

Chapitre I : LE MATERIEL GENETIQUE

L'ADN est essentiellement retrouvé au niveau du noyau des cellules eucaryotes où il est localisé dans des chromosomes. On le trouve également dans les mitochondries des cellules animales et végétales ainsi que les chloroplastes. L'ARN existe essentiellement au niveau du cytoplasme cellulaire, il est particulièrement abondant dans les cellules réalisant une importante synthèse protéique.

Toutes les cellules eucaryotes et procaryotes renferment à la fois de l'ADN et de l'ARN. Alors que les virus ne contiennent qu'un seul type d'acide nucléique soit de l'ADN soit de l'ARN.

1. NATURE CHIMIQUE DES ACIDES NUCLEIQUES

Il existe en chaque être vivant (procaryote ou eucaryote), une substance qui est qualifiée de matériel génétique. Le matériel génétique est composé d'acides nucléiques.

1.1 Matériel génétique des bactéries

L'expérience de Griffith (1928) sur les Pneumocoques a démontré le transfert du caractère - virulence- et du type antigénique d'une souche bactérienne tuée à une autre souche vivante. Ce phénomène a été appelée transformation bactérienne.

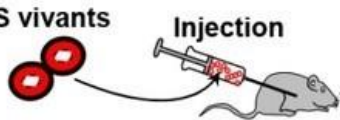


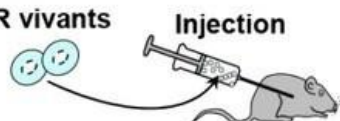

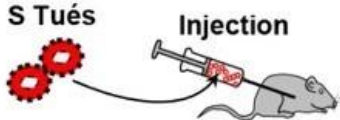




N°	Expériences	Résultats	Analyse du sang	Conclusions
1	S vivants 	Mort de la souris 	 S vivants	La souche S est virulente, elle tue l'animal.
2	R vivants 	Survie de la souris 	Absence de tout pneumocoque	La souche R n'est pas virulente.
3	S Tués 	Survie de la souris 	Absence de tout pneumocoque	La destruction de la capsule rend la souche S non virulente.
4	S Tués + R vivant 	Mort de la souris 	 S vivants	En présence de S tués les pneumocoques R vivants se transforment en pneumocoques S vivants.

Figure 1 : L'expérience de Griffith (1928) sur les Pneumocoques

Avery, McLeod et McCarty (1944) ont purifié le principe transformant. Leur expérience a montré que seul l'ADN a une activité transformante. Tout se passe comme si une portion de l'ADN de la bactérie donneuse (tuée) remplace une portion équivalente dans l'ADN de la bactérie réceptrice (vivante). La transformation a permis de démontrer que le matériel génétique des bactéries est constitué d'ADN.

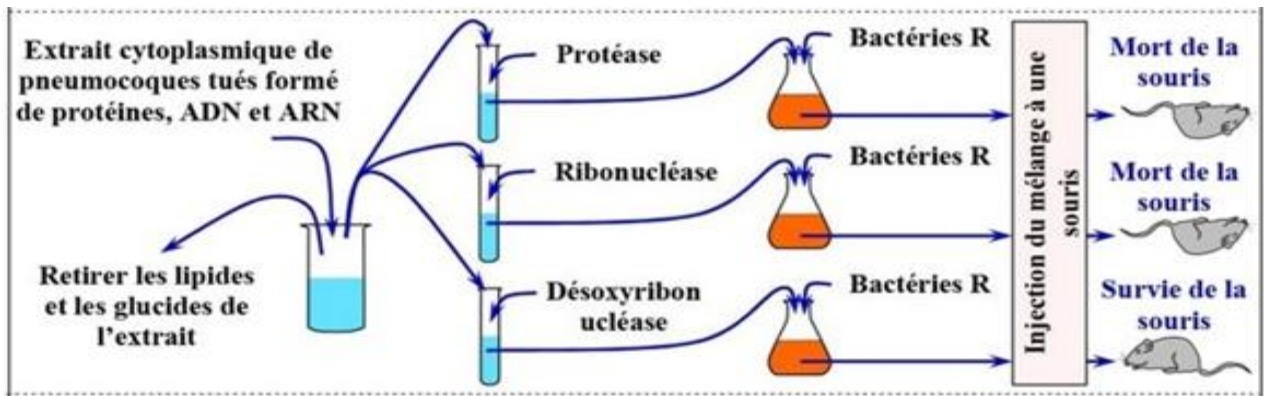


Figure 2 : Expérience de Avery McLeod et McCarty (1944).

1.2. Matériel génétique des virus

Plus tard, il a été démontré que les virus sont constitués d'un acide nucléique (soit l'ADN, soit l'ARN) et de protéines. L'expérience de Hershey et Chase (1952) a démontré que le matériel génétique du phage est constitué par l'ADN. Chez les virus à ARN, l'information génétique est contenue dans l'ARN.

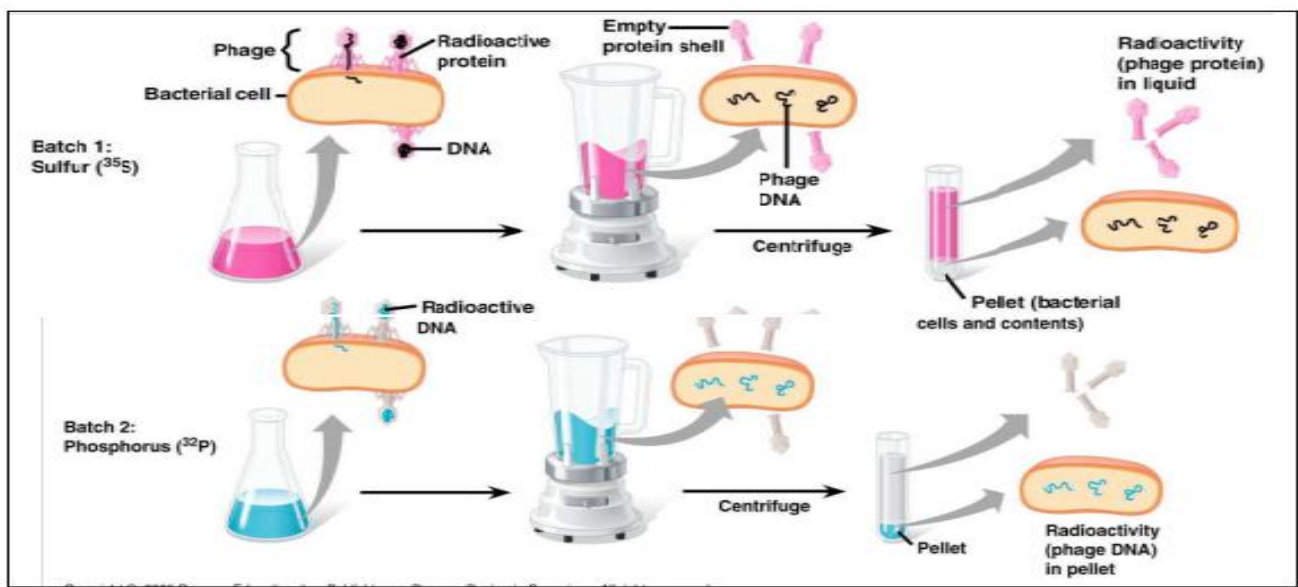


Figure 3 : Expérience d'Hershey et Chase (1952).

1.3. Matériel génétique chez les organismes eucaryotes

Un certain nombre d'arguments indirects ont montré que l'ADN est le matériel génétique des eucaryotes. Les études cytologiques et génétiques ont montré que les chromosomes, qui sont le support de l'hérédité, sont faits principalement d'ADN.

Conclusion :

L'ADN est le support de l'information génétique et de sa transmission chez tous les organismes (sauf les virus à ARN).

2. STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES

2.1. Constituants des acides nucléiques

L'ADN (Acide **D**éoxyribo Nucléique) : l'ADN est une longue molécule ressemblant à une échelle où les deux brins d'ADN est une molécule linéaire composée d'une substitution répétitive d'éléments appelés

nucléotides reliés par des liaisons **phosphodiester**.

L'ARN (Acide **R**iboNucléique) : l'ARN comme l'ADN est un polymère de

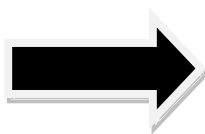
nucléotides reliés par des liaisons **phosphodiester**.

Chaque **nucléotide** est constitué d'une base azotée, d'un pentose et d'un acide phosphorique.

2.1.1. Les nucléotides

Le nucléotide est constitué de trois éléments :

- Un sucre (Pentose).
- Une base azotée.
- Un groupement phosphate H_3PO_4



Nucléotide = Base azotée + Pentose + Acide phosphorique

a) Le pentose(ose) : $C_5H_{10}O_5$

Il s'agit d'un sucre simple à 5 atomes de carbones. Selon la nature du pentose, on distingue deux types d'acide nucléiques : les acides ribonucléiques ou ARN (contenant du ribose) et les acides désoxyribonucléiques ou ADN (contenant du désoxyribose).

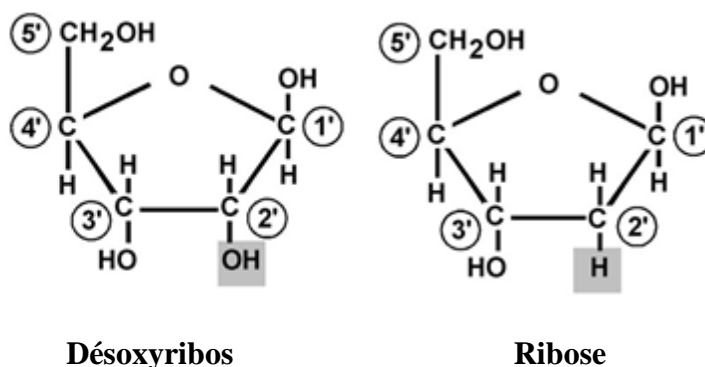
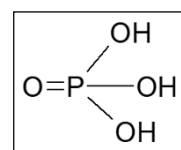


Figure 4. Structure du ribose et du désoxyribose.

NB : On numérote les atomes de carbone **C** du ribose avec des « primes » « **C'** » pour éviter les confusions avec les numéros des atomes des bases azotées.

b) L'acide phosphorique

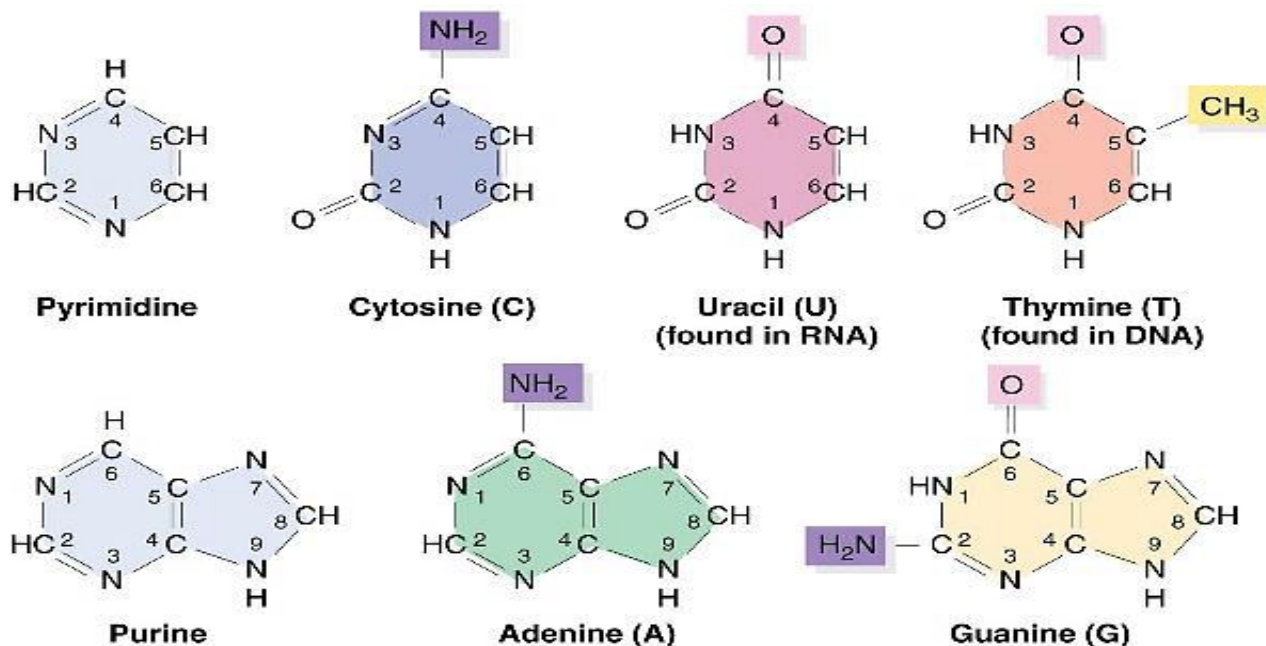
L'acide phosphorique est un tri-acide, deux de ses trois fonctions acides seront estérifiées dans les ADN et ARN.



NB : La présence de ces groupes phosphate et des atomes d'oxygène négativement chargés tout au long de la molécule confère à l'ADN une charge négative nette.

C) Base azotée : il en existe deux types

- ✓ **Une purine** : structure à deux cycles : Adénine (A) et Guanine (G)
- ✓ **Une pyrimidine** : structure à un seul cycle : Thymine (T), Cytosine (C) et Uracile (U).



2.2. Nomenclature des nucléosides et des nucléotides dans l'ADN et l'ARN

Les noms des nucléosides est celui de la racine de la base à laquelle on ajoute la désinence « idine » pour les pyrimidines (Cytidine , Thymidine, Uridine) et « osine » pour les purines (Adénosine et Guanosine).(Tableau 1).

