

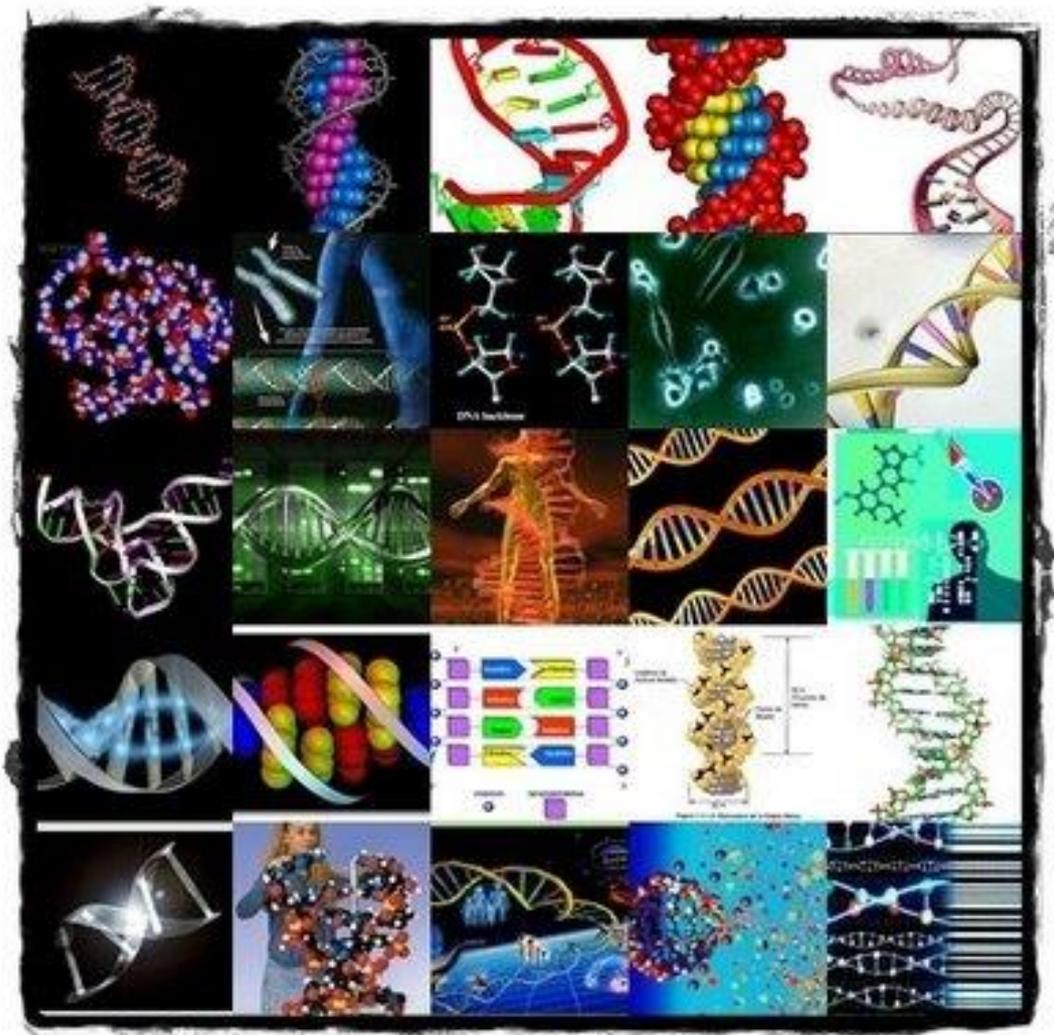


Université Mohammed V  
Faculté des Sciences  
Rabat

Bio  
PatH

Laboratoire de Biologie  
des Pathologies Humaines

# Les Acides Nucléiques



**Pr. Mouna ABABOU**

m.ababou@um5s.net.ma

Filière SVI - Semestre 3

Année 2019/2020

Module M15

Biochimie Structurale

# **PLAN DU COURS**

## **INTRODUCTION**

## **HISTORIQUE**

## **CHAPITRE I. COMPOSITION DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **1 PHOSPHATES**

### **2 SUCRES**

### **3 BASES AZOTEES**

### **4 NUCLEOSIDES**

### **5 NUCLEOTIDES**

### **6 NOMENCLATURE**

## **CHAPITRE II. STRUCTURES DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **I. L'ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE**

#### **1 STRUCTURE PRIMAIRE**

#### **2 STRUCTURE SECONDAIRE : LA DOUBLE HELICE**

#### **3 VARIANTS CONFORMATIONNELS**

### **II. LES ACIDES RIBONUCLEIQUES**

#### **1 CLASSIFICATION DES ARN**

#### **2 STRUCTURE PRIMAIRE**

#### **3 STRUCTURE SECONDAIRE**

#### **4 STRUCTURE TERTIAIRE : exemple de l'ARN de transfert**

#### **5 STRUCTURE QUATERNAIRE : exemple de l'ARN ribosomique**

## **CHAPITRE III. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **1 SOLUBILITE**

### **2 DENSITE**

### **3 POIDS MOLECULAIRE**

### **4 ABSORPTION DANS LA LUMIERE ULTRAVIOLETTE**

### **5 DENATURATION/RENATURATION**

## **6 EFFET HYPERCHROME DE L'ADN**

## **7 HYDROLYSE DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **7.1 Hydrolyse chimique**

### **7.2 Hydrolyse enzymatique**

## **CHAPITRE IV. ORGANISATION CELLULAIRE DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **1. VIRUS**

### **2. BACTERIES**

### **3. EUCARYOTES**

## **CHAPITRE V. INTERET DE L'ETUDE DE LA STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES**

### **1. LES CIBLES MEDICAMENTEUSES**

### **2. DIAGNOSTIQUE MOLECULAIRE**

### **3. CLONAGE DE GENES**

### **4. L'OUTIL CRISPR/CAS9**

### **5. PHYLOGENIE MOLECULAIRE**

### **6. IDENTIFICATION HUMAINE PAR EMPREINTES DIGITALES**

## **CHAPITRE VI. APERÇU SUR LA TRANSCRIPTION : DE L'ADN A L'ARN**

### **1. DEFINITIONS**

### **2. ARN POLYMERASES**

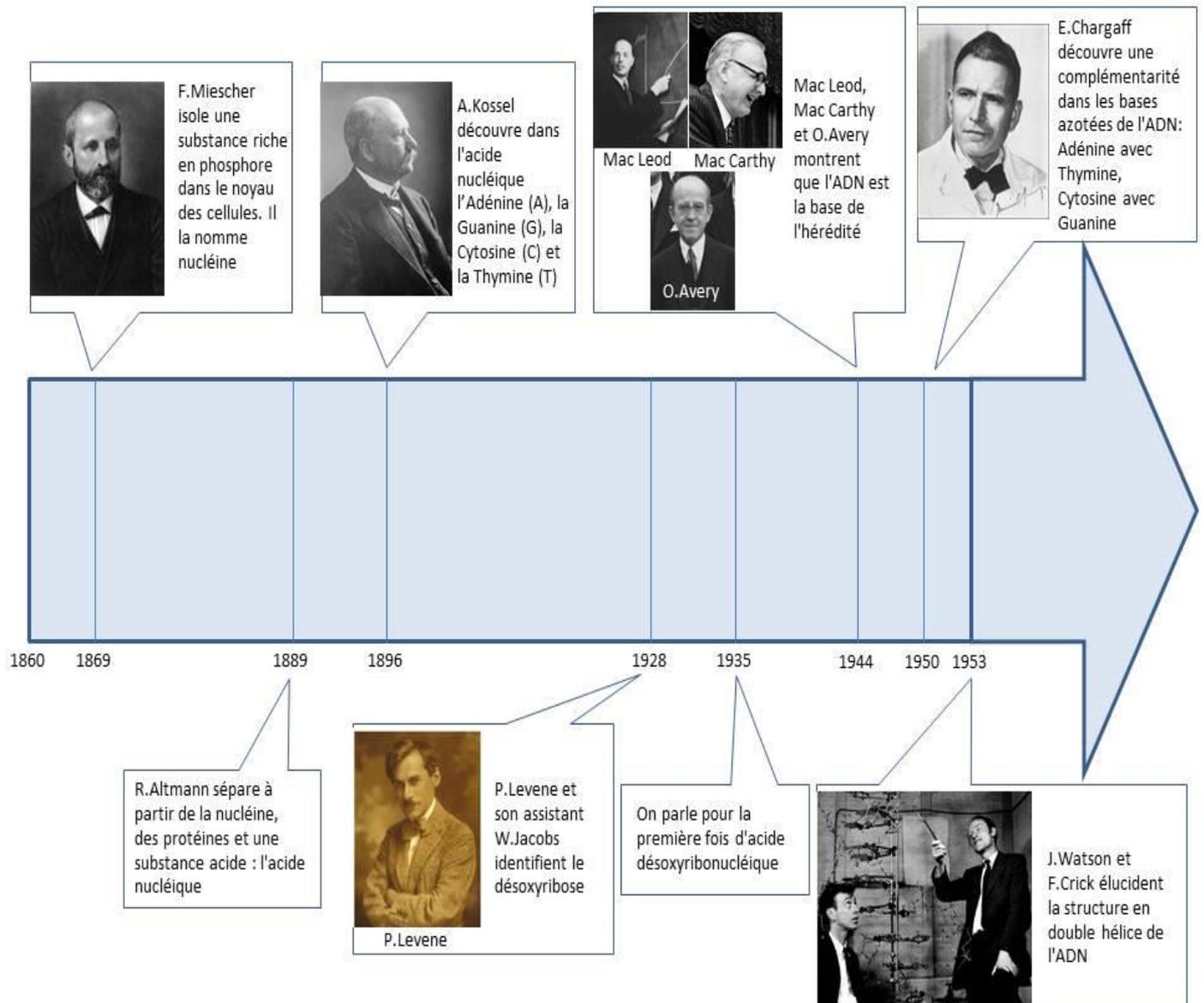
### **3. MECANISME**

### **4. MATURATION DE L'ARN PRE-MESSAGER**

### **5. EPISSAGE ALTERNATIF**

# LES ACIDES NUCLEIQUES

## HISTORIQUE



# INTRODUCTION

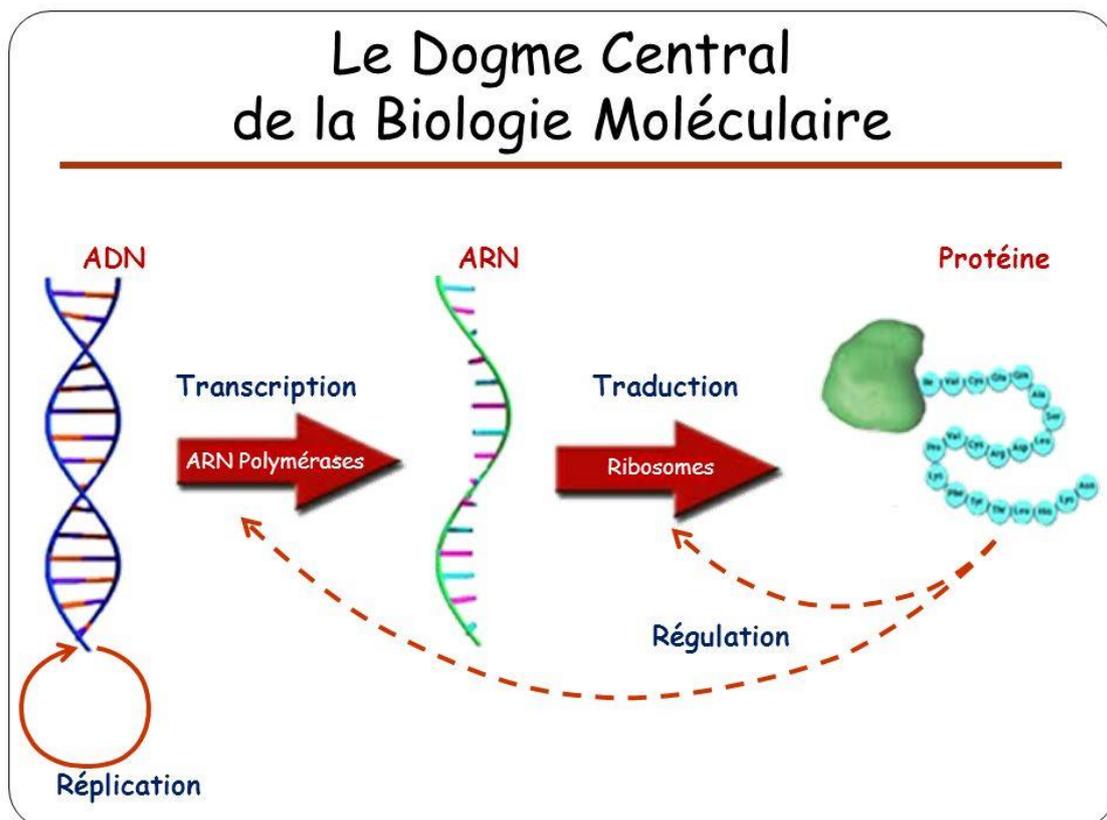
Les acides nucléiques représentent l'une des classes de macromolécules de la cellule (avec les glucides, les lipides et les protéines). Ils fournissent les informations nécessaires au développement de la vie. Ils sont responsables de la transmission du patrimoine génétique de génération à génération et contrôlent la fabrication des protéines nécessaires à la vie.

Il existe deux classes d'acides nucléiques : l'Acide DésoxyriboNucléique (**ADN**) et l'Acide RiboNucléique (**ARN**).

L'ADN constitue le matériel génétique pour la majorité des organismes (à part certains virus dont l'ARN est le support de l'information génétique). Avant la reproduction, l'ADN se dédouble par le mécanisme de la **réplication**. Les ARN sont des copies complémentaires d'un des deux brins de l'ADN et sont synthétisés lors de la **transcription**. L'ARN sert d'intermédiaire pour la circulation de l'information génétique de l'ADN aux protéines. L'expression de l'ADN en polypeptides, ou **traduction**, nécessite plusieurs types d'ARN.

## **Rappel du dogme central de la biologie moléculaire :**

Ce dogme (en fait c'était une hypothèse), formulé en 1953, représentait le modèle schématique de la conservation de l'ADN (réplication) et de son utilisation en montrant la relation entre l'ADN et les protéines.

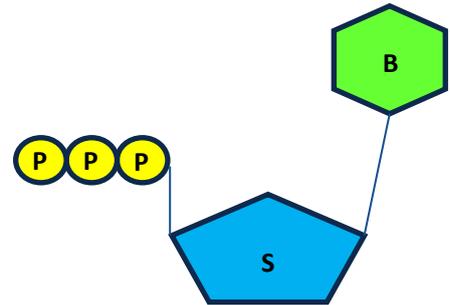


# Chapitre I. Composition des Acides Nucléiques

Les acides nucléiques de toutes les cellules animales et végétales sont constitués d'un polymère d'unités monomériques (molécules de bases) appelées **nucléotides**.

Le nucléotide est constitué de :

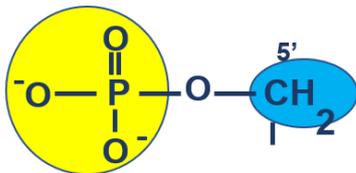
- Un à trois résidus **d'acide phosphorique (P)**
- Un sucre (S) (pentose) : ribose ou désoxyribose
- Une **base azotée (B)**



## 1. Phosphates

Les phosphates sont normalement reliés à l'hydroxyle en **C5** d'un sucre, le ribose ou le désoxyribose (désigné par **5'**). Les mono-, les di- et les triphosphates sont fréquents.

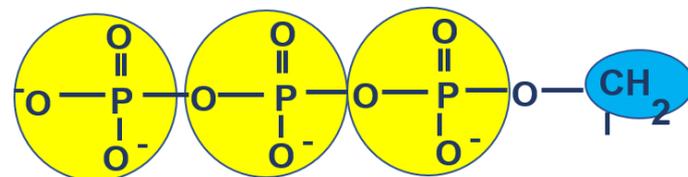
C'est le phosphate qui rend **le nucléotide négativement chargé**.



Comme dans l'**AMP**



Comme dans l'**ADP**

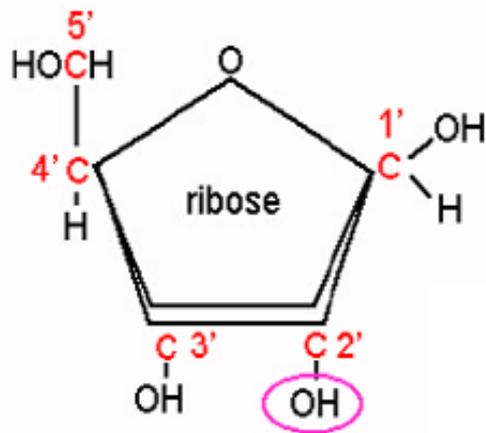


Comme dans l'**ATP**

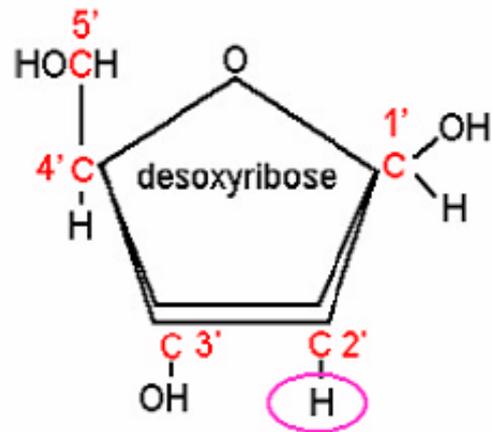
## 2. Sucres

Les sucres qui entrent dans la composition des acides nucléiques sont le **ribose** ( $\beta$ -D-ribose) pour l'**ARN** et le **désoxyribose** ( $\beta$ -D-2'-désoxyribose) pour l'**ADN**.

Le désoxyribose est dépourvu du groupement hydroxyle (-OH) au niveau de son deuxième carbone (2').



**Ribose**



**Désoxyribose**

### 3. Bases azotées

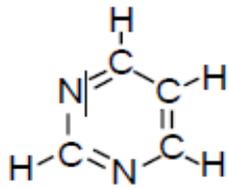
Deux groupes de bases azotées sont retrouvés dans les acides nucléiques : les bases pyrimidiques constituées d'un seul cycle et les bases puriques de deux cycles.

Les atomes des bases sont numérotés de **1 à 9** pour les **bases puriques** ou de **1 à 6** pour les bases **pyrimidiques** afin de ne pas les confondre avec les atomes du pentose qui sont numérotés avec des ' (voir formule des pentoses ci-dessus).

