

Chapitre I : Matériel génétique

Introduction

Les acides nucléiques sont des macromolécules qui contiennent l'information qui ordonne le séquençage d'acides aminés dans une protéine, en constituant ainsi, le dépôt de l'information génétique. En outre, ce sont la bibliothèque cellulaire qui renferme l'information nécessaire à la construction d'une cellule ou d'un organisme. La duplication exacte de cette information dans la génération de n'importe quelle espèce assure la continuité génétique de l'espèce.

L'information est arrangée dans des unités identifiées par les généticiens comme gène. Ces gènes sont des unités héréditaires qui contrôlent l'identité d'un organisme.

I-1- L'Acide Désoxyribonucléique (ADN)

I-1-1- Structure de L'ADN :

L'ADN, acide désoxyribonucléique, est une macromolécule composée d'un enchaînement d'unités structurales appelées nucléotides, et forme ainsi un polynucléotide. Chaque nucléotide se compose de 3 parties : un sucre, une structure en anneau appelée base et un groupement phosphate

Le sucre présent dans l'ADN est un pentose (glucide simple ou ose à 5 carbones) appelé 2'-désoxyribose car le groupement OH sur le deuxième carbone du ribose est remplacé par un atome d'hydrogène.

Chaque nucléotide contient une des 4 bases suivantes : adénine (A), guanine (G), thymine (T) ou cytosine (C). Ce sont des molécules complexes qui contiennent des structures cycliques avec du carbone et de l'azote. L'adénine (A) et la guanine (G) contiennent deux hétérocycles et sont appelés bases puriques. La cytosine (C) et la thymine (T) contiennent un seul anneau et sont appelées bases pyrimidiques. (Fig. 01)

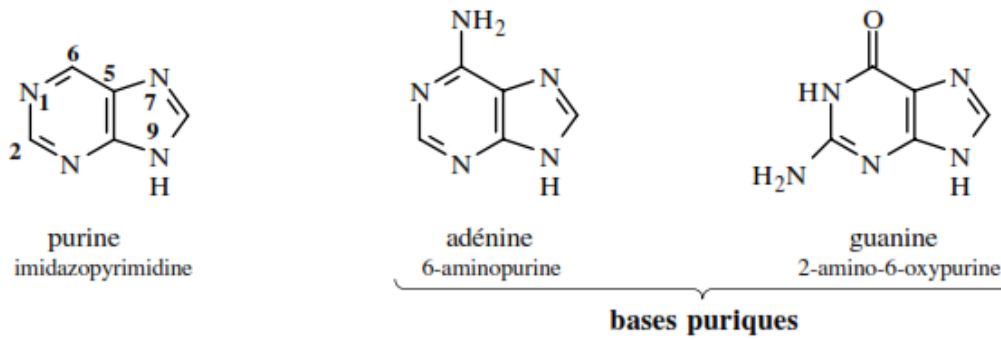
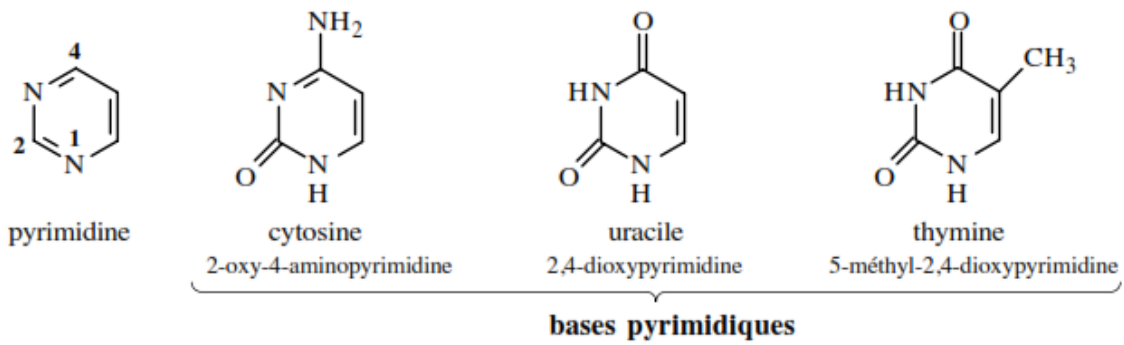
Le sucre par son carbone 1', établit une liaison N-glycosidique avec l'azote 1 des bases pyrimidiques ou l'azote 9 des bases puriques formant ainsi un nucléoside. Un nucléoside peut lier un, deux ou trois groupements phosphates au carbone 5' de son sucre pour former un nucléotide.

