

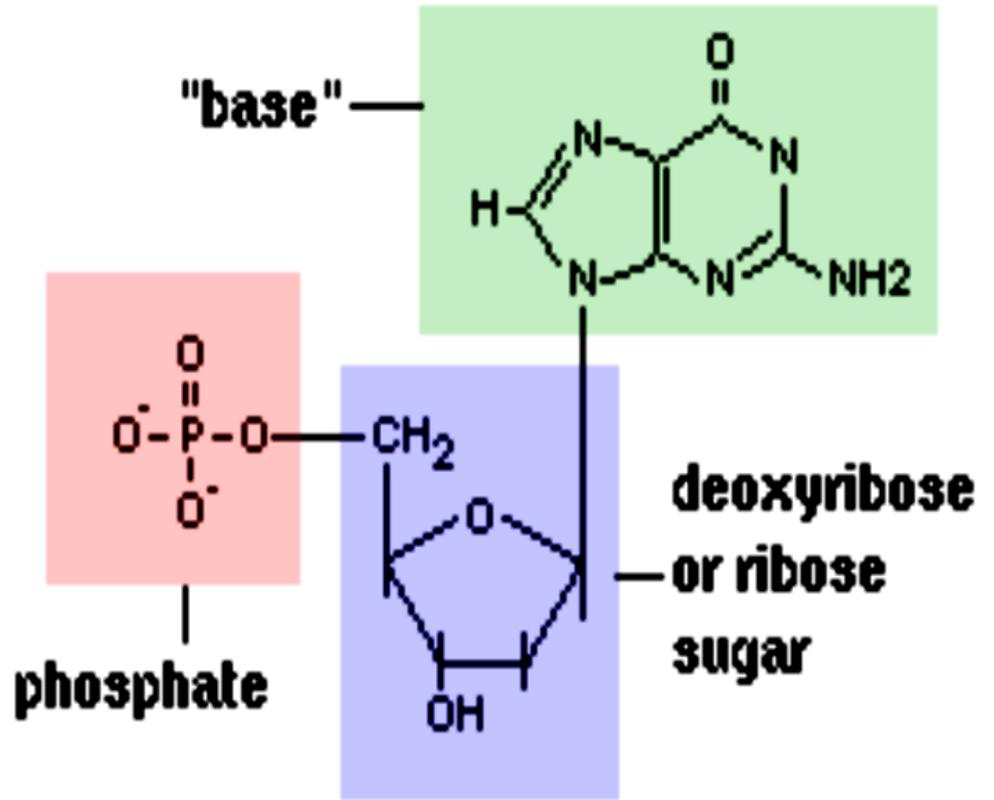


BIOCHIMIE STRUCTURALE DES ACIDES NUCLEIQUES

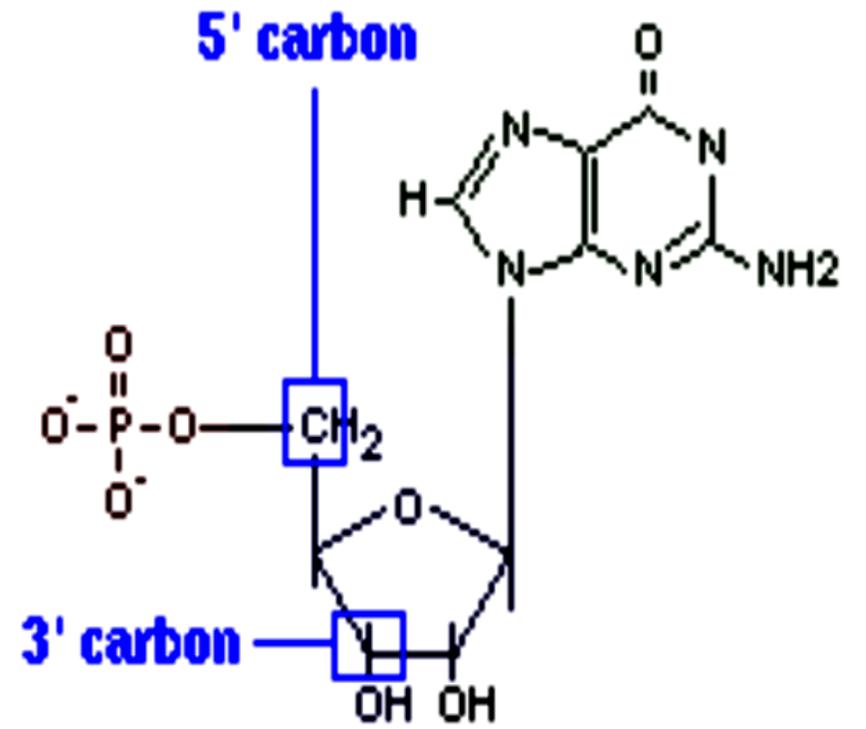
Nicolas DUBOIS – PRAG USMB – UFR Sciences et Montagne
nicolas.dubois@univ-smb.fr

STRUCTURE GENERALE D'UN NUCLEOTIDE

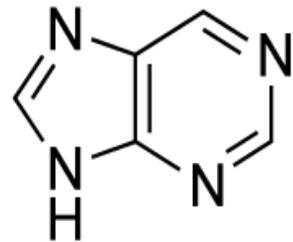
deoxyadenosine monophosphate



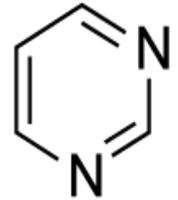
(ribo) adenosine monophosphate



LES BASES AZOTEES

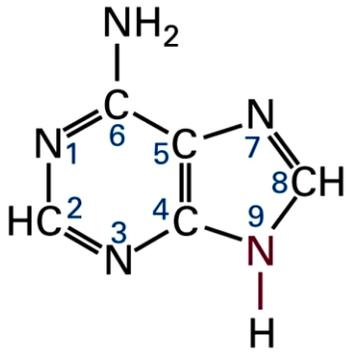


purine (R)

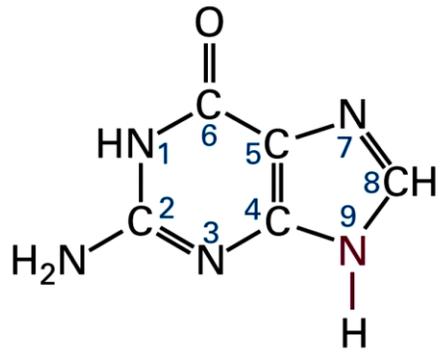


pyrimidine (Y)

PURINES

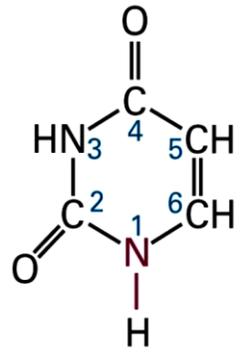


Adenine (A)

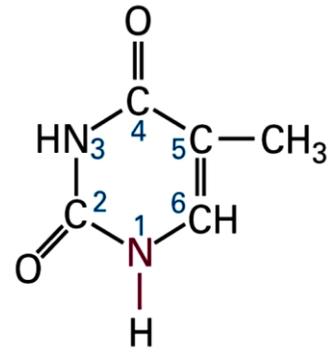


Guanine (G)

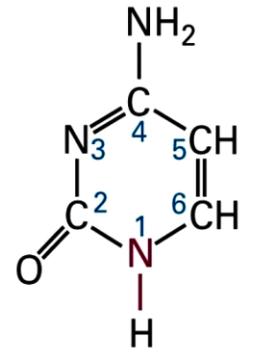
PYRIMIDINES



Uracil (U)



Thymine (T)

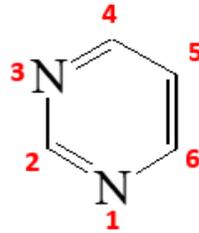


Cytosine (C)

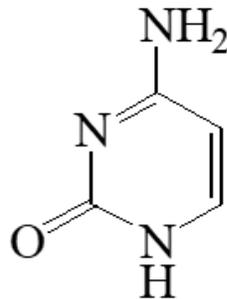
LES BASES AZOTEES

Bases azotées pyrimidiques

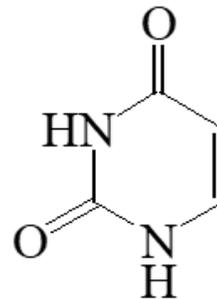
* 1 hétérocycle , dérivant de la **pyrimidine**



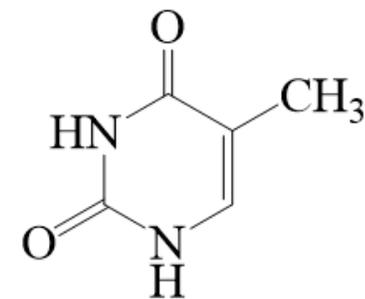
* **Cytosine**
(ADN, ARN)



* **Uracile**
(ARN)



* **Thymine**
(ADN)



= 5-méthyl-uracile

LES BASES AZOTEES

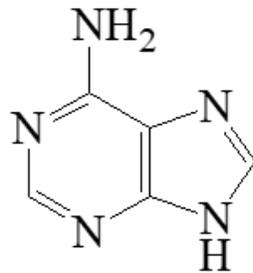
Bases azotées puriques

* 2 hétérocycles , purine : cycle **pyrimidine + imidazole**

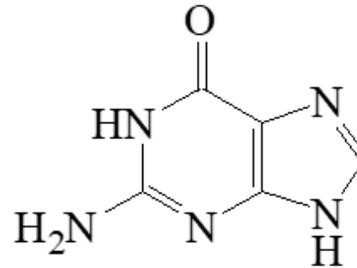


→ Caféine, théophylline (alcaloïdes)

* **Adénine**
(ADN, ARN)



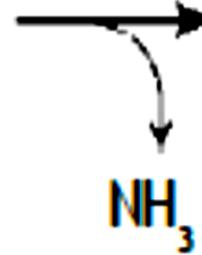
* **Guanine**
(ADN, ARN)



Remarque : toutes les bases azotées (5) absorbent en **UV** (entre 245 et 270 nm)

PROPRIETES CHIMIQUES DES BASES AZOTEES

Cytosine



Uracile

Adénine



Hypoxanthine

Guanine

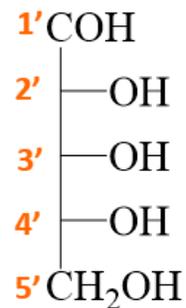


Xanthine

STRUCTURE D'UN NUCLEOSIDE

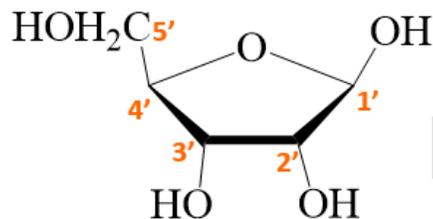
Sucre = pentose(s)

Forme « ouverte »
représentation de
Fischer



ribose

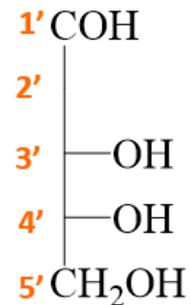
Forme « cyclisée »
représentation de
Haworth



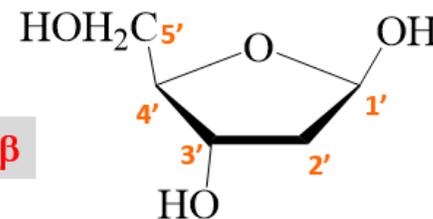
β -D-Ribofuranose



ARN



2-desoxy-ribose



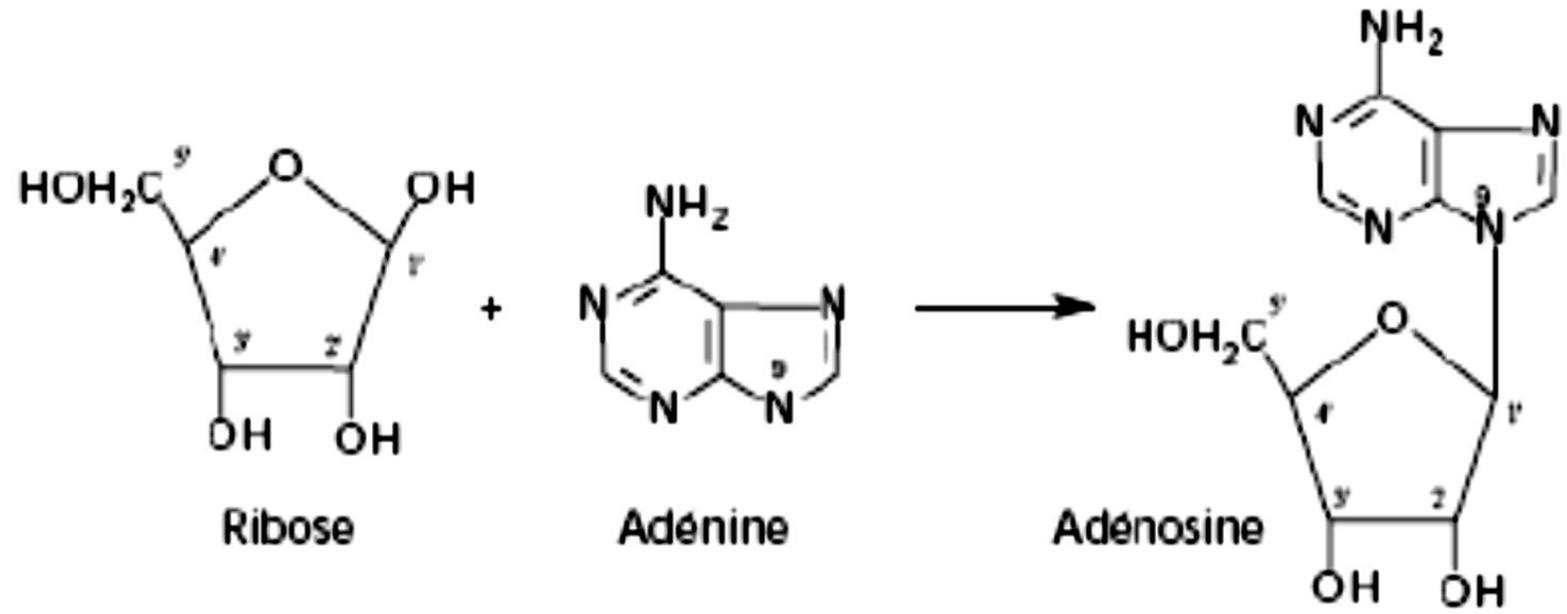
β -D-2-Desoxy-ribofuranose



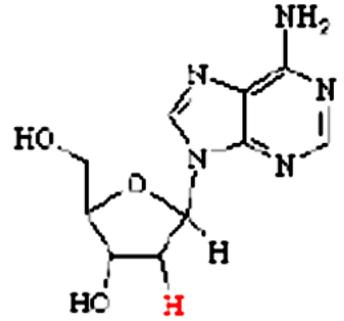
ADN

Anomère β

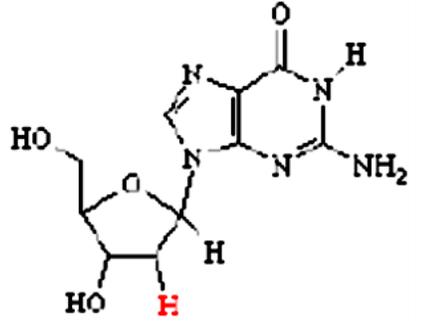
STRUCTURE D'UN NUCLEOSIDE



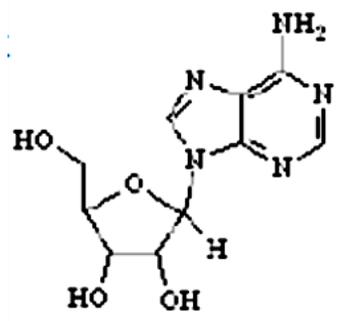
LES (DESOXY)RIBONUCLEOSIDES



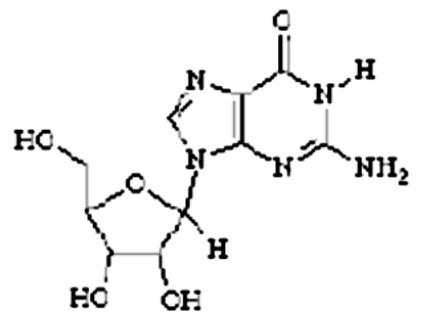
2'-Deoxyadenosine



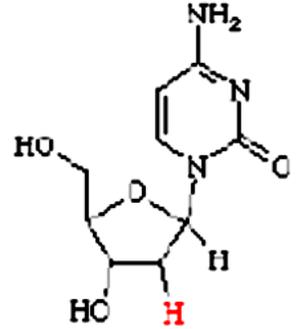
2'-Deoxyguanosine



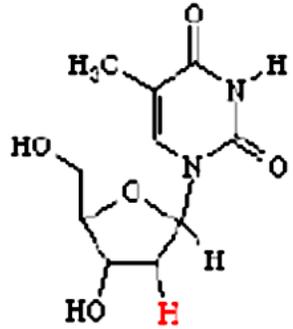
Adenosine



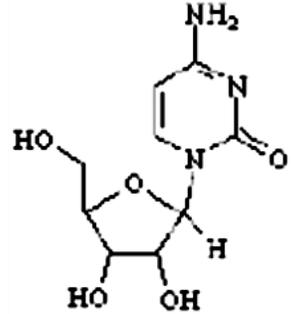
Guanosine



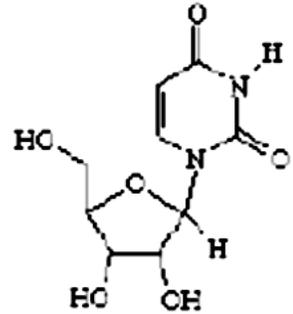
2'-Deoxycytidine



2'-Deoxythymidine



Cytidine



Uridine

Les désoxyribonucléosides

Les ribonucléosides

NOMENCLATURE DES NUCLEOSIDES

Base	Ribonucléoside	Désoxyribonucléoside
Adénine	Adénosine	Désoxyadénosine
Guanine	Guanosine	Désoxyguanosine
Uracile	Uridine	Désoxyuridine
Cytosine	Cytidine	Désoxycytidine
Thymine	Thymidine (très rare)	Désoxythymidine

NUCLÉOSIDE = OSE + BASE PURIQUE ou PYRIMIDIQUE

STRUCTURE DES NUCLEOTIDES



Acide phosphorique caractérisé par **TROIS** fonctions acides

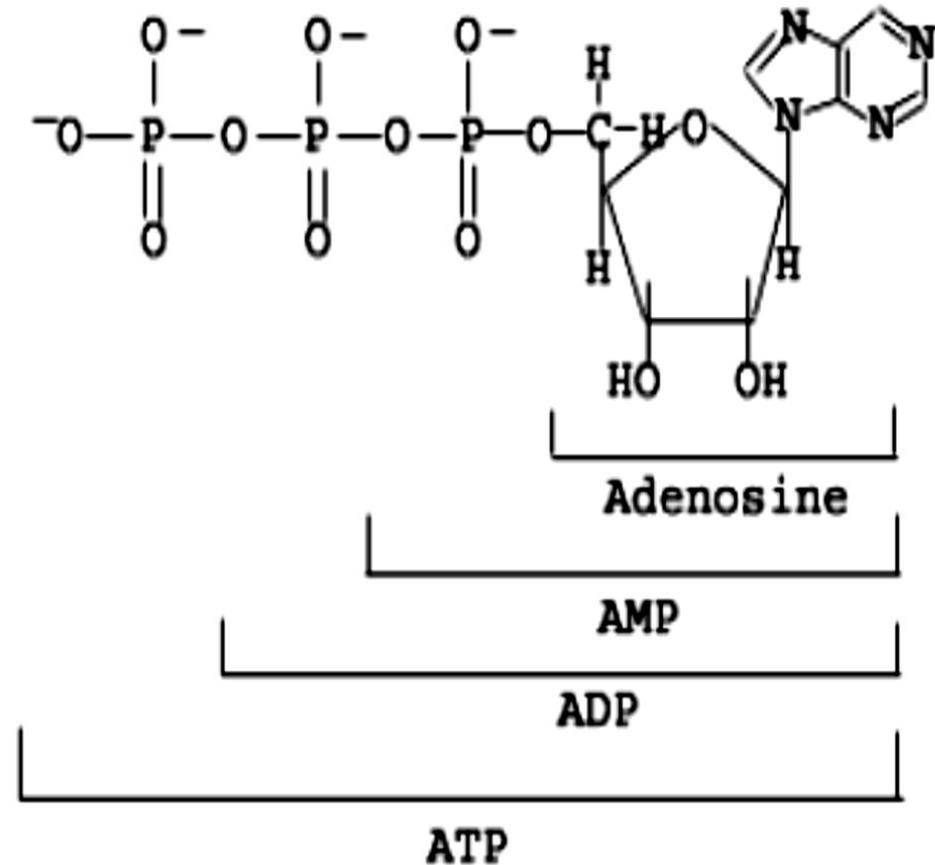
$$\text{pKa}_1 = 1.9 ; \text{pKa}_2 = 6.5 ; \text{pKa}_3 = 12.5$$

2 fonctions -OH → 2 liaisons esters avec les OH du ribose en 3' et 5'

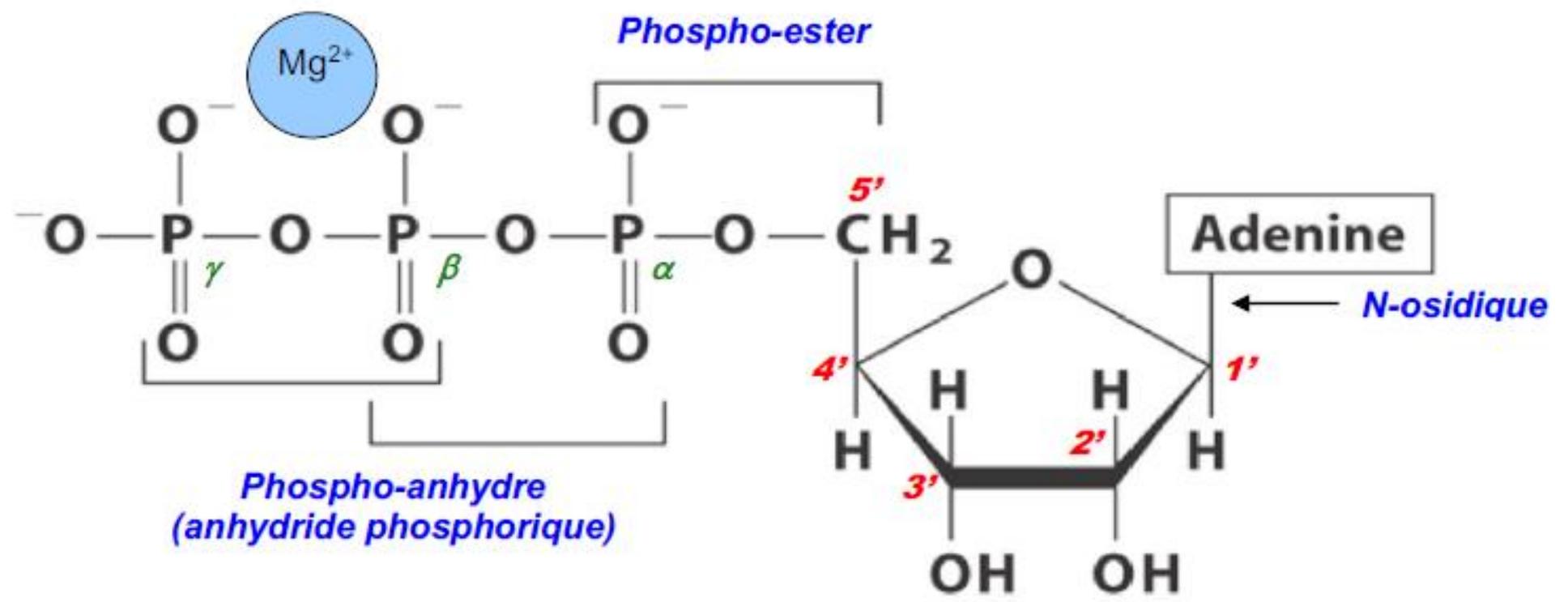
Au pH physiologique → anion

STRUCTURE DES NUCLEOTIDES

Attention aux
noms des liaisons



STRUCTURE DES NUCLEOTIDES



NOMENCLATURE DES NUCLEOTIDES

Base	Ribonucléoside-5'-P	Désoxyribonucléoside-5'-P
Adénine	Adénosine-5'-monophosphate (AMP)	Désoxyadénosine-5'- monophosphate (dAMP)
Guanine	Guanosine-5'-monophosphate (GMP)	Désoxyguanosine-5'- monophosphate (dGMP)
Uracile	Uridine-5'-monophosphate (UMP)	Uridine-5'-monophosphate (UMP)
Cytosine	Cytidine-5'-monophosphate (CMP)	Désoxycytidine-5'- monophosphate (dCMP)
Thymine	Thymine-5'-monophosphate (TMP)	Désoxythymidine-5'- monophosphate (dTMP)