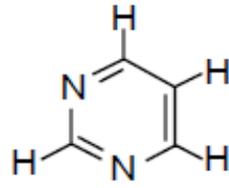
Elles résultent de la substitution des atomes d'hydrogène de l'hétérocycle par des radicaux hydroxyles amines ou méthyles ou cétones

#### 3.1. Bases pyrimidiques ou pyrimidines

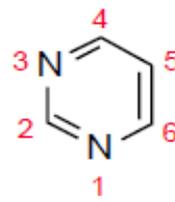
Les principales bases pyrimidiques dérivent de la pyrimidine qui est constituée d'un seul noyau aromatique à 6 atomes (**4C et 2N**). Les pyrimidines qui existent dans les acides nucléiques sont : la **cytosine (C)**, la **thymine (T)** et l'**uracile (U)**. La cytosine entre dans la composition de l'ADN et l'ARN, alors que la thymine n'existe que dans l'ADN et l'uracile que dans l'ARN.



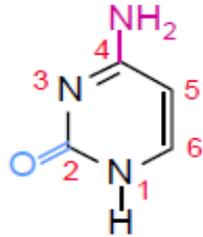
Formule développée



Formule semi-développée

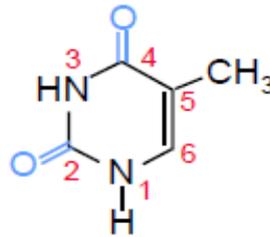


Formule semi-développée simplifiée (sans les H)



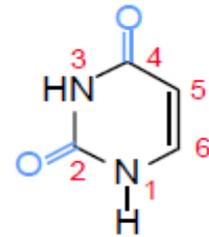
Cytosine (C)

ADN et ARN



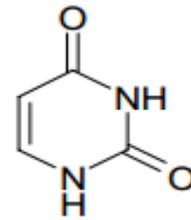
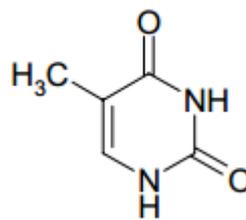
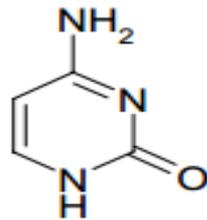
Thymine (T)

ADN



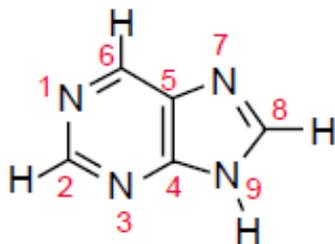
Uracile (U)

ARN

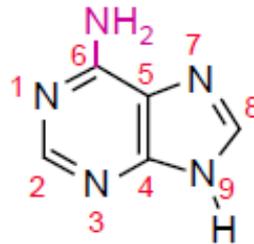


### 3.2. Bases puriques ou purines

Les bases puriques sont constituées de **deux noyaux hétérocycliques** contenant 4 atomes d'azotes. Les principales purines sont **l'adénine (A) et la guanine (G)** qui entrent dans la composition de l'ADN et l'ARN.

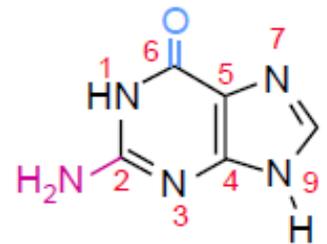


Formule semi-développée



Adénine (A)

ADN et ARN



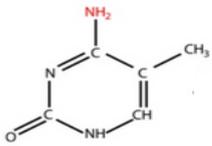
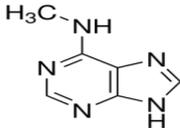
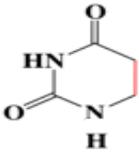
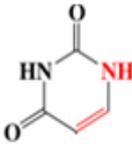
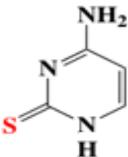
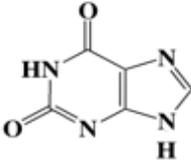
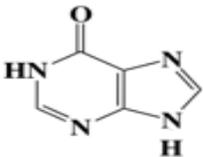
Guanine (G)

ADN et ARN

### 3.3. Bases modifiées

Les acides nucléiques peuvent contenir des bases modifiées.

- Exemples de dérivés naturels de bases azotées :

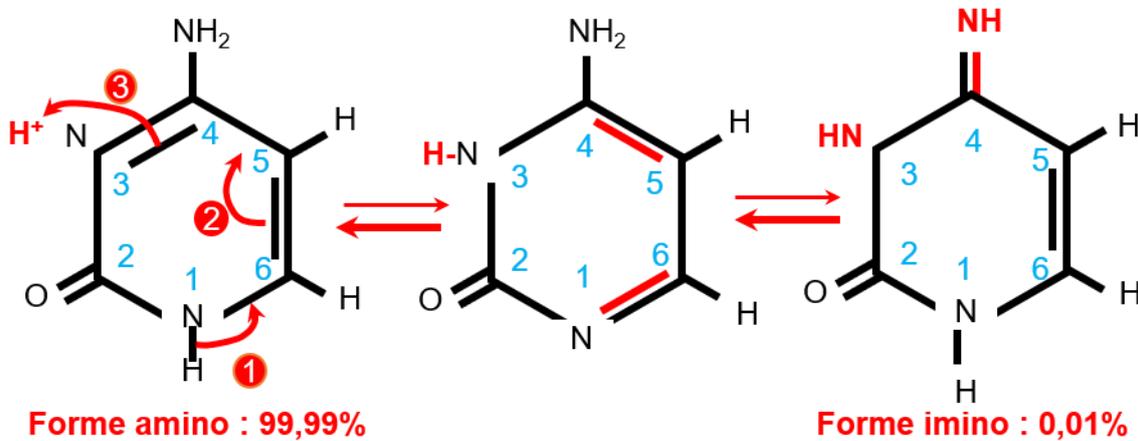
Bases modifiées	Formules	Acides nucléiques
5-méthylcytosine		ADN Plantes et animaux (sauf insectes)
N6-méthyladénine		ADN Bactéries
5,6-dihydrouracile		ARNt essentiellement
Pseudouridine		ARNt essentiellement
x2- thiopyrimidine Ex : 2-Thiocytosine		ARNt essentiellement
Xanthine (2,6-oxypurine)		ARNt essentiellement
Hypoxanthine (6-oxypurine) (Inosine dans l'ARN)		ARNt essentiellement

- Il existe également des analogues synthétiques des bases azotées comme par exemple les produits : Acyclovir (antiviral) ; 5-Fluorouracile (anticancéreux) (voir cours).

- Chaque base de l'ADN peut exister sous différentes formes alternatives : **les formes tautomères**. Ces formes résultent de la migration d'un proton accompagnée le plus souvent d'un changement de localisation d'une double liaison. L'équilibre tautomérique est en faveur des formes **amino** (contre **imino** (A et C)) et **cétone** (contre **énol** (G et T)).

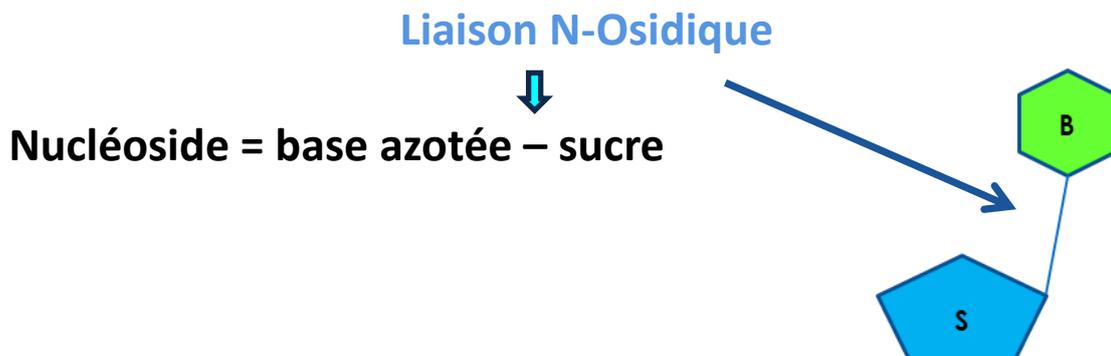
Les formes imino et énol peuvent établir des liaisons particulières en dehors d'AT et GC, ce qui crée un mésappariement après deux réplifications de l'ADN (voir cours).

**Exemple** : Équilibre **amino-imino** (cytosine) :



## 4. Nucléosides

L'association d'un pentose et d'une base azotée constitue un **nucléoside**. Ils sont reliés par une liaison covalente appelée liaison **N-osidique** qui s'effectue entre le **carbone 1'** du pentose et l'azote **N1** des pyrimidines ou l'azote **N9** des purines.

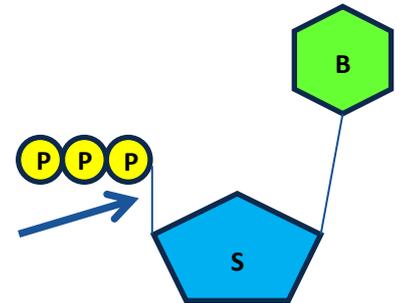


## 5. Nucléotides

Ce sont des **esters-phosphates** de nucléosides, qui se forment par la liaison d'un, deux ou trois groupements phosphate au pentose (au niveau du carbone 5') d'un nucléoside.

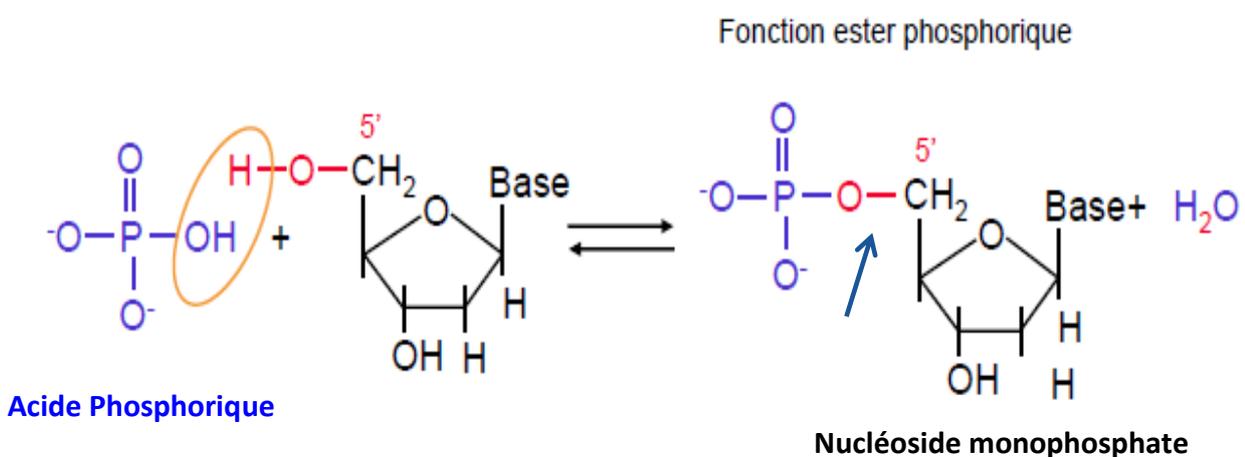
**Nucléotide = base azotée - sucre - Phosphate**

↑  
**Liaison ester**



Bien que le rôle principal des nucléotides soit le **stockage et la libération de l'information biologique**, certains nucléotides peuvent intervenir dans le **transfert à court terme de l'énergie**. Ils transportent l'énergie dans leur **liaison phosphoanhydre** (entre 2 molécules d'acide phosphorique) facilement hydrolysée.

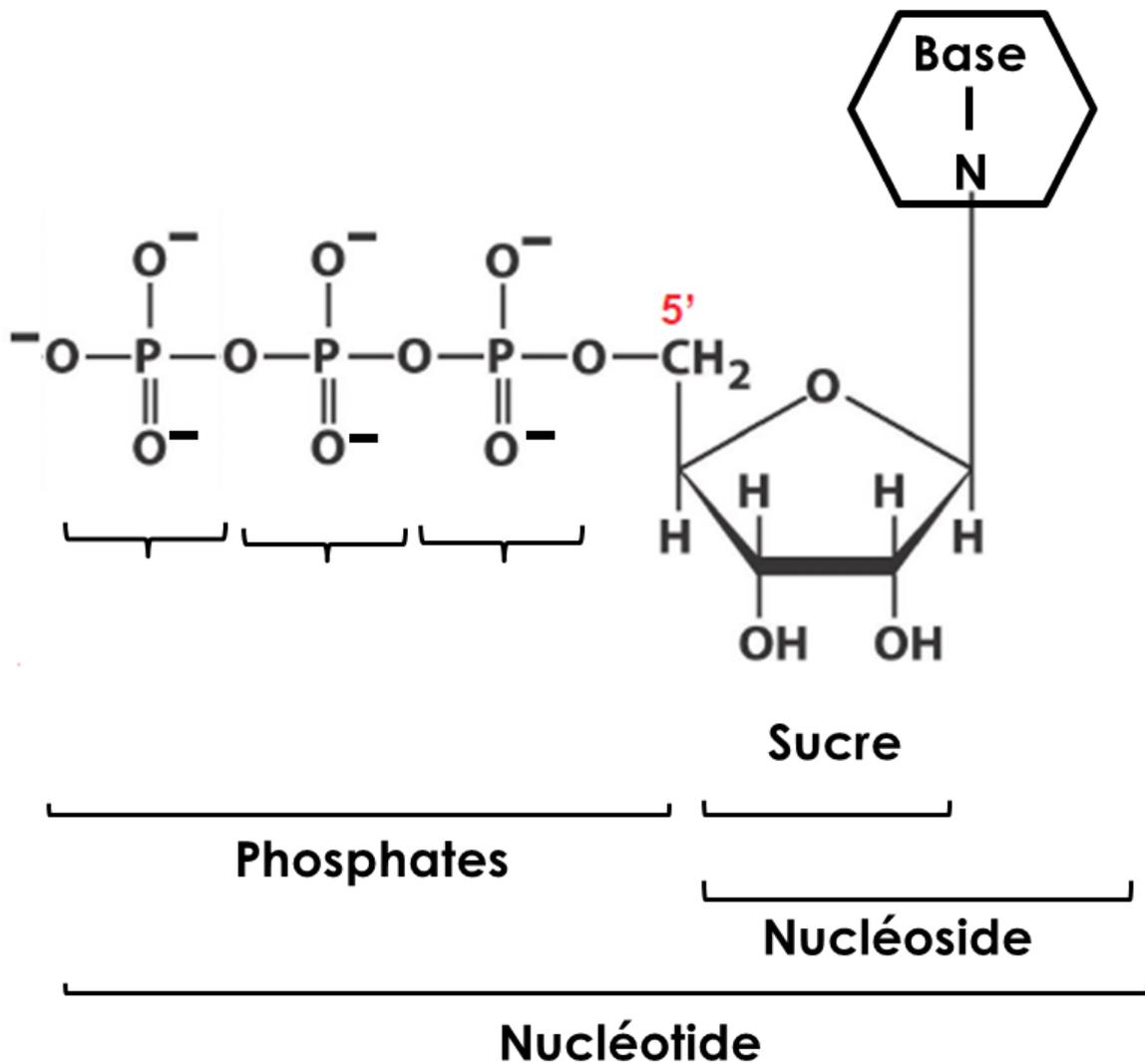
Exemple : l'**ATP** : utilisé pour transporter l'énergie dans des centaines de réactions cellulaires. La formation de l'ATP, énergie-dépendante, à partir de l'ADP et de phosphate inorganique est couplée à l'oxydation libératrice d'énergie des denrées alimentaires (dans les cellules animales, les champignons et certaines bactéries) ou à la capture de l'énergie lumineuse (dans les cellules végétales et certaines bactéries). L'hydrolyse de cette ATP en ADP et phosphate inorganique fournit à son tour l'énergie pour effectuer de nombreuses réactions cellulaires (voir cours).



**Formation de la liaison ester phosphorique**

## 6. Nomenclature des nucléosides et nucléotides

- Les noms des nucléosides se terminent par :
  - "**osine**" pour les nucléosides puriques
  - "**idine**" pour les nucléosides pyrimidiques
- Les noms des nucléosides et nucléotides qui contiennent le désoxyribose commencent par "désoxy" ("d" dans les abréviations).



