

Génétique Moléculaire

L'ADN : L'acide Désoxyribonucléique

Objectifs spécifiques :

- Préciser la composition en bases, sucre, nucléotides de l'ADN
- Citer les différents constituants d'un nucléotide
- Décrire les caractéristiques de la molécule d'ADN
- Citer les propriétés physicochimiques de l'ADN

1. Introduction :

La biologie moléculaire 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.

Depuis la fin des années 1950 et le début des années 1960, les biologistes moléculaires ont appris à caractériser, isoler et manipuler les composants moléculaires des cellules et des organismes. Ces composants incluent l'ADN, support de l'information génétique, l'ARN, et les protéines, molécules structurelles et enzymatiques les plus importantes des cellules.

2. Définition de l'ADN :

ADN est l'acide **désoxyribonucléique**, un acide nucléique composé de désoxyribose, de phosphate, d'adénine, de cytosine, de guanine et de thymine. L'ADN contient les instructions génétiques utilisées dans le développement et le fonctionnement de tous les organismes vivants et de certains virus, et qui est responsable de sa transmission héréditaire. Cette macromolécule constitue le support des informations génétiques de tous les êtres vivants exceptés les virus à ARN. Elle est formée d'une double chaîne hélicoïdale de désoxyribonucléotides, chaque chaîne ou brin étant complémentaire de l'autre.

3. Structure de l'ADN:

➤ Éléments constitutifs de l'ADN

L'ADN est constitué de 03 éléments des nucléotides monophosphates.

- ✓ Un groupe phosphate (phosphoryle)
- ✓ Un sucre, le désoxyribose : un pentose (5 carbones)
- ✓ Une base azotée qui peut être l'une des 4 bases azotées suivantes : (figure1)

Adénine : A, Guanine : G, Cytosine : C, Thymine : T C

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

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

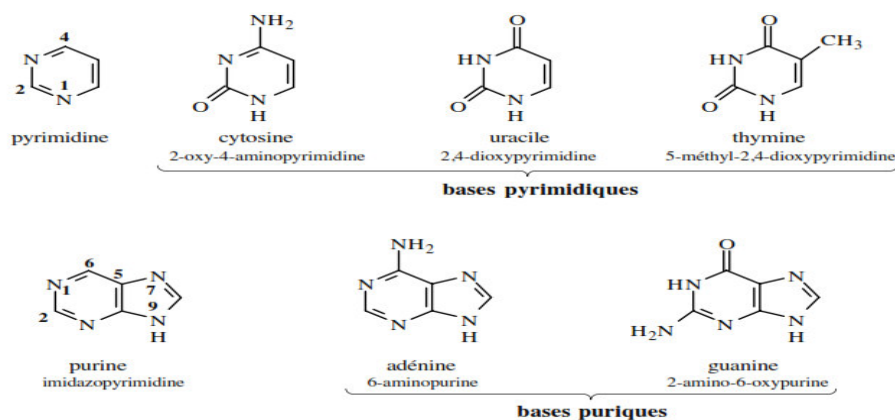


Figure 1 : les bases azotées

L'association de chaque base avec une molécule de sucre constitue un nucléoside, et l'ajout d'un groupe phosphate donne un nucléotide monophosphate.

➤ Structure primaire de l'ADN :

ADN est constitué par l'enchaînement linéaire de sous unité de base, les nucléotides qui forment un filament non ramifié. Un nucléotide est composé d'un groupement phosphate, d'un sucre, le D-désoxyribose (qui constituent le squelette de l'ADN) et d'une base purique ou pyrimidique figure 2.