Tableau 1. Nomenclature des nucléosides et des nucléotides Cas de monophosphate

Base	Nucléoside (Base + Ose)		Nucléotide (Base + Ose + Phosphate)	
	<i>ribose</i>	<i>désoxyribose</i>	<i>ribose</i>	<i>désoxyribose</i>
Uracile (U)	uridine	—	UMP	—
Thymine (T)		désoxythymidine		dTMP
Cytosine (C)	cytidine	désoxycytidine	CMP	dCMP
Adénine (A)	adénosine	désoxyadénosine	AMP	dAMP
Guanine (G)	guanosine	désoxyguanosine	GMP	dGMP
			ARN	ADN

Cas de diphosphate

- Nucléotide diphosphate = nucléoside + 2 groupements phosphate(ARN)
- Désoxynucléotide diphosphate = désoxynucléoside + 2 groupements phosphate (ADN)

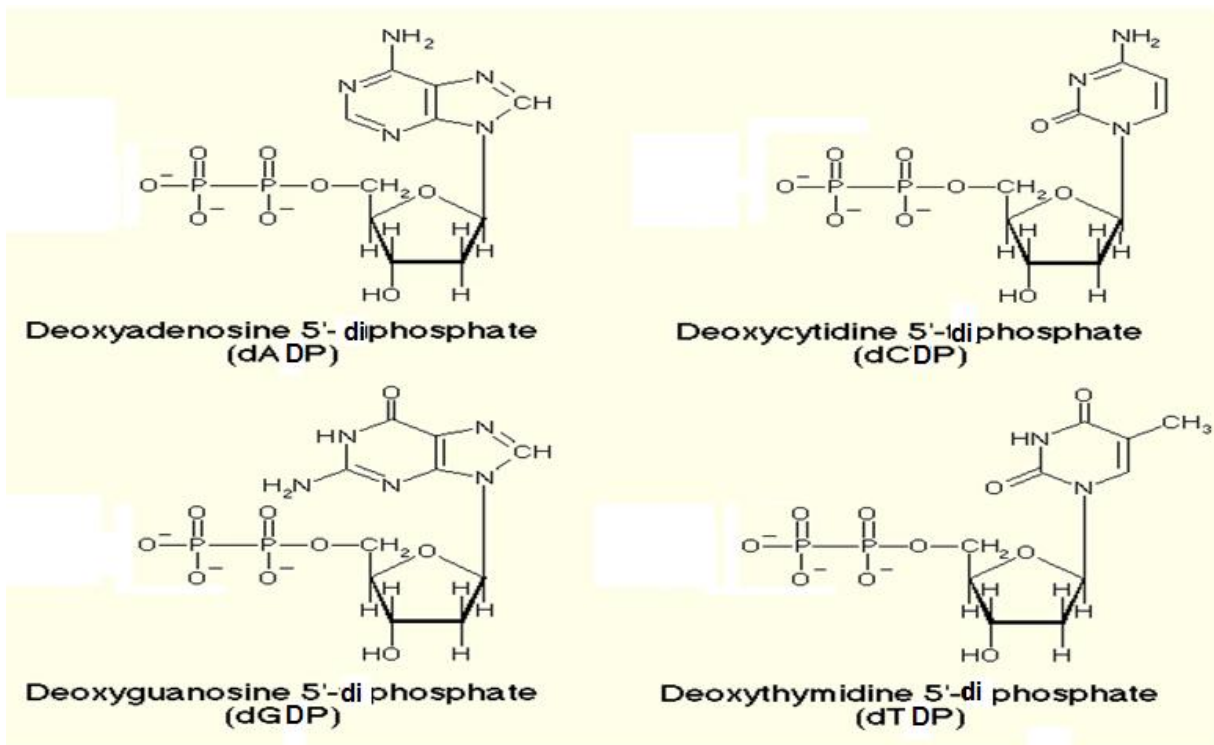


Figure 6 : Nomenclature des nucléosides et des nucléotides a diphosphate.

✚ Cas de triphosphate

Nucléotide triphosphate = nucléoside + 3 groupements phosphate(ARN).

Désoxynucléotide triphosphate = désoxynucléoside + 3 groupements phosphate (ADN).

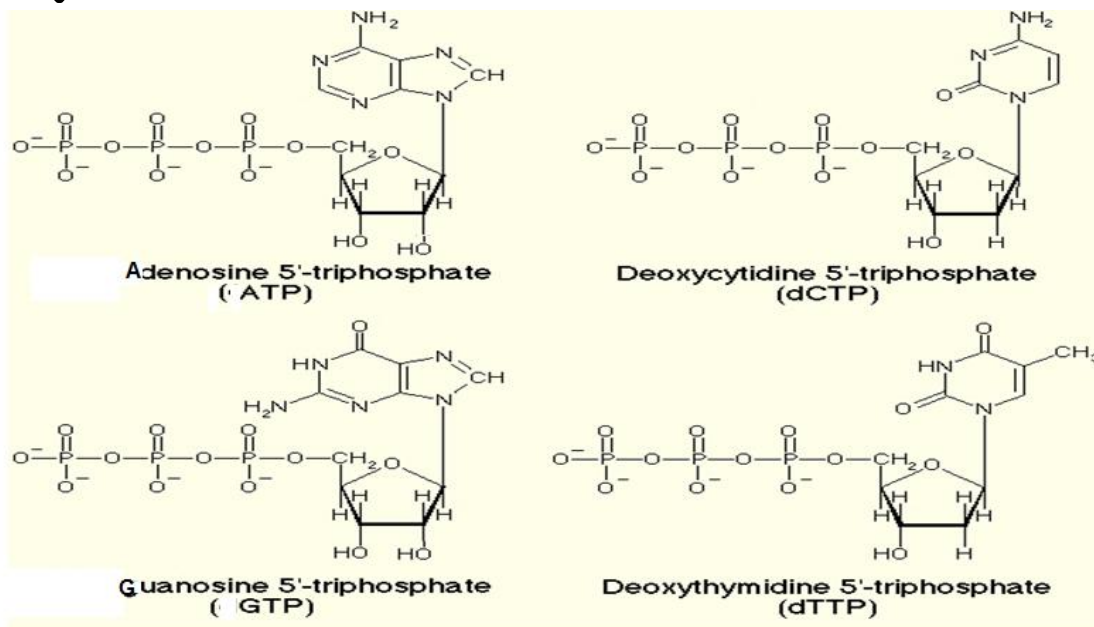


Figure 7 : Nomenclature des nucléosides et des nucléotides a triphosphate.

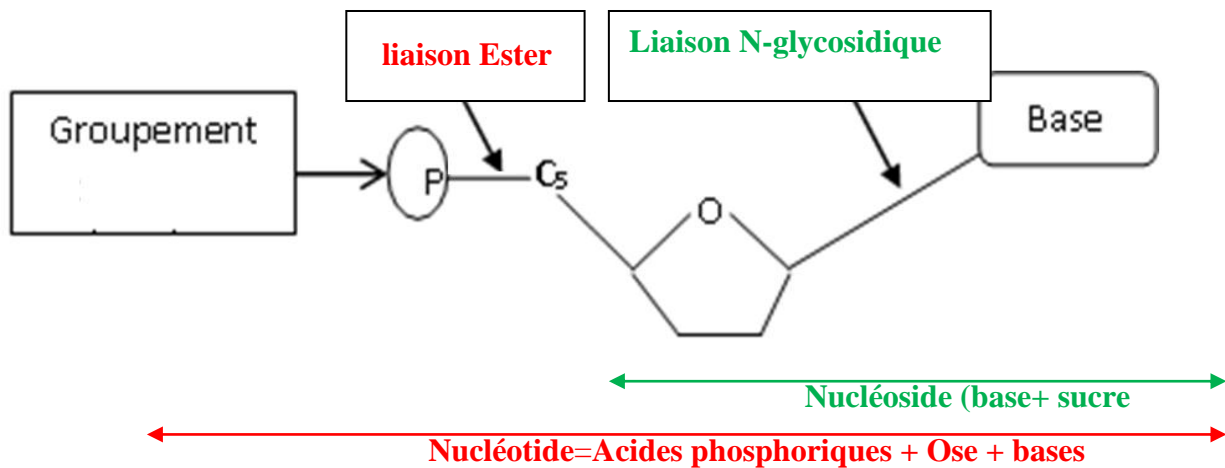
2.3.L'association des trois éléments constituant un nucléotide

L'union entre la base azotée et le pentose donne **un nucléoside** par des liaisons N-glycosidique

Nucléoside = Base azotée + Pentose

L'union entre le **nucléoside** et le phosphate et donne **un nucléotide** par des **liaisons Ester** :

Nucléotide = Nucléoside + Phosphate.



a. Liaison ose-base :

La liaison ose-base est une liaison N-glycosidique entre la fonction hydroxyle (OH) située en C'1 de l'ose et un H de l'azote N1 de la base pyrimidique (H en N1) ou de l'azote N9 de la base purique (H en N9) (Figure 8).

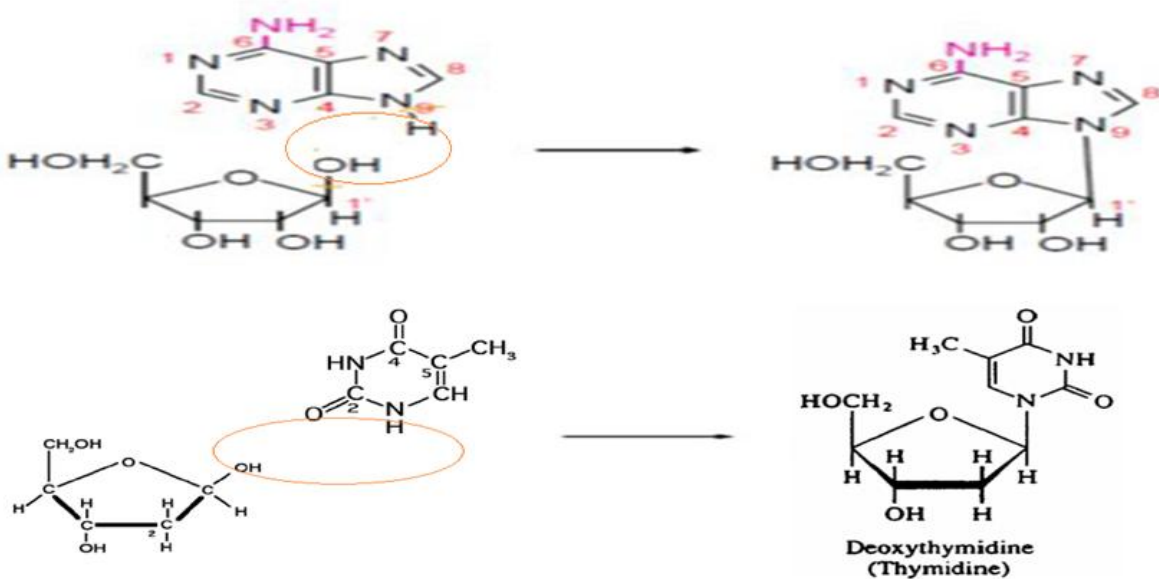


Figure 8 : Liaisons entre le pentose et les bases nucléiques.

b. Liaison acide phosphorique- ose

La liaison entre l'ose et acide phosphorique (H₃PO₄) est une liaison ester. Cette liaison se forme par élimination d'une molécule d'eau entre le OH de l'acide il s'agit de l'OH de l'H₃PO₄ et un H de l'alcool il s'agit du H en 5' de la fonction alcool en 5' de l'ose .La succession d'unités sucre et phosphate unies par des **liaisons phosphodiester**(Figure 9).

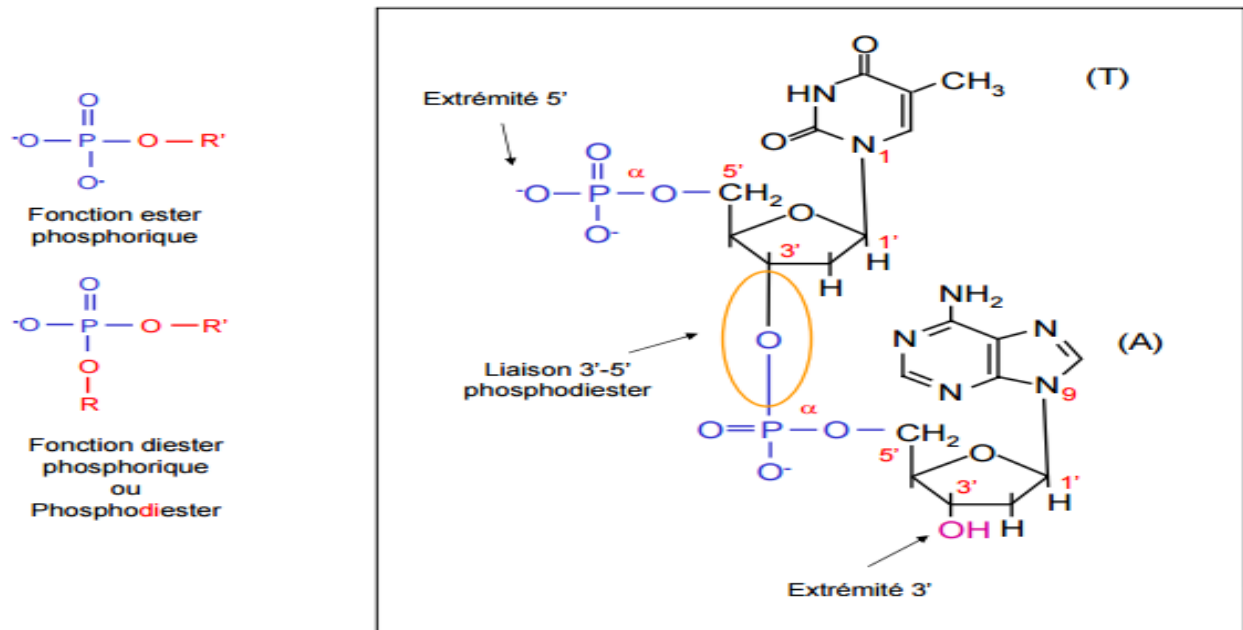


Figure 9 : Liaison acide phosphorique – ose.

2.4. La structure des polynucléotides

- Les nucléotides sont reliés entre eux sur chaque brin par des liaisons covalentes (liaisons phosphodiester entre un groupe phosphate et deux molécules de désoxyribose de nucléotides adjacents). (Figure 10).
- Le polymère est fait d'un "squelette« alterné de groupements phosphate et de riboses. Les bases sont accrochées sur le coté.

