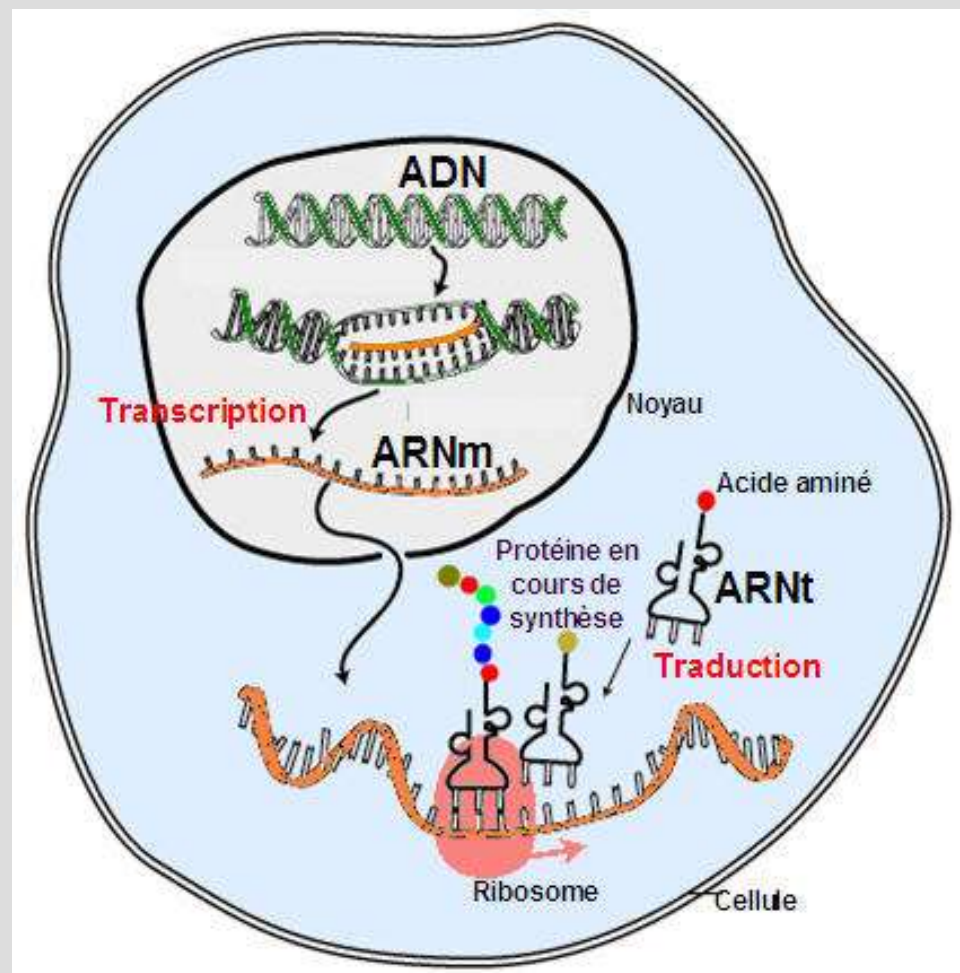
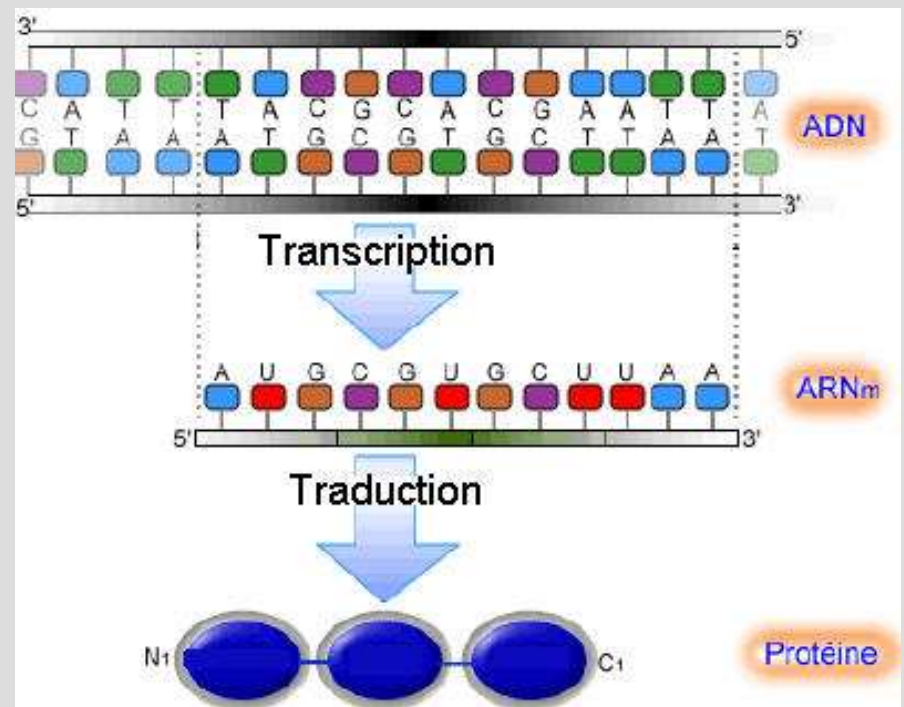
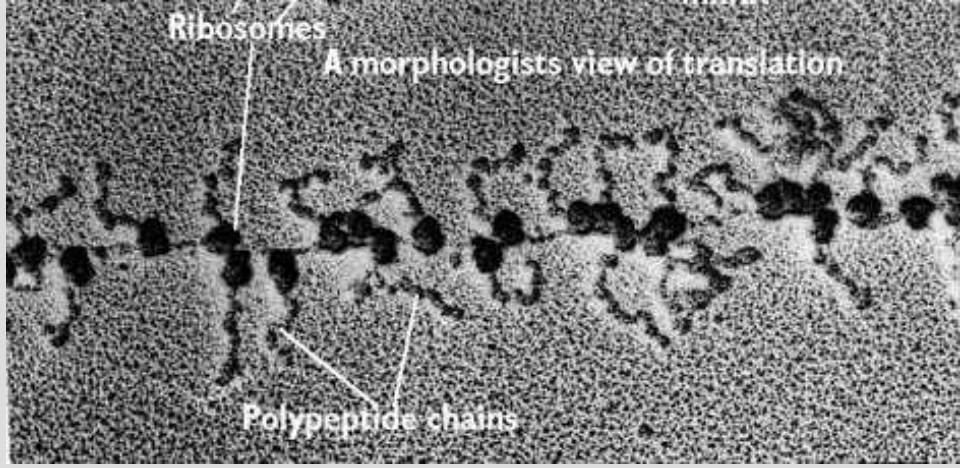