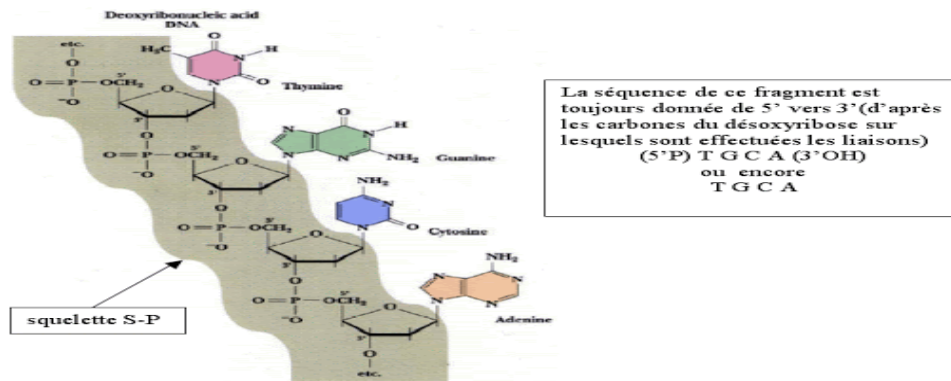


Figure2. Structure primaire de l'ADN

➤ **Structure secondaire de l'ADN :**

Selon Watson et Crick en 1953, l'ADN est formé de deux chaînes (polymère) enroulés l'une autour de l'autre en une double hélice.

Les bases azotées des deux brins sont reliées par des liaisons faibles c'est des liaisons d'hydrogènes. Les bases sont associées par paires. Dans chaque paire il y a toujours une purine associée à une pyrimidine.

- ✓ Les bases A sont associées aux bases T par 2 liaisons Hydrogène.
- ✓ Les bases G sont associées aux bases C par 3 liaisons Hydrogène.

Les deux brins sont complémentaires l'un de l'autre mais ne sont pas identiques. Chaque brin d'ADN possède une extrémité 5'-phosphate et une extrémité 3'-hydroxyle. par convention, une orientation est définie de l'extrémité 5'P → 3'OH. Les deux brins sont orientés en sens opposés, on dit qu'ils sont anti parallèles figure3.

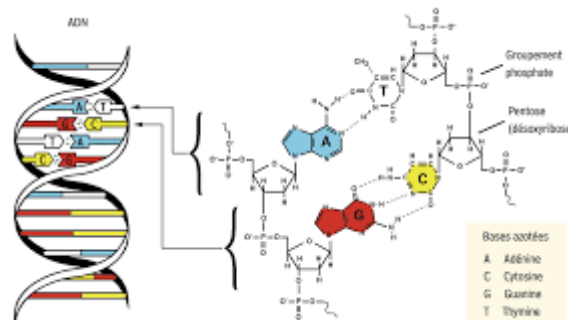


Figure3. Structure secondaire

➤ **Structure Tertiaire de l'ADN (double Hélice d'ADN) :**

Chaque brin d'ADN ressemble à une hélice, les deux brins forment une structure en double hélice. La double hélice présente deux types de sillons : les grands sillons et les petits sillons. C'est au niveau de ces deux types de sillons que se fixent les protéines nécessaires aux processus de transcriptions, de réplication ou de réparation de l'ADN

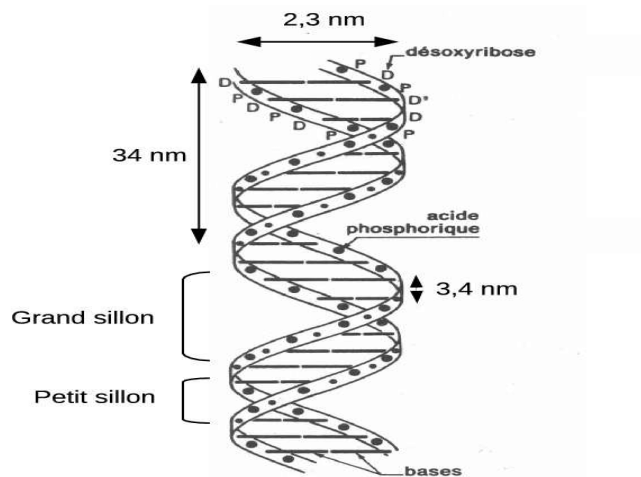


Figure4. Structure Tertiaire de l'ADN (double Hélice d'ADN)

4. Propriétés physicochimique de l'ADN :

4.1. La taille : les acides nucléiques (ADN et ARN) sont les plus grandes macromolécules naturelles. 03 caractéristiques peuvent être utilisées pour exprimer la taille :

- ✓ **La longueur :** (en μm ou en nm).
- ✓ **La masse moléculaire** en Dalton : 1 dalton= la masse d'un atome d'hydrogène. 1 kilo dalton (Kda)= 100 Da.
- ✓ **Le nombre de nucléotides ou de bases (noté b)** pour les molécules monocaténares (simple brin) ou de paires de bases (noté pb) pour les bicaténares (doubles brins) : 1 kilo paires de bases (Kpb) = 1000 pb.

