

ADN de la cellule végétale eucaryote

I. Trois génomes différents dans la cellule végétale

Une plante verte contient trois types d'organites, le noyau, les mitochondries et les plastes qui répliquent, transcrivent et expriment leur information génétique de manière coordonnée.

L'existence d'une hérédité extranucléaire liée à un organite a été postulée par les études génétiques du feuillage panaché de certaines plantes (Baur et Correns, 1909), en liaison avec la topologie des chloroplastes verts que renferment leurs feuilles. L'analyse génétique de la distribution de caractères plastidiaux dans la descendance de plantes supérieures a montré ensuite leur répartition non mendélienne, ce qui ouvrit la voie aux notions d'hérédité maternelle et d'hérédité cytoplasmique.

Dans chaque cellule végétale coexistent et coopèrent **3 génomes**: celui du **noyau**, organisé en **chromosomes**, celui des **mitochondries**, les usines énergétiques sièges de la respiration (structuré en **ADN**), et celui des **chloroplastes**, ces organites spécifiques des végétaux où a lieu la photosynthèse (structuré en **ADN**) (Figure 1).

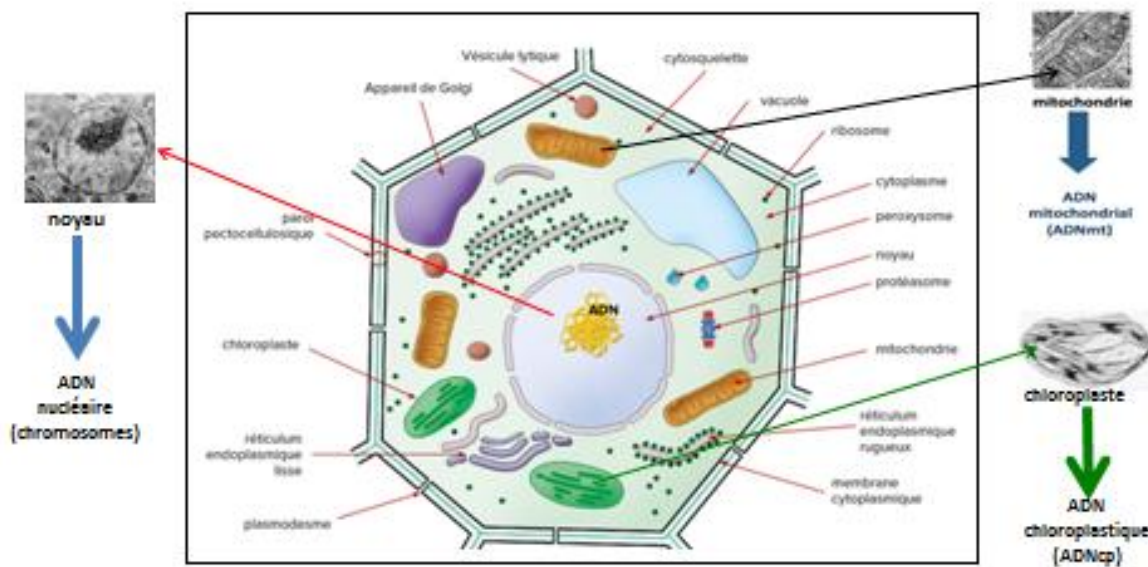


Figure 1. Localisation de l'information génétique dans une cellule végétale eucaryote

Le génome du noyau dit génome nucléaire représente 95 % de la totalité de l'information génétique nécessaire à la vie de la cellule végétale.

Le génome des mitochondries représente environ 1% de l'information génétique générale.

