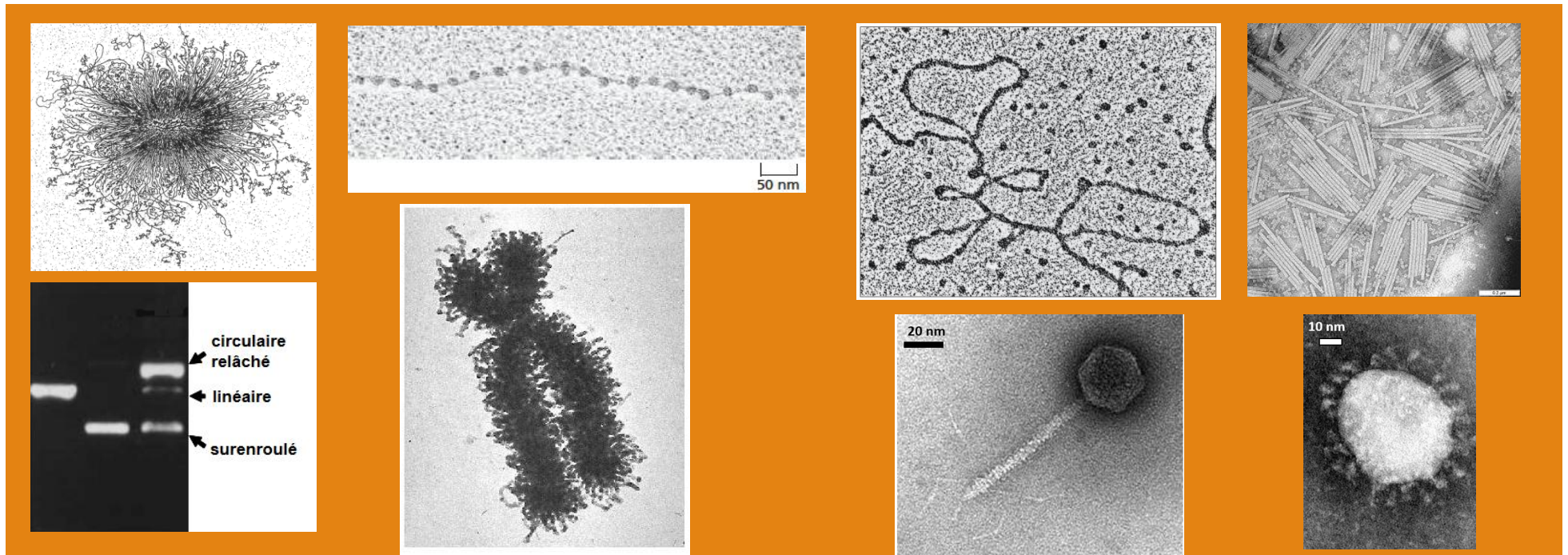


SV-F-I-I : ORGANISATION DES GENOMES

SV-F-I GENOME DES CELLULES ET DES VIRUS, TRANSMISSION DE L'INFORMATION GENETIQUE



EXTRAITS DU B.O.

Savoirs visés	Capacités exigibles
<p>L'ensemble des molécules d'ADN contenues dans une cellule et l'information qu'elles portent constitue son génome. L'étude des génomes passe par une panoplie de techniques dites de biologie moléculaire. Des techniques de séquençage permettent de déterminer la séquence d'un fragment d'ADN puis de proche en proche la séquence des génomes.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Réaliser et analyser les résultats d'une électrophorèse d'ADN.- Interpréter l'organisation des génomes à partir des résultats de séquençage.
<p>L'utilisation d'outils bioinformatiques permet d'identifier les différents types de séquences codantes et non codantes.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Exploiter les données de séquençage pour réaliser des alignements de séquences et comparer les séquences.
<p>Chez les bactéries, le génome à localisation cytoplasmique est constitué d'un chromosome circulaire et éventuellement de plasmides. Le génome des bactéries est constitué presque exclusivement de régions codantes. Certaines sont associées à des régions régulatrices communes ce qui forme des opérons.</p>	
<p>Chez les Eucaryotes, on distingue le génome nucléaire et le génome des organites. Le génome nucléaire est constitué de chromosomes linéaires.</p>	
<p>L'ADN nucléaire des Eucaryotes est associé à des protéines dont des histones, constituant la chromatine. Il existe différents niveaux de condensation de la chromatine.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Comparer l'organisation du génome des bactéries, des Eucaryotes et des virus.
<p>Le génome nucléaire des Eucaryotes comporte une part importante de séquences non codantes aux rôles divers. La majorité de ces séquences est répétée. Les gènes Eucaryotes sont généralement morcelés.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Comparer le génome cytoplasmique Eucaryote et celui des bactéries.
<p>Les virus ou particules virales sont des entités nucléoprotéiques comprenant un acide nucléique (sous forme d'ADN ou d'ARN) constituant le génome viral, et des protéines. On distingue des protéines à rôle structural, formant la capsid, et parfois des protéines à rôle enzymatique. Les virus sont très divers et possèdent parfois une enveloppe lipoprotéique.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Estimer la proportion de séquences codantes et non codantes dans les génomes des Eucaryotes, des bactéries et des virus.

PLAN DU COURS

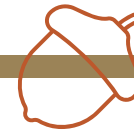
- I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes
 - A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
 - B. Localisation et support du génome dans la cellule
 - C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
 - D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes
- II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes
 - A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
 - B. Les séquences hautement répétées
 - C. Des séquences moyennement répétées
 - D. Des séquences uniques
 - E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
 - F. La notion de gène chez les EK
- III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries
 - A. Approche expérimentale
 - B. Organisation des gènes
 - C. L'opéron lactose
 - D. Bilan
- IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux
 - A. Les virus, des structures acellulaires
 - B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
 - C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

INTRODUCTION

- Le génome est l'ensemble de l'ADN d'une cellule, il comprend la totalité des gènes.
- Le gène, segment d'ADN porteur d'une information élémentaire, sera défini et précisé tout au long du chapitre

Genially qui rappelle l'histoire de la découverte de l'ADN





INTRODUCTION

L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

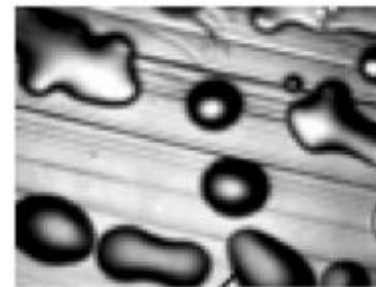
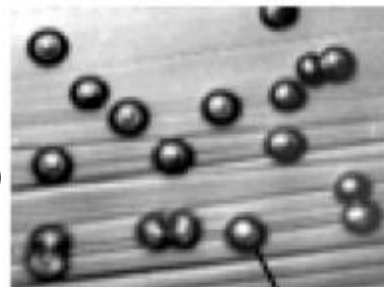
Expérience de Griffith (1928)

- **Objet d'étude** : la bactérie *Streptococcus pneumoniae*, responsable de la pneumonie chez l'Homme (et la souris)
- Griffith utilise deux souches de *S. pneumoniae* :
 - **Souche S** (*smooth* = lisse) – souche sauvage avec capsule → virulente
 - **Souche R** (*rough* = rugueuse) – souche mutante sans capsule → non virulente (bénigne)

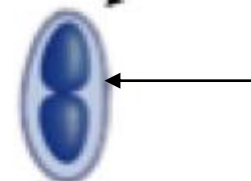
Frederick Griffith
(1879-1941)
Bactériologiste



Souche R (rough)
bénigne

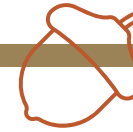


Souche S (smooth)
virulente



Capsule protégeant la bactérie
contre le système immunitaire
de l'hôte

INTRODUCTION



L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

Expérience de Griffith (1928)

Principe

- Tester la virulence des bactéries ayant subi différents traitements

Résultats

- Conditions 1 et 2 → témoin
- Condition 3 → la chaleur inactive la souche S (morte)
- Condition 4 → en présence de souche S inactive, la souche R se « transforme » en souche S

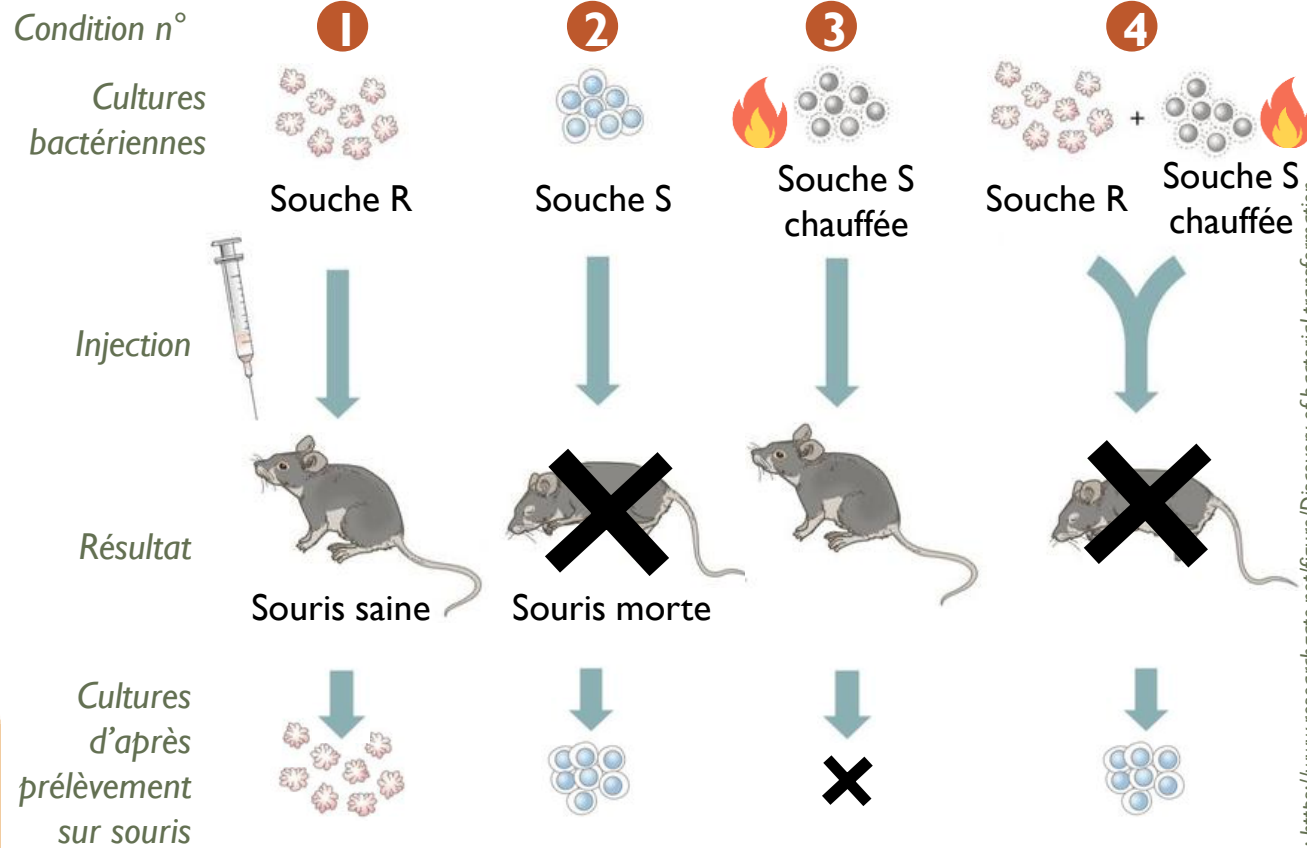


Schéma du protocole de l'expérience de Griffith (1928)

→ La souche R peut être « transformée » en souche S

→ Il existe un « principe transformant » transmissible

Quelle est la nature chimique de ce principe transformant ?

INTRODUCTION

L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

Expérience d'Avery, McCarty et MacLeod (1944)

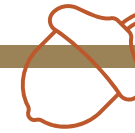
■ Principe

- Même type d'expérience que celle de Griffith mais avec **différentes enzymes** qui dégradent **spécifiquement** les différents types de biomolécules

■ Résultats

- Traitements 1 → la souris meurt → les enzymes n'ont pas d'effet sur le principe transformant
- Traitement 2 → la souris survit → la DNase a dégradé le principe transformant

→ Le principe transformant est fait d'ADN
→ L'ADN est le support de l'info génétique



Oswald Avery (1877-1955) Maclyn McCarty (1911-2005) Colin MacLeod (1909-1972)

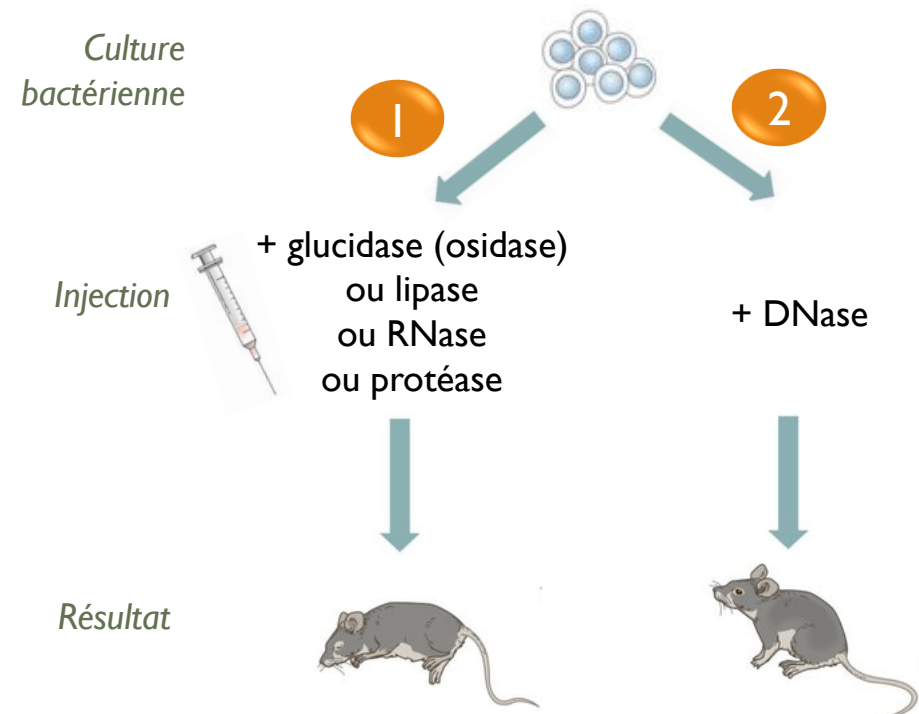


Schéma du protocole de l'expérience d'Avery, McCarty & MacLeod (1944)

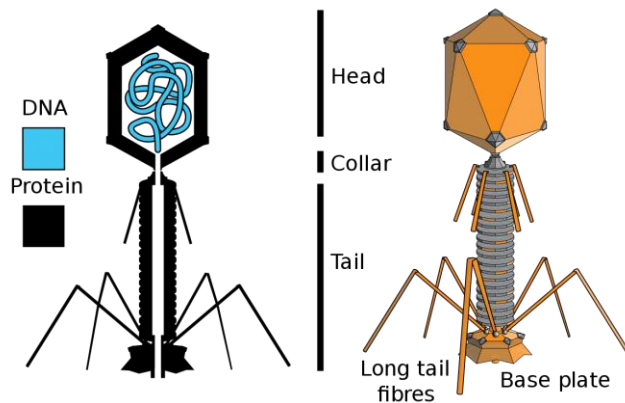
INTRODUCTION

L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

Expérience de Hershey & Chase (1952)

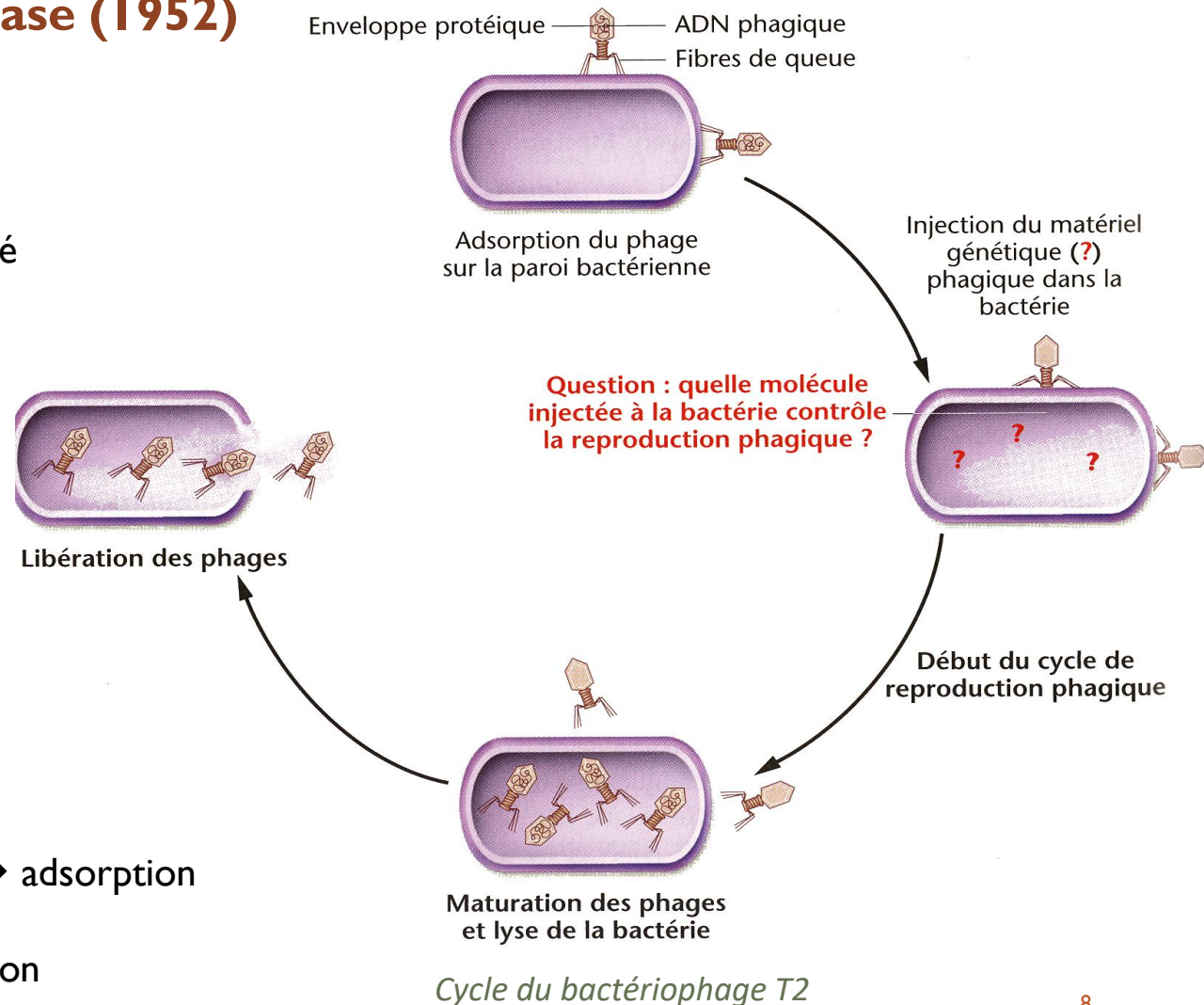


- **Objet d'étude** : le bactériophage T2
 - Spécifique des bactéries (Ex : *E. coli*)
 - Structure simple : ADN (50%) entouré d'une enveloppe protéique (50%)



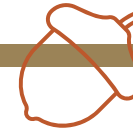
Structure du bactériophage T2

- Le bactériophage agit en 3 étapes :
 1. Il se fixe à la surface de la bactérie → adsorption
 2. Il se reproduit → réplication
 3. Il fait éclater la bactérie → propagation



INTRODUCTION

L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE



Martha Chase (1927-2003)
Alfred Hershey (1908-1997)

Expérience de Hershey & Chase (1952)

1

Marquage radioactif du phage

2

Infection des bactéries (30')

3

Détachement virus/hôte au mixeur

4

Centrifugation de la culture

5

Détection de la radioactivité

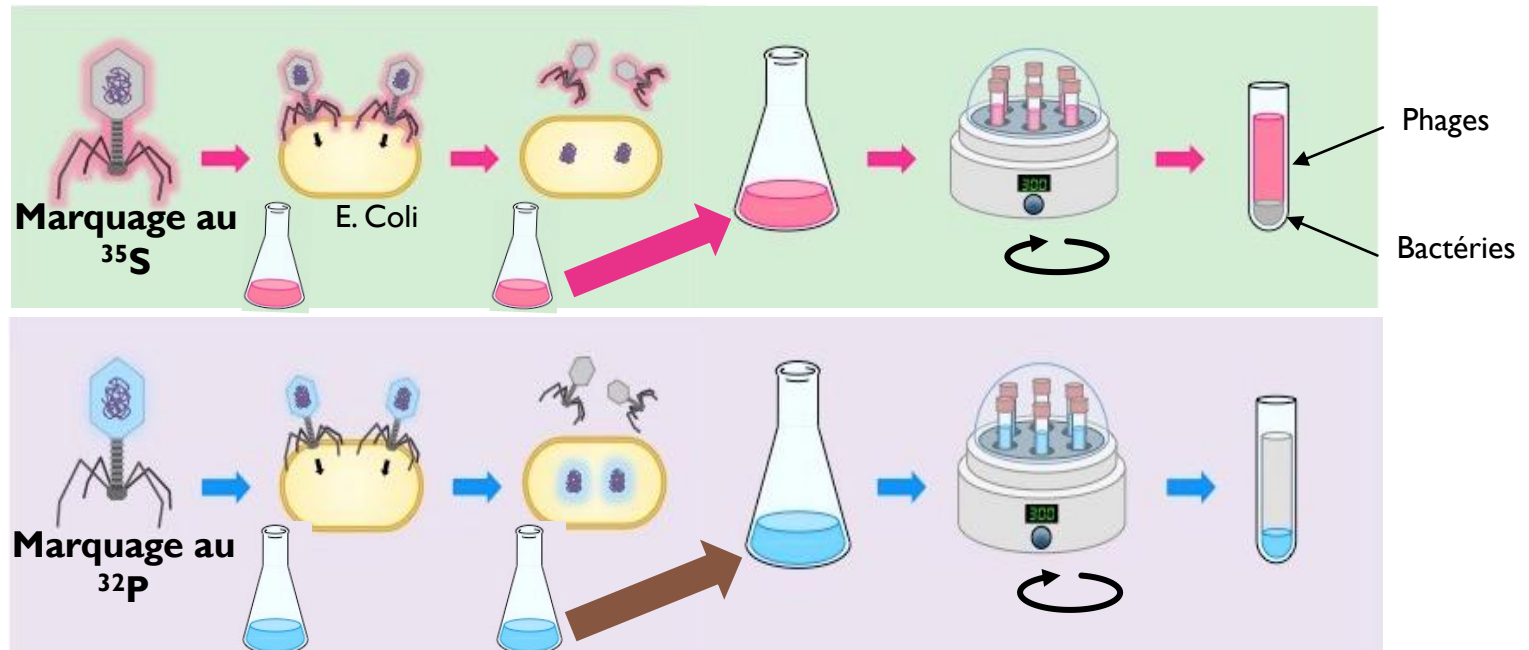


Schéma des expériences de Hershey et Chase (1952)

INTRODUCTION

L'ADN, SUPPORT MOLÉCULAIRE DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

Expérience de Hershey & Chase (1952)

Principe :

- Marquer les protéines (^{35}S) et l'ADN (^{32}P) du phage T2 pour savoir quel type de molécule pénètre dans la bactérie

Résultats :

- Marquage des protéines → la radioactivité n'entre pas dans les bactéries
- Marquage de l'ADN → la radioactivité pénètre dans les bactéries

L'information génétique des phages (permettant leur réplication) est contenue dans l'ADN



Martha Chase (1927-2003)
Alfred Hershey (1908-1997)

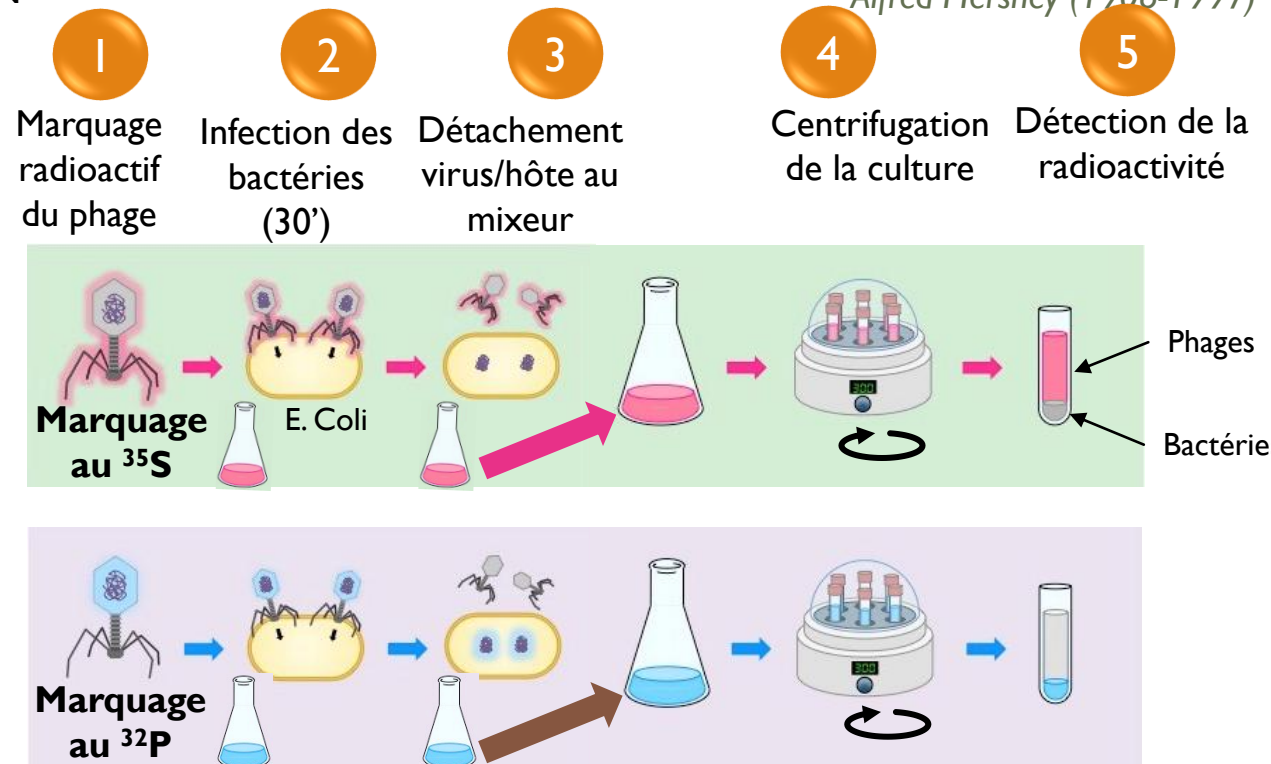


Schéma des expériences de Hershey et Chase (1952)

INTRODUCTION

L'ADN, UNE MOLÉCULE UNIVERSELLE

Expérience d'Hämmerling (1930)

- **Objet d'étude** : L'acétabulaire : eucaryote, algue unicellulaire macroscopique en forme de " parapluie ".
 - 3 parties : rhizoïde (avec noyau), pédicelle, chapeau
 - 2 espèces :
 - ✓ *A. mediterranea* → chapeau lisse
 - ✓ *A. crenulata* → chapeau crénelé

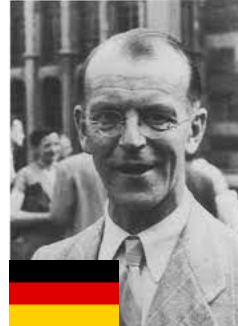
- **Principe** : transfert de noyau entre les 2 espèces

- **Résultats** :
 - **Cas 1** : une acétabulaire à chapeau lisse est régénérée uniquement à partir du pédicelle (avec noyau)
 - **Cas 2** : transfert du noyau de *cranulata* vers *mediterranea* → régénération mais avec chapeau crénelé

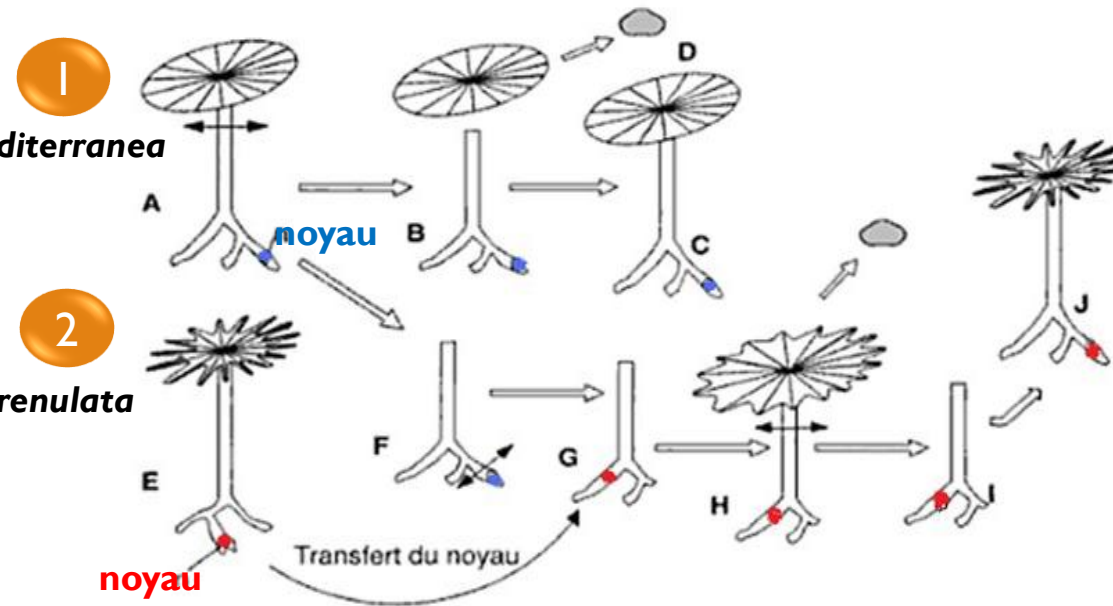
→ C'est le noyau (fait d'ac. nucléiques et de protéines) qui contient l'information génétique



Deux espèces d'acétabulaires



Joachim Hämmerling (1901-1980)



Expérience de transplantation nucléaire chez l'acétabulaire

INTRODUCTION

L'ADN, UNE MOLÉCULE UNIVERSELLE

Apport de la transgénèse

- Transgénèse couramment utilisée pour transférer des gènes à des eubactéries ou des eucaryotes

➤ Ex : Le Maïs Bt

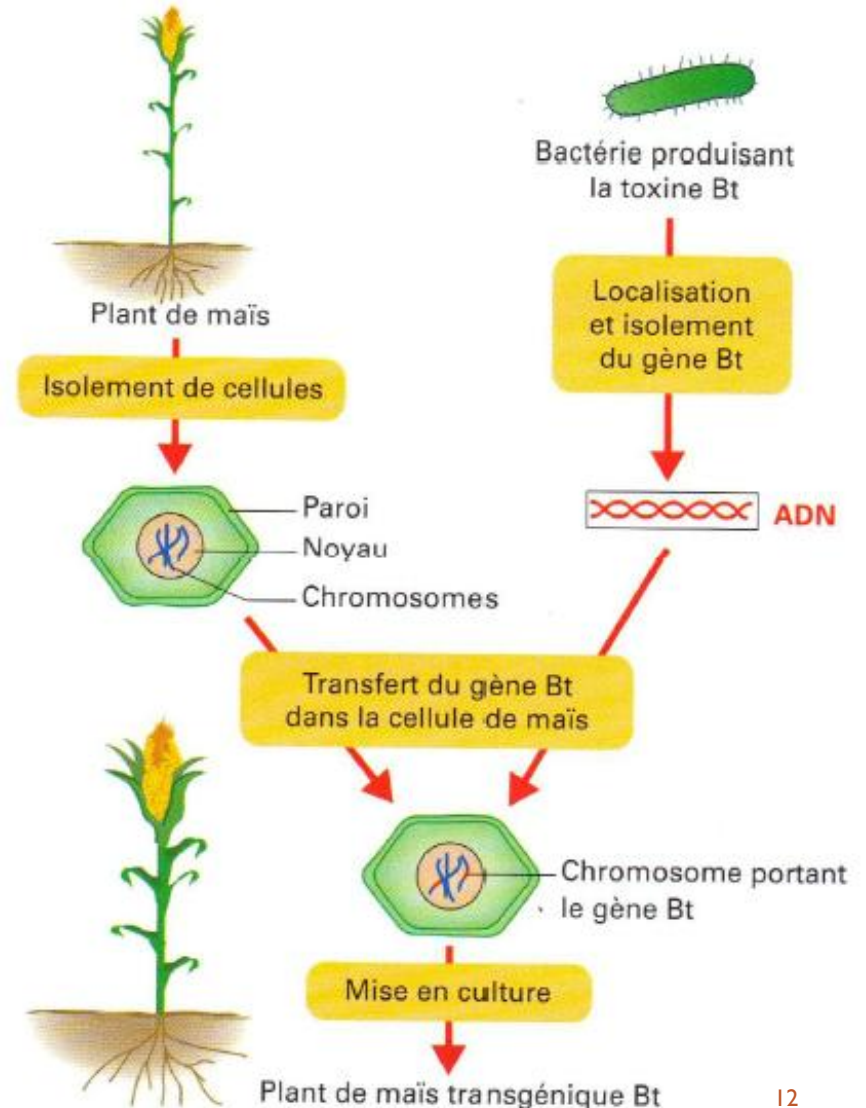
- ✓ La bactérie *Bacillus thuringiensis* possède un gène permettant la fabrication d'un insecticide.
- ✓ Ce gène est introduit dans le maïs qui est victime d'un insecte – la pyrale du maïs.
- ✓ Le maïs se met alors à produire l'insecticide et peut se défendre contre la pyrale.

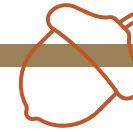


Cf. SV-A-2

Principe de la transgénèse

Transgénèse : n.f. introduction d'un gène étranger dans un organisme.
L'organisme est alors génétiquement modifié (=OGM)





INTRODUCTION

BILAN HISTOIRE DE L'IDENTIFICATION DE L'ADN COMME SUPPORT DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE

Expérience de	Année	Modèle	Conclusion
Griffith	1928	<i>S. pneumoniae</i>	Eubactérie Notion de transformation bactérienne et de principe transformant
Avery, McCarty, MacLeod	1944	<i>S. pneumoniae</i>	Eubactérie La nature chimique du principe transformant est l'ADN
Hershey, Chase	1952	Phage T2	Virus L'ADN est le support de l'IG chez les virus
Hämmerling	1930	Acétabulaire	Eucaryote L'IG est contenue dans le noyau des Eucaryotes qui contient l'ADN

- L'ADN est le support de l'information génétique, aussi bien pour les bactéries que les eucaryotes ou que certains virus.
- La molécule d'ADN est le **support universel de l'information génétique**

INTRODUCTION



Génome : n.m. ensemble du matériel génétique d'un organisme

- **L'information génétique (IG)** contient toute l'information nécessaire à un organisme pour se développer, s'entretenir, se reproduire → programme génétique
 - Elle est héritée d'un parent
 - Elle est transmise à la descendance
 - Elle est propre à une espèce (avec des variations inter-individus)
- L'information génétique est contenue dans les **gènes**
- Le **matériel génétique** est le support matériel de cette information ; il est fait **d'ADN**
- Chez les eucaryotes les cellules d'un organisme possèdent l'ensemble du génome, → à la base du clonage :
 - Dolly (1996) = 1^{ère} brebis clonée = 1 noyau de cellule de glande mammaire dans un cytoplasme d'ovocyte (= **cytoplasme** capable de **réinitialiser le génome** pour obtenir une cellule **totipotente** cad pouvant se différencier en tous les types cellulaires).
- Dans le cas des **virus**, les **particules virales** possèdent également une IG qui ne leur permet **pas d'être autonomes**
 - génome sous forme d'ADN ou d'ARN.

Quels sont les points communs et les différences entre génomes eucaryotes, procaryotes et viraux?

Est-ce que toute l'IG contenue dans une cellule ou un virus est codante?

Quelles sont les molécules codées par les AN?

Quelles informations apportent les techniques de séquençage?

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

I. STRUCTURE DES GÉNOMES PROCARYOTES ET EUCARYOTES

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

1. L'ADN : un hétéropolymère séquencé codant une information

2. Les génomes procaryotes sont plus petits que les génomes eucaryotes

■ Procaryotes : modèle d'étude = *Escherichia coli*

➤ génome contient **4,6 millions de pb**

➤ ajouter l'IG contenue dans les plasmides.

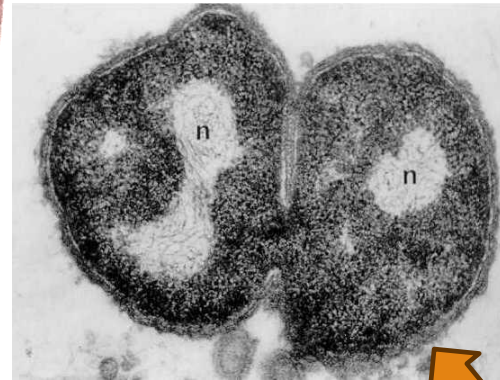
➤ **Plasmide** (facultatif) : quelques kb

✓ *réplication indépendante*

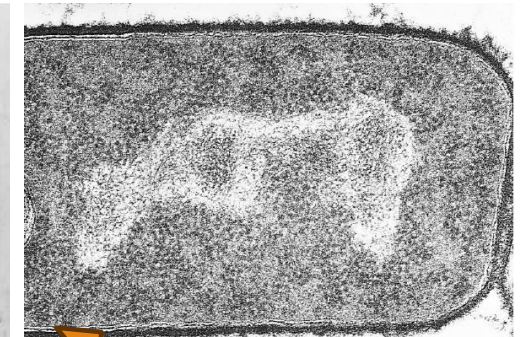
✓ *non essentiel mais apporte une info complémentaire/ un avantage sélectif (résistance antibiotique par exemple)*



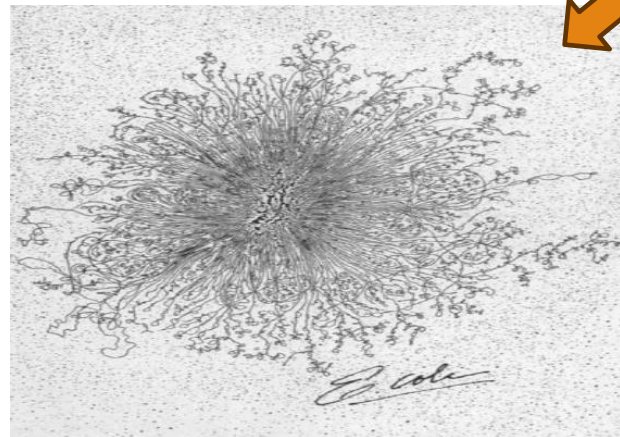
E. Coli très présente dans le TD



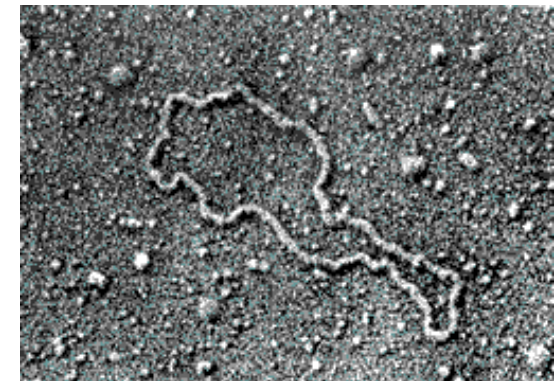
E. Coli en fission binaire (repro asexuée) au MET



Ultrastructure de *E. Coli* au MET



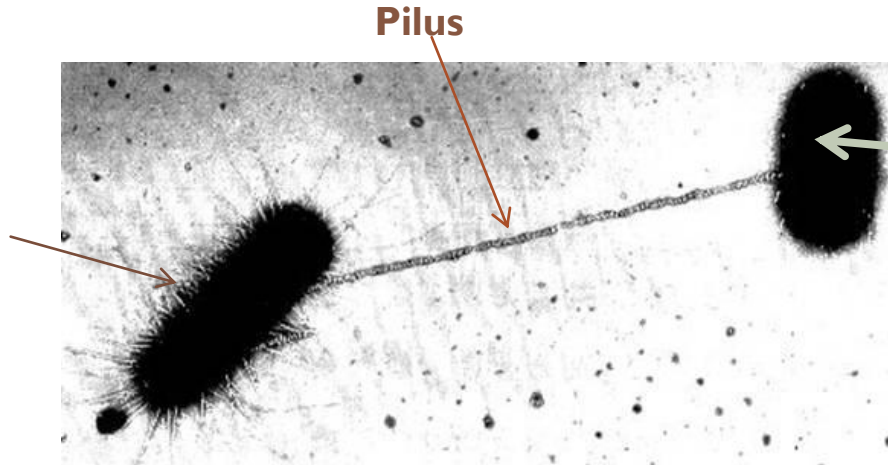
Chromosome circulaire condensé



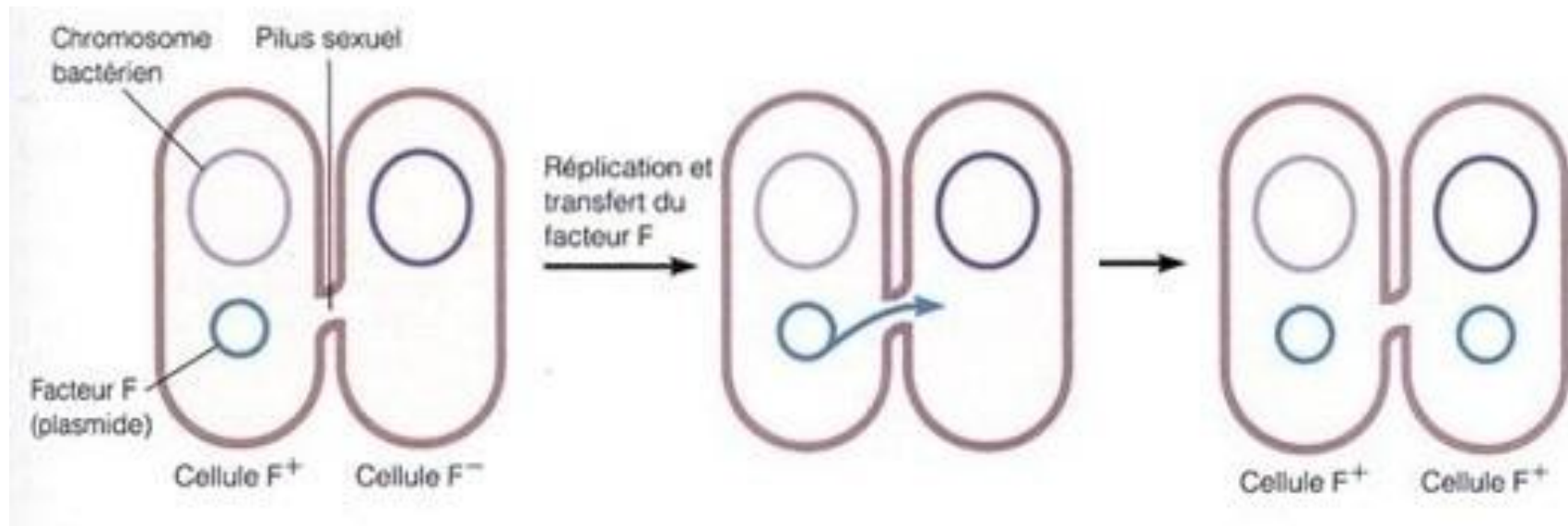
Plasmide circulaire au MEB

Transfert de plasmide entre bactéries (Ex des entérobactéries telles que *E. Coli*)

Bactérie F+ contenant le plasmide « expansion de paroi »



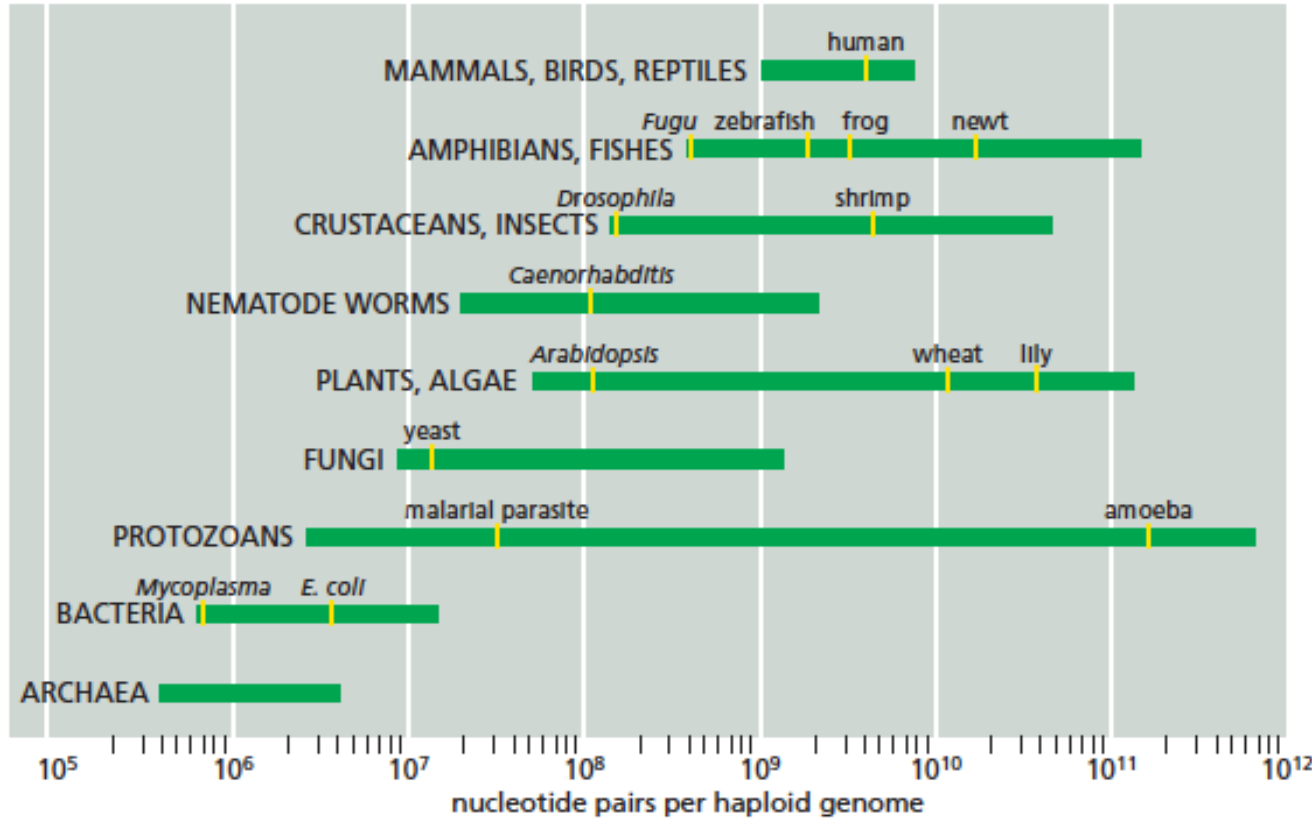
Bactérie F- ne contenant pas le plasmide « expansion de paroi »



A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

2. Les génomes procaryotes sont plus petits que les génomes eucaryotes

- C = La longueur totale de l'ADN d'un génome haploïde (en pb)



Taille des génomes (C) de différents groupes (Harry, 2021)

- Génome minimal ~300 gènes
- Génomes eubactériens en général plus courts que ceux des eucaryotes (4,6 10⁶ pdb chez *E. Coli*)
- Génomes des plantes et des protozoaires peuvent être très longs
- taille du génome humain = **3,2 10⁹ pb, soit mille fois plus grand que *E. coli***

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

2. Les génomes procaryotes sont plus petits que les génomes eucaryotes

Organisation structurale des génomes eucaryotes :



- Génome des eucaryotes =
 - chromosomes linéaires localisés dans le noyau
 - ADN circulaire localisé dans les mitochondries et chloroplastes

- Nombre de chromosomes variable (N, 2N, 3N...)
 - Génome haploïde (N)
 - Génome diploïde (2N)
 - Génome triploïde (3N)
 - Génome tétraploïde (4N)
 - ...

- ADN associé à des protéines (**histones et non histones**, squelette protéique) et son **niveau de condensation varie** au cours du cycle cellulaire → contrôle de l'expression des gènes

Tableau 1.2. Chaque espèce possède son propre caryotype, selon les organismes le nombre de chromosomes est donné à l'état diploïde ou haploïde (d'après Lodish et al., *Biologie moléculaire de la cellule*)

Organismes	Espèces	Nombre
EUCARYOTES ANIMAUX		2n
Invertébrés		
Cnidaires	Hydra vulgaris	32
Plathelminthes	Planaria torva	16
Némathelminthes	Caenorhabditis elegans	11 /12
Arthropodes Insectes	Drosophila melanogaster	8
Vertébrés		
Amphibiens (grenouille)	Rana pipiens	26
Poissons (Carpe)	Cyprinus carpio	104
Mammifères		
Lapin	Oryctolagus cuniculus	44
Rat	Rattus norvegicus	42
Souris	Mus musculus	40
Bœuf	Bos taurus	60
Chat	Felis domesticus	38
Chien	Canis familiaris	78
Singe rhésus	Macaca mulatta	42
Homme	Homo sapiens	46
EUCARYOTES VÉGÉTAUX		2n
Blé	Triticum monoccum	24
Maïs	Zea mais	20
Tabac	Nicotiana tabacum	48
Pomme de terre	Solanum tuberosum	48
Levure	Saccharomyces cerevisiae	16
Pénicillium	Penicillium sp.	n
Algue verte	Chlamydomonas reinhardtii	4

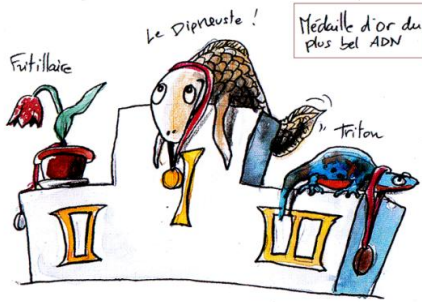
Valeur de N pour différents génomes (Alberts)

➔ Pas de lien entre N et la taille des organismes ou leur apparente « complexité »

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

2. Les génomes procaryotes sont plus petits que les génomes eucaryotes

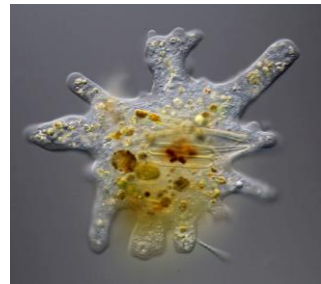
- **Valeur C** = longueur totale de l'ADN d'un génome haploïde (en pb)



Dipneuste australien



Paris japonica



Polychaos dubium

Clade	Espèce	Taille du génome (Mb)
Bactéries	<i>E. Coli</i>	4,6
Archées	<i>Methanosarcina barkeri</i>	4,8
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levure de boulanger)	12
	<i>Caenorhabditis elegans</i> (vers rond)	100
	<i>Arabidopsis thaliana</i> (Brassicacées)	120
	<i>Drosophila melanogaster</i> (mouche du vinaigre)	165
	<i>Oryza sativa</i> (riz)	430
	<i>Zea mays</i> (maïs)	2 300
Eucaryotes	<i>Mus musculus</i> (souris)	2 600
	<i>Homo sapiens</i> (Homme)	3 000
	<i>Ambystoma mexicanum</i> (axolotl mexicain)	32 000
	<i>Neoceratodus forsteri</i> * (dipneuste australien)	43 000
	<i>Fritillaria assyriaca</i> (Liliacées)	124 000
	<i>Paris japonica</i> * (Mélanthiacées)	150 000
	<i>Polychaos dubium</i> (amibe)***	675 000

→ Pas de lien entre C et la taille des organismes ou leur apparente « complexité »
= paradoxe de la valeur C

* : record chez les vertébrés

** : record chez les plantes

*** : record absolu

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

2. Les génomes procaryotes sont plus petits que les génomes eucaryotes

- Pas de lien entre le **nombre de gènes** et la taille d'un organisme ou son apparente complexité mais...
- Les génomes eubactériens presque entièrement codants
- Les génomes eucaryotes contiennent plus d'ADN non codant



Augmentation de la part d'ADN non codant avec la taille du génome

Tout cet ADN !

Est-il totalement informationnel, le génome est-il homogène ou fait de « différentes » sortes de séquences d'ADN ?

Table 21.1 Genome Sizes and Estimated Numbers of Genes*

Organism	Haploid Genome Size (Mb)	Number of Genes	Genes per Mb
Bacteria			
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8	1,700	940
<i>Escherichia coli</i>	4.6	4,400	950
Archaea			
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.2	2,500	1,130
<i>Methanosarcina barkeri</i>	4.8	3,600	750
Eukaryotes			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast, a fungus)	12	6,300	525
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	100	20,100	200
<i>Arabidopsis thaliana</i> (mustard family plant)	120	27,000	225
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	165	13,700	83
<i>Oryza sativa</i> (rice)	430	42,000	98
<i>Zea mays</i> (corn)	2,300	32,000	14
<i>Mus musculus</i> (house mouse)	2,600	22,000	11
<i>Ailuropoda melanoleuca</i> (giant panda)	2,400	21,000	9
<i>Homo sapiens</i> (human)	3,000	<21,000	7
<i>Fritillaria assyriaca</i> (lily family plant)	124,000	ND	ND

*Some values given here are likely to be revised as genome analysis continues. Mb = million base pairs. ND = not determined.

3. Les techniques de bio-informatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

- **1997** : 1^{er} génome eucaryote publié de ***Saccharomyces cerevisiae***
- **2003** : 1^{er} séquençage du génome humain
- **janvier 2020**: plus de 19 000 génomes séquencés et le nombre de génomes en cours d'analyse >327 000.



3.1. Principe des techniques de séquençage

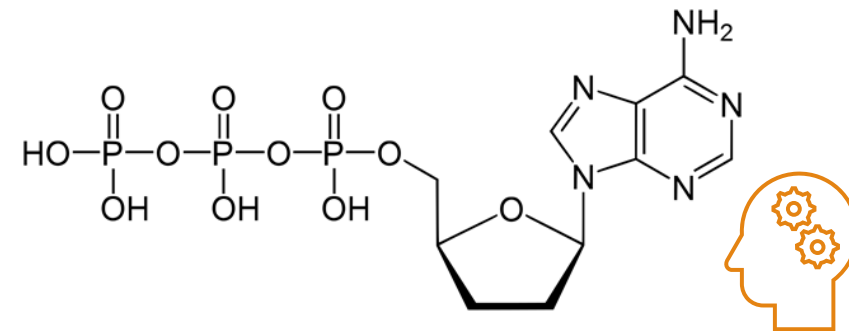
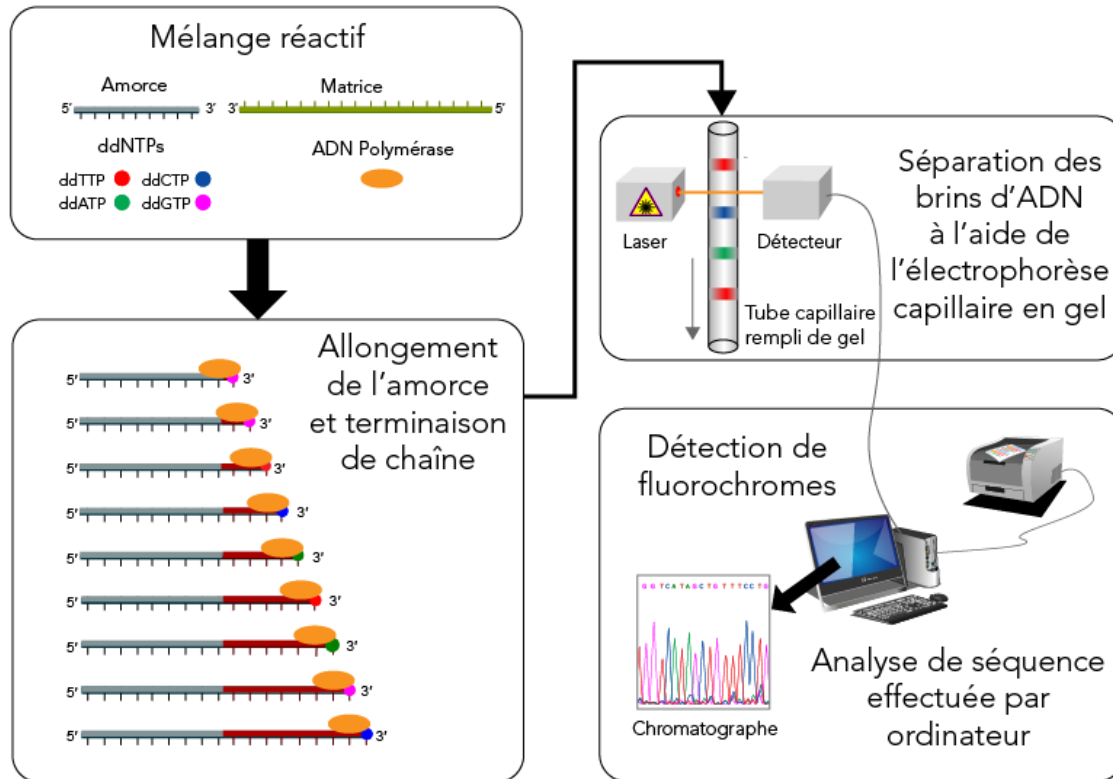
Méthode historique de Sanger (la seule au programme)



3. Les techniques de bioinformatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

3.1. Principe des techniques de séquençage

Méthode historique de Sanger (la seule au programme)



Didésoxyadénosine triphosphate (ddATP) permettant d'arrêter la polymérisation du brin ADN = nucléoside terminateur de chaîne

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

3. Les techniques de bioinformatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

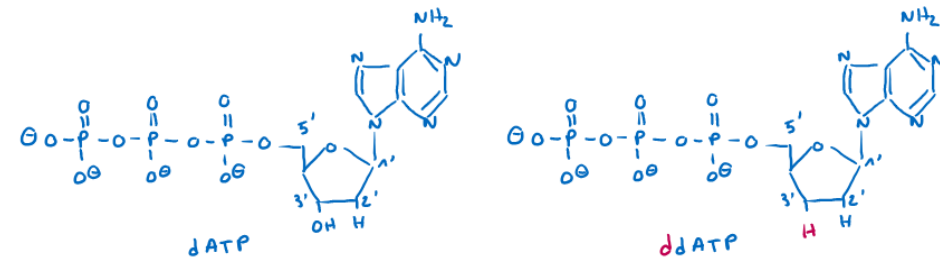
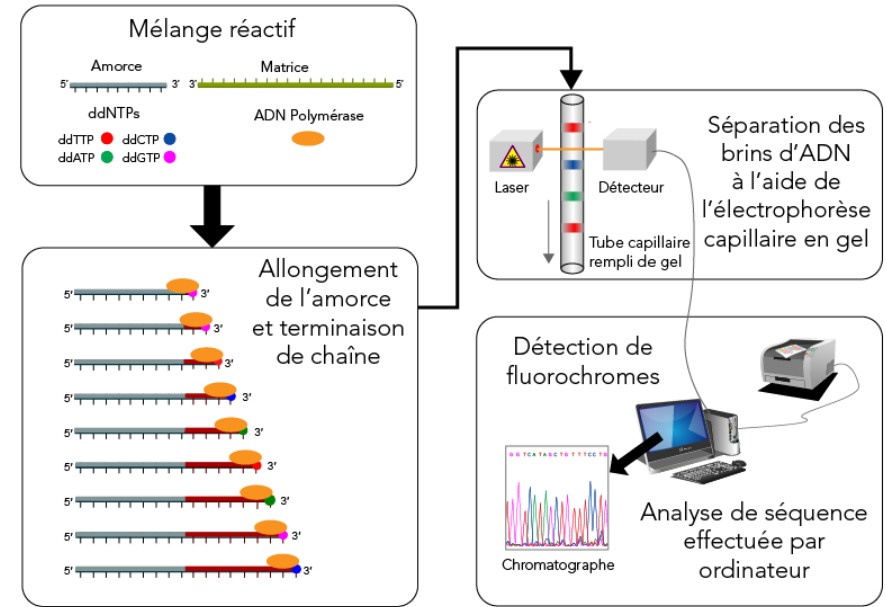
3.1. Principe des techniques de séquençage

Méthode historique de Sanger (la seule au programme)

- **4 ddNTP marqués par un fluorophore spécifique un seul milieu + 1 amorce + une matrice + une ADN polymérase + dNTP non marqués**

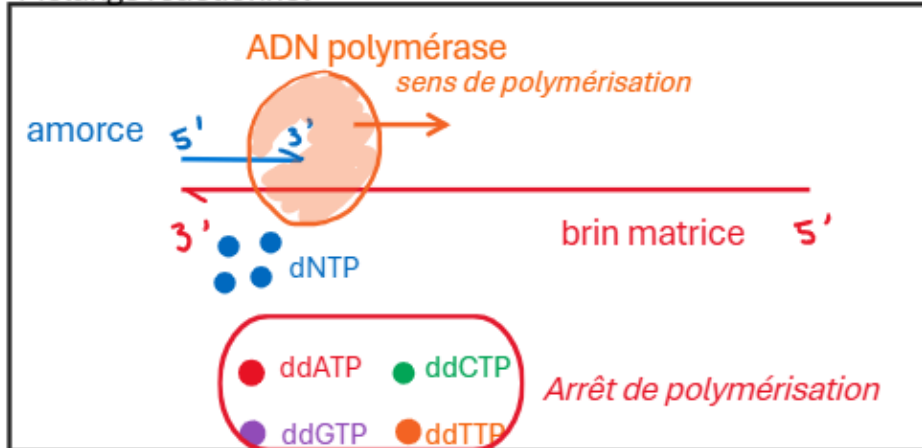
- fragments interrompus à un ddNTP donné → fluorophore terminal de couleur spécifique à ce nucléotide
- Détection des fluorophores lors de l'électrophorèse

- **électrophorèse** dans des séquenceurs capillaires
- détection de fluorescence par **un rayon laser** qui traverse le capillaire et excite les ddNTP fluorescents incorporées à l'ADN
- caméra mesure l'émission de fluorescence
- Un capillaire = lecture d'environ **100 kb en 1h**

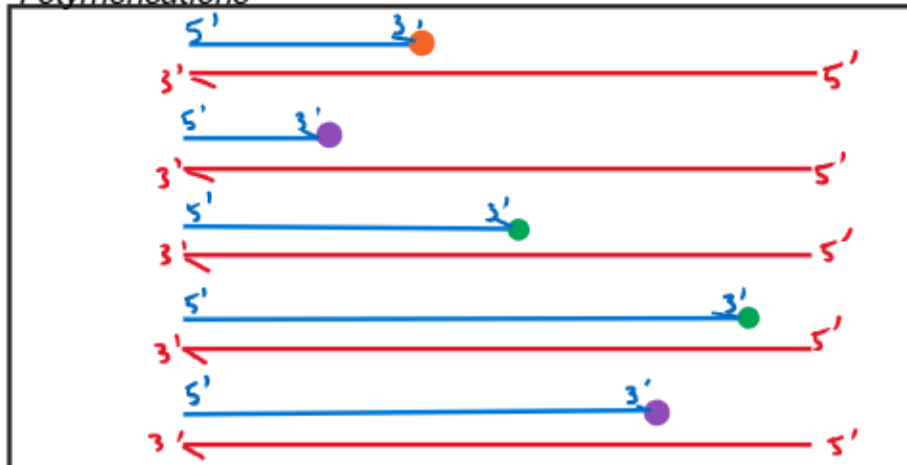


Didésoxyadénosine triphosphate (ddATP) permettant d'arrêter la polymérisation du brin ADN = nucléoside terminateur de chaîne

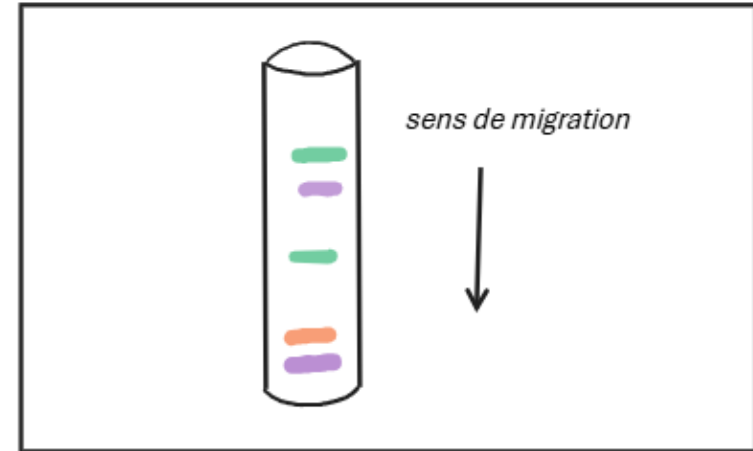
Mélange réactionnel



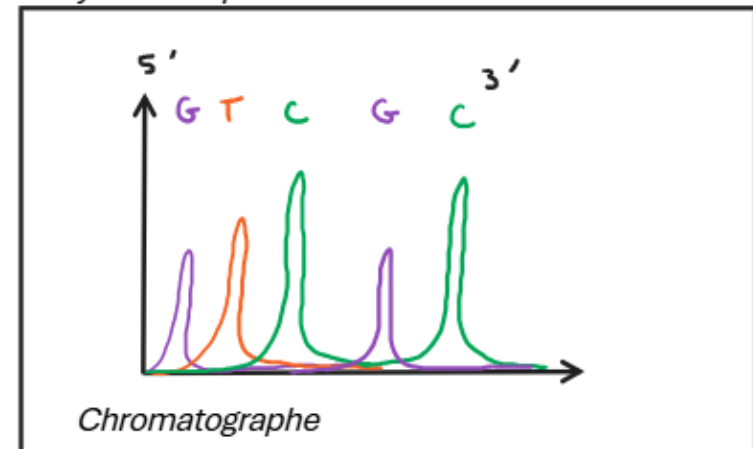
Polymérisations



Séparation des brins d'ADN néoformés
(électrophorèse capillaire en gel)



Analyse de séquences



Les étapes du séquençage d'un gène, méthode de Sanger (S. Dalaine)

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

3. Les techniques de bioinformatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

3.2. Résultats et traitement des données

- Séquençage ⇒ obtention de la valeur C de chaque organisme
- Localisation de gènes et régions codantes
- Détermination du nombre de gènes
- **Catalogage de courtes séquences (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) spécifiques d'une espèce ⇒ barcoding**
- Prédiction des fonctions biologiques de séquences génétiques (QTL: Quantitative Trait Loci)

Prélèvements sur des individus et génotypage



Prélèvement de sang sur l'oreille d'un éléphant d'Asie

Barcoding et Métabarcoding

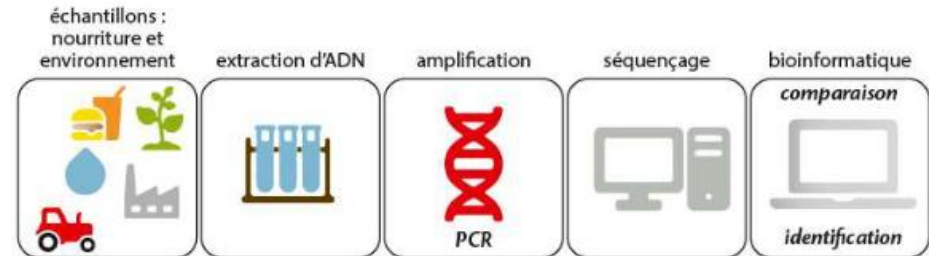


Technique de catalogage et d'identification d'un organisme à partir d'une courte séquence d'ADN (marqueur distinctif identique chez les organismes d'une même espèce, variable entre espèces différentes) choisie en fonction du groupe étudié :

- gène mitochondrial CO1 de la Cytochrome oxydase des animaux,
- gène rbcL de la grande sous unité de la RubisCO des plantes...