4.2. Spectre d'absorption de l'ADN : l'ADN présente une absorption de la lumière (densité optique) qui est maximale dans l'ultraviolet UV à une longueur d'onde = 260nm.

4.3. Température de fusion : Si une solution d'ADN est chauffée, à une certaine température, les liaisons hydrogène qui assurent la cohésion des 2 brins appariés se rompent figure 4. On parle de fusion de l'ADN caractérisée par la température de fusion

(T_m : melting temperature) (La dénaturation et la renaturation des brins d'ADN en solution sont des reconstitutions critiques pour diverses fonctions biologiques normales (réplication; transcription ...etc.)

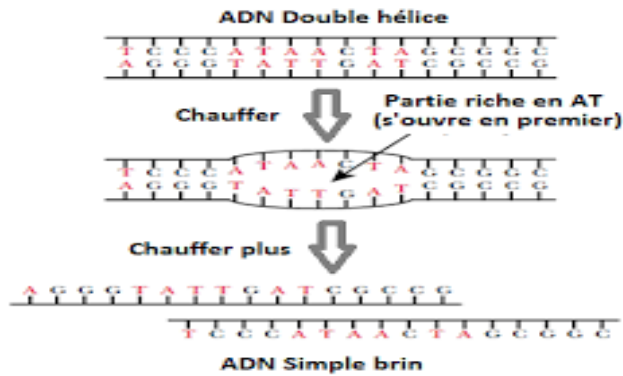


Figure4. Séparation de brin d'ADN en fonction de température

4.4. **Renaturation de l'ADN** : la fusion est un phénomène réversible : en baissant lentement la température, il y a une réassociation des 2 brins, c'est la renaturation de l'ADN. Deux simples brins provenant de 2 ADN différents chauffés peuvent aussi réassocier elle s'appelle **Hybridation**.

4.5. **Solubilité de l'ADN** : l'ADN est soluble dans l'eau mais pas dans l'éthanol.

Référence bibliographique :

- ✓ Cours de biologie moléculaire faculté de médecine de Batna : 2015/2016
- ✓ Introduction à l'analyse génétique Griffith S. Wessler. 4eme édition de boeck
- ✓ Biologie moléculaire Houali K. Lahcen S.2005.
- ✓ www.aquaportail.com/definition-530-adn.html

L'ARN : L'acide ribonucléique

Objectifs spécifiques :

- Préciser la composition en bases, sucre, nucléotides de l'ARN
- Enumérer les caractéristiques de la structure primaire de l'ARN
- Classer les différents ARNs de la cellule
- Préciser brièvement les fonctions de chaque type : ARNr, ARNt, snARN, microARN, siARN, inARN
- Comparer les caractéristiques structurales des ARNs avec celle de l'ADN

1. Introduction :

ARN l'acide ribonucléique est un acide nucléique formé par une chaîne de ribonucléotides, composé de ribose, de phosphate, d'adénine, de cytosine, de guanine et d'uracile. Il est présent dans les cellules procaryotes et les eucaryotes, et est le seul matériel génétique de certains virus (virus à ARN). Cet acide nucléique résulte de la transcription de l'ADN. L'ARN est constitué d'une chaîne de monomères répétitifs appelés nucléotides. Les nucléotides sont joints les uns après les autres par des liaisons phosphodiester chargées négativement.

