



# L'ADN

## L'ADN : SUPPORT DE L'INFORMATION GENETIQUE

### A la recherche de l'information génétique

<p><b>Transmission et codage de l'information génétique</b></p>	<p>L'ADN de chaque cellule d'un individu contient la totalité de l'information génétique de cet individu, dans le noyau de ces cellules (une petite partie dans la mitochondrie)          L'expression de cette info génétique aboutit à la synthèse des protéines          La traduction de cette information donnera 2 molécules (ARN &amp; protéines)          → Entretien et réguler tout ce qui nécessaire à un organisme</p> <p>L'information contenue dans l'ADN doit pouvoir se copier à l'identique = <b>REPLICATION</b>          Ces infos peuvent être néanmoins modifiées. Soit au cours de la REPLICATION soit parce que l'ADN est soumis à des agressions extérieures :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Besoin d'un système efficace de <b>REPARATION</b></li> </ul> <p>L'expression de l'information contenue dans l'ADN se fait en <b>2 étapes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- D'abord l'ADN est copié sous forme d'ARN = <b>TRANSCRIPTION</b></li> <li>- Puis à partir des ARN sont synthétisée les protéines = <b>TRADUCTION</b></li> </ul>
<p><b>Biochimie de l'ADN</b></p>	<p>L'ADN est une macromolécule qui est un polymère linéaire de désoxyribonucléotides = est composée de 3 éléments (une base composée de C et de N = pentose, un sucre et un groupement phosphate)</p> <p>Il existe <b>4 bases dans l'ADN</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Purique : <b>adénine et guanine</b> : double cycle</li> <li>- Pyrimidique : <b>cytosine et thymine</b> = 1 seul cycle</li> </ul> <p>→ Chacune de ces bases pouvant être couplée à un pentose</p> <p>Une molécule d'ADN se fait par ajout successif de nucléotides <b>du côté 3'</b> à partir de nucléotides triphosphate libres, le tout catalysé par des enzymes</p> <p>L'ADN cellulaire est une double hélice : 2 brins d'ADN</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Les deux brins sont maintenus grâce à l'appariement des deux nucléotides : complémentarité stricte</li> <li>- <b>A-T (2 liaisons)</b> et <b>C-G (3 liaisons)</b> (les liaisons sont des liaisons hydrogènes)</li> <li>- Ce double brin est en <b>orientation antiparallèles</b>. 5' – 3', les deux brins sont en <b>orientation opposée</b></li> </ul>
<p><b>L'ADN dans la cellule : les gènes</b></p>	<p>L'ADN des cellules eucaryotes s'organise grâce à la chromatine :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ADN + protéines = chromatine</li> <li>- L'ADN n'est jamais isolée, mais toujours associée à des protéines (histones), cette association étant appelée chromatine</li> <li>- Fonction de régulation du message génétique + fonction de compaction de l'ADN</li> </ul> <p>Les états de condensation de l'ADN :</p> <p>La double hélice → enroulée autour d'histone = collier de perle → compacté en une hélice → compactée → Et l'étape ultime étant le chromosome</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chromatine est condensée à l'extrême en chromosome</li> </ul> <p>En résumé</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ADN est nucléaire</li> <li>- Se trouve sous forme de chromatine</li> <li>- Un brin d'ADN = un chromosome</li> <li>- Homme : 46 chromosomes</li> </ul> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p align="center"><b>LES ETATS DE CONDENSATION DE L'ADN EN FONCTION DU CYCLE CELLULAIRE : LA MITOSE</b></p> <p><b>La mitose</b> : une cellule mère donne <b>2 cellules filles</b></p> <p><b>Interphase</b> : état quiescent : duplication du nombre de chromosome.</p> <p><b>Prophase</b> : <b>condensation</b> : on voit chacun des chromosomes dans la cellule : très importante</p> <p><b>Métaphase</b> : alignement sur le plan équatorial de la cellule</p> <p><b>Anaphase</b> : migration en 2 lots aux 2 pôles cellulaires des chromosomes</p> <p><b>Télophase</b> : séparation en 2 cellules filles.</p> </div>





Autre phénomène intervenant :

- Pour que le nombre de chromosomes soit conservé, il faut qu'il soit dupliqué → Interphase
- Ce mécanisme = REPLICATION, chaque chromosome se retrouvant dupliqué, relié par un point = le centromère.
- Donne un chromosome à 2 chromatides
- A l'anaphase, chaque chromatide migre aux pôles de la cellule.