Les nucléotides triphosphate sont reliés pour former des polynucléotides. Quatre polynucléotides différents sont utilisés pour synthétiser des molécules d'ADN :

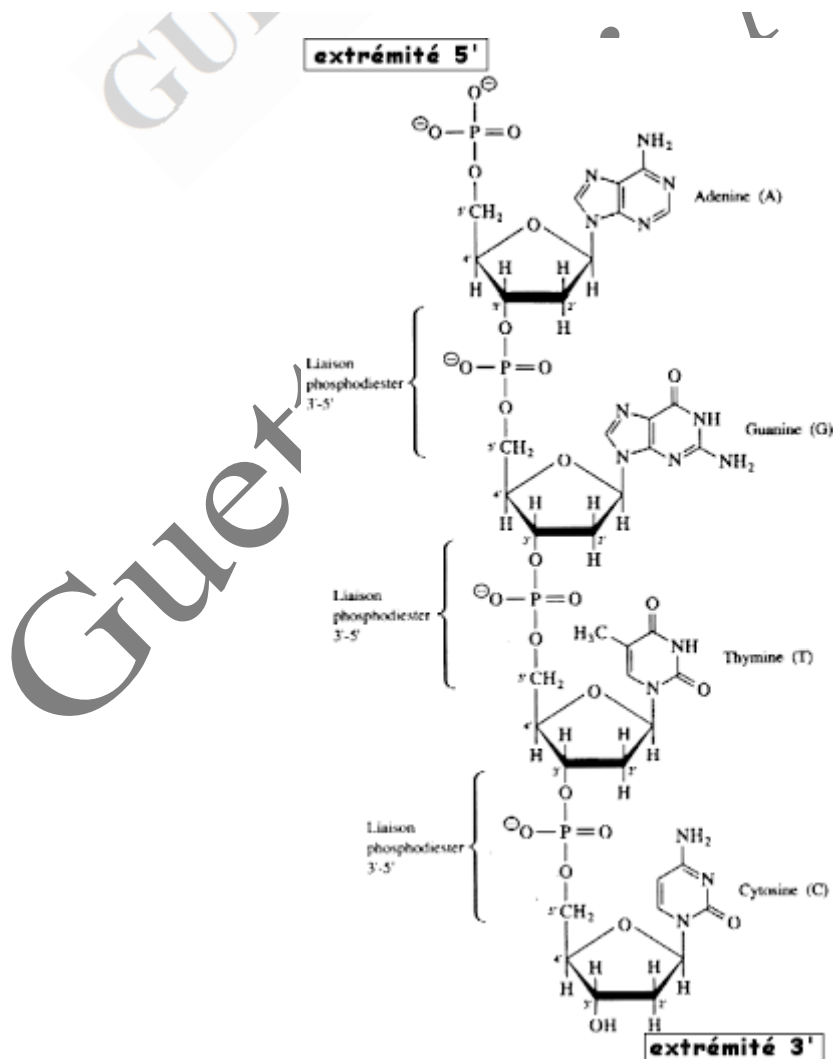
- La 2'-désoxyadénosine 5' triphosphate (dATP ou A).
- La 2'-désosythymine 5' triphosphate (dTTP ou T),
- La 2'-désoxycytosine 5' triphosphate (dCTP ou C),
- La 2'-désoxyguanine 5' triphosphate (dGTP ou G).

Le phosphate en 5' d'un nucléotide forme une liaison avec le carbone en 3' du nucléotide suivant. La réaction conduit à l'élimination d'un groupement OH au niveau du carbone en 3'. La liaison est appelée une 3'-5' phosphodiester (C-O-P). (Fig. 02)

La chaîne polynucléotidique possède un 5' triphosphate libre à une extrémité qu'on appelle l'extrémité 5', et un groupement 3' hydroxyle libre à l'autre extrémité, qu'on appelle l'extrémité 3'. Ainsi l'ADN a une polarité et on peut parler de 3'→5' (sens dans lequel des enzymes polymérases copient les molécules d'ADN).



