

**TOUT EN
FICHES**

Philippe Luchetta

Maître de conférences
à l'université de Cergy-Pontoise

L'ESSENTIEL DE

BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

2^e édition

DUNOD

Mise en pages : Nord Compo

© Dunod, 2018, 2025
11 rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com
ISBN : 978-2-10-088471-1

Table des matières

Partie 1 – Structure

Fiche 1	Constituants	1
Fiche 2	Structure	7
Fiche 3	Organisation	13
Fiche 4	Compaction	17
Fiche 5	Chromatine	21

Partie 2 – Méthodes

Fiche 6	Purification et quantification	29
Fiche 7	Électrophorèse	34
Fiche 8	Enzymes spécifiques	38
Fiche 9	Carte de restriction	43
Fiche 10	PCR et RT-PCR	48
Fiche 11	Clonage	51
Fiche 12	ADNc	56
Fiche 13	Hybridation moléculaire	60
Fiche 14	Séquençage de l'ADN	66
Fiche 15	Gel retard et <i>footprinting</i>	74

Partie 3 – Fonctions

Fiche 16	Gènes	79
Fiche 17	Gènes chez les Bactéries	82
Fiche 18	Gènes chez les Eucaryotes	86
Fiche 19	Transcription	96
Fiche 20	Transcription chez les Bactéries	101
Fiche 21	Transcription chez les Eucaryotes	112
Fiche 22	Maturation des ARNm	123
Fiche 23	Épissage alternatif des ARNm	134
Fiche 24	Surveillance et contrôle qualité des ARNm	142
Fiche 25	Régulation de la transcription	147
Fiche 26	Opéron lactose	155
Fiche 27	Opéron tryptophane	168
Fiche 28	Traduction	174
Fiche 29	Traduction chez les Bactéries	183
Fiche 30	Traduction chez les Eucaryotes	193
Fiche 31	Régulation post-transcriptionnelle	202
Fiche 32	Système Ferritine-Transferrine	207
Fiche 33	Réplication	213
Fiche 34	Réplication chez les Bactéries	218
Fiche 35	Réplication chez les Eucaryotes	226
Fiche 36	Éléments transposables	230
Fiche 37	Évolution moléculaire	240
Index		249

Les organismes vivants possèdent deux types d'acides nucléiques :

- L'ADN (Acide **D**ésoxyriboNucléique).
- 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.

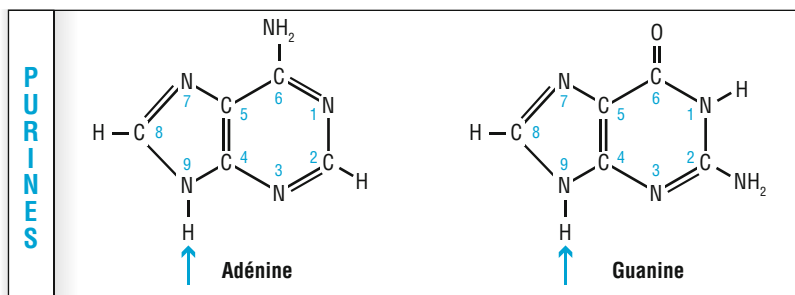


Figure 1.1a

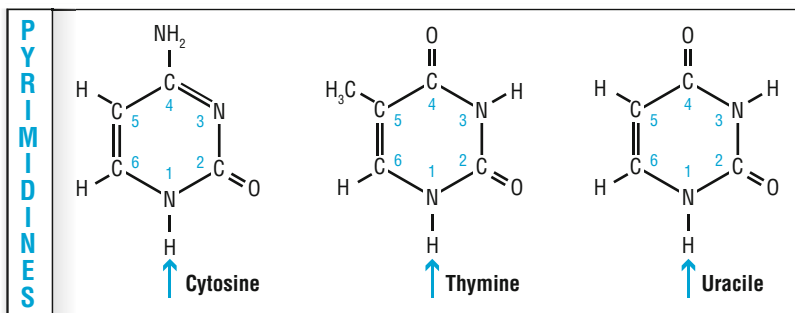


Figure 1.1b

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 (Fiche 13). 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 2.1, Fiche 2). La dénaturation de l'ADN est réversible (renaturation) alors que l'hydrolyse de l'ARN est irréversible.