### GENOMES, GENES, ALLELES

2N = 46 : 2 copies du génome humain :

- 22 paires d'autosomes
- 1 paire de chromosomes sexuels (gonosomes)

Ainsi N vient du père et N vient de la mère.

Les gamètes sont **les seules cellules du corps humain qui contiennent qu'une seule copie du génome = mécanisme particulier = LA MEIOSE** (2 mitoses consécutives sans réplication entre)

Caryotype humain réalisé en isolant les chromosomes d'un individu et en les classant  
Permet de voir des anomalies de nombre (trisomie 21)

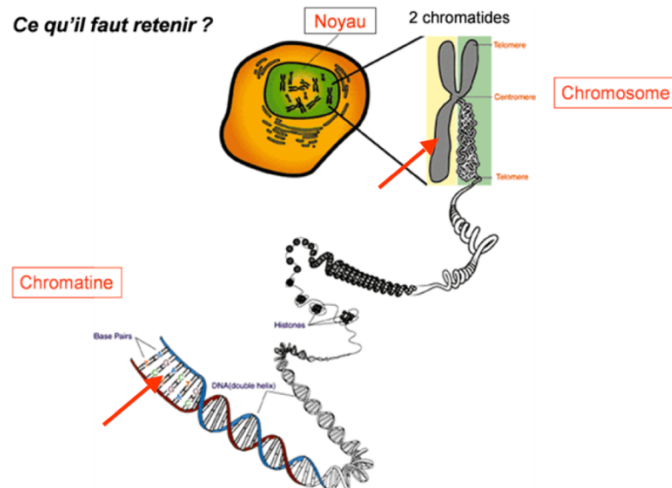
Les gènes humains ont une structure en mosaïque :

- Toutes les séquences d'un gène ne codent pas directement pour une protéine
- Celles qui codent et qui sont exprimées = les **EXONS**  
 → Celles qui ne codent pas et qui ne sont pas exprimées : **INTRONS** ; seront éliminée

En résumé :

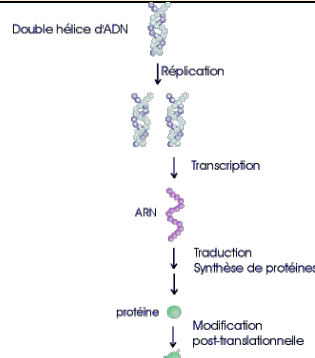
- Le génome nucléaire humain : **3.10pb soit 25000 gènes**
- ADN codant sont inférieurs à 10% des séquences d'un génome

Ce qu'il faut retenir ?



### DE L'ADN AU PROTEINES

Schéma introductif



La réplication de l'ADN

Processus fondamental de la cellule permettant le maintient de l'information génétique  
Réplication débute au moment de l'interphase, la copie aboutissant a un chromosome à 2 chromatides

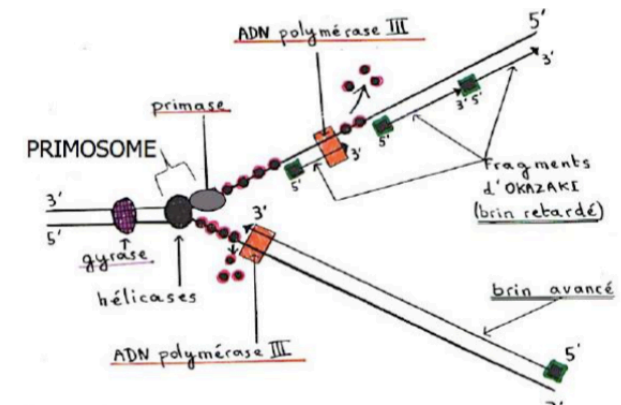
Réplication : ouverture de la molécule de double hélice

