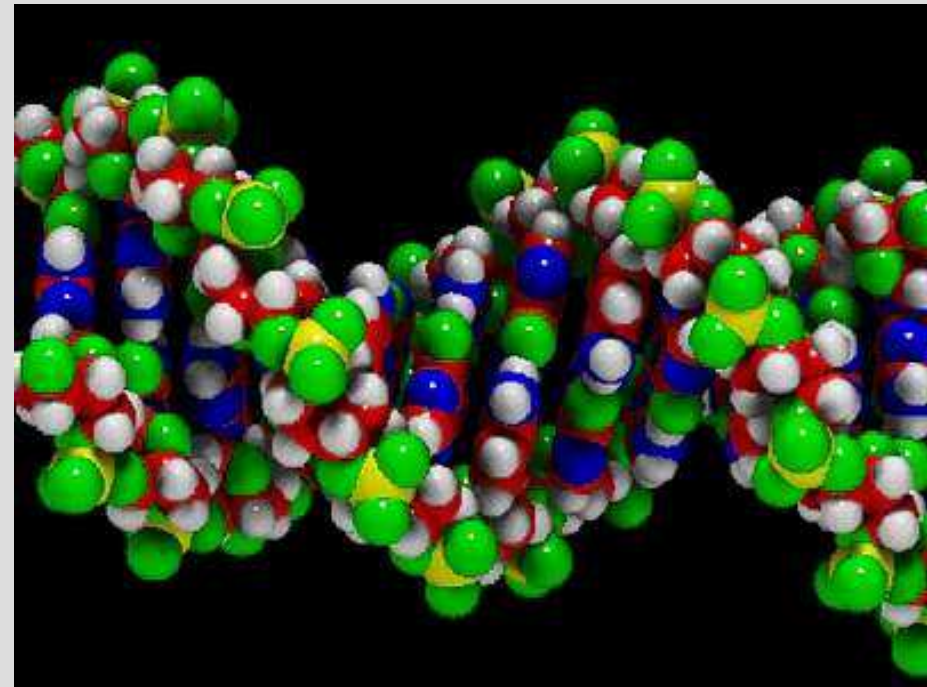
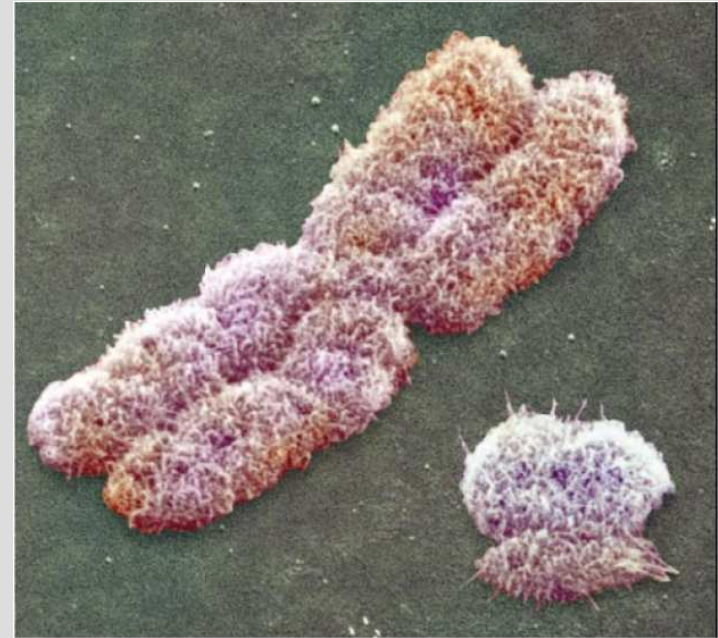
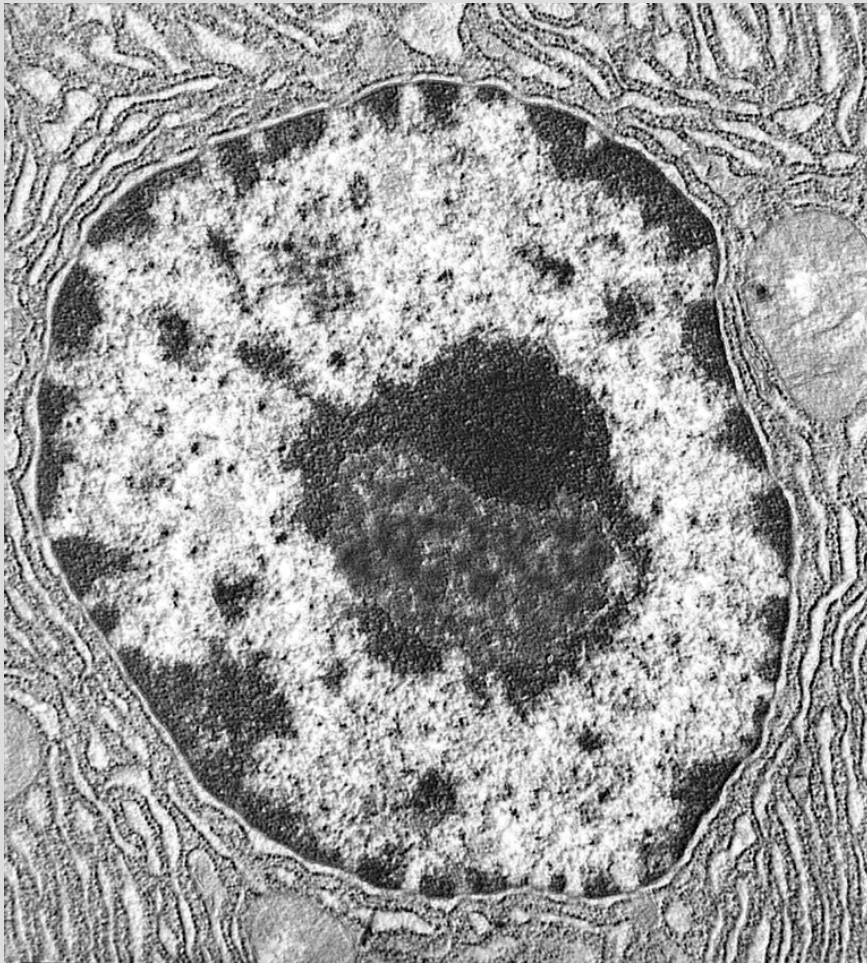


Chapitre IV - A : Génomique structurale et fonctionnelle



Transgenèse du gène de la GFP

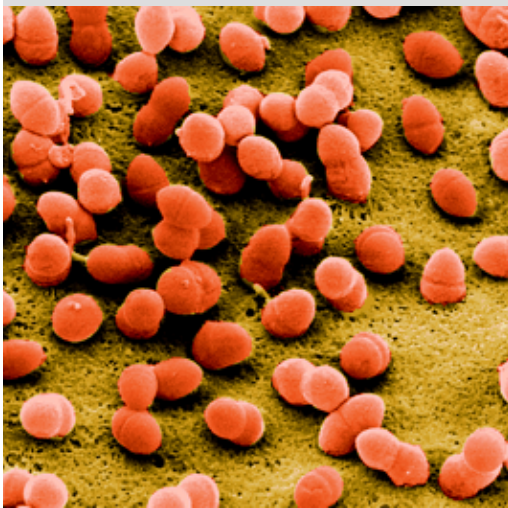


La GFP (Green Fluorescent Protein) est produite par la méduse *Aequorea victoria*

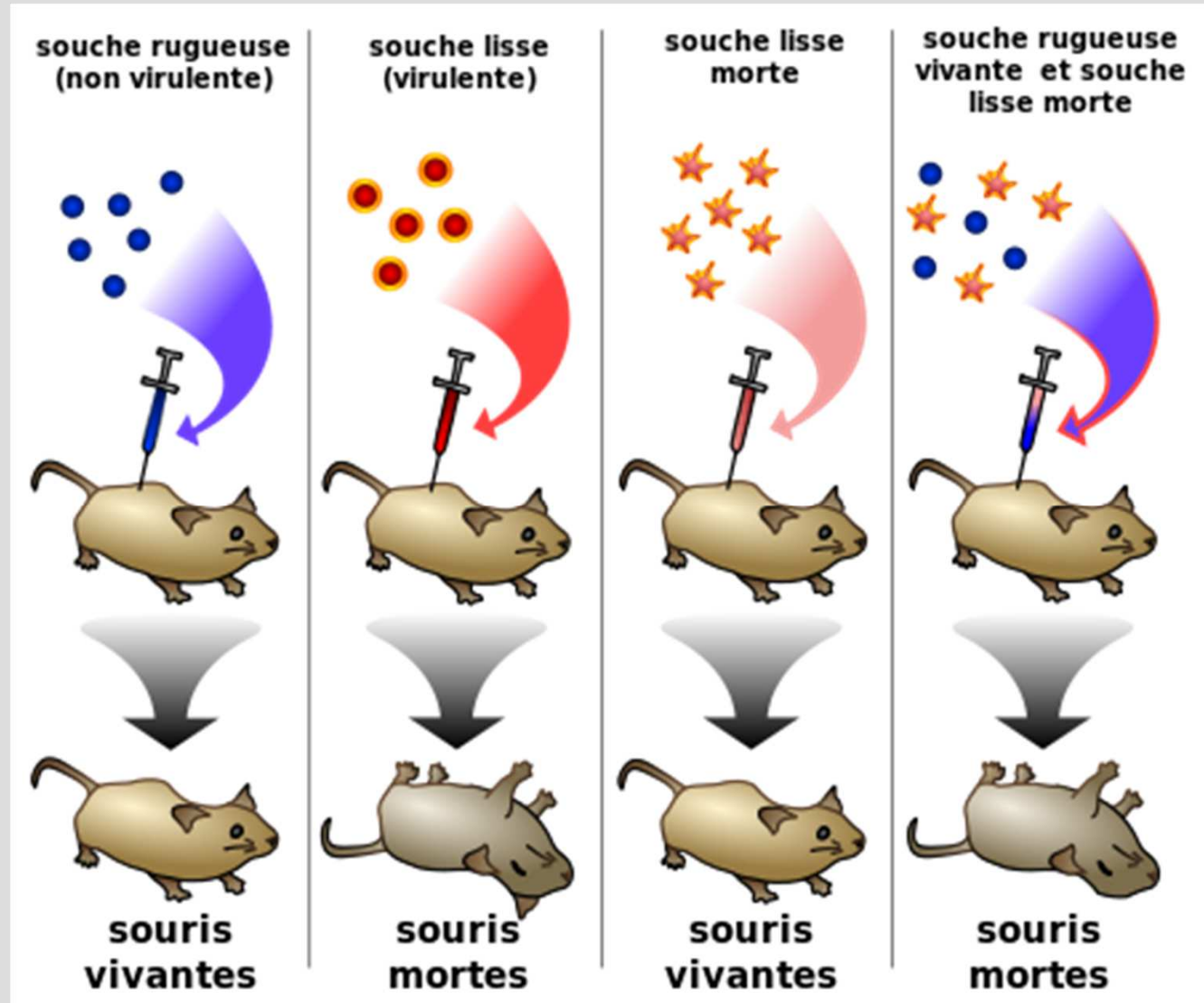


Souris transgénique GFP

Expériences de Griffith (1928)



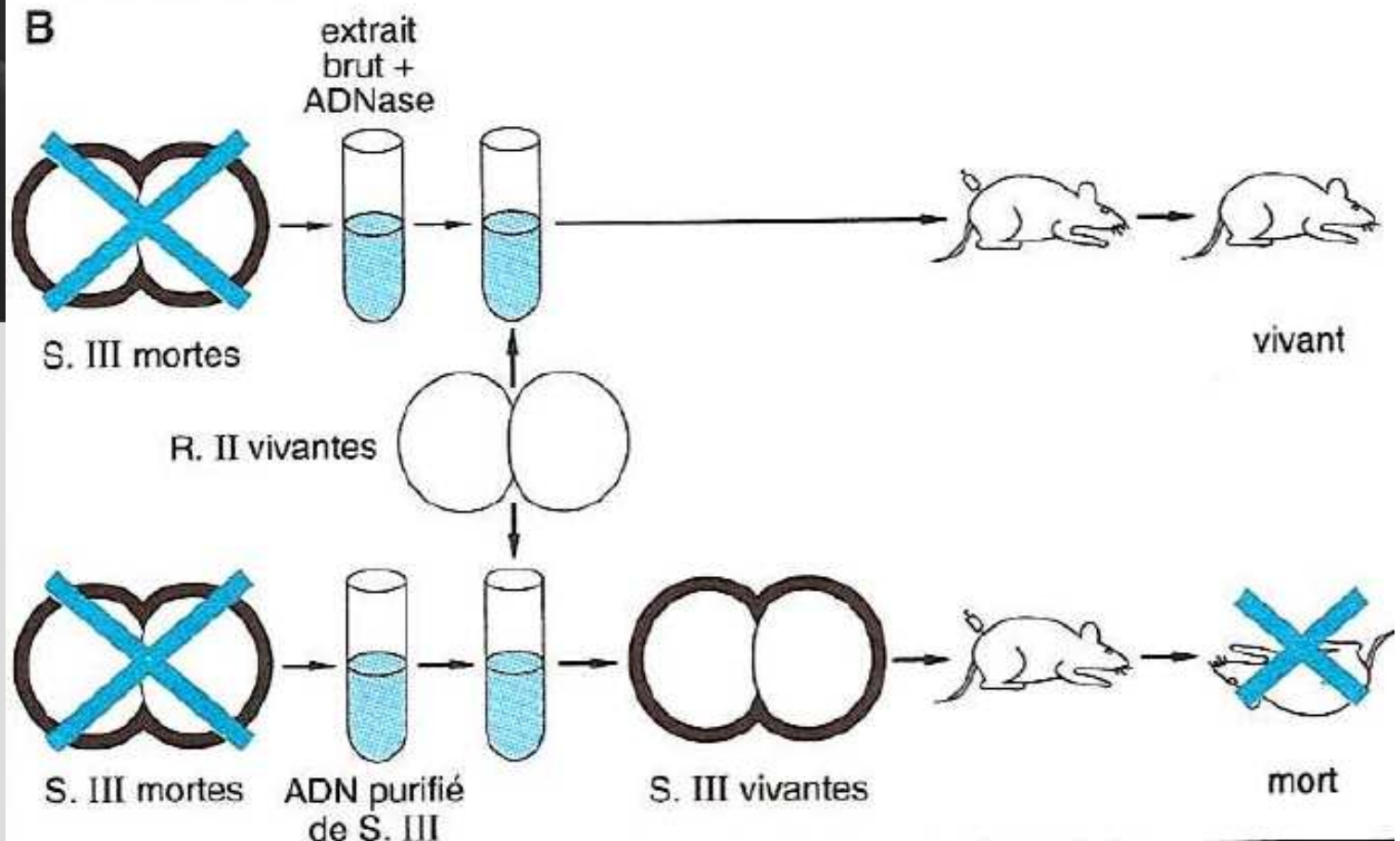
Streptococcus pneumoniae



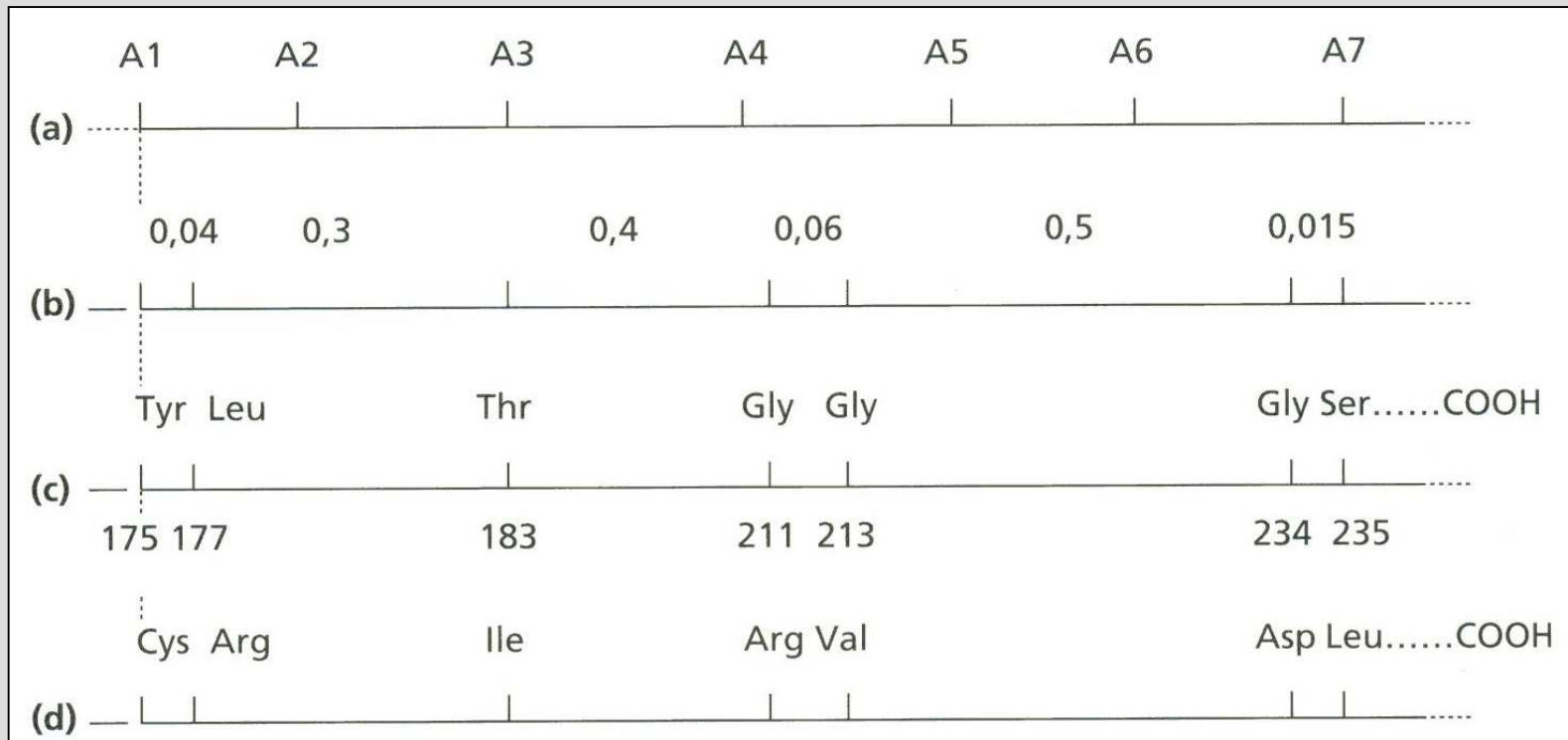
→ Mise en évidence d'un « principe transformant »



Expériences de Avery, MacLeod, MacCarthy (1944)



→ C'est un acide nucléique (l'ADN) qui constitue le « principe transformant »



Travaux de Yanovsky : la colinéarité ADN - protéines

- Carte du gène A de la tryptophane synthétase d'E. coli : chaque mutant est identifié et repéré par une lettre (ex : A1).
- Distances génétiques au sein du gène A (données en % de recombinaisons).
- Séquence des acides aminés de la région correspondante de la chaîne polypeptidique (la position des acides aminés est numérotée à partir de l'extrémité N-terminale).
- Acides aminés substitués chez les souches mutantes.