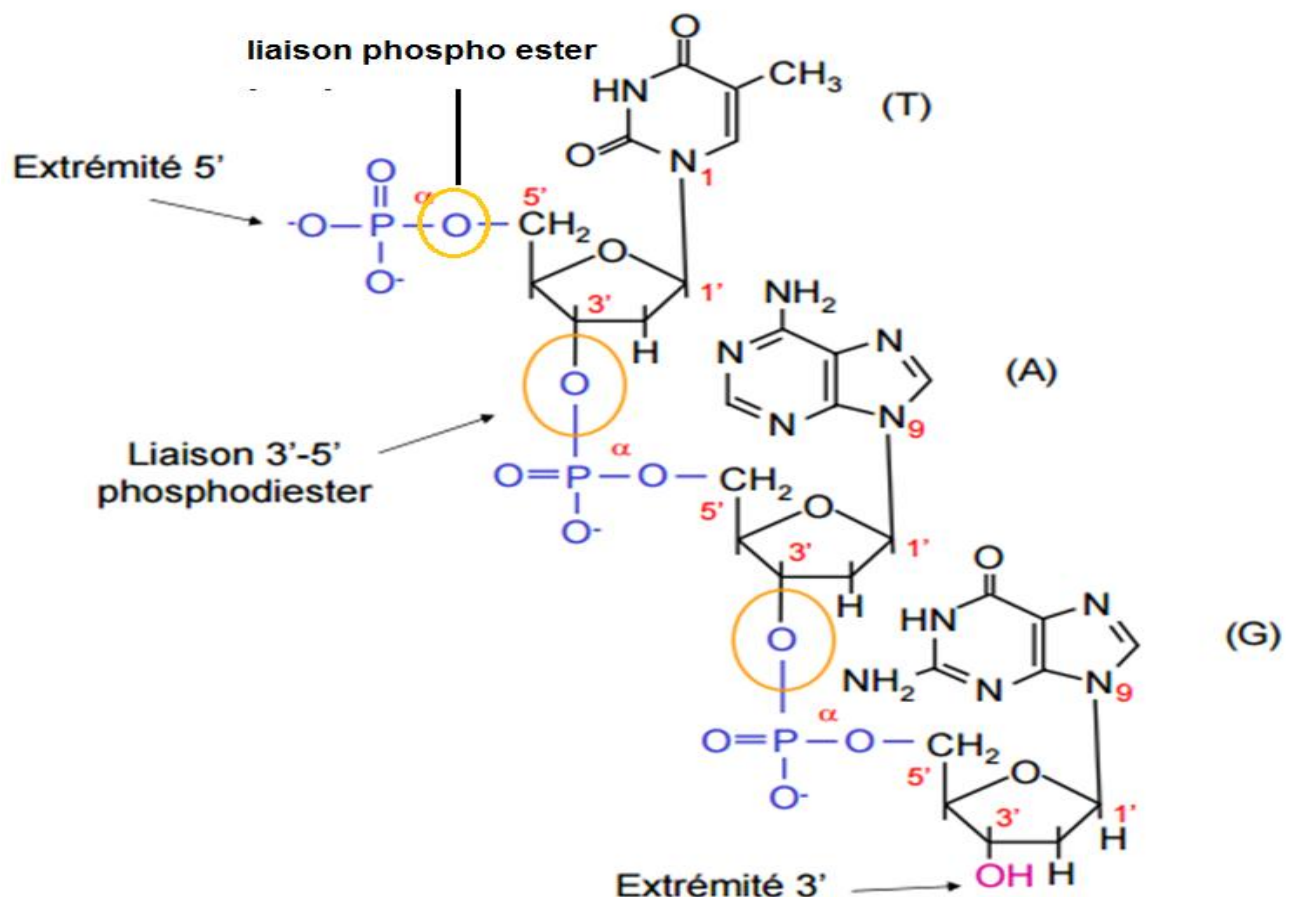


Figure 10 : Structure des polynucléotides

2.5. Orientation et lecture d'une chaîne d'acide nucléique

Le brin d'acide nucléique a une orientation chimique : l'extrémité 3' porte un groupe hydroxyle sur le carbone 3' du sucre, l'extrémité 5' porte un groupement phosphate avec deux fonctions acides libres, ce groupement est relié au carbone 5' du sucre.

Les chaînes d'acides nucléiques sont toujours lues du sens 5'phosphate vers le sens 3'OH (5'→3'). La figure ci-dessous montre les méthodes utilisées pour représenter une chaîne d'acide nucléique :

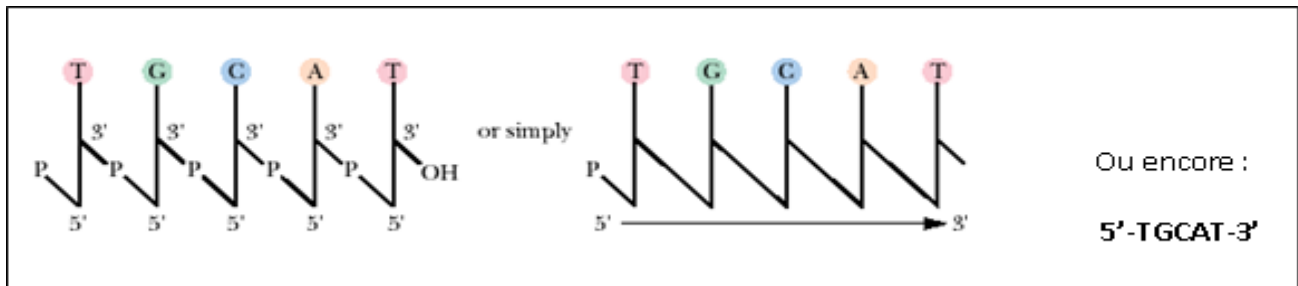


Figure 11 : Représentation simplifiée d'une chaîne d'acide nucléique.

3. Classification des acides nucléiques

3.1. L'acide désoxyribonucléique (ADN)

3.1.1. Les constituants de l'ADN

- Le pentose : est un désoxyribose ;
- Les bases : A, G, T et C (dans l'ADN on ne trouve jamais l'U qui est propre à l'ARN)
- Deux chaîne de nucléotides : La molécule d'ADN est formée de deux chaînes (ou deux brins) de nucléotides alors que l'ARN n'est formé que par une seule (exception de quelques ARN viraux).

3.1.2. Caractéristiques des deux chaînes de l'ADN

Les deux chaînes constituant la molécule de l'ADN ont 3 propriétés essentielles ; elles sont :

a. Antiparallèles ; b. Complémentaires et c. Hélicoïdales.

a) Antiparallèles : Ce mot signifie que les deux brins nucléotidiques sont parallèles mais dans des directions (orientations) opposées (Figure 12 B).

b) Complémentaires (règle de Chargaff 1947)

Selon cette règle, quelle que soit l'origine de l'espèce, les bases puriques d'un brin s'associent toujours à une base pyrimidique de l'autre brin. L'adénine va toujours s'associer avec la thymine et la guanine avec la cytosine. On désigne cette liaison sous le terme d'hybridation (Figure 12 A).

- En face de A on a T
- En face de C on a G

NB. Les **deux chaînes** sont maintenues par des liaisons **hydrogènes** entre les bases azotées. **2** liaisons entre A et T (**A=T**) et **3** liaisons hydrogènes entre C et G (**C≡G**) Des liaisons faibles (**liaisons hydrogène**) maintiennent les deux brins complémentaires. ces liaisons peuvent être rompues par simple augmentation de température.

✚ Les lois de Chargaff

- L'analyse de la composition en bases de divers ADN par Erwin Chargaff à la fin des années 1940 fourni la clé de la base chimique de l'appariement. Ces résultats montrèrent que Quelque soit l'original'espèce, l'ADN contient toujours autant de purine que de pyrimidine soit :
- $(A + G) = (C + T)$ ou $(A+G) / (C+T) = 1$ (**rapport qualitatif**)
- De plus, La quantité d'adénine est toujours égale à la quantité de thymine et la quantité de guanine est toujours égale à la quantité de cytosine :
- $A=T$ et $G=C$.
- $A+T/G+C \neq 1$ (**rapport quantitatif**) , ce rapport est différent selon les espèce.

c) Hélicoïdales (La double hélice de l'ADN) : Les deux chaînes de l'ADN représentent dans l'espace une conformation hélicoïdale, à l'extérieure courent les deux squelettes pentose-phosphate, les bases sont tournées vers l'intérieure (Figure 12 C).

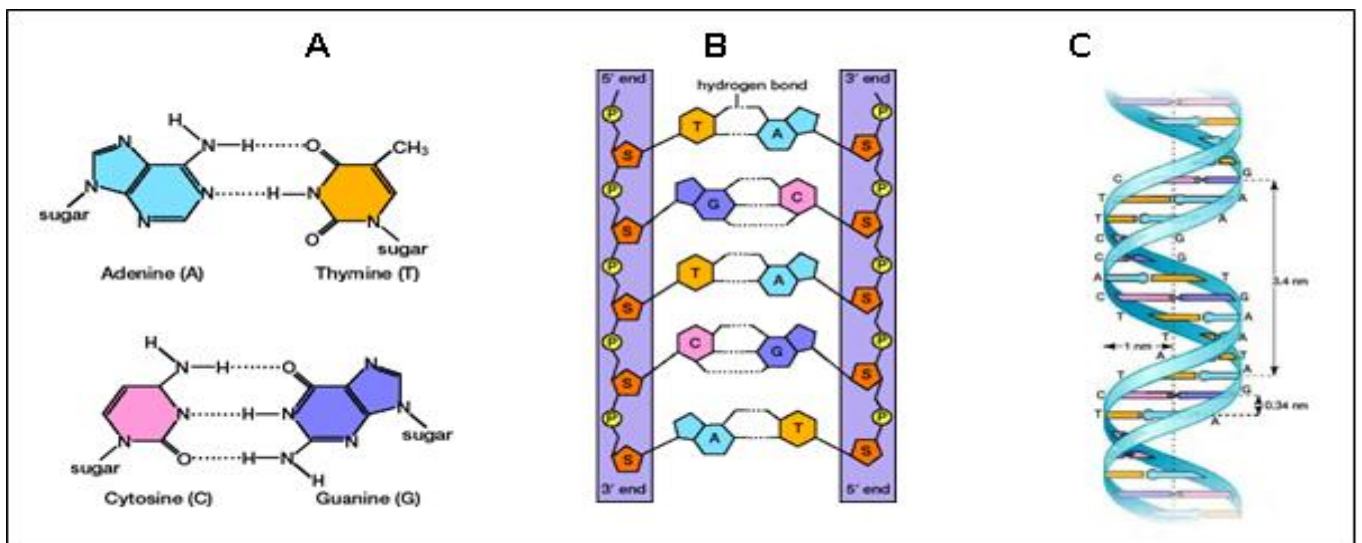


Figure 12 : Structure en double hélice de l'ADN

✚ Modèle de la structure d'ADN de Watson et Crick en double hélice

Découvert par watson et krick en 1953, sur la base de photo de diffraction aux rayons X prise par certain Franckline et Wilkins.

- Les deux chaînes de l'ADN dans la double hélice tournent autour d'un axe imaginaire.
- Dans l'ADN normal, un tour complet d'hélice contient environ 10 paires de bases (Pb) .
- Le pas de l'hélice (un tour) est environ 34 Å° .
- La distance moyenne entre 2 bases est environ 3.4Å°, avec un diamètre de 20Å° .
- Les deux hélices ne sont régulières on distingue un sillon majeur et un sillon mineur, c'est très important

dans l'interaction avec les protéines, dans sa réplication, et aussi dans l'expression de l'information génétique.

- Squelette sucre-phosphate est à l'extérieur de l'hélice, tandis que les bases azotées sont au centre.
- Séquences des bases : L'information génétique est contenue dans une partie (fragment) d'ADN appelés **Gène**.

NB. Sur le plan fonctionnel, l'ADN se divise en :

- ADN non-codant (ou anonyme) qui représente la partie majeure de l'ADN (environ 98 % du génome humain),
- ADN codant qui est l'ADN des gènes (environ 1,2 %). Qui est la portion traduite en protéines..

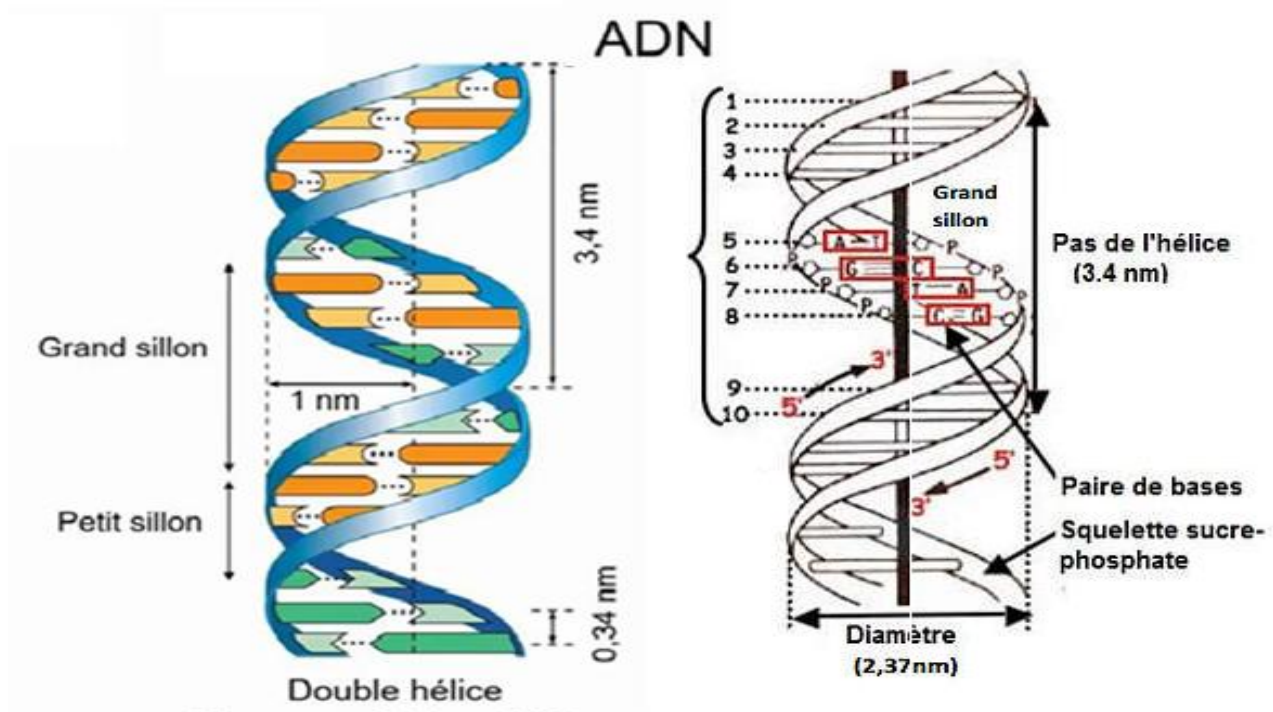


Figure 13 : Modèle de la structure d'ADN de Watson et Crick.