ARN			
Base azotée	Ribonucléotides 5' monophosphate	Ribonucléotides 5' diphosphate	Ribonucléotides 5' triphosphate
<b>Adénine (A)</b>	Adénosine 5'-monophosphate (AMP)	Adénosine 5'-diphosphate (ADP)	Adénosine 5'-triphosphate (ATP)
<b>Guanine (G)</b>	Guanosine 5'-monophosphate (GMP)	Guanosine 5'-diphosphate (GDP)	Guanosine 5'-triphosphate (GTP)
<b>Uracile (U)</b>	Uridine 5'-monophosphate (UMP)	Uridine 5'-diphosphate (UDP)	Uridine 5'-triphosphate (UTP)
<b>Cytosine (C)</b>	Cytidine 5'-monophosphate (CMP)	Cytidine 5'-diphosphate (CDP)	Cytidine 5'-triphosphate (CTP)

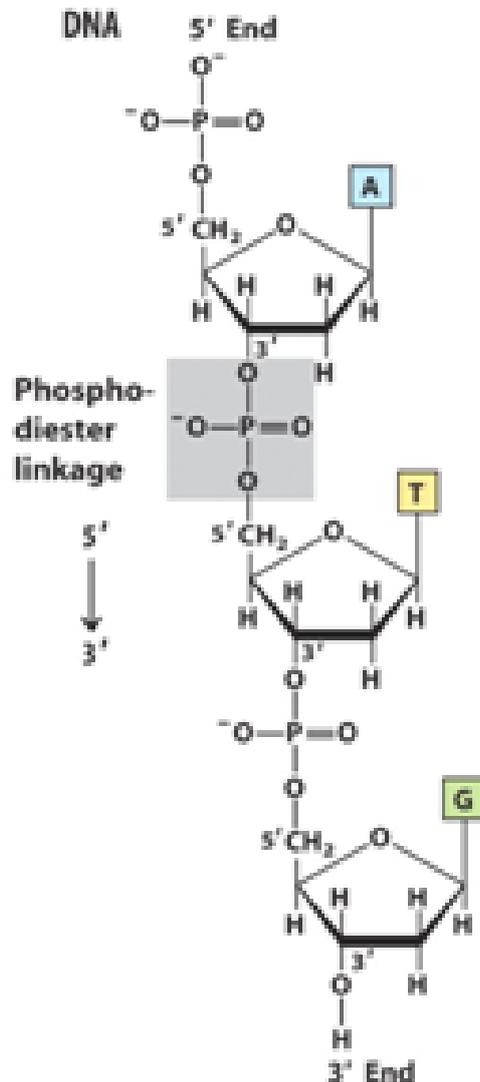
ADN			
Base azotée	Déoxyribonucléotides 5' monophosphate	Déoxyribonucléotides 5' diphosphate	Déoxyribonucléotides 5' triphosphate
<b>Adénine (A)</b>	Déoxyadénosine 5'-monophosphate (dAMP)	Déoxyadénosine 5'-diphosphate (dADP)	Déoxyadénosine 5'-triphosphate (dATP)
<b>Guanine (G)</b>	Déoxyguanosine 5'-monophosphate (dGMP)	Déoxyguanosine 5'-diphosphate (dGDP)	Déoxyguanosine 5'-triphosphate (dGTP)
<b>Thymine (T)</b>	Déoxythymidine 5'-monophosphate (dTMP)	Déoxythymidine 5'-diphosphate (dTDP)	Déoxythymidine 5'-triphosphate (dTTP)
<b>Cytosine (C)</b>	Déoxycytidine 5'-monophosphate (dCMP)	Déoxycytidine 5'-diphosphate (dCDP)	Déoxycytidine 5'-triphosphate (dCTP)

# Chapitre II. Structures des Acides Nucléiques

## I. L'Acide DésoxyriboNucléique (ADN)

### 1. Structure primaire

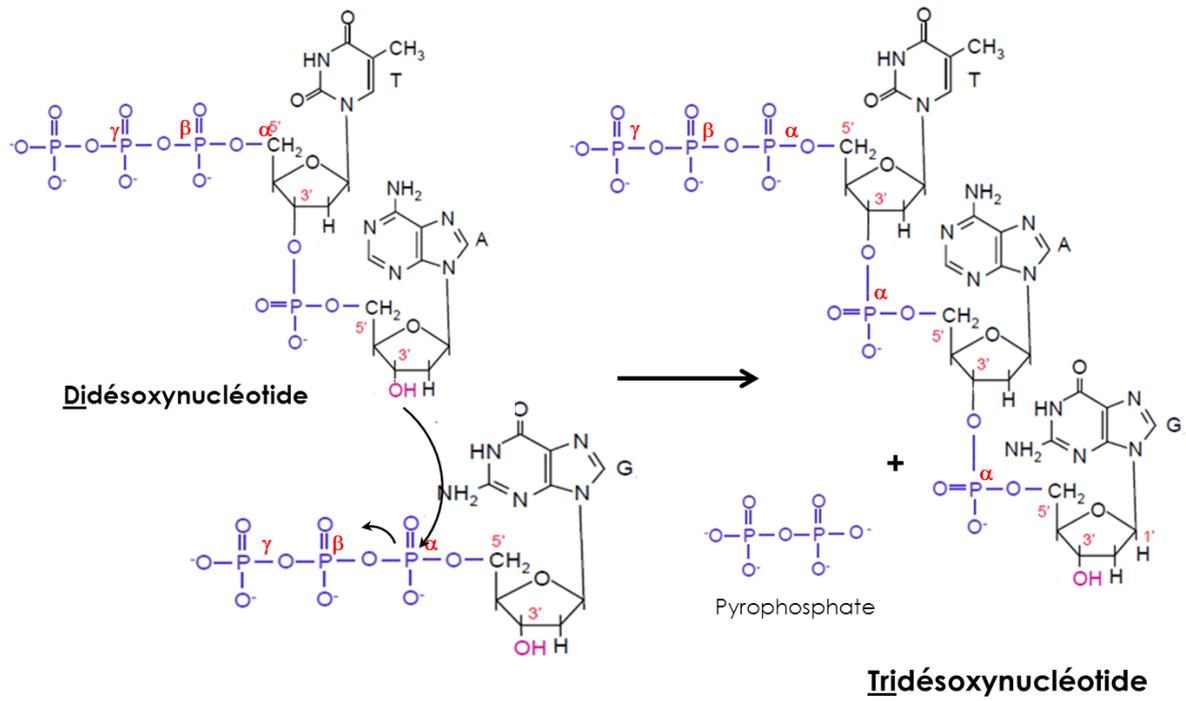
Le brin d'ADN est un polymère de désoxyribonucléotides monophosphates reliés entre eux par des **3', 5'-liaisons phosphodiester** (relient le carbone 3' du désoxyribose d'un nucléotide au carbone 5' du désoxyribose du nucléotide suivant).



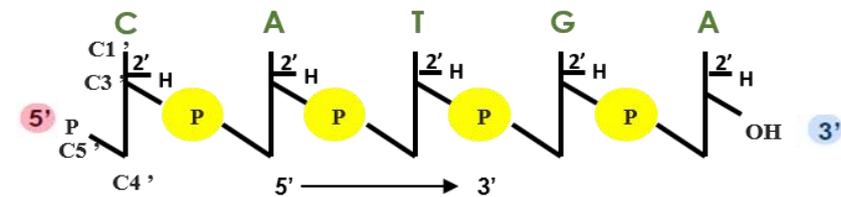
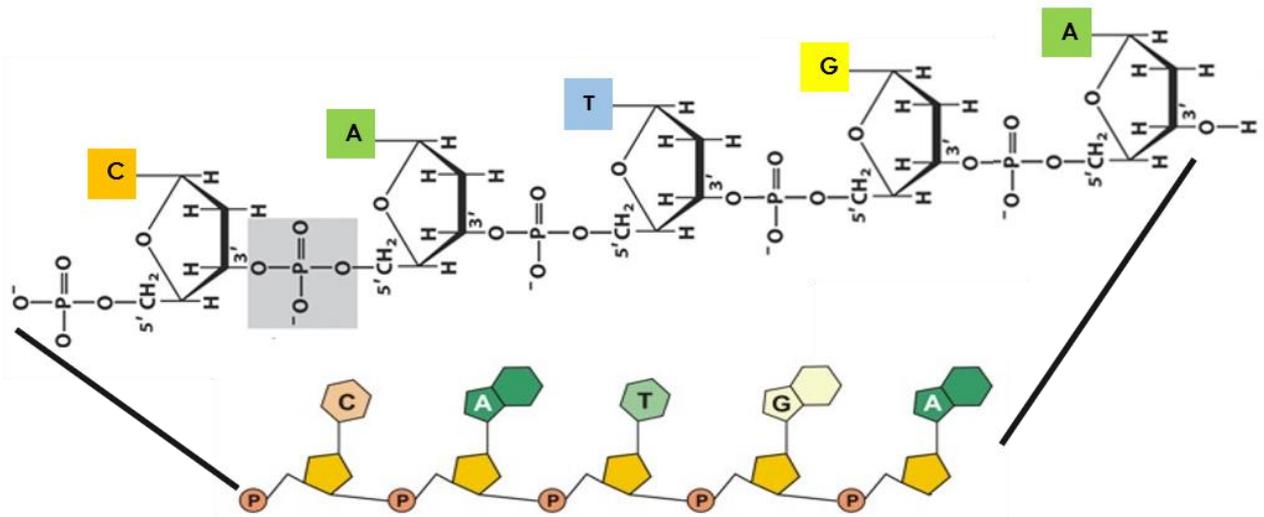
- L'alternance pentose-Phosphate constitue le **squelette de l'ADN** sur lequel sont accrochées les bases azotées
- Le brin d'ADN possède **une polarité** : il a une **extrémité 5'-phosphate** et une **extrémité 3'-OH**

NB : Lors de la réplication, la liaison phosphodiester est catalysée dans le sens 5'- 3' par les ADN polymérases qui nécessitent une matrice ADN (modèle) et une amorce (voir cours de biologie moléculaire).

- Formation de la **liaison phosphodiester** :



- Il y a différentes manières d'écrire le brin d'ADN :



pCATGA ou CATGA ou **5'CATGA3'** ou 5' pdCpdApdTpdGpdA 3'

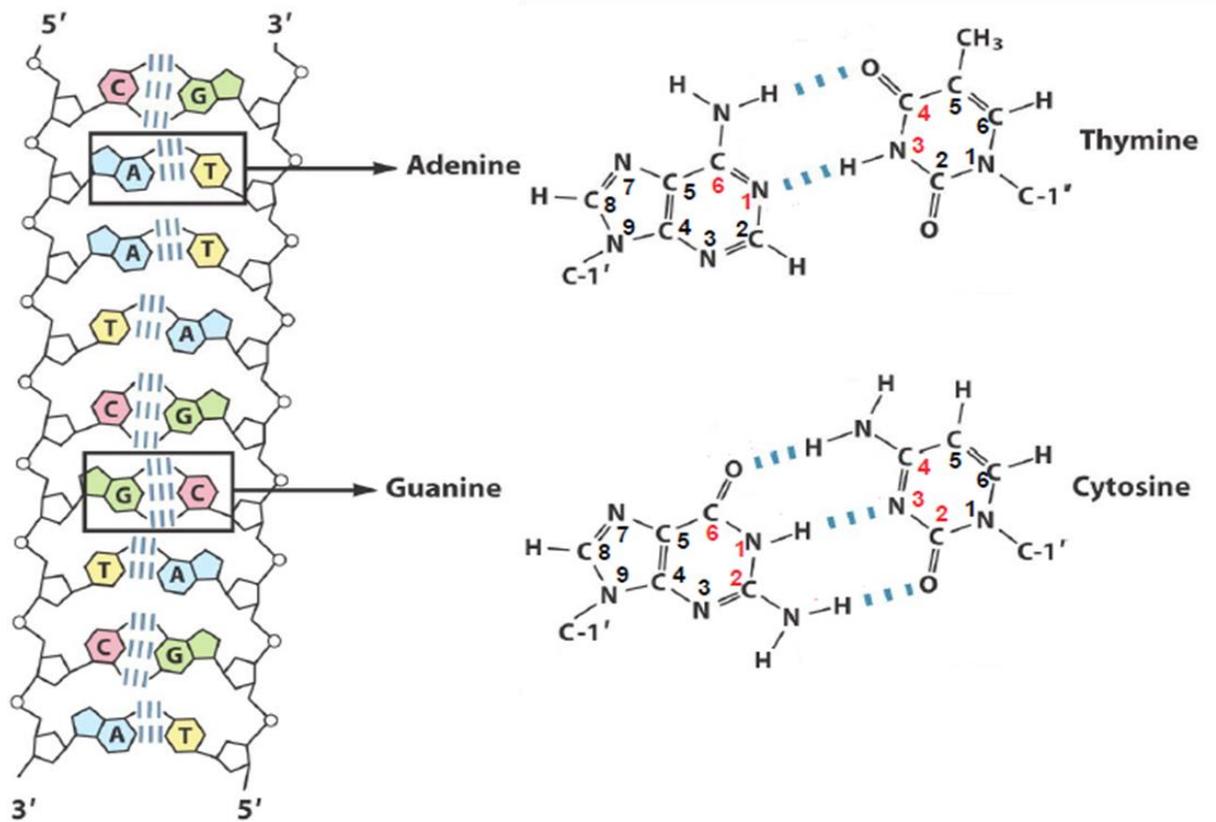
## 2. Structure secondaire de l'ADN : la double hélice

Les données de Chargaff et les résultats des travaux de Rosalind Franklin et Maurice Wilkins de diffraction aux rayons X de cristaux de molécules d'ADN analysés en 1953 par Watson et Crick, ont permis de déterminer les caractéristiques de la molécule d'ADN :

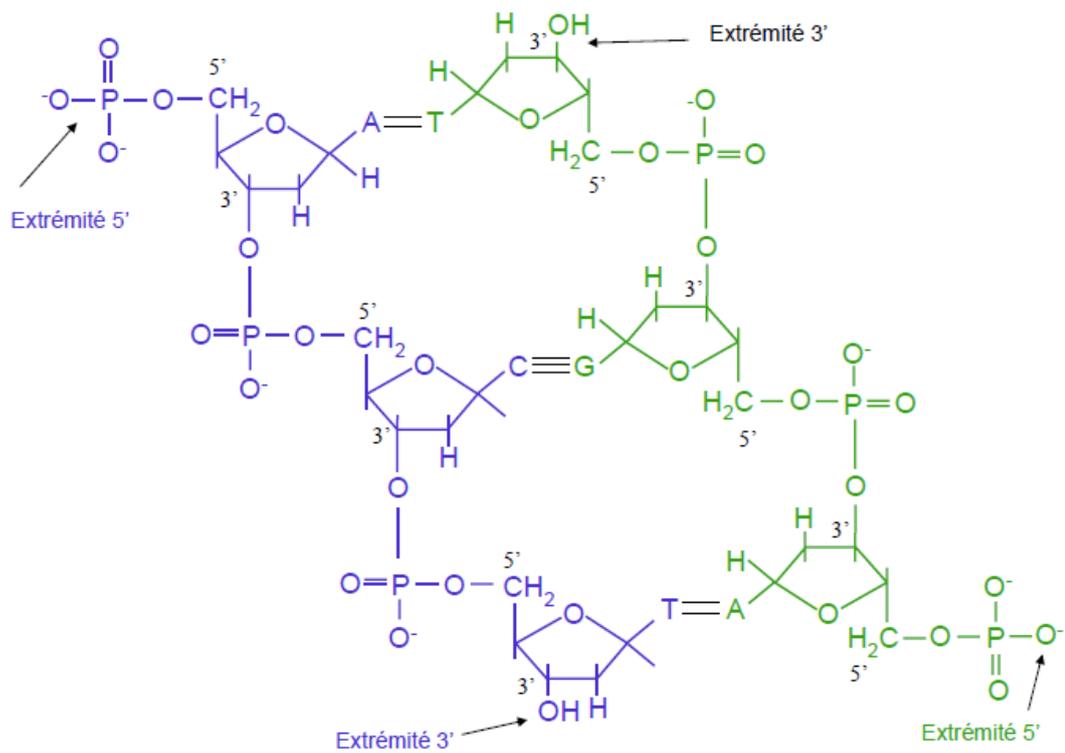
Dans toutes les espèces, les pourcentages des bases A et T et des bases C et G sont égaux. Il y a donc autant de bases puriques que de bases pyrimidiques : **A=T et C=G** alors que **le rapport A+T / C+G varie selon les espèces.**

Organisme	A	T	G	C	Rapport A+T / G+C
E. coli	26,0	23,9	24,9	25,2	1,00
Levure	31,3	32,9	18,7	17,1	1,79
Rat	28,6	28,4	21,4	21,5	1,33
<b>Homme</b>	<b>30,3</b>	<b>30,3</b>	<b>19,9</b>	<b>19,8</b>	<b>1,52</b>

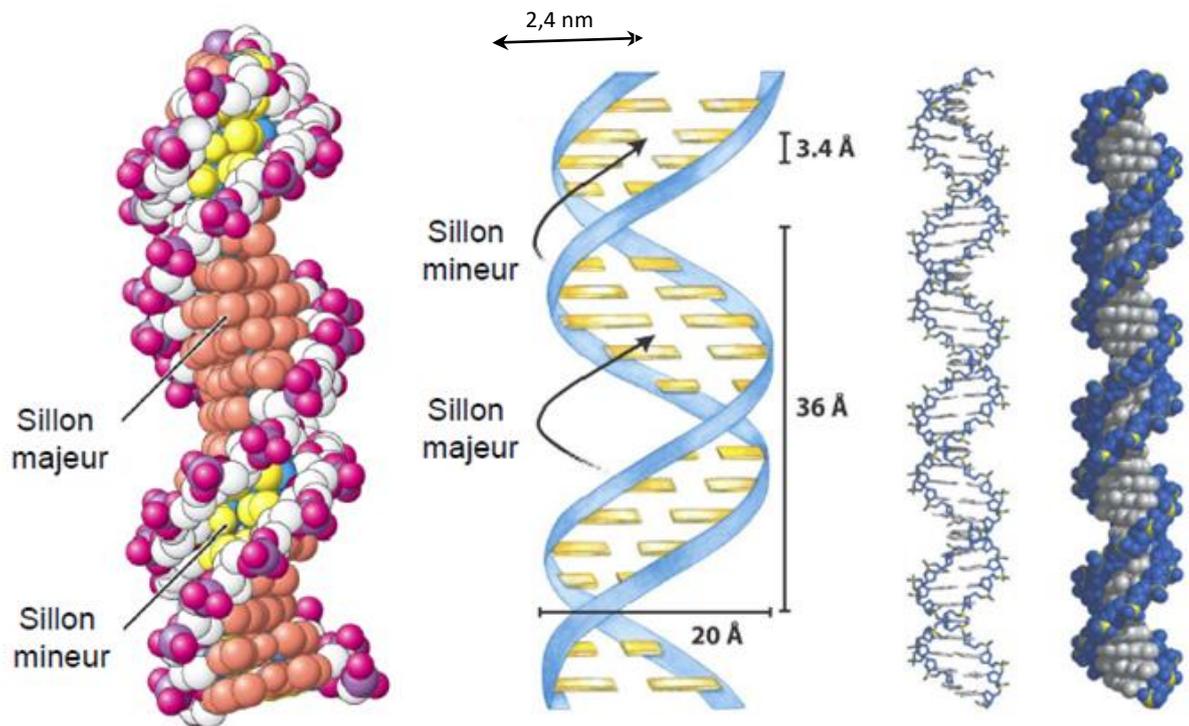
- La molécule d'ADN est constituée de deux chaînes d'ADN (ou brins d'ADN) qui s'enroulent autour d'un axe formant une conformation hélicoïdale appelée **double hélice d'ADN.**
- Les deux brins d'ADN sont stabilisés par des liaisons hydrogène entre les bases complémentaires (on dit aussi qu'il y a appariement entre les bases). Les deux chaînes de l'ADN sont dites **complémentaires.**
  - **L'adénine et la thymine : 2 liaisons hydrogène**
  - **La guanine et la cytosine : 3 liaisons hydrogène**



- Les deux chaînes sont **antiparallèles** car l'extrémité 3' d'un brin se trouve en face de l'extrémité 5' de l'autre.