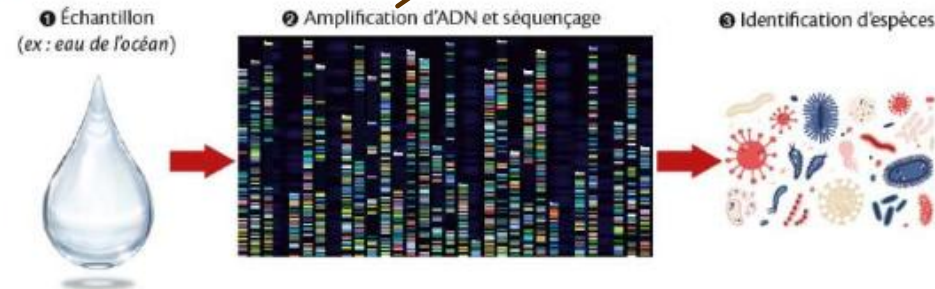
Intérêts :

- **Barcoding d'une espèce** : identifier de quelle espèce provient un échantillon en comparant son barcode moléculaire avec des données de références (par ex. filet de poisson dans un restaurant, feuille dans un contenu stomacal...)
- **Métabarcoding** : identifier l'assemblage de populations d'un échantillon environnemental (sol, océan, fèces...) ⇒ Catalogage rapide de milliers d'espèces incultivables, invisibles (microbiote, sol, océan...) ou encore inconnues



Amplification par méthode PCR

Barcoding moléculaire



Technique d'identification d'espèces à partir d'ADN présent dans un échantillon, en utilisant une courte séquence propre à chaque espèce.

Métagénomique

On prélève un échantillon d'eau ou de sol et on séquence tout l'ADN qui s'y trouve. Cela permet de révéler de nombreuses espèces non décrites et également de mettre en avant le potentiel fonctionnel des espèces.

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

3. Les techniques de bioinformatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

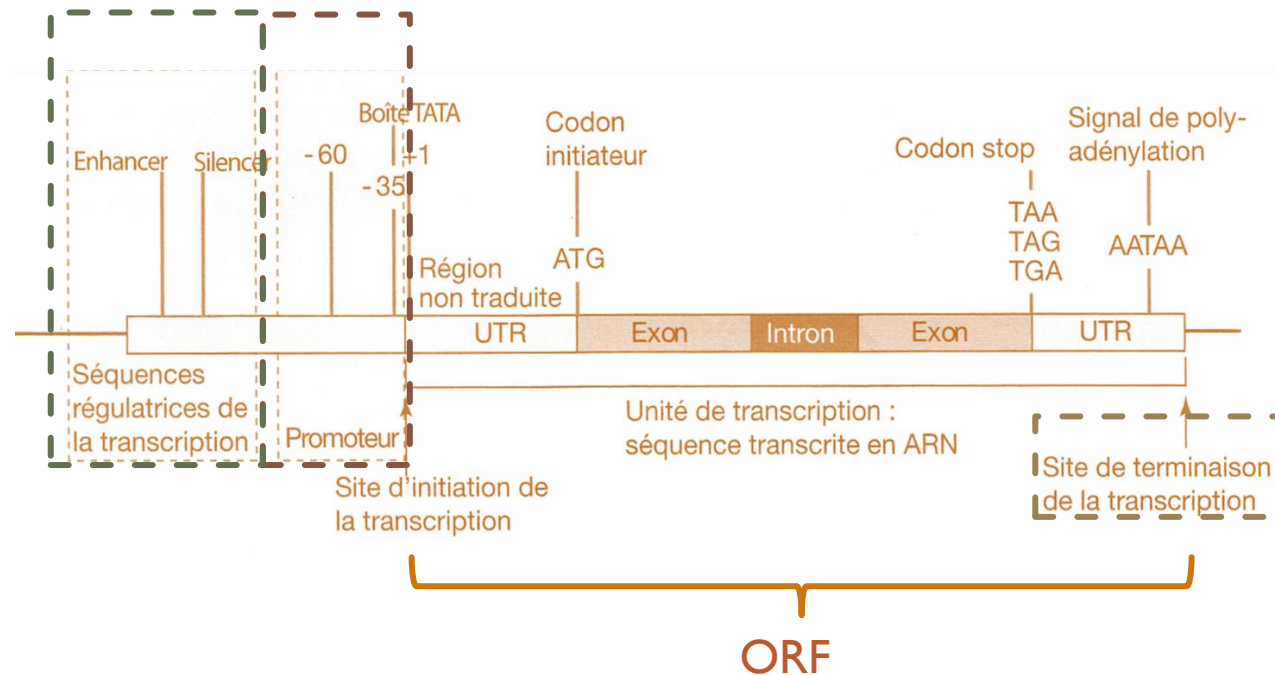
3.2. Résultats et traitement des données

Comment rechercher des séquences codant des ARNm (->polypeptides) ou des ARNt ou r?

- Les **algorithmes** cherchent des **séquences conservées** au cours de l'évolution
- Par exemple, les gènes codant des protéines présentent :



- un **cadre ouvert de lecture** ou **ORF** (Open Reading Frame = séquence ouverte de lecture) c'est-à-dire un codon, 2 séquences transcrites non traduites (5'UTR et 3'UTR) + 1 codon START (AUG donc ATG dans l'ADN) + 1 codon STOP (UAA, UAG, UGA)
- un **promoteur** = zone de fixation de l'ARNpolymérase donc séquence de début de transcription
- un **terminateur** = zone de détachement de l'ARNpol (séquence de fin de transcription)
- une ou plusieurs **séquences régulatrices**



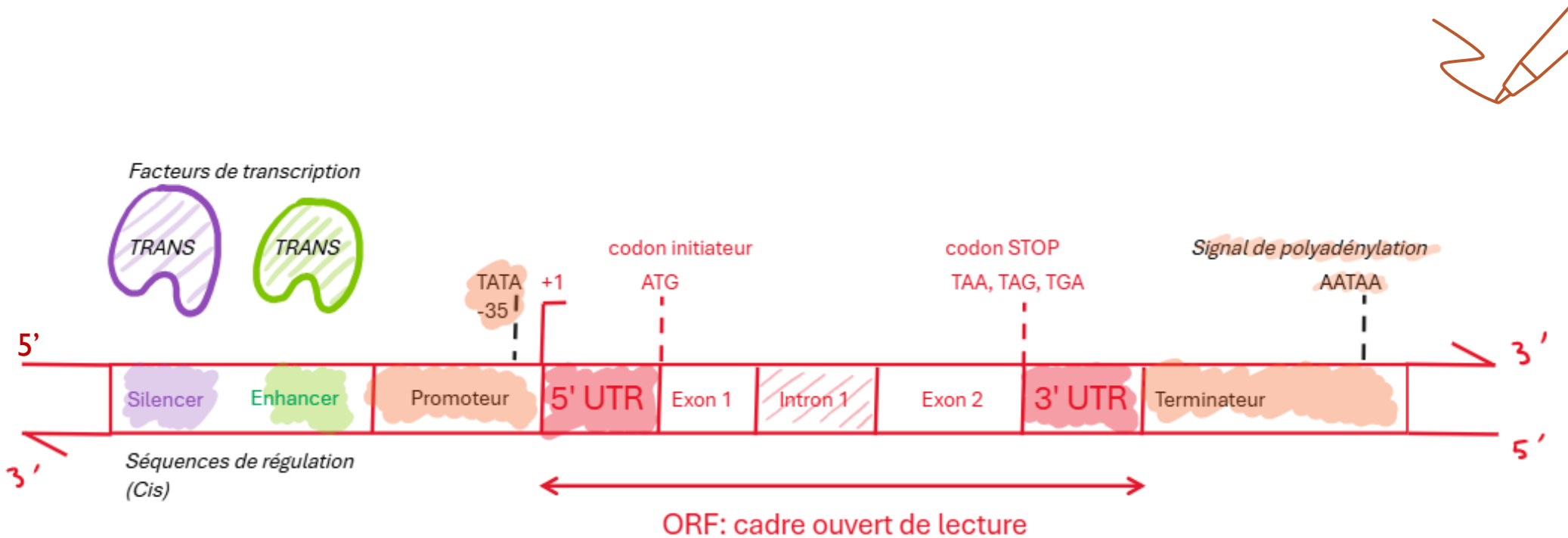


Schéma d'un gène composé d'un cadre ouvert de lecture et de ses séquences régulatrices (S. Dalaine)

A. LES GÉNOMES SONT FORMÉS PAR L'ENSEMBLE DE MOLÉCULES D'ADN

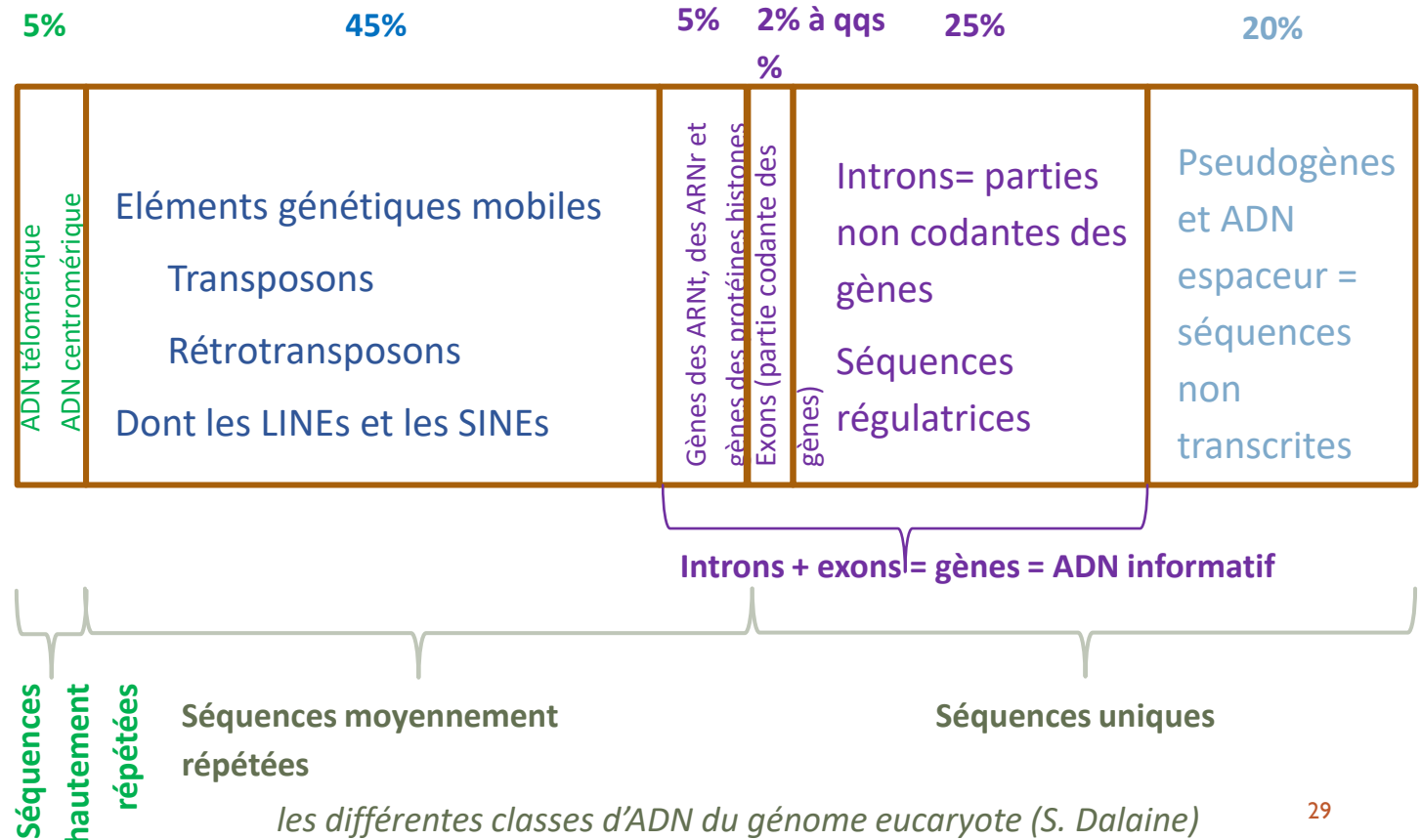
3. Les techniques de bioinformatique permettent de déterminer la séquence d'un génome

3.2. Résultats et traitement des données



- Procaryotes : **90%** du génome de *E. coli* est **codant**
 - génome compact avec **4 300 gènes**

- Eucaryotes : **1,5%** d'ADN codant chez **l'Homme**
 - 21 300 gènes
 - 98,5% d'ADN non codant mais petites séquences ayant un rôle de régulation de l'expression génétique.



PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

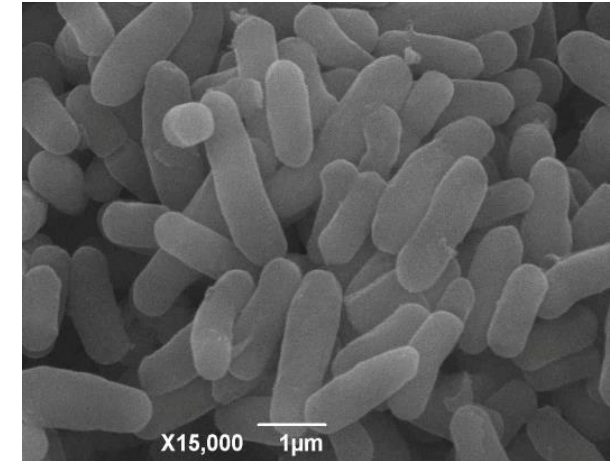
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

I. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries

Modèle : *Escherichia coli*



E. coli au MEB



Généralités

- Bactérie présente dans le tube digestif humain (Entérobactérie)
- Forme de bacille (1 μm x 2 μm)
- **Gram négatif**

Matériel génétique :

- situé dans le **cytoplasme**
- 2 composants :
 - Un **chromosome**
 - Des **plasmides**
- Génome séquencé (1997)
→ 4,6 Mb
- Taille du chromosome bactérien: 1,4 mm pour une bactérie de 1 μm!!

ADN chromosomique

Plasmide

Ribosome

Membrane externe

Paroi

Membrane plasmique

Cytoplasme

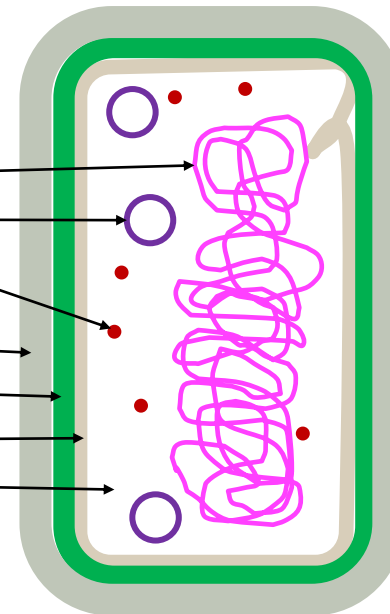
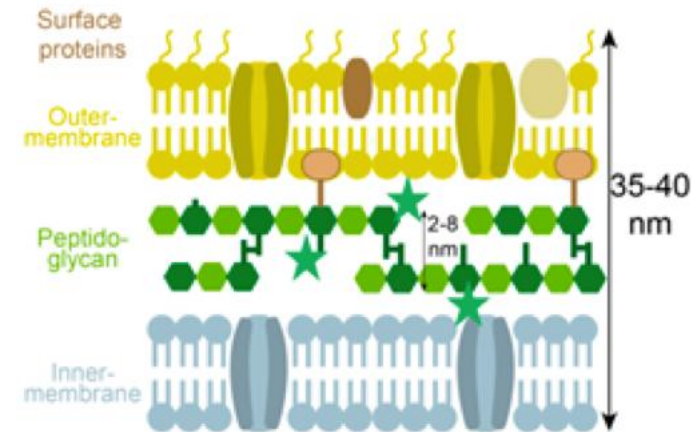


Schéma de l'organisation d'*E. coli*



Structure de l'enveloppe d'*E. coli*

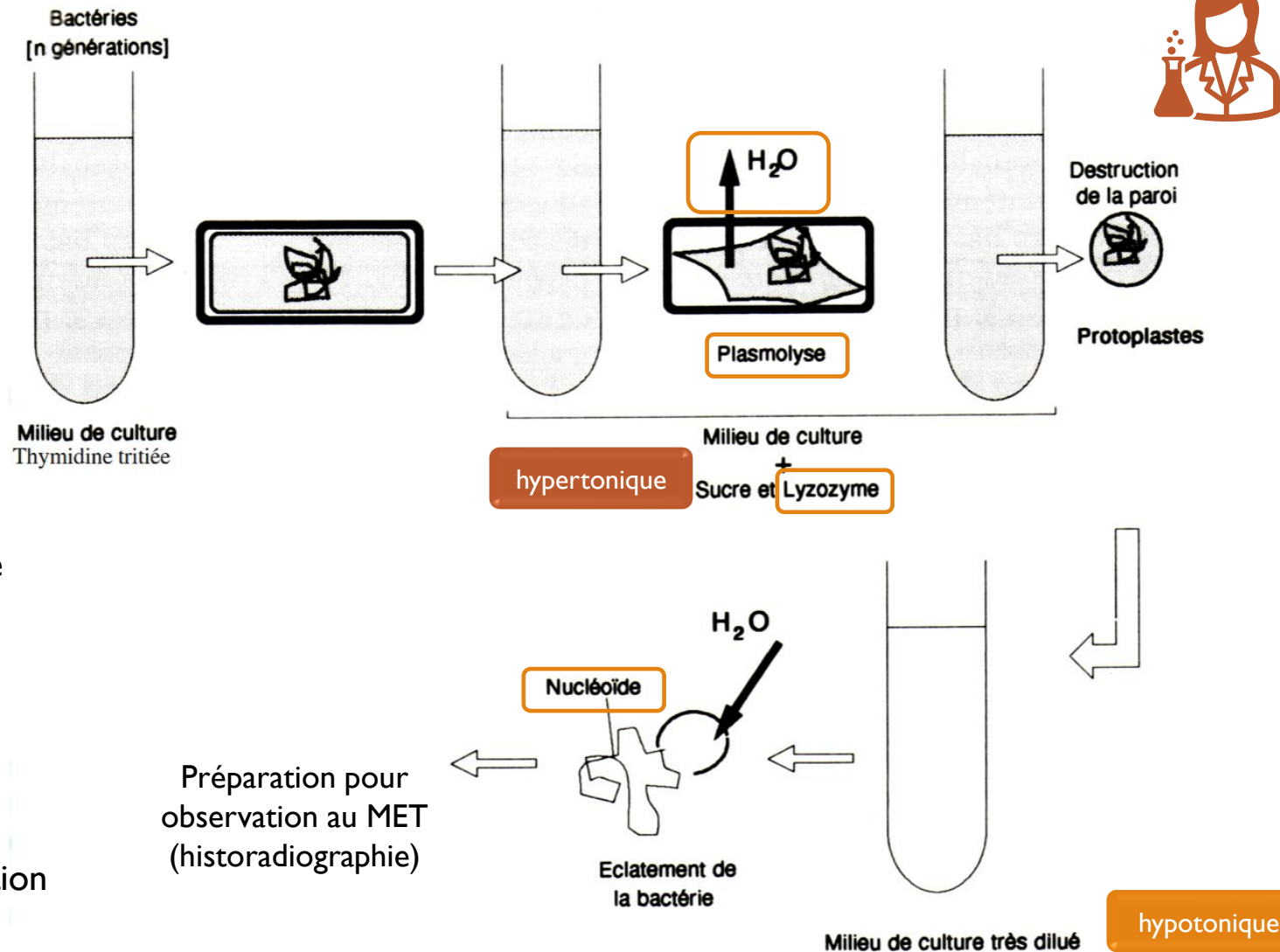
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

I. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries

Observation

Protocole

1. Culture en présence de **Thymidine tritiée**
→ marquage de l'ADN
2. Décollement de la membrane plasmique et lyse de la paroi
3. Libération du **nucléotide** par éclatement de la cellule
4. Réalisation d'une historadiographie et observation au MET



Protocole d'isolement du chromosome bactérien pour observation au microscope

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

I. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries

Observation

- ADN circulaire double brin unique ($4,6 \cdot 10^6$ de pdb \rightarrow 1400 μm)
- Structure en **marguerite** :
 - 50 boucles d'ADN de plusieurs micromètres de long +/- enroulées
 - \rightarrow Enroulement = propriété topologique normale des molécules circulaires hélicoïdales
 - Ancrage sur un cœur protéique: fonctions analogues à celles des histones chez les eucaryotes = protéines **NAP** = (nucleoid associated proteins).
 - **Nucléoïde** = chromosome circulaire (80%) + protéines (20%)



Chromosome
bactérien étalé
(MET)

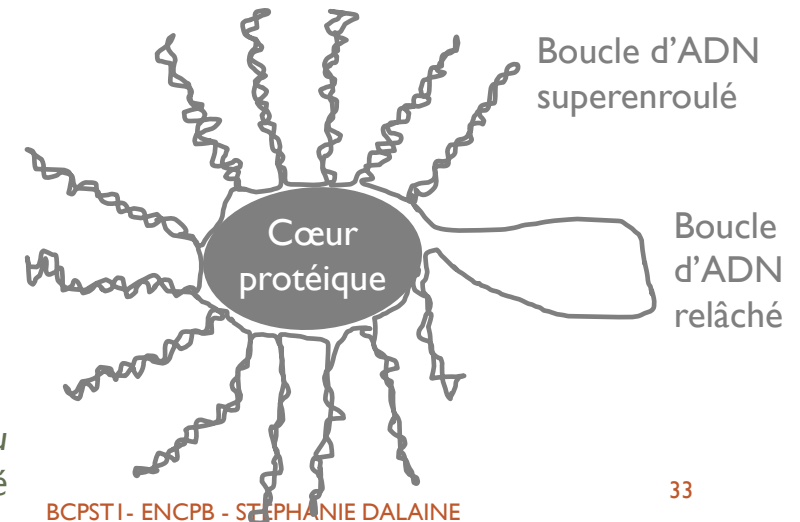
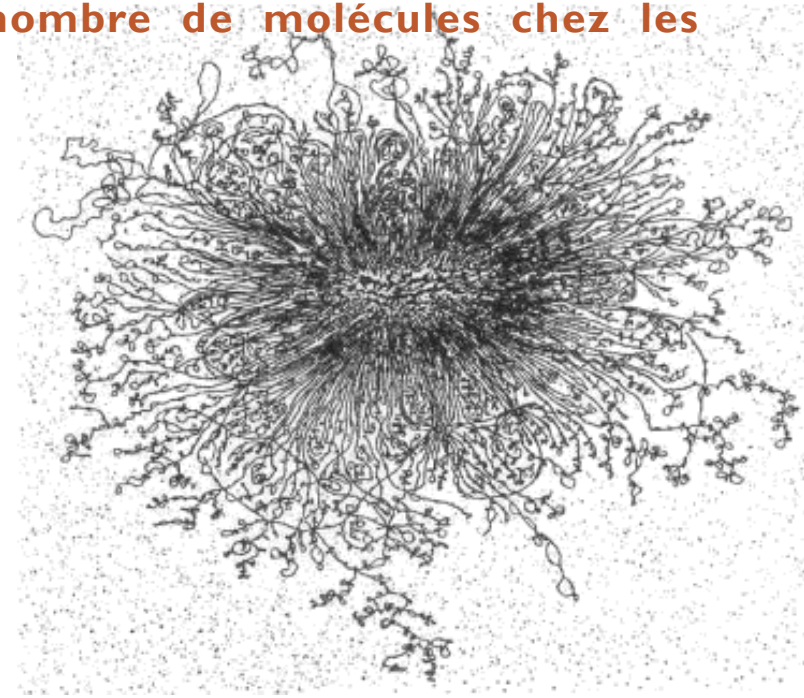


Schéma d'interprétation du
chromosome bactérien étalé

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

I. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries

Structure

- ADN associé à des protéines basiques (riches en His, Lys, Arg) dans nucléoïde :
 - **HLP** (histone like protein) → compaction et enchevêtrement des boucles
 - Enzymes (gyrases, topoisomérases II) → surenroulement
- *In vivo*, l'ensemble {ADN + protéines} forme le **nucléoïde**, fixé au **mésosome**

Rôle des enzymes topologiques du chromosome bactérien

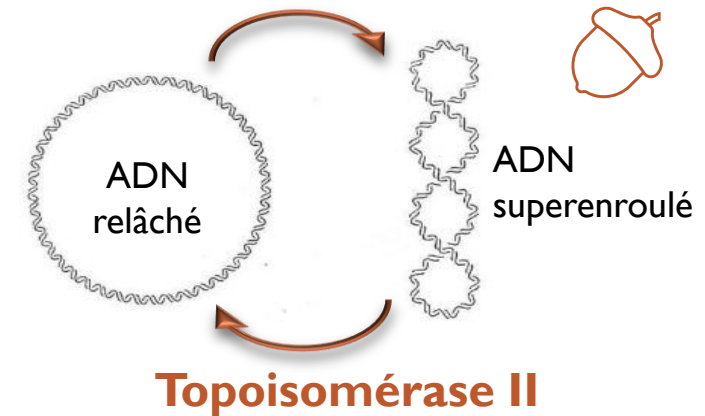
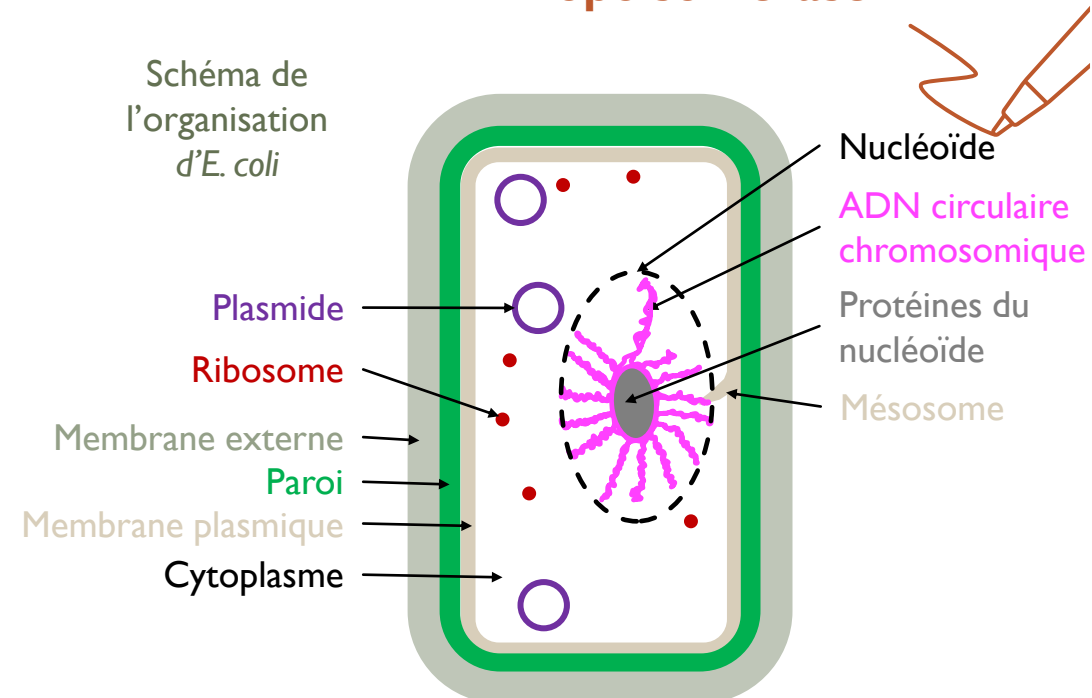


Schéma de l'organisation d'*E. coli*



Nucléoïde : n.m. région du cytoplasme bactérien où se situe le chromosome bactérien (80%), associé à des protéines (20%).

Mésosome : n.m. invagination membranaire avec site de fixation du chromosome bactérien

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

1. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries

1. Caractéristiques d'un plasmide

- ADN **circulaire** double brin
- **Petite** taille : 10-40 kb chez E coli
- Nombreuses **copies**
- **Réplication autonome.**

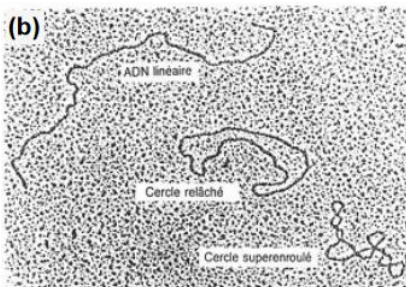


2. Rôle du plasmide

- **Echanges d'ADN** entre bactéries
- Non essentiel à la bactérie mais peut contenir des gènes utiles
ex: enzymes de résistance aux antibiotiques

3. Application

- Utilisation en biologie moléculaire (génie génétique)



L'ADN circulaire de plasmide peut prendre des formes superenroulées



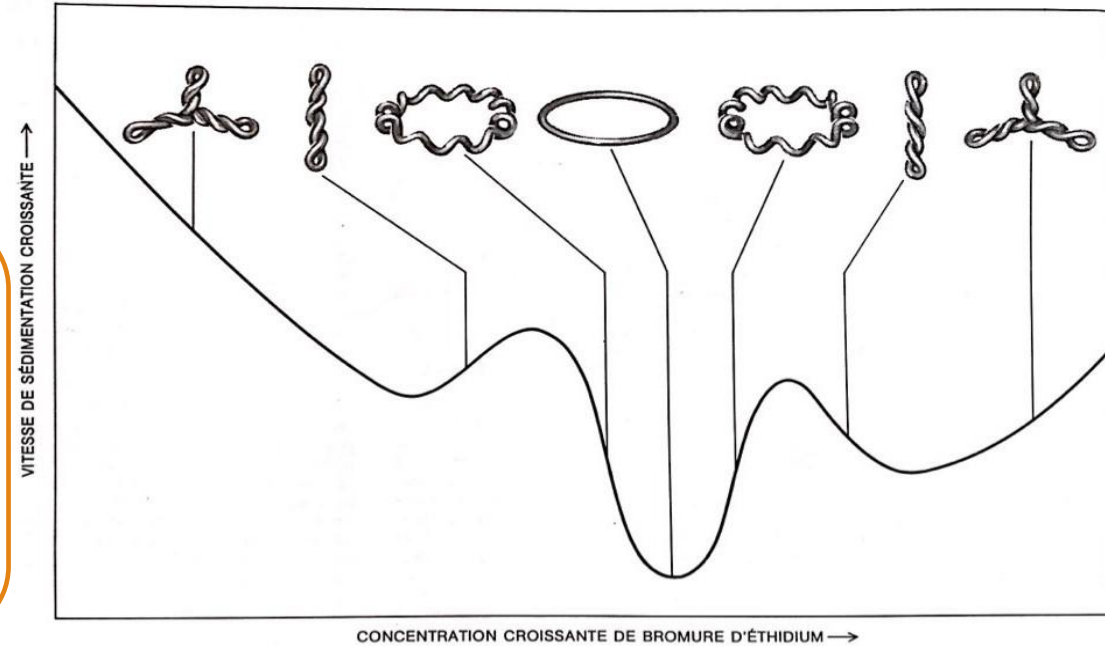
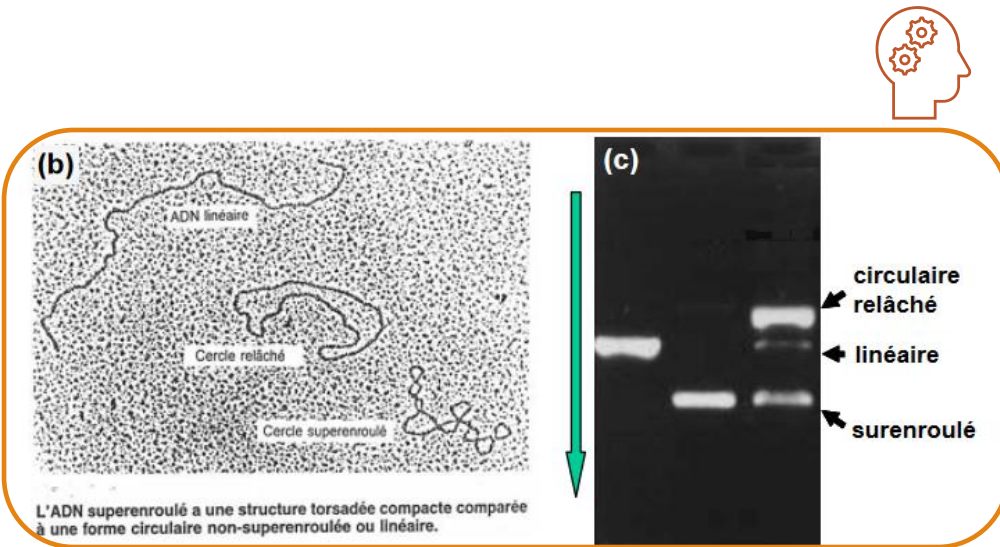
4. Les conjugaisons bactériennes

Transfert de plasmide

- Transmission des plasmides (F) par **conjugaison bactérienne**
- En cas de division cellulaire, répartition inégale entre les cellules.
- Parfois intégration dans le chromosome : **épisomes.**

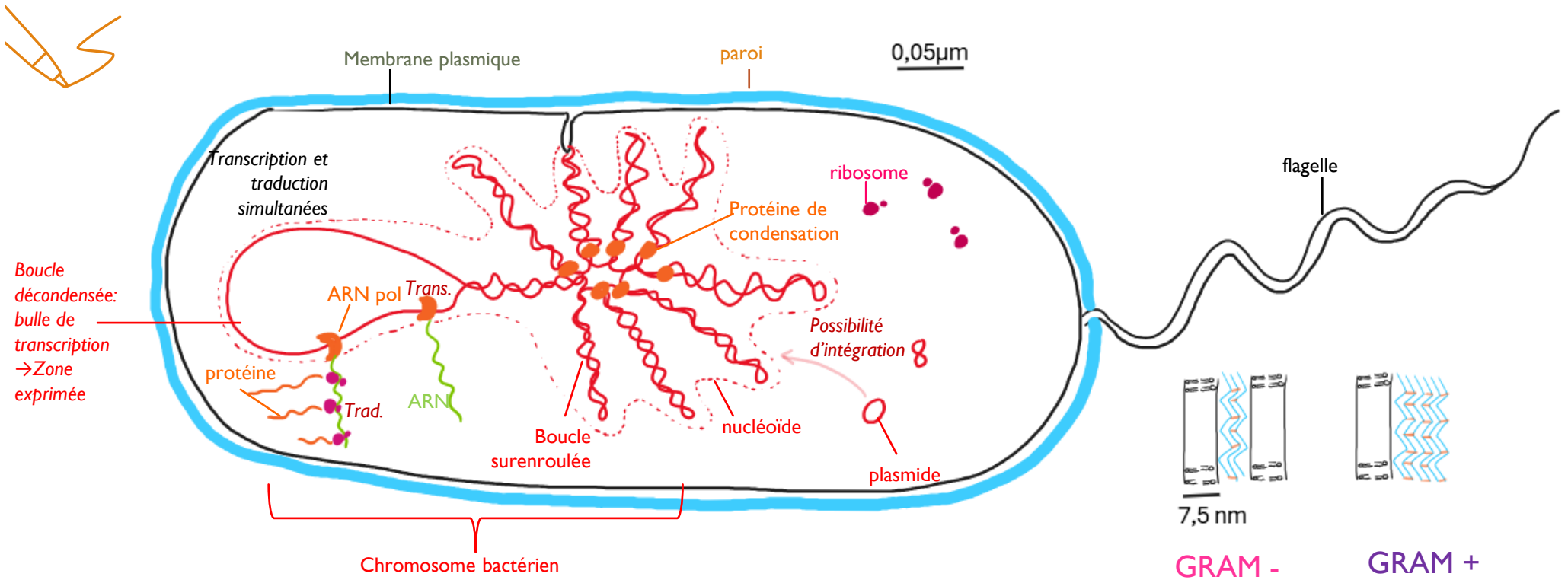
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

I. Un génome cytoplasmique et formé d'un petit nombre de molécules chez les eubactéries



9. LES SUPERHELICES SE RELACHENT lorsque l'on ajoute du bromure d'éthidium, (un colorant qui a une structure moléculaire plane) à une solution d'ADN surenroulé. Ce phénomène est illustré par cette figure qui représente la variation de la vitesse de sédimentation de l'ADN lorsqu'on ajoute le colorant. La vitesse de sédimentation est la vitesse à laquelle les molécules d'ADN se déplacent dans le solvant lorsque la solution est soumise à un champ de gravitation intense par ultracentrifugation : plus les molécules sont surenroulées, plus elles sont compactes, et plus leur vitesse de sédimentation est élevée. En augmentant la concentration de bromure d'éthidium, on diminue-

progressivement le vrillage des molécules d'ADN, non pas en augmentant la valeur du nombre d'enlacements (ce qui ne peut se faire qu'en coupant les chaînes polynucléotidiques) mais en réduisant leur tortillement. Les molécules de colorant s'intercalent entre les paires de bases de l'ADN, détordant localement la double hélice. Le graphe montre qu'une concentration suffisante de colorant provoque le relâchement total des molécules d'ADN, et que si l'on en ajoute encore plus, l'ADN commence à se surenrouler en sens inverse. Les changements de structure de l'ADN que l'on a représentés ici sont confirmés par la microscopie électronique.

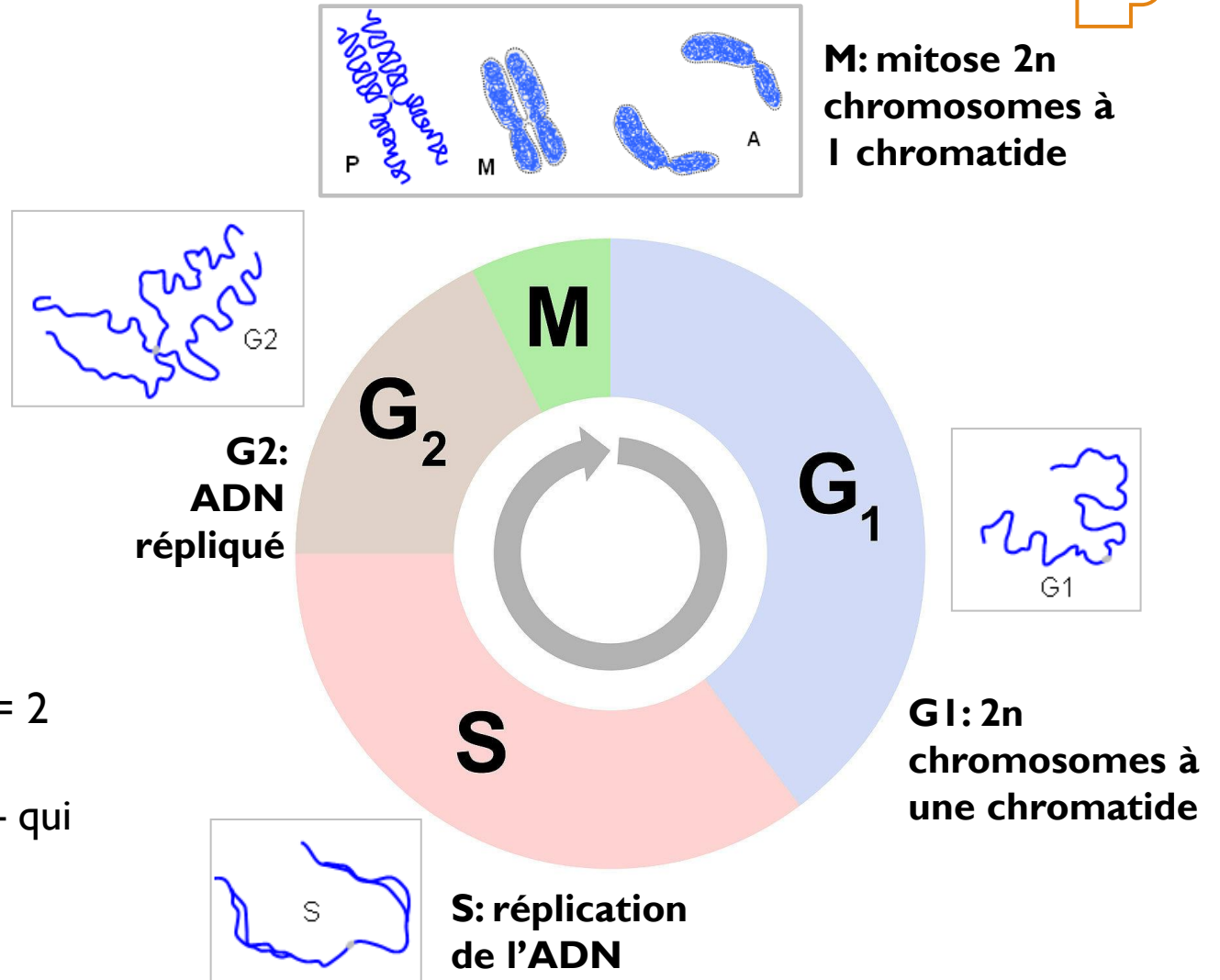


:Schéma bilan sur la structure du génome chez les Eubactéries

Rappels

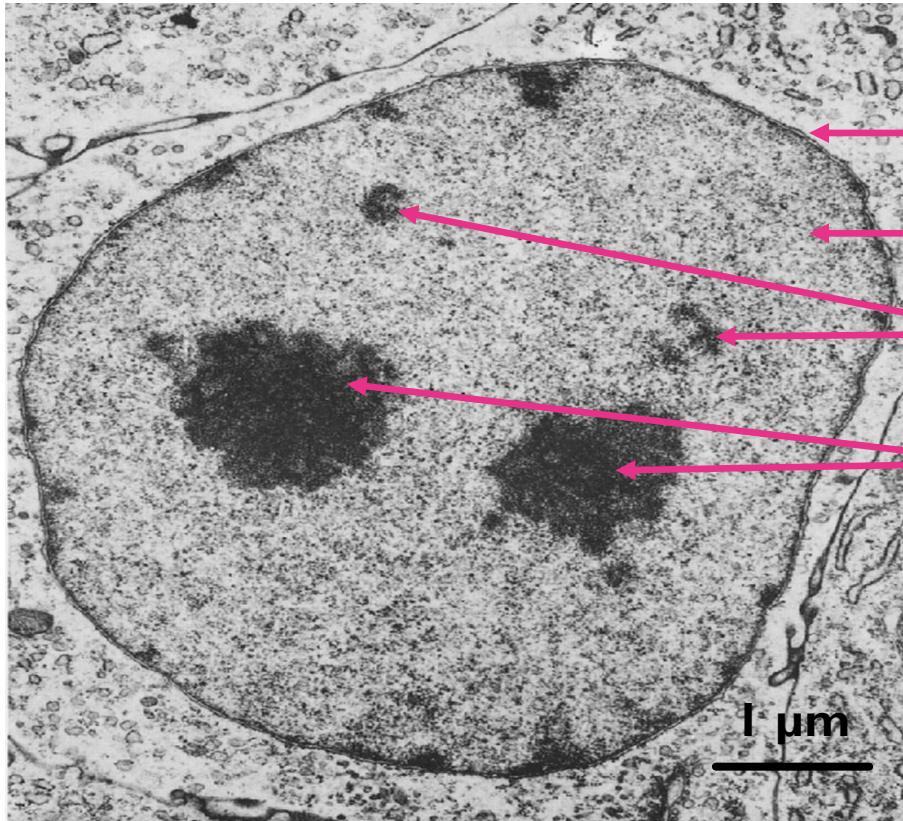


- Notion de **compaction**
 - Au cours du cycle cellulaire, le contenu du noyau change d'aspect :
 - Interphase → réseau fibrillaire = chromatine
 - Mitose (division) → bâtonnets en forme de X = chromosomes
- ⇒ Chromosome et chromatine = 2 aspects différents d'un même objet - le matériel génétique – qui est plus ou moins condensé (compacté)

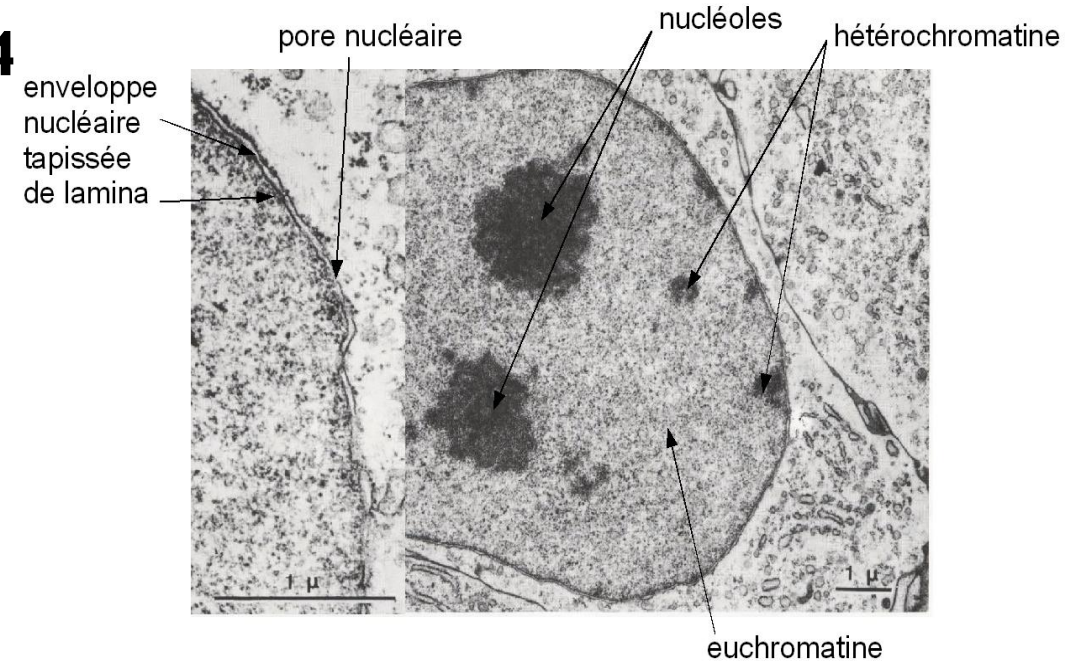


B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



1. Enveloppe nucléaire avec pores
2. Euchromatine
3. Hétérochromatine
4. Nucléole



Electronographie d'un noyau (MET)

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



2.1. Localisation du génome

- Noyau : organite +/- sphérique (\varnothing 5-7 μm)
- Noyau entouré d'une **enveloppe**
 - 2 membranes accolées
 - Membrane ext en continuité avec le REG
 - Percée de **pores nucléaires**
 - échanges noyau-cytoplasme
 - Tapissée de **lamines** (filaments intermédiaires du cytosquelette)
 - Ancrage de l'ADN, forme du noyau

Noyau, enveloppe nucléaire et pores nucléaires (MET)

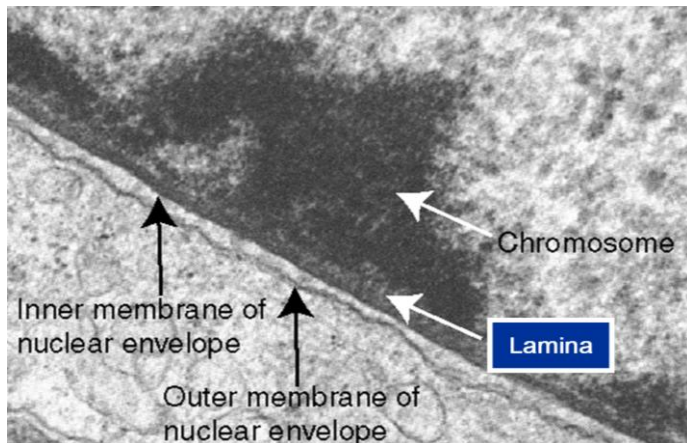
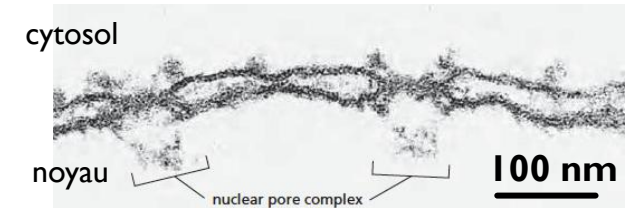
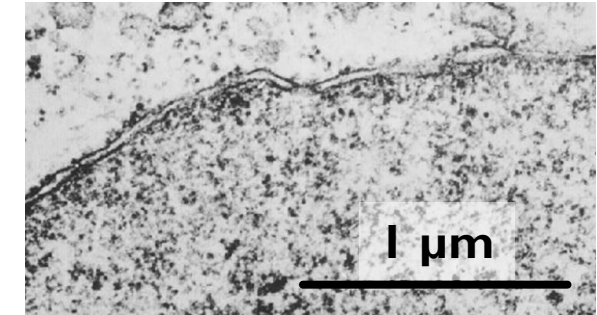
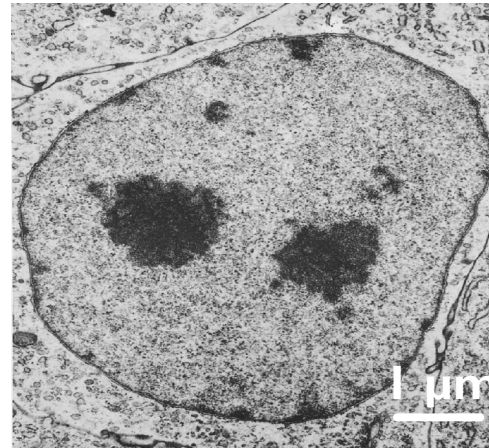
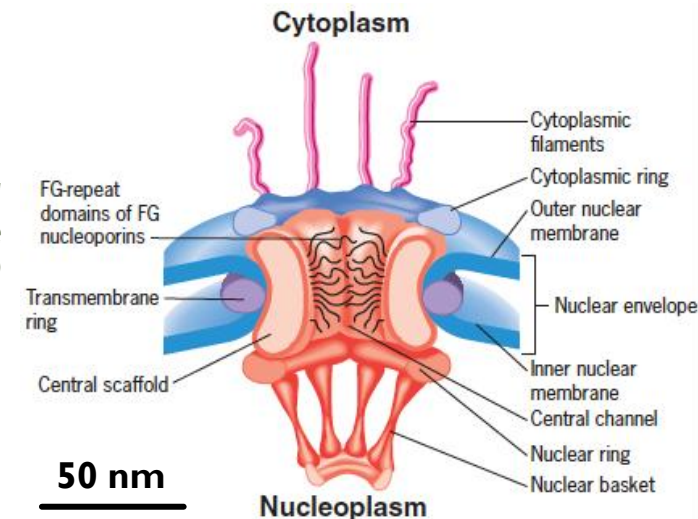


Schéma d'un complexe du pore nucléaire en coupe (Karp)

Enveloppe nucléaire tapissée de lamines (MET)



B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

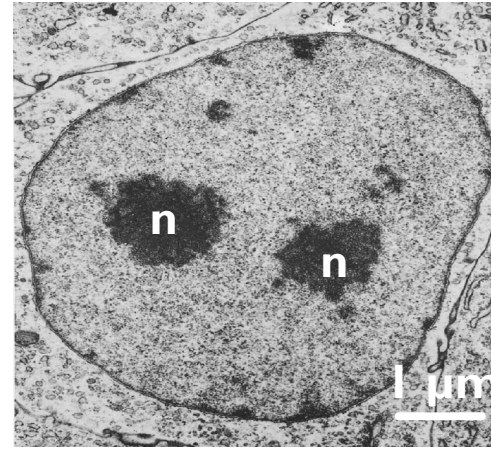
2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

2.1. Localisation du génome

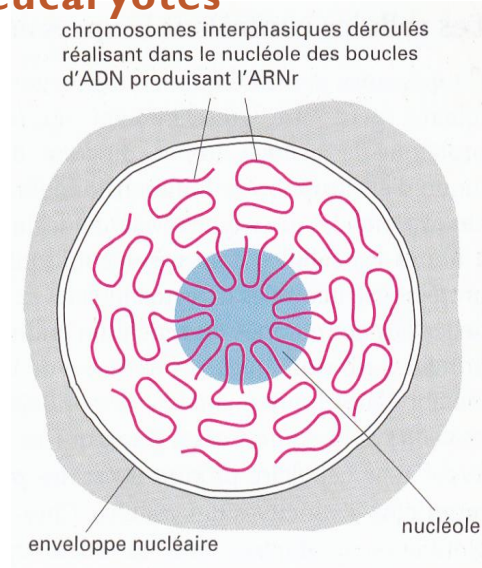


- **Nucléole** = région particulière du noyau formé :

- du regroupement de régions des chromosomes codant pour les **ARNr**
- de nombreux ARN (→ gris clair au MET)



Noyau avec 2 nucléoles (n) (MET).



- Noyau contient chromatine sous différentes formes :

- ✓ **Euchromatine** (claire au MET)
→ **Forme active** ; expression des gènes
- ✓ **Hétérochromatine** (sombre au MET)
→ **Forme inactive** ; répression des gènes

Euchromatine	Hétérochromatine	
—	Facultative	Constitutive
Peu dense, dispersée dans le noyau	Dense, dispersée dans le noyau	Dense, position périphérique dans le noyau
Expression des gènes	Répression des gènes	
Réplication précoce en S	Réplication tardive en S	

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

Génome extranucléaire

- **Matériel extranucléaire des eucaryotes, celui :**
 - Des mitochondries
 - Des chloroplastes
- **Quantité importante d'ADN dans les organites + copies multiples**
 - ➔ **ADNmt peut devenir majoritaire dans une cellule animale**

Quantités relatives d'ADN des organites dans certaines cellules et certains tissus

ORGANISME	TYPE TISSULAIRE OU CELLULAIRE	MOLÉCULES D'ADN PAR ORGANITE	ORGANITES PAR CELLULE	ADN DE L'ORGANITE EN TANT QUE POURCENTAGE D'ADN CELLULAIRE TOTAL
ADN MITOCHONDRIAL				
Rat	Foie	5-10	1 000	1
Levure*	Végétatif	2-50	1-50	15
Grenouille	Œuf	5-10	10 ⁷	99
ADN DE CHLOROPLASTE				
<i>Chlamydomonas</i>	Végétatif	80	1	7
Maïs	Feuilles	20-40	20-40	15

*L'importante variation du nombre et de la taille des mitochondries par cellule de levure est due à la fusion et à la fission mitochondriales.

Quantités relatives d'ADN des organites dans certaines cellules et certains tissus

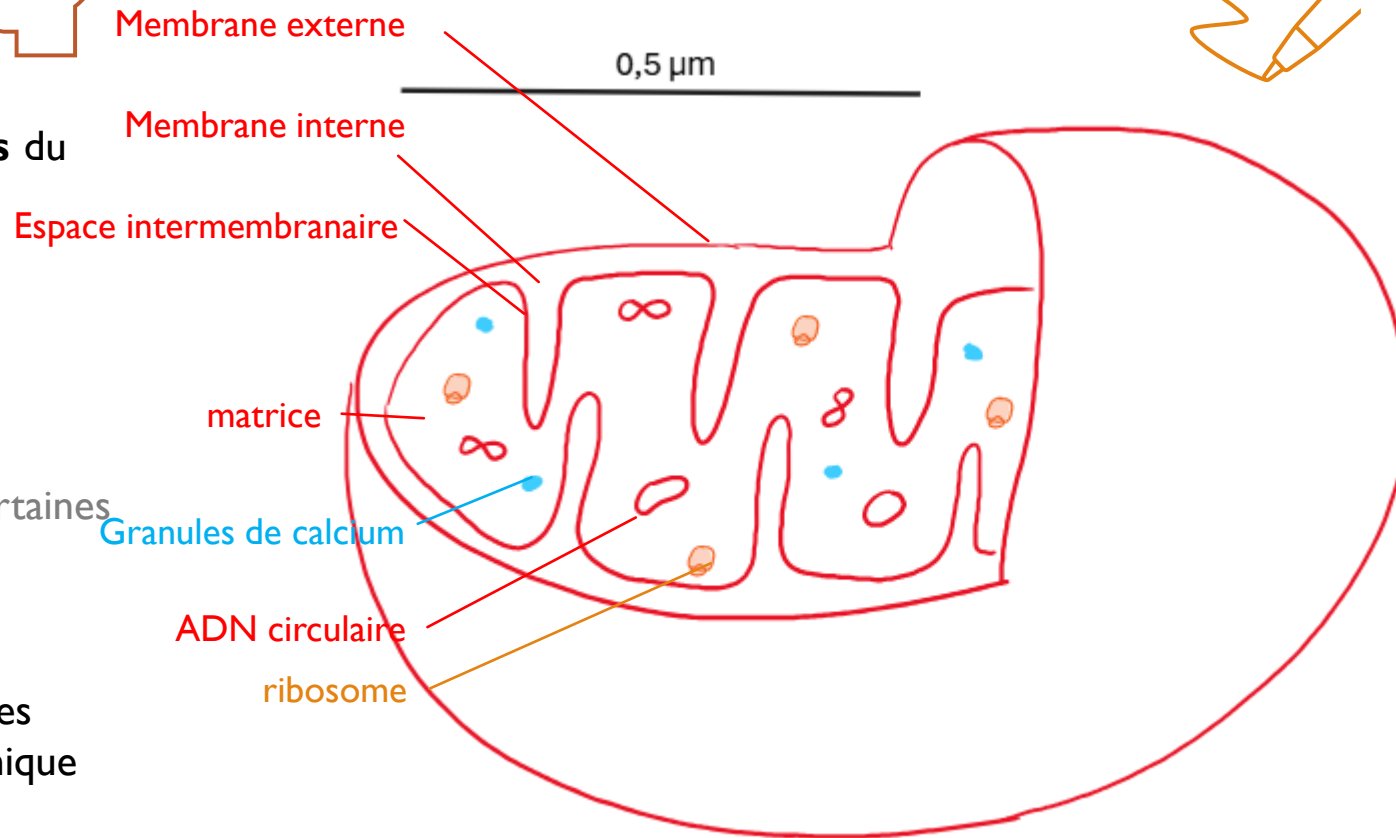
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

Génome extranucléaire



- **ADN circulaire double brin**
- En moy. **cing copies identiques** du chromosome
- Localisation : dans la matrice
- Taille : 17 kb pour le génome mitochondrial humain
 - 2,5 Millions de pdb chez certaines Angiospermes
- Peu de gènes encodés
- Transmission non mendélienne des caractères → hérédité cytoplasmique
- Les **mitochondries étant héritées de la mère**, le génome mitochondrial transmis de mère en fille → phylogénie



Localisation de l'ADN d'une mitochondrie

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

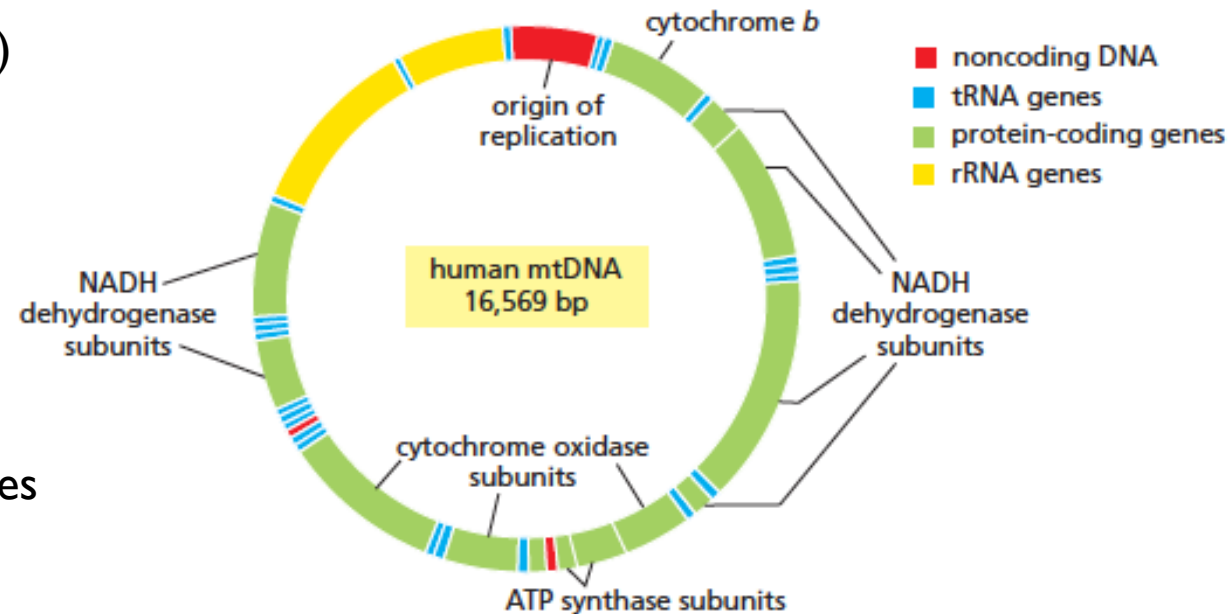
2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



Génome extranucléaire

Mitochondrie

- Plusieurs copies du génome (5 en moy.)
- Petit génome
 - Vertébrés : pas d'introns, peu de séquences intergéniques
 - Végétaux : présence d'introns dans certains gènes
- Chaque chromosome contient : 37 gènes
 - Gènes d'ARNr
 - Gènes d'ARNt
 - 13 gènes codant des protéines (surtout de la chaîne respiratoire)
- L'ADN non codant inclut : **l'origine de réplication**, des éléments de régulation de l'expression des gènes, des régions hypervariables.