(PEYCRU P. et coll., " Biologie 1^{ère} année BCPST ", Dunod Ed., 2007).

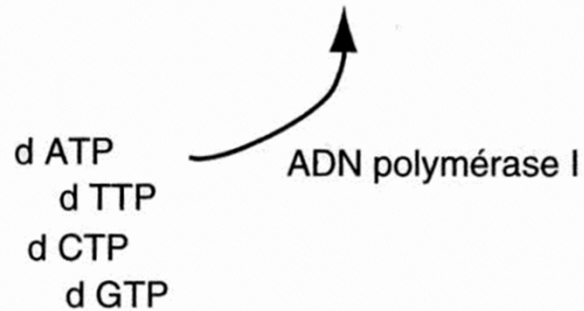
Séquençage de l'ADN : méthode de Sanger

5' — GAATTCGCTAATGC — 3'

3' — CTTAA

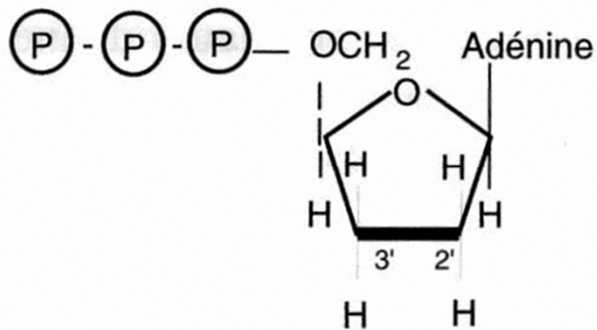
Fragment à séquencer.

Amorce liée par liaisons hydrogène.



+ une faible quantité de didésoxy-ATP

L'ADN polymérase est bloquée dans sa synthèse lorsqu'elle a fixé le didésoxy-ATP.



La différence de concentration entre le dATP et son analogue permet d'obtenir des fragments nouvellement synthétisés de longueurs différentes qui seront séparés en fonction de leur taille par électrophorèse.

3' — CTTAA — GCG(A)
ou 3' — CTTAA — GCGATT(A)



Résultat du séquençage par la méthode de Sanger. L'ordre de chaque bande indique la position d'un nucléotide A, T, C ou G

Le support cytologique du génome chez les Eubactéries

Document 1. Le nucléoïde, région dense
en chromatine.



Bactérie en division

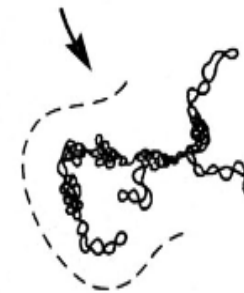
région dense en chromatine
dépourvue de ribosome



Bactérie en MET.

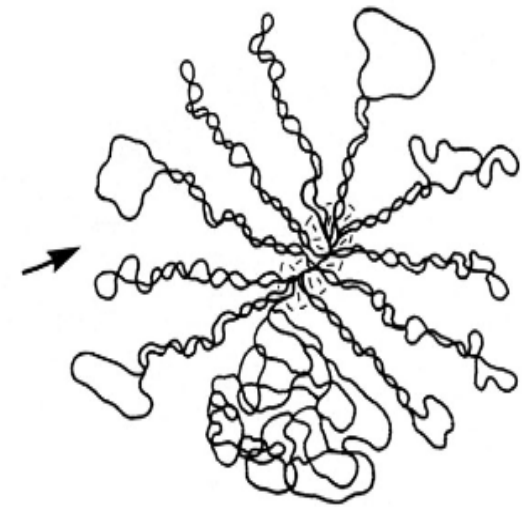


Bactérie

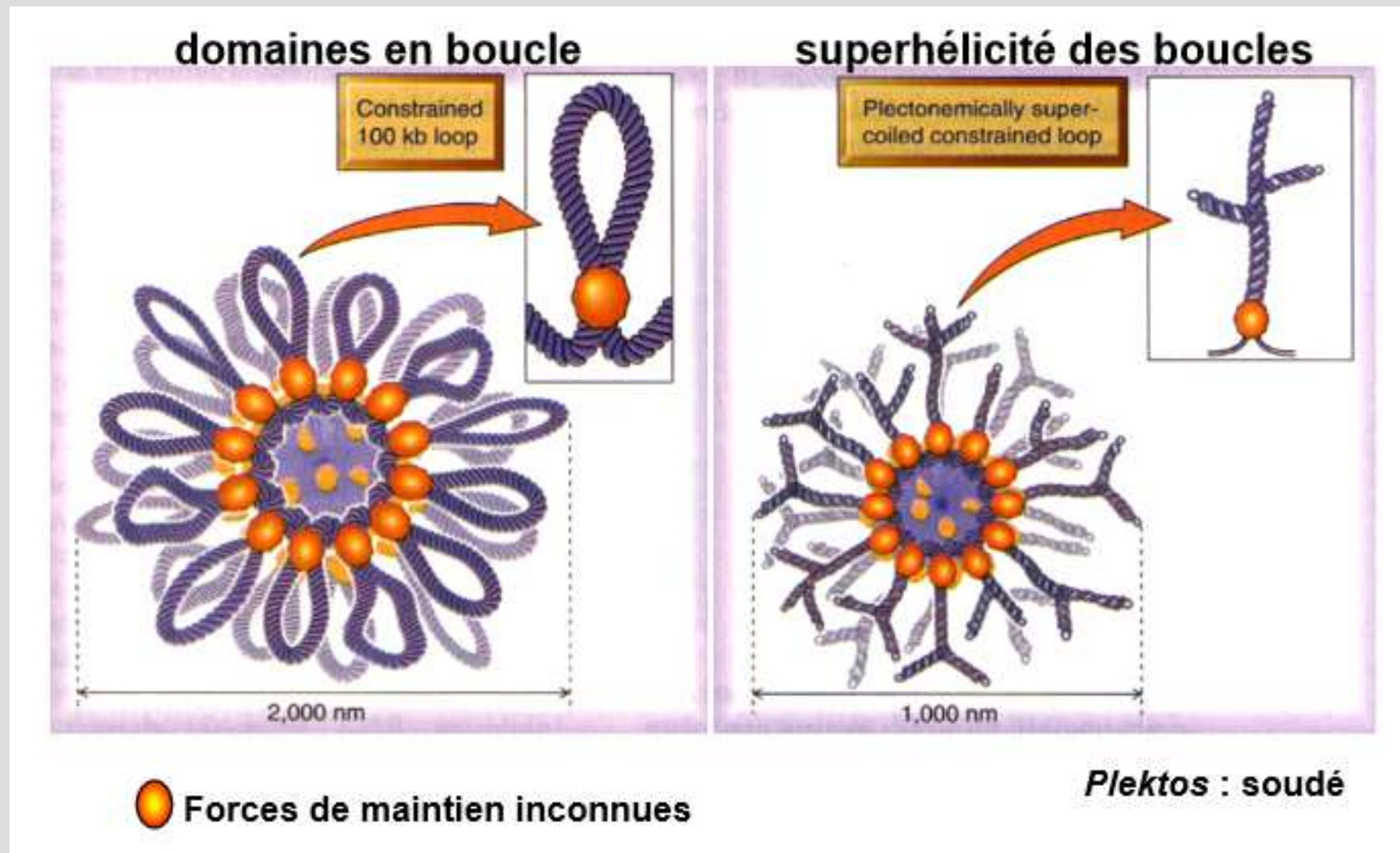


Lyse ménagée

Nucléotide

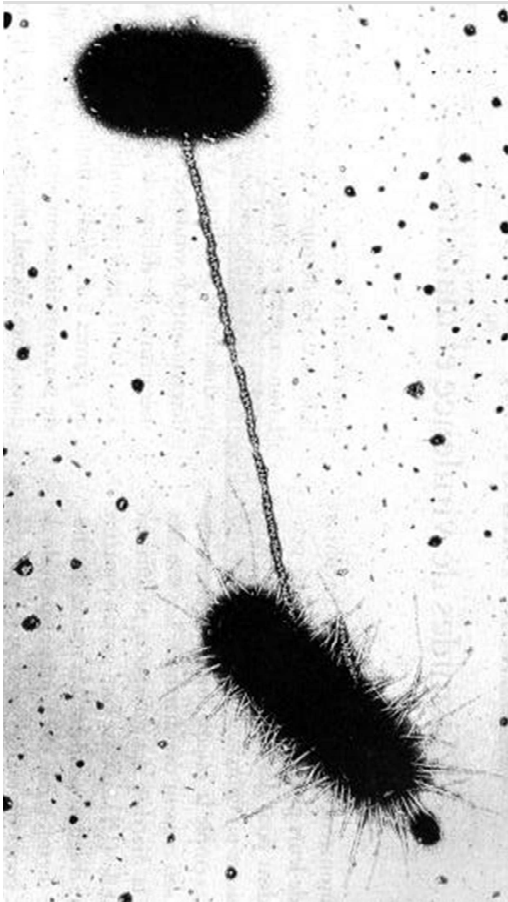


**Bactérie (E. coli)
après lyse ménagée**



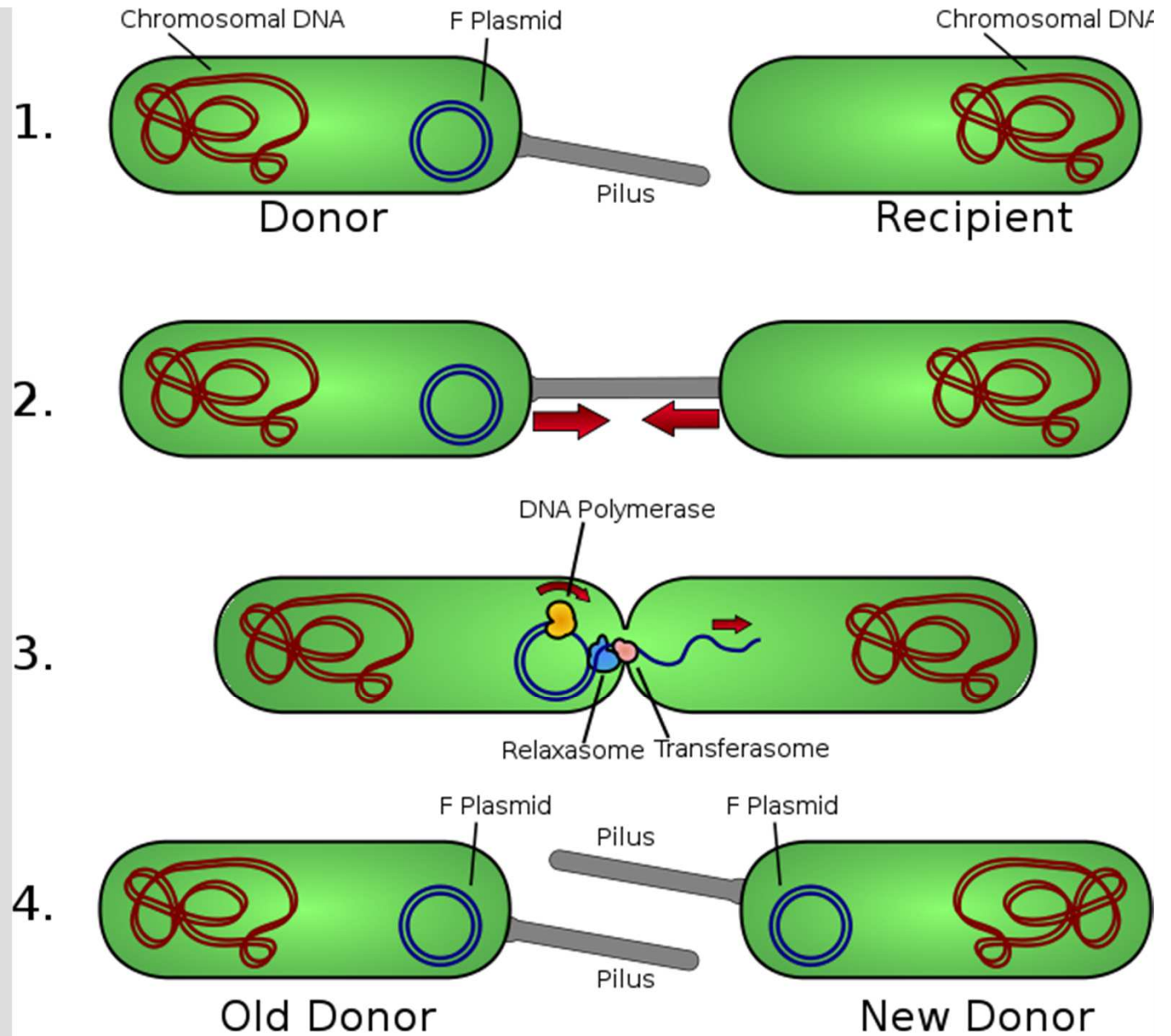
Condensation du chromosome bactérien

- 50 régions de 100 kb indépendamment surenroulées par chromosome
- Intervention des protéines de type histone (HU ; stabilisation) et SMC (condensation)



Conjugaison chez *E. coli*

STRYER L. « Biochimie »
M-S Flammarion



La conjugaison bactérienne



2



1

Démonstration de la circularité du chromosome bactérien par F. Jacob et E. Wollman

Extrait de « Introduction à l'analyse génétique » Par S.B. Carroll, J. Anthony, F. Griffiths, S. Wessler, R.C. Lewontin



H



2



1



3

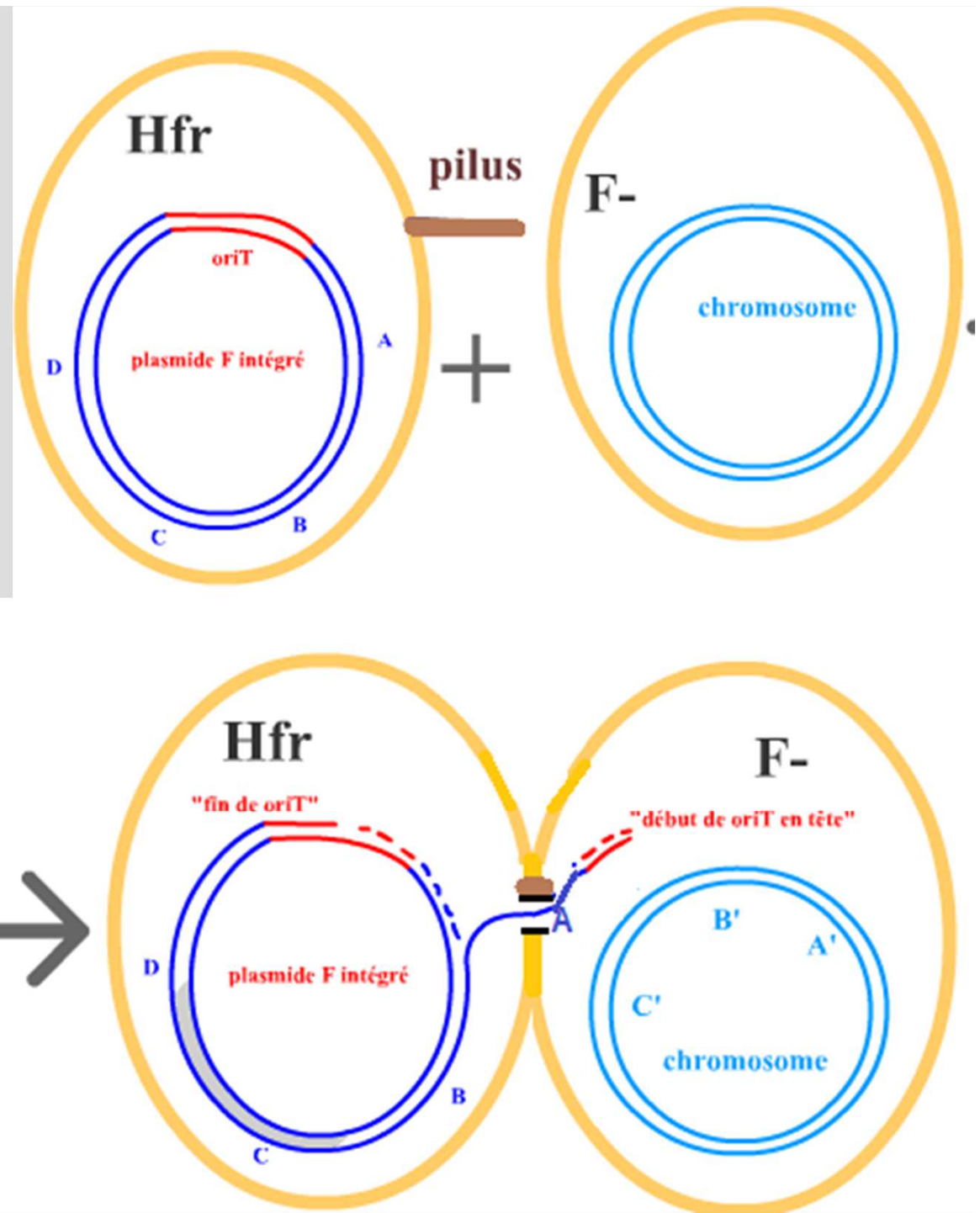


312

- Facteur sexuel
- Origine (la région qui entre en premier)
- Terminus (la région qui entre en dernier)

