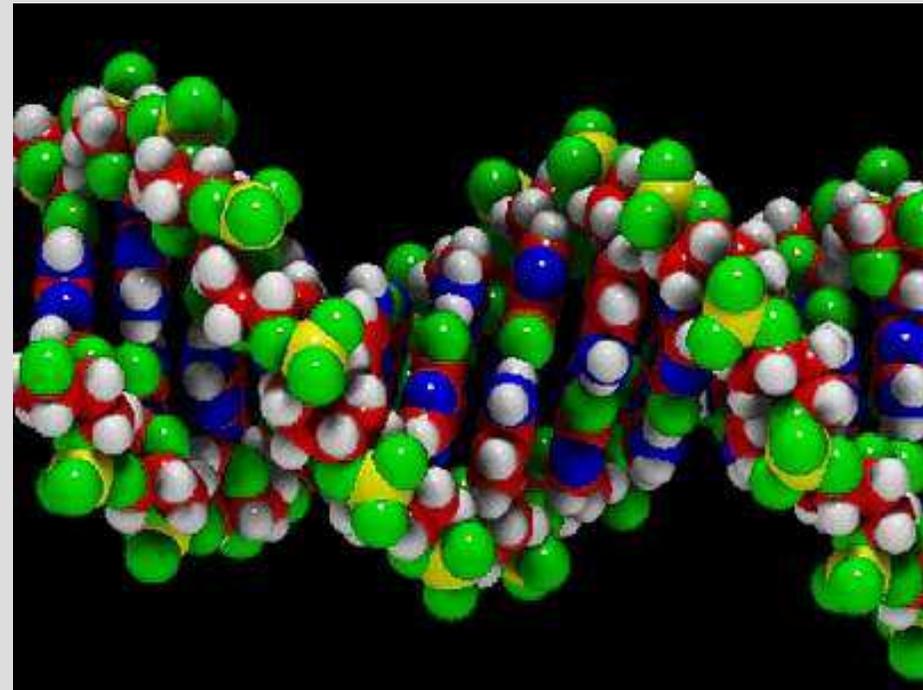
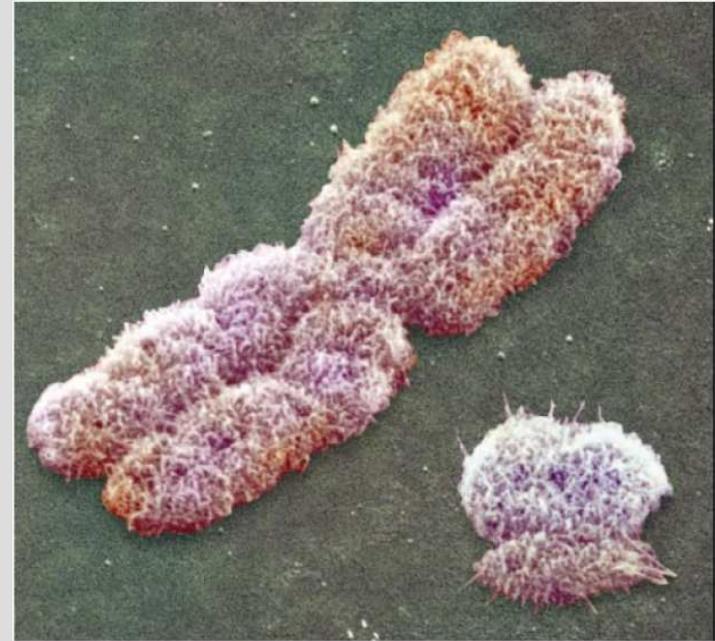
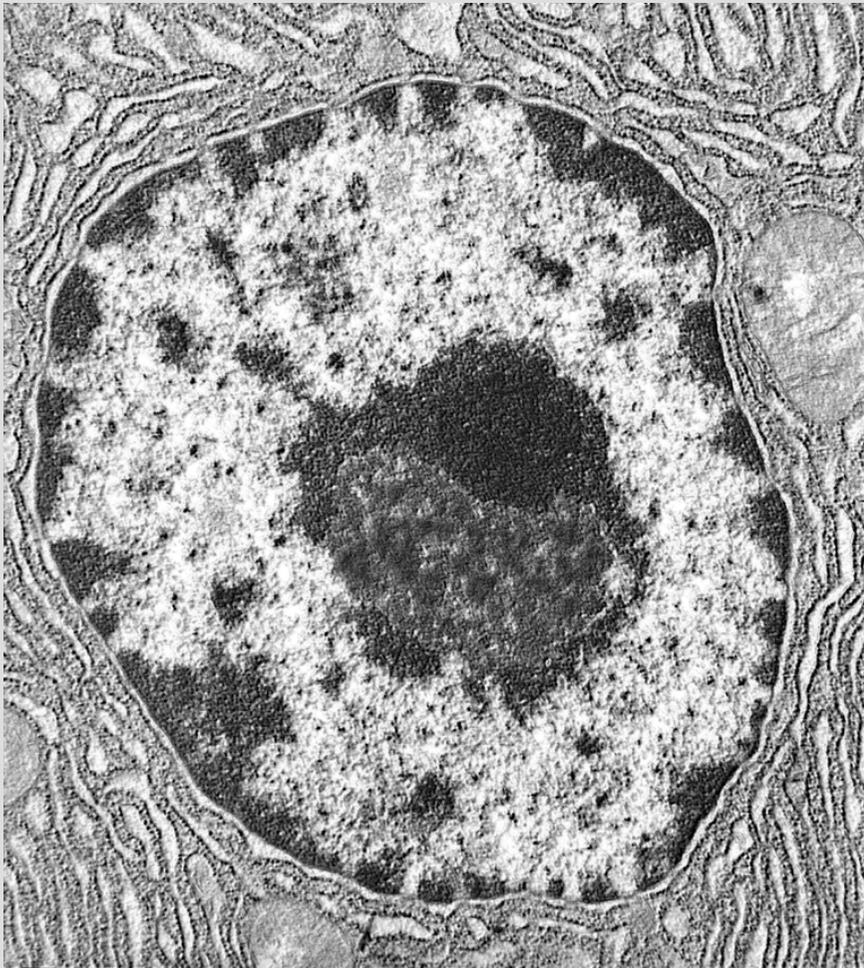


# Chapitre IV - A : Génomique structurale et fonctionnelle



# Transgenèse du gène de la GFP



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

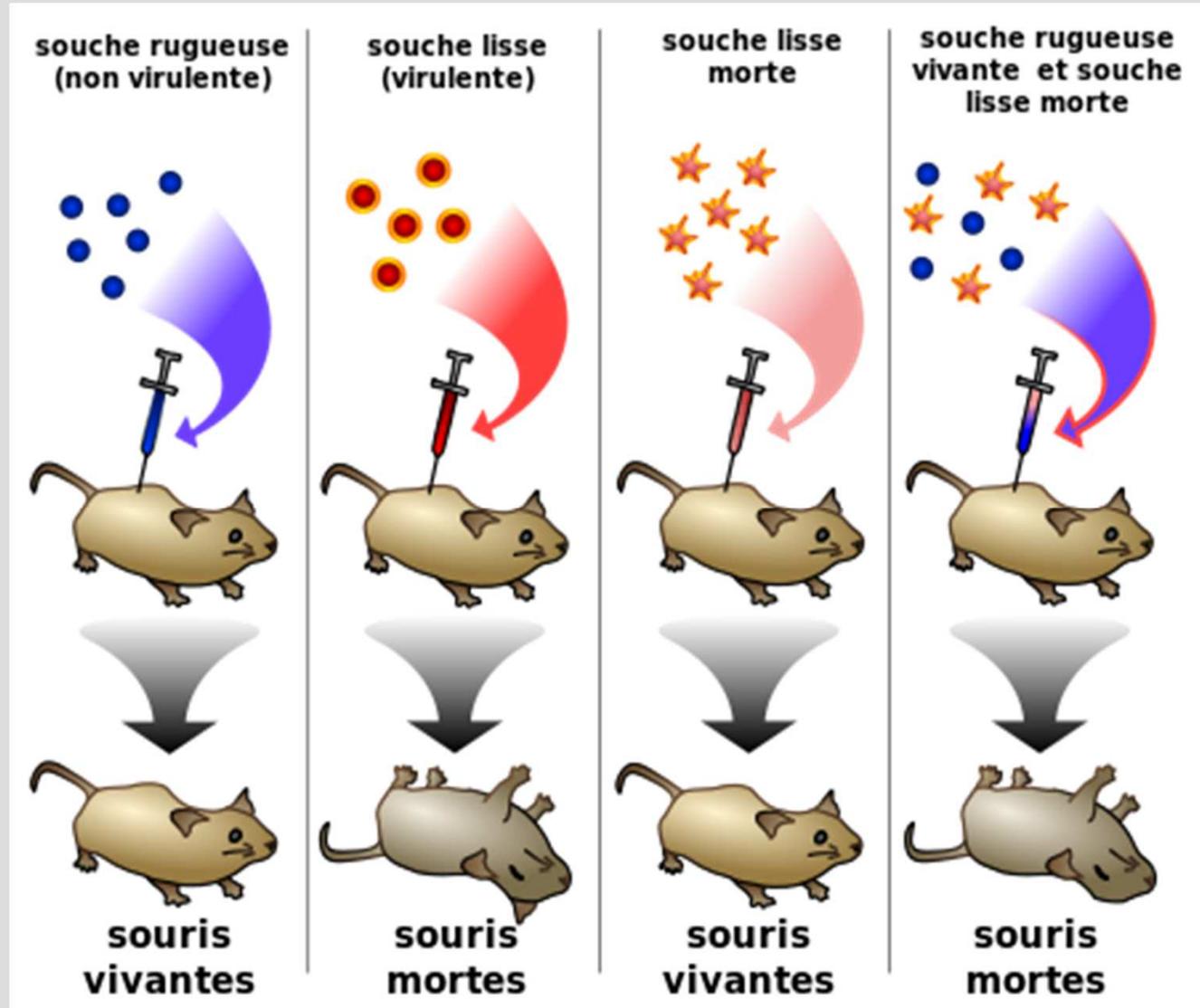


Souris transgénique GFP

# Expériences de Griffith (1928)



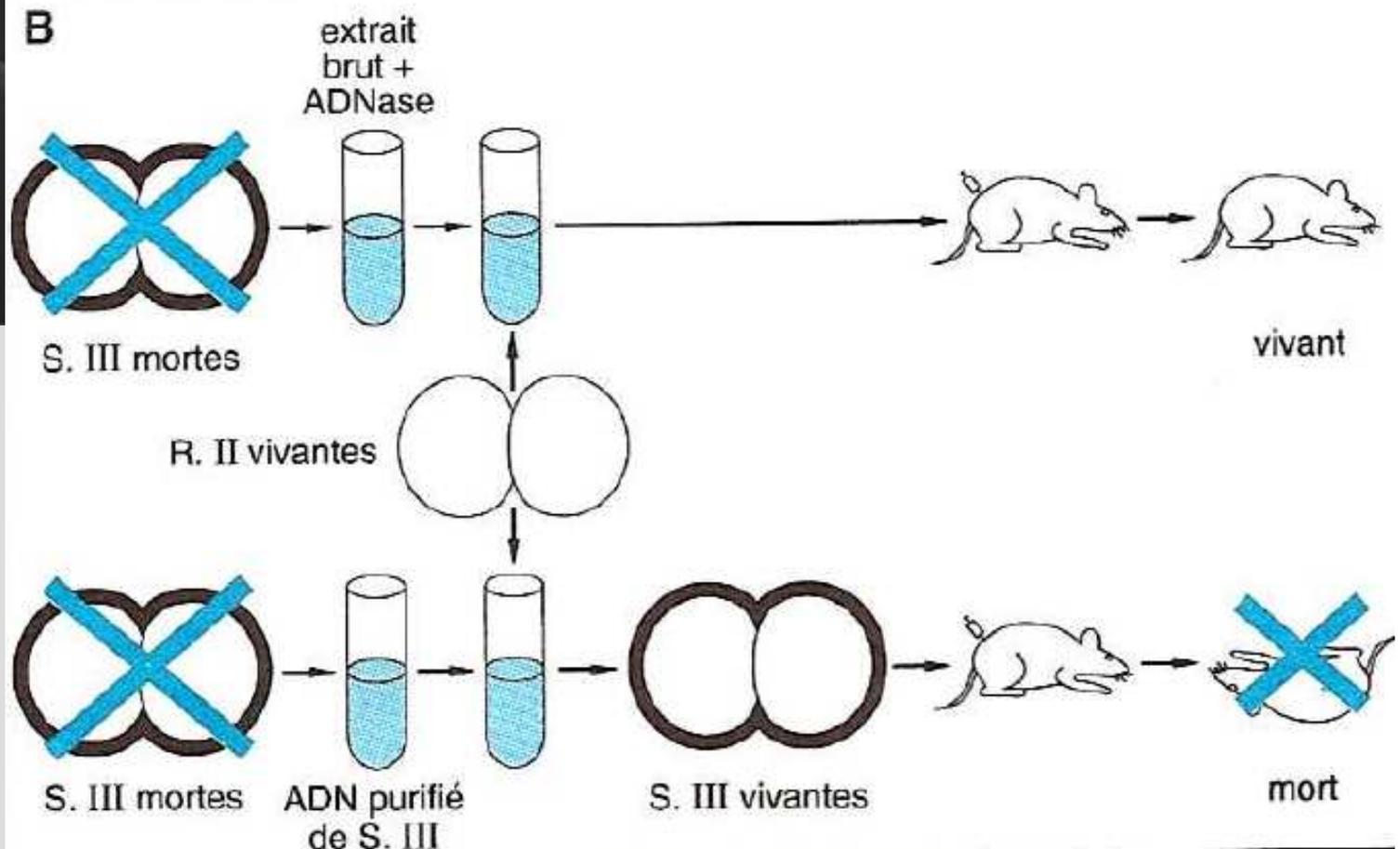
*Streptococcus pneumoniae*



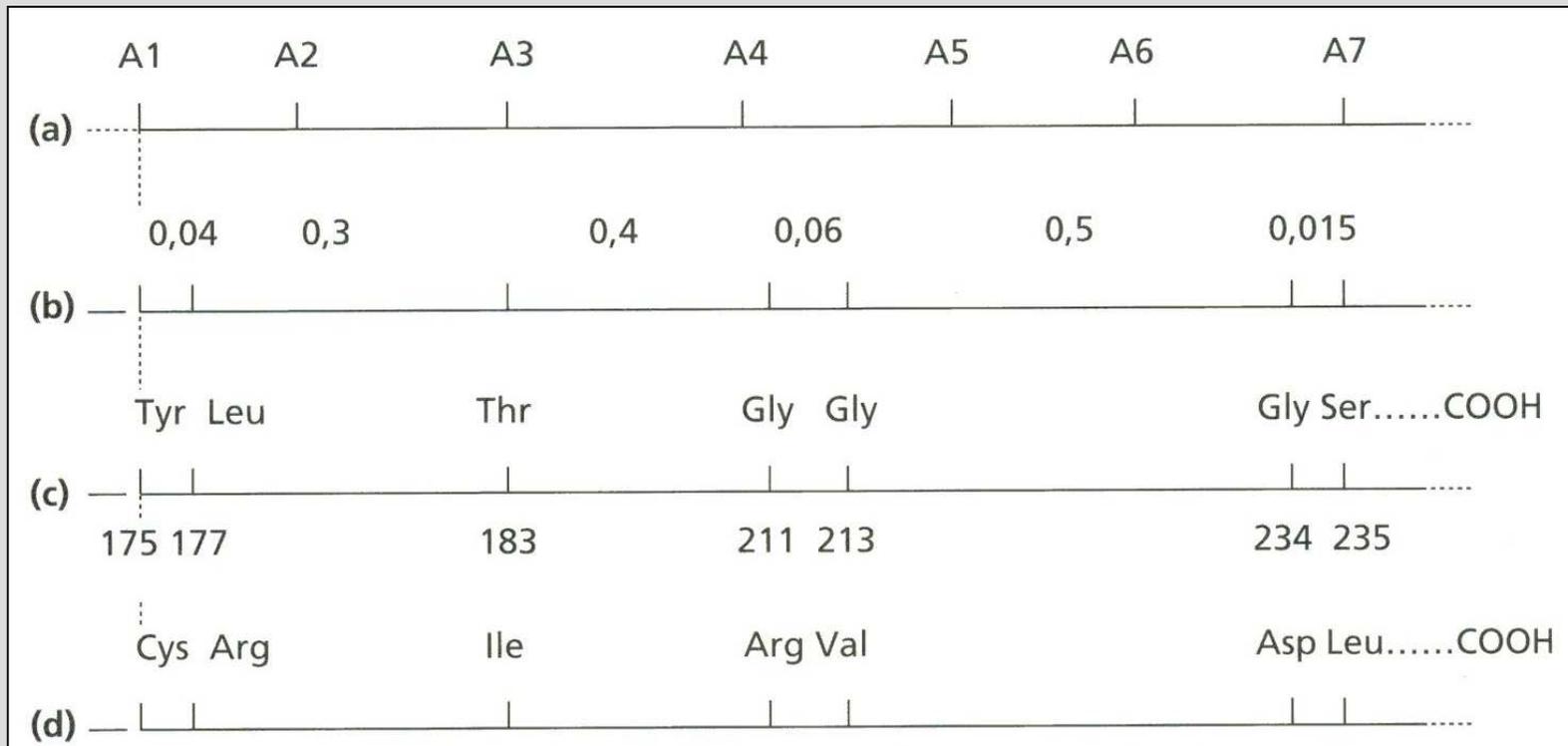
→ Mise en évidence d'un « principe transformant »



# 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<sup>ère</sup> année BCPST ", Dunod Ed., 2007).

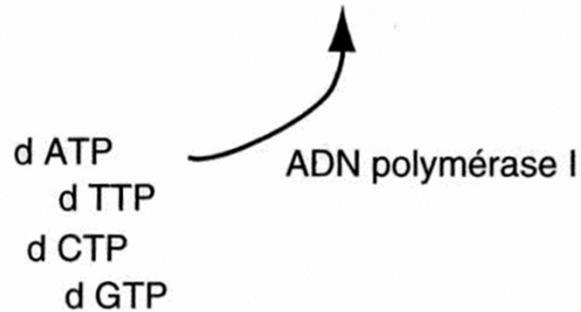
# Séquençage de l'ADN : méthode de Sanger

5' — GAATTCGCTAATGC — 3'

3' — CTTAA

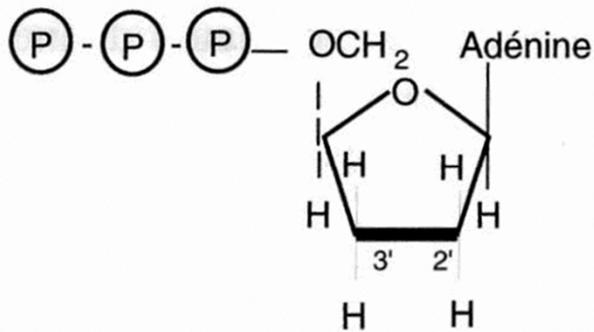
Fragment à séquencer.