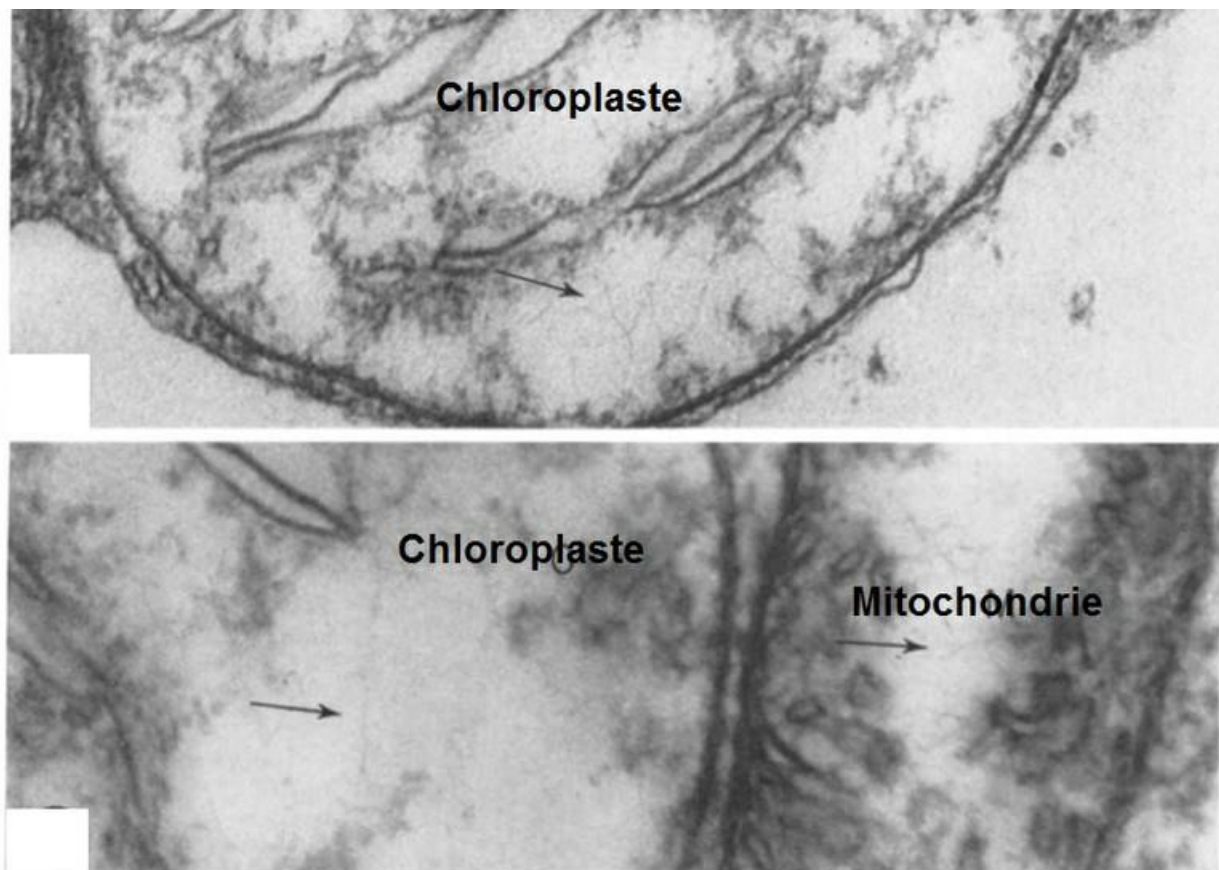
Quant au génome des chloroplastes, il représente à lui seul environ 4% de la totalité de l'information génétique.

On attribue à ces ADN mitochondriaux et chloroplastiques la responsabilité de l'hérédité de type **cytoplasmique**, donc de transmission maternelle. En effet, lors de la fécondation, le pollen, gamète mâle,

apporte l'information contenue dans le noyau, alors que l'ovule, gamète femelle, fournit, en plus de son noyau, son cytoplasme.

II. Mise en évidence de la présence d'ADN dans les organites

Différentes approches biochimiques ont été mises en œuvre pour isoler et caractériser l'ADN des organites. Aujourd'hui les outils et méthodes de la génomique permettent d'établir les séquences nucléotidiques complètes. Dans les deux organites : mitochondrie et chloroplaste, le génome est représenté par une **molécule d'ADN circulaire** mais en un grand voire très grand nombre d'exemplaires (les organites sont donc typiquement **polyploïdes**).