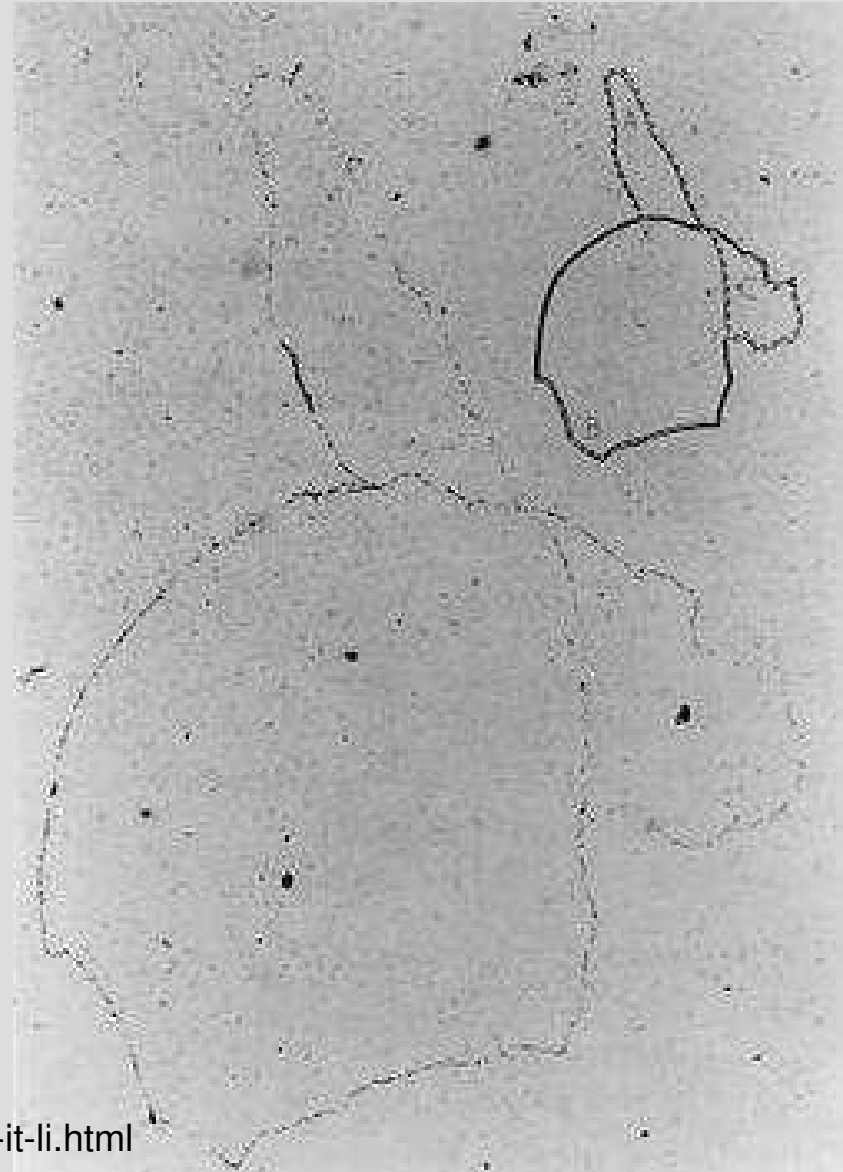
Résultats de conjugaison de bactéries Hfr obtenus par F. Jacob et E. Wollman

La conjugaison chez les bactéries Hfr

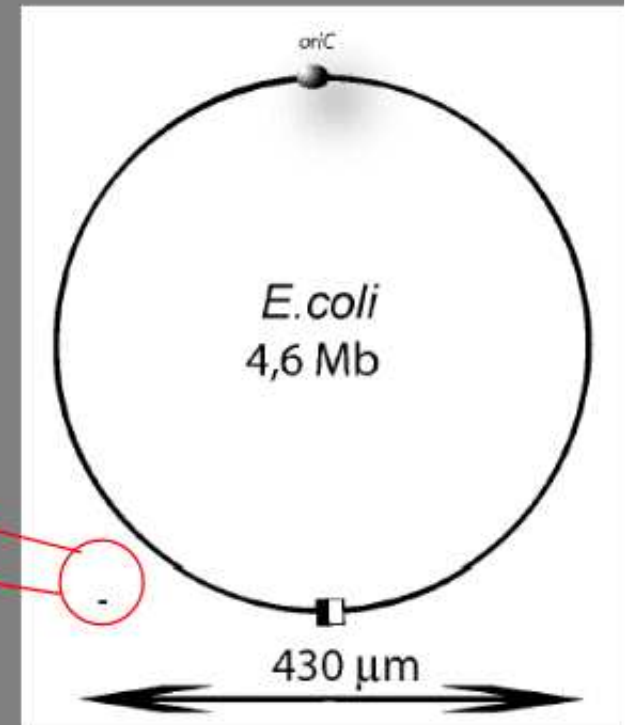
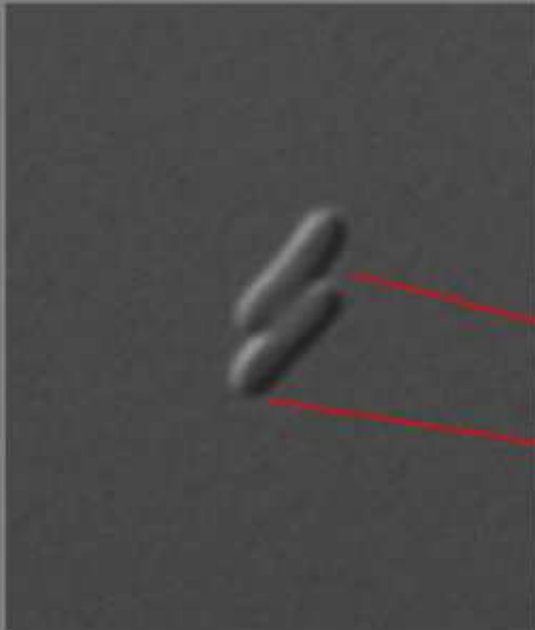


Document 2. Preuve de la circularité du chromosome bactérien par J. Cairns

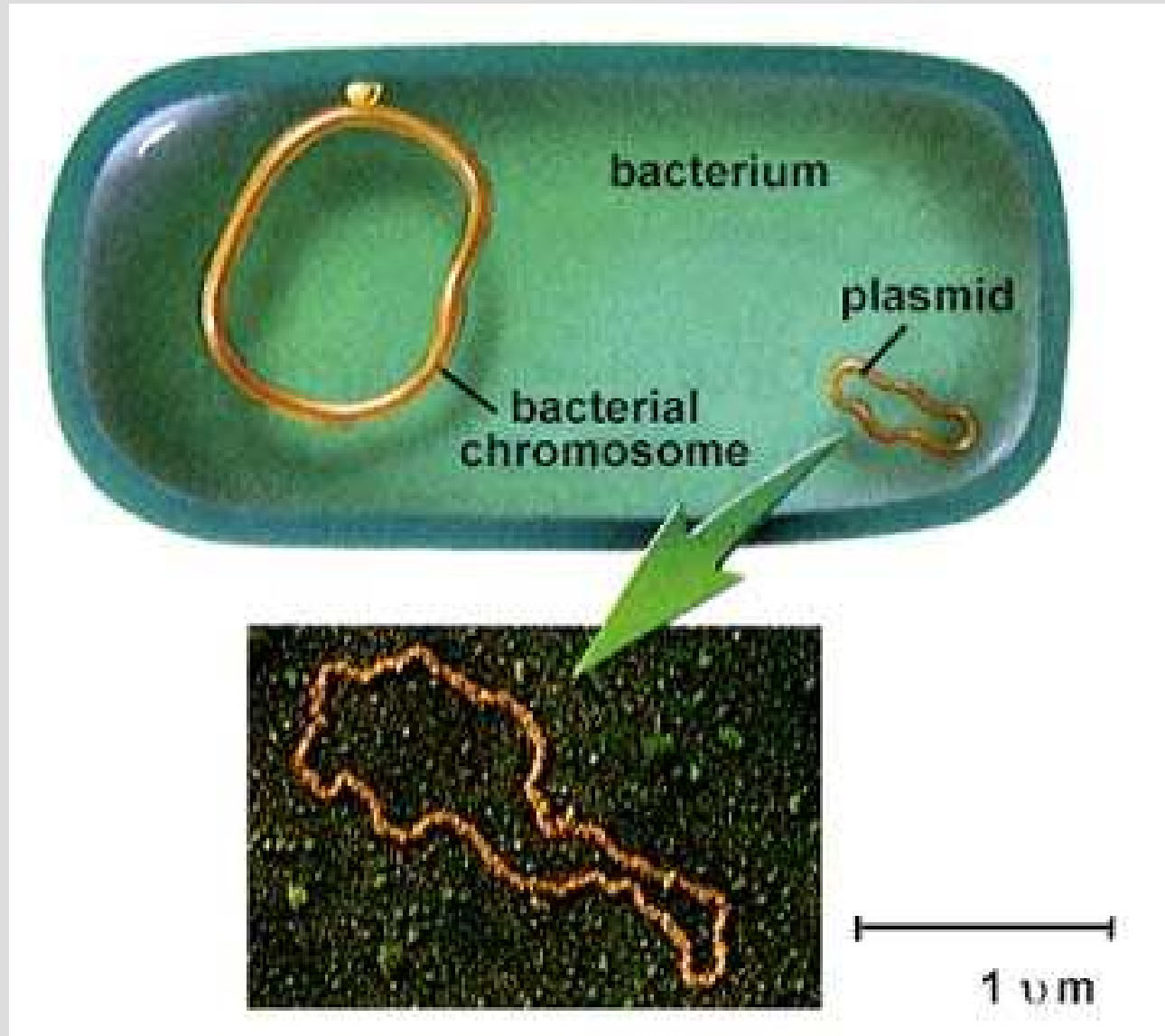
Etude par autoradiographie (après incubation avec de la thymidine tritiée) de la réplication du chromosome d'*E. coli*. (en haut à droite, schéma interprétatif).

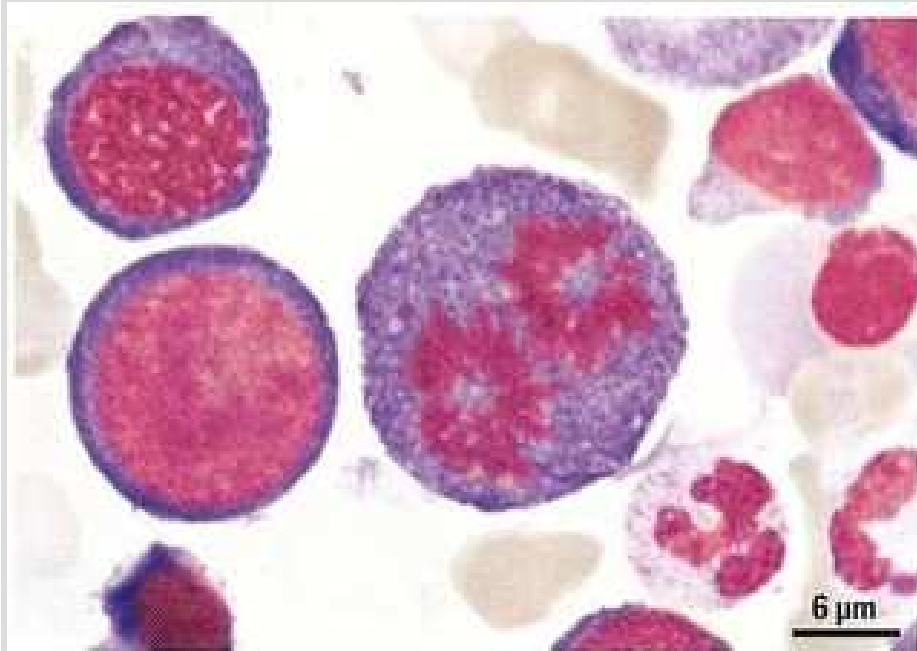


Organisation et dynamique du chromosome *Escherichia coli*

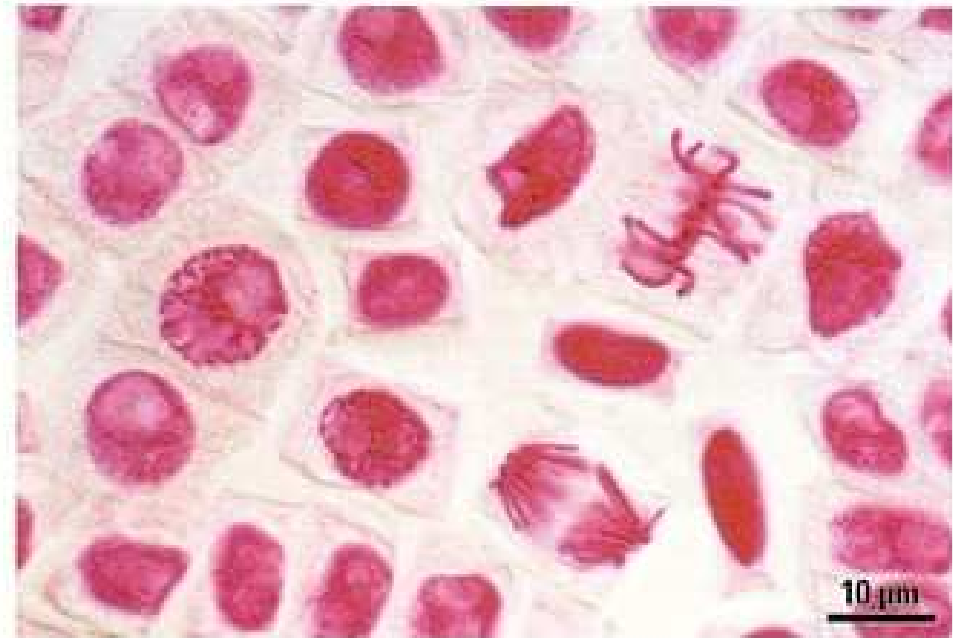


Les plasmides, des petites molécules d'ADN circulaire



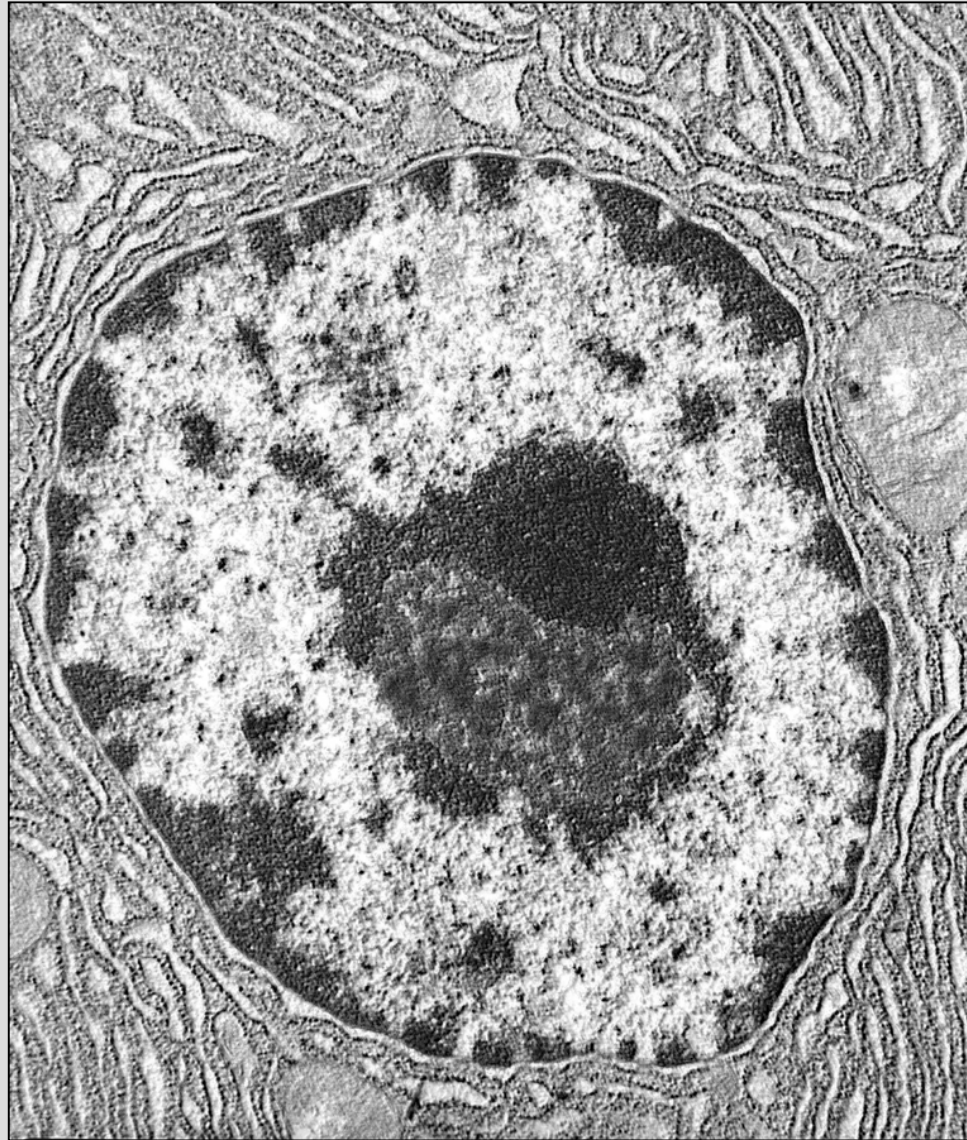


Cellules sanguines humaines colorées par la méthode de Feulgen.



Cellules de racine de jacinthe colorées par la méthode de Feulgen.

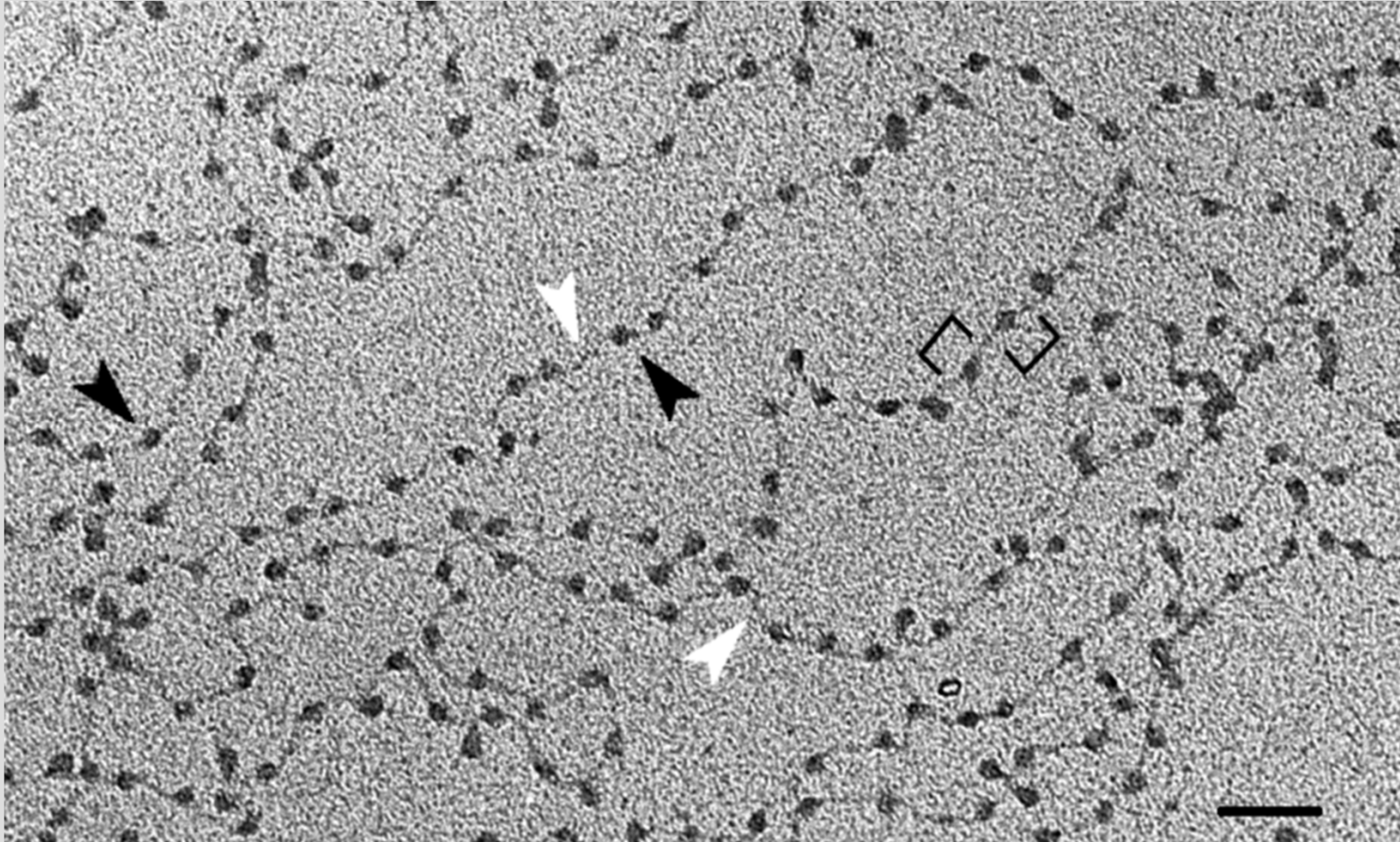
Coloration de Feulgen spécifique de l'ADN



Document 3. Noyau d'une cellule à l'interphase du cycle cellulaire.

