

TOUT EN FICHES

L'ESSENTIEL DE

BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Philippe LUCHETTA

Maître de conférences

à l'université de Cergy-Pontoise

DUNOD

Tout le catalogue sur
www.dunod.com



Conception graphique de la couverture : Hokus Pokus Créations

Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.

Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements

d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour

les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée. Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du

droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).



Les précédentes éditions de cet ouvrage sont parues dans la collection Express.

© Dunod, Paris, 2009, 2013, 2018

ISBN 978-2-10-078267-3

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2° et 3° a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

Table des matières

Partie 1 – Structure

Fiche 1	Constituants	1
Fiche 2	Structure	6
Fiche 3	Organisation	12
Fiche 4	Compaction	16
Fiche 5	Chromatine	20

Partie 2 – Méthodes

Fiche 6	Purification et quantification	28
Fiche 7	Électrophorèse	33
Fiche 8	Enzymes spécifiques	37
Fiche 9	Carte de restriction	42
Fiche 10	PCR et RT-PCR	47
Fiche 11	Clonage	50
Fiche 12	ADNc	55
Fiche 13	Hybridation moléculaire	59
Fiche 14	Séquençage	65
Fiche 15	Gel retard et <i>footprinting</i>	72

Partie 3 – Fonctions

Fiche 16	Gènes	77
Fiche 17	Gènes procaryotes	83

Fiche 18	Gènes eucaryotes	87
Fiche 19	Transcription	97
Fiche 20	Transcription procaryote	102
Fiche 21	Transcription eucaryote	113
Fiche 22	Maturation des ARNm	124
Fiche 23	Épissage alternatif des ARNm	135
Fiche 24	Surveillance et contrôle qualité des ARNm	143
Fiche 25	Régulation de la transcription	148
Fiche 26	Opéron lactose	156
Fiche 27	Opéron tryptophane	169
Fiche 28	Traduction	175
Fiche 29	Traduction procaryote	184
Fiche 30	Traduction eucaryote	194
Fiche 31	Régulation post-transcriptionnelle	202
Fiche 32	Système Ferritine-Tranferrine	205
Fiche 33	Réplication	211
Fiche 34	Réplication procaryote	216
Fiche 35	Réplication eucaryote	224
Fiche 36	Éléments transposables	228
Fiche 37	Évolution moléculaire	238
Index		247

Les organismes vivants possèdent deux types d'acides nucléiques :

- L'ADN (Acide **D**éoxyriboNucléique).
- L'ARN (Acide **R**iboNucléique).

Ces acides nucléiques sont principalement constitués de bases associées à un sucre.

1. Bases

Chaque acide nucléique contient quatre bases. Trois d'entre elles (adénine, cytosine et guanine) sont communes à l'ADN et l'ARN, la quatrième diffère. On trouve la thymine dans l'ADN et l'uracile dans l'ARN. La différence entre ces deux bases porte uniquement sur le carbone n° 5 (avec ou sans CH_3). On trouve deux catégories de bases (Figure 1.1a et 1.1b) :

- les **purines** constituées de deux cycles aromatiques ;
- les **pyrimidines** constituées d'un seul cycle aromatique.

Les atomes de carbone et d'azote des cycles aromatiques sont numérotés de 1 à 9 (bases puriques) et de 1 à 5 (bases pyrimidiques). Les flèches bleues indiquent la liaison qui se produit entre la base et le sucre.