Kislev et al 1965

<http://jcb.rupress.org/content/25/2/327.full.pdf>

Figure 2. Observation microscopique de la présence d'ADN dans les organites chez la betterave

La figure 2 présente un résultat obtenu chez la Betterave : la technique utilisée révèle la présence de filaments.

- Ces filaments disparaissent après un traitement avec l'ADNase (une nucléase hydrolysant spécifiquement l'ADN).
- On peut également montrer que ces filaments réagissent avec les colorants spécifiques de l'ADN.

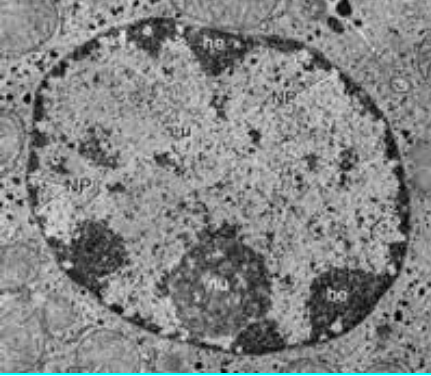
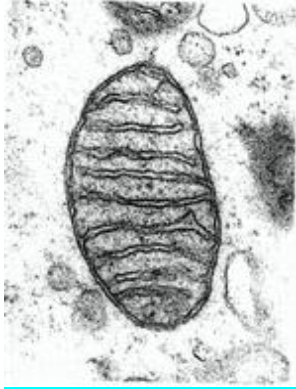
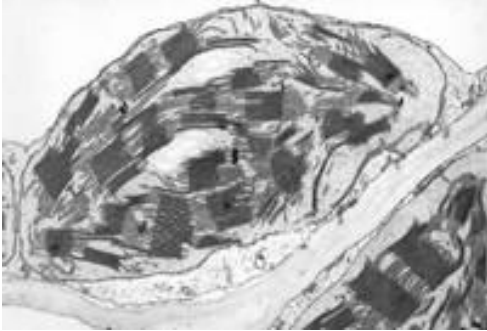
Les trois organites		
Noyau	Mitochondrie	Chloroplaste
		

Figure 3. Présence d'ADN dans les trois organites

Une autre technique de séparation de l'ADN d'une cellule, est relative à ce qu'on appelle l'ultracentrifugation. Cette dernière est une technique permettant la séparation d'un broyat hétérogène contenant un mélange d'ADN nucléaire, mitochondrial et chloroplastique.

La figure ci-dessous montre la séparation de deux catégories d'ADN distincts isolés par ultracentrifugation chez la levure de boulangerie. Il s'agit de l'ADN mitochondrial et de l'ADN nucléaire

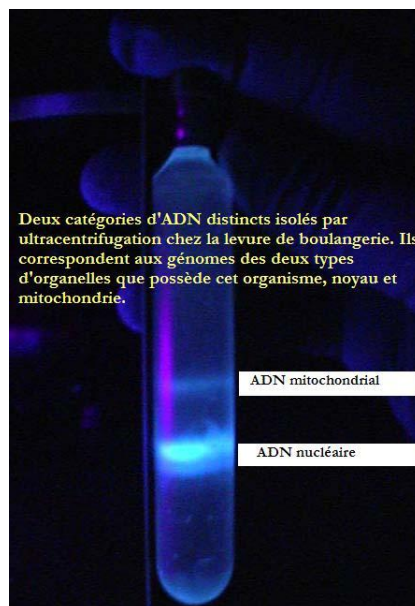


Figure 4. Séparation d'un broyat nucléotidique par ultracentrifugation (exemple : levure de boulangerie)

III. ADN des organites d'une cellule végétale

III.1. ADN nucléaire des plantes supérieures

Dans le noyau, le génome est réparti sur plusieurs molécules d'ADN, **linéaires** et **organisées en chromosomes bien différenciés**. L'ADN contient toutes les séquences **codantes** (transcrites en ARN

messagers, et traduites en protéines) et **non codantes** (non transcrites, ou transcrites en ARN, mais non traduites).