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.

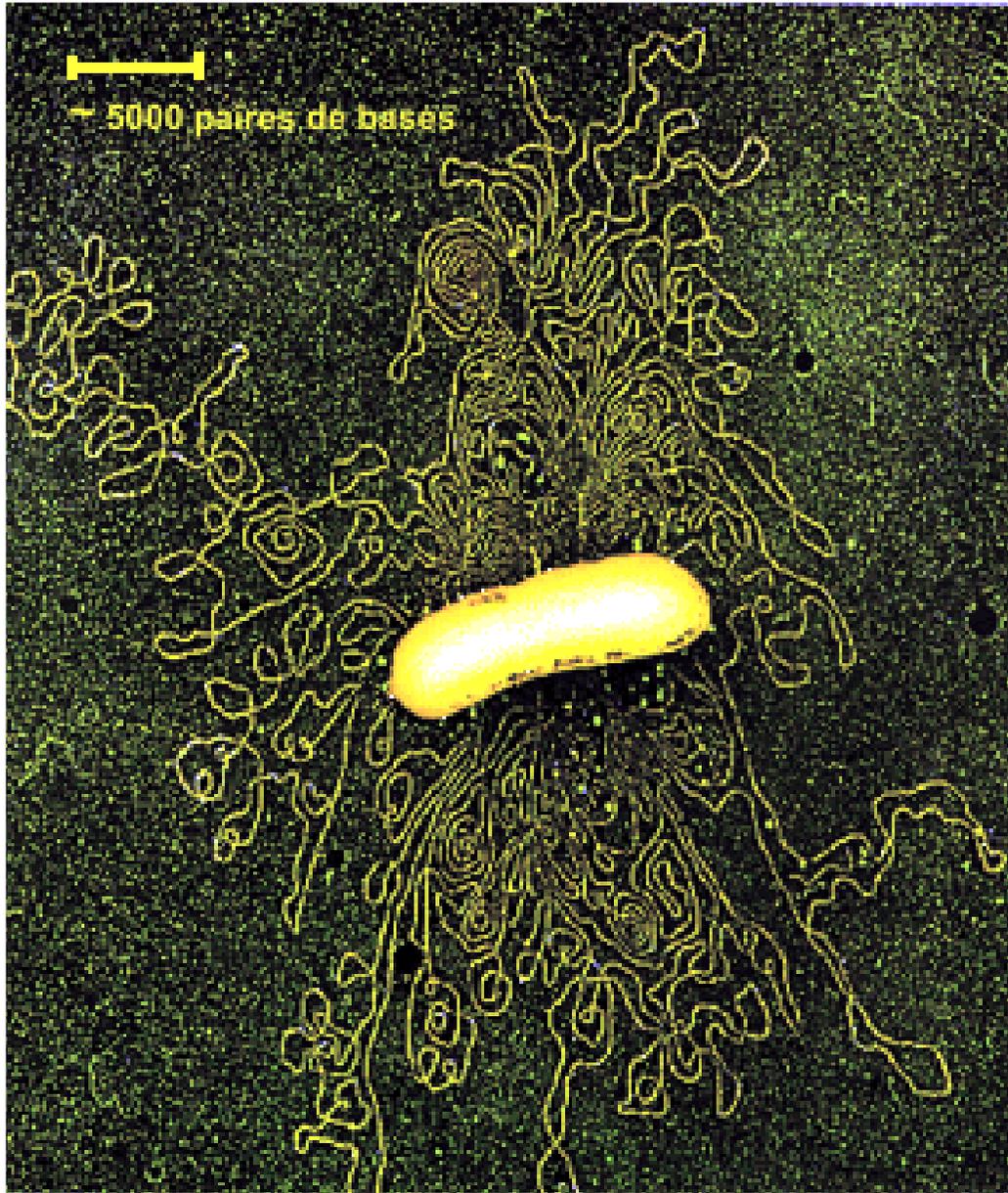


**Bactérie en division**

région dense en chromatine  
dépourvue de ribosome



**Bactérie en MET.**

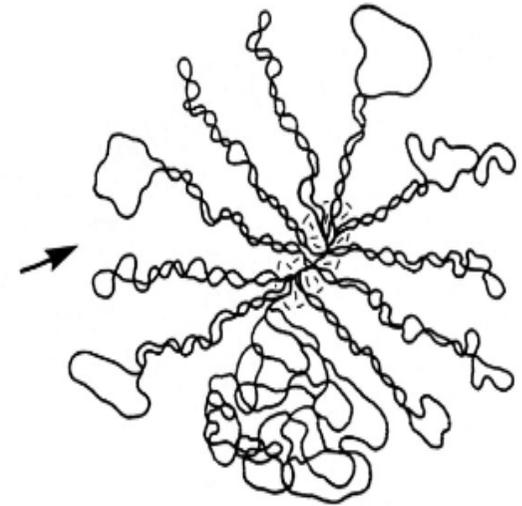


Bactérie

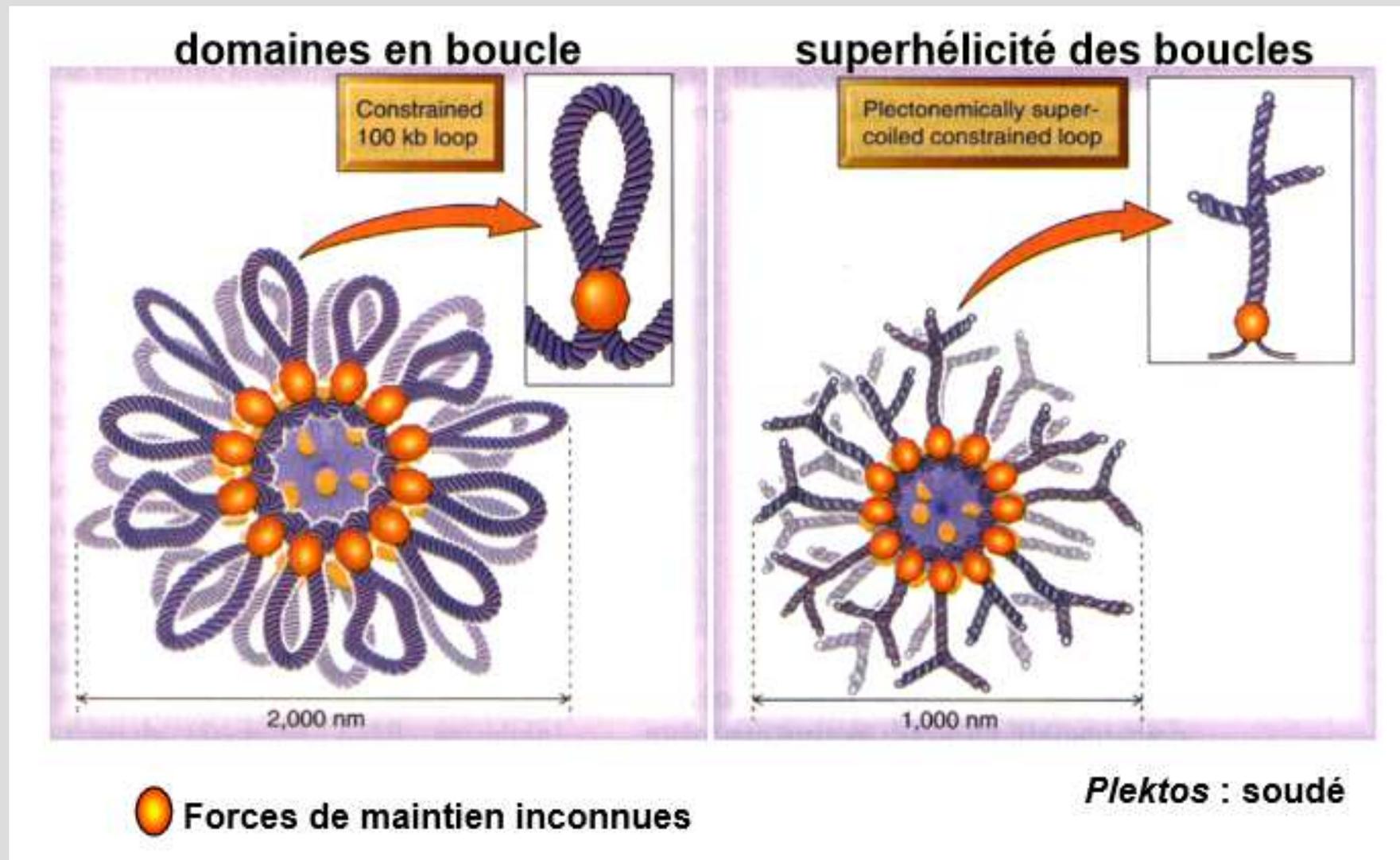


Lyse ménagée

Nucléotide

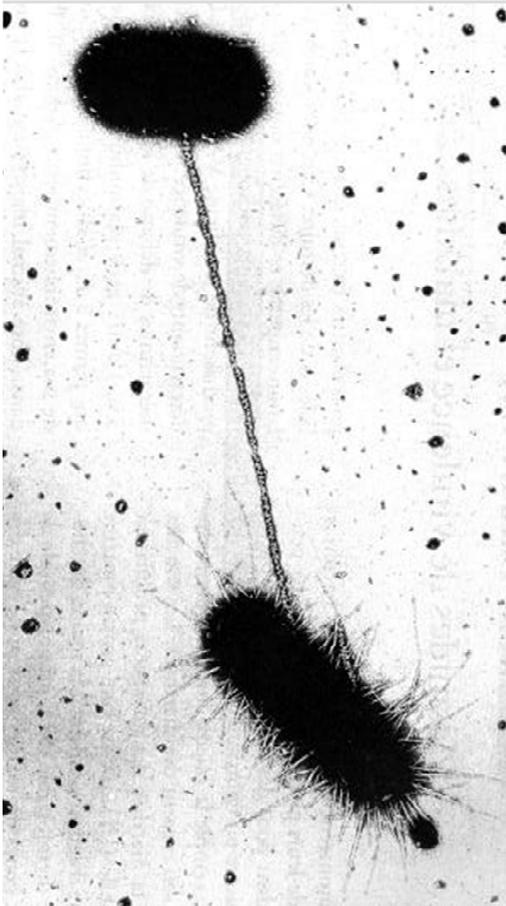


**Bactérie (E. coli)  
après lyse ménagée**



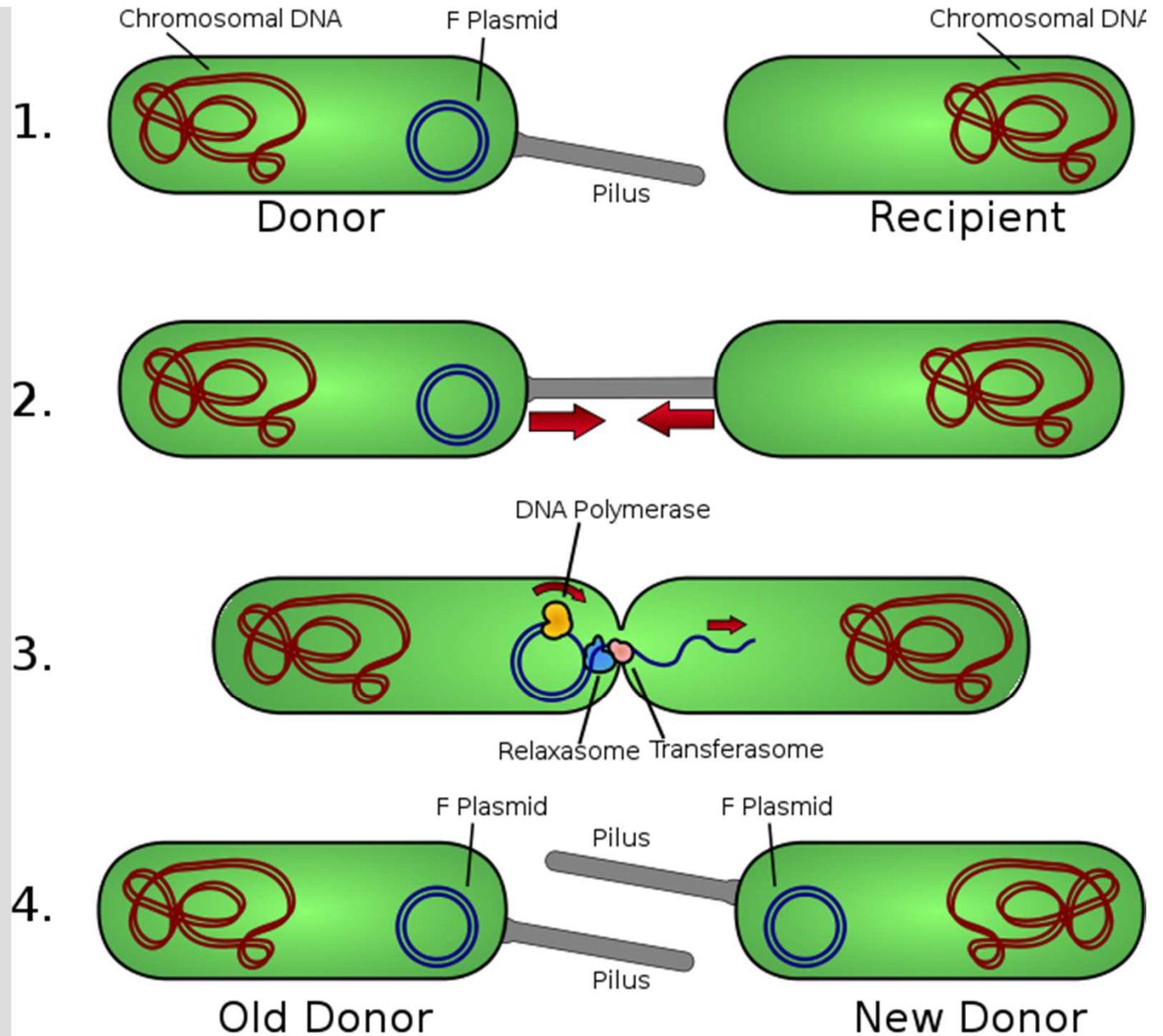
## Condensation du chromosome bactérien

- 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

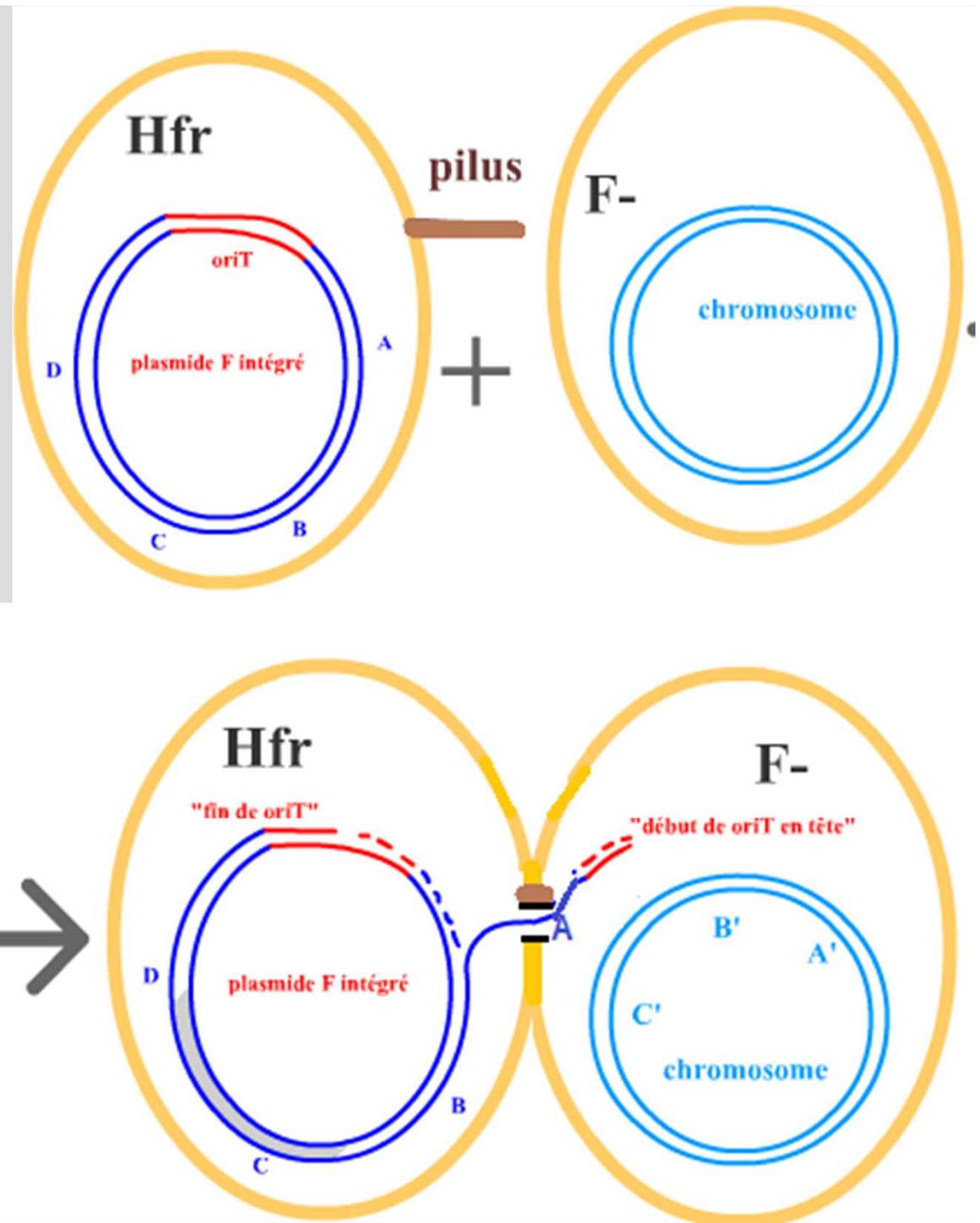


312

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

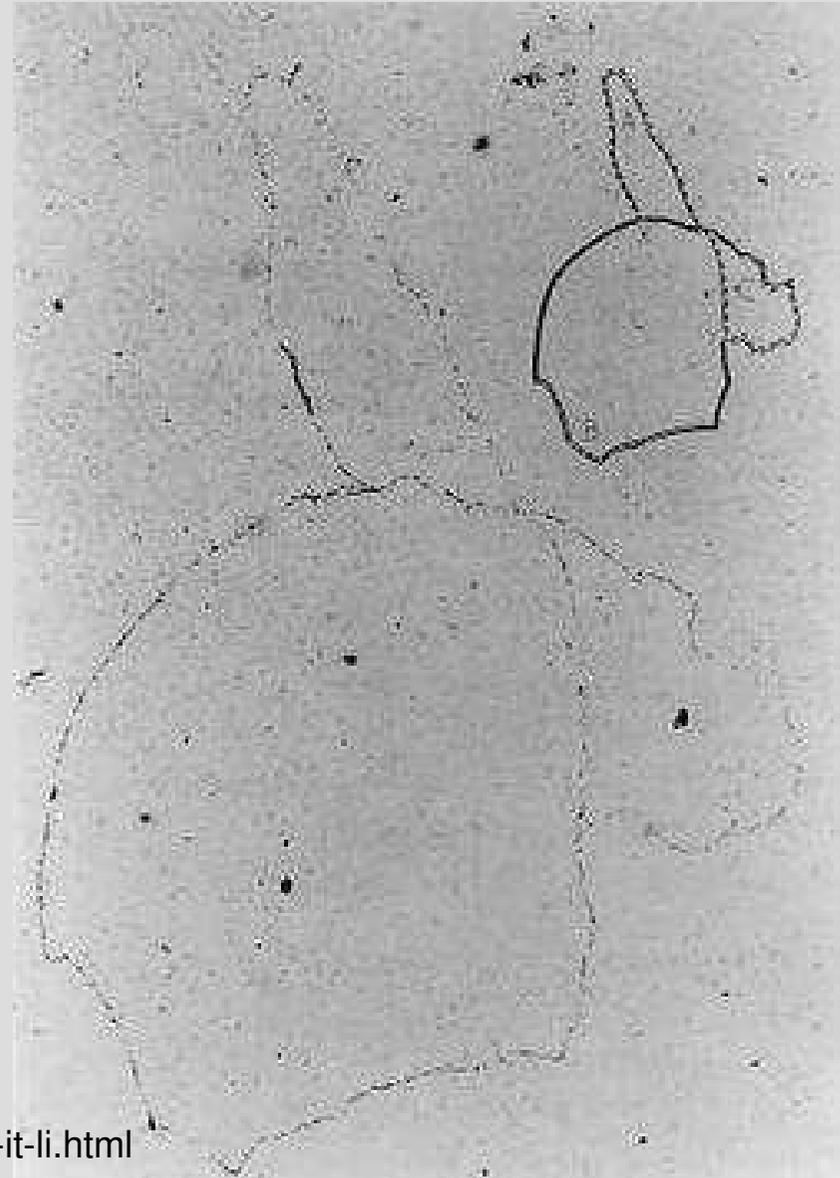