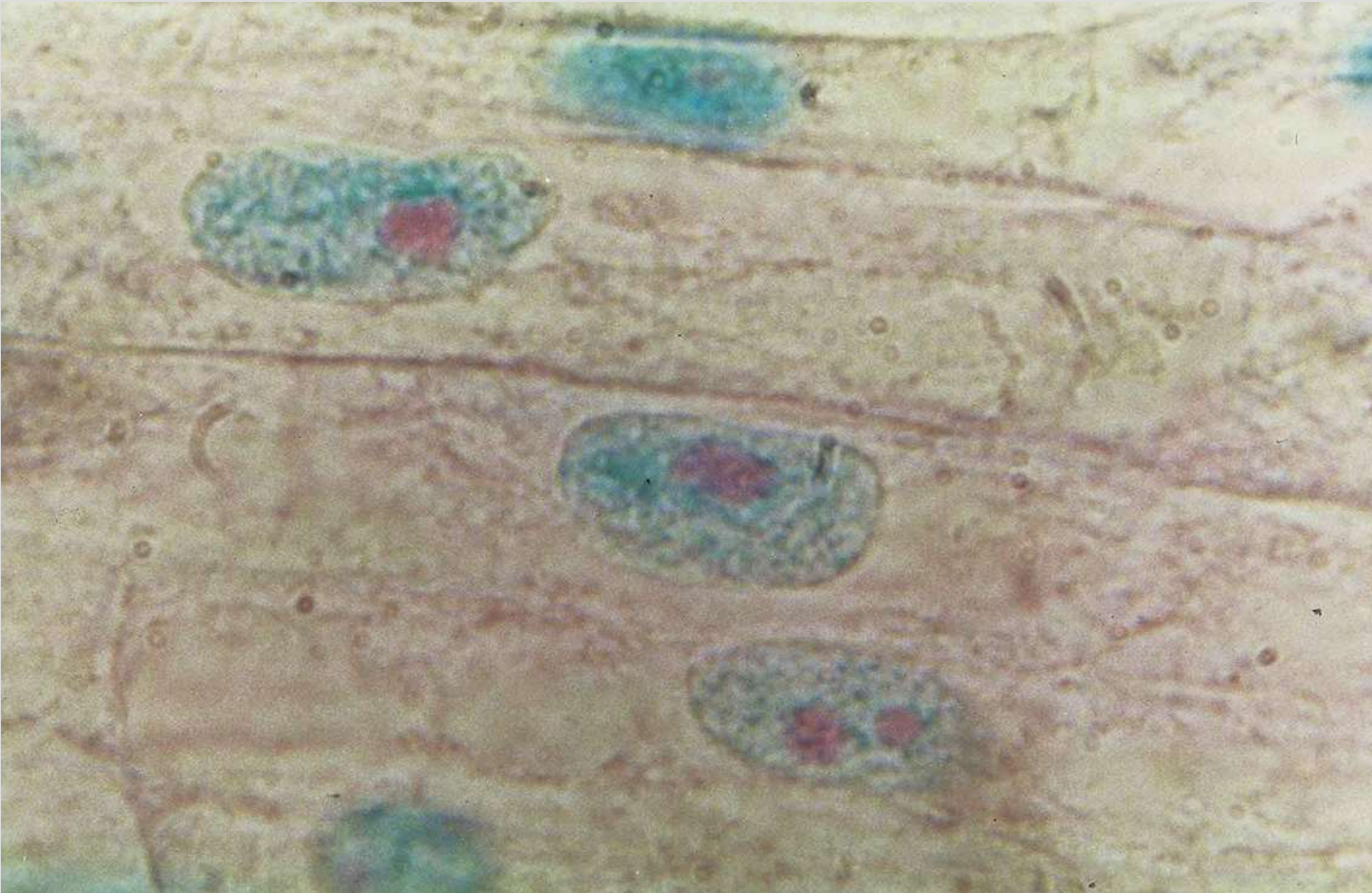
SV – F :