La configuration tridimensionnelle du génome nucléaire a une importance fonctionnelle : l'enroulement (ou condensation) de l'ADN sur lui-même et autour de protéines, les **histones**, permet d'empaqueter une grande quantité d'information génétique dans le minuscule noyau d'une cellule.

L'ADN de la cellule est essentiellement nucléaire, cad se trouve dans le noyau ; mais il ya de l'ADN dans certains organites et qui sont : le chloroplaste et la mitochondrie.

III.2. ADN plastidial: ADNcp

Démontrée pour la première fois par **Ris et Plaut** (1962) chez une algue unicellulaire, les *Chlamydomonas* (**chlamydomonas** : nom féminin, c'est une **Algue** unicellulaire d'eaux douces, très commune, munie de deux flagelles lui permettant une nage active), la présence de l'ADN a été retrouvée dans des structures plastidiales variées comme le proplaste, **étioplaste**, **chromoplaste**, **leucoplaste** et **chloroplaste**. Les analyses microscopiques, optiques et électroniques, montrent que les fibrilles d'ADN sont localisées dans plusieurs régions plastidiales, les *nucléoides*.

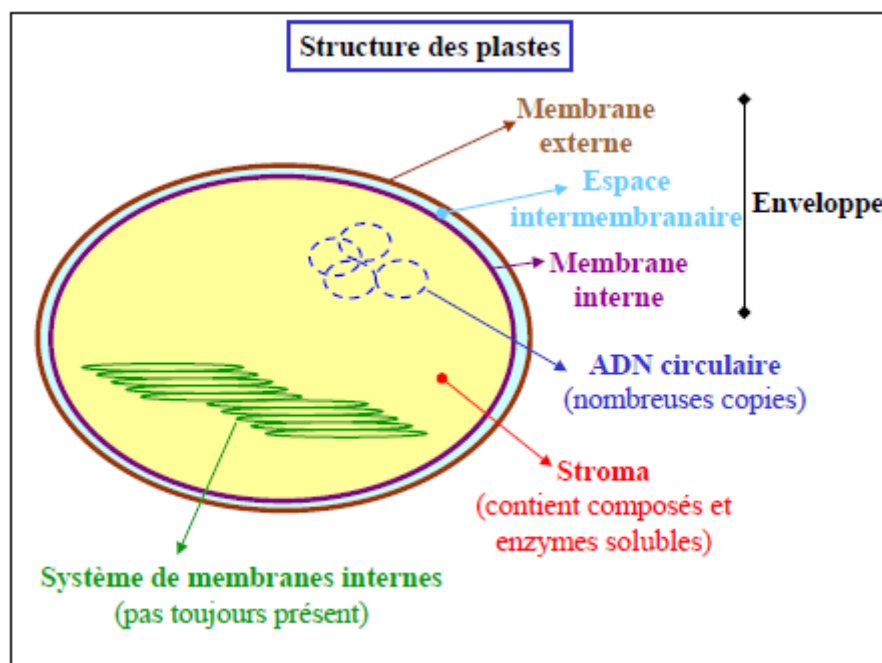


Figure 5. Structure et localisation de l'ADN plastidial

- les **proplastés**, ou plastés non différenciés.
- les **chloroplastés**, où a lieu la **photosynthèse** ; ils contiennent de la **chlorophylle**.
- les **chromoplastés**. Ils contiennent des pigments autres que la chlorophylle : les **caroténoïdes** (dont les xanthophylles ou le lycopène).
- les **leucoplastés**, sans pigment. Ils synthétisent des essences et des résines.
- les **amyloplastés** servent au stockage des grains d'**amidon**.

- les **étioplastes**, dans les tissus peu exposés à la lumière.

L'analyse par ultracentrifugation en gradient de densité de chlorure de césium à l'équilibre montre que la valeur de la densité de l'**ADN plastidial** (ADNcp) est en général différente de celle de l'ADN nucléaire.

«*Les chlamydomonas sont des algues unicellulaires, pourvues d'un grand chloroplaste et donc vertes, capables de photosynthèse*».

