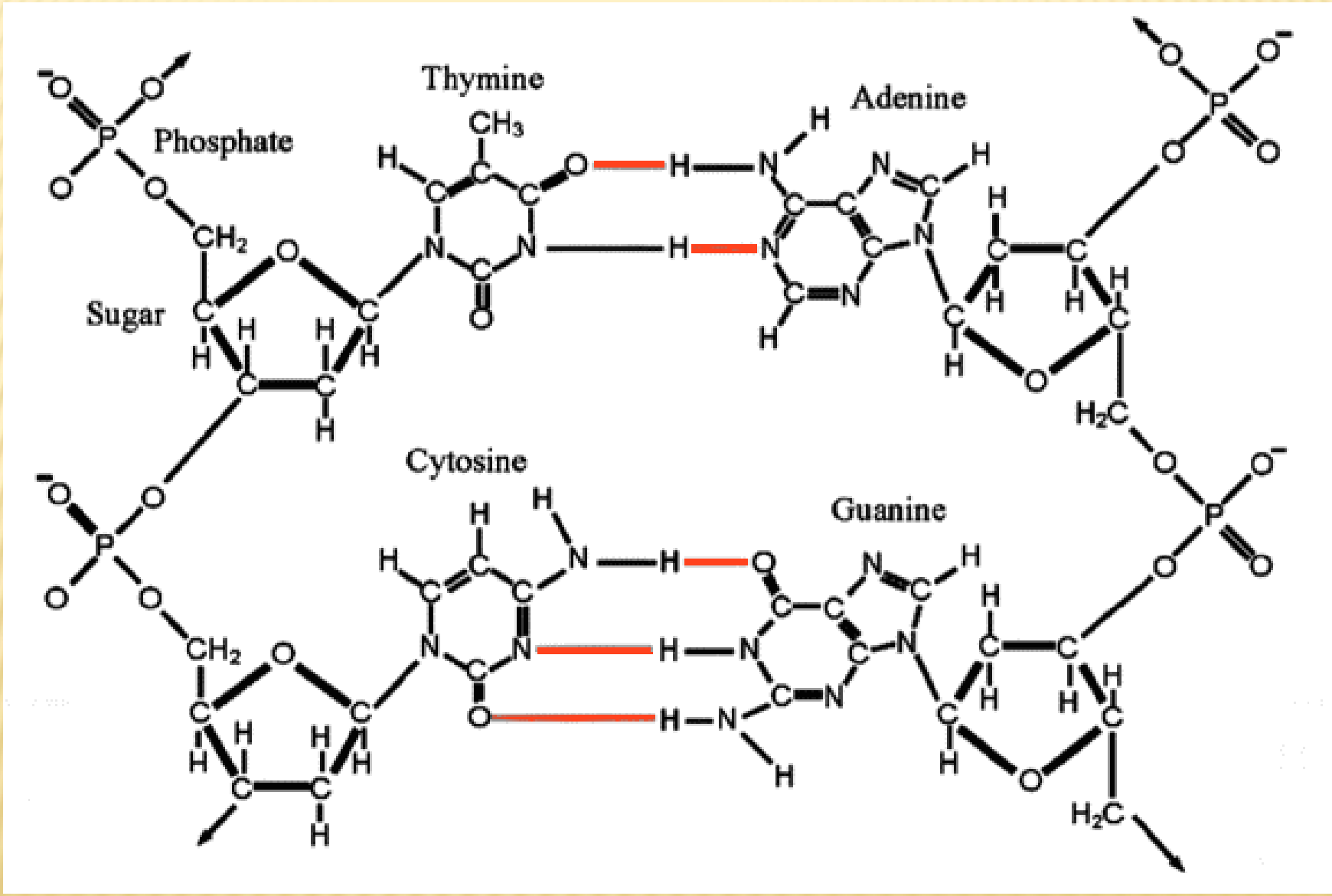

5’
Thymine (T)
Guanine (G)
C-O-P-O-C
Liaison phosphodiester
Adénine(A)
Cytosine (C)
5’ pTpGpApC 3’
TGAC
3’


Thymine
Adénine
5'
3'
Armature de
Phosphate-
désoxyribose
Extrémité
3'
Guanine
Cytosine
Extrémité 5

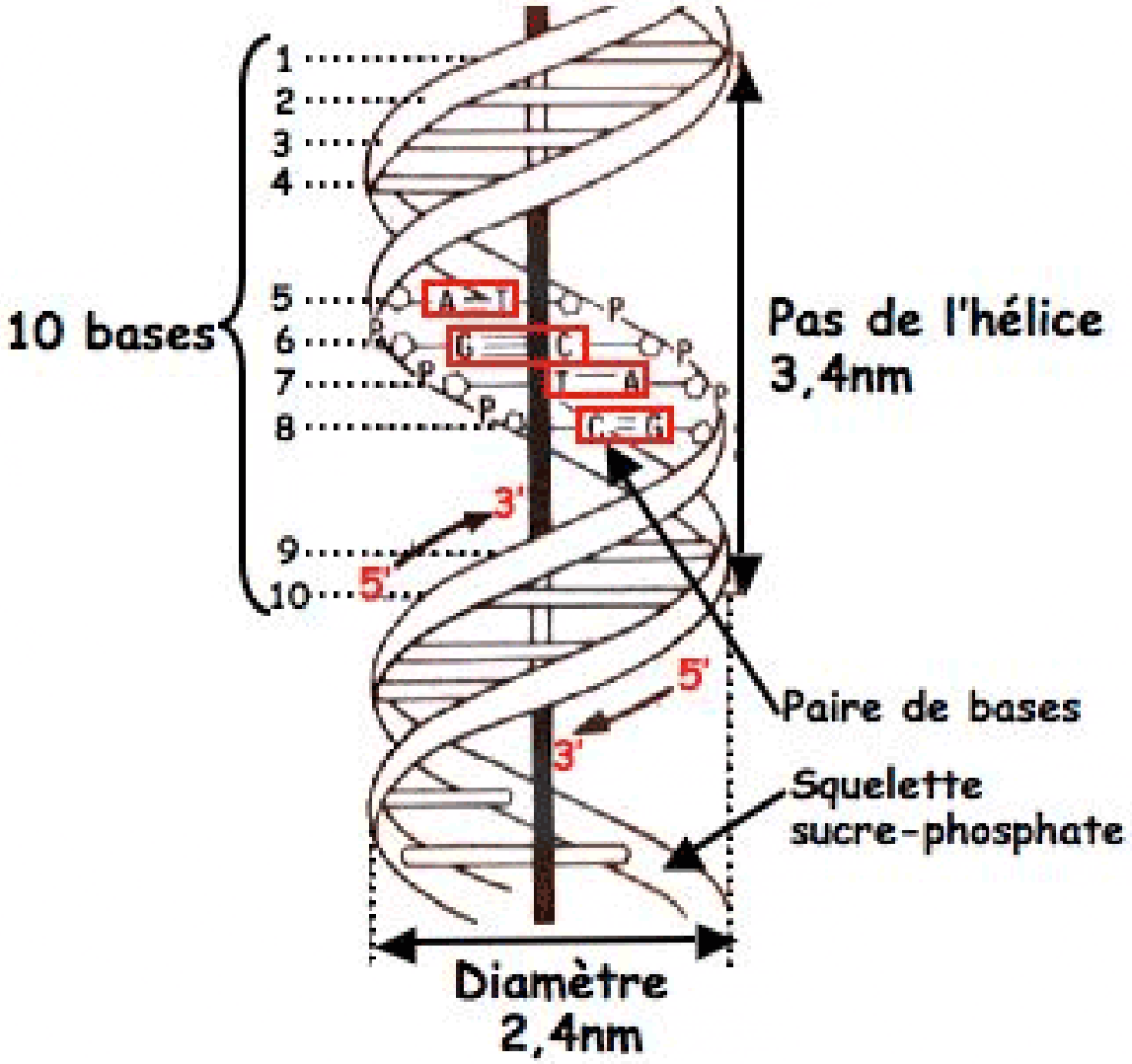

A
T
G
C
3'
3'
3'
3'
P
P
P
P
OH
5'
5'
5'
A
T
G
C
p
OH
5'
3'
E. Jaspard (2011)

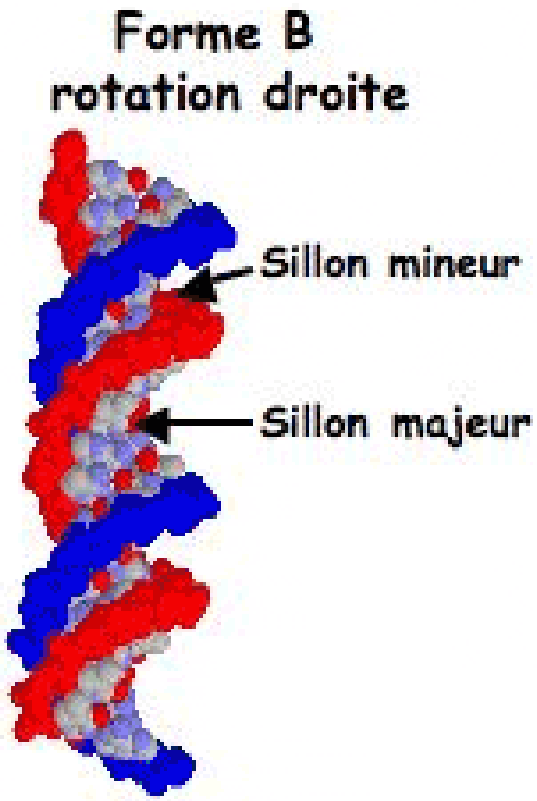


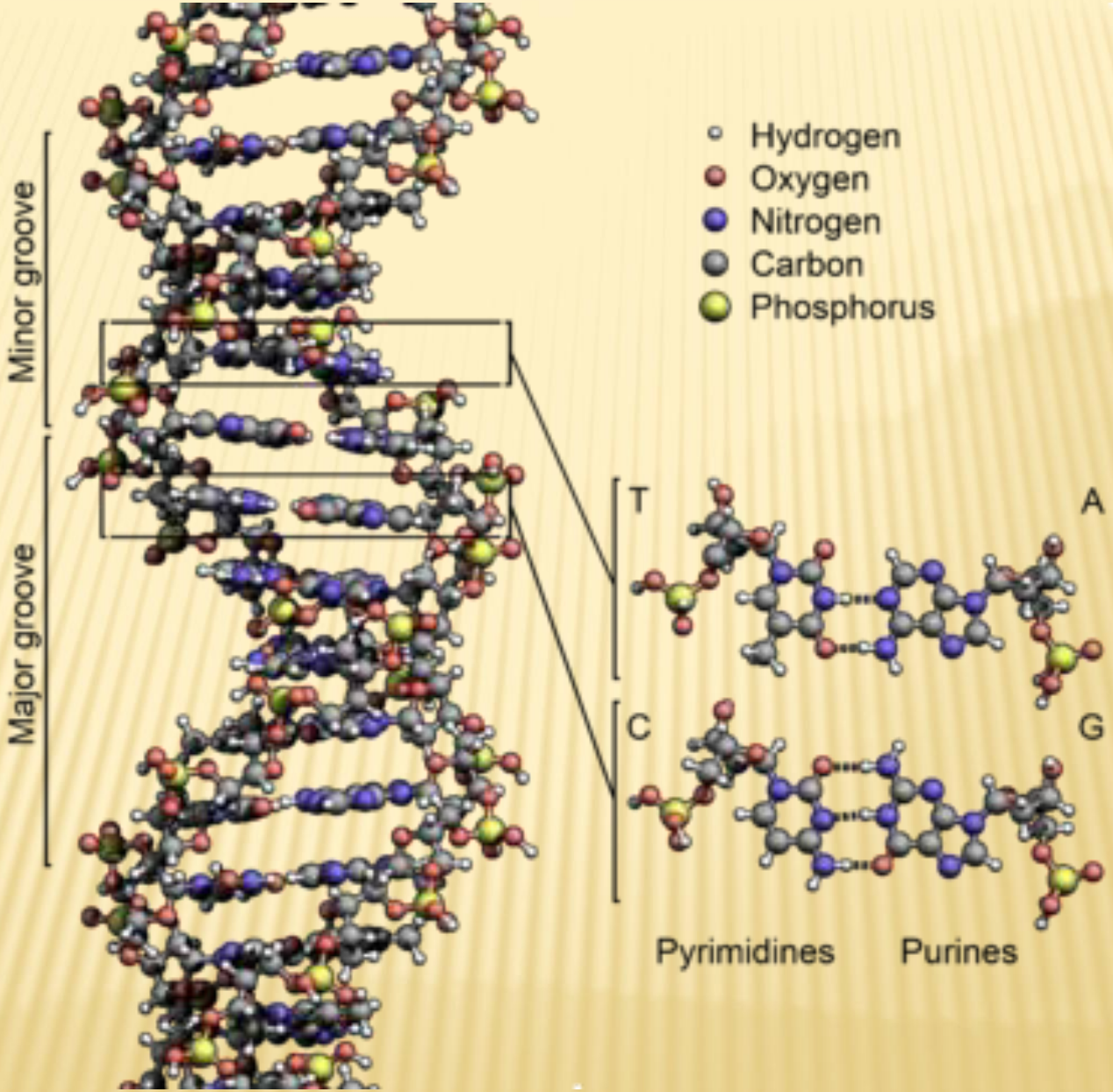
Liaisons hydrogènes entre les deux chaînes de l'ADN

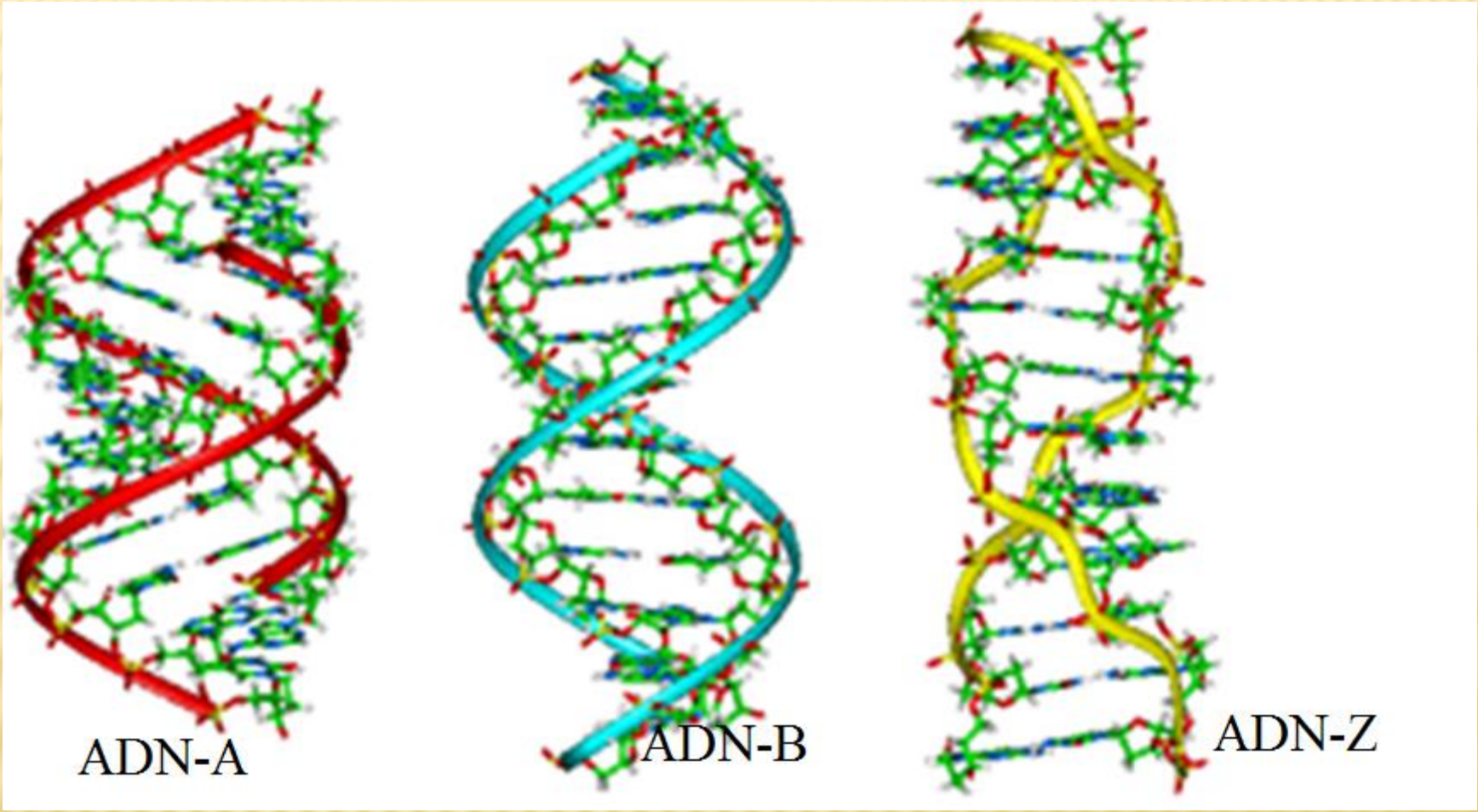

Phosphate
Sugar
Thymine
Adenine
Cytosine
Guanine

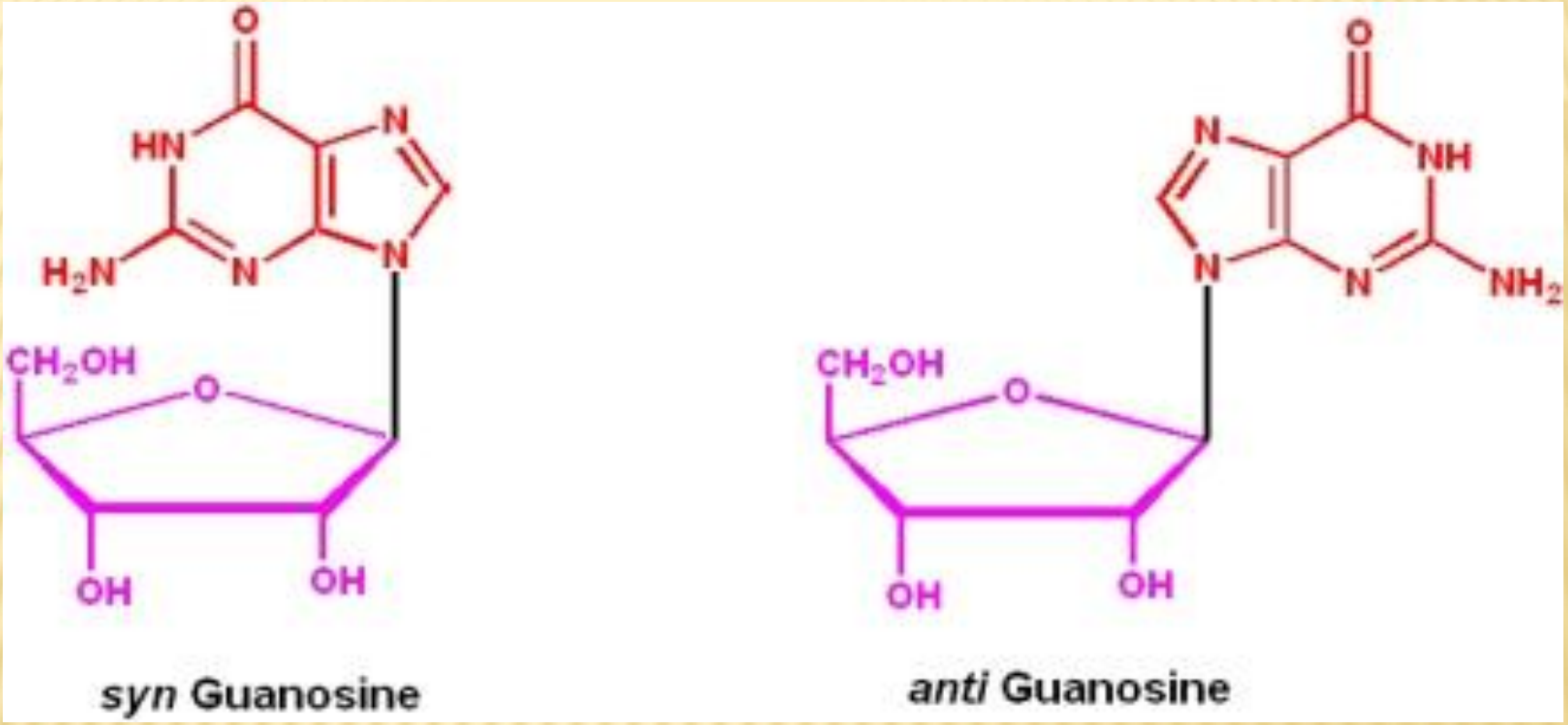
CONFIGURATION SPATIALE DE L'ADN

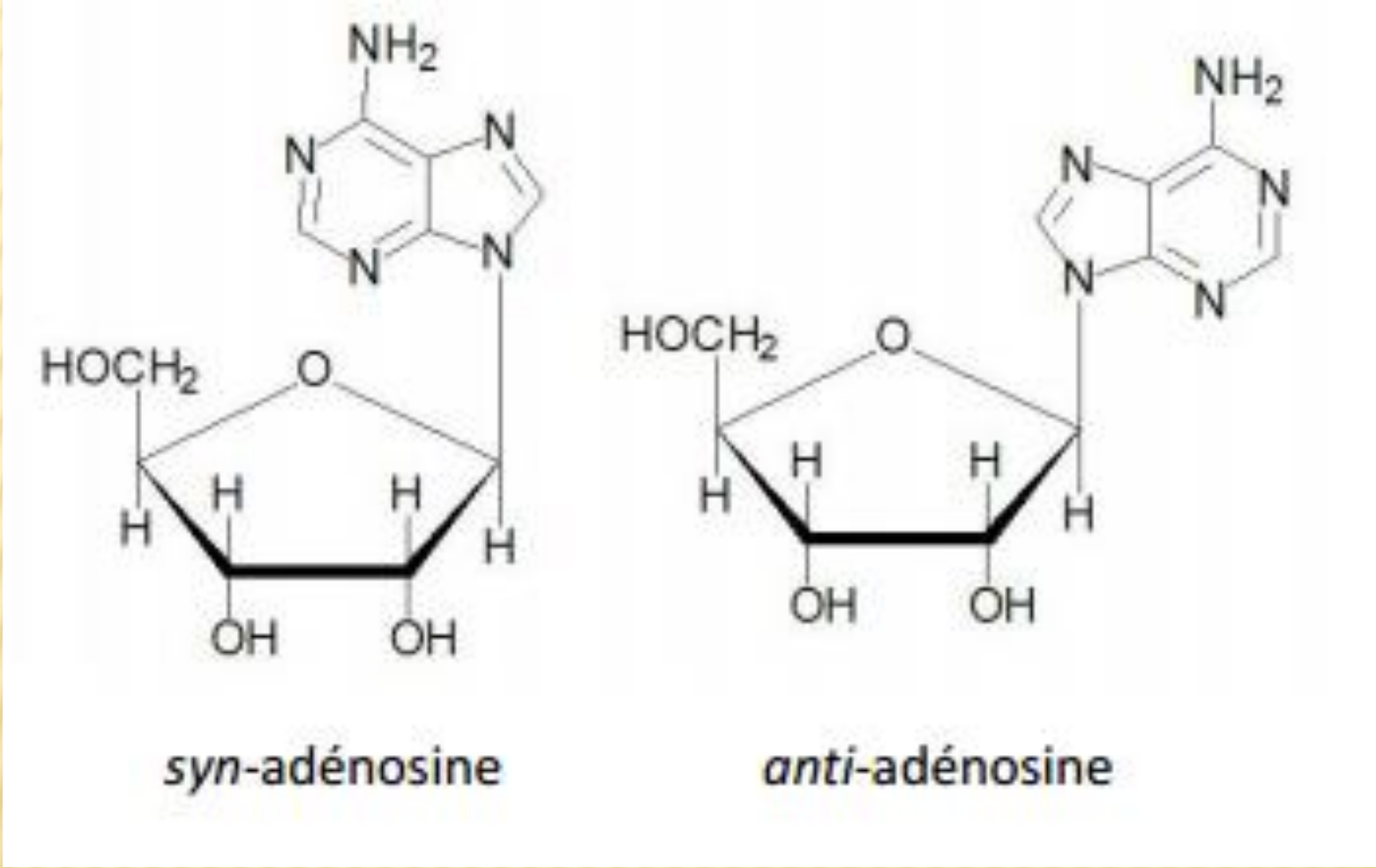





Hydrogen
Oxygen
Nitrogen
Carbon
Phosphorus
Minor groove
Major groove
T
A
C
G
Pyrimidines
Purines