## Résultats de conjugaison de bactéries Hfr obtenus par F. Jacob et E. Wollman

# La conjugaison chez les bactéries Hfr

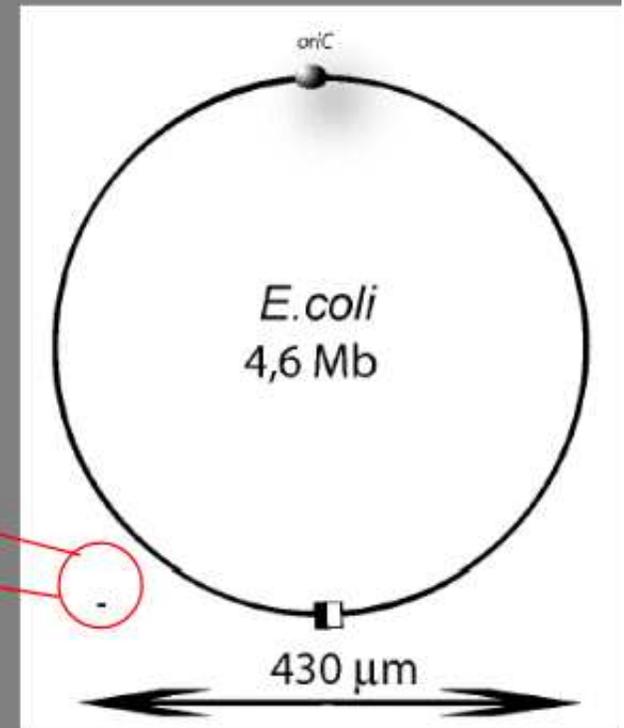
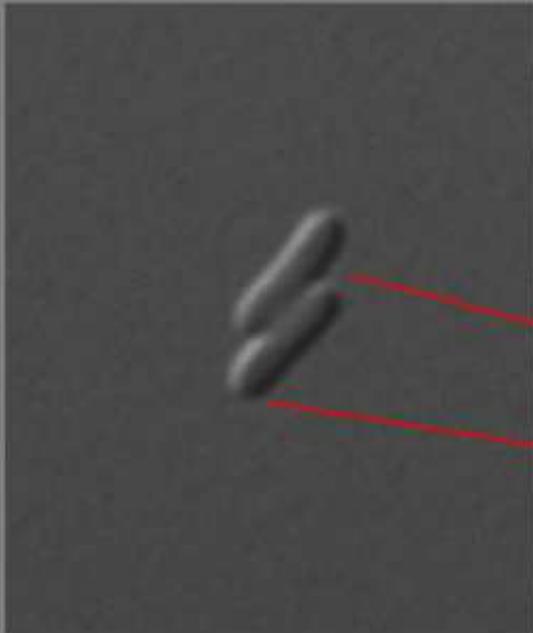


## Document 2. Preuve de la circularité du chromosome bactérien par J. Cairns

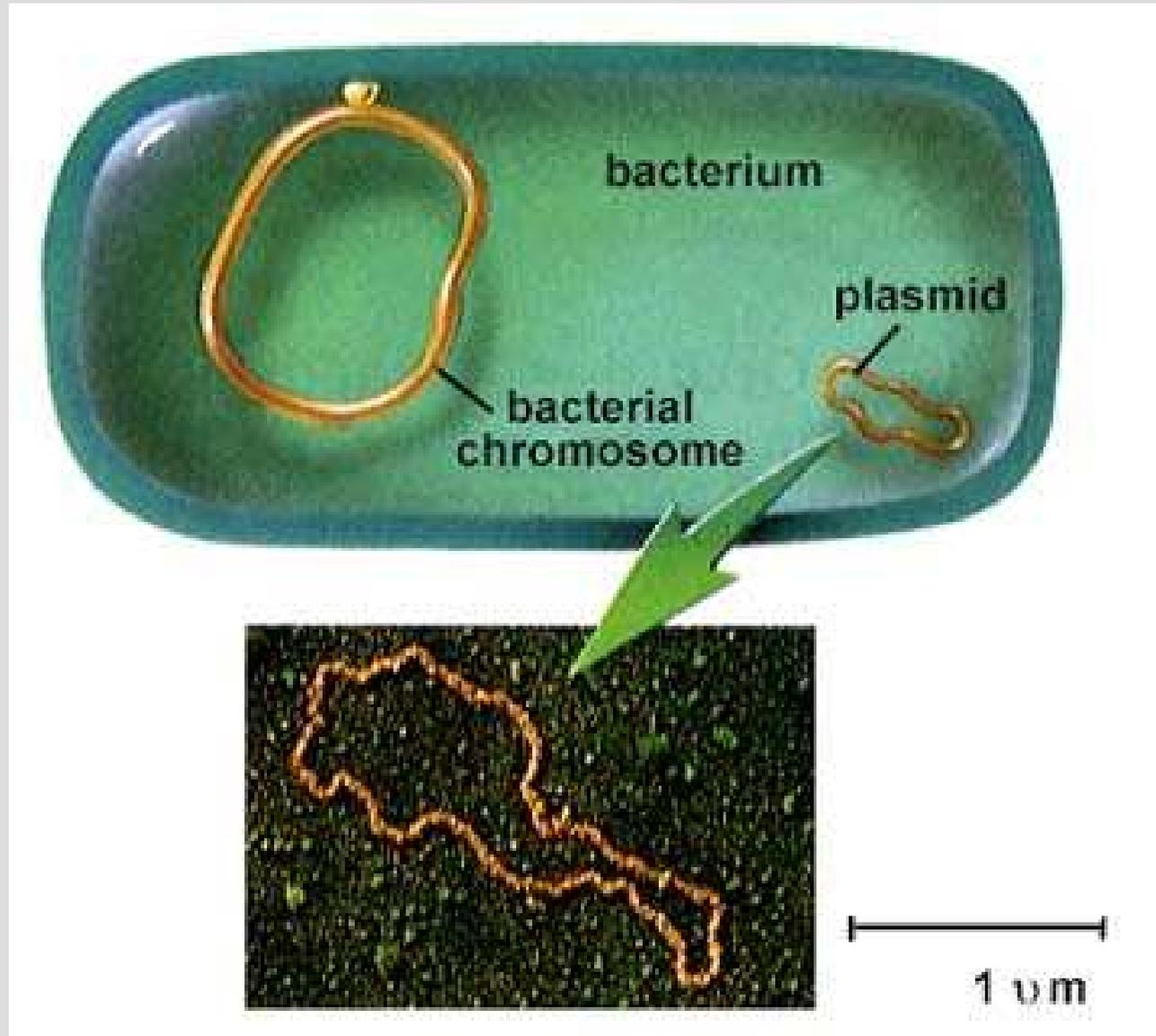
Etude par autoradiographie (après incubation avec de la thymidine tritiée) de la réplication du chromosome d'E. coli. (en haut à droite, schéma interprétatif).

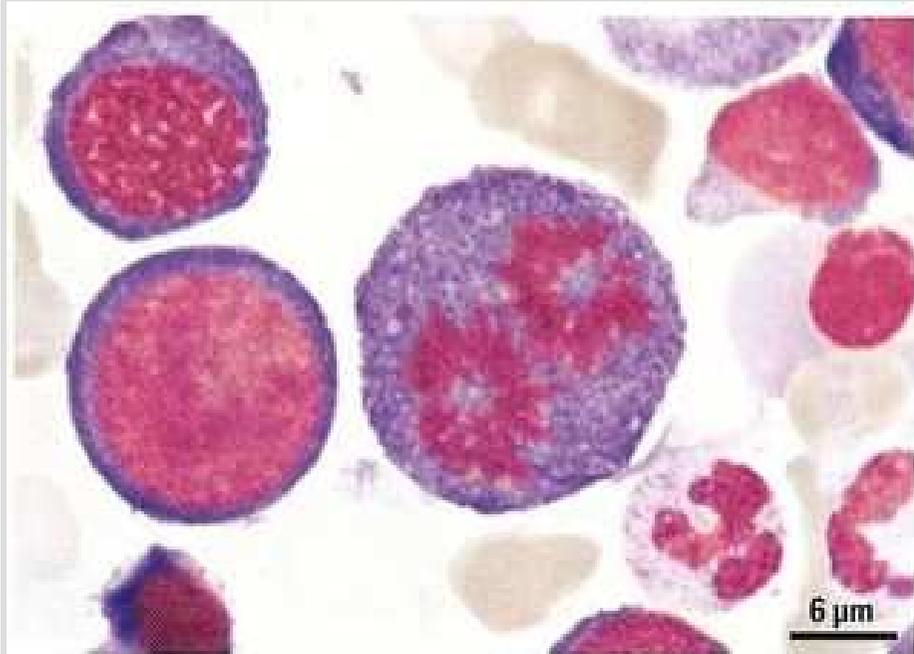


# Organisation et dynamique du chromosome *Escherichia coli*



# Les plasmides, des petites molécules d'ADN circulaire



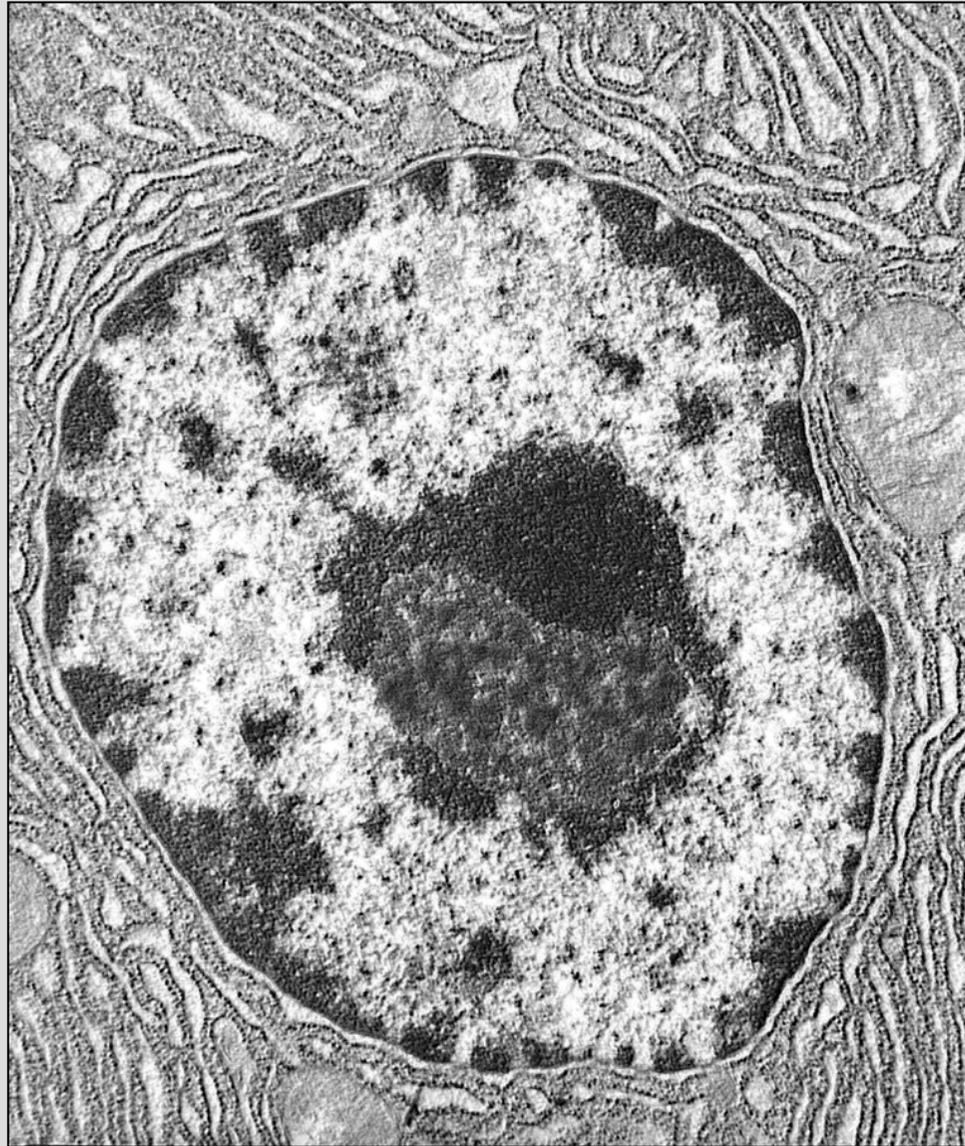


Cellules sanguines humaines colorées par la méthode de Feulgen.