3.1.3. Les différentes formes de la double hélice :

- L'ADN double brin peut avoir trois structures secondaires : A, B et Z, La forme B est généralement la forme la plus fréquente dans la cellule.
- La forme d'ADN-A est la plus compacte.
- La forme Z est identifiée sur des régions chromosomiques qui présentent une double hélice tournée vers la gauche.

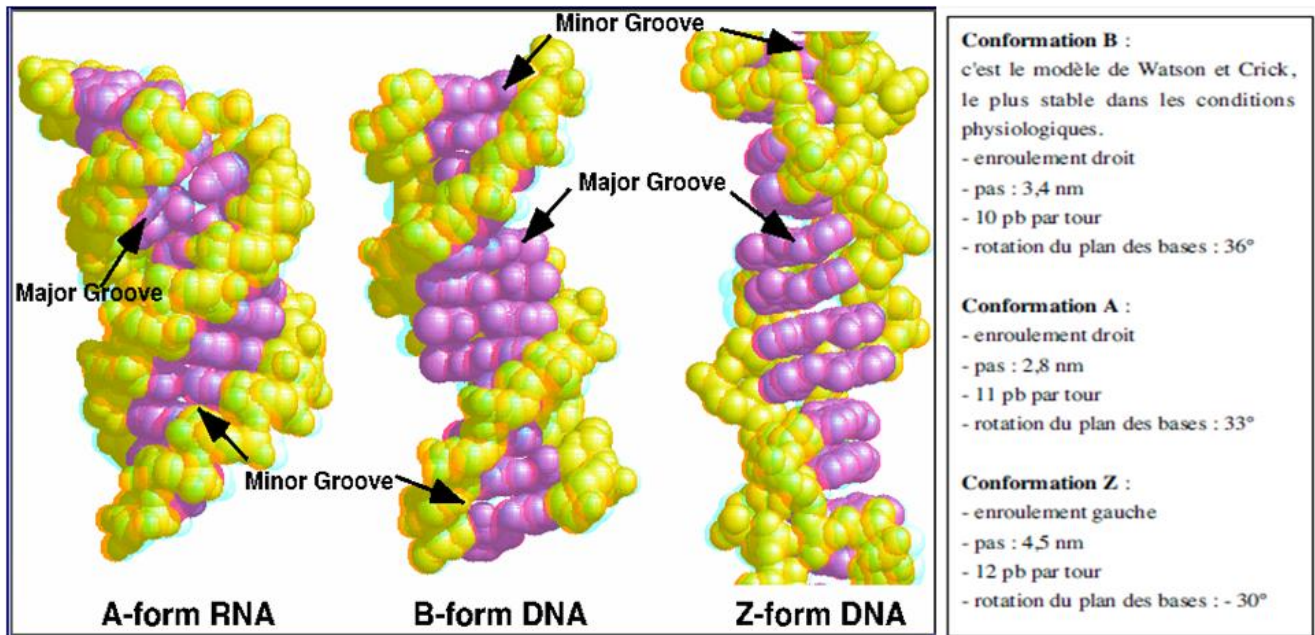


Figure 14 : Les différentes formes de l'ADN.

3.1.4. Catégories de l'ADN selon l'état d'enroulement

- La **structure primaire** de l'ADN est une chaîne de nucléotides joints par des liaisons phosphodiester.
- La **structure secondaire** de l'ADN est sa configuration tridimensionnelle – sa structure hélicoïdale de base.
- La **structure tertiaire** correspond au surenroulement de l'ADN en chromosomes.

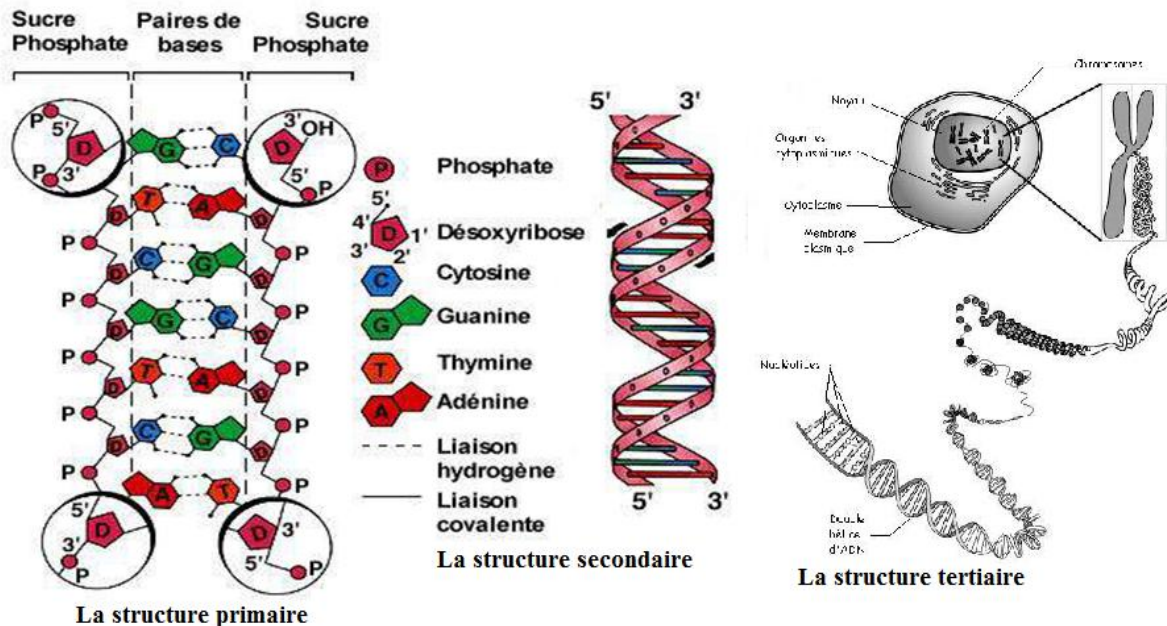


Figure 15 : structure de l'ADN selon l'état d'enroulement.

3.1.5. Les Propriétés physico-chimiques de l'ADN

Charge négative : À pH physiologique, l'ADN est chargé négativement à cause des groupements phosphates de son squelette.

Solubilité : L'ADN est soluble dans l'eau, mais forme des solutions très visqueuses, surtout pour les double hélices, et insoluble dans les solvants organiques.

Absorption UV : Les bases azotées aromatiques de l'ADN absorbent la lumière à 260 nm, ce qui est utilisé pour quantifier sa concentration.

Dénaturation - Rénaturation : Le chauffage d'une solution d'ADN rompt les liaisons hydrogène entre les deux brins, provoquant leur séparation et formant des simple brins (Température de fusion : T_m) et le refroidissement permet la rénaturation.

Hydrolyse : L'ADN est sensible à l'hydrolyse, qui peut libérer les bases azotées et les sucres.

Réplication : L'ADN a la capacité de se répliquer fidèlement. La double hélice se sépare, et chaque brin sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire, formant ainsi deux nouvelles molécules d'ADN identiques.

3.2. L'acide ribonucléique (ARN) : L'ARN est caractérisé essentiellement par :

- Le pentose : est un ribose .
- Les bases : A, G, C et U.
- Une seule chaîne de nucléotides.

3.2.1. Structure secondaire de l'ARN

Des molécules d'ARN sont constituées d'une seule chaîne polynucléotidique. Ces chaînes peuvent dans certains cas adopter une conformation spatiale ou structure secondaire en *tige-boucle* ou en *épingle à cheveux*, ceci se fait par appariement de certaines bases sur la même chaîne polynucléotidique (A s'apparie à U et G s'apparie à C).

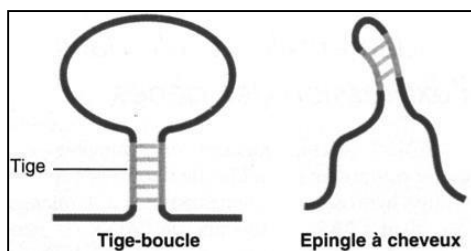


Figure 16 : Structure secondaire de l'ARN

3.2.2. Les différents ARNs : Il existe différents types d'ARN, tous synthétisés par transcription des gènes correspondants.

a) **ARNr :** Acide ribonucléique Ribosomique qui participe dans la traduction

b) **ARNt :** Acide ribonucléique de transfert transporteur des acides aminés durant la traduction.

✓ Deux sites sont importants dans l'ARNt : qui ont en commun leur structure plane en feuille de trèfle

- **L'extrémité 3'-OH (le bras accepteur):** qui fixera l'acide aminé à transporter
- **La boucle anticodon :** reconnaîtra le «codon» qui est aussi un groupe de 3 nucléotides successifs sur l'ARNm.

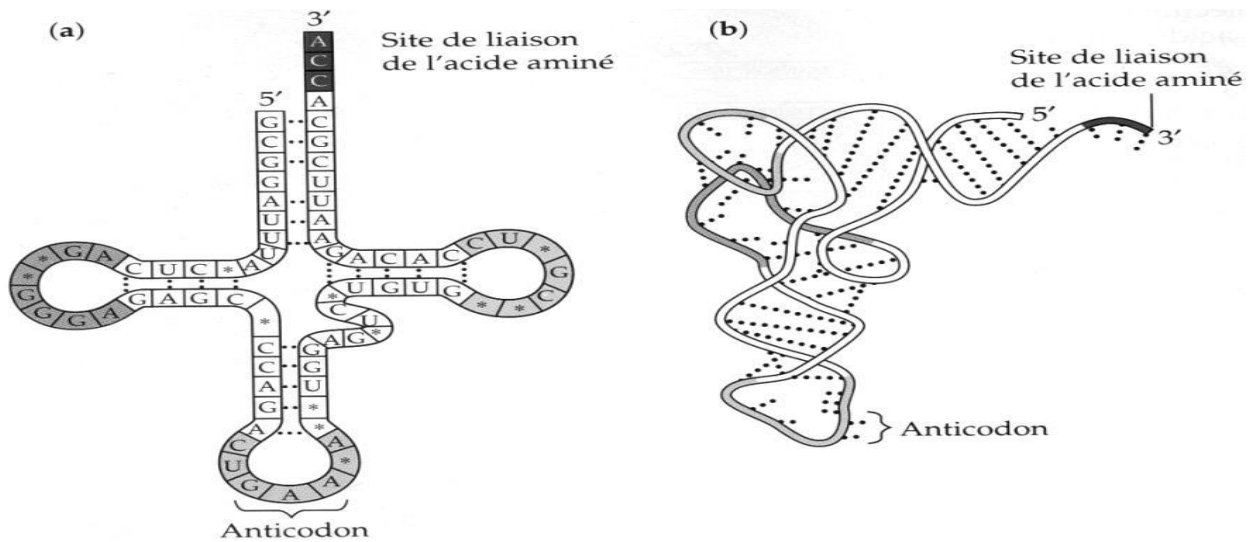


Figure 17 : structure en feuille de trèfle de ARNt.

c) **ARNm**: Acide ribonucléique messager produit de la transcription d'une séquence d'ADN qui porte l'information génétique.

✚ ARN produits uniquement chez les eucaryotes :

- Les **petits ARN nucléaires** (ARNpn) se combinent avec de petites sous-unités protéiques pour former de **petites ribonucléoprotéines nucléaires** (ARNpn). Certains ARNpn participent à la maturation des pré-ARNm en ARNm.
- Les **petits ARN nucléolaires** (ARNpno) participent à la maturation des ARNr
- Les **micro-ARN** (ARNmi) et les **petits ARN interférents** (ARNpi), qui aident à déclencher la dégradation de l'ARNm ou inhibent sa traduction en protéine.

3. ORGANISATION DE L'ADN EN CHROMOSOMES

3.1. Chez les procaryotes : Le chromosome bactérien

Le génome bactérien est constitué d'un seul chromosome contenant une molécule d'ADN circulaire. Cette molécule est condensée grâce à son association avec des protéines basiques (qui ressemblent aux histones complexées à l'ADN des eucaryotes) formant une structure visible au microscope appelée **nucléotide** (Figure I.14).

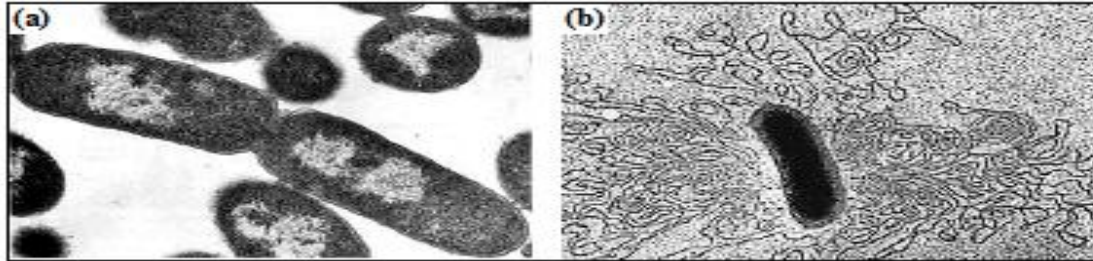


Figure 18 : (a) nucléotide d'*E. coli* (régions claires) ; (b) Si la paroi cellulaire d'une bactérie comme *E. coli* est partiellement digérée et si la cellule subit en suite un choc osmotique, le contenu de la cellule est extrudé. Au microscope électronique, le composant cellulaire extrudé le plus visible est le chromosome, que l'on voit entourant la cellule.