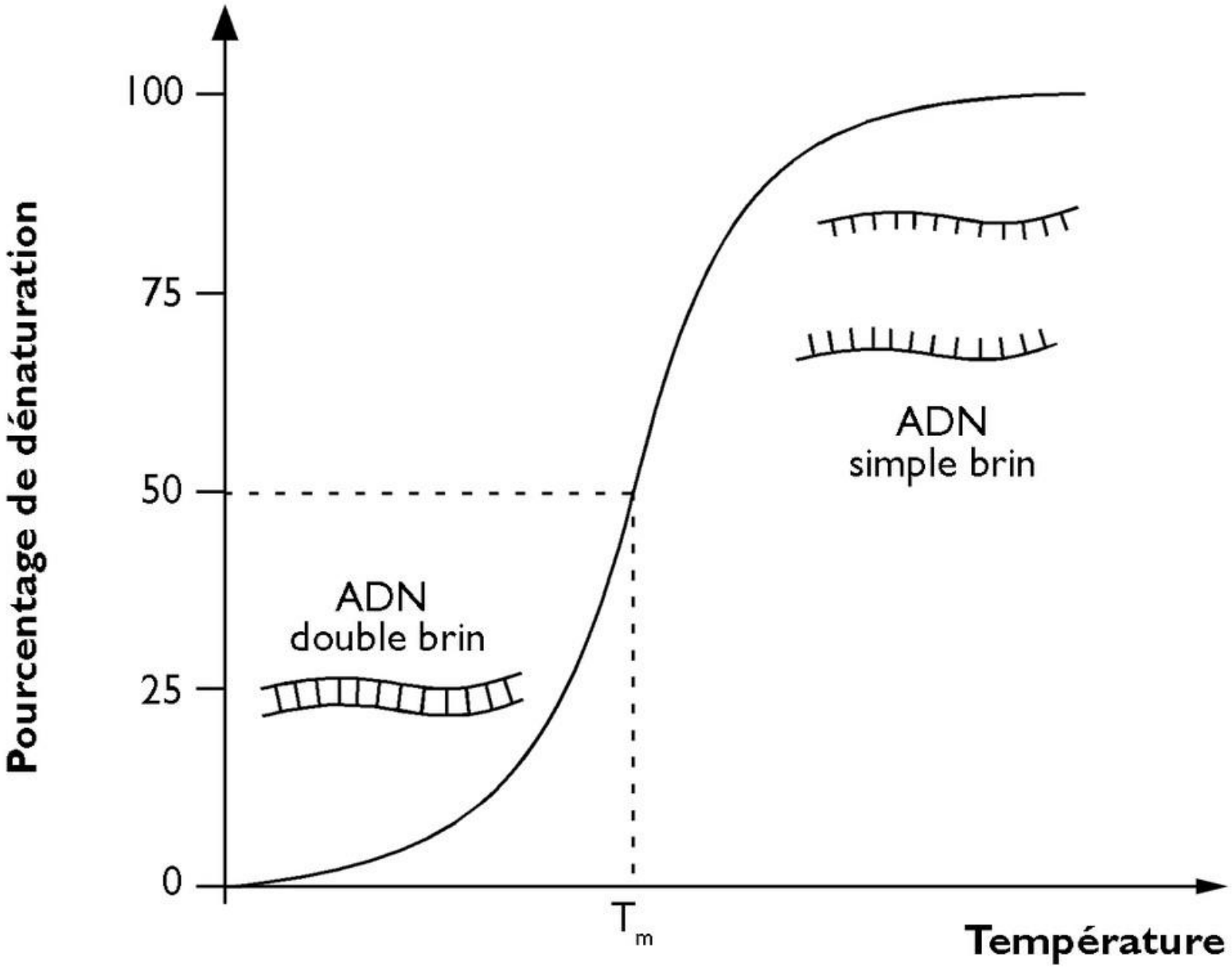

ADN-A
ADN-B
ADN-Z

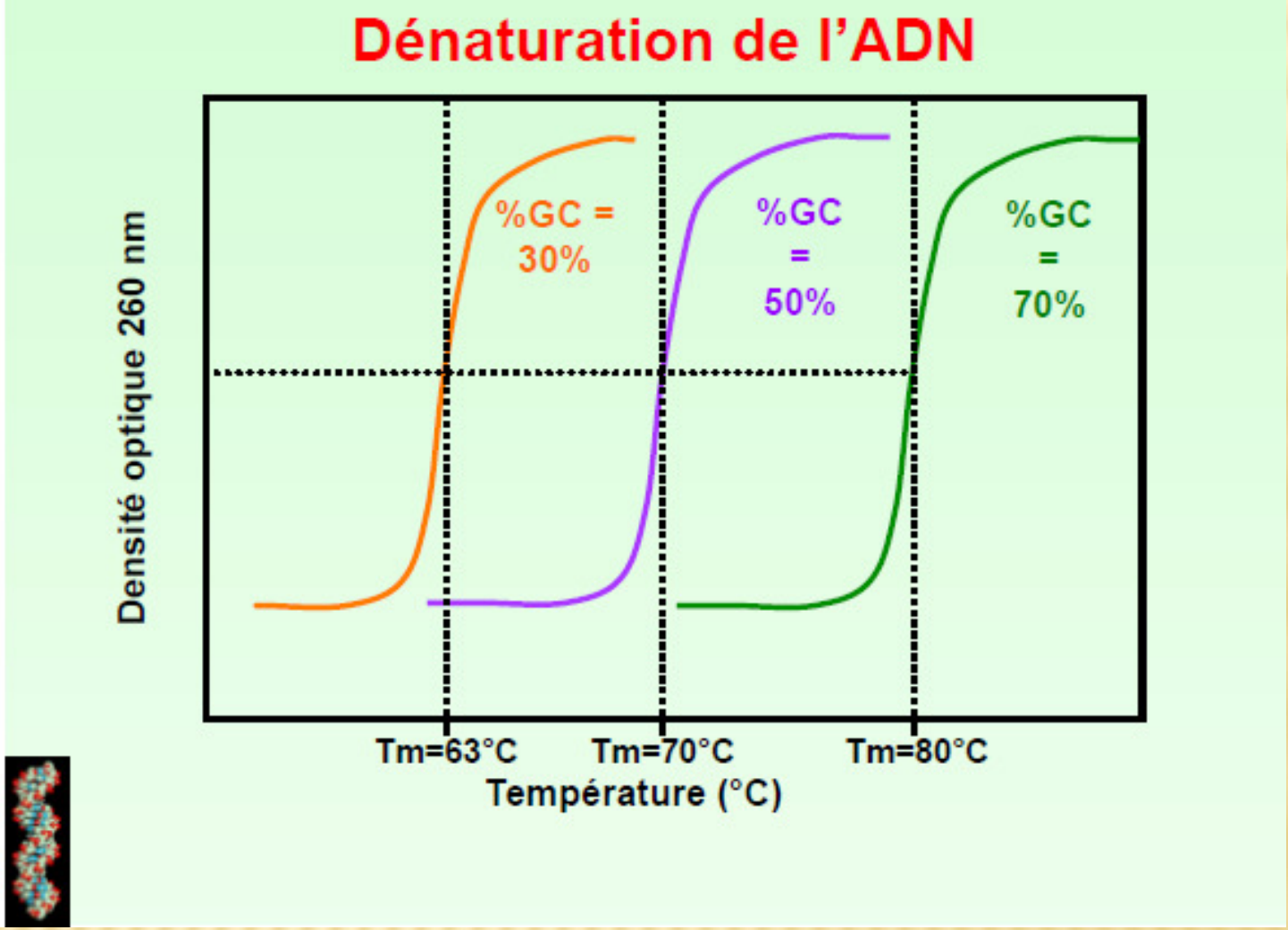

O
HN
N
H2N
N
N
CH2OH
O
OH
OH
syn Guanosine
O
N
NH
N
N
NH2
CH2OH
O
OH
OH
anti Guanosine



syn-adénosine

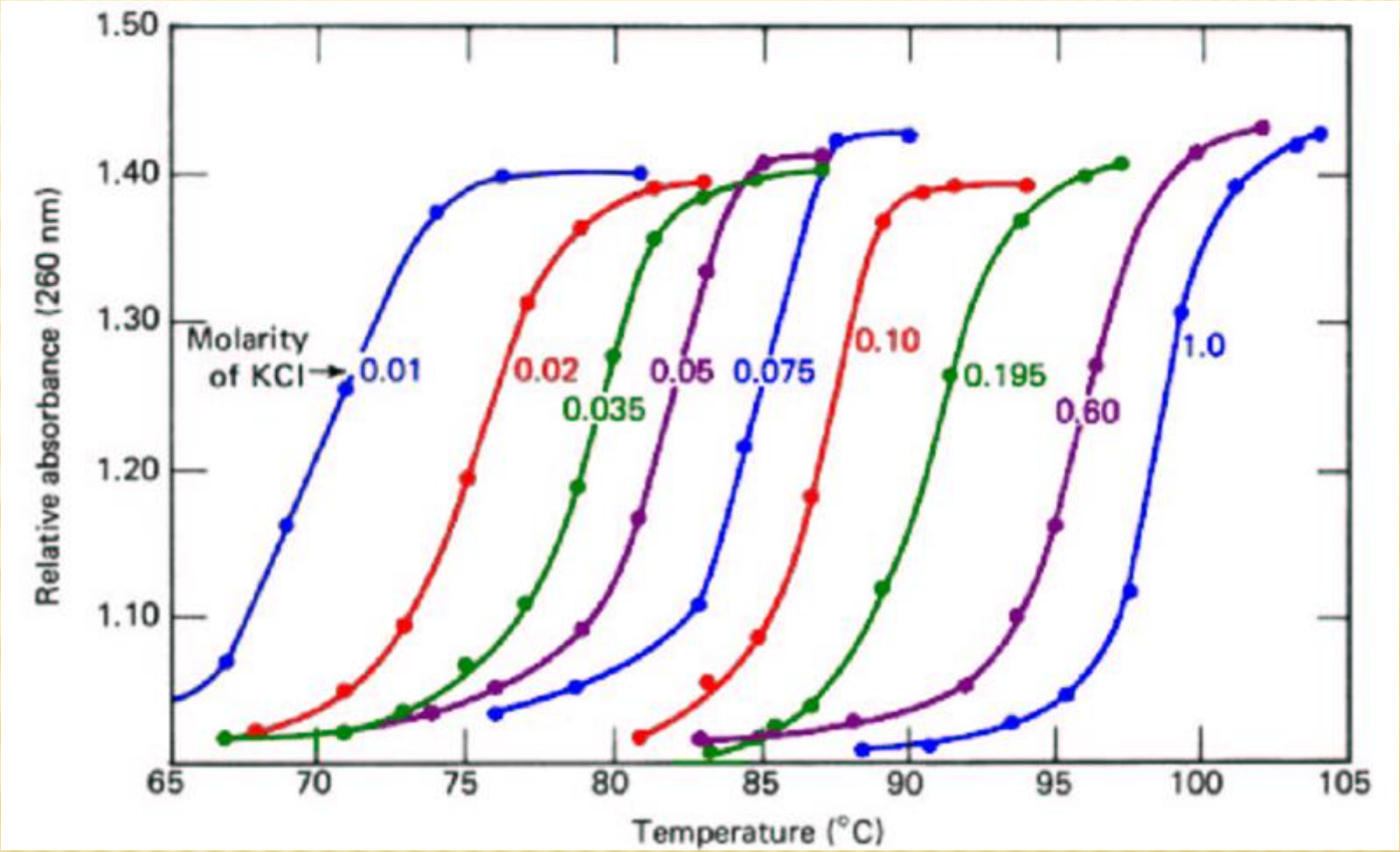
anti-adénosine


Pourcentage de dénaturation
100
75
50
25
0
ADN
double brin
ADN
simple brin
T_m
Température

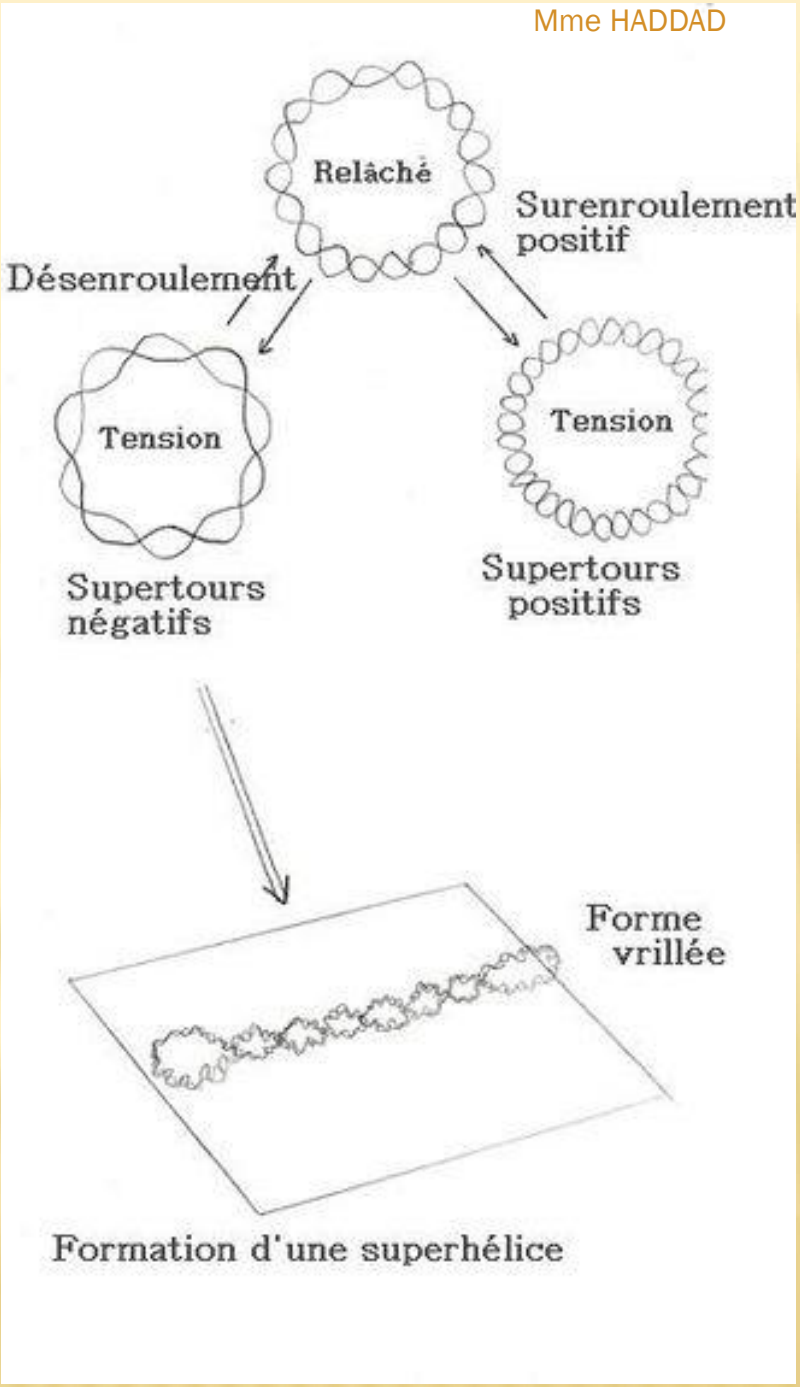


Effet de la composition en paires GC

$$T_m = 69{,}5 + 0{,}41\,(\%\,GC)$$

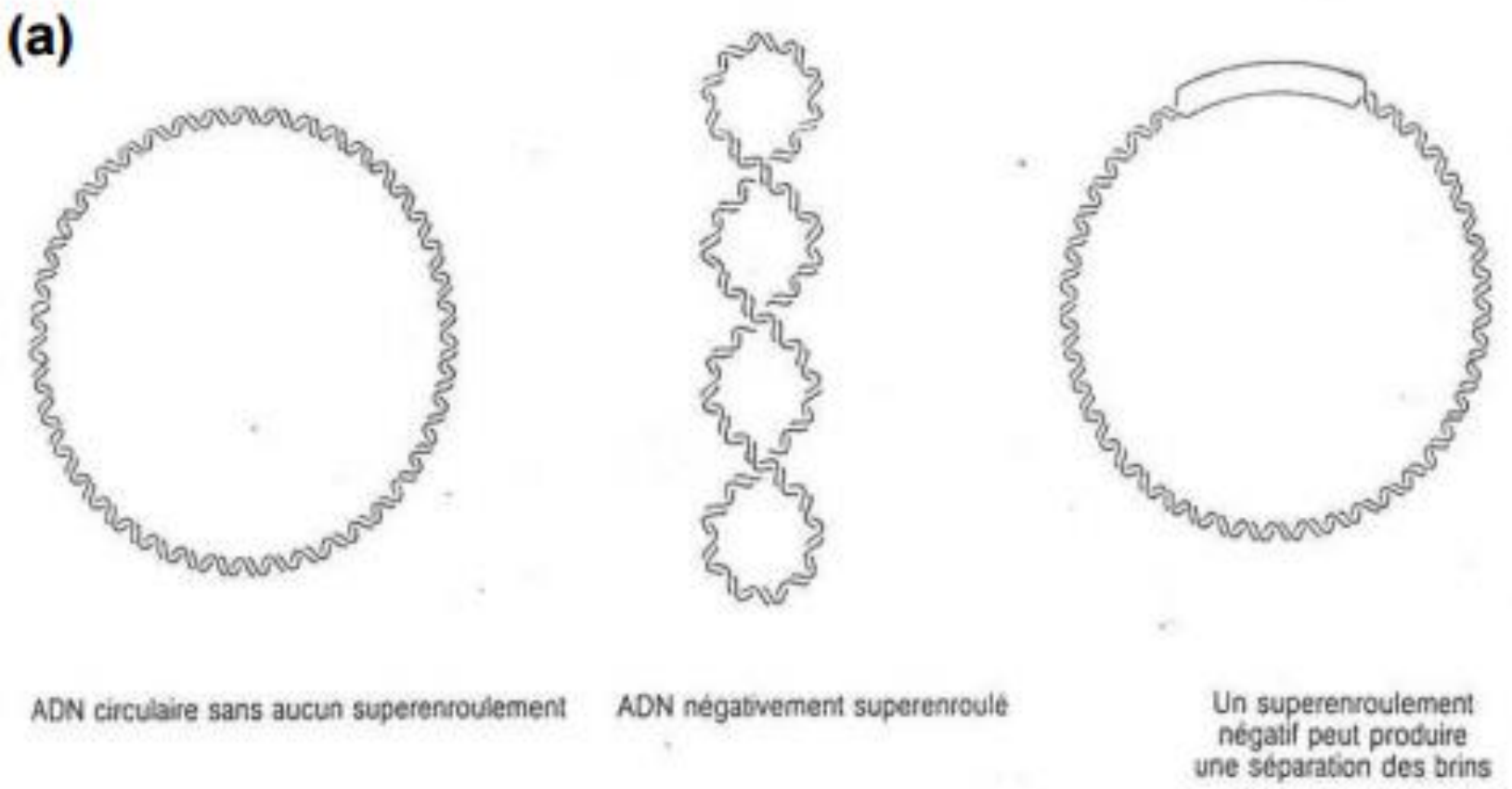


Effet de la force ionique

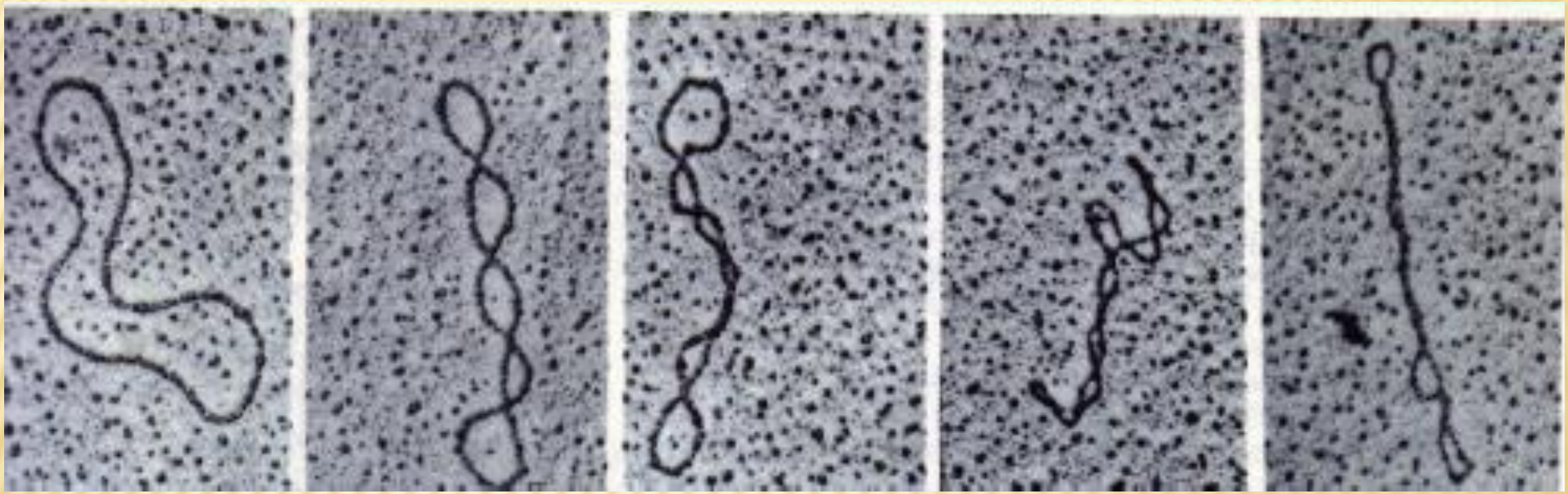


Formation d'une superhélice

Les ADN circulaires existent à l'état surenroulé



Le superenroulement négatif (supertours dans la direction opposée à celle de la double hélice) permet aux 2 brins de s'écarter localement.