(<http://academics.hamilton.edu/biology/kbart/image/nucleus.jpg>)

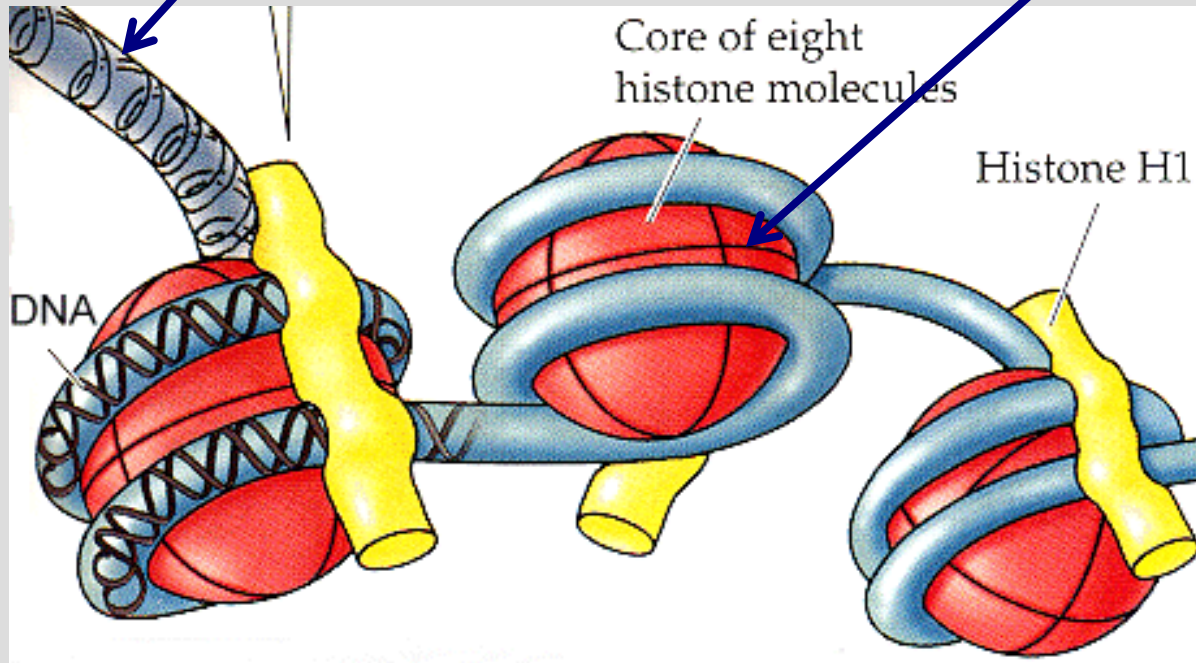
Le nucléofilament : une structure en collier de perles



Nucléofilaments de chromatine décondensée d'érythrocytes de poulet observée au MET. L'enchaînement des particules de cœur (pointes noires) séparées par les ADN de liaison (pointes blanches) a valu à cette structure son surnom de « collier de perles ». Échelle : 50 nm

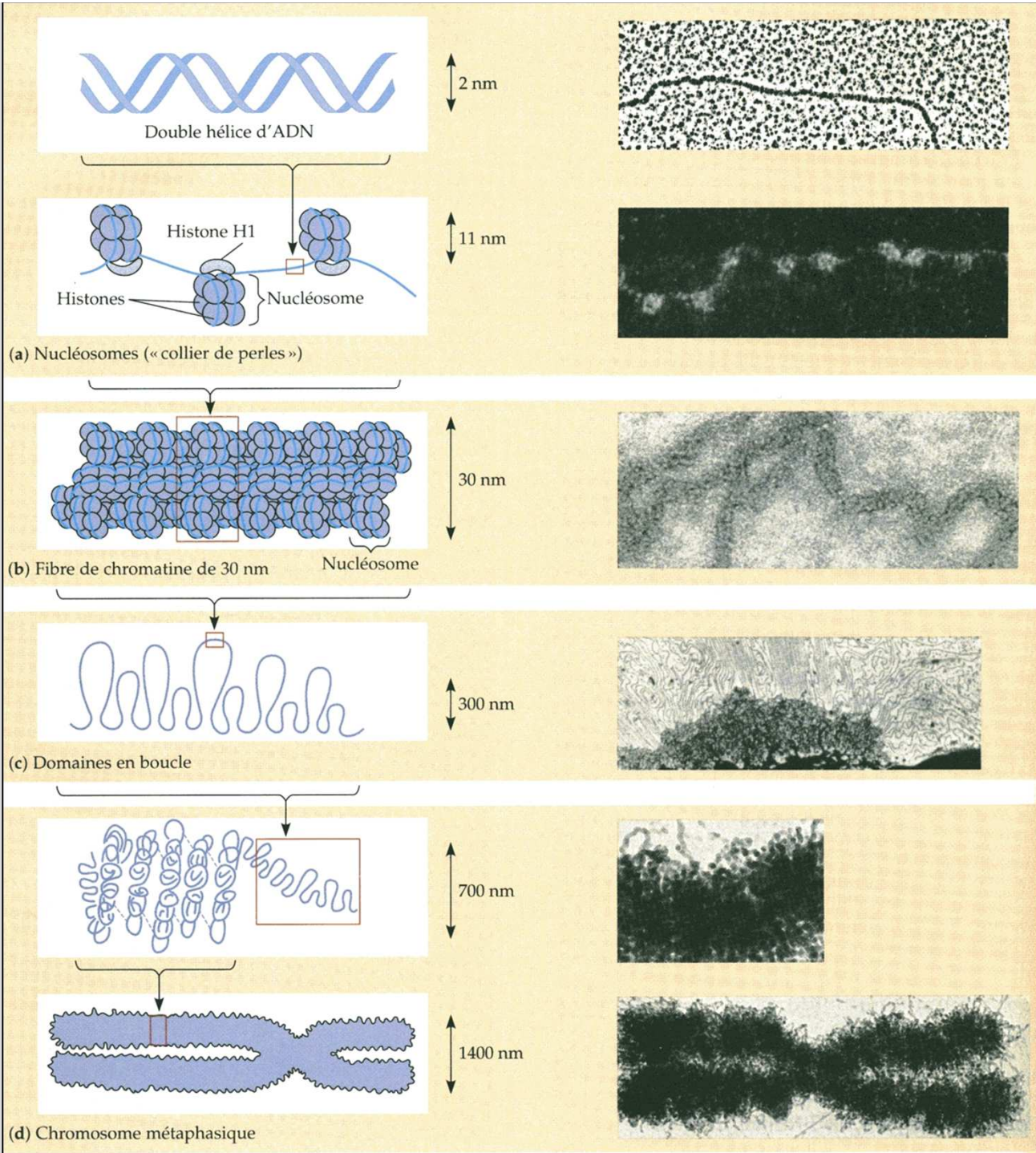
Chromatine = ADN + protéines

- histones
- non histones :
 - protéines régulatrices,
 - enzymes

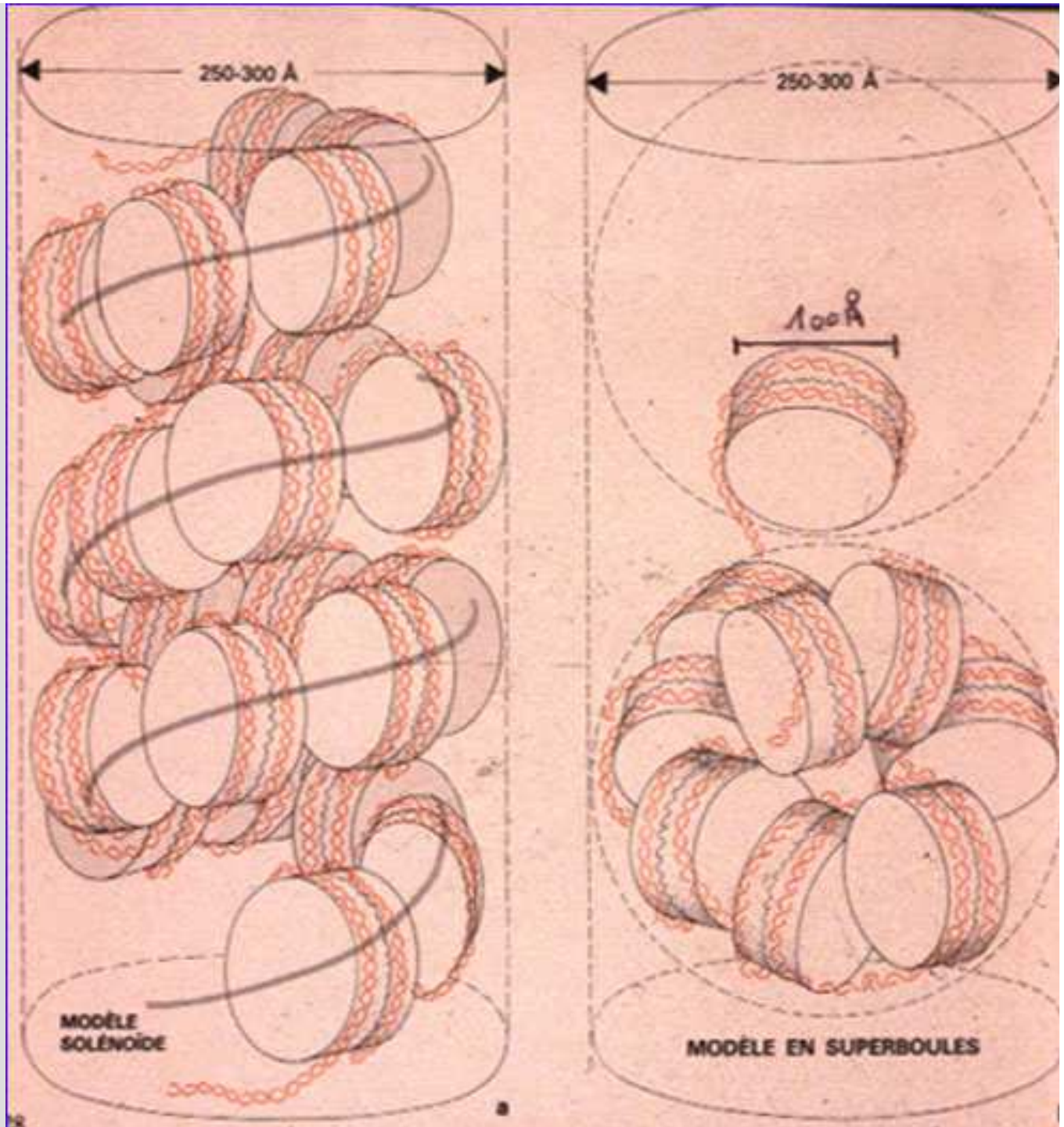


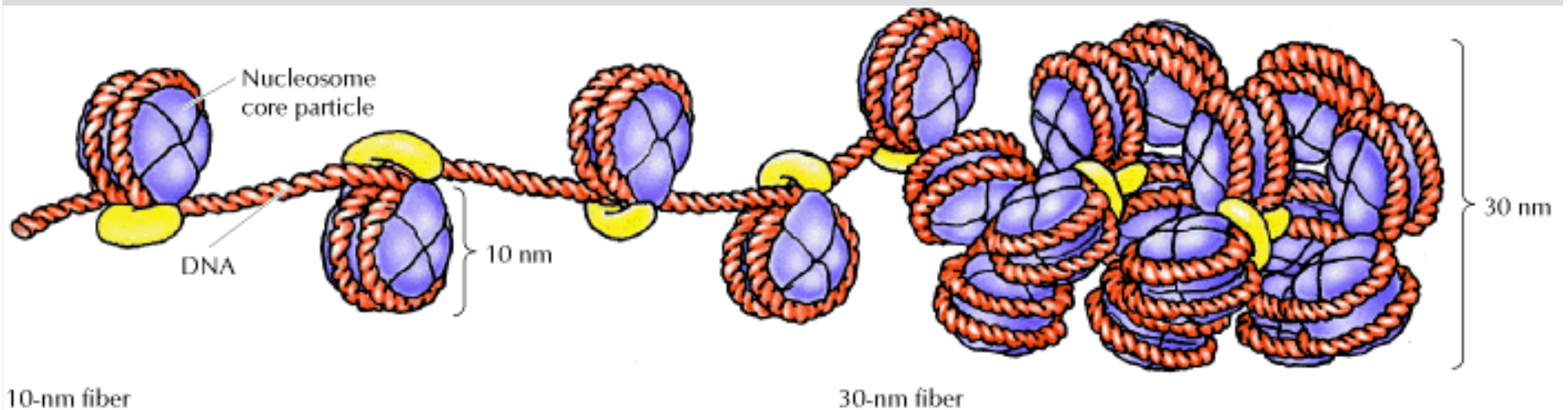
Document 4. Les différents niveaux de condensation de la chromatine (images en MET).

(CAMPBELL N., "Biologie", ERPI Ed., 1995).



**Les deux
modèles
d'organisation
de la fibre de
30 nm**

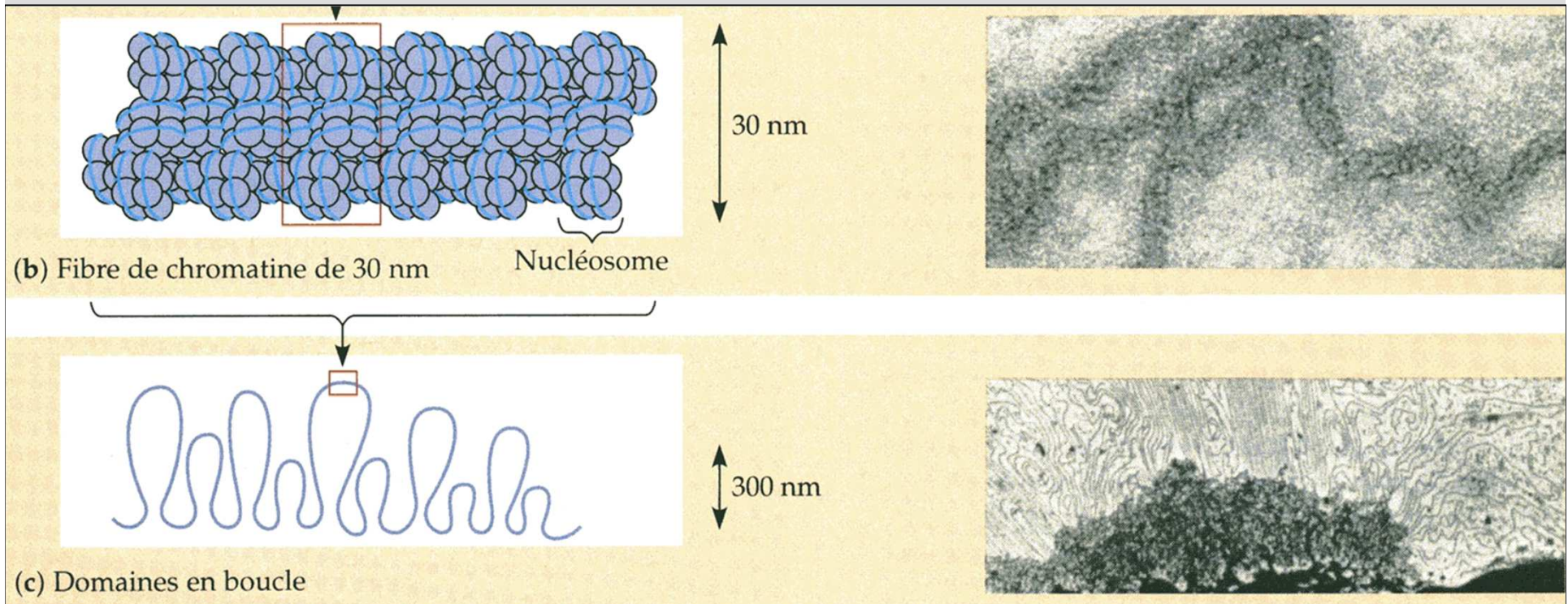




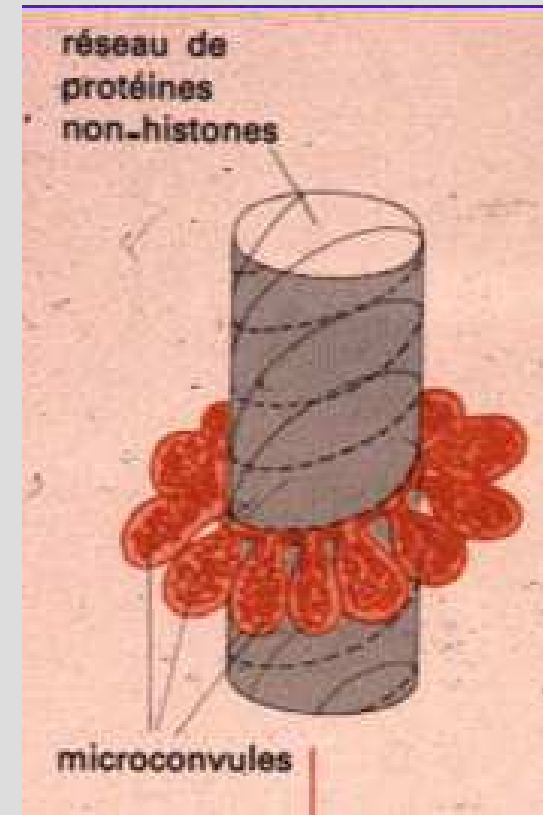
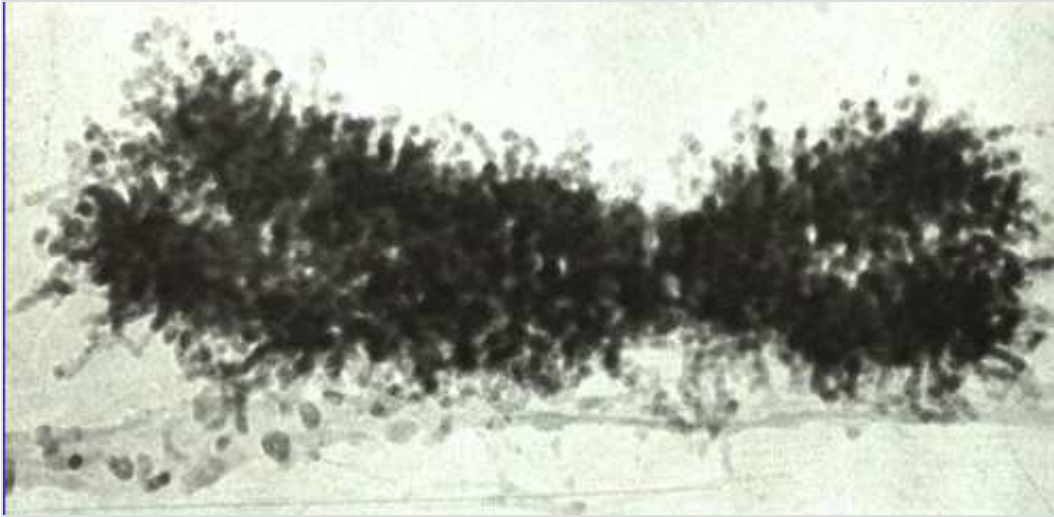
Modèle moléculaire montrant le rôle des histones H1

Document 4. Les différents niveaux de condensation de la chromatine (images en MET).