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

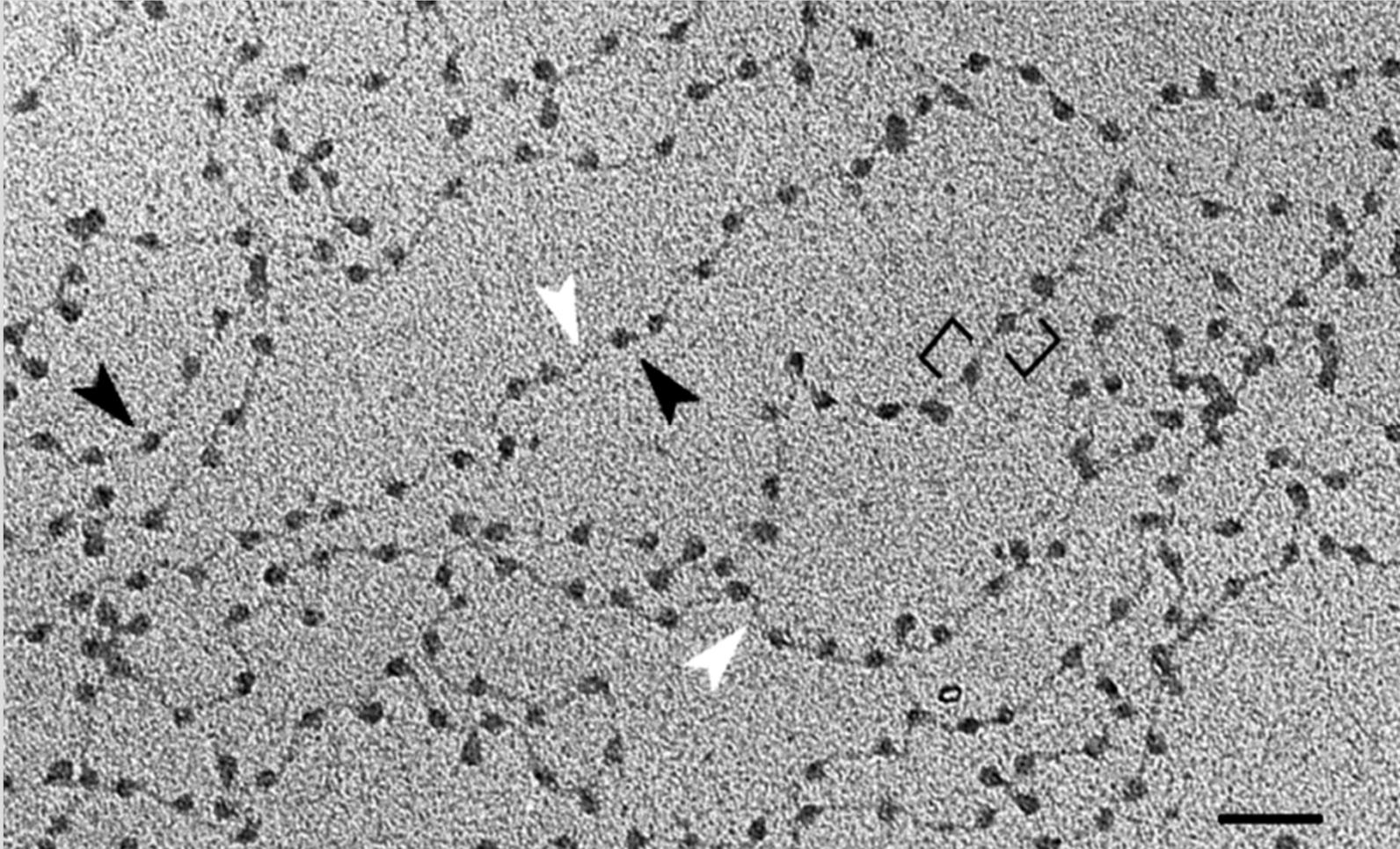
## Coloration de Feulgen spécifique de l'ADN



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

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

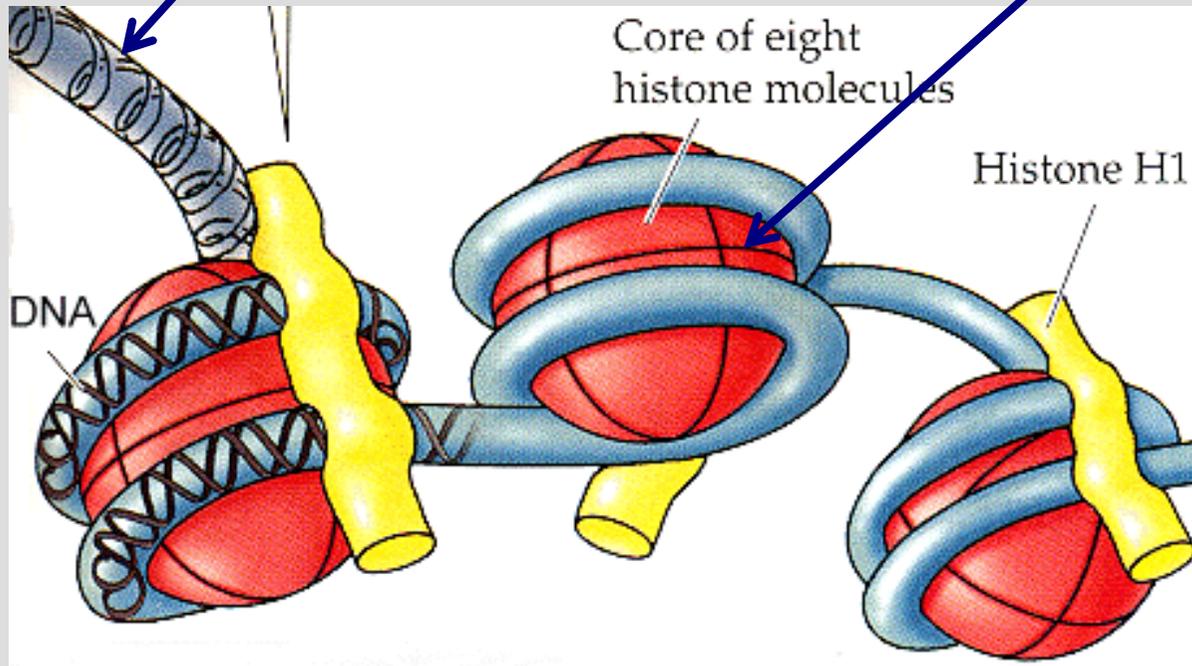
# Le nucléofilament : une structure en collier de perles



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

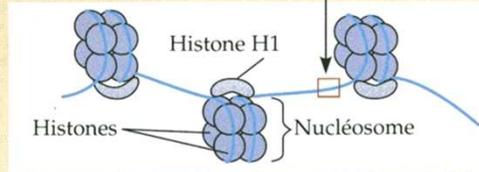
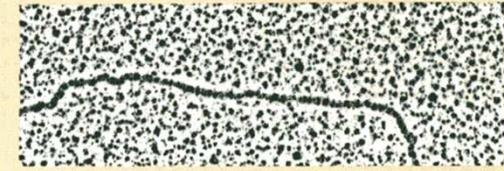


# Document 4. Les différents niveaux de condensation de la chromatine (images en MET).

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



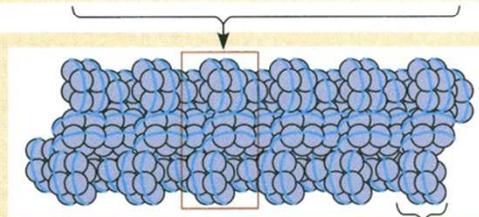
2 nm



11 nm



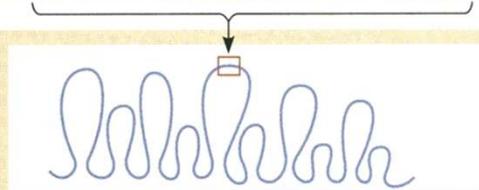
(a) Nucléosomes (« collier de perles »)



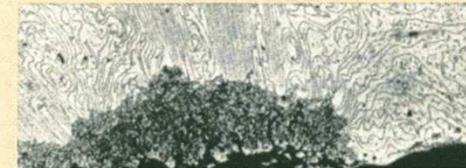
30 nm



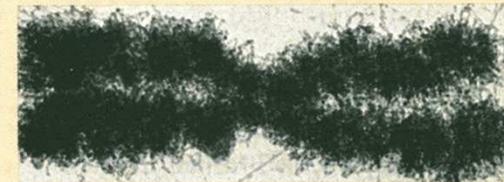
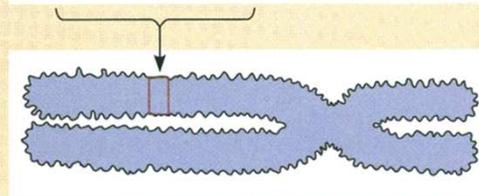
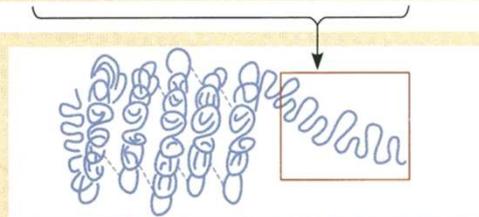
(b) Fibre de chromatine de 30 nm



300 nm

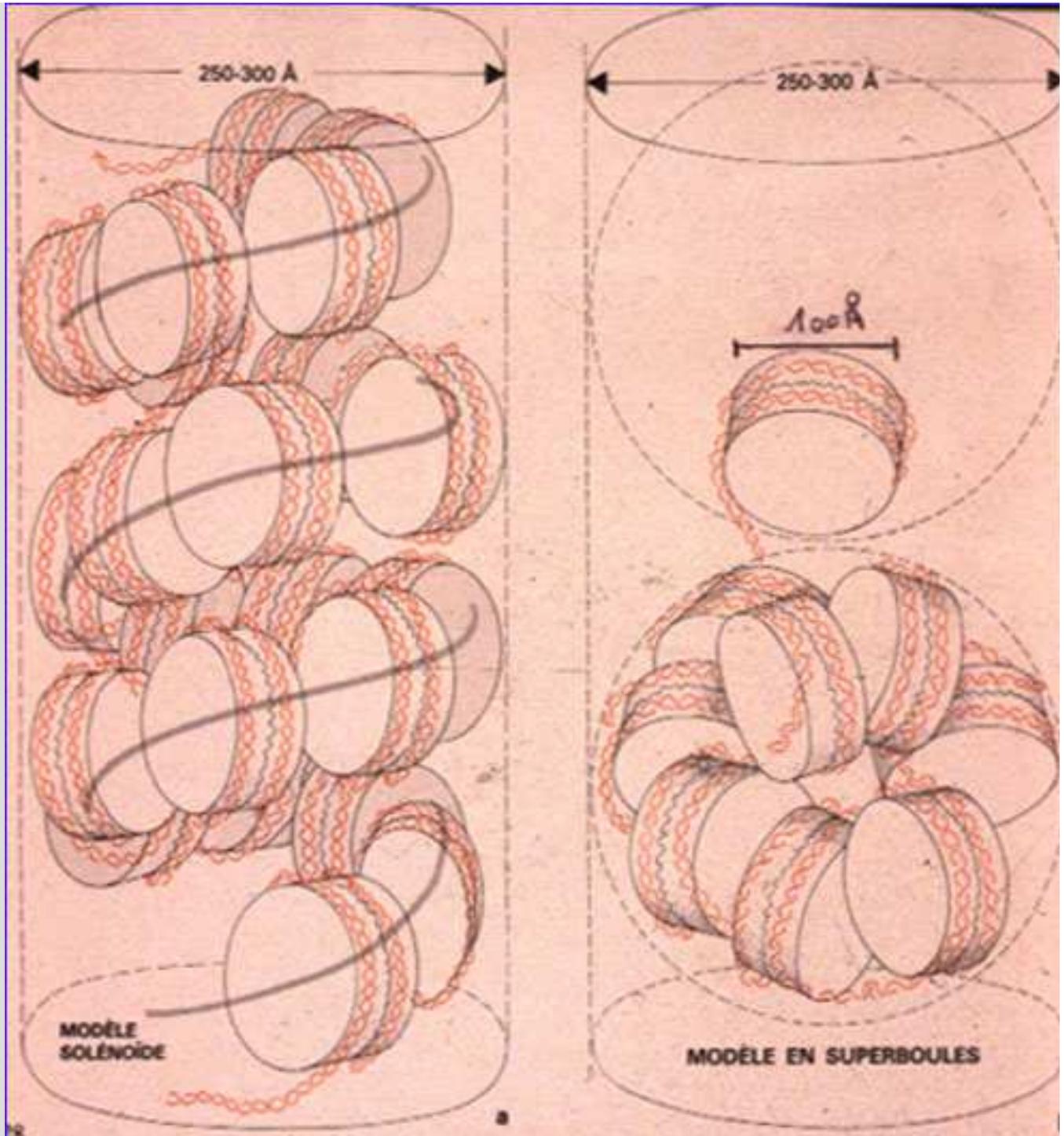


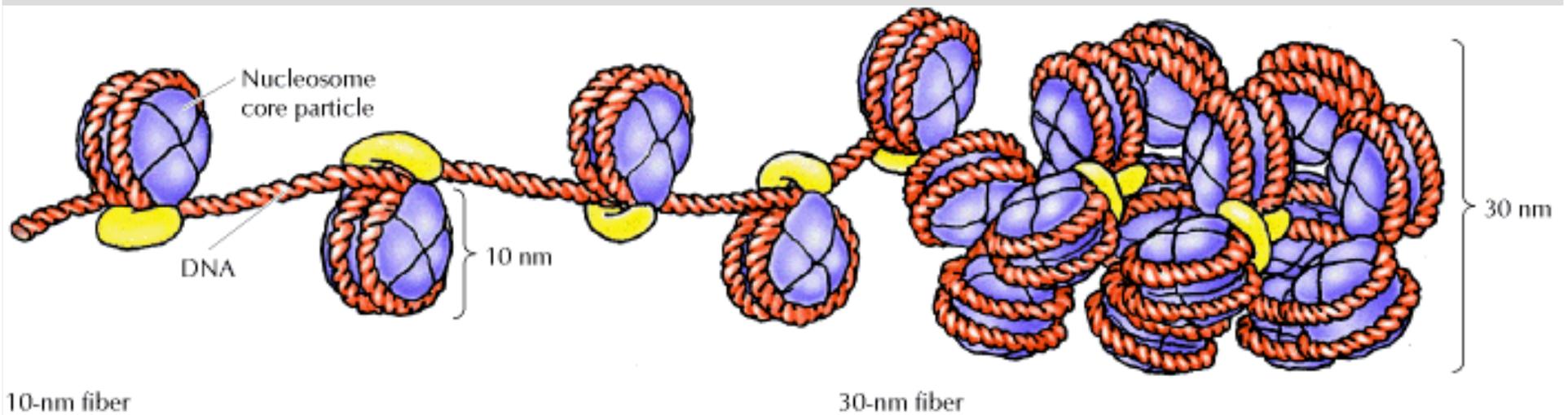
(c) Domaines en boucle



(d) Chromosome métaphasique

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

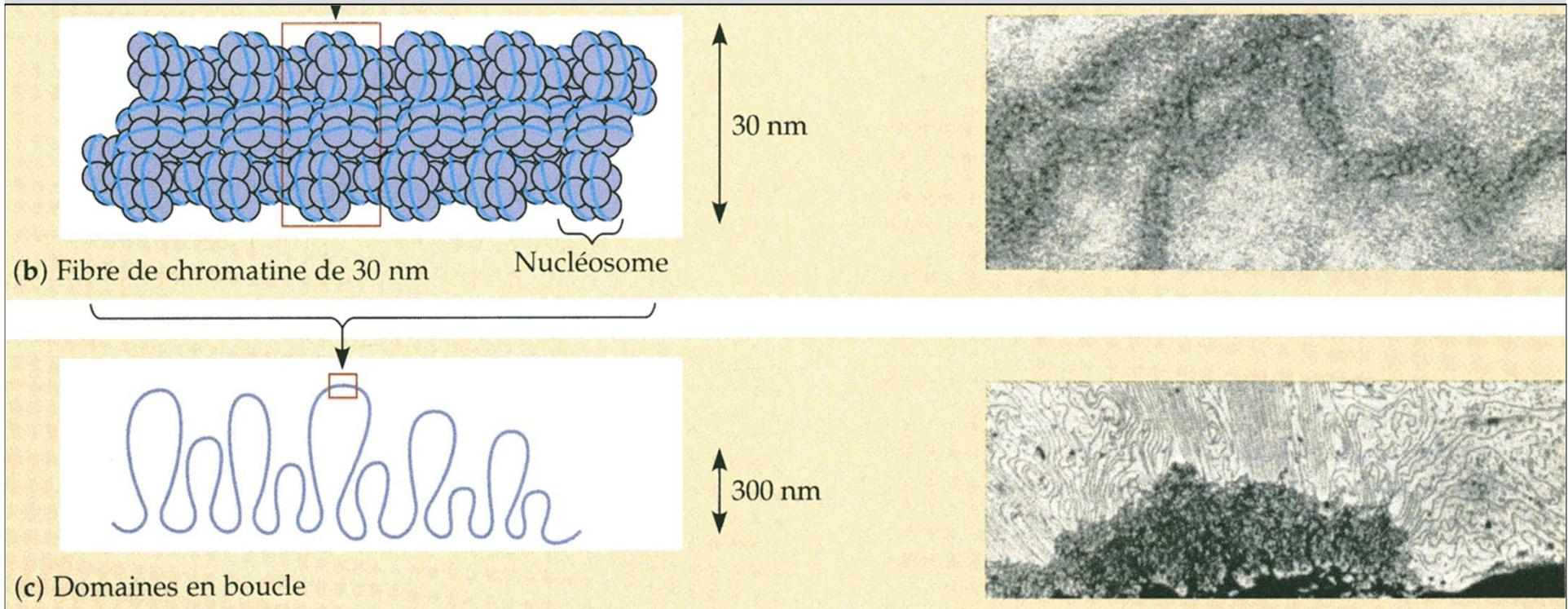




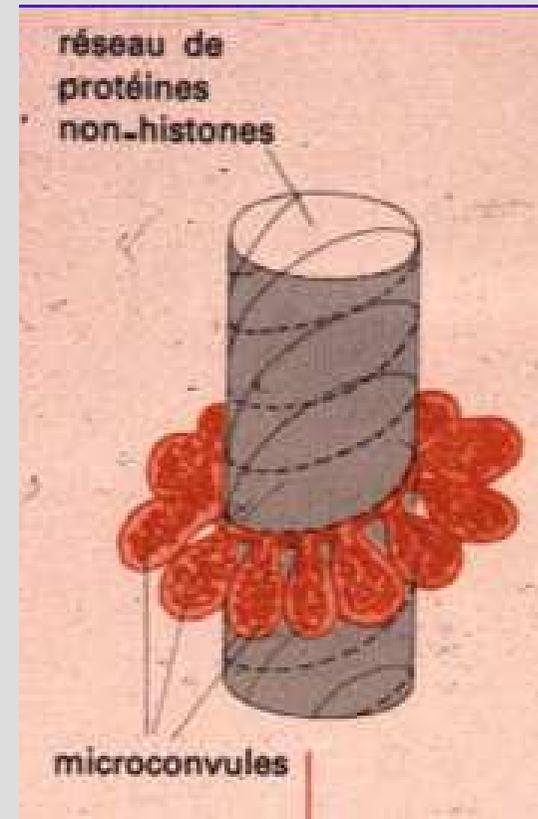
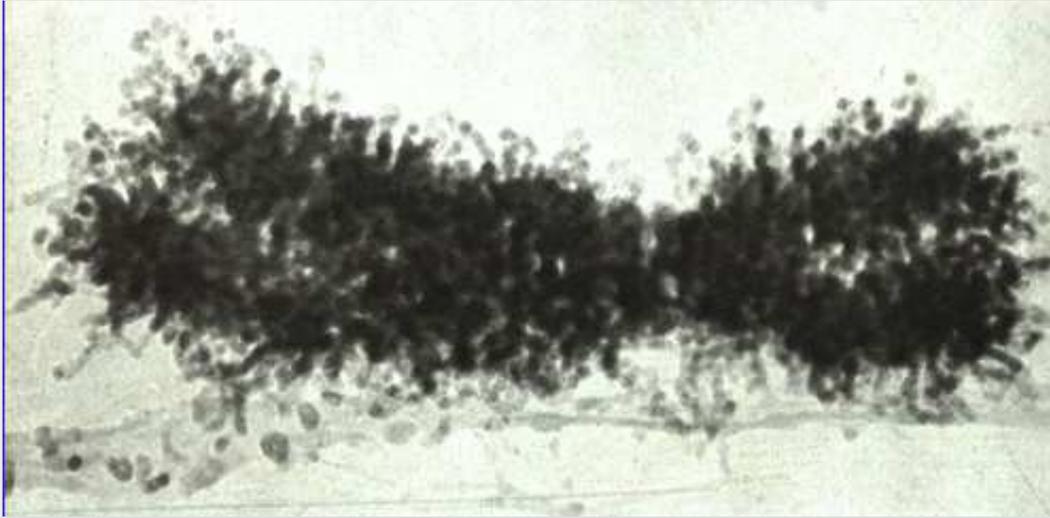
**Modèle moléculaire montrant le rôle des histones H1**