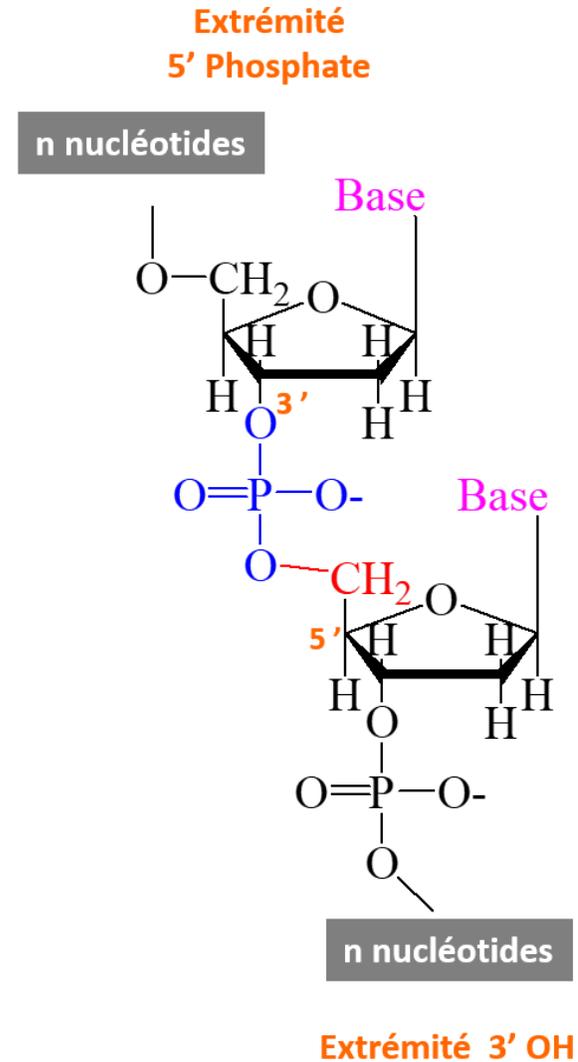
NUCLÉOTIDE = NUCLÉOSIDE + ACIDE PHOSPHORIQUE

STRUCTURE D'UN BRIN D'ADN

Structure primaire : Assemblage des nucléotides

Liaison **phosphodiester** entre :
- le phosphate en C5'
- le OH en 3'

- Même liaison pour
ADN = Acide DésoxyriboNucléique
et ARN = Acide RiboNucléique

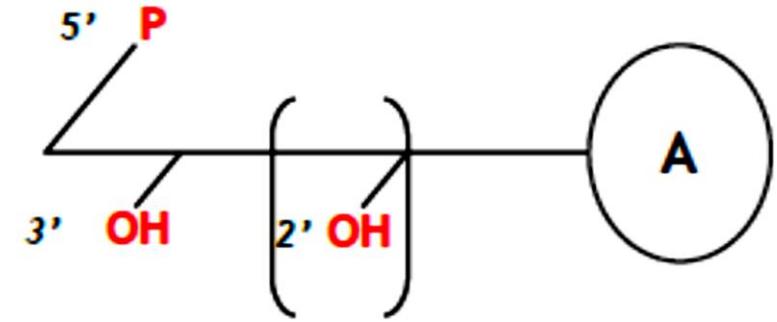
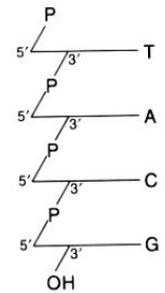
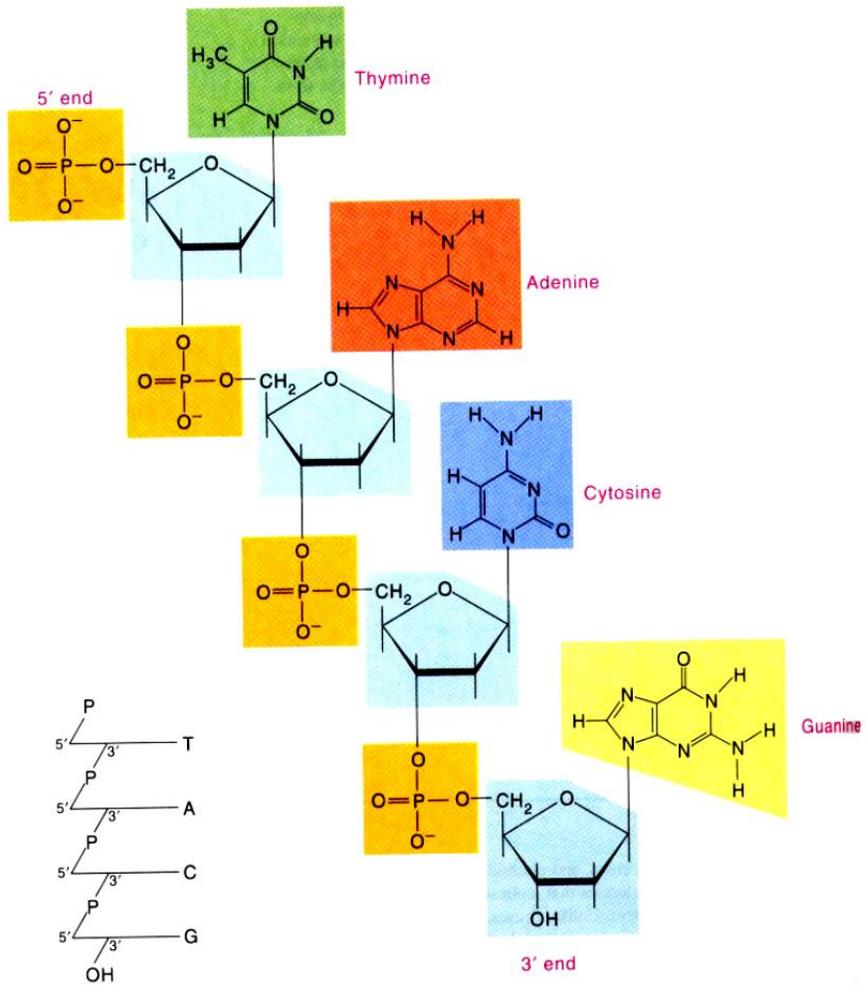


STRUCTURE D'UN BRIN D'ADN

- à l'origine de la création de polymères extrêmement longs (n de plusieurs milliers/millions)
- Unité : **base** (simple brin) ou **paire de bases** (double brin) et les multiples
kb = kilobases , mégabases...

Préfixe utilisé	Symbole	Signification en puissance de 10	Signification
Kilo	k	$\times 10^3$	$\times 1\ 000$
<u>Mega</u>	M	$\times 10^6$	$\times 1\ 000\ 000$
Giga	G	$\times 10^9$	$\times 1\ 000\ 000\ 000$
Téra	T	$\times 10^{12}$	$\times 1\ 000\ 000\ 000\ 000$

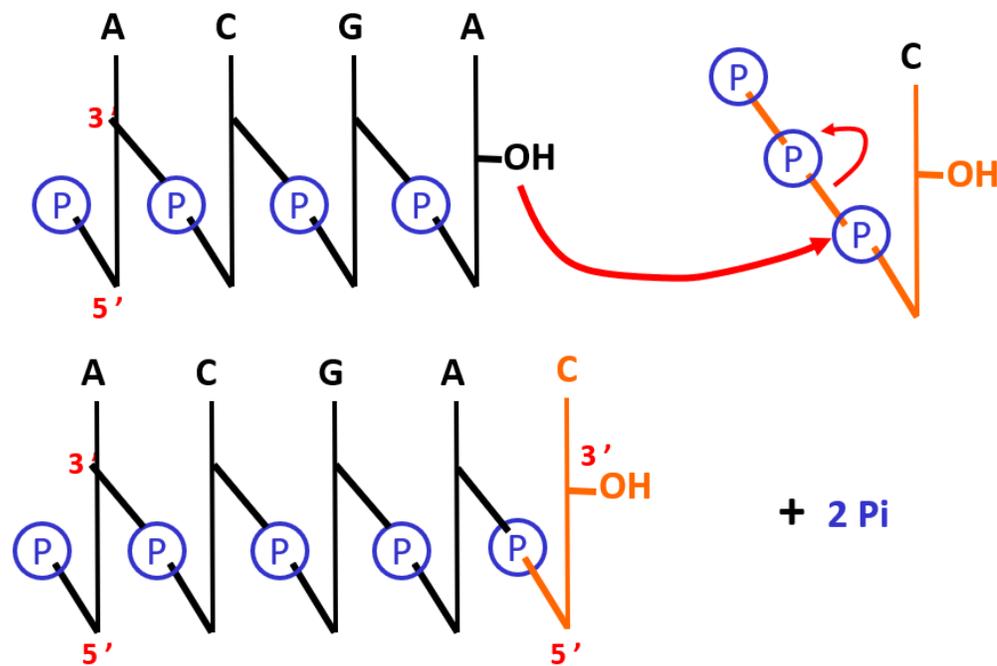
STRUCTURE D'UN BRIN D'ADN



(Désoxy) Adénosine monophosphate

STRUCTURE D'UN BRIN D'ADN

- Synthèse de la liaison phosphodiester



Notation compacte
= pApCpGpApC

= Notation encore
plus compacte
ACGAC

Molécule d'ADN polaire et orientée : 5' P vers 3' OH

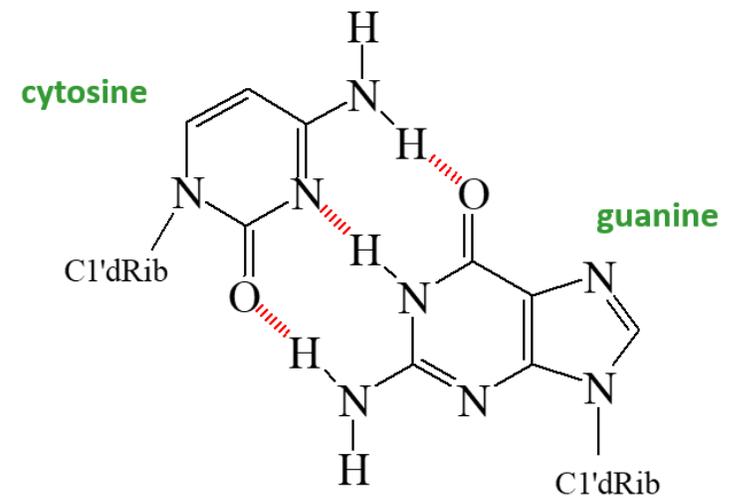
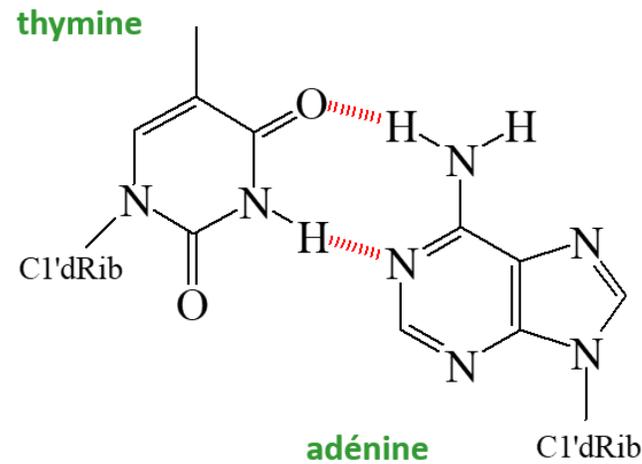
Structure primaire = SEQUENCE = code génétique

Sens du code génétique (ARNm) 5' → 3'

L'ADN EST UNE MOLECULE BICATENAIRE

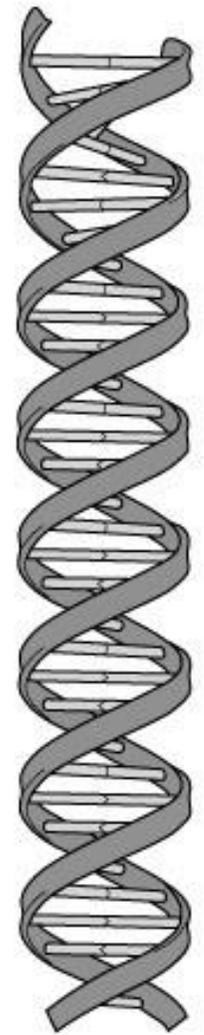
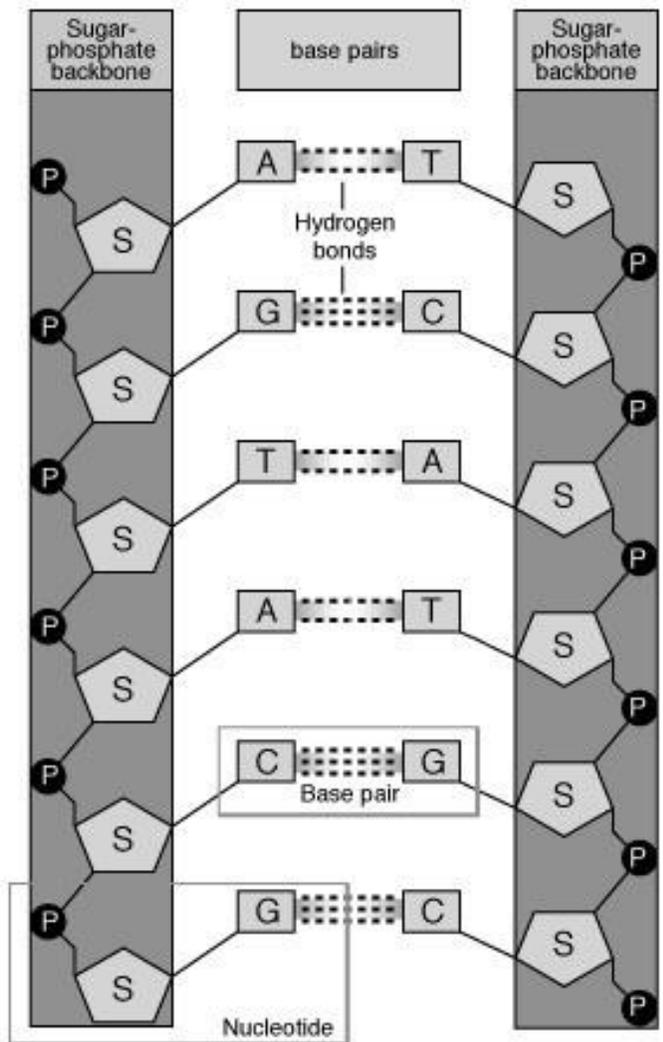
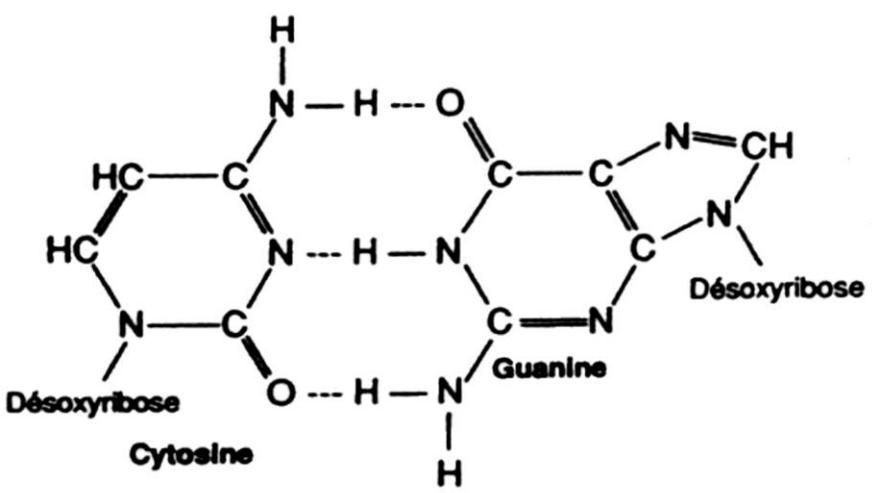
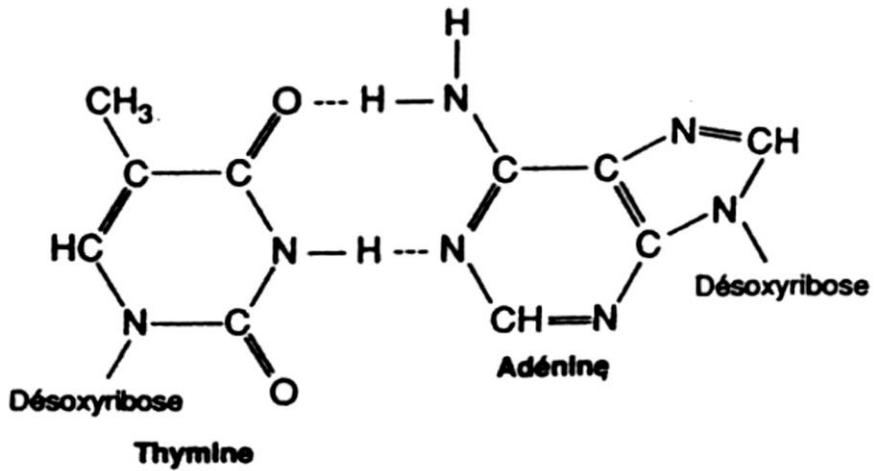
1953 : travaux de Watson et Crick : **Hypothèse de la double hélice**

- * **2 brins** s'associent pour former une double hélice : **ADN bicaténaire**
- * Les bases sont associées **2 par 2 par des liaisons H**
- * Les 2 brins sont **antiparallèles**

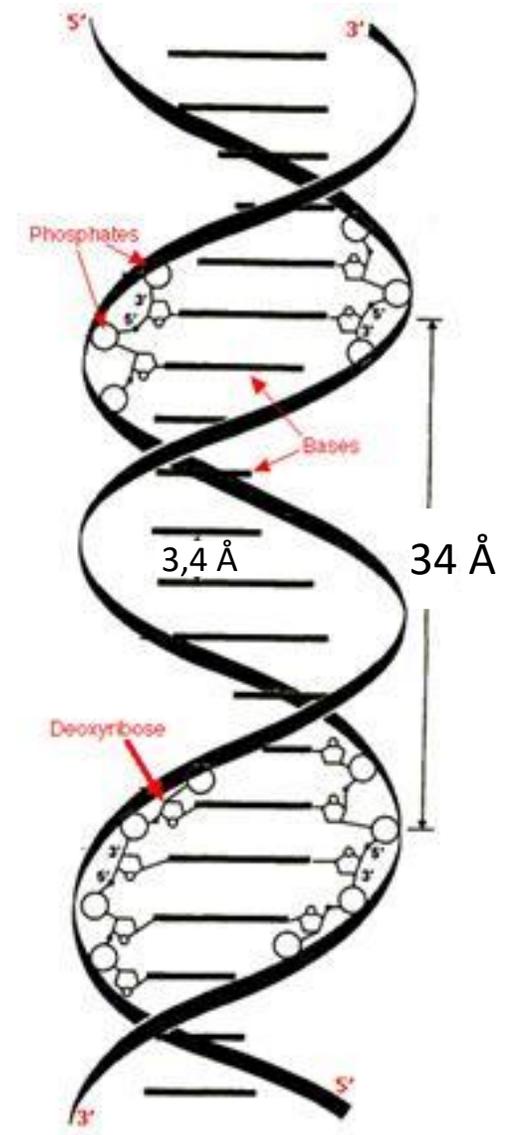
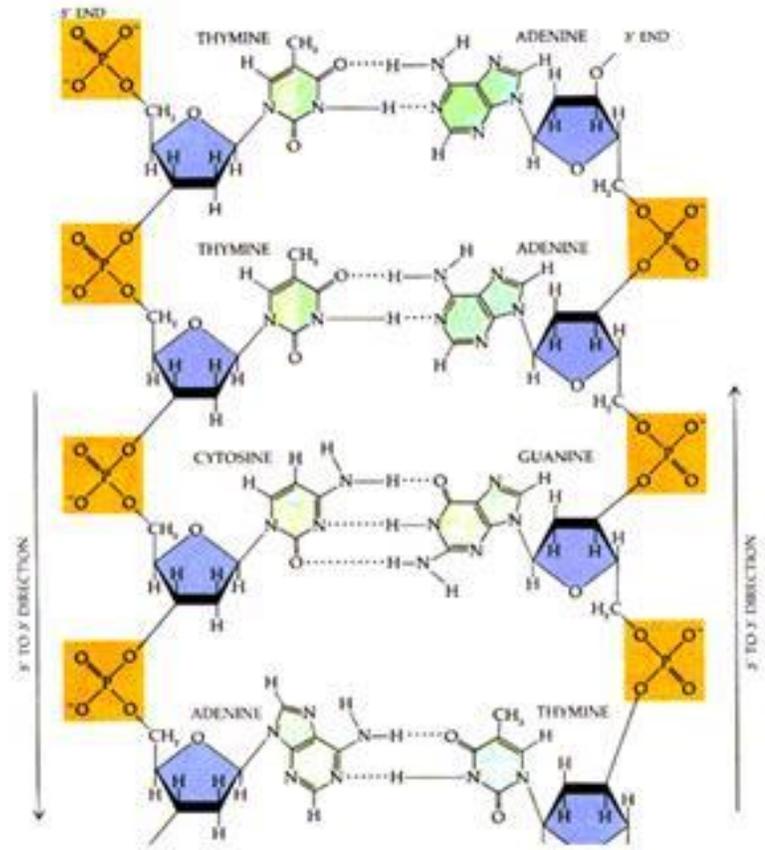


- * La séquence d'un brin est **complémentaire** de celle de l'autre

L'ADN EST UNE MOLECULE BICATENNAIRE



LA DOUBLE HELICE D'ADN

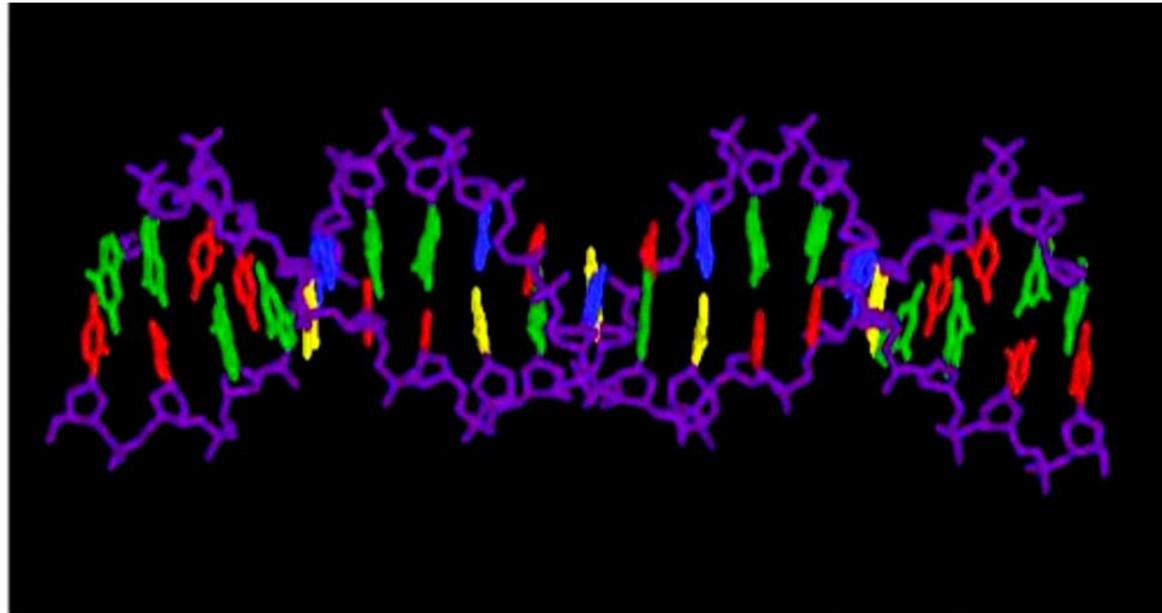


LA DOUBLE HELICE D'ADN

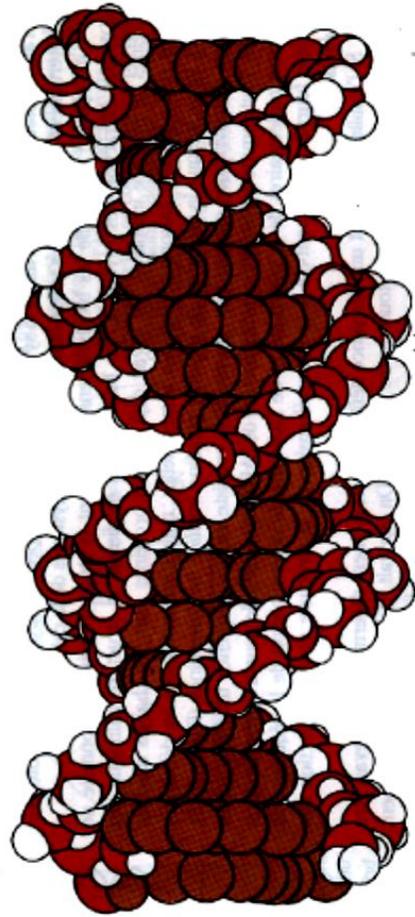
- **Caractéristiques de la double hélice**