Chlamydomonas reinhardtii (Algue unicellulaire haploïde avec 1 seul chloroplaste géant contenant 50 copies d'ADNcp)

Les bases modifiées, telle la 5-méthylcytosine, ne sont pas détectables dans l'ADN plastidial alors que l'ADN nucléaire des plantes peut en contenir jusqu'à 10%.

L'ADN plastidial diffère légèrement de l'ADN nucléaire et de l'ADN mitochondrial, en particulier par une présence plus forte pour le couple **Guanine-Cytosine**.

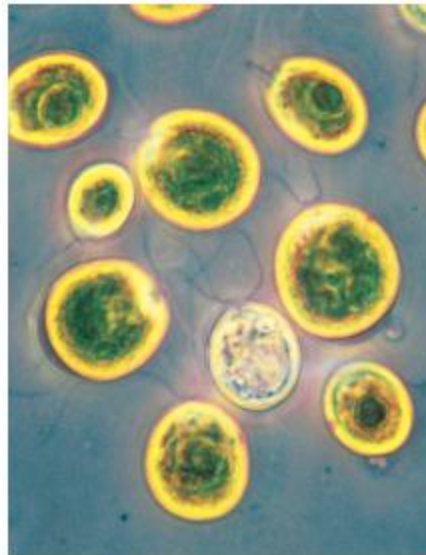


Figure 6. Observation microscopique de *Chlamydomonas reinhardtii*

La teneur en ADN est plus élevée dans les plastes que dans les mitochondries.

L'ADN plastidial est **circulaire** et mesure entre 0,04 mm et 0,3 mm de long.

L'ensemble du matériel génétique d'un plaste est appelé **plastome** par analogie au génome.

Exemple d'ADN plastidial : ADN chloroplastique (ADNcp)

Définition : c'est l'ADN constituant le génome des chloroplastes et contribuant à l'hérédité cytoplasmique. Il s'agit d'un type d'ADN extrachromosomique.

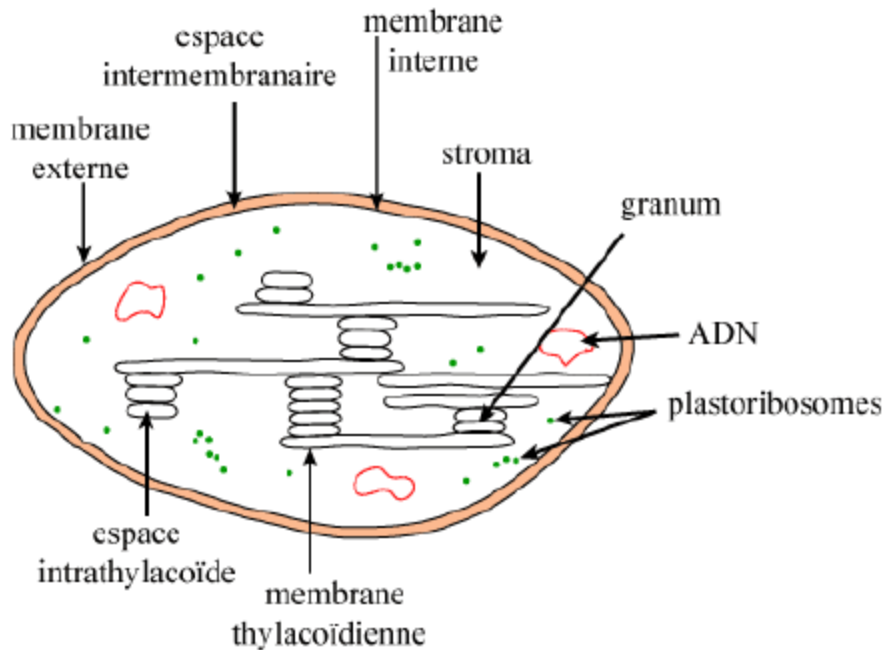


Figure 7. Localisation, structure et localisation de l'ADN chloroplastique

Génome chloroplastique de l'hépatique, *Marchantia polymorpha*



Le 1^{er} à avoir été séquencé :
 -136 gènes,
 -31 types d'ARN-t,
 -90 gènes protéiques dont
 -20 pour la photosynthèse
 et le transport d'électrons

Figure 8. Génome chloroplastique de l'hépatique : *Marchantia polymorpha*

L'ADN mitochondrial et l'ADN chloroplastique n'ont pas du tout la même organisation que l'ADN nucléaire.

