

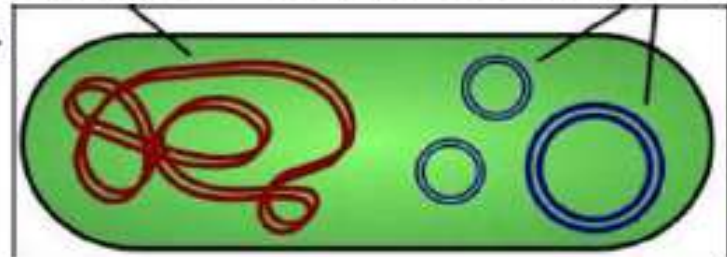
Master I BPC

Chapitre I: Organisation du génomome et RFLP

Un Génome est l'ensemble de l'information héréditaire d'un organisme, présente en totalité dans chaque cellule.

Caractéristiques des génomes procaryotes:

- Chromosome circulaire unique
- Une origine de réplication
- Présence possible de petites séquences d'ADN circulaires indépendantes : les plasmides.

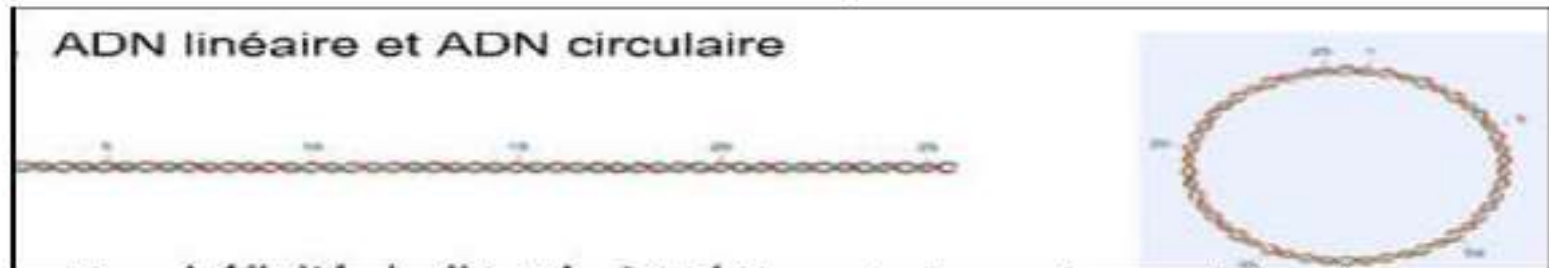


Les gènes procaryotes :

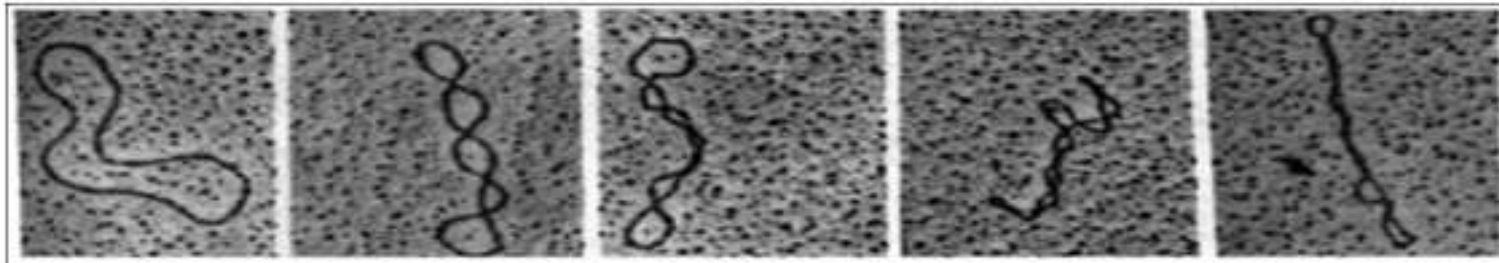
- Fraction codante des génomes élevée: > 90% codant
 - Peu de séquences intergéniques : Génome « compact »
 - **la séquence des gènes est continue : pas d'intron**
 - Gènes organisés en opérons. 600 opérons dans le génome de *Escherichia coli*. (Un opéron est une unité d'ADN fonctionnelle regroupant des gènes qui opèrent sous le signal d'un même promoteur)
-