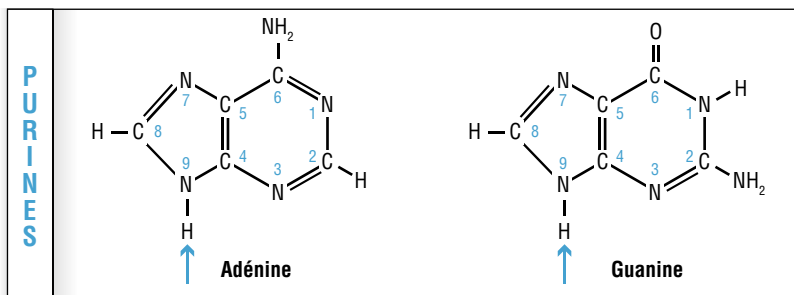


Figure 1.1a

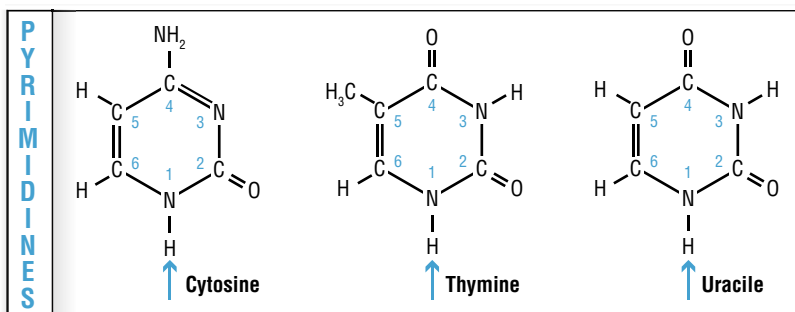


Figure 1.1b

2. Sucre

Le sucre est un pentose composé de 5 carbones numérotés de 1' à 5'. Cette numérotation en « ' » permet de faire la distinction avec celle des bases. L'ARN contient du **ribose** alors que l'ADN contient du **désoxyribose** (Figure 1.2). La différence entre ces deux sucres se situe au niveau du carbone 2'. On trouve un groupement **2'-OH (ARN)** pour le ribose et un **2'-H (ADN)** pour le désoxyribose. Cette différence qui semble peu importante a pourtant une conséquence déterminante sur la stabilité de l'acide nucléique. Ainsi, à pH alcalin (pH 12), l'ARN est hydrolysé alors que l'ADN est stable. Attention à ne pas confondre ici « hydrolyse » et « dénaturation ». On parle de dénaturation lorsque, par exemple à pH alcalin, un ADN double brin se dissocie en deux ADN simples brins par rupture des liaisons hydrogènes. Pour l'ARN, à ce même pH, le mécanisme est différent car il y aura hydrolyse de la molécule par coupure des liaisons phosphodiester entre les carbones 5' et les carbone 3' des nucléotides adjacents.

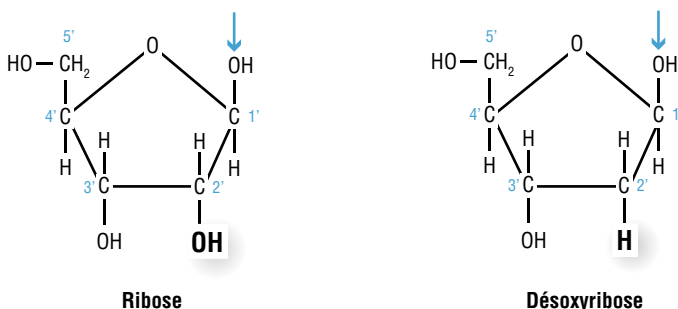


Figure 1.2

3. Nucléosides et Nucléotides

Nucléosides

Le carbone 1' du sucre se lie à l'azote de la base (N1 ou N9) pour former un **nucléoside**. Cette liaison est appelée **N-glycosidique**. Un ou plusieurs groupements phosphate (P) peuvent se lier avec le carbone 5' pour former un nucléoside phosphate (Figure 1.3). On établit une nomenclature très précise en fonction de la structure de la molécule. Si le sucre est le ribose (ARN), on a la nomenclature NMP, NDP, NTP en fonction du nombre de groupements phosphate. Si le sucre est un désoxyribose (ADN), on a la même nomenclature précédée d'un « d ». Enfin, il faut connaître la position des groupements P à partir du C5' : 1^{er} P en α , 2^e P en β , 3^e P en γ . Cette nomenclature est importante car, même si elle semble fastidieuse, elle permet de comprendre certaines abréviations de molécules utilisées en biologie. Par exemple, le $\alpha^{32}\text{P}$ -dCTP signifie que le 1^{er} phosphate fixé sur le C en 5' du dCTP est radioactif (^{32}P).

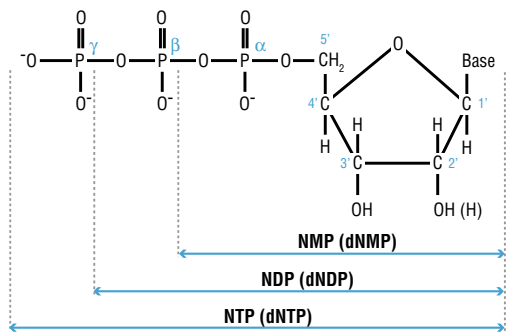


Figure 1.3

(désoxy)nucléoside		(désoxy)ribose	+ Base	
(désoxy)nucléoside monophosphate	(d)NMP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 1P
(désoxy)nucléoside diphosphate	(d)NDP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 2P
(désoxy)nucléoside triphosphate	(d)NTP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 3P

■ Nucléotides

Le nucléoside monophosphate est aussi appelé **nucléotide** car l'association de plusieurs nucléosides monophosphate entre eux porte le nom de **chaîne polynucléotidique** (Fiche 2). Le nom donné aux nucléosides ou aux nucléotides en fonction de la base présente est différent du nom de la base seule. Par exemple dans l'ATP, l'adénine devient adénosine, dans l'UMP, l'uracile devient uridine, etc.