2. Structure de l'ARN :

1. La première différence principale dans la structure de l'ARN est la fonction hydroxyle en 2' du ribose qui permet à l'ARN de faire une liaison phosphodiester intramoléculaire en milieu basique avant de faire la liaison 3'-5'. De ce fait les ARN ont une demi-vie très courte figure 1.
2. La deuxième différence principale est le remplacement de la thymine par l'uracile.
3. Les molécules d'ARN sont simple brin et linéaire, et les seuls appariements de paires se font intramoléculaires par des liaisons hydrogènes sous forme de structures en tiges-boucles aux extrémités de l'ARN et des structures en épingles à cheveux à l'intérieur de l'ARN.
4. Les hélices d'ARN formées lors des appariements sont de **type A** et sont plus courtes et plus trapues que l'hélice de type B de l'ADN. L'effet hypochrome est également présent et dû aux appariements intramoléculaires. La courbe d'absorption UV en

fonction de la température est cette fois-ci par pallier correspondant aux différentes boucles à épingles à cheveux dénaturées.

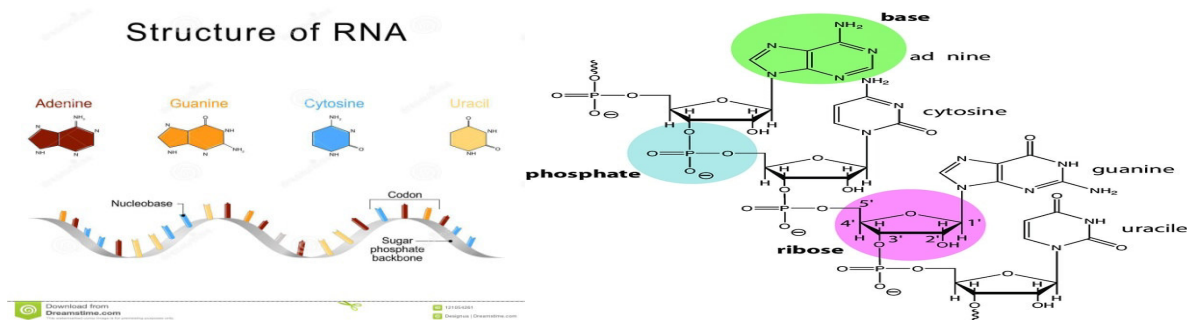


Figure1. Structure de l'ARN

3. Les différents types de l'ARN :

Il existe trois grands types d'ARN qui sont impliqués dans différents aspects de la synthèse des protéines et sont par conséquent nécessaires à l'expression de l'information génétique sont :

3.1. L'ARN messager (ARNm) : qui représente 5% des ARN totaux, est un support temporaire de l'information génétique. Il est utilisé par la cellule pour transmettre l'information correspondant à un gène donné, il provient de la transcription de l'ADN et sert de matrice pour la traduction en protéines figure2. la séquence nucléotidique de l'ARNm est une séquence linéaire, complémentaire et antiparallèle à la séquence matrice de l'ADN dont elle est issue.

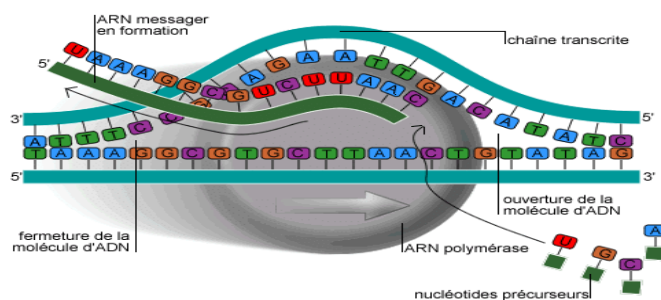


Figure2. Structure ARN message

3.2. L'ARN de transfert (ARNt) : représentant 15% des ARN totaux, est un adaptateur qui reconnaît les codons de l'ARNm par appariement de bases complémentaires et insère l'acide aminé adéquat au moment de la traduction.

C'est une molécule d'ARN monocaténaire qui peut se replier et former des structures secondaires par appariements entre ses bases complémentaires, donnant une structure en

épingle à cheveux résultant d'alternance de zones formant des doubles hélices (les tiges) et les zones non appariées (les boucles) figure3.