(Fig.01)



(Fig.02)

I-1-2- Structure en double hélice de l'ADN

L'ADN est un acide nucléique bicaténaire c'est à dire, constitué de deux brins, associés par des liaisons hydrogène (H). Les liaisons H s'établissent entre une purine (A. G), sur un brin, et une pyrimidine (T. C) sur l'autre brin, Le nombre de liaisons possibles entre les molécules fait que l'adénine (A) est toujours reliée à la thymine (T) par deux liaisons H alors que la guanine (G) est toujours reliée à la cytosine (C) par trois liaisons H. La complémentarité des paires de bases résulte de leurs structures chimiques. Elle a été établie grâce aux travaux de Chargaff (1947) qui démontra que dans un ADN bicaténaire le nombre de l'adénine est égal au nombre de thymine et celui de cytosine égal au nombre de guanine. C'est pourquoi le rapport $A+G/C+T \approx 1$. cependant, le rapport $A+T/G+C$ s'avère variable selon l'origine des molécules d'ADN.

GUETTOUNI
Guettouchi Ahlem

L'orientation d'un brin, définie par ses extrémités 5' phosphate et 3' OH, est toujours inverse de celle du brin complémentaire : les deux brins de l'ADN sont dits anti-parallèles.

L'association entre les deux brins, assuré par les liaisons hydrogènes. Le modèle original de la structure de l'ADN défini par Watson et Crick montre une double hélice avec un diamètre de 2.37 nm, et fait apparaître deux périodicités. La première de 0.34 nm correspond à la distance entre deux plateaux de bases appariées et l'autre de 3.4 nm correspond au pas de l'hélice avec dix plateaux de bases (Fig 03.). A la surface de la molécule d'ADN, les deux brins torsadés ménagent deux sillons de largeur différente, un sillon majeur et sillon mineur.

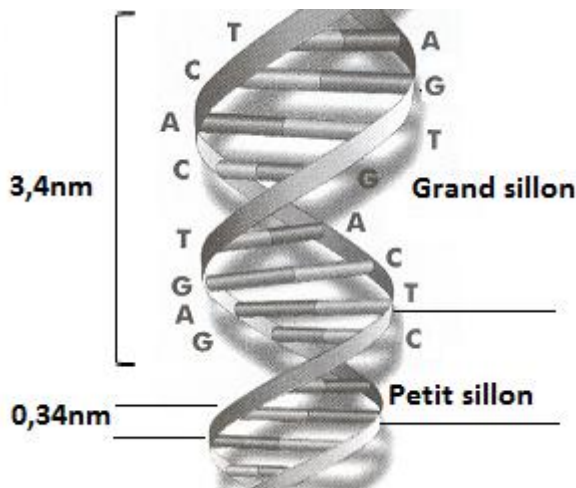


Fig. 03

En principe, les deux brins polynucléotidiques peuvent former une hélice de pas droit (forme dextre) ou une hélice de pas gauche (forme senestre). La première forme est la plus fréquente et existe en deux variantes, l'ADN-A et l'ADN-B qui diffèrent entre autres, par la taille de leurs hélices :

- L'ADN-B est relativement mince (diamètre de l'hélice 2.37 nm) et les paires de bases complémentaires sont distantes de 0.34 nm les unes des autres.
- L'ADN-A est plus large (diamètre de l'hélice 2.55 nm) est plus court, ménageant des distances entre deux bases successives de 0.23 nm.

La forme senestre de l'ADN (ADN-Z) est mince (diamètre de l'hélice 1.84 nm). Sa présence dans la nature n'est pas définitivement démontrée.

Un ADN bicaténaire peut adopter momentanément une forme monocaténaire. C'est ce qui produit pendant les étapes de la réplication et de la transcription. Cependant, L'ADN de plusieurs virus bactériens (S13, f1 et M13) existe naturellement sous forme de monobrin.

I-2- Les gènes

Un gène est une unité d'information, il correspond à un segment d'ADN qui code la séquence des acides aminés d'une protéine. Chez les organismes supérieurs, les gènes se présentent sous forme d'un ensemble de très longues molécules d'ADN appelées les chromosomes. Chez l'homme on dénombre de 50 000 à 100 000 gènes organisés en 23 chromosomes. Les gènes sont dispersés et séparés par des régions intergéniques d'ADN non codant (introns). L'information est codée sur le brin matrice qui gouverne la synthèse de l'ARN. L'autre brin est appelé le brin non matrice, Les deux brins de l'ADN peuvent jouer ce rôle de matrice. Les molécules d'ADN ont une capacité énorme de stockage d'information.