(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).

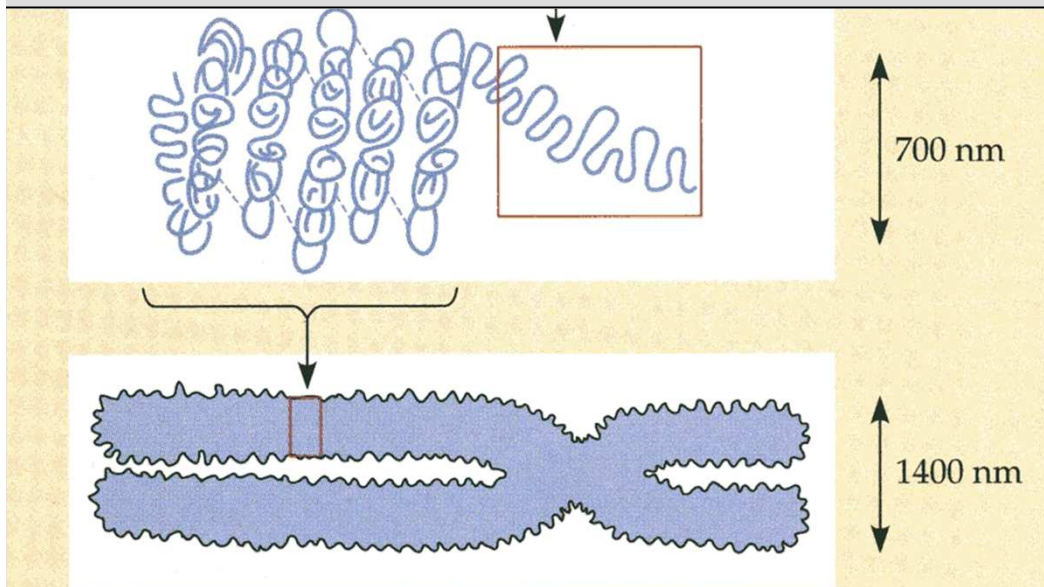


Le chromosome métaphasique, niveau de condensation maximale



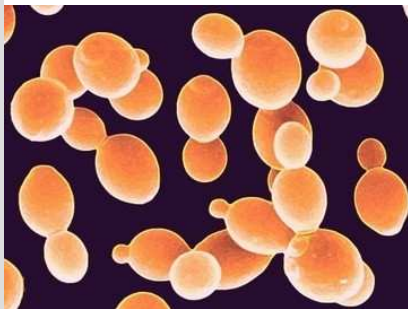
http://medidacte.timone.univ-mrs.fr/Learnnet/webcours/genetique/structure_chromo/CHAP2.HTM

La surface du chromosome est couverte de formations ovoïdes ou allongées de 50 nm de diamètre : les microconvules. Elles sont attachées à un réseau de protéines non histone.



(d) Chromosome métaphasique

Fraction codante et non-codante des génomes



S. cerevisiae, la « levure de boulanger », champignon unicellulaire, 1^{er} eucaryote dont le génome a été entièrement séquencé (1996) (longueur 5-8 μm).



C. elegans, nématode du sol, organisme modèle en biologie moléculaire (longueur 1 mm).

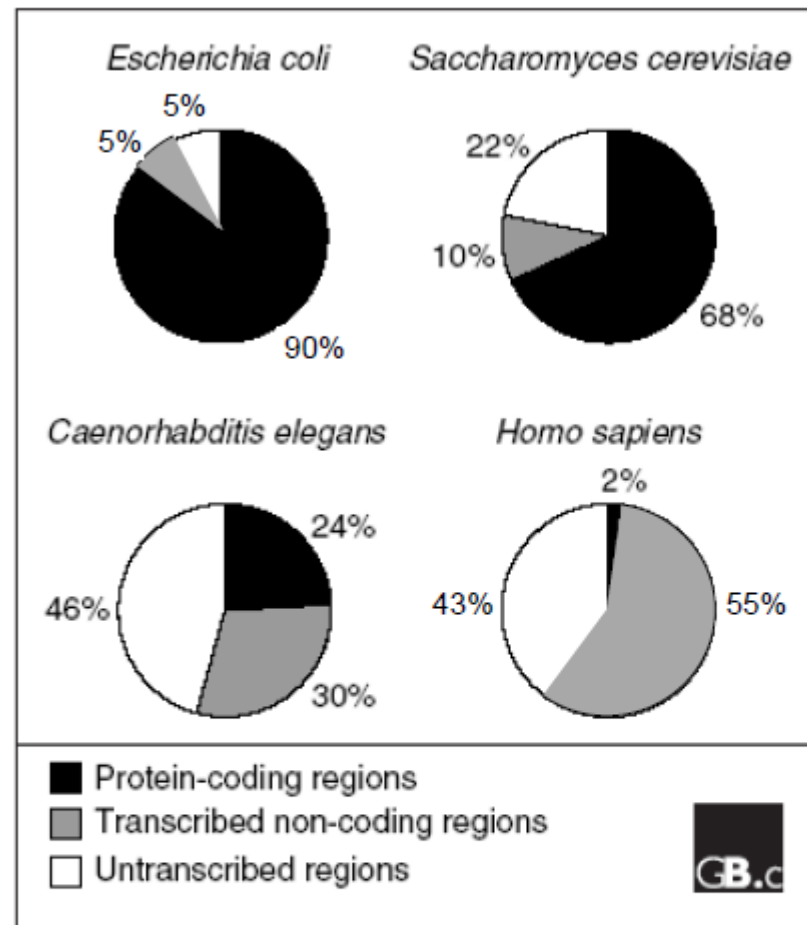
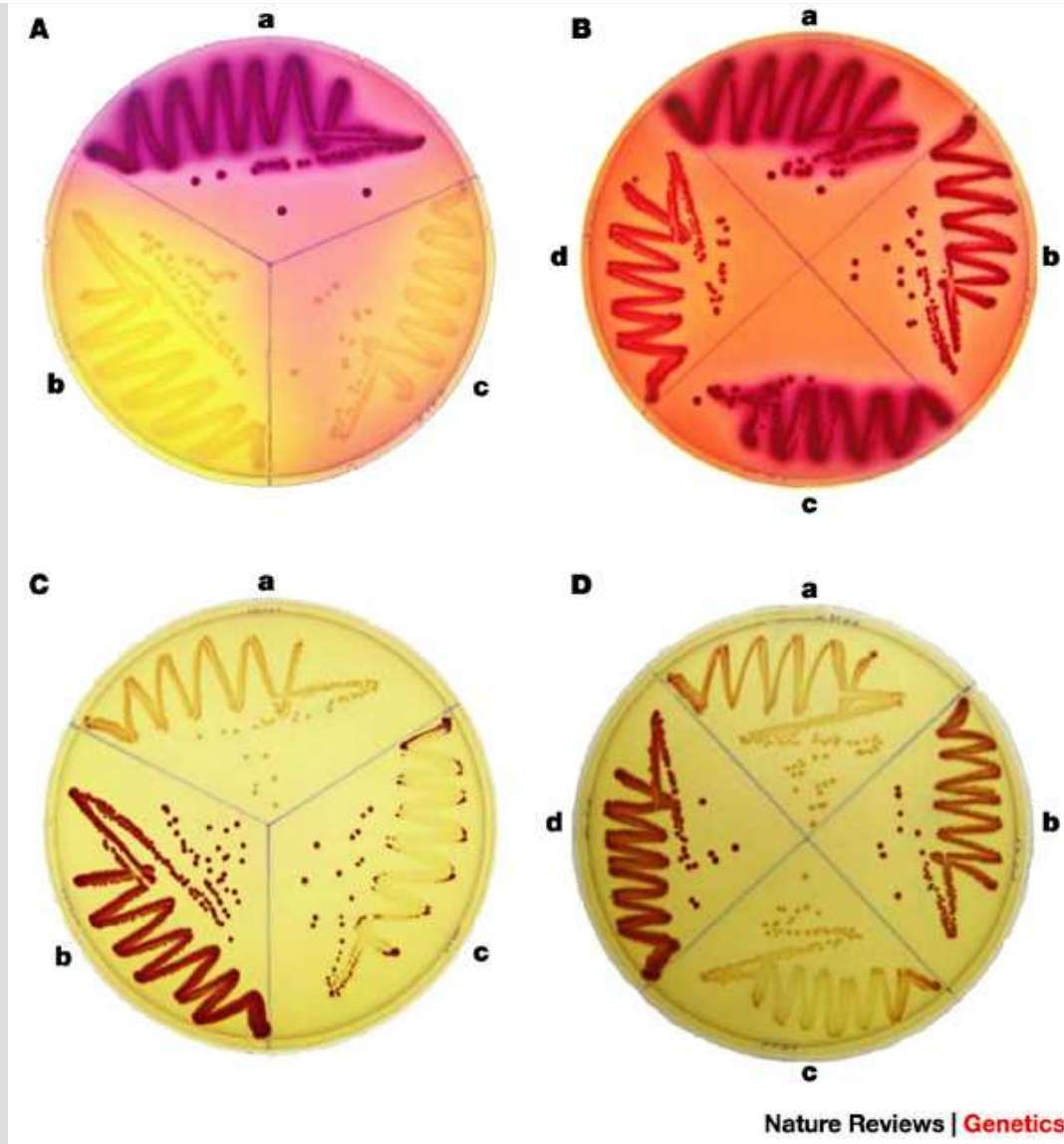


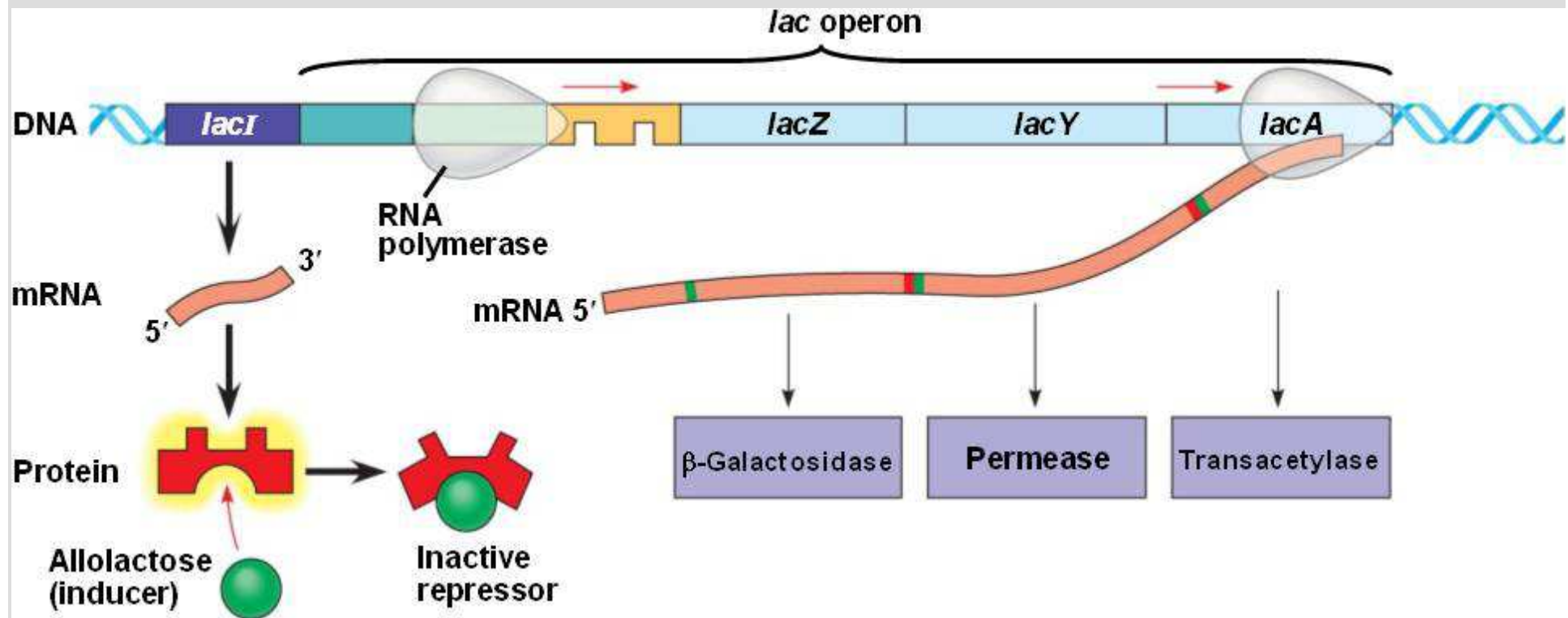
Figure 1

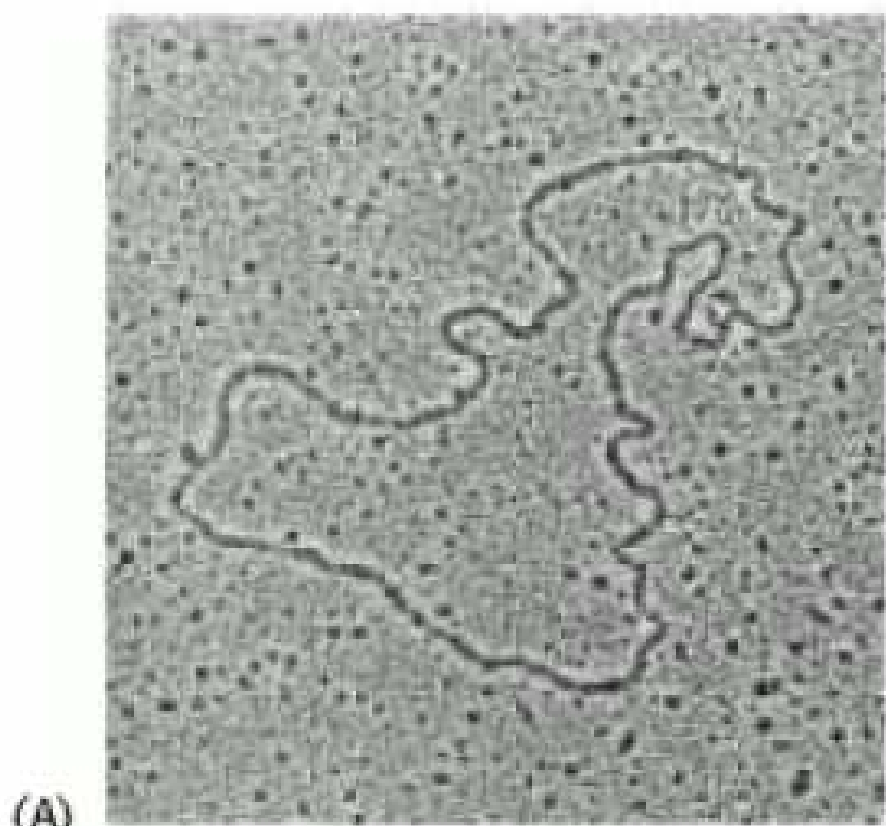
Ratios of the protein-coding, non-coding, and untranscribed sequences in bacterial, yeast, nematode and mammalian genomes. Estimations of the transcribed and protein-coding parts of genomes are based on the sequence length of annotated genes [3, 12, 13, 73]. Estimation of the transcribed portion of the human genome is based on the sequence length occupied by the annotated genes on chromosomes 6, 7, 14, 20, and 22 [5].



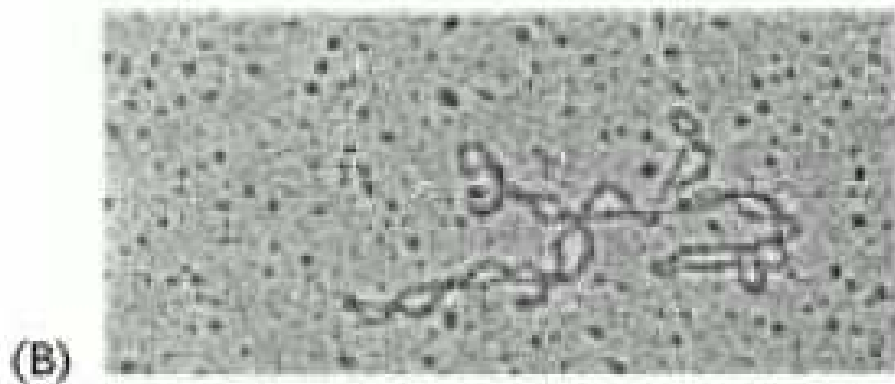
**Souches sauvage (a) et mutantes (b, c, d)
mises en culture sur différents milieux**

Document 5. Organisation de l'opéron lactose d'E. coli.