Sucres, phosphates → extérieur de l'hélice → milieu aqueux

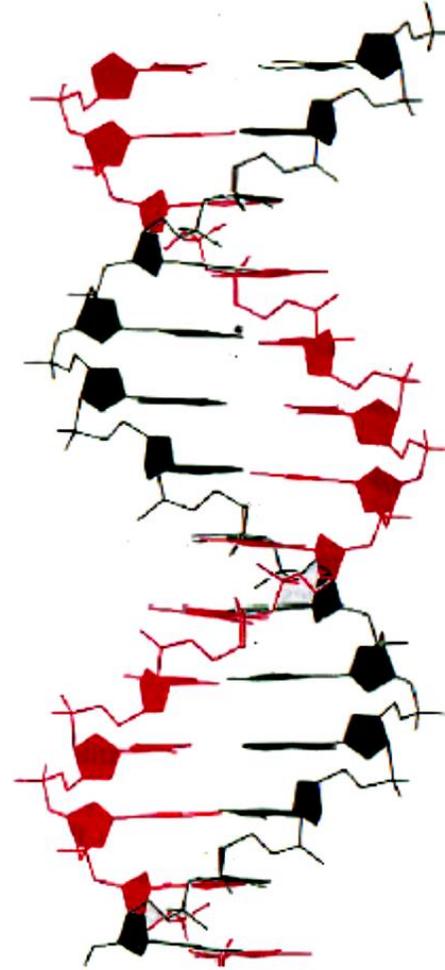
Bases hydrophobes → intérieur de l'hélice → empilement



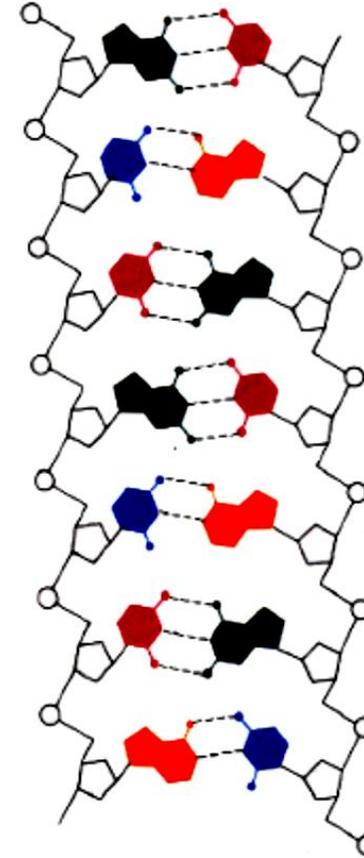
LA DOUBLE HELICE D'ADN



Modèle compacté de l'ADN



Modèle éclaté

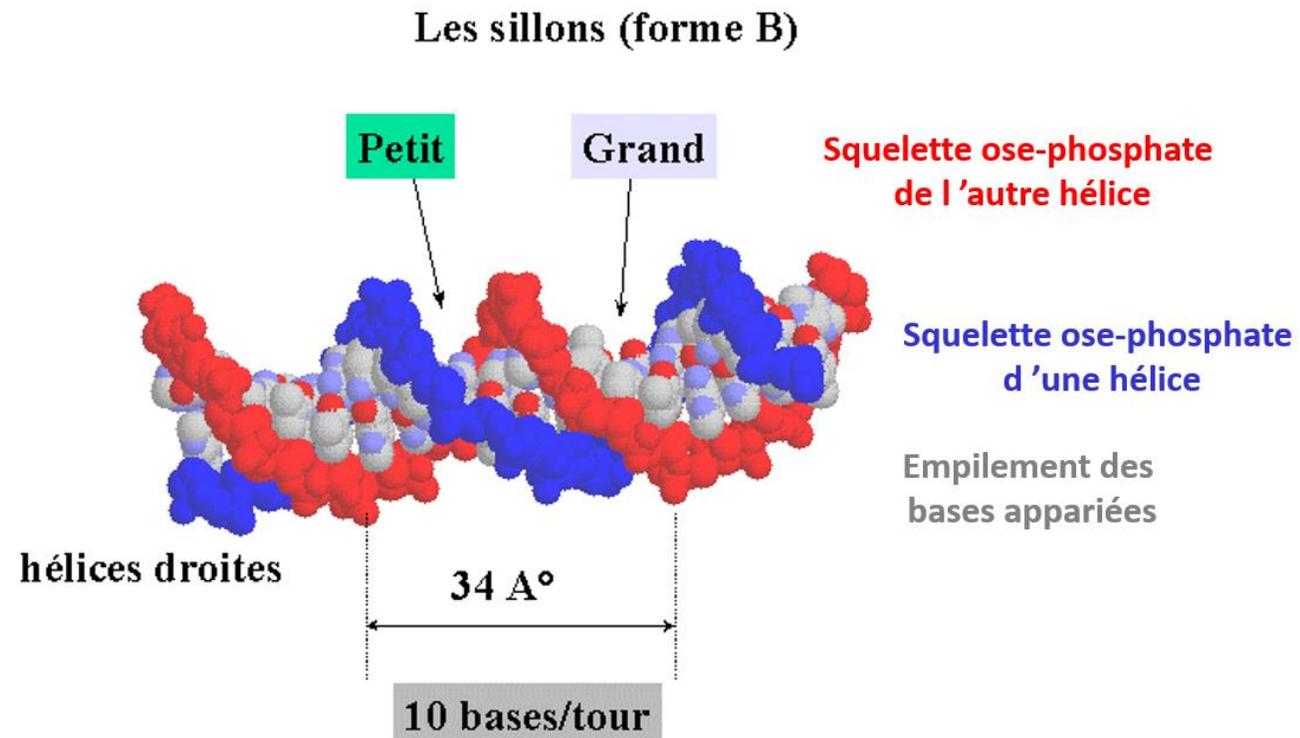


Modèle schématique

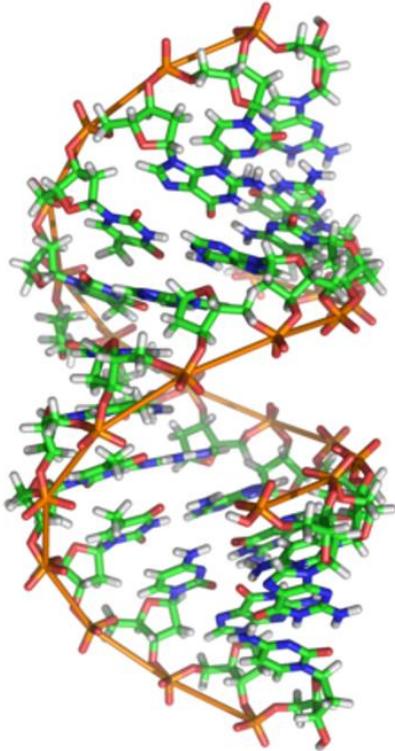
LA DOUBLE HELICE D'ADN

ADN B

- * Double hélice droite ; pas de l'hélice : 10 pnb, soit 3.4 nm ; diamètre 2.37 nm
- * grand et petit sillons : contact avec les protéines

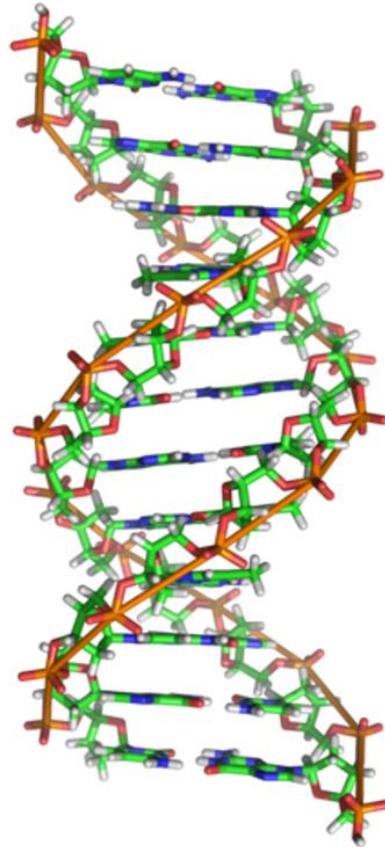


LES DIFFERENTES HELICES D'ADN



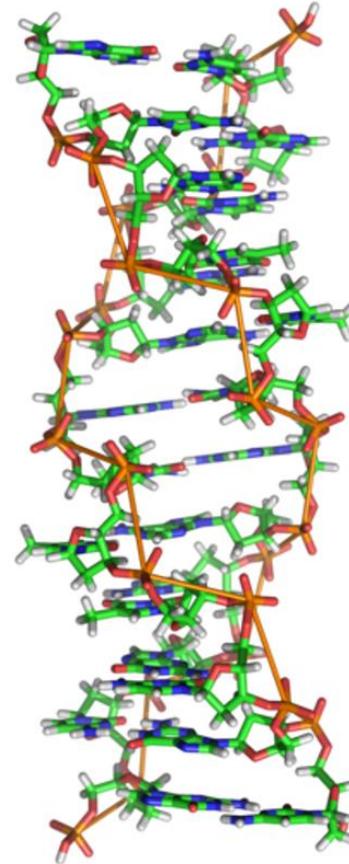
ADN A
milieu anhydre , ARN

hélice droite,
11 bases par pas :
2.46 nm



ADN B

hélice droite,
10 pnb par pas : 3,4 nm
diamètre : 2,37 nm



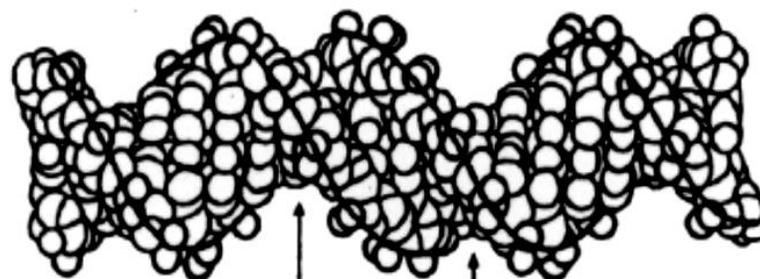
ADN Z

hélice gauche,
12 bases par pas
: 4.56 nm, 1 seul sillon

Remarque : *in vitro*
6 formes d'ADN : A à E + Z

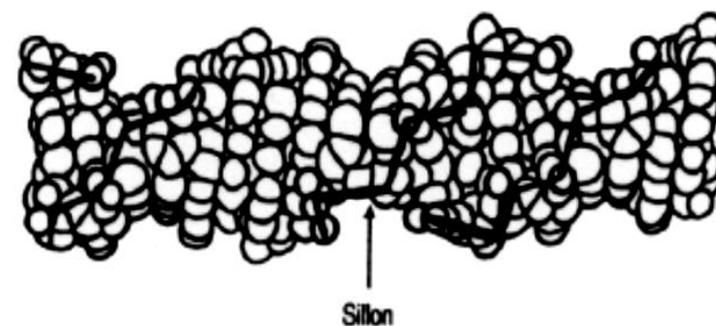
LES DIFFERENTES HELICES D'ADN

	ADN B	ADN A	ADN Z
Hélice	droite	droite	gauche
Diamètre (°A)	19	26	18
Pb / tour	10,4	11	12
Pas de l'hélice	34	28	45
Remarque	<i>La plus stable</i>	<i>bactéries Gram- sporulant - résiste aux UV</i>	<i>complexes ADN / Protéine</i>



Grand sillon Petit sillon

Hélice B



Hélice Z

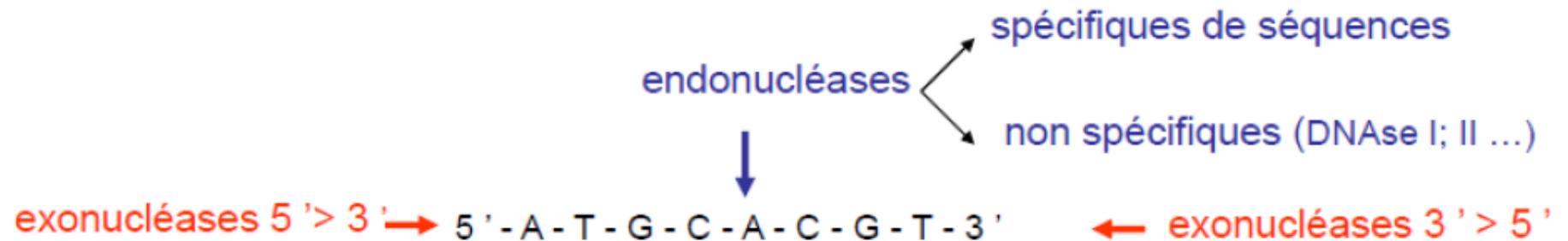
STABILITE DE LA DOUBLE HELICE

1. Liens H entre bases
2. Liens hydrophobes entre bases
3. Forces de Van der Waals entre cycles à doubles liaisons des bases azotées
4. Liaisons électrostatiques :
 - répulsion entre charges - des P
 - attraction entre charges - des P et charges +
 - charges + des ions Mg^{++} qui s'intercalent
 - charges + des Lys et Arg des protéines histones

STABILITE DES ACIDES NUCLEIQUES

➤ Dégradation de l'ADN

- Clivage chimique
- Coupures enzymatiques



STABILITE DES ACIDES NUCLEIQUES

- Rupture de la liaison phosphodiester

Les enzymes **NUCLÉASES** cassent les liaisons phosphodiesters entre nucléotides

Exonucléases à l'extrémité

Endonucléases à l'intérieur



Forte spécificité :

ADN / ARN

simple brin/double brin /
séquences etc..

Sans enzyme, ARN et surtout ADN sont extrêmement stables...

- Plus vieil ADN humain séquencé : 400 000 ans . Extrait d'un fémur trouvé dans la grotte Sima de los Huesos (le « gouffre des os ») d'Atapuerca, nord de l'Espagne
- analyse également d' un ADN d'un fossile de cheval de 700 000 ans

PROPRIETES DES ACIDES NUCLEIQUES

➤ Taille et masse :

- ADN

	ADN d'une cellule		
	taille	masse	longueur
adénovirus	$\approx 35 \cdot 10^3$ pb	$\approx 10^7$ Da	$\approx 1,1 \cdot 10^{-6}$ m
E. coli	$\approx 3,5 \cdot 10^6$ pb	$\approx 10^9$ Da	$\approx 1,3 \cdot 10^{-3}$ m
homme	$\approx 2 \times 3 \cdot 10^9$ pb	$\approx 10^{12}$ Da	≈ 2 m

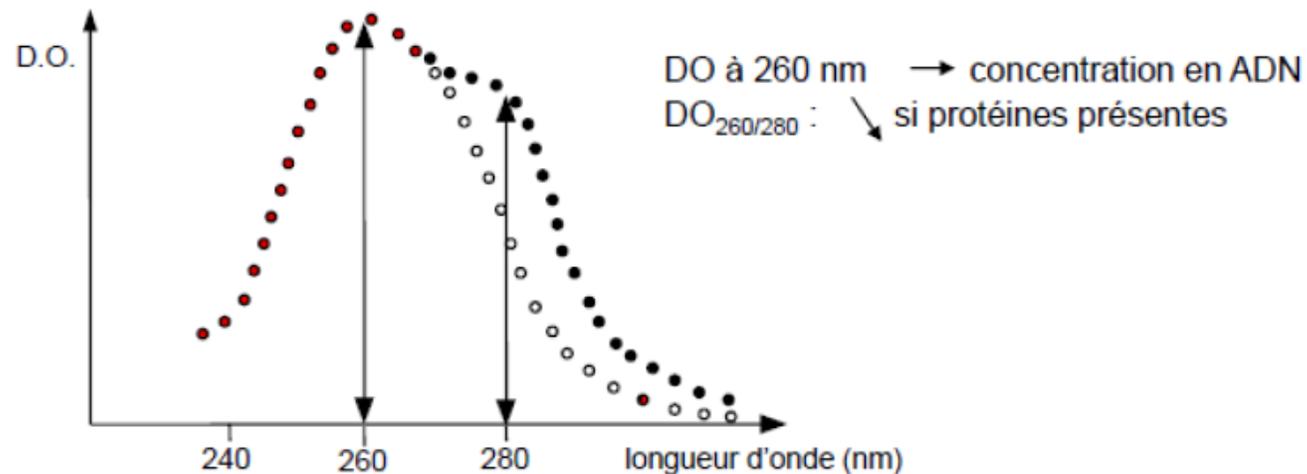
1 kpb = 1000 pb, 1 Mpb = 1 000 000 pb...

- ARN : de 15-20 nucléotides à quelques milliers de nucléotides

➤ Densité : fonction de la nature des nucléotides

PROPRIETES DES ACIDES NUCLEIQUES

- **Charge électrique** : l'ADN et l'ARN sont chargés négativement en raison des groupes phosphates. Placées dans un champ électrique (électrophorèse), ces molécules migreront vers le pôle + (anode).
- **Absorption** : les bases A, T, G, C, U ont une absorption maximale à ≈ 260 nm



EFFETS DE LA CHALEUR SUR L'ADN

▪ Renaturation-Dénaturation

Ouverture de la double hélice = séparation des deux brins = dénaturation

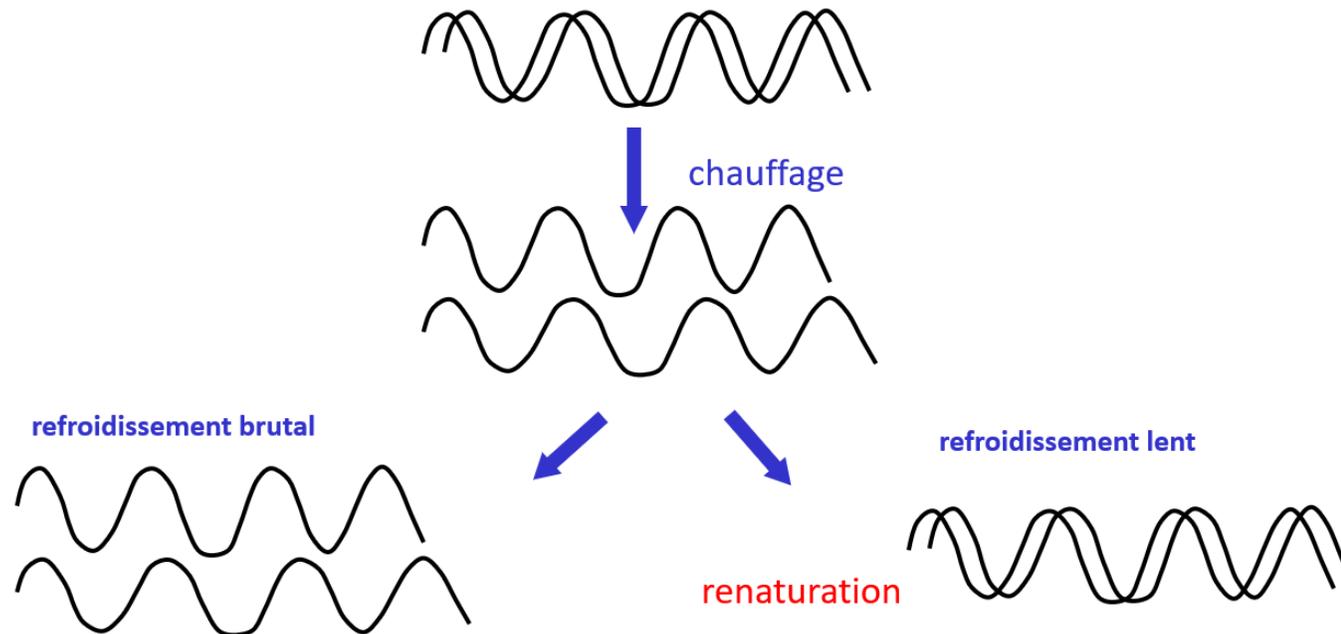
* par dénaturant chimique : urée, formamide

* par chauffage

- **température de fusion**

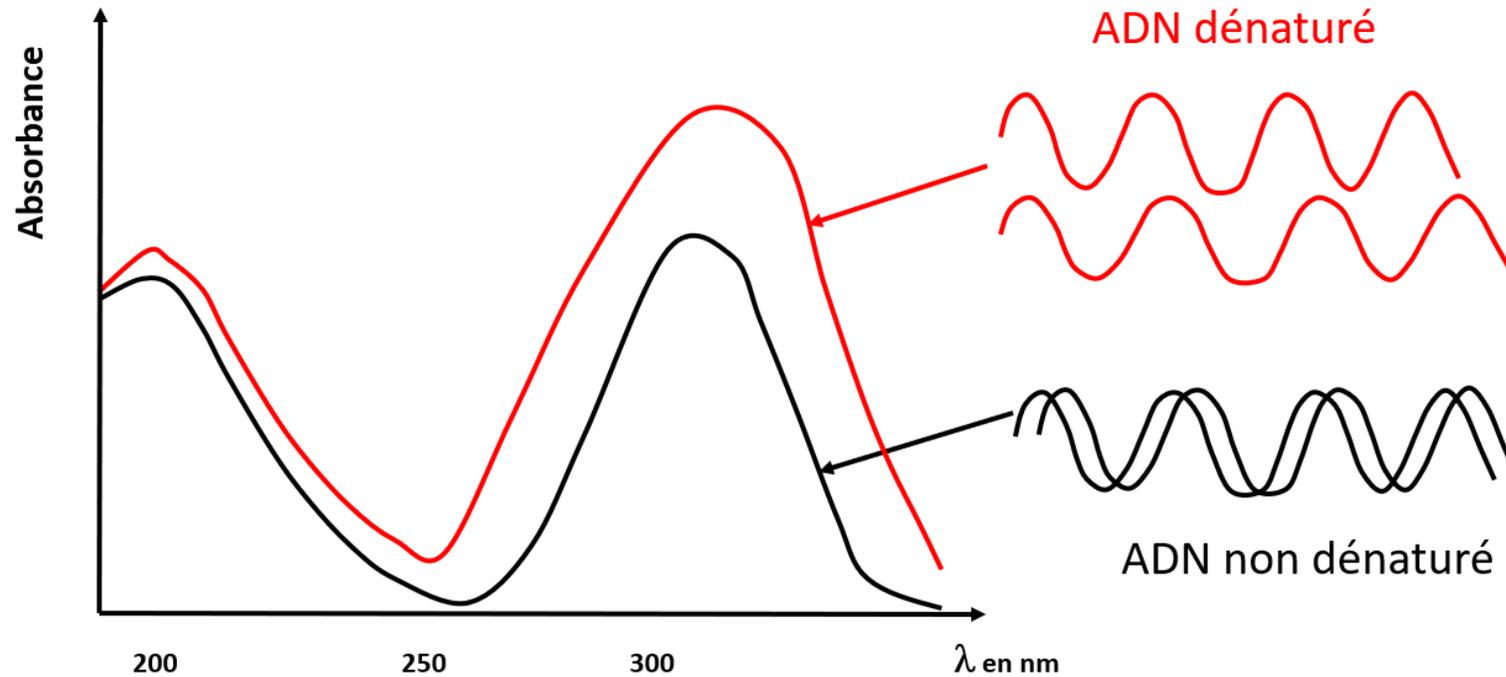
= t° qui provoque la dénaturation de 50 % des molécules d'ADN