Génomique structurale et fonctionnelle

SV – F – 2 et 3 :

L'expression du génome et son contrôle





Test de Brachet

sur des cellules de racine d'Oignon (M.O.)

Le vert de méthyle colore en vert l'ADN,
la pyronine colore en rouge l'ARN.

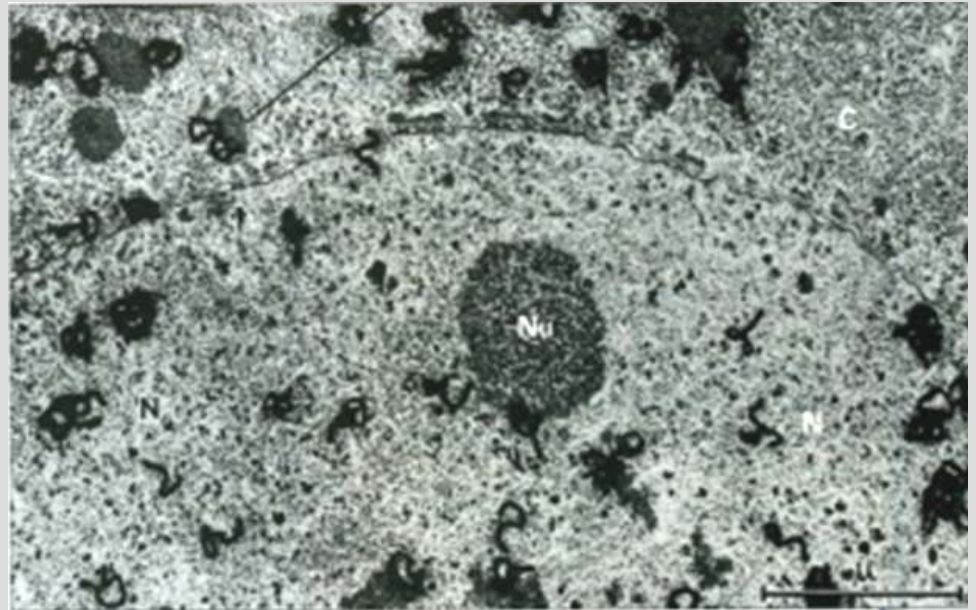
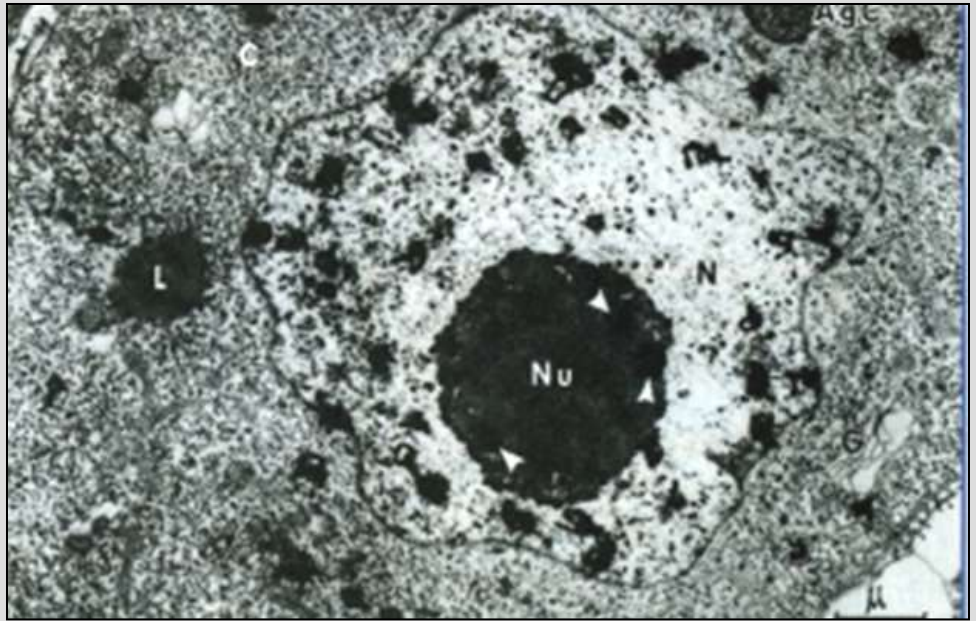
**Mise en évidence de la
synthèse et du devenir de
l'ARN.**