1 μm



ADN mitochondrial, MET.
a. Forme décondensée
b. Forme superenroulée

Génome mitochondrial

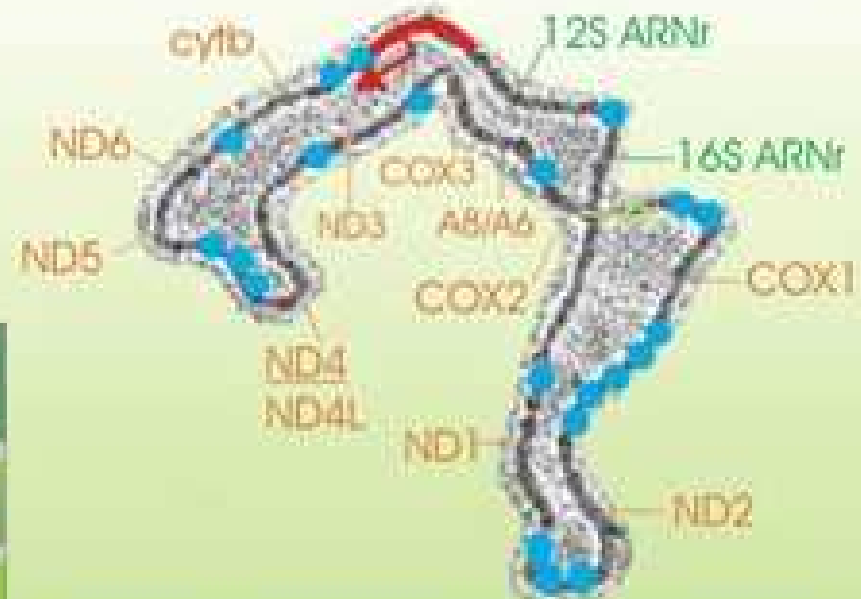
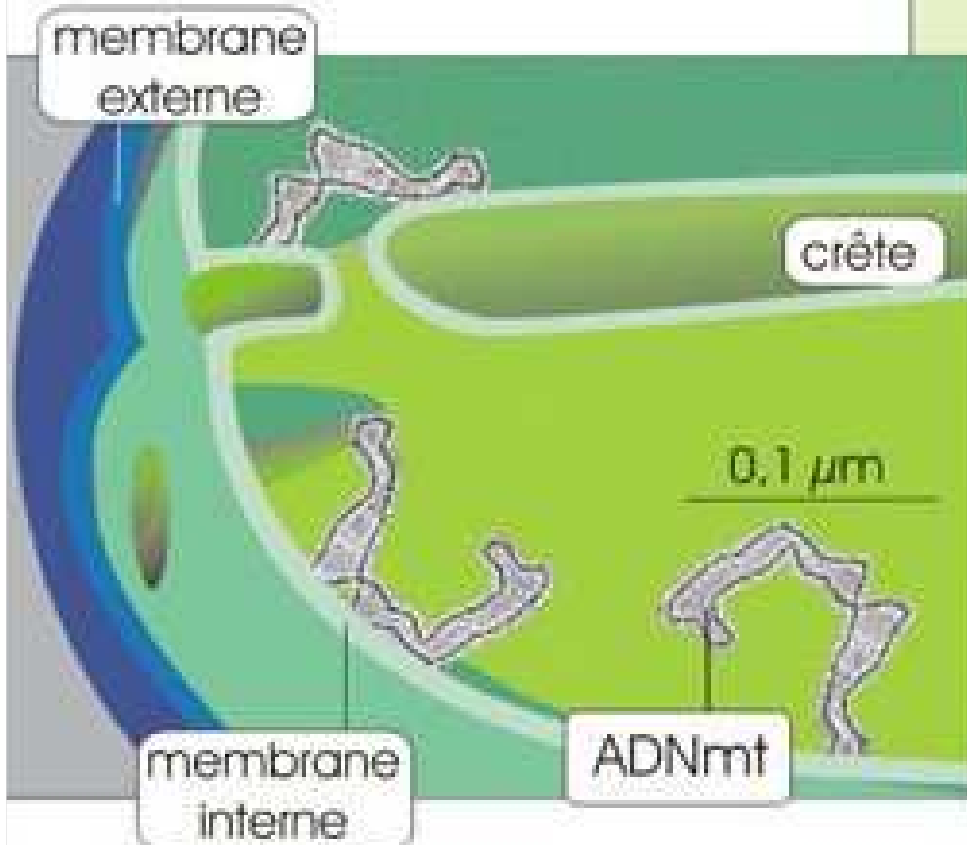
Groupes d'Eucaryotes	Taille du génome mitochondrial (kb)	Gènes codant des protéines	Gènes codant des ARN
Champignons	19 – 100	8 – 14	10 - 28
Protistes	6 – 100	3 – 62	2 - 29
Plantes	186 – 366	27 – 34	21 - 30
Animaux	16 - 17	13	4 -24

Le génome mitochondrial comprend des gènes codant des protéines, des ARNr, des ARNt.

L'ADN mitochondrial humain

ADN mitochondrial circulaire et les gènes qu'il portent

ADN mitochondrial humain 16 569 pb



ND + cytb = sous unités du complexe III
COX = sous unités du complexe IV
AB/A6 = sous unités du complexe V
● = ARN de transfert
12S ARNr = sous unité du ribosome
— = ADN non codant

Génomes mitochondrial et chloroplastique

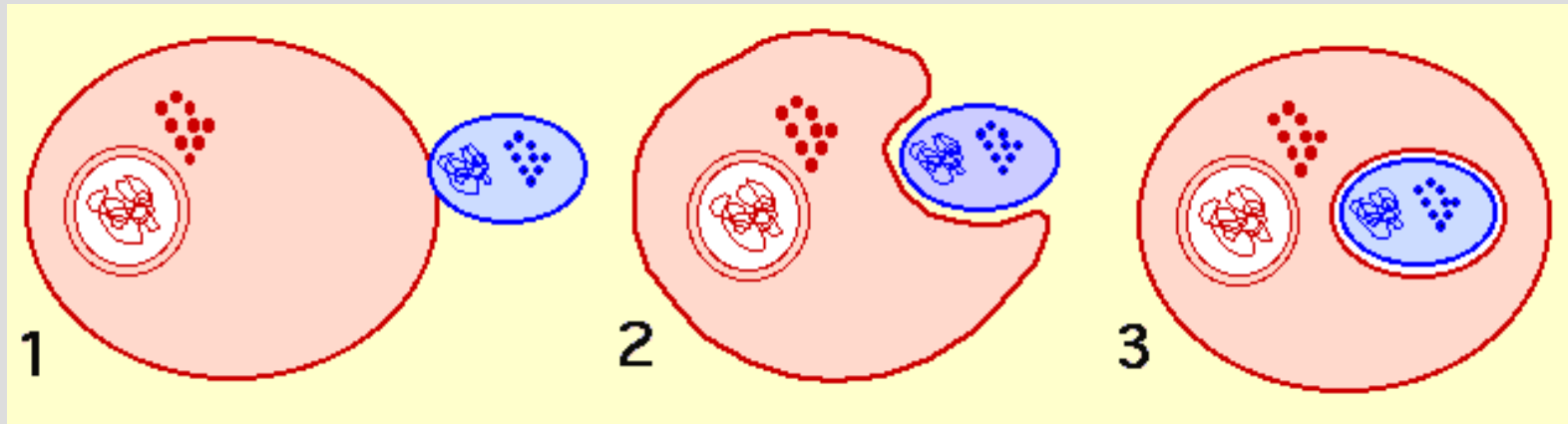
Groupes d'Eucaryotes	Taille du génome mitochondrial (kb)	Gènes codant des protéines	Gènes codant des ARN
Champignons	19 – 100	8 – 14	10 - 28
Protistes	6 – 100	3 – 62	2 - 29
Plantes	186 – 366	27 – 34	21 - 30
Animaux	16 - 17	13	4 -24

Le génome mitochondrial comprend des gènes codant des protéines, des ARNr, des ARNt.

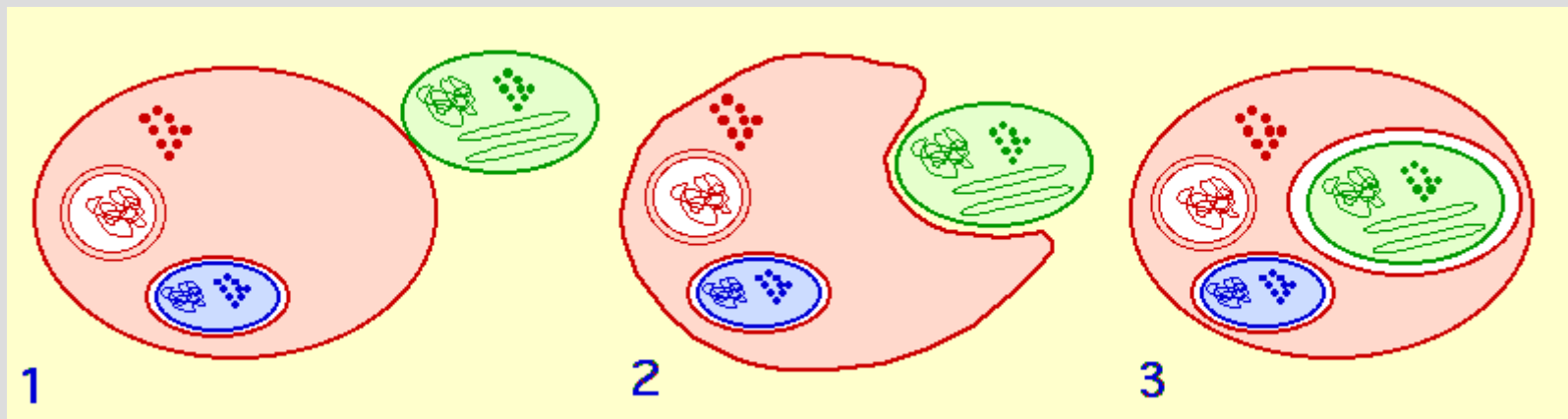
Taille du génome chloroplastique	Gènes codant des ARN	Gènes codant des protéines
70 à 200 kb	ARNr : 4	~ 60
	ARNt : 30 - 32	

Gènes codant du génome chloroplastique des plantes terrestres.

La théorie endosymbiotique



**Absorption d'une bactérie par une cellule eucaryote primitive
à l'origine des mitochondries**



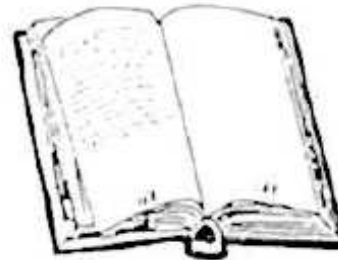
**Absorption d'une bactérie photosynthétique
par une cellule eucaryote à mitochondries
à l'origine des chloroplastes**

TAILLES COMPAREES DE QUELQUES GENOMES

virus : λ
 5×10^3 pdb
 2 pages



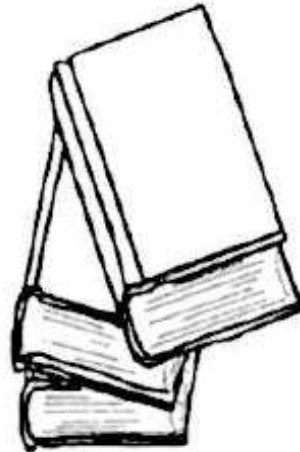
bactérie : *E. coli*
 $4,6 \times 10^6$ pdb
 168 pages



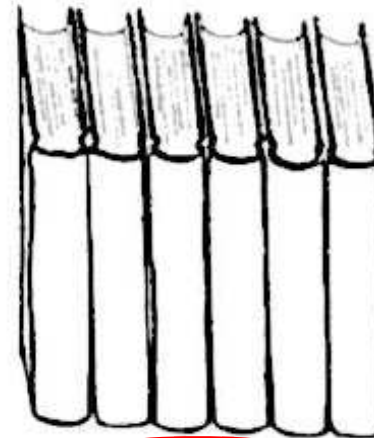
levure : *S. cerevisiae*
 13×10^6 pdb
 600 pages



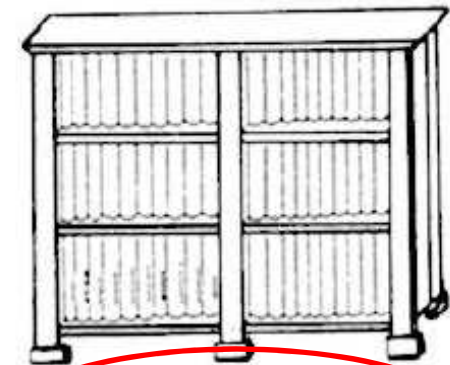
Ecrire la succession des bases d'un génome, à raison de 25 kb par page et de 1 500 pages par volume, donne les résultats suivants, de quelques pages à de très nombreux volumes



nématode : *C. elegans*
 97×10^6 pdb
 3 volumes



mouche : *D. melanogaster*
 180×10^6 pdb
 6 volumes



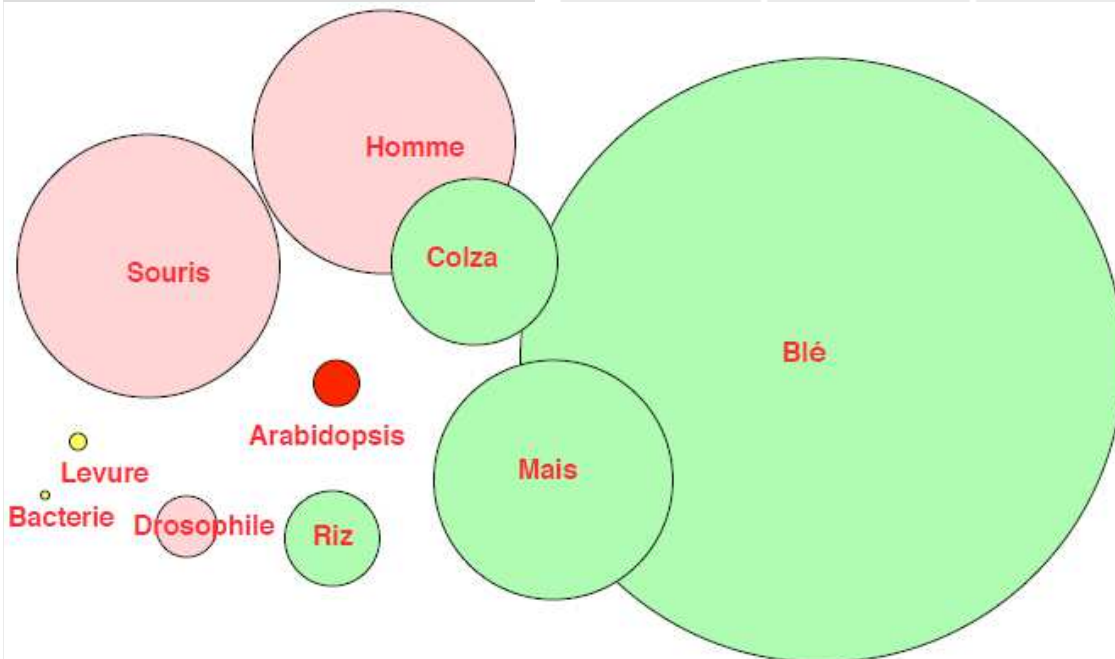
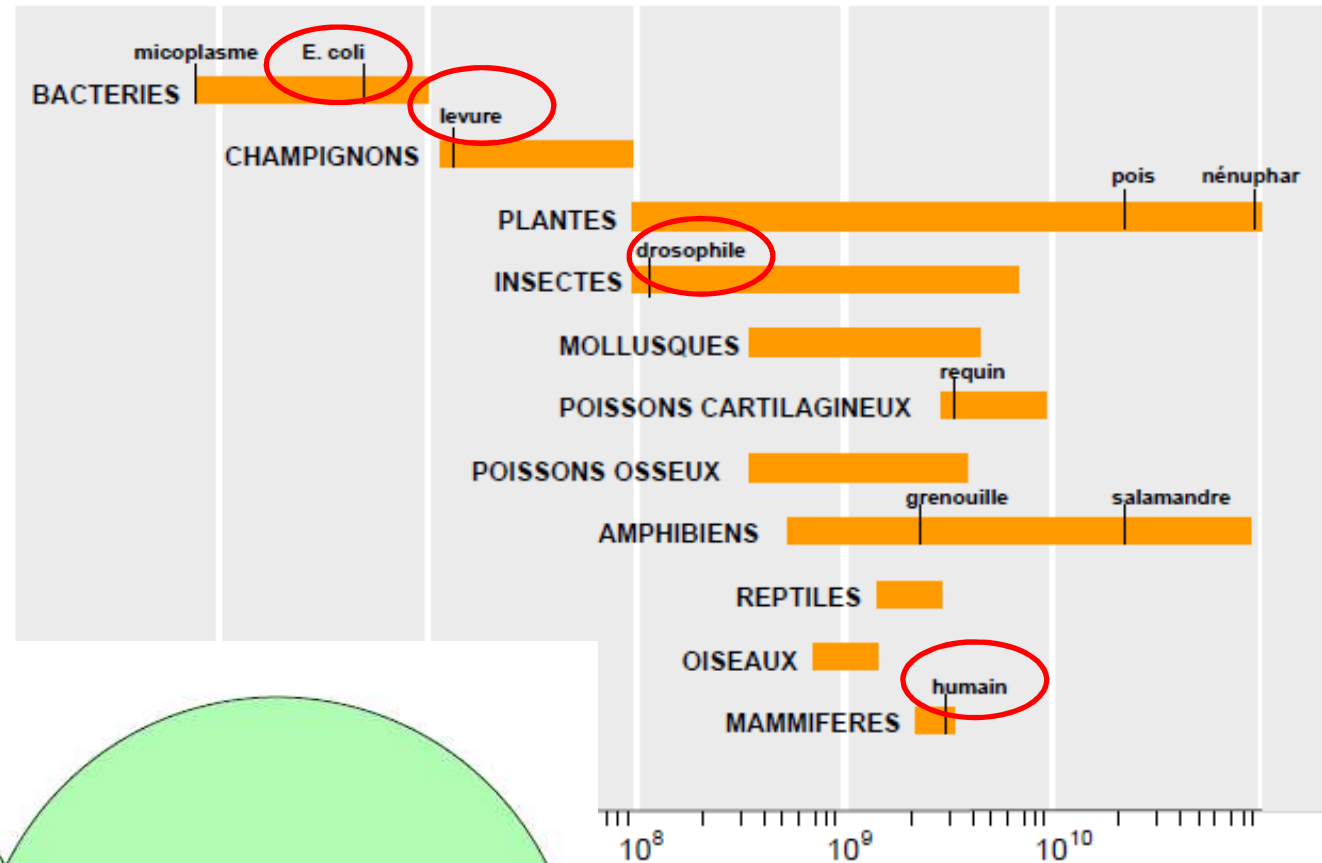
homme : *H. sapiens*, $3\,300 \times 10^6$ pdb
 90 volumes
Mais : *Z. mays*, 5000 Mb,
 135 volumes

<http://abiens.snv.jussieu.fr/AHA/docs/LV203/Chapitre%201%20-%20G%C3%A9n%C3%A9tique.pdf>

Document 6. Nombre de paires de bases par génome haploïde.