**Chaque nouveau double brin comportera donc un brin parental et un brin nouvellement synthétisé**





**ETAPES DE LA REPLICATION**

<p><b>Phase d'initiation</b></p>	<p>Nécessite la présence de séquences particulière : séquences d'origine de replication          Ces séquences sont réparties sur tout les chromosomes en plusieurs endroit          Elles recrutent des facteurs protéiques qui vont eux recruter de nombreux autres facteurs nécessaires à la réplication          → En particulier l'attachement du <b>primosome</b> permettant l'ouverture de l'ADN pour que chaque brin soit copié indépendamment</p>
<p><b>Formation du primosome</b></p>	<p>Ouverture du double brin et stabilisation des brins</p>
<p><b>Accrochage de l'ADN polymérase</b></p>	<p>Enzyme primordiale de la réplication          Fonction qui initiera la phase d'élongation  <b>Capacité à partir d'un simple brin de fabriquer son brin complémentaire</b> : elle polymérise 1 à 1 les nucléotides</p>
<p><b>Elongation de l'ADN</b></p>	<p>L'élongation nécessite l'ADN polymérase (activité de copie dans le sens 5'-3')</p> <p>Cela implique qu'à l'ouverture de la double hélice, un brin sera dans le bon sens 3'-5' (complémentaire au sens de polymérisation de la polymérase) = brin avancé. La <b>synthèse est dite continue sur le brin avancé</b></p> <p>L'autre brin dans le sens 5'-3' = brin retardé. La <b>synthèse sera discontinue sur le brin retardé</b></p> 

La connaissances de ces étapes a permis des avancées en médecine et on sait maintenant bloquer chacune de ces étapes

Il est important de retenir que la réplication est **semi-conservative**

Macanisme générale :

- Origine de réplication
- Polymérisation 5'-3'

Le passage de l'information génétique de l'ADN à l'ARN se fait via la transcription  
 L'ARN est un polymère linéaire de **ribonucléotides** composé d'une **base + pentose + groupe phosphate**  
 → Différences avec ADN :

- On a plus un désoxyribose mais un ribose
- 2<sup>nd</sup> différence est que l'ARN a comme nucléotides **non pas une Thymine mais un Uracile** (similaire) et complémentaire avec l'Adénine
- La différence majeure avec ADN, l'ARN **reste sous forme simple brin** en particulier à cause de la présence du ribose
- Moins stable que l'ADN et plus facilement dégradable

3 CLASSES D'ARN	
<p><b>ARNr</b></p>	<p>Ribosomaux            100 à 4000 nt            Représentent 80%</p>
<p><b>ARNt</b></p>	<p>Transfert            Petit 70-100 nt            Ils représentent 15%</p>
<p><b>ARNm</b></p>	<p>Messagers            Tailles variables            &lt;5%</p>

**L'ARN et la transcription**



→ ARNr et ARNt sont des molécules de structure = forme la machinerie nécessaire à la traduction  
 → Chaque ARNm représente une copie d'un gène et ce sont eux qui servent d'intermédiaire entre l'ADN du gène et le produit final de ce gène → protéine

**La transcription**

- Seul l'ADN des gènes

<b>Phase d'initiation</b>	Début par la reconnaissance des séquences à transcrire Pour chaque gène on a une région promotrice Cette région se situe de 10 à 50 nt avant le gène transcrit Permet la fixation de l'ARN polymérase et d'un complexe protéique qui permettra l'ouverture de la double hélice d'ADN
<b>Ensuite</b>	Une fois le processus initié, activité de l'ARN polymérase 5'-3' synthèse ARN qui permettra de générer un simple brin d'ARNm qui est donc équivalent à une copie du gène

Les ARNm vont devoir passer par une phase de maturation → structure en mosaïque (introns – exons) afin qu'il ne reste plus que les portions qui seront traduites en protéines (exons)

→ ARNm primaire subissant 2 étapes de maturation :

- Excision des introns = EPISSAGE. On obtient un ARNm ne contenant que la séquence codante.
- Seconde étape : ajout de séquences protectrices sur cet ARNm

→ Pour entamer la traduction, besoin d'un dernier détail : doit être **exporter du noyau via les ports nucléaires, pour débarquer dans le cytosol, où se trouve la machinerie de traduction**

En résumé :

- Les ARN sont de nature différente de l'ADN
- Ils sont la copie simple brin d'un gène grâce à une ARN polymérase
- Ils subissent une maturation avant d'être exportés hors du noyau

On passe d'une langue composée d'acide nucléique à une langue composée d'acides aminés