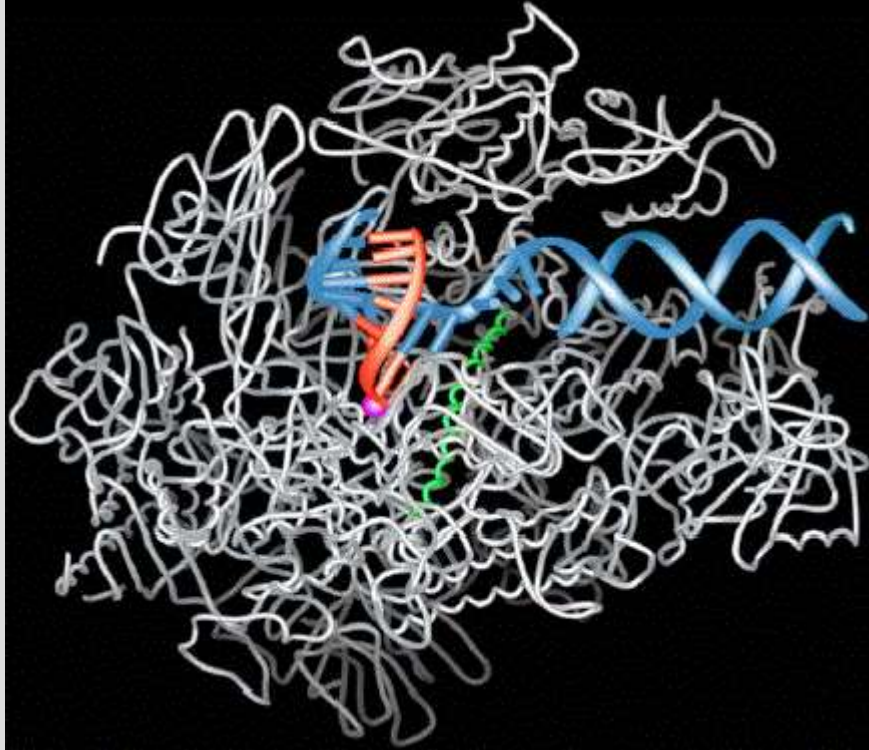
Les cellules sont mises en culture pendant quelques minutes sur un milieu contenant de l'uridine tritiée, nucléotide spécifique des ARN.

En haut : autoradiographie réalisée après 12 h de chasse (MET x 13 000).

En bas : autoradiographie réalisée après trois jours de chasse (MET x 28 000).