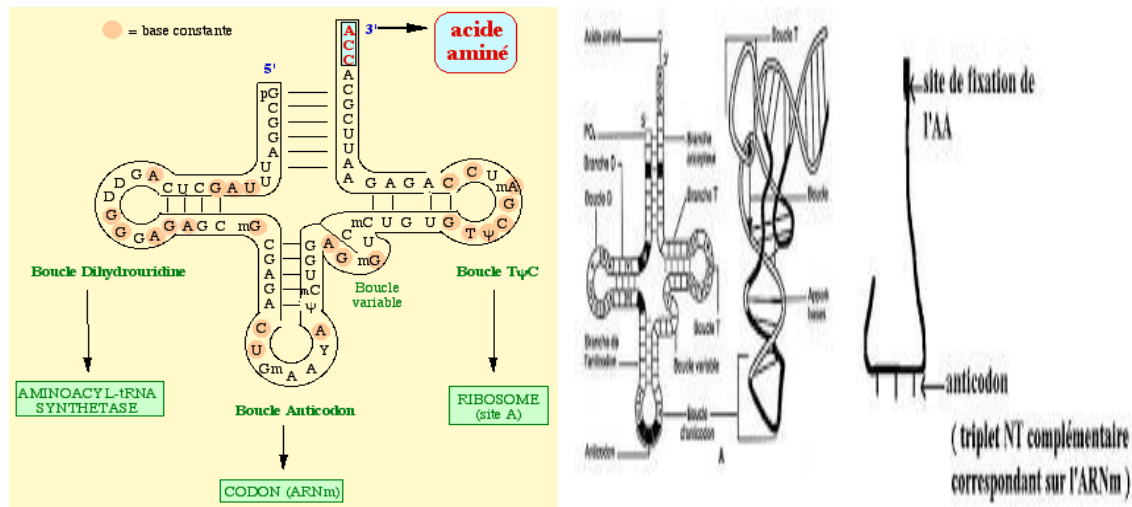


Figure3. Structure ARNt

Les ARNt sont donc des polymères, contenant des régions simple brin et double brin, et composés de ribonucléotides. Leur fonction dans la cellule est d'assurer la correspondance entre l'information génétique portée par l'ARN messager, et les acides aminés contenus dans la protéine codée par cet ARNm. Ils sont les acteurs clés de la traduction de code génétique.

Chaque ARNt porte des 20 acides aminés attaché par une liaison ester à son extrémité 3'-OH et transporte ce dernier au ribosome. Trois des nucléotides de chaque ARNt forment un anticodon spécifique de l'acide aminé. L'anticodon s'apparie au codon sur l'ARNm assurant ainsi la correspondance entre codon et acide-aminé, conformément au code génétique. L'interaction codon-anticodon s'effectue dans le ribosome qui vérifie la complémentarité des bases de l'ARNm et l'ARNt. Quand celle-ci est réalisée, le ribosome catalyse l'allongement de la chaîne protéique en cours de synthèse et avance sur l'ARN messager. Une fois que l'ARNt a été utilisé par le ribosome, il ne porte plus d'acide aminé à son extrémité 3'-OH, il est alors chargé par une enzyme spécifique, nommée aminacyl-ARNt synthétase, qui catalyse l'estérification de l'acide aminé spécifique.

3.3. ARN ribosomal (ARNr) : Les ARN ribosomiaux représentent plus de 80% des ARN cellulaires totaux s'associent à des protéines pour former le ribosome qui est le support de la synthèse des protéines.

Les ribosomes sont une association de 2 sous unités : 50S et 30S chez les procaryotes et 60S et 40S chez les eucaryotes figure4.

Le coefficient de sédimentation S (Svedberg) est l'unité de mesure de la vitesse de sédimentation. Le coefficient de sédimentation d'une particule dépend non seulement de sa masse mais aussi de sa forme et de sa rigidité. Par définition, la constante de sédimentation S, est la vitesse de sédimentation par unité d'accélération (force G). Comme cette constante est faible, on utilise, comme unité, le Svedberg (un Svedberg = 10⁻¹³ seconde).