Organisation du génome mitochondrial chez l'Homme

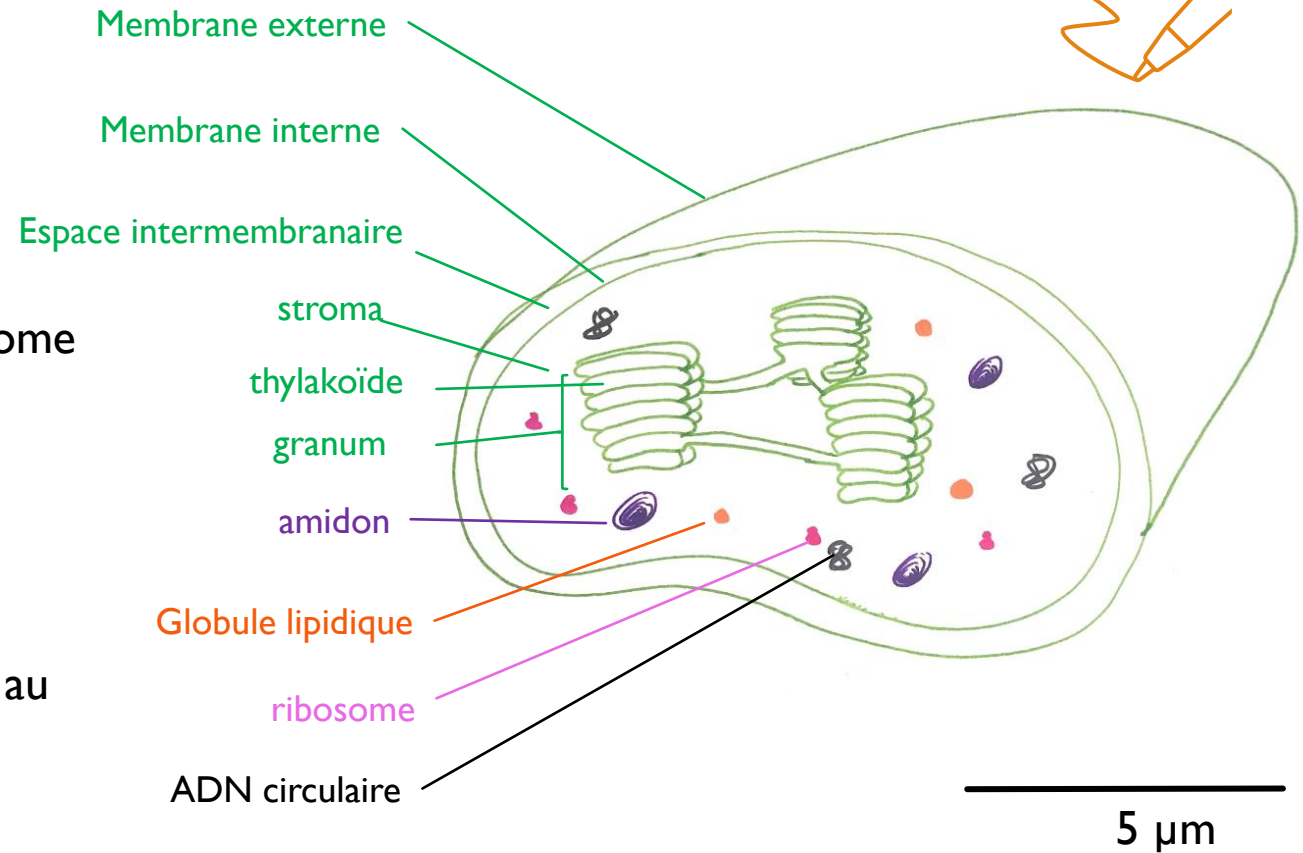
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



Génome extranucléaire

- ADN circulaire double brin
- Nombreuses copies du chromosome
- Localisation : dans le **stroma**
- Taille : 70-200 kb
- Peu de gènes encodés, comparés au génome nucléaire.



Localisation de l'ADN d'un chloroplaste

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

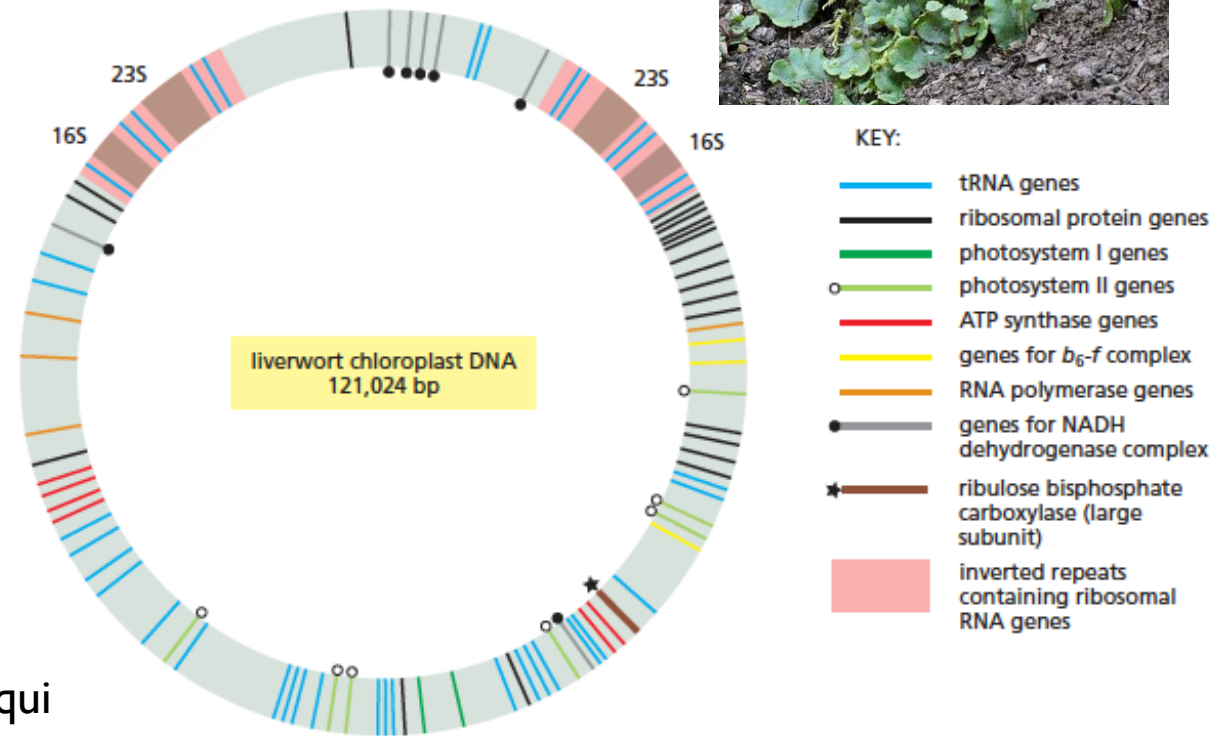
2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



Génome extranucléaire

Chloroplaste

- **Plusieurs copies** du génome
- Génome + grand que celui de la mitochondrie
- Gènes peu nombreux comparés au génome nucléaire
 - Gènes **d'ARNt**
 - Gènes **d'ARNr**
 - Gènes de **protéines ribosomiques**
 - Gènes en lien avec la **chaîne photosynthétique**
- Certains gènes possèdent des **introns** qui sont épissés avant traduction
- ADN non codant avec une origine de réplication



Organisation du génome chloroplastique chez une hépatique

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

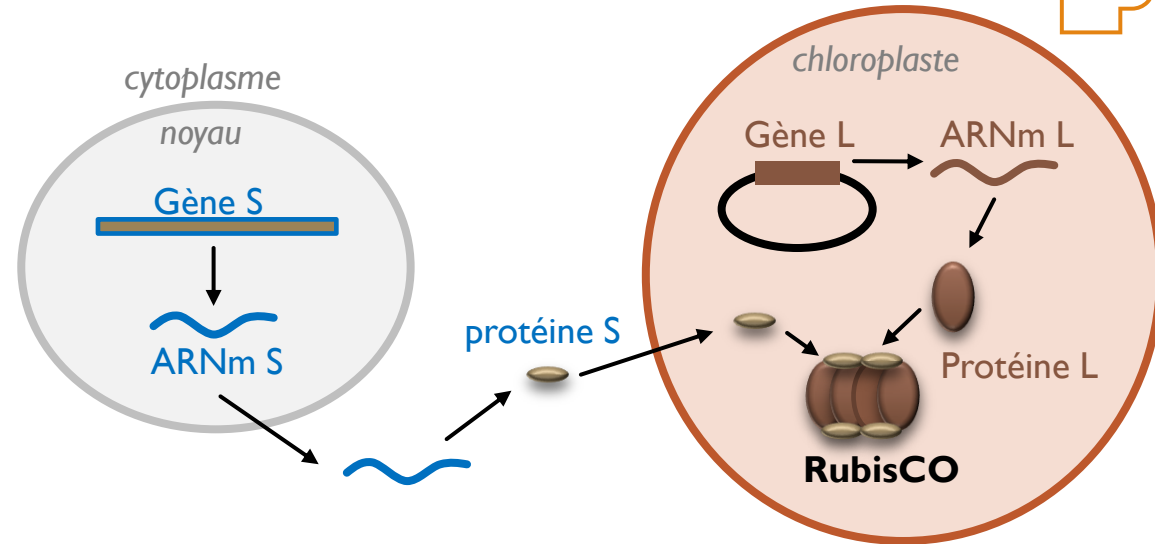
2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes



Génome extranucléaire

Un génome chimérique

- Une part importante des protéines des mitochondries et des chloroplastes **provient du noyau**.
- Ces protéines sont encodées dans le noyau, synthétisées dans le cytoplasme puis importées dans l'organe
 - Mitochondrie : 90% des protéines encodées dans le noyau
 - Chloroplaste : protéines chimériques – ex Rubisco
- Explication : Une partie des gènes initialement dans la mitochondrie et le chloroplaste ont été **transférés au noyau au cours de l'évolution**
 - ⇒ Génome eucaryote chimérique
 - ⇒ Organite semi-autonome



Origine chimérique de la Rubisco (Ribulose – 1,5- biphosphate carboxylase/oxygénase)

	LOCALISATION DU GÈNE	ORIGINE ÉVOLUTIVE DU GÈNE
Cytochrome <i>b</i>	codé dans la mitochondrie	} présents chez les procaryotes
Cytochrome <i>c1</i>	codé dans le noyau ¹	
Protéine Fer-Soufre	codée dans le noyau ¹	
Sous-unités non-catalytiques	au moins 7 sous-unités toutes codées dans le noyau	aucun homologue chez les procaryotes

Origine et composition des sous-unités du cytochrome *bc1* des mitochondries chez *S. cerevisiae*

Organite semi-autonome : n.m. organe qui possède son propre matériel génétique et capable de répllication autonome, mais **nécessitant l'assistance du noyau pour fonctionner pleinement**



B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

Un génome morcelé

- chromosome eubactérien unique \neq chromosomes eucaryotes au moins au nombre de 2
 - ⇒ génome eucaryote **fragmenté**
 - ⇒ chromosomes = **fragments du génome**, présents en nombre variable selon les espèces (par exemple : 8 chez la drosophile, 46 chez l'homme).
- chromosomes eucaryotes sous forme de paires chez les organismes (ou générations) **diploïdes**, ou pas chez les organismes (ou générations) **haploïdes**.

ORIGINES DE RÉPLICATION ⊗	recrutent les protéines à l'origine de l'ouverture de l'hélice et de l'initiation de la réplication	
CENTROMÈRES ◆	permettent l'assemblage des protéines des kinétochores assurant la prise en charge des chromosomes par le fuseau de division	
TÉLOMÈRES □ région hautement répétitive (TTAGGG) _n n de 100 à plusieurs milliers chez l'Homme	protègent l'extrémité des chromosomes linéaires et évitent leur raccourcissement à chaque réplication. Rallongés par la télomérase, abondante dans les cellules en division (cellules souches, lignée germinale).	

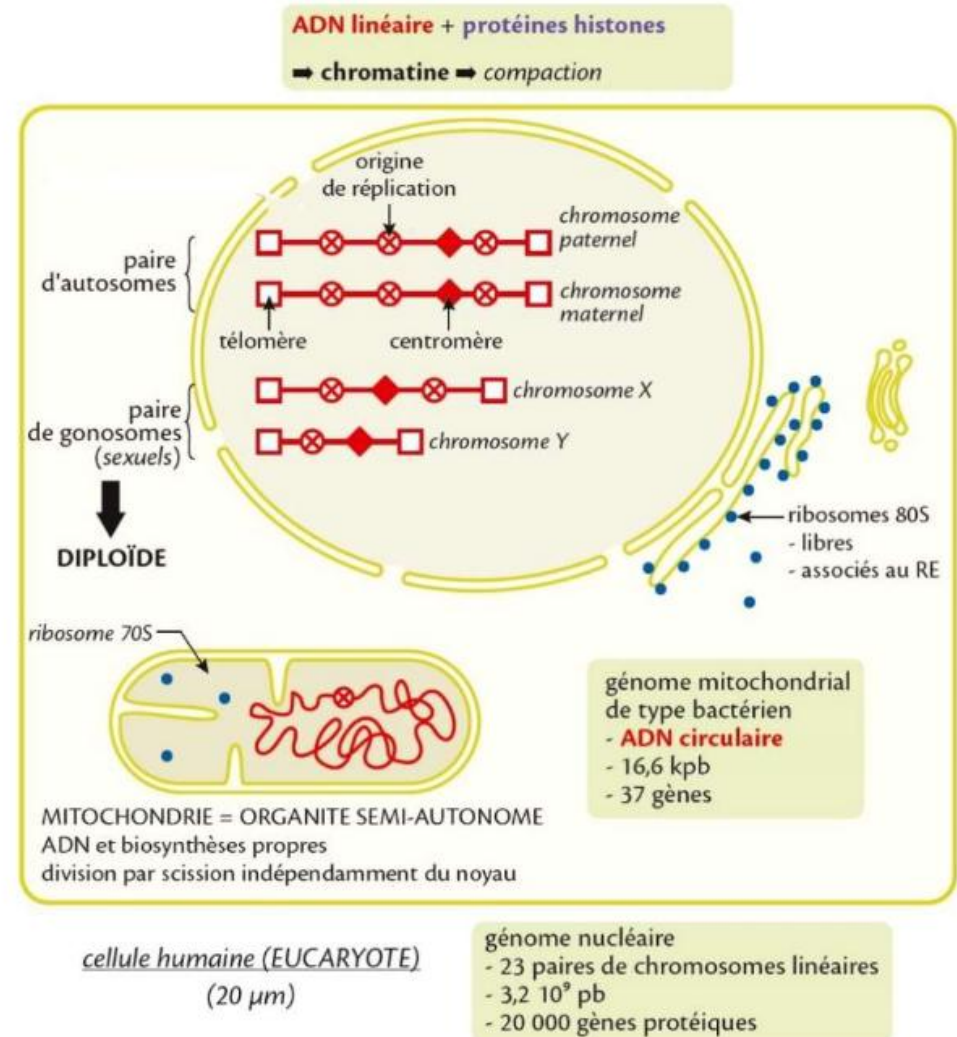


Schéma bilan sur l'organisation du génome des eucaryotes : un génome morcelé (source : A. Denis)

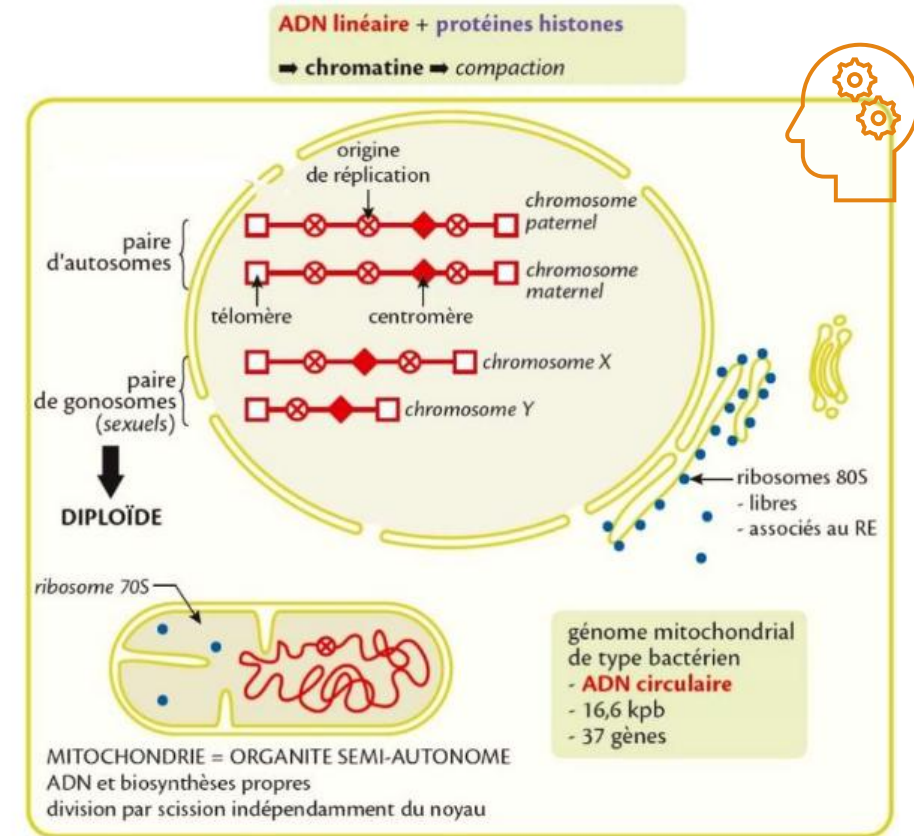
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

Un génome morcelé

- Les chromosomes = association de protéines et d'une molécule d'ADN bicaténaire linéaire
 - association ADN et protéine = **chromatine**
 - **Protéines = 50% de la masse de la chromatine**, principalement des histones
 - deux types de protéines:
 - ✓ **protéines de « travail »** de l'ADN (protéines, enzymes de réparation, réplication, transcription), qui sont les moins nombreuses
 - ✓ **protéines structurant** les chromosomes : histones et non-histones

- Pendant la mitose, les chromosomes se condensent : on parle de **chromosomes mitotiques ou métaphasiques**
- **La réplication (phase S)** du génome morcelé des eucaryotes repose sur **plusieurs origines de réplication**



cellule humaine (EUCARYOTE)
 (20 µm)

génome nucléaire
 - 23 paires de chromosomes linéaires
 - $3,2 \cdot 10^9$ pb
 - 20 000 gènes protéiques

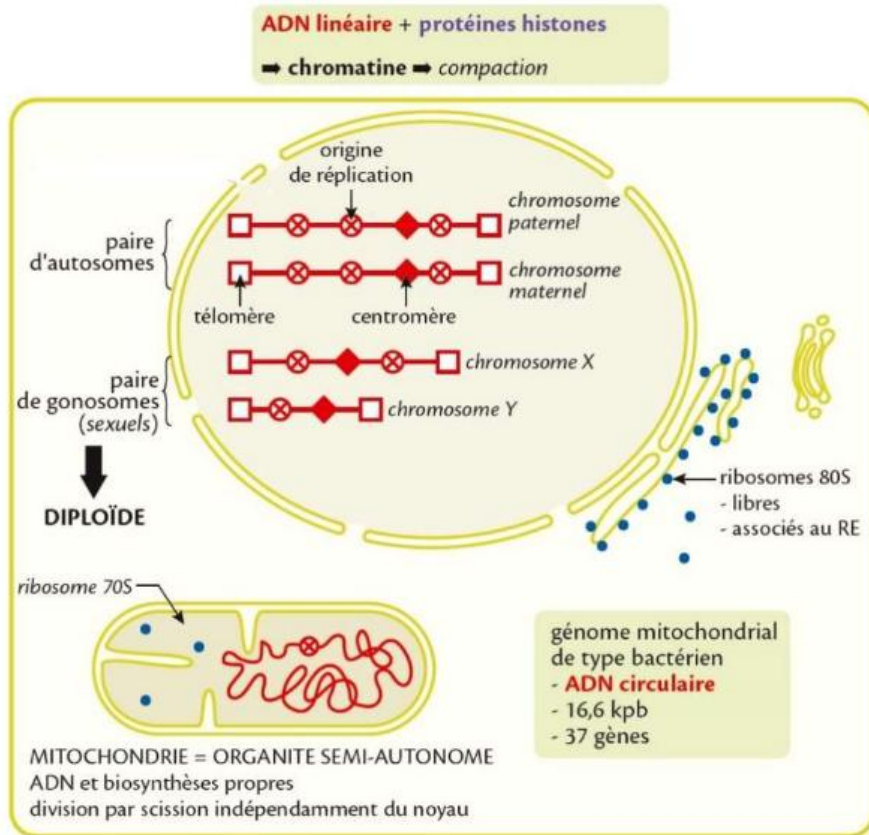
ORIGINES DE RÉPLICATION ⊗	recrutent les protéines à l'origine de l'ouverture de l'hélice et de l'initiation de la réplication	
CENTROMÈRES ◆ <i>variable en position et séquences souvent répétées</i>	permettent l'assemblage des protéines des kinétochores assurant la prise en charge des chromosomes par le fuseau de division	
TÉLOMÈRES □ <i>région hautement répétitive (TTAGGG)_n</i> <i>n de 100 à plusieurs milliers chez l'Homme</i>	protègent l'extrémité des chromosomes linéaires et évitent leur raccourcissement à chaque réplication. Rallongés par la télomérase, abondante dans les cellules en division (cellules souches, lignée germinale).	<i>extrémité d'un chromosome</i>



B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

Un génome morcelé



cellule humaine (EUCARYOTE)
 (20 μm)

génome nucléaire
 - 23 paires de chromosomes linéaires
 - 3,2 10⁹ pb
 - 20 000 gènes protéiques

ORIGINES DE RÉPLICATION ⊗	recrutent les protéines à l'origine de l'ouverture de l'hélice et de l'initiation de la répliation	
CENTROMÈRES ◆ <i>variable en position et séquences souvent répétées</i>	permettent l'assemblage des protéines des kinétochores assurant la prise en charge des chromosomes par le fuseau de division	
TÉLOMÈRES □ <i>région hautement répétitive (TTAGGG)_n</i> <i>n de 100 à plusieurs milliers chez l'Homme</i>	protègent l'extrémité des chromosomes linéaires et évitent leur raccourcissement à chaque répliation. Rallongés par la télomérase, abondante dans les cellules en division (cellules souches, lignée germinale).	

Schéma bilan sur l'organisation du génome des eucaryotes : un génome morcelé (source : A. Denis)

B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

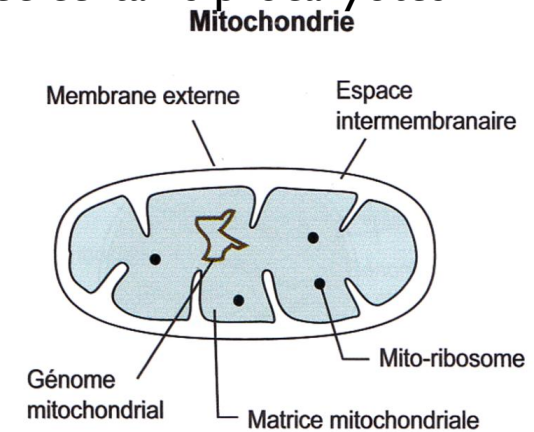
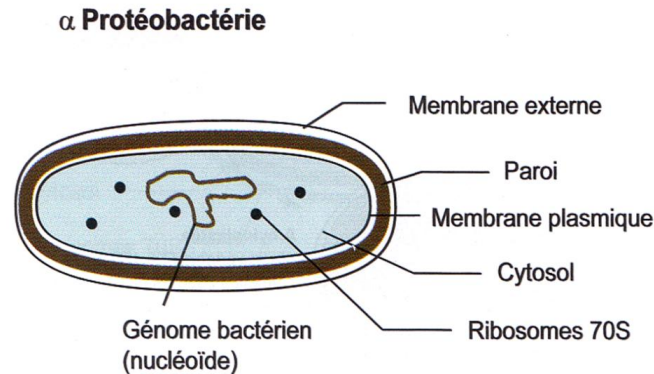
3. Comparaison des génomes procaryotes et des génomes extranucléaires des eucaryotes

Génome extranucléaire Théorie endosymbiotique

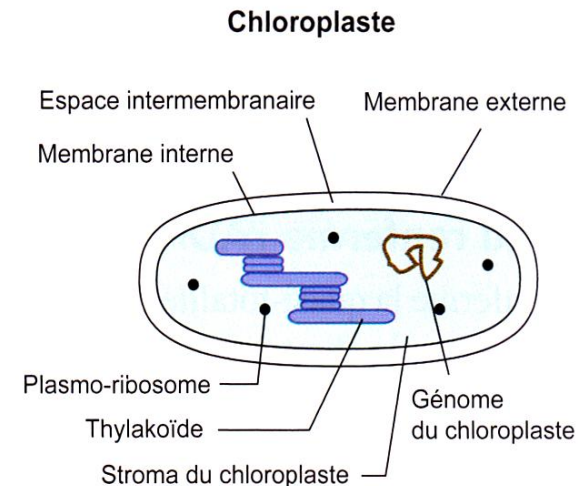
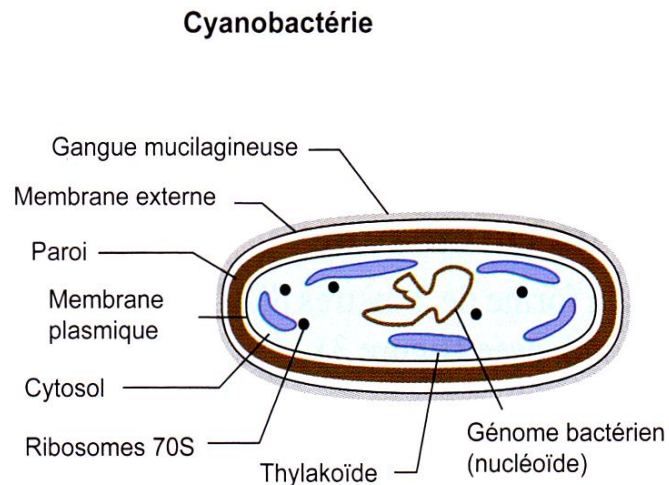
Points communs mitochondries et bactéries: génomes compacts, ADN double brin circulaire, systèmes de contrôle de la transcription, séquences des ARN ribosomiques

- Mitochondries et chloroplastes présentent des similitudes avec certains procaryotes

Structures comparées d'une α -protéobactérie et d'une mitochondrie



Comparaison de l'organisation des Cyanobactéries et du chloroplaste



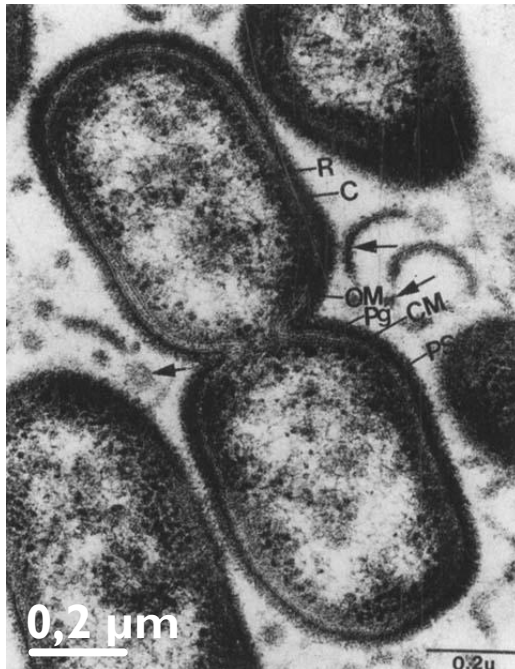
B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

3. Comparaison des génomes procaryotes et des génomes extranucléaires des eucaryotes

Théorie endosymbiotique

Génome extranucléaire

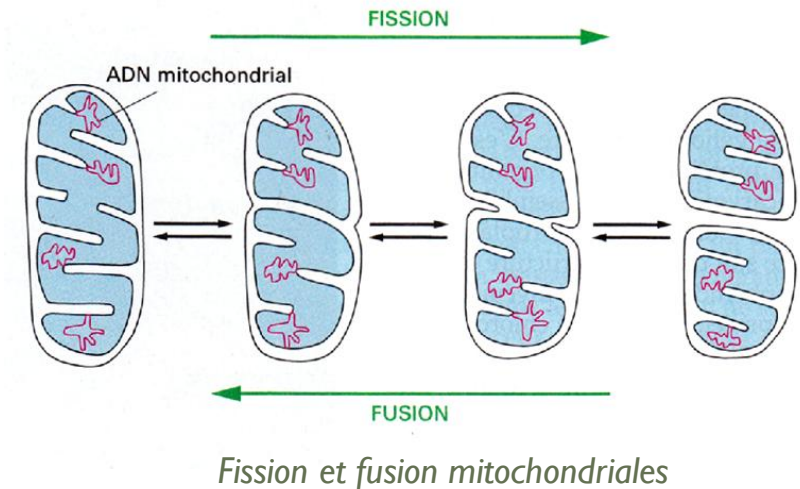
- Mitochondries et chloroplastes → division de façon autonome (fission) par rapport à la cellule. *Rem : les mitochondries peuvent aussi fusionner (fusion)*
- Le mécanisme de fission ressemble sur le principe à celui de la division bactérienne



Bactérie (*Porphyromonas gingivalis*) en cours de division (MET)



Mitochondrie en cours de fission dans une cellule hépatique (MET)



B. LOCALISATION ET SUPPORT DU GÉNOME DANS LA CELLULE

3. Comparaison des génomes procaryotes et des génomes extranucléaires des eucaryotes

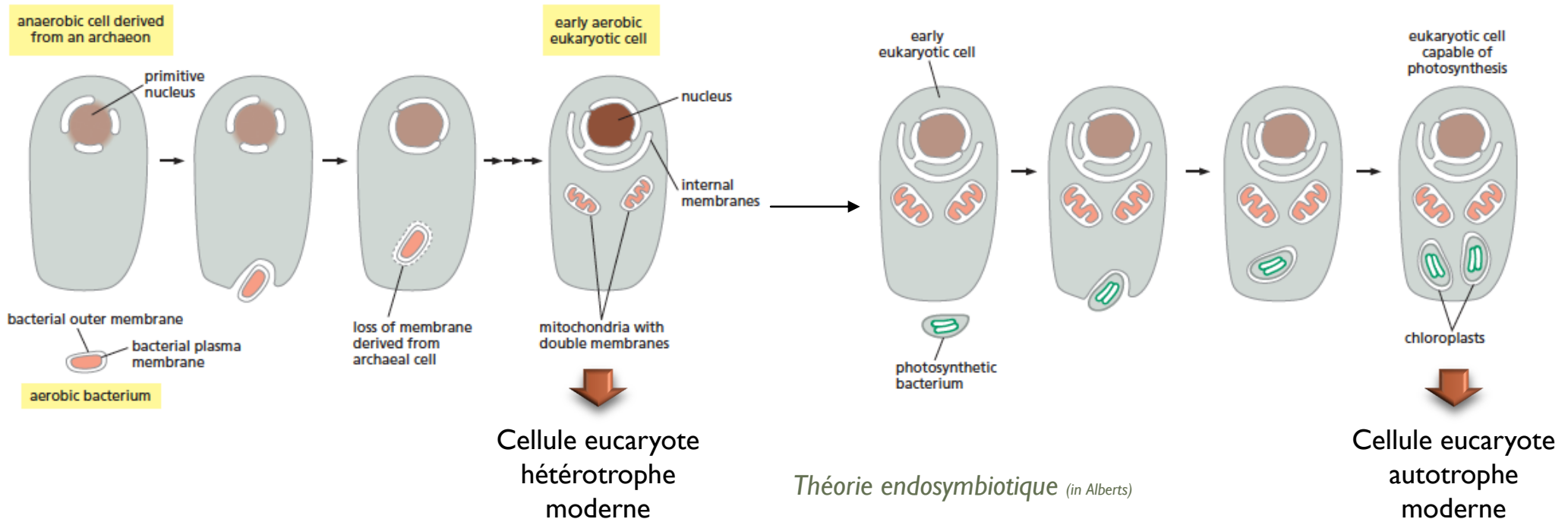


Théorie endosymbiotique

Génome extranucléaire

- Mitochondries et chloroplastes proviendraient d'épisodes de **phagocytose d'une eubactérie par une cellule eucaryote.**
- Evolution en symbiose → **Théorie endosymbiotique**

Symbiose : n.f. interaction entre 2 espèces avec bénéfices réciproques



BILAN



- Caractéristiques communes des génomes de mitochondrie et de chloroplaste :
 - ADN circulaire double brin
 - Petit génome (comparé au génome nucléaire)
 - Peu de gènes codés
 - code des ARNr et ARNt ⇨ autonomie pour la traduction
 - Nombreuses copies
 - Génome non fragmenté
 - 1 origine de réplication ⇨ autonomie de réplication
- La réplication, l'expression des gènes et la division de ces organites est indépendante de la cellule
- Origine endosymbiotique de ces organites expliquant leurs similitudes et leurs ressemblances avec certains eucaryotes
- Une grande partie des protéines de ces organites est encodée par le noyau → transfert de gènes vers le noyau au cours de l'évolution (cf. origine évolutive de ces organites ; théorie endosymbiotique)

Organisation du génome et notion de gène



BILAN

		Génome eucaryote		Génome eubactérien
		nucléaire	extranucléaire	Chromosome
Taille		++++	Mt : + Chloro : ++	+++
Forme d'ADN		Linéaire	circulaire	circulaire
Séquences répétées		oui	non	non
ADN non codant		+++	+	+
Qté de gènes codés		++++	+	++
Organisation des gènes	Gène mosaïque en 3 parties (5'UTR; E-I; 3'UTR)		–	opéron
Introns		++	+/-	+/-

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

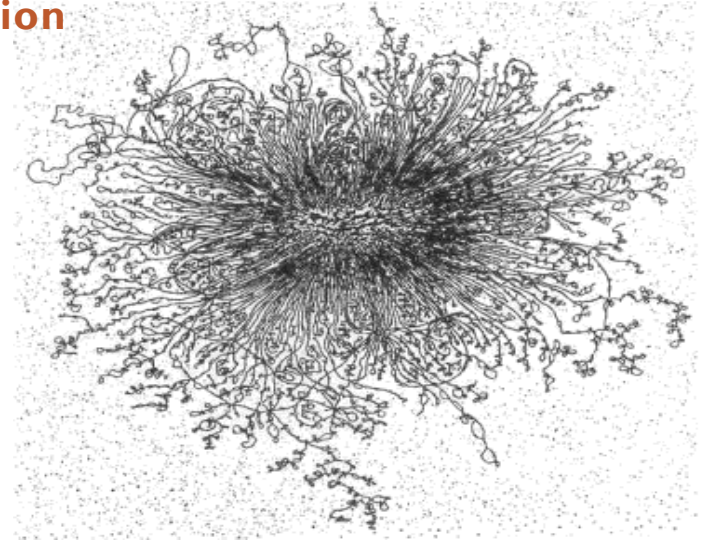
IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

I. Le chromosome bactérien présente une faible condensation

- Protéines associées à l'ADN génomique : **NAP (nucleoid associated proteins)**



Chromosome bactérien étalé (MET)

- grande proportion d'acides aminés portant des charges positives à pH physiologique (**Arginine, Lysine**)
- **Rôle: compacter l'ADN** sous la forme de structure en boucles simples, organisées en une forme de « marguerite »
- Degré d'enroulement du chromosome peut varier en fonction du nombre de boucles formées.

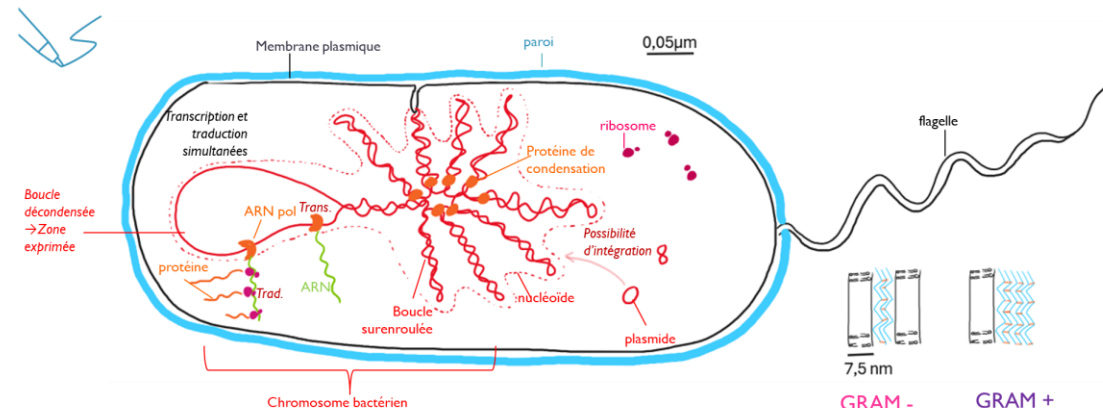


Schéma d'interprétation du chromosome bactérien étalé)

C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

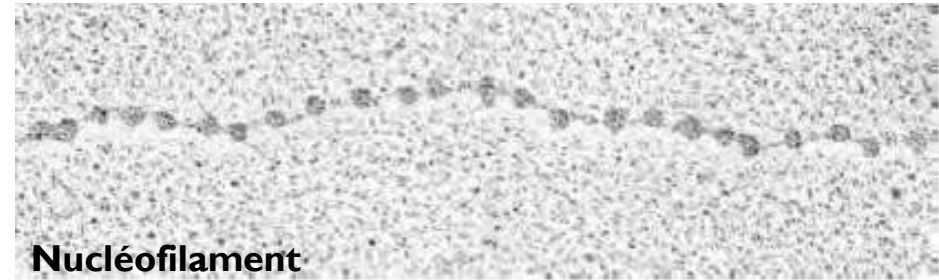


2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

2.1. Observation au MET

- Pré-traitement :
 - Isolement des noyaux par fractionnement cellulaire
 - Lyse de l'enveloppe nucléaire
 - Isolement de la chromatine
 - Traitements variés
 - Observation au MET

- Au MET, l'apparence de la chromatine dépend du traitement appliqué :
 - [sels] physiologiques
→ **solénoïde**
 - Variation [sels] et sans ions divalents (Mg^{2+} , Ca^{2+})
→ **nucléofilament** ou collier de perles



Deux aspects de la chromatine au MET 
(in Alberts)

➔ En interphase, deux aspects de la chromatine

Nom	Solénoïde	Nucléofilament
Nom alternatif	Fibre de 30 nm	Collier de perle
Aspect au MET	sombre	clair
	$\phi 30$ nm	$\phi 11$ nm
Condensation	++	+

C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

Endonucléase : n.f. enzyme qui clive l'ADN à l'intérieur d'une séquence

Exonucléase : n.f. enzyme qui clive l'ADN à partir d'une extrémité (5' ou 3')

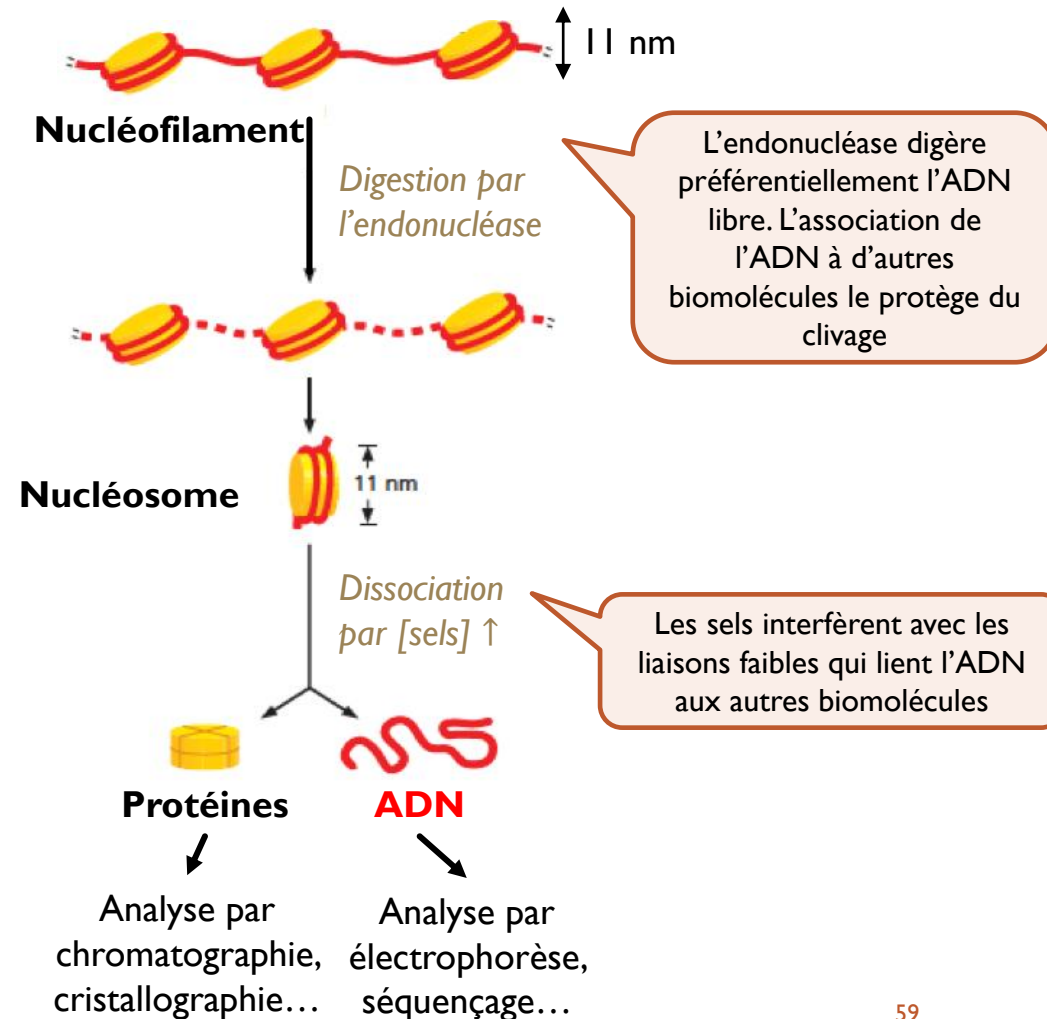
2.2. Etude de la composition

■ Procédure :

1. Isolement des noyaux par fractionnement cellulaire
2. Lyse de l'enveloppe nucléaire
3. Isolement de la chromatine
4. Digestion par une **endonucléase (DNase I)**
5. Dissociation des composants et analyse.

→ La chromatine a une composition mixte : ADN + Protéines

Méthode d'étude de la composition de la chromatine (in Alberts)



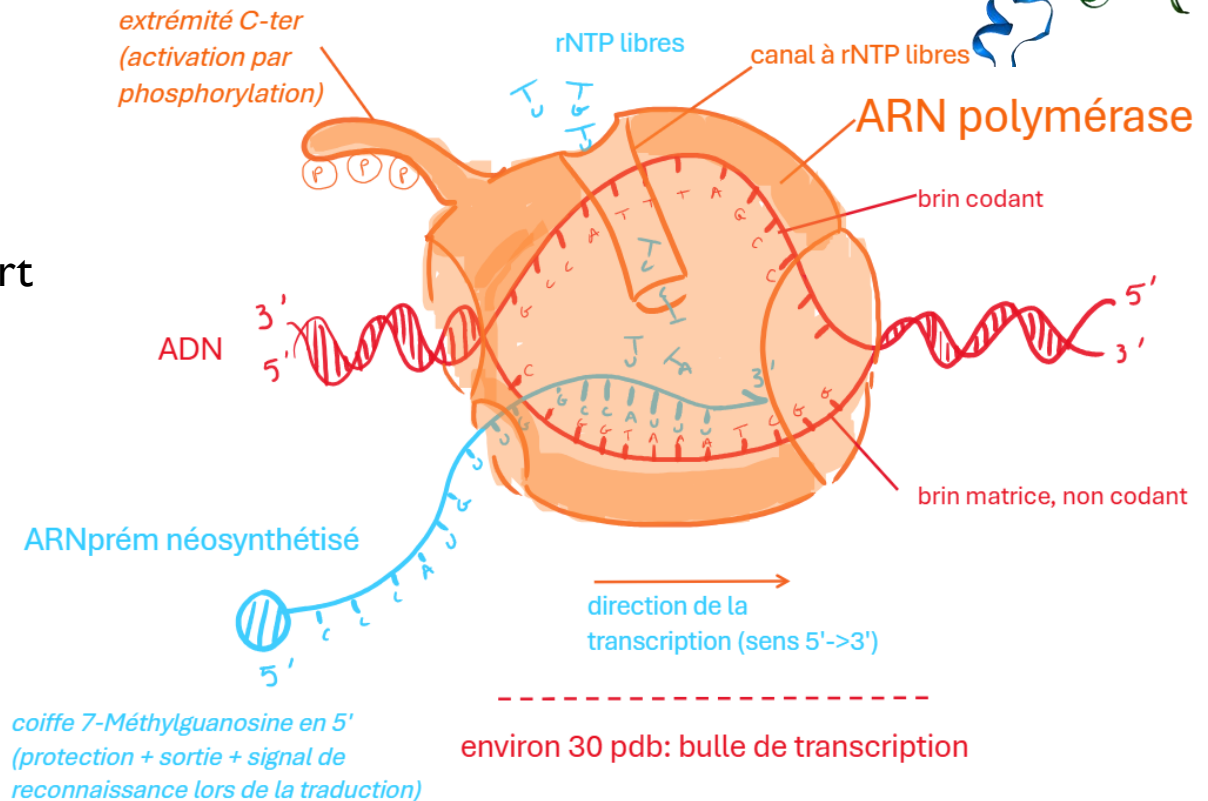
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

2.3. Les protéines non histones



- En dehors des histones, nombreuses autres protéines associées à l'ADN = **protéines non histones**
 - types très variés
 - en **proportion faible** par rapport aux protéines histones.
 - Ce sont essentiellement des **protéines fonctionnelles** :
 - ✓ Facteurs de régulation
 - ✓ enzymes



Fonctionnement de l'ARN polymérase

L'ARN polymérase est un complexe protéique, participant à la transcription (cf SV-F-1-2)

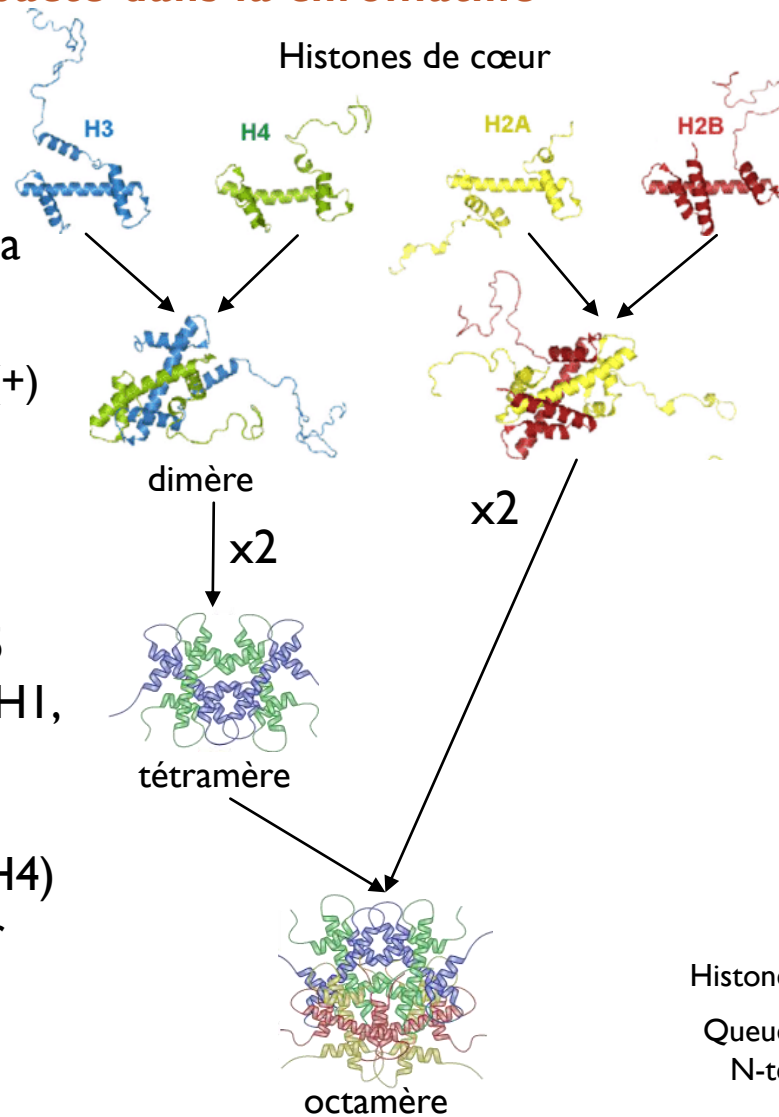
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

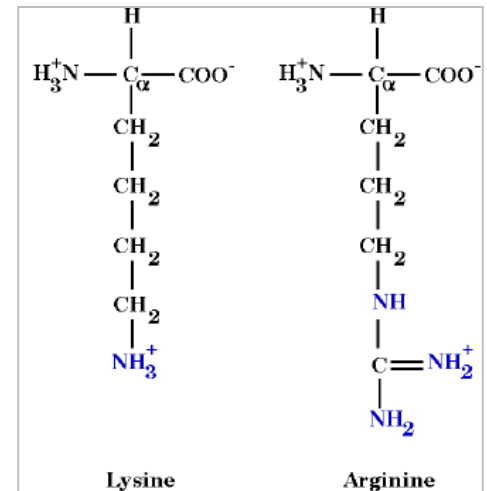
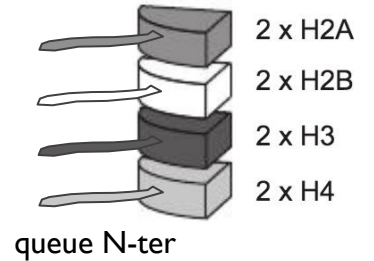
2.4. Les histones



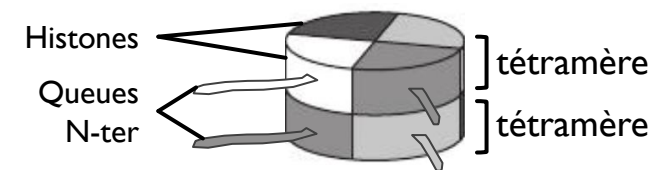
- **Histones** : protéines structurales de la chromatine
 - riches en **AA à basiques**, à charge (+)
 - ✓ liaisons ioniques avec l'ADN (-)
 - avec de longues « queues » N-ter
 - ✓ interactions
- Histones : famille **multigénique** → 5 types d'histones dans la chromatine : H1, H2A, H2B, H3, H4
- **Histones de cœur** (H2A, H2B, H3, H4) forment un **octamère** avec les N-ter tournés l'extérieur



Histones



Octamère d'histones



C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES



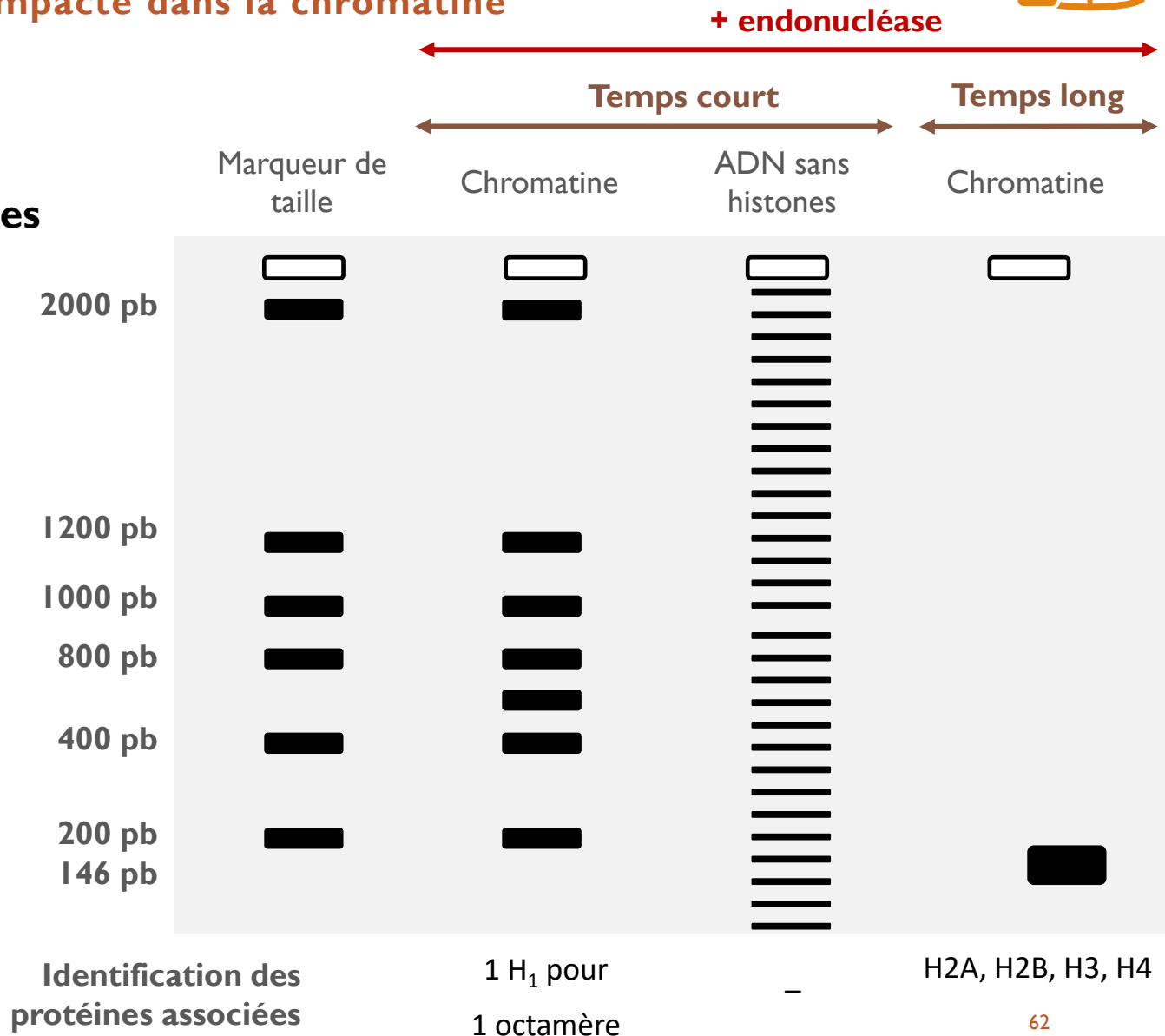
2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

2.4. Les histones

L'association entre ADN et histones

Procédure

1. Isolement de la chromatine
2. Digestion de la chromatine par une endonucléase (DNase I) dans différentes conditions
3. Séparation ADN et protéines
4. Analyse de l'ADN par électrophorèse
5. Analyse de la composition des protéines associées



C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

2. le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

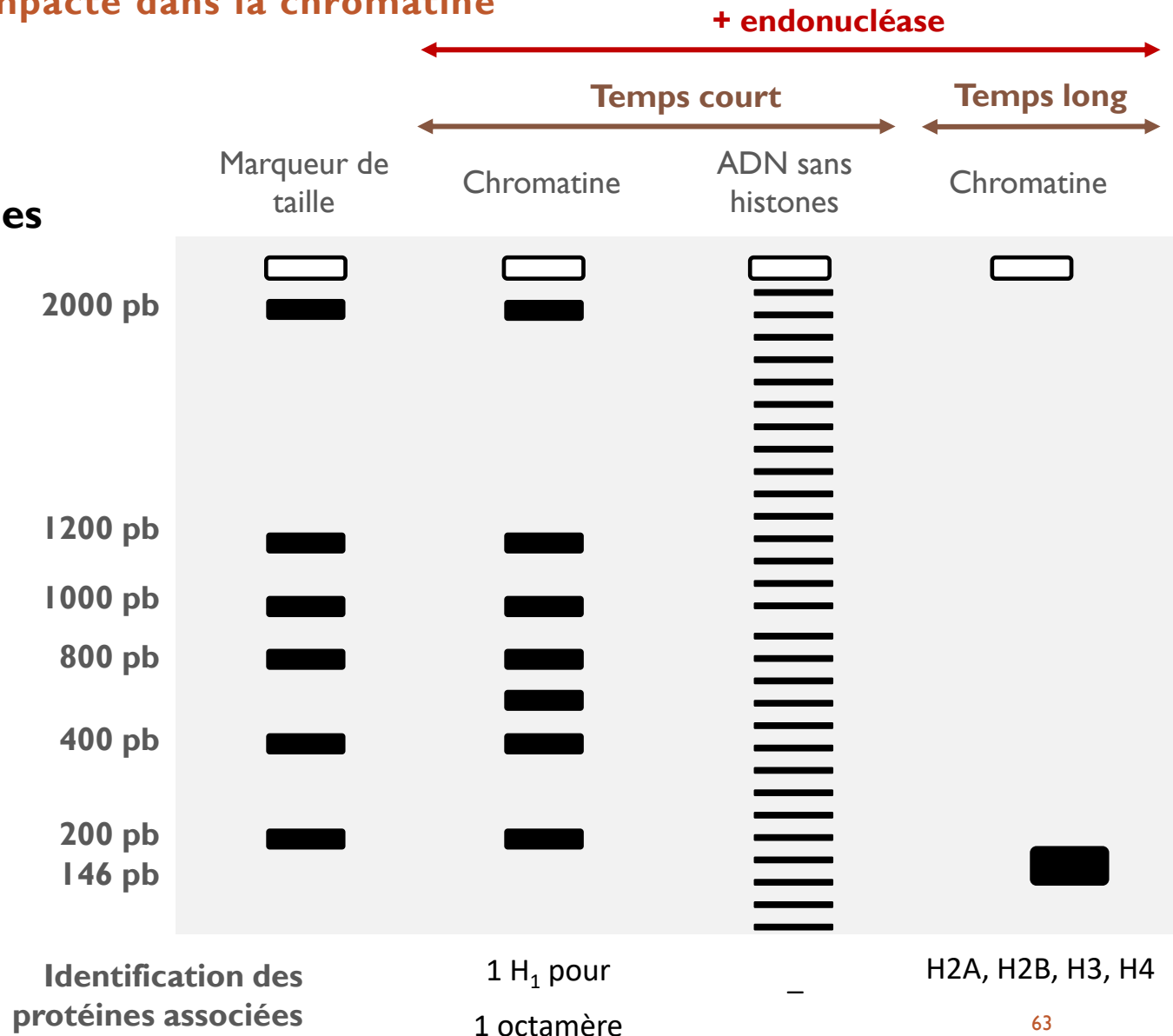
2.4. Les histones

L'association entre ADN et histones

Résultats

- 1) Périodicité de structure avec ~200 pb + 9 protéines (octamère + H1)
- 2) En l'absence d'histones, la DNase coupe de façon aléatoire
- 3) Si digestion prolongée, la périodicité disparaît ; uniquement de l'ADN à 146 pb + histones de cœur

→ **Modèle structural du nucléosome**



C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

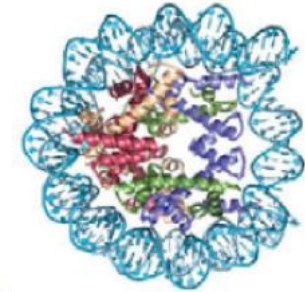
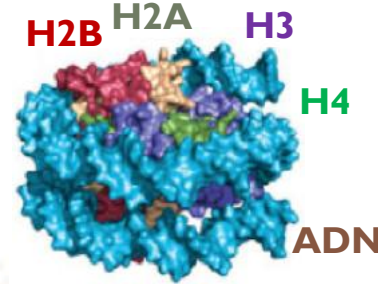
2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

2.4. Les histones

L'association entre ADN et histones

- Nucléosome = octamère d'histones autour duquel s'enroule 146 pb d'ADN (soit 1,65 tour autour de l'octamère)
- Histone H1 stabilise l'interaction entre l'octamère et l'ADN (~200 pb)

Modèles moléculaires du nucléosome (sans et avec queues N-ter)



Modèles moléculaires du nucléosome avec H1

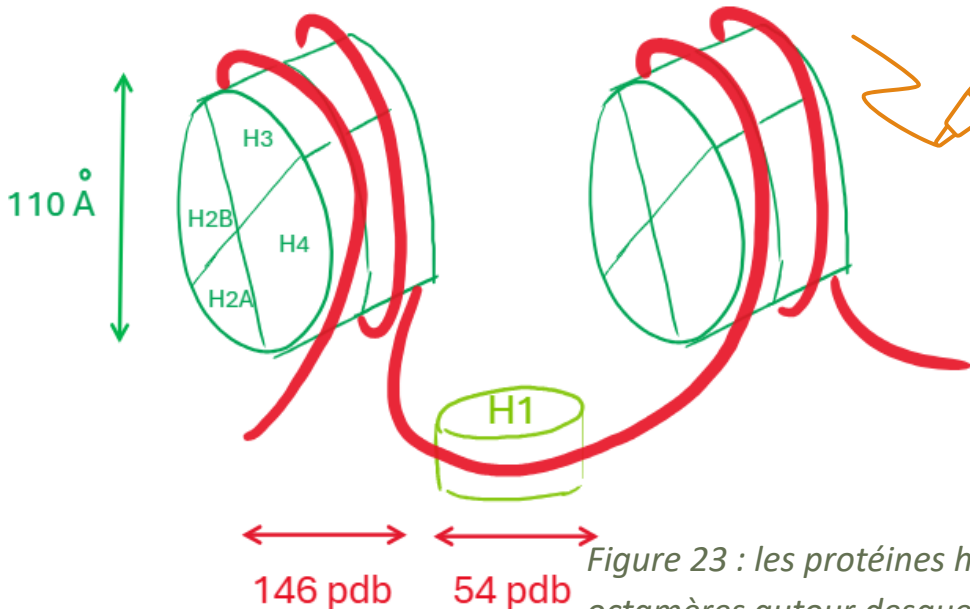
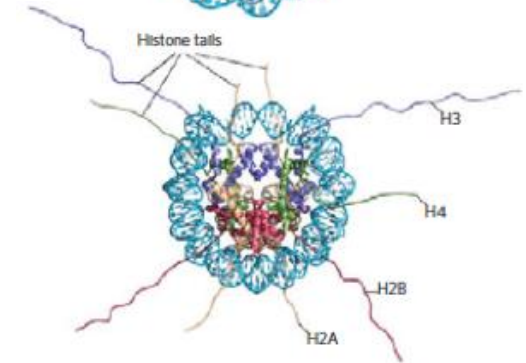
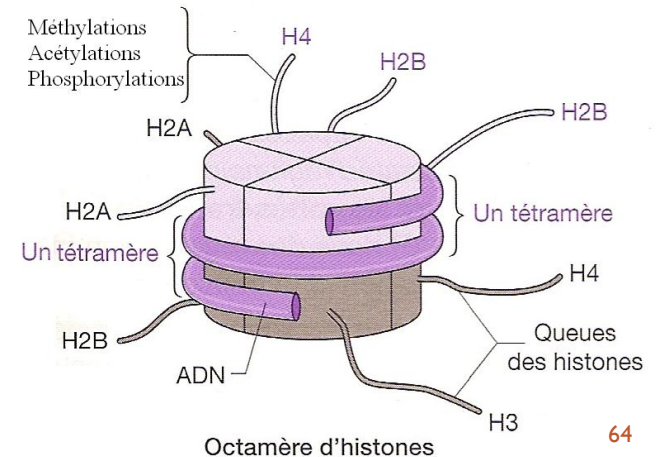


Schéma d'un nucléosome

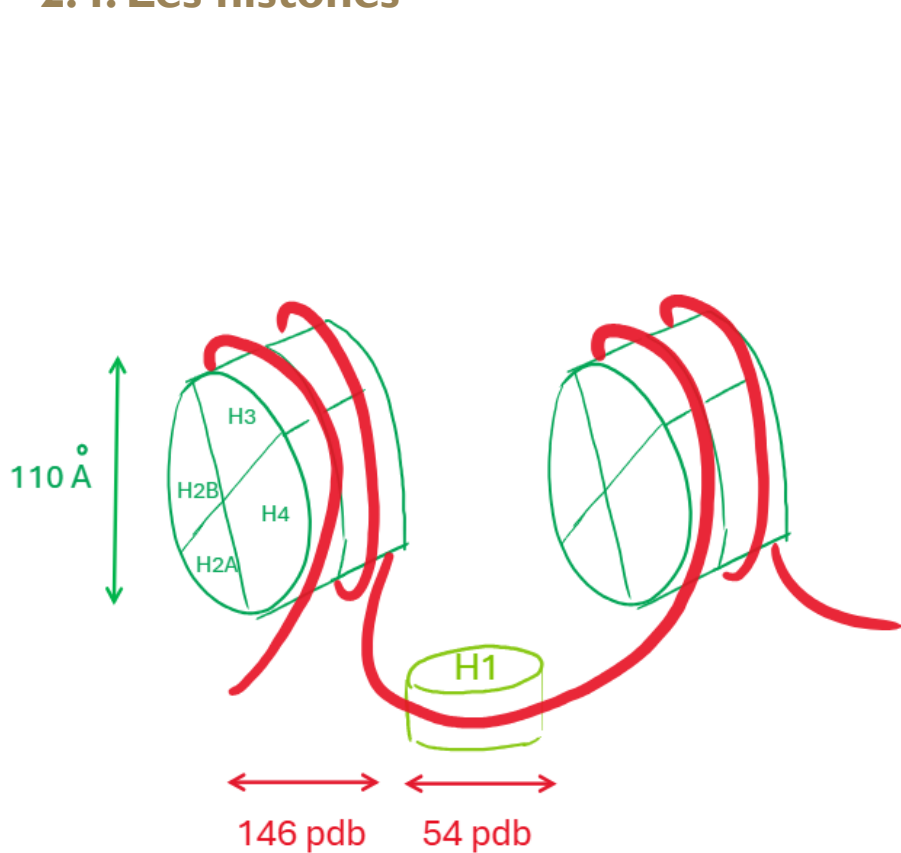
Figure 23 : les protéines histones forment des octamères autour desquels s'enroule l'ADN.