(" SVT 1°S " programme 2001, Nathan Ed.)





en blanc : ARN-polymérase
 en bleu : double hélice d'ADN
 en rouge : ARN en cours de formation
 en vert : structure qui fait avancer le brin
 d'ADN dans l'enzyme



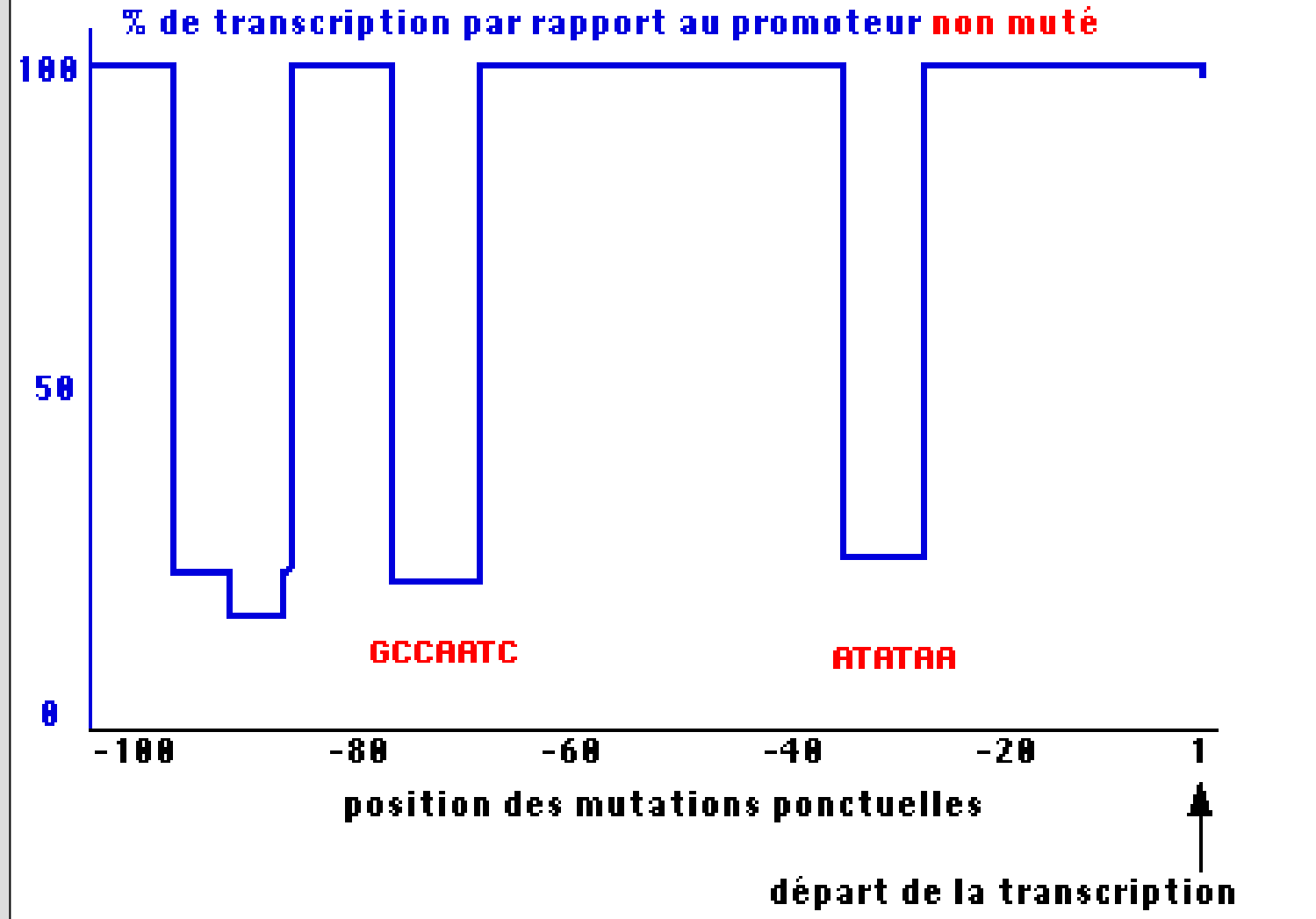
L 'ARN polymérase II
 constituée de 12 sous-unités

Source des figures : R. D. Kornberg

[Nobel Lecture 2006](#) & [Cell Death and Differentiation 14](#)