Organisation Des Adn des Procaryotes : Les Topoisomères

- L'ADN peut exister à l'état relâché avec une contrainte minimale dans la molécule. C'est la forme la plus stable de la molécule



- L'axe de la double hélice d'ADN peut s'enrouler sur lui-même en formant *un superenroulement positif ou négatif* : rendre l'ADN plus compact et diminuer ainsi le volume occupé dans la cellule.



- **Les topoisomères** : deux molécules d'ADN qui diffèrent uniquement par le nombre d'enroulements (enlacements).

LES TOPOISOMÉRASES

Topo-isomérases : enzymes qui modifient les enlacements des brins. Nécessitent la coupure d'un ou deux brins de l'ADN, elles permettent de tordre et détordre les deux brins (et donc de défaire les supertours)

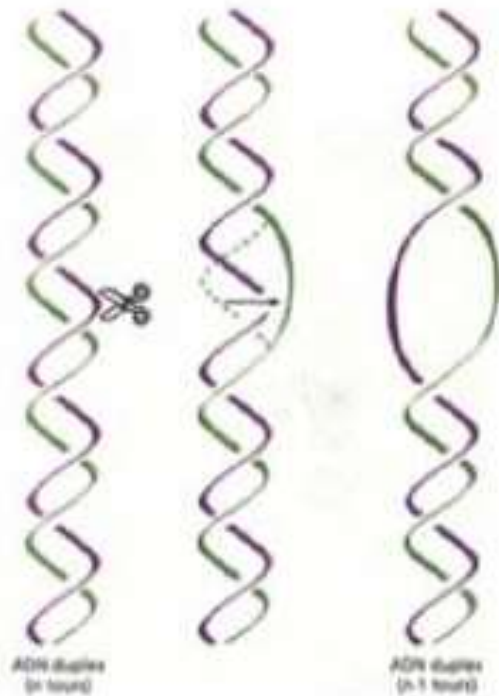
- **Elles ont été mises en évidence chez les procaryotes et les eucaryotes.**
- **Leur importance est capitale dans la réplication, la transcription de l'ADN.**

Topoisomérase 1	Topoisomérase 2
Coupe 1 brin (par rupture liaison phosphodiester)	Coupe les 2 brins (par le même procédé)
Défait les supertours négatifs uniquement	Défait les supertours positifs ET négatifs
Ne nécessite pas d'énergie (ATP)	A une fonction ATPasique (besoin d'ATP)
Conduit à l'état relâché	C'est la gyrase d'E. Coli

- Par exemple : l'acide nalidixique inhibe la gyrase des bactéries. Ce principe peut être utilisé dans les traitements anticancéreux
 - UP16 : inhibiteur topoisomérase 2
 - Taxol : inhibiteur topoisomérase 1 (extrait de l'if)



TOPOISOMERASES



type I : modifie
l'enroulement en coupant 1 brin



type II : modifie
l'enroulement en coupant les 2 brins

ORGANISATION DE L'ADN CHEZ LES EUCARYOTES

Caractéristiques des génomes eucaryotes

- Dans le noyau
- Taille >> génome procaryote
- Plusieurs chromosomes (homme 23, cheval 32, levure 16, drosophile 4...)
- Plusieurs origines de réplication par chromosome
- Gènes « disloqués » (exons, introns)
- Grandes régions intergéniques de fonction inconnue
- Chromatine!