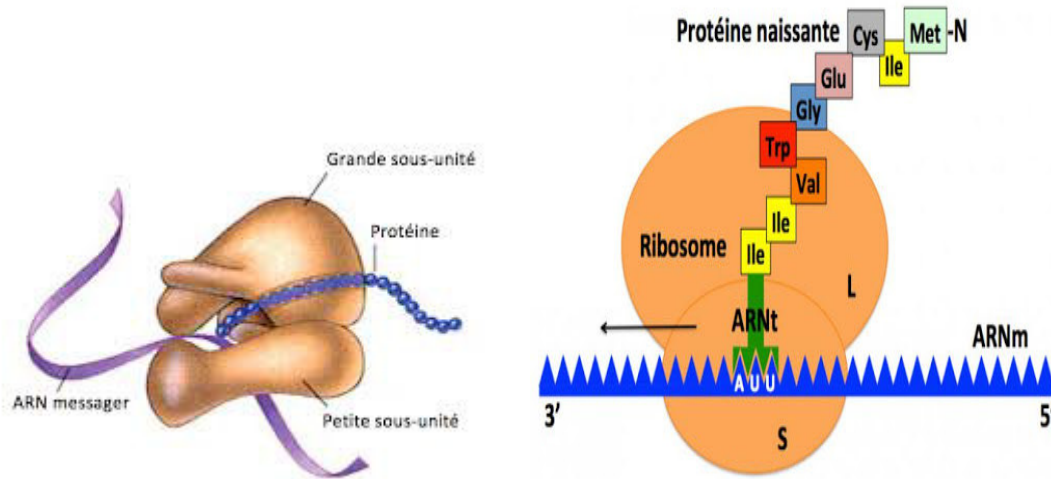


Figure4. Structure de L'ARN ribosomal

4. D'autre type d'ARN : Au delà du rôle primaire de l'ARN dans la synthèse des protéines, plusieurs variétés d'ARN existent qui sont impliqués dans la modification épigénétique, la transcription, la réplication de l'ADN, et le règlement de gène. Quelques formes d'ARN sont seulement en particulier les formes trouvées de la durée, comme dans des eucaryotes ou des bactéries.

4.1. Petit ARN nucléaire (snRNA) : le snRNA est impliqué dans transformer des PRÉ-ARN MESSAGERS (pré-ARNm) en ARNm mature. Ils sont très courts, avec une longueur moyenne de seulement 150 nucléotides figure5.

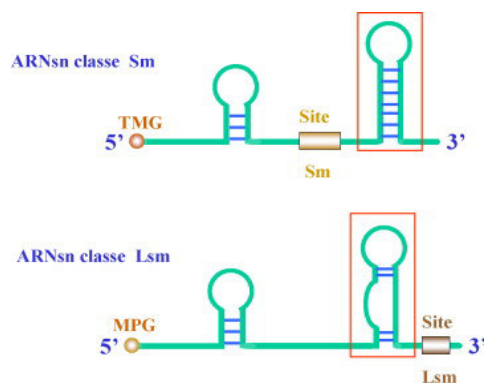


Figure5. Structure Petit ARN nucléaire

4.2. ARNs de réglementation : Un certain nombre de types d'ARN sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes, y compris l'ARN micro (miARN), le petit ARN de intervention (siARN) et l'ARN antisens (aARN).

- ✓ **Le miARN (NT 21-22)** est trouvé dans les eucaryotes, et les actes par l'interférence ARN (RNAi). le miRNA peut décomposer l'ARNm qu'il est complémentaire à, à l'aide des enzymes. Ceci peut bloquer l'ARNm de l'traduction, ou accélèrent sa dégradation.
- ✓ **Le siARN (NT 20-25)** sont souvent produits par la dégradation de l'ARN viral, bien qu'il y ait également des sources endogènes des siARNs. Ils agissent assimilé au miARN. Un ARNm peut contenir des facteurs de régulation lui-même, tel que des riboswitches, dans le 5' séquence non-traduite ou 3' séquence non-traduite ; ces éléments cis-de réglementation réglementent l'activité de cet ARNm.

4.3. ARN de Transfert-messenger (tmRNA)

Trouvé dans beaucoup de bactéries et de plastids. La balise de tmRNA les protéines codées par les ARNm qui manquent des codons non-sens pour la dégradation, et empêche le ribosome de caler dû au codon non-sens manquant.

Référence bibliographique :

- ✓ Introduction à l'analyse génétique Griffith S. Wessler. 4eme édition de boeck
- ✓ Biologie moléculaire Houali K. Lahcen S.2005
- ✓ www.aquaportail.com/definition-531-arn.html