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

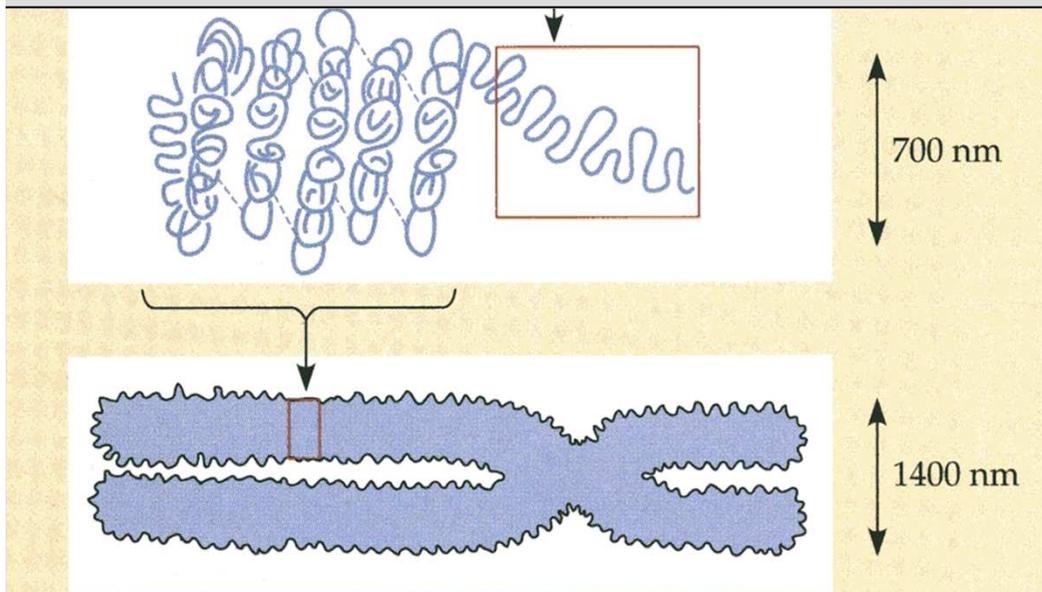
(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).



# Le chromosome métaphasique, niveau de condensation maximale



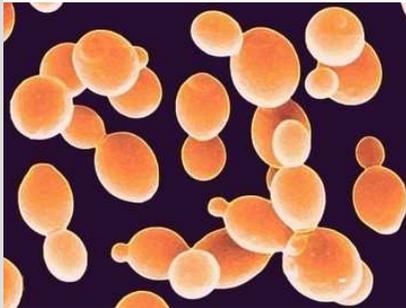
[http://medidacte.timone.univ-mrs.fr/Learnnet/webcours/genetique/structure\\_chromo/CHAP2.HTM](http://medidacte.timone.univ-mrs.fr/Learnnet/webcours/genetique/structure_chromo/CHAP2.HTM)



(d) Chromosome métaphasique

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.

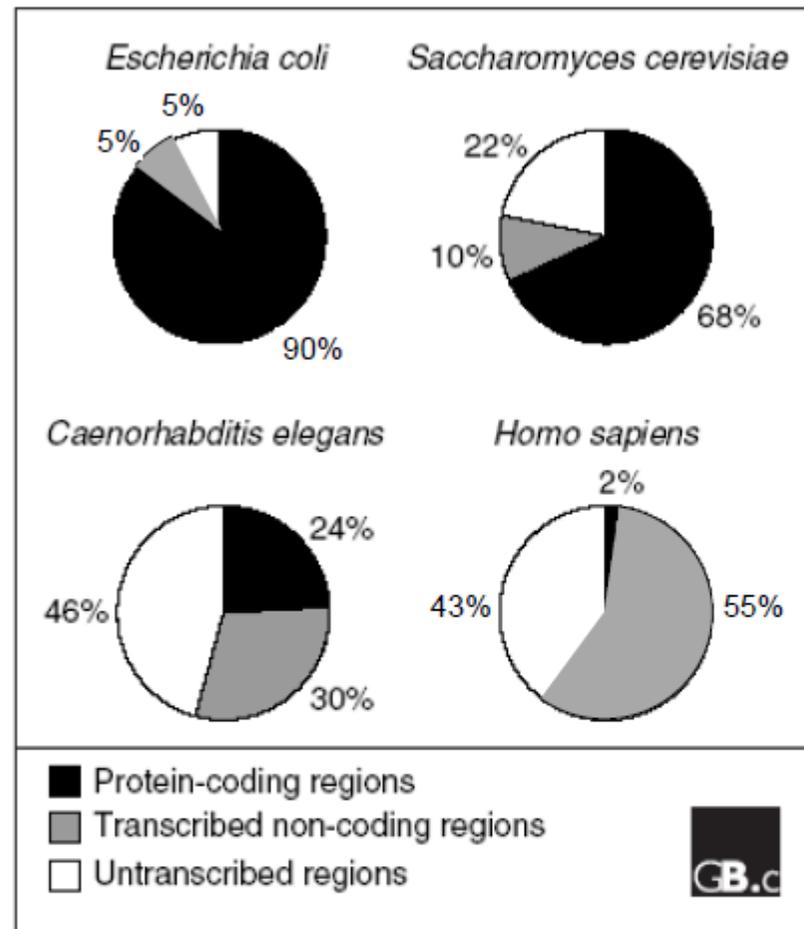
# Fraction codante et non-codante des génomes



*S. cerevisiae*, la « levure de boulanger », champignon unicellulaire, 1<sup>er</sup> eucaryote dont le génome a été entièrement séquencé (1996) (longueur 5-8  $\mu\text{m}$ ).

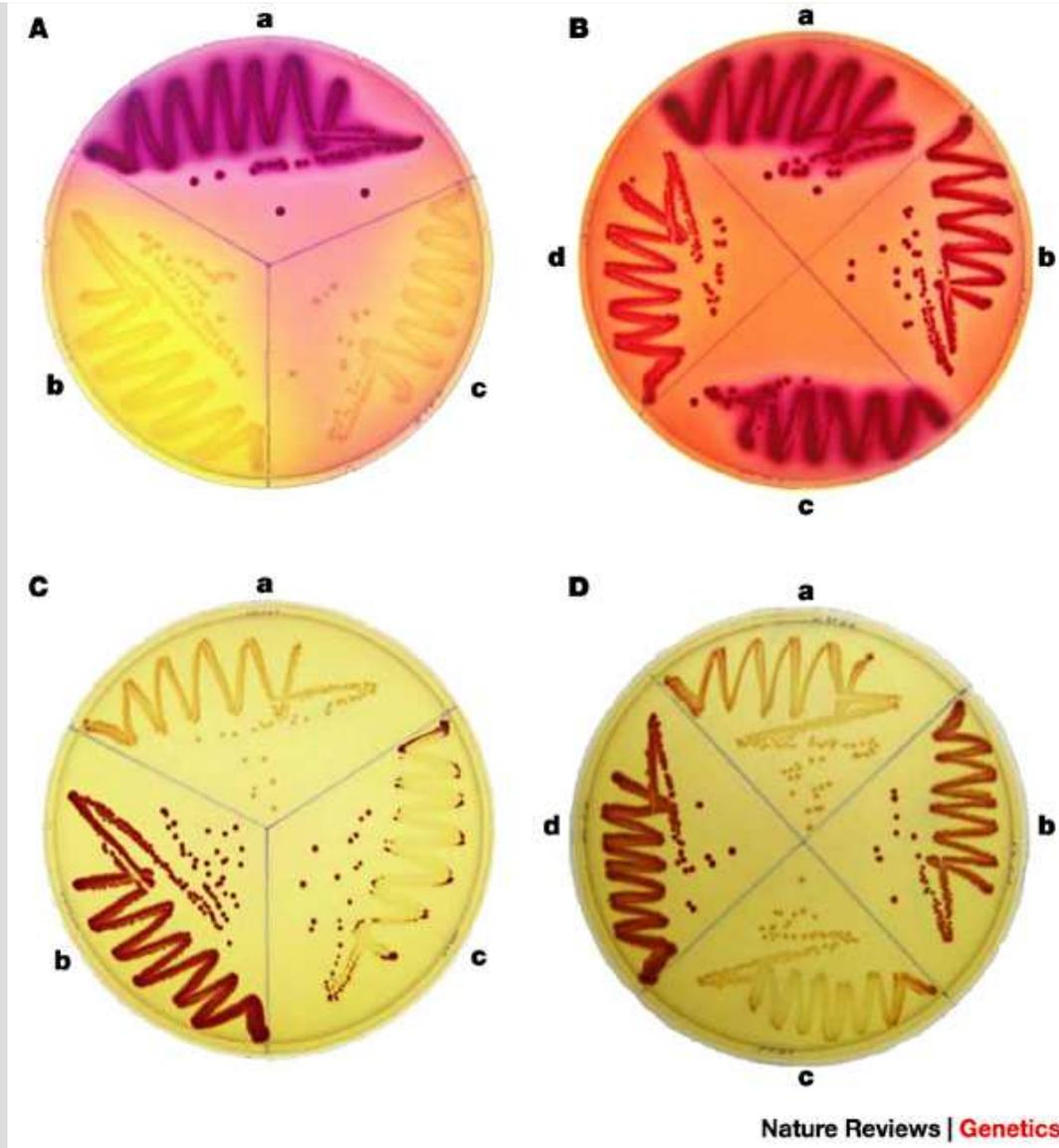


*C. elegans*, nématode du sol, organisme modèle en biologie moléculaire (longueur 1 mm).



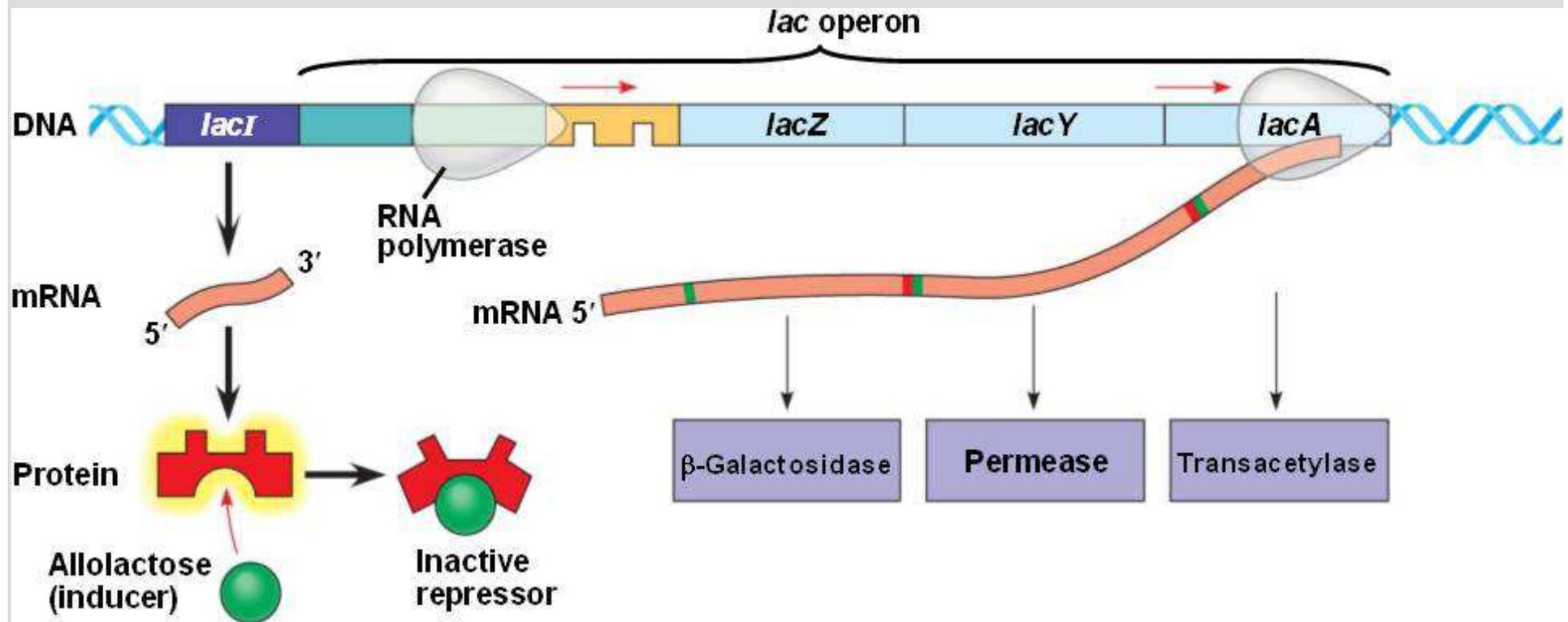
**Figure 1**

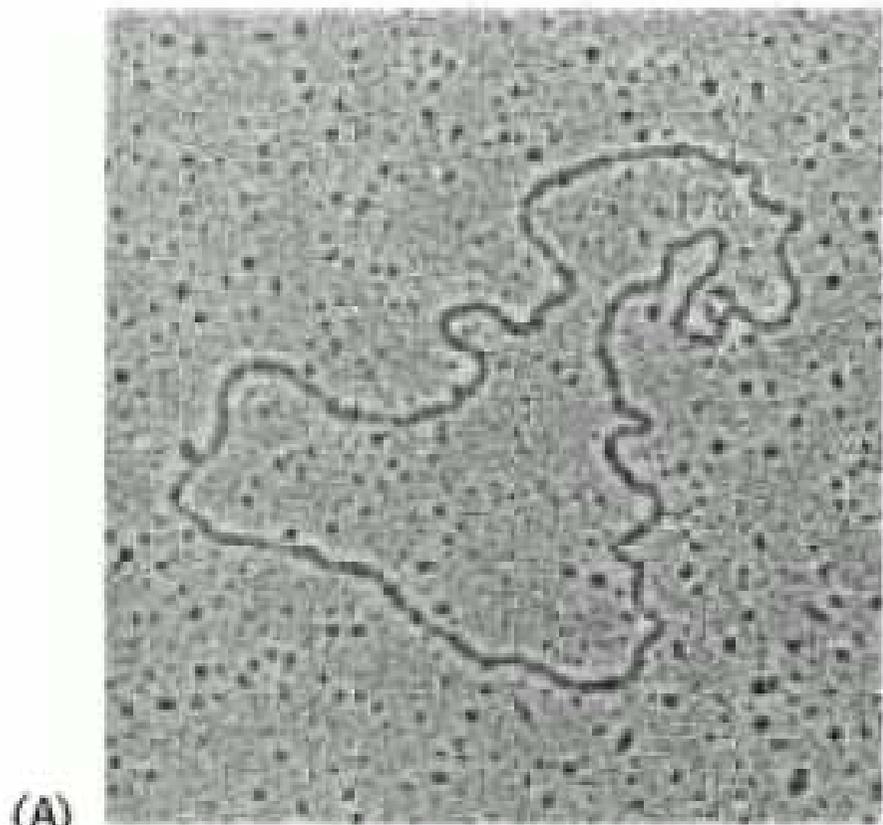
Ratios of the protein-coding, non-coding, and untranscribed sequences in bacterial, yeast, nematode and mammalian genomes. Estimations of the transcribed and protein-coding parts of genomes are based on the sequence length of annotated genes [3, 12, 13, 73]. Estimation of the transcribed portion of the 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**

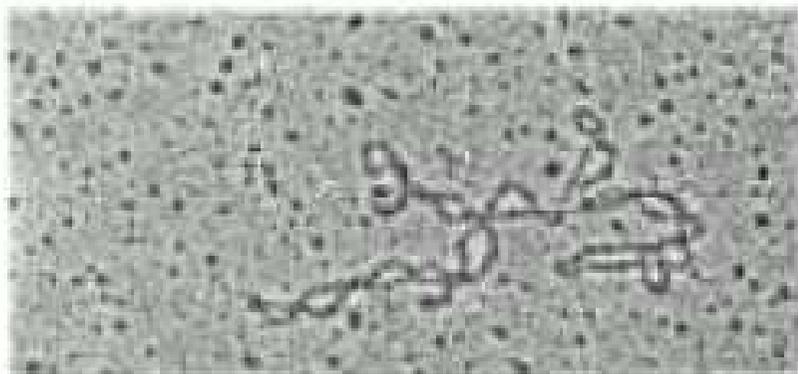
# Document 5. Organisation de l'opéron lactose d'E. coli.