ORGANISATION DE L'ADN CHEZ LES EUCARYOTES

Organisation de l'ADN : chromatine

□ Problème : stockage de l'ADN

- 1 cellule : 7 pg ADN soit 2,5 m dans un noyau de 5 μm de \emptyset

→ nécessité de compaction

□ Comment : 2 états d'organisation

- Chromatine pendant l'interphase sous 2 formes

↪ hétérochromatine : ADN condensé

↪ euchromatine : grandes boucles d'ADN peu condensé

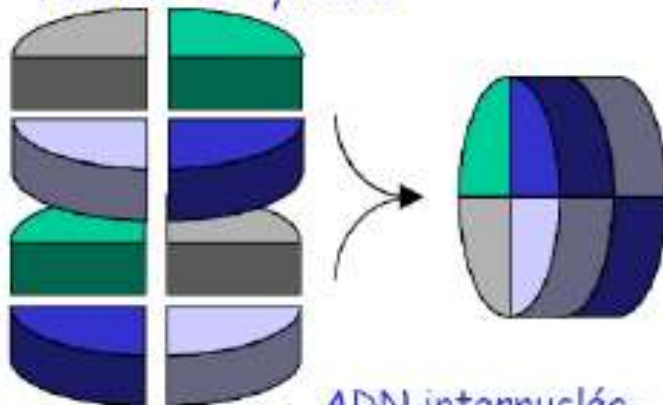
passage réversible d'une forme à l'autre (acétylation des histones et rôle des protéines non histones)



- Chromosomes pendant la mitose

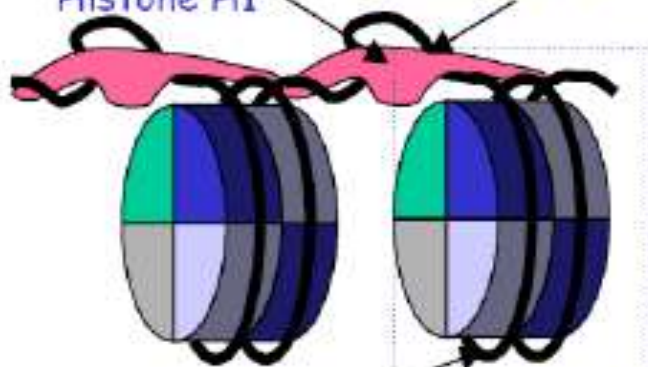
PROTEINES HISTONES

8 histones : $\begin{cases} 2 \text{ H2A}, 2 \text{ H2B} \\ 2 \text{ H3}, 2 \text{ H4} \end{cases}$
formant un cylindre



ADN internucléo-
sérique 50 pb

Histone H1



140-150 pb d'ADN
formant 2 tours

nucléosome

□ Éléments de la chromatine

association de protéines et d'ADN

- Protéines $\begin{cases} \rightarrow \text{histones} \\ \rightarrow \text{non histones} \end{cases}$

- Histones

- petite taille : 100 à 200 aa
- riches en aa basiques (Lys, Arg)
- très conservées au cours de l'évolution
- gènes sans introns
- interactions avec