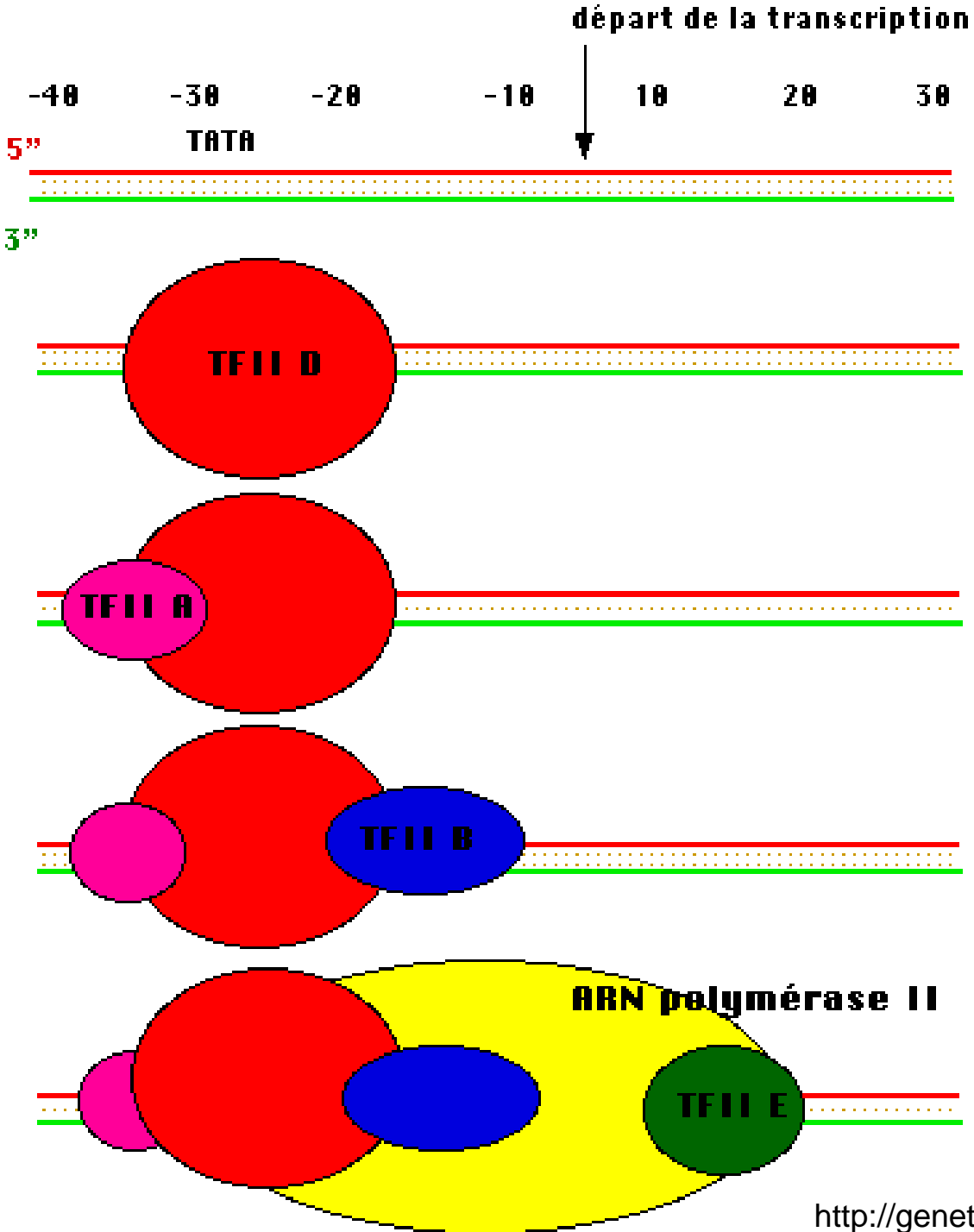
L'ARN polymérase de type II

réalise la synthèse de tous les ARN messagers
 nucléaires qui seront traduits en protéines
 Elle nécessite plusieurs facteurs de transcription (TFII).



Document 1. Identification du rôle de certaines séquences du site promoteur.

L'effet de mutations ponctuelles introduites à presque chaque position sur les 100 pb en amont du site de début de transcription est étudié pour le gène de la globine. Pour certaines localisations, les mutations affectent de façon très importante la transcription.