I-2-1- Les introns et les exons

Chez les organismes supérieurs, l'information codante est souvent répartie en une série de fragments de séquences d'ADN appelées exons. Ceux-ci sont séparés par des séquences ne contenant apparemment aucune information utile appelées introns. Le nombre d'intron est très variable, de 0 à plus de 50 introns dans certains gènes. La longueur des exons et des introns est elle aussi très variable mais les introns sont généralement beaucoup plus longs et ils constituent la majeure partie des gènes. Avant que l'information génétique contenue dans un gène puisse être exprimée pour synthétiser une protéine, les introns doivent être enlevés des molécules d'ARN par un processus appelé épissage au terme duquel les exons et l'information génétique sont continus.

I-2-2- Les pseudogènes

Certains gènes possèdent des exemplaires sur lesquels sont apparues, au cours de l'évolution, des erreurs de séquence qui les empêchent de produire des protéines. On parle alors de pseudogènes. Un pseudogène représente ainsi la relique évolutive d'un gène original unique. On trouve plusieurs exemples de pseudogènes dans la famille multigénique complexe des gènes de globines.

I-3- Les chromosomes

Chez les procaryotes, les chromosomes consistent en une unique molécule d'ADN, qui est généralement circulaire, et dont seule une petite fraction est associée à des protéines. Chaque chromosome possède une unique origine de réplication. Tandis que chez les eucaryotes, ces derniers possèdent plusieurs chromosomes linéaires, et leur ADN se trouve associé intimement avec d'importantes quantités de protéines. Chaque chromosome d'une cellule eucaryote dispose de plusieurs origines de réplication.

I-3-1- Morphologie des chromosomes

Les chromosomes des eucaryotes sont généralement visibles par microscopie optique, uniquement lorsque la cellule s'apprête à se diviser, après qu'ils se sont dupliqués en deux structures identiques appelées chromatides

(chromosomes fils). Morphologiquement, les chromosomes sont classés en différents groupes en fonction de la position de leurs centromères :

- Chromosome métacentrique (médiocentrique) : le centromère proche du milieu du chromosome.
- Submétacentrique : le centromère est suffisamment loin du milieu du chromosome.
- Acrocentrique : le centromère proche l'extrémité du chromosome,
- Télocentrique : On note l'existence d'un seul bras

Au sein d'une espèce, chaque chromosome a reçu un numéro dans un ordre croissant avec sa taille. L'analyse des bandes qu'on peut révéler sur les chromosomes aide à les identifier et peut fournir des informations sur leur organisation.