- température de fusion augmente avec le % de GC



EFFETS DE LA CHALEUR SUR L'ADN

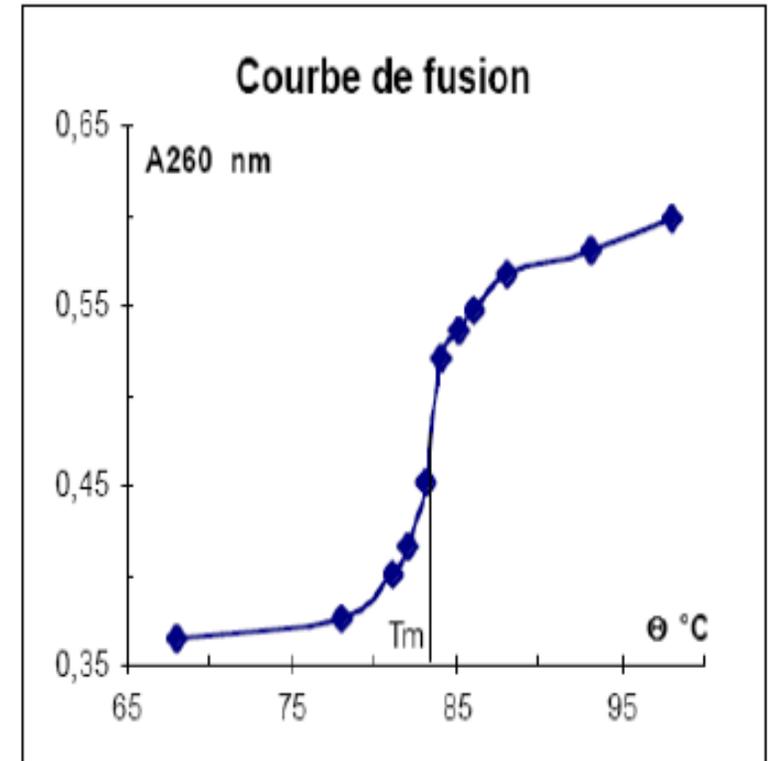
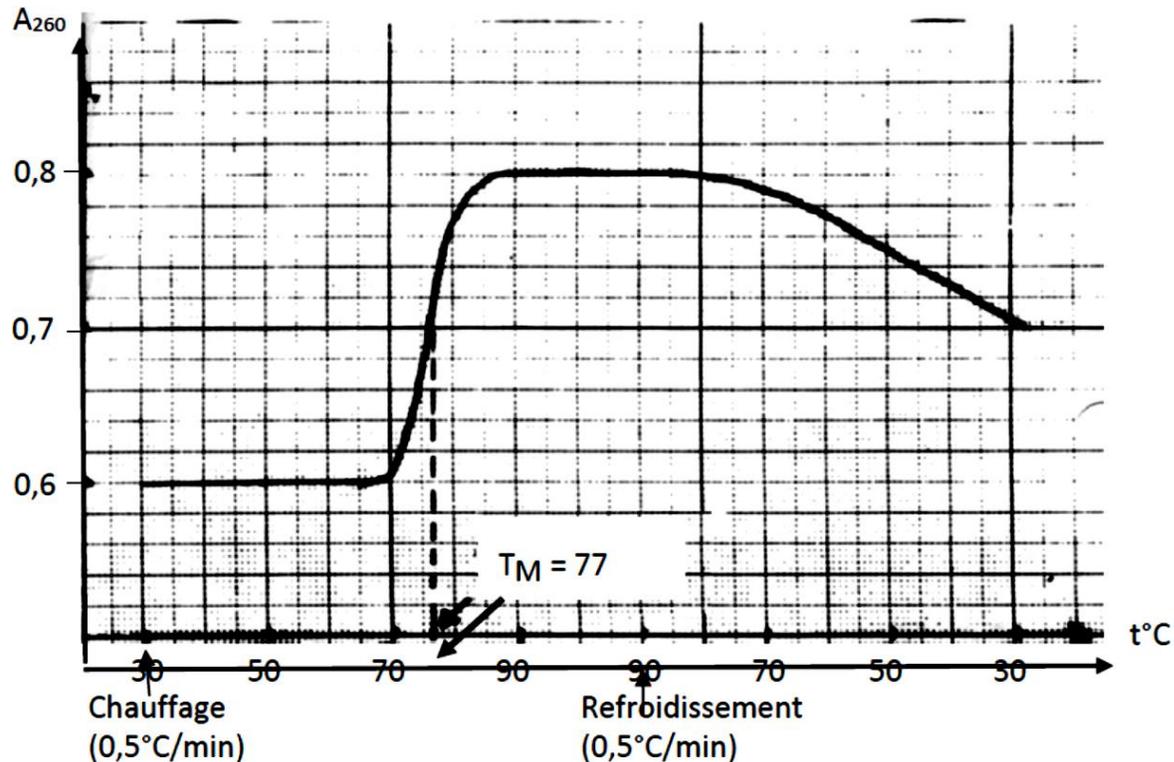
suivi de la dénaturation de l'ADN par spectrophotométrie



Absorbance à 260nm augmente lors de la dénaturation

EFFETS DE LA CHALEUR SUR L'ADN

62 La dénaturation thermique d'un ADN extrait d'érythrocytes de grenouille est suivie par mesure de l'absorbance à 260 nm. La courbe obtenue est présentée dans la figure 1.



- 1°) Expliquer l'effet d'une élévation de température sur la structure de l'ADN. Pourquoi cet effet se traduit-il par une augmentation d'absorbance (effet hyperchrome) ?
- 2°) Évaluer le taux de renaturation obtenu en fin d'expérience. Comment pourrait-on améliorer ce résultat ?

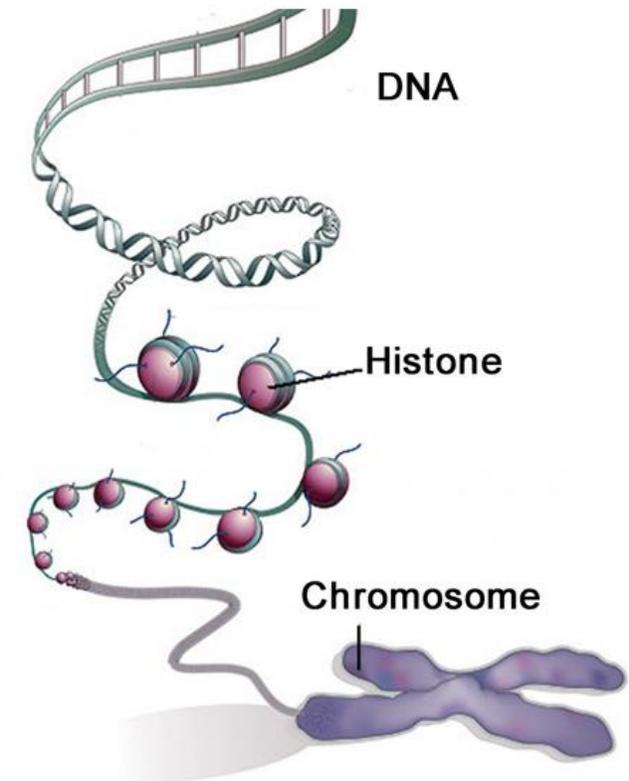
L'ADN CELLULAIRE

- ✓ **linéaire** (chromosomes eucaryotes)
ou **circulaire** (chromosome bactérien, plasmides, ADN mitochondrial et chloroplastique)
- ✓ associé aux protéines **histones** (et non histones) dans les chromosomes eucaryotes :
chromatine
- ✓ molécules **très longues**

Ex : + long chromosome humain : **7cm** de long

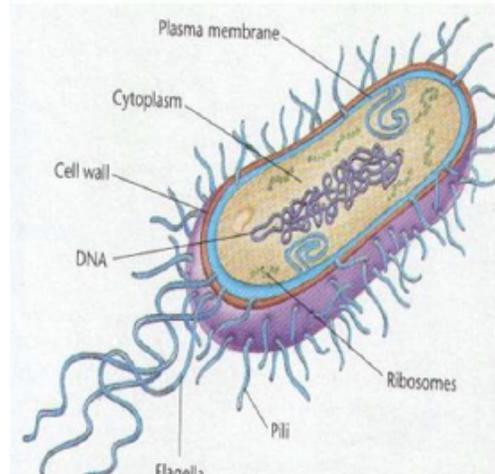
compaction

→ **8 μm** de long, 0.6 μm de diamètre

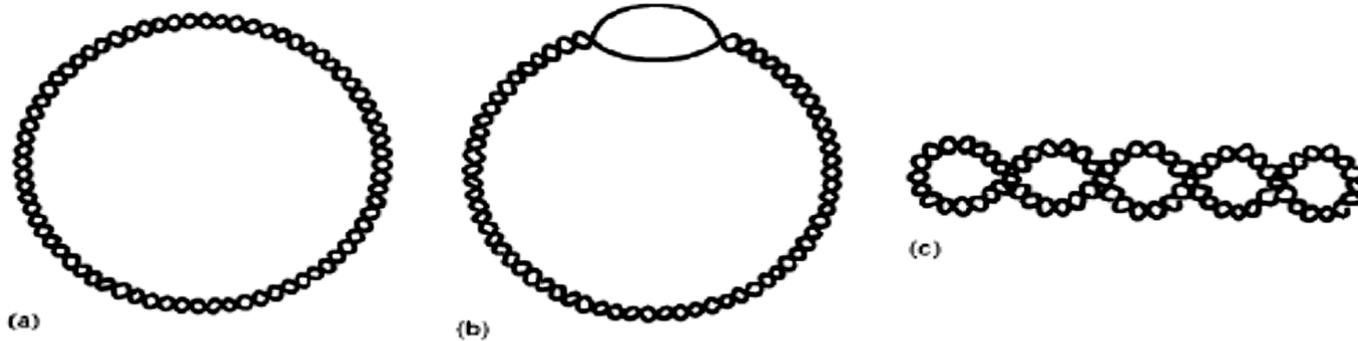


L'ADN DES BACTERIES

➤ Organisation de l'ADN des bactéries



- Le plus souvent 1 chromosome formé par une molécule d'ADN double brin généralement circulaire organisé en super hélices et associé à des protéines pour former le nucléoïde.
- Eventuellement présence additionnelle de plasmides (ADN double brin circulaire de petite taille et présent en un nombre variable de copies)



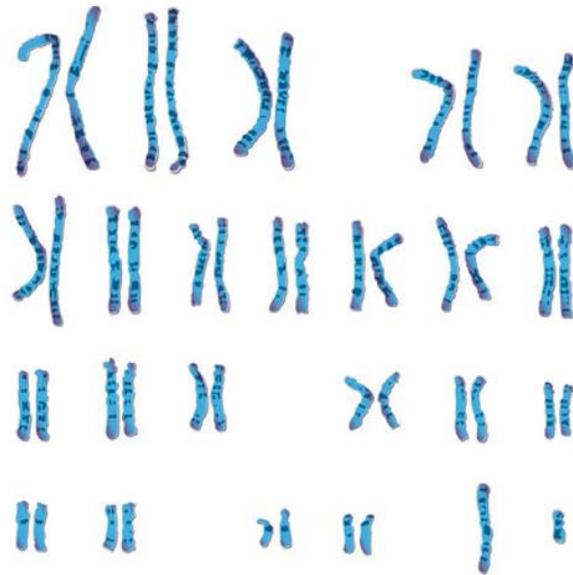
Surenroulement d'un ADN circulaire

(a) Molécule d'ADN relâchée à 36 tours d'hélice. (b) Molécule d'ADN sous-enroulée à 32 tours d'hélice, ce sous-enroulement produit une séparation des brins. (c) même molécule que (b) mais avec 4 supertours.

L'ADN NUCLEAIRE CHEZ LES EUCARYOTES

ADN nucléaire : chaîne de plusieurs milliers (millions) de nucléotides

→ ne reste pas étirée !
→ CHROMOSOMES



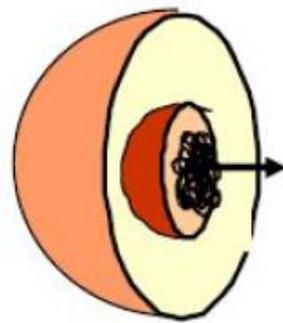
Exemple de caryotype humain (n=23)



→ Niveaux d'organisation successifs / premier niveau : **DOUBLE HÉLICE**

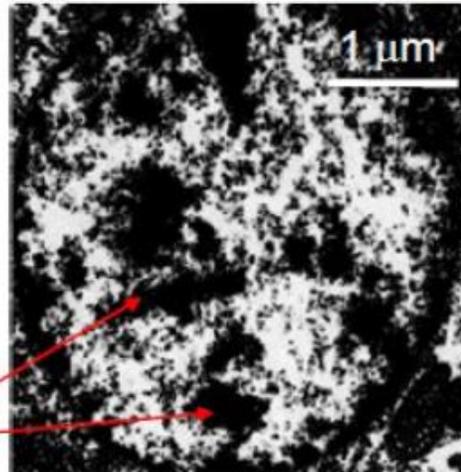
L'ADN NUCLEAIRE CHEZ LES EUCARYOTES

➤ La chromatine

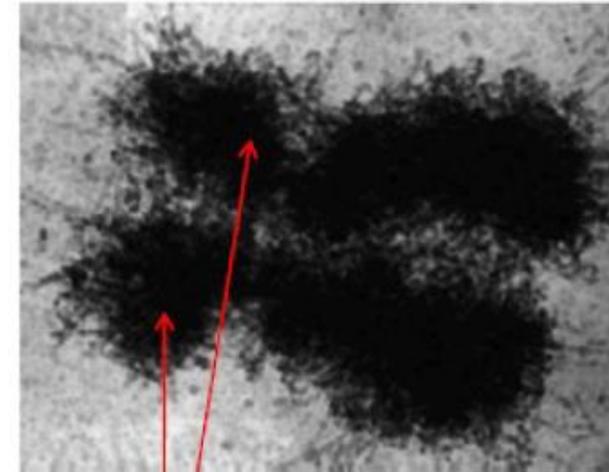


chromatine

Chromatine à l'interphase



Chromosome en métaphase

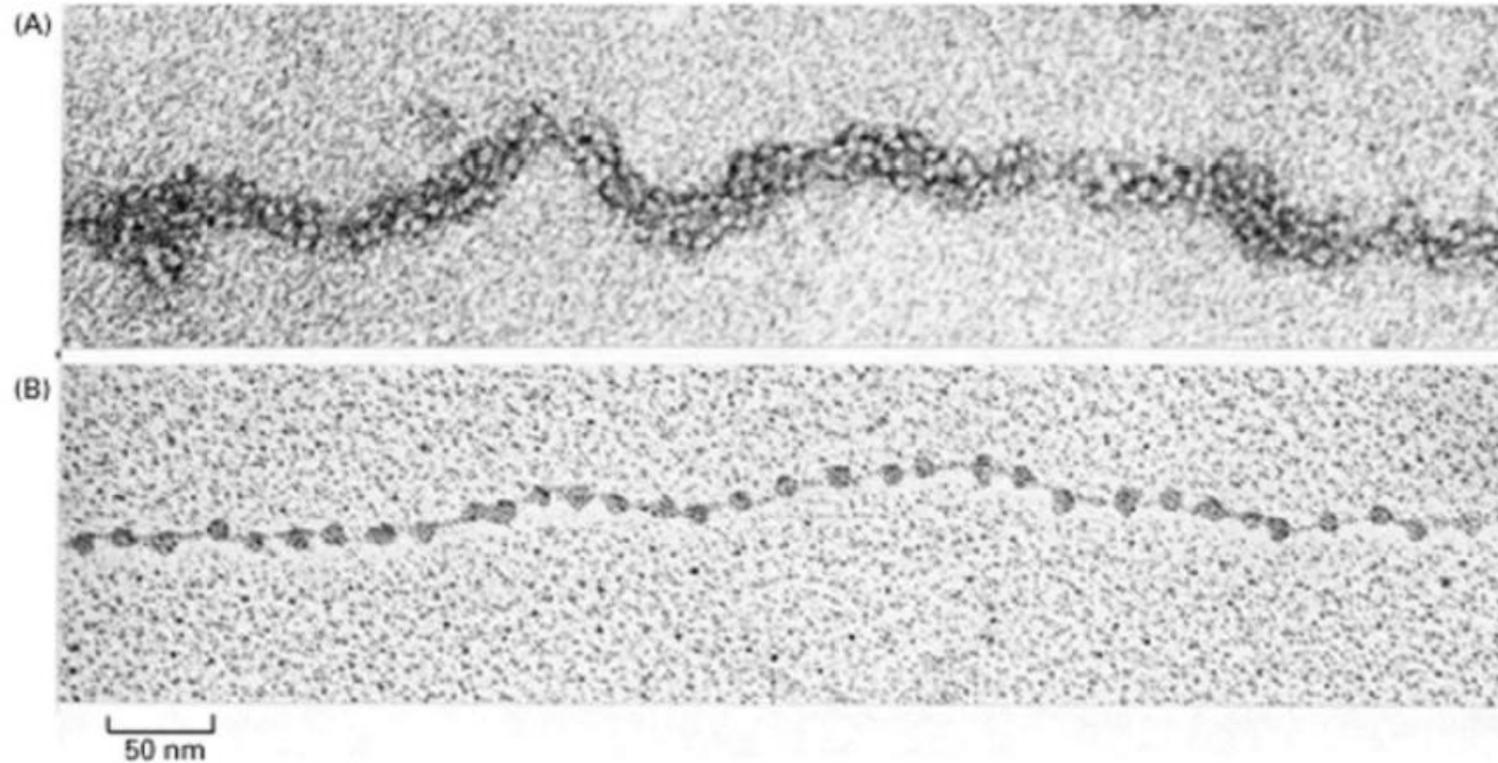


chromatides

- nombre variable de chromosomes
- 1 chromosome = 1 molécule d'ADN double brin
- chromatine = 1/3 ADN + 2/3 protéines (histones 50% , autres 50%)
- condensation chromosomique
- hétérochromatine et euchromatine

L'ADN NUCLEAIRE CHEZ LES EUCARYOTES

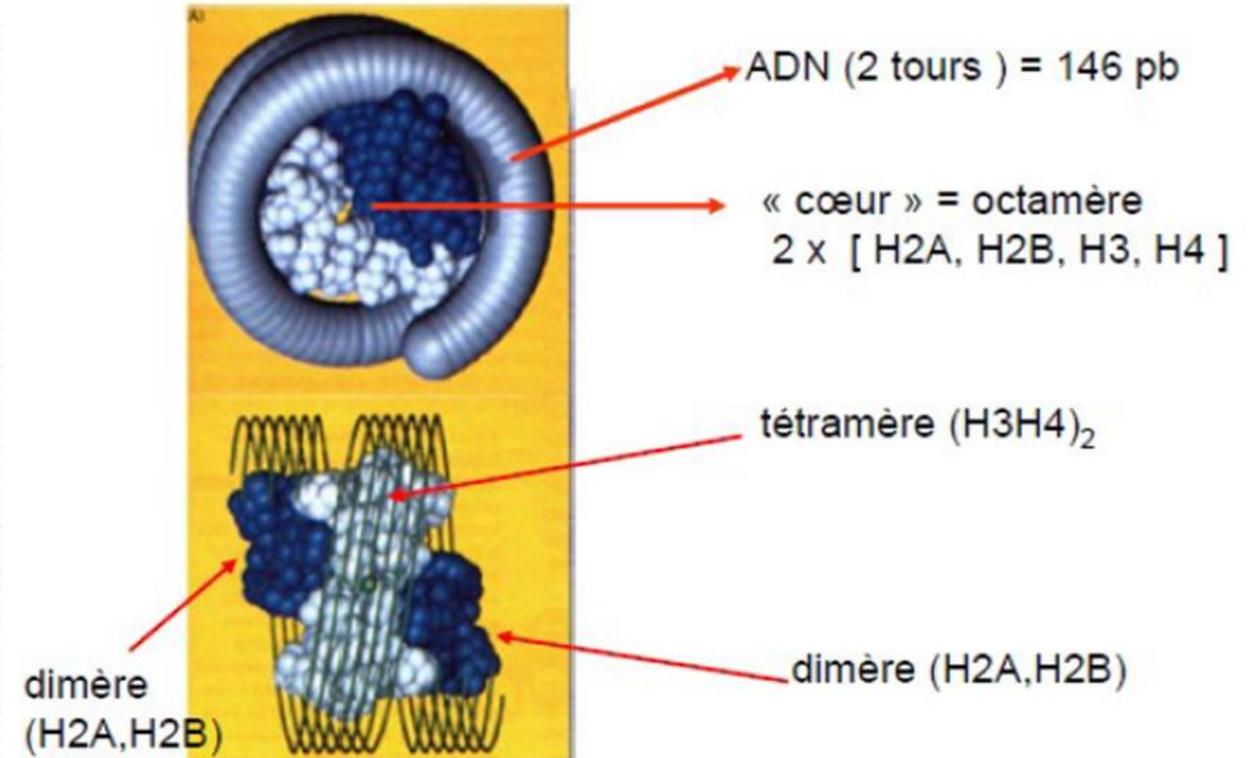
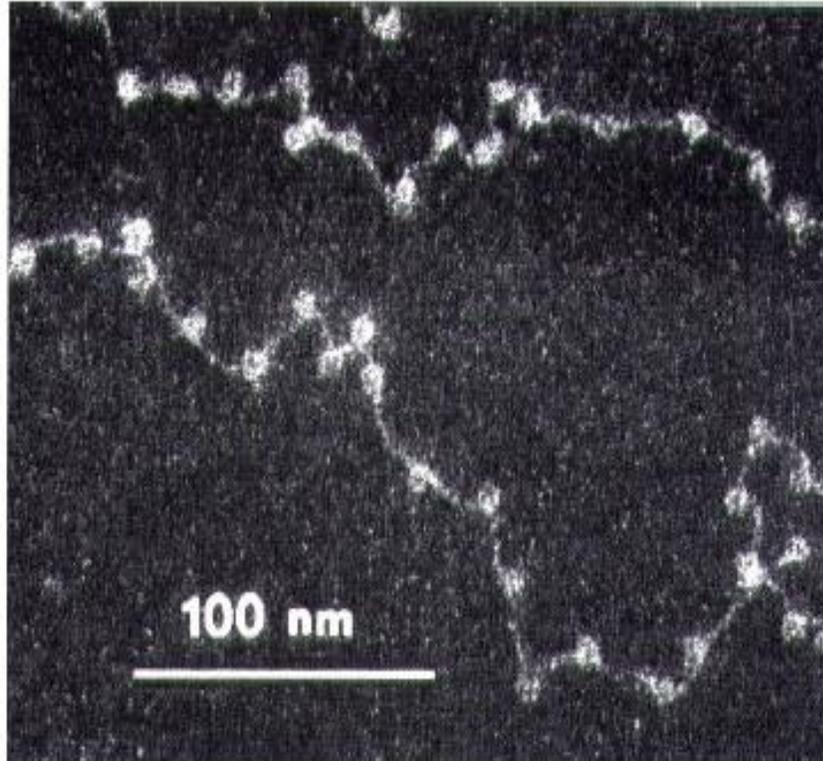
➤ La chromatine