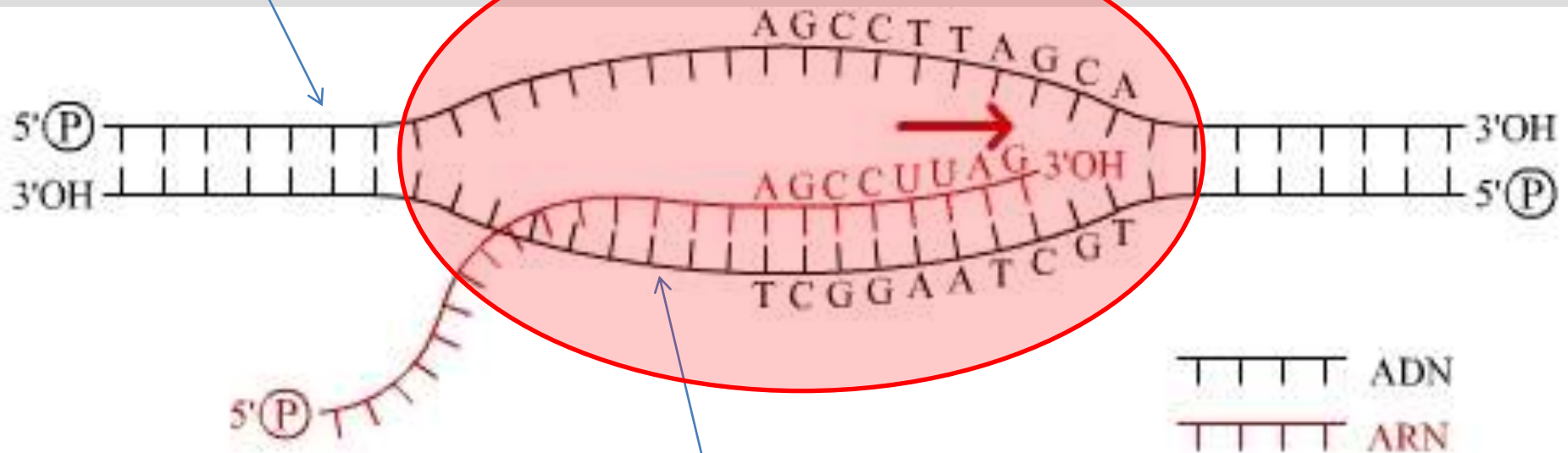


Formation du
complexe
d'initiation

Bulle de transcription

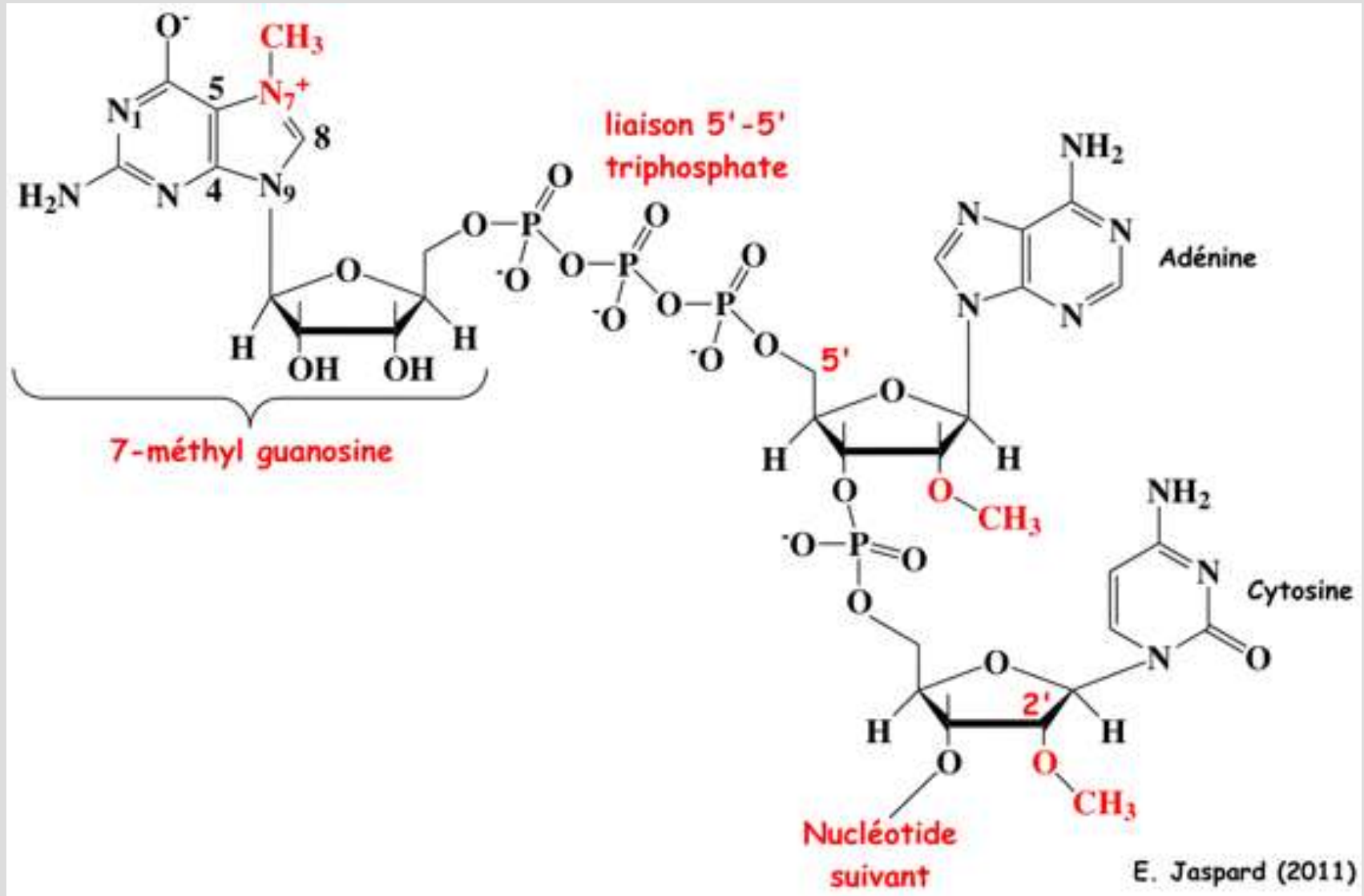
Brin codant ou
brin non transcrit

ARNpol

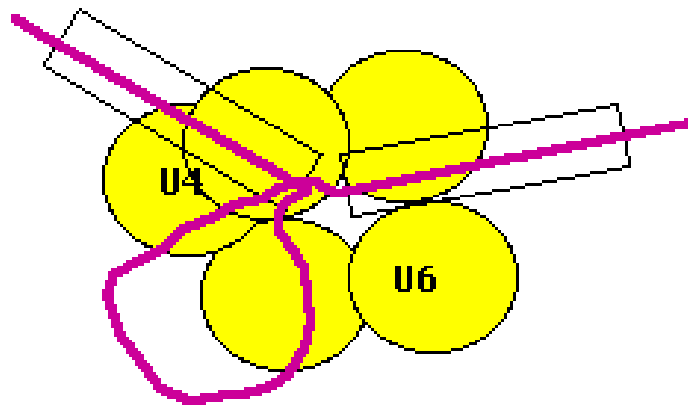