C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

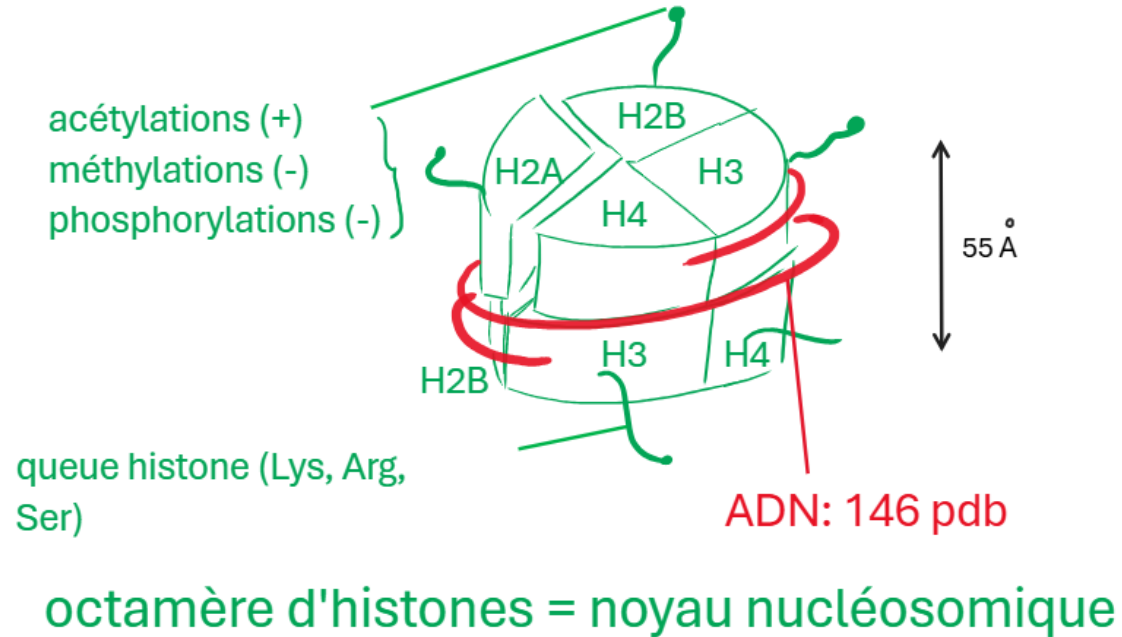
2. Le génome eucaryote est compacté dans la chromatine

2.4. Les histones



ADN et protéines histones

Les protéines histones forment des octamères autour desquels s'enroule l'ADN.



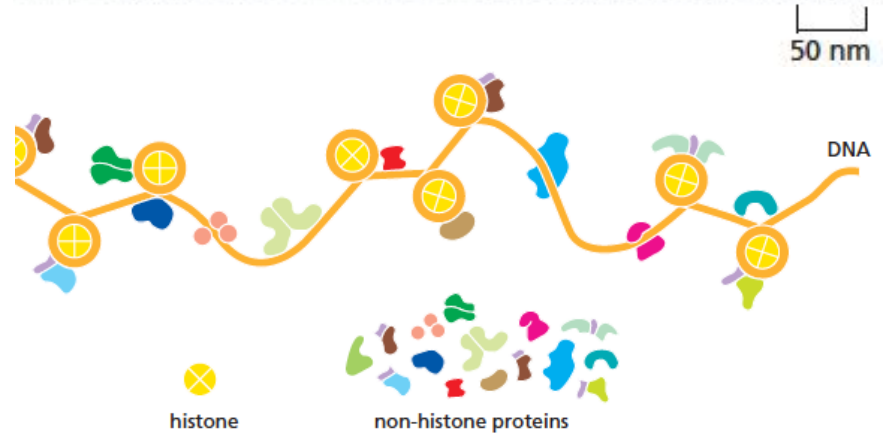
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

3. Compaction de la chromatine

3.1. Le nucléofilament



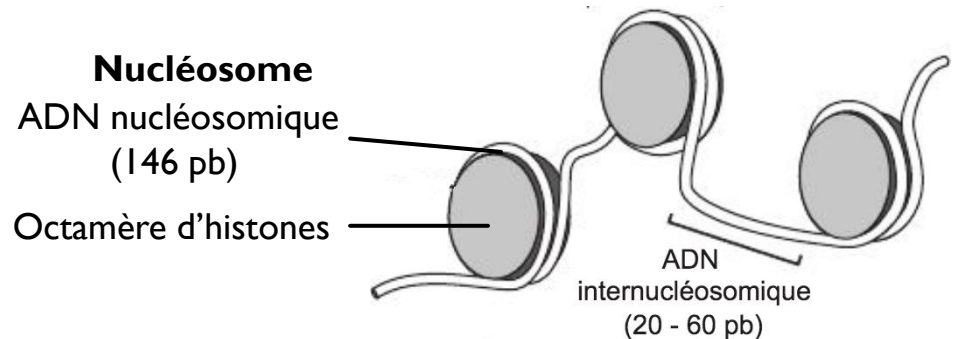
Nucléofilament au MET
et modèle du
nucléofilament



- Le **nucléofilament** (= collier de perle = fibre nucléosomique = chromatine) = succession de nucléosomes reliés par de **l'ADN internucléosomique** (20-60 pb)

- Diamètre : 11 nm
- Compaction : x 6
- → 1^e niveau de condensation

- Le **nucléofilament** correspond à la **forme active de l'euchromatine**.



C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

3. Compaction de la chromatine

3.2. Le solénoïde



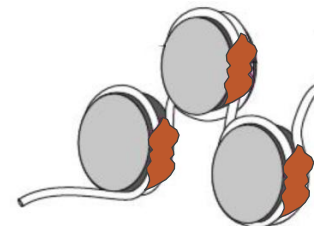
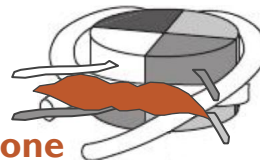
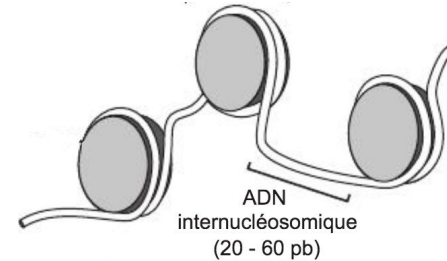
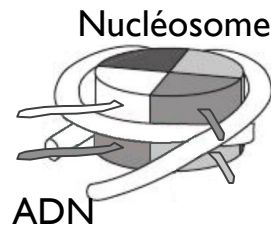
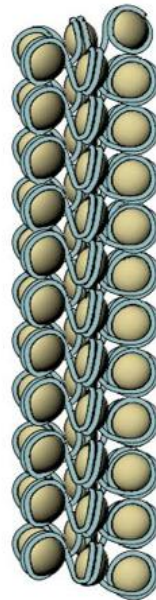
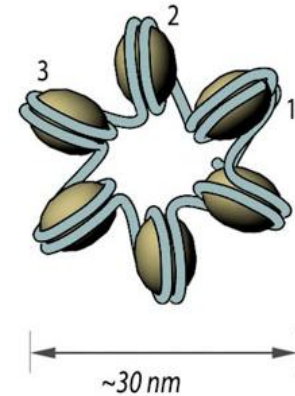
- Le **solénoïde** = spirale régulière de 6 nucléosomes contenant les histones HI (qui stabilisent le nucléosome et participent à la compaction)
 - **Diamètre : 30 nm**
 - Compaction : x 15
 - → 2^e niveau de condensation

- Solénoïde = euchromatine plus compacte**, forme inactive de l'euchromatine

Solénoïde au MET
(in Alberts)



Modèle de solénoïde



Histone HI

Rôle des histones HI au sein du solénoïde.
Les histones HI stabilisent l'interaction entre ADN (gauche) et octamère et induisent le rapprochement des nucléosomes successifs de la chromatine (droite)

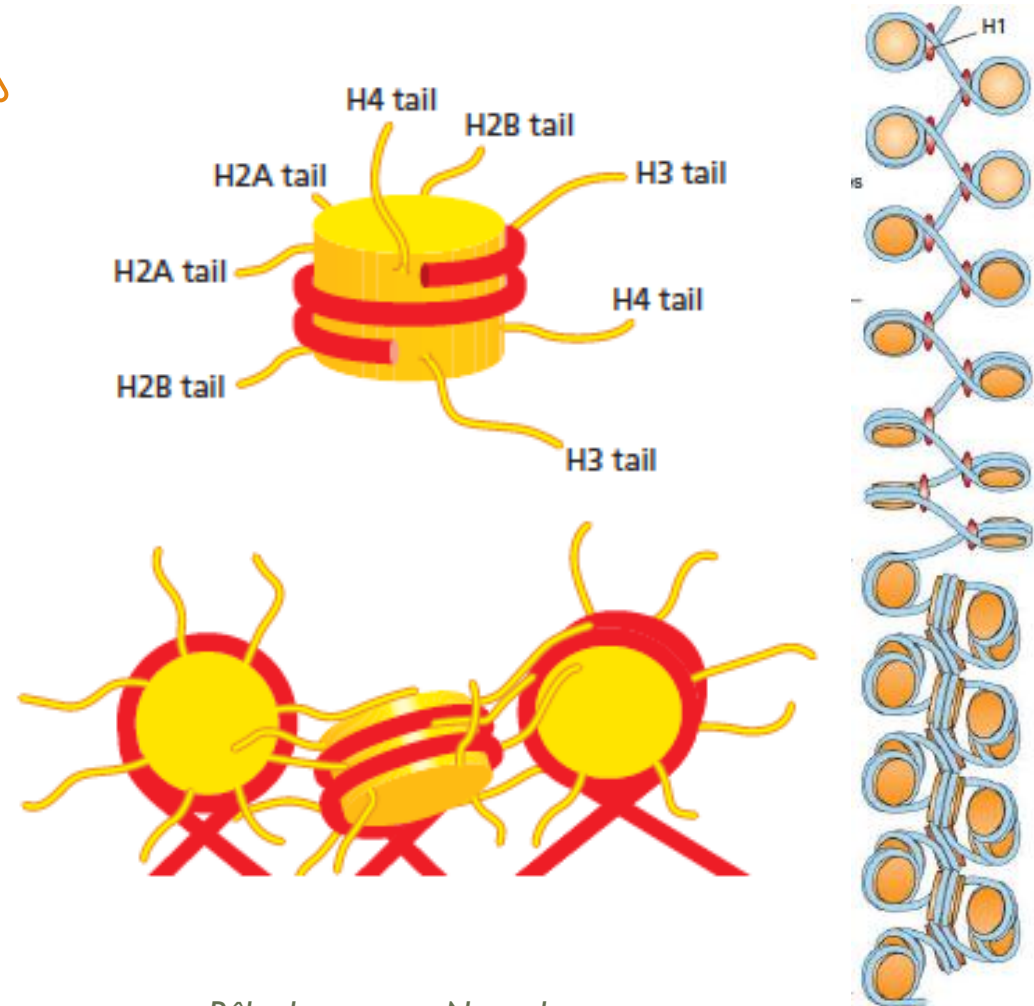
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

3. Compaction de la chromatine



3.2. Le solénoïde

- Formation du solénoïde → **queues N-ter** des histones
 - Elles participent à la compaction en **interagissant avec** d'autres **nucléosomes**
 - Elles peuvent subir des **modifications** (acétylation, méthylation, phosphorylation...) qui sont riches en informations pour la machinerie cellulaire → notion de **code histone**
 - ✓ Modification de l'interaction avec l'ADN
 - ✓ Modification du niveau de compaction



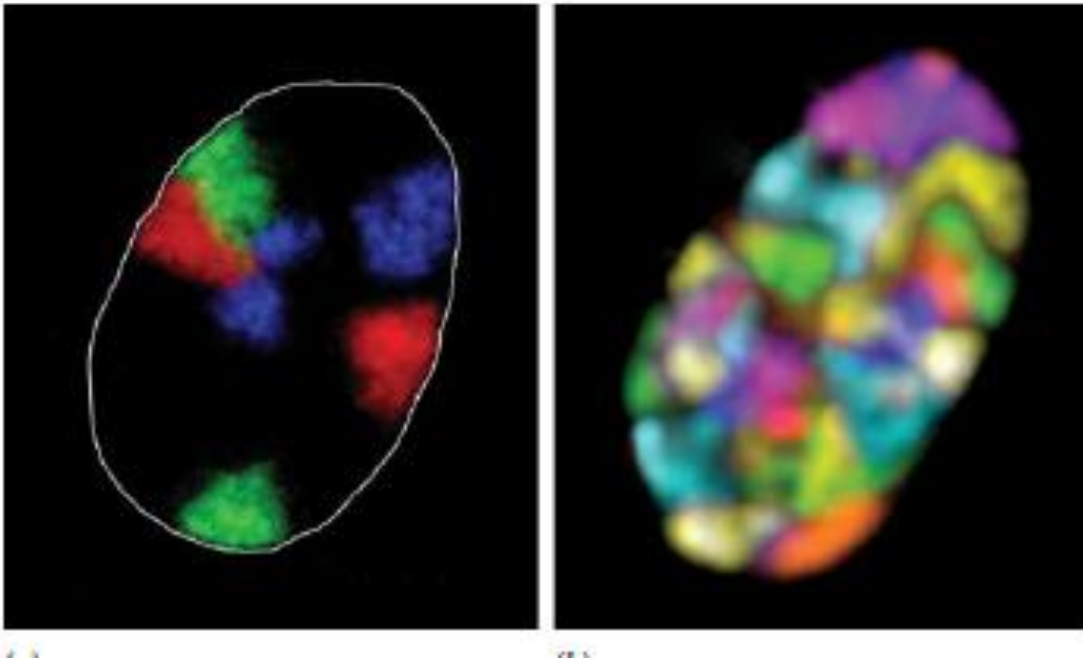
Rôle des queues N-ter des histones dans la compaction de la chromatine

Formation du solénoïde
(in Lodish)

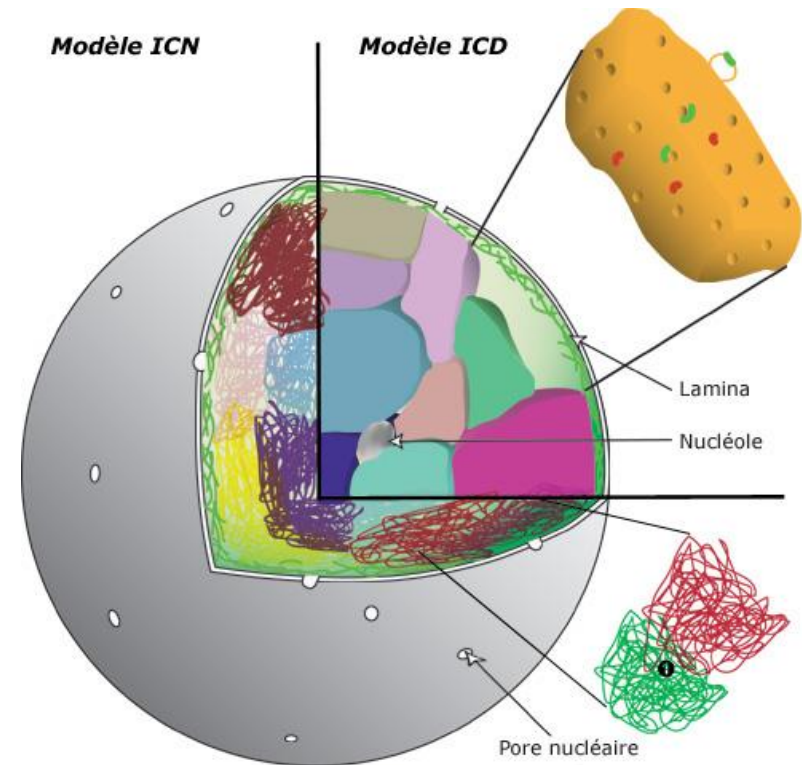
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

4. La localisation de la chromatine interphasique n'est pas aléatoire

- Dans le noyau interphasique, la chromatine des différents chromosomes n'est pas disposée au hasard
- Chaque segment d'ADN linéaire (chromosome) occupe une région du noyau, sans trop de recouvrement



Observation de la localisation de 3 et des 23 chromosomes humains dans le noyau par FISH (in Karp)



Modèles de localisation des chromosomes dans le noyau

C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES



5. La condensation peut être contrôlée

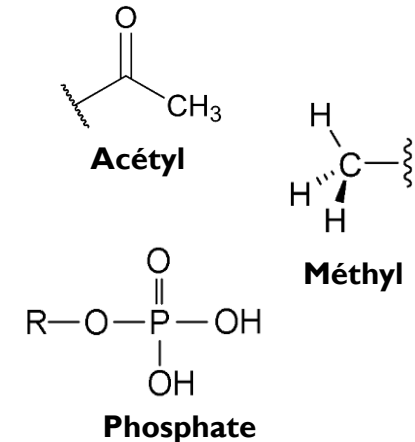
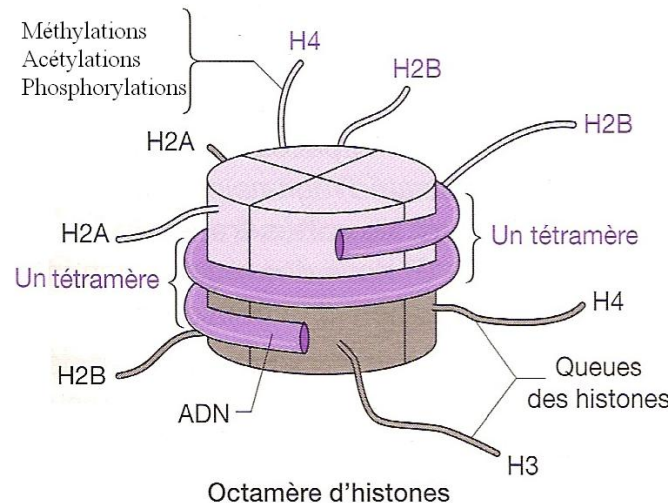
Modifications des histones

Diversité des modifications

- Histones de cœur (H2A, H2B, H3, H4) : différents types de modifications sur leur queue N-ter (cf. tableau).
- Modifications effectuées par des *writers* et des *erasers* spécifiques.
- L'ensemble de ces marqueurs épigénétiques constitue un « **code histone** » qui contient de l'information.

Modifications des histones

Type de modification	Enzymes impliquées	Effet sur l'expression des gènes
Acétylation	Histone acétyl transférase	Favorisée
Désacétylation	Histone désacétylase	Réprimée
Méthylation	Histone méthyl transférase	Réprimée
Phosphorylation	Kinase	Réprimée
Déphosphorylation	Phosphatase	Favorisée



Conséquences ?

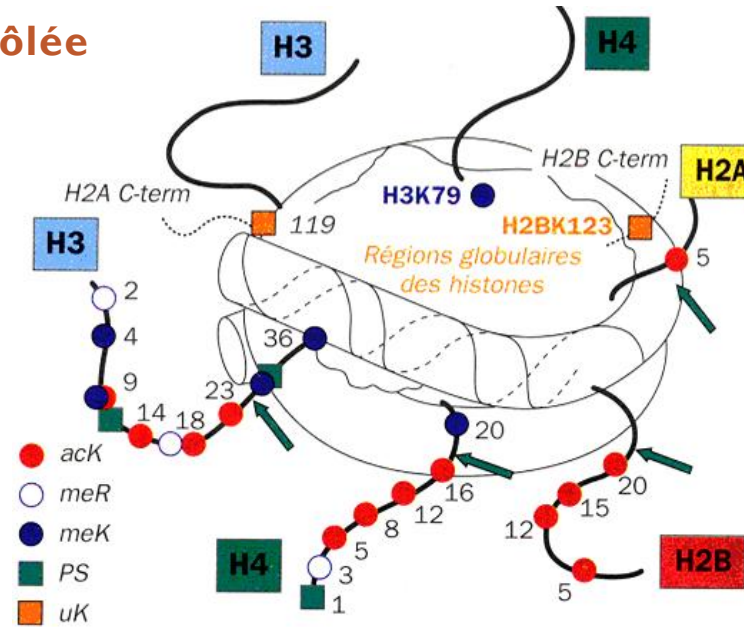
C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

5. La condensation peut être contrôlée

Modifications des histones

Diversité des modifications

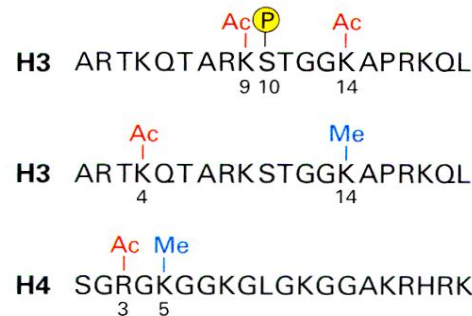
- L'information contenue dans le **code histone** découle de plusieurs paramètres :
 - Le type d'histone modifié (ex : H3...)
 - La position de l'AA modifié sur la queue N-ter (ex : K9)
 - Le type de modification (ex : méthylation)
- Certaines modifications semblent associées préférentiellement à euchromatine ou l'hétérochromatine, mais le code histone n'est pas encore complètement élucidé...



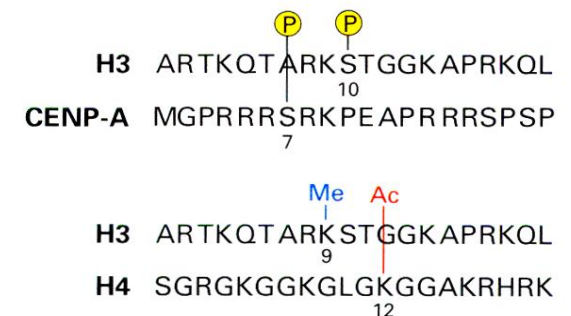
Modification des protéines histones au niveau des queues Nter (Compilation de modifications chez plusieurs types cellulaires) :

- ✓ acK = acétyl sur Lysine
- ✓ meR = méthyl sur arginine
- ✓ meK = méthyl sur Lys
- ✓ PS = phosphoryl sur Sérine
- ✓ uK = lysine ubiquitinylée

Euchromatine (active/ouverte)



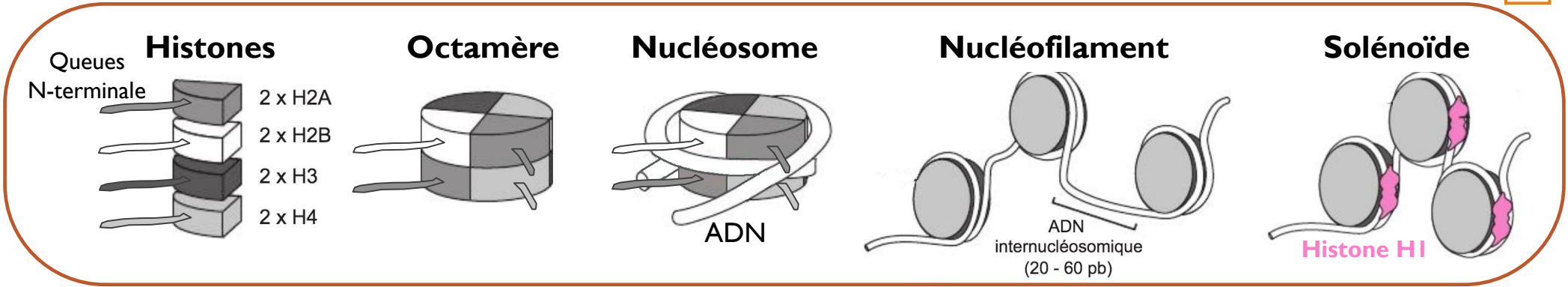
Hétérochromatine (inactive/condensée)



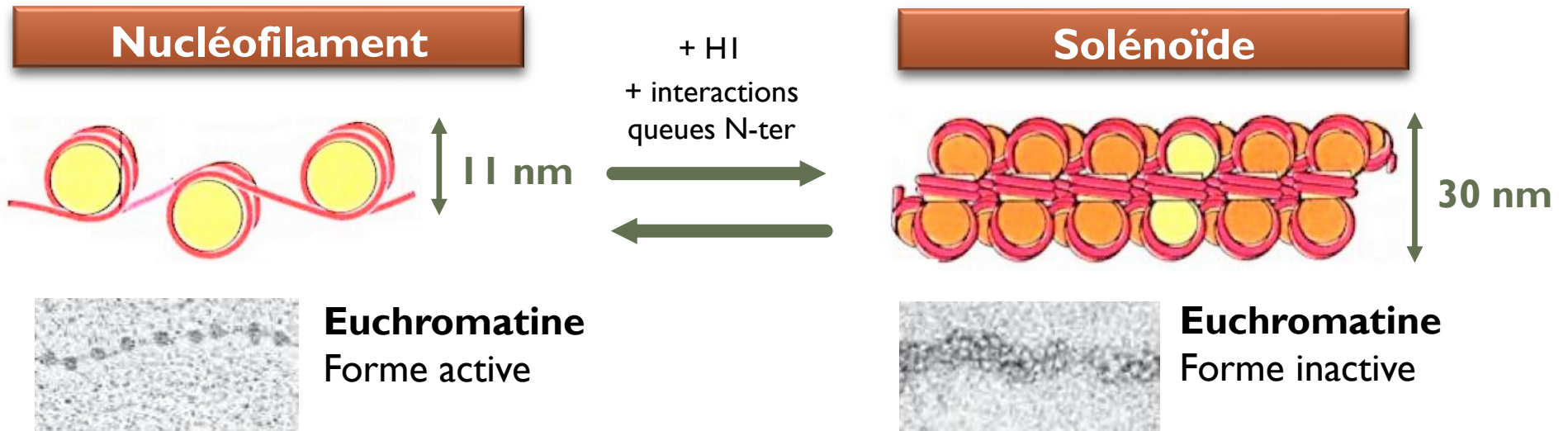
Modifications post-traductionnelles des queues Nter des histones H3 et H4 dans l'euchromatine et l'hétérochromatine.

C. COMPACTION DU GENOME AU NIVEAU DES CHROMOSOMES

BILAN



Organisation hiérarchique de la chromatine interphasique



De l'euchromatine active à l'euchromatine inactive

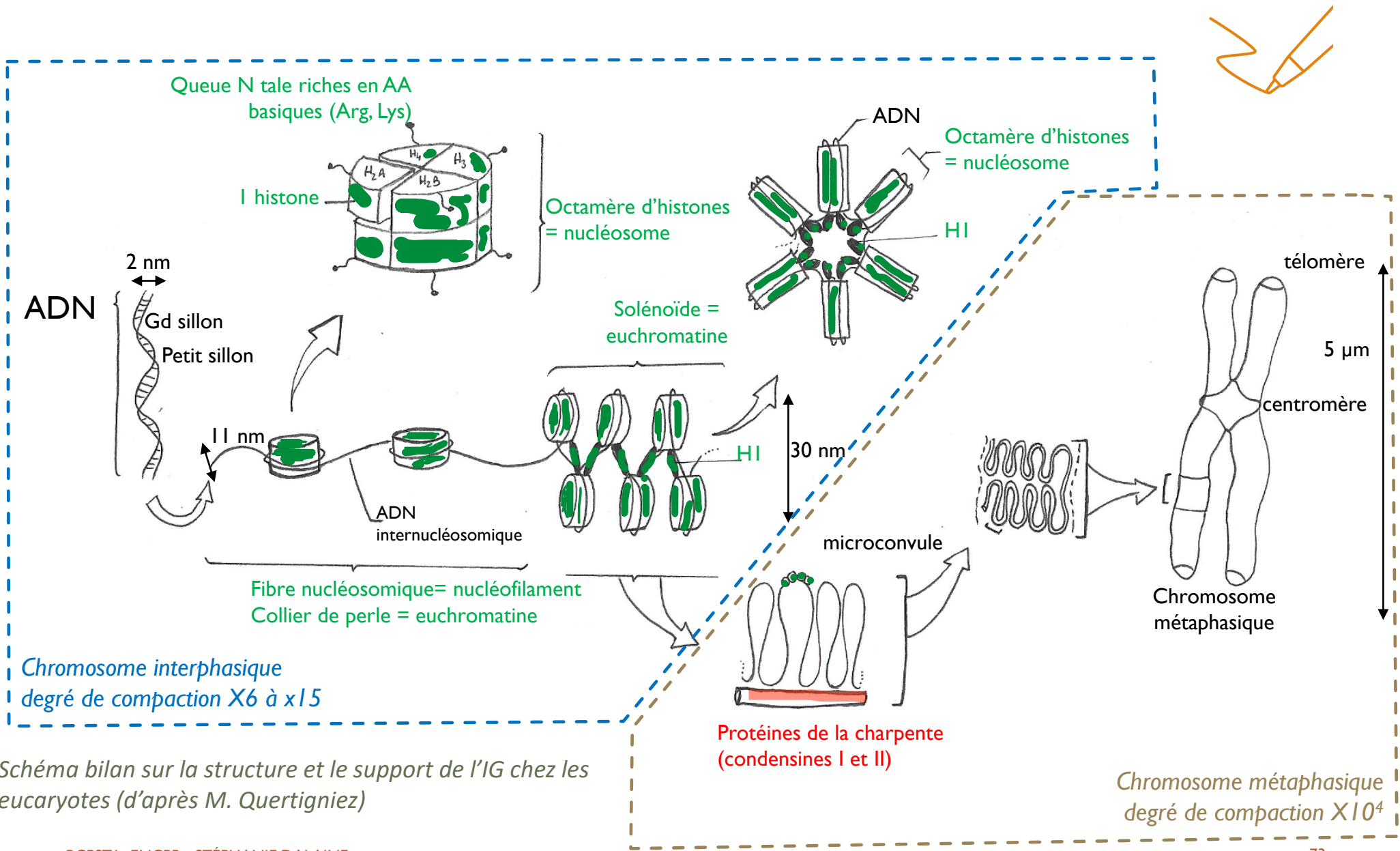


Schéma bilan sur la structure et le support de l'IG chez les eucaryotes (d'après M. Quertigniez)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

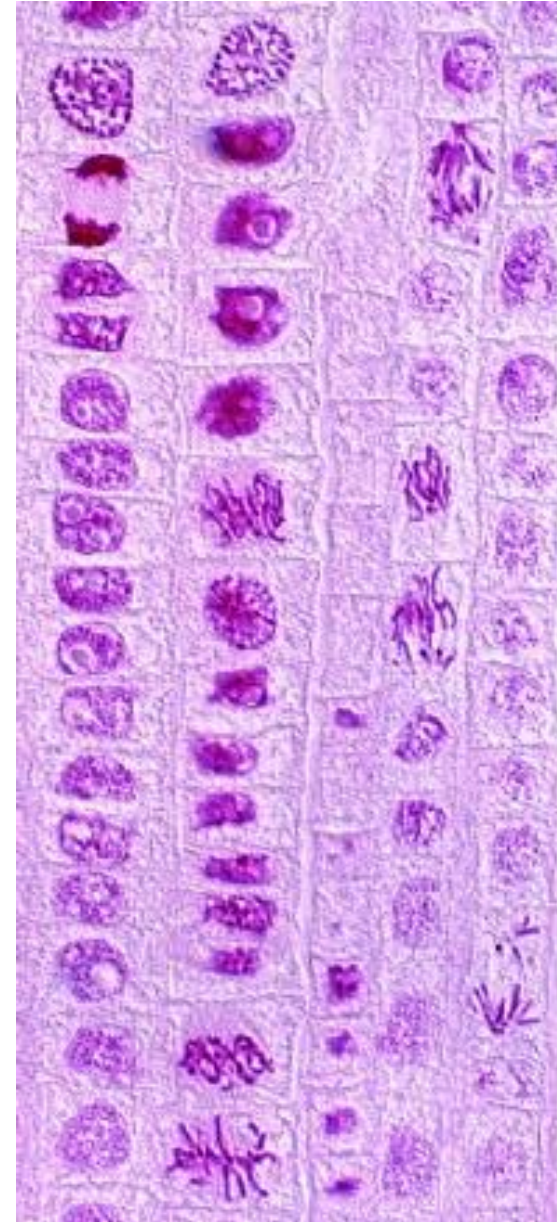
D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES



Introduction

Découverte, fin du 19^e siècle :

- Etude de cellules végétales
- Observation de **filaments colorables** par des **colorants basiques** et concomitants à la division cellulaire
 - Les filaments sont nommés **chromosomes** (du grec *chrôma*, couleur et *sôma*, corps)
 - la division cellulaire est nommée **mitose** (du grec *mitos*, filament)
- Chromosome = forme de **compaction extrême** de la chromatine qui permet la séparation du génome lors de la division cellulaire



D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES



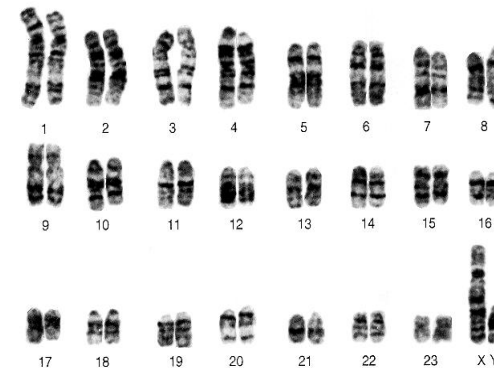
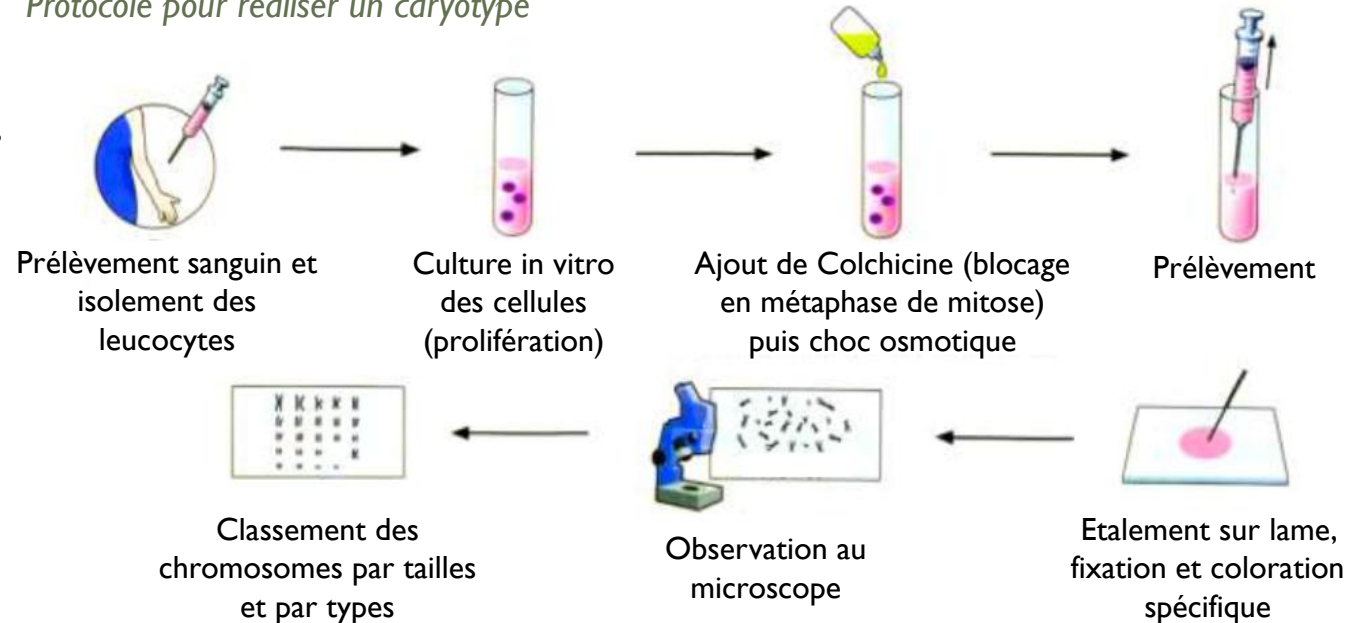
I. Observation au MO

Caryotype : n.m. présentation ordonnée des chromosomes d'un individu

Réalisation d'un caryotype

- Traitement à la **colchicine** (*colchique*, *crocus d'automne*) qui bloque la formation du **fuseau mitotique**
 - blocage des cellules en métaphase de mitose
 - forme la plus condensée des chromosomes
- Eclatement des cellules par **choc osmotique**
- Fixation et **coloration spécifique des chromosomes (ex: Giemsa)**
- Observation des chromosomes au microscope : comptage, description et classement → **caryotype**

Protocole pour réaliser un caryotype



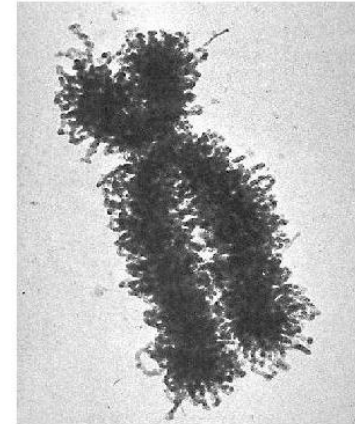
*Exemple de caryotype.
La coloration fait apparaître des bandes qui servent au classement des chromosome*

D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

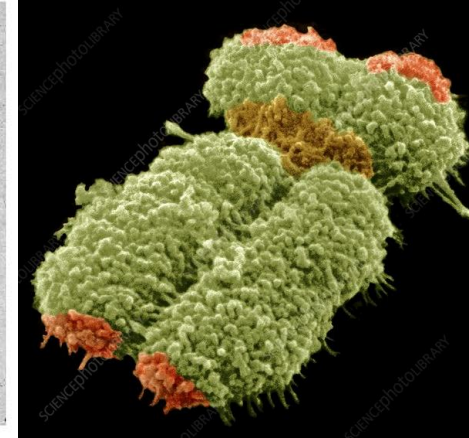
2. Observation au ME



- Chromosomes : forme caractéristique en X
 - **2 chromatides** rattachées au niveau de leur **centromère**
- Chaque chromatide = une **seule molécule d'ADN double brin**
- Centromère souvent décentré mais position relative variable
 - différents types de chromosomes
- Extrémité du chromosome = **téломères**



Chromosomes au MEB et au MET



Chromosome colorisé numériquement (MEB)

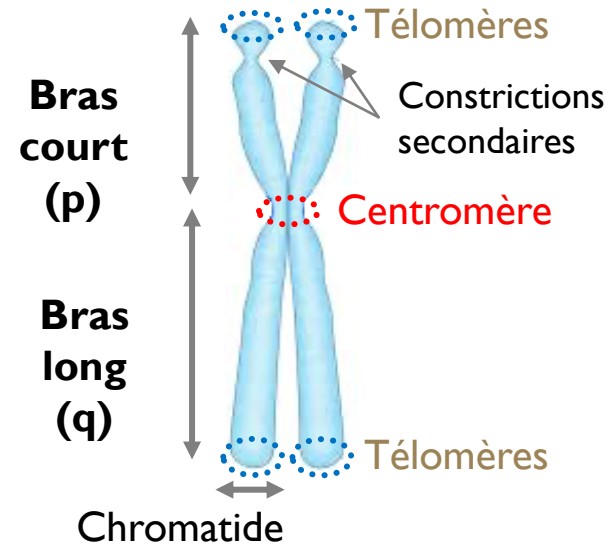
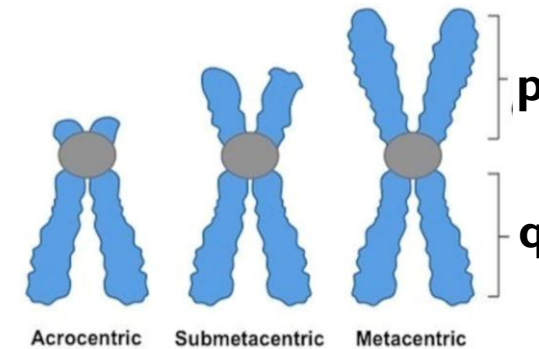


Schéma d'un chromosome



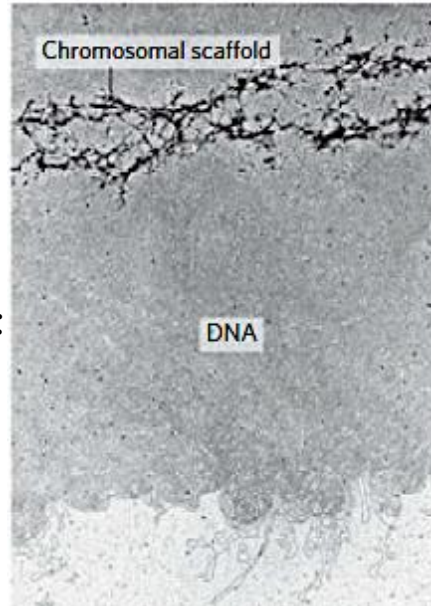
Différents types de chromosomes selon la position du centromère

D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

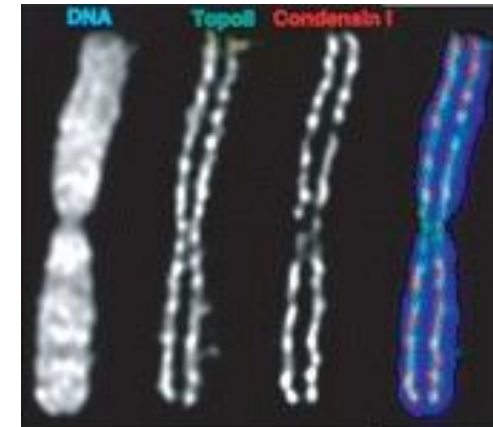
3. Organisation



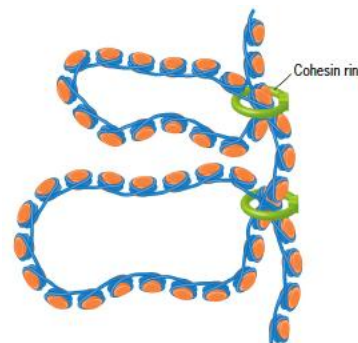
- Chromosome métaphasique traité pour éliminer les histones
 - Existence d'une **charpente** (ou squelette) de **protéines fibreuses** qui :
 - ✓ définit la structure en X
 - ✓ sert d'ancrage à l'ADN
- Des protéines constitutives essentielles de la charpente :
 - **Condensines I et II**, nécessaires à la formation de la charpente → condensation de chromatine dépendant de l'ATP
 - **Cohésine** → formation des boucles
 - la **Topoisomérase II** → suppression des supertours et des nœuds liés à l'enroulement de la chromatine



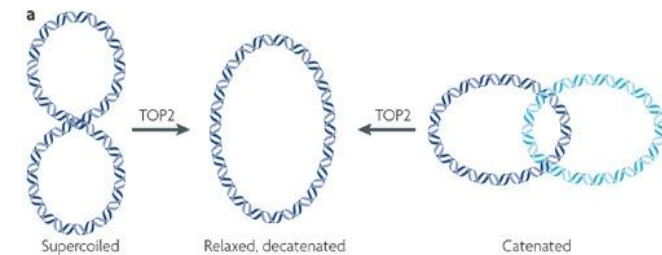
Chromosome traité pour éliminer les histones (MET) (in Lehninger)



Immunomarquage de différents constituants d'un chromosome métaphasique (MO)



Rôle de la cohésine



Rôle des topoisomérases II

D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

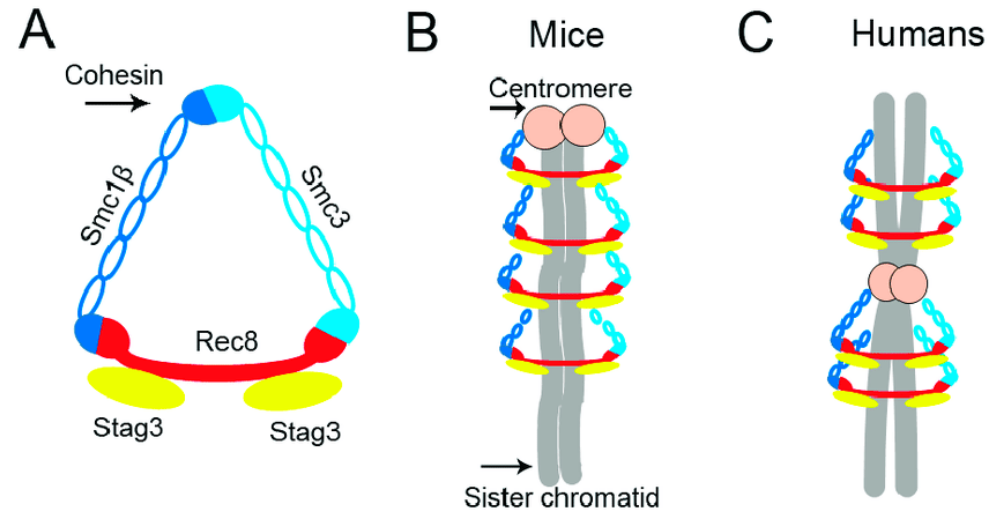
3. Organisation

Autres protéines importantes :

- **Cohésine**

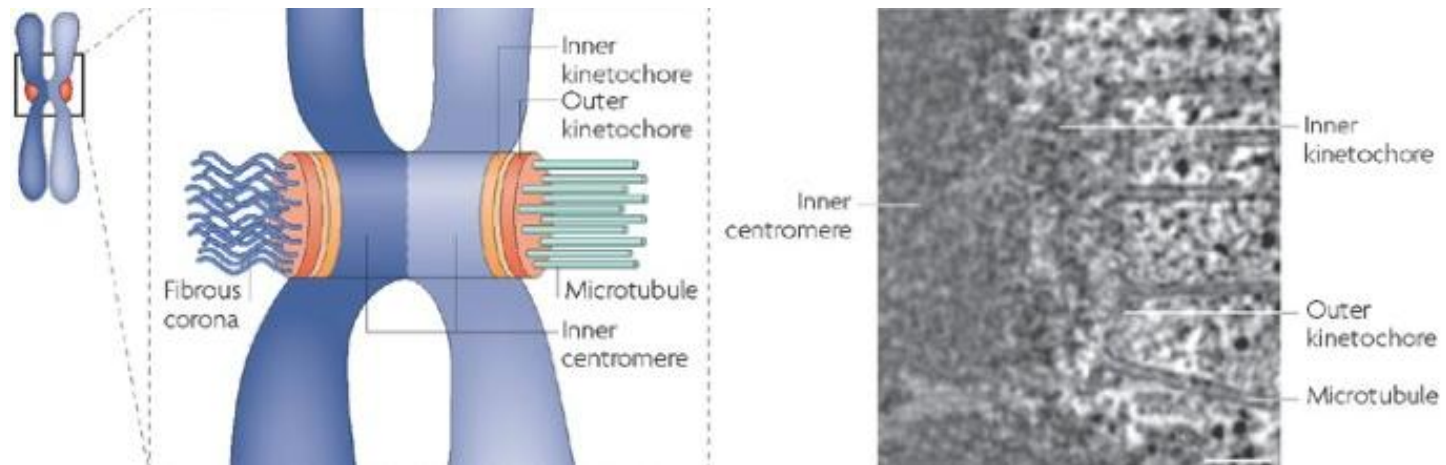
- maintient liées les 2 chromatides du chromosome au niveau du centromère (de phase S à anaphase de mitose)
- **Participe à la formation des boucles d'ADN**

- **Kinétochore = complexe protéique** fixé au centromère qui permet la fixation des **microtubules**
→ déplacement des chromosomes pendant la mitose



Structure et répartition de la cohésine: complexe formé de plusieurs sous-unités; cohésine encercle les 2 chromatides => cohésion

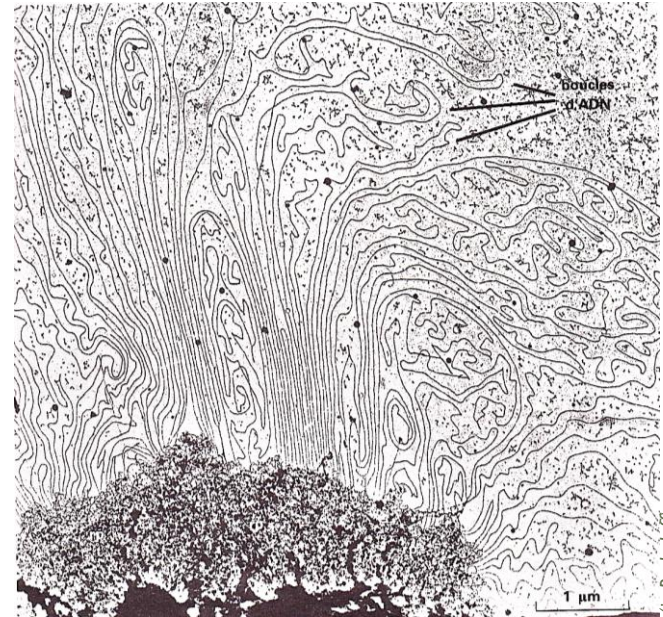
Observation (MET) et structure du kinétochore



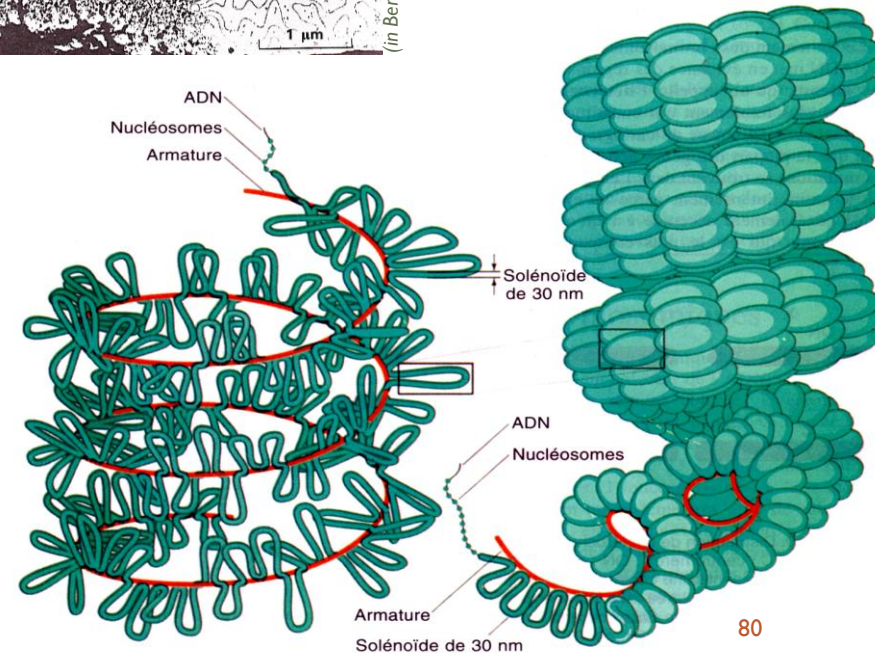
D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation

- Chromatine structurée en **microconvules = boucles** ordonnées successives et rattachées à la charpente protéique
- Taille des boucles : 10-90 kb (moy 50 kb)
- Séquences de fixation à la charpente = **SAR** (Scaffold associated region), situées dans les régions non transcrites de l'ADN.



Chromosome traité pour éliminer les histones (MET)



Modèle s'organisation des boucles de chromatine

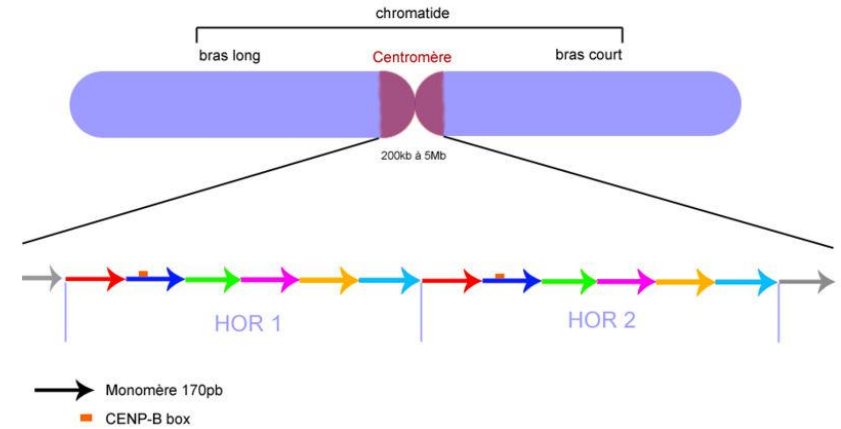
D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation

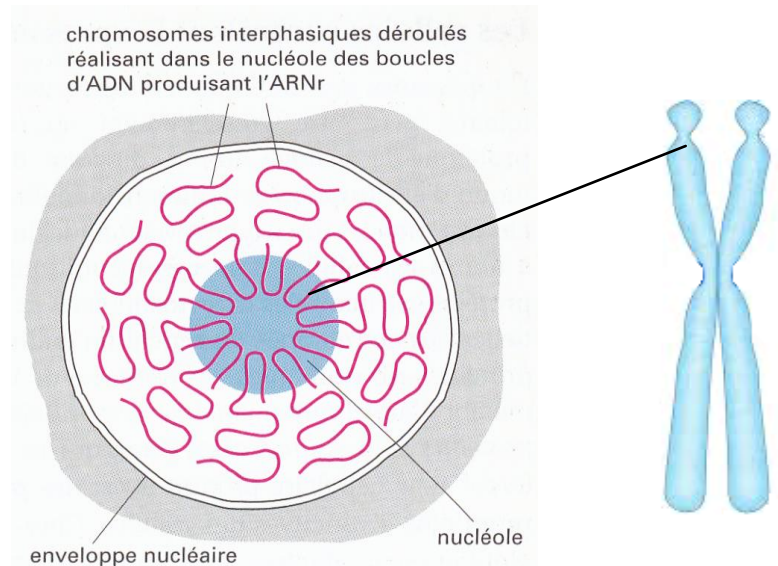
Autres séquences importantes :



- **Téломères** à l'extrémité de chaque chromatide : séquence d'ADN de 5 à 11 pb **hautement répétées** en tandem
 - **protection** contre l'érosion des chromosomes à chaque division cellulaire
- **Centromère** : chez les métazoaires, fait de différentes formes d'ADN répété pouvant s'étendre sur plusieurs Mb. Présence d'un variant d'histone H3 : CENP-A
 - **Lieu de fixation des kinétochores**
- **Constrictions secondaires** = lieux de formation des **nucléoles**.



Structure de l'ADN répété d'un centromère

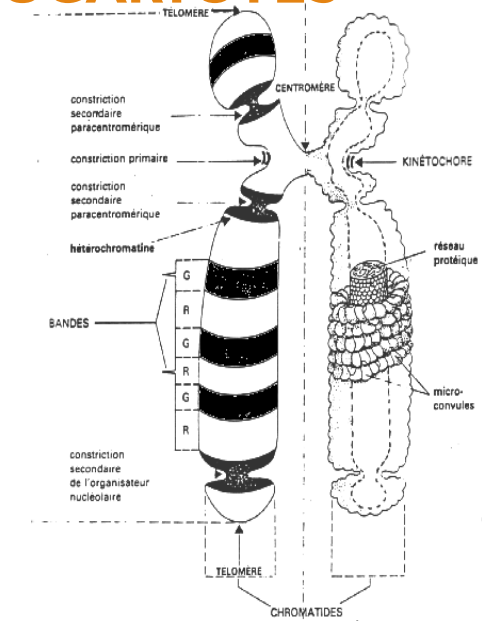


Le nucléole formé à partir des constrictions secondaires des chromosomes

D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation

- Coloration Giemsa → bandes G ou R selon le protocole
- Bandes G et R « complémentaires »
 - correspondent à différents états de condensation de la chromatine.