Chez les procaryotes, on trouve parfois ce que l'on appelle "**plasmides**". Ce sont de petites molécules d'ADN circulaire extrachromosomique, capables de s'autorépliquer. Les plasmides portent un nombre de gènes réduit, leur information génétique n'est pas essentielle pour l'hôte.

3.3. Chez les Chromosomes des eucaryotes

Selon le moment du cycle de vie d'une cellule, l'ADN peut se présenter sous différents degrés de condensation (enroulement) pendant l'interphase.

(Figure 19 A) .

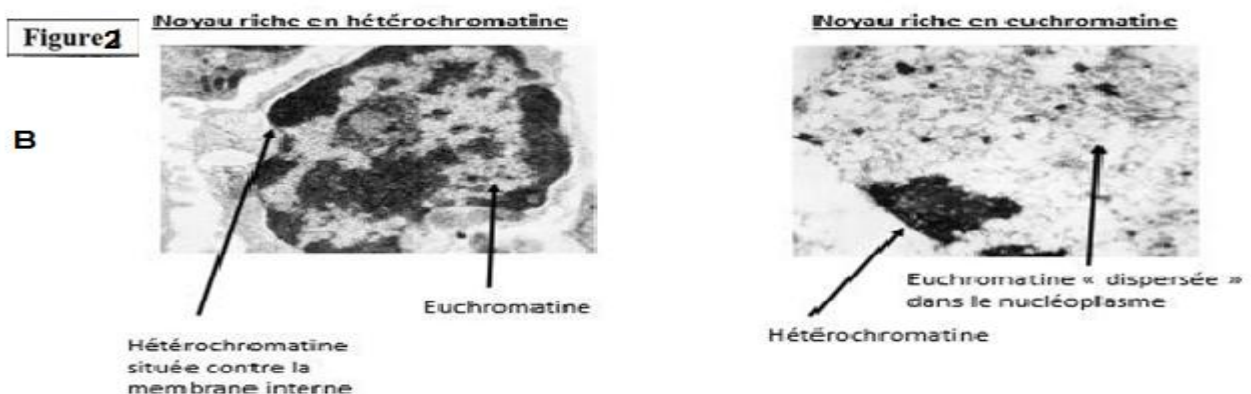
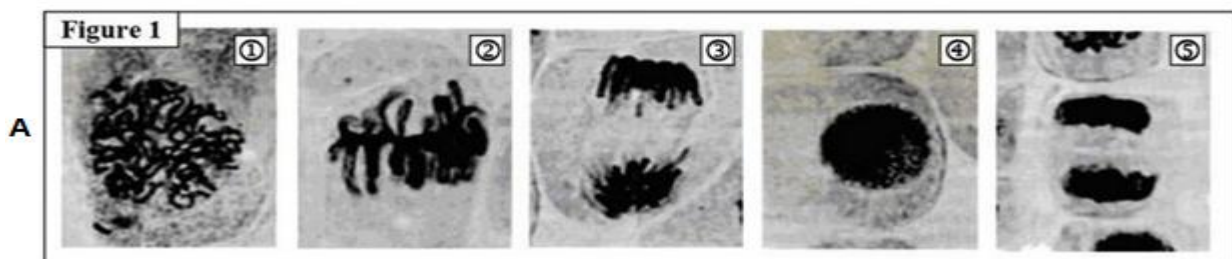


Figure 19 : cycle cellulaire (interphase +mitose) .

Chez les eucaryotes, l'ADN est situé dans le noyau. Les génomes eucaryotes sont constitués de plusieurs chromosomes contenant chacun une molécule d'ADN linéaire.

L'ADN des eucaryotes est associé à de petites protéines basiques appelées **histones**, leur rôle est de condenser la longue chaîne d'ADN. Le complexe ADN-protéines (protéines histones et non-histones) chez les eucaryotes est appelé **chromatine**. (Figure 19 B). Il existe 5 types majeurs de protéines histones : H1, H2A, H2B, H3 et H4.

1) Premier niveau d'organisation :

La chromatine est composée d'un ensemble de particules appelées **nucléosomes** qui s'organisent en une structure en "**collier de perles**" dont les perles sont les nucléosomes (Figure 20 a). Les nucléosomes sont formés par un ADN qui s'enroule 1,65 fois autour d'un octamère d'histones contenant deux molécules de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4. La 5^{ème} type d'histone (H1) lie l'extrémité de chaque nucléosome. L'ensemble nucléosome + H1 est appelé **chromatosome** (Figure 20 b).

2) Deuxième niveau d'organisation :

La fibre de chromatine s'enroule (par liaison des histones H1 entre elles) pour former une structure d'ordre supérieur contenant 6 nucléosomes par tour **Fibre solénoïde** ou **modèle zigzag** (et mesurant 30 nm de diamètre) (Figure 20c).

3) Troisième niveau d'organisation :

Lorsque la fibre de 30 nm se condense donnant naissance à une chromatide chromosomique, à ce moment on est dans la compaction finale. forme ensuite **des boucles** d'ADN de longueurs variables qui se basent sur une matrice protéique. Cette structure s'enroule d'avantage en hélice ayant le diamètre d'un **chromosome** (≈ 700 nm) (Figure 21) .A ce stade de la compaction: deux état de compactage de l'ADN peuvent être observés:

- l'**euchromatine**, qui correspond à des régions moins condensées de la chromatine, au sein desquelles les informations génétiques peuvent être activement exprimées,
- l'**hétérochromatine** correspond à des régions plus condensées de la chromatine dont les séquences ne sont pas exprimées (Figure 19 A).

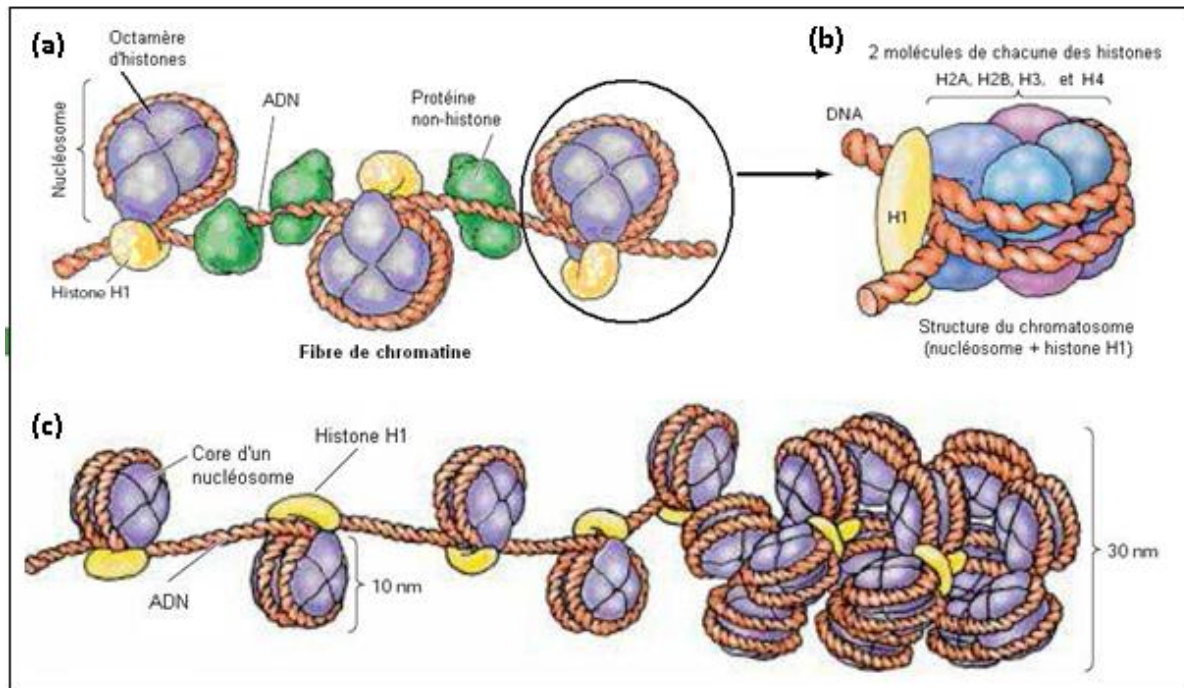


Figure 20 : Structure et condensation de la chromatine

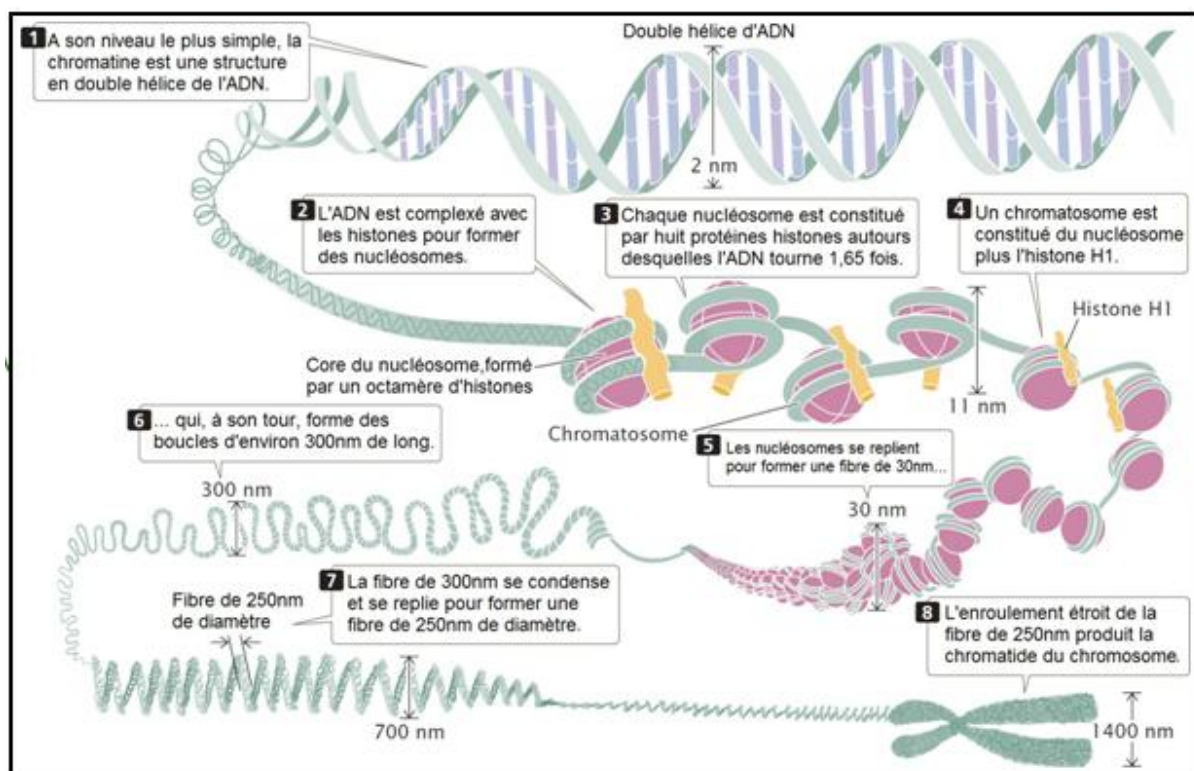


Figure 21 : Passage de la structure en double hélice à la structure de chromosome.

3.4. Nombre et morphologie des chromosomes

3.4.1. Le nombre de chromosomes :

C'est une caractéristique de chaque espèce c'est-à-dire par exemple nous avons 8 chez drosophile, mais possède 20 chromosomes, 200 chromosomes chez les crustacés et 46 chromosomes chez l'homme.

3.4.2. Morphologie des chromosomes

Les chromosomes sont formés de bâtonnets accolés par une zone condensée appelée le **centromère**.

Les centromères contiennent des séquences d'ADN spécifiques auxquelles se fixe un nombre de protéines formant une structure appelée **kinetochore**. La liaison entre les protéines du kinetochore et les microtubules assure la migration des chromosomes dans le fuseau mitotique.

Les bras du chromosome s'étendent de part et d'autre du centromère. Par convention le bras le plus court est appelé, le **bras p** et le bras le plus long appelé le **bras q**. Les **télomères** sont les extrémités naturelles du chromosome, et la présence de petites extensions terminales de chromatines appelées "**satellites**"...etc. Chaque chromosome peut être distingué de tous les autres par plusieurs critères morphologiques dont la taille, la position de son centromère.

On distingue : (Figure 22) :

- a) **Les chromosomes métacentriques** : dans lesquels le centromère divise le chromosome en deux bras égaux.
- b) **Les chromosomes submétacentriques ou acrocentriques** : présentent des bras de tailles distinctement inégales, la différence de taille est d'avantage prononcée dans un chromosome acrocentrique.
- c) **Les chromosomes télocentriques** : dans lesquels le centromère est très proche de l'extrémité du chromosome.