<http://rna.igmors.u-psud.fr/gautheret/cours/L2-ADN2.pdf>

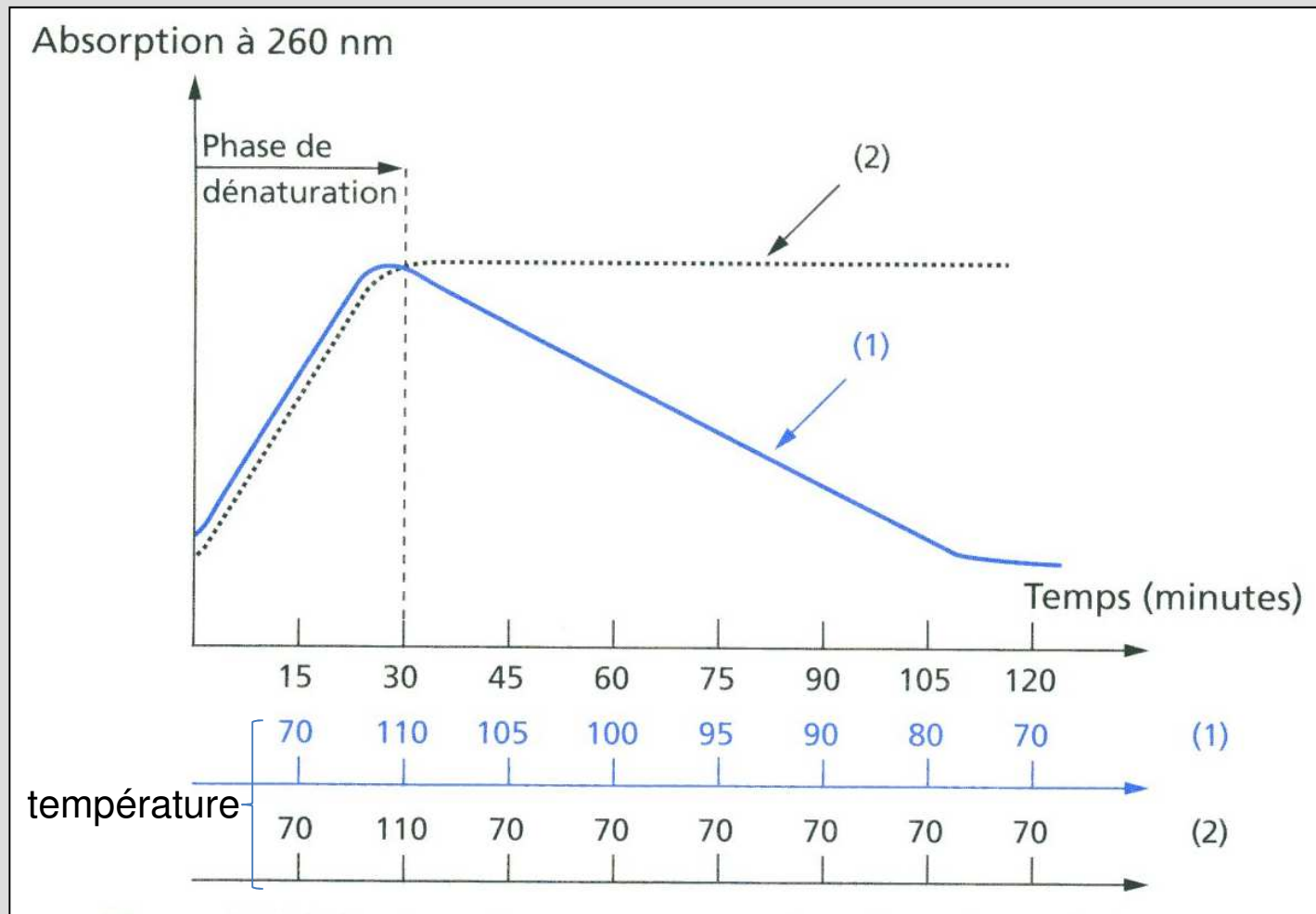
Taille des génomes



Taille des génomes nucléaires.

http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/cours_ge__769_nome_I.pdf

Suivi de la renaturation par absorption dans l'UV

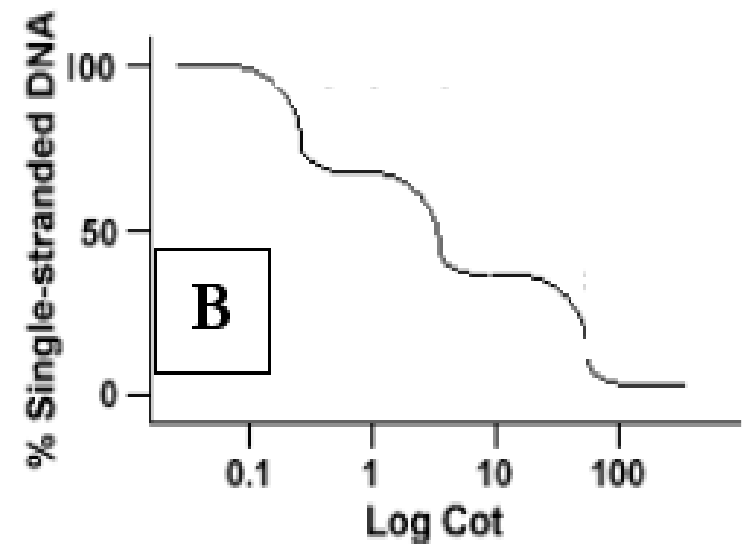
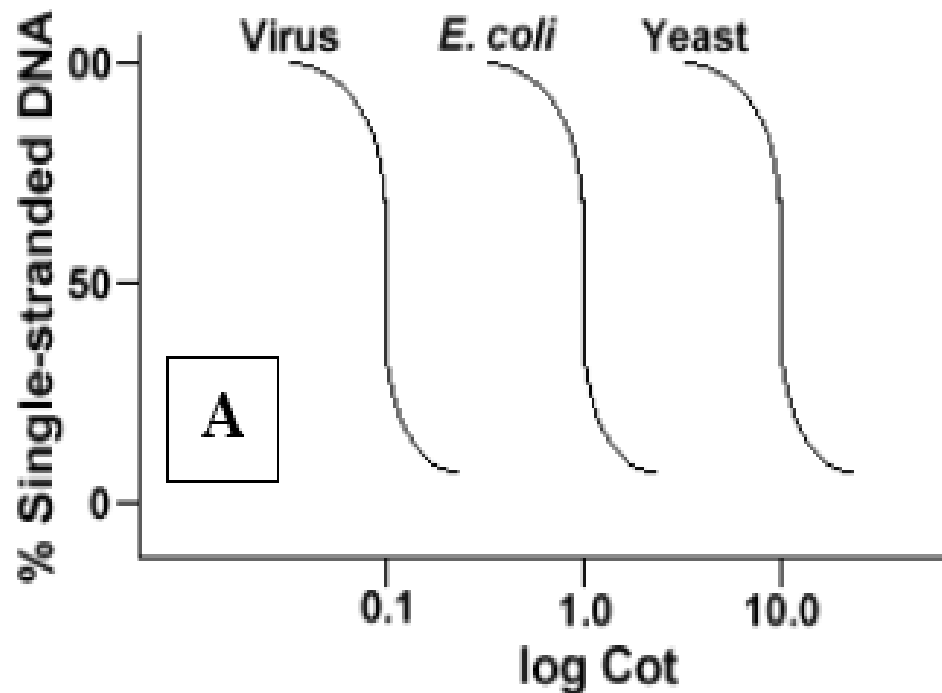


Dénaturation et renaturation thermique de fragments d'ADN.

1 – L'ADN dénaturé est refroidi lentement.

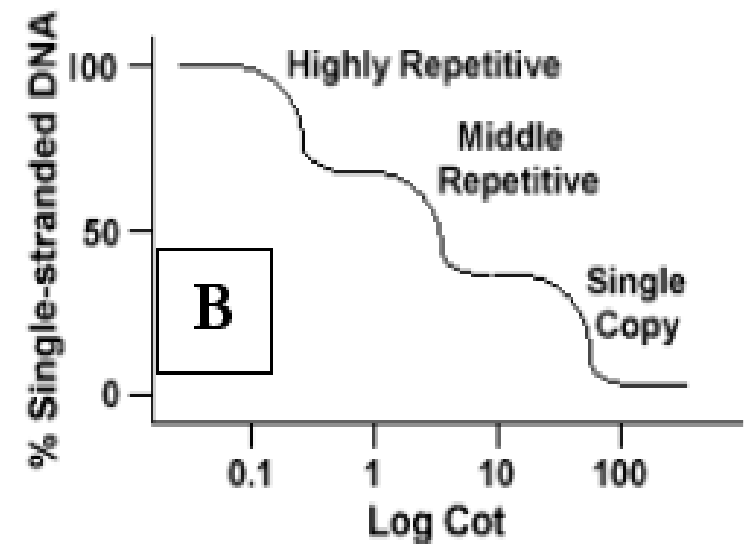
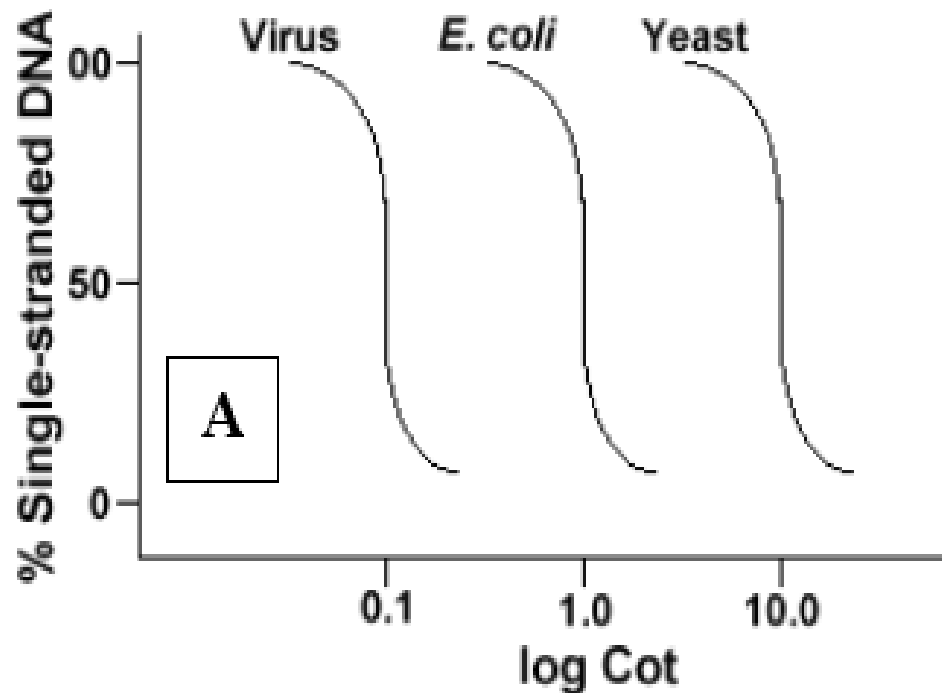
2 – L'ADN dénaturé est refroidi brutalement.

Document 7. Courbes de C_0t obtenues pour des virus et des unicellulaires (A) et des pluricellulaires (B).

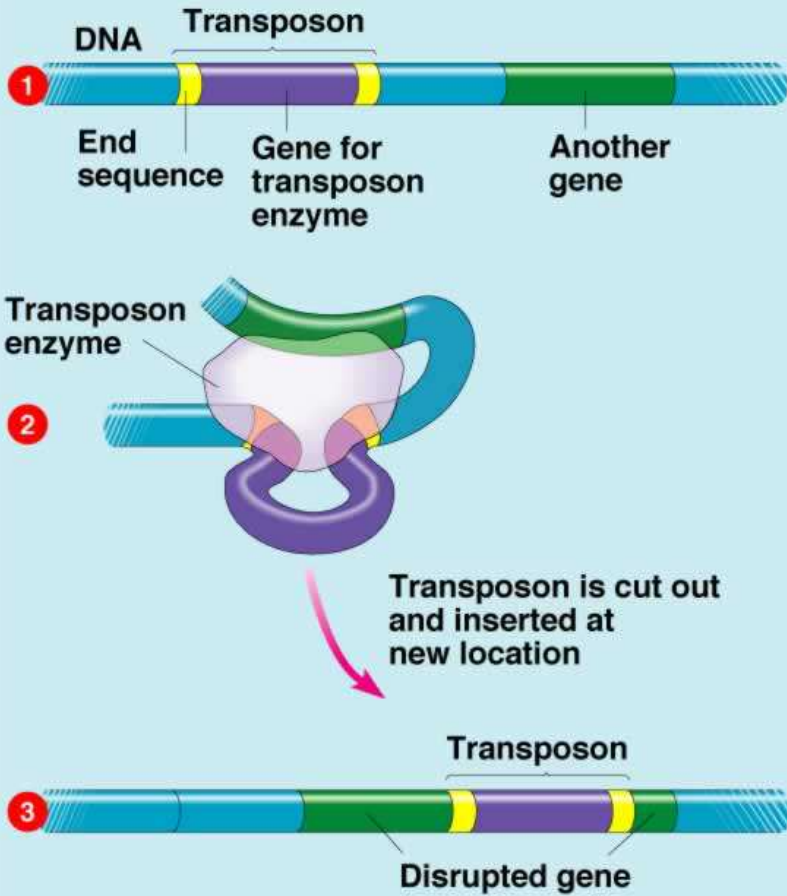


Eucaryotes multicellulaires

Document 7. Courbes de C_0t obtenues pour des virus et des unicellulaires (A) et des pluricellulaires (B).

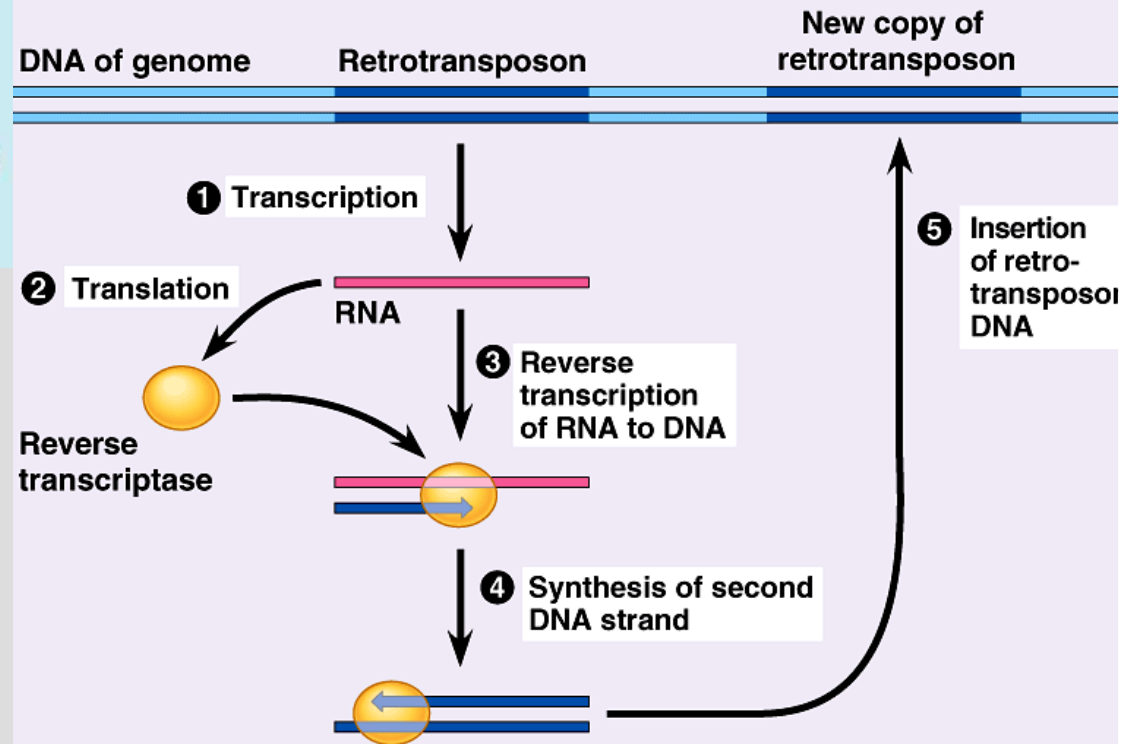


Eucaryotes multicellulaires



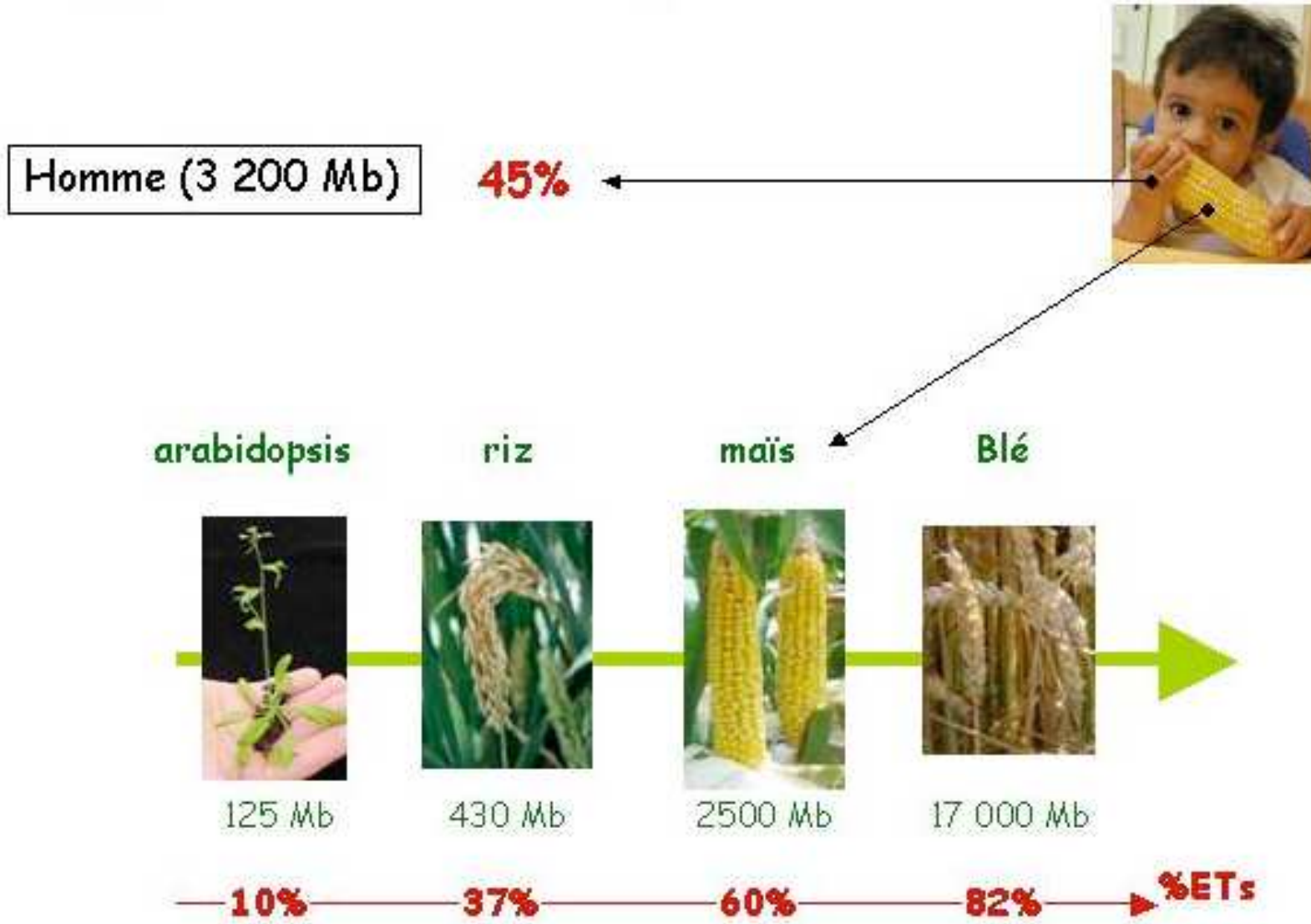
**Transposition d'un transposon :
mécanisme de « couper – coller »**