Bandes G	Bandes R
Réplication tardive en S	Réplication précoce en S
hétérochromatine	euchromatine
Organisation hélicoïdale du squelette protéique	Organisation linéaire du squelette protéique
???	Marquage des télomères, régions riches en gènes
En interphase, ADN localisé en périphérie du noyau	En interphase, ADN localisé au centre du noyau

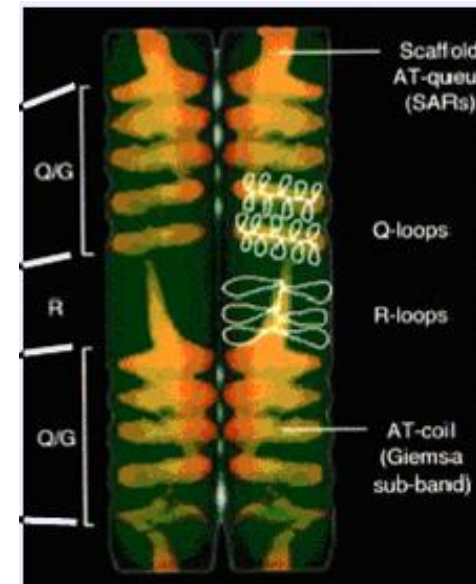
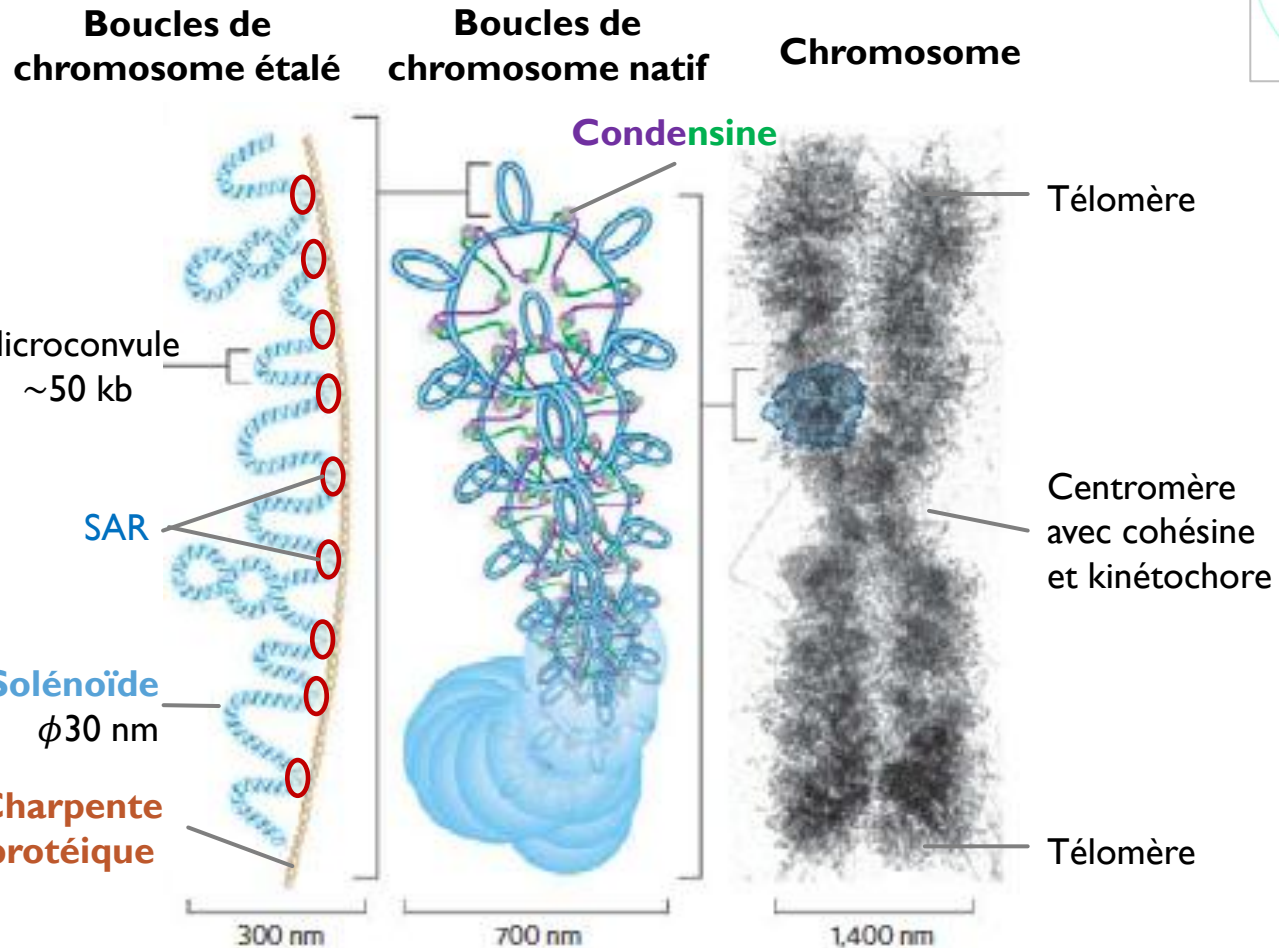


Schéma de l'organisation de la chromatine des bandes G et R après coloration Giemsa

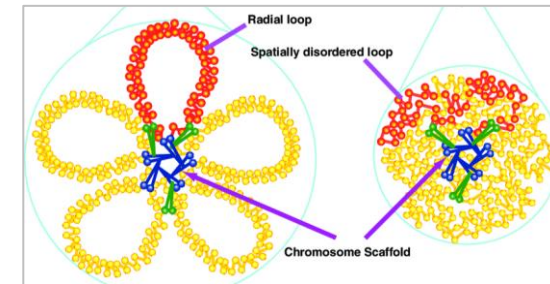
<http://atlasgeneticsoncolony.org/Educ/StrucChromiD30063Fs.htm>

D. LE CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE CHEZ LES EUCARYOTES

4. Bilan



Modèle de l'organisation du chromosome métaphasique
(in Lehninger)



Chromosomes étalé et natif, vus du dessus

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



A. MISE EN ÉVIDENCE DE TROIS GROUPES DE SÉQUENCES D'ADN

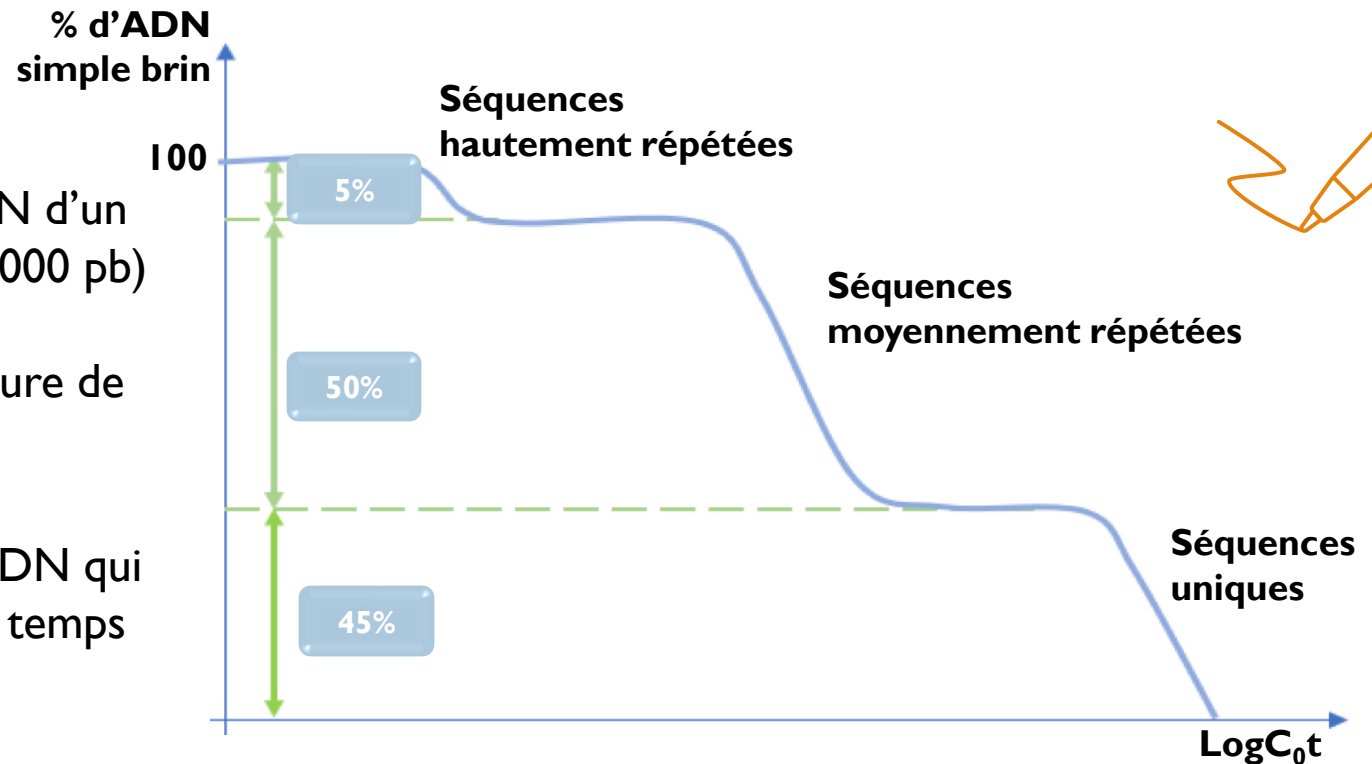
Cinétique de réassociation de l'ADN génomique après dénaturation. C_0 : concentration initiale en ADN, t : temps

■ Protocole :

1. Cassure mécanique de l'ADN d'un organisme en fragments (~1000 pb)
2. Dénaturation thermique
3. Refroidissement lent et mesure de l'absorbance à 260 nm

→ Mesure de la fraction d'ADN qui se réapparie en fonction du temps (mesuré en $\text{Log } C_0t$)

■ Résultat : courbe en 3 phases



Trois types de séquences d'ADN, plus ou moins répétitives

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



A. MISE EN ÉVIDENCE DE TROIS GROUPES DE SÉQUENCES D'ADN

■ Protocole :

1. Cassure mécanique de l'ADN d'un organisme en fragments (~1000 pb)
2. Dénaturation thermique
3. Refroidissement lent et mesure de l'absorbance à 260 nm

→ Mesure de la fraction d'ADN qui se réapparie en fonction du temps (mesuré en $\text{Log } C_0t$)

- #### ■ Résultat : courbe en 3 phases

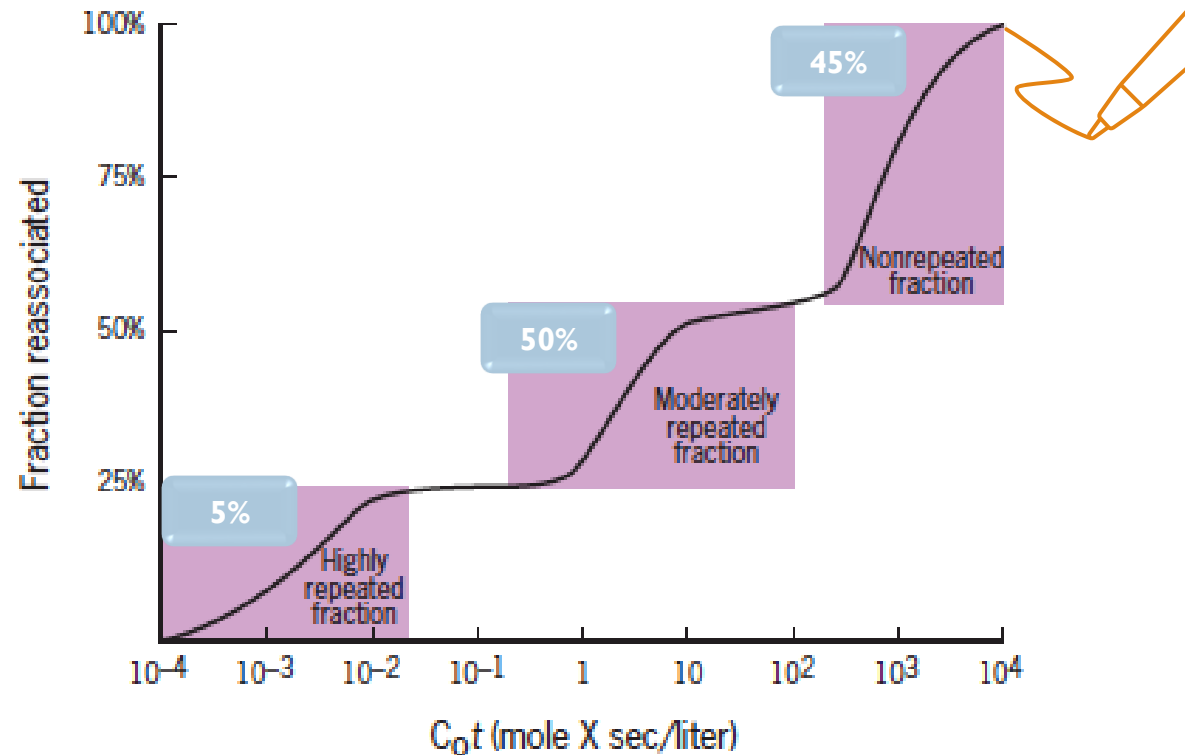


FIGURE 10.18 An idealized plot showing the kinetics of renaturation of eukaryotic DNA. When single-stranded DNA is allowed to reanneal, three classes of fragments can usually be distinguished by their frequency of repetition within the genome: a highly repeated DNA fraction, a moderately repeated DNA fraction, and a nonrepeated (single-copy) DNA fraction. (Note: This is an idealized plot: The three classes of sequences are not as clearly separated in an actual renaturation curve.)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

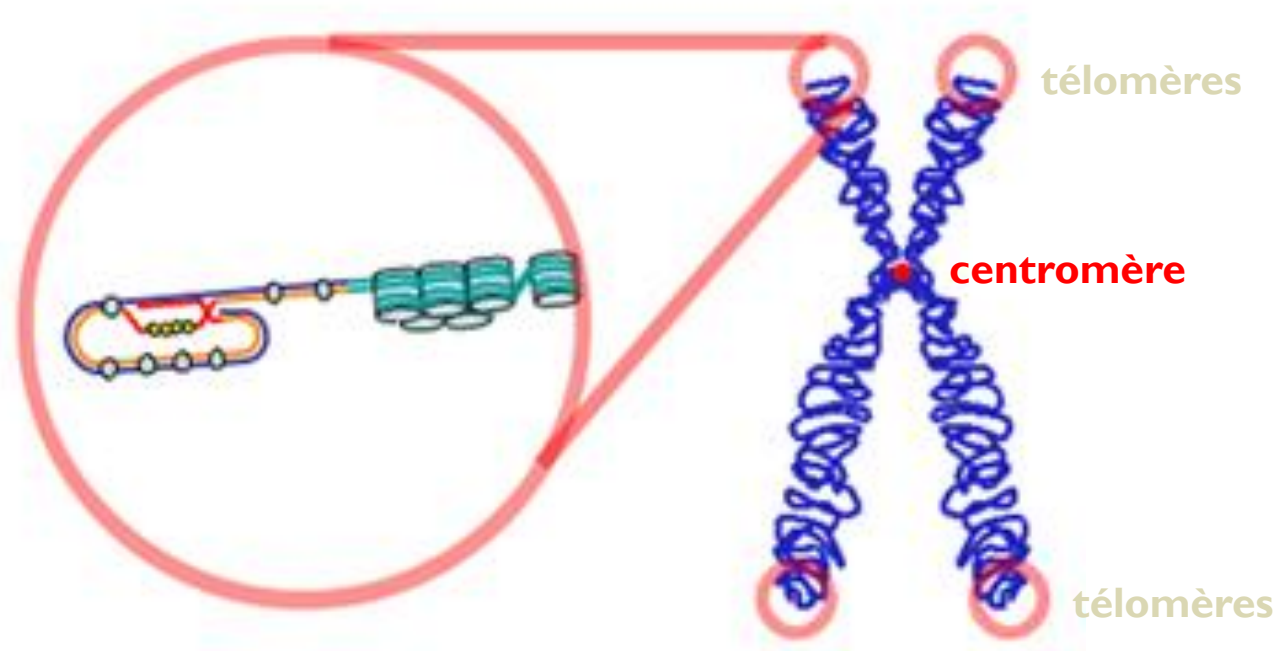
- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

B. SÉQUENCES HAUTEMENT RÉPÉTÉES OU ADN SATELLITE (5%)



- 5 % du génome
- **Description**
 - Motif de qq pb à 10^2 pb répété en **tandem** plusieurs milliers de fois
- **Localisation :**
 - **Centromère**
 - Télomères motif de base : TTAGGG
- **Rôle** : structure et fonctionnement du chromosome et protection



PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

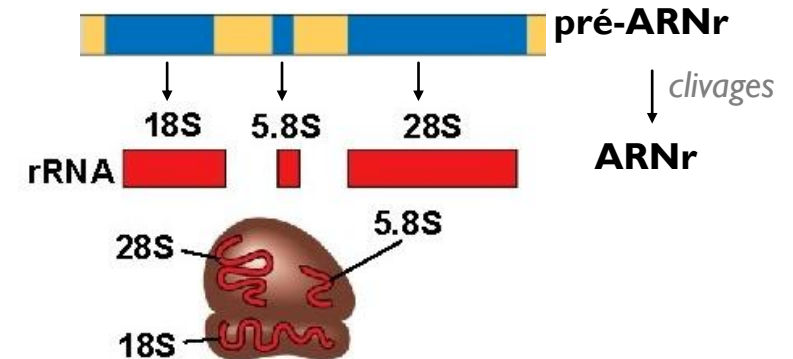
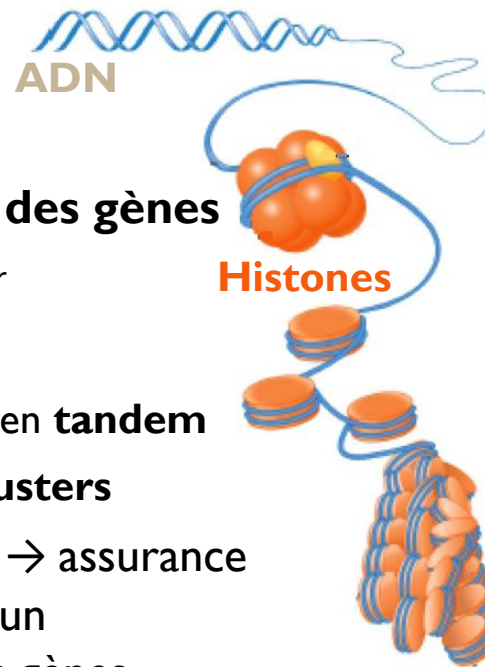


C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GÉNOME

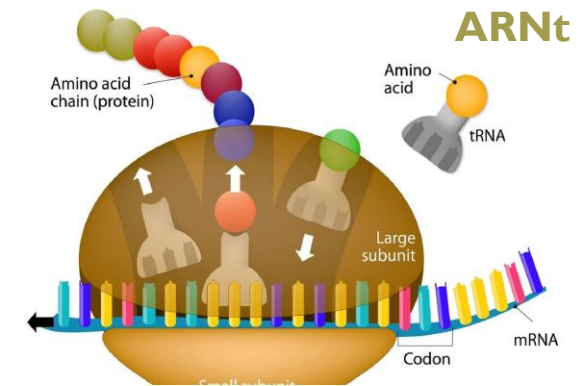
- 50 % du génome
- Deux types :
 - ADN informatif (5%)
 - Transposons (45%)

I. L'ADN informatif (5%)

- Constitué de :
 - **Séquences régulatrices des gènes**
 - ✓ *Promoteur, enhancer, silencer*
 - **ADN codant :**
 - ✓ Gènes des ARNr, ARNt en **tandem**
 - ✓ Gène des histones en **clusters**
- Présence de **copies multiples** → assurance pour la cellule d'avoir au moins un exemplaire fonctionnel pour ces gènes essentiels.



Gène du précurseur des ARNr 18S, 5,8S et 28S



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



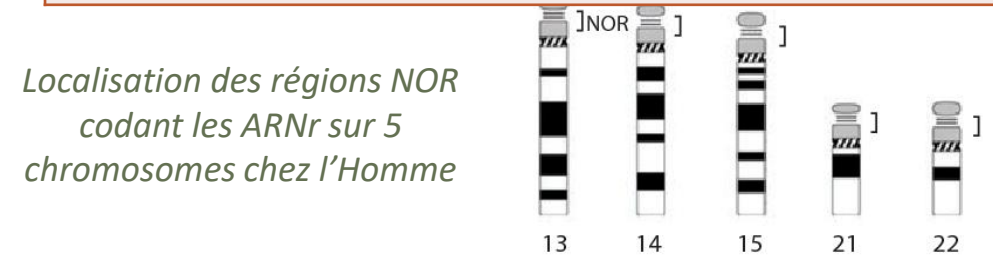
C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GÉNOME

I. L'ADN informatif (5%)

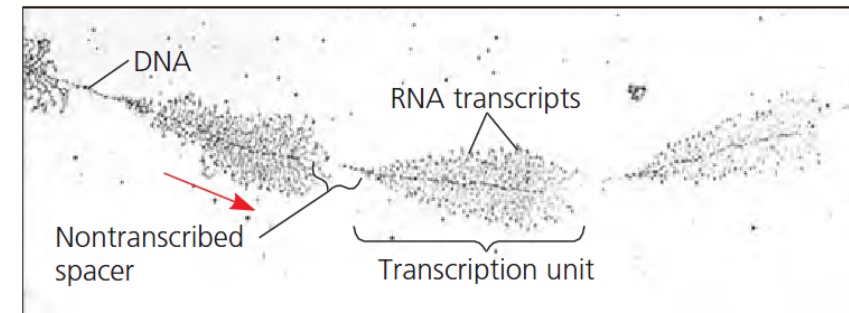
- **Gènes** codant les **ARNr** localisés à l'extrémité de 5 chromosomes différents qui forment le nucléole.
→ **NOR = nucleolar organizer region**
- Sur chaque chromosome, gènes organisés en **tandem** (issus de CO inégaux)

Gènes en tandem : gènes présents en 2 copies (ou plus) et disposés les uns à la suite des autres, séparés par de l'ADN non codant (espaceur)
- Grand nombre de copies + disposition en tandem → **transcription très rapide** des gènes pour répondre aux besoins de la cellule en ribosomes

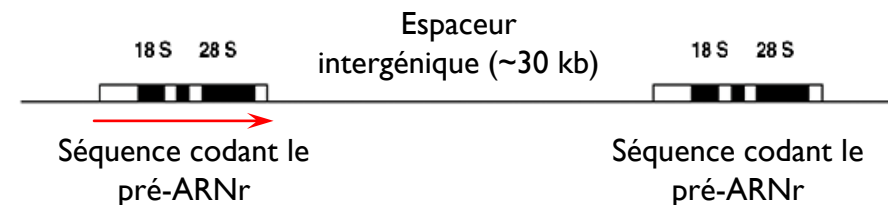
	Copie par tandem	Nb de tandems	Nb total de copies
ARNr 28S, 18S, 5,8S	~80 copies	5	400
ARNr 5S	~200 copies	6	1 200
ARNt	~200 copies	100	20 000



Visualisation des gènes en tandem par MET



Organisation en tandem des gènes d'ARNr



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GÉNOME

I. L'ADN informatif (5%)

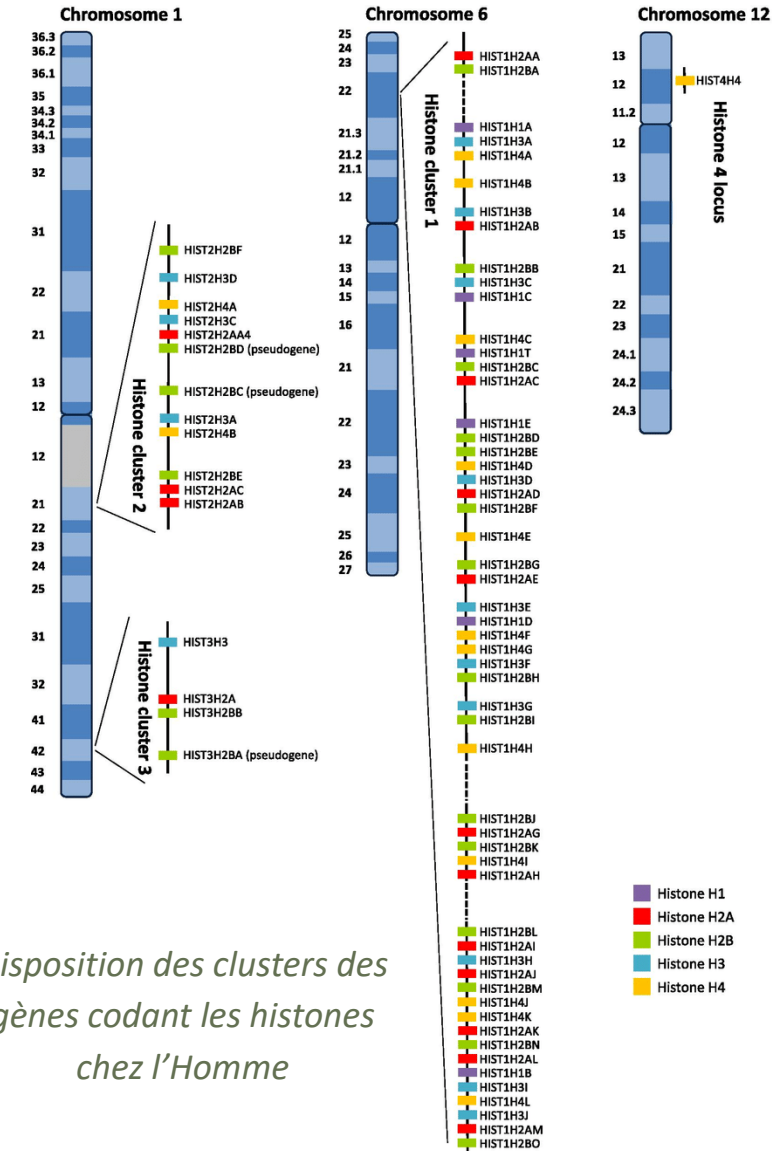
- Gènes codant les **histones** = famille multigénique
 - Gènes sont présents dans le génome en multiples copies organisées en **clusters** (ex : 3 clusters chez *H. sapiens*)

Cluster de gènes : n.m. regroupement de gènes différents

- Grand nombre de copies + organisation en cluster
→ synthèse rapide d'une grande quantité d'histones nécessaire lors de la division cellulaire

NB : Gènes en tandem \neq gène en cluster \neq familles multigéniques

- Tandem → même gène répété
- Cluster → différents gènes regroupés
- Familles multigéniques → différents gènes apparentés



Disposition des clusters des gènes codant les histones chez l'Homme

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GENOME



2. Les transposons (45 %)

- = éléments mobiles ou éléments transposables ou Tn
- 45% du génome
- Découverts par Barbara McClintock en 1948
 - Éléments mobiles dans le génome
 - Présents chez les eubactéries et les eucaryotes
 - Ils encodent en général une (ou des) enzyme qui permet leur déplacement

Barbara McClintock (1902-1992).
Découvreuse des transposons.
Prix Nobel (1983)



Les transposons ont été découverts chez le maïs grâce aux variations de couleurs des grains

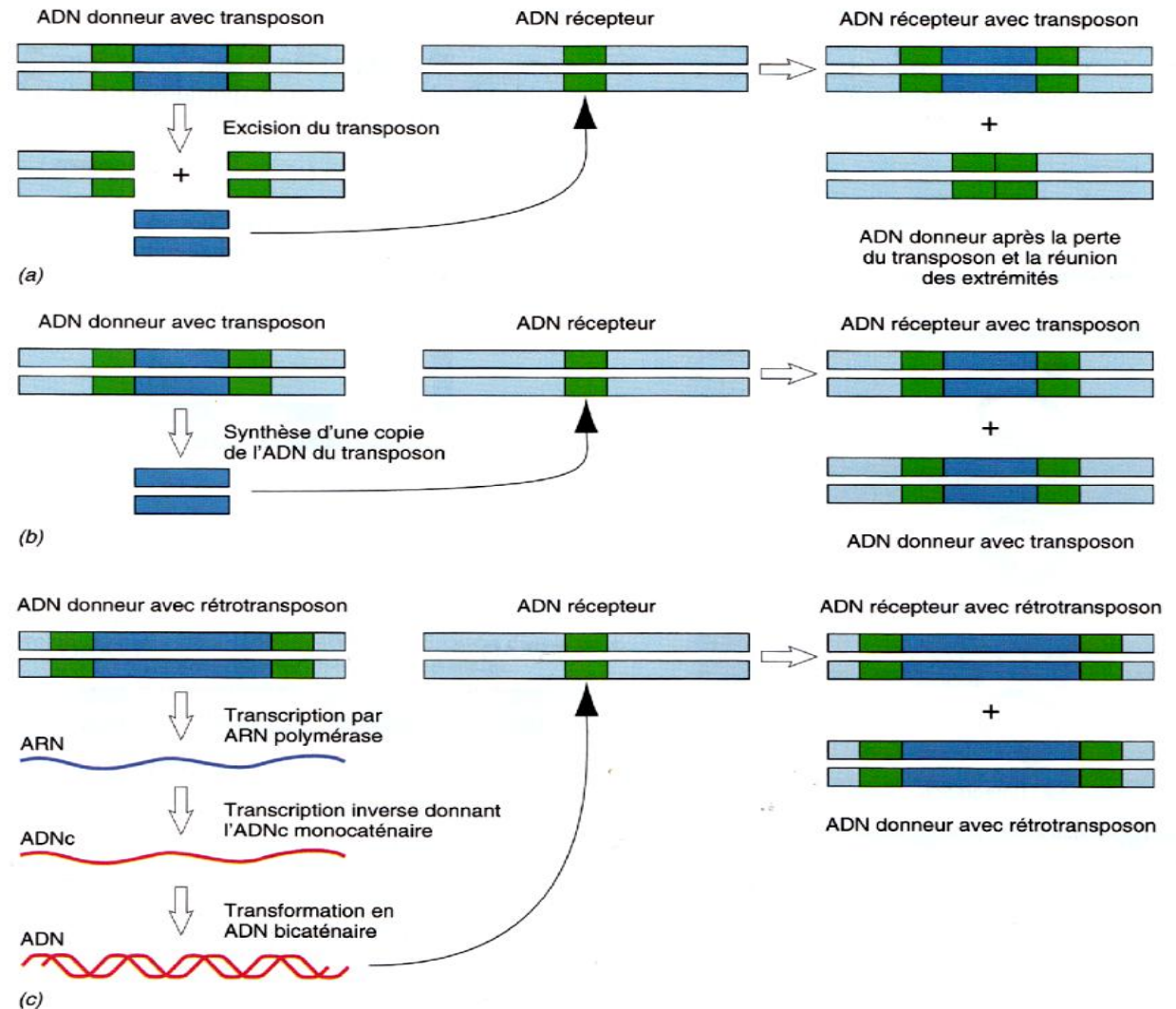
II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GENOME

2. Les transposons

- 3 types de transposons
 - Déplacement par excision puis insertion
 - ✓ *Mode couper-coller (a)*
 - Réplication puis insertion de copie ailleurs
 - ✓ *mode copier-coller (b)*
 - Rétrotransposons = transcription puis rétrotranscription, puis insertion de la copie d'ADN dans un nouvel emplacement
 - ✓ *(mode copier-coller)(c)*

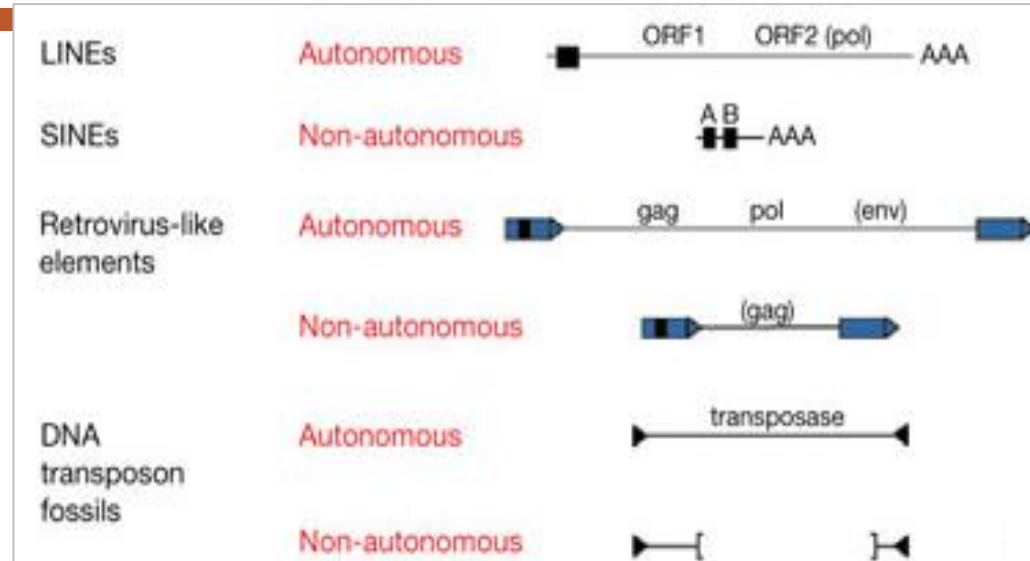


II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GENOME

2. Les transposons

Deux grandes classes de Tn :



Classe	Transposon à ADN (classe II) → L'intermédiaire circulant est fait d'ADN		Rétrotransposon (classe I) → L'intermédiaire circulant est fait d'ARN		
	Type « couper-coller »	Type « copier-coller »	RétroTn à LRT	LINEs	SINEs
Types	Type « couper-coller »	Type « copier-coller »	RétroTn à LRT	LINEs	SINEs
Longueur	2-3 kb	0,8-3 kb	6-11 kb	6-8 kb	100-300 pb
Nb de copies	300 000		450 000	850 000	1,5 10 ⁶
% du génome	3%		8%	21%	13%
Constitution	Encode transposase	Sans transposase	Encode RTase + LTR	Encode RTase	Sans RTase
Déplacement	Autonome	Non autonome	Autonome ou non	Autonome	Non autonome
Exemple	Ds			LI	Alu, MIR

* Les rétroTn non autonomes dépendent des autonomes pour leur déplacement

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

C. SÉQUENCES MOYENNEMENT RÉPÉTÉES : 50% DU GÉNOME

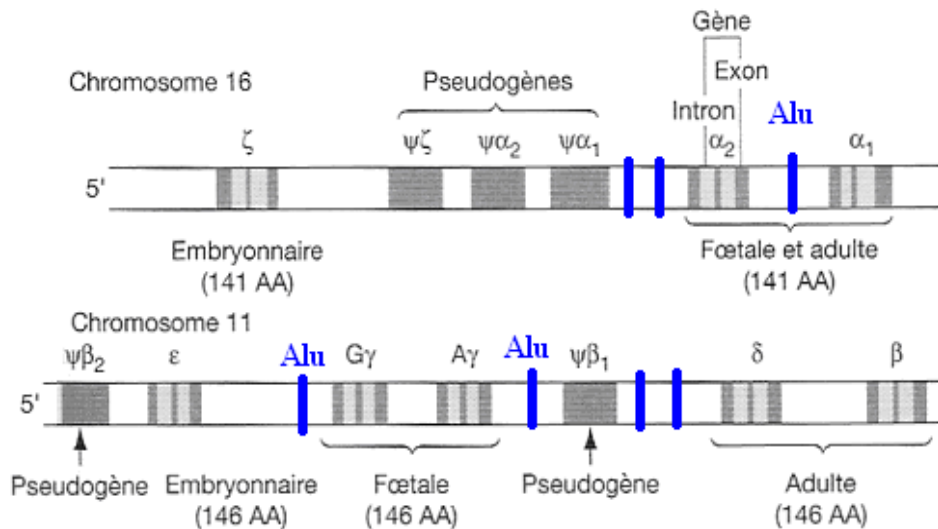
2. Les transposons (45%)

- **Tn : rôle majeur dans l'évolution des gènes et des génomes**

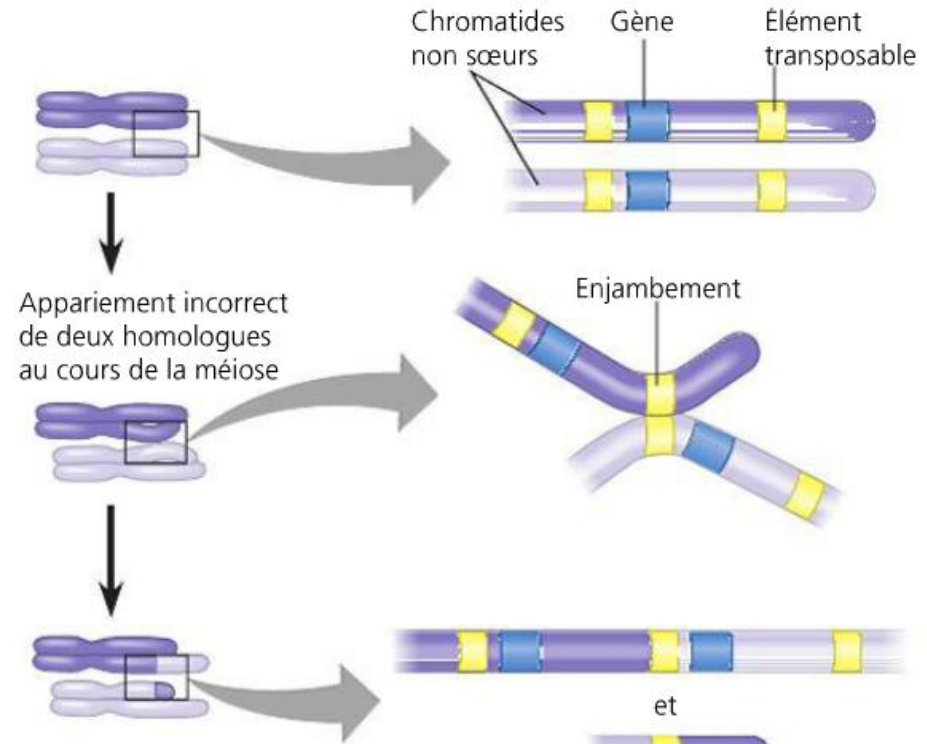
Ex : les globines

Présence de SINEs (retrotransposon) du type Alu, entre certains gènes de la famille.

Ils auraient favorisé les crossing-over inégaux à l'origine de la famille multigénique des globines.



Mécanisme de crossing-over inégal faisant intervenir les séquences Alu



Cartographie de la famille des globines humaines avec emplacement des SINEs (Alu)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



D. DES SEQUENCES UNIQUES OU TRES PEU REPETEES

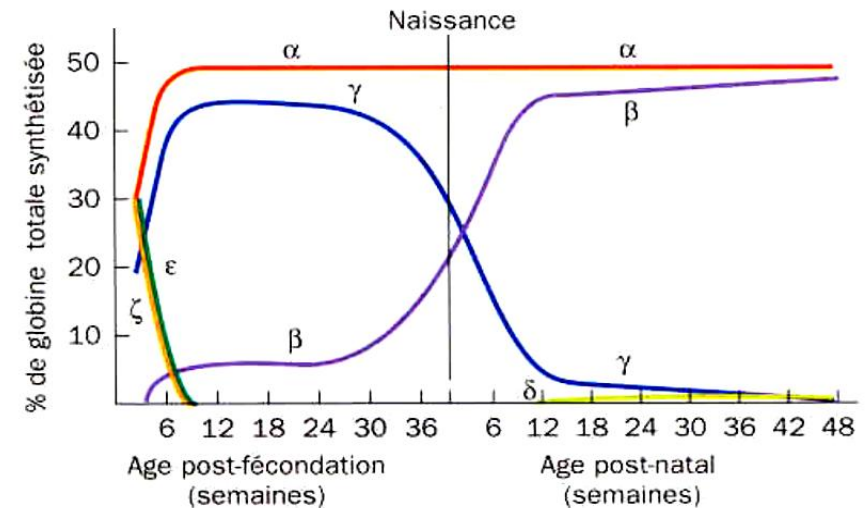
- 45 % du génome
- Séquences **codant la plupart des protéines**
- Composition :
 - **ADN transcrit (exon + intron)**, les gènes en exemplaires uniques ou en peu d'exemplaires
 - **ADN non transcrit**, qui s'intercale entre les gènes d'où son nom d'**ADN espaceur + 5'UTR et 3' UTR**

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

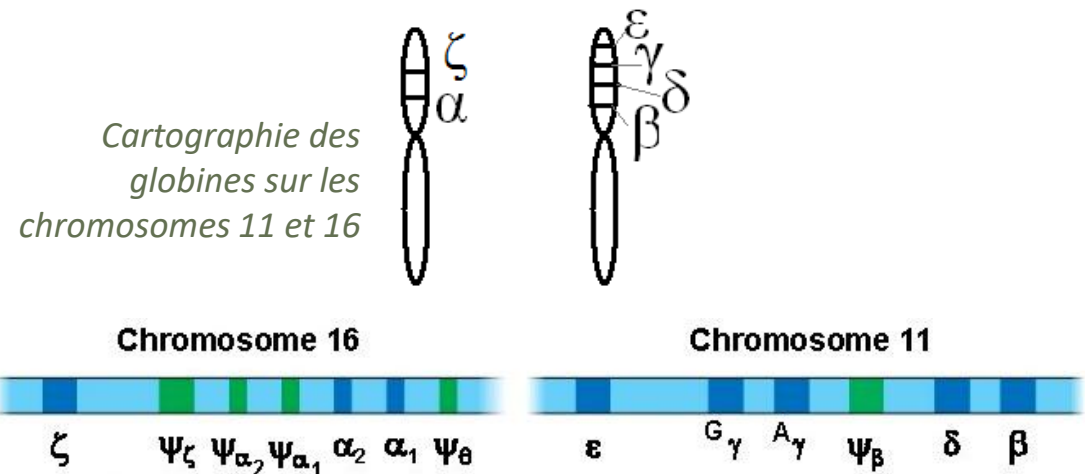
D. DES SEQUENCES UNIQUES OU TRES PEU REPETEES

Familles multigéniques - ex : Les globines

- Chez l'Homme, 6 globines similaires mais différentes constituent l'Hb : $\alpha_1, \alpha_2, \beta, \gamma, \delta, \zeta$
- Globines exprimées à différents moments de la vie
- 6 gènes codant ces globines sur 2 chromosomes différents



Pourcentage de chaînes de globines synthétisées en fonction de l'âge avant et après la naissance chez l'Homme



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

D. DES SEQUENCES UNIQUES OU TRES PEU REPETEES

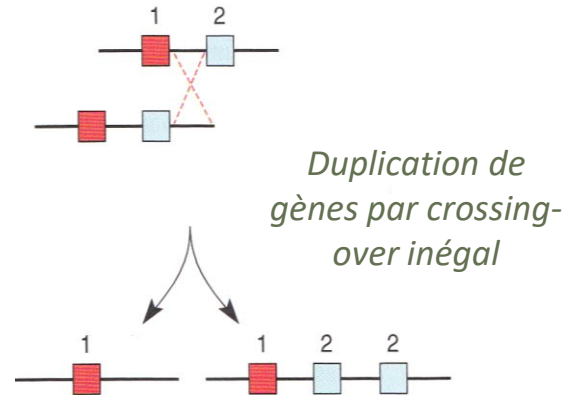
Familles multigéniques - ex : Les globines

■ Etude phylogénétique :

- Les 6 gènes des globines ont des séquences très similaires ; ils sont apparentés
 - ✓ **Famille multigénique**
- Il existe d'autres gènes apparentés mais qui ne sont pas actifs
 - ✓ → **Pseudogènes (ψ)**

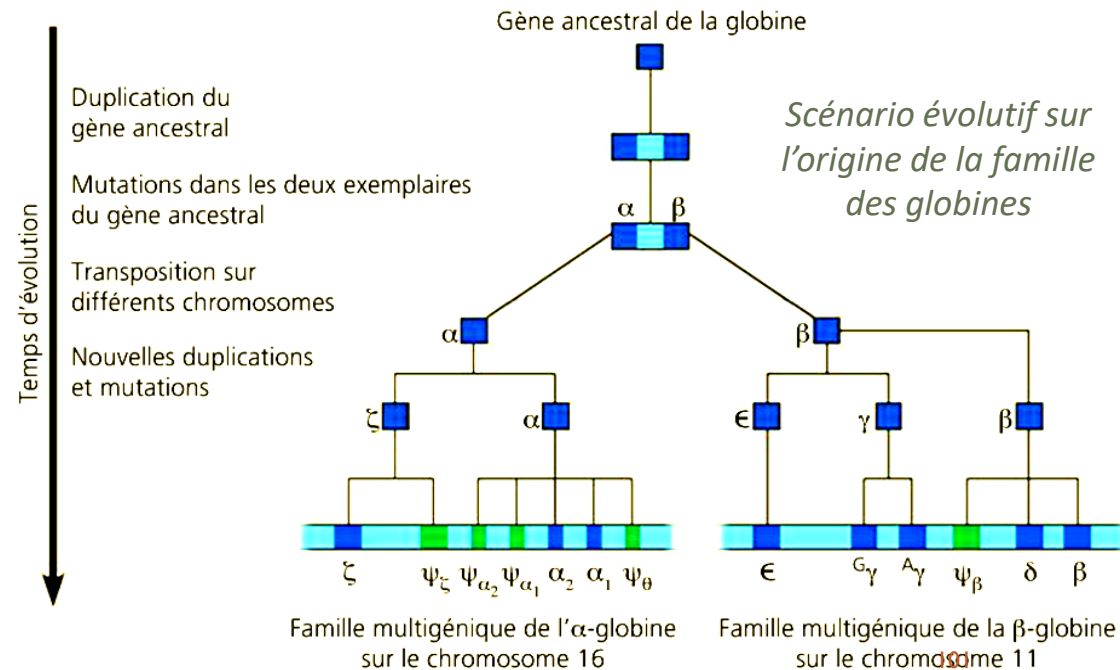
■ L'apparition d'une famille multigénique fait intervenir :

- des mutations chromosomiques (duplication, inversion, translocation...) dues à des **crossing-over inégaux lors de la méiose**
- des **mutations ponctuelles** (substitution, insertion, délétion)
- Et les éléments transposables!



Famille multigénique :
n.f. ensemble de gènes apparentés, issus d'un même gène ancestral

Pseudogène : n.m. séquence ressemblant à un gène mais ayant perdu toute fonctionnalité



PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

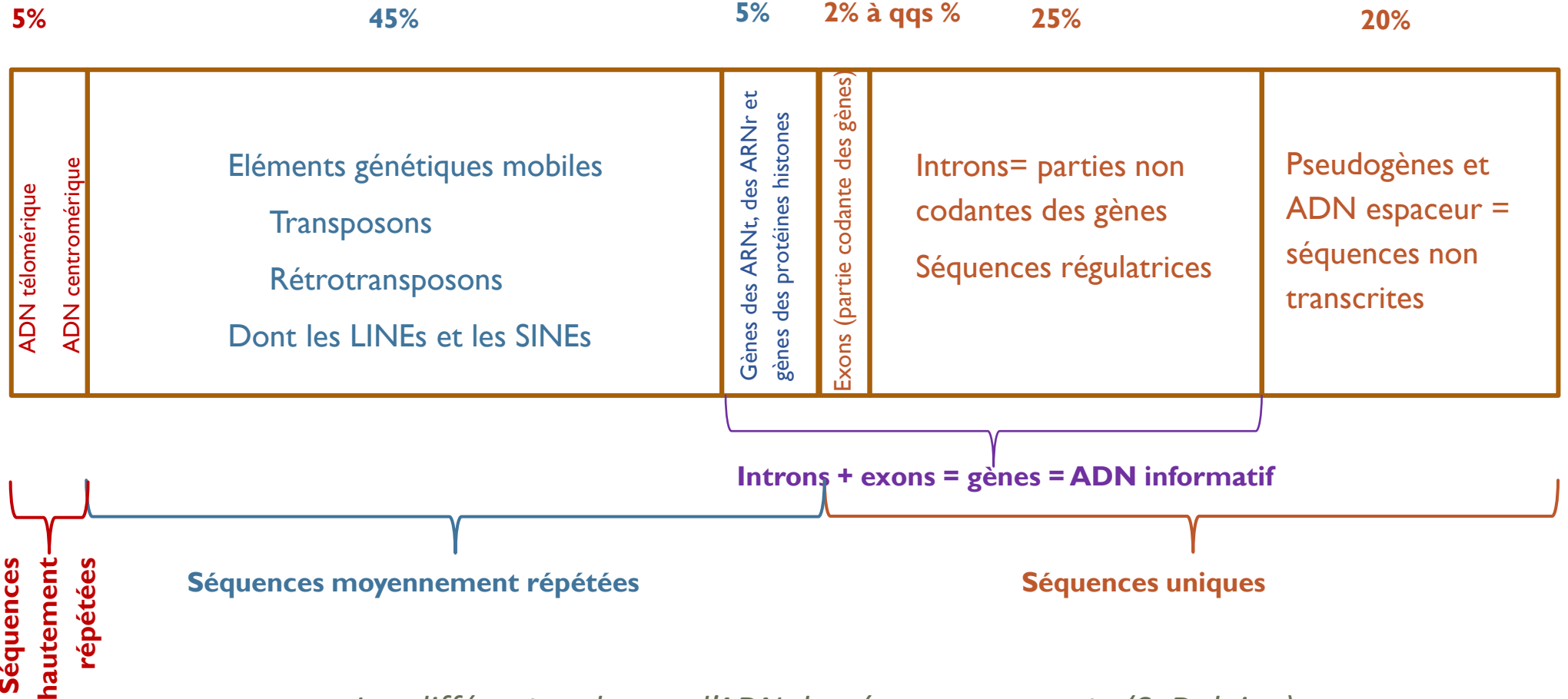
- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

E. BILAN SUR L'ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME EUCARYOTE



Les différentes classes d'ADN du génome eucaryote (S. Dalaine)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES



- **ADN répétitif** du génome utilisé pour réaliser des tests de filiation et pour de la sélection en zootechnie (**SNP** pour **Single Nucleotide Polymorphism**).
- Méthode : digestion par **enzyme de restriction** puis **Southern blot** avec des sondes spécifiques de l'ADN satellite (cf TP)

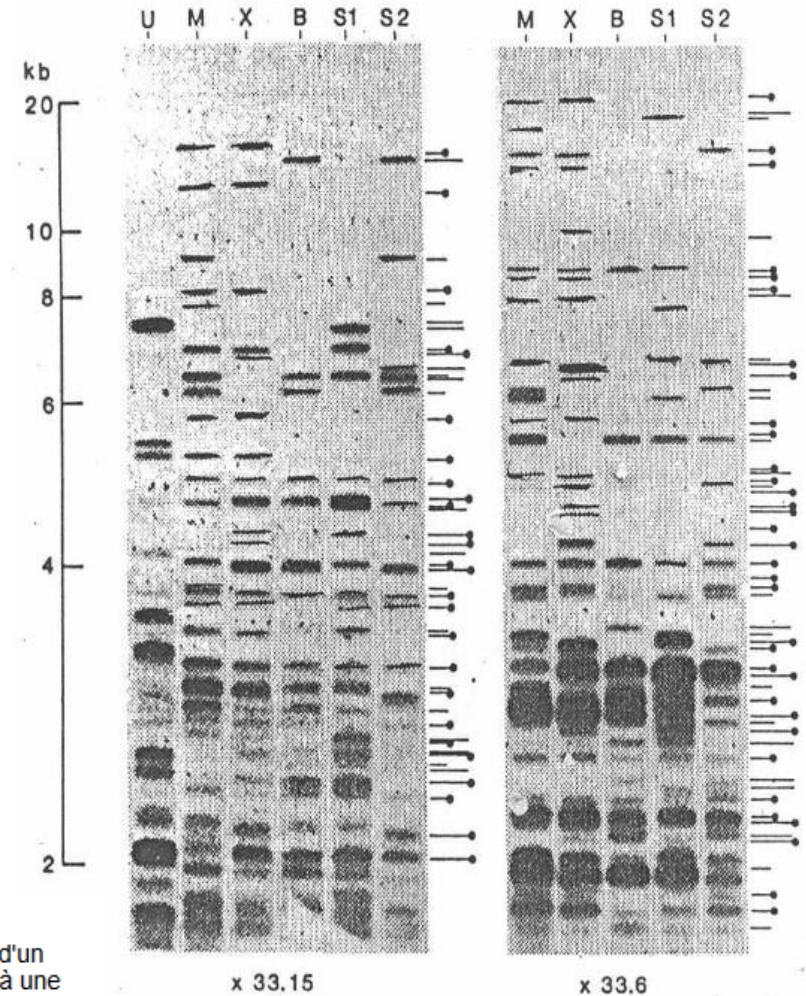


Figure 1-34. Emploi de séquences répétitives de l'ADN humain pour établir une filiation.

Dans ce cas, les ADNs génomiques de sa mère (M) des enfants admis par les deux parents (B, S1, S2), et d'un enfant dont la paternité avait été mise en doute (X) ont été digérés par une enzyme de restriction et soumis à une analyse par *Southern blot*. Les sondes correspondent aux répétitions de minisatellites. L'individu (U) constitue un contrôle, n'ayant aucun lien avec la famille.

Un fragment de restriction de l'ADN des enfants (reconnu par une sonde) doit venir de l'un ou de l'autre des parents.

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



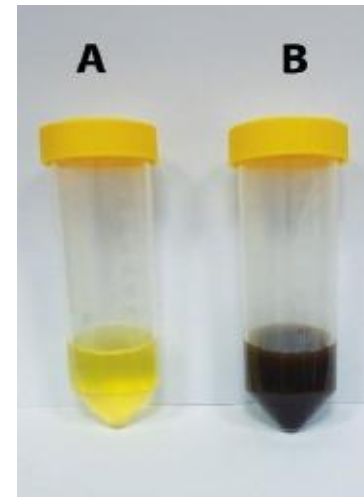
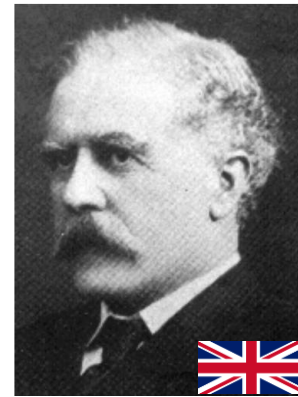
F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

I.1. Travaux de Garrod

- Suivi de patients atteints d'**Alcaptonurie** (AKU) qui se manifeste par :
 - Coloration brune des urines après oxydation
 - Coloration bleue des tissus conjonctifs, os, cartilages, peau
 - Douleurs et raideurs articulaires
- Aggravation des symptômes par apport de Tyr dans l'alimentation

Sir Archibald Edward Garrod (1857-1936).
Médecin



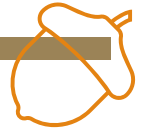
Coloration des urines d'une personne saine (A) et atteinte d'alcaptonurie (B)



Coloration des tissus conjonctif chez une personne atteinte d'alcaptonurie

Idée « d'erreur du métabolisme »

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

I.1. Travaux de Garrod

- Les **observations** de Garrod (collaboration avec Bateson)
 - Une maladie « familiale »
 - Plus fréquente dans les familles consanguines

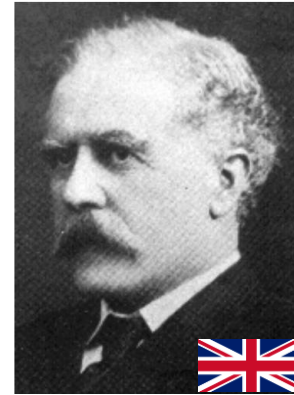
→ **Maladie due à un caractère héritable récessif**

Conclusion :

- Une maladie peut être déterminée par des règles biochimiques
- Une maladie peut être héréditaire
 - Notion de **maladie génétique** (AKU 1^e maladie génétique découverte)

→ **Idée « d'erreur innée du métabolisme »**

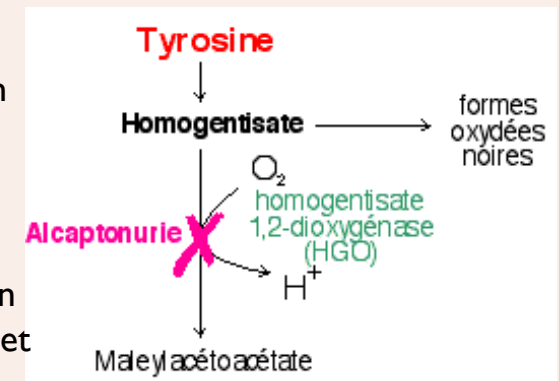
Sir Archibald Edward Garrod (1857-1936).
Médecin



William Bateson (1861-1966).
Biologiste

Interprétation actuelle :

- AKU est due à l'accumulation d'acide homogentisique = intermédiaire de dégradation de Tyr
- Les malades sont déficitaires en l'enzyme de dégradation de cet acide



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

I.2. Travaux de Beadle et Tatum (1941)

- **Objectif** : démontrer l'hypothèse de Garrod
- **Objet d'étude** : *Neurospora crassa* (moisissure du pain)

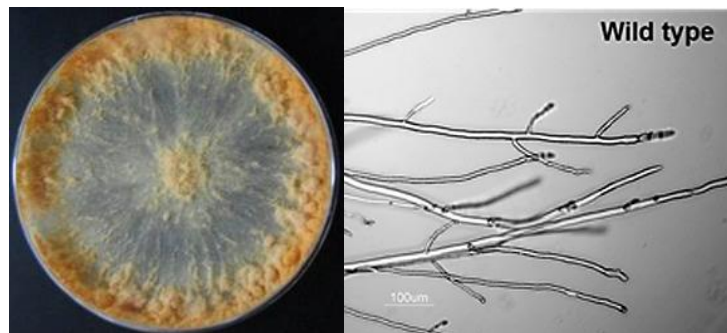


Prix Nobel
1958

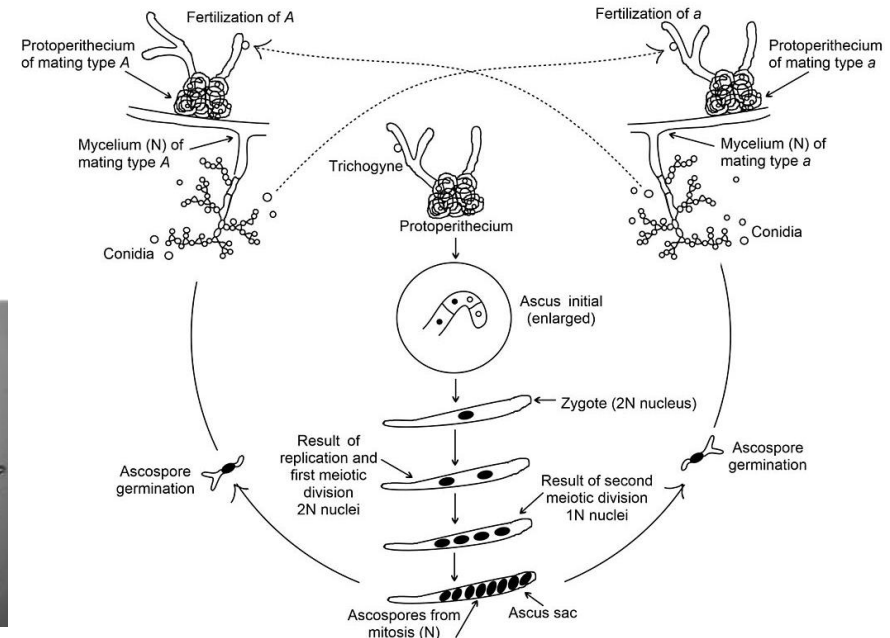
George W. Beadle
(1903-1989) et
Edward L. Tatum
(1909-1975),
généticiens.