Fibre « 30 nm » (A) et nucléosomes (B) visualisés en microscopie électronique

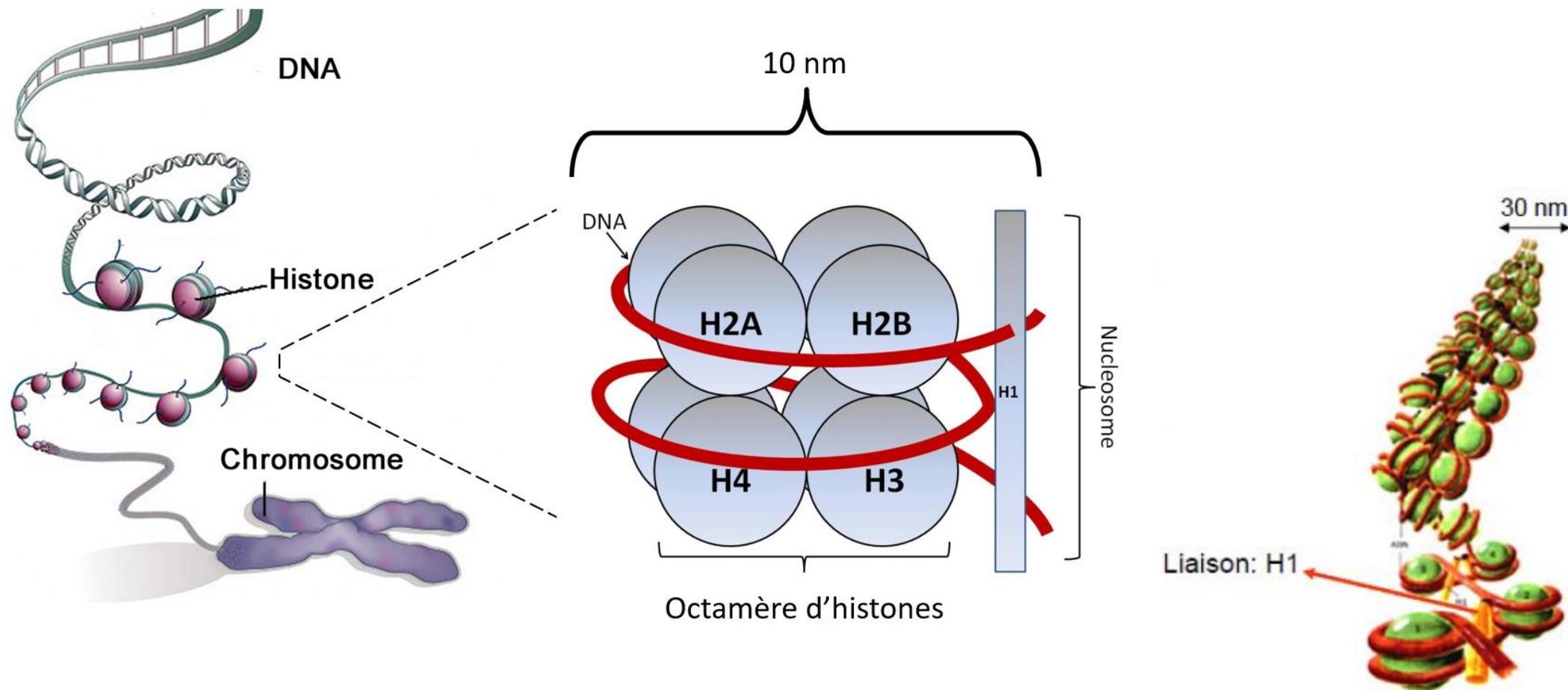
ADN ET CHROMATINE

Chromatine en microscopie électronique



- histones : protéines de petite taille (MM 11 à 22 kDa, 100 à 200 aa)
- protéines riches en acides aminés basiques (charge +): arg, lys, his
- séquence primaire en acides aminés conservée au cours de l'évolution

ADN ET CHROMATINE



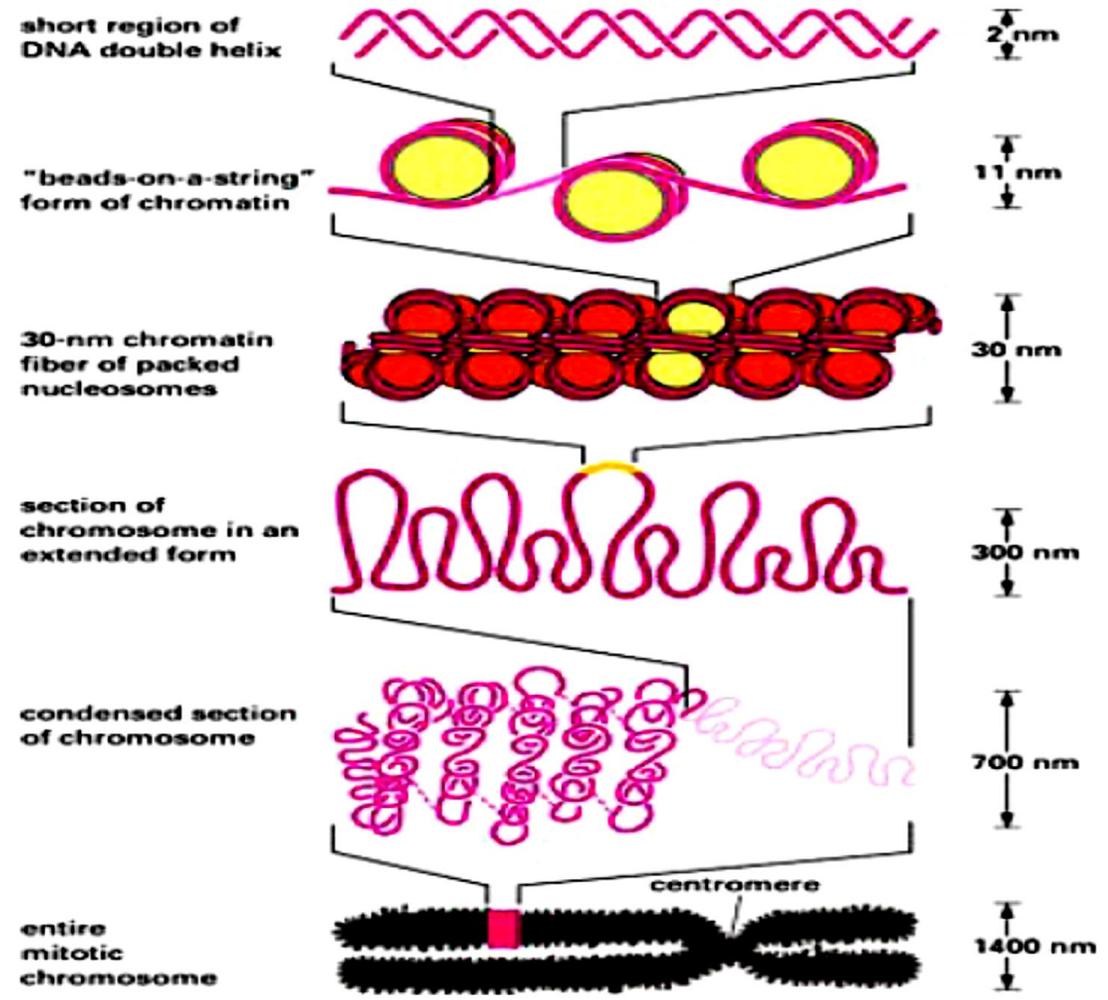
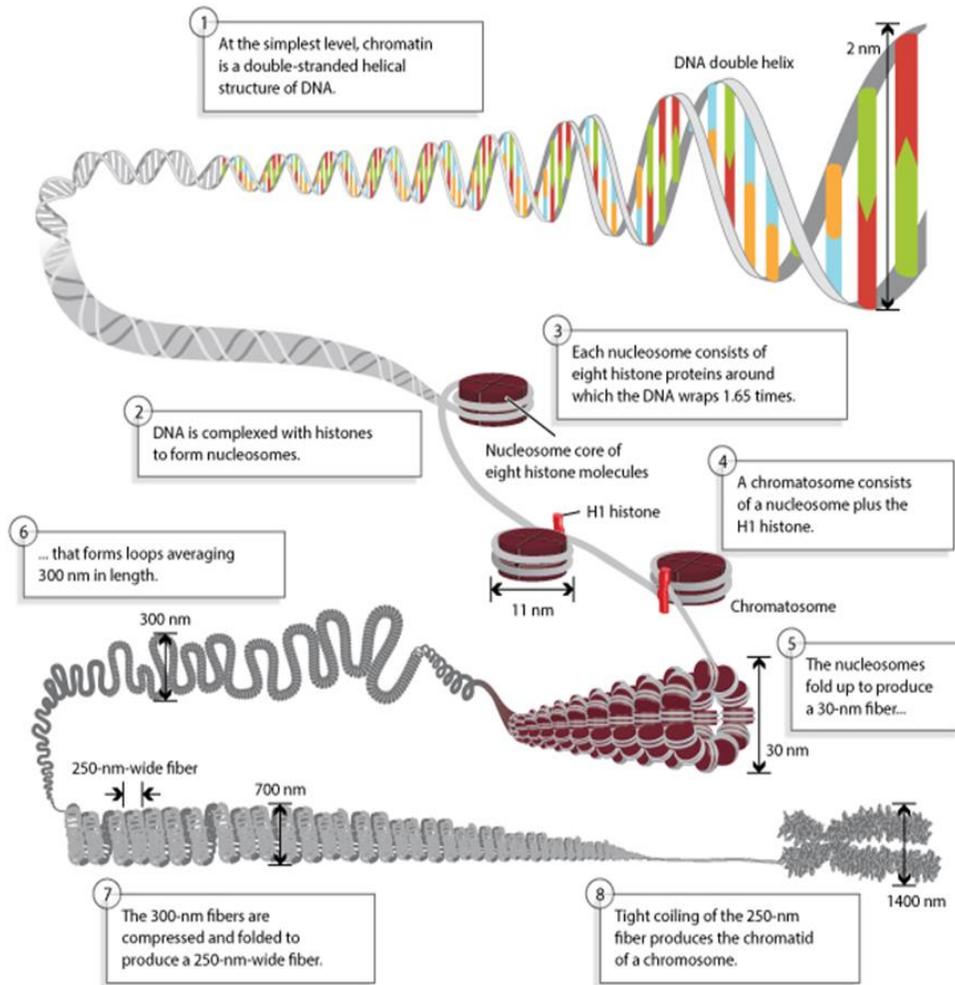
5 types d'histones (basiques) : H1, H2A, H2B, H3 et H4.

Lys, Arg, côté -NH₂

➔ compaction + surenroulement de l'ADN

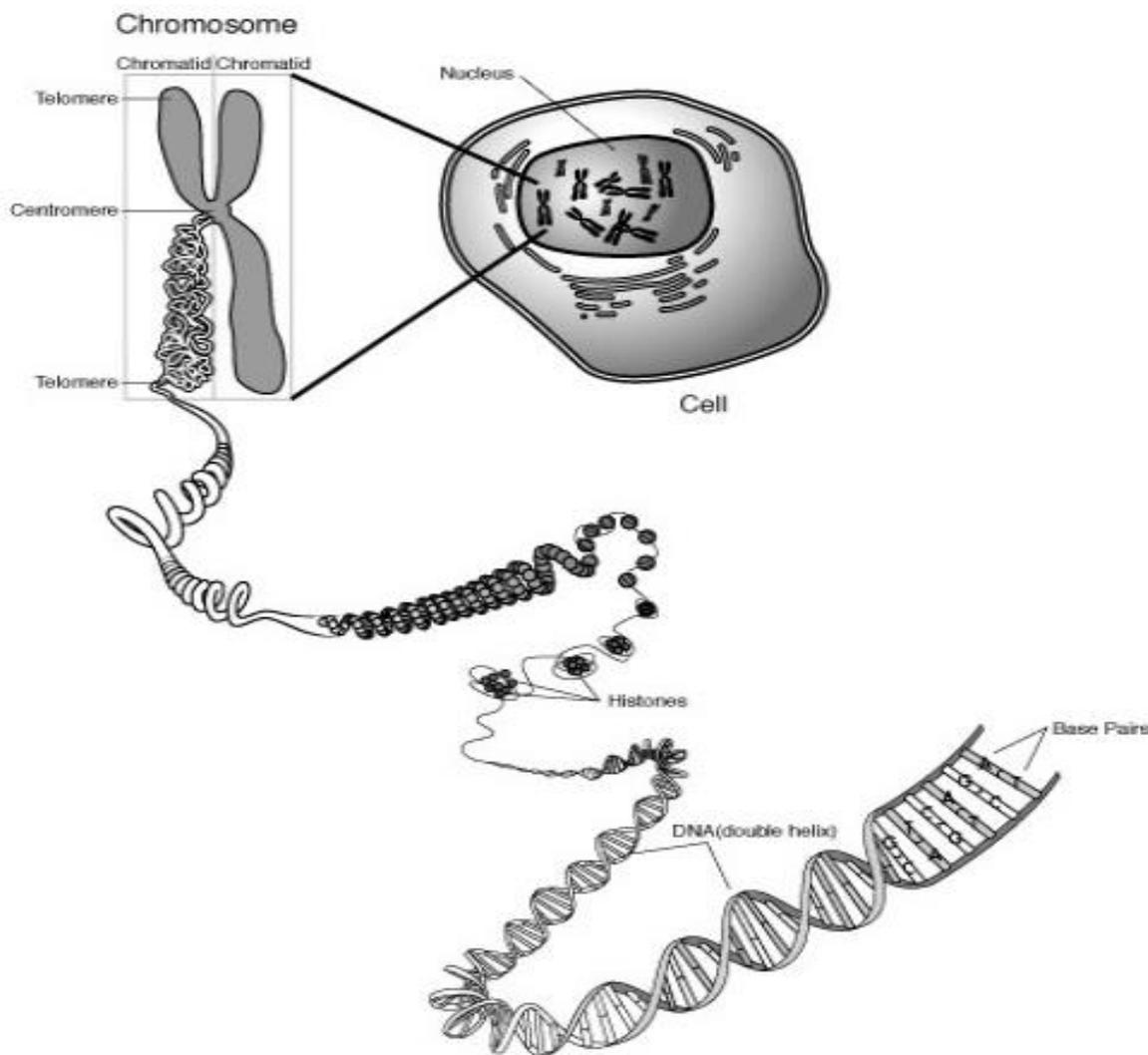
LES NIVEAUX DE COMPACTION DE L'ADN EUCARYOTE

Biochimie
structurale des
acides
nucléiques



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS APPROXIMATELY 700 TIMES SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

LES NIVEAUX DE COMPACTION DE L'ADN EUCARYOTE



Le chromosome dans son état le plus condensé n'existe que rarement. Il n'est observé qu'au cours de la métaphase de la mitose !!!

ADN ET CHROMOSOMES

Nombre normal de chromosomes dans différentes espèces	
Drosophile	8
Abeille	16
Maïs	20
Rat	42
Lapin	44
Homme	46
poulet	78

ADN ET CHROMOSOMES

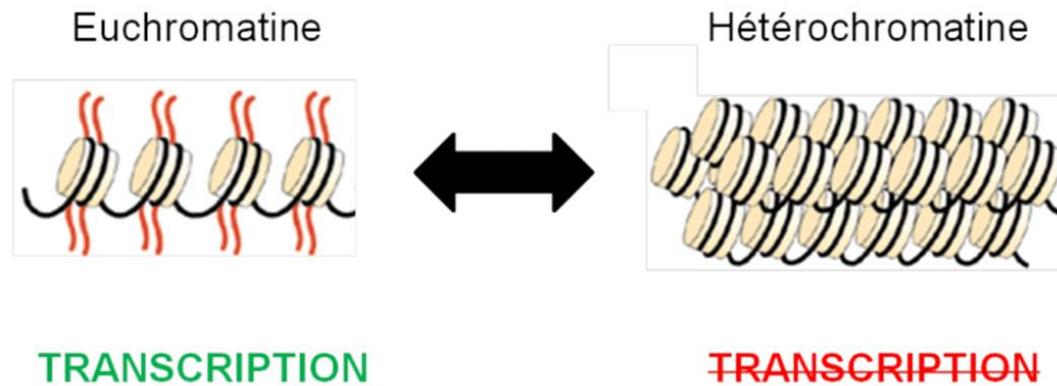
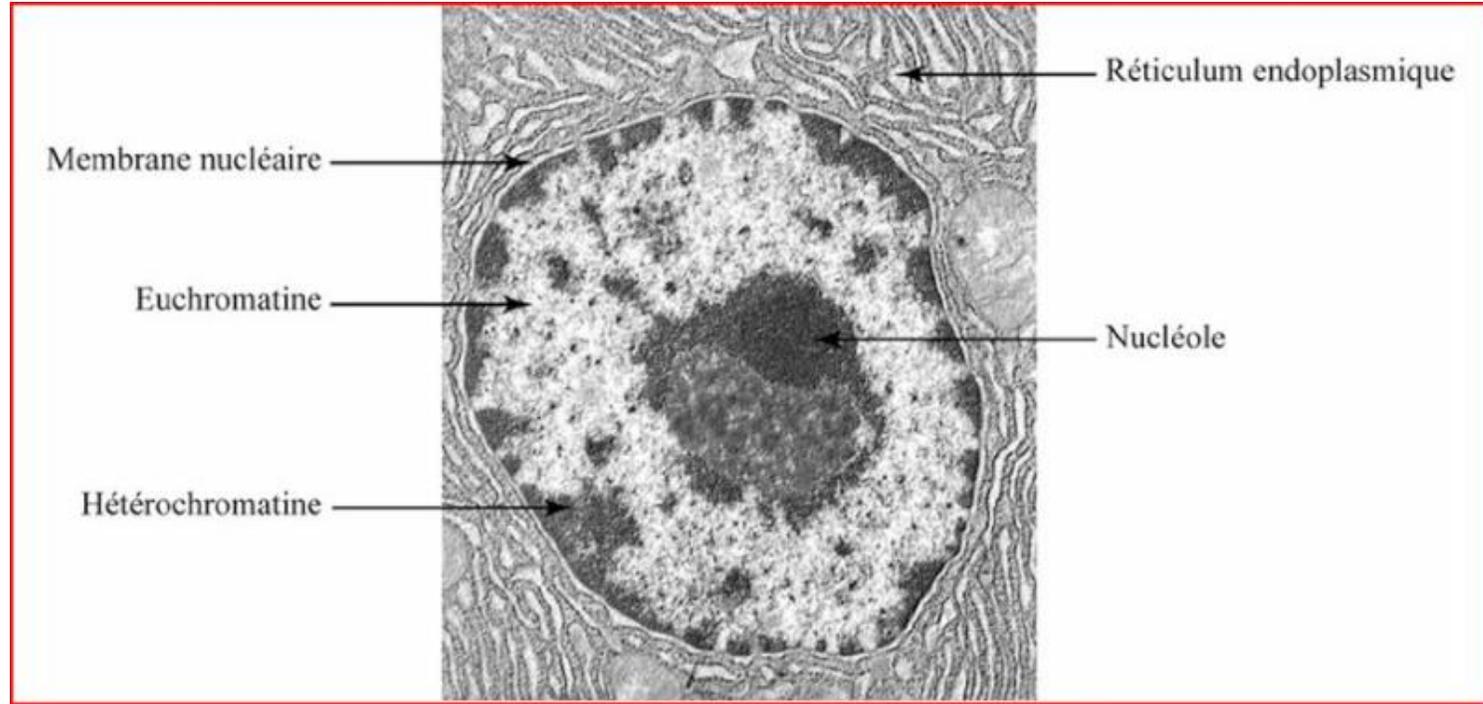
Taille (en kb= 10^3 pdb) et longueur théorique étirée de quelques génomes

Organisme	Nombre de paires de bases (kb) ^a	Longueur (μm)
Viruses		
Polyome, SV40	5,2	1,7
Bactériophage λ	48,6	17
Bacteriophages T2, T4, T6	166	55
Variole de la poule	280	193
Bactérie		
<i>Mycoplasma hominis</i>	760	260
<i>Escherichia coli</i>	4 600	1 600
Eucaryotes		
Levure (pour 17 chromosomes haploïdes)	12 000	4 100
Drosophile (pour 4 chromosomes haploïdes)	180 000	61 000
Homme (pour 23 chromosomes haploïdes)	3 000 000	1 000 000
Un Dipneuste (pour 19 chromosomes haploïdes)	102 000 000	35 000 000

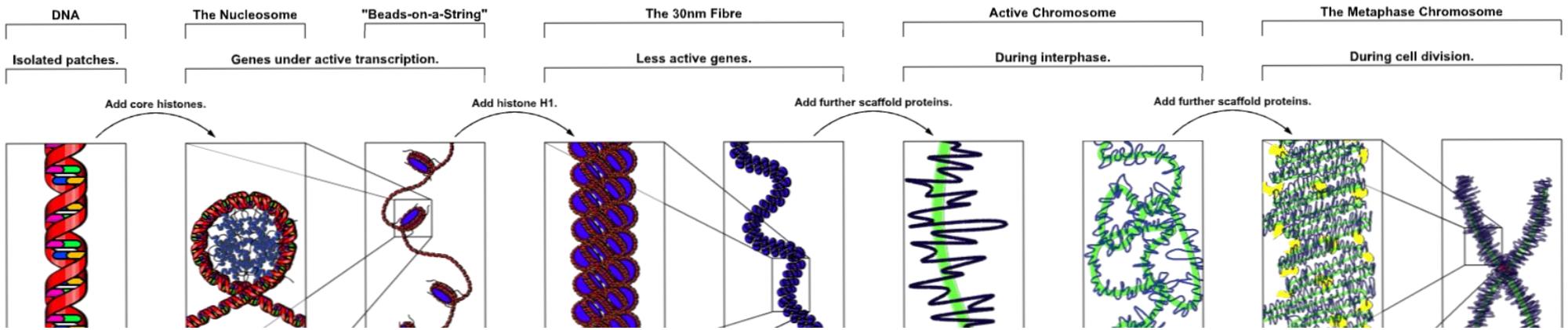
^akb = kilopaires de bases = 1 000 paires de bases (pb).

Source principale : Kornberg, A. and Baker, T.A., *DNA Replication* (2^e éd.), p. 20, Freeman (1992).

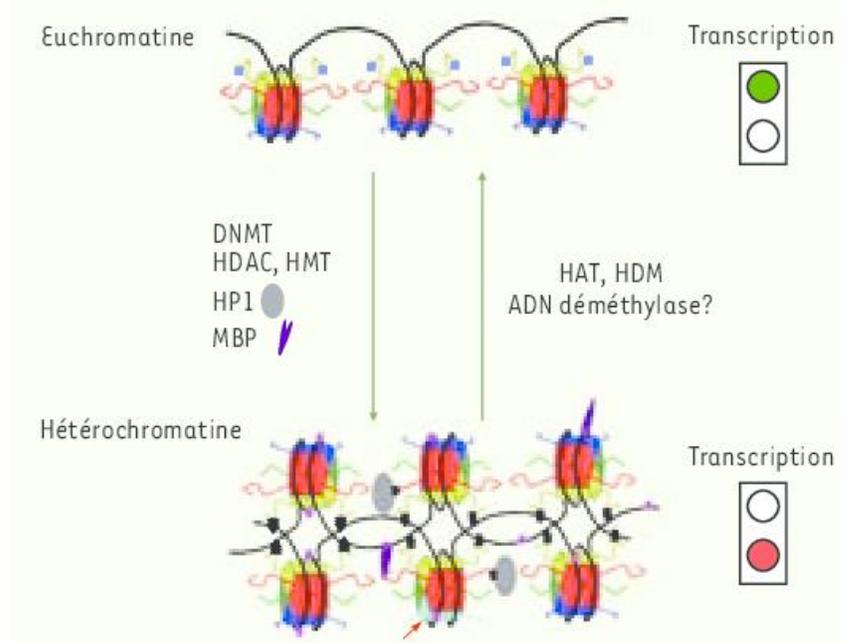
ETATS DE LA CHROMATINE NUCLEAIRE



ETATS DE LA CHROMATINE NUCLEAIRE



L'état de la chromatine est contrôlé par des modifications des histones : le « code histone »



STRUCTURE DES ARN

Les ARN : Acides RiboNucléiques

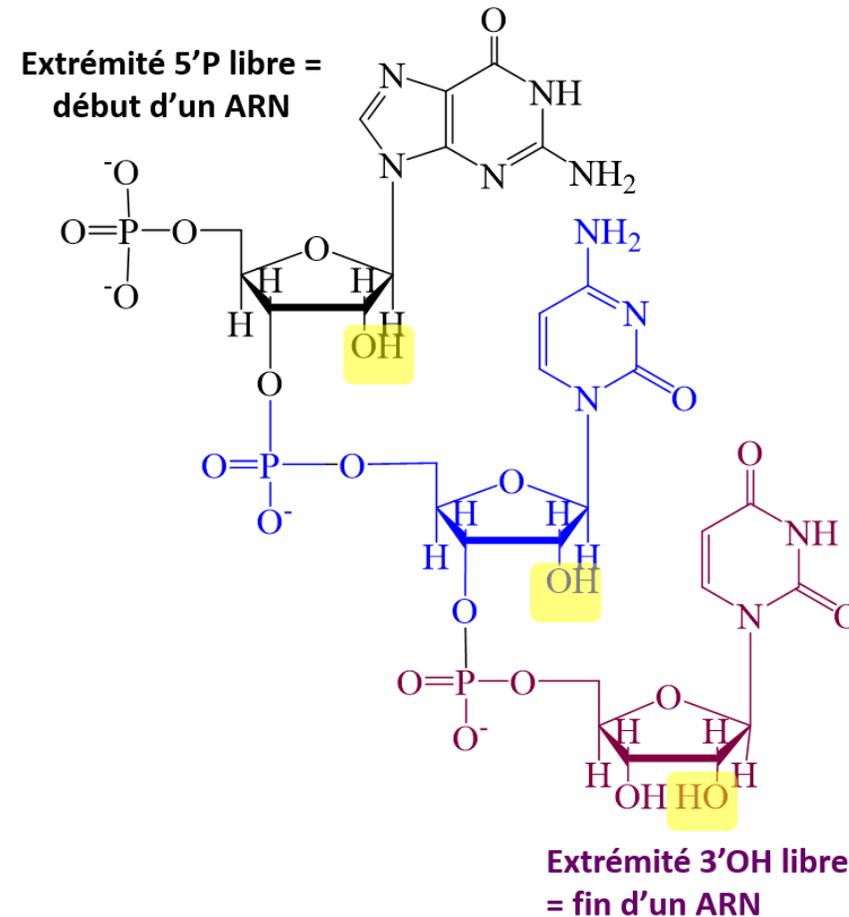
Polymère de ribonucléotides différant de l'ADN par :

- désoxyribose remplacé par du **ribose** en position 2'



Modification des
propriétés d'hydratation
et de solvatation

→ beaucoup **moins stable** que l'ADN
(sensible à l'hydrolyse alcaline)

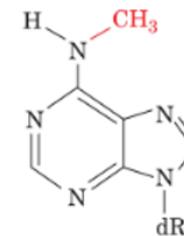


STRUCTURE DES ARN

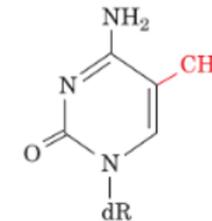
Bases azotées spécifiques de l'ARN

- T (Thymine) remplacé par **U : Uracile**
- Bases modifiées fréquentes (surtout ARN t)

Exemple : méthylation
sur le N₆ de l'Adénine
sur le C₅ de la Cytosine

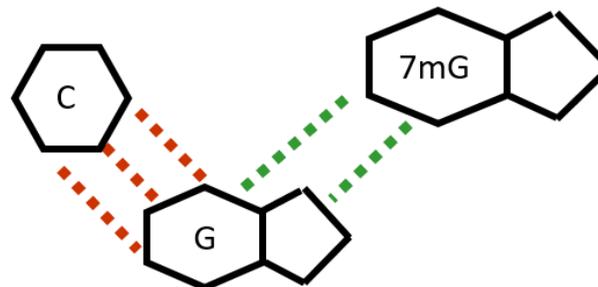


N⁶-Méthyl-dA



5-Méthyl-dC

→ des liaisons hydrogènes non classiques (autres que GC et AU) peuvent se créer



7mG = 7 méthylguanine

FORMATION DES ARN

- formé par **TRANSCRIPTION** de l'ADN par une enzyme : **ARN polymérase** (5'-----> 3')

Brins d'ADN

Sens → 5'- TGGAA**A**TTGTGAGCCAATT - 3'

Matrice → 3'- ACCT**T**AACACTCGGTTAA -5'

Transcrit d'ARN 5' - ppp**A**UUGUGAGCCAAUU -3'



triphosphate terminal en 5'
sur le nucléotide de départ

- Le brin d'ARN a une séquence **COMPLEMENTAIRE** du brin matrice du gène à partir duquel il a été transcrit
- Le brin d'ARN a la même séquence (U remplace T) et la même polarité que le brin d'ADN codant ou brin sens de l'ADN.