60 millions

ADN
protéines de l'enveloppe

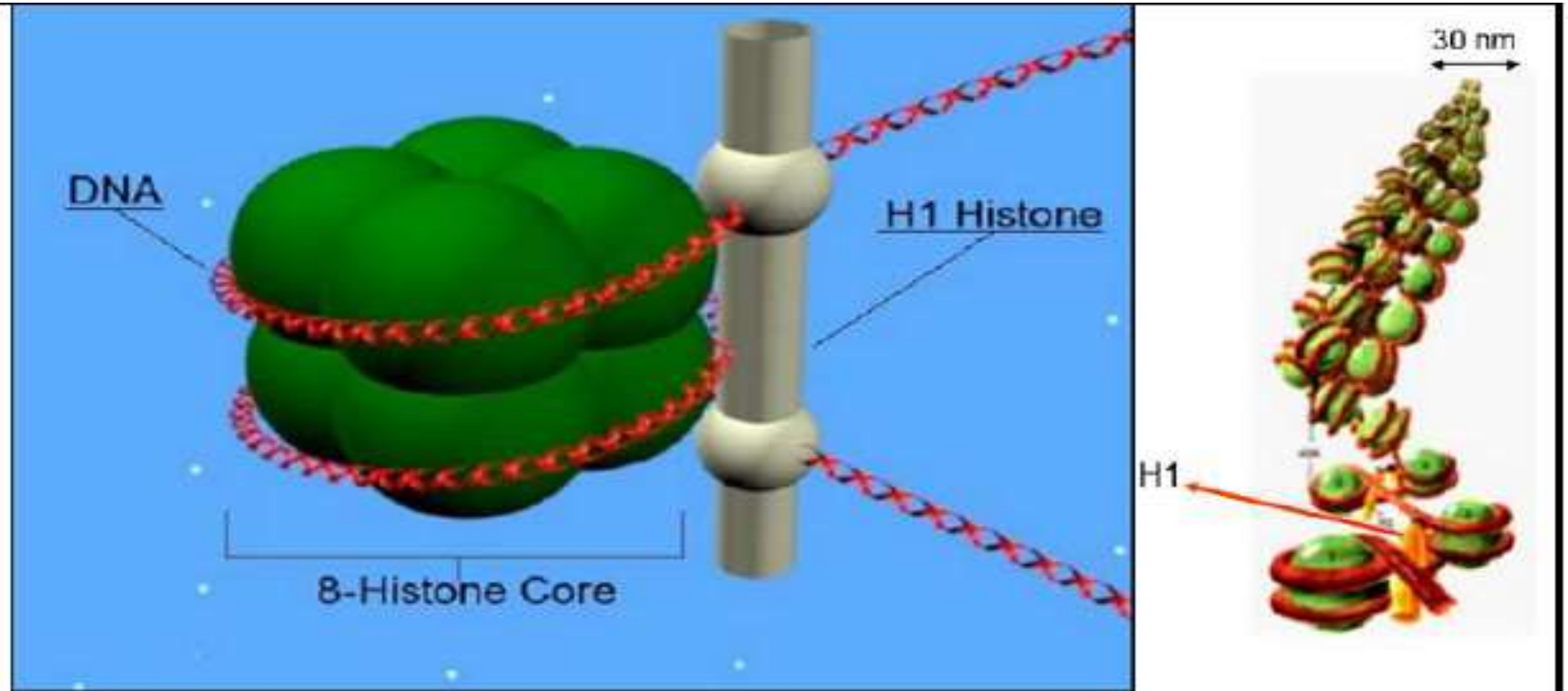
• Classification

Histones nucléosomiques : H2A, H2B, H3, H4

Histone H1 **n'appartient pas au nucléosome**

• Organisation

146 pb d'ADN formant \approx 2 tours autour de
8 histones formant un cylindre
histone H1 permet associat° des nucléosomes