(A)

1 μm



(B)

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

# Génome mitochondrial

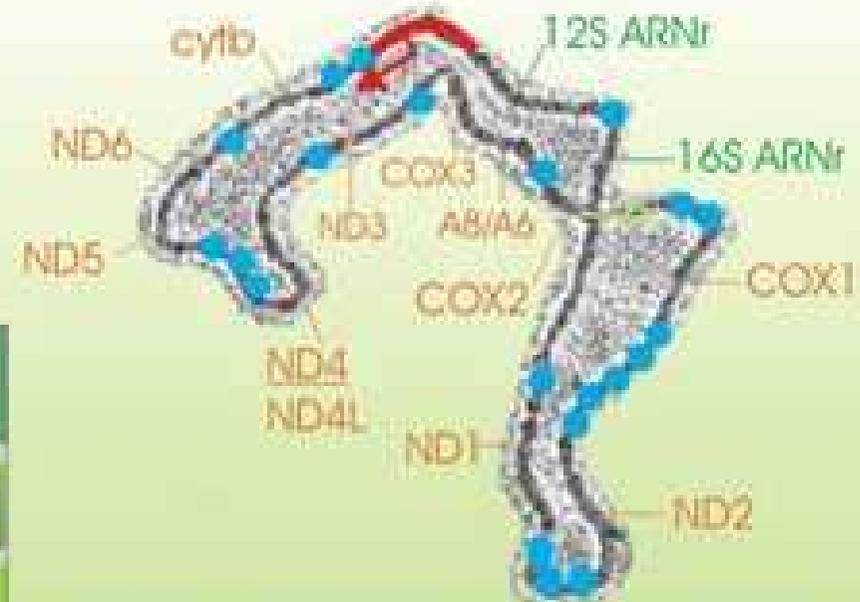
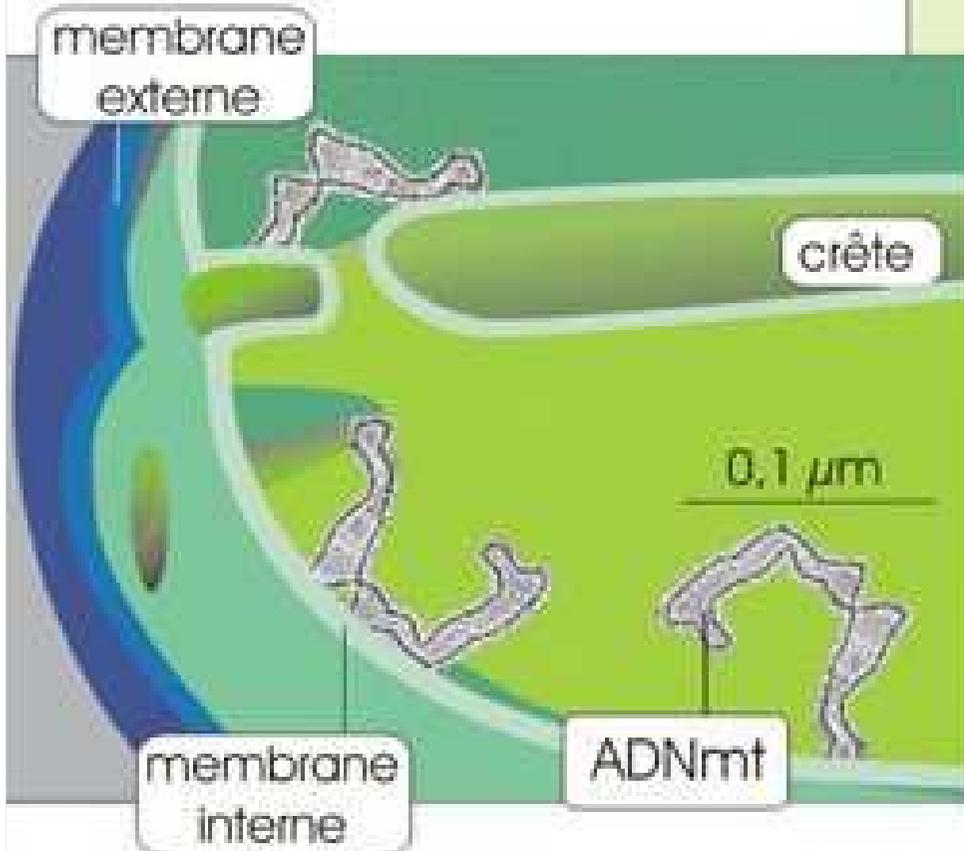
Groupes d'Eucaryotes	Taille du génome mitochondrial (kb)	Gènes codant des protéines	Gènes codant des ARN
Champignons	19 – 100	8 – 14	10 - 28
Protistes	6 – 100	3 – 62	2 - 29
Plantes	186 – 366	27 – 34	21 - 30
Animaux	16 - 17	13	4 -24

**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

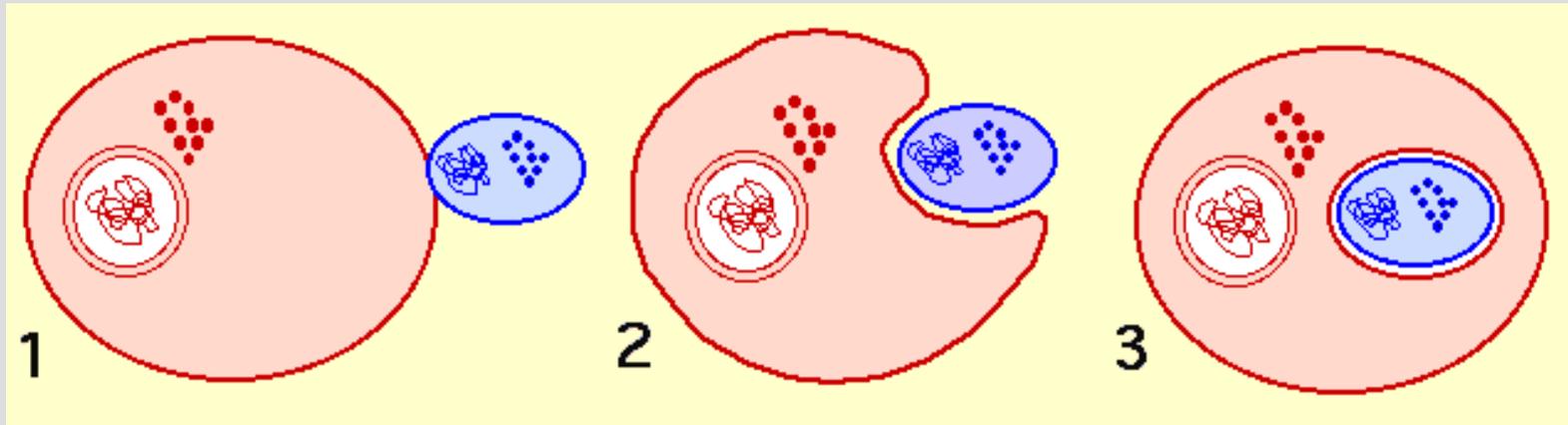
Groupes d'Eucaryotes	Taille du génome mitochondrial (kb)	Gènes codant des protéines	Gènes codant des ARN
Champignons	19 – 100	8 – 14	10 - 28
Protistes	6 – 100	3 – 62	2 - 29
Plantes	186 – 366	27 – 34	21 - 30
Animaux	16 - 17	13	4 -24

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

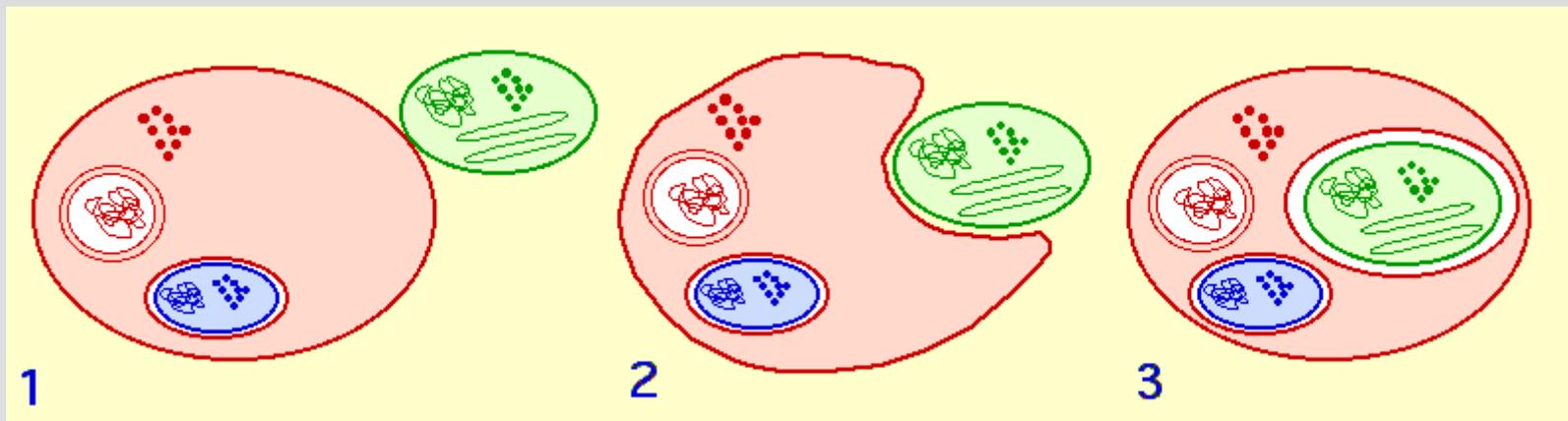
Taille du génome chloroplastique	Gènes codant des ARN	Gènes codant des protéines
70 à 200 kb	ARNr : 4	~ 60
	ARNt : 30 - 32	

**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**



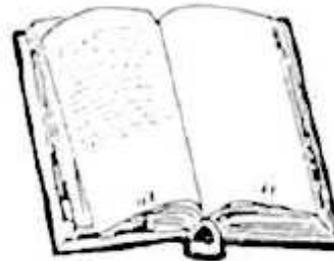
**Absorption d'une bactérie photosynthétique par une cellule eucaryote à mitochondries à l'origine des chloroplastes**

## TAILLES COMPAREES DE QUELQUES GENOMES

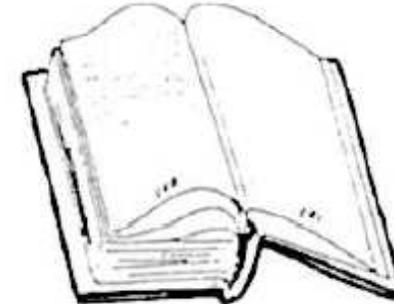
**virus :  $\lambda$**   
 $5 \times 10^3$  pdb  
 2 pages



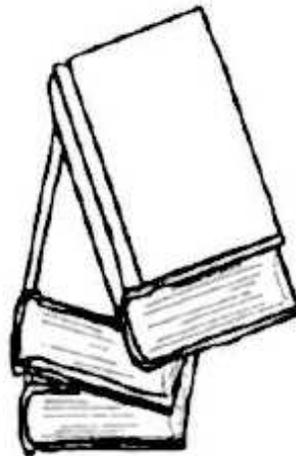
**bactérie : *E. coli***  
 $4,6 \times 10^6$  pdb  
 168 pages



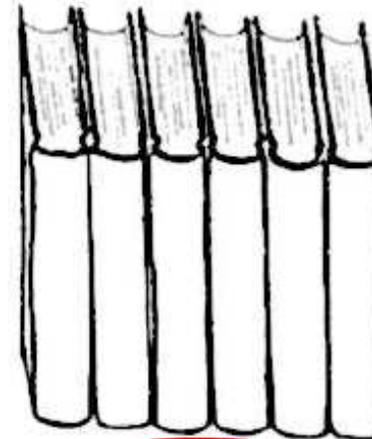
**levure : *S. cerevisiae***  
 $13 \times 10^6$  pdb  
 600 pages



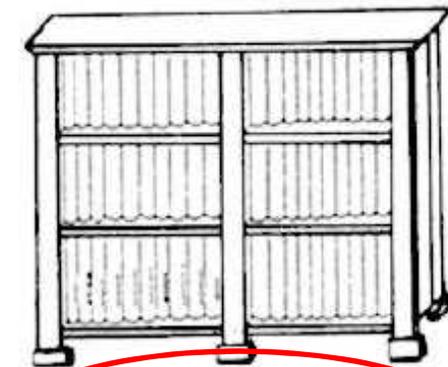
Ecrire la succession des bases d'un génome, à raison de 25 kb par page et de 1 500 pages par volume, donne les résultats suivants, de quelques pages à de très nombreux volumes



**nématode : *C. elegans***  
 $97 \times 10^6$  pdb  
 3 volumes



**mouche : *D. melanogaster***  
 $180 \times 10^6$  pdb  
 6 volumes



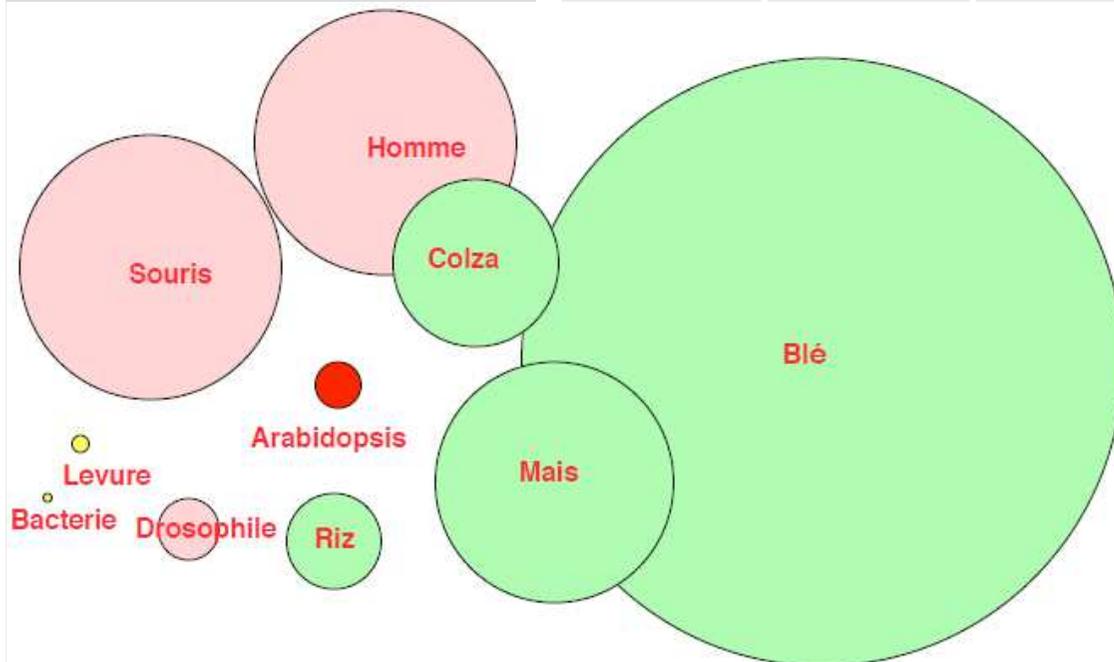
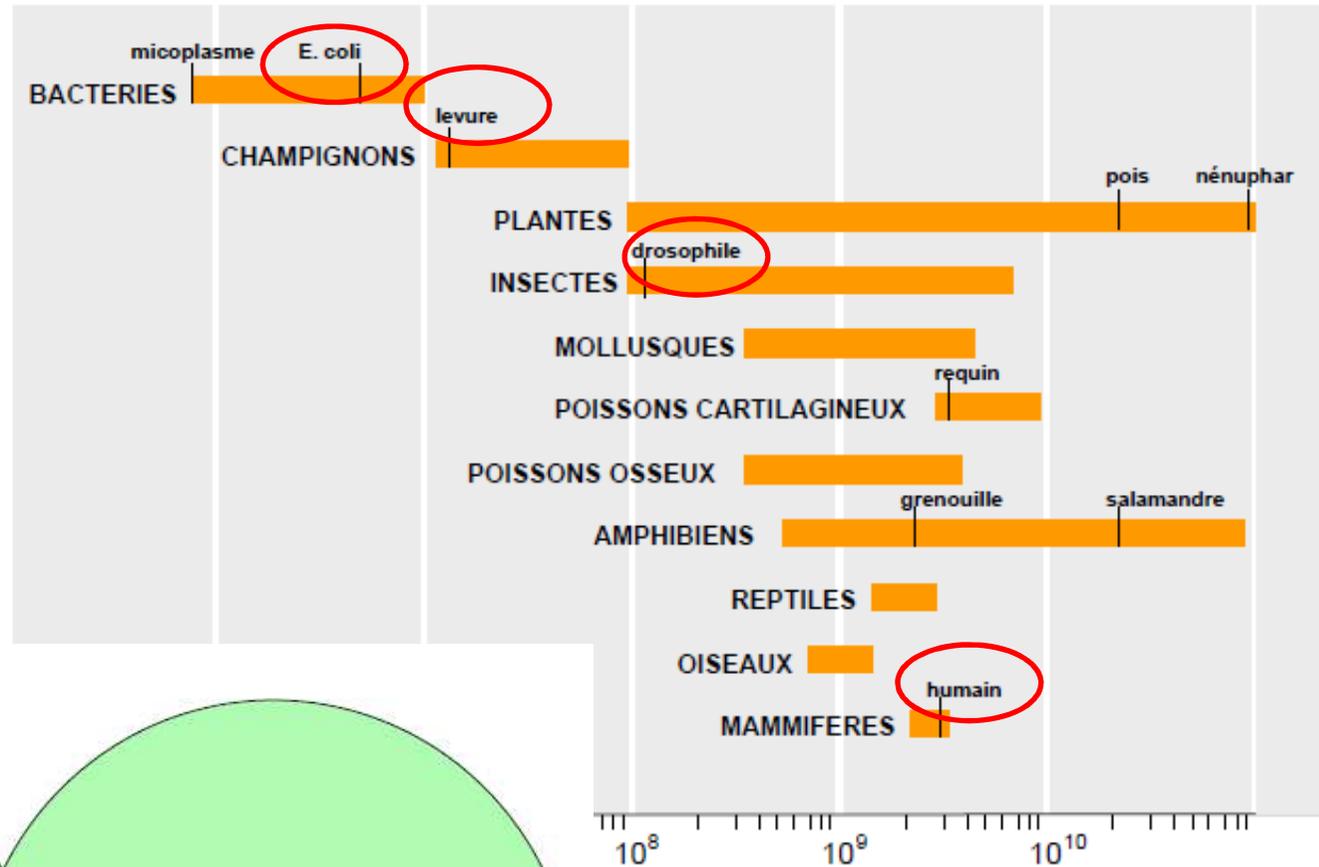
**homme : *H. sapiens*,  $3\,300 \times 10^6$  pdb**  
 90 volumes  
**Mais : *Z. mays*, 5000 Mb,**  
 135 volumes