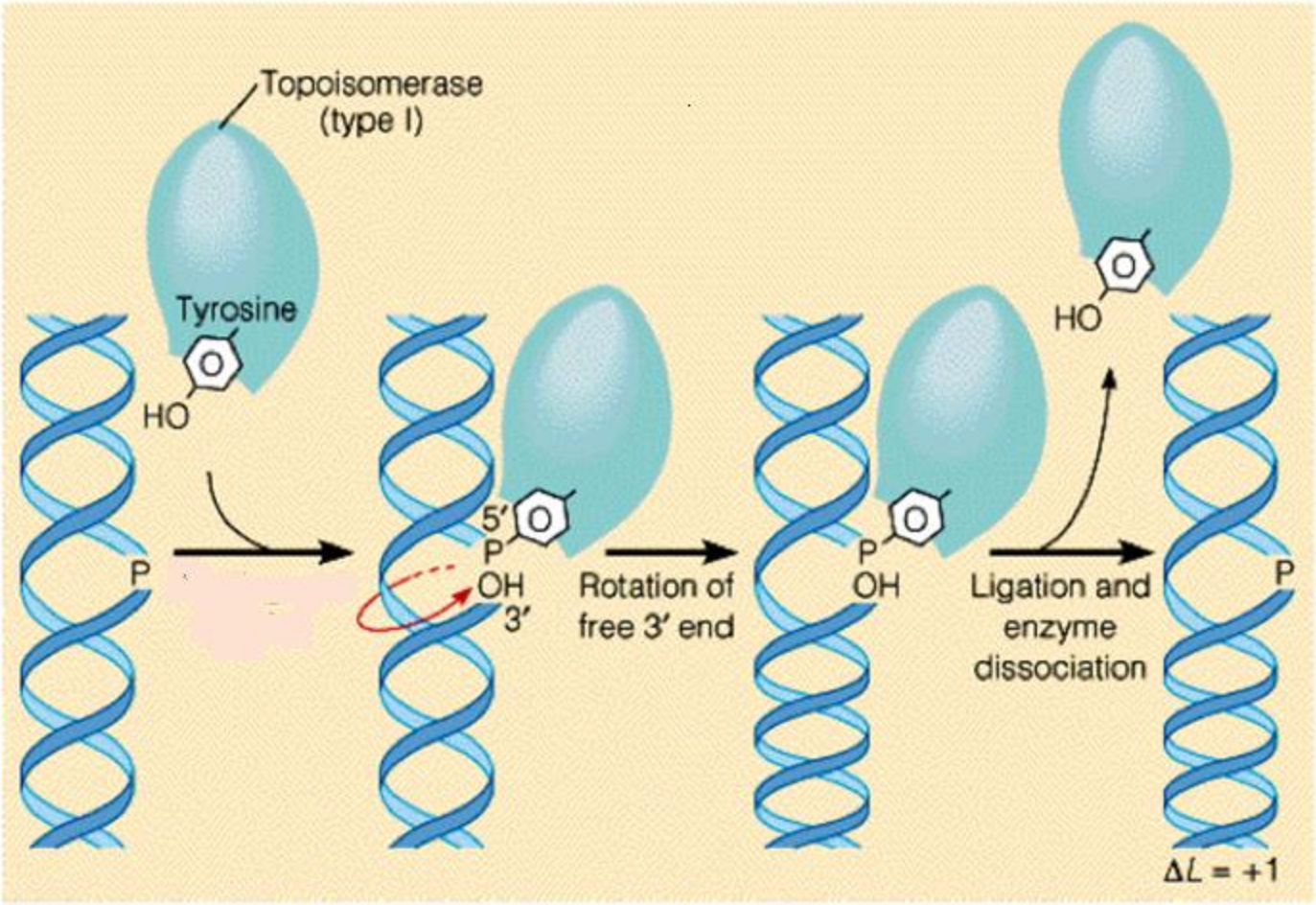


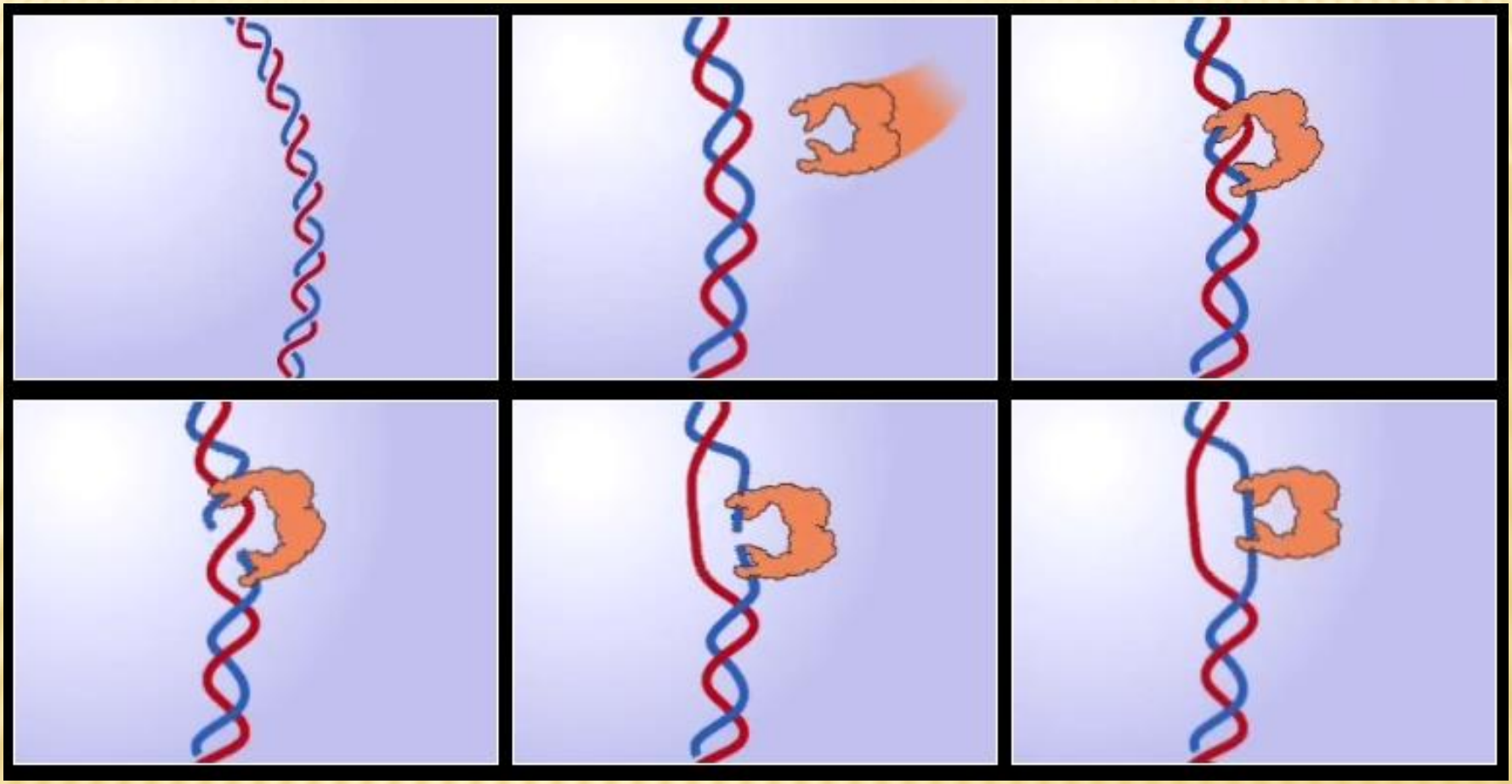
ADN relâché

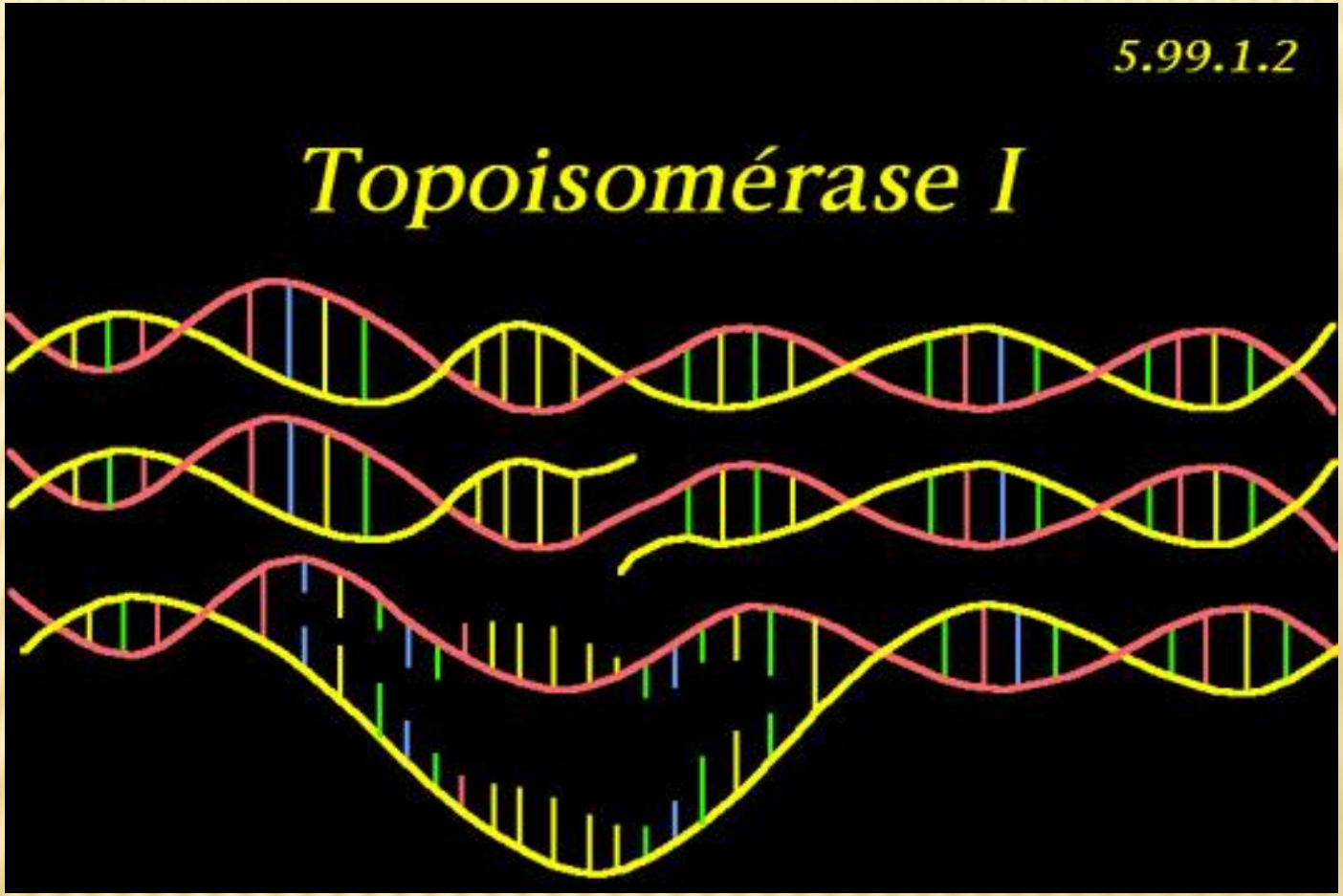
ADN surenroulé négativement (vrillé)

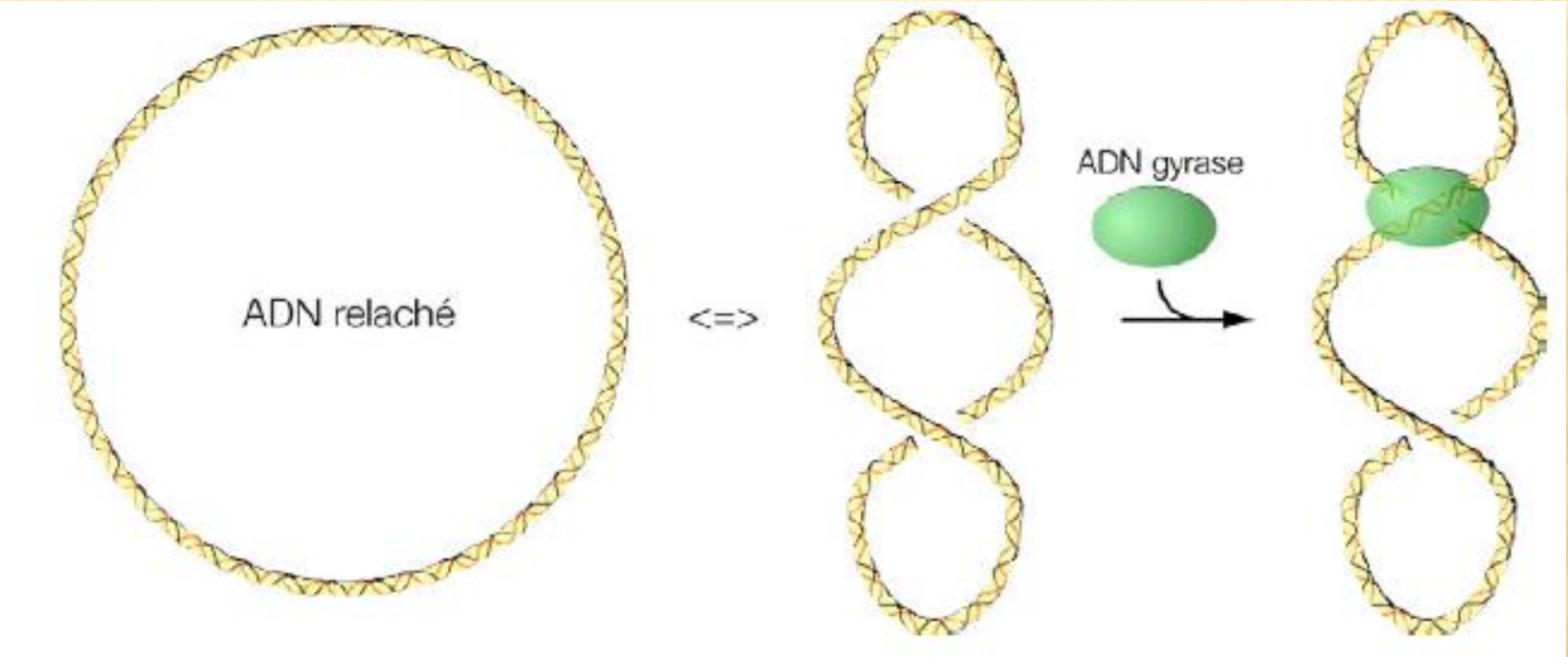

Une contrainte de surenroulement
positive met les nucléosomes
sens dessus dessous

Mécanisme d'action de la topoisomérase 1

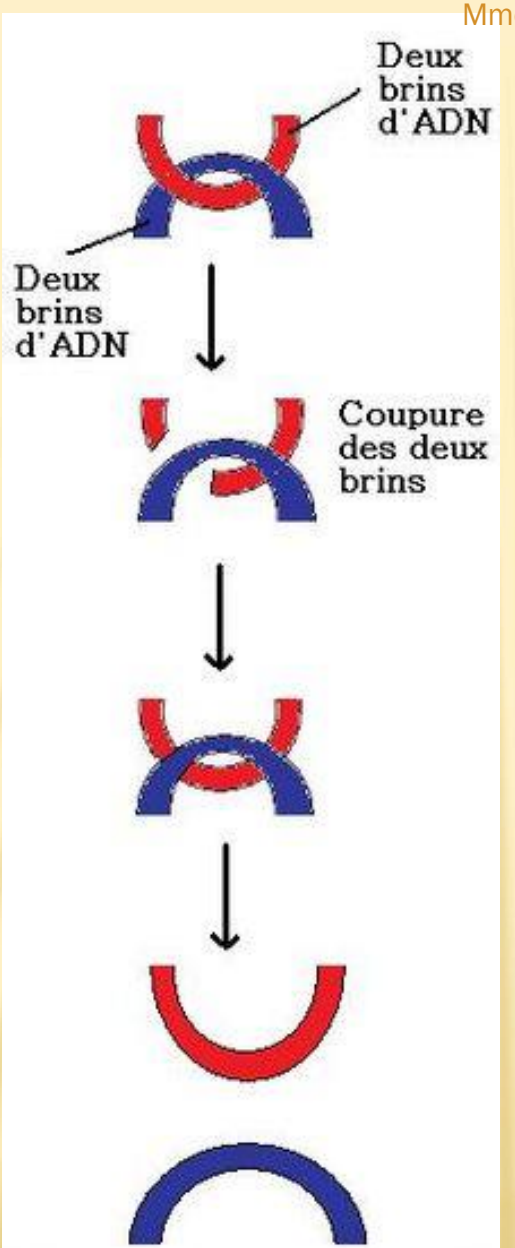




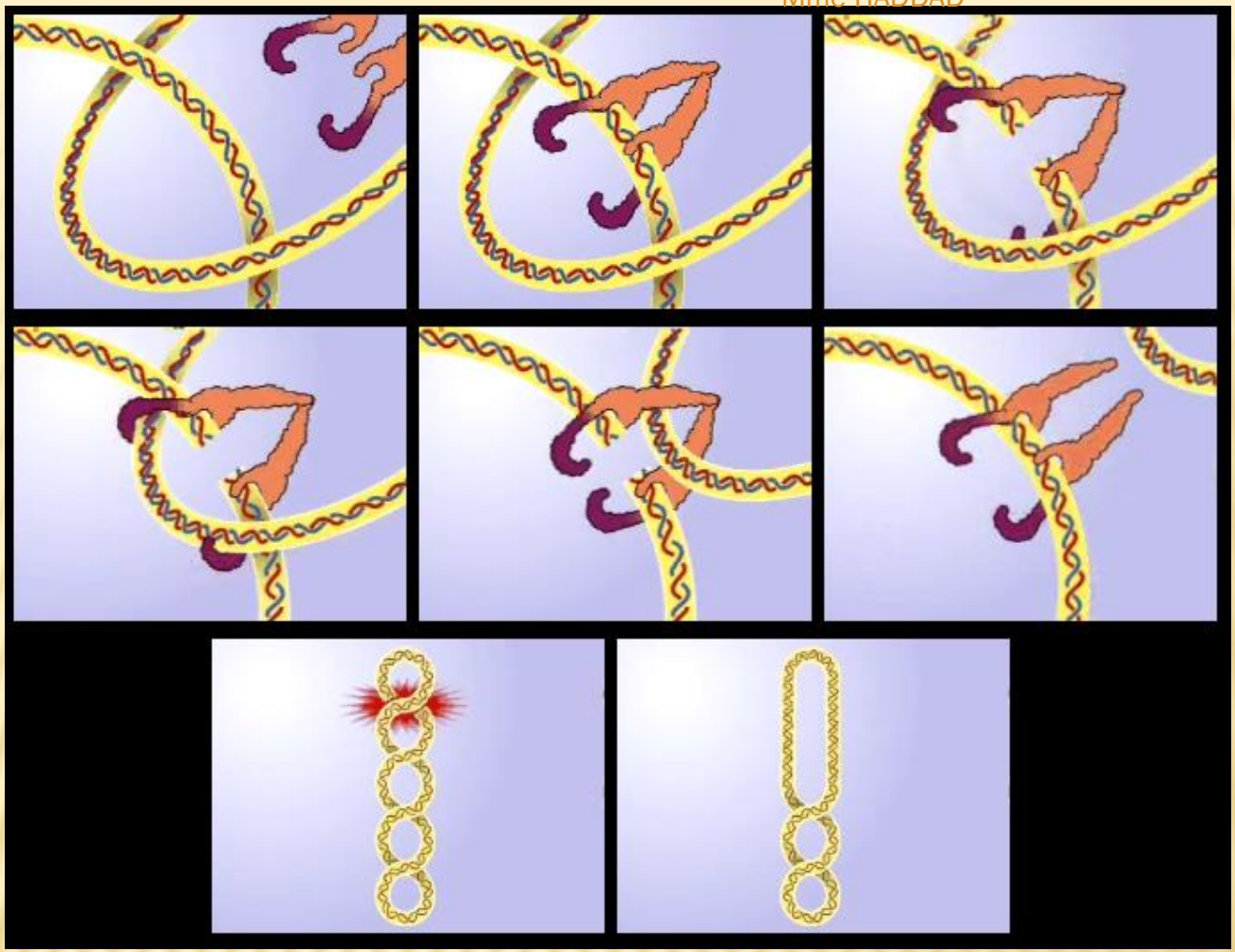

5.99.1.2
Topoisomérase I



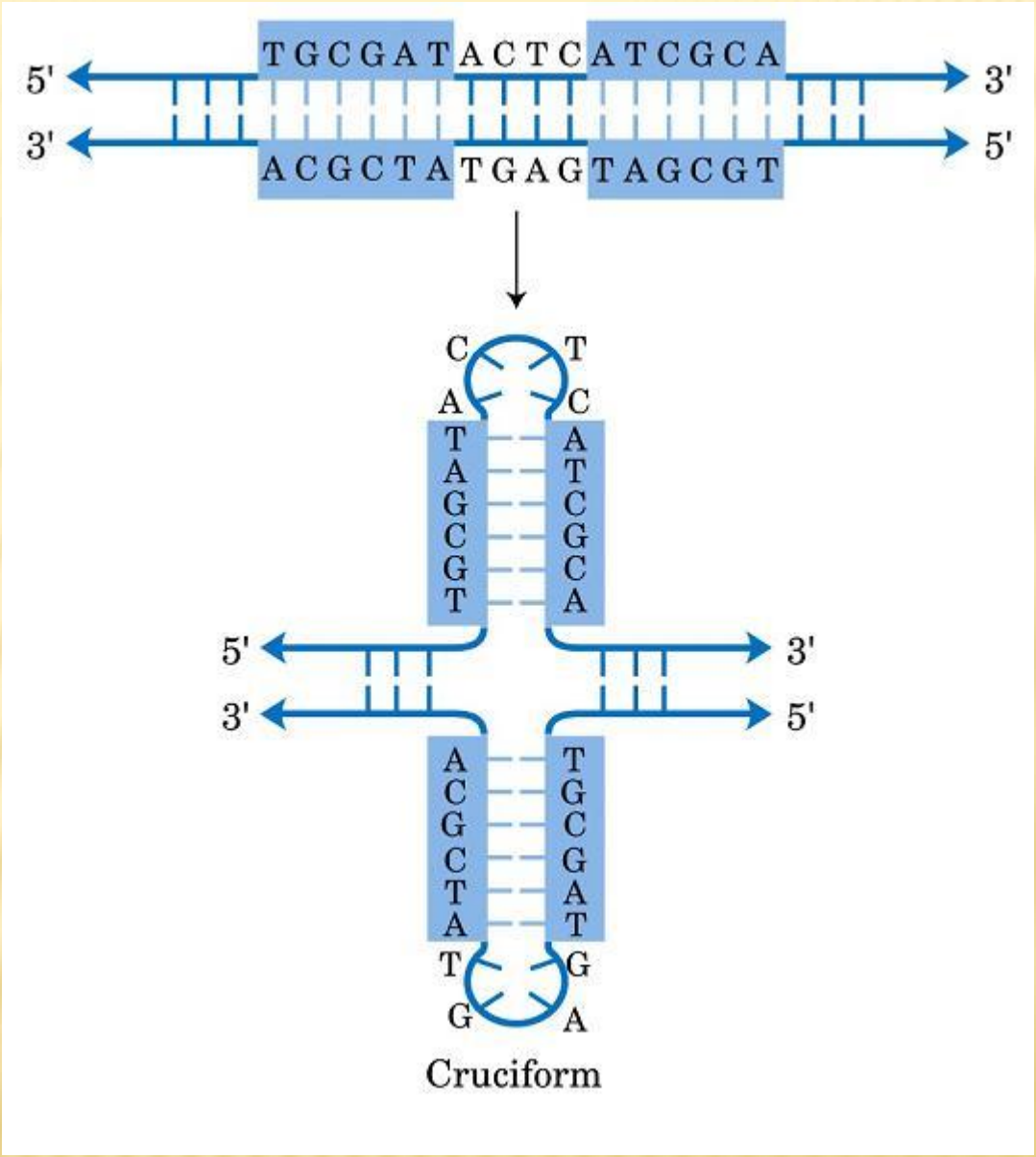
Mécanisme d'action de la gyrase sur un ADN circulaire. La gyrase catalyse le croisement de brins, ce qui permet l'introduction de supertours négatifs (chez les procaryotes)



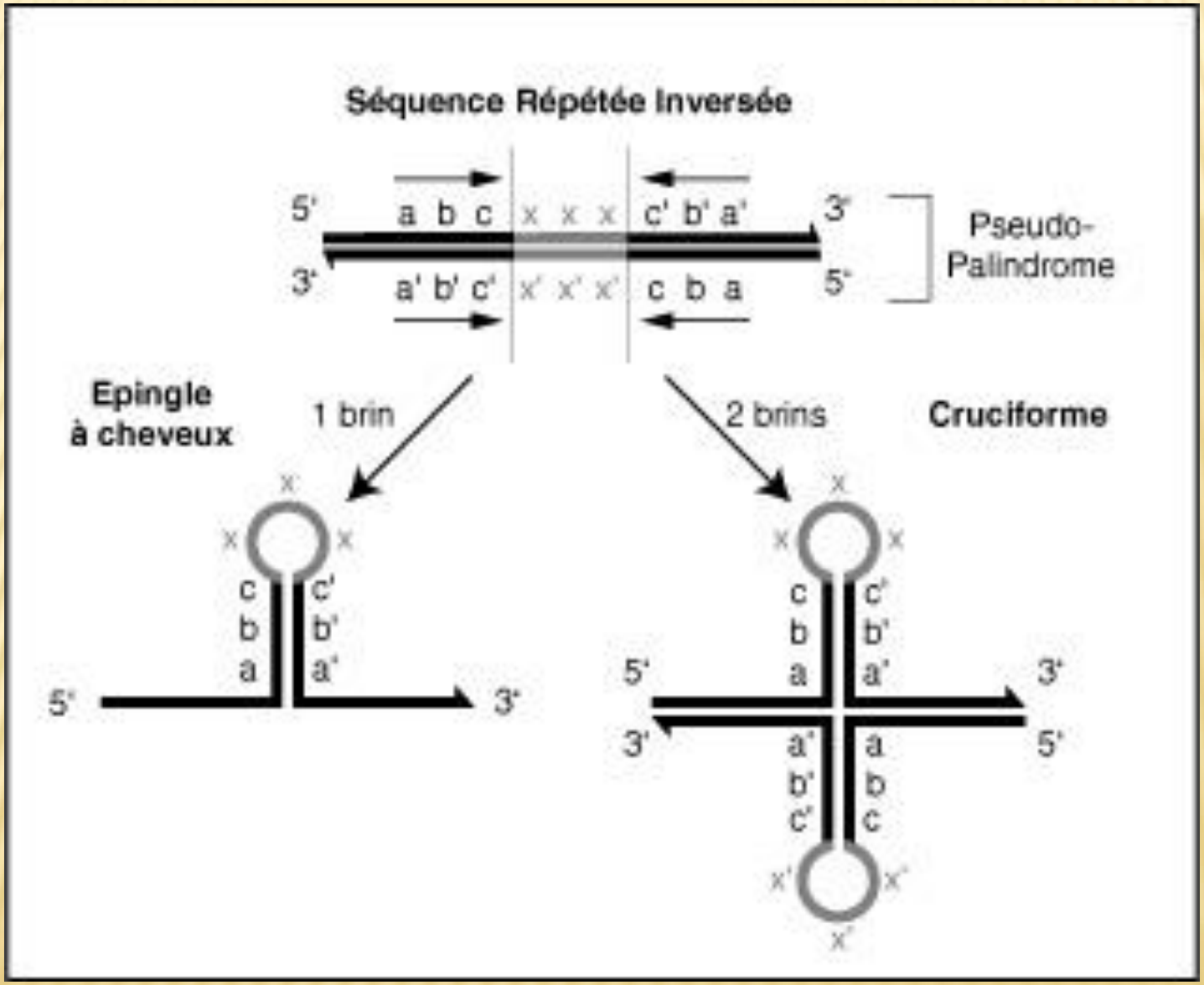
Effet des topoisomérases II (eucaryotes) qui démêlent les noeuds d'ADN