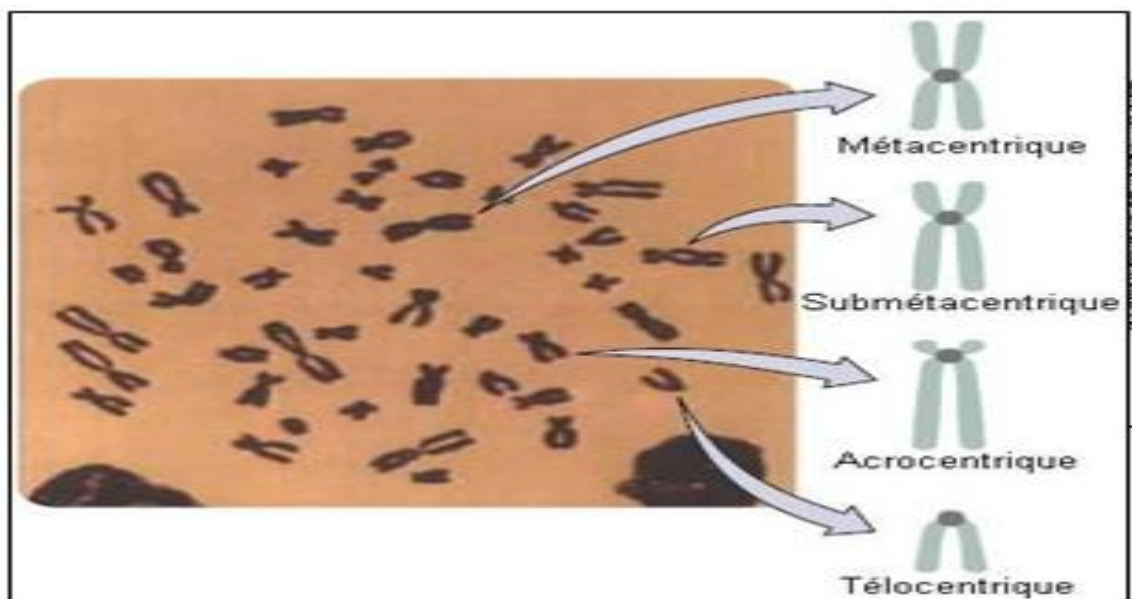
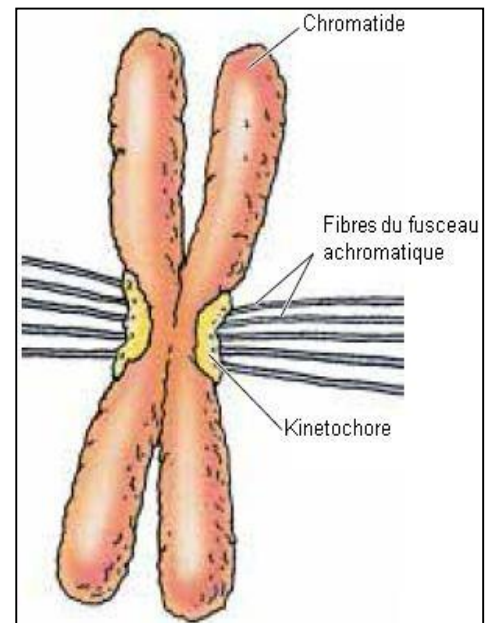


Figure 22: Types des chromosomes eucaryotes

✓ **Notions d'autosomes et de chromosomes sexuels (gonosomes)**

Les autosomes sont tous les chromosomes qui ne sont pas sexuels. Les chromosomes sexuels ou gonosomes ne sont pas identiques chez les 2 sexes Ex : chez l'homme, 46 chromosomes = 23 paires = 22

paires d'autosomes + une paire de gonosomes. Chez l'homme le caryotype est composé de 46 chromosomes groupés en 22 paires d'autosomes homologues plus deux chromosomes sexuels, un X et un Y, ou X et X (Figure 22).

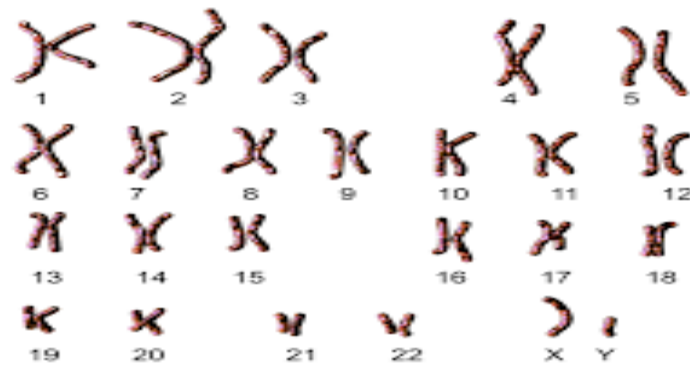


Figure 22 : Le Caryotype.(génom).

4. LA REPLICATION DE L'ADN

1-Fondement du mécanisme de réplication semi-conservative :

Il y avait trois hypothèses pour expliquer le mécanisme de réplication de l'ADN, trois modèles ont été proposés : Le modèle conservateur, le modèle dispersif et le modèle semi conservateur (Figure 23). Une seule de ces hypothèses a été vérifiée, c'est l'hypothèse de la réplication semi conservative.

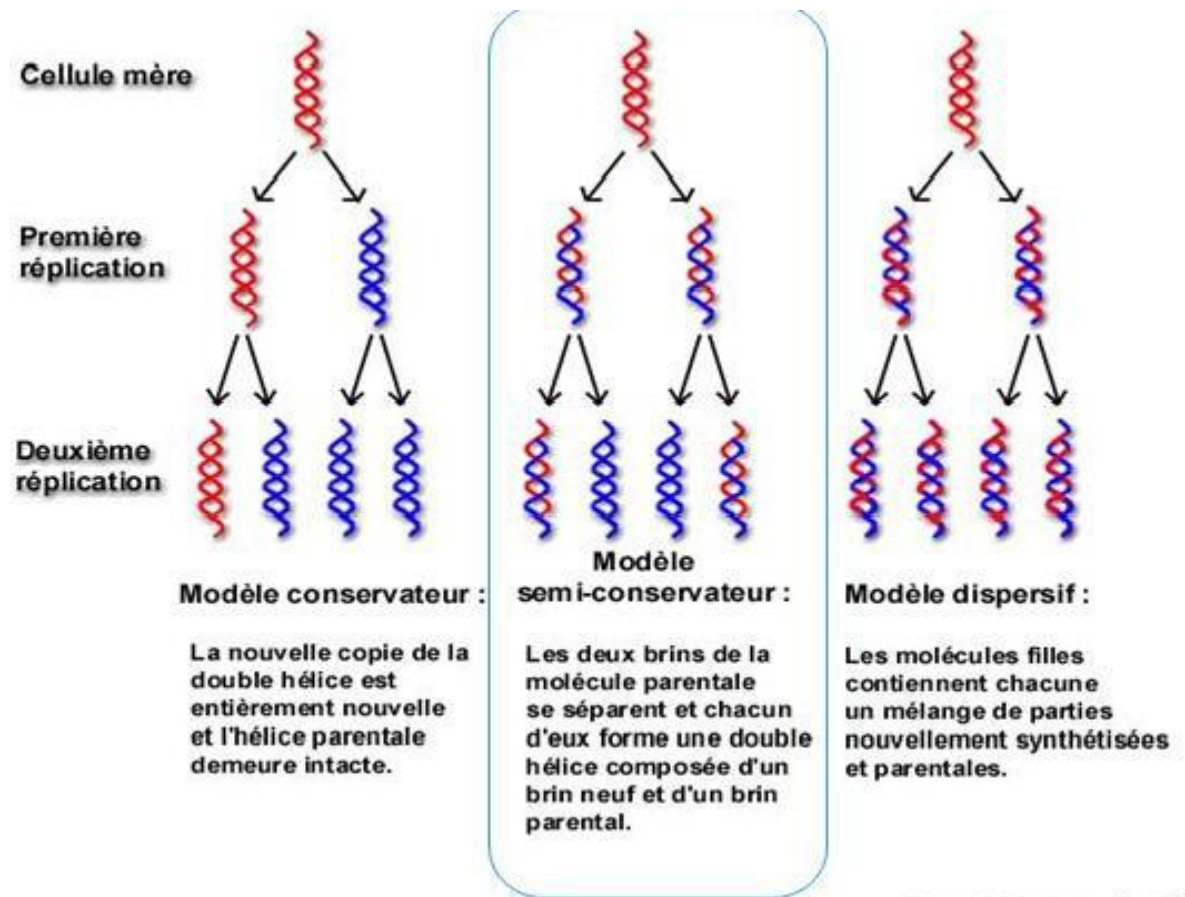


Figure 23 : Trois modèles proposés de la réplication de l'ADN

L'hypothèse de la réplication semi conservative fut proposée par Watson et Crick, et elle fut vérifiée en 1957 par Mathew Meselson et Franklin Stahl. Ces deux chercheurs ont réalisé une expérience par laquelle ils ont prouvé que la réplication de l'ADN est semi- conservative.

Expérience de Meselson et Stahl :

Les deux chercheurs ont mis en culture des bactéries *E. coli* dans un milieu contenant comme seule source d'azote du chlorure d'ammonium (NH_4Cl) radioactif (^{15}N) (^{15}N est l'isotope lourd de l'azote, et le ^{14}N est l'isotope normal, donc léger). L'ADN récupéré qui contient le ^{15}N est plus lourd en comparaison avec l'ADN parental contenant de l'azote ^{14}N .

* Si l'ADN se réplique en subissant une fragmentation en petit morceaux, c'est-à-dire d'une manière dispersée, l'ADN de la première génération ne correspondraient pas à l'ADN hybride, mais à un ensemble de molécule dont les densités entières s'étalait entre les deux extrêmes,

* si la molécule entière (double chaîne), servait de modèle la formation des nouvelle molécules, la première génération serait composée de molécules originales ne contenant que de ^{15}N et de molécules nouvelles ne content ^{14}N , l'ADN effectue donc sa réplication d'une manière semi conservative: chacune des deux chaîne originelles est conservée et elle sert de modèle (matrice) à une nouvelle chaîne(Figure 24).

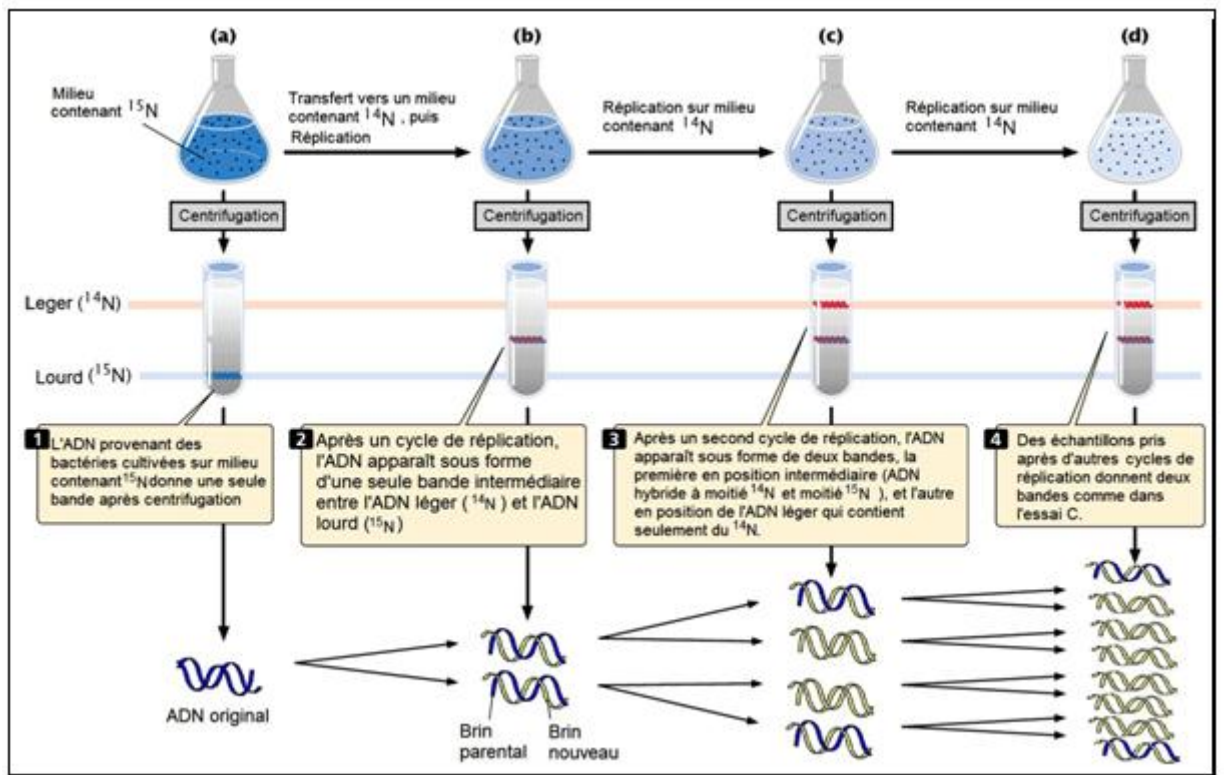


Figure 24 : L'expérience de Meselson et Stahl.

Cette expérience de Meselson et Stahl montre que la réplication est semi-conservative, aboutissant à deux molécules d'ADN filles, chacune contenant un brin parental lourd et un brin léger nouveau. La génération suivante fournit deux ADN hybrides et deux ADN légers.

2-Présentation

Au moment de la division cellulaire, la cellule doit copier son génome afin de le transmettre aux cellules descendantes. La réplication permet, de former, à partir d'une molécule d'ADN, deux molécules d'ADN identiques. Ce mécanisme explique comment l'information génétique est conservée dans toutes les cellules de l'organisme, lesquelles vont permettre la transmission de cette information à la descendance (c'est l'hérédité). La réplication est à l'origine de la permanence des propriétés globales de chaque espèce animale, végétale, virale ou bactérienne. Elle comporte un certain nombre de caractéristiques, communes à tous les organismes :

- **Réplication semi-conservative**

A chaque réplication, il se produit une séparation des deux brins d'ADN parental. Chaque brin servira de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire. On obtient deux molécules d'ADN identiques, chacune des deux contenant un **brin parental** et un **brin fils**.