<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>

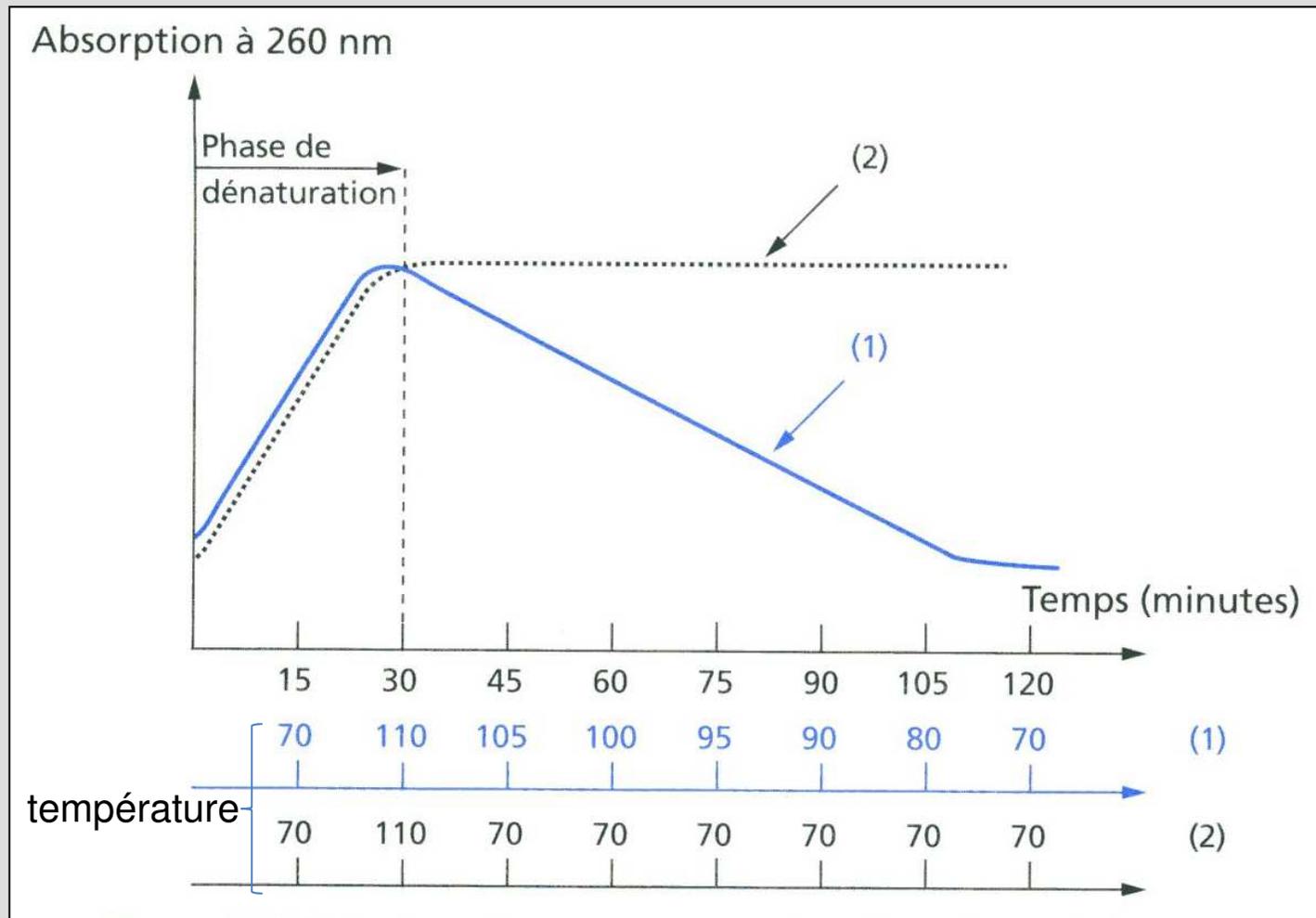
# Taille des génomes



## Taille des génomes nucléaires.

[http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/cours\\_ge\\_\\_769\\_nome\\_I.pdf](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/cours_ge__769_nome_I.pdf)

# Suivi de la renaturation par absorption dans l'UV

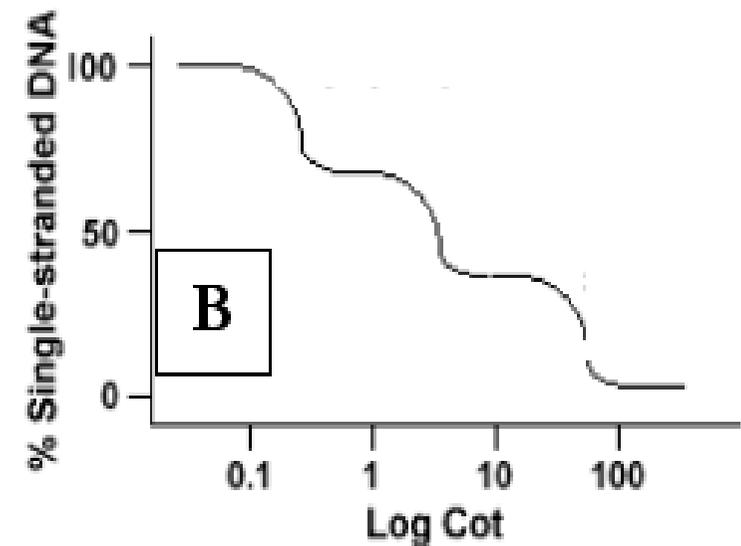
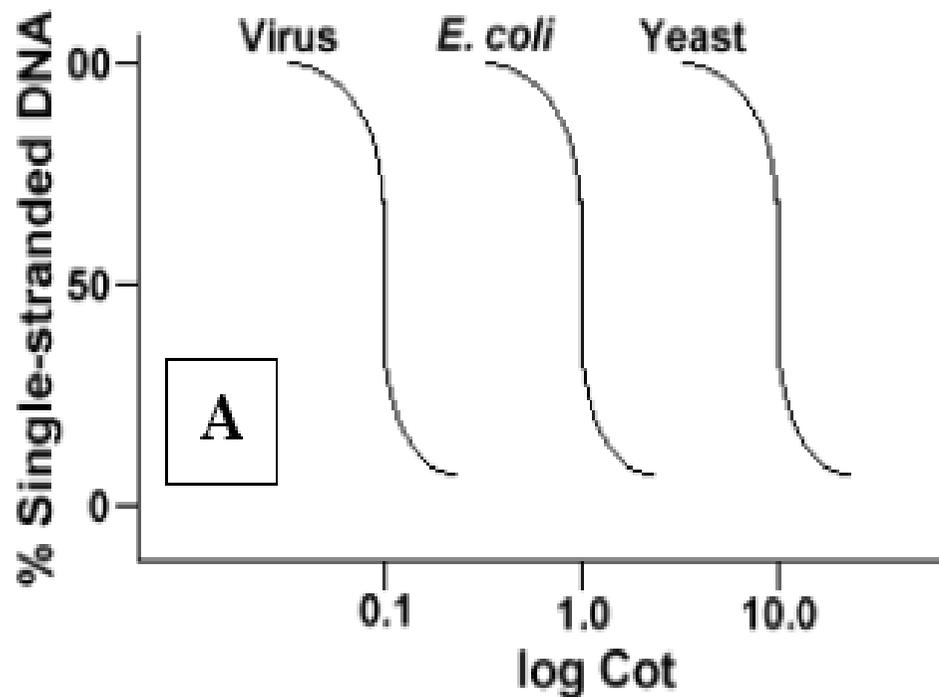


## Dénaturation et renaturation thermique de fragments d'ADN.

1 – L'ADN dénaturé est refroidi lentement.

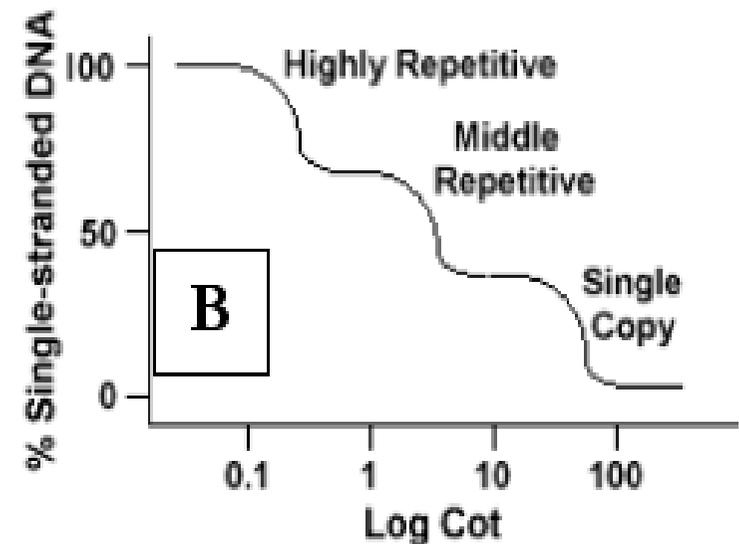
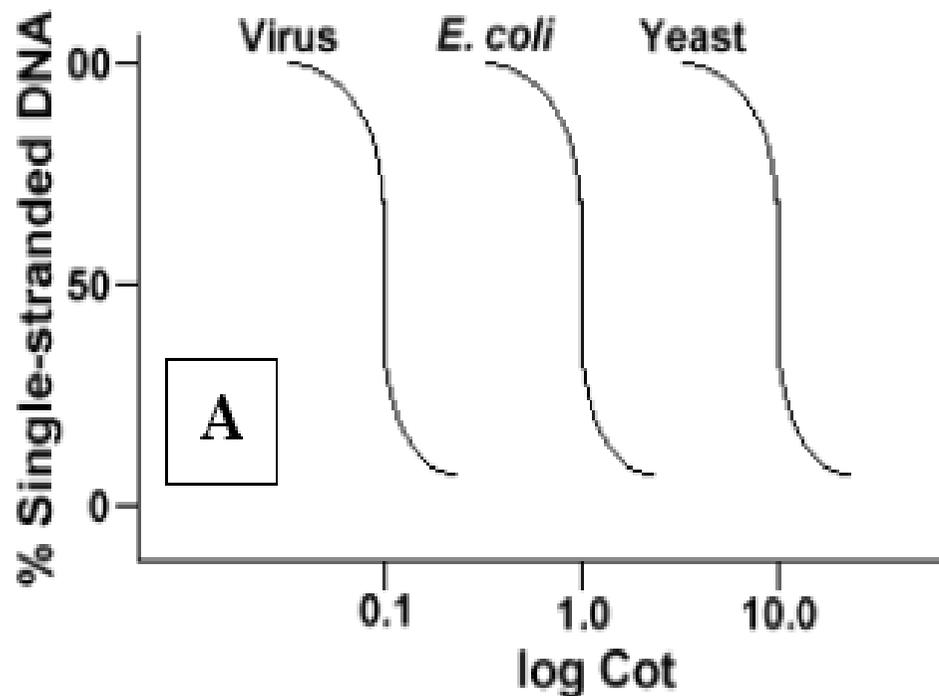
2 – L'ADN dénaturé est refroidi brutalement.

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

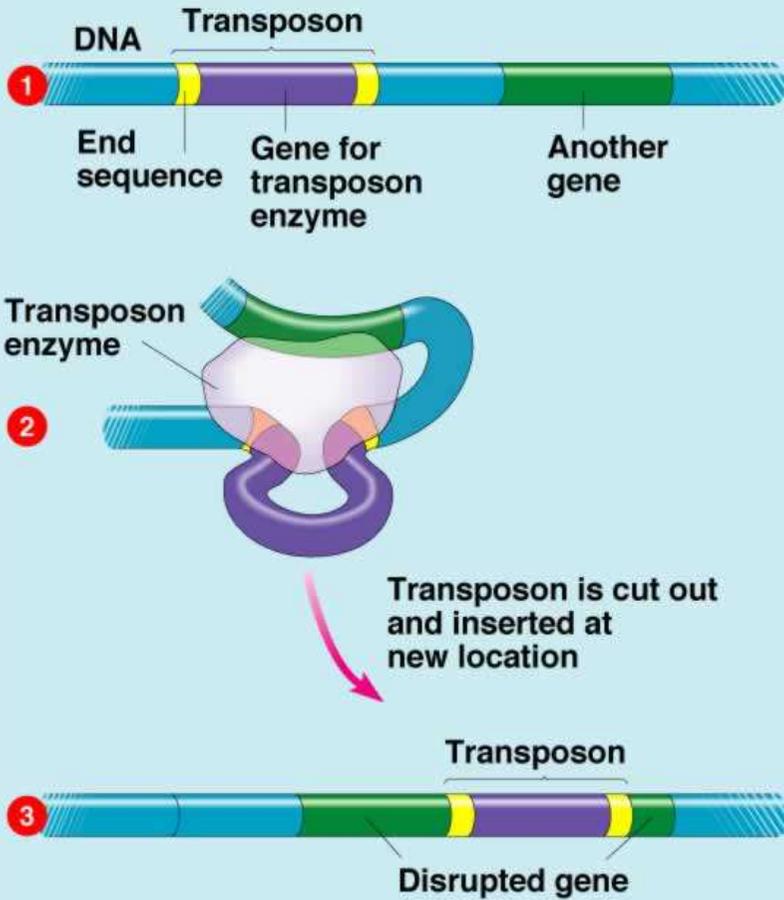


**Eucaryotes multicellulaires**

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

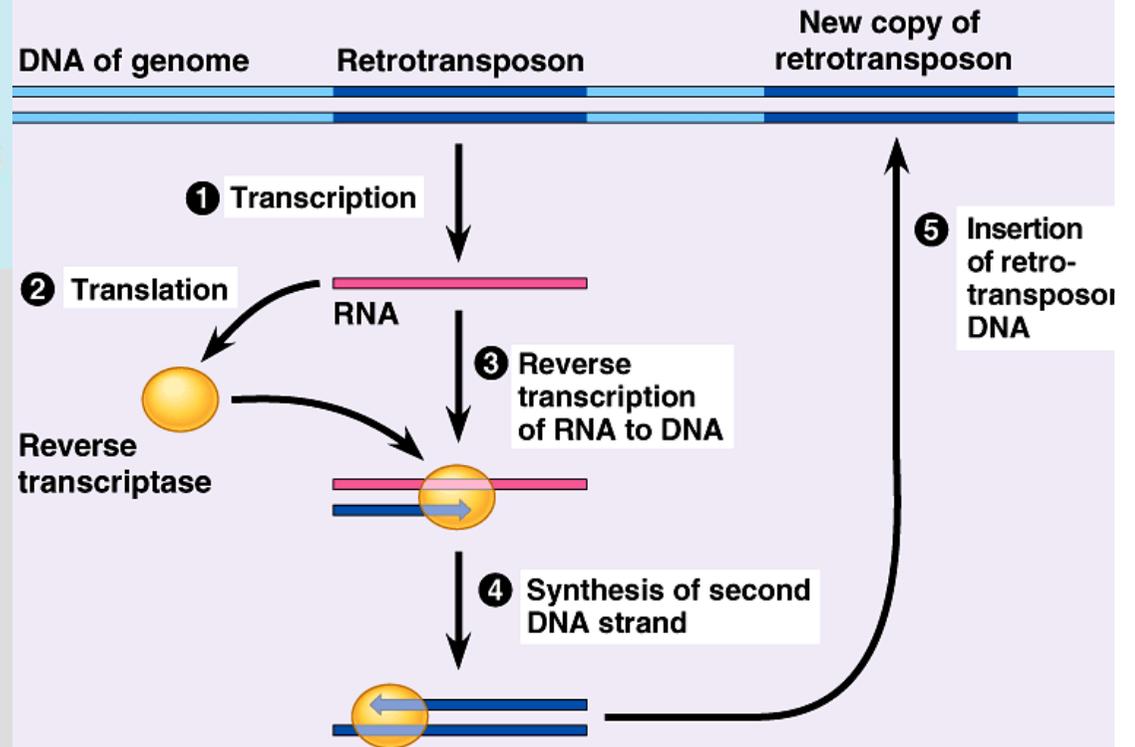


**Eucaryotes multicellulaires**



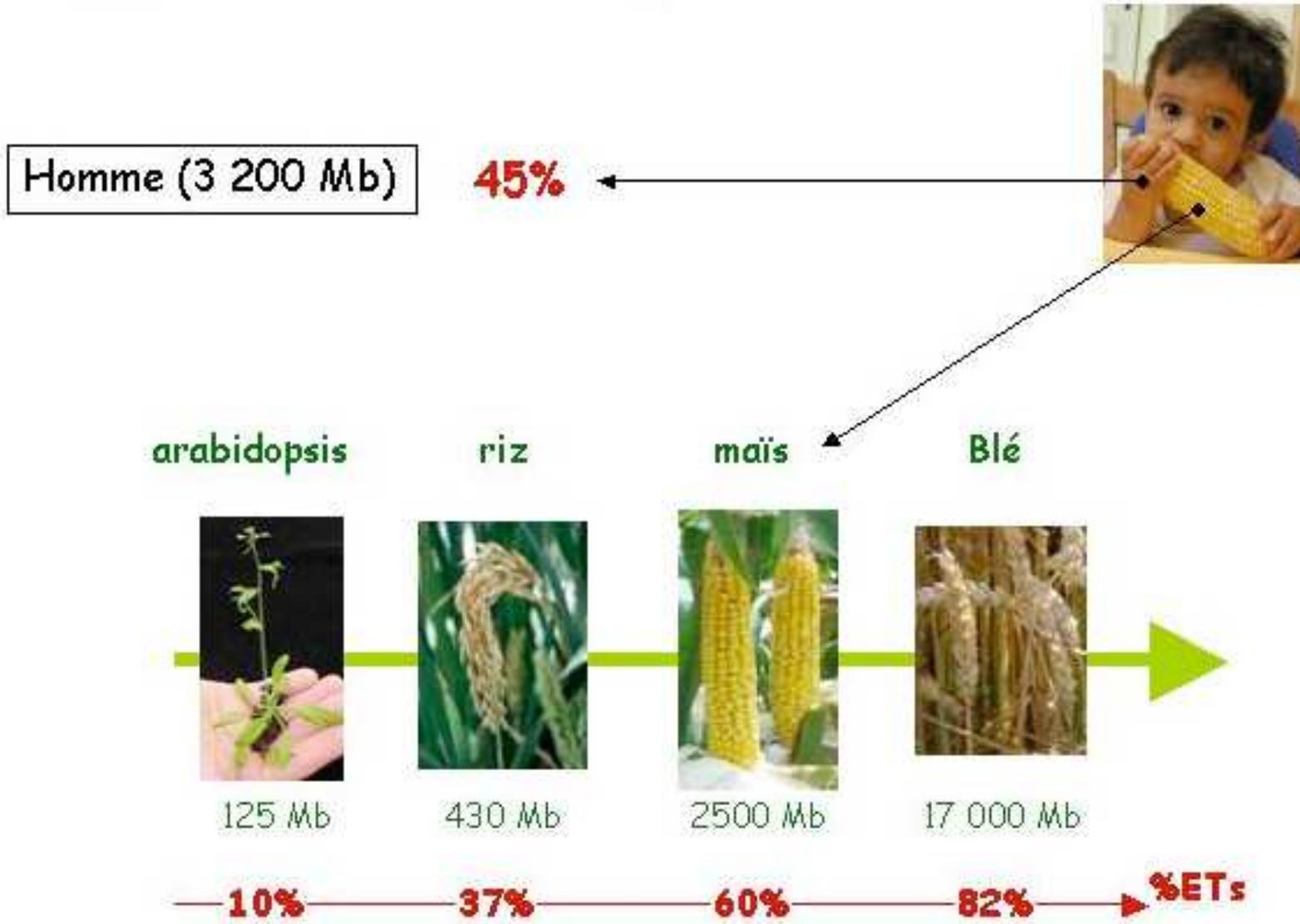
**Transposition d'un transposon :  
mécanisme de « couper – coller »**