**Transposition d'un rétrotransposon :
mécanisme de « copier – coller »**

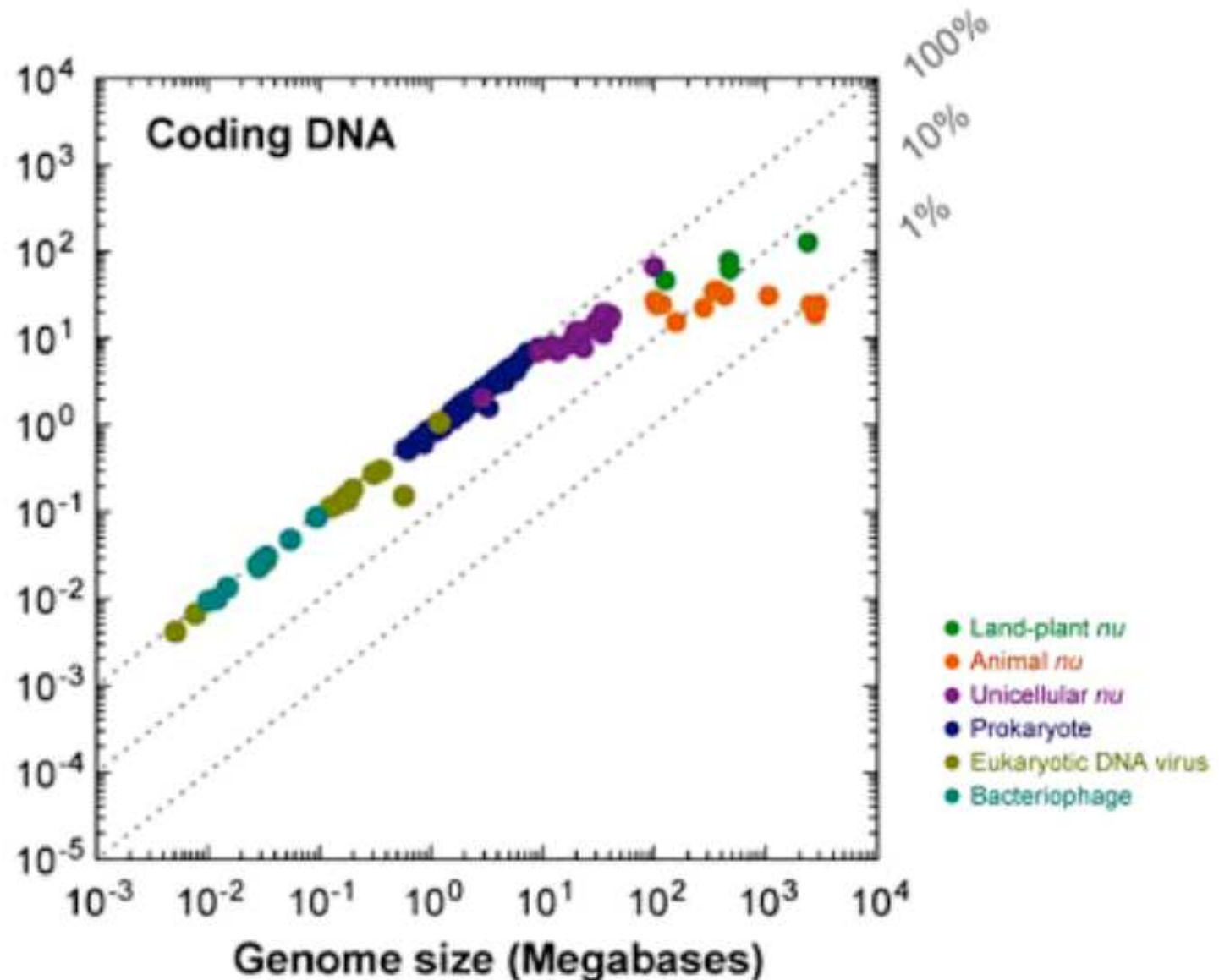


<http://www.chrisdellavedova.com/2008/01/29/science-tuesday-one-cells-junk-is-another-cells-treasure/>

Les éléments génétiques mobiles, des composants majeurs de tous les génomes eucaryotes

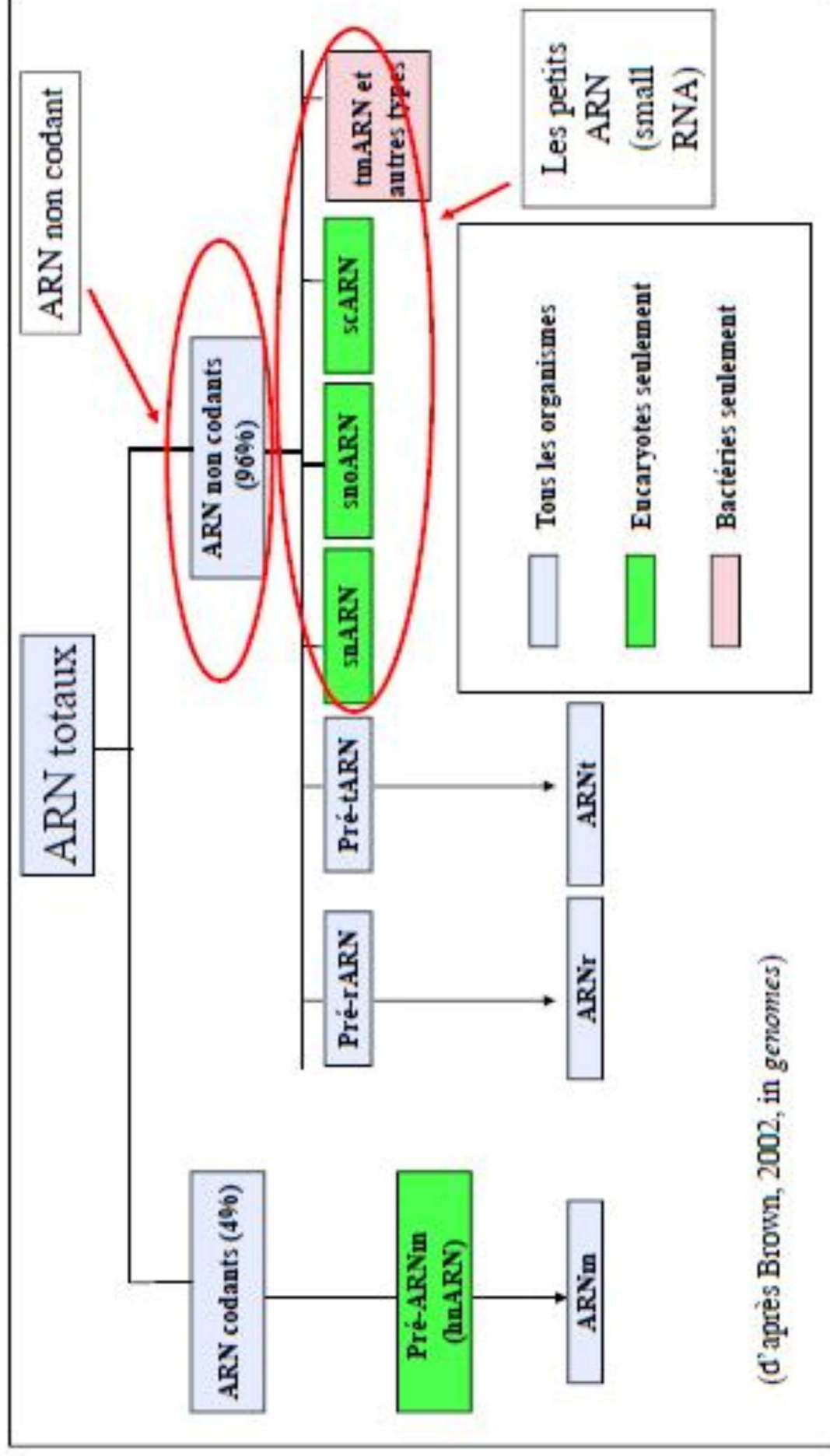


quantité d'ADN codant en fonction de la taille du génome

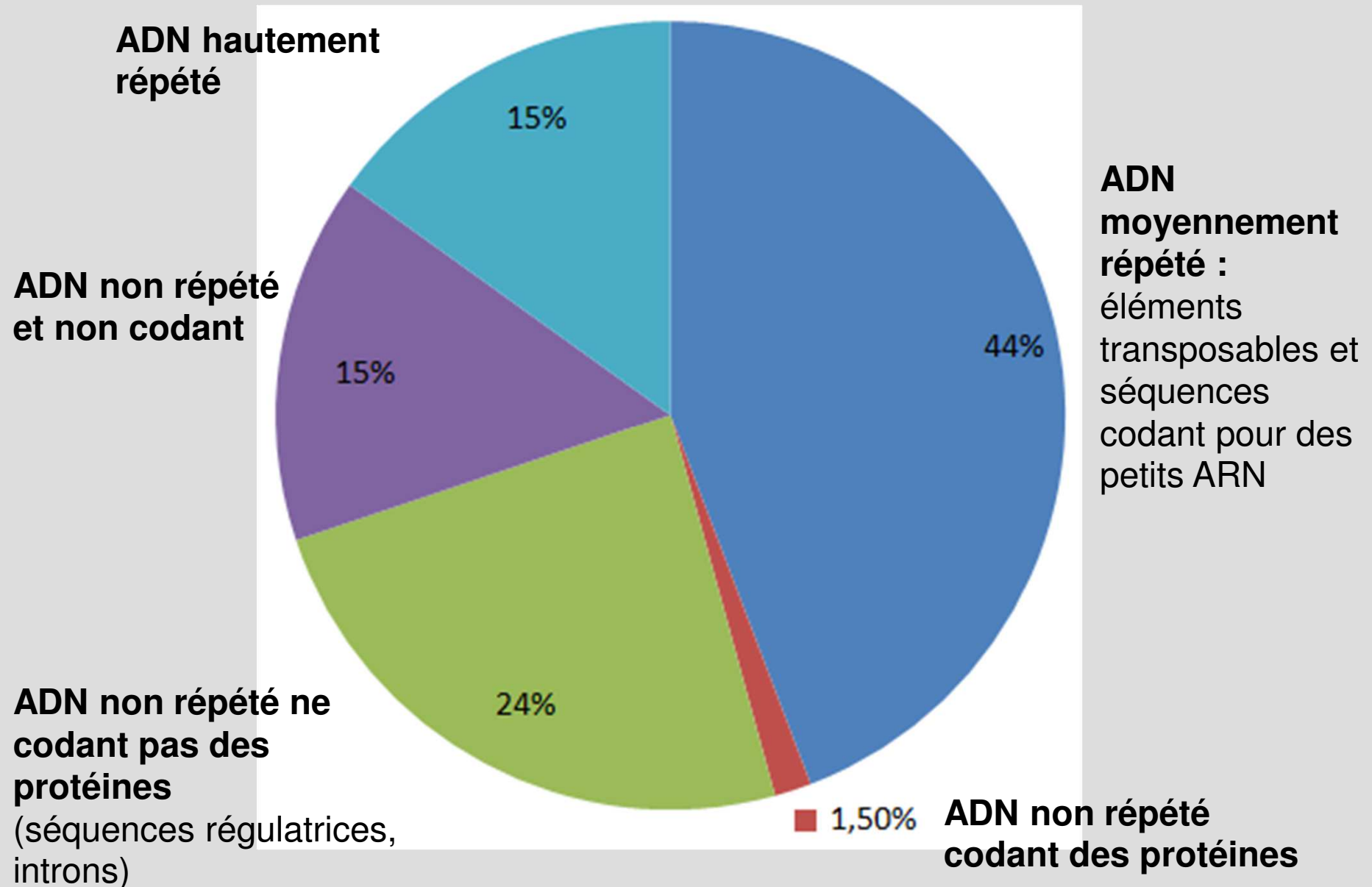


Les ARN cellulaires

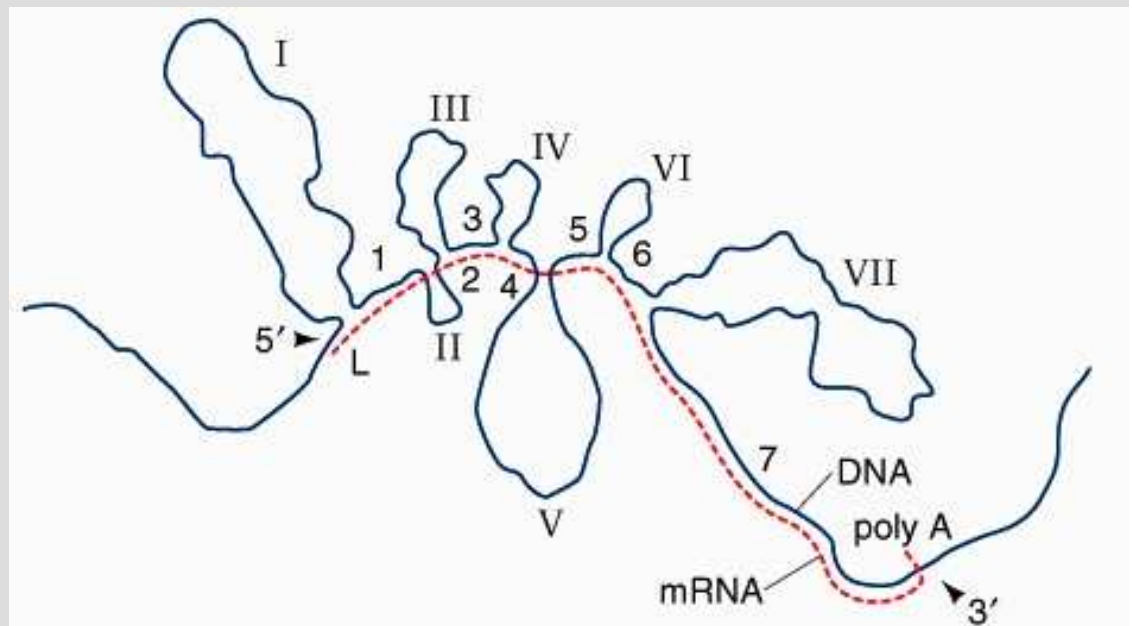
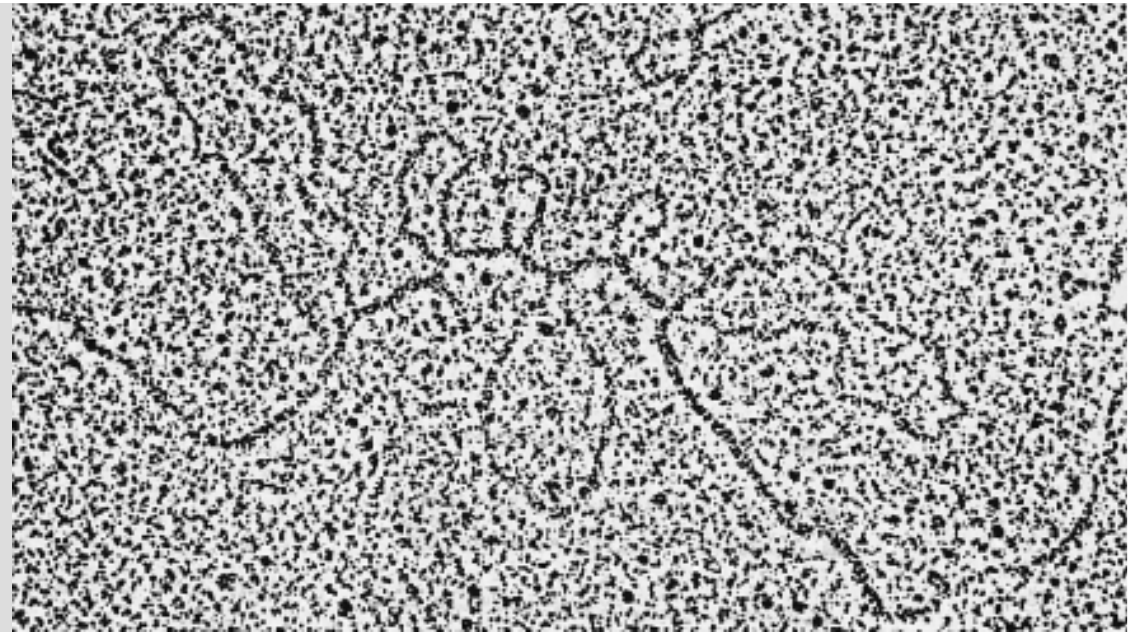
15



Types de séquences d'ADN dans le génome humain



**Document 8: Figure
d'hybridation de
l'ADN du gène de
l'ovalbumine et de
l'ARNm
correspondant
(MET).**



From Chambon, P., *Sci. Am.* 244(5), 61 (1981).
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Document 9. Organisation des génomes des êtres vivants.

		A l'échelle de la cellule	A l'échelle du chromosome	A l'échelle du gène
Génome eucaryote	extranucléaire	<p>Localisé dans la mitochondrie et dans le chloroplaste</p> <p>Plusieurs copies d'un même chromosome circulaire non associé à des protéines histones</p>	<p>L'essentiel de l'ADN est codant</p>	<p>Pas ou peu d'introns</p>
	nucléaire	<p>Localisé dans le noyau</p> <p>Plusieurs molécules d'ADN associées à des protéines histones</p>	<p>Présence de régions non codantes et répétées</p> <p>Présence de régions régulatrices</p>	<p>Présence d'introns</p>
Génome eubactéries		<p>Localisé dans la région nucléoïde</p> <p>Un seul chromosome circulaire (une seule molécule d'ADN)</p> <p>Plasmides (ADN extrachromosomique)</p>	<p>L'essentiel de l'ADN est codant</p> <p>Présence de séquences régulatrices</p> <p>Présence d'opérons</p>	<p>Pas d'intron</p>