Le code génétique :

- Lecture des bases 3 à 3 = **64 combinaisons** = motif élémentaire de lecture : le CODON formé par 3 nucléotide (AUG → méthionine dans la protéine)
- La succession des codons détermine donc la succession des AA qui formeront la protéine

Ce code génétique :

- Est dit **SPECIFIQUE** : 1 codon = 1 AA
- Est dit **DEGENERÉ** : 1 AA = 1 à 6 codon.
- Est dit **PONCTUE** : Il existe un codon initiateur AUG et 3 codons stop = UAA UAG UGA

Le cadre de lecture des codons définit la nature du message

<b>MECANISME DE LA TRADUCTION</b>	
ARN messenger = la matrice Le ribosome : l'usine (2 sous-unités formées d'ARNr + protéines) Les ARNt-aminoacyl : les pièces détachées	
<b>ARNt</b>	A l'extrémité 3' = <b>site d'attachement de l'AA. ARNt + aa = ARNt-aminoacyl</b> Boucle anticodon = 3 nt : lors de la synthèse d'un ARNt-aminoacyl, ne se fixe sur la partie 3' l'acide aminé qui correspond à cet anticodon
<b>Ribosomes</b>	2 sous-unités : une grande et une petite qui assemblées forment 3 poches : E P A - Initiation : fixation de la petite + grande unité et insertion d'un ARNt-aminoacyl complémentaire au codon - Le ribosome avance d'un codon sur l'ARNm et insertion d'un 2 <sup>nd</sup> ARNt-aminoacyl. Les AA se lient entre eux - Lorsque le dernier codon est un codon STOP, la traduction s'arrête, et tous les éléments se détachent les uns des autres

Antibiotiques peuvent bloquer cette étape de traduction chez la bactérie.

L'ADN est présent dans toutes les cellules. Il est répliqué selon un processus **semi-conservatif**

Les ARNm sont transcrits uniquement dans les cellules qui nécessitent la protéine codée. Dans les autres cellules, l'ADN codant ces protéines ne sera pas transcrit en ARNm

**ADN polymérase** pour la **réplication** / **ARN polymérase** pour la **transcription**

ARNt sont incorporés 1 à 1 selon l'ordre du codon.

**La traduction**

**En conclusion**





## PATHOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE

### Les outils de la génétique moléculaire

#### Extraction et purification du matériel génétique

**Matériel présent dans les virus, les bactéries et les cellules : ADN et ARN**

ADN des cellules eucaryotes animales = ADN nucléaire + ADN mitochondrial

- Source : sang, tissus (biopsies)

ARN = ARNm, ARNt, ARNr

- Sensibilité aux RNases
- Spécificité tissulaire des ARNm

Quantification par mesure de l'absorption à 260nm / 280nm

Protocole :

- Prélèvement biologique → lyse des cellules nucléées → dégradation des protéines → Extraction des acides nucléiques → Précipitation de l'ADN

#### Des outils enzymatiques pour étudier l'ADN

Les ADN peuvent être coupés sur des séquences très précises

Peuvent être collés, coupés, copiés, marqués, séquencés

#### Visualiser l'ADN

Séparation de fragments d'ADN : l'électrophorèse

Ensuite, il suffit de colorer l'ADN pour le visualiser (bromure d'éthidium)

#### Couper de l'ADN

\*Outil majeur : utilisation des enzymes de restriction

- Séquences spécifiques de reconnaissance (de 4 à 8 bases, palindromes)
- Origines bactériennes

→ Elles coupent l'ADN

#### Amplifier de l'ADN : la PCR

La génétique a vraiment évolué grâce à la PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Elle permet d'amplifier de l'ADN : utilisation quantitative pour obtenir une grande quantité de matériel sur lequel travailler.

- **Objectif quantitatif** : pouvoir travailler sur suffisamment de matériel
- **Objectif qualitatif** : pouvoir travailler sur une portion de génome

Besoin d'un ADN matrice contenant la portion de gène que l'on souhaite amplifier. On a besoin aussi d'amorces (fragment synthétique d'ADN) qui représente deux zones de part et d'autre délimitant le morceau que l'on souhaite

1- Dénaturation à 94° : 2 simple brins

2- Hybridation à 55° : les amorces s'hybrident avec les séquences complémentaires sur les deux brins.