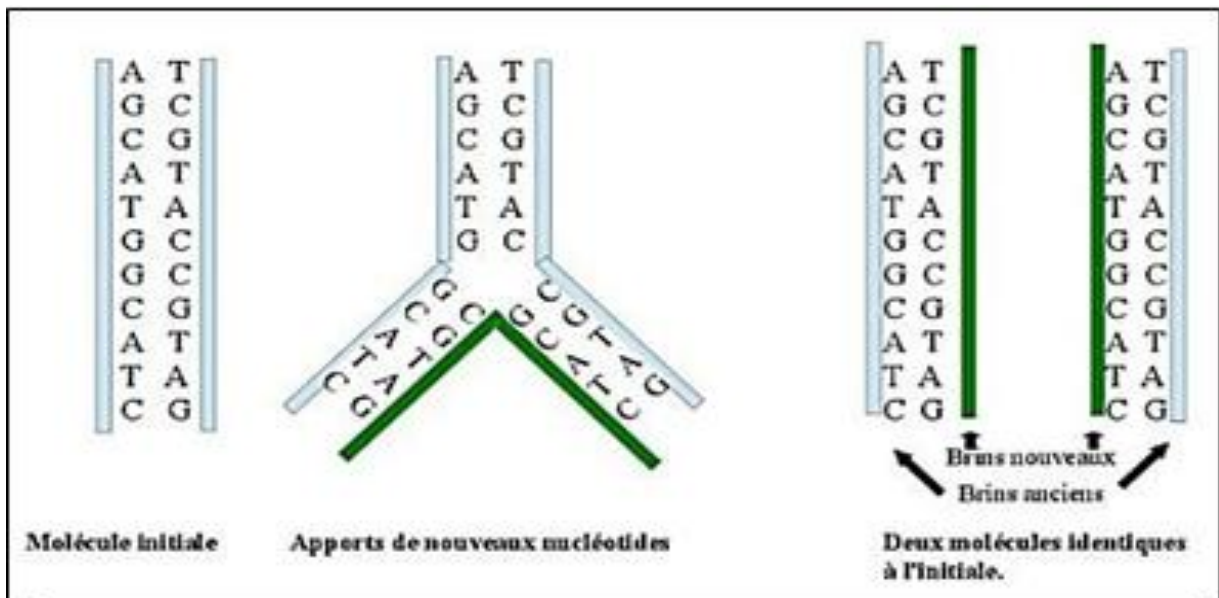


Figure 25 : Modèle de réplication semi-conservative

- Origines de réplication

✓ **Point d'initiation ou origine de réplication chez les procaryotes**

Chez les procaryotes (bactéries), la réplication débute en un point précis du chromosome, dit point **d'initiation** ou **origine de la réplication** (ORI). L'ADN répliqué à partir d'une unique origine est appelé réplicon. Le chromosome bactérien est considéré comme un seul réplicon.

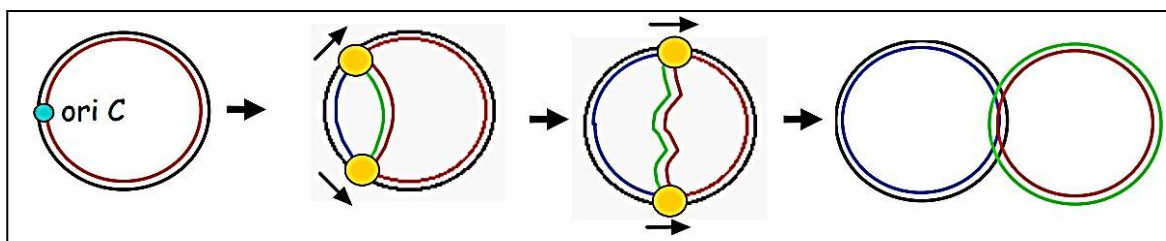


Figure 26 : Origine de réplication chez les procaryotes

✓ **Multiples points d'initiation chez les eucaryotes**

En raison de la grande longueur de l'ADN, la réplication chez les eucaryotes débute simultanément en plusieurs points d'un même chromosome. La fusion de tous les réplicons produit deux molécules d'ADN identiques.

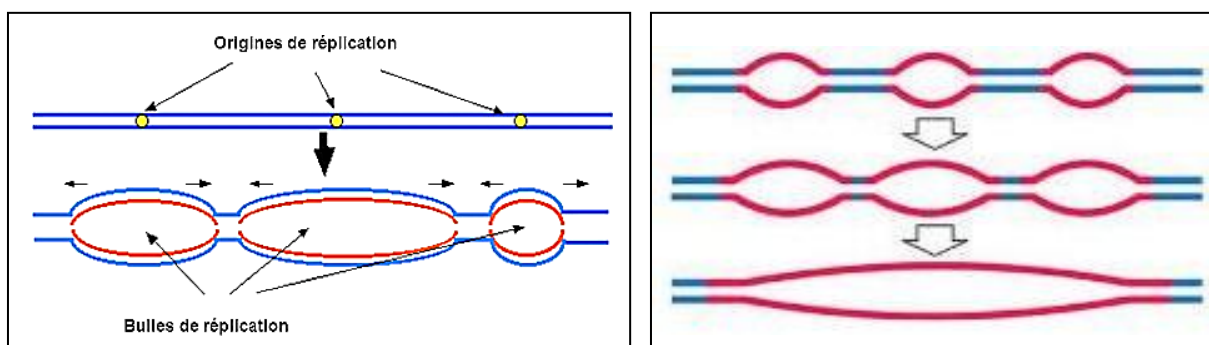


Figure 27 : Bulles de réplication et fusion des réplicons chez les eucaryotes

• Les ADN polymérases

Les ADN polymérases sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN. Elles sont ADN dépendantes. Elles possèdent deux activités :

- Une **activité polymérasique 5' vers 3'** : qui est leur activité principale
- Une **activité exo-nucléasique** : qui peut être de 2 types (selon les polymérases) : **De 3' vers 5'** lors de la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié, ou **de 5' vers 3'** lors de la jonction des segments d'ADN synthétisés sur le brin retardé.

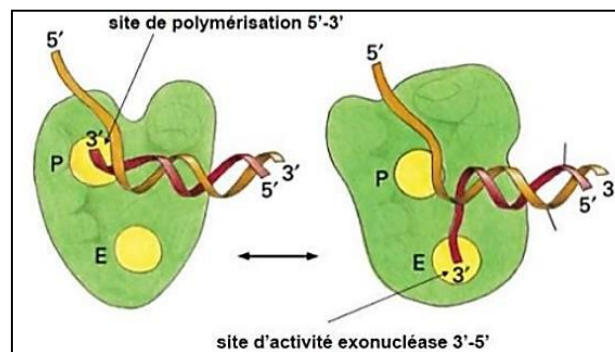


Figure 28: Sites polymérasique et exonucléasique de l'ADN polymérase

• Réplication bidirectionnelle

La région où la double hélice est déroulée et le nouvel ADN synthétisé est appelée fourche de réplication (structure en forme de Y). A chaque origine, il y a formation d'un **œil de réplication** qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des fourches. A partir de ce point d'initiation, la réplication procède dans les deux directions jusqu'à ce que l'ADN soit dédoublé. On dit que la réplication est **bidirectionnelle**.

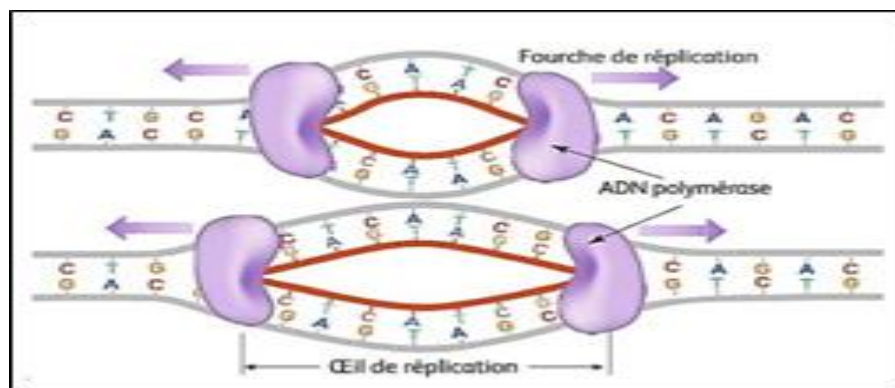


Figure 29 : Réplication bidirectionnelle au niveau des fourches

- **Polymérisation unidirectionnelle**

La polymérisation est unidirectionnelle et se fera toujours dans le même sens : **5' vers 3'**. Il y a formation d'une liaison phosphodiester entre l'extrémité 3' OH du brin en voie d'élongation et l'extrémité 5' phosphate du nucléotide ajouté.

- **Réplication semi-discontinue**

Au niveau d'une fourche de réplication, les deux brins fils sont synthétisés simultanément.

Puisque la synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3', il existe un **brin précoce ou avancé (primaire)** qui est le brin lu dans le sens de la fourche et un **brin tardif ou retardé (secondaire)** qui est lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit brin discontinu.

La synthèse de ce dernier sera segmentée en fragments de taille relativement constante à chaque fois que le brin matriciel sera assez « découvert ». Ces fragments sont appelés fragments d'Okazaki.

3-Éléments nécessaires à la réplication

- Les ADN polymérases nécessitent des conditions pour leur activité :
- Les quatre désoxyribonucléotides 5'-triphosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP).
Ces derniers apporteront également l'énergie nécessaire à la réaction
- Des ions magnésium (Mg^{+2}) qui stabilisent l'ADN et les protéines
- Une matrice d'ADN qui correspond à un brin parental et qui sert de modèle
- Une amorce ayant une extrémité 3'-OH libre
- Des enzymes spécifiques.

4-Réplication chez les procaryotes

4-1. Les ADN polymérases procaryotes

- Les **ADN polymérases III** sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN. Elles présentent les activités polymérasique 5' – 3' (mais pas exo nucléasique 5' - 3'). Elles prolongent les fragments d'Okazaki.
- Les **ADN polymérases I** présentent les activités polymérasique 5' vers 3' et exo-nucléasiques 5'-3' et 3'-5'. Ce sont des enzymes peu processives, ce qui ne leur permet pas de faire la majorité de la réplication des ADN procaryotes. Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN et pour combler les brèches laissées par l'ADN polymérase III. Elles enlèvent les amorces d'ARN et les remplacent par de l'ADN.
- Les **ADN polymérases II** sont douées d'une activité de réparation.

4-2-Les protéines nécessaires à la réplication

- Les **topo-isomérases** : relâchent les contraintes de torsion de l'ADN. Il en existe 2 types (I et II). Seule la topoisomérase de type II consomme de l'ATP ; la topoisomérase II d'*E. coli* s'appelle l'**ADN gyrase**.
- Les **hélicases** : déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogène avec consommation d'ATP. Elles coupent et déroulent de courts segments d'ADN juste avant chaque fourche de réplication.

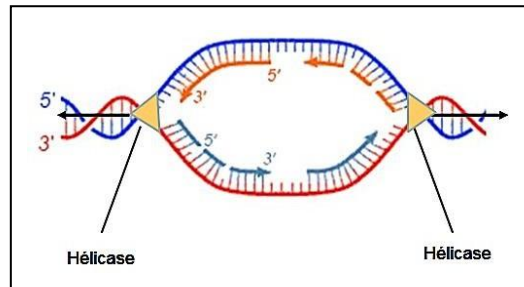


Figure 30 : Positionnement des hélicases au niveau des fourches

- Les **protéines SSB** (Single Stranded Binding protein), appelées aussi « protéines déstabilisant l'hélice »: se lient aux brins exposés et les gardent séparés en bloquant la formation des liaisons hydrogènes. De plus, elles empêchent qu'une chaîne se replie sur elle-même en formant une boucle.

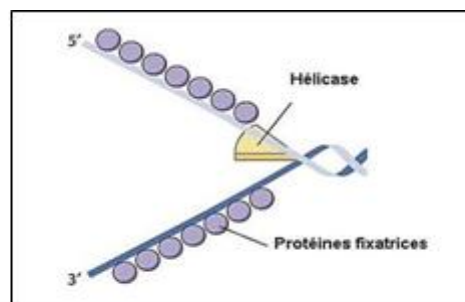


Figure 31 : Emplacement des SSB sur les deux brins de l'ADN

- La **primase** : il s'agit d'une ARN polymérase ADN-dépendante. Elle synthétise une amorce de nucléotides d'ARN avec une séquence de bases complémentaire à la matrice d'ADN. En effet, l'ADN polymérase n'a aucun « esprit d'initiative », elle ne sait pas commencer une chaîne. Elle ne sait qu'allonger une chaîne de nucléotides (c'est à dire qu'elle ne sait qu'ajouter un nucléotide à l'extrémité 3'OH d'un acide nucléique). C'est

l'ARN polymérase qui est capable de commencer une chaîne d'acide nucléique.

- Les **ADN ligases** : catalysent la formation de la liaison phosphodiester. Elles ligaturent les fragments d'Okazaki. L'ADN ligase a besoin d'ATP.

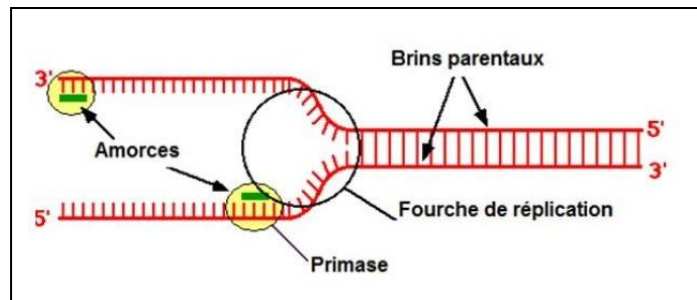


Figure 32 : Intervention de la primase dans la synthèse des amorces

4-3-Mécanisme de la réplication procaryote

✓ Initiation :

Ouverture de la double hélice et formation de la fourche réplivative .Cette étape fait intervenir les topoisomérases, les hélicases et les protéines SSB.

✓ Élongation :

Addition des nouveaux nucléotides, élongation du brin précoce et du brin tardif .La primase met en place l'amorce d'ARN. L'ADN polymérase III est responsable de l'initiation et de l'élongation du brin précoce et du brin tardif.A chaque fragment d'Okazaki, une **primase** synthétise une **amorce d'ARN**. Les amorces sont ensuite détruites par des ribonucléases. L'ADN polymérase I va combler la brèche entièrement.

✓ Terminaison

Chez *E. coli*, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliquée, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, et dissociés par la topoisomérase II. L'ADN polymérase I complétera ensuite les parties non répliquées. La dernière liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' du premier fragment et l'extrémité 3' du deuxième fragment sera réalisée par la **ligase**. Cette dernière lie également les fragments d'Okazaki.