Base	Nom du nucléoside
Adénine (A)	Adénosine
Cytosine (C)	Cytidine
Guanine (G)	Guanosine
Thymine (T)	Thymidine
Uracile (U)	Uridine

EXERCICE 1

1. Écrivez la structure à pH 7 du désoxyribonucléoside triphosphate contenant de l'adénine et du ribonucléoside triphosphate contenant de la thymine. Vous indiquerez sur le schéma la numérotation des carbones du sucre et de la base et la position de la liaison N-glycosidique.
2. Comment appelle-t-on ces deux nucléosides ? Quelle est leur abréviation ?
3. Ces deux molécules sont-elles présentes dans l'ADN ou dans l'ARN ?

Solution

1. Voir la Figure 1.4. La liaison N-glycosidique est indiquée par une étoile bleue.

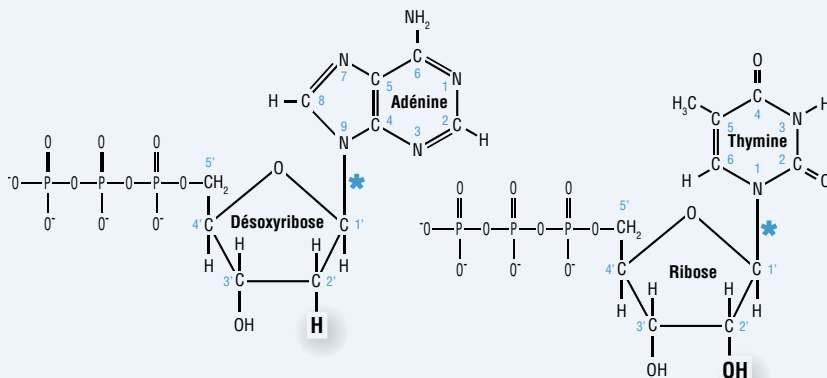


Figure 1.4

2. À gauche, le désoxyribo adénosine triphosphate (dATP). À droite, le ribo thymidine triphosphate (TTP).
3. Le dATP est présent dans l'ADN mais sous forme monophosphate (dAMP) tandis que le TTP n'est présent ni dans l'ADN, ni dans l'ARN. Dans l'ADN, on aurait le dTTP (sous forme dTMP) et dans l'ARN, on aurait l'UTP (sous forme UMP).

1. ARN

■ Chaîne d'ARN simple brin

L'ARN est constitué d'un polymère de nucléotides. Les nucléotides sont liés par une **liaison phosphodiester**. Dans cette liaison, le groupement phosphate entre les deux nucléotides est relié d'un côté par une liaison ester au carbone 5' et de l'autre côté par une seconde liaison ester au carbone 3'. Cette chaîne polynucléotidique est orientée et possède deux extrémités, l'**extrémité 5'P** et l'**extrémité 3'OH** (Figure 2.1)

■ Structures secondaires de l'ARN

Selon les types d'ARN, la chaîne peut être simple brin (ARNm) ou partiellement double brin (ARNr et ARNt). On observe des associations doubles brins si deux séquences sont complémentaires au sein d'une même chaîne d'ARN. Ces associations se font comme dans l'ADN, entre A et U (2 liaisons hydrogène) et entre C et G (3 liaisons hydrogène). Les structures les plus communes sont l'« épingle à cheveux » et la « tige boucle » (Figure 2.2). La différence vient seulement de la taille de la région entre les deux séquences appariées. Il existe d'autres structures secondaires plus complexes comme le « pseudo-nœud ».