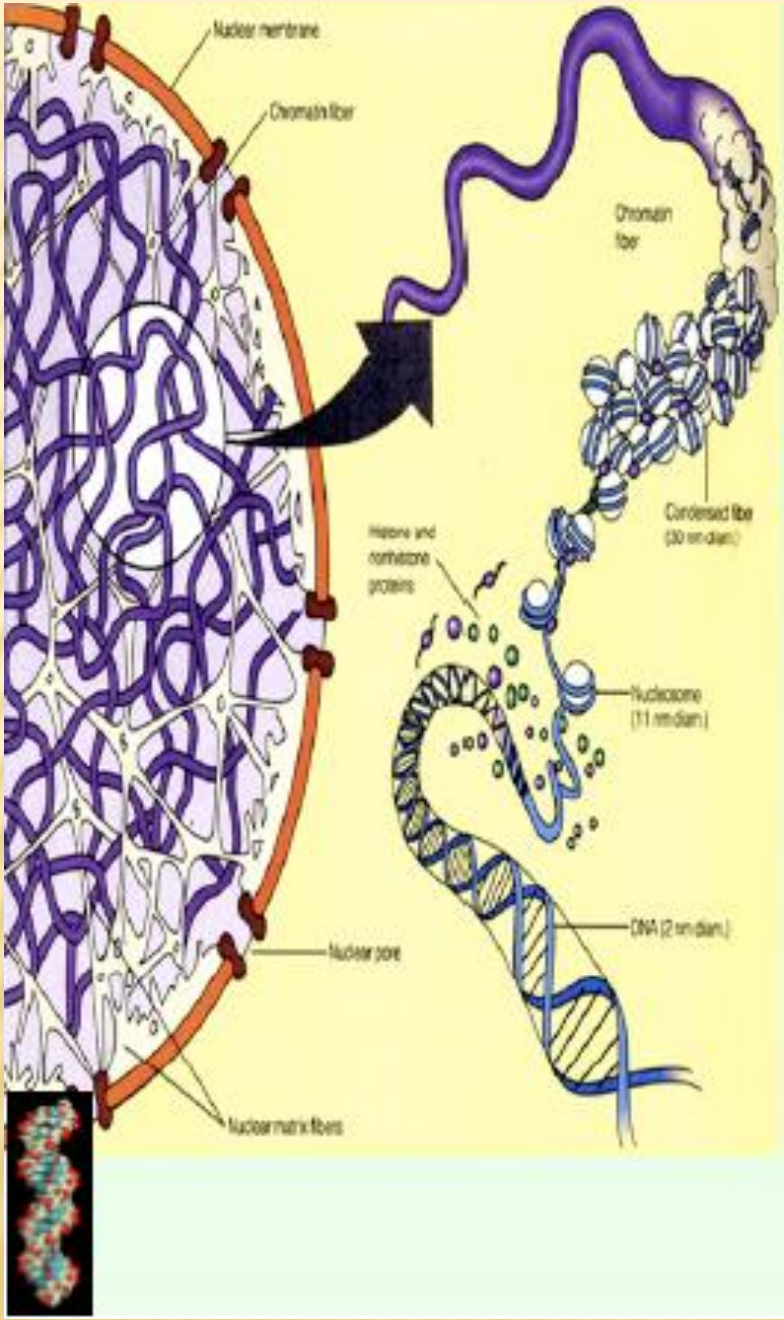


Action des topoisomérases II chez les eucaryotes


TGCGATACTCATCGCA
5'
3'
3'
5'
ACGCTATGAGTAGCGT
C
T
A
C
TAGCGT
ATCGCA
5'
3'
3'
5'
ACGCTA
TGCGAT
T
G
G
A

Cruciform


Séquence Répétée Inversée
5'
a b c
x x x
c' b' a'
3'
3'
a' b' c'
x' x' x'
c b a
5'
Pseudo-
Palindrome
Epingle
à cheveux
1 brin
2 brins
Cruciforme
x'
x
x
c
b
a
c'
b'
a'
5'
3'
x'
x
x
c
b
a
c'
b'
a'
5'
3'
a'
b'
c'
a
b
c
x'
x'
x'

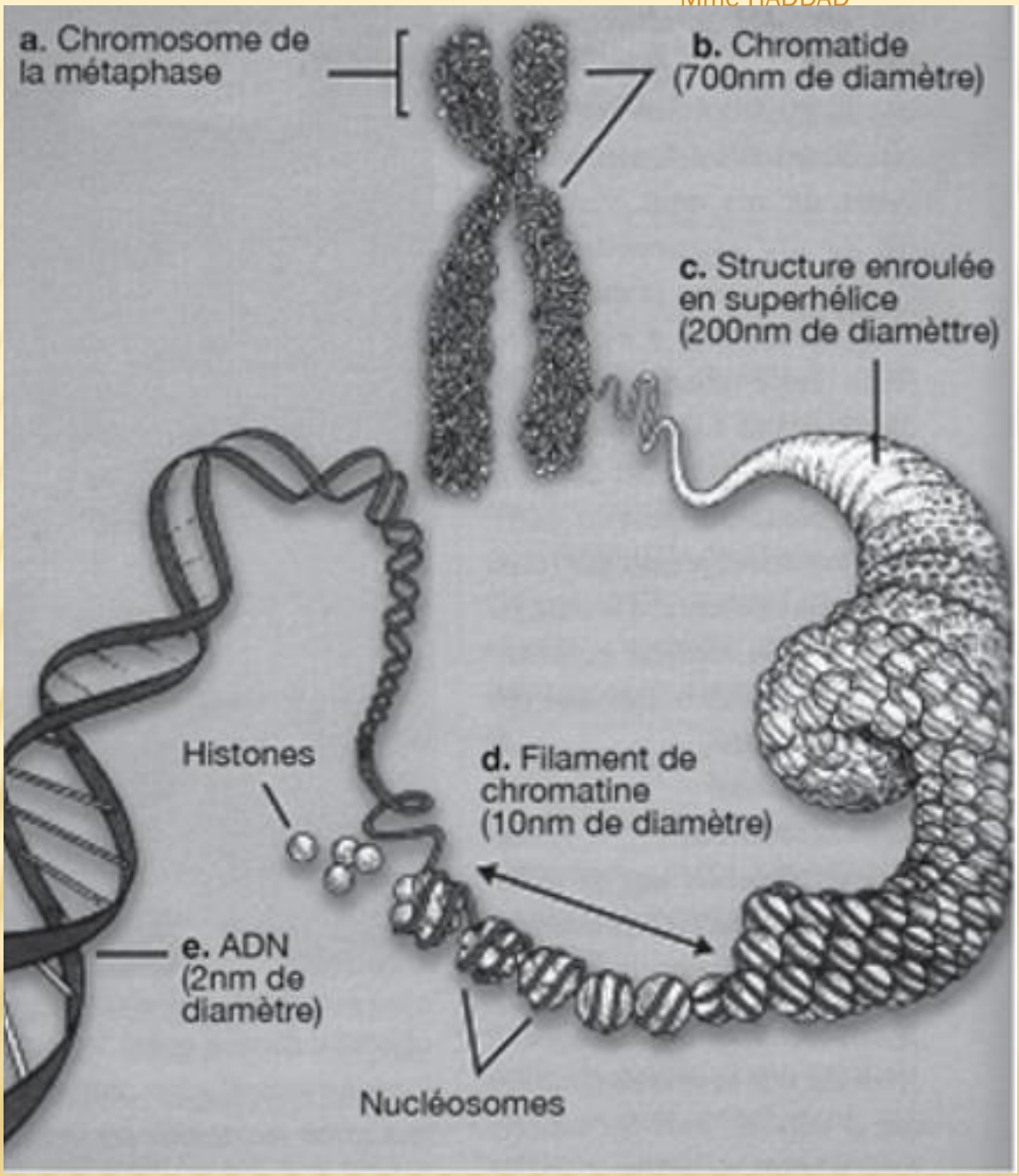


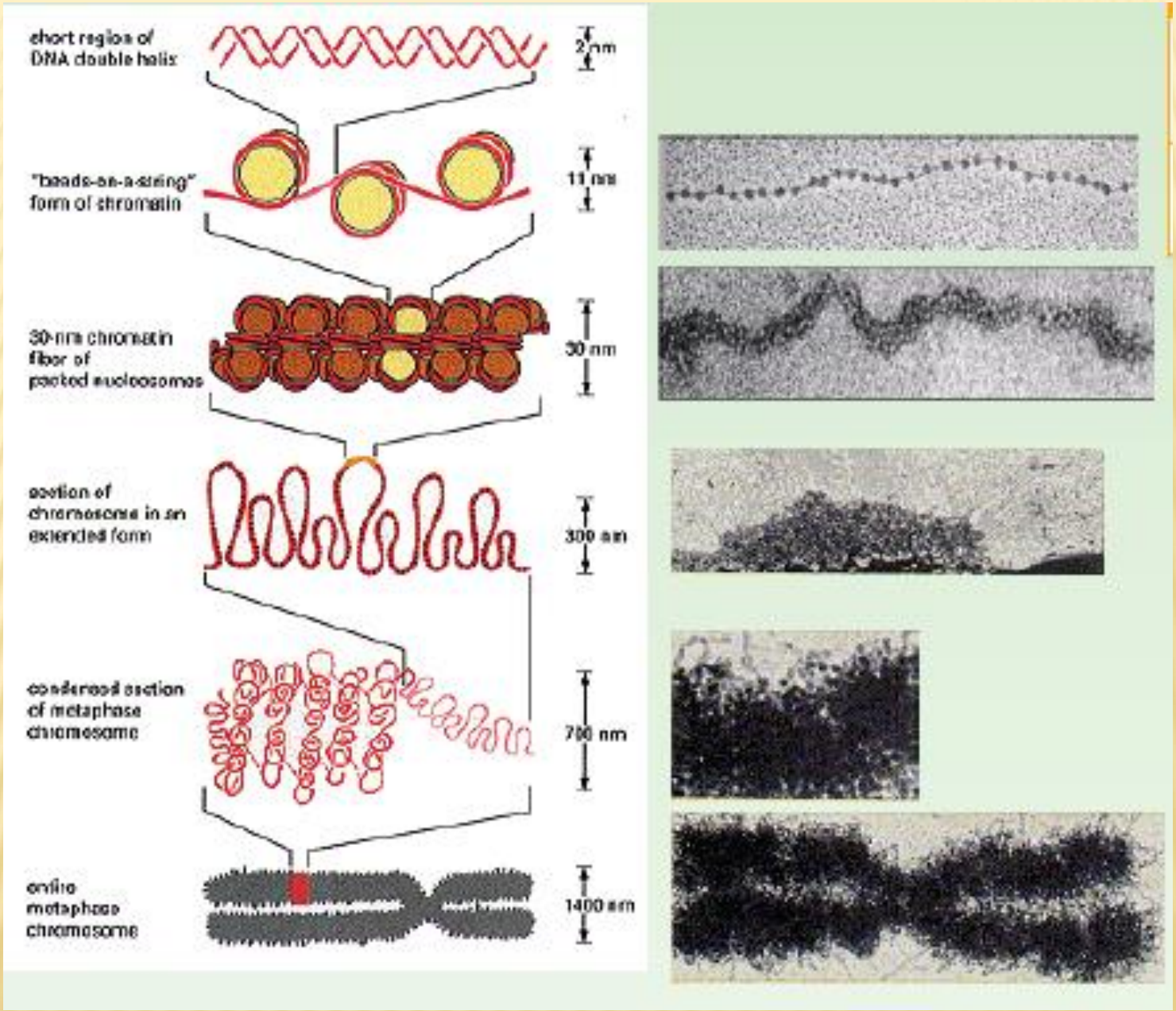
Dans une cellule humaine :
46 chromosomes, 6 milliards de PdB
(2m de long)
Diamètre du noyau : 10 µm

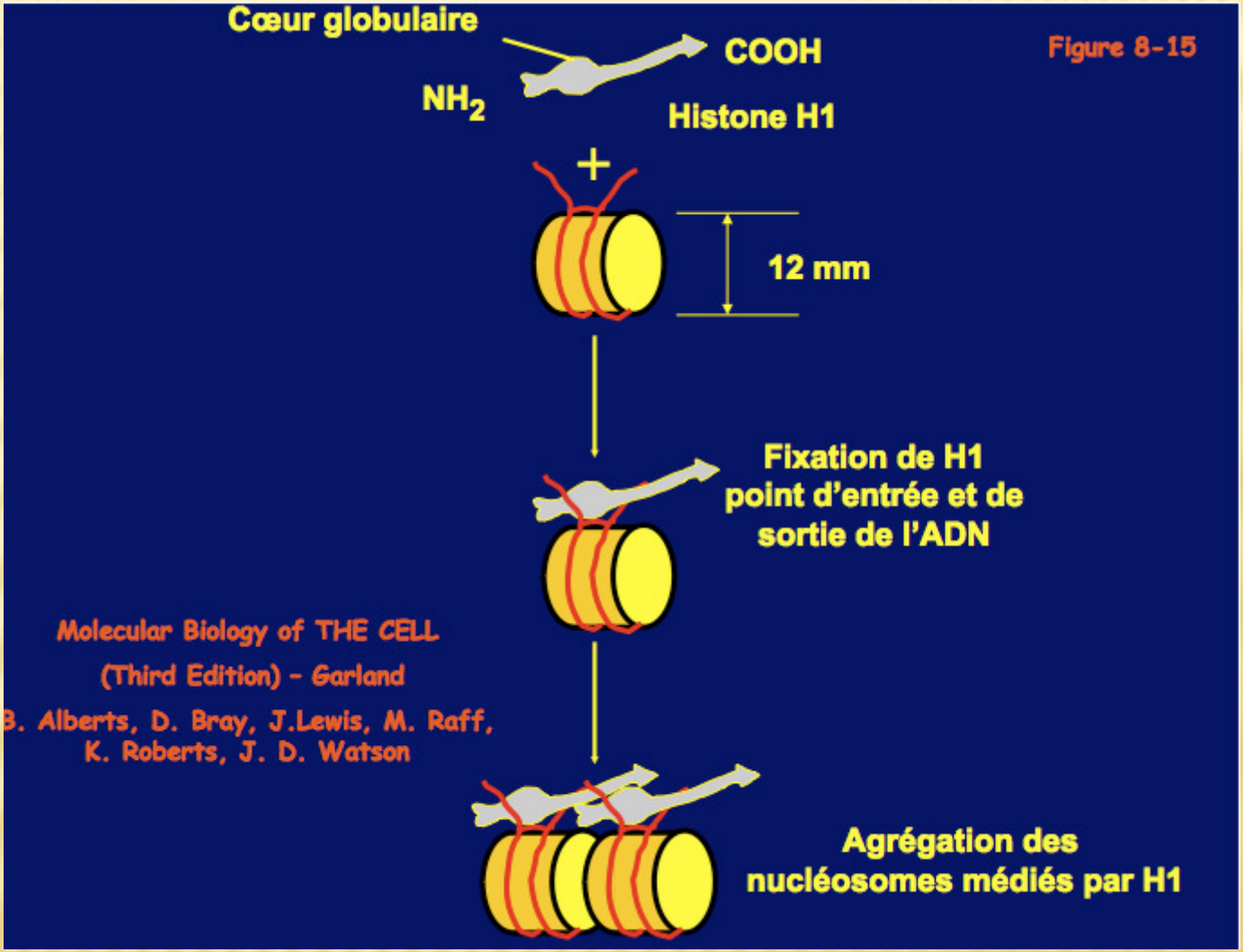
L'ADN est condensé

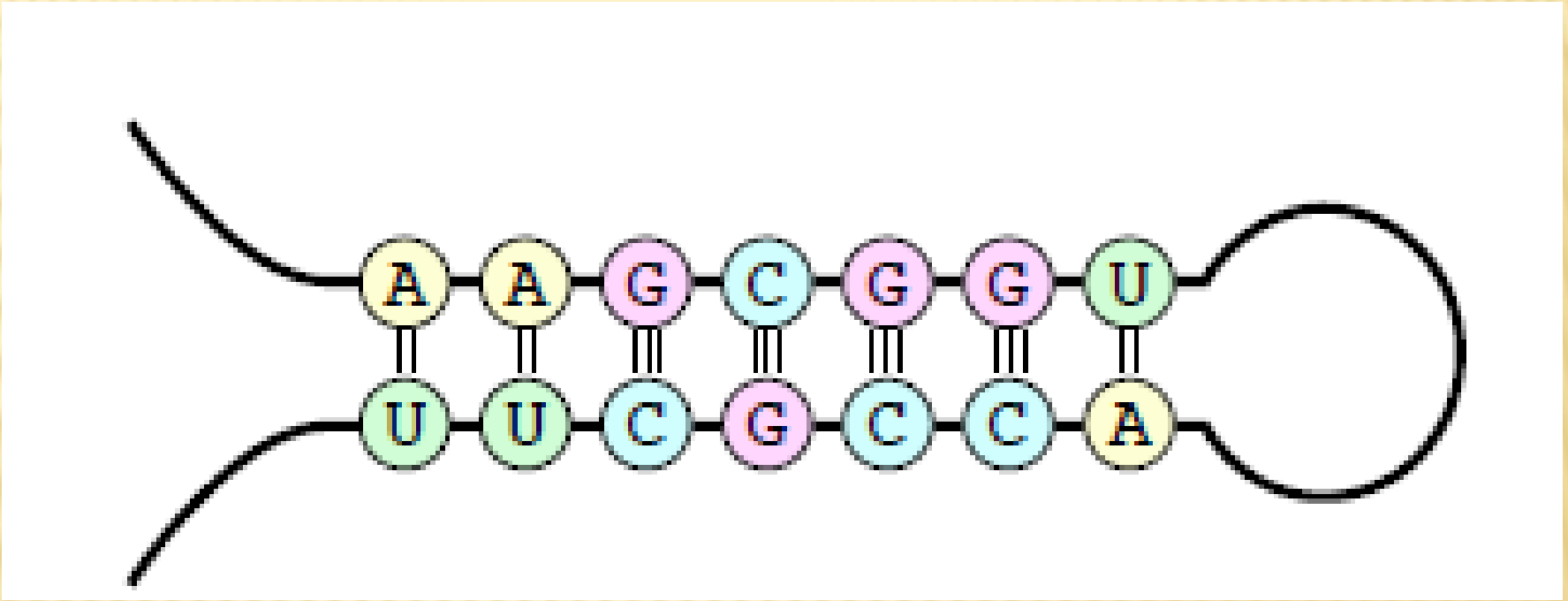
La chromatine est constituée de :

- ADN
- D'une classe bien définie de protéines : les histones,
- De nombreuses autres protéines.

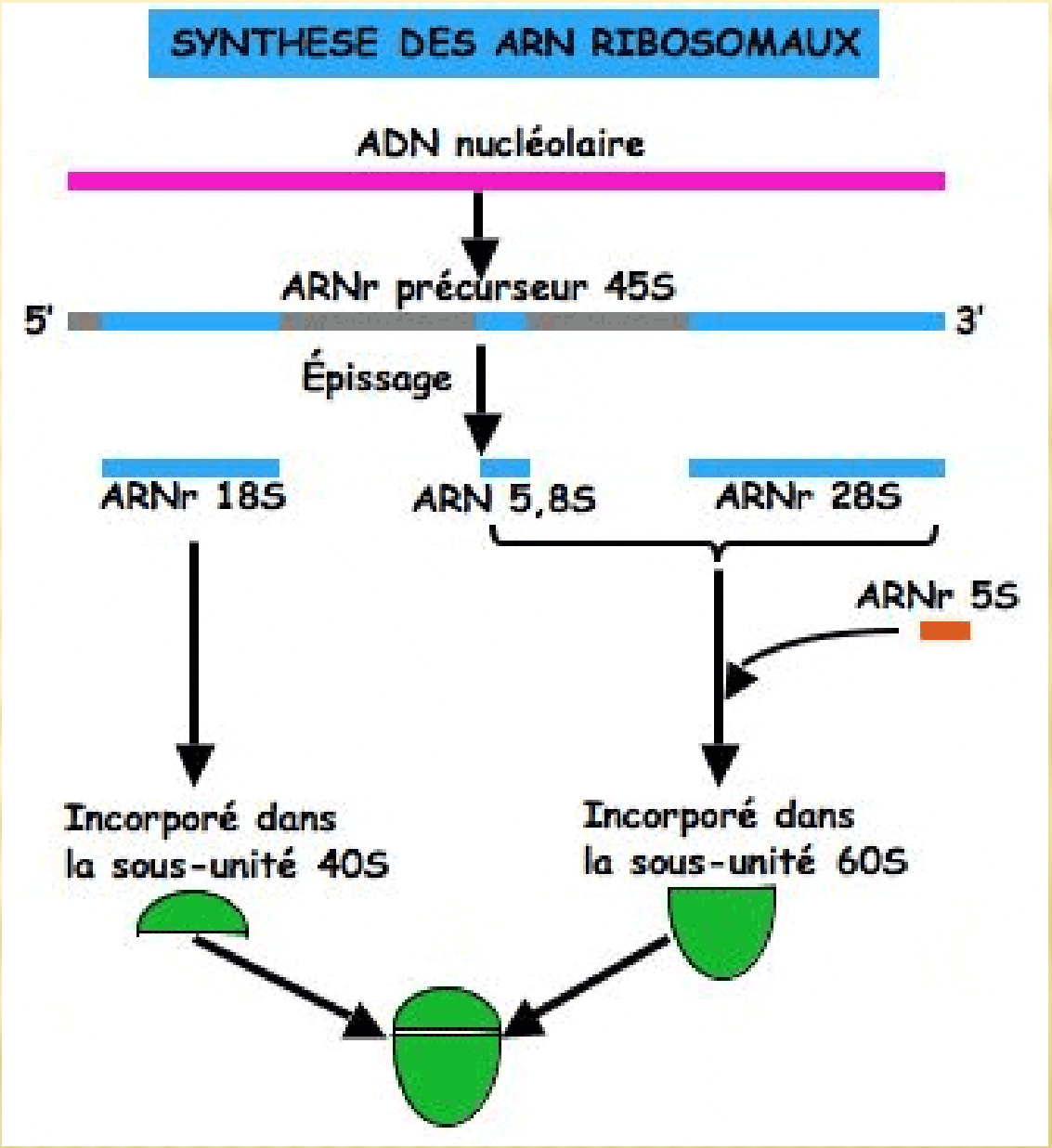

a. Chromosome de la métaphase
b. Chromatide (700nm de diamètre)
c. Structure enroulée en superhélice (200nm de diamèttre)
Histones
d. Filament de chromatine (10nm de diamètre)
e. ADN (2nm de diamètre)
Nucléosomes

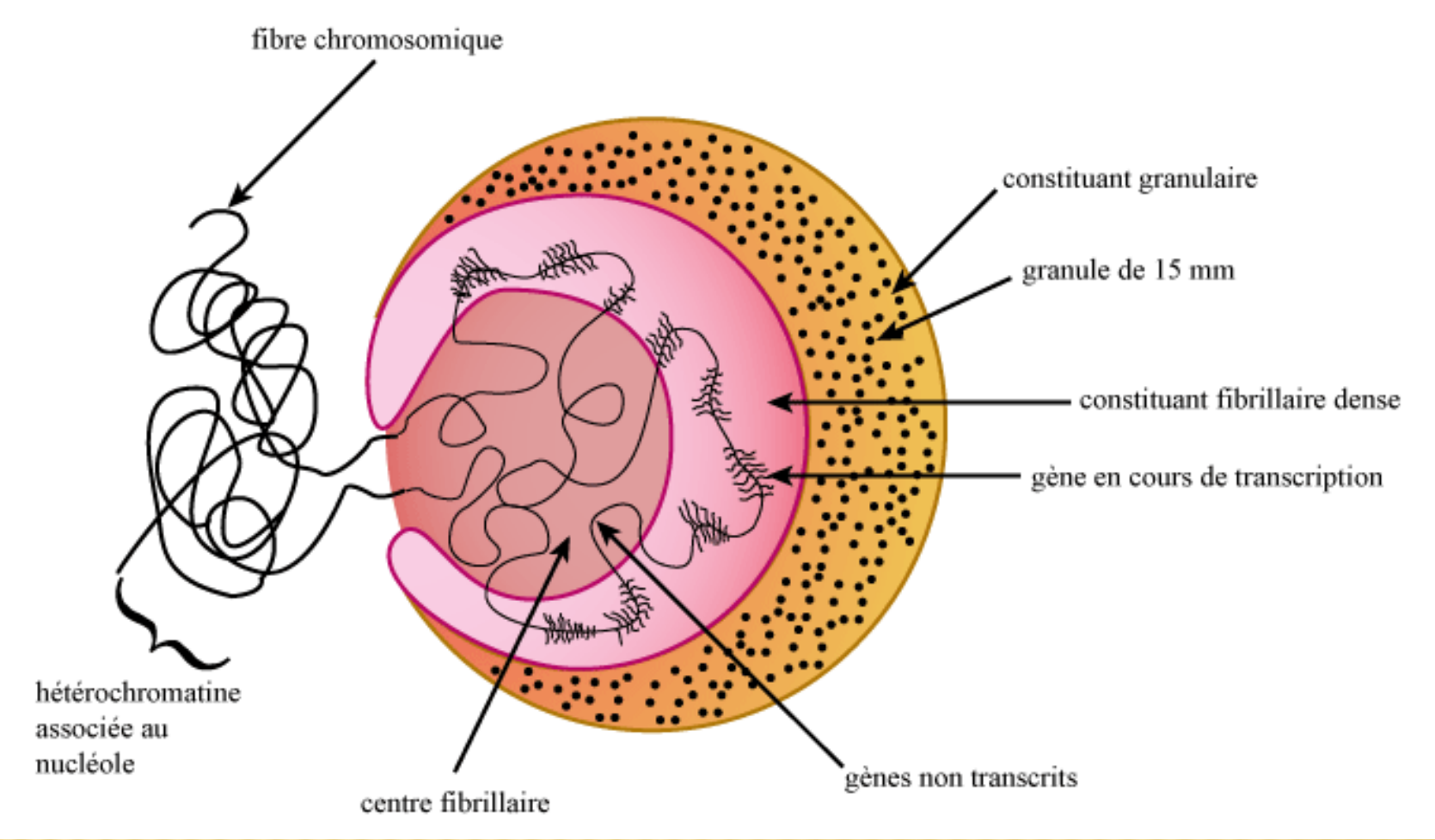

short region of DNA double helix
2 nm
"beads-on-a-string" form of chromatin
11 nm
30-nm chromatin fiber of packed nucleosomes
30 nm
section of chromosome in an extended form
300 nm
condensed section of metaphase chromosome
700 nm
entire metaphase chromosome
1400 nm