GUETTTOUCHI
Guettouchi Ahlem

I-4- Réplication de l'ADN : chez les Procaryotes et les Eucaryotes

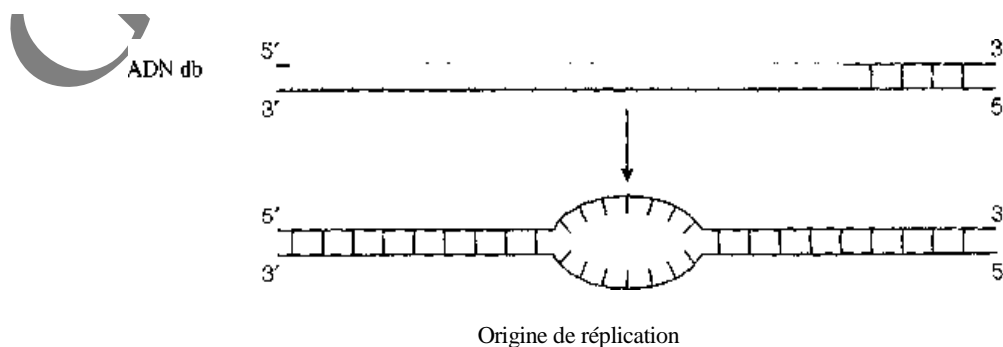
Réplication de l'ADN

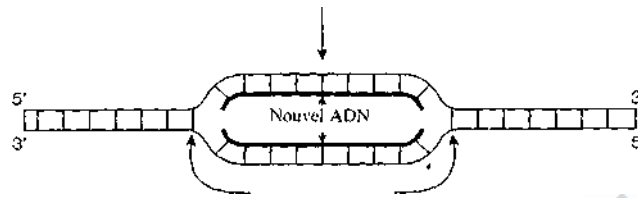
C'est le processus par lequel une cellule copie son ADN. La réplication est nécessaire pour que l'information génétique présente dans la cellule puisse être transmise aux cellules filles après la division cellulaire. L'ADN est copié par des enzymes appelées ADN polymérasés. Elles travaillent sur de l'ADN monobrin en synthétisant un nouveau brin complémentaire du brin original. La synthèse d'ADN a toujours lieu dans la direction 5' → 3'. La réplication est dite semi-conservative. Ceci signifie que chaque molécule d'ADN copiée contient un brin dérivé de la molécule mère et un brin néosynthétisé.

Le mécanisme de la réplication de l'ADN est très semblable chez la plupart des organismes. Les seules différences concernent les enzymes et les protéines impliquées. Chez les Procaryotes, comme *E. coli*, deux enzymes, les ADN polymérasés I et III, synthétisent l'ADN. Chez les Eucaryotes, l'ADN est répliqué par cinq ADN polymérasés. La réplication doit être très précise car même un petit taux d'erreur conduirait à une importante perte d'information génétique, après seulement quelques divisions cellulaires. La précision est assurée par la capacité qu'ont les ADN polymérasés à vérifier que les bonnes bases ont été insérées dans le brin néosynthétisé. Ceci est réalisé par l'activité exonucléase inverse (3' → 5') de ces enzymes qui leur permet d'ôter les bases incorrectement insérées du brin d'ADN néosynthétisé et de les remplacer par les bases correctes. On estime qu'une base sur cinq milliards seulement est mal insérée.

La fourche de réplication

Durant la réplication, la double hélice de tout l'ADN cellulaire est progressivement déroulée ce qui produit des segments d'ADN simples brins qui peuvent être copiés par les ADN polymérasés. Le déroulement de la double hélice commence à une position précise appelée origine de réplication et progresse graduellement le long de la molécule, généralement de façon bidirectionnelle. Les origines de réplication contiennent généralement des séquences riches en appariements faibles A-T. La région où la double hélice est déroulée et du nouvel ADN synthétisé est appelée fourche de réplication (Fig. 1).





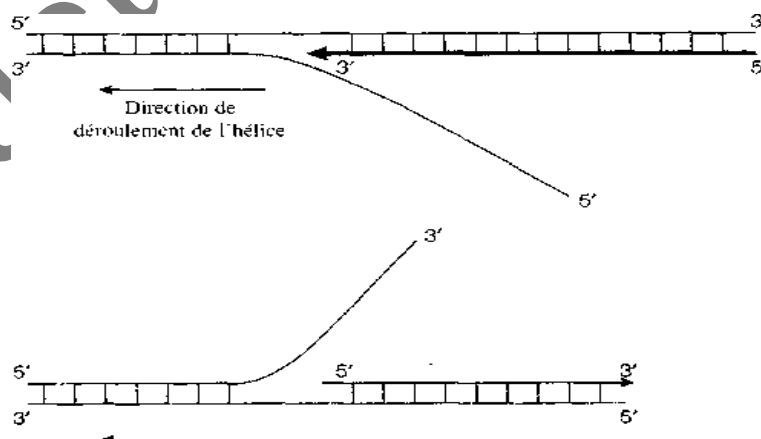
Fourches de réplication

Fig. 1. Origine de réplication et fourches de réplication.

Au niveau de la fourche de réplication, différents événements se produisent :