STRUCTURES SECONDAIRES DES ARN

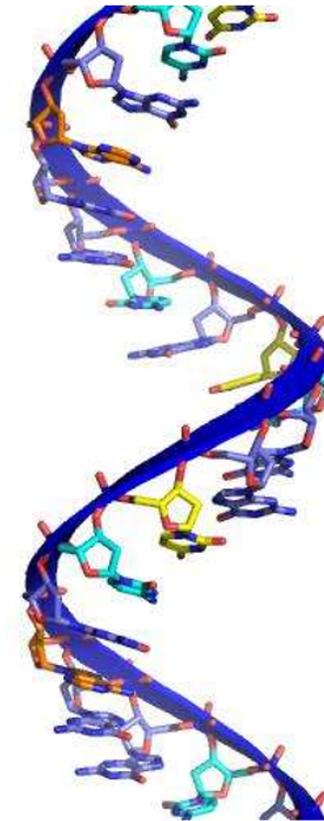
- ARN monocaténaire = 1 seul brin

ne forme pas de double hélice régulière,
mais possibilités de **structures secondaires ponctuelles**

- ARN très divers et polymorphes
correspondant à diverses activités biologiques

- Difficultés techniques d'étude
pas de cristallisation possible (sauf ARNt)

modèles de structures secondaires et tertiaires basés sur les différences phylogénétiques
entre différents ARN (= identification des nucléotides qui varient , ceux qui sont conservés...)



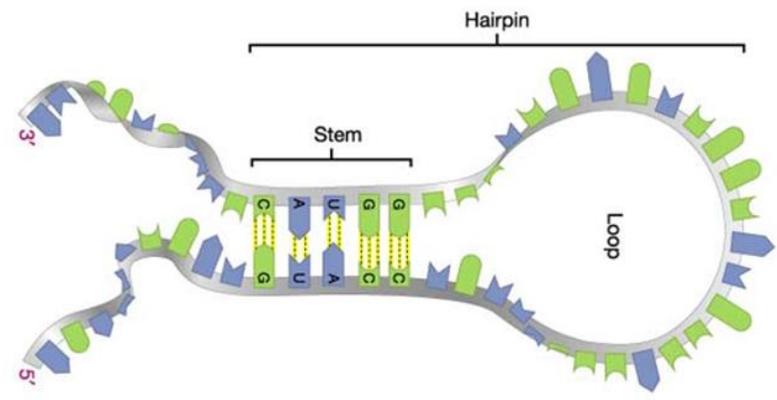
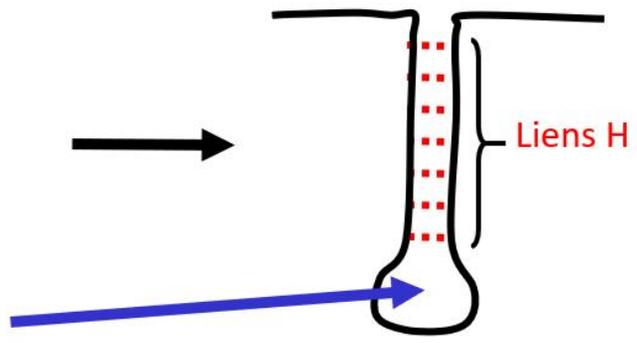
STRUCTURES SECONDAIRES DES ARN

- Motifs secondaires = enchaînement de régions appariées et non appariées

ex : épingle à cheveux : tige/boucle

---AGAAAAAAGAGCCGUUUUUUUUGCT---

*Site spécifique
d'interaction avec les protéines*

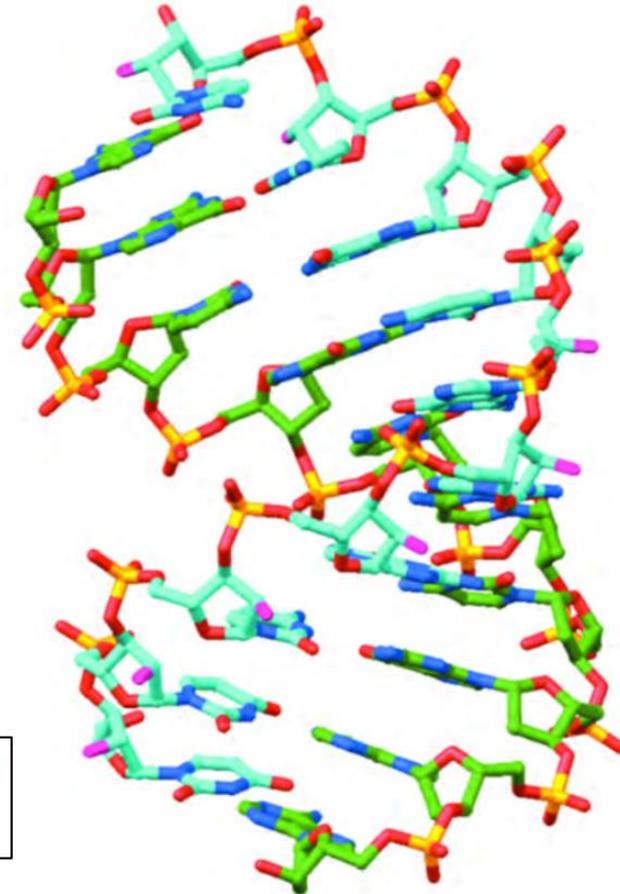


STRUCTURES SECONDAIRES DES ARN

- Possibilité de double hélice hybride ADN-ARN

- Structure existant lors de la transcription de l'ARN

ADN
ARN

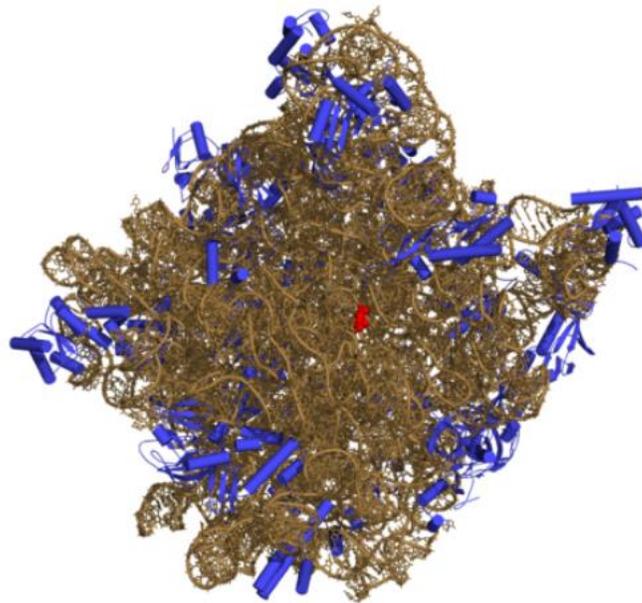


Structure par rayons X d'une hélice hybride d'ARN-ADN de 10 pb constituée d'un complexe entre d(GGCGCCCGAA) et r(UUCGGGCGCC). La structure est représentée sous forme éclatée, avec les atomes C de l'ARN en bleu clair et ceux de l'ADN en vert, les atomes N en bleu foncé, les atomes O en rouge à l'exception des O2' de l'ARN qui sont en rose, et les atomes P en jaune.

STRUCTURES TERTIAIRES DES ARN

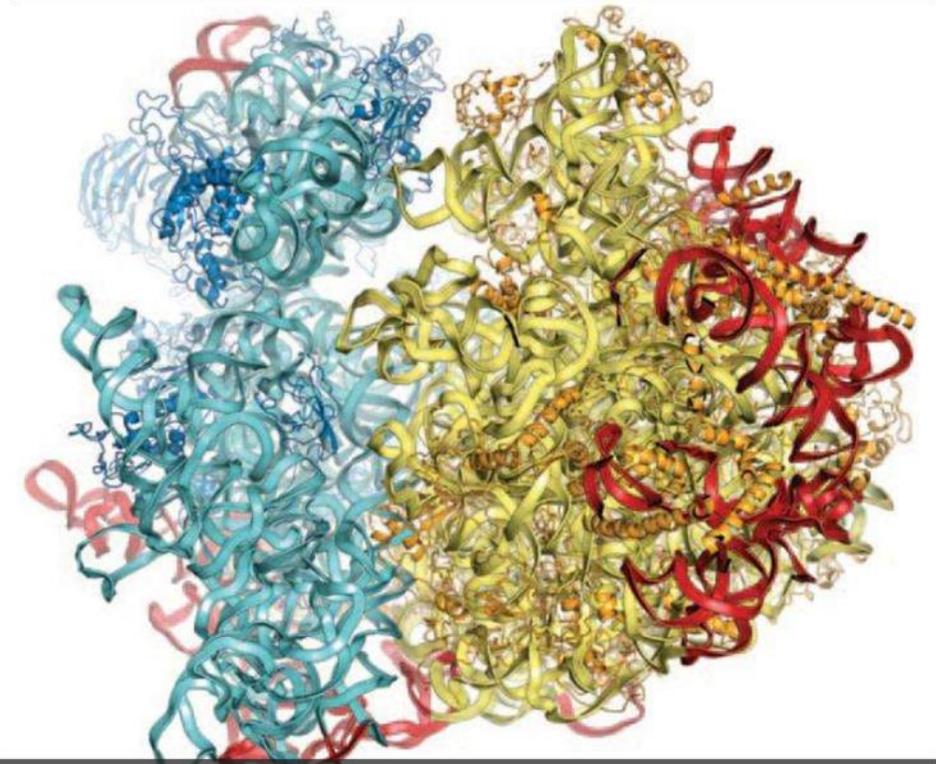
Structures tertiaires des ARN : interactions des structures secondaires

- Souvent en association avec une partie protéique ex : gros assemblages comme les ribosomes



Structure atomique de la grande sous-unité 50S des ribosomes de procaryotes.

Les protéines sont colorées en bleu et les ARN en orange. Le site actif, l'adénine 2486 est coloré en rouge



La structure du ribosome eucaryote a enfin pu être obtenue par diffraction aux rayons X, mais seulement avec une faible résolution. La sous-unité 40 S apparaît en bleu et la 60 S en jaune (les protéines sont plus foncées que les ARN). © M. Yusupov, *Science*

DIVERSITE DES ARN

- Plusieurs types d'ARN (différant par leurs **fonctions**) :

1. ARNr : ARN **ribosomique**

2. ARNt : ARN **transfert**

3. ARNm : ARN **messenger**

snARN = **petits** ARN **nucléaires**

ARN anti sens (ARN MIC)

Synthèse protéique

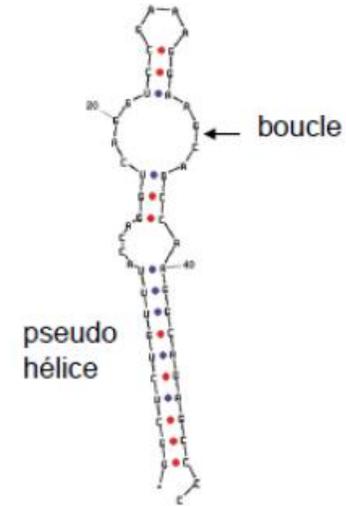
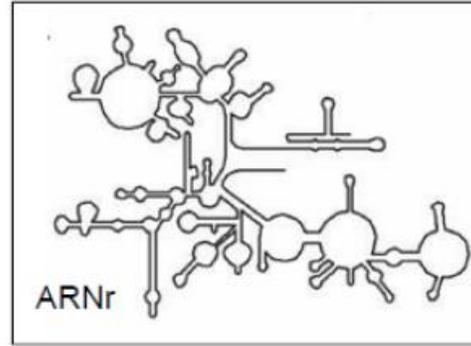
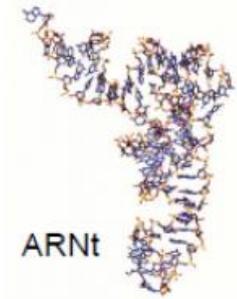
Régulation de l'expression des gènes

4. ribozyme **Activité enzymatique**

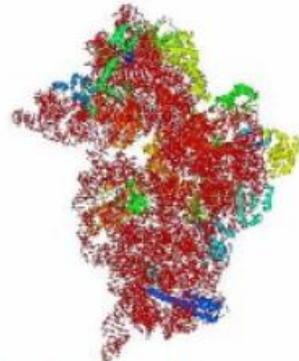
5. virus à ARN **Matériel génétique**

DIVERSITE DES ARN

➤ **ARNm, ARNt, ARNr, snRNA...**



➤ **Association avec des protéines : ribosomes, snRNPs**



ARNr 18s + protéines ribosomales



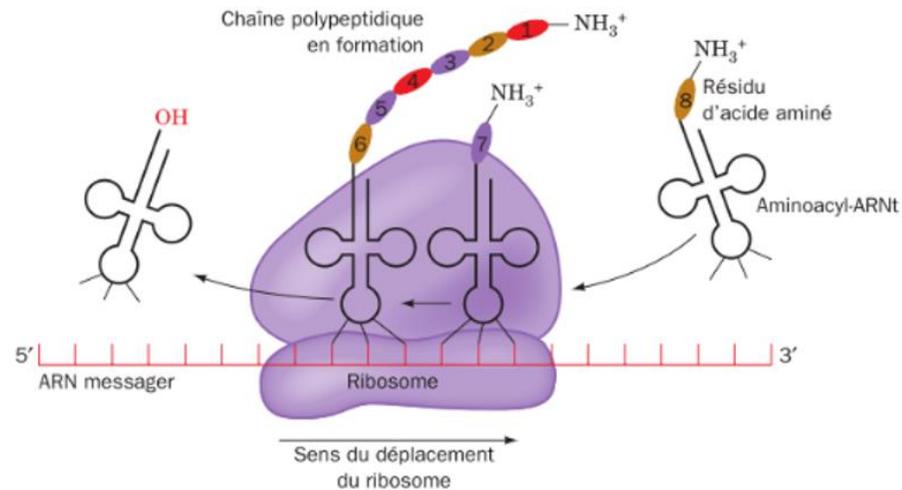
LES ARN RIBOSOMIAUX

ARN ribosomique: ARNr

(80 à 85 % de l'ARN cellulaire)

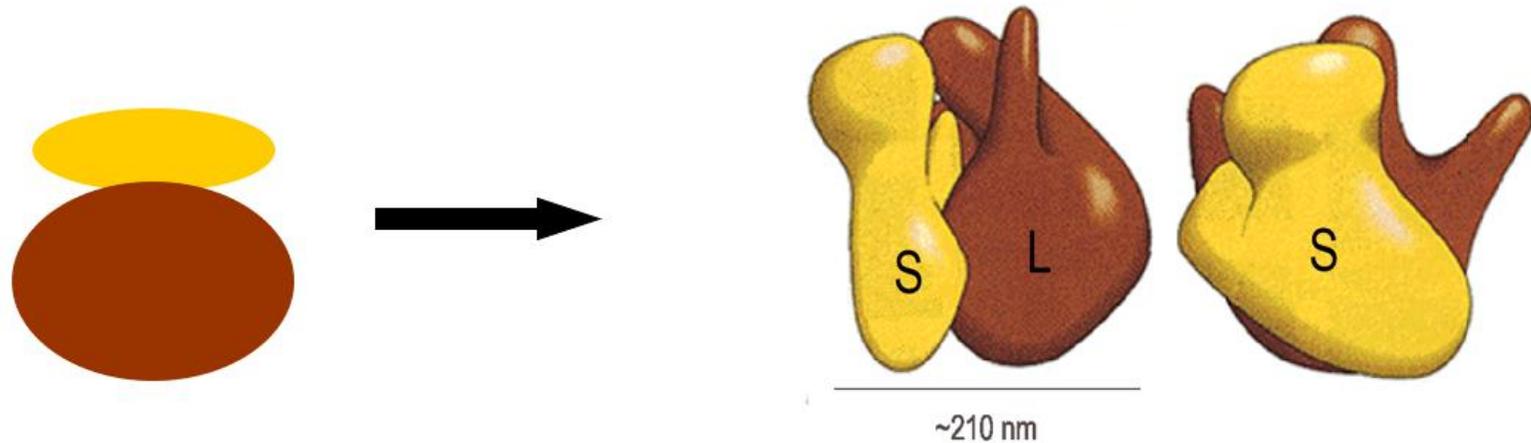
RIBOSOMES : particules nucléoprotéiques cytoplasmiques

- ~ 20 000 dans une cellule d'*E. coli*
- Ribosomes : **Usines à protéines** réalisant la **traduction** : lecture de l'information génétique (codons) portés par l'ARNm pour assembler les acides aminés dans les protéines



STRUCTURE DES RIBOSOMES

- 2 sous-unités : une petite et une grande (PM total : $2,5 \cdot 10^6$)



Petite (S) : “moufle”

Grande (L) : 3 protubérances

- différentes chez Procaryotes et Eucaryotes

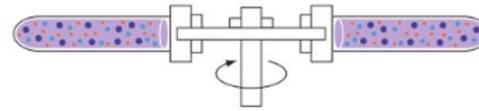
STRUCTURE DES RIBOSOMES

Mesure de la masse par le taux de sédimentation exprimée en SVEDBERG : S

Technique d'
ultracentrifugation
en gradient de
densité



1. Mélange homogène de l'échantillon et de la substance qui va former le gradient



2. Centrifugation



3. Le gradient s'est formé et les molécules sont rassemblées à leurs positions isopycniques

Gradient
de
Chlorure
de Césium
CsCl ou
saccharose

Figure 6-32 Ultracentrifugation isopycniq. Centrifugation d'un mélange homogène de macromolécules dans une solution d'un soluté dense diffusant rapidement, comme le CsCl (à gauche). À l'équilibre dans un champ de centrifugation, le soluté forme un

gradient de densité dans lequel les macromolécules migrent jusqu'à ce qu'elles trouvent une densité égale à leur propre densité de flottaison (à droite).

La vitesse de sédimentation dans le gradient de densité dépend de la **masse** de la molécule

Coefficient de sédimentation (vitesse par unité de force) en Svedberg : S

Valeurs de coefficient de sédimentation en S de quelques constituants biologiques

ARNt de levure	4 S	albumine	5 S
Sous-unités ribosomiques	Entre 40 et 60 S	mitochondrie	Entre 20 000 et 60 000 S

STRUCTURE DES RIBOSOMES

- différents chez Procaryotes et Eucaryotes

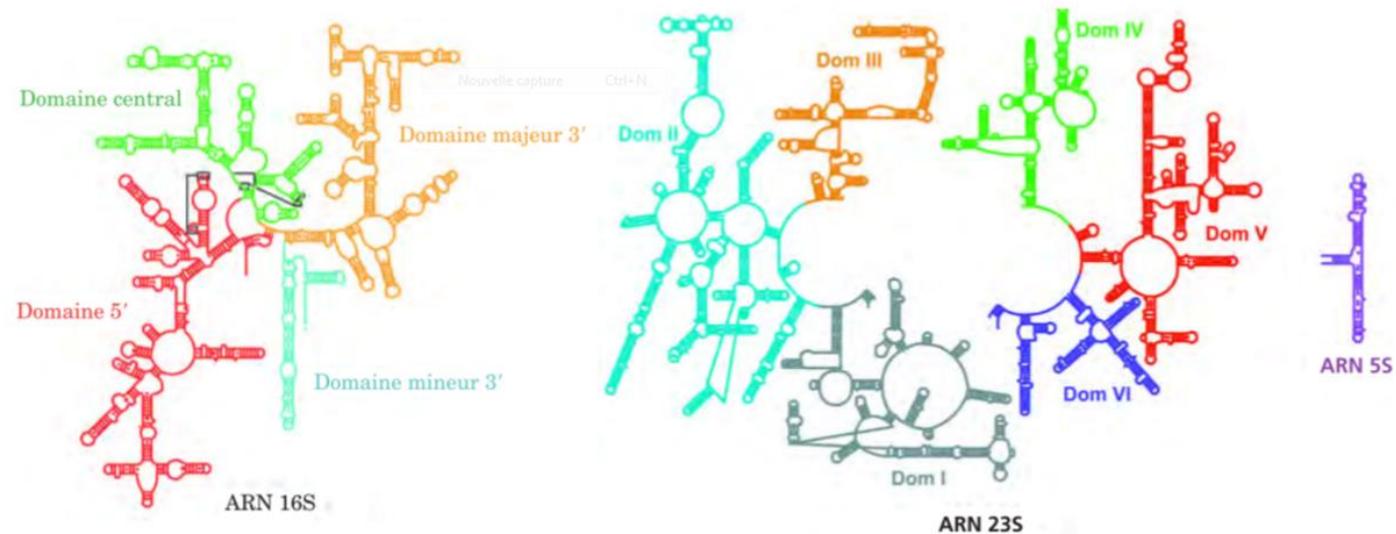
Masse en Svedberg	Procaryotes	Eucaryotes
ribosome	70 S	80 S
Petite sous unité	30 S	40 S
Grande sous unité	50 S	60 S

- Les ribosomes des Eucaryotes sont plus gros et plus complexes que les ribosomes des Procaryotes

STRUCTURE DES RIBOSOMES

- Structures secondaire et tertiaire des sous-unités ribosomiques **très complexes**
 - Plusieurs molécules d'ARN : 3 (Procaryotes) ou 4 (Eucaryotes supérieurs)

Procaryotes : 23 S, 5S (grande sous unité) et 16 S (petite sous unité)

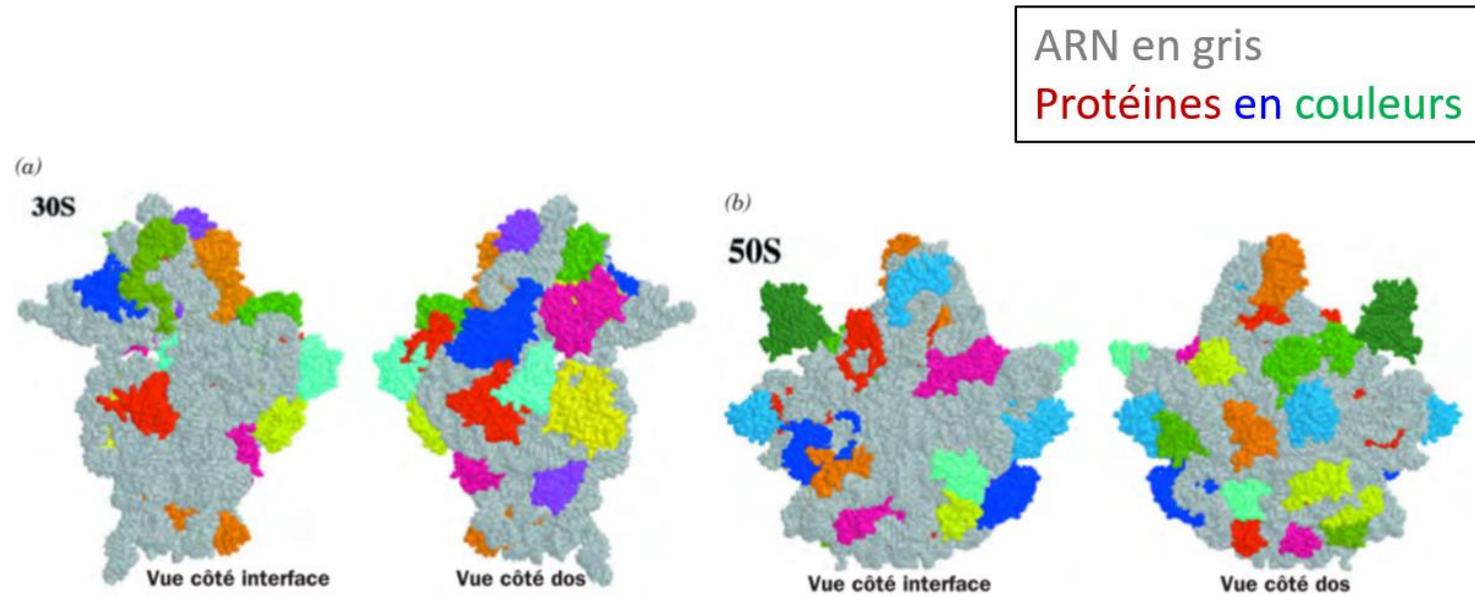


Structures secondaires des ARN ribosomiques d'*E. coli*. (a) ARN 16S et (b) ARN 23S et 5S. Les différents domaines des ARNr sont représentés par des couleurs propres, les petits traits à l'intérieur des tiges représentent les paires de bases Watson-Crick, les petits points, les paires de bases G · U, et les gros points, d'autres paires de bases non Watson-Crick. Notez la forme

en fleur des tiges et des boucles formant chaque domaine [Avec

STRUCTURE DES RIBOSOMES

- Des dizaines de protéines différentes (52 pour les procaryotes ; 80 pour l'Homme)



Répartition des protéines et des ARN dans les sous-unités ribosomiques. (a) Sous-unité 30S de *T. thermophilus*. (b) Sous-unité 50S de *H. marismortui*. Les sous-unités sont représentées en modèle compact avec leurs ARN en gris et leurs protéines de différentes couleurs. Notez que le côté de l'interface de chaque sous-unité est quasi-libre de protéines, notamment

dans les régions d'interaction avec l'ARNm et les ARNt. [Partie a

- Auto-assemblage de l'ensemble des constituants.