N. crassa sur du pain



N. crassa cultivée sur boîte de pétri et observée au MO



Cycle de vie de *N. crassa*

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



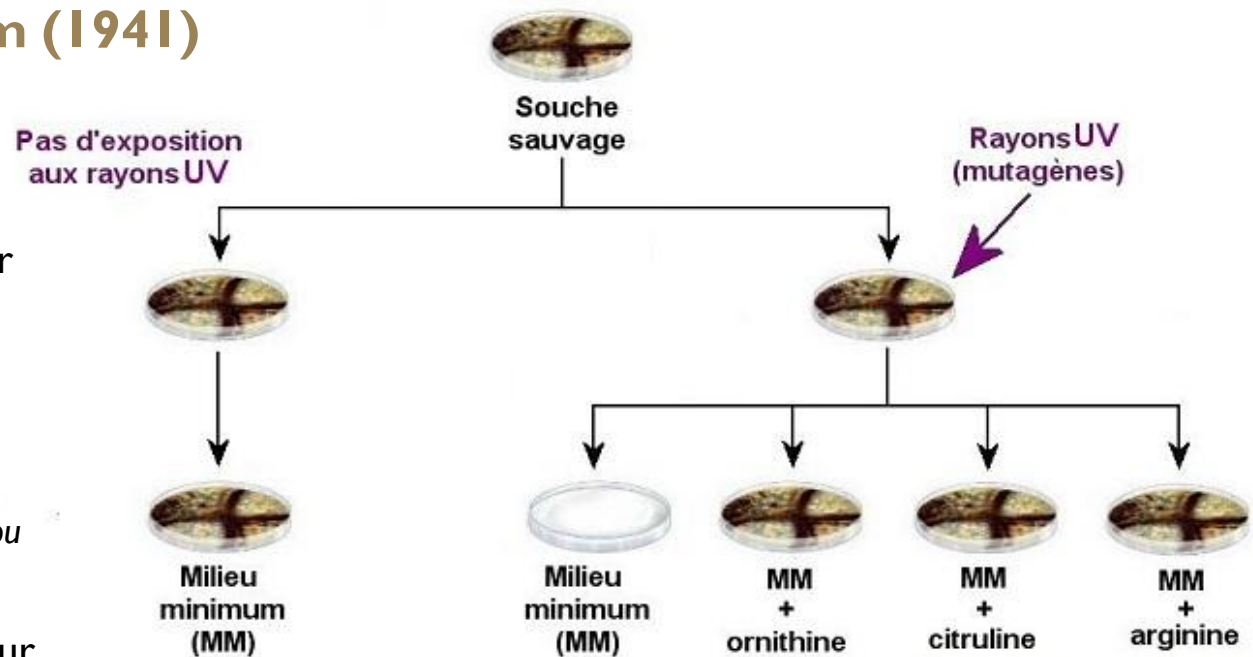
F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

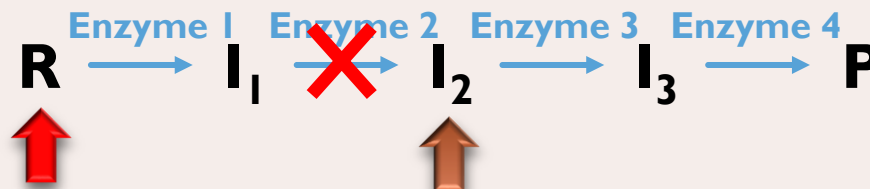
I.2. Travaux de Beadle et Tatum (1941)

■ Principe

- Production de mutants de *N. crassa* par mutagenèse aux rayons X
- Culture des mutants sur différents milieux
 - ✓ Milieu complet
 - ✓ Milieu minimum supplémenté par telle ou telle substance
- Identification de mutants déficients pour certaines réactions biochimiques



Principe de la supplémentation



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



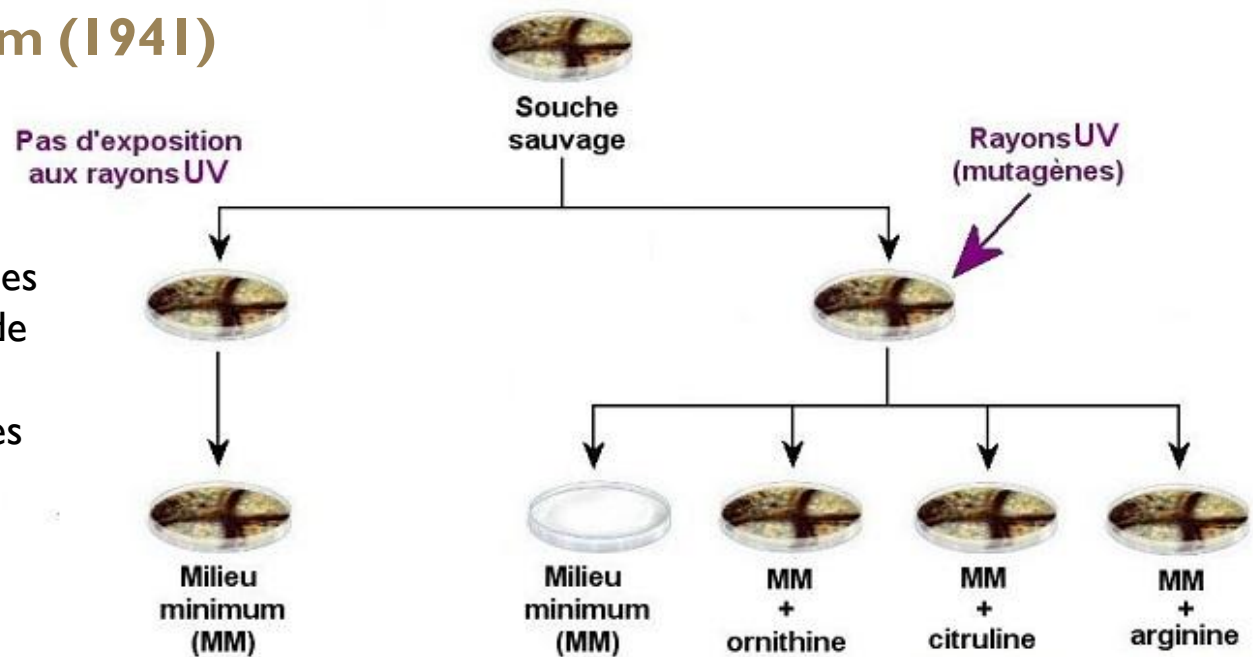
F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

I.2. Travaux de Beadle et Tatum (1941)

■ Interprétation :

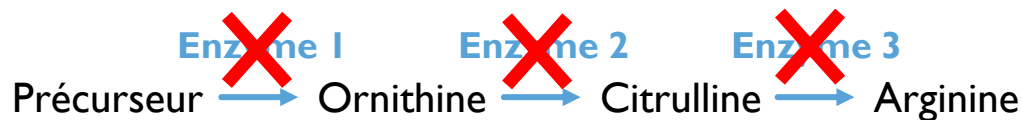
- ✓ Les mutants sont déficients en enzymes impliquées dans la voie métabolique de synthèse de l'arginine
- ✓ Construction d'un modèle à partir des données :



Mutant 1

Mutant 2

Mutant 3



	WT	Mutant 1	Mutant 2	Mutant 3
MM	Oui	Non	Non	Non
MM + ornithine	Oui	Oui	Non	Non
MM + citrulline	oui	oui	Oui	Non
MM + arginine	oui	oui	oui	Oui

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

I. Approche historique

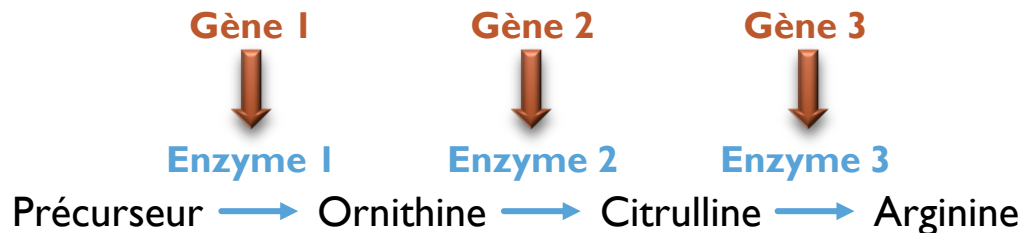
I.2. Travaux de Beadle et Tatum (1941)

■ Interprétation :

- ✓ Les mutants sont déficients en enzymes impliquées dans la voie métabolique de synthèse de l'arginine
- ✓ Construction d'un modèle à partir des données :

→ Un mutant correspond à une enzyme intervenant dans la voie de biosynthèse de l'arginine

→ « Un gène = une enzyme »



Généralisation :
« Un gène = une protéine » et
un « gène = fragment d'ADN »



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

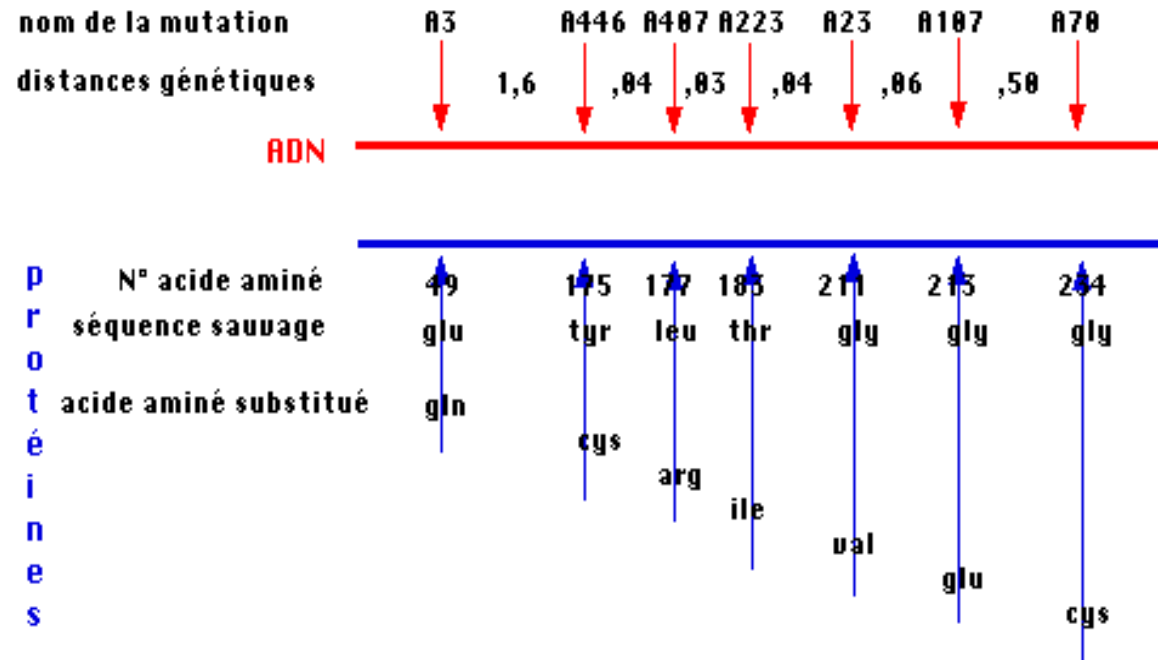
I. Approche historique

I.3. Travaux de Yanofsky (1964)

Charles Yanofski
(1925-2018)
Généticien



- Objet d'étude : une enzyme de *E. Coli* (Trp synthétase)
- Principe :
 - cartographie à haute résolution de plusieurs mutations dans le gène codant l'enzyme
 - séquençage de l'enzyme
 - → comparaison des 2
- Conclusion : il y a un parallèle entre la position des mutations et les modifications d'AA de la protéine



→ Colinéarité gène-protéine

II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

■ Bilan : une première définition

- « un gène = une protéine »
- Un gène = fragment d'ADN capable de commander la production d'une protéine
- On sait aujourd'hui que ce dogme n'est pas exact ; la réalité est plus complexe.
- Un gène peut coder plusieurs protéines différentes (et même plusieurs ARN différents)



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GÈNE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation du gène eucaryote, un gène morcelé

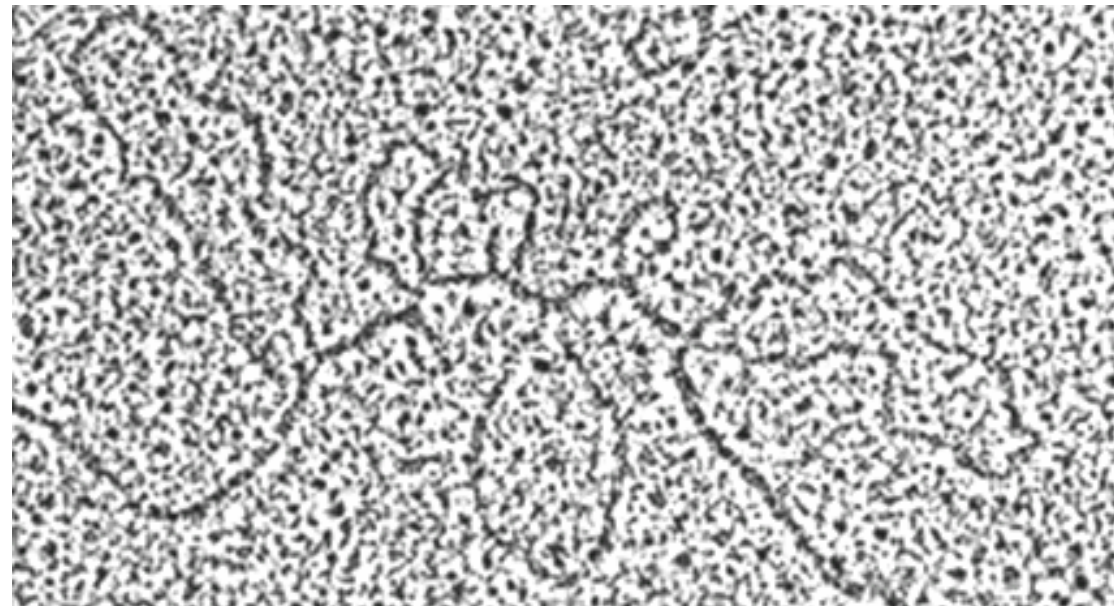
Pierre Chambon (1931-).
Médecin, biochimiste,
généticien



2.1. Approche expérimentale - données



- 1977 - Etude du gène l'ovalbumine (protéine de l'œuf)
- Principe :
 - Mélange in vitro du morceau l'ADN codant le gène dénaturé + l'ARN messenger (ARNm) correspondant
 - Observation au MET
- Résultats :
 - Hybridation ADN-ARNm mais partielle
 - ARNm plus court que ADN



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation du gène eucaryote, un gène morcelé

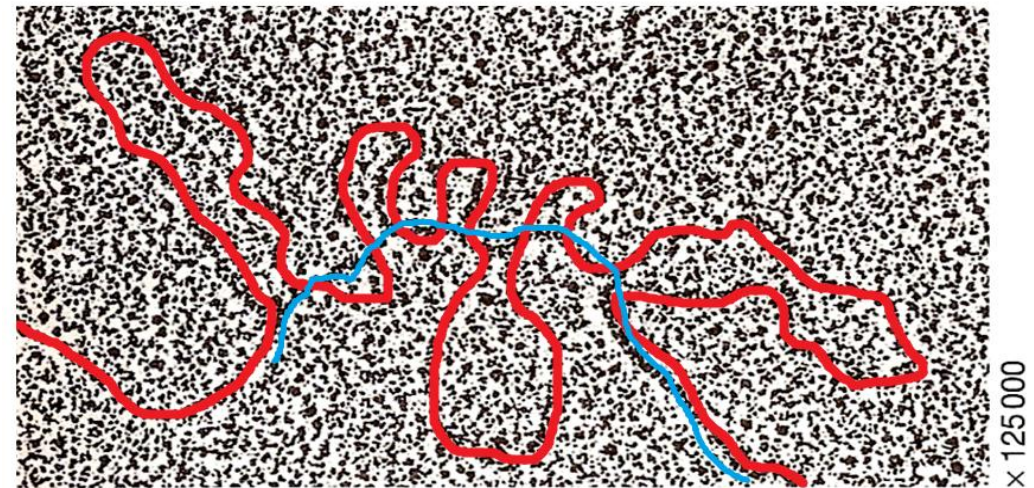
2.1. Approche expérimentale - données



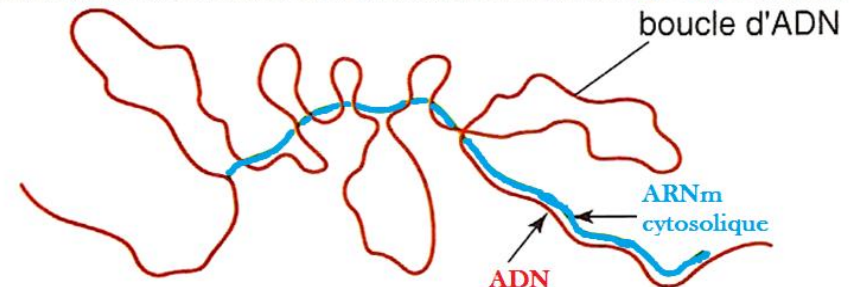
Pierre Chambon (1931-).
Médecin, biochimiste,
généticien



- 1977 - Etude du gène l'ovalbumine (protéine de l'œuf)
- Principe :
 - Mélange in vitro du morceau d'ADN codant le gène dénaturé + l'ARN messager (ARNm) correspondant
 - Observation au MET



- Résultat :
 - Hybridation ADN-ARNm mais partielle
 - ARNm plus court que ADN



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE



F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

2. Organisation du gène eucaryote, un gène morcelé

Exon : n.m. séquence d'ADN transcrite et présente dans l'ARNm

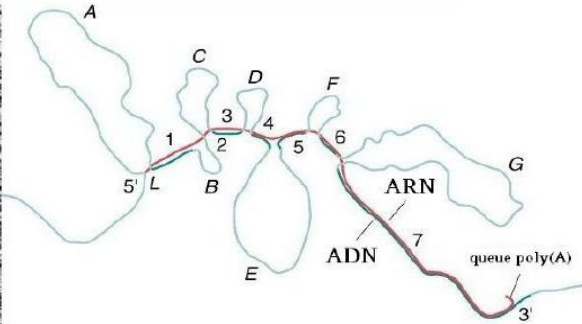
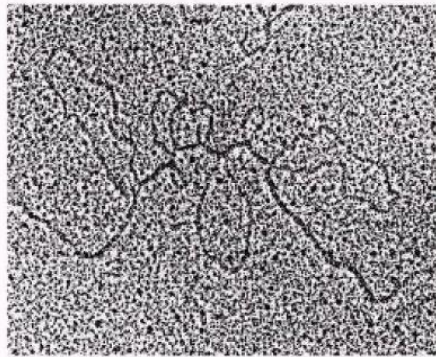
Intron : n.m. séquence d'ADN transcrite mais absente de l'ARNm

2.2. Interprétation

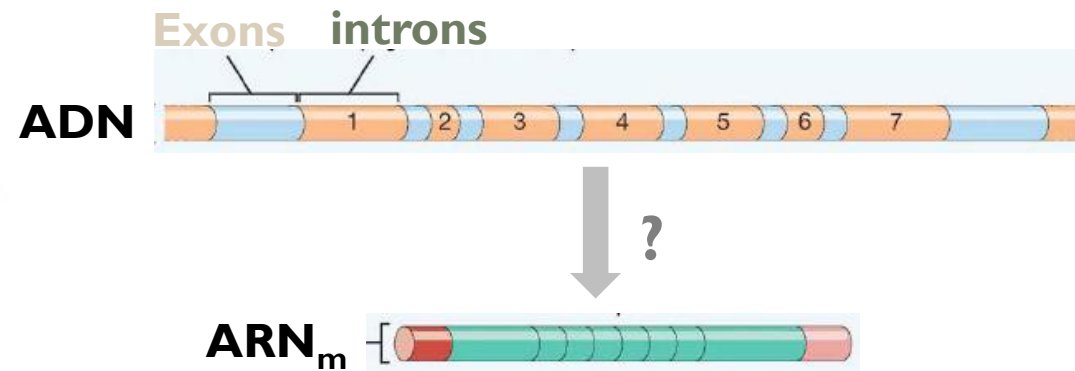
- Interprétation :

- L'ADN correspondant au gène contient 2 types de séquences :

- ✓ des **EXONS**
- ✓ des **INTRONS**



Résultat de l'hybridation ADN-ARNm de l'ovalbumine de poule et interprétation (A. Gallien, Ac-dijon)



Comme passe-t-on de l'ADN à l'ARNm où il manque des séquences ?



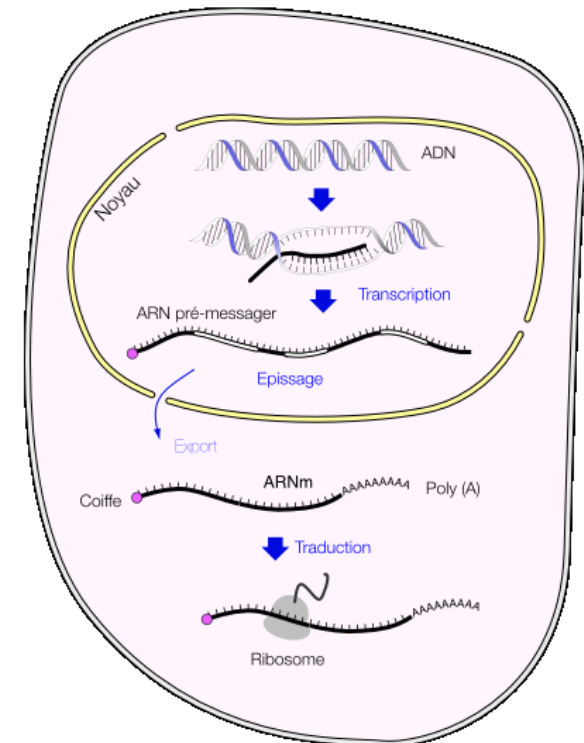
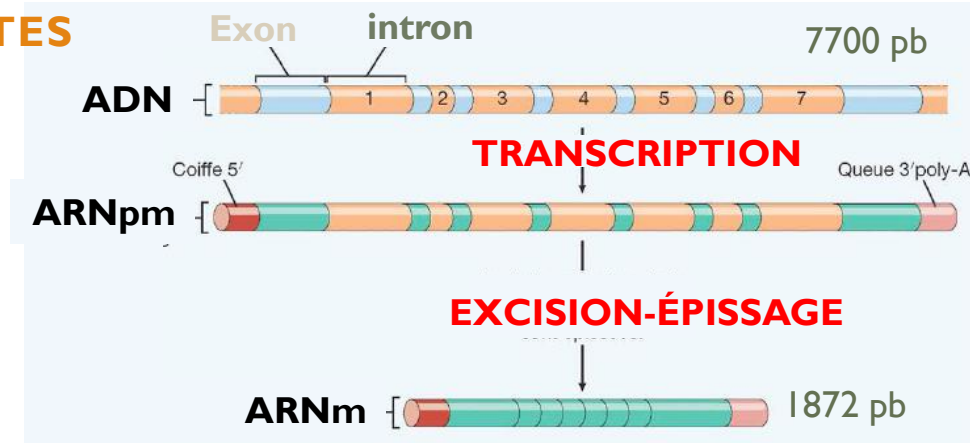
II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

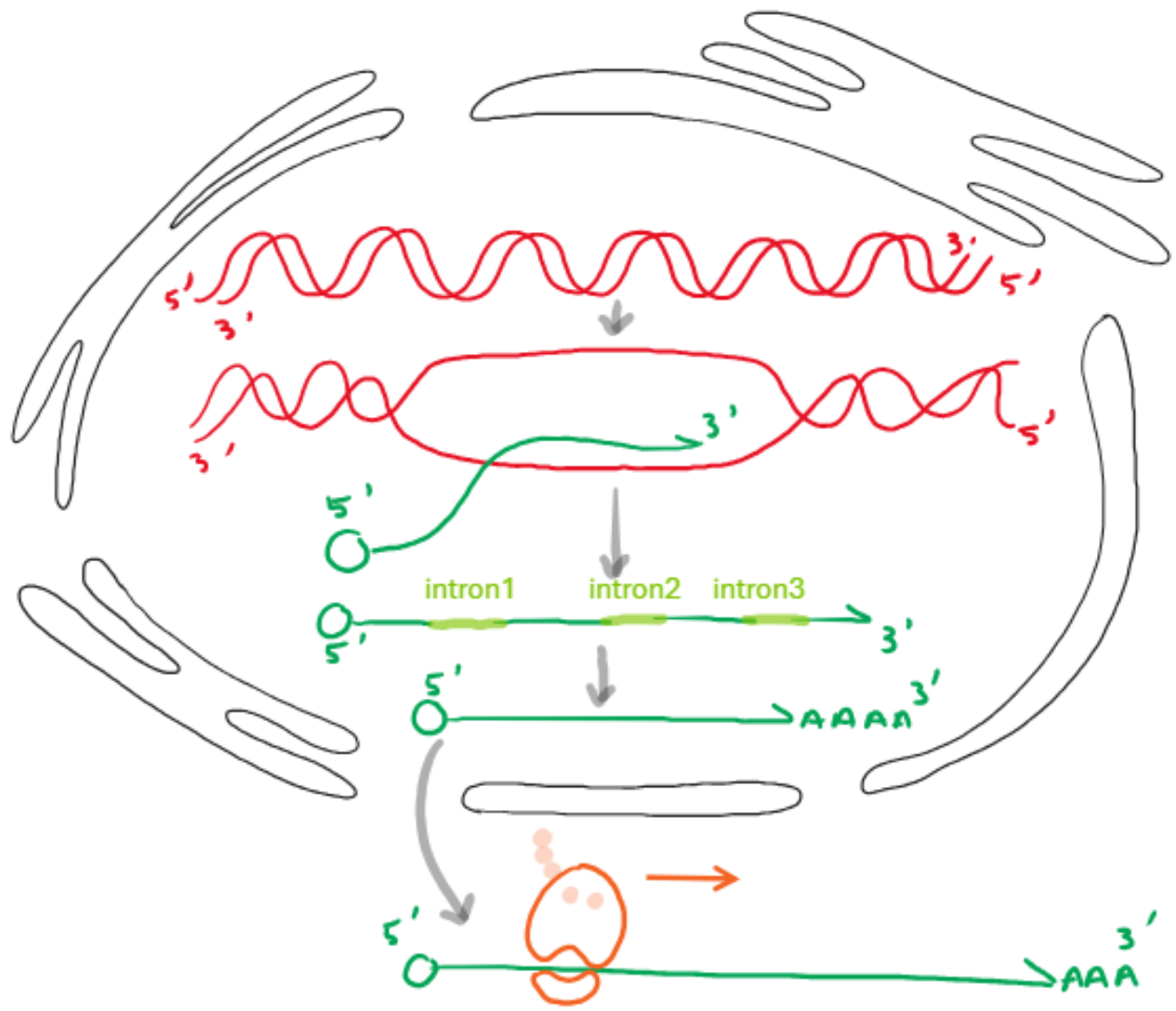
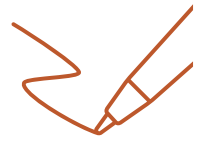
F. LA NOTION DE GÈNE CHEZ LES EUCARYOTES

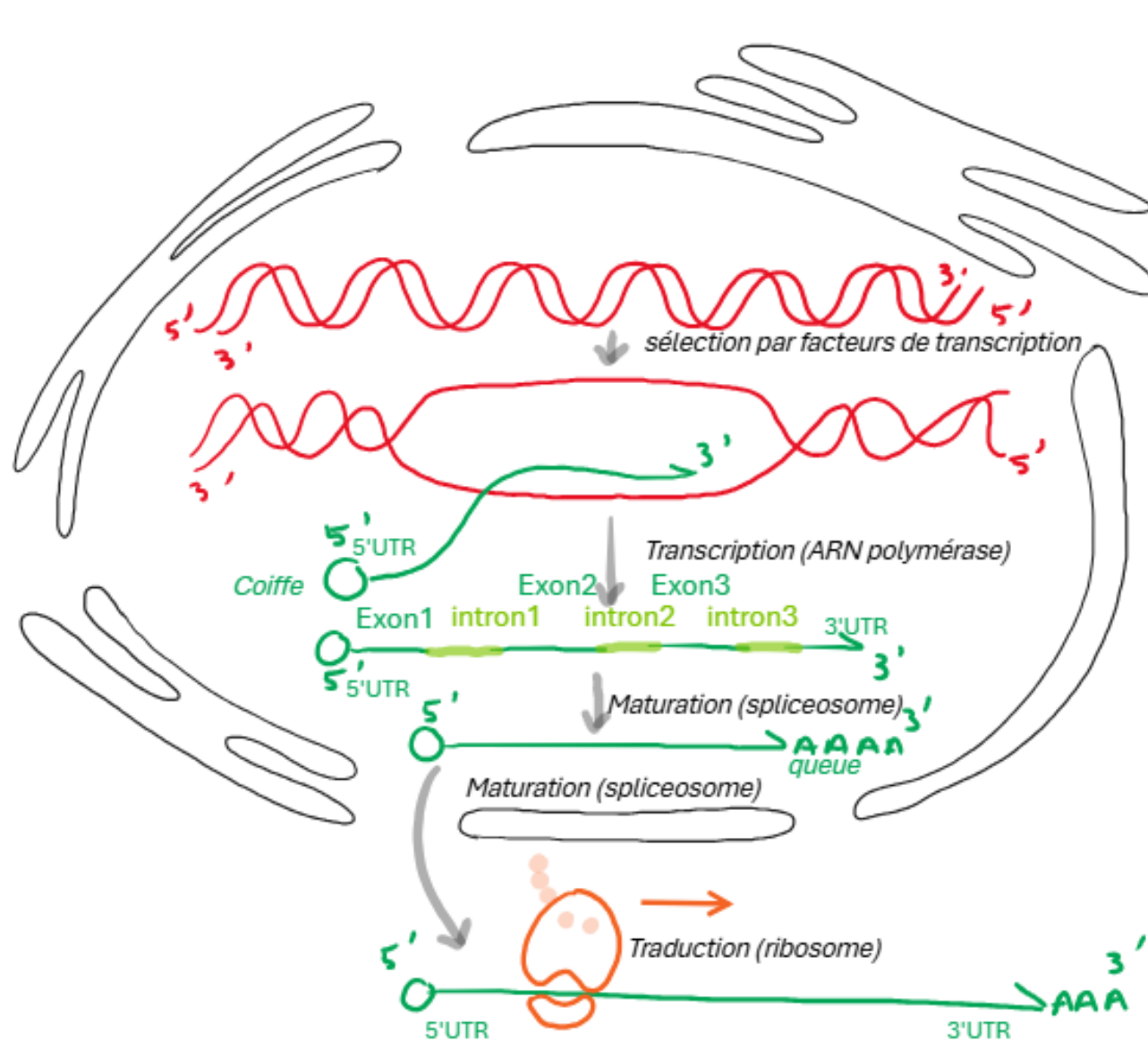
2. Organisation du gène eucaryote, un gène morcelé

2.3. Modèle

- **ADN** d'un gène constitué de séquences codantes (exons) entrecoupées de séquences non codantes (introns)
 - **Notion de gène morcelé ou mosaïque**
- ADN d'abord transcrit en un ARN qui contient aussi bien les introns que les exons → **ARN pré-messenger (ARNpm)**
 - L'ARNpm subit le phénomène d'excision-épissage qui supprime les introns
 - L'excision-épissage fait intervenir des endonucléases ribonucléoprotéiques (SnurP) et des ligases.
- Après **excision-épissage** → ARN = uniquement exons
 - ARN « mûre »
 - **ARN messenger (ARNm)**







Le gène eucaryote est morcelé (S. Dalaine)



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES

3. ORF

- Développement du **séquençage** (rapide et peu coûteux)
 - ⇒ essor de la **génomique**
 - approche globale des gènes
- **Génomique structurale** → identifier de nouveaux gènes putatifs
 - Analyse informatique de séquences brutes d'ADN (recherche de séquences typiques des gènes : promoteur, terminateur...) → **Prédiction d'ORF**
 - Comparaison de la séquence de l'ORF (par alignement de séquence) avec des banques de données :
 - ✓ Des séquences de gènes déjà identifiés (diverses espèces)
 - ✓ Des séquences de motifs protéiques connus
 - ✓ **Annotation du gène**
 - Tests de **validation fonctionnelle expérimentale**

→ Les **ORF** sont des gènes putatifs, prédits par la génomique

Génomique : n.f. étude des génomes

ORF : n.m. Open Reading Frame = Cadre Ouvert de Lecture : séquences identifiées comme potentiellement codantes pour un gène

1) Analyse de séquences

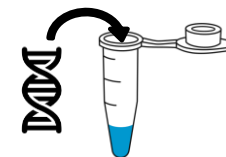


```
AATGTCGATTGCTAGCCTGGATAGCGCTAAGGCTAACTGTCCGTAG
TCCTGACGTCGGTACGATAACACAACCTCGCTACGATAACACAACC
TCAATGTCGATTGCTAGCCTGGATAGCGCTAAGGCTAACTGTCCGT
AGTCCTGACGTCGGTACGATAACACAACCTCGCTCGCGCGCGCGT
TAGCAGGCTAACTGTCCGCTAATGTCGATTGCTAGCCTGAATGTGC
ATTGCTAGCCTGGATAGCGCTAAGGCTAACTGTCCGTAAGTCTGAC
GTCGGTACGATAACACAACCTCGCTACGATAACACAACCTCAATGT
CGATTGCTAGCCTGGAT
```

2) Comparaison de séquences

```
CCCAATTWCAAAAAGGGAAGAATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
MDK CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
Sisila CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
Akoyya CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
Bibila Sweet CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
BAN CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
MT CCCCTTWCAAAAGGGTAAGATTTTGTGTTTGTGGGGTTTTTGAAAAAAGGGTCAATTTTCCCCC
```

3) Validation expérimentale



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

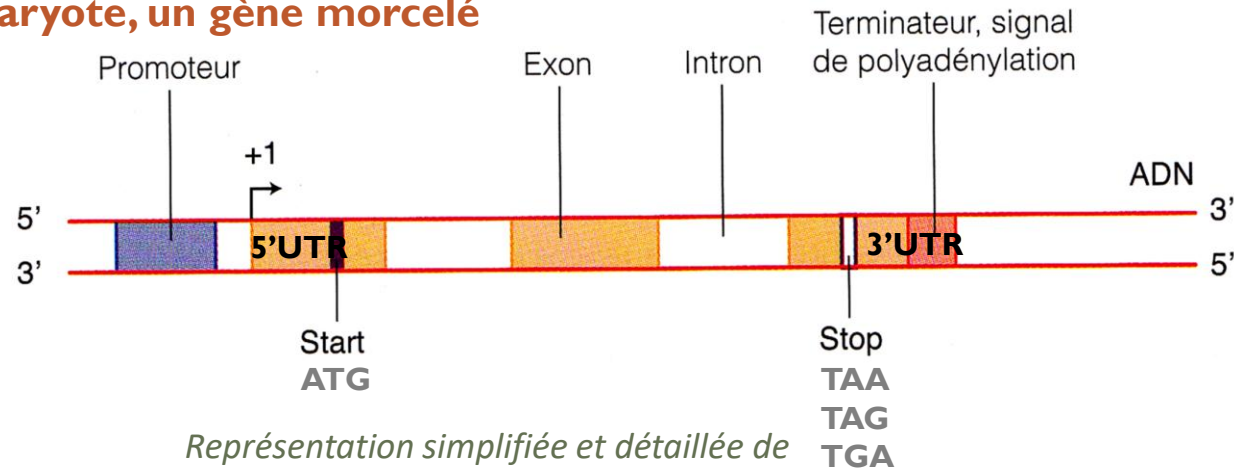
F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES



3. Bilan sur l'organisation d'un gène eucaryote, un gène morcelé

- **Gène eucaryote** = mosaïque, constituée de plusieurs séquences :

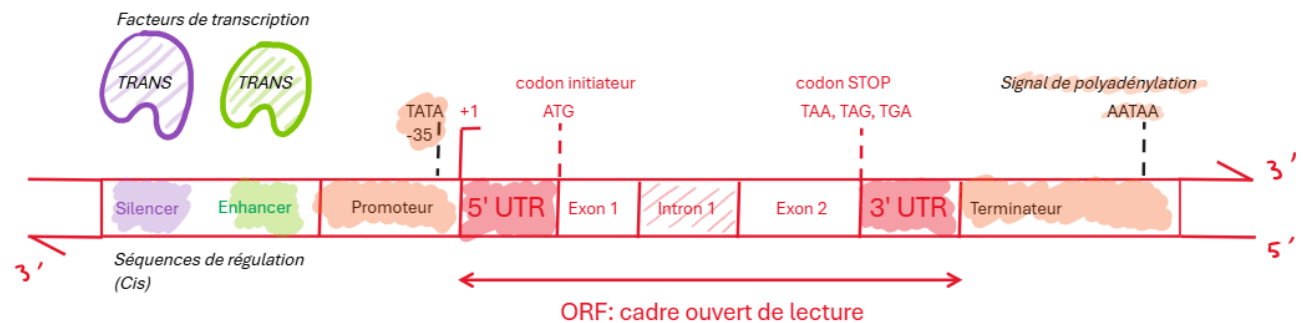
- **Séquences transcrites en ARN :**
 - ✓ Séquence transcrite et traduite (exons)
 - ✓ Séquence transcrite non traduite (introns + 5'UTR et 3'UTR)
- Un **promoteur** = séquence régulatrice
- Une **séquence de terminaison** = séquence régulatrice



Représentation simplifiée et détaillée de l'organisation d'un gène eucaryote

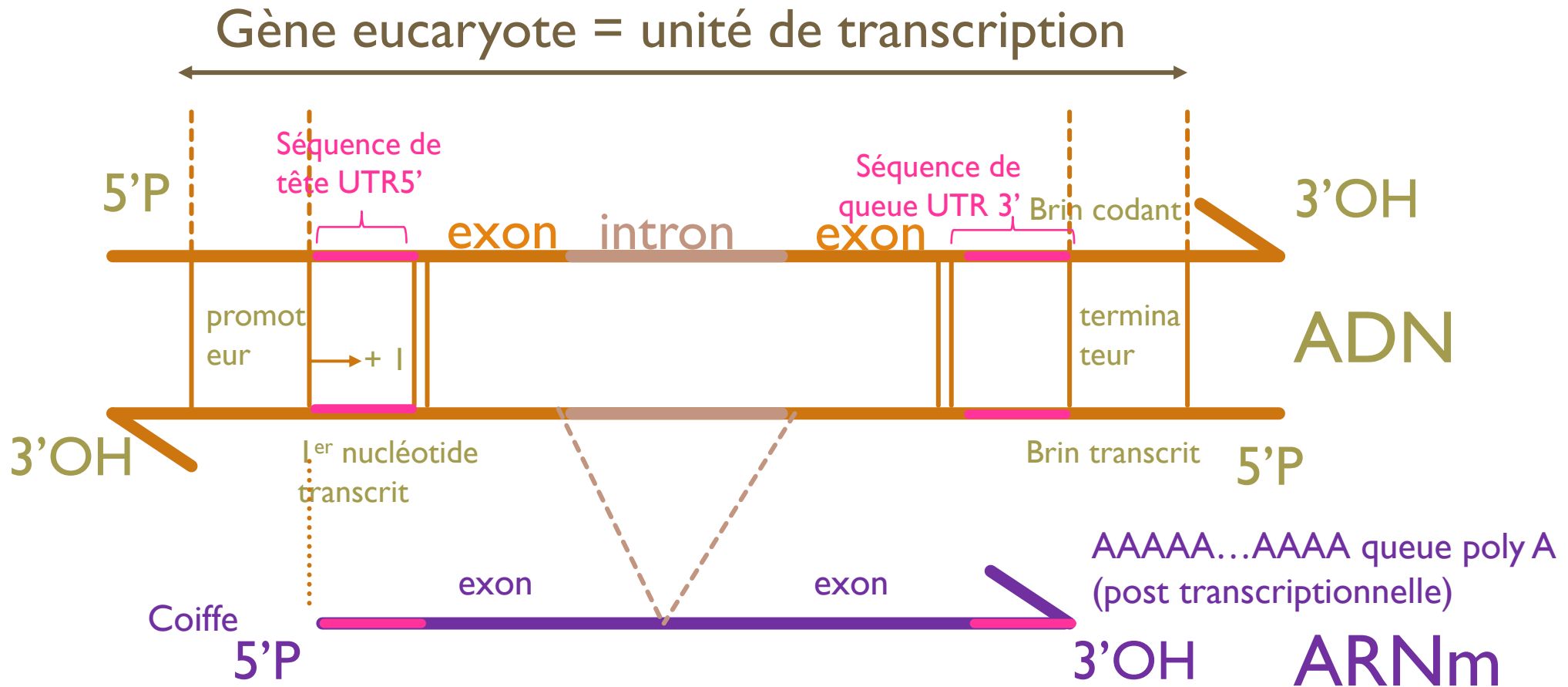
UTR : n.m. « untranslated region » région en début (5') et en fin (3') de gène, transcrite mais non traduite

Gène : n.m. ensemble des séquences nucléotidiques indispensables à la synthèse d'un polypeptide ou d'une molécule d'ARN fonctionnelle.



II. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GÉNOME EUCARYOTE

F. LA NOTION DE GENE CHEZ LES EUCARYOTES



Organisation générale d'un gène eucaryote et de son transcrit ARN

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

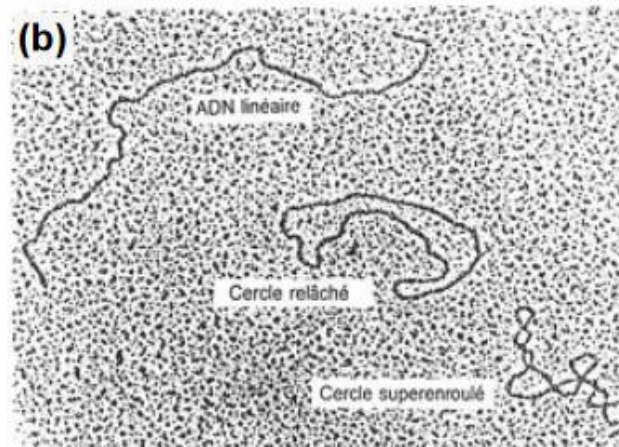
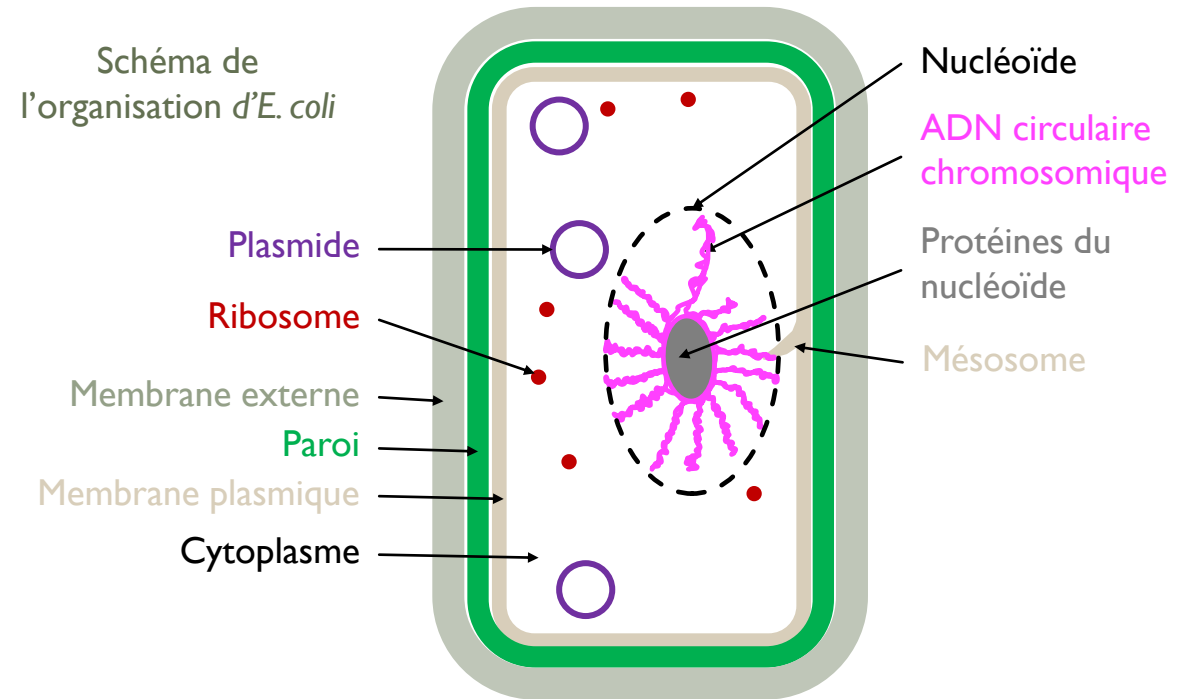
IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

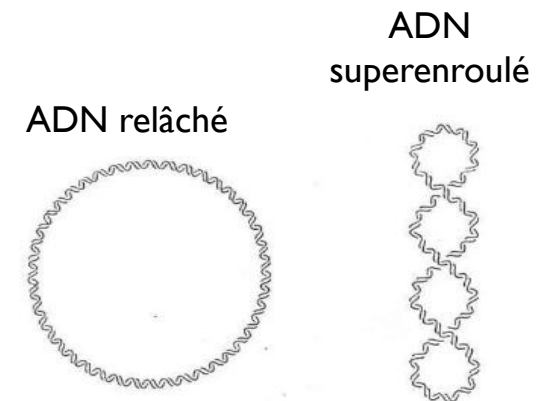
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

INTRODUCTION (RAPPELS)

- Génome bactérien constitué de :
 - Un chromosome circulaire unique
 - Des plasmides circulaires multiples
- Le chromosome bactérien associé à des protéines au sein du nucléoïde, rattaché à la membrane plasmique par le mésosome
- L'ADN circulaire peut prendre des formes superenroulées



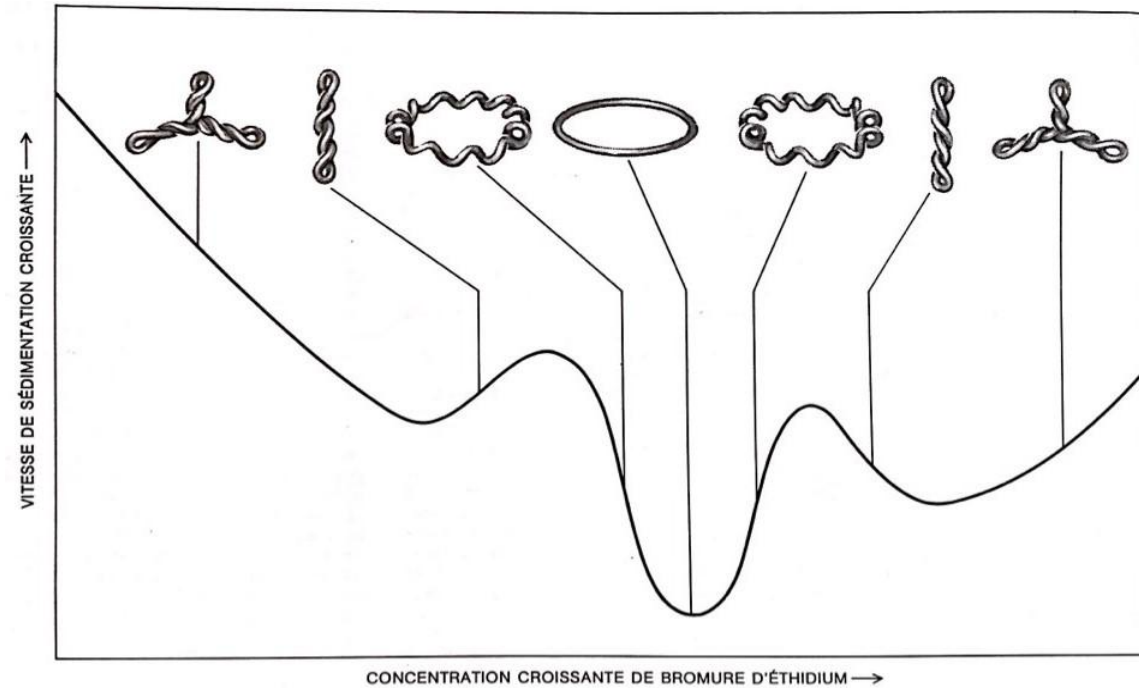
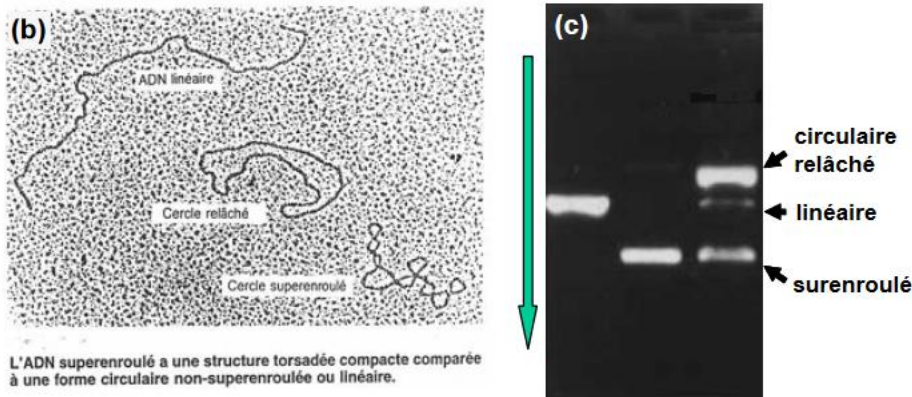
L'ADN circulaire peut prendre des formes superenroulées



III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

INTRODUCTION (RAPPELS)

INTRODUCTION



9. LES SUPERHELICES SE RELACHENT lorsque l'on ajoute du bromure d'éthidium, (un colorant qui a une structure moléculaire plane) à une solution d'ADN surenroulé. Ce phénomène est illustré par cette figure qui représente la variation de la vitesse de sédimentation de l'ADN lorsqu'on ajoute le colorant. La vitesse de sédimentation est la vitesse à laquelle les molécules d'ADN se déplacent dans le solvant lorsque la solution est soumise à un champ de gravitation intense par ultracentrifugation : plus les molécules sont surenroulées, plus elles sont compactes, et plus leur vitesse de sédimentation est élevée. En augmentant la concentration de bromure d'éthidium, on diminue

progressivement le vrillage des molécules d'ADN, non pas en augmentant la valeur du nombre d'enlacements (ce qui ne peut se faire qu'en coupant les chaînes polynucléotidiques) mais en réduisant leur tortillement. Les molécules de colorant s'intercalent entre les paires de bases de l'ADN, détordant localement la double hélice. Le graphe montre qu'une concentration suffisante de colorant provoque le relâchement total des molécules d'ADN, et que si l'on en ajoute encore plus, l'ADN commence à se surenrouler en sens inverse. Les changements de structure de l'ADN que l'on a représentés ici sont confirmés par la microscopie électronique.

Figure 1-2. (a) Schémas des topologies des molécules d'ADN circulaires. La forme montrée au centre est équivalente à celle à droite. Ainsi un surenroulement négatif, favorisant la séparation de brins peut faciliter la transcription. (b) Image de microscopie électronique. (c) Electrophorèse, de haut en bas, des différentes formes, en présence de bromure d'éthidium. La piste à gauche du gel montre un plasmide linéarisé; au centre la forme surenroulé (qui migre plus vite que la forme linéaire). A droite le plasmide surenroulé a été traité afin d'introduire des brèches simple-brins aléatoires. Une seule brèche suffit pour relâcher le plasmide, qui passe de la forme surenroulée à la forme circulaire relâchée ou entaillée; cette forme migre moins vite que la forme linéaire. Si deux brèches se trouvent sur des brins opposées à une distance de quelques bases l'une de l'autre, les liaisons hydrogènes ne suffiront plus à maintenir la molécule en cercle, et le plasmide sera linéarisé (bande de faible intensité au milieu). Les positions relatives des bandes dépendent de la concentration d'agarose dans le gel et de la concentration de bromure d'éthidium.

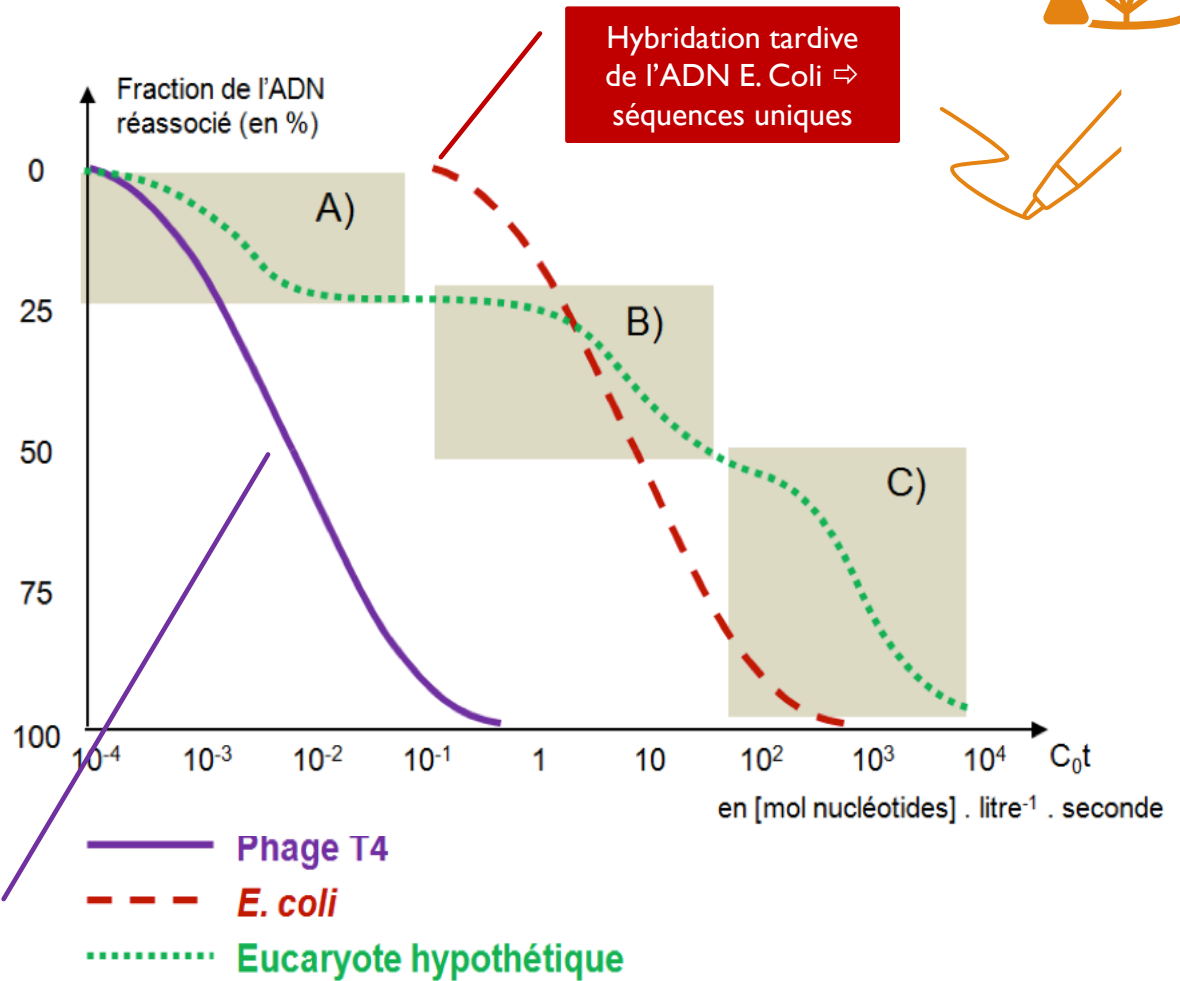
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES



A. APPROCHE EXPERIMENTALE

- Etude de la cinétique de réassociation de l'ADN après dénaturation
- Résultat** : courbe en une seule phase (≠ courbe des eucaryotes)
- Interprétation** : Chez les eubactéries, pas de séquences répétées

Hybridation précoce
⇒ fragments de petite taille



Cinétique de réassociation de l'ADN dénaturé chez E. Coli, le phage T4 et un eucaryote hypothétique

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

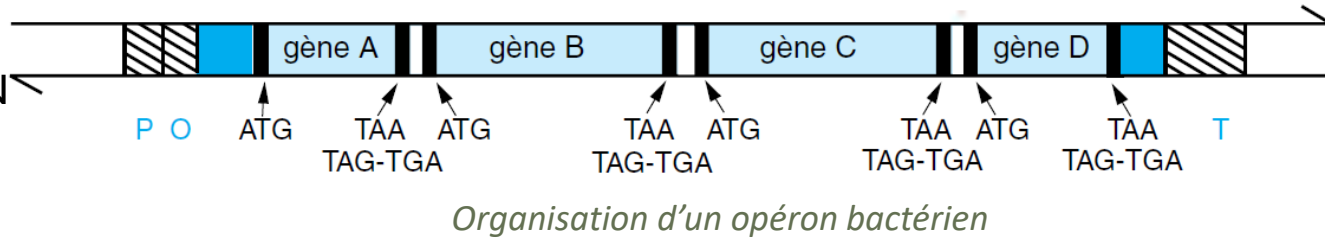
B. ORGANISATION DES GÈNES

I. Un ADN presque entièrement codant



■ Génome des Eubactéries :

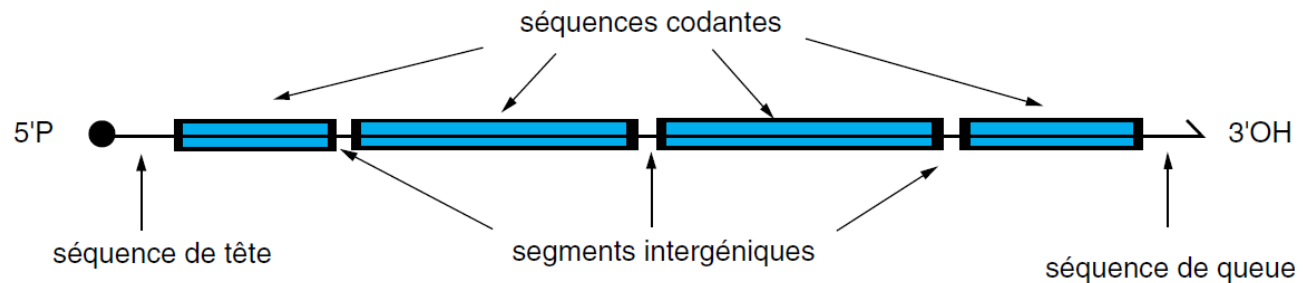
- peu répété
- très **compact**, presque tout l'ADN codant
- 4 200 gènes chez *E. Coli*



■ Gènes presque **entièrement codants** ; très peu d'introns

■ Gènes souvent regroupés en un **opéron** (ou séquence polycistronique = polygénique)

- Ex : Opéron lactose - protéines impliquées dans le prélèvement et l'utilisation du lactose du milieu



Organisation générale d'un ARNm bactérien polycistronique (ou polygénique)

■ Transcription d'un opéron → **ARN polycistronique** qui contient l'information codant **plusieurs polypeptides**

Opéron : n.m. unité de transcription regroupant plusieurs gènes sous le contrôle d'une séquence de régulation commune.

Cistron : n.m. séquence d'ADN codant un polypeptide.

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

B. ORGANISATION DES GÈNES

2. Une transcription et une traduction synchrones, permettant une amplification et une rapidité de synthèse

- **l'ARN polymérase** procaryote → un **ARNm polycistronique** directement fonctionnel, directement utilisé et traduit en **chaîne polypeptidique** alors même que sa synthèse est en cours

⇒ **transcription et traduction synchrones**

- Contrôle de l'expression génétique:

➤ **séquences régulatrices** situées à proximité du promoteur = **opérateurs**

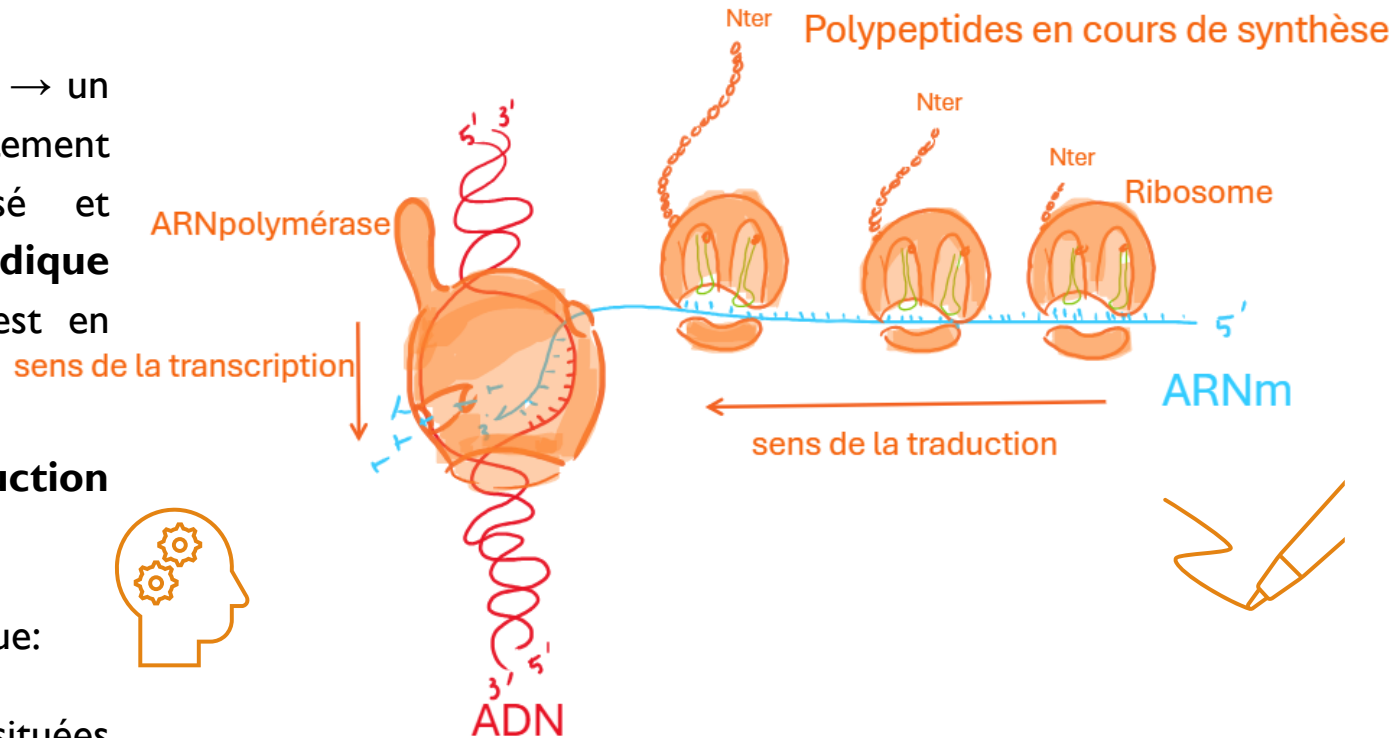


Schéma mettant en évidence la simultanéité de la transcription et de la traduction chez les bactéries (d'après A. Denis)

N.B. La synthèse des protéines est l'un des phénomènes les plus coûteux énergétiquement pour la cellule: pour chaque acide aminé, 4 liaisons phosphoanhydride sont hydrolysées.

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

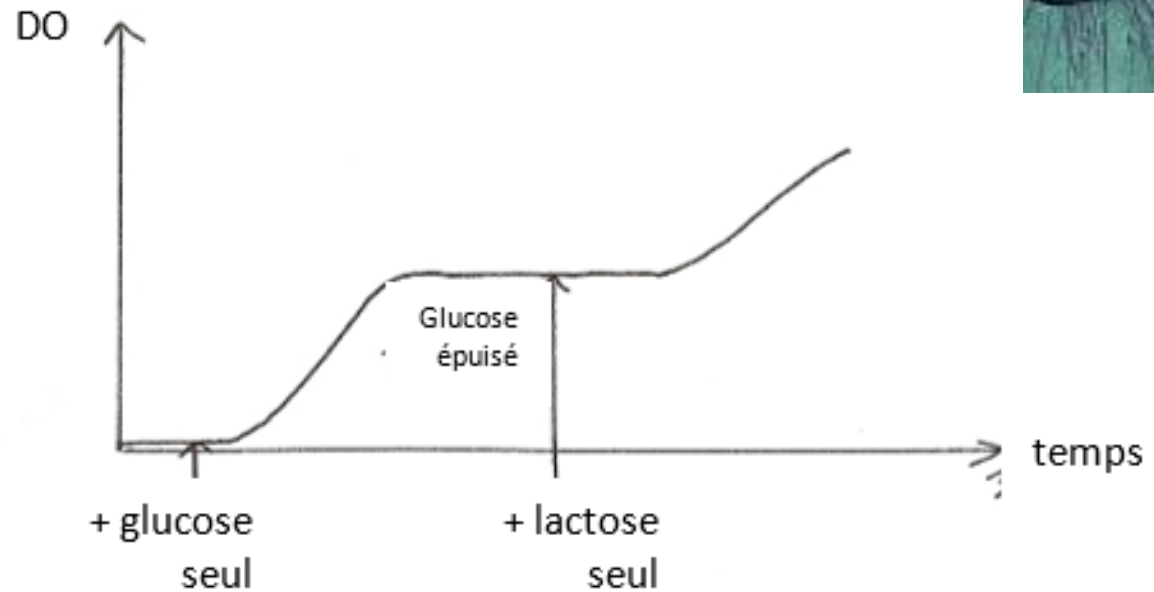


C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION



I. Mise en évidence du rôle inducteur du lactose

E. coli utilise le **glucose** comme source de carbone et d'énergie, elle le transforme en G6P pour le **démarrage de la glycolyse**.



Evolution d'une densité de population bactérienne (mesurée en densité optique) en fonction du temps selon l'ajout de substrats énergétiques différents

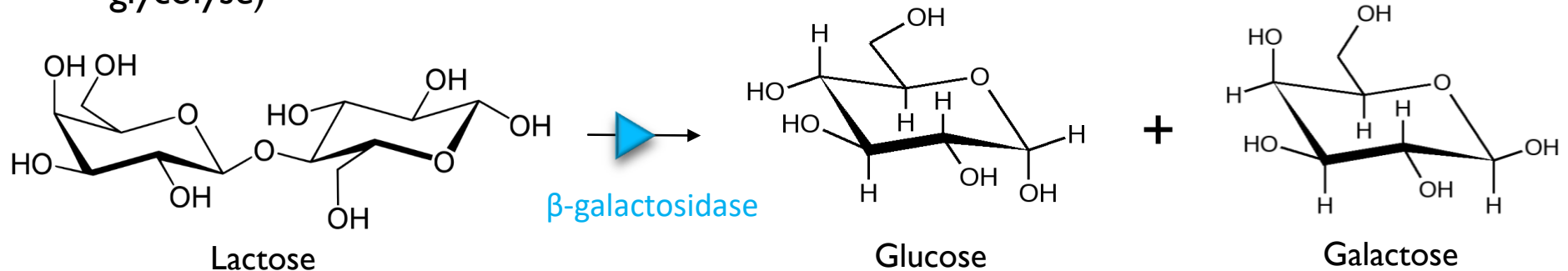
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION



I. Mise en évidence du rôle inducteur du lactose

- Chez les bactéries, le **lactose** est utilisé comme substrat du métabolisme
- Le lactose est clivé en glucose et galactose par une enzyme bactérienne : la **β -galactosidase**
- Le galactose et le glucose sont ensuite utilisés dans les voies métaboliques de la bactérie (G6P - > glycolyse)



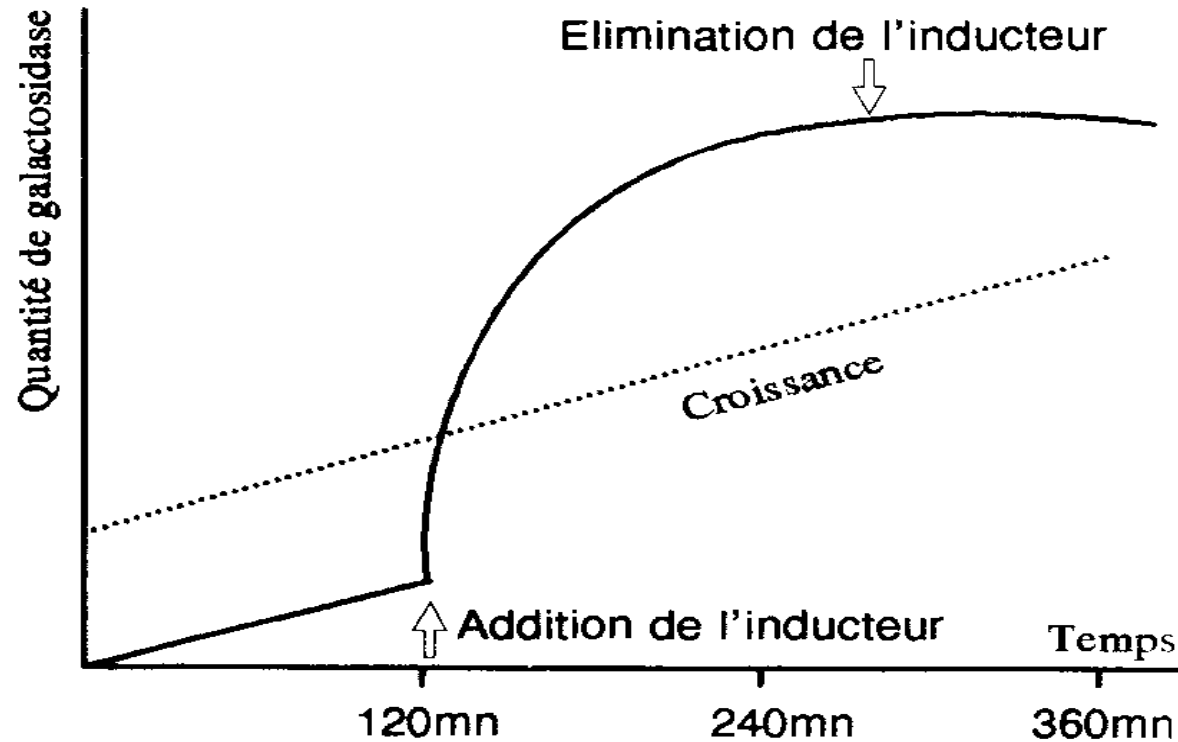
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

I. Mise en évidence du rôle inducteur du lactose



On parle d'enzymes inducibles. Le lactose est un inducteur.