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

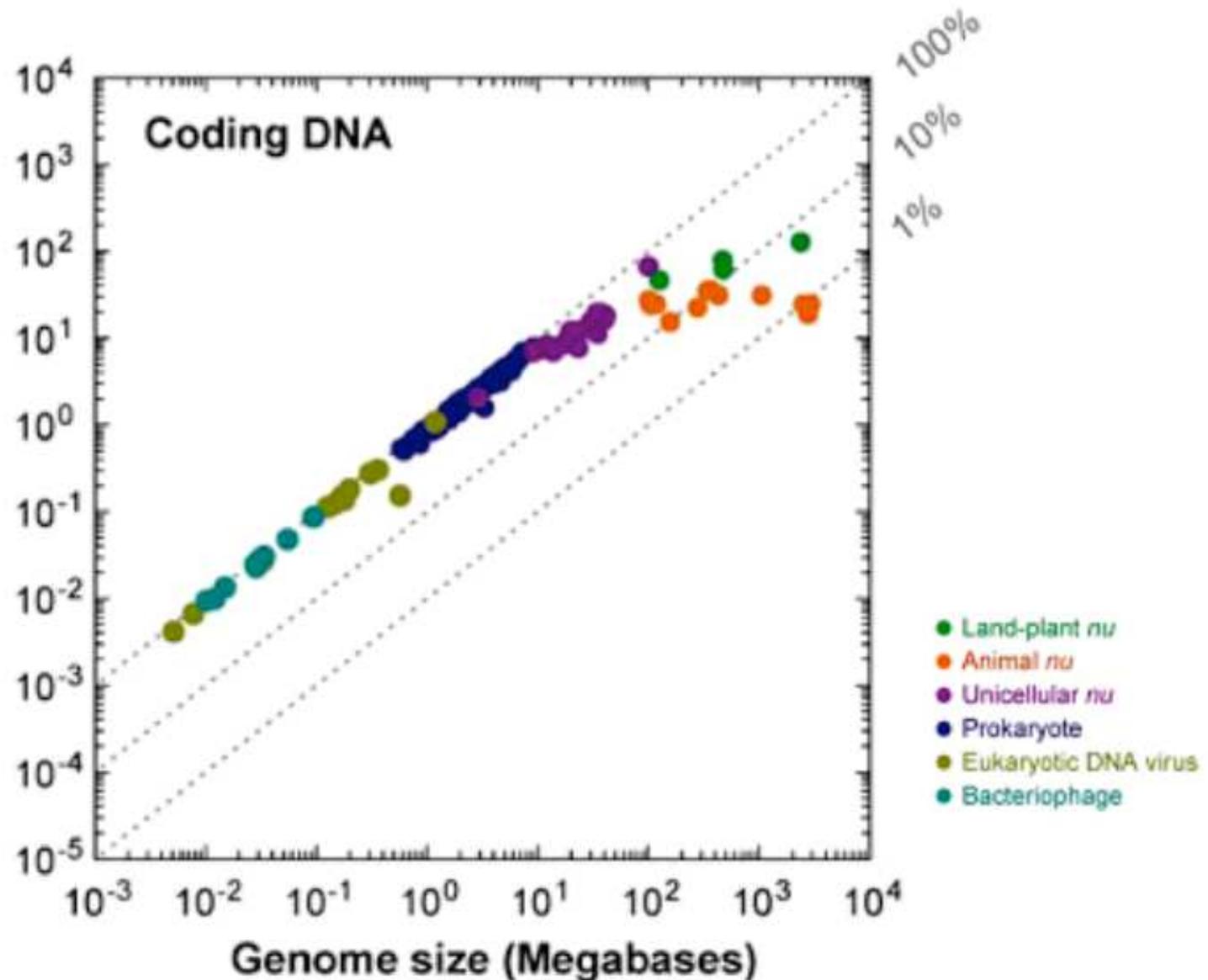


<http://www.chrisdellavedova.com/2008/01/29/science-tuesday-one-cells-junk-is-another-cells-treasure/>

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

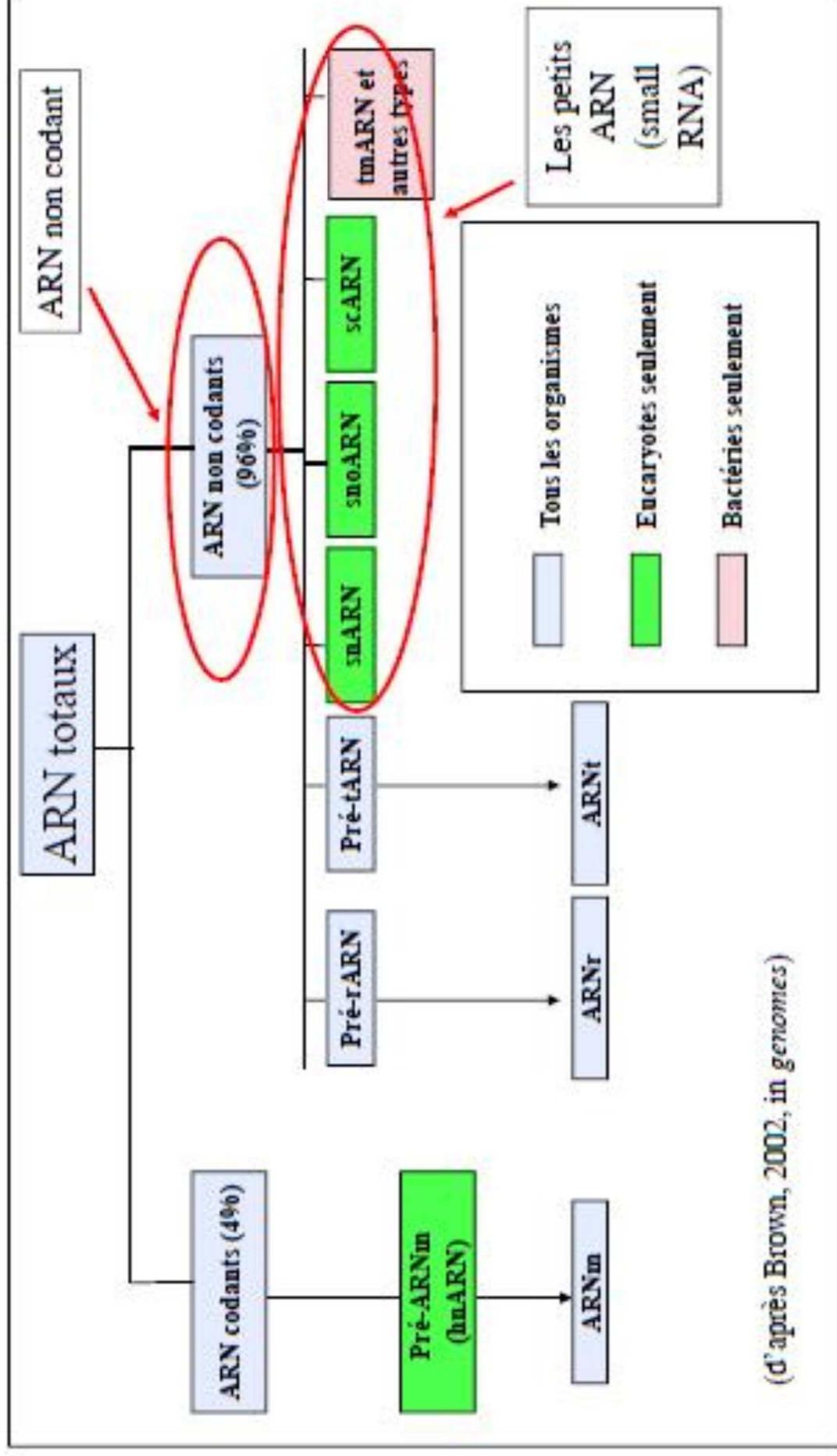


quantité d'ADN codant en fonction de la taille du génome

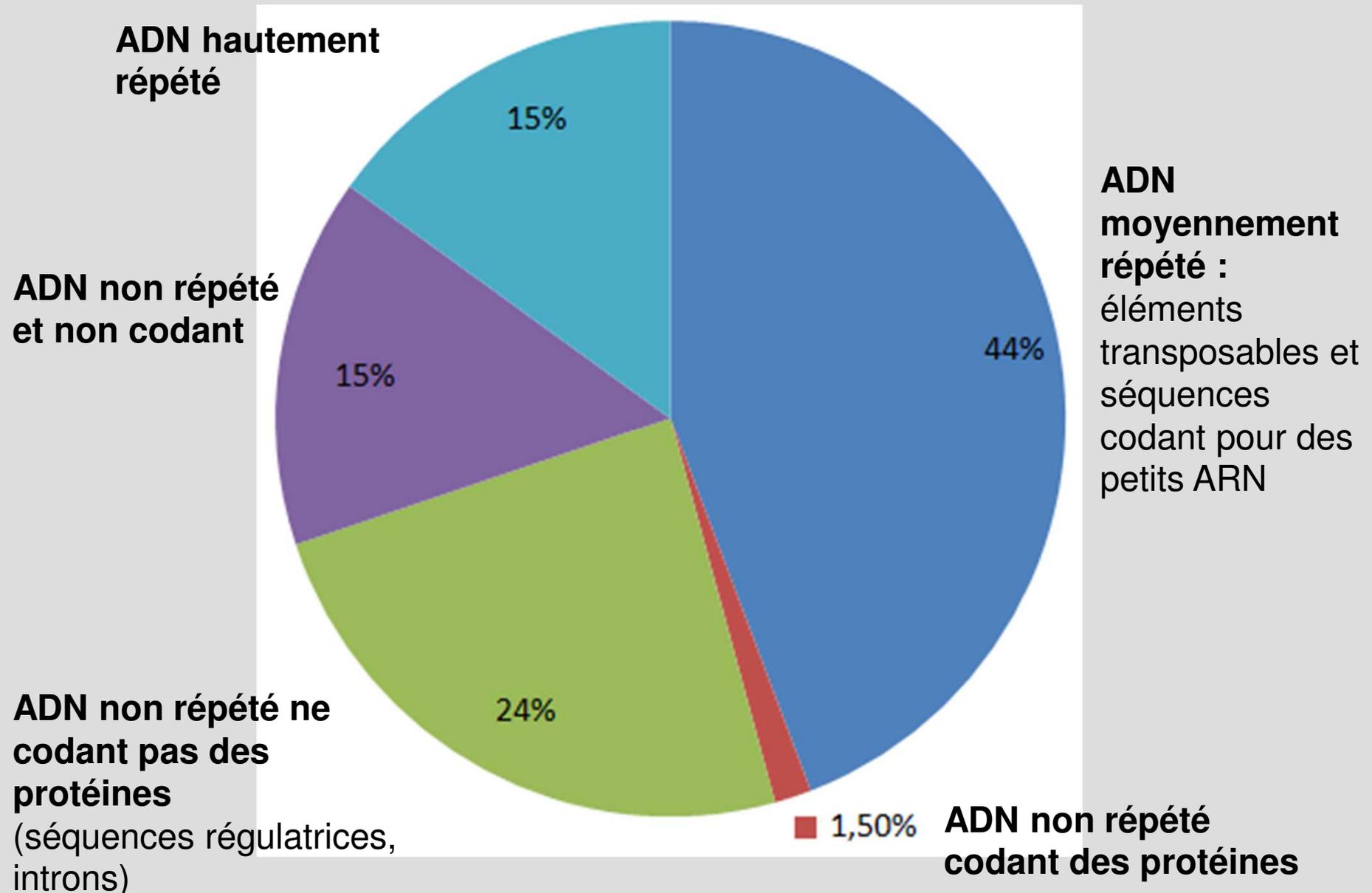


# Les ARN cellulaires

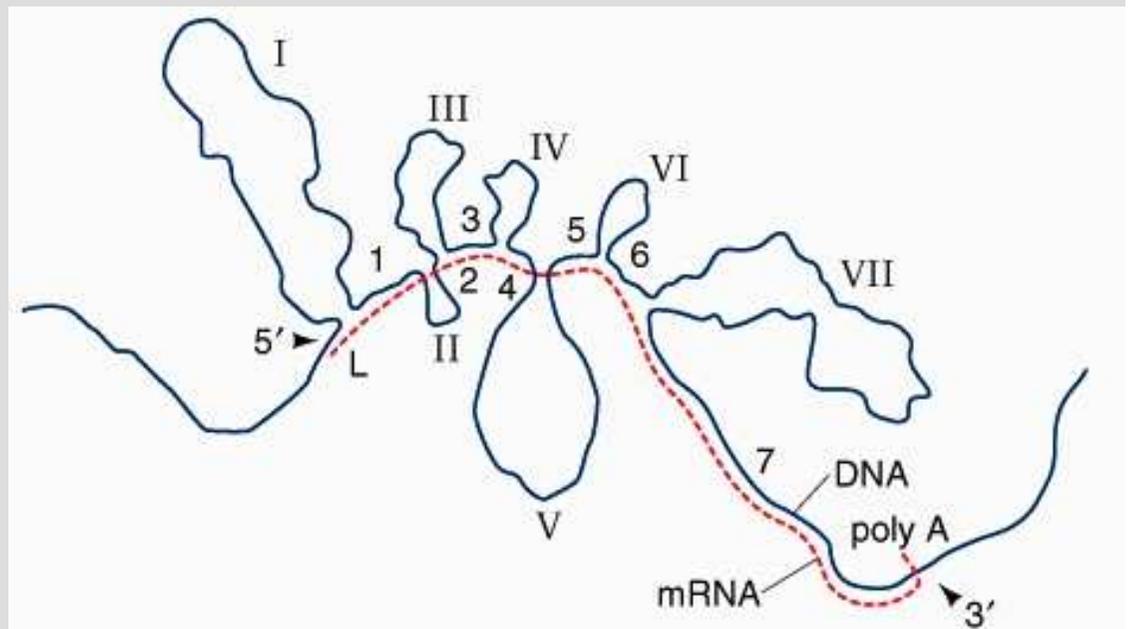
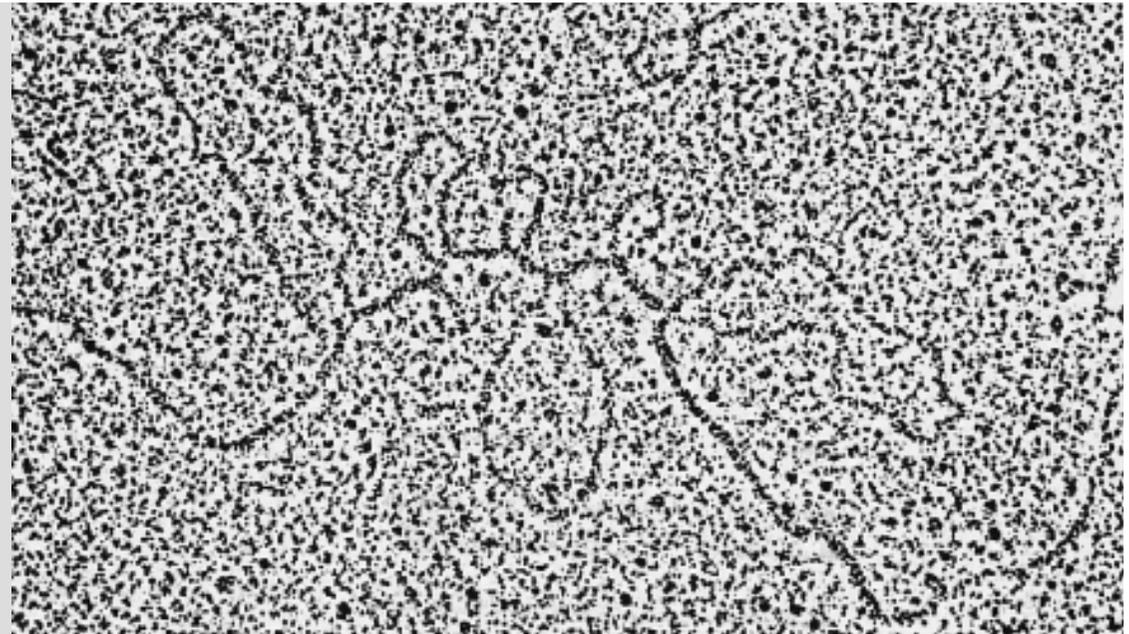
15



# 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
<b>Génome eucaryote</b>	<b>extranucléaire</b>	<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>
	<b>nucléaire</b>	<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>
<b>Génome eubactéries</b>		<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>