- **Séparation des deux brins de la double hélice.** Catalysée par une enzyme **hélicase**. Après la séparation des brins, des protéines SSB (single strand binding qui se lie à un seul brin) se lie à l'ADN pour éviter une reformation de double hélice.
- **Synthèse des brins précoces et tardifs.** La synthèse d'ADN par l'ADN polymérase a lieu uniquement dans le sens 5'→3'. Or les deux brins de la double hélice sont déroulés dans des sens opposés (un brin progresse dans le sens 5'→3' et l'autre dans le sens 3'→5'), des mécanismes un peu différents sont donc requis pour répliquer chacun d'eux. Un brin est appelé brin précoce car il est copié dans la direction où il se déroule et peut donc être synthétisé de façon continue (Fig. 3a). L'autre brin est appelé brin tardif ou retardataire car il est synthétisé dans l'autre direction et est donc copié de façon discontinue. Le brin retardataire est synthétisé sous la forme d'une série de segments connus sous le nom de fragments d'Okazaki (Fig. 3b).
- **Amorçage.** Les ADN polymérases ont besoin d'une petite région en double brin pour commencer ou amorcer la synthèse d'ADN. Celle-ci est produite par une ARN polymérase appelée primase, qui est capable d'initier la synthèse à partir d'un unique brin d'ADN. La primase synthétise une petite séquence d'ARN amorce (un primer) à partir de la matrice d'ADN ce qui crée une petite région double brin. Sur le brin retardataire, la synthèse s'achève lorsque le primer ARN suivant est rencontré. Alors, l'ADN polymérase I enlève l'ARN amorce et la remplace par de l'ADN (Fig. 4). Chez les Eucaryotes, la situation est différente L'ADN polymérase qui dispose d'une activité primase complète, est responsable

L'ADN est synthétisé de façon continue sur le brin précoce à mesure que l'hélice se déroule



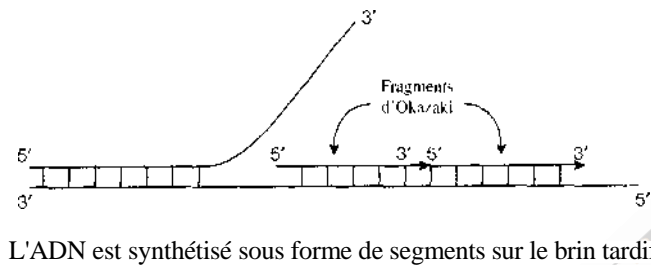


Fig. 2. (a) Réplication du brin précoce, (b) Réplication du brin tardif

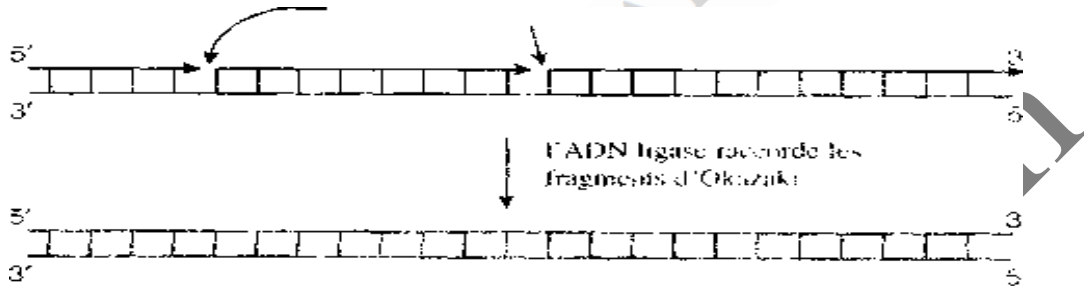


Fig. 4. Achèvement de la synthèse du brin tardif.

de l'initiation de la synthèse d'ADN. L'ADN est répliqué par les ADN polymérase α et δ , α synthétisant le brin retardataire tandis que δ synthétise le brin précoce. Les autres polymérases jouent des rôles auxiliaires. L'ADN polymérase ϵ est impliquée dans la réparation de l'ADN et l'ADN polymérase γ réplique l'ADN mitochondrial.

- **Ligation.** La dernière étape requise pour achever la synthèse du brin retardataire est la jointure des fragments d'Okasaki par une liaison phosphodiester. La réaction est catalysée par une enzyme appelée **ADN ligase** (Fig 3).

Réplication de l'ADN bactérien

Quoique les mécanismes de réplication de l'ADN soient similaires chez tous les organismes, le processus dépend de la nature des molécules d'ADN qui sont copiées. On ne copie effectivement pas de la même façon un ADN circulaire, comme le chromosome bactérien, et un ADN linéaire, comme les chromosomes des Eucaryotes. La forme de réplication la plus simple, utilisée pour de l'ADN circulaire, met en jeu une! origine de réplication unique d'où progressent dans des directions opposées deux! fourches de réplication. Ceci conduit à une forme intermédiaire en θ (Fig. 4). Les fourches de réplication finissent par se rejoindre et fusionner et la réplication s'achève.