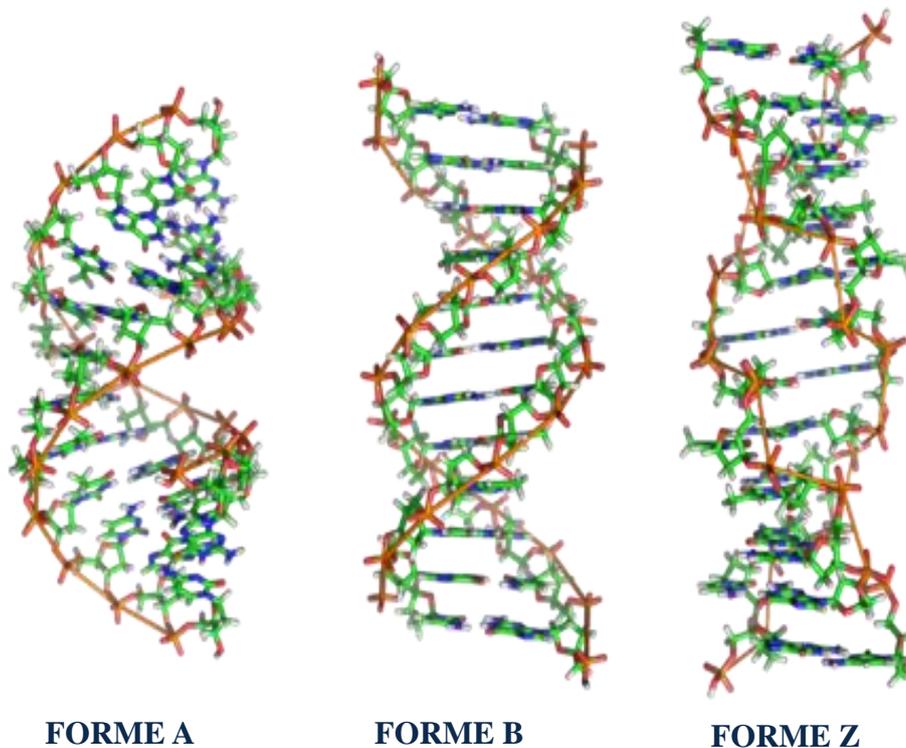
- Les bases complémentaires (A-T) et (G-C) sont situées sur le même plan et sont à l'intérieur de l'hélice.



- Les plans des bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice
- Les plans des oses étant presque perpendiculaires au plan des bases
- Les enchaînements pentoses-phosphates forment les **squelettes hélicoïdaux** parallèles extérieurs : la double hélice tourne autour d'un axe et présente deux sillons inégaux : **le grand sillon et le petit sillon**
- Le **diamètre** de l'hélice est de **20 Å** (2,4 nm)
- Un **tour d'hélice** mesure **34 Å** (3,4 nm)
- La distance entre deux nucléotides est de **3,4 Å**. Il y a donc **10 nucléotides par tour d'hélice**

### 3. Variants conformationnels

Différents variants conformationnels de l'ADN ont été retrouvés in vivo (formes B et Z) ou in vitro (forme A) :



Variants conformationnels	Hélice B		
	Hélice A	Modèle de Watson et Crick. Plus stable physiologiquement	Hélice Z
Enroulement de l'hélice	Droit	<b>Droit</b>	Gauche
Diamètre	≈ 2,6 nm	≈ <b>2,0 nm</b>	≈ 1,8 nm
Nucléotides par tour	11	<b>10</b>	12
Pas de l'hélice	2,8	<b>3,4 nm</b>	4,5

En Avril 2018, un article publié dans la revue *Nature Chemistry* démontre la présence in vivo d'une nouvelle structure de l'ADN : la **i-motif structure** (i = intercalated) retrouvée au niveau du noyau. Il s'agit d'une forme transitoire de l'ADN qui se forme dans les régions du génome qui sont **riches en cytosines**. Elle jouerait un rôle dans la régulation de l'expression de certains gènes. Elle se forme en fin de G1 lorsque la cellule est en pleine croissance et que l'ADN est activement transcrit. Cette structure particulière est retrouvée sur les promoteurs de certains gènes fondamentaux (proto-oncogènes) et sur certaines régions centromériques et télomériques (voir cours).

## II. Les Acides RiboNucléiques (ARN)

Ces molécules sont toutes des copies complémentaires d'un des deux brins de l'ADN et sont synthétisées lors de la **transcription**.

Les ARN participent à toutes les étapes de l'expression des gènes et de la biosynthèse des protéines. Ils servent d'intermédiaire pour la circulation de l'information génétique de l'ADN aux protéines, interviennent dans la structure des ribosomes et dans la régulation de l'expression des gènes.

### 1. Classification des ARN

Toutes les cellules, à l'exception des virus, contiennent trois types essentiels d'ARN : **les ARN ribosomiques (ARNr)**, **les ARN de transfert (ARNt)** et **les ARN messagers (ARNm)** qui interviennent lors de la **traduction**.

Les ARN peuvent être classés en deux groupes selon leurs fonctions :

- Les **ARN codants** qui sont traduits en polypeptides par les ribosomes : les ARN messagers (ARNm) qui sont des intermédiaires porteurs de l'information pour la synthèse protéique (**2-3%** des ARN totaux).
  - Les **ARN non codants** qui ne seront pas traduits en polypeptides :
    - o ARN intervenants dans la traduction : ARN de transfert (ARNt) et ARN ribosomiques (ARNr) (voir plus loin).
    - o Chez les **eucaryotes** il existe des petits ARN nucléaires : **snRNA (small nuclear RNA)** qui se lie à des protéines spécifiques et interviennent dans la maturation des ARNm (élimination des introns). **L'ARN télomérase** est également impliquée dans la réplication de l'ADN à l'extrémité du chromosome. **L'ARN antisens** et le petit **ARN d'interférence (ARNsi pour short interfering)** sont impliqués dans la régulation des gènes.
- NB : Par souci de temps et de complexité, ces 3 derniers types d'ARN ne seront pas traités durant ce cours.

**Les différentes structures que peut prendre la molécule d'ARN produisent différents types d'ARN.**

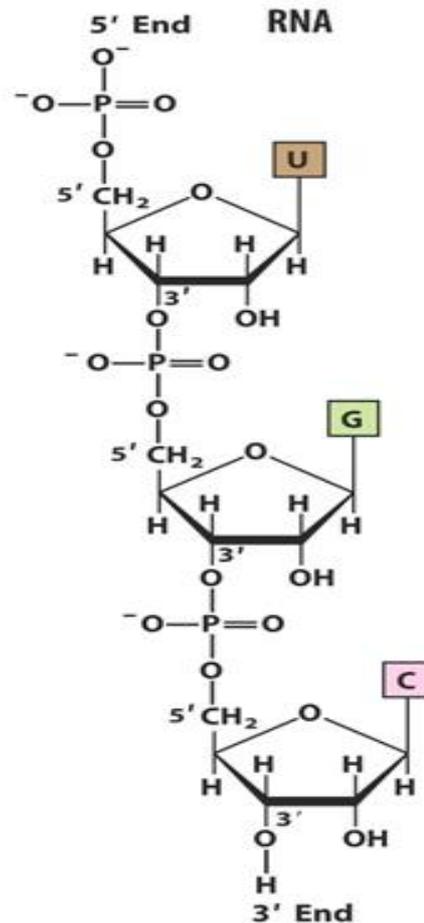
### 2. Structure primaire

L'ARN est un polymère de ribonucléotides. Sa structure primaire est voisine de celle de l'ADN.

Cependant, il existe trois différences essentielles :

- Le sucre est le **ribose** et non le désoxyribose
- L'**uracile** remplace la thymine
- L'ARN existe sous forme d'une seule chaîne polynucléotidique (**simple brin**)

(Sauf dans quelques rares virus où l'ARN peut se trouver sous forme double brin)



D'autres différences existent entre l'ADN et l'ARN :

- Les ARN Sont moins stables que les ADN
- **Les ARN quittent le noyau pour le cytoplasme alors que l'ADN reste dans le noyau**
- L'ARN Contient de nombreuses **bases modifiées** comme par exemple la Pseudouridine, Dihydrouridine, etc... (voir plus haut)

### 3. Structure secondaire

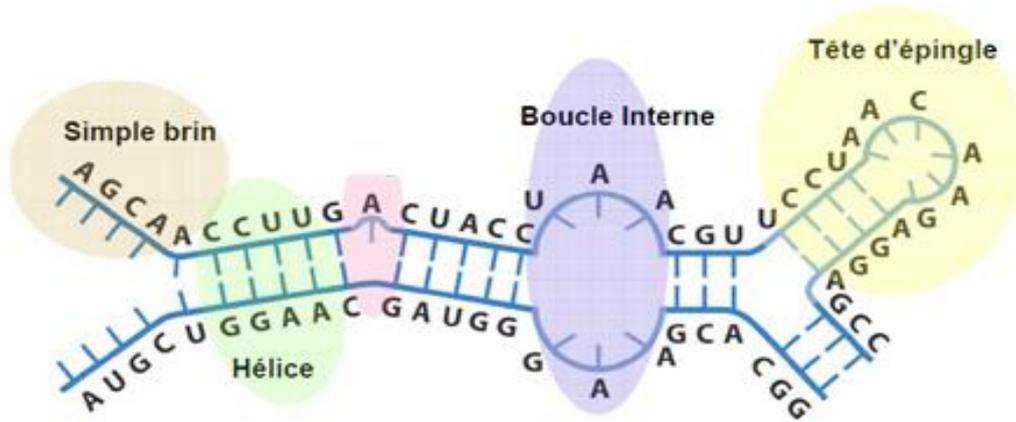
La plupart des ARN naturels sont présents sous forme monocaténaire (simple brin) dans la cellule, contrairement à l'ADN qui est sous forme d'un double brin apparié. Les brins d'ARN se replient le plus souvent sur eux-mêmes, formant une **structure intramoléculaire** qui peut être très stable et très compacte.

La base de cette structure est la formation de deux types d'appariements internes :

- Les appariements conventionnels de type **Watson et Crick** (A-U ; G-C)
- Les appariements non conventionnels de type **Wooble** (G-U)

**La description des appariements internes entre les bases d'un ARN s'appelle la structure secondaire.**

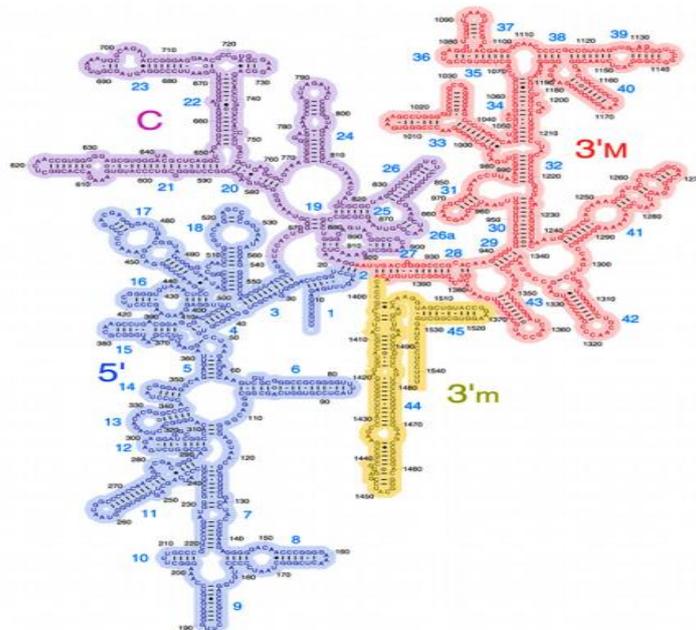
Cet ensemble d'appariements ainsi que la présence de bases modifiées induisent une topologie particulière, composée de régions en hélice (tiges) et de régions non-appariées (boucles). On parle par exemple de structure en "épingle à cheveux" ou "tige-boucle".



Les ARN peuvent former :

- Différentes structures secondaires grâce à des **appariements et repliements internes** :

*Exemple : ARNr 16S (E. coli)*



- Des **double brins ARN/ARN** : cas des virus à ARN double brin, hybridation transitoire de l'ARNm et de l'ARNt au cours de la **traduction**

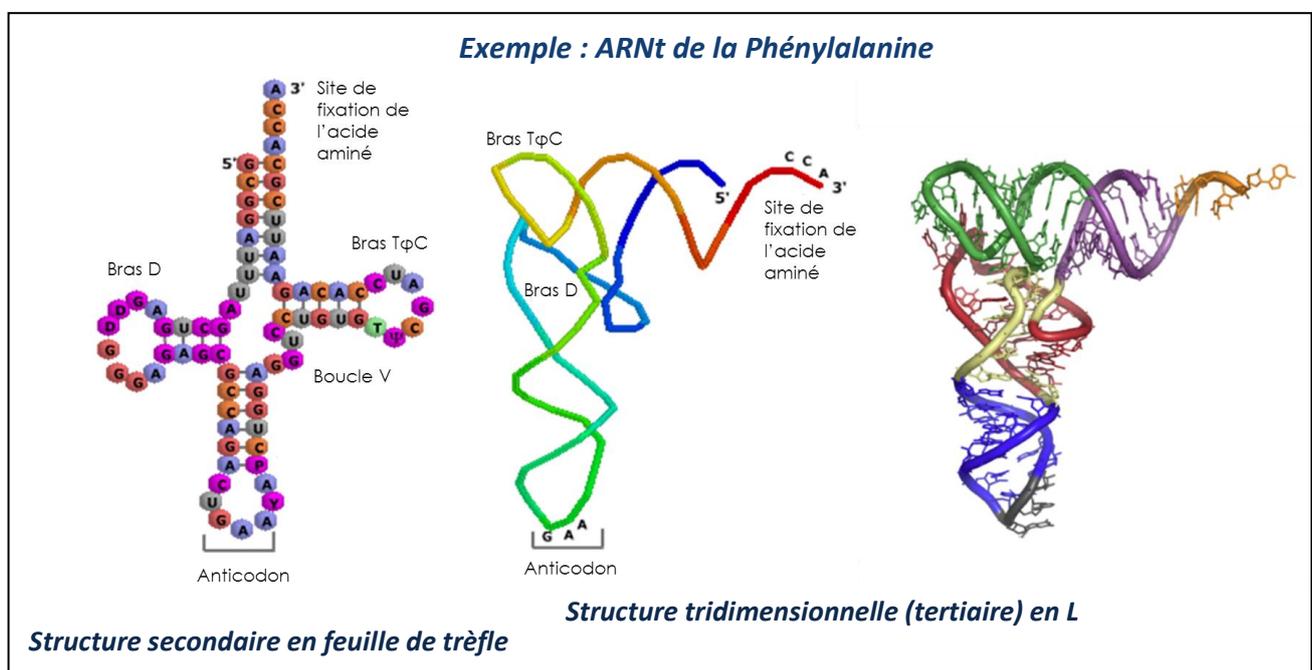
- **Des doubles brins ADN/ARN** : exemple : lors de la **transcription** on assiste à une hybridation ADN/ARN transitoire

## 4. Structure tertiaire

La structure secondaire des ARN peut être complétée par des interactions à distance de différentes régions qui définissent alors une **structure tridimensionnelle** ou structure tertiaire.

### Exemple : les ARN de transfert (ARNt) :

- Structure secondaire caractéristique en **feuille de trèfle**
- Ils représentent **15%** des ARN totaux
- Servent à "traduire" les codons de l'ARNm en acides aminés : Ils se fixent sur les sites du ribosome où va être lu l'ARNm
- Leurs extrémités 3'OH se terminent toujours par le triplet de nucléotides **CCA**. C'est au niveau de cette extrémité que se fixent les acides aminés au cours de **la traduction**. Chaque acide aminé se fixe sur son ARNt spécifique (mais plusieurs ARNt peuvent transporter le même acide aminé, ils sont appelés **ARNt isoaccepteurs**) et sera transféré à la protéine en formation
- Contiennent une région appelée **boucle de l'anticodon** constituée d'un triplet de nucléotides dont les bases sont complémentaires de l'un des codons de l'ARNm
- Contiennent des **bases modifiées** (ex : l'inosine qui est un dérivé d'adénine)
- La feuille de trèfle subit d'autres repliements qui créent une **structure tertiaire** compacte en **forme de L** maintenue par des liaisons hydrogène supplémentaires entre les différentes régions de la molécule



## 5. Structure quaternaire

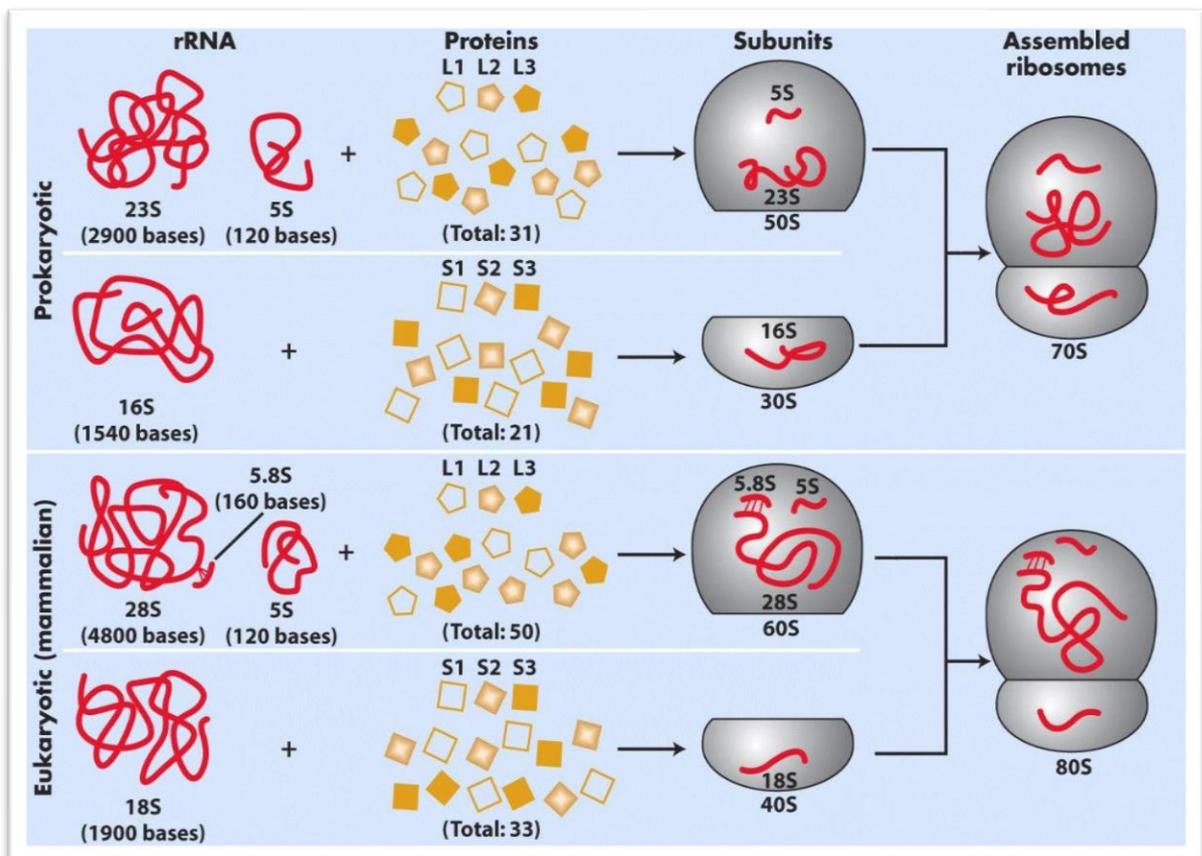
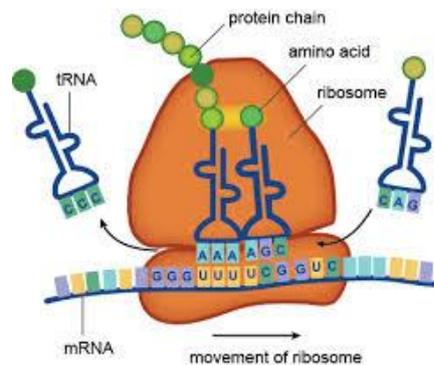
Certains ARN peuvent s'associer à des protéines spécifiques et former ainsi une structure quaternaire.