3- Polymérisation 72° : les amorces vont créer de petites zones d'ADN double brin qui vont être élongées par des polymérase en 5'-3'

→ 1<sup>er</sup> cycle de la PCR qui va être répété sauf que à la seconde étape on a des brins néo-synthétisés. Cette fois-ci, la polymérase va générer des brins plus courts, puisque les matrices sont plus courtes. Plus on continue l'amplification, et plus ces petits bouts d'ADN vont correspondre à la partie que l'on souhaite avoir.

#### Lire de l'ADN : le séquençage

Permet de lire de l'ADN

Besoin d'une polymérase, amorce. Mais besoin également de nucléotides modifiés. dNTP, ddNTP : la plus-value étant qu'un ADN qui incorpore un ddNTP ne peut plus être allongé.

Séquençage :

1) Séquence ADN

2) On fait hybrider l'amorce choisie

3) Puis on ajoute la polymérase qui va créer un brin complémentaire

4) Puis les dNTP et ddNTP, chacun étant couplé à une molécule fluorescente : chaque fois que la polymérase incorpore un ddNTP, elle ne pourra plus continuer la polymérisation, le brin ne sera plus allongeable. Il restera en l'état avec au bout un nucléotide fluorescent. On obtient des morceaux de taille différents (d'un nucléotide à chaque fois)

5) Au cours de l'électrophorèse, on aura une succession de couleurs, cela reviendra à lire une à une les bases





### Les maladies et la génétique

<b>Les causes d'une maladie</b>	Méthode d'étude génétique : détermination de la cause des pathologies Dans certaines maladies infectieuses, l'agent pathogène peut être détecté grâce à son génome.	
<b>Détection des génomes exogène</b>	Bactériologie, virologie, parasitologie Caractère pathogène, virulence, résistance, charge virale et suivi thérapeutique → Détection par PCR puis par électrophorèse	
<b>Maladies génétiques</b>	Causées par une ou plusieurs modifications du génome : sont de deux causes (anomalies chromosomiques ou maladies liées à des mutations dans un gène)	
<b>Anomalies chromosomiques</b>	A la naissance, 0.6 à 0.9% des enfants vivants sont porteurs d'une anomalie chromosomique On a l' <b>anomalie de nombre</b> (trisomie 21) et l' <b>anomalie de structures</b> (cassures chromosomiques avec des réarrangements : fixation sur d'autres chromosomes)	
<b>Mutations dans gène</b>	<p>Conduisent à des maladies héréditaires.</p> <p>Une mutation est une variation dans la séquence d'ADN qui va avoir des conséquences sur l'expression du message génétique. La présence de cette variation aura une conséquence au niveau de la protéine ce qui provoquera la pathologie. Comme cette variation est présente dans l'ADN, elle sera transmise de manière héréditaire.</p> <p>La variation peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dans des séquences non codantes : les introns, dans ce cas : ARNm non modifié donc protéine non modifiée</li> <li>- Dans la séquence codante : répercuté sur l'ARNm et donc conséquence plus ou moins importante sur la protéine en modifiant sa séquence d'acides aminés</li> </ul> <p>Le changement d'un nucléotide par un autre est une substitution</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Silencieuse</b> : le nouveau codon crée un code pour le même acide aminé</li> <li>- <b>Faux sens</b> : nouveau codon code pour un autre acide aminé : aura un effet ou non.</li> <li>- <b>Non-sens</b> : transforme le codon en codon stop qui arrête la traduction.</li> </ul> <p>On a aussi des mutations par ajout ou perte de nucléotides :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Déplacement du cadre de lecture donnant une toute autre protéine</li> </ul>	
<b>Identification d'anomalie génétique</b>	<b>Quand ?</b>	Diagnostic prénatal, préimplantatoire Caractéristiques génétiques
	<b>Pourquoi ?</b>	Aide au diagnostic, conseil génétique Diagnostic pré-symptomatique
	<b>Sur quoi</b>	ADN ARNm
<b>A retenir</b>	La biologie moléculaire possède des outils performants : enzyme de restriction, PCR, séquençage Leur utilisation est néanmoins très contrôlée mais ces analyses peuvent être très longues	