Cinétique de l'induction de la β -galactosidase chez la bactérie Escherichia coli.

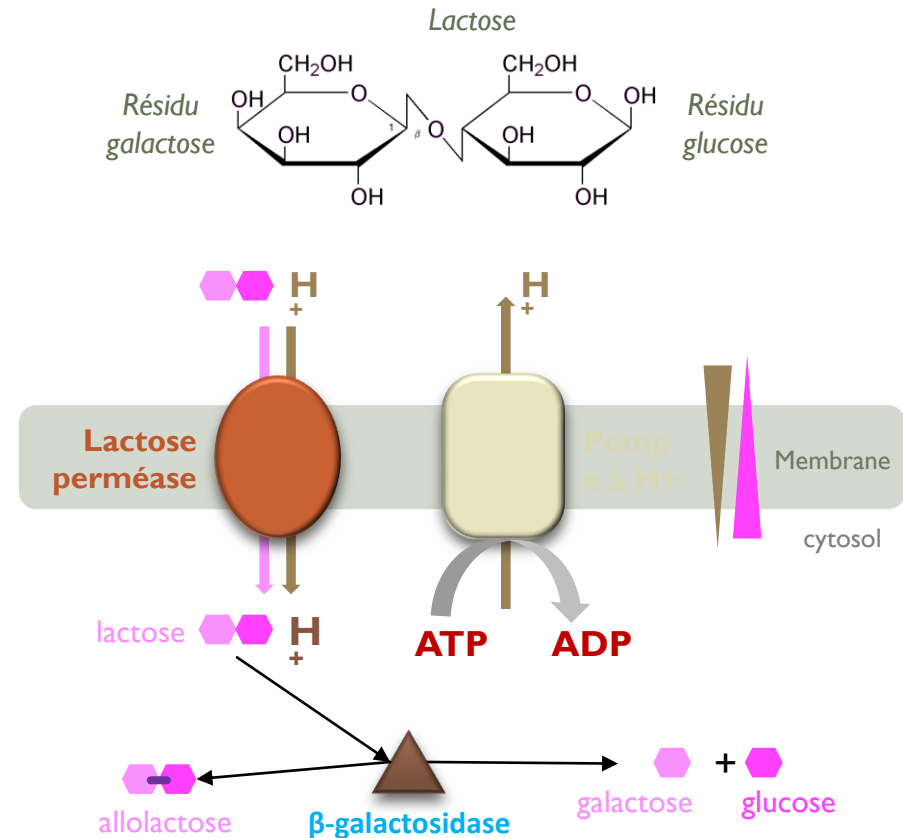
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION



2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.

- Utilisation du **lactose** par la bactérie plusieurs étapes.
- Le lactose pénètre d'abord dans la bactérie grâce à une **perméase**.
 - symport H^+ /lactose = transport actif secondaire
 - Entretenu par une pompe à H^+ = transport actif primaire
- Une fois dans la cellule, le **lactose** peut subir deux transformations catalysées par la β -galactosidase :
 - hydrolyse en **galactose + glucose**, directement utilisables par la cellule
 - **isomérisation partielle** (de liaison β -1,4 en β -1,6) en **allolactose**



III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

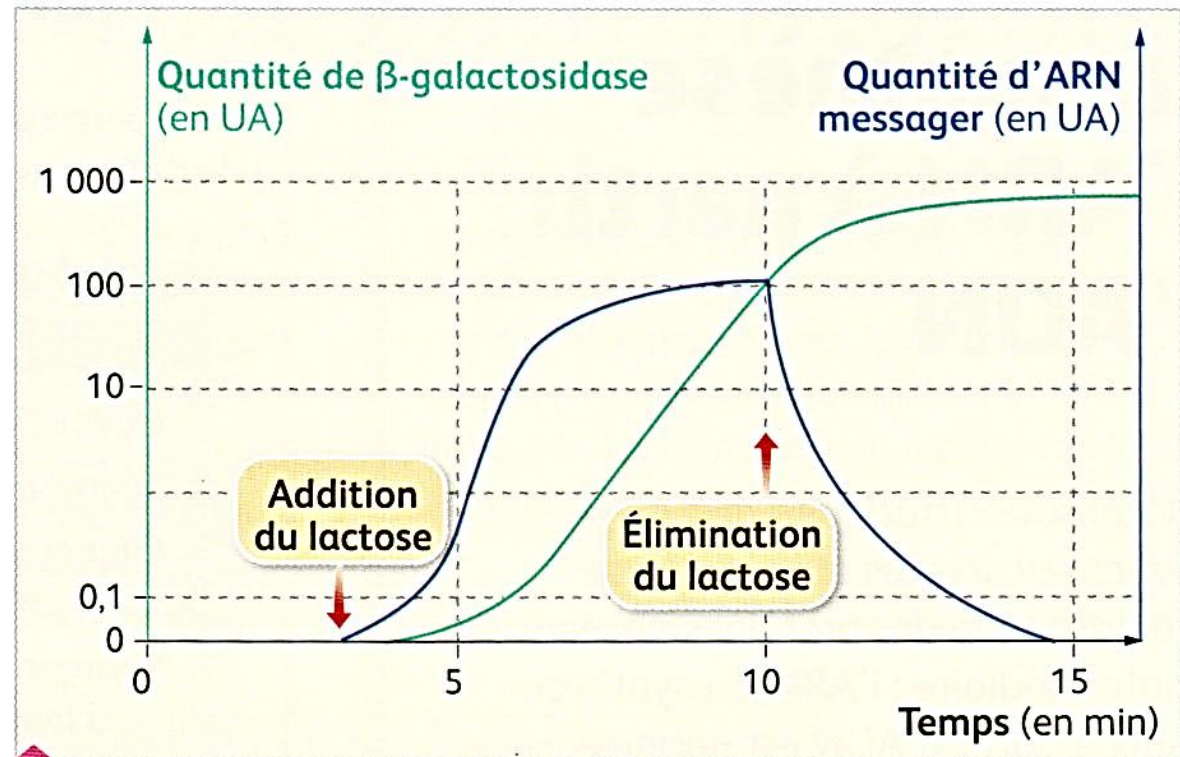
2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



- Des bactéries sont placées dans un milieu contenant du lactose.
- On dose alors, au cours du temps, la quantité de protéines β -galactosidase présentes dans le cytosol ainsi la quantité d'ARNm correspondant.

Résultats ?

Interprétation ?



Évolution de la quantité d'ARN messenger et de l'activité de la β -galactosidase dans une cellule bactérienne.

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

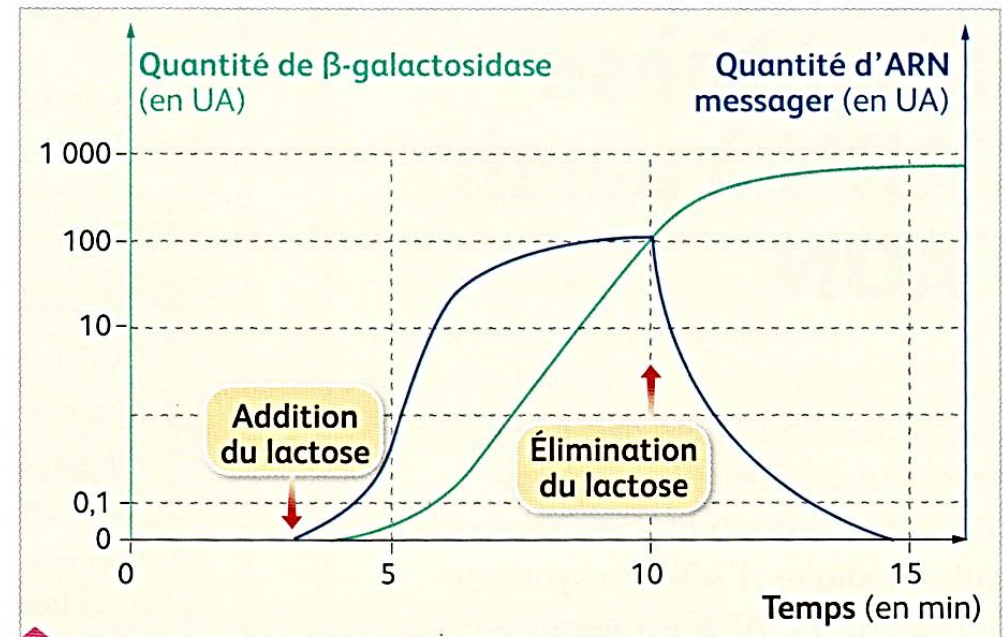
2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.

Résultats :

- Ajout de lactose → synthèse d'ARNm, suivie d'une synthèse de β -galactosidase.
- Elimination du lactose → disparition rapide de l'ARNm, mais maintien de la quantité de β -galactosidase.

Interprétation :

- La transcription de l'enzyme est régulée en fonction de la présence ou non de lactose (= modification des conditions du milieu).



Évolution de la quantité d'ARN messager et de l'activité de la β -galactosidase dans une cellule bactérienne.

→ Le lactose est un inducteur de la transcription de la β -galactosidase.

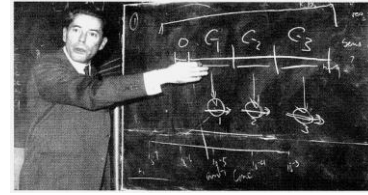
→ Régulation de la transcription de l'ARNm rapide et efficace.

Rem : Le temps de latence observé en DO correspond au temps nécessaire à la transcription + traduction

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



Jacques Monod, 1965

Jacques Monod, André Lwoff et François Jacob.
Prix Nobel 1965 pour la découverte du fonctionnement de l'opéron lactose



- Mise en culture de bactéries sur des milieux contenant diverses sources de C
- Mesure de la quantité de β -galactosidase produite

Résultats

Traitement

Production de β -galactosidase

En nombre de molécules/cellule
En relatif



Glucose



0-3

-

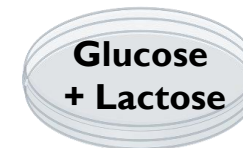


Lactose



3 000

+++



Glucose
+ Lactose



50

+

Interprétation

- La quantité de β -galactosidase produite traduit le taux de transcription.

Inhibition de la transcription de l'opéron ?

Activation de la transcription de l'opéron ?

???

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



Milieu de culture	Production de β -galactosidase
Glucose seul	0 à 3 molécules par cellule
Glucose + Lactose	+ (50 molécules par cellule)
Lactose seul	+++ (3000 molécules par cellule)

Tableau du niveau d'expression du gène de la **β -Galactosidase** dans une cellule d'*E.coli*.

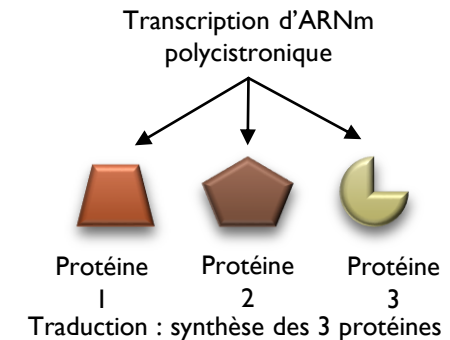
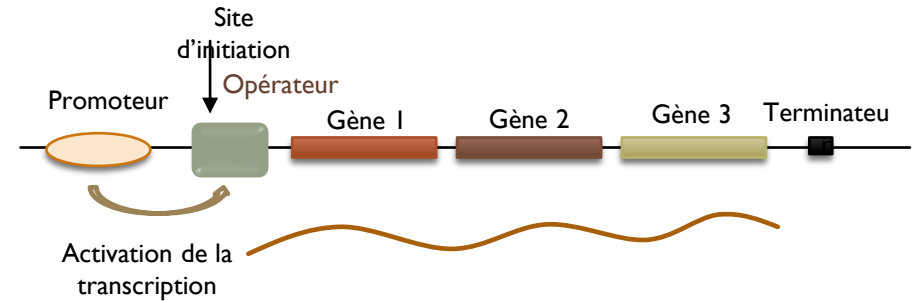
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION



2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.

- **Opéron** = ensemble de gènes dont l'expression est régulée par un seul site promoteur.
- Un seul ARNm est transcrit/opéron → **ARN polycistronique**.
- Configuration est fréquente chez les Procaryotes.
- Initiation de la transcription modulée sous l'effet de signaux chimiques intra ou extracellulaires
- Intermédiaire : protéines régulatrices ayant des propriétés allostériques et se liant à l'ADN dans la région initiatrice.



Structure générale d'un opéron

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION



2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.

- Découverte du fonctionnement de l'opéron lactose par Jacob, Monod et Lwoff (prix Nobel 1965).
- Ensemble de trois gènes, codant des **protéines** ≠ :
 - **β-galactosidase** (gène **lac Z**) catalyse hydrolyse de la liaison β 1-4 osidique des β-galactosides
 - **lactose perméase** (gène **lac Y**), protéine membranaire → entrée du lactose dans la cellule
 - **thiogalactoside transacétylase** (gène **lac A**), (rôle moins bien connu)
- **Régions régulatrices précèdent les gènes** : promoteur **P** et opérateur **O**
- Gène régulateur en amont : **Lac I**, ayant son propre promoteur (non inductible) → expression constitutive d'un **répresseur** bloquant l'expression de l'opéron lactose

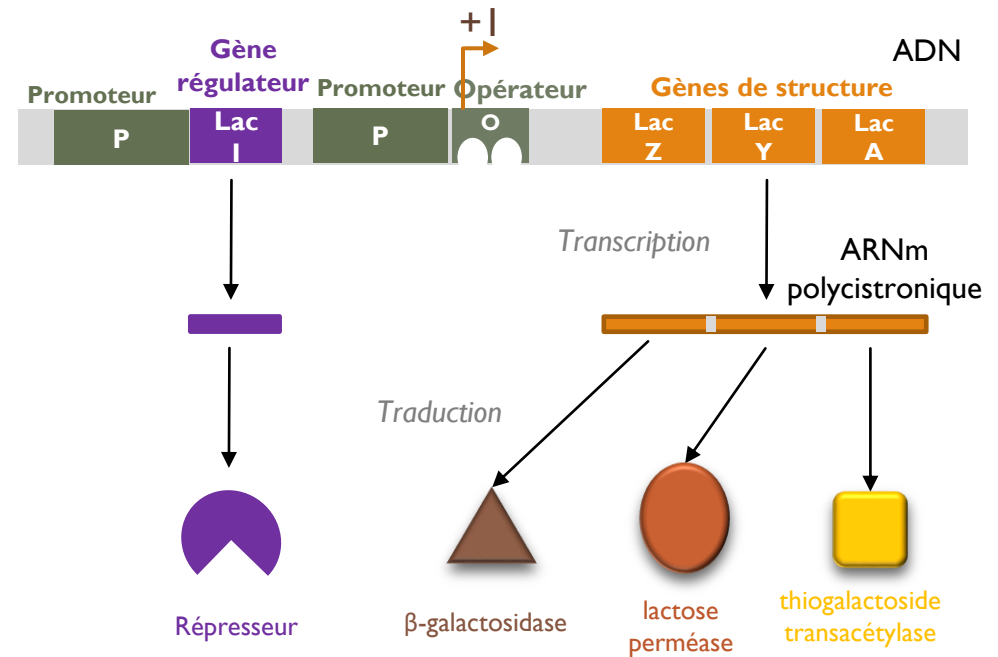


Figure 5: Structure de l'opéron lactose

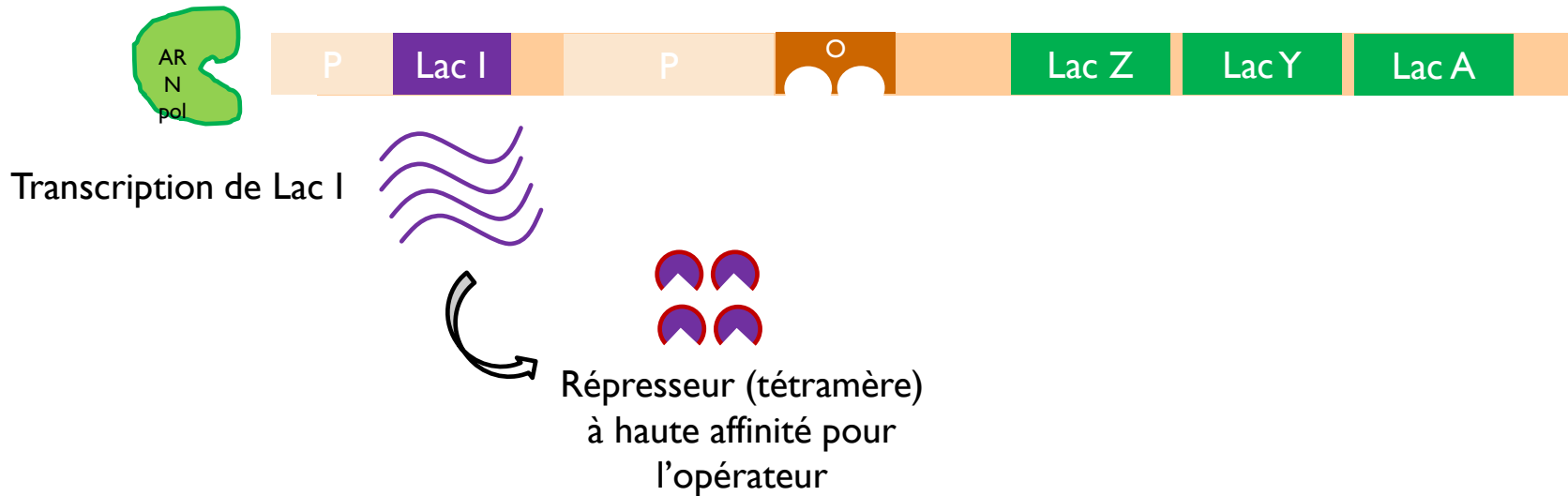
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



- En présence de glucose et absence de lactose :



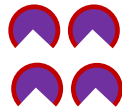
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



- En présence de glucose et absence de lactose :



Répresseur (tétramère)
à haute affinité pour
l'opérateur

→ Sans lactose, une répression

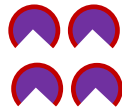
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

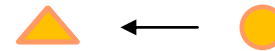
2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



- **En présence de lactose et absence de glucose :**



Répresseur (tétramère)
à haute affinité pour
l'opérateur



Allolactose Lactose

Métabolisation du
lactose en allolactose

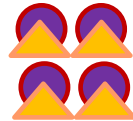
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.



- **En présence de lactose et absence de glucose :**



Formation d'un complexe répresseur-allolactose inactif, perdant son activité pour l'opérateur



Libération du site opérateur

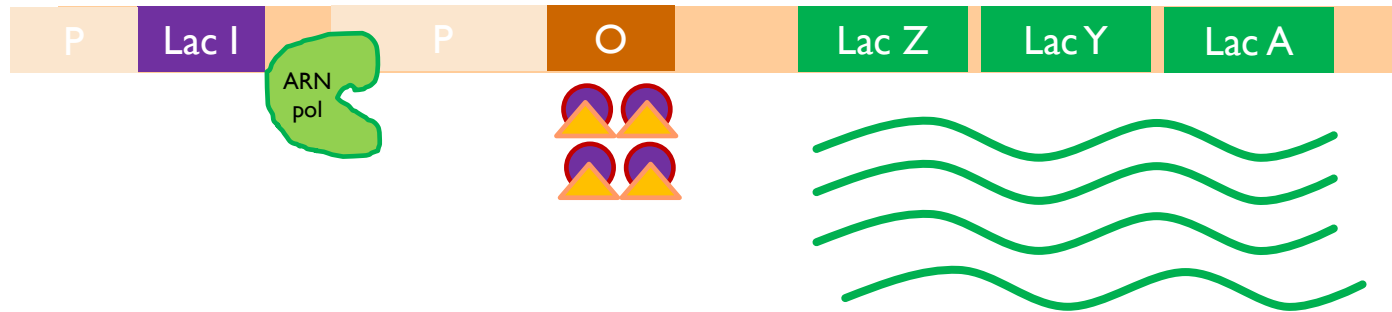
III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

C. L'OPÉRON LACTOSE RÔLE ET ORGANISATION

2. Structure et produits de l'expression de l'opéron lactose.

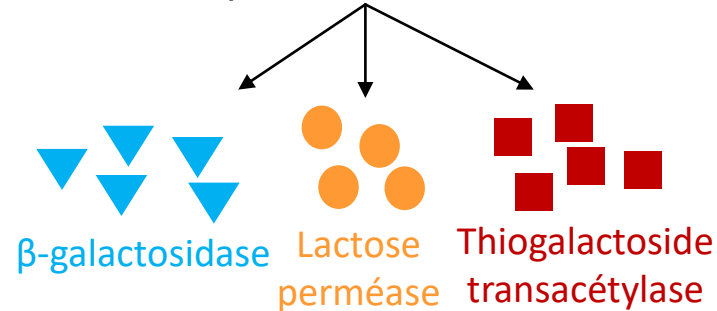


- En présence de lactose et absence de glucose :



Fixation de l'ARN polymérase sur le promoteur de l'opéron

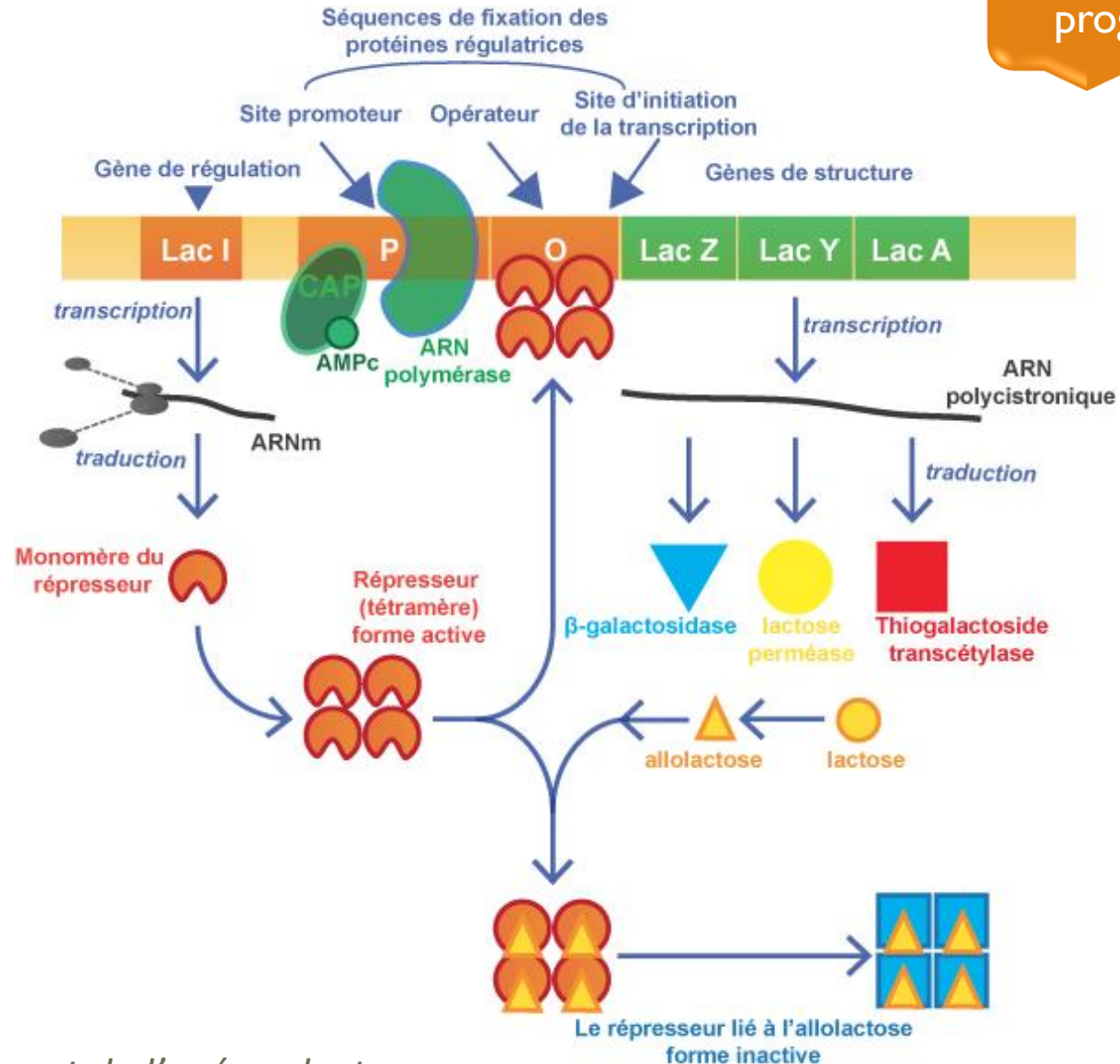
Transcription de nombreux ARNm



Forte concentration de β -galactosidase

→ Le lactose induit une régulation positive de l'opéron lactose

BILAN SUR L'OPÉRON LACTOSE



*schéma-bilan du fonctionnement de l'opéron lactose
(site de l'UMPC)*

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

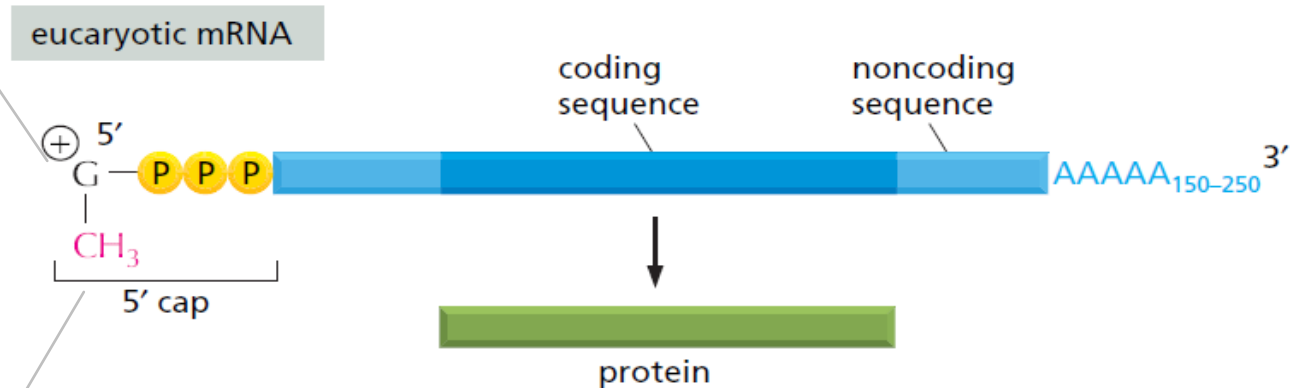
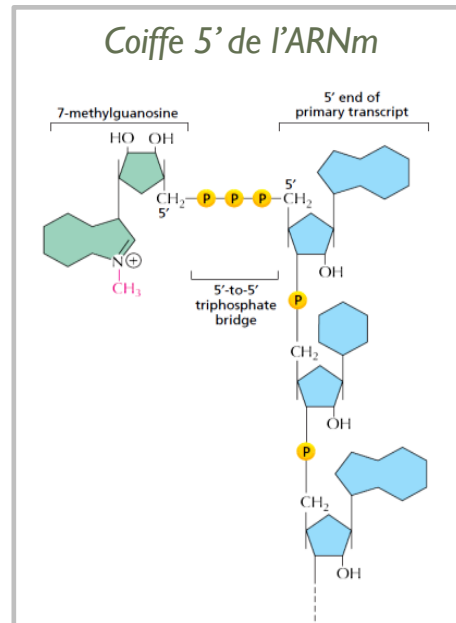
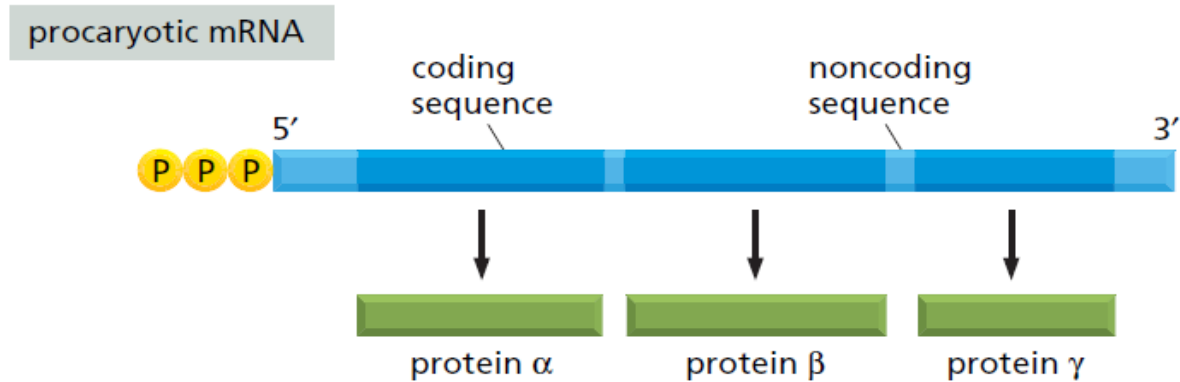
- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

III. ORGANISATION FONCTIONNELLE DU GENOME CHEZ LES EUBACTERIES

D. BILAN : COMPARAISON DE L'ORGANISATION D'UN GENE CHEZ UN EUCARYOTE VS EUBACTERIE



PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

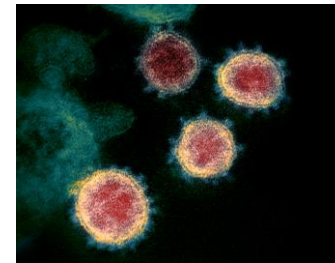
- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GENOMES VIRAUX

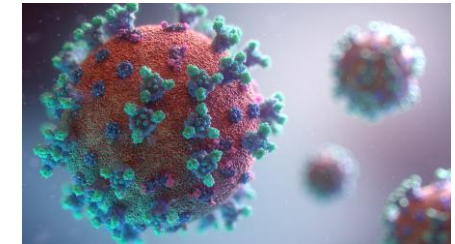


A. LES VIRUS, DES STRUCTURES ACELLULAIRES

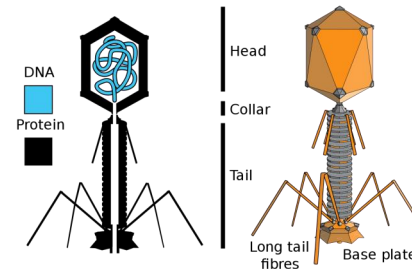
- 3 virus au programme :
 - **Bactériophage lambda** : un virus qui infecte des bactéries (cf travaux de Hershey et Chase)
 - **Coronavirus** : exemple dans ce cours du **SARS-CoV-2** qui infecte les métazoaires (virus zoonitique)
 - ✓ SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus-2) → maladie infectieuse respiratoire Covid-19
 - **Virus de la mosaïque du tabac VMT** → tâches jaunes sur les feuilles (cf Chapitre Fabacées SV-A-2)



SARS-CoV-2 au MET recolorisé



SARSCoV-2 modélisation moléculaire

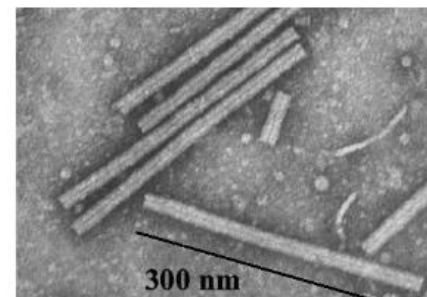


Structure du bactériophage T2



Martha Chase (1927-2003)

Alfred Hershey (1908-1997)



Virus de la mosaïque du tabac au MET



Virus de la mosaïque du pois (source inra)

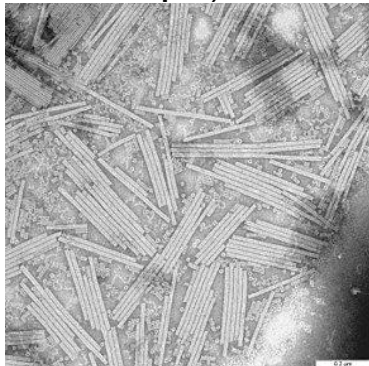
IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

A. LES VIRUS, DES STRUCTURES ACELLULAIRES



- Virus = **parasites intracellulaires obligatoires**

- pas de multiplication de façon autonome
- génome = information **permettant de réorienter la machinerie cellulaire**
- Tous les autres gènes nécessaires au virus (machinerie d'expression génétique, fourniture d'énergie, synthèse de précurseurs etc) = ceux de la cellule hôte.
- A l'extérieur de la cellule, sous forme de **particules virales libres**, ou **virions**, biologiquement inertes (aucune activité métabolique).



Electronographie de virions de VMT

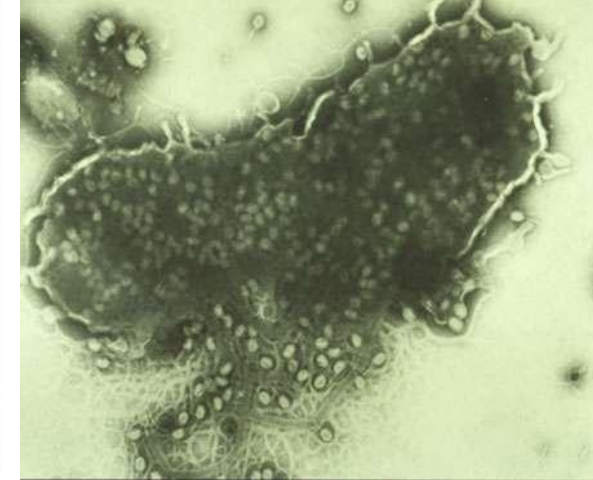
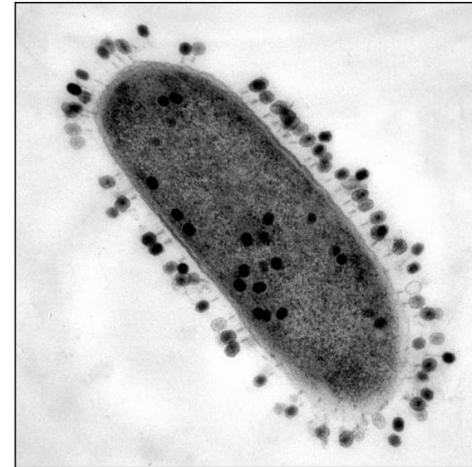


Figure 72: électronographie d'E. Coli infectée par des bactériophages (droite) et lyse de la bactérie après multiplication du phage (cycle lytique) (gauche)

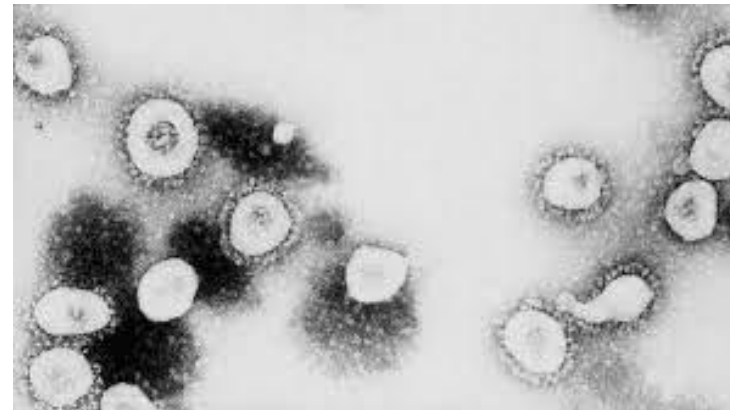
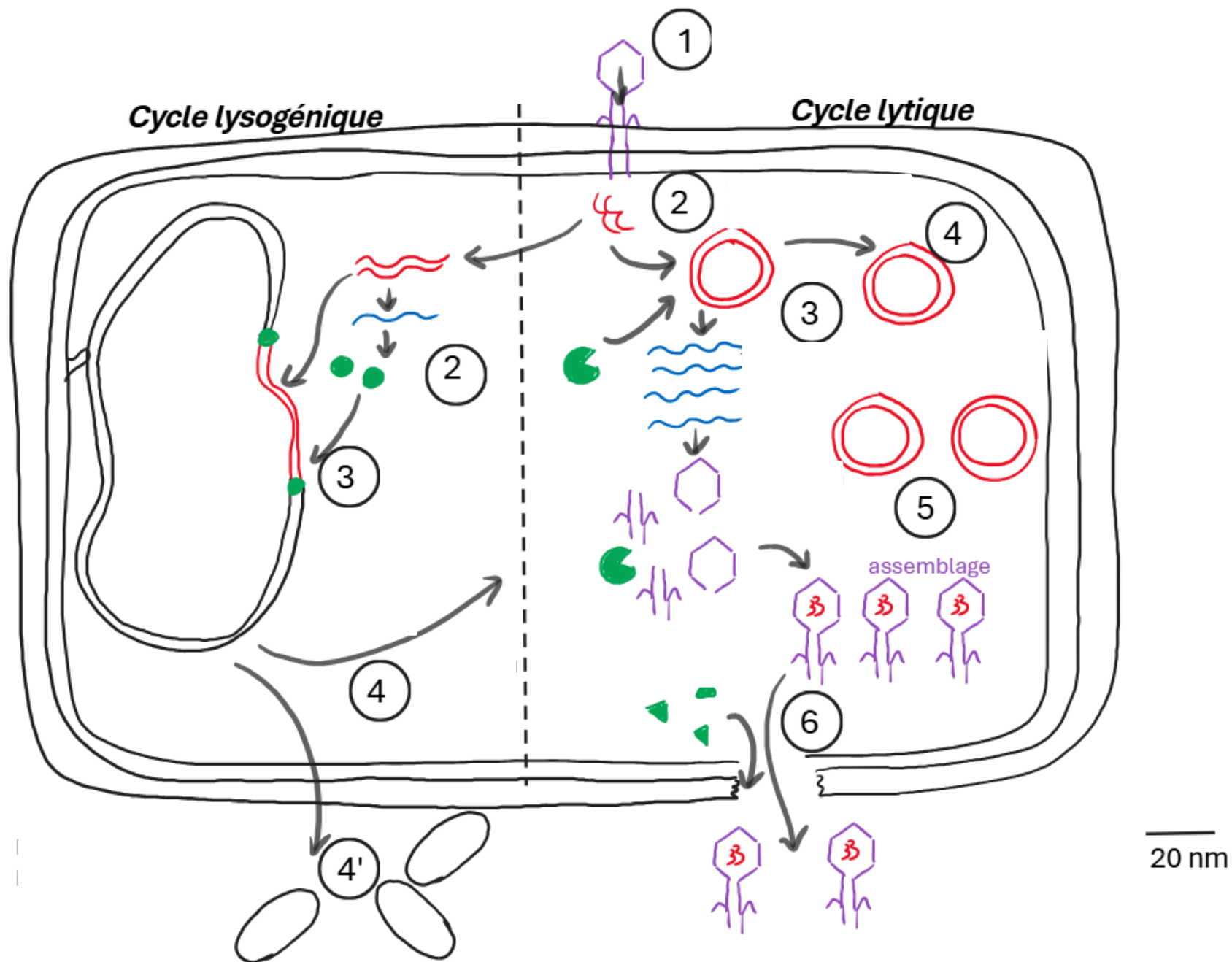
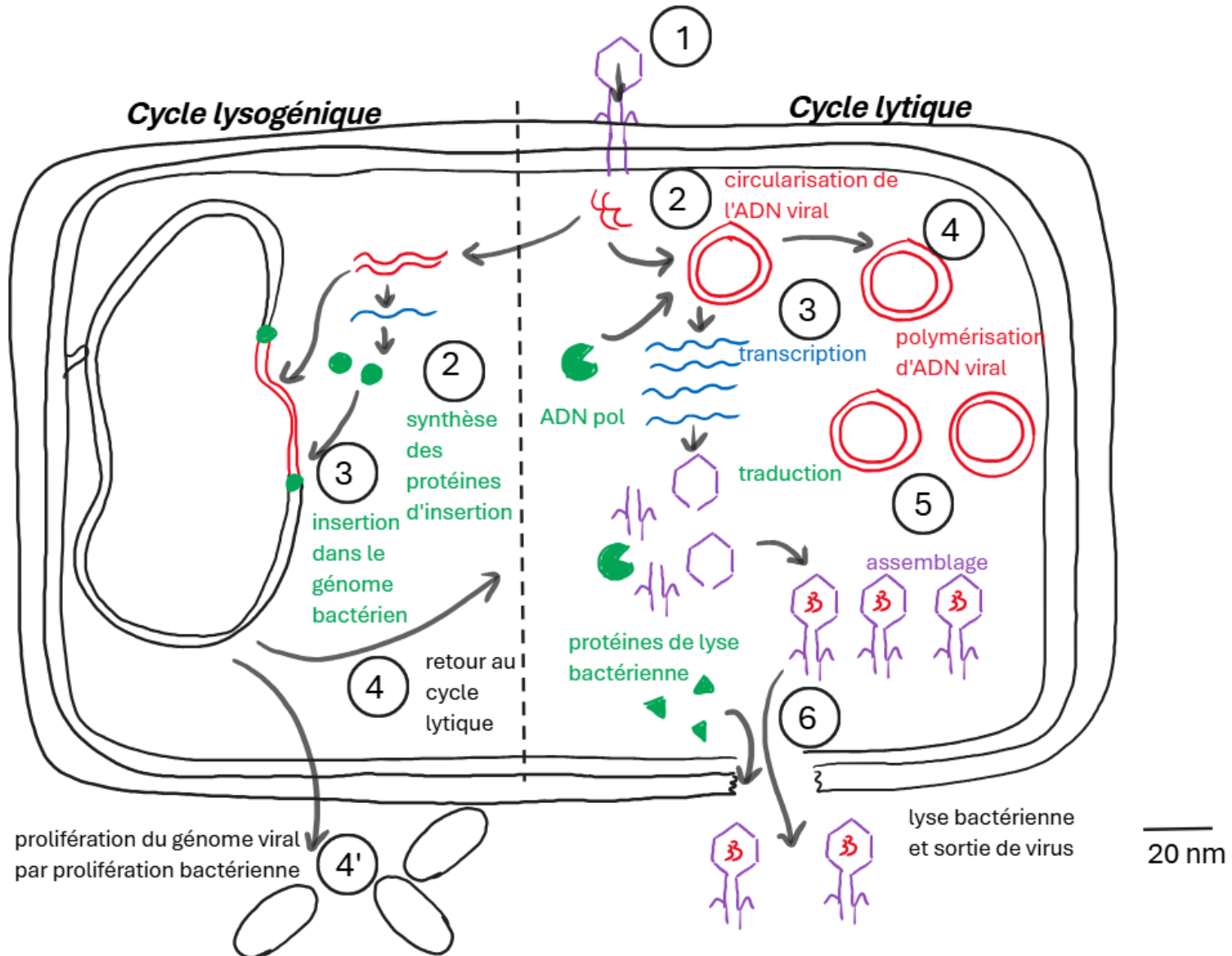


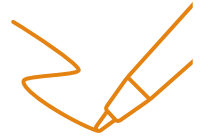
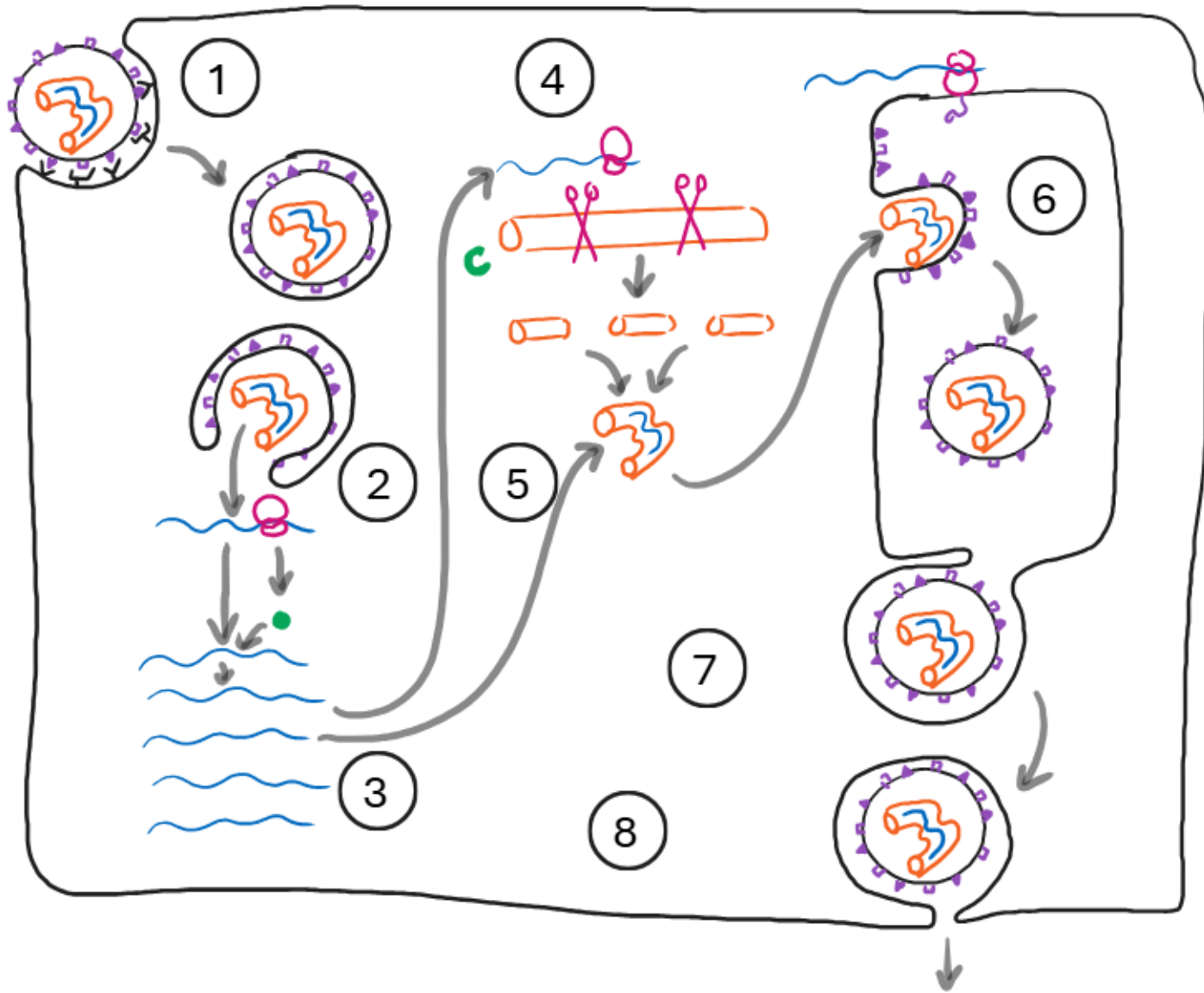
Figure 74 : électronographie de virions de coronavirus



Les cycles viraux du bactériophage lambda, parasite intracellulaire obligatoire d'*E. Coli*

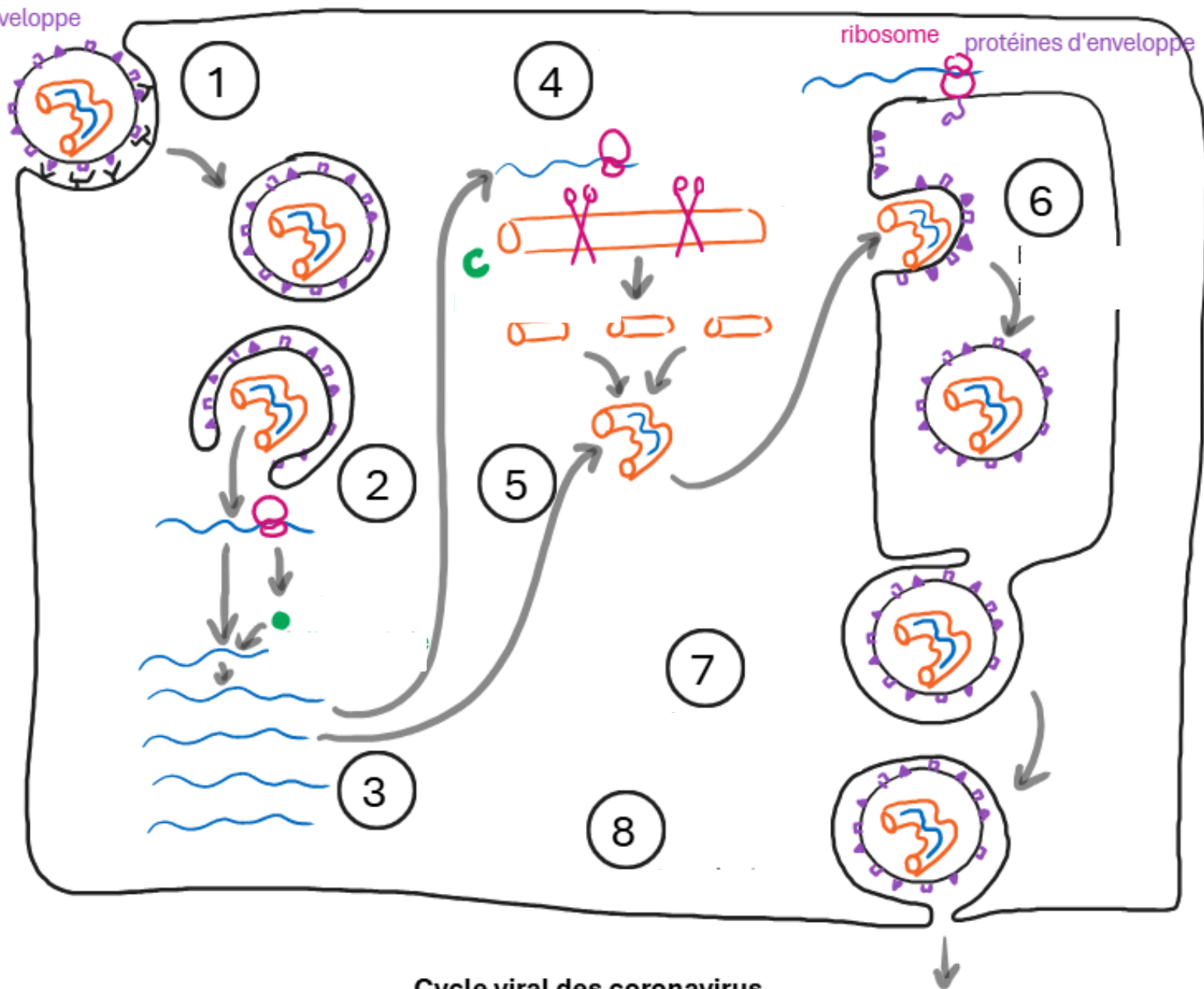


Les cycles viraux du bactériophage lambda, parasite intracellulaire obligatoire d'E. Coli

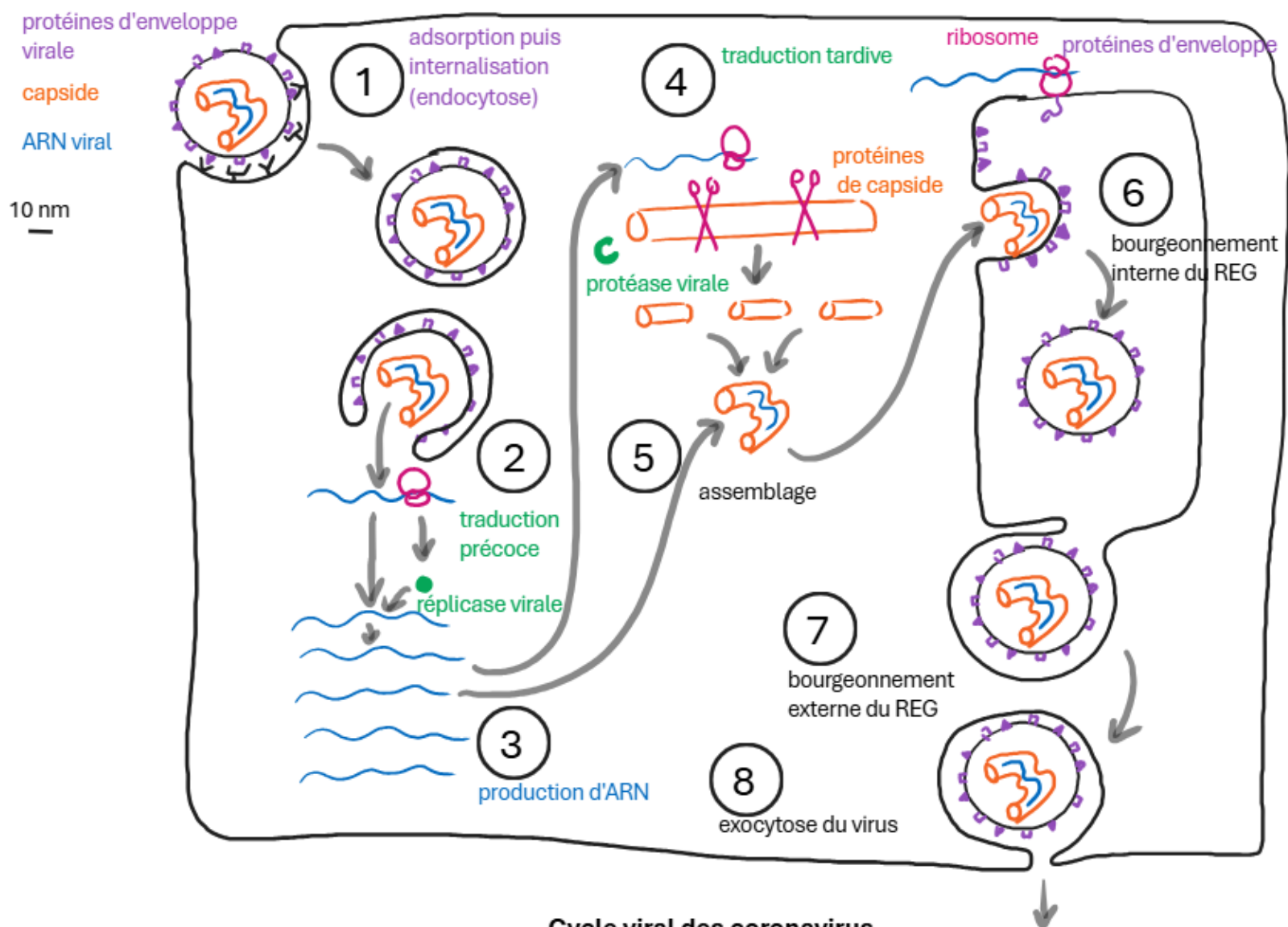


protéines d'enveloppe virale
capside
ARN viral

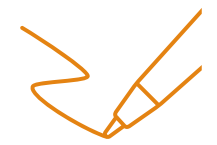
10 nm

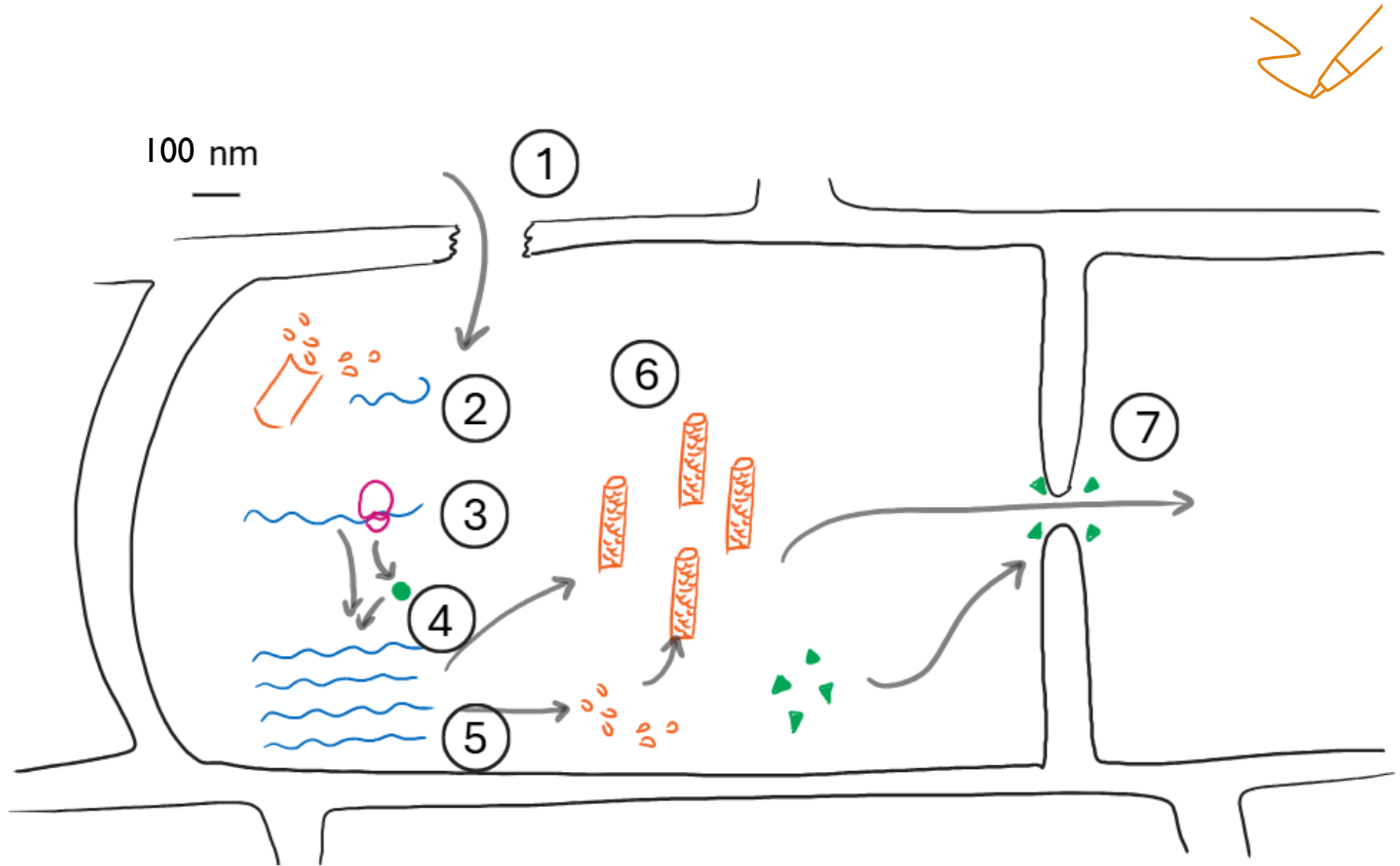


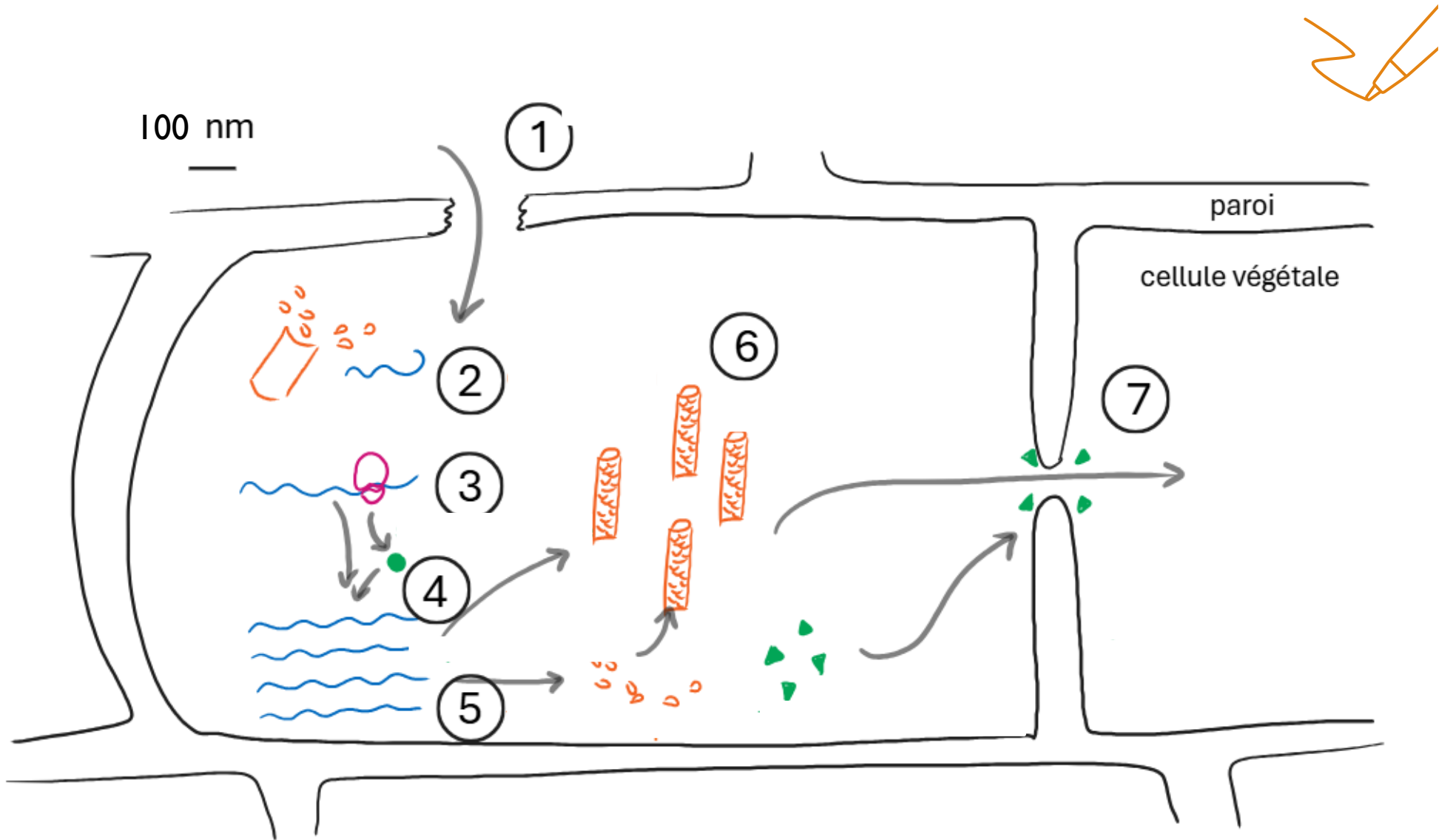
Cycle viral des coronavirus



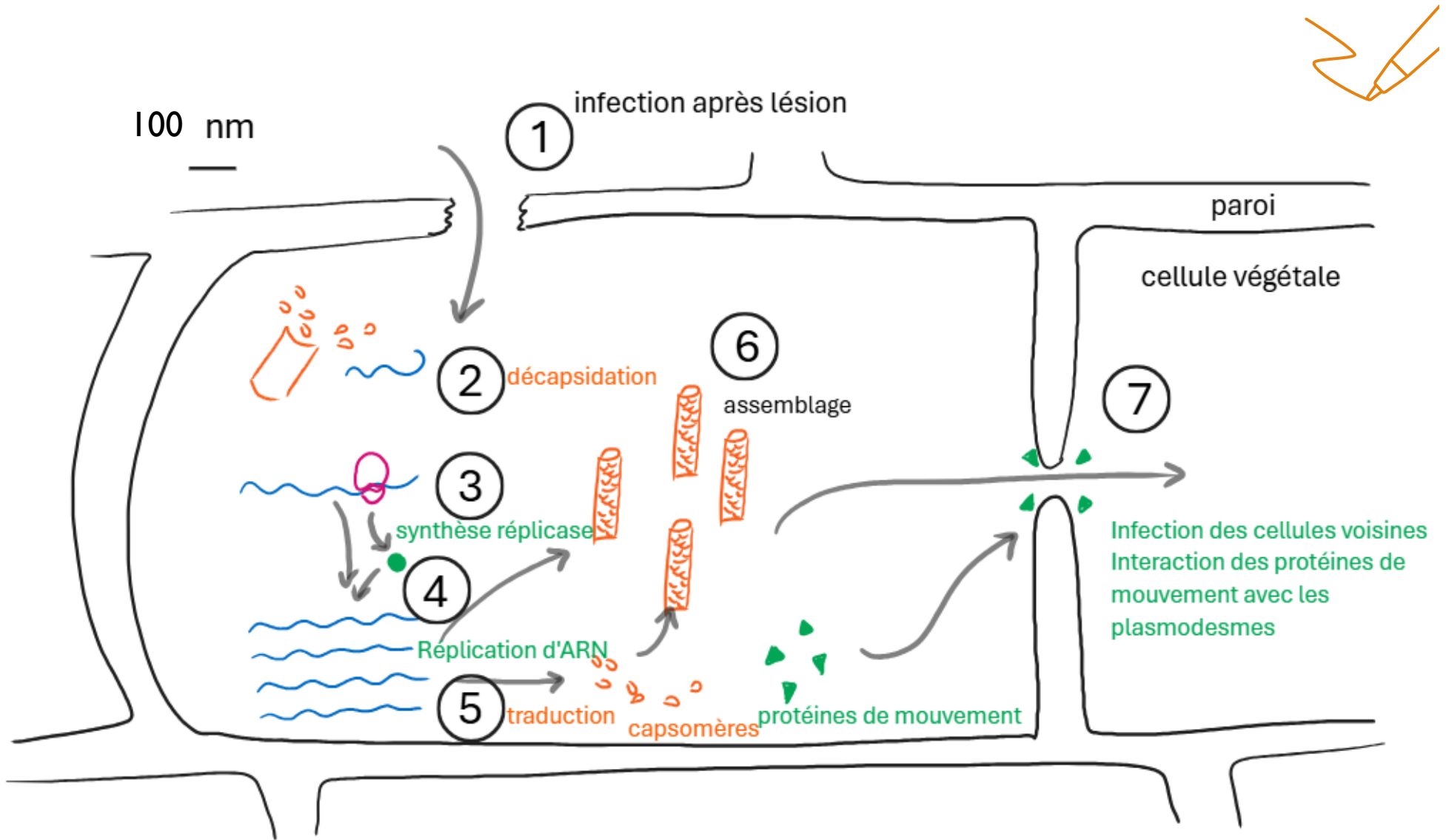
Cycle viral des coronavirus







Cycle du virus de la mosaïque du Tabac (VMT).