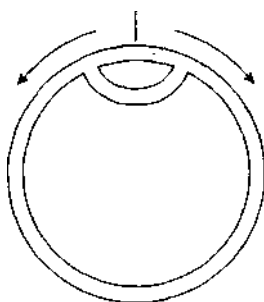


Fig. 4. Réplication des molécules circulaires d'ADN via une forme en θ intermédiaire

La réplication des molécules d'ADN requiert de dérouler la double hélice. Ceci conduit à faire tourner la double hélice en amont de la fourche de réplication. Pour le molécule d'ADN circulaire, qui ne possèdent pas d'extrémités libres, ceci produit un super-enroulement de l'ADN qui bloque la progression de la polymérase. Ce problème est résolu par l'activité d'enzymes appelées topoisomérases, de deux types L'ADN topoisomérase I produit une rupture transitoire dans le squelette polynucléotidique d'un des deux brins d'ADN, à une petite distance en amont de la fourche de réplication ce qui permet au brin coupé de tourner librement autour de l'autre brin et annule le super-enroulement. L'enzyme rejoint ensuite les extrémités du brin coupé. Lorsque la réplication d'un chromosome bactérien est achevée, on trouve deux molécules filles circulaires, qui sont entrelacées. Elles sont séparées par l'action de l'ADN topoisomérase II qui agit en causant des ruptures transitoires sur les deux brins de l'une des molécules d'ADN permettant à l'autre molécule fille de passer, et séparant ainsi les deux molécules filles.

Réplication de l'ADN chez les Eucaryotes

Avant de pouvoir se diviser, une cellule doit répliquer son ADN. La division cellulaire est, chez les Eucaryotes, un processus hautement régulé qui se déroule en une série d'étapes qui forment le cycle cellulaire (Fig. 5). La durée du cycle cellulaire est variable mais est typiquement de plusieurs heures. La phase la plus longue est la phase G₁, durant laquelle la cellule se prépare à la division. G₁ est suivie par S, phase au cours de laquelle intervient la réplication de l'ADN (S pour synthesis, synthèse). Un deuxième intervalle court, G₂ suit, et c'est la phase M. pendant laquelle la cellule subit la mitose avec séparation des chromosomes et division cellulaire. Après la phase M, les cellules qui prolifèrent entrent dans la phase G₁ d'un nouveau cycle. De façon alternative, les cellules peuvent aussi sortir du cycle cellulaire en entrant dans une phase G₀ où elles demeurent quiescentes pour de longues périodes. Certaines cellules, comme les neurones, cessent complètement de se diviser et sont de façon permanente en phase G₀.

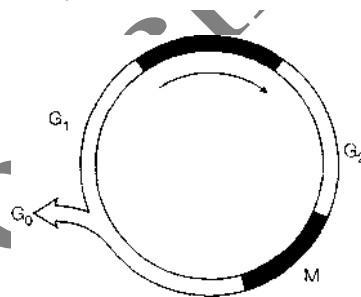


Fig. 5. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

En raison de leur longueur très importante, les chromosomes Eucaryotes doivent être répliqués à partir de plusieurs origines de réplication, ce qui permet au processus de se dérouler en un temps raisonnable. Les fourches de réplication progressent dans les deux directions à partir de chaque origine de réplication ce qui forme des bulles qui finissent par entrer en collision et s'annuler. L'ADN répliqué à partir d'une unique origine est appelé un réplicon. Une cellule typique de Mammifère possède de 50000 à 100000 réplicons dont chacun est la copie d'un ADN de 40 à 200 kb. Tout l'ADN n'est pas répliqué en une fois. Des groupes d'une cinquantaine de réplicons voient leur synthèse initiée simultanément pendant la phase S. Les zones contenant des gènes qui sont transcrits activement sont répliquées en premier et les zones non actives sont répliquées plus tard.

L'ADN des chromosomes des Eucaryotes est emballé sous forme de complexes ADN-protéines appelés nucléosomes. Lorsque la fourche de réplication progresse, l'ADN doit être déroulé du nucléosome pour que la réplication puisse avoir lieu. Ceci ralentit la fourche de réplication et pourrait expliquer la faible longueur des fragments d'Okasaki chez les Eucaryotes (100 à 200 bases) en comparaison avec ceux des Procaryotes

GUETTOUCHI AHLEM

Guettouchi Ahlem