### Exemple : les ARN ribosomiaux (ARNr) :

- Ils représentent **80%** des **ARN totaux**
- Ils s'associent à des protéines (65% ARNr et 35% protéines) pour former les **ribosomes**, organites cellulaires indispensables à la synthèse des protéines (traduction)
- Ils sont nommés en fonction de leur vitesse de sédimentation après ultracentrifugation exprimée par S (S = unité Svedberg = unité de densité)

#### • Rôles des ARN ribosomiques :

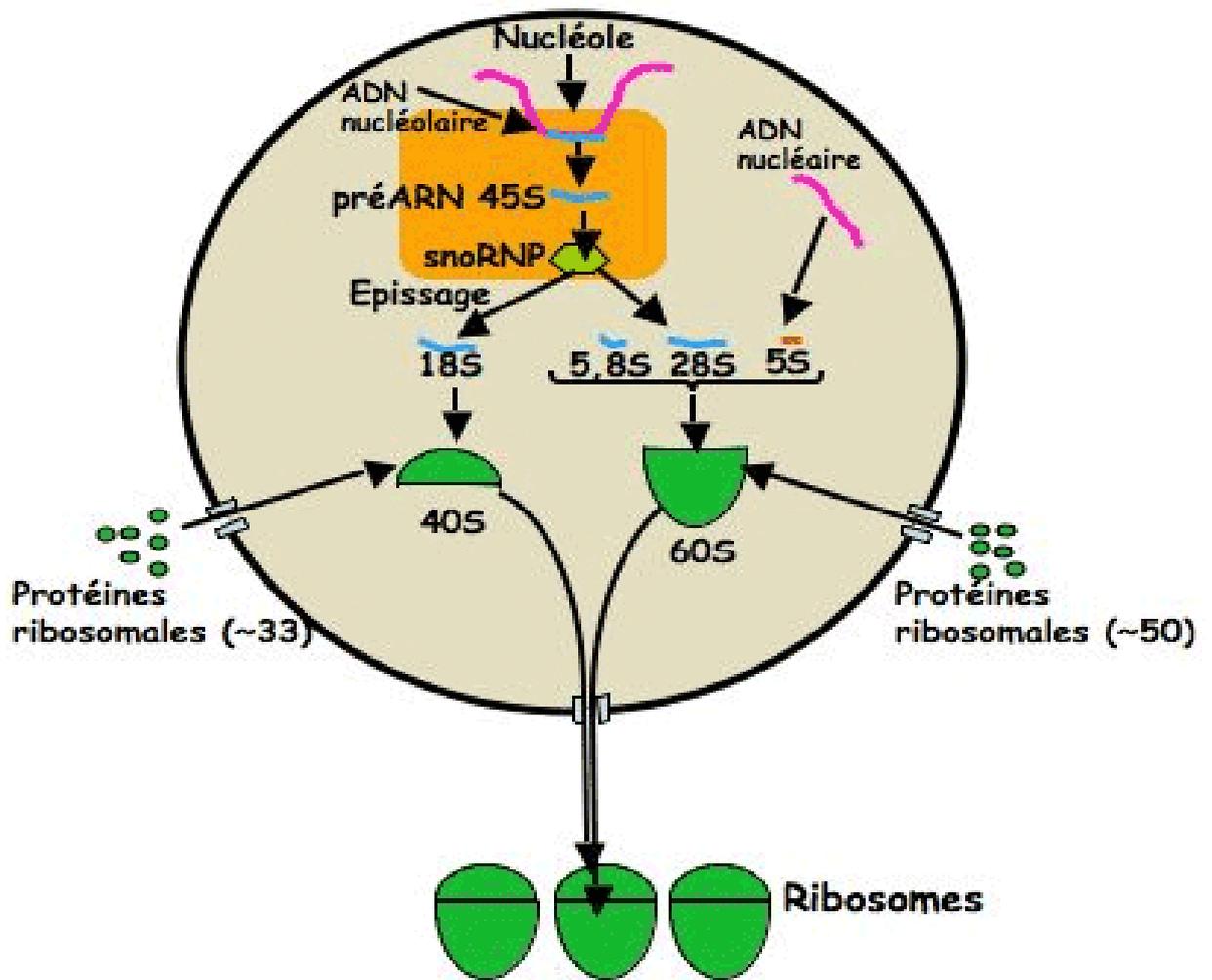
- Rôle structurale (ribosomes)
- Rôle fonctionnel (traduction)



### *Assemblage des ribosomes chez les procaryotes et les eucaryotes*

**S** : constante de Svedberg = unité de mesure du taux de sédimentation

## Biogenèse des ribosomes Eucaryotes



# Chapitre III. Propriétés physico-chimiques des Acides Nucléiques

## 1. Solubilité

- L'ADN et l'ARN sont **chargés négativement** en raison des groupements phosphate
- **Solubilité élevée dans l'eau** (groupes hydrophiles phosphates-sucres à l'extérieur alors que les bases hydrophobes sont masquées)
- En présence de sels de sodium, l'ADN et l'ARN **précipitent dans l'éthanol et l'isopropanol** sous forme d'agglomérat en longues fibres (**méduse**). Cette propriété permet leur purification (voir cours et TP)

## 2. Densité

La densité ( $d$ ) des acides nucléiques est proportionnelle au pourcentage de C+G. Ceci est dû à la présence des 3 liaisons hydrogène qui rendent la molécule plus compacte et donc plus dense.

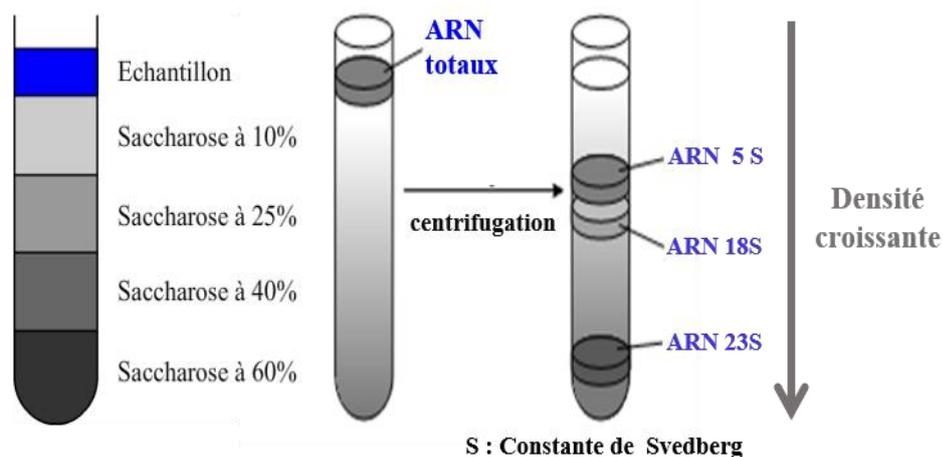
Il y a une relation entre le pourcentage de (C+G) et la densité ( $d$ ) :

$$d = 1,66 + 0.001x \%(G+C)$$

La densité des acides nucléiques peut être déterminée par la technique **d'ultracentrifugation en gradient de chlorure de césium (CsCl)** (voir cours).

La densité de l'ADN dénaturé est plus élevée que celle de l'ADN double brin. L'ARN est plus dense que l'ADN qui est lui-même plus dense que les protéines.

### *Exemple : Séparation des ARNr par centrifugation en gradient de Saccharose*



### 3. Poids Moléculaire

- L'ADN des organismes vivants est de grande taille et a un poids moléculaire (PM) très élevé.

Le poids et la taille de l'ADN varie d'un organisme à un autre.

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

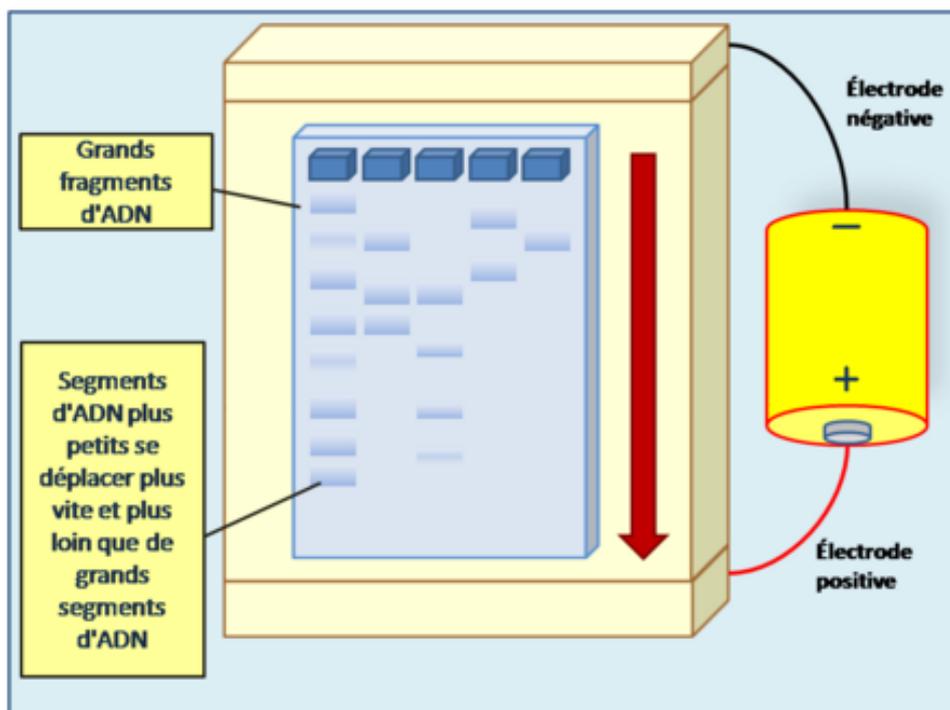
Connaissant la longueur d'un nucléotide (3,4 Å) et son poids moléculaire moyen (~330 Da (g/mol)), on peut déduire le poids moléculaire de la molécule d'acide nucléique

ADN d'une cellule

	taille	masse	longueur
adénovirus	≈ 35 10 <sup>3</sup> pb	≈ 10 <sup>7</sup> Da	≈ 1,1 10 <sup>-6</sup> m
E. coli	≈ 3,5 10 <sup>6</sup> pb	≈ 10 <sup>9</sup> Da	≈ 1,3 10 <sup>-3</sup> m
homme	≈ 2 x 3 10 <sup>9</sup> pb	≈ 10 <sup>12</sup> Da	≈ 2 m

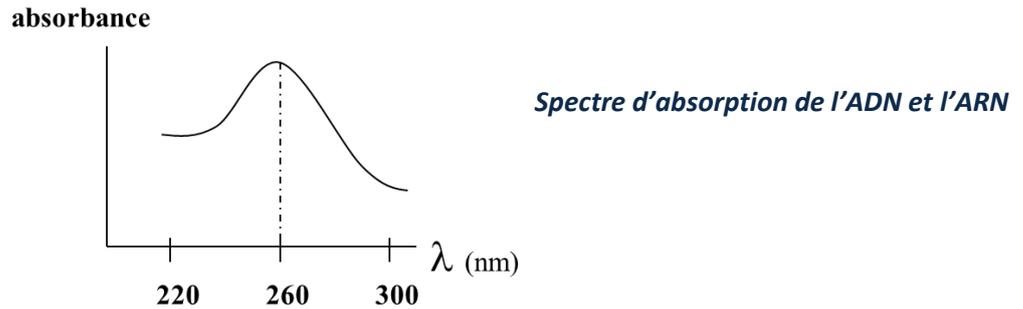
1 kpb = 1000 pb, 1 Mpb = 1 000 000 pb...

- La taille de l'ADN peut être déterminée par électrophorèse sur gel d'agarose :



## 4. Absorption dans la lumière Ultra-Violette

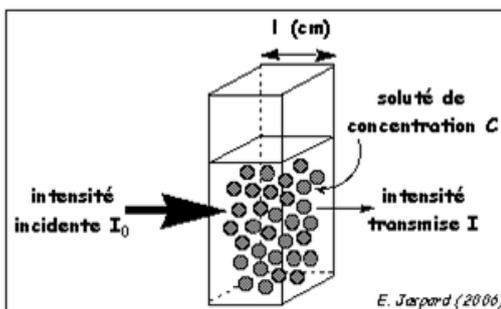
L'ADN et l'ARN absorbent dans l'ultraviolet du fait des bases puriques et pyrimidiques avec un maximum à 260 nm.



L'absorbance (ou la densité optique) à 260 nm ( $DO_{260nm}$ ) des acides nucléiques peut être mesurée à l'aide d'un **spectrophotomètre**. Elle est fonction, selon **la loi de Beer-Lambert**, de la concentration de la solution

$$DO_{260nm} (A) = \log (I_0/I) = \epsilon \cdot L \cdot C$$

- A = absorbance sans unité
- $I_0$  = intensité lumineuse incidente (avant interaction avec le soluté)
- I = intensité lumineuse transmise
- $\epsilon$  = coefficient d'extinction ou d'absorbance (qui dépend de la longueur d'onde)
- l = longueur du trajet optique (en cm)
- C = concentration de la solution (l'unité dépend de celle du coefficient d'extinction)
  - Si la concentration de la solution est en M (moles/l ou mol.L<sup>-1</sup>),  $\epsilon$  est en M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> et on l'appelle coefficient d'extinction molaire :  $\epsilon_M$
  - Si la concentration du soluté est en % (masse/volume),  $\epsilon$  est en g<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup> et on l'appelle coefficient d'extinction pondéral :  $\epsilon_{\%}$



*Cuve à spectrophotomètre en quartz*

## 5. Dénaturation / Renaturation de l'ADN

Les deux brins de la double hélice d'ADN ont la capacité de se séparer facilement par rupture des liaisons hydrogène entre les paires de bases c'est ce qu'on appelle la **dénaturation ou la fusion**.

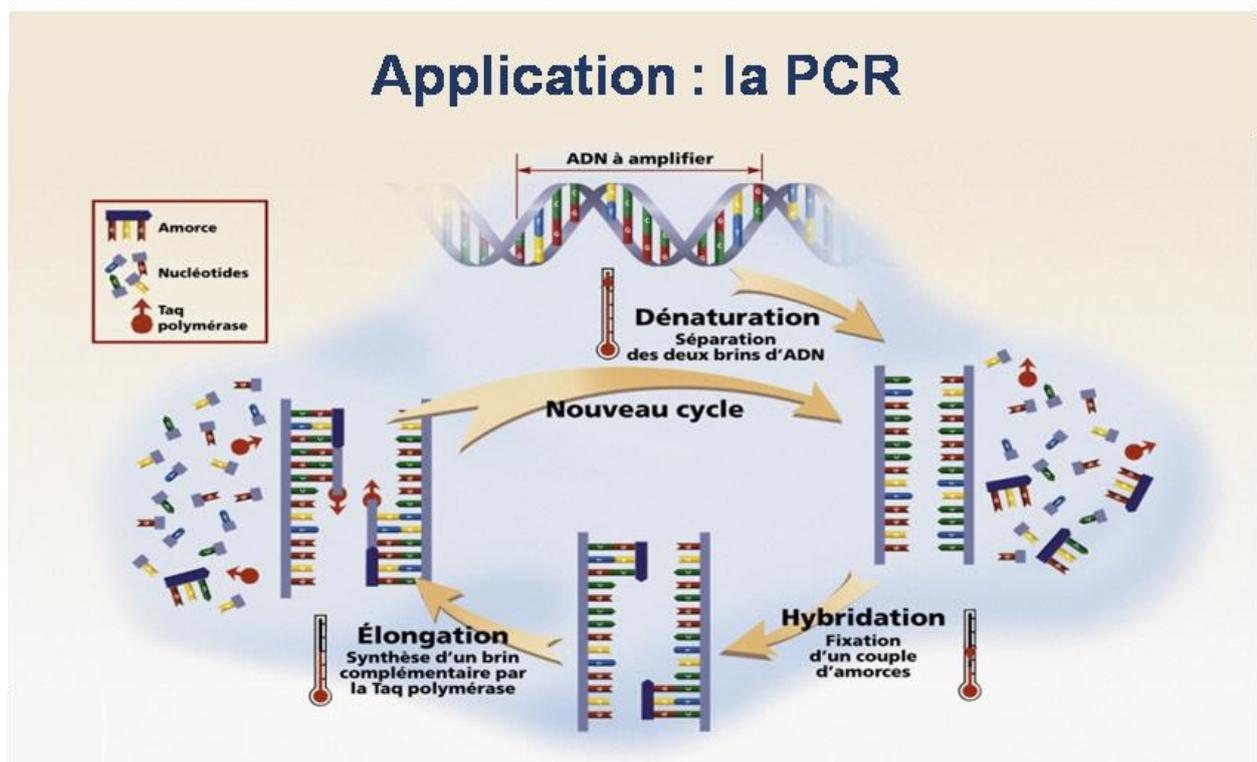
Les brins d'ADN dénaturé peuvent facilement reformer la molécule double brin de départ par reformation des liaisons hydrogène. C'est la **renaturation ou l'hybridation**.

La dénaturation peut être obtenue en chauffant une solution d'ADN et la renaturation par diminution progressive de la température.

Le phénomène de dénaturation/renaturation est donc **réversible** et peut être facilement suivie par mesure de la **densité optique à 260 nm (DO<sub>260nm</sub>)** à l'aide d'un spectrophotomètre (voir TP).