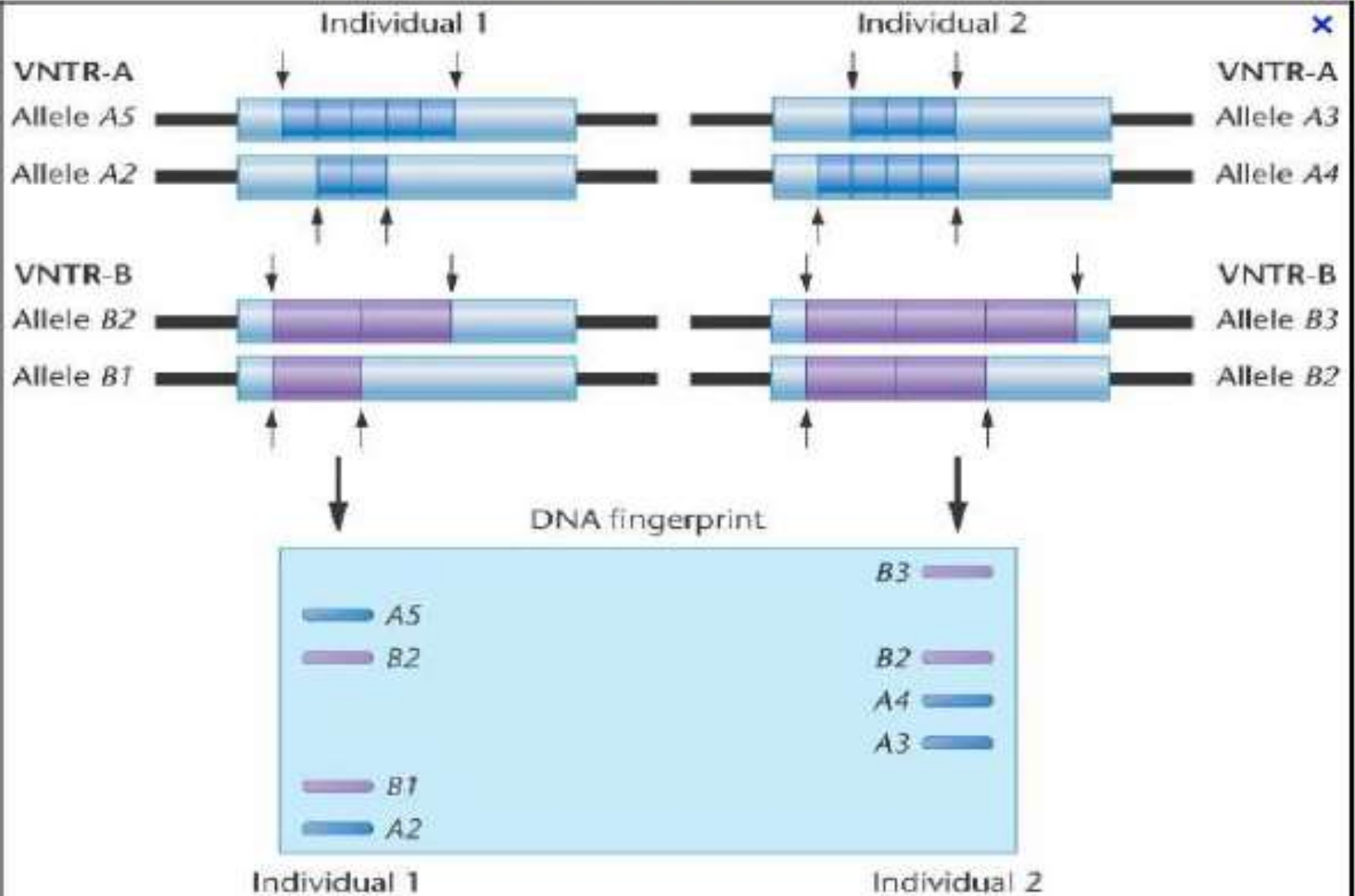
- histones : protéines de petite taille (MM 11 à 22 kDa, 100 à 200 aa)
 - protéines riches en acides aminés basiques (charge +): arginine, lysine, histidine
 - séquence primaire en acides aminés très conservée
 - modifications post-traductionnelles: acétylations, phosphorylations ...
- ↳ « code histones »

A- Séquences répétitives en tandem

1. **DNA satellite:**

- DNA principalement centromérique
- DNA répété en tandem
- bloc de 100kb à plusieurs Mb de longueur
- Le DNA **satellite** a une **densité différente** du reste du DNA.
- 3-5% du DNA de chaque chromosome

EXEMPLE DE VNTR



- Les minisatellites peuvent être détectés par RFLP (polymorphisme de longueur de fragment) en utilisant des enzymes de restriction qui coupent un grand nombre de fois le génome mais jamais dans les minisatellites.
- Un RFLP est alors révélé par l'existence d'un nombre de répétitions différent entre individus, ce qui produit des fragments de tailles différentes.
- Les minisatellites sont révélés après PCR ce qui nécessite la mise au point d'amorces spécifiques.

Test de paternité par PCR-RFLP
L'enfant 2 est probablement illégitime !