L'ADN mitochondrial et l'ADN chloroplastique sont en général circulaire, rarement linéaire, généralement sans introns, et ne sont pas associés à des protéines de type histones.

Résumé : ADN chloroplaste: ADNcp

- circulaire, double brin, réplication semi-conservative
- non associé à des protéines, contrairement à l'ADN nucléaire

- longueur : Petit (environ 150 kb). De 100-255kb selon les espèces (*Pisum sativum* : 134kb ; *Arabidopsis thaliana* : 154kb ; *Chlamydomonas* : 195kb)
- Nombreuses copies (50-100) : nombreuses copies / chloroplaste (ex : *Chlamydomonas* : 75 copies)
- nombreuses séquences non codantes (introns, intergéniques, duplication)
- Peu de gènes (environ 120)
- séquences codantes :
 - . ARN ribosomique : 5S, 16S et 23S
 - . ARN-t (ADN de transferts)
 - . protéines ribosomales spécifiques des ribosomes chloroplastiques
 - ARNt pour la traduction plastidiale
 - Gènes pour le ribosome chloroplastique
 - 4 gènes codant des sous-unités de l'ARN polymérase
 - Un gène pour la grande sous unité de la RUBISCO : Rbc L
 - 9 gènes pour les photosynthèses I et II
 - 6 gènes pour l'ATP synthase

N.B : certains gènes chloroplastiques sont spécifiques de l'ADNcp, d'autres sont mixtes. Exemple : Rubisco (ribulose-1,5-biphosphate carboxylase) dont la **petite sous-unité** est codée par un gène **nucléaire** et la **grande**

III.3. ADN mitochondrial : ADNmt

Les mitochondries ont une structure en forme de bâtonnet ou de sphère de 0,5 à 1 µm de diamètre. Leur nombre est variable selon l'activité métabolique. Les mitochondries sont limitées par une double membrane : une membrane externe et une interne (Figure 9).

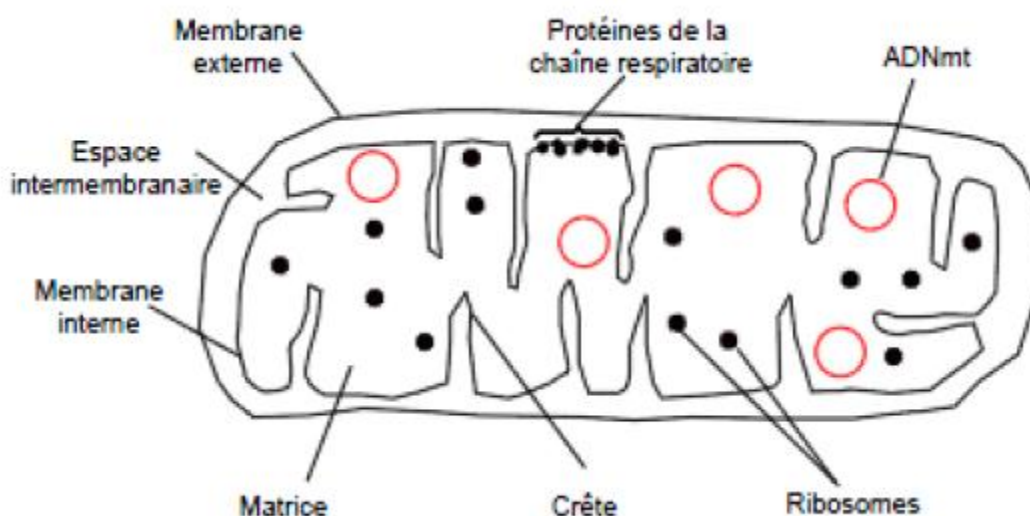


Figure 9. Structure et localisation de l'ADN mitochondrial

Comme chez les chloroplastes, les mitochondries sont des organites semi-autonomes : elles possèdent leur **propre génome** (ADN, gènes), des ribosomes 70S, des ARN, et une trentaine de protéines y sont synthétisées directement (**Figure 10**).