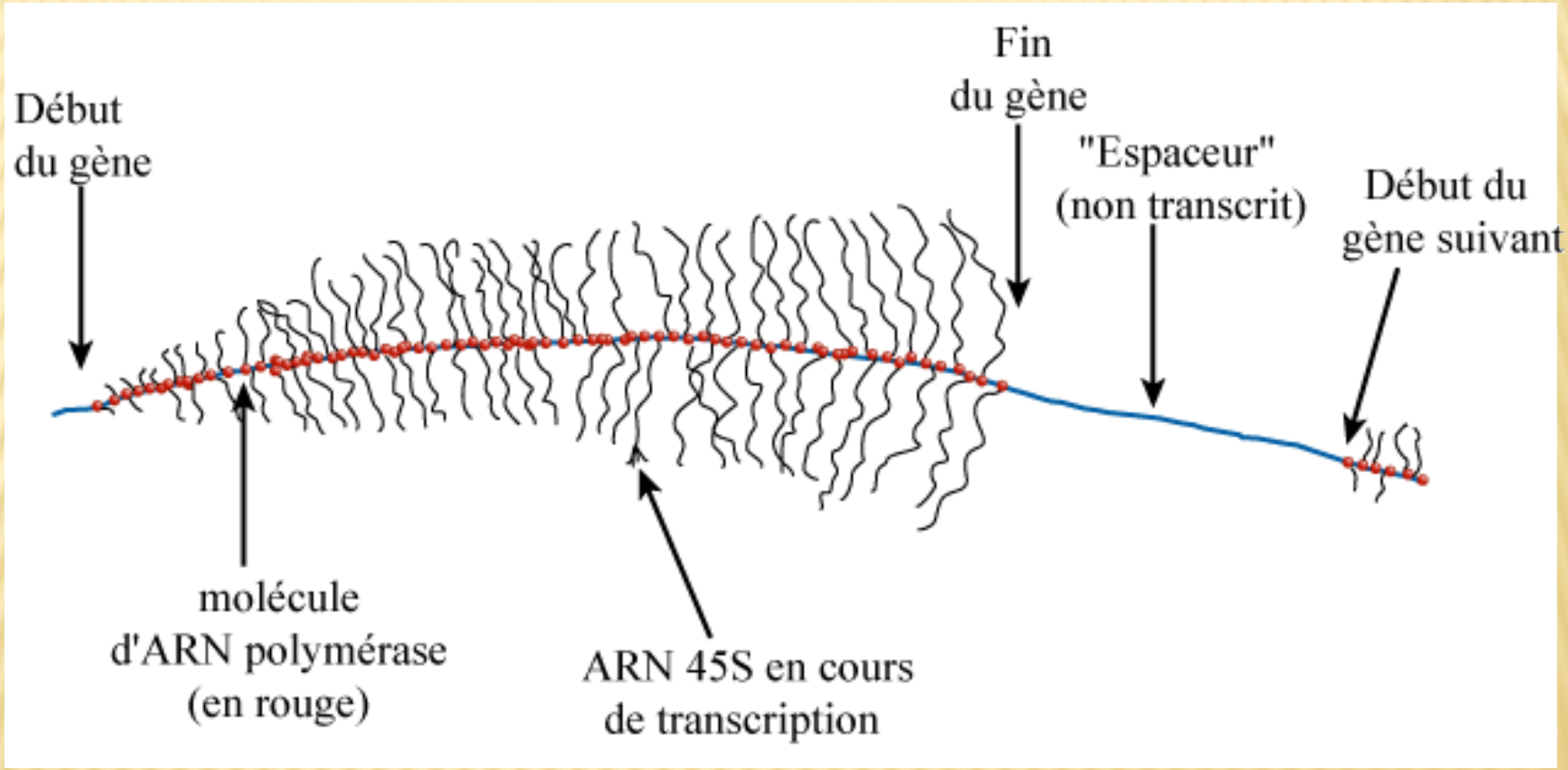

Cœur globulaire
COOH
NH2
Histone H1
Figure 8-15
+
12 mm
Fixation de H1
point d'entrée et de
sortie de l'ADN
Molecular Biology of THE CELL
(Third Edition) - Garland
B. Alberts, D. Bray, J.Lewis, M. Raff,
K. Roberts, J. D. Watson
Agrégation des
nucléosomes médiés par H1

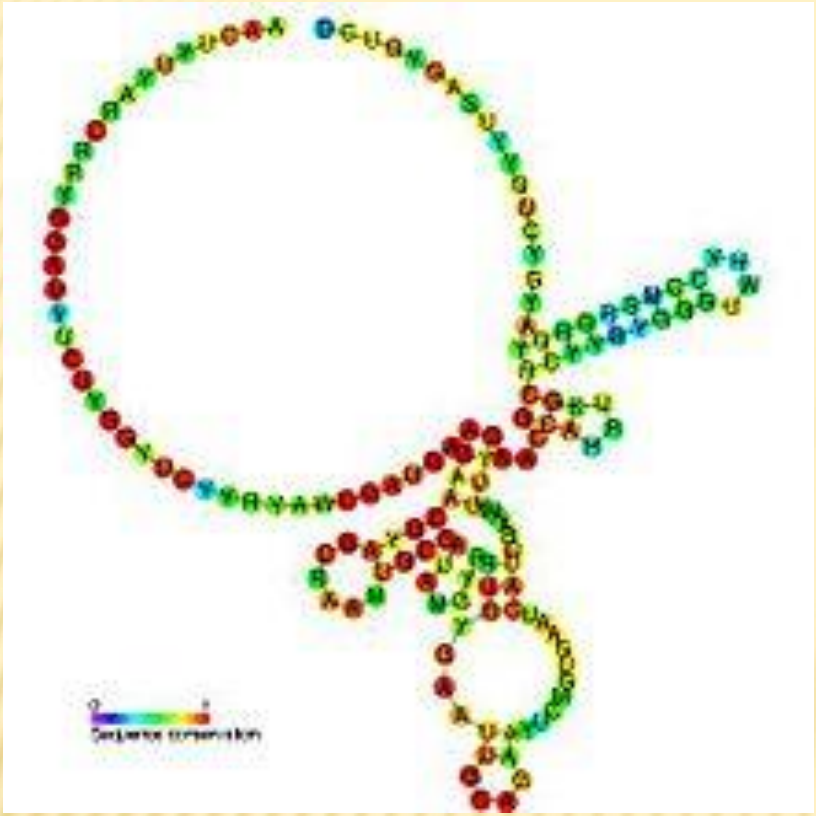


Épingle à cheveux au niveau de l'ARN

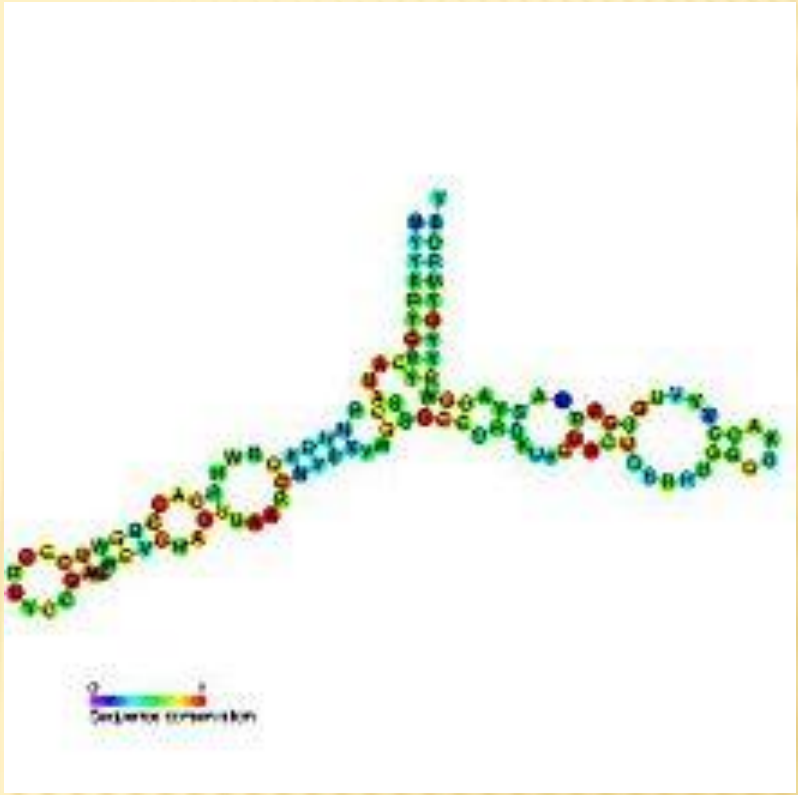

SYNTHESE DES ARN RIBOSOMAUX
ADN nucléolaire
ARNr précurseur 45S
5'
3'
Épissage
ARNr 18S
ARN 5,8S
ARNr 28S
ARNr 5S
Incorporé dans
la sous-unité 40S
Incorporé dans
la sous-unité 60S


fibre chromosomique
constituant granulaire
granule de 15 mm
constituant fibrillaire dense
gène en cours de transcription
hétérochromatine
associée au
nucléole
centre fibrillaire
gènes non transcrits

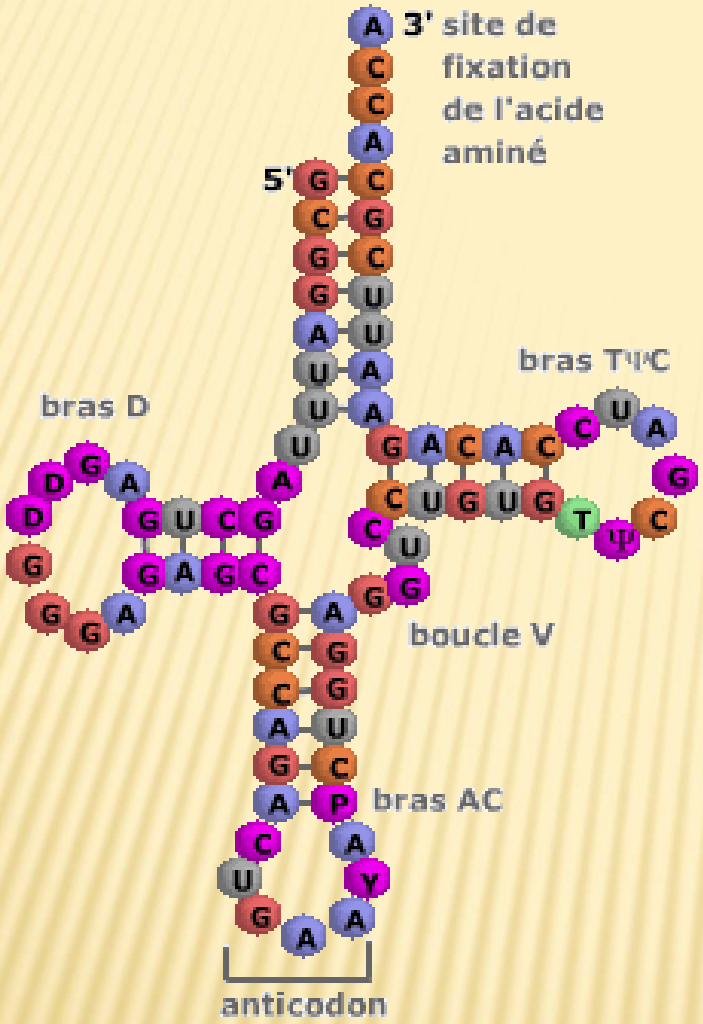

Début
du gène
Fin
du gène
"Espaceur"
(non transcrit)
Début du
gène suivant
molécule
d'ARN polymérase
(en rouge)
ARN 45S en cours
de transcription



L'ARNr 5,8S.



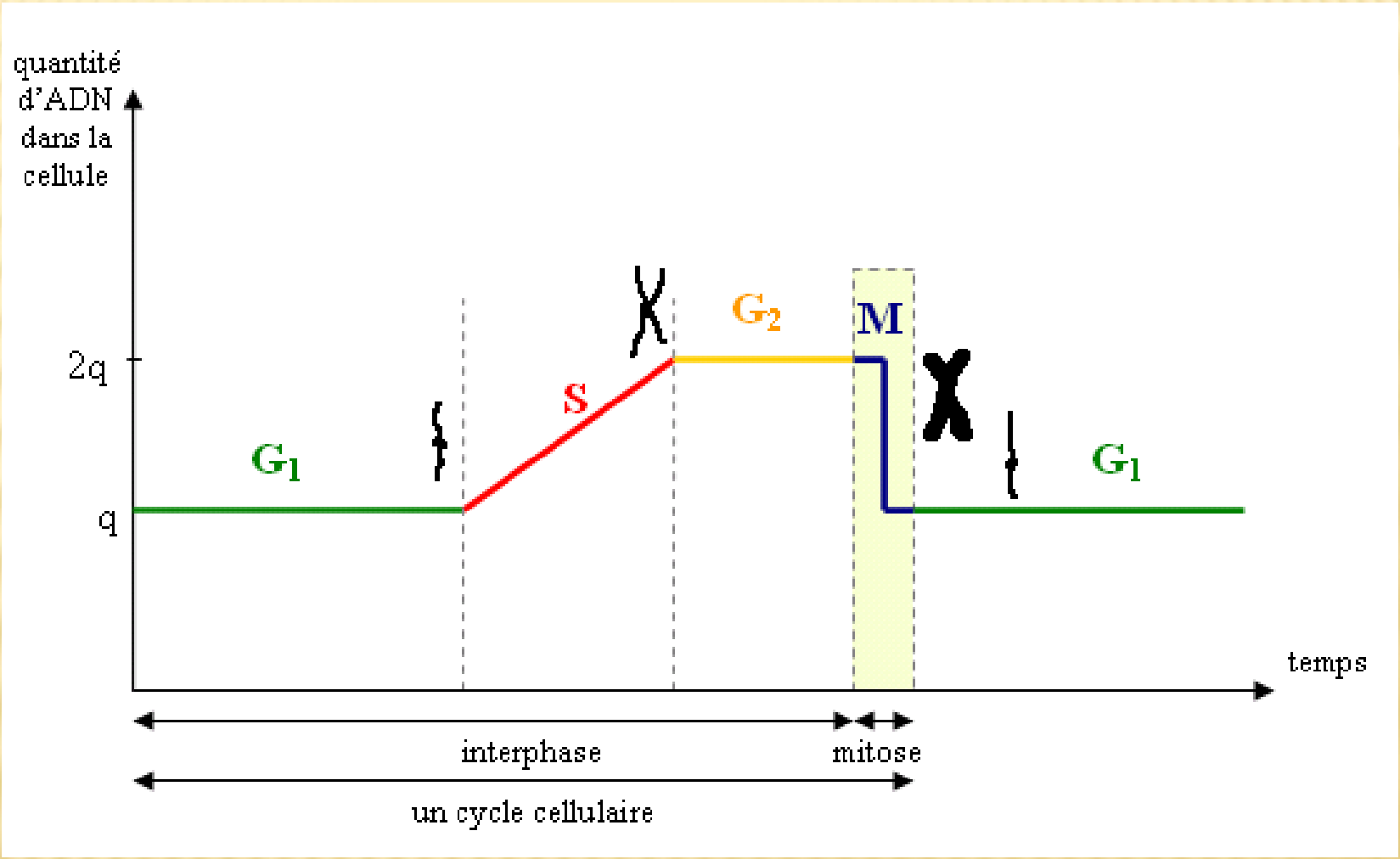
L' ARNr 5S

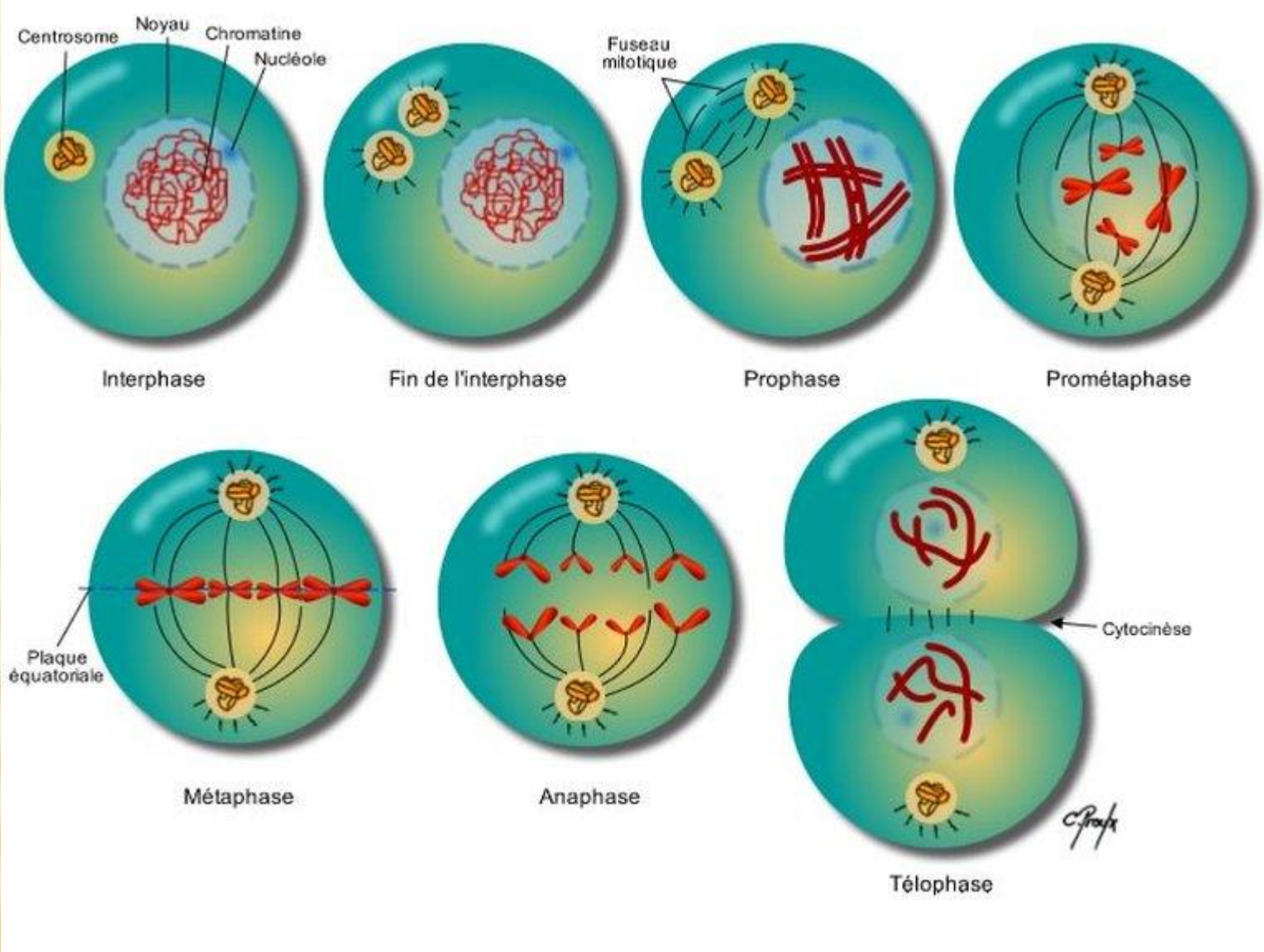

3' site de fixation de l'acide aminé
5'
bras TψC
bras D
boucle V
bras AC
anticodon

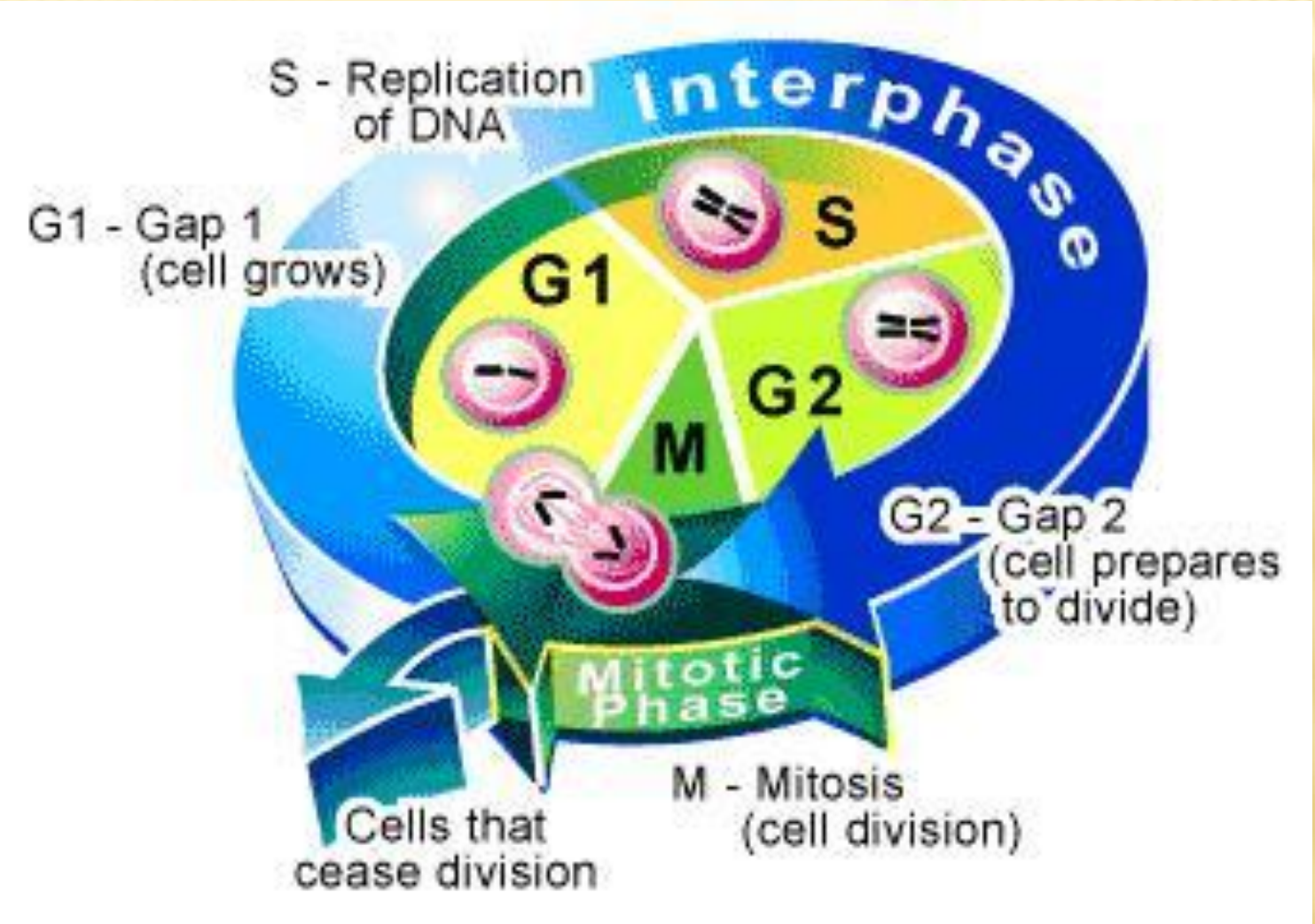

bras TψC
C C A 3'
5'
site de fixation de l'acide aminé
bras D
anticodon

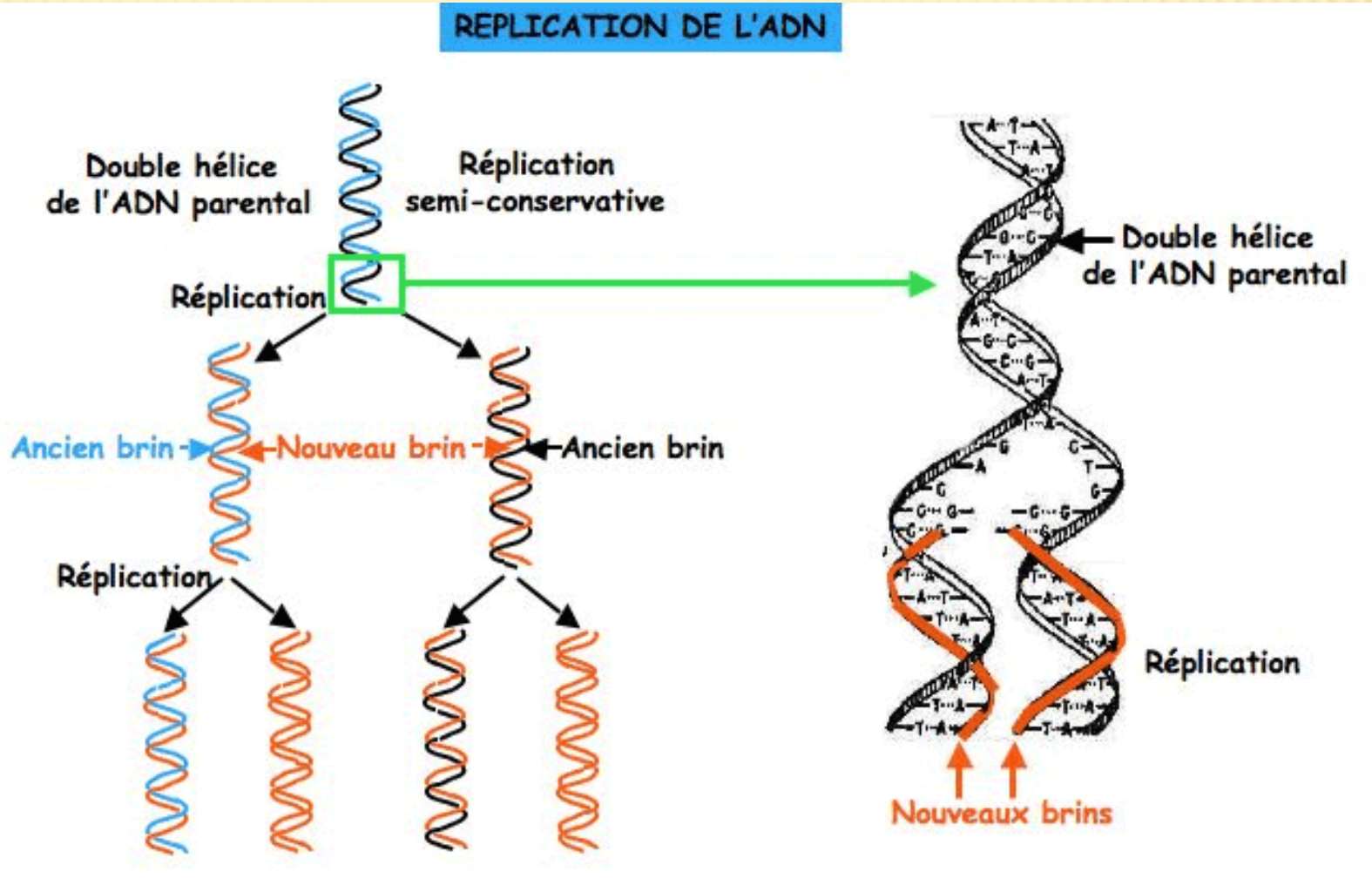
L'ARNt

LA REPLICATION DE L'ADN


quantité d'ADN dans la cellule
2q
q
G1
S
G2
M
G1
temps
interphase
mitose
un cycle cellulaire