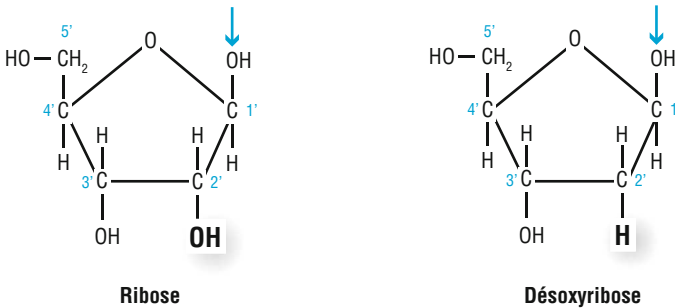


Figure 1.2

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 (Nucléoside Mono Phosphate), NDP (Nucléoside Di Phosphate), NTP (Nucléoside Tri Phosphate) 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 ^{32}P -dCTP signifie que le 1^{er} phosphate fixé sur le C en 5' du dCTP est radioactif (^{32}P).

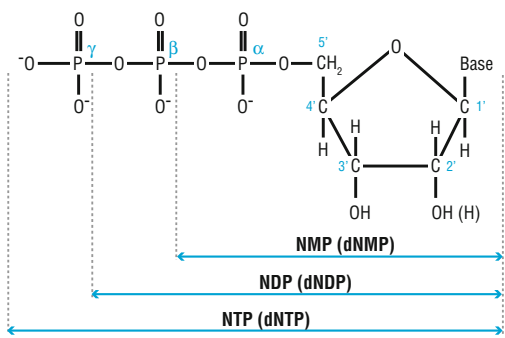


Figure 1.3

(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.

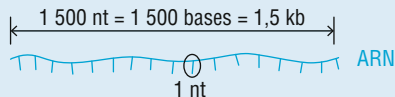
Base	Nom du nucléoside
Adénine (A)	Adénosine
Cytosine (C)	Cytidine
Guanine (G)	Guanosine
Thymine (T)	Thymidine
Uracile (U)	Uridine

ENCART TAILLE DES ACIDES NUCLÉIQUES

En biologie moléculaire, certaines conventions sont clairement établies pour indiquer la taille des acides nucléiques.

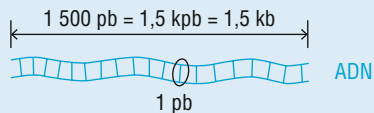
1) Cas d'un **acide nucléique simple brin** (ARN par exemple)

On indiquera la longueur en nucléotides (nt) puisqu'il s'agit d'une chaîne polynucléotidique. Lorsque la taille de l'acide nucléique est supérieure à 1 000 nt, on l'indique généralement en kb (kilobases). Dans l'exemple pris ci-dessous, on écrira 1 500 nt = 1,5 kb. Donc si on veut calculer la masse moléculaire (MM) d'un ARN de 1 500 nt, on aura : $MM = 1\,500 \text{ nt} \times 330 \text{ Da}$ ($MM \text{ d'un nt} = 495 \text{ kDa}$).



2) Cas d'un **acide nucléique double brin** (ADN par exemple)

Dans ce cas, il faut éviter certaines confusions. On indiquera la longueur d'un ADN en paire de bases (pb) puisqu'on a toujours deux bases associées. Il serait plus juste de parler de paire de nucléotides, mais cela ne fait pas parti de la convention. Dans l'exemple qui suit, on a un ADN de 1 500 pb, ce qui correspond à 1,5 kpb (kilo paire de bases). Pour simplifier, on écrira le plus souvent 1,5 kb. C'est lorsqu'on veut calculer la masse moléculaire que cela risque de porter à confusion. En effet, il faut prendre en compte la masse moléculaire d'une paire de bases (660 Da) et non celle d'une base (ou d'un nucléotide). D'où le calcul : $MM = 1\,500 \text{ pb} \times 660 \text{ Da}$ ($MM \text{ d'une pb} = 990 \text{ kDa}$).



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.