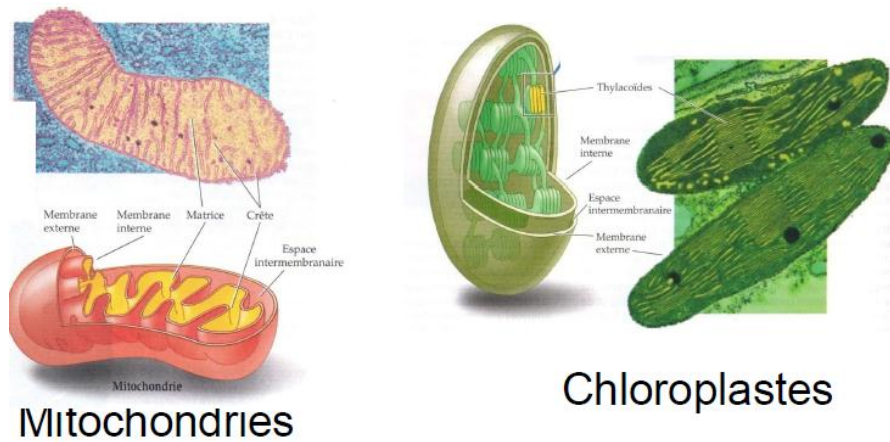


Figure 10. Présence de l'ADN dans la mitochondrie et le chloroplaste

Le génome mitochondrial des plantes est beaucoup plus grand par rapport à celui des animaux : 195 à 2400 kilo paires de bases. La plupart de l'ADN mt est en excès et non codant.

La structure du génome mitochondrial semble très fluide.

Les génomes mitochondriaux des plantes se distinguent de ceux des autres eucaryotes. Leur taille est plus importante et beaucoup plus variable (de 200 kb chez les Brassicacées à 2500 kb chez les Cucurbitacées, contre 16 à 20 kb chez les mammifères).

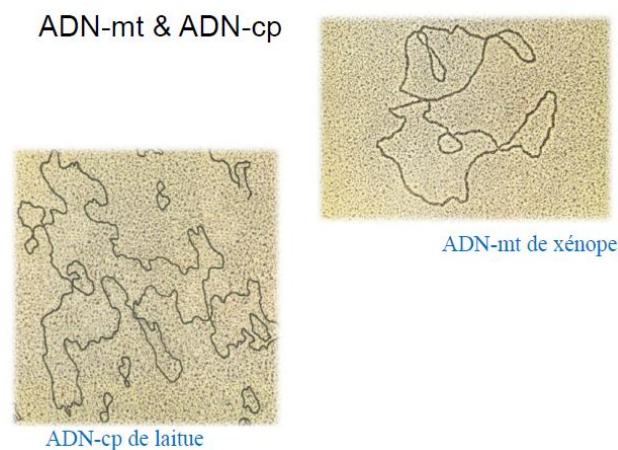


Figure 11. Comparaison de l'ADN mitochondrial et de l'ADN chloroplastique

La caractéristique de ces génomes est la présence de séquences répétées (impliquées dans des recombinaisons entre molécules d'ADN mitochondrial) variables en taille, en nombre de répétition et en orientation.

Cependant, malgré leur grande variabilité en taille, les **génomés mitochondriaux** des plantes semblent avoir le même contenu en information génétique : de 100 à 120 gènes (inclus ceux qui codent pour les ARN de transfert et les ARN ribosomiques).

Il existe un processus propre aux mitochondries végétales : l'édition des messagers. Le transcrit primaire peut subir des modifications post-transcriptionnelles qui changent spécifiquement certaines cytosines en uraciles. Les codons de l'ARN messager sont donc modifiés.