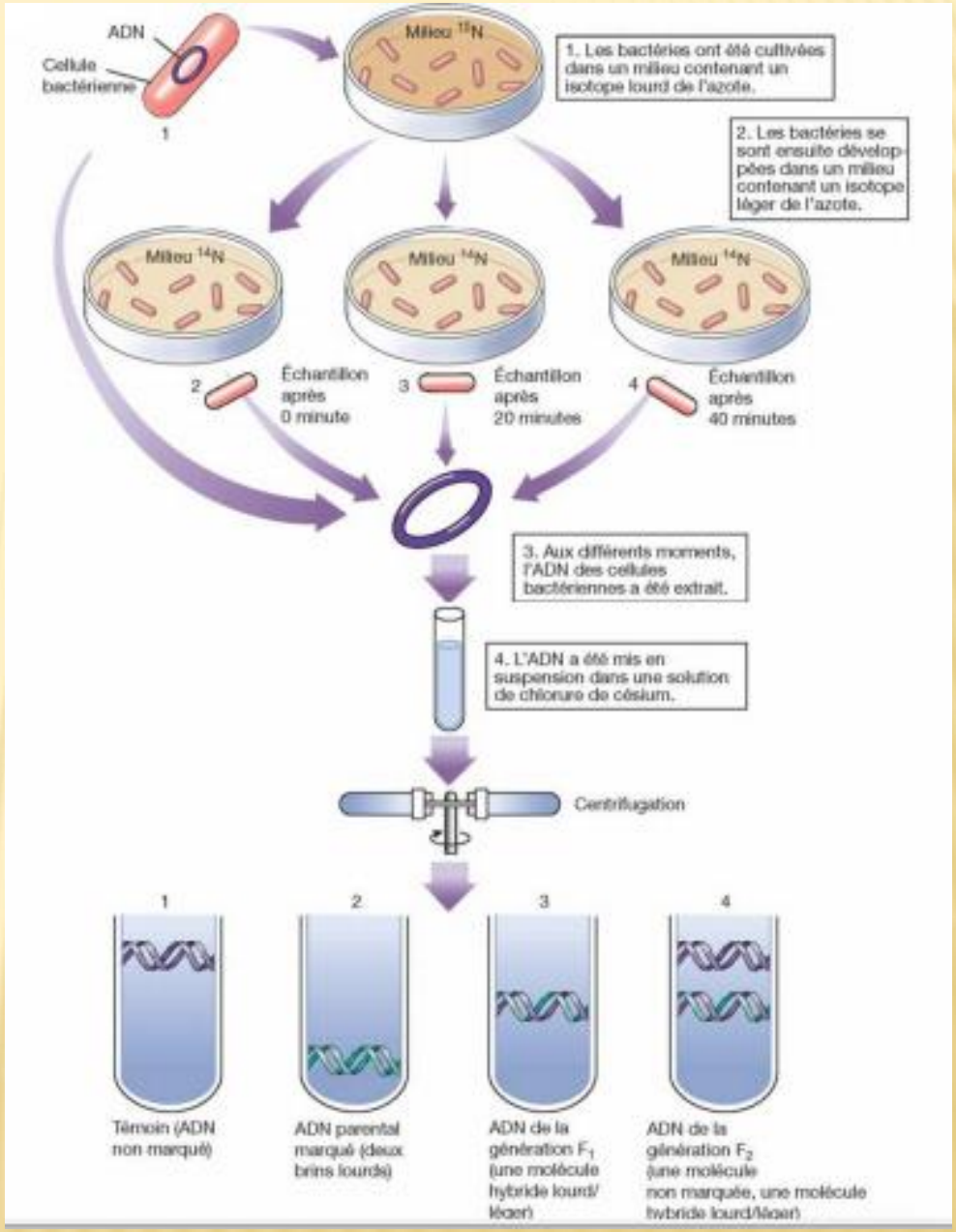

Centrosome
Noyau
Chromatine
Nucléole
Interphase
Fin de l'interphase
Fuseau mitotique
Prophase
Prométaphase
Plaque équatoriale
Métaphase
Anaphase
Cytocinèse
Télophase


S - Replication of DNA
Interphase
G1 - Gap 1 (cell grows)
G1
S
G2
M
G2 - Gap 2 (cell prepares to divide)
Mitotic Phase
M - Mitosis (cell division)
Cells that cease division



Réplication semi conservatrice de l'ADN

Expérience de Meselson-Stahl prouvant que la réplication est semi-conservative:



EXPERIENCE DE MESELSON ET STAHL (1958)

❶ Culture de bactéries *E. coli* pendant 14 générations dans un milieu, en présence de $^{15}NH_4Cl$ (chlorure d'ammonium) dont l'azote est l'isotope lourd ^{15}N.

❷ Extraction et purification de l'ADN, à partir d'un aliquot de la culture.

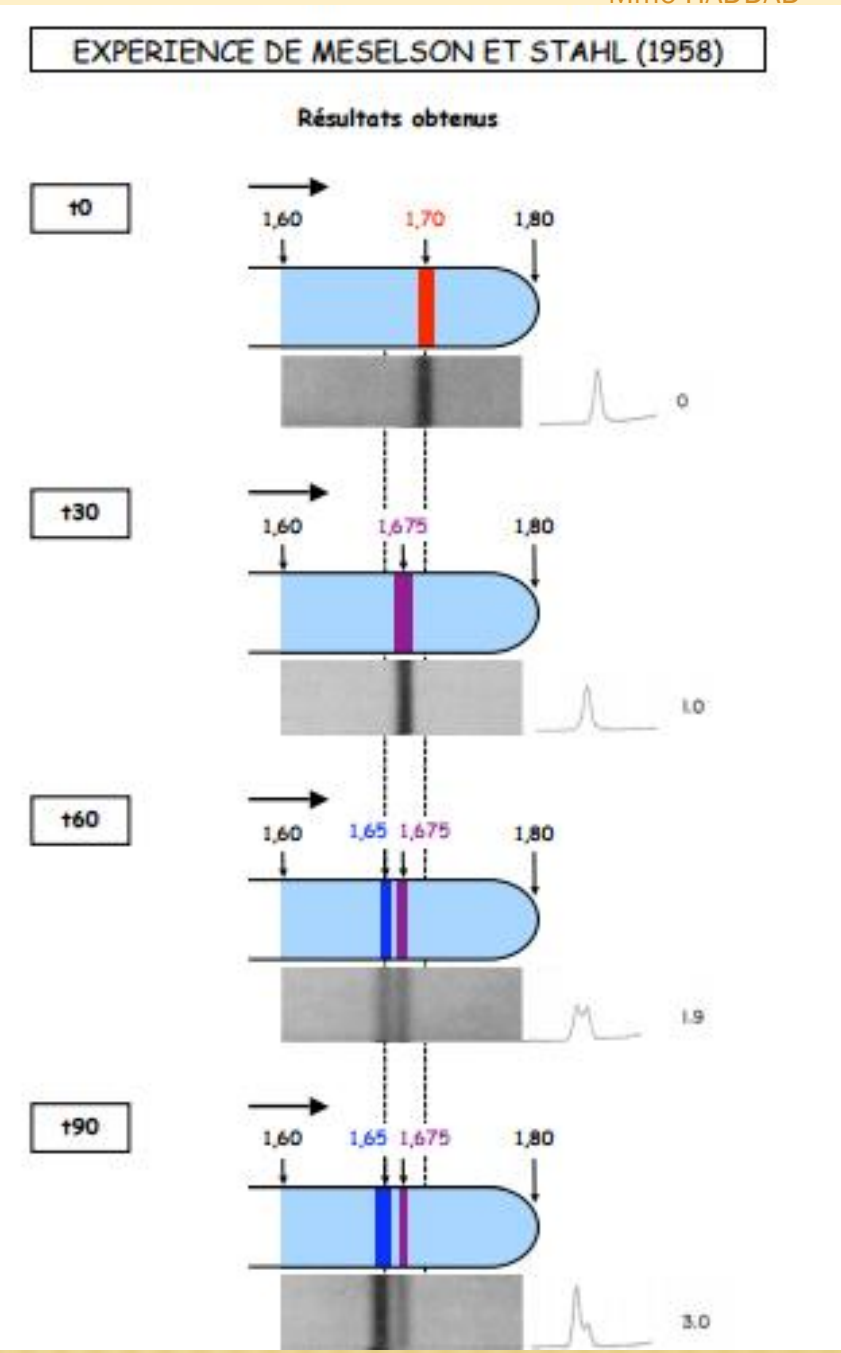
❸ Analyse de l'ADN par ultracentrifugation dans un gradient de CsCl (chlorure de césium) à 45 000 rpm pendant 20h et visualisation sous rayonnement UV.

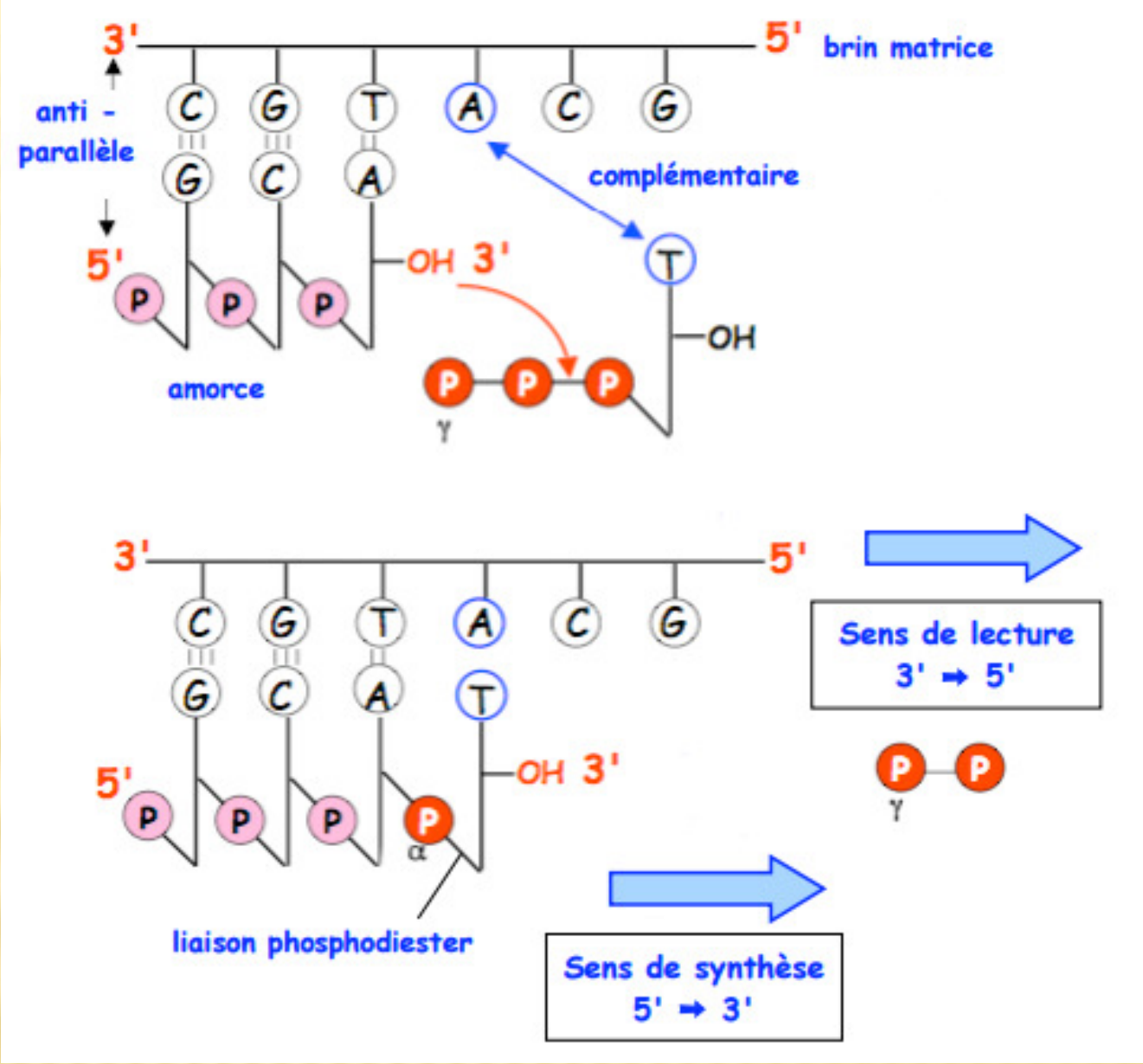
❹ Transfert et synchronisation de la culture dans un milieu, en présence de $^{14}NH_4Cl$ dont l'azote est l'isotope léger ^{14}N = t0 de l'expérience

❺ Prélèvement à intervalles réguliers (toutes les 30 mn, soit le temps de génération bactérienne dans ces conditions de culture) d'un aliquot de culture.

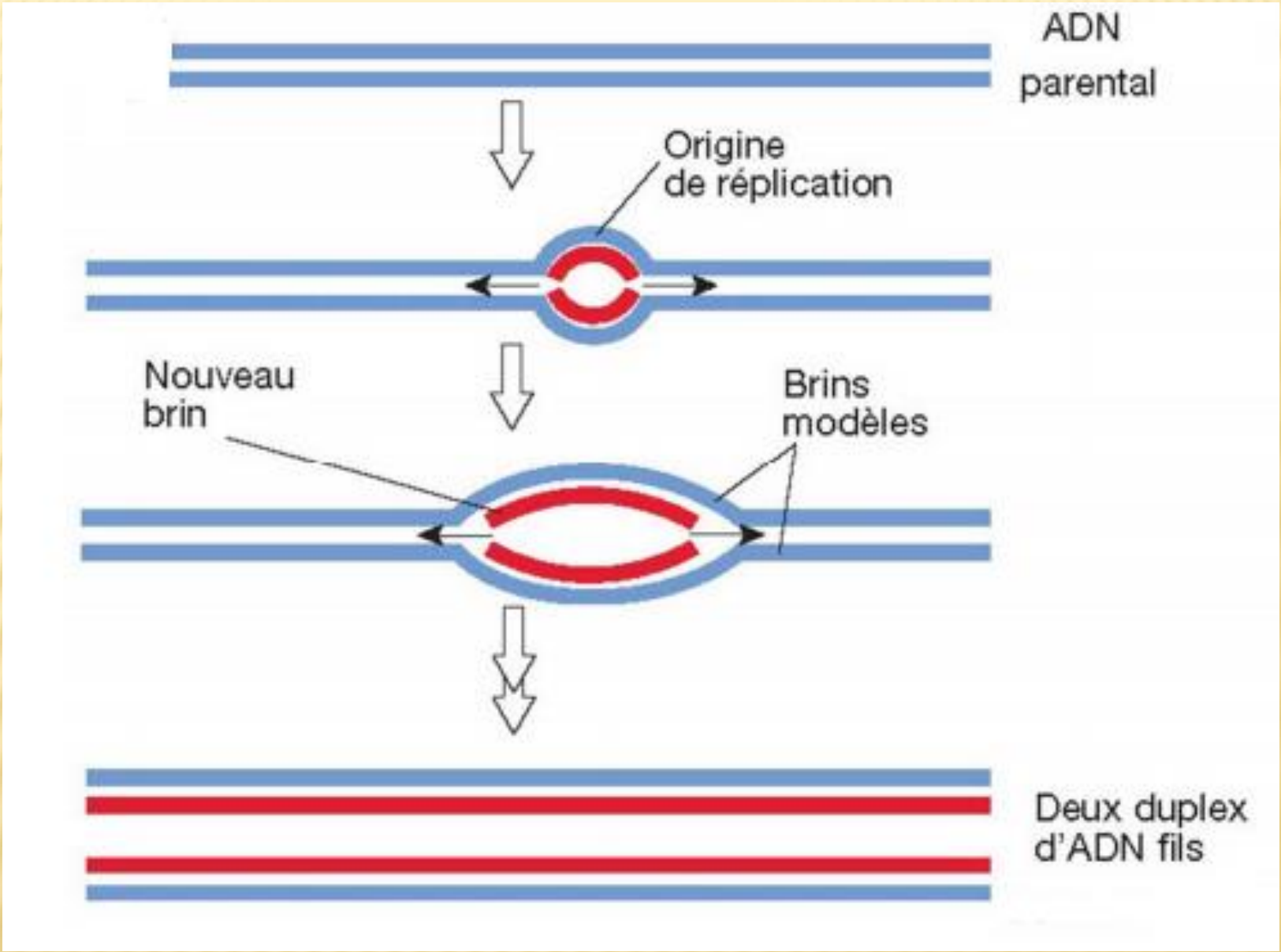
❻ Extraction et purification de l'ADN

❼ Analyse de l'ADN par ultracentrifugation dans un gradient de CsCl (chlorure de césium) à 45 000 rpm pendant 20h et visualisation sous rayonnement UV.

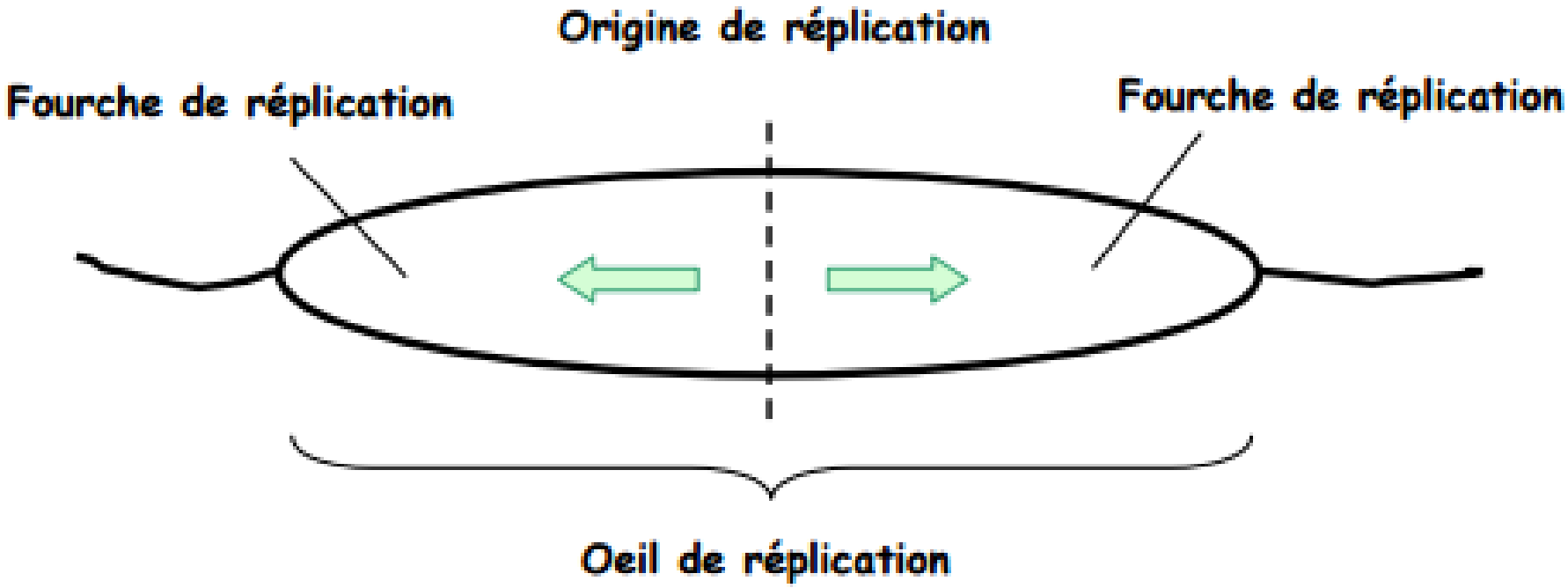

EXPERIENCE DE MESELSON ET STAHL (1958)
Résultats obtenus
t0
1,60
1,70
1,80
0
t30
1,60
1,675
1,80
1.0
t60
1,60
1,65
1,675
1,80
1.9
t90
1,60
1,65
1,675
1,80
3.0