STRUCTURE DES RIBOSOMES

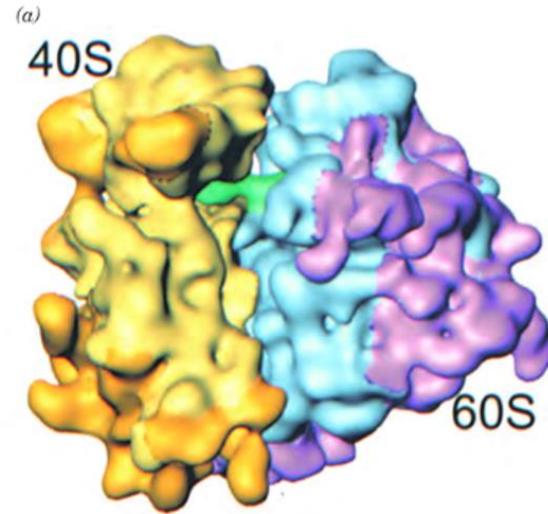
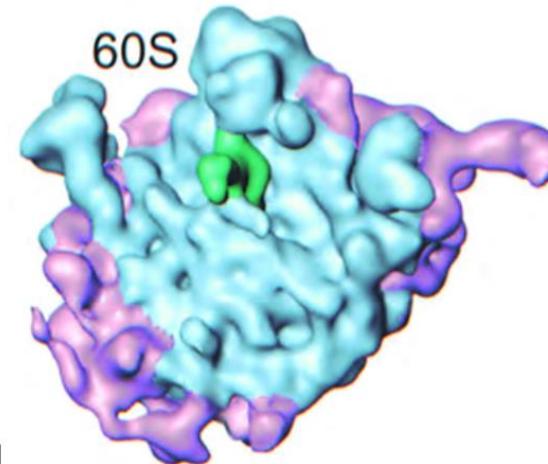
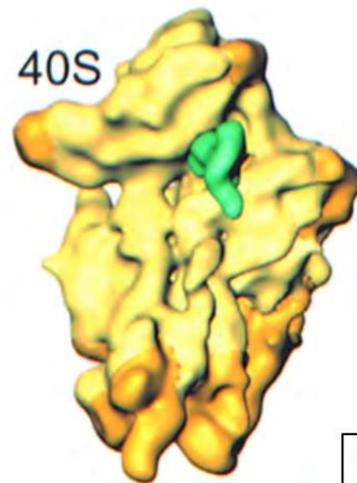


Image du ribosome 80S de levure à une résolution de 15 Å d'après des études de Cryo-ME. (a) Le ribosome est vu de côté comme le ribosome d'*E. coli* dans la Fig. 32-30. La petite sous-unité (40S) est en jaune, la grande (60S), en bleu, l'ARNt fixé au site P est en vert. Les portions de ce ribosome qui ne sont pas homologues d'ARN ou de protéines du ribosome d'*E. coli* sont en doré pour la petite sous-unité et en rose pour la grande sous-unité.



Petite sous-unité
Grande sous unité
Point de fixation de l'ARNt en vert

STRUCTURE DES RIBOSOMES

Structure comparée des ribosomes eucaryotes et procaryotes

Masse en Svedberg	Procaryotes	Eucaryotes
ribosome	70 S	80 S
Petite sous unité	30 S	40 S
Grande sous unité	50 S	60 S

ARN	Procaryotes	Eucaryotes
Petite sous unité	16 S = 1542 nucléotides	18S = 1874 nucléotides
Grande sous unité	23 S , 5 S	28 S, 5.8 S, 5 S

Protéines (n de protéines différentes)	Procaryotes	Eucaryotes*
Petite sous unité	21	33
Grande sous unité	31	49

* Variable selon les organismes

LES ARN DE TRANSFERT

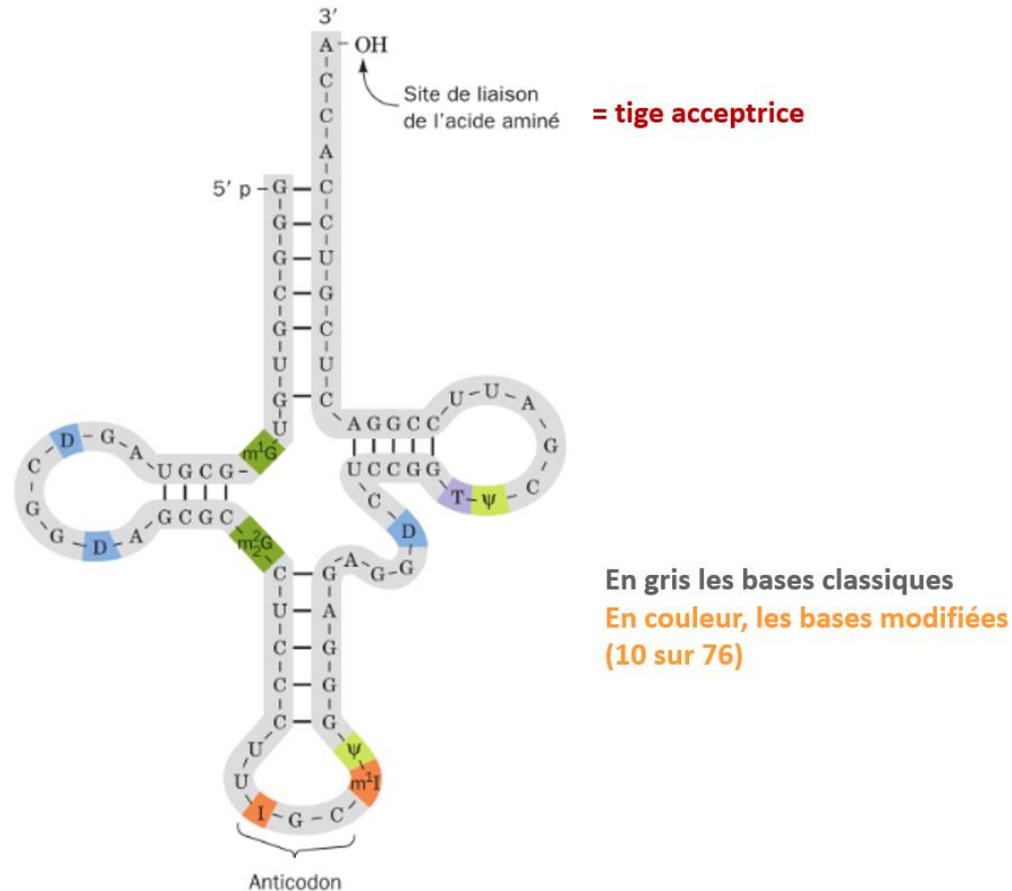
ARN transfert

(15 % de l'ARN cellulaire)

ARNt

- petite taille : 54 à 100 nucléotides (environ 4S) selon les organismes
 - ~ 60 ARNt différents
 - reconnaissance et activation des acides aminés → biosynthèse des protéines
 - contient souvent des bases modifiées
 - bases méthylées
 - dihydro-uracile
 - pseudo-uridine
- environ 25 % des bases sont modifiées

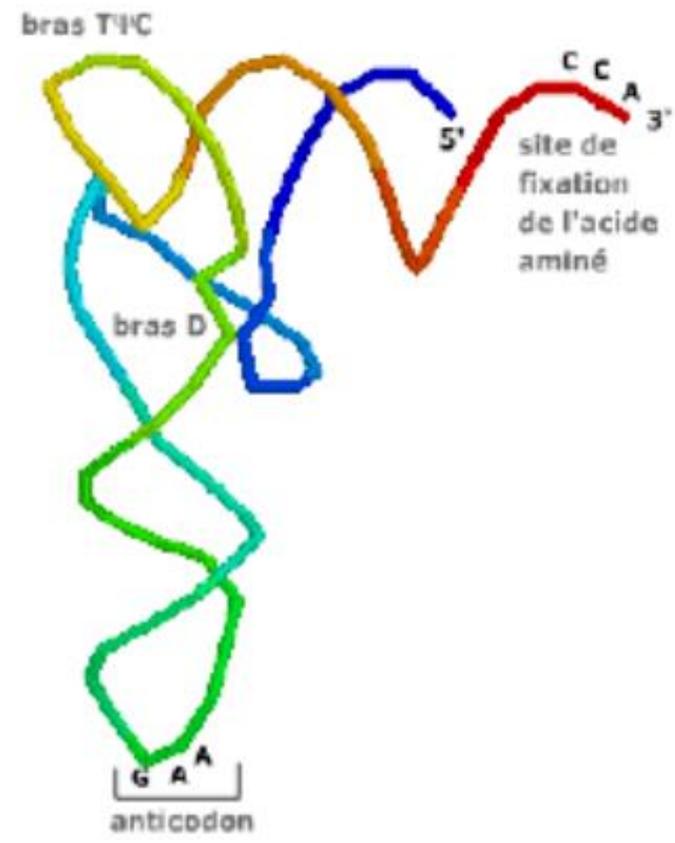
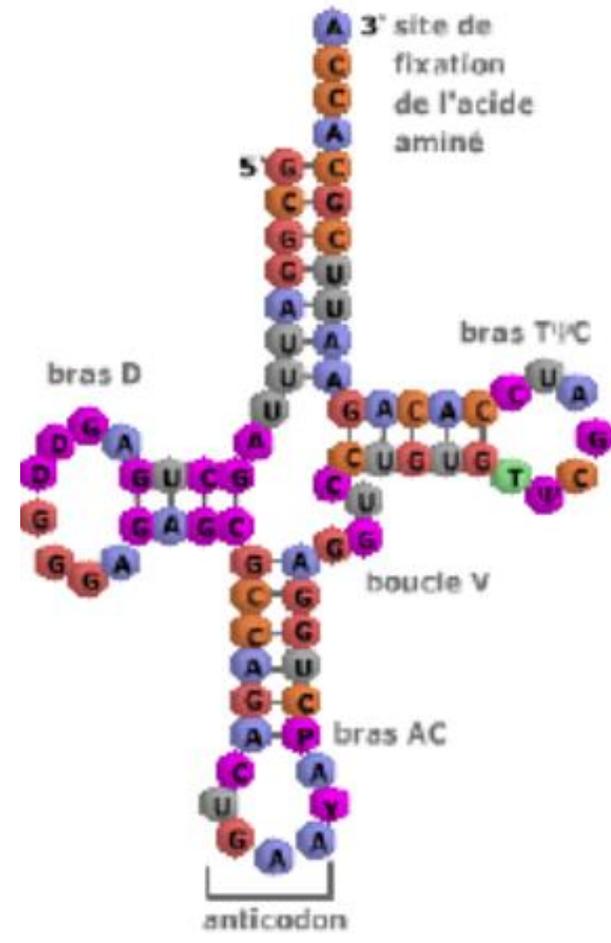
LES ARN DE TRANSFERT



ARNt Ala de levure (1965)

Structure secondaire en **“feuille de trèfle”**
4 bras principaux

STRUCTURES SECONDAIRES DES ARNt

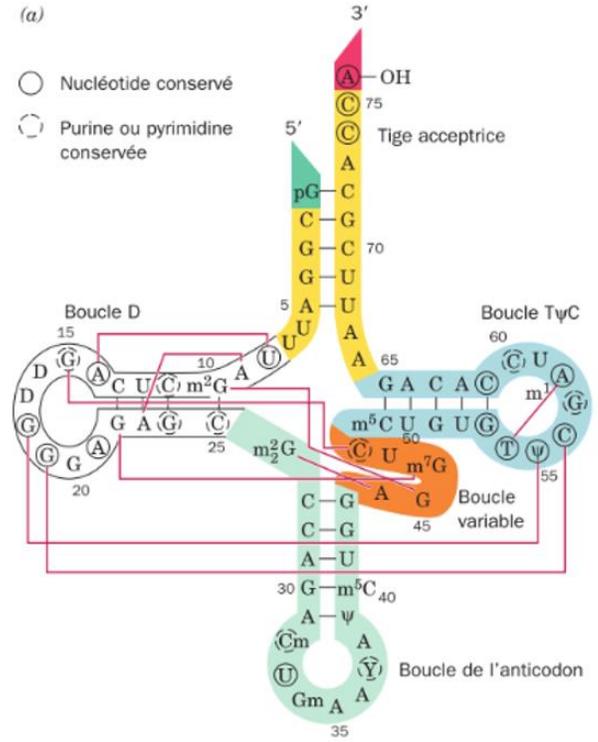


STRUCTURE TERTIAIRE DES ARNt

Structure secondaire



structure tertiaire



Structure tertiaire tridimensionnelle
en forme de L
Cristallographie aux rayons X (1974)

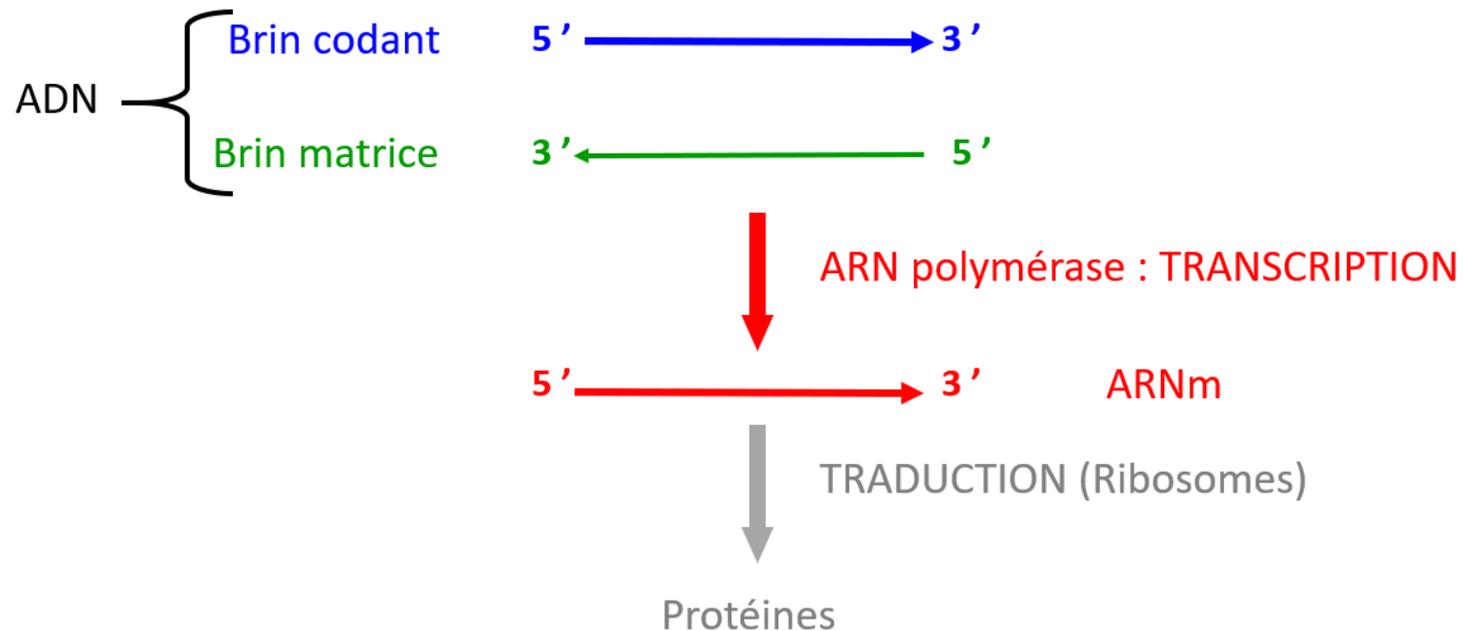
Structure de l'ARNt^{Phe} de levure. (a) La séquence de bases représentée en feuille de trèfle. Les interactions tertiaires sont représentées par des traits fins rouges qui relient les bases participantes. Les bases conservées ou semi-conservées dans tous les ARNt sont encadrées respectivement par des traits pleins et en pointillés. L'extrémité 5' est en vert foncé, la tige acceptrice est jaune, le bras D est en blanc, le bras de l'anticodon est vert pâle, le bras variable est orange, la boucle TψC est bleu-vert et

l'extrémité 3' est rouge. (b) La structure par rayons X dessinée pour montrer comment les tiges appariées sont disposées pour donner une molécule en forme de L. L'ARNt est en modèle en bâtonnets avec les atomes C colorés comme dans la Partie a, N en bleu et O en rouge. Les atomes P contigus sont reliés par des barres colorées comme dans la Partie a. [D'après une structure

LES ARN MESSAGERS

ARN messenger (2 à 5 % de l'ARN cellulaire)

- ARN messenger : produit de la TRANSCRIPTION de l'ADN
= porte l'**information génétique** de l'ADN aux protéines



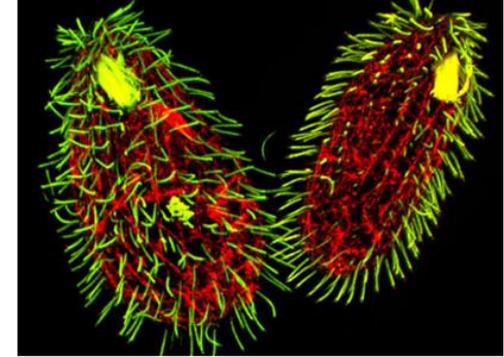
LES ARN MESSAGERS

- taille : dépend de la taille du gène
composé chez les Eucaryotes de parties codante : **exons**
+ parties non codantes : **introns**
- très **instable**
 - durée de vie = 2 min chez les Procaryotes
= 60 min chez les Eucaryotes
- maturation ou **modification post-transcriptionnelle**
 - peu importante chez les Procaryotes
 - **essentielle** chez les Eucaryotes car l'ARNm doit sortir du noyau
→ cytoplasme (cible des exonucléases ?)
 - **coiffe** en 5' : **CAP** (methyl guanosine triP)
 - **poly A** (--> 250) à l'extrémité 3'
 - **épissage** des introns : suppression des parties non codantes.

LES RIBOZYMES

Ribozyme = ARN à activité catalytique

travaux de Cech (1983, prix Nobel 1989) sur un Protozoaire
(eucaryote inférieur) : *Tetrahymena thermophila*



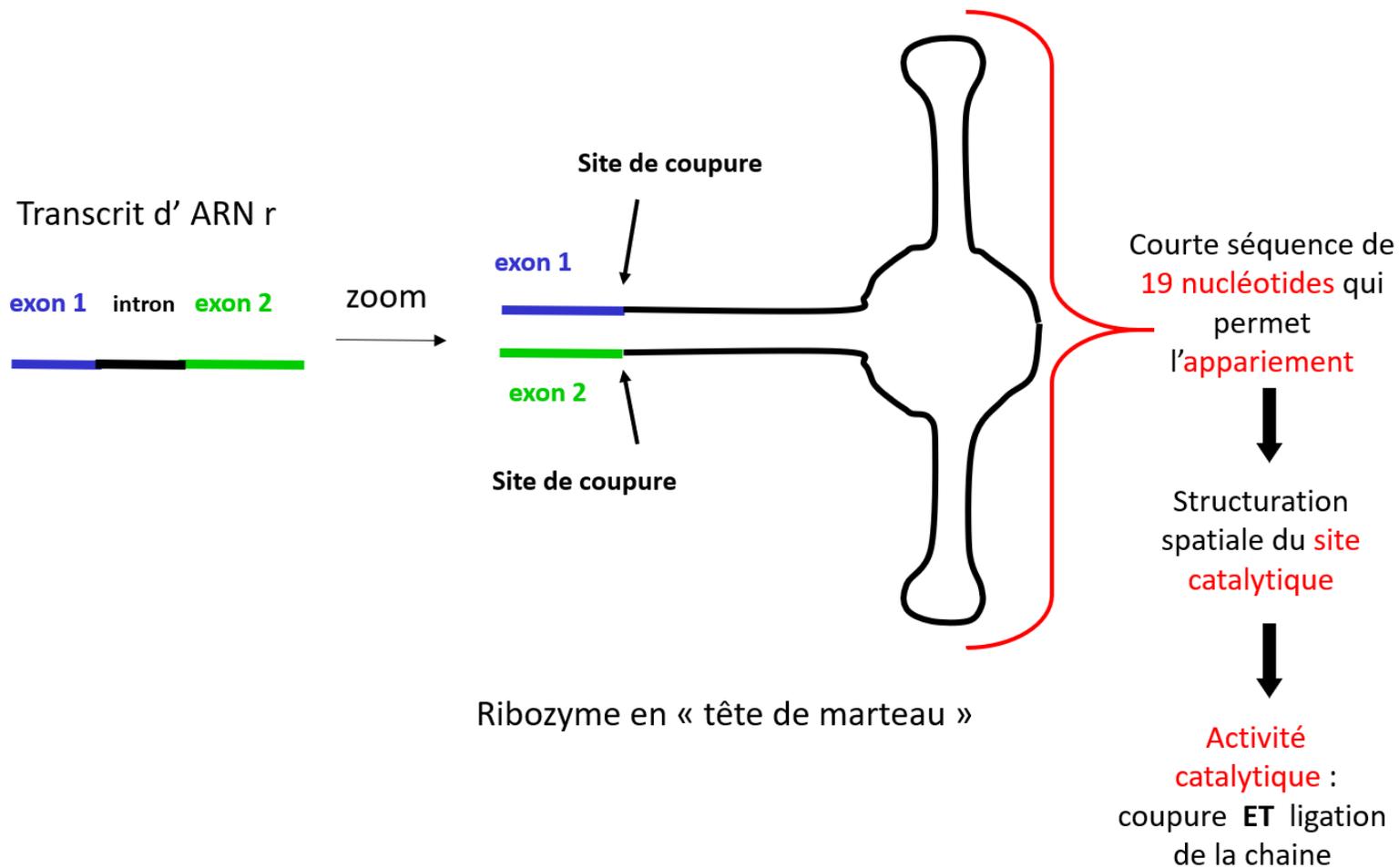
Question : comment se fait l'épissage (= suppression des introns) des ARNr ?