Cette propriété de dénaturation et de renaturation de l'ADN est utilisée dans de nombreuses techniques de biologie moléculaire telle que la **PCR** (Polymerase Chain Reaction) :

Il s'agit d'une réaction cyclique d'amplification de fragments d'ADN in vitro. On parle également de **réplication ciblée in vitro**. Avant la réaction, tous les acteurs de la PCR sont introduits dans le même tube : l'ADN à amplifier, les amorces (2 oligonucléotides identiques aux extrémités 5' et 3' du gène à amplifier), l'ADN polymérase (il s'agit souvent de la Taq polymérase qui résiste à de hautes températures) + les 4 désoxynucléotides constituant de l'ADN ajoutés en large excès. Chaque cycle est composé de 3 étapes : Dénaturation (95°C), Hybridation (42-65°C) et Elongation (72°C) :

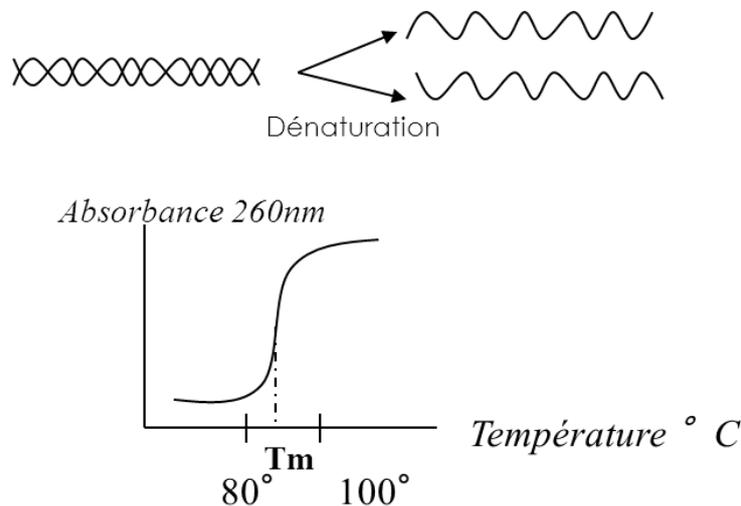


## 6. Effet hyperchrome de l'ADN

Lorsqu'une solution aqueuse d'ADN (solubilisé) est chauffée, on observe une augmentation de la  $DO_{260nm}$ . C'est ce que l'on appelle l'**effet hyperchrome**.

En effet, dans l'ADN et dans l'ARN, les bases sont empilées au sein de la double hélice, ceci conduit à une baisse de leur absorption dans l'UV. Lorsque l'appariement des bases est rompu, par exemple lorsque l'on chauffe la solution, les deux brins se séparent, les bases sont exposées au solvant aqueux et leur absorption augmente de 20 à 40 % par rapport à l'état apparié en duplex. En suivant l'absorption d'une solution d'ARN ou d'ADN en fonction de la température, il est possible de déterminer la **température de fusion**.

La **température de fusion** ou **T<sub>m</sub>** est la température à laquelle la molécule d'ADN est à moitié dénaturée par rupture des liaisons hydrogène. Elle dépend de la longueur de la molécule d'ADN, en effet les petites molécules sont moins stables et ont donc une température de fusion plus faible. Elle dépend également de la richesse en paires de bases C-G. En effet, plus le pourcentage en C+G est élevé plus la température de fusion est élevée. Ceci s'explique par l'existence de 3 liaisons hydrogène entre les bases C et G alors qu'entre les bases A et T il n'y a que 2 liaisons hydrogène. Le T<sub>m</sub> de l'ADN humain est de **86°C** et la dénaturation complète a lieu à **95°C**.



## 7. Hydrolyse des Acides Nucléiques

L'hydrolyse d'un polynucléotide peut générer plusieurs fragments facilitants ainsi l'analyse des acides nucléiques.

### 7.1 Hydrolyse chimique

- **Hydrolyse acide**

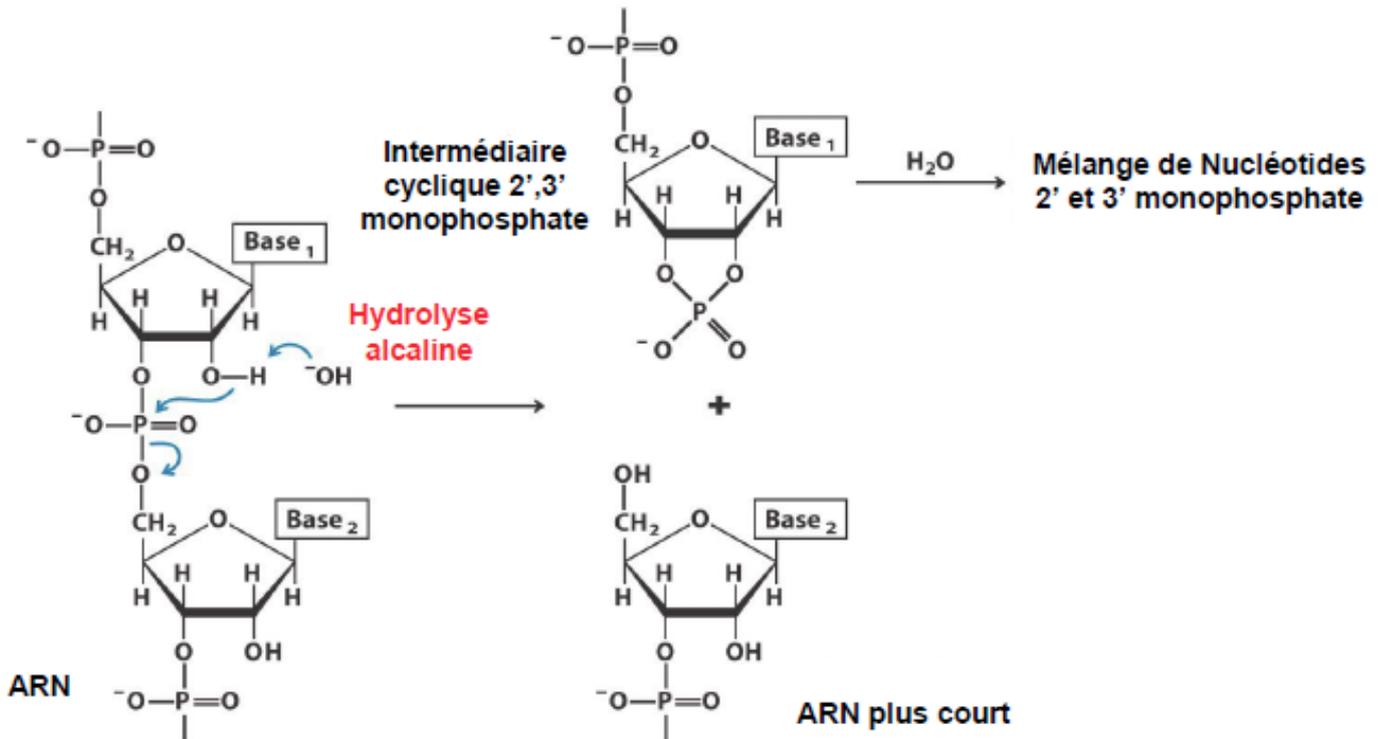
Le traitement de l'ADN par une solution **acide à faible concentration** (HCl 1mM) conduit au clivage spécifique des liaisons **N-osidiques entre les purines et le 2'-désoxyribose**. On obtient un ADN dépourvu de ses purines appelé **acide apurinique**.

Le même traitement n'a aucun effet sur l'ARN.

- **Hydrolyse alcaline**

Les ARN sont totalement et rapidement (en quelques minutes) hydrolysés en leurs ribonucléotides par un traitement alcalin (ex : 37°C, pH11). C'est la présence du 2'OH libre qui permet cette hydrolyse qui donne un intermédiaire cyclique 2'-3' Phosphate, aboutissant à un mélange de nucléotides 2'Phosphate ou 3'Phosphate.

L'ADN est résistant au traitement alcalin car il ne dispose pas de 2'OH.



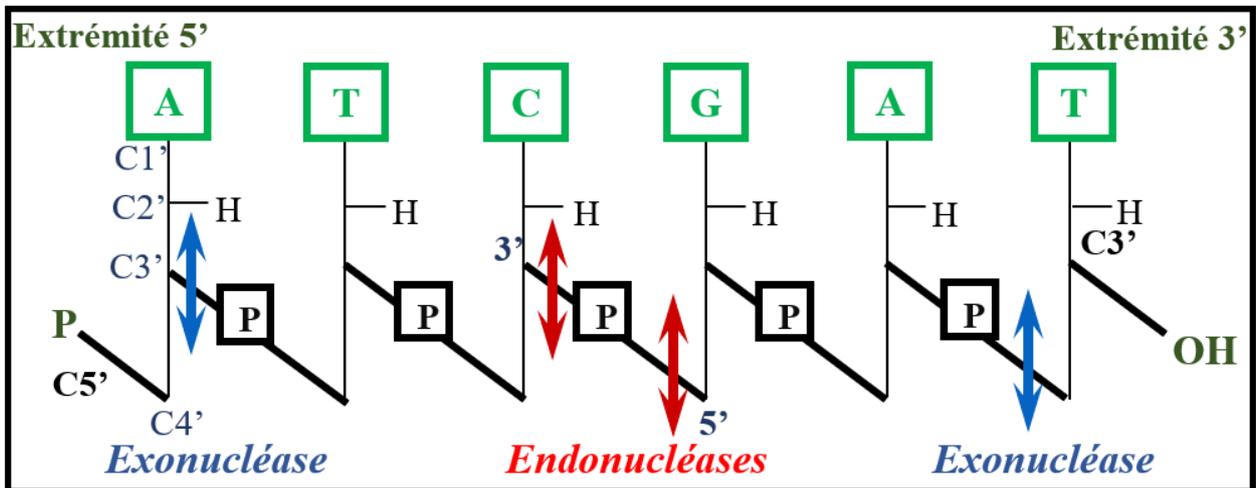
## 7.2 Hydrolyse enzymatique

Les enzymes qui hydrolysent les acides nucléiques sont des **nucléases** qui existent dans presque toutes les cellules. Elles ont un rôle important dans le métabolisme des acides nucléiques.

Ces enzymes catalysent l'hydrolyse de la liaison phosphodiester et sont alors appelées **phosphodiesterases**.

Les nucléases sont classées selon

- Le niveau de clivage de la chaîne :
  - Les **exonucléases** catalysent les coupures à partir de l'extrémité de la chaîne
  - Les **endonucléases** catalysent les coupures à l'intérieur de la chaîne
- Le substrat :
  - ADN, ARN ou les deux
  - Acide nucléique simple ou double brin
- Le type de coupure de la liaison phosphodiester (5' ou 3')



- *Exemples d'Exonucléases*

Enzymes	Substrats	Type de coupure	Spécificité coupure commence par	Produits
Phosphodiesterase de venin de Serpent	ARN, ADN sb	3'	Extrémité 3'	5'-NMP, 5'-dNMP
Phosphodiesterase de la rate de bœuf	ARN, ADN sb	5'	Extrémité 5'	3'-NMP, 3'-dNMP
Exonucléase I d' <i>E. coli</i>	ADN sb	3'	Extrémité 3'	5'-dNMP
Exonucléase III d' <i>E. coli</i>	ADN db	3'	Extrémité 3'	5'-dNMP+ADN sb

sb : simple brin, db : double brin ; NMP : nucléoside monophosphate, d : désoxy

- *Exemples d'Endonucléases*

Enzymes	Substrats	Type de coupure	Spécificité coupure	Produits
Endonucléases S1	ARN, ADN sb et db	3'	aléatoire	5'-NMP+oligonucléotide 5'-P, 5'-dNMP+ désoxyoligonucléotide 5'P
Ribonucléase de T1 (RNase T1)	ARN sb	5'	Lorsque qu'une G est du côté 3' de la liaison Phosphodiester	3'-NMP+oligonucléotide 3'P
RNase pancréatique	ARN sb	5'	Lorsque qu'une Pyrimidine est du côté 3' de la liaison Phosphodiester	3'-NMP + oligonucléotides 3'P
DNase th thymus	ADN sb	5'	Entre Pyrimidine et Purine	désoxyoligonucléotides 3'P

- *Les Enzymes de restriction*

Les enzymes de restriction sont des endonucléases capables de reconnaître une séquence spécifique d'une molécule d'ADN et de la couper. Elles possèdent donc un site actif d'hydrolyse de l'ADN ainsi qu'un site de reconnaissance de la séquence cible, appelé **site de restriction**. Chaque enzyme de restriction reconnaît et coupe spécifiquement une séquence particulière de bases nucléotidiques, de quatre à une dizaine de paires de bases.

Les enzymes de restriction ont été mises en évidence chez les bactéries dans les années 50. Elles constituent un mécanisme de défense contre les infections par des virus. En effet, elles coupent en petit morceaux l'ADN de ces intrus, ce qui restreint leur infectiosité (d'où le nom de ces enzymes). Les bactéries sont elles-mêmes protégées contre ces endonucléases car elles méthylent leur propre génome, ce qui empêche ces enzymes de reconnaître l'ADN bactérien comme une cible.

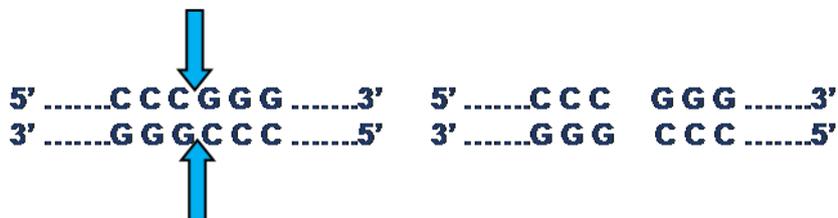
Plus de 500 enzymes de restriction ont été isolées à partir de procaryotes (voir exemples dans le tableau ci-dessous) et sont largement utilisées dans les techniques de biologie moléculaire pour extraire ou recombiner des morceaux d'ADN lors de clonages.

Les plus utilisées sont les enzymes de types II :

- Elles reconnaissent des **séquences palindromiques** de 4-8 paires de bases. Il s'agit de deux brins d'ADN complémentaires constitués d'une succession identique de nucléotides. La même séquence est lue dans la direction 5'→3' sur les deux brins. Il existe alors une sorte d'axe de symétrie dans le site de reconnaissance.

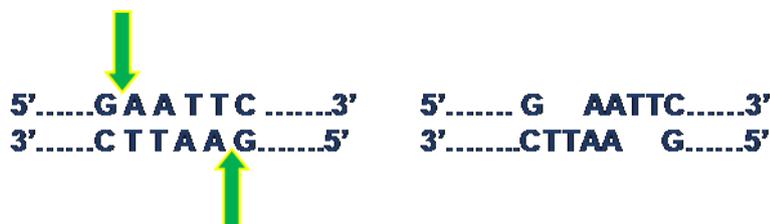
- Elles effectuent une coupure sur les 2 brins
- Il existe deux types d'enzymes selon le mécanisme de coupure :
  - ER coupant au niveau de la même paire de bases générant des **extrémités franches** :

**Exemple : Sma I**



- ER générant des **extrémités cohésives** (collantes) :

**Exemple : EcoR I**



- *Exemples d'enzymes de restriction :*

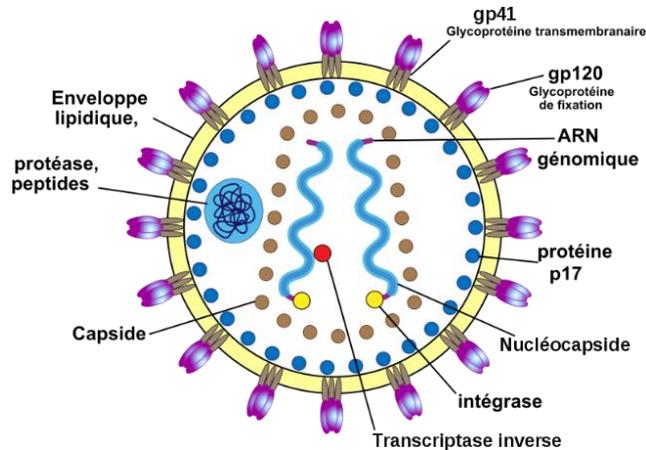
Enzyme	Source	Séquence reconnue	Coupure
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i>	5'GAATTC 3'CTTAAG	5'—G      AATC—3' 3'—CTTAA      G—5'
<i>BamHI</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5'GGATCC 3'CCTAGG	5'—G      GATCC—3' 3'—CCTAG      G—5'
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	5'AAGCTT 3'TTCGAA	5'—A      AGCTT—3' 3'—TTCGA      A—5'
<i>AluI</i>	<i>Arthrobacter luteus</i>	5'AGCT 3'TCGA	5'—AG      CT—3' 3'—TC      GA—5'

Les produits obtenus d'une digestion d'une molécule d'ADN par une enzyme de restriction peuvent être séparés et visualisés par une électrophorèse en gel d'agarose ou de polyacrylamide.

# Chapitre IV. Organisation cellulaire des acides nucléiques

## 1. Virus

Chez les virus la molécule d'ADN ou d'ARN, généralement de petite taille, peut être double ou simple brin. L'acide nucléique viral est souvent associé à des protéines qui forment la capsid (enveloppe virale).

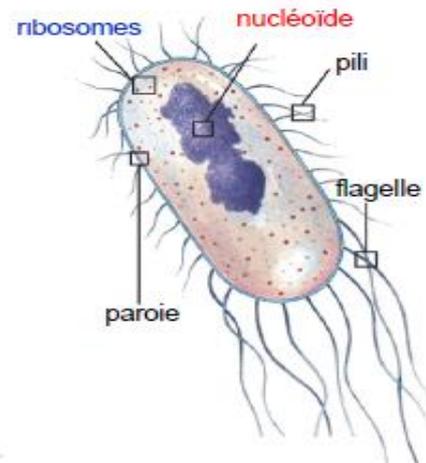


*Exemple : représentation schématique du virus du Sida (HIV)*

## 2. Bactéries

Chez les bactéries, l'ADN, le plus souvent double brin et circulaire, se condense en super hélices et s'associe à des protéines pour former le nucléoïde (qui n'est pas entouré d'une enveloppe).

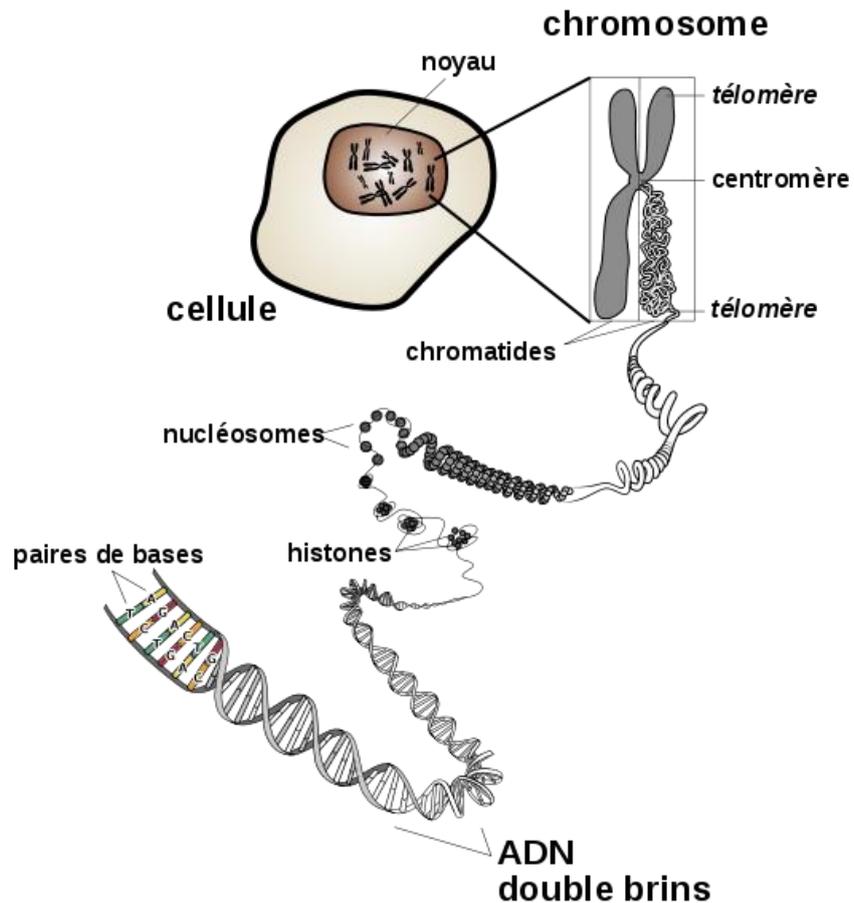
Certaines bactéries possèdent en plus du chromosome bactérien de petites molécules d'ADN (plasmides) en copies variables.