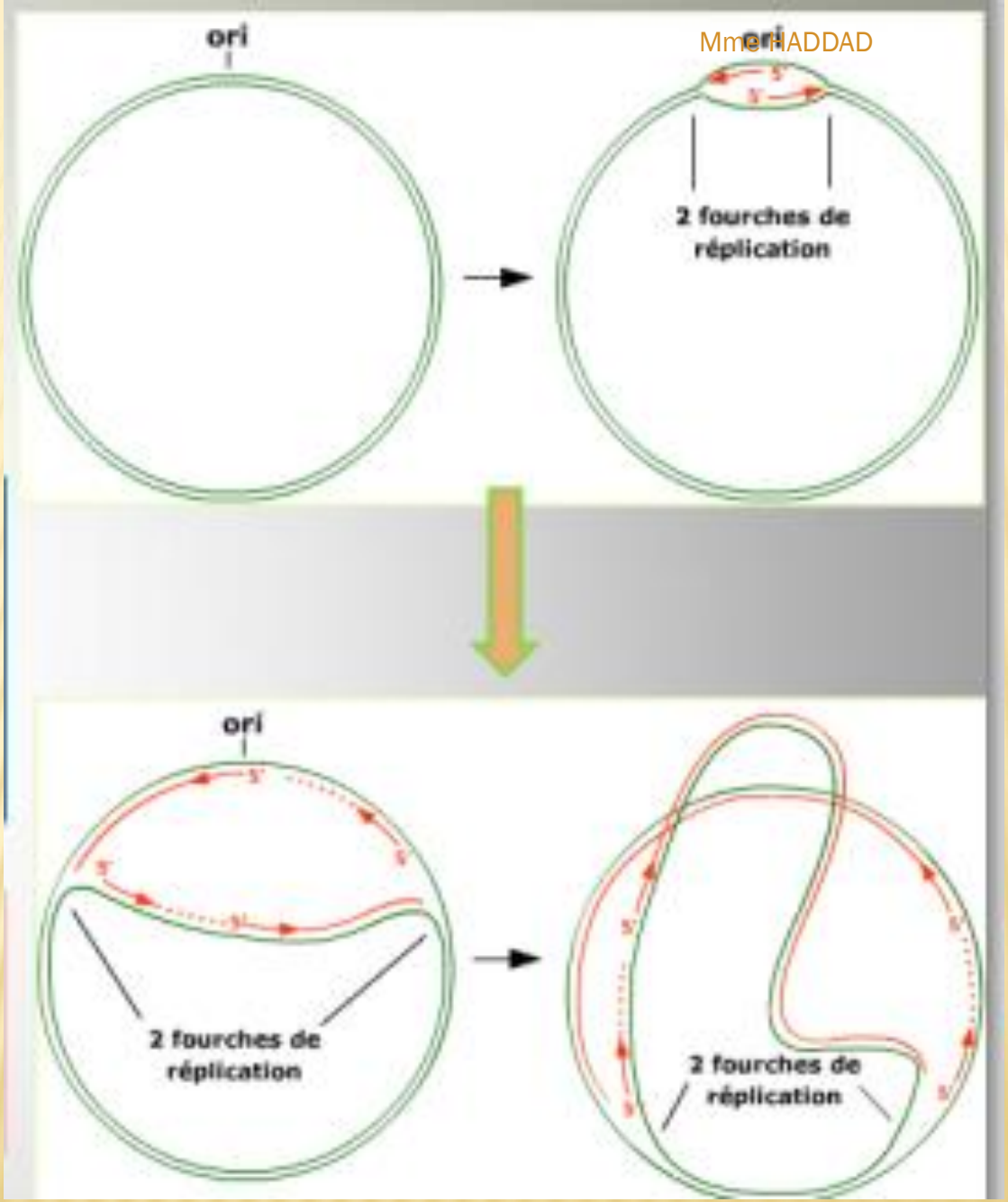


La réplication de l'ADN utilise des nucléotides tri phosphates



Réplication bidirectionnelle de l'ADN

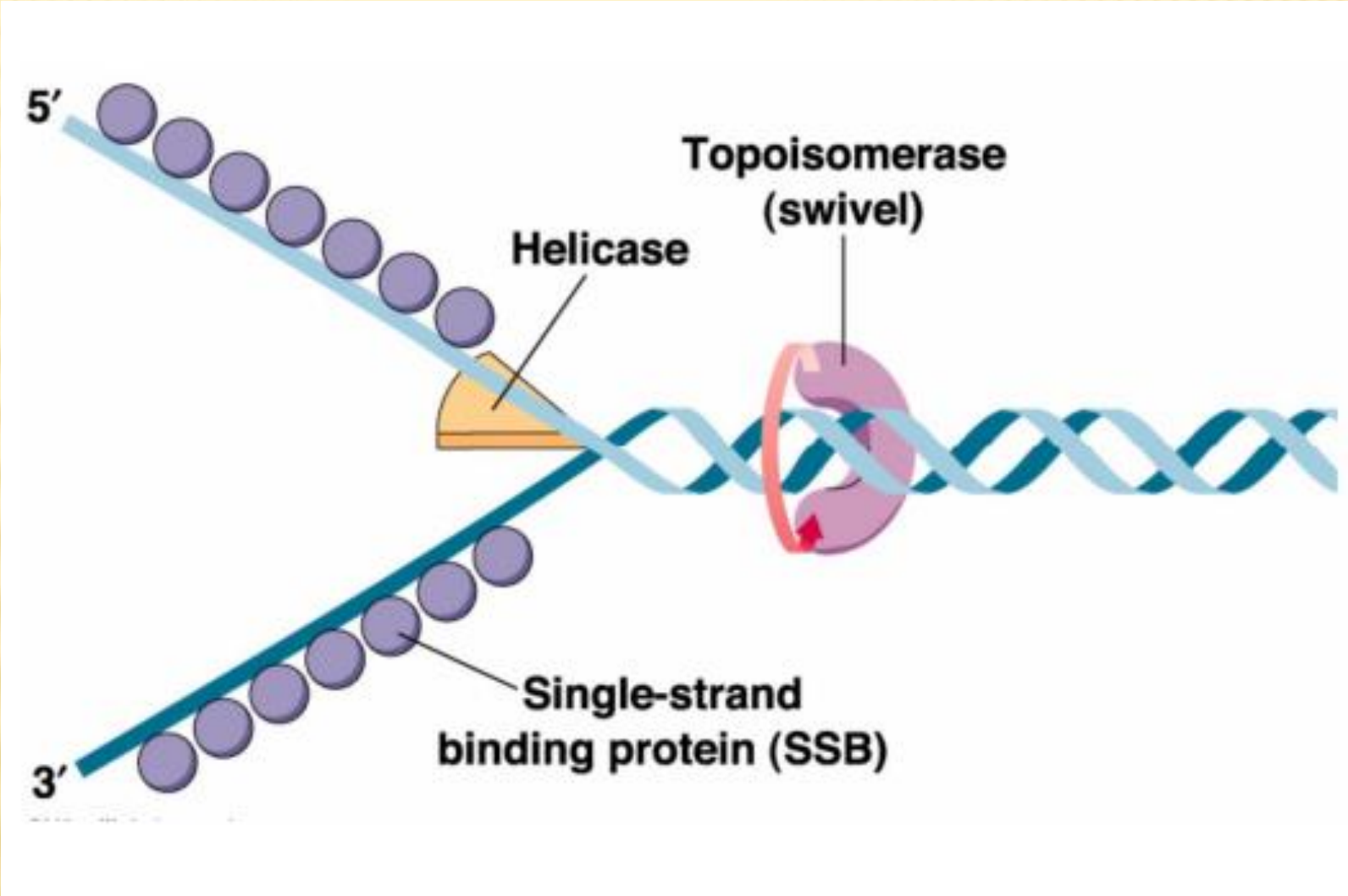

Origine de réplication
Fourche de réplication
Fourche de réplication
Oeil de réplication



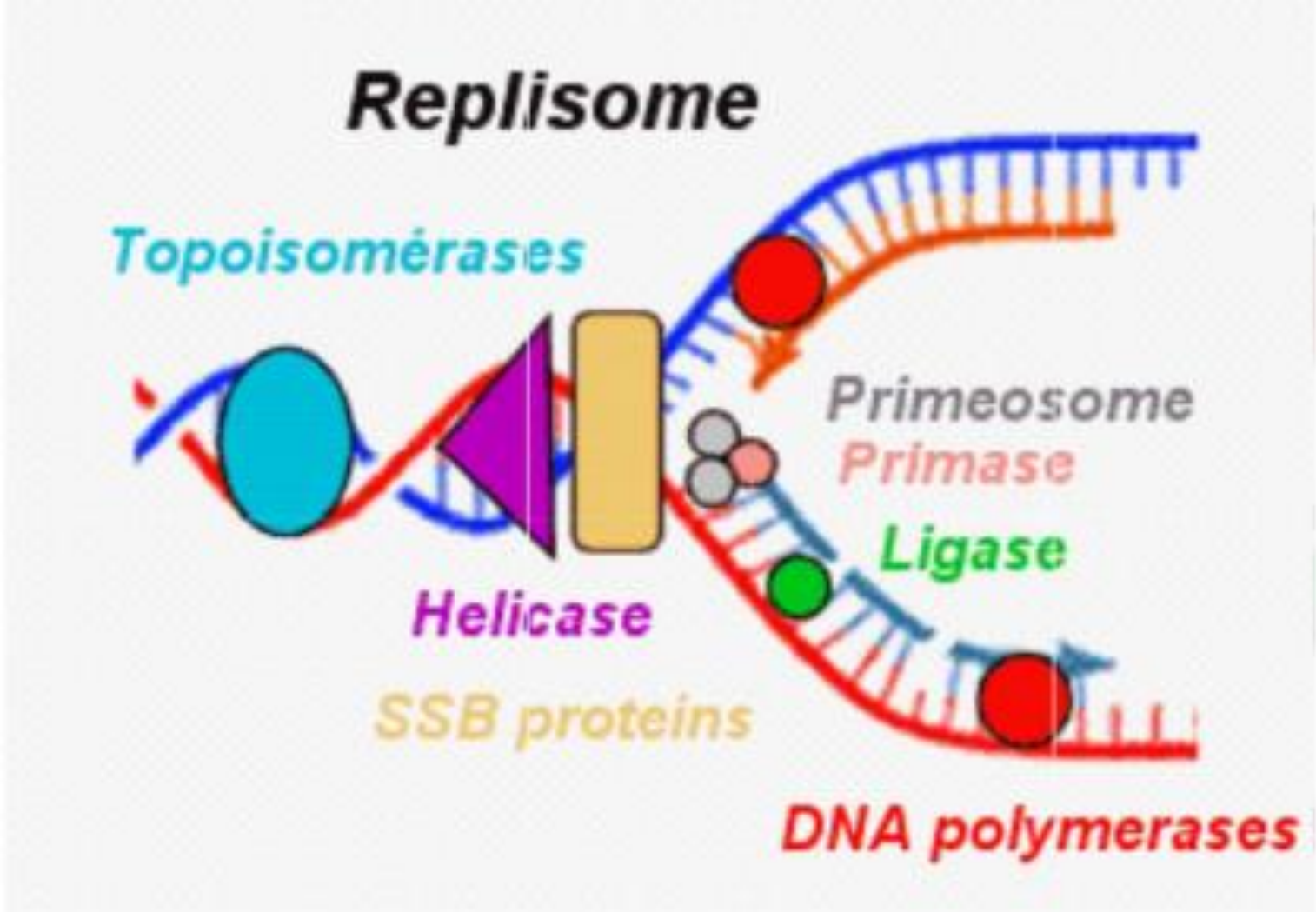
Réplication bidirectionnelle de l'ADN

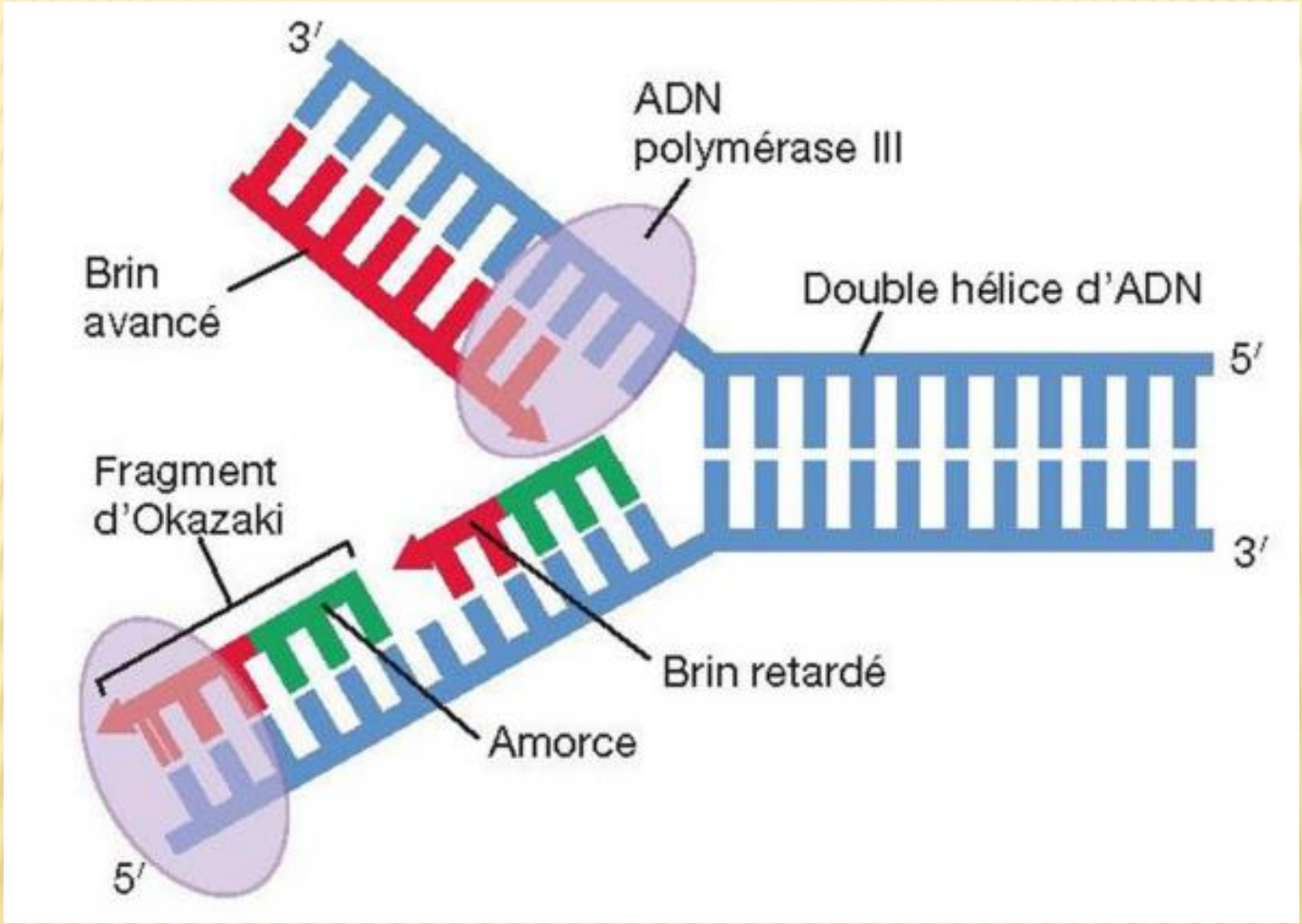
Enzymes de la réplication

Enzyme	Fonction
ADN polymérase III (pol III)	Principales enzymes de polymérisation
ADN polymérase I (pol I)	Excise l'amorce ARN et remplit les trous
Hélicase (dnaB)	Déroule la double hélice à la fourche de réplication
Primase (dnaG)	Amorce les nouveaux brins d'ADN
Protéines se liant à l'origine de réplication (dnaA)	Facilite la fusion pour ouvrir le complexe
Protéines se liant à l'ADN simple brin (Ssb)	Empêche le réappariement des brins de l'hélice ouverte
ADN ligase (ligA, ligB)	Soude les coupures dans l'ADN
Gyrase	Réduit les torsades formées par la progression de la fourche et catalyse le superenroulement de l'ADN répliqué



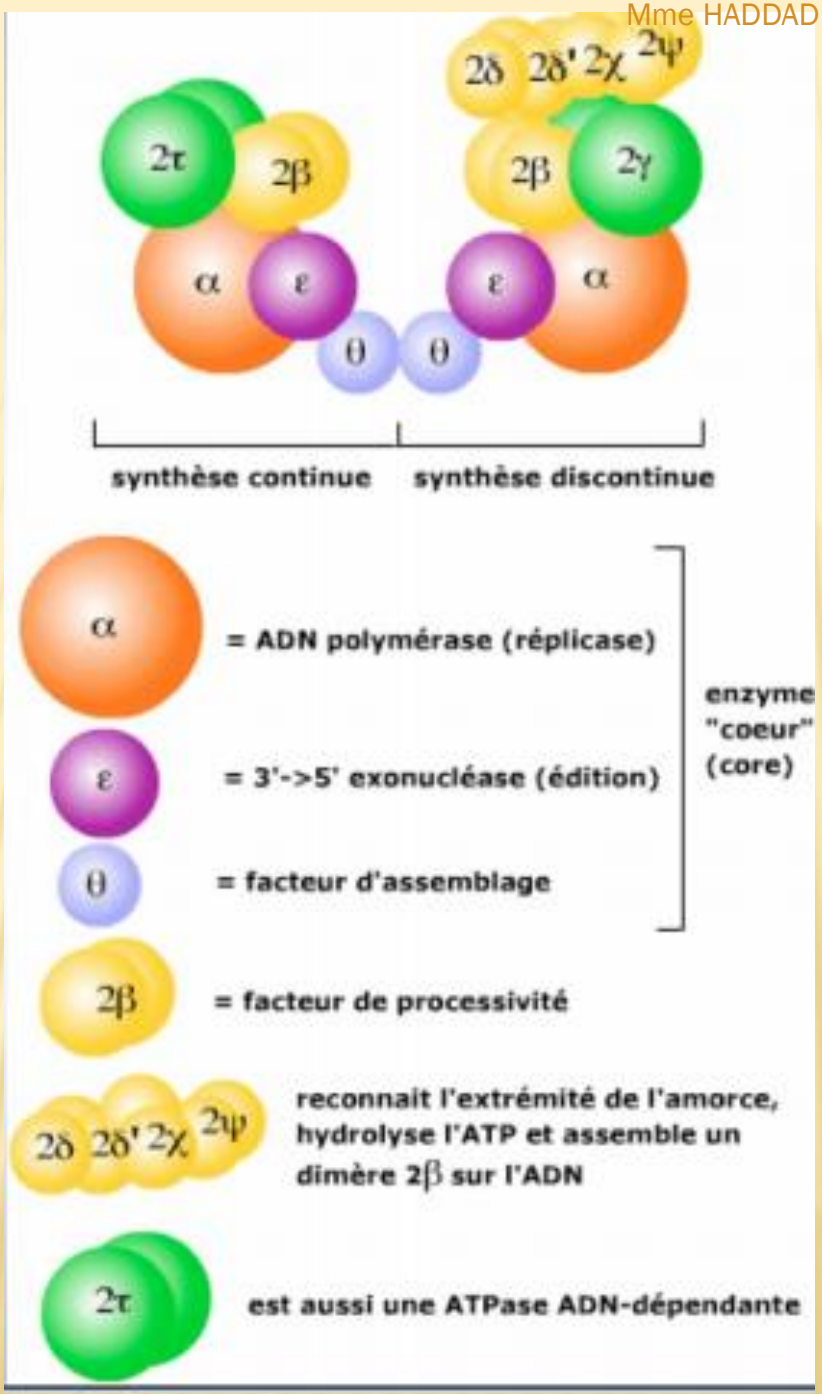
Enzymes de la réplication

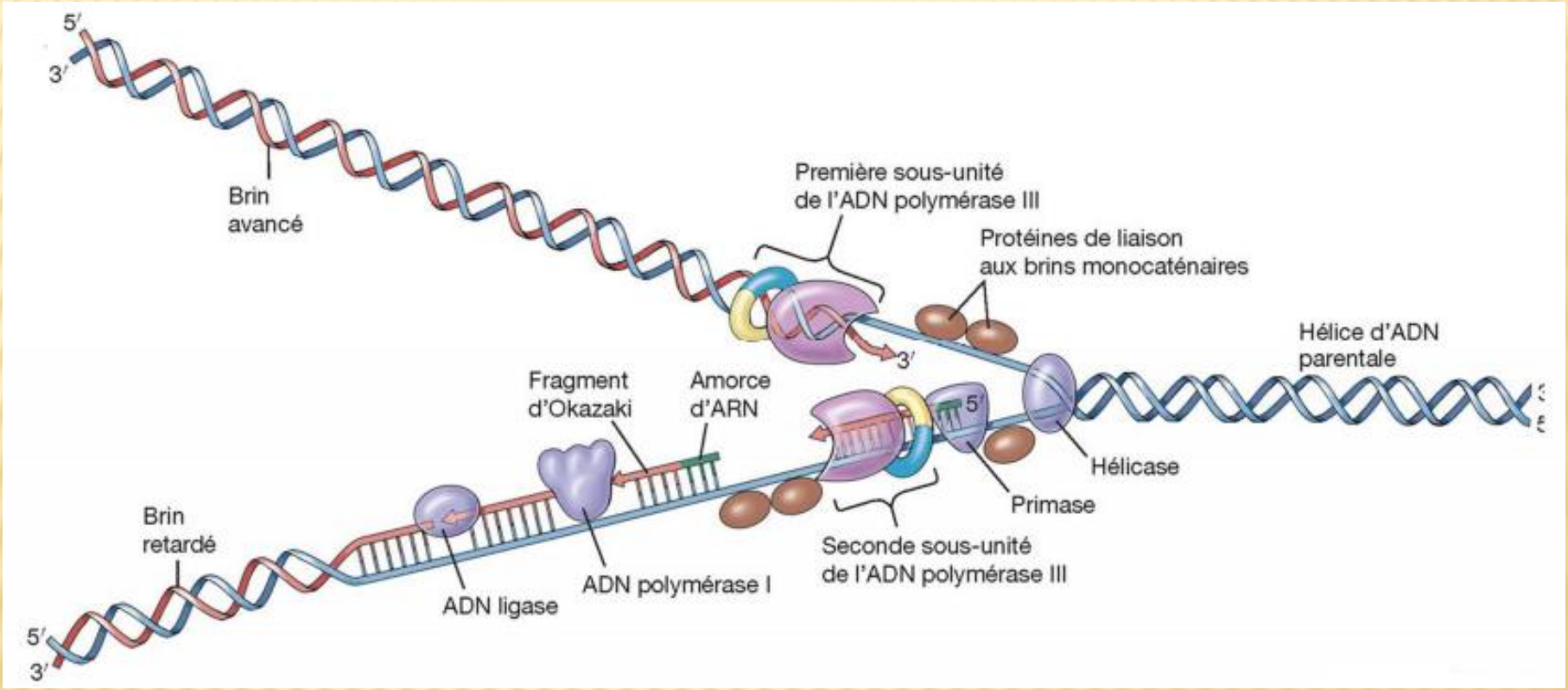

Replisome
Topoisomérases
Primeosome
Primase
Ligase
Helicase
SSB proteins
DNA polymerases