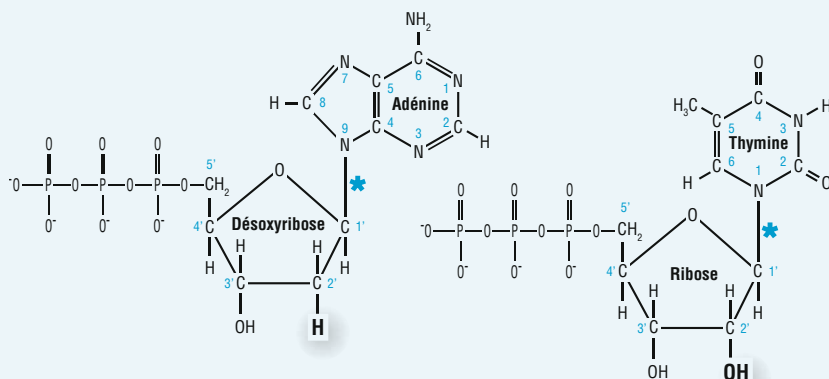


Figure 1.4

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 ». La stabilité de ces structures va jouer un rôle important dans certains processus biologiques comme les régulations. Elle dépend du nombre de bases appariées et du nombre de liaisons hydrogènes. Une structure tige/boucle riche en G+C sera plus stable qu'une même structure riche en A+U (3 liaisons versus 2 liaisons hydrogènes).

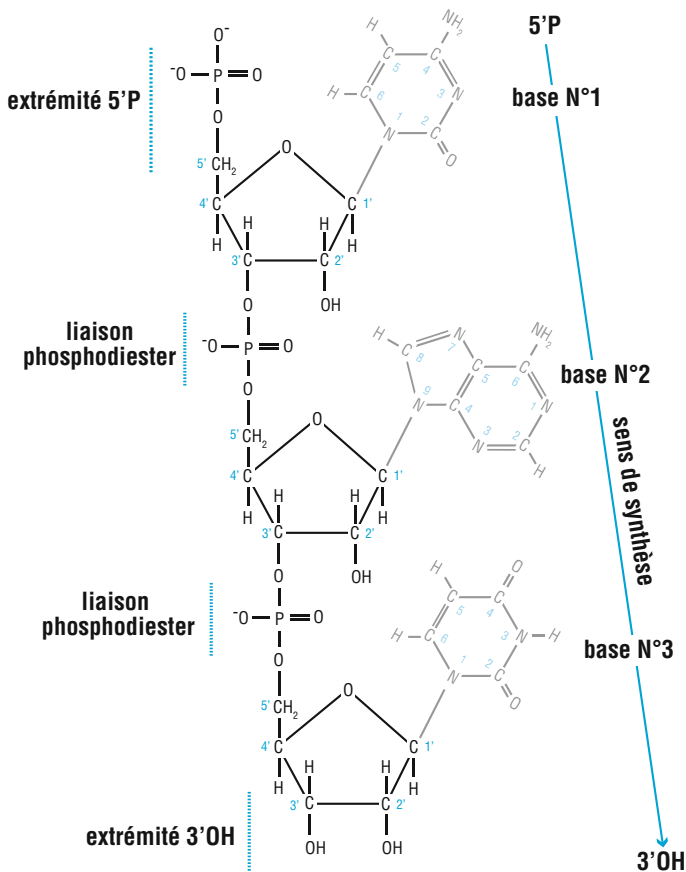


Figure 2.1

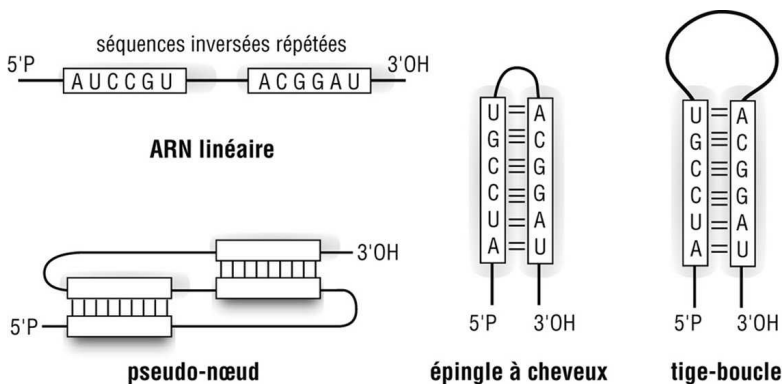


Figure 2.2