## 4. Eucaryotes

L'ADN de mammifères peut atteindre **2 mètres de long par cellule**. Il se pose donc le problème de l'empaquetage d'une molécule de cette taille dans un noyau dont le diamètre ne fait que  $5\mu\text{M}$ . La molécule d'ADN doit donc être repliée, compactée pour pouvoir être emballée dans un si petit noyau.

En effet, l'ADN des eucaryotes s'associe, contrairement à l'ADN bactérien, à des protéines, les histones, pour former la fibre de **chromatine**. Dans une cellule au repos, la chromatine est dispersée dans le noyau, mais lors des divisions cellulaires, elle s'organise en chromosomes. L'ADN est empaqueté dans un chromosome 50 000 fois plus court que la molécule déroulée. La fibre de chromatine d'un diamètre de 30 nm est constituée de 60% de protéines (histones et non histones), de 35% d'ADN et d'une faible quantité d'ARN.



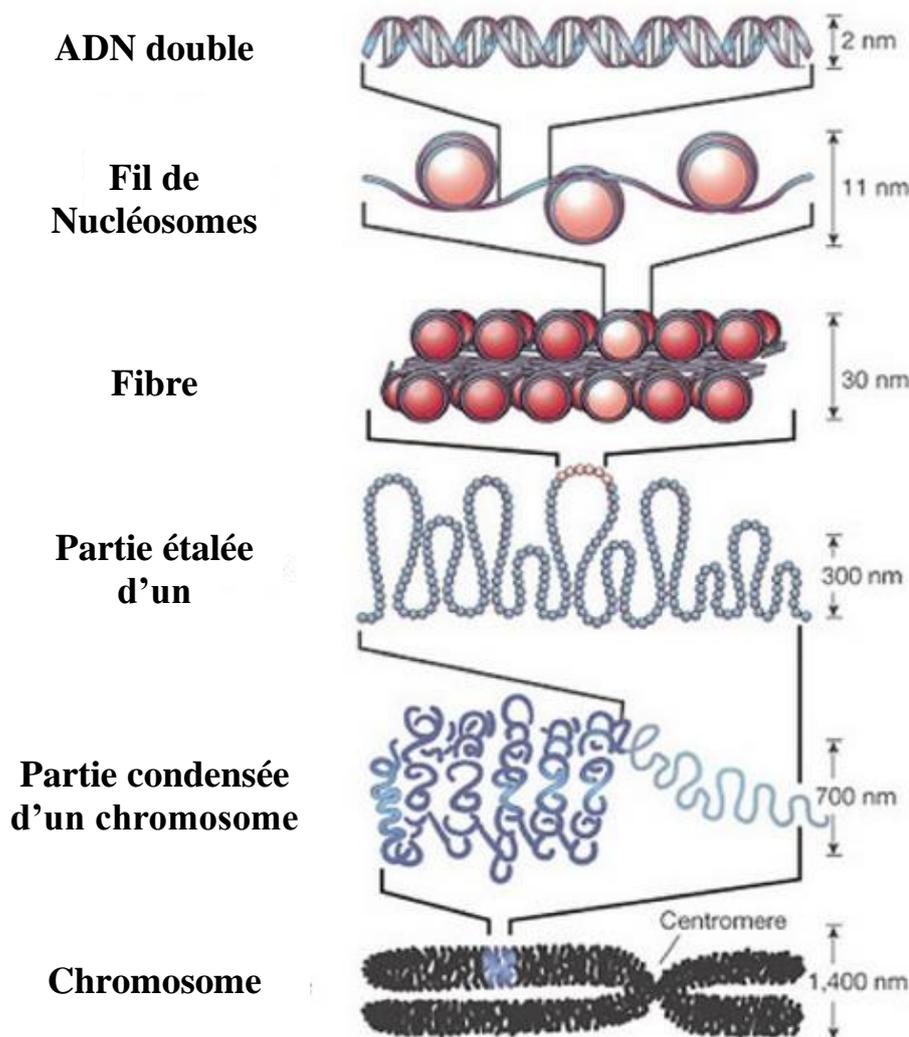
Le **nucléosome** constitue l'unité de base d'organisation de la chromatine. Il s'agit d'un complexe constitué d'un segment d'ADN d'environ 146 nucléotides, enroulé autour d'un octamère d'histones (2 H2A, 2H2B, 2 H3 et 2 H4) formant environ deux tours, selon **une super-hélice** et chaque octamère est séparé du suivant par un segment d'ADN espaceur (ou ADN linker) d'environ 60 paires de bases. L'enchaînement des nucléosomes constitue **le nucléofilament**.



En contrôlant l'accessibilité du double brin d'ADN, le nucléosome est directement impliqué dans la régulation de plusieurs processus nucléaires comme la transcription, la réplication ou la réparation de l'ADN. Il participe aussi à la régulation épigénétique de l'expression des gènes, au travers de la modification de ses histones qui détermine le caractère actif ou silencieux de certaines régions du génome, un processus appelé code des histones.

Le nucléofilament d'un diamètre de **10 nm** s'enroule pour former la fibre de chromatine d'un diamètre de **30 nm**. Cette organisation est responsable de l'aspect en "**collier de perles**" (ou en chapelet) de la fibre élémentaire des nucléosomes (nucléofilament).

Lors des divisions cellulaires, la chromatine forme des boucles qui s'attachent à une structure centrale constituée de protéines non histones. Ce complexe se condense de plus en plus par enroulement pour engendrer le chromosome. Cet enroulement (ou condensation) atteint un degré maximal au stade métaphase.



*Condensation de l'ADN en se liant aux histones pour former la chromatine qui, au cours des divisions cellulaires, se condense de plus en plus pour former les chromosomes*

# Chapitre V. Intérêts de l'étude de la structure des acides nucléiques

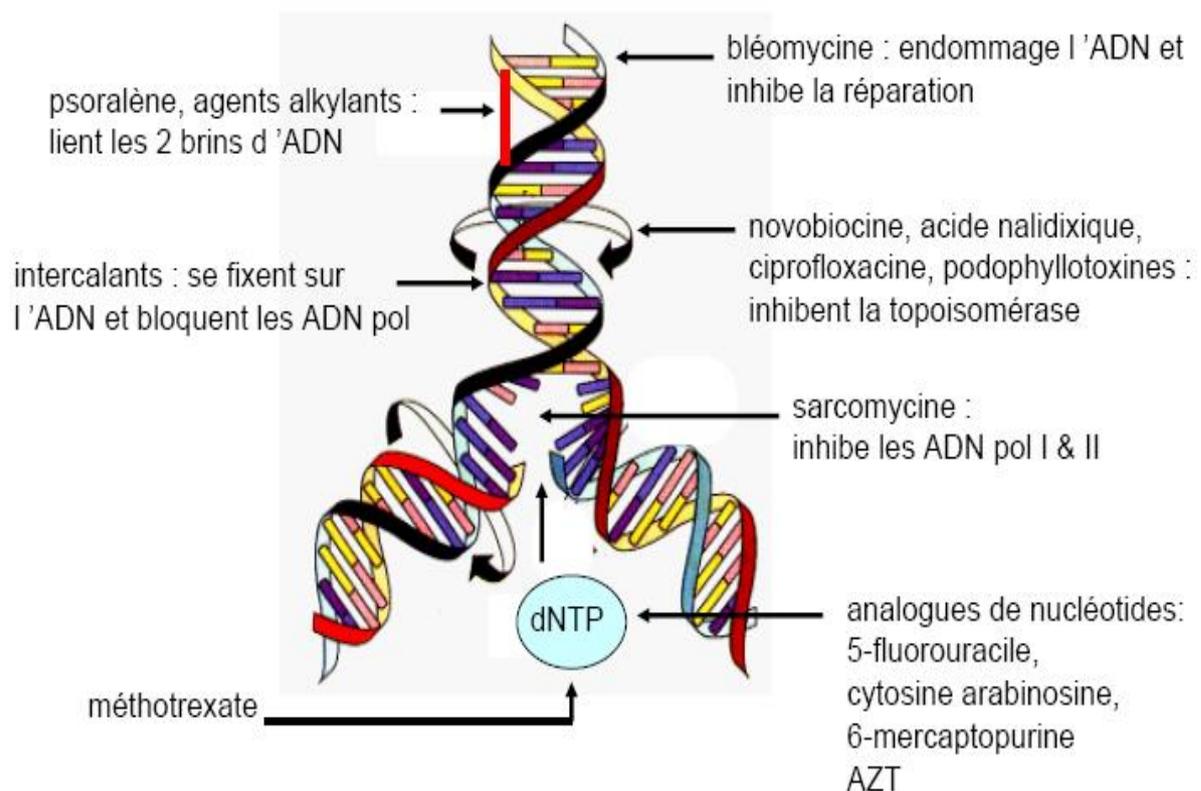
L'étude des acides nucléiques nous a permis d'améliorer notre savoir sur des mécanismes fondamentaux de la cellule, comme la réplication, la transcription ou encore la traduction.

La compréhension de la structure des acides nucléiques a également permis de faire des avancées considérables dans des domaines très variés comme par exemple celui de la santé (diagnostique et thérapeutique), de l'amélioration des plantes, de la phylogénie ou encore celui de la criminalistique.

## 1. Les cibles médicamenteuses

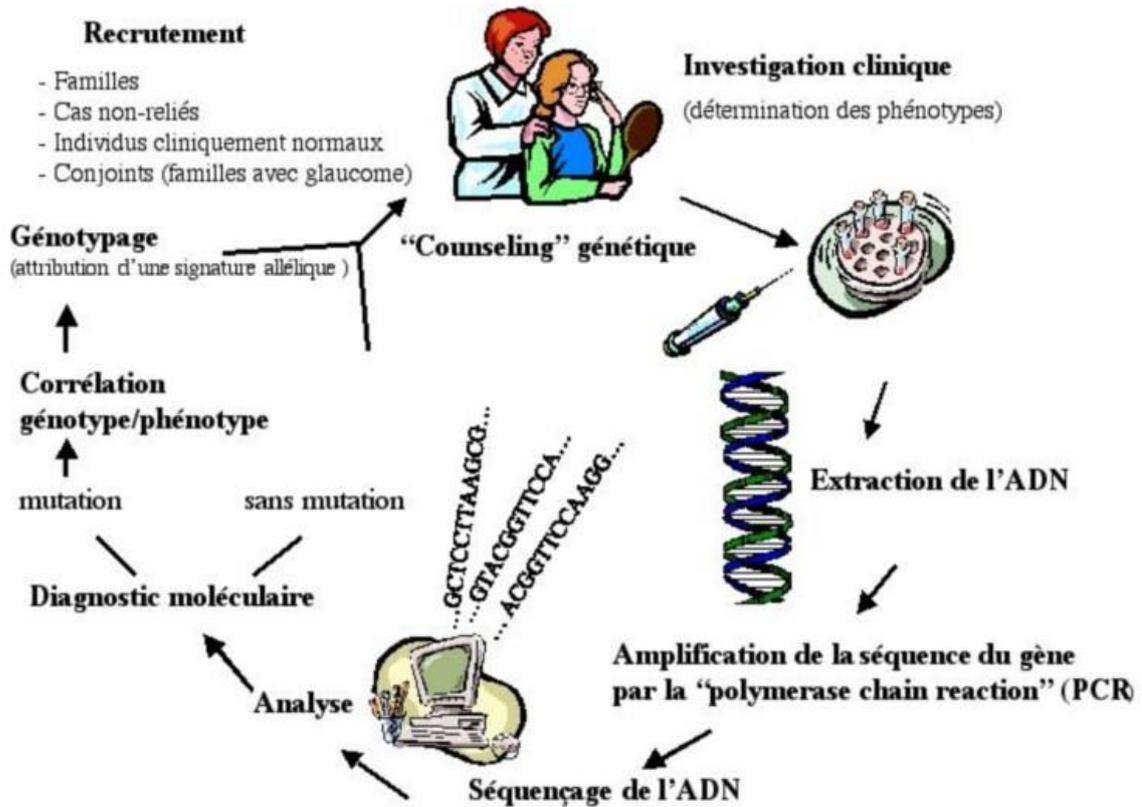
L'analyse de la structure des Acides Nucléiques a permis d'identifier et de synthétiser de nombreux médicaments comme les antibiotiques, antiviraux et antimitotiques :

- L'ARN (ribosome) peut-être inhibé par différents antibiotiques comme le chloramphénicol, la gentamycine ...
- Certaines molécules anticancéreuses (chimiothérapie) ciblent la structure de l'ADN (antibiotiques, analogues de bases, agents intercalants, agents alkylants...):



## 2. Diagnostic moléculaire

Les techniques d'amplification génique (**PCR**), de **séquençage de l'ADN** et de cytogénétique (**caryotype**) permettent aujourd'hui de diagnostiquer de manière sûre et rapide de nombreuses pathologies affectant le règne végétal ou animal (exemples : cancers familiaux, SIDA, Hépatite C, maladies héréditaires...). Le séquençage complet du génome de la plupart des espèces vivantes a d'ailleurs largement contribué à améliorer ce diagnostic.



L'une des techniques de séquençage la plus répandue est la méthode de Sanger (voir cours).

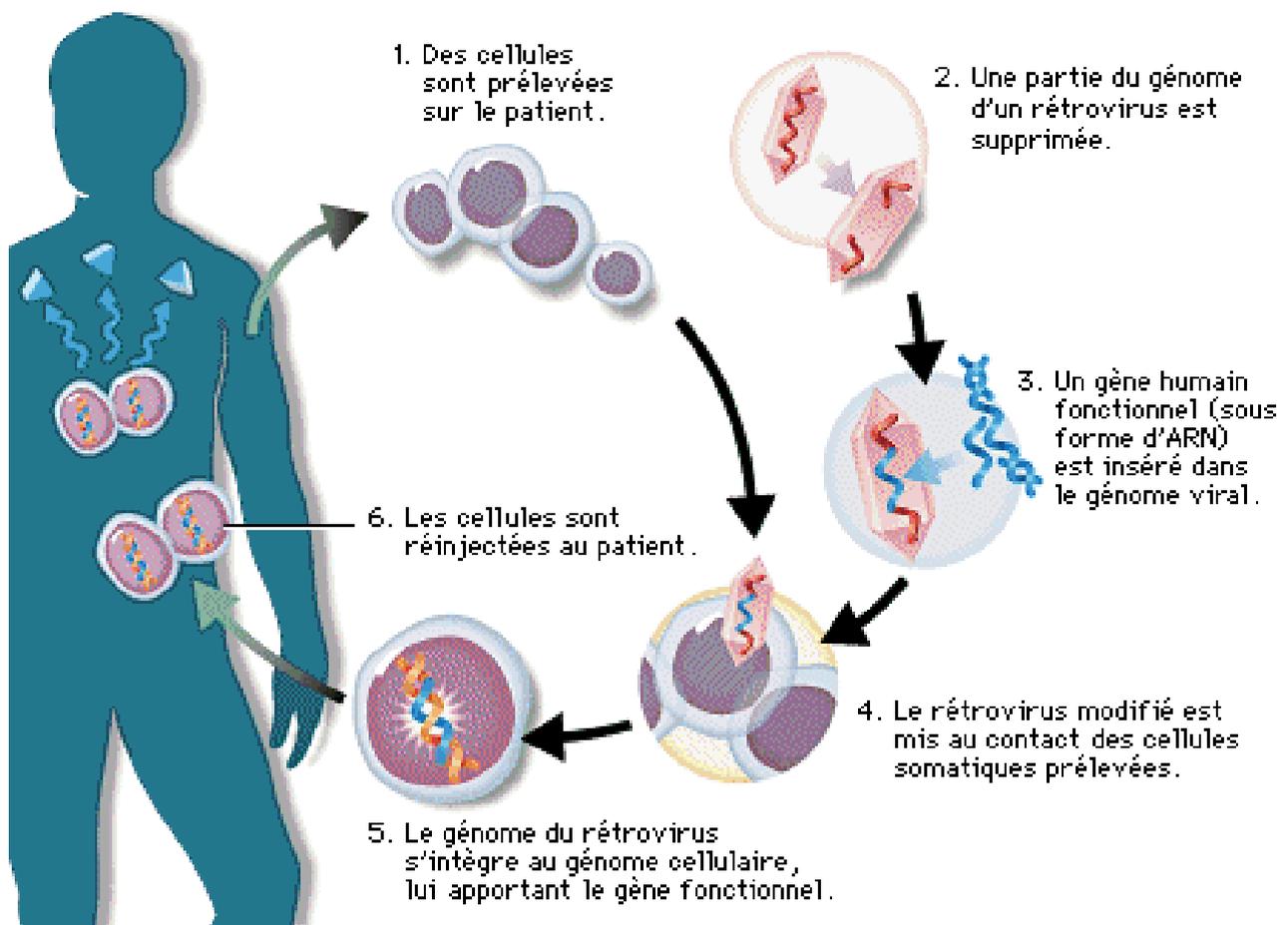
## 3. Clonage de gènes

S'il est possible de cloner un organisme entier (exemple de la brebis Dolly), il est également possible de cloner un gène ou un fragment d'ADN.

Cette opération, appelée clonage moléculaire, largement utilisé en Biologie moléculaire, présente de multiples applications : L'étude de la **structure et de la régulation de certains gènes**; la production d'organismes génétiquement modifiés (**OGM**) pour augmenter un rendement ou une résistance à certains parasites; en pharmacologie, la **production en grandes quantités de protéines eucaryotes** par des bactéries (ex : Insuline). La **thérapie génique** utilise également cette technique.