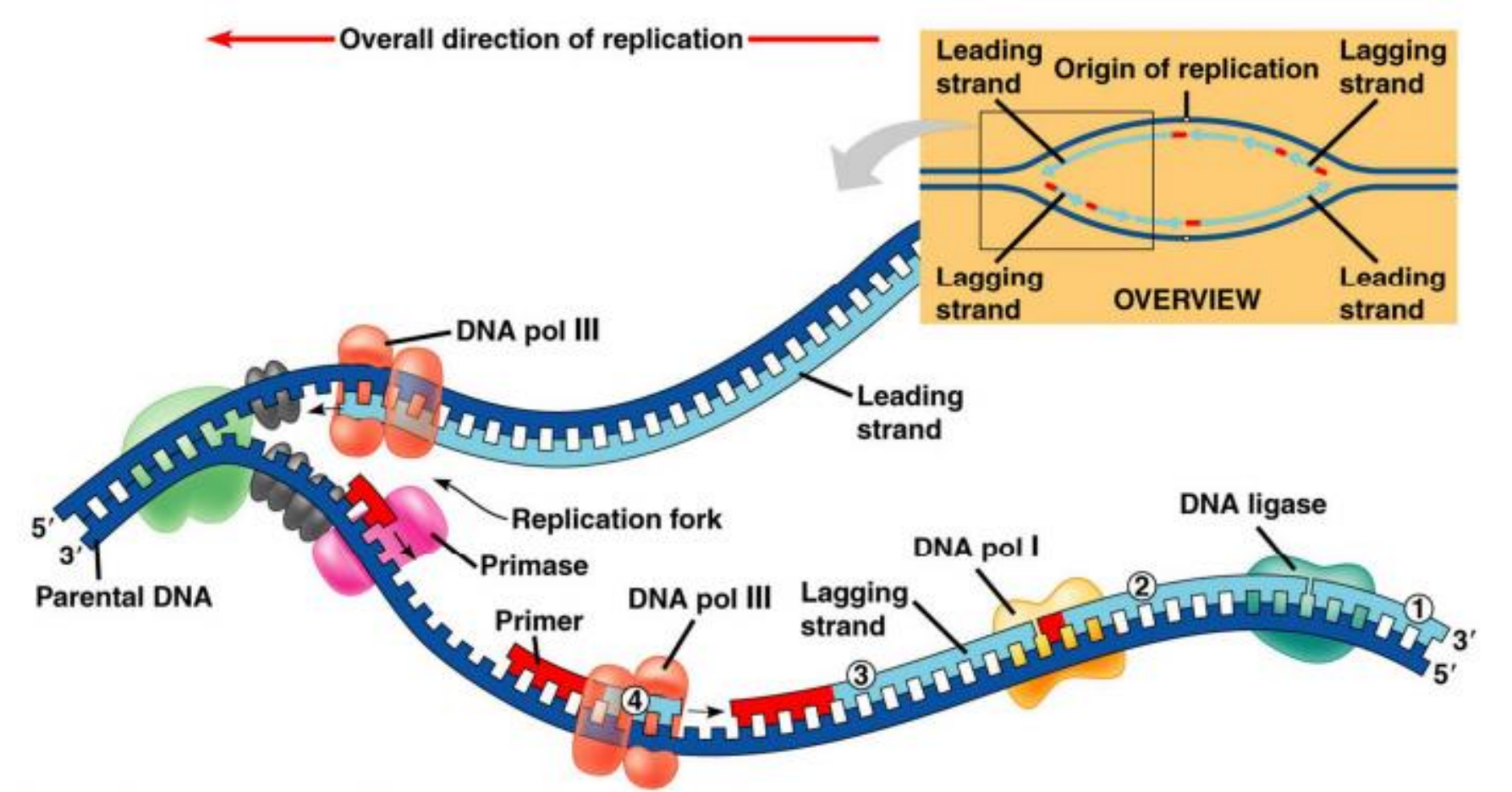


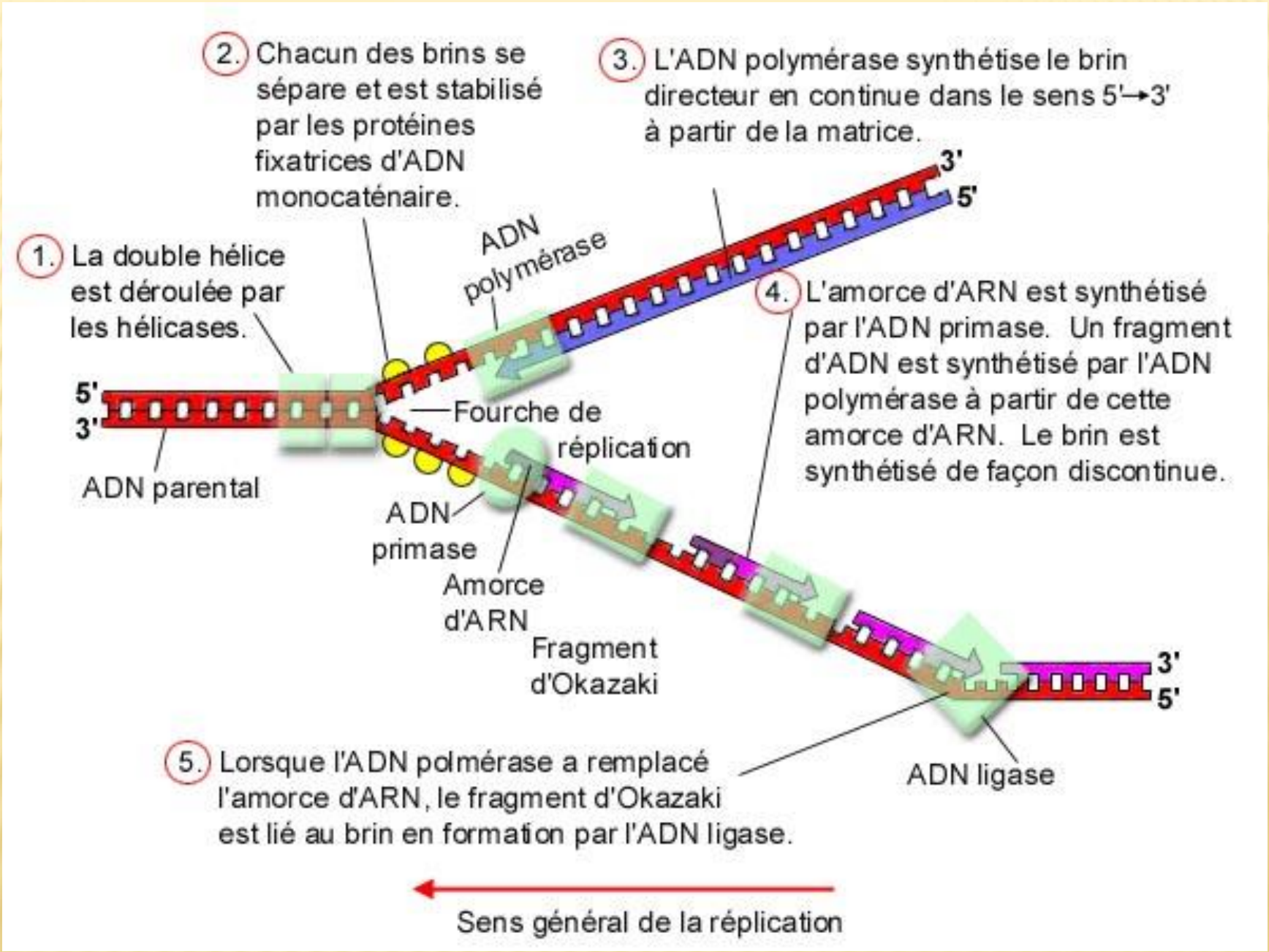
Réplication continue et discontinue

ADN pol III


2δ 2δ' 2χ 2ψ
2τ
2β
2β
2γ
α
ε
ε
α
θ
θ
synthèse continue
synthèse discontinue
α
= ADN polymérase (réplicase)
ε
= 3'->5' exonucléase (édition)
θ
= facteur d'assemblage
enzyme "coeur" (core)
2β
= facteur de processivité
2δ 2δ' 2χ 2ψ
reconnait l'extrémité de l'amorce, hydrolyse l'ATP et assemble un dimère 2β sur l'ADN
2τ
est aussi une ATPase ADN-dépendante


5′
3′
Brin
avancé
Première sous-unité
de l'ADN polymérase III
Protéines de liaison
aux brins monocaténaires
Hélice d'ADN
parentale
3′
Fragment
d'Okazaki
Amorce
d'ARN
5′
Hélicase
Primase
Brin
retardé
Seconde sous-unité
de l'ADN polymérase III
ADN ligase
ADN polymérase I
5′
3′


Overall direction of replication
Leading strand
Origin of replication
Lagging strand
Lagging strand
OVERVIEW
Leading strand
DNA pol III
Leading strand
Replication fork
5′
3′
Parental DNA
Primase
Primer
DNA pol III
DNA pol I
DNA ligase
Lagging strand
1
2
3
4
3′
5′


2. Chacun des brins se sépare et est stabilisé par les protéines fixatrices d'ADN monocaténaire.
3. L'ADN polymérase synthétise le brin directeur en continue dans le sens 5'→3' à partir de la matrice.
3'
5'
ADN polymérase
1. La double hélice est déroulée par les hélicases.
4. L'amorce d'ARN est synthétisé par l'ADN primase. Un fragment d'ADN est synthétisé par l'ADN polymérase à partir de cette amorce d'ARN. Le brin est synthétisé de façon discontinue.
5'
3'
Fourche de réplication
ADN parental
ADN primase
Amorce d'ARN
Fragment d'Okazaki
3'
5'
5. Lorsque l'ADN polmérase a remplacé l'amorce d'ARN, le fragment d'Okazaki est lié au brin en formation par l'ADN ligase.
ADN ligase
Sens général de la réplication

Comparaison des différentes polymérases

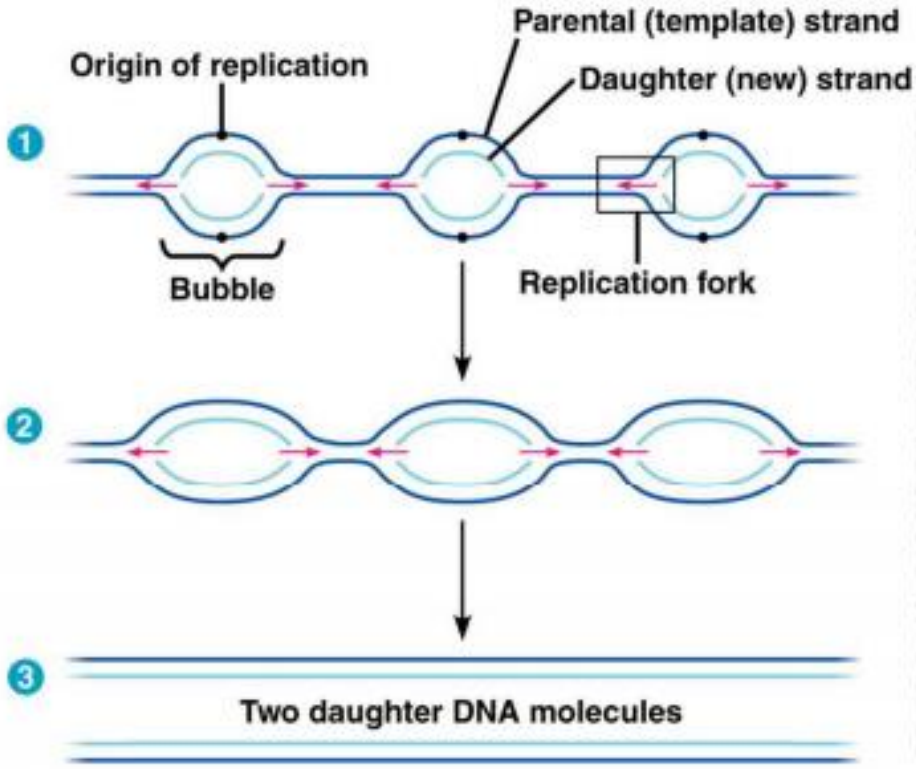
Fonction	Type I	Type III
Polymérase 5'->3'	+	+
Exonucléase 3'->5'	+	+
Exonucléase 5'->3'	+	-
Matrice amorce:		
Double brin	-	-
Simple brin + amorce	+	+
Double brin avec coupure	+	-
Activités		
Vitesse (Kpb/min)	0,67	100
Nombre (molécules/cellule)	400	10 à 20

ADN pol III rapides, peu nombreuses et moins versatiles au niveau de l'exonucléase

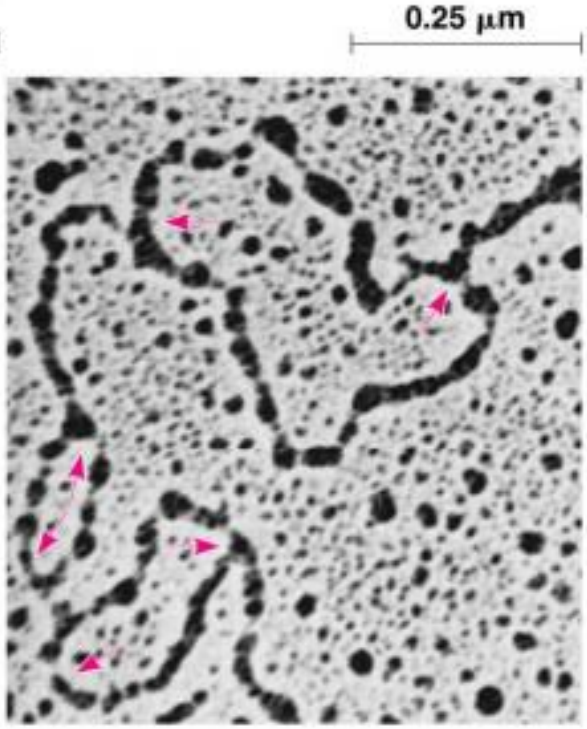
↓

Réplication et mécanisme d'autocorrection

L'ADN pol I étant très présente mais lente et pouvant facilement exonucléer, elle assurerait donc un rôle de réparateur de l'ADN.



(a) In eukaryotes, DNA replication begins at many sites along the giant DNA molecule of each chromosome.



(b) In this micrograph, three replication bubbles are visible along the DNA of a cultured Chinese hamster cell (TEM).

Réplication chez les eucaryotes

The Biochemical Properties of Eukaryotic DNA Polymerases

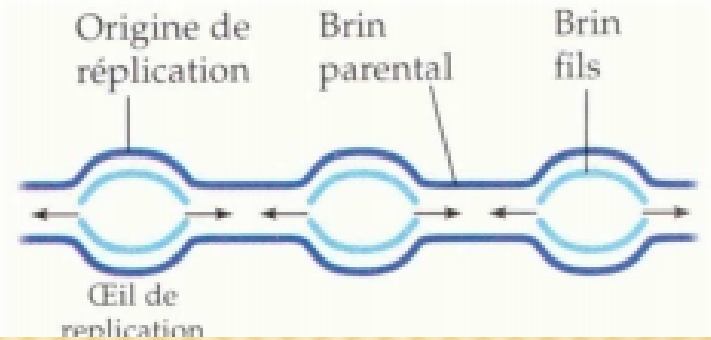
	α	δ	ε	β	γ
Mass (kDa)					
Native	>250	170	256	36-38	160-300
Catalytic core	165-180	125	215	36-38	125
Other subunits	70. 50. 60	48	55	None	35, 47
Location	Nucleus	Nucleus	Nucleus	Nucleus	Mitochondria
Associated functions					
$3' \rightarrow 5'$ exonulcease	No	Yes	Yes	No	Yes
Primase	Yes	No	No	No	No
Properties					
Processivity	Low	High	High	Low	High
Fidelity	High	High	High	Low	High
Replication	Yes	Yes	Yes	No	Yes
Repair	No	?	Yes	Yes	No

Polymerase	Function	Exonuclease Actvity
α	Synthesizes the RNA primer, initiations DNA synthesis and the lagging strand	None
β	Repair DNA	None
γ	Replicate mitochondrial DNA	3’ to 5’
δ	Synthesizes the leading strand, filling DNA gaps after removal of primer	3’ to 5’
ε	Repair DNA	3’ to 5’

La vitesse de réplication de l'ADN:

- **homme**: env. **50 nucléotides/seconde**
- **procaryotes**: env. **500 nucléotides/seconde**.

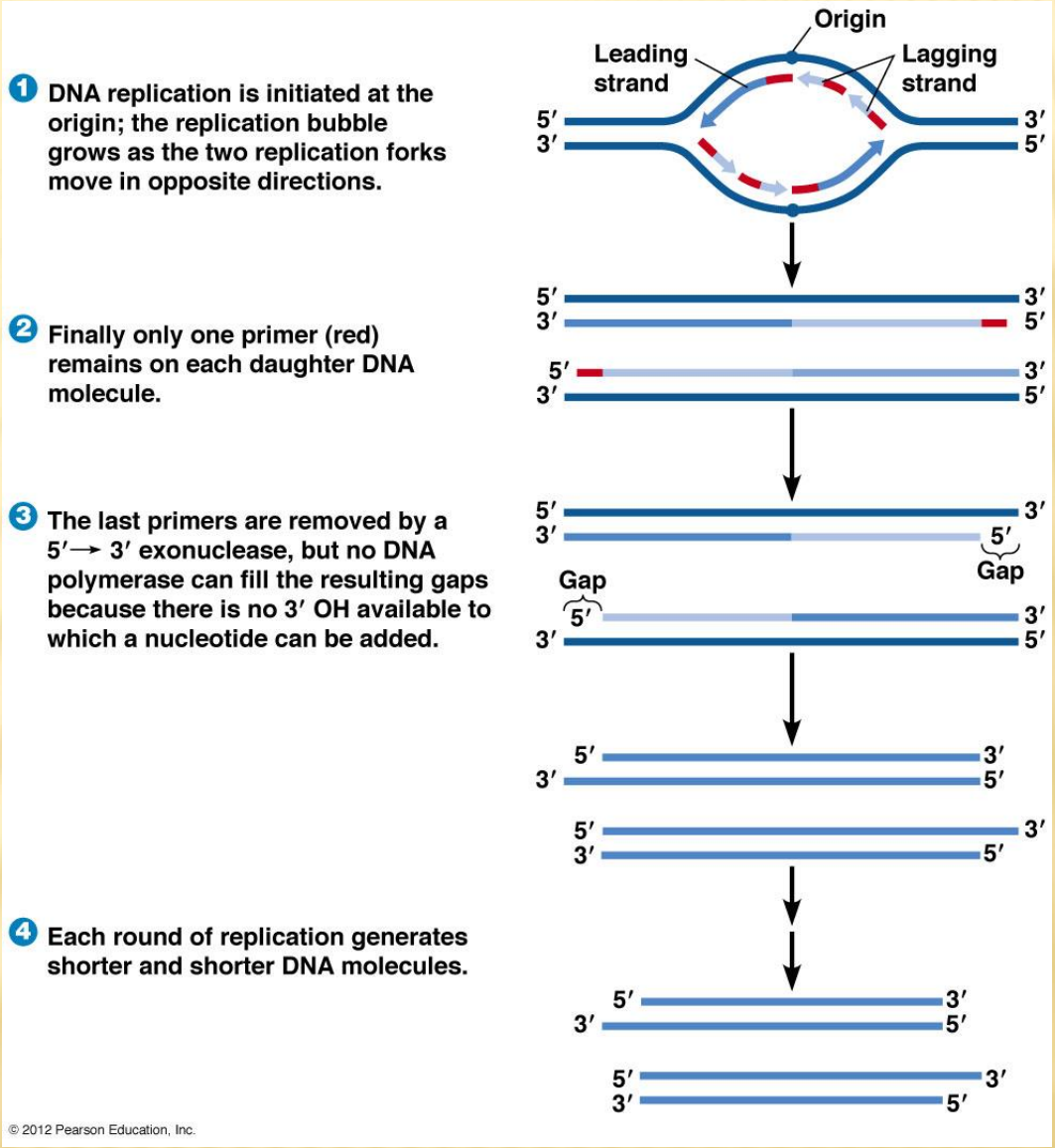
- cellules eucaryotes **amplifient la vitesse** de réplication en faisant apparaître **plusieurs oeils de réplication** sur la même molécule

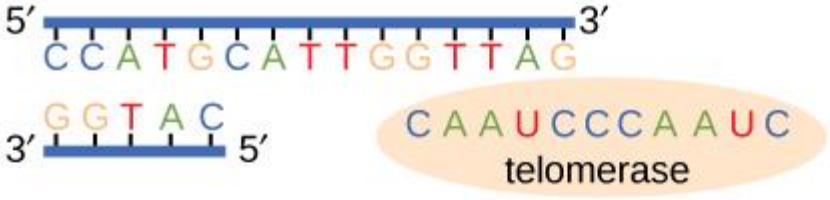


Les télomères comportent des séquences répétitives d'ADN, qui assurent une protection des terminaisons chromosomiques. Ils évitent que le chromosome ne s'effiloche et que son extrémité ne soit considérée comme une rupture du double brin d'ADN, ce qui pourrait conduire à des soudures de chromosomes par fusion de leurs télomères respectifs.

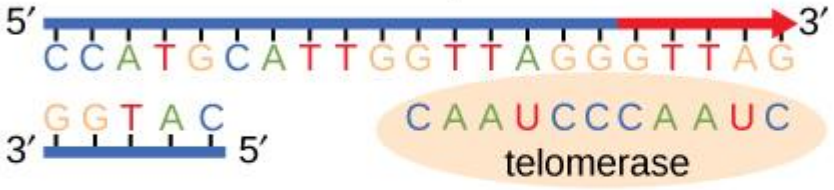
Dans tous les organismes étudiés, le brin riche en guanines (G-riche), correspondant à l'extrémité 3', est plus long que le brin complémentaire riche en cytosines (C-riche), créant ainsi une extension simple brin en 3' du chromosome

L'extension simple brin serait essentielle pour assurer la fonction de capuchon protecteur des télomères au niveau des chromosomes et, par conséquent, de l'ensemble du génome

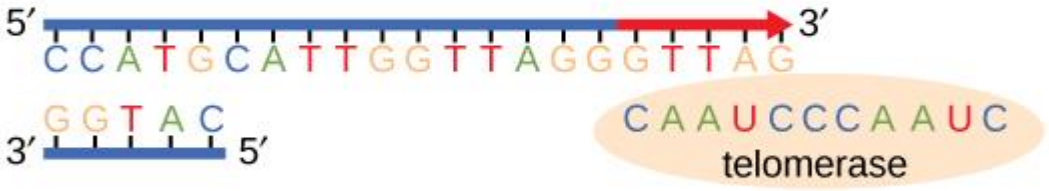

1 DNA replication is initiated at the origin; the replication bubble grows as the two replication forks move in opposite directions.
2 Finally only one primer (red) remains on each daughter DNA molecule.
3 The last primers are removed by a 5′→ 3′ exonuclease, but no DNA polymerase can fill the resulting gaps because there is no 3′ OH available to which a nucleotide can be added.
4 Each round of replication generates shorter and shorter DNA molecules.
Origin
Leading strand
Lagging strand
5′
3′
Gap
© 2012 Pearson Education, Inc.



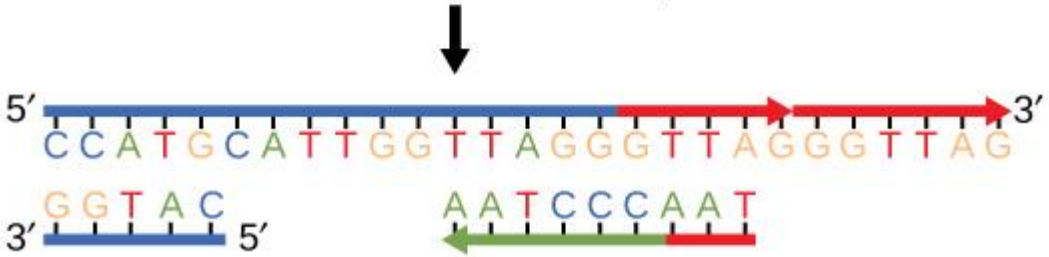
Telomerase has an associated RNA that complements the 3′ overhang at the end of the chromosome.



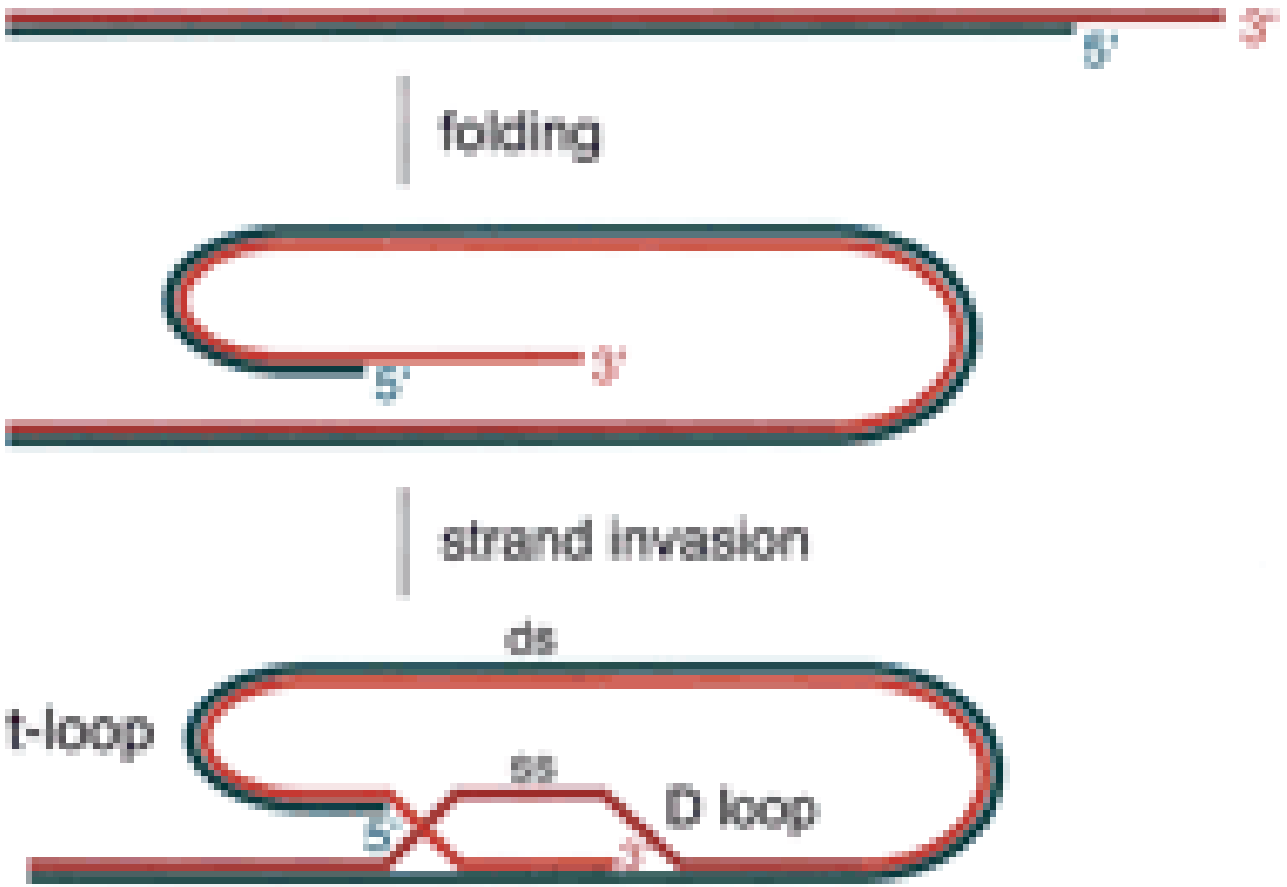
The RNA template is used to synthesize the complementay strand.



Telomerase shifts, and the process is repeated.



Primase and DNA polymerase syntesize the complementary strand.


folding
strand invasion
ds
t-loop
ss
D loop