Résumé : L'ADN mitochondriaux (ADNmt) des végétaux:

- L'ADNmt se présente sous la forme d'une **molécule circulaire** (végétaux et animaux), double brin, réplication semi-conservative
- Sa transmission est de type **maternel** (angiospermes),
- . Sa structure est complexe et dynamique,
- Sa taille est importante : **200 à 2400 kpb** (respectivement pour le chou et les Cucurbitacées). À titre de comparaison, ADNmt de levure : 68-75 kpb
- . **non associé à des protéines**, contrairement à l'ADN nucléaire
- . longueur: 16-367 kb selon les espèces
- . nombre de copies ADNmt/mitochondrie < nb copie ADNcp/chloroplaste et # entre animaux et plantes : **5 à 10 chez Vertébrés et 20 à 40 chez les plantes**
- . **séquences non codantes** (introns, intergéniques, duplications) : **rares voire absentes** (surtout chez les espèces dont ADN mitochondrial est petit, comme chez les animaux)
- . **séquences codantes**
- . L'ADN mitochondrial (ADN mt) - du fait qu'il est polyploïde et qu'il existe en général plus d'une mitochondrie par cellule - représente de 0,5 à 4% de l'ADN total (Rauwolf et al, 2010).

IV. Comparaison entre l'ADNcp et l'ADNmt

L'essentiel du génome eucaryote est dans le noyau, mais il existe de l'ADN dans certains organites : mitochondries et chloroplastes.

IV.1. Taille

La longueur variée de 16-367 kb selon les espèces

Tableau 1. Taille des ADN mitochondriaux et chloroplastiques chez certaines espèces

	ADN-mt	ADN-cp
Homme	16,6 kb	
Souris	16,2 kb	
Xénope	18,4 kb	
Drosophile	18,4 kb	
Levure (Saccharomyces)	78 kb	
Pois	110 kb	134 kb
Arabette	367 kb	154 kb

IV.2. Caractéristiques

Les principales caractéristiques des ADN chloroplastiques et mitochondries sont résumés dans le tableau suivant (tableau 2).

Tableau 2. Comparaison des principales caractéristiques de l'ADN mitochondrial et l'ADN chloroplastique.

ADN-mt & ADN-cp

ADN-mt		ADN-cp
circulaire, double brin	Forme	circulaire, double-brin
Animaux 16 -18 kb Levure 75 kb Plantes 110 - 367 kb	Longueur	100- 255 kb
Vertébrés : 5 à 10 copies Plantes : 20 à 40 copies	Nombre de copies /organite	Jusqu'à 80 copies
semi-conservative	Réplication	semi-conservative
NON	Protéines associées à ADN nucléaire	NON
Modifié	Code génétique	Normal
Non (pour sp. avec petit ADN-mt) → oui (pour sp. avec grand ADN-mt)	Seq non codantes intergéniques	oui
	Introns	
	Duplications	

V. Conclusion

V.1. Taille

Le tableau ci-dessous montre la grande variabilité de la taille (kb) de l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial.

Ce tableau montre aussi qu'il n'y a pas de corrélation entre la taille de l'ADN et le nombre de gènes.

Tableau 3. Comparaison de la taille (kb) entre le génome nucléaire, chloroplastique et mitochondrial chez quelques espèces (L : linéaire, C : circulaire).

Génome de	Taille (kb)	Nombre de gènes
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Levure)		
Noyau	13 500 (L)	6 000
Mitochondrie	78 (C)	34
<i>Homo sapiens</i>		
Noyau	3 000 000 (L)	100 000
Mitochondrie	17 (C)	37
<i>Arabidopsis thaliana</i>		
Noyau	120 000 (L)	25 000
Mitochondrie	370 (C)	60
Chloroplaste	154 (C)	120

V.2. Expression des gènes

On note une particularité de l'expression des gènes extranucléaire (mitochondrial et chloroplastique). Le code génétique est différent de celui des gènes nucléaires.

Exemple :

codons	ADN mt	ADN nuc
AGA	STOP	Arg
AUG	Met	Met
AUA	Met	Ile
AUU	Met	Ile
UGA	variable	STOP

Différences inter-espèces :

- UGA : Stop → végétaux
- Trp → mammifères
- champignons
- Ser → drosophiles

55