Le clonage de gènes consiste à découper par des enzymes de restriction puis à insérer le fragment d'ADN correspondant au gène d'intérêt dans une construction que l'on appelle vecteur ou plasmide. Ce plasmide est une molécule d'ADN circulaire qui permet à la fois d'introduire la séquence d'ADN à étudier dans le microorganisme récepteur mais aussi d'assurer le maintien de ce fragment d'ADN d'intérêt dans la cellule hôte de génération en génération au cours des divisions cellulaires. Le plus souvent, on utilise comme organisme hôte une bactérie (la plus communément utilisée étant la bactérie *Escherichia coli*) ou un champignon unicellulaire : la levure *Saccharomyces cerevisiae*. On tire ainsi profit de la grande vitesse de prolifération de ces dernières pour reproduire à l'identique un très grand nombre de copies de ce fragment d'ADN.

### Principe de la thérapie génique



La thérapie génique utilise des acides nucléiques (ADN ou ARN) pour soigner ou prévenir des maladies héréditaires ou non. Selon la pathologie, cet objectif peut être atteint en délivrant aux cellules un gène fonctionnel qui remplace le gène défectueux à l'origine de la maladie (**transgène**), un gène à action thérapeutique, ou encore de l'ARN capable de réguler ou bloquer partiellement l'expression d'un gène altéré. Ces acides nucléiques sont le plus souvent transportés dans les cellules du patient grâce à un vecteur viral, mais ils peuvent également être injectés directement dans les cellules, sous forme d'ADN nu.

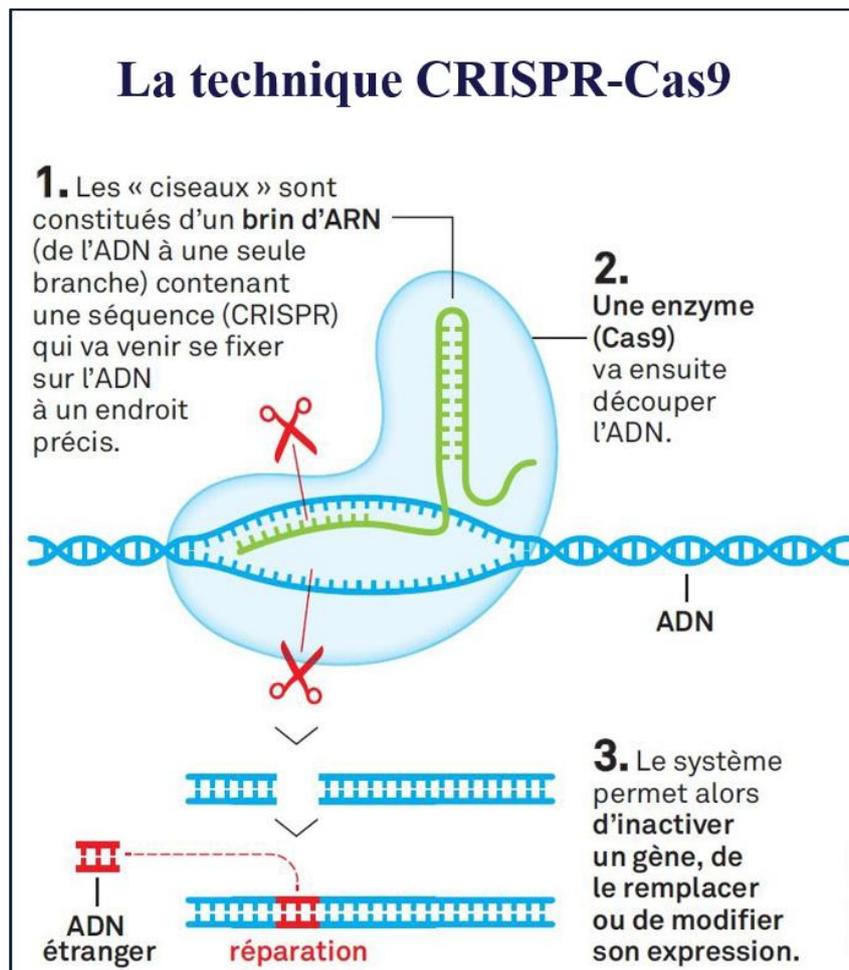
En mars 2017 a d'ailleurs été publié une étude montrant la guérison par thérapie génique d'un enfant atteint d'une forme sévère d'anémie chronique héréditaire incurable jusque là (la drépanocytose) (voir cours pour exemples).

L'avènement en 2012 de l'outil révolutionnaire **CRISPR-Cas9** pourrait reléguer les techniques de clonages au second plan.

## 4. L'outil CRISPR-Cas9

A l'avenir, CRISPR-Cas9 devrait supplanter le clonage animal car il s'agit d'une technique **d'intervention directe sur le génome** "plus facile d'emploi, plus précise et moins coûteuse". On parle de "**ciseaux génétiques**" qui permettent de modifier l'ADN de tout être vivant avec une facilité déconcertante. Ils évitent également certains effets indésirables associés au transfert d'un transgène. Cette technique a permis, pour la première fois, à des chercheurs de modifier des gènes défectueux dans des embryons humains (Août 2017, modification in utero des gènes porteurs d'une maladie héréditaire, la cardiomyopathie hypertrophique).

Dérivé d'un système de défense immunitaire bactérien, CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)-Cas9 (CRISPR related protein 9) utilise une **nucléase Cas9** et un **ARN guide complémentaire** à une séquence de 20 nucléotides d'un gène pour induire des cassures double brins dans l'ADN. Cela permet de modifier spécifiquement le gène ciblé dans des cellules de plantes, d'animaux ou d'humains.



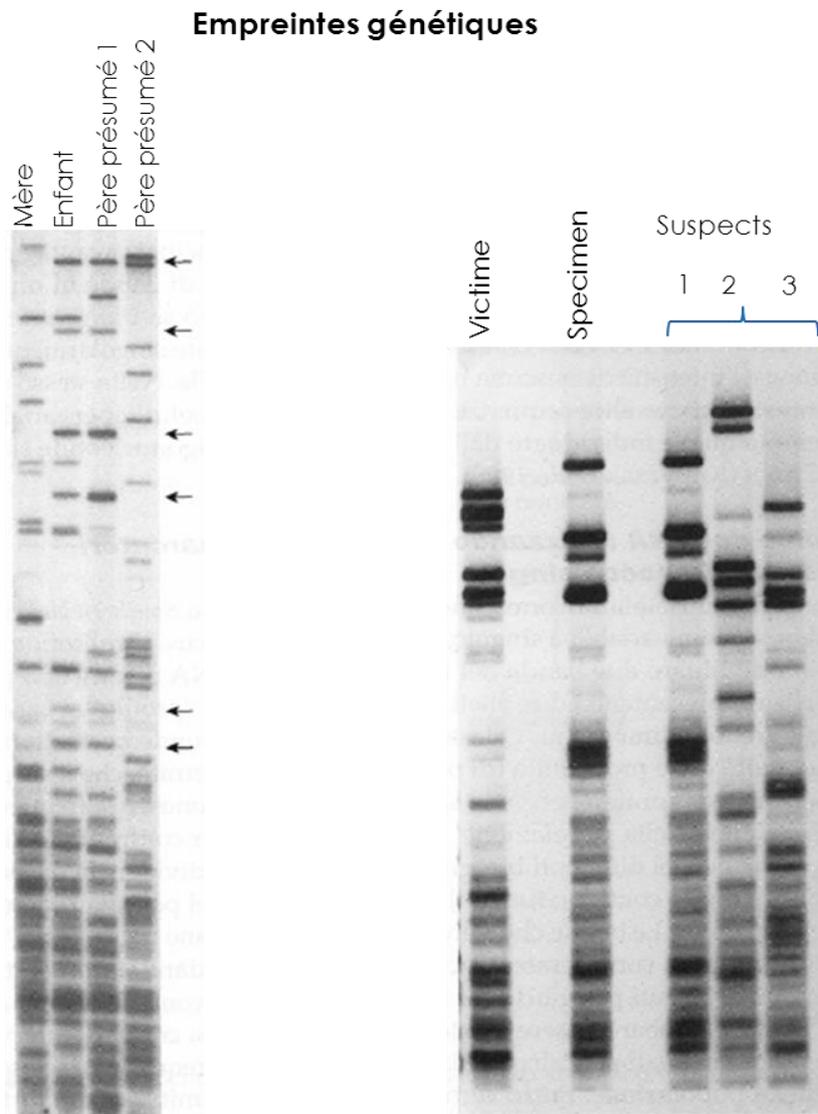
## 5. Phylogénie moléculaire

La parenté entre les organismes vivants est reflétée par le niveau de similarité des séquences primaires de leur ADN et de leurs protéines.

Au cours des 20 dernières années, l'avènement de la PCR et du séquençage de l'ADN a permis l'accès direct aux séquences primaires d'ADN, ce qui a eu pour conséquence de profondément remanier la vision traditionnelle de la classification des organismes (voir cours).

## 6. Identification humaine par empreintes digitales

L'analyse des empreintes digitales permet d'établir, en analysant des séquences spécifiques de l'ADN (séquences microsatellites), "le profil génétique" de chaque individu. Cette approche est utilisée aussi bien en criminalistique qu'en médecine légale ou encore lors de recherches de filiation (test de paternité).



Résultats d'un test de paternité

Recherche en criminalité:  
Résultats d'une comparaison d'ADN

# Chapitre VI. Aperçu sur la Transcription : de l'ADN à l'ARN

## 1. Définitions

La transcription est la copie d'une molécule d'ADN en une molécule d'ARN. Pour un gène donné, un brin, et toujours le même, est transcrit. Les enzymes qui catalysent ce mécanisme sont les ARN polymérases.

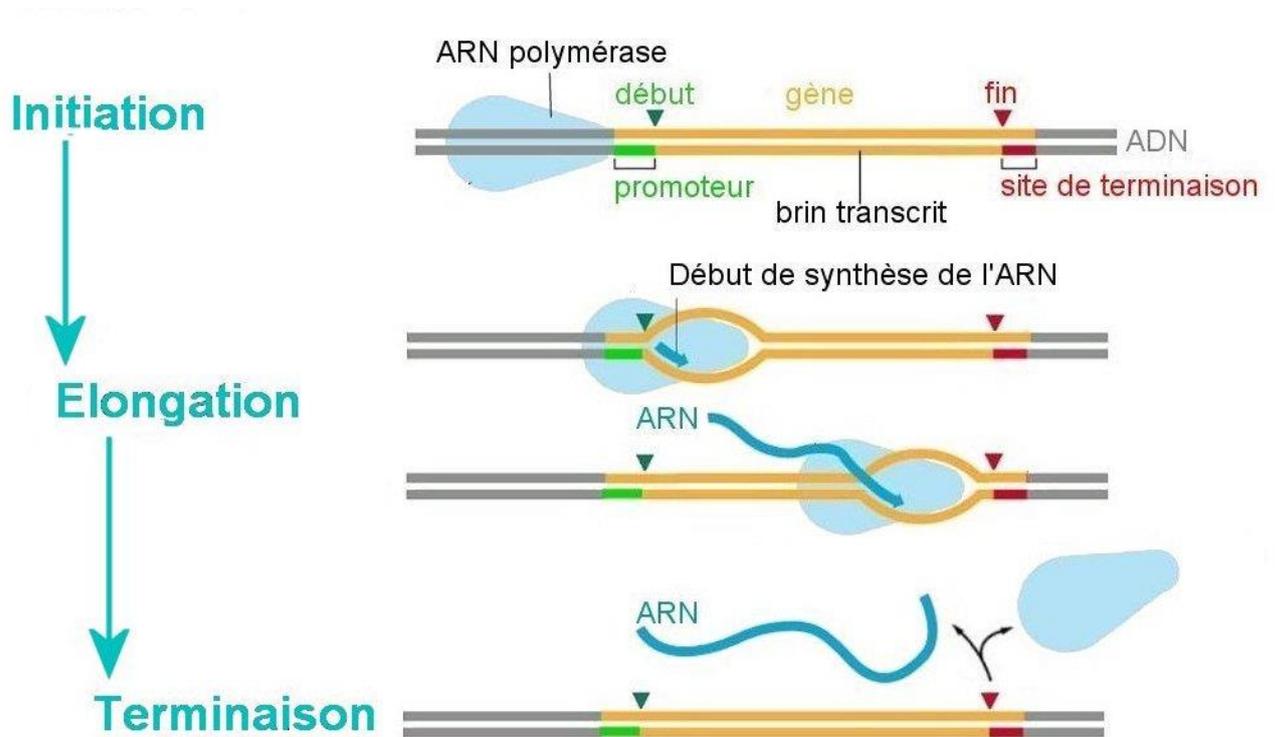
## 2. ARN polymérases

Elles nécessitent pour fonctionner :

- Une matrice : ADN simple ou double brin (brin matrice / anti-sens)
- Des ribonucléosides triphosphates : ATP, UTP, CTP et GTP
- Des ions :  $Mg^{2+}$  et  $Mn^{2+}$
- Chez les **Eucaryotes** : **3 types** d'ARN polymérases : l'**ARN polymérase I** (transcrit les ARNr 5,8S, 18S et 28S) ; l'**ARN polymérase II** (transcrit l'ARNm) et l'**ARN polymérase III** (transcrit les ARNt et ARNr 5S)
- Chez les **Procaryotes** : Il existe **1 seule ARN polymérase** qui catalyse la synthèse des ARNr, ARNt et ARNm
- Les **mitochondries et les bactéries** contiennent une seule ARN polymérase : l'**ARN polymérase IV**

## 3. Mécanismes

- **Initiation** : liaison de l'ARN polymérase sur le **site d'initiation situé sur l'ADN** et ouverture de la double hélice. Formation du premier di-nucléotide
- **Elongation (ou polymérisation)** : l'ARN polymérase se déplace sur la molécule d'ADN tout en **additionnant successivement les nucléotides** (toujours dans le sens **5'-3'** et respect de la complémentarité des bases), formant ainsi le nouveau brin d'ARN. Au fur et à mesure de la polymérisation, les 2 brins d'ADN se referment et l'**extrémité 5' de l'ARN commence à être libérée**
- **Terminaison** : la transcription s'arrête lorsque l'ARN polymérase rencontre le **signal de terminaison**. Il y a alors dissociation du complexe ADN-ARN polymérase-ARN

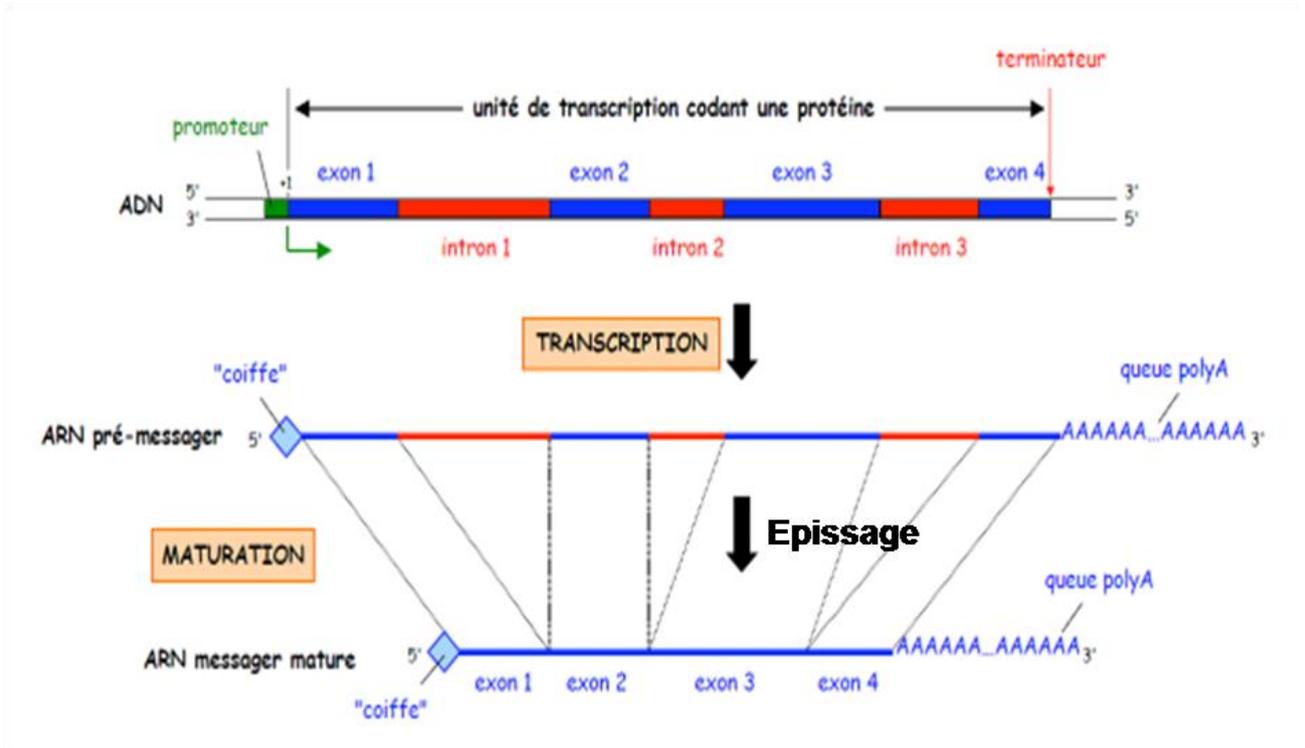


### 3. Maturation de l'ARN pré-messager

Contrairement aux procaryotes, l'ARN produit par la transcription n'est pas directement utilisable par les ribosomes pour la traduction et devra subir plusieurs étapes de maturation post-transcriptionnelle.

Ainsi, dans le noyau, l'ARN pré-messager des eucaryotes est modifié : une coiffe (7-méthyl-guanosine) est rajoutée à son extrémité 5' et une queue poly A (environ 200 adénosines) à son extrémité 3'.

De plus, la plupart des gènes eucaryotes sont structurés en mosaïque de portions codantes (les exons) et de portions n'ayant pas de signification protéique (les introns). Au cours de l'épissage, les introns sont excisés et les exons liés entre eux donnant ainsi l'ARNm mature qui peut quitter le noyau pour aller dans le cytoplasme pour être traduit en protéines.



## 4. Epissage alternatif

Il s'agit d'un mécanisme présent uniquement chez les eucaryotes.

Durant l'épissage de l'ARN, les exons sont soit conservés dans l'ARNm, soit ciblés en vue de leur élimination suivant diverses combinaisons qui mèneront à la création d'un réseau varié d'ARNm à partir d'un seul pré-ARNm. Ce processus s'appelle épissage alternatif de l'ARN. Il constitue la principale source de diversité des protéines produites à partir du génome.