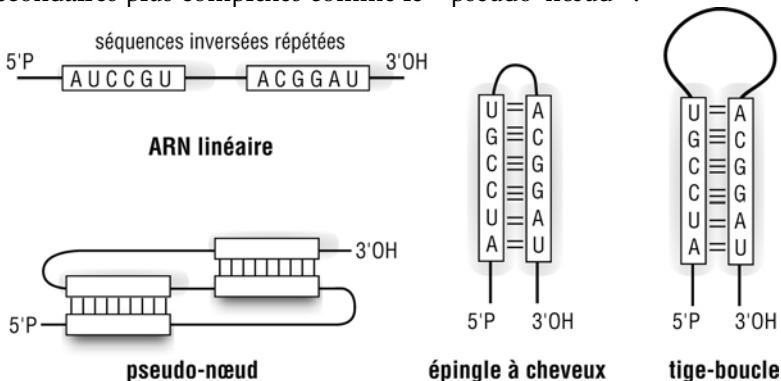


Figure 2.2

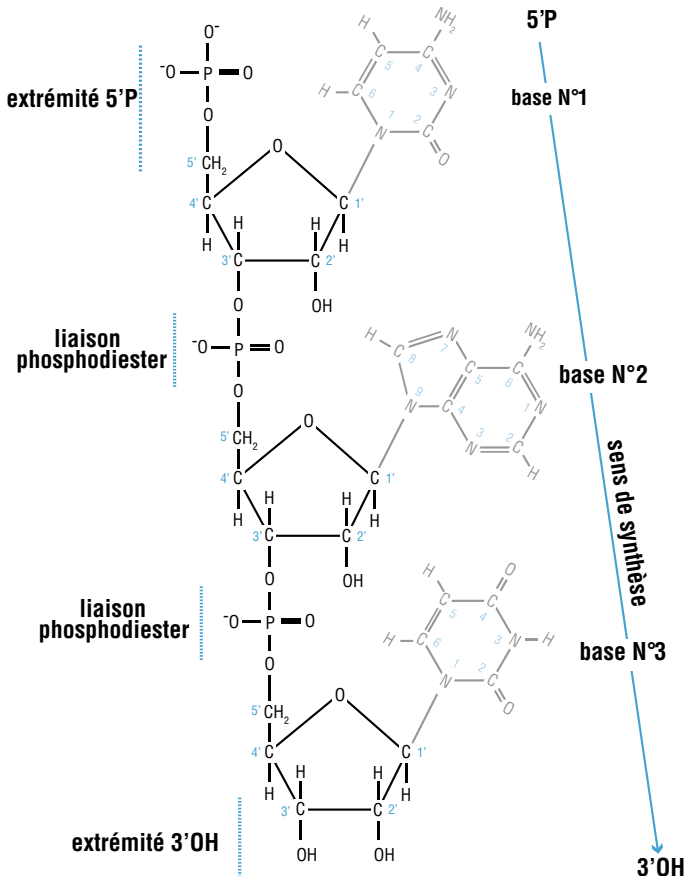


Figure 2.1

2. ADN

On trouve plusieurs structures en double hélice mais la plus fréquente est celle qui a été décrite en 1953 par James Watson et Francis Crick. Cette structure est appelée **hélice Watson/Crick** ou **hélice B**. Elle possède les caractéristiques suivantes.

Les deux brins sont antiparallèles et associés en paire de bases

Deux molécules d'ADN simple brin peuvent s'associer entre elles par complémentarité de leurs bases pour former une molécule d'ADN double brin. Cette structure porte aussi le nom d'**ADN bicaténaire**.

Pour des raisons structurales, les deux brins sont orientés de manière opposée. Ils sont dits **antiparallèles**.

Il y a toujours complémentarité entre une purine et une pyrimidine. Il y a 2 liaisons hydrogène entre A et T et 3 liaisons hydrogène entre C et G (Figure 2.3a et 2.3b, les flèches bleues indiquent la liaison avec le sucre). Cette association a une conséquence directe sur la composition en nucléotides de l'ADN double brin. À la fin des années 1940, le biochimiste **Erwan Chargaff** a analysé la composition en nucléotides de génomes de différents organismes vivants (procaryotes) contenant de l'ADN double brin. Il en a déduit une règle appelée « **règle de Chargaff** » : la quantité d'adénine est identique à celle de thymine ($A = T$) et la quantité de cytosine est identique à celle de guanine ($C = G$), 2) le rapport de purines sur pyrimidines est égal à 1. Cette règle s'applique uniquement pour les molécules d'acides nucléiques double brin et n'est bien sûr valable pour de l'ADN simple brin ou de l'ARN simple brin.

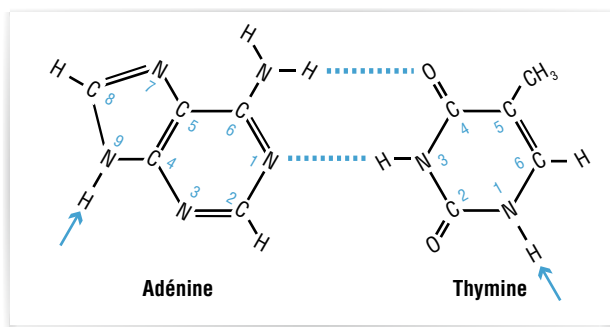


Figure 2.3a