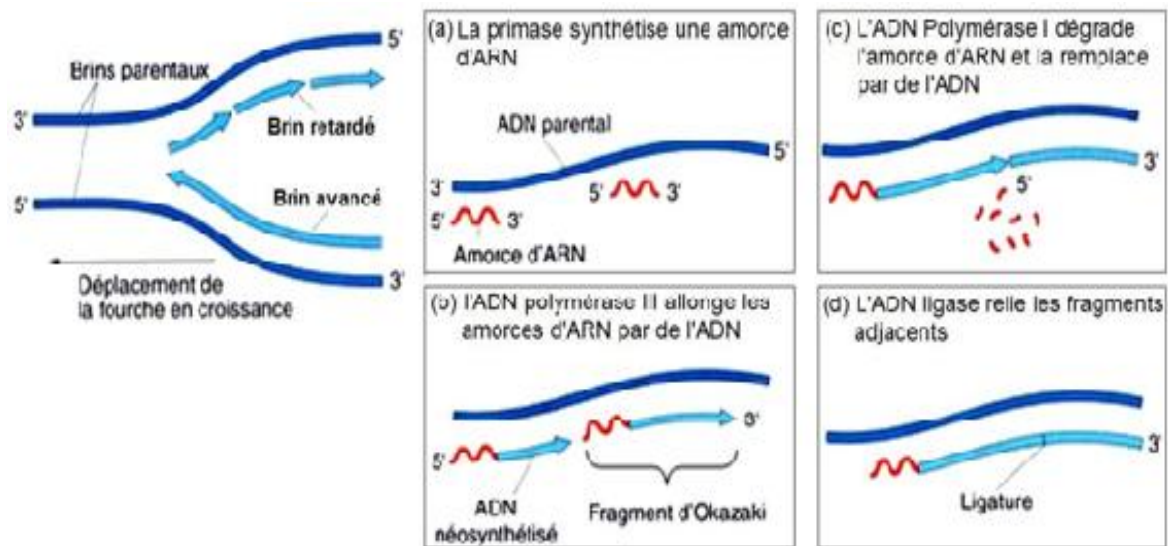


Figure 33 : Synthèse du brin retardé

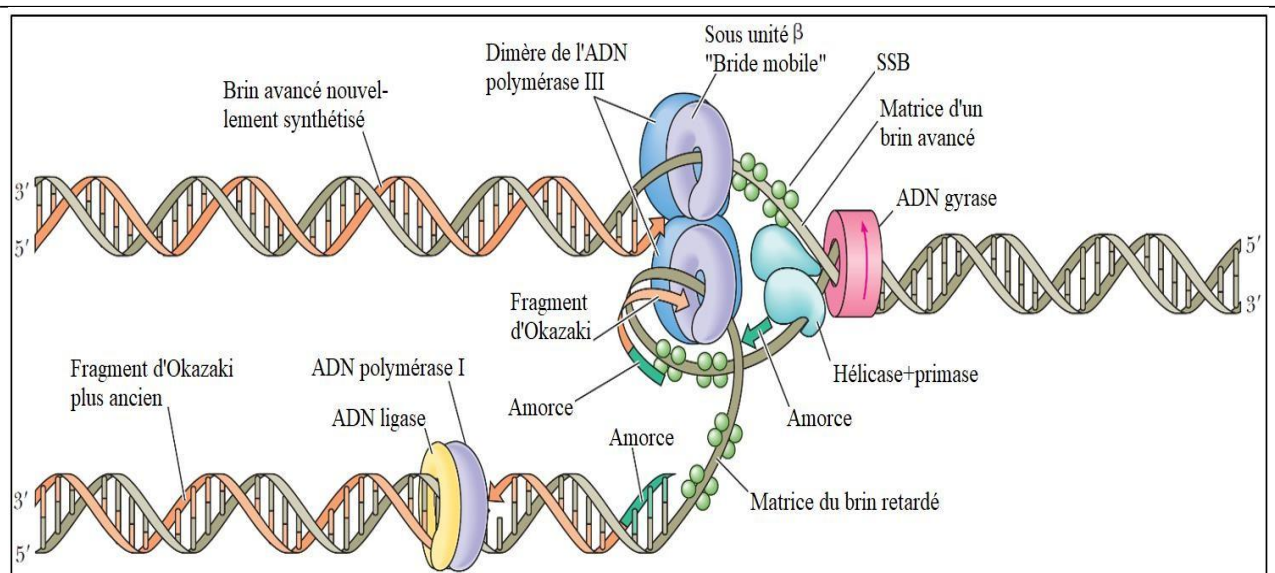


Figure 34 : Réplication de l'ADN chez *E. coli*.

5-Réplication chez les eucaryotes

5-1-Les ADN polymérases eucaryotes

- L'ADN polymérase γ est impliqué dans la réplication de l'ADN mitochondrial
- L'ADN polymérase α a une fonction de **primase**. Il s'agit d'un complexe réunissant une ARN polymérase et une ADN polymérase. Elle synthétise d'abord de courtes amorces d'ARN, puis les prolonge par de l'ADN pour donner l'amorce finale.
- Les ADN polymérases δ et ϵ sont responsables de la réplication du **brin précoce et du**

brin tardif. Le PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) est une molécule qui augmente fortement la processivité. Elle ressemble à un collier coulissant associé à l'ADN polymérase (on parle de **clamp β** chez *E. coli*). L'ADN polymérase δ est très processive en présence de PCNA. L'ADN polymérase ϵ est très processive même en absence de PCNA.

5-2-Les télomères

Le télomère est formé grâce à des **télomérases** qui sont des ribonucléoprotéines pouvant s'associer à l'extrémité du chromosome.

5-3-Les phases de la réplication

- ✓ **Initiation** : une partie de la double hélice est déroulée. Les enzymes séparent les deux brins pour ouvrir **une bulle de réplication**. Les doubles-brins sont ouverts, au niveau de chaque origine de réplication pour permettre l'entrée d'une **hélicase**. Les **protéines fixatrices** se lient aux brins exposés et les gardent séparés
- ✓ **Elongation** : L'ADN polymérase s'insère dans la bulle de réplication. Une **primase** synthétise une amorce d'ARN. L'ADN polymérase remplace l'amorce avec des bases d'ADN. L'ADN polymérase utilise les brins parents pour créer les nouveaux brins complémentaires. La synthèse du brin tardif s'effectue plus lentement que le brin principal. Enfin, une **ligase** lie les fragments d'Okazaki pour créer un nouveau brin d'ADN continu.
- ✓ **Tirminison (Achèvement)** : L'ADN polymérase corrige les erreurs. Les brins parentaux et les brins fils se reforment en hélice.

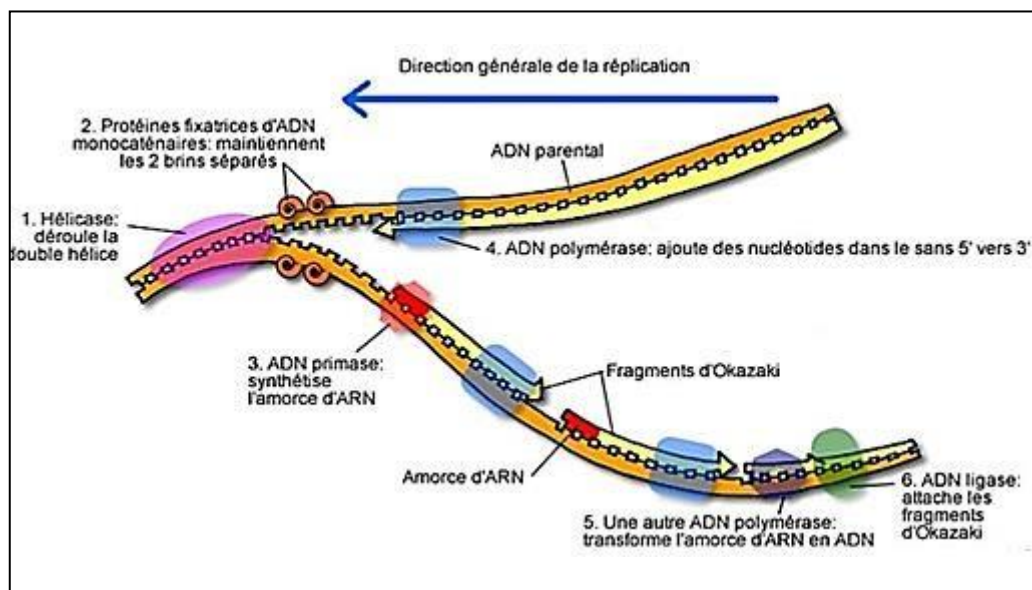


Figure 35 : Etapes de la réplication de l'ADN

Terminologies de la génétique :

ADN الحمض النووي (acide désoxyribonucléique) : polynucléotide double brin formé de deux chaînes distinctes d'unités désoxyribonucléiques. Il sert de porteur de l'information génétique.

ADN polymerase : Enzyme catalysant la formation d'une liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' triphosphorylée d'un désoxyribonucléotide et l'extrémité 3' d'une chaîne oligo ou polynucléotidique constituant une **amorce**.

Amorce d'ARN : petite séquence d'ARN synthétisée par la primase sur le brin tardif durant la réplication de l'ADN puis enlevée par la suite.

Anticodon : Triplet caractéristique de l'ARN de transfert qui assure la fidélité de la traduction. Il permet la mise en place d'un ARN de transfert chargé de son **acide aminé** par appariement de ses trois **bases** avec celles du **codon** correspondant de l'ARN messager.

ARN (acide ribonucléique) : polymère formé d'unités ribonucléiques en un seul brin reliés par des liaisons covalentes.

Autosome : Tous les chromosomes (excepté les chromosomes sexuels) sont appelés **autosomes**.

Bicaténaire : Acide nucléique qui présente une structure composée de deux polynucléotides reliés par des liaisons hydrogène entre les **bases complémentaires** des deux partenaires.

Chromatide : un des deux copies identiques d'un chromosome par réplication de l'ADN, mais toujours jointes au centromère : durant la mitose, les chromatides se séparent l'une de l'autre pour donner naissance aux chromosomes séparés.

Chromatine (الكروماتين) : ensemble formé de l'ADN reliés à des protéines histones et non histones. Il est présent dans le noyau des cellules eucaryotes.

Chromosome (الكروموسوم) : unité physique de matériel génétique correspondant à une molécule continue d'ADN et de protéines associées ; il porte une partie ou la totalité de l'information génétique d'un organisme.

chromosomes sexuels : les chromosomes sexuels X et Y.

Séquence codante (السلاسل المشفرة) : Séquence d'ADN puis d'ARN messager qui code pour la séquence des **acides aminés** de la **protéine** spécifiée par le **gène**. Transcription Traduction .

Code Génétique (الشفرة الوراثية) : Système de correspondance entre les **acides nucléiques** : alphabet à 4 lettres, les **nucléotides** ; et les **protéines** : alphabet à 20 lettres, les **acides aminés**.

Le système de **triplets** de **nucléotides** (soit quatre monomères différents possibles), permet 64 combinaisons dont 61 signifient effectivement la mise en place d'un acide aminé particulier lors de la **traduction**.

Diploïde : contenant deux jeux de chromosomes homologues et par conséquent deux copies de chaque gène ou *locus* génétique($2n$).

Endonuclease : **Enzyme** capable d'hydrolyser une liaison phosphodiester à l'intérieur d'un polynucléotide. Les plus célèbres sont les **endonucleases de restriction**

Enzyme : **Protéine** (ou groupe de protéines) qui catalyse toute réaction biochimique.

Chaque protéine enzymatique est **codée** par un **gène** dont la **mutation** peut entraîner la perte de fonction.

Episome : Élément génétique **bactérien**, **extrachromosomique** (molécule d'**ADN** circulaire possédant une **origine de réplication**) capable de s'intégrer dans le chromosome.

Eucaryote : **Cellule** dont le matériel génétique (entre autres) est compartimenté par un système membranaire. Le noyau représente le principal organe informationnel.

Exonucléase : Enzyme capable d'hydrolyser une liaison phosphodiester à l'extrémité d'un **acide nucléique** : soit la première (5') soit, plus souvent la dernière (3') d'un polynucléotide. Son action peut conduire à une hydrolyse totale.

Gamete : **Cellule haploïde** capable de fusionner avec une autre pour former un **zygote**.

Gène (**الجين** أو **المورثة**) : région de l'ADN qui code un caractère héréditaire donné d'un organisme.

Génétique (**علم الوراثة**): La génétique est la science de l'hérédité qui étudie l'hérédité les caractères héréditaires, leur transmission au fil des générations et leurs variations.

Genome **مجموع الجينات**: Ensemble du matériel génétique d'un individu ou d'une espèce (séquences codantes et non-codantes), c à d l'ensemble de ses gènes.

Haploïde : ne contenant qu'un seul jeu de chromosome. C'est le cas des champignons et les cellules sexuelles.

Hérédité (**الوراثة**) : L'hérédité est la transmission d'un caractère génétique transmissible (couleur des yeux, maladie, etc.) d'une génération à sa descendance.

Matrice : séquence spécifique de nucléotides dans l'ADN qui peut agir comme matrice pour orienter la synthèse d'un nouveau brin d'ADN complémentaire.

Mutation(**الطفرة**) : Toute modification du **génotype** par altération de la **séquence** d'un fragment d'**ADN** allant de la modification d'une seule **paire** de **nucléotides** au réarrangement

ou à la perte d'un morceau de **chromosome** détectable à l'observation cytologique. Si elle n'est pas **létale**, elle est **héréditaire**.

Nucléoside : composé d'une base azotée (purine ou pyrimidique) liée soit à un ribose ou à un désoxyribose.

Nucléosomes : unité structurale d'un chromosome eucaryote, en forme de perle composée de courte séquence d'ADN enroulée au tour d'un noyau histone. C'est la sous unité de la chromatine.

Nucléotide : C'est un nucléoside lié à un groupement phosphate.

Procaryote : cellule vivante dépourvue d'un noyau individualisé (bactéries)

Retrovirus : Famille de **virus eucaryotiques** dont le **génom** est une molécule d'**ARN** et dont le cycle de reproduction fait intervenir un **ADN bicaténaire** synthétisé par **transcription réverse**. Ces molécules d'ADN double brin (provirus) sont capables de s'intégrer dans le **génom** de la **cellule** hôte.

Somatique : Toute **cellule** d'un organisme qui n'appartient pas à une lignée germinale et ne se divisera jamais par **méiose**.

Souche pure ou lignée pure : il s'agit d'organismes homozygotes pour la quasi-totalité de leur *loci*. On fabrique une souche pure par autofécondation au fil des générations (évitant le brassage génétique.)

Zygote : **Cellule (diploïde)** résultant de la réunion de deux **gamètes haploïdes**.