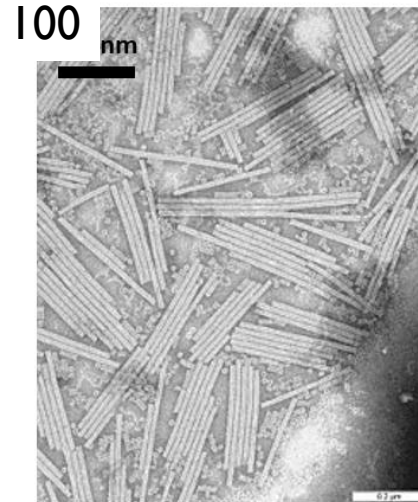


Cycle du virus de la mosaïque du Tabac (VMT).

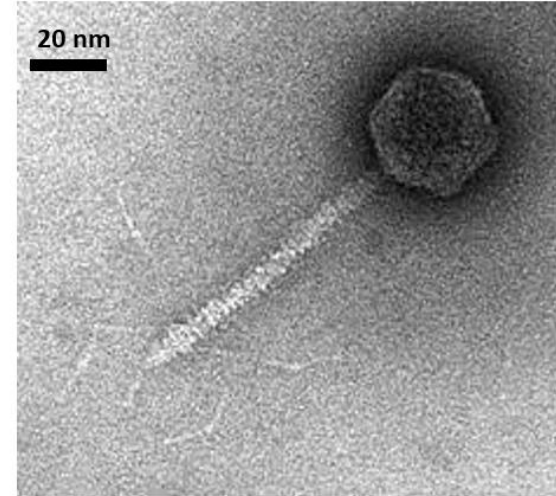
IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

A. LES VIRUS, DES STRUCTURES ACELLULAIRES

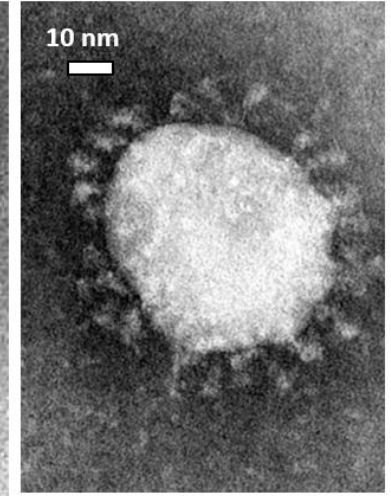
- Virus = **plus petits** que les cellules
 - taille < 100nm
 - plus gros virus, le *Megavirus chilensis* (famille des Mimiviridae) Ø 400nm (moitié d'une bactérie)



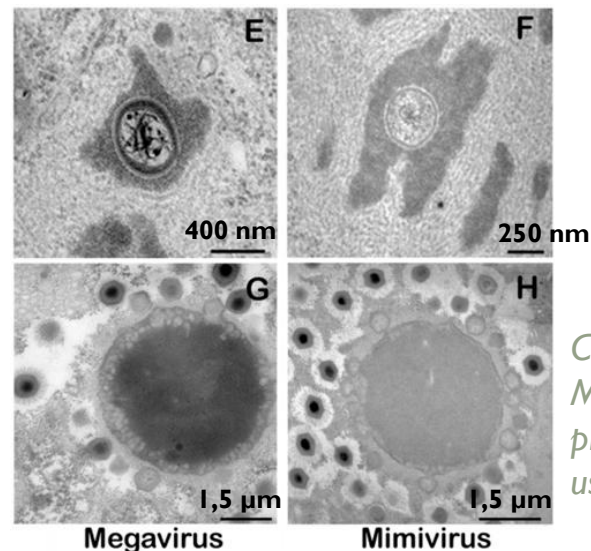
VMT



bactériophage



coronavirus



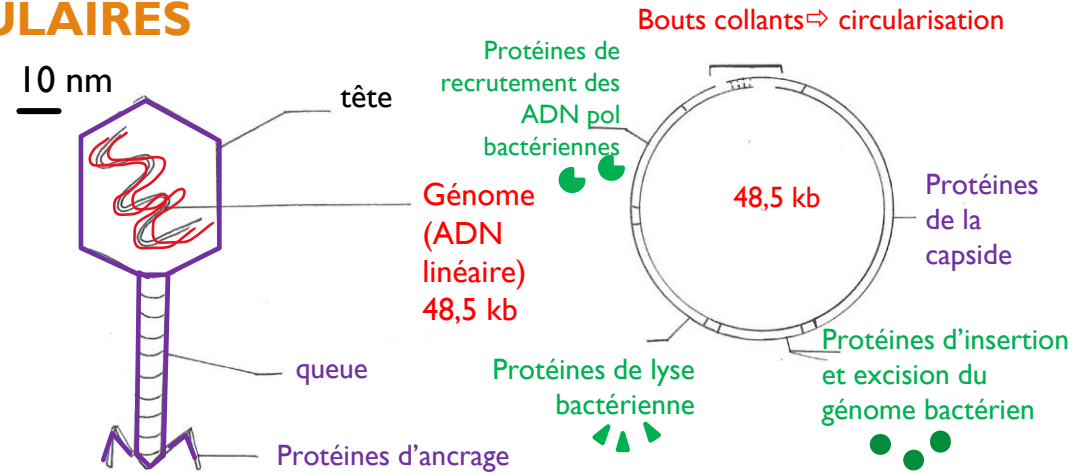
Comparaison Megavirus contre Mimivirus. Rangée du haut: Megavirus (E) et Mimivirus (F) des usines virion à un stade précoce. Rangée du bas: Megavirus (G) et Mimivirus (H) usines virion mature vues en pleine production.



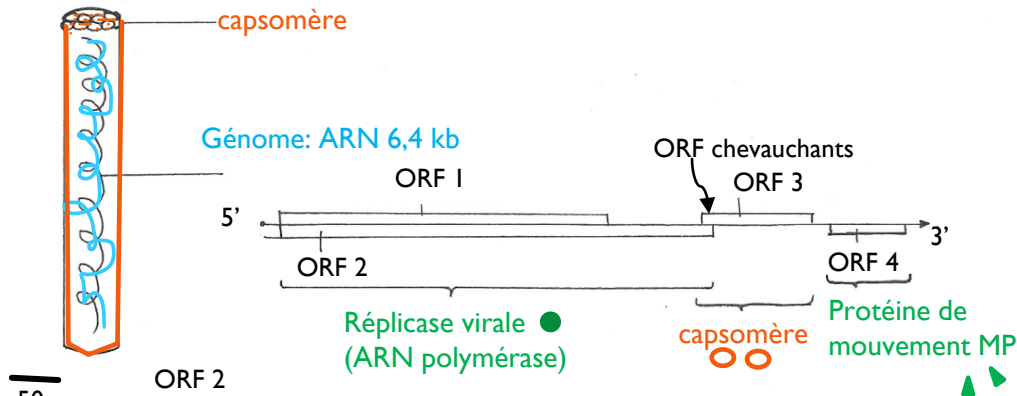
IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

A. LES VIRUS, DES STRUCTURES ACELLULAIRES

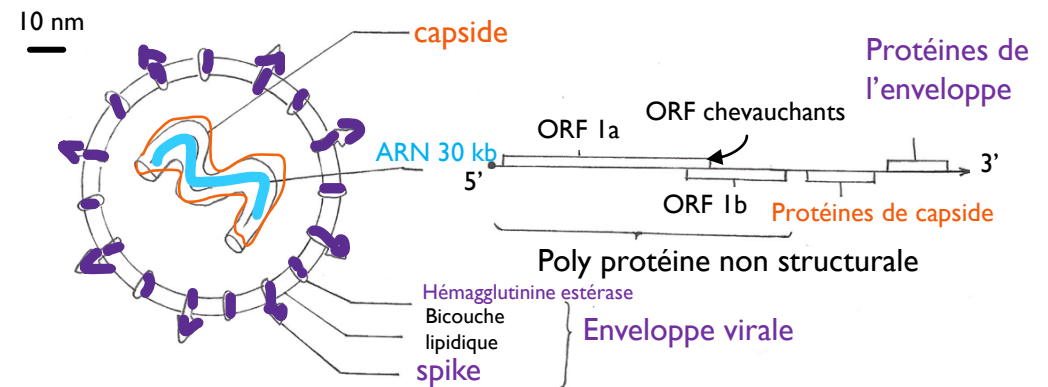
- Virus = un AN protégé par une **capside**
 - sous forme **ADN** : exemple du **bactériophage**
 - sous forme d'**ARN** : exemple de **SARS-CoV-2** et du **VMT**
- **Capside** = structure protéique → différentes symétries:
 - **icosaédriques** : 20 faces formées de triangles équilatéraux de même taille.
 - ✓ Exemple : *phage lambda* (tête icosaédrique contient génome + queue → fixation du virus sur la cellule hôte)
 - **hélicoïdale** : VMT et SARS



Structure du bactériophage λ (M. Quertigniez)



Structure du VMT (M. Quertigniez)



Structure d'un coronavirus (M. Quertigniez)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

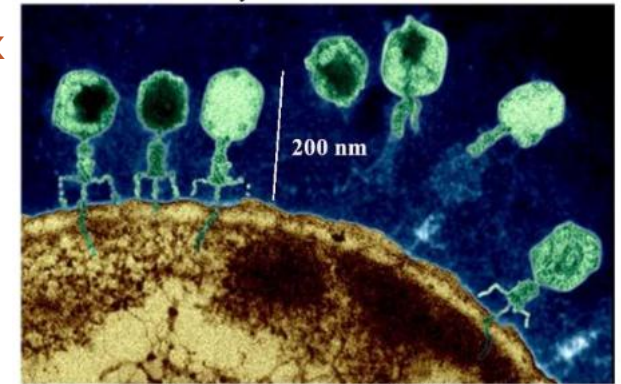
B. LES GENOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIES MAIS COMPACTS



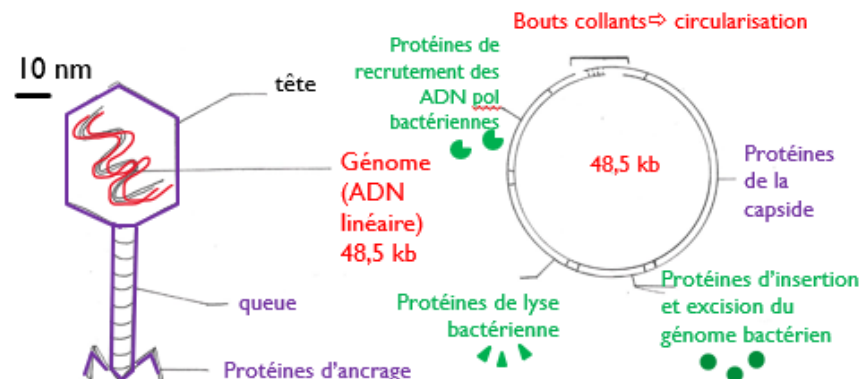
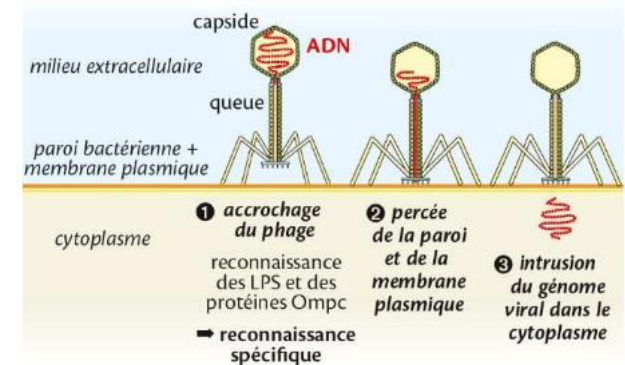
I. Nature moléculaire et organisation des génomes viraux

I.1. Virus à ADN

- Ex: ADN du bactériophage λ
- ADN **double brin linéaire** de 50 kb, bouts collants de 12 nucléotides à ses deux extrémités → possibilité de former un ADN circulaire
 - ADN se circularise dans la bactérie infectée.
- Génome = **50 gènes** → synthèse de tête, queue, réplication de l'ADN, lyse cellulaire, lysogénie (phage dormant dont le génome intégré dans le chromosome bactérien)
- Adsorption sur paroi bactérienne et injection de ADN dans le cytosol.



BACTÉRIOPHAGES (VIRUS À ADN)



Bactériophages au MET après colorisation et schéma fonctionnel de l'intrusion du génome viral dans la cellule hôte (A. Denis)

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

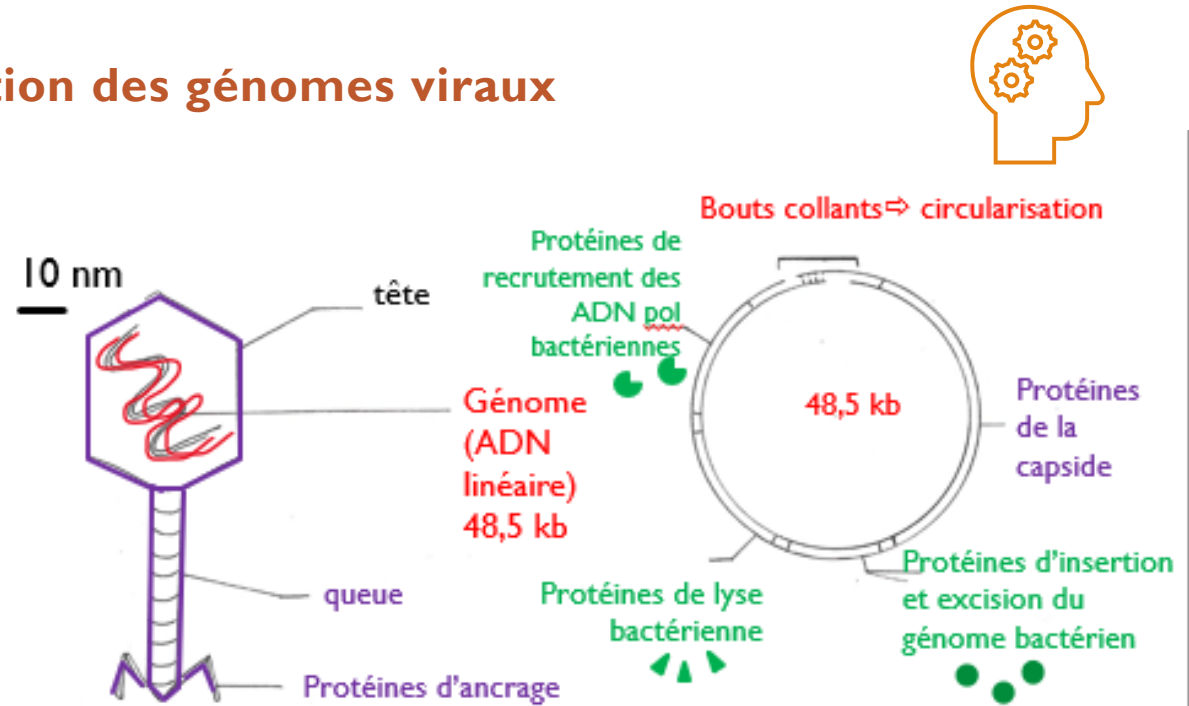
B. LES GÉNOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIES MAIS COMPACTS

I. Nature moléculaire et organisation des génomes viraux

I.1. Virus à ADN

- **Génome = 50 gènes**

- Protéines de la capsid (tête, queue, protéines d'ancrage → adsorption)
- Protéines de recrutement des ADN polymérases de cellule hôte
- Protéines de la lyse bactérienne
- Protéines de la lysogénie (insertion et excision du chromosome bactérien dans cellule hôte)



IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

B. LES GÉNOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIES MAIS COMPACTS



I. Nature moléculaire et organisation des génomes viraux

I.2. Virus à ARN

■ Cas du coronavirus (SARS-CoV-2) :

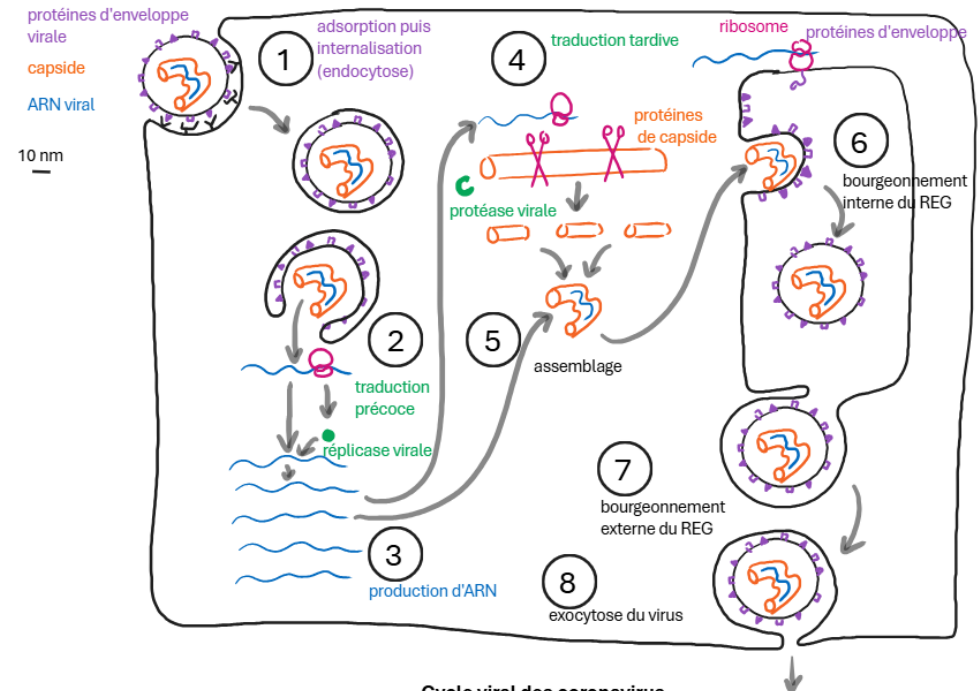
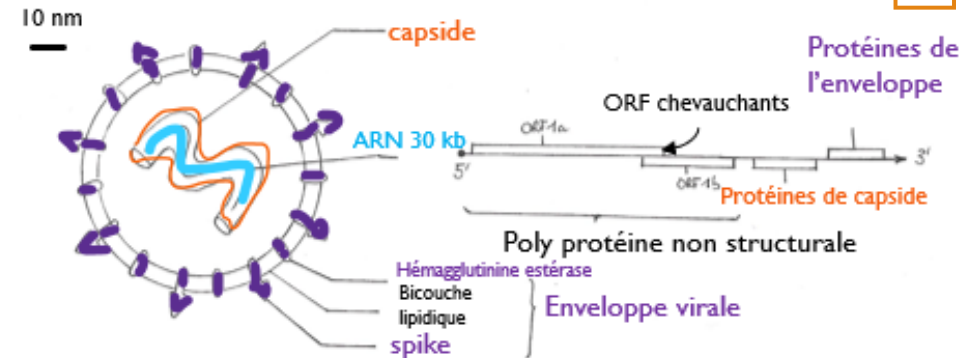
- plus grands génomes des génomes à ARN
- génome de SARS-CoV-2 = ARN simple brin de 30kb
- génome contient 14 ORF permettant la synthèse de :

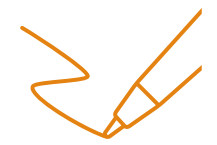
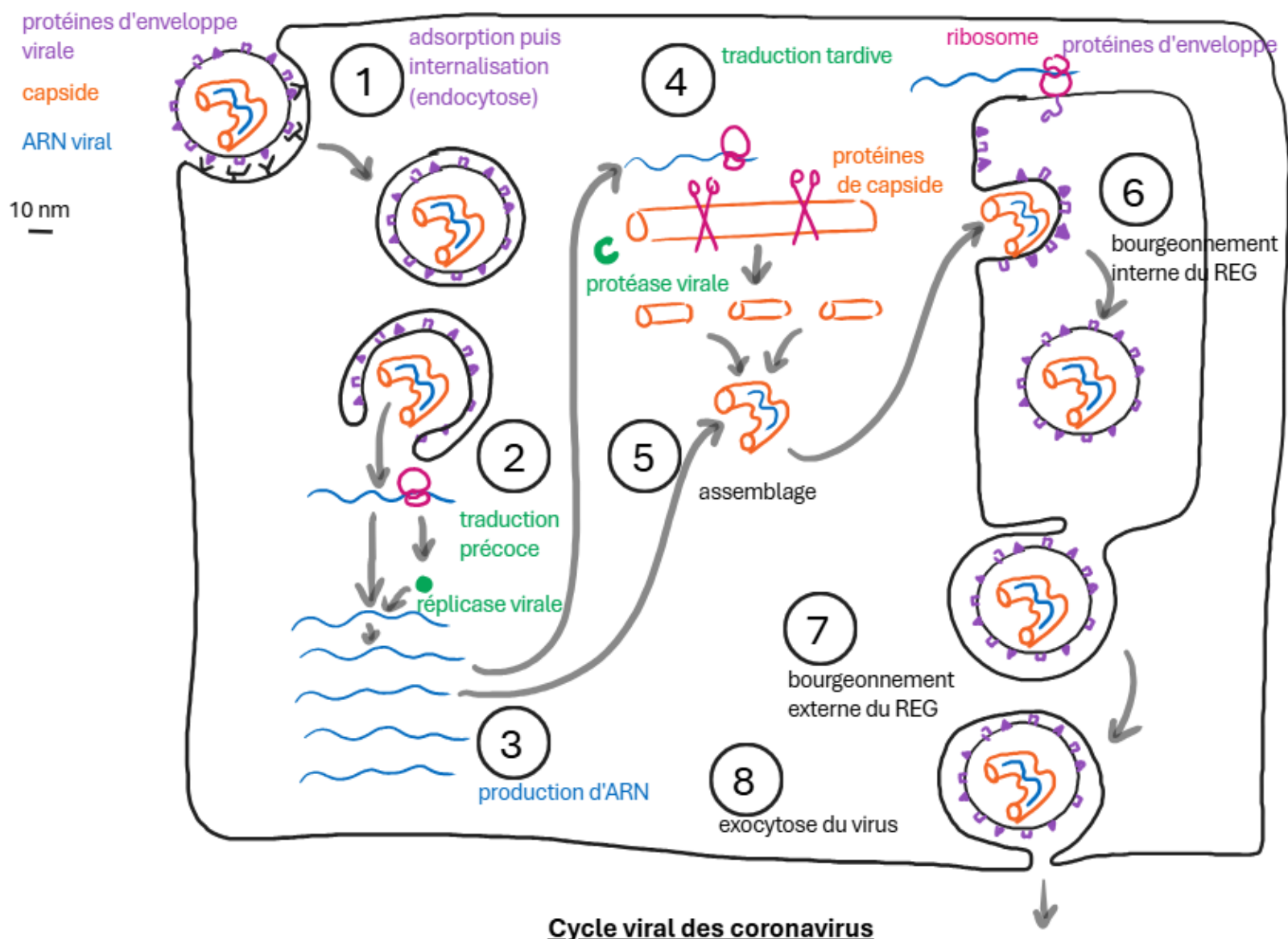
✓ protéines **non structurales** (NSP) →
réplication de l'ARN

✓ protéines **structurales**

→ **protéine spike de l'enveloppe** (⇔ entrée dans la cellule en se fixant à un récepteur naturellement présent sur certaines cellules)

→ **Protéines de la capside**





IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

B. LES GÉNOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIÉS MAIS COMPACTS

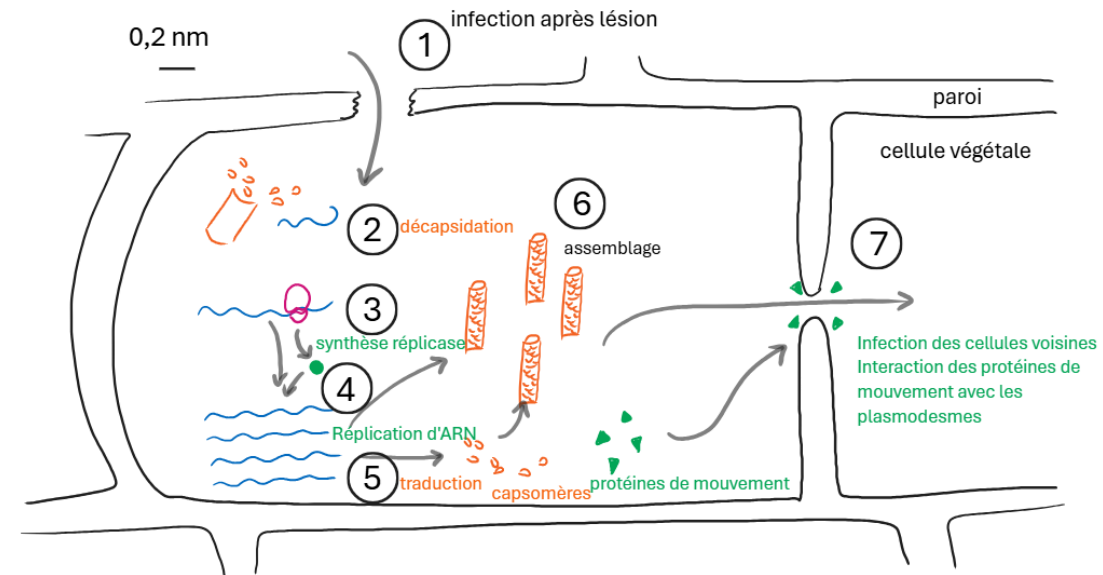
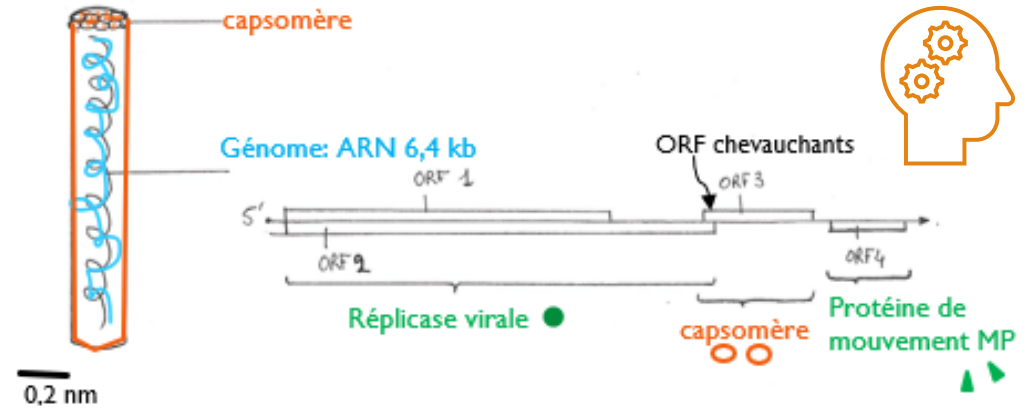
I. Nature moléculaire et organisation des génomes viraux

I.2. Virus à ARN

■ Cas du VMT (Virus de la Mosaïque du Tabac) :

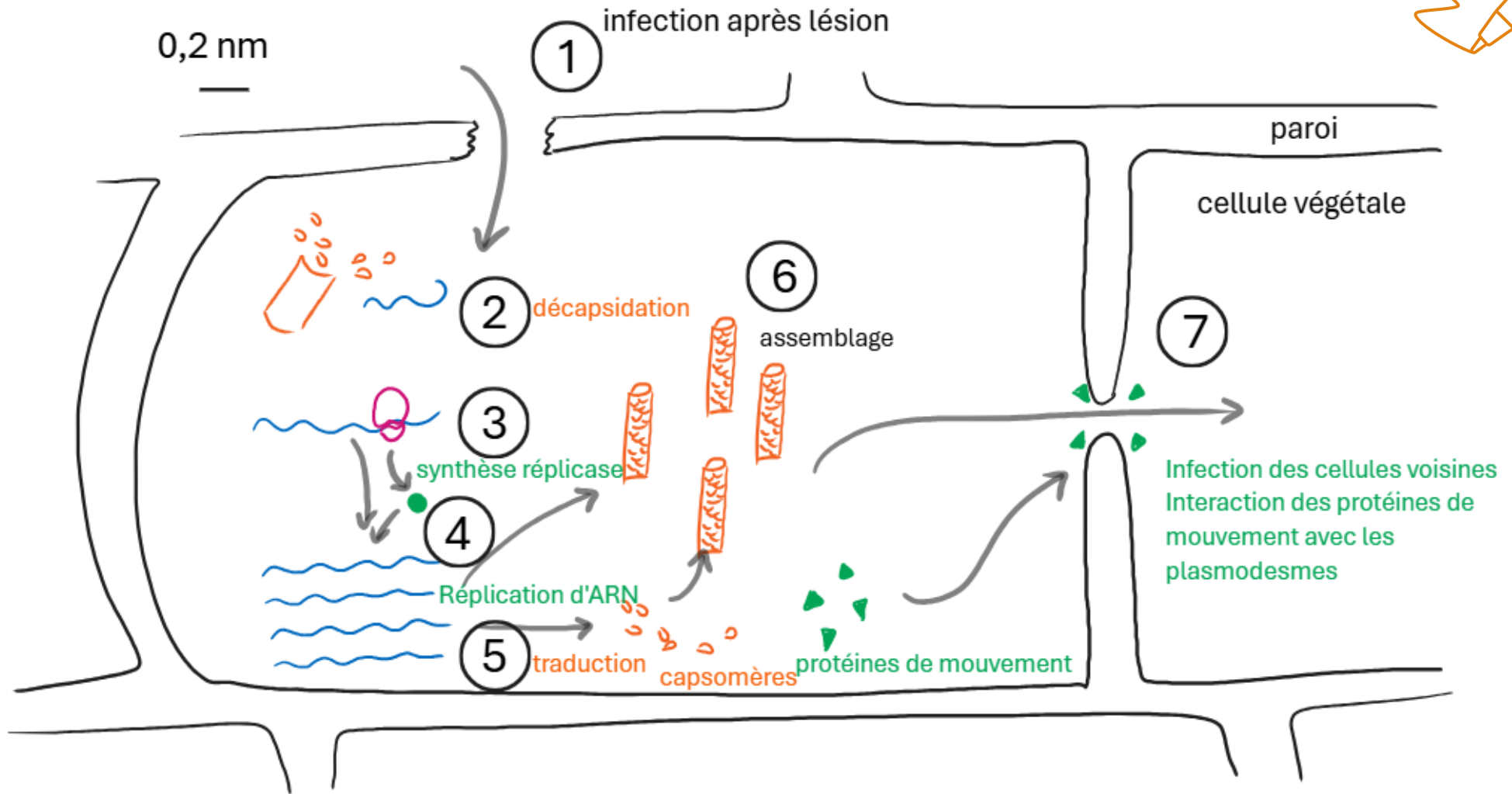
- génome d'environ 6 000 nucléotides,
- ARN monocaténaire (nommé simple brin sb+ servant directement d'ARNm)
- 3 groupes de gènes (en fait : 4 ORF) :
 - ✓ gènes responsables du **pouvoir infectieux** (+ protéines régulatrices)
 - ✓ gène de la protéine de **capside**
 - ✓ gènes d'une enzyme virale spécifique, n'existant pas dans la cellule hôte : l'ARN-Polymérase ARN-dépendante, capable de répliquer l'ARN viral.

- Le virus n'apporte donc que l'information permettant de réorienter la machinerie cellulaire.



Cycle du virus de la mosaïque du Tabac (VMT).

0,2 nm



Cycle du virus de la mosaïque du Tabac (VMT)

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

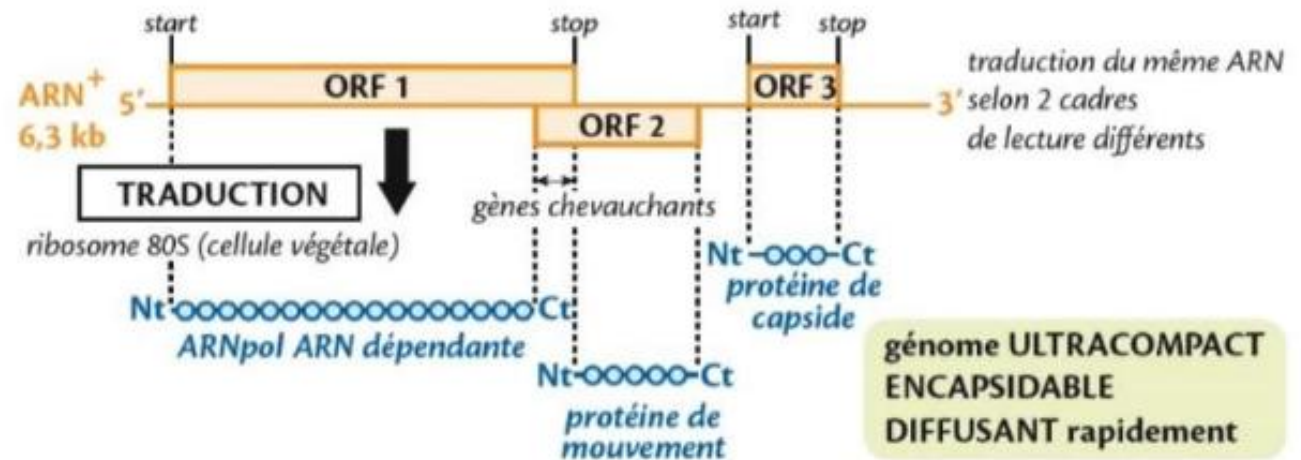
B. LES GÉNOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIÉS MAIS COMPACTS



2. Des génomes compacts

- Presque pas de séquences non codantes (moins de 10%)
- Souvent chevauchement des ORFs
- Ultracompact:
 - **encapsidable** → répliqué rapidement → diffusé rapidement
 - Ultracompact (6,3 kb chez le TMV, 3 gènes), PAS de gènes ARNr ou ARNt car les virus détournent la machinerie d'expression de leur cellule hôte

Le génome ultracompact des virus (ex de l'ARN⁺ du TMV)



Le génome ultracompact du TMV (A. Denis)

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

B. LES GÉNOMES VIRAUX : DES SUPPORTS MOLECULAIRES DIVERSIFIÉS MAIS COMPACTS



2. Des génomes compacts

- La même séquence → 1 à 3 ARN différents en changeant de cadre de lecture!
- **épissage alternatif** : ↗ diversité des protéines produites (cas du VIH et de l'hépatite B par exemple).
- Nombre de gènes très variable : 4 gènes pour le plus petit génome à quelques centaines voire plus pour le virus géants (mégavirus chilensis : 1 120 gènes par exemple).
- Fonctions des gènes constants : **gènes codant des protéines structurales, des enzymes permettant transcription / traduction / réactions métaboliques...** et de nombreux gènes sans fonction connue!

Le génome ultracompact des virus (ex de l'ARN⁺ du TMV)

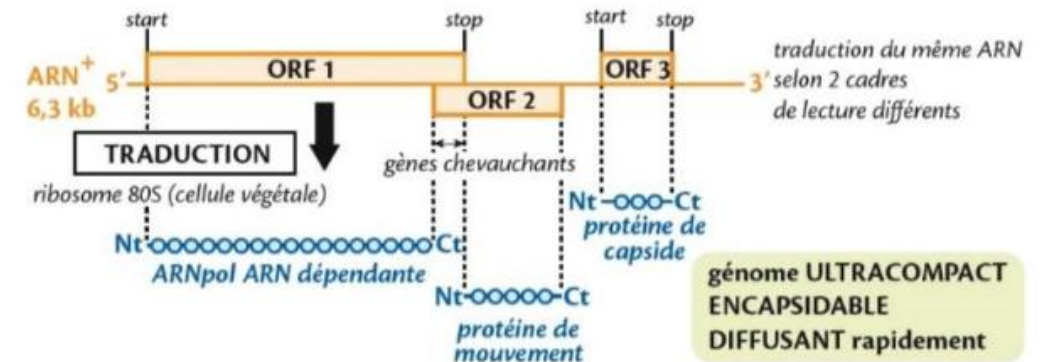


Figure 80 : le génome ultracompact du TMV (A. Denis)

PLAN DU COURS

I. Structure des génomes procaryotes et eucaryotes

- A. Les génomes sont formés par l'ensemble des molécules d'ADN
- B. Localisation et support du génome dans la cellule
- C. Compaction du génome au niveau des chromosomes
- D. Le chromosome métaphasique chez les Eucaryotes

II. Organisation fonctionnelle du génome des Eucaryotes

- A. Mise en évidence de 3 groupes de séquences d'ADN
- B. Les séquences hautement répétées
- C. Des séquences moyennement répétées
- D. Des séquences uniques
- E. Bilan sur l'organisation fonctionnelle du génome EK
- F. La notion de gène chez les EK

III. Organisation fonctionnelle du génome chez les Eubactéries

- A. Approche expérimentale
- B. Organisation des gènes
- C. L'opéron lactose
- D. Bilan

IV. Organisation fonctionnelle des génomes viraux

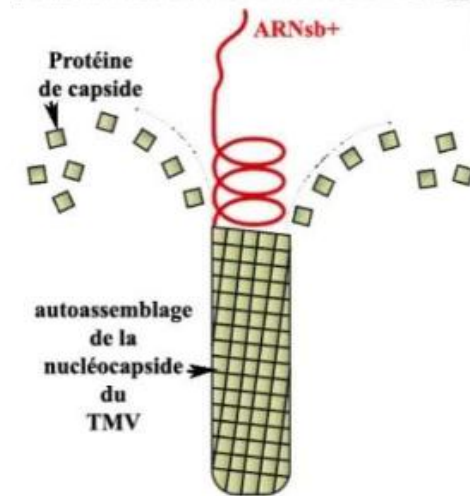
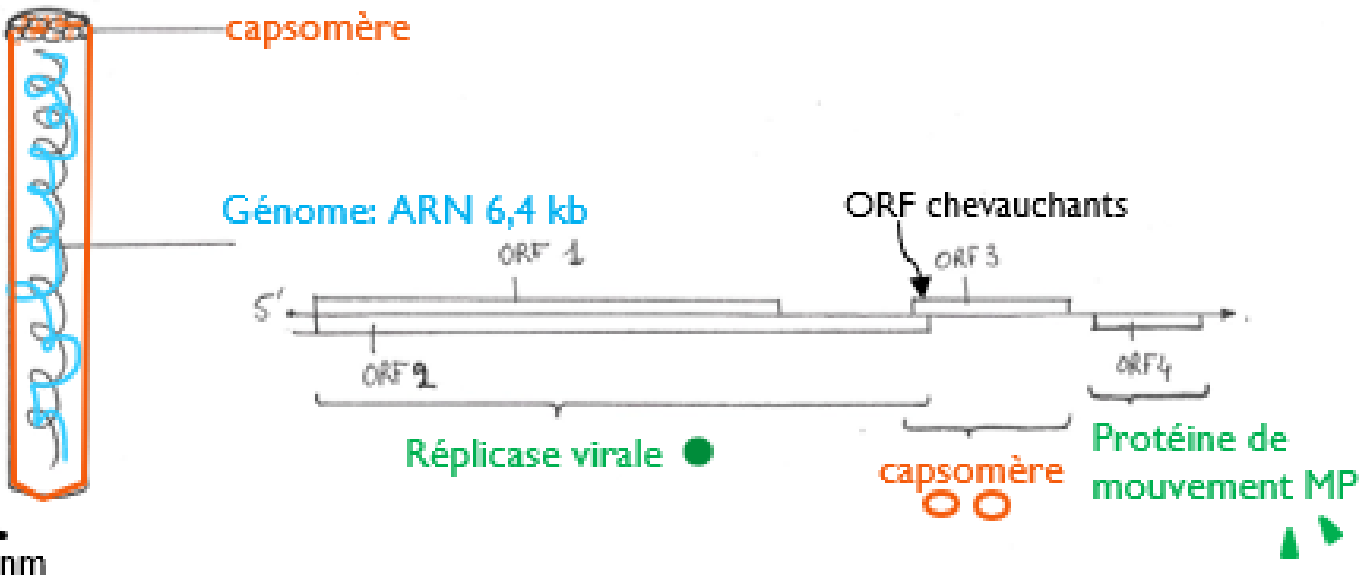
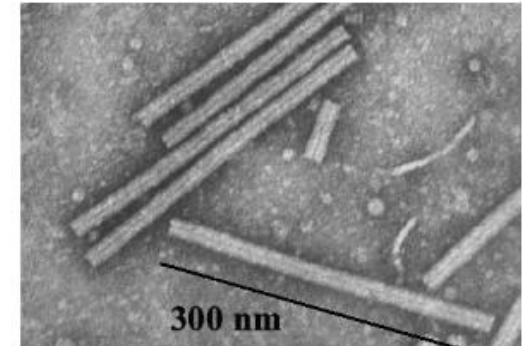
- A. Les virus, des structures acellulaires
- B. Les génomes viraux : des supports diversifiés mais compacts
- C. Des capsides et enveloppes adaptées à leur cycle de multiplication

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

C. DES CAPSIDES ET ENVELOPPES ADAPTEES A LEUR CYCLE DE MULTIPLICATION

I. Les virus ont un génome protégé par une capside

- Génome toujours protégé par une **capside de nature protéique**, formée par un assemblage très structuré d'un grand nombre d'un ou plusieurs types de protéines.
- Protéines **codées par le génome viral** (protéine de structure).



Virus de la mosaïque du tabac au MET et schéma présentant l'autoassemblage de la capsid après infection d'une cellule hôte (A. Denis)

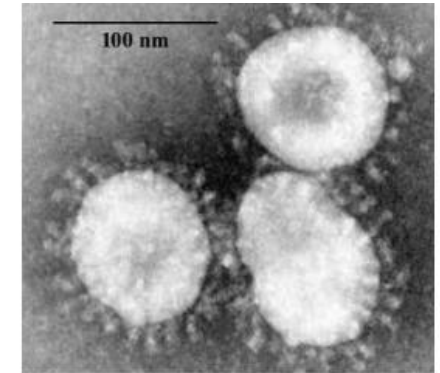
IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

C. DES CAPSIDES ET ENVELOPPES ADAPTEES A LEUR CYCLE DE MULTIPLICATION

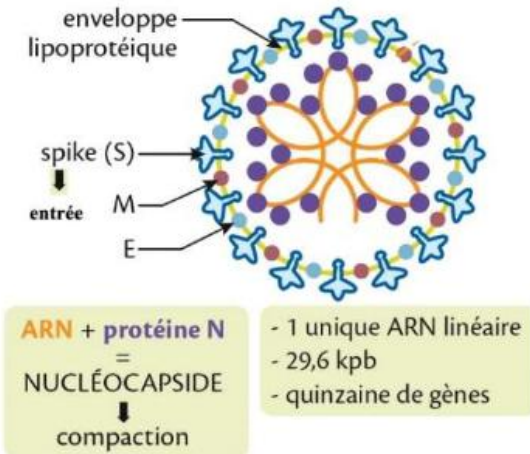
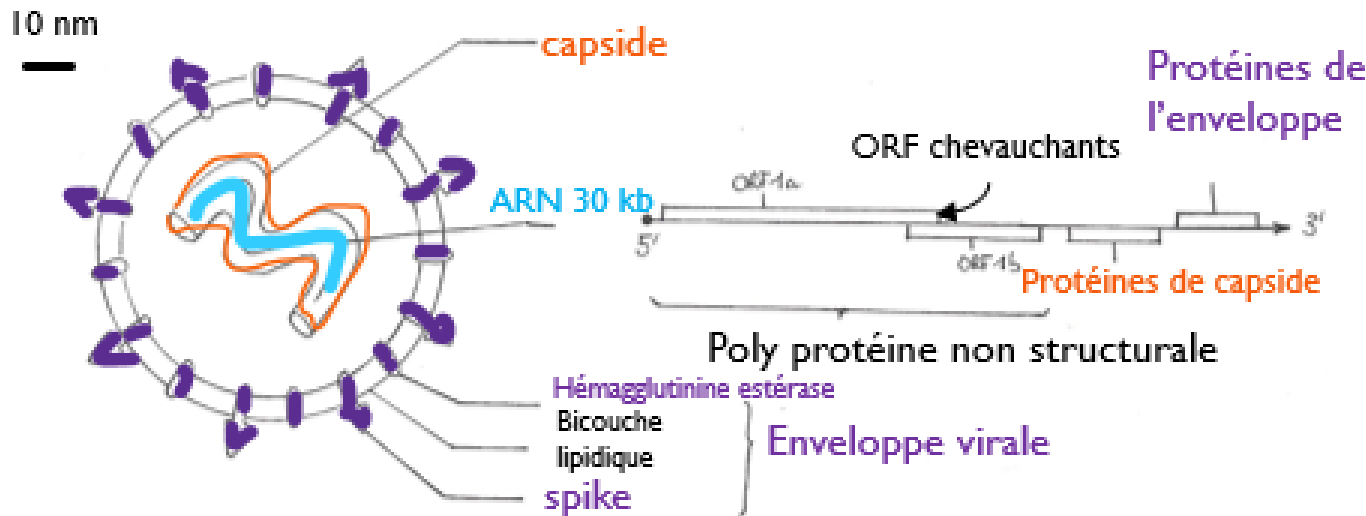


2. Certains virus sont entourés d'une enveloppe lipidique

- **SARS-CoV-2** entouré d'une **enveloppe** qui correspond à un fragment de membrane plasmique de la cellule hôte.
 - nouveaux virus sont libérés de la cellule par **bourgeonnement membranaire**.
- **Virus à enveloppe** souvent virus infectant les **animaux**.



virion du Coronavirus (virus à ARN)
(0,1 μm)



Electronographie d'un coronavirus et schéma de son ultrastructure (A. Denis)

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

C. DES CAPSIDES ET ENVELOPPES ADAPTEES A LEUR CYCLE DE MULTIPLICATION



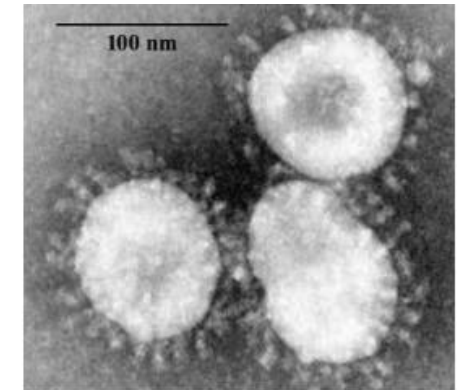
3. La structure du virus est adaptée au mode d'infection

3.1. Cas des virus enveloppés

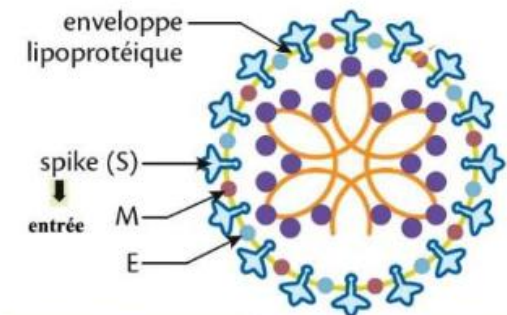
- Enveloppe → protéines / glycoprotéines ⇒ fixation sur récepteur membranaire.

➤ SARS-CoV-2: protéine spike

- ✓ Protéine spike → fixation spécifique sur récepteur ACE2 (impliqué dans régulation de certaines fonctions cardio-vasculaires, pulmonaires et rénales)
- ✓ fixation de spike ⇒ entrée du virus dans la cellule
- ✓ Nouvelles particules virales libérées par bourgeonnement ⇒ mort de la cellule.



virion du Coronavirus (virus à ARN)
(0,1 μm)



ARN + protéine N = NUCLÉOCAPSIDE
↓
compaction

- 1 unique ARN linéaire
- 29,6 kpb
- quinzaine de gènes

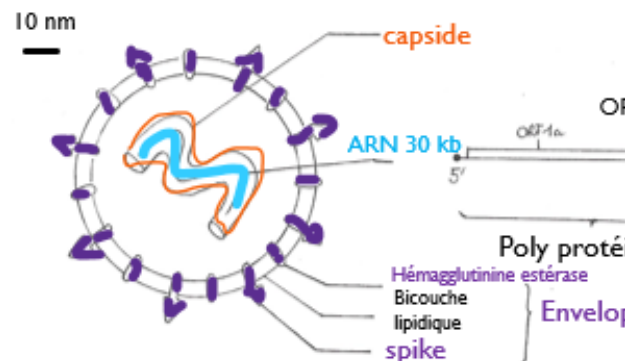


Figure 82 : électronographie d'un coronavirus et schéma de son ultrastructure (A. Denis) 174

IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

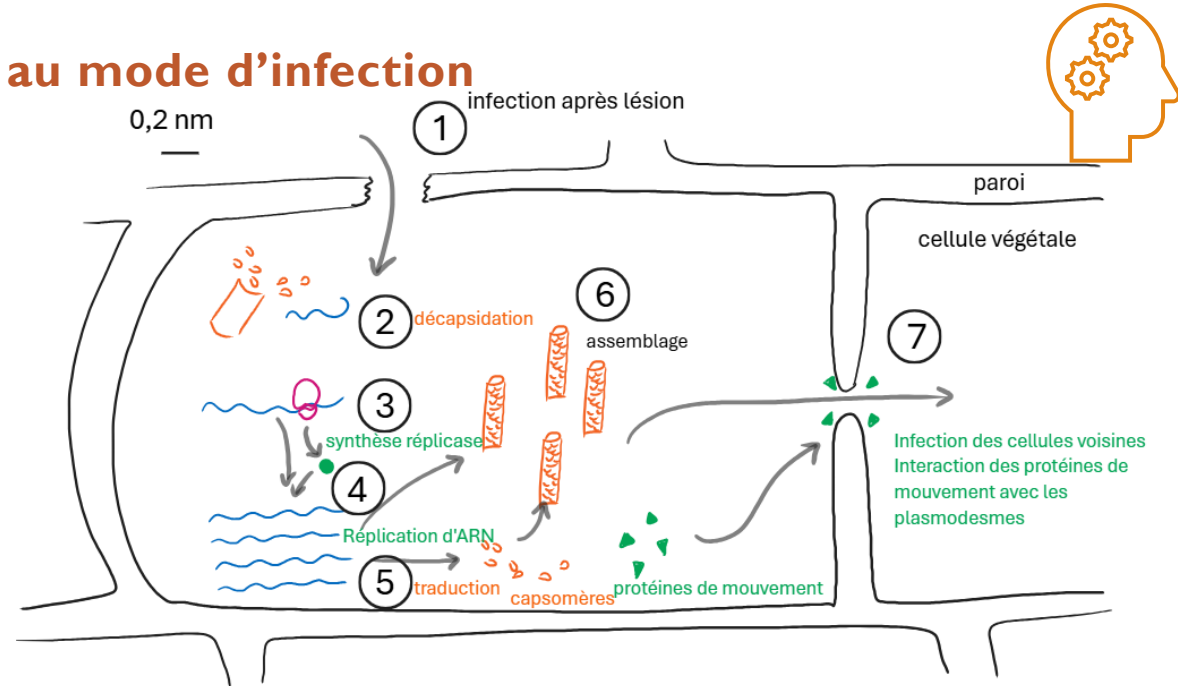
C. DES CAPSIDES ET ENVELOPPES ADAPTEES A LEUR CYCLE DE MULTIPLICATION

3. La structure du virus est adaptée au mode d'infection

3.2. Cas des virus non enveloppés

■ VMT :

- Transmission de plantes en plantes grâce à des **vecteurs** (pucerons etc...).
- ✓ présence de **lésions** nécessaire à l'infection → VMT rentre dans la cellule en faveur d'une **rupture de la paroi** (aucune enzyme pour détruire les parois, ni de mécanisme de pénétration)
- ARN viral reconnu par ribosomes de la cellule et entre en compétition avec les ARNm endogènes
- formation de nouveaux virus mais aussi traduction des protéines
- Autoassemblage des protéines de capsidite → **lyse de la cellule végétale**
- mosaïque jaune facilement identifiable



Cycle du virus de la mosaïque du Tabac (VMT).



IV. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES GÉNOMES VIRAUX

C. DES CAPSIDES ET ENVELOPPES ADAPTEES A LEUR CYCLE DE MULTIPLICATION

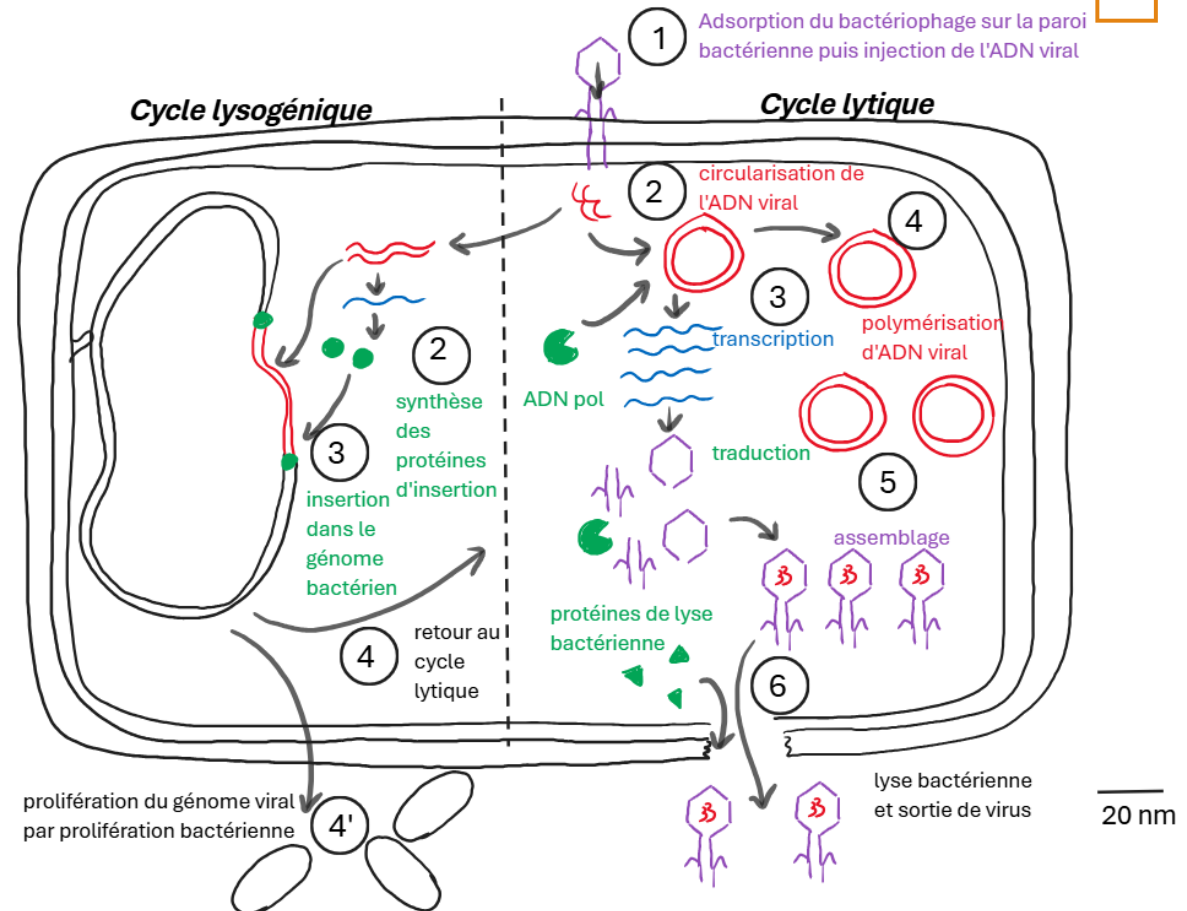
3. La structure du virus est adaptée au mode d'infection

3.2. Cas des virus non enveloppés



■ Bactériophage lambda :

- Fixation grâce à une interaction spécifique entre la **fibre de l'extrémité de sa queue** et une (protéine de transport du maltose) **protéine présente sur la membrane externe de E. coli**
- **injection de l'ADN** du phage
- Insertion de L'ADN dans le génome de la bactérie et état dormant
- OU génome directement transcrit et traduit ; on observe un autoassemblage des protéines de la capsid



Les cycles viraux du bactériophage lambda, parasite intracellulaire obligatoire d'E. Coli

CONCLUSION

- Des **hétéropolymères** séquencés porteurs d'une information codée :ADN (ARN chez certains virus)
- Une information décodée de la même façon par tous les êtres vivants : **universalité du code génétique**
- Des séquences dont l'expression a un effet sur la réalisation du phénotype :
 - séquences transcrites et traduites (« gènes » ?)
 - séquences transcrites mais pas traduites (ARN fonctionnels, cf SV-D et SV-F2 à venir)
 - séquences non exprimées mais contrôlant l'expression du génome (promoteurs des gènes, séquences régulatrices)
- ... **Savoir discuter de ce qui est et de ce qui n'est pas informatif :**
 - **par exemple certaines séquences transcrites ne sont pas informatives (introns de gènes)**
 - **certaines séquences non exprimées sont informatives (séquences régulatrices)**

CONCLUSION

- Organisation de l'information portée très variable selon les êtres vivants ou les virus considérés :
 - Bactéries : génome majoritairement codant
 - Eucaryotes : génome minoritairement codant
 - Virus : génome très compact majoritairement codant
- **Organisation** des génomes concourant à la **compaction du contenu informatif** :
 - Regroupement des gènes en **opérons** chez les bactéries
 - **Cadres de lecture chevauchant** chez les virus

CONCLUSION

- La **diversification des génomes** s'opère par 3 mécanismes :
 - **Mutations** : rares, spontanées, aléatoires (par exemple du fait d'erreurs de réplication)
 - **Transfert horizontal de gènes** : fréquents chez les procaryotes, plus rares chez les Eucaryotes. Les virus jouent un rôle important dans les THG en transférant des portions de génome d'un hôte à un autre
 - **Reproduction sexuée : méiose et fécondation** génèrent un brassage des allèles et expliquent en partie les différences entre les descendants d'un couple
- La génération de **diversité** est un **préalable nécessaire à l'évolution** par les processus de **sélection naturelle** (sélection du phénotype, donc du génotype, avantageux dans un contexte donné) et de **dérive génétique** (évolution aléatoire des fréquences génotypique par échantillonnage au sein d'une population).

SUJETS D'ORAUX

Chapitre SV-F-1-1- Organisation des génomes (BCPST 1)

- Le génome eucaryote
- Comparaison des génomes des bactéries et des Eucaryotes
- Comparaison génome viral – génome eucaryote (2023)
- Qu'est-ce qu'un gène ?
- Le contenu informatif des génomes
- La chromatine
- Qu'est-ce qu'un virus ? (2023)