Observation : maturation lente de l'ARN 26 S *in vitro* et en *l'absence totale* de toute protéine

- **Hypothèse** : activité catalytique
- portée par l' ARNr
 - et s'exerçant sur lui-même

LES RIBOZYMES



*Différence avec de
"vraies" enzymes*

- 1 - réactions sur les acides nucléiques
- 2 - la réaction n'a lieu qu'une fois
- 3- la réaction a lieu sur le ribozyme lui-même (action en "cis")

LES RIBOZYMES

- Ribozyme du groupe I

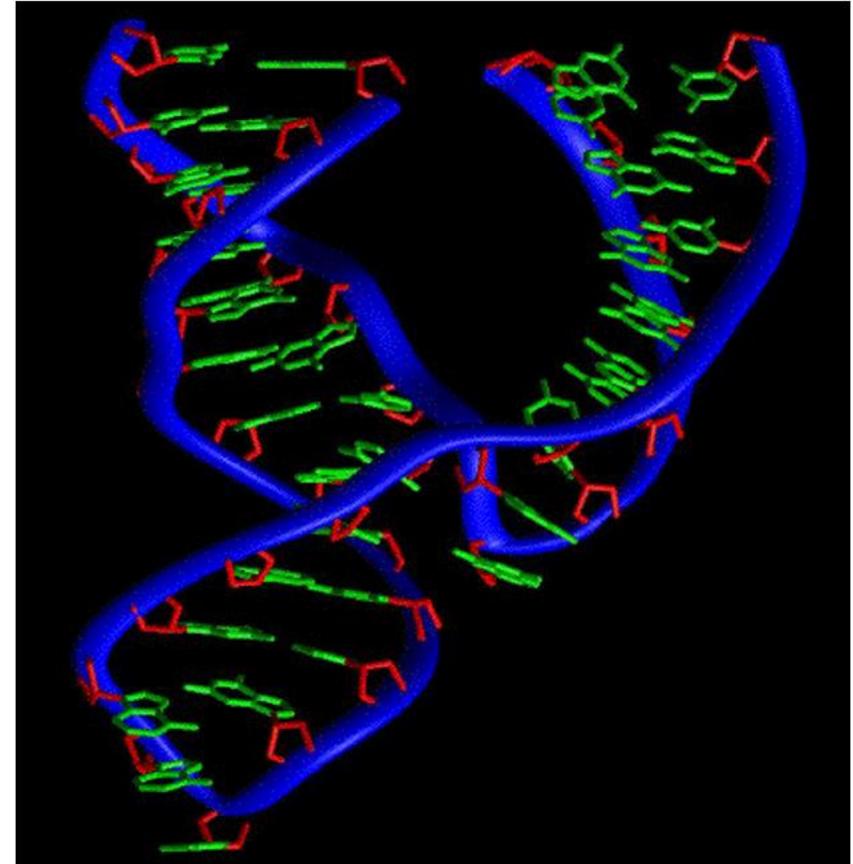
ARNr chez *Tetrahymena* (protozoaire) pour la 1^{ère} fois (Cech, 1981)

- Ribozyme du groupe II

Champignons ;
mitochondries et
chloroplastes de plantes

- Ribozymes des viroïdes végétaux

→ Structure tertiaire en tête de marteau “hammerhead”

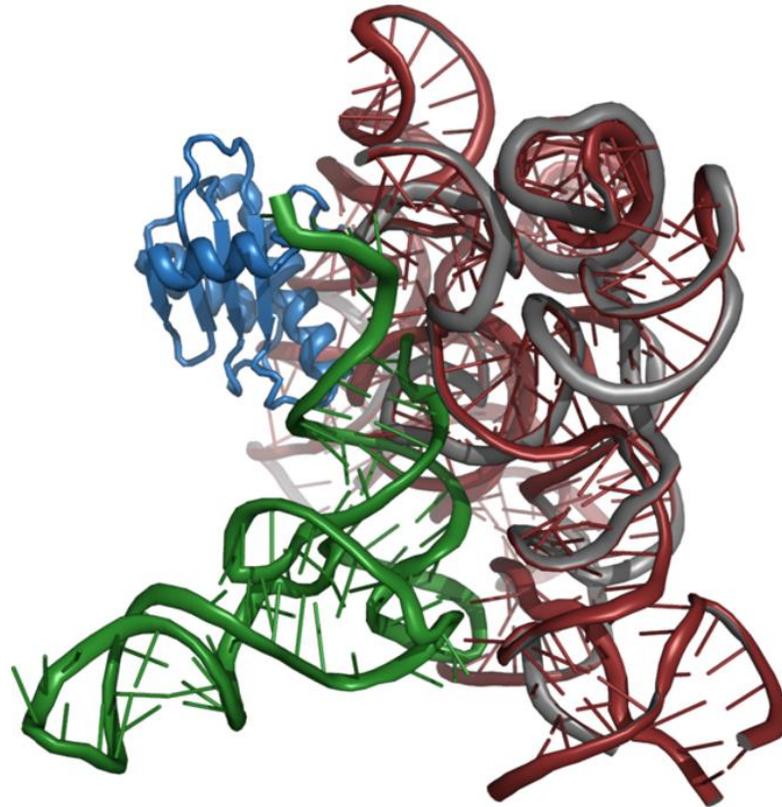


Structure du ribozyme « en tête de marteau »
présent dans le génome d'un viroïde infectant
le plant d'avocat.

LES RIBOZYMES

- La riboprotéine : RNase P est un ribozyme

RNaseP présente dans toutes les cellules vivantes car indispensable à la maturation des pré-ARNt en ARNt



Activité enzymatique de l'ARN sur une autre molécule : coupure du pré-ARNt pour donner ARNt : action en "trans"

Protéine en bleu
ARN en rouge, vert et gris

Structure de la RNase P

LES VIRUS A ARN

- Certains virus possèdent comme matériel génétique de l'ARN simple brin (double brin)

Ex : polyomélite, rougeole, Ebola, hépatite C, **grippe**...

- Génome de la grippe : 8 brins d'ARN simple brin (de 800 à 2341 b)

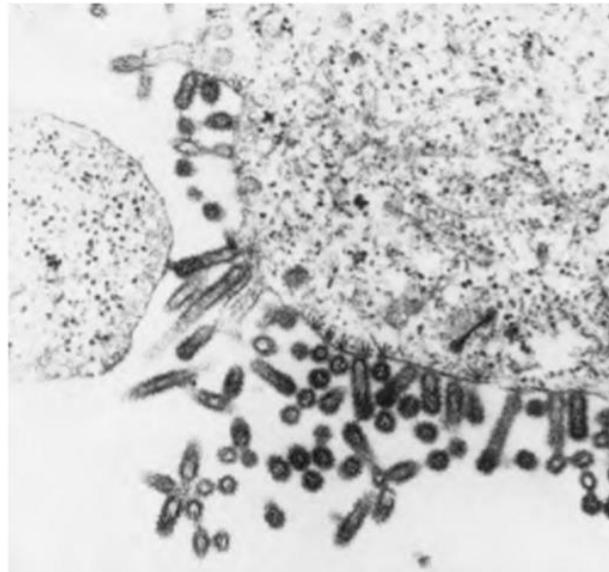


Figure 33-54 Micrographie électronique de virus de la grippe, bourgeonnant à partir de cellules infectées d'embryons de poulet.

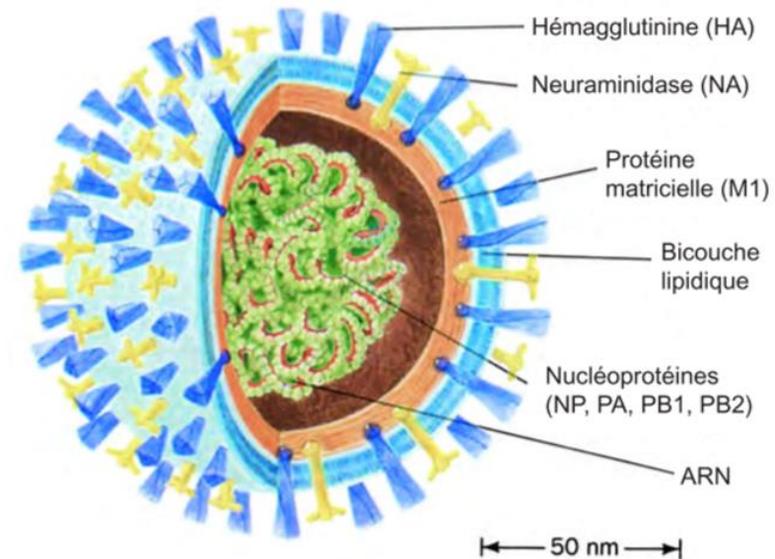


Figure 33-55 Diagramme en coupe d'un virion de la grippe. Les spicules HA et NA sont enfoncés dans une bicouche lipidique qui forme l'enveloppe extérieure du virus. La protéine matricielle M1 tapisse le côté intérieur de cette membrane. La cavité du virus contient les huit segments d'ARN simple brin que comprend le génome viral, complexés avec les protéines NP, PA, PB1 et PB2, formant des structures hélicoïdales appelées nucléocapsides.

HYPOTHESES SUR LES ORIGINES DE LA VIE

Origine de la vie ? = Quelles ont été les premières macromolécules ?

PROTÉINES ?

ADN ?

ARN ?

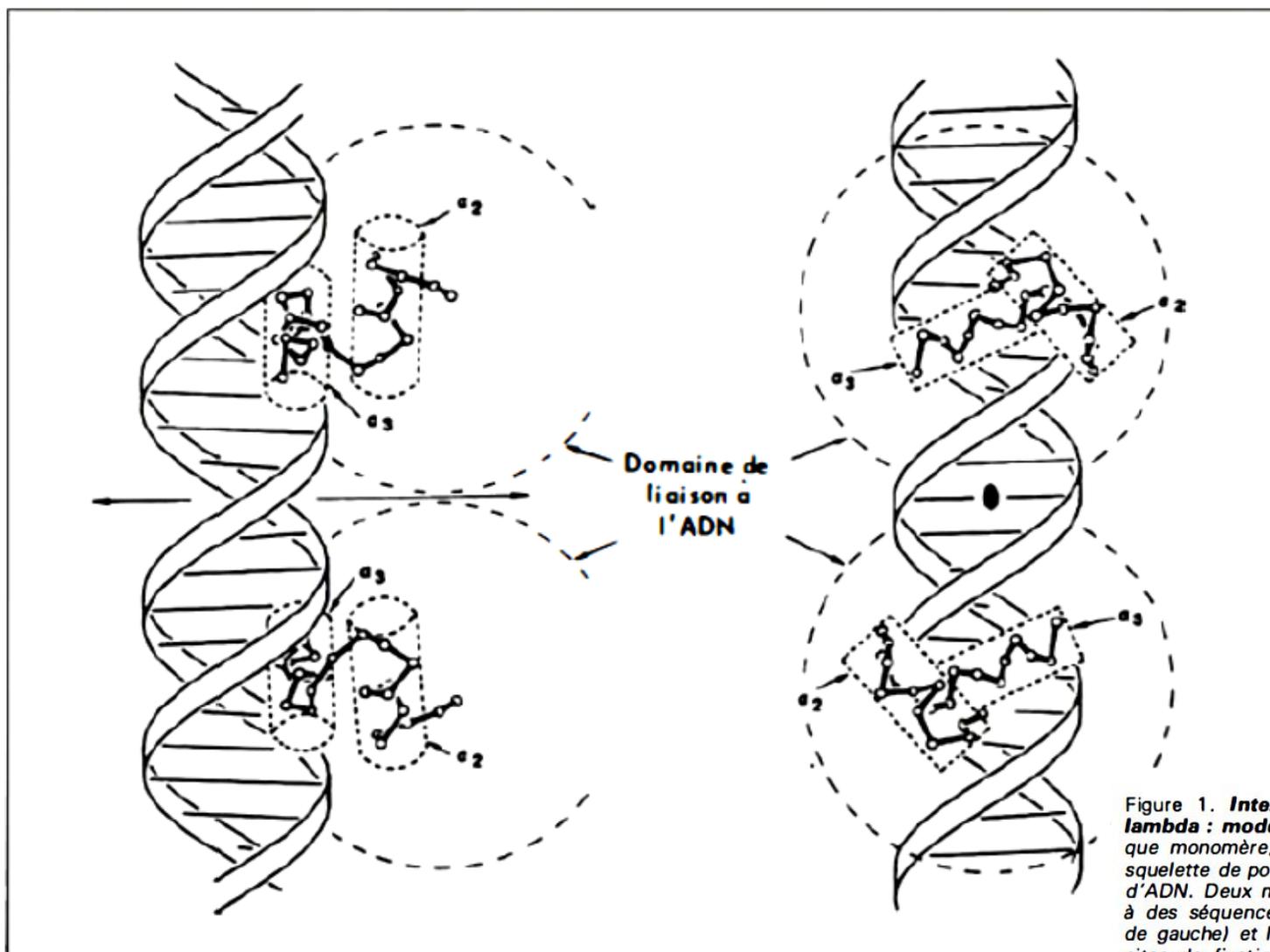
Hypothèse d'un monde « à ARN »

- Les acides nucléiques peuvent diriger leur propre synthèse (ce qui n'est pas le cas pour les protéines)
- Les cellules contiennent beaucoup de protéines capables de manipuler l'ADN, mais pas l'ARN
- beaucoup de coenzymes sont des ribonucléotides (ATP, NAD, CoA)

ARN = premiers catalyseurs biologiques avant l'apparition des cellules ?

(apparition plus tardive des protéines)

INTERACTIONS PROTEINES - ADN



Interaction non spécifique
=
Interaction avec le squelette

Interaction spécifique de
séquence
=
Interaction via le grand sillon
Espacement de 10 pb

Figure 1. **Interactions entre le répresseur et un opérateur du phage lambda : modèle « hélice-tour-hélice ».** Deux des quatre hélices α de chaque monomère, α_2 et α_3 , établissent des contacts avec, respectivement, le squelette de ponts phosphodiester et les bases du grand sillon du double brin d'ADN. Deux monomères sont ainsi fixés sur une même face de l'ADN, liés à des séquences situées à un tour d'hélice de distance. La flèche (schéma de gauche) et l'ovale (schéma de droite) indiquent le centre de symétrie des sites de fixation. Les deux monomères sont liés entre eux par des interactions hydrogènes et hydrophobes.

INTERACTIONS PROTEINES - ADN

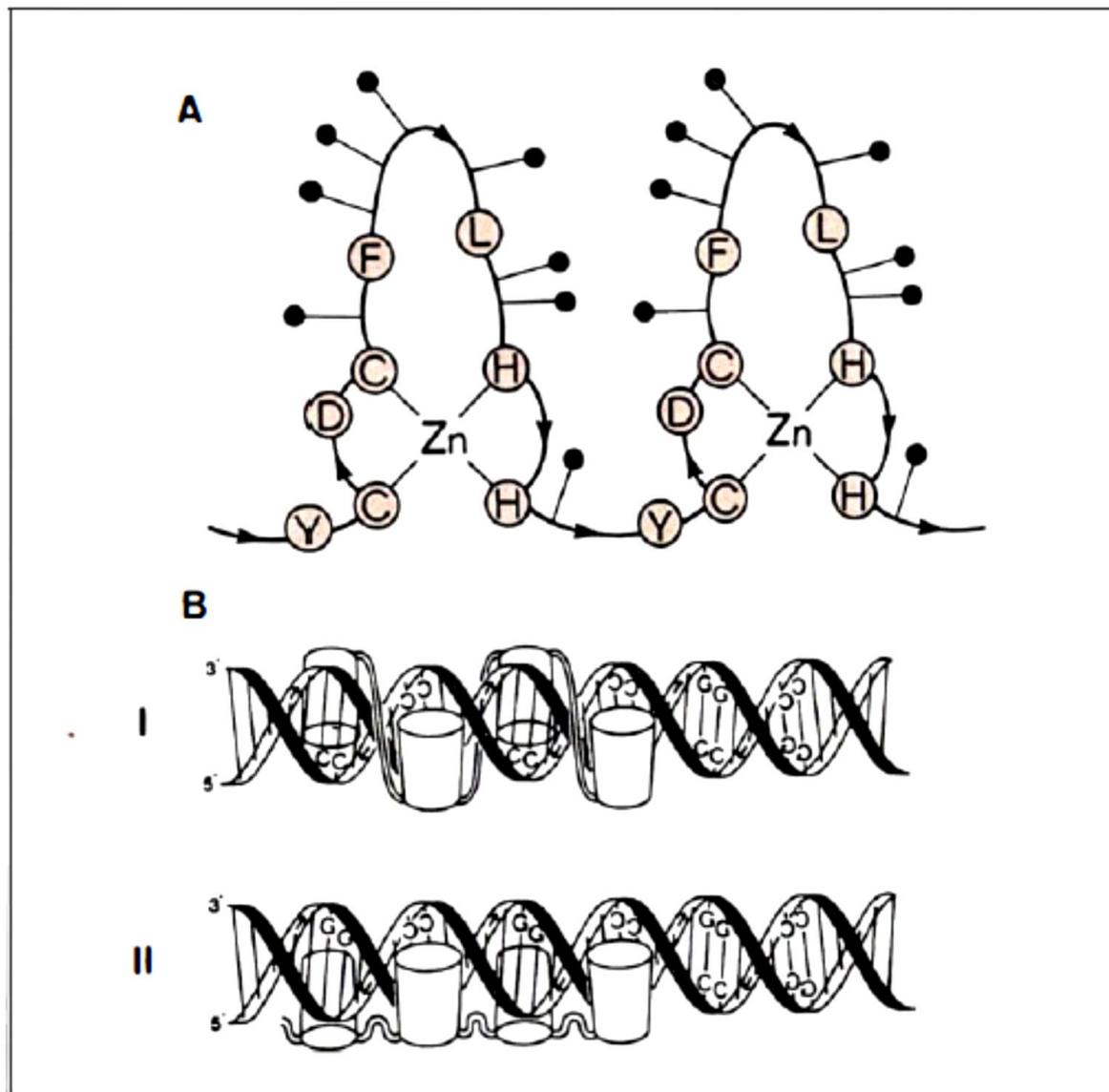
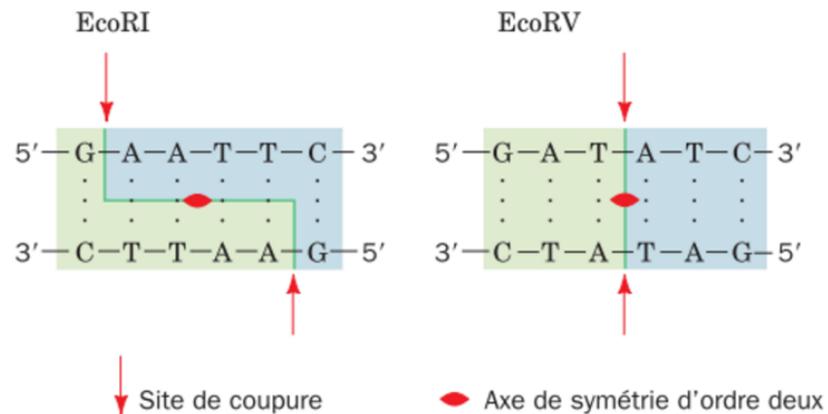


Figure 3. **Protéines dactyles et modèle de leur interaction avec l'ADN.** En 3A sont représentés, selon Miller et al. [7], deux « doigts » protéiques stabilisés par des liaisons de coordination entre un atome de zinc d'une part, 2 cystéines (C) et 2 histidines (H) d'autre part. Ces doigts sont constitués au niveau d'éléments répétitifs contenant, outre les cystéines et histidines invariantes, des acides aminés (D = acides aspartiques) et hydrophobes (F = phénylalanine, L = leucine, Y = tyrosine). Les points noirs indiquent les contacts probables avec l'ADN. La figure 3B présente, selon Fairall et al. [10] deux modèles possibles d'interaction entre le facteur TFIIIA et l'ADN. Les doigts sont représentés par les cylindres. Selon le modèle I, la protéine est enroulée le long d'un des brins d'ADN, les doigts établissant des contacts avec lui tous les 1/2 tours de spire. Selon le modèle II, la protéine est parallèle au double brin, les doigts établissant des contacts alternativement sur l'une et l'autre face du double brin.

INTERACTIONS PROTEINES - ADN

- les progrès en biologie moléculaire ont bénéficié de l'utilisation de nombreuses **endonucléases de restriction**...

Les endonucléases de restriction reconnaissent des séquences dites **palindromes***



Eco : *Escherichia coli*

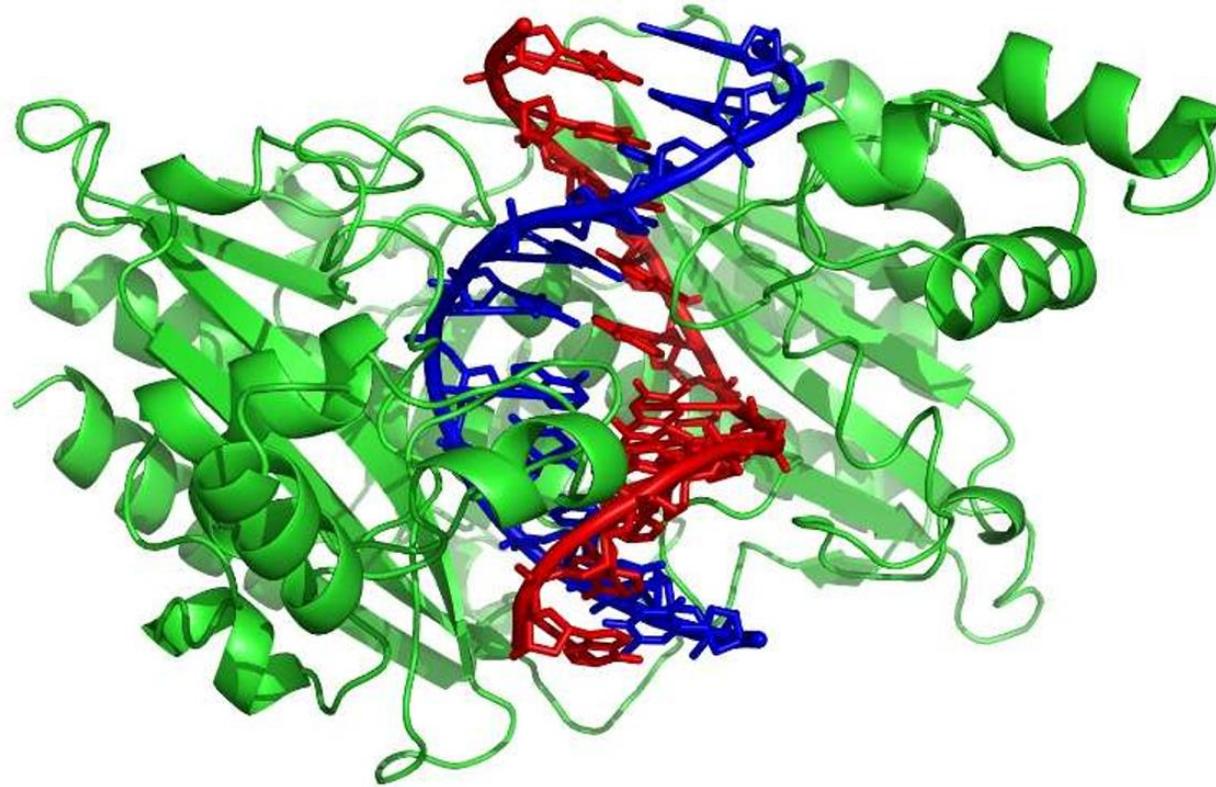
Eco R1 : extrémités cohésives ou bouts collants

Eco RV : extrémités franches

**Esophage reste ici et se repose*

INTERACTIONS PROTEINES - ADN

Exemple d'interactions entre ADN et protéines



En vert l'enzyme EcoR1
1 brin d'ADN en bleu
1 brin d'ADN en rouge