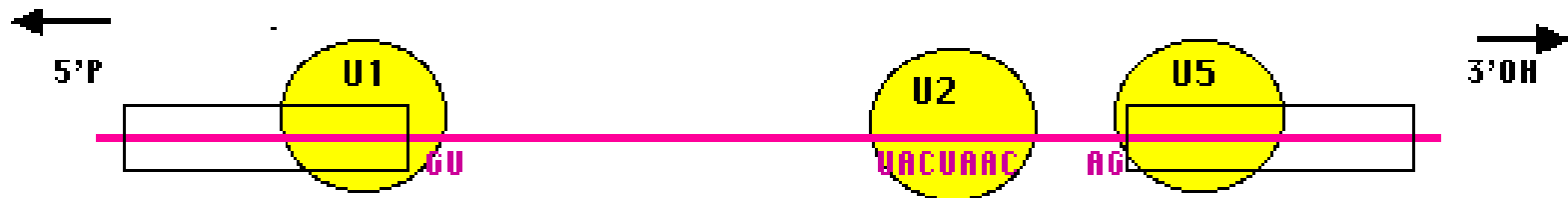


Brin transcrit = brin matrice

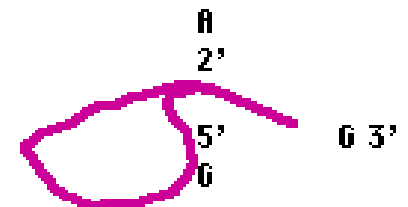
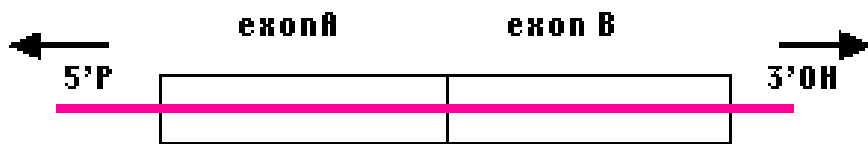
Document 2. Phase d'élongation
et formation d'une bulle de transcription.



Mise en place de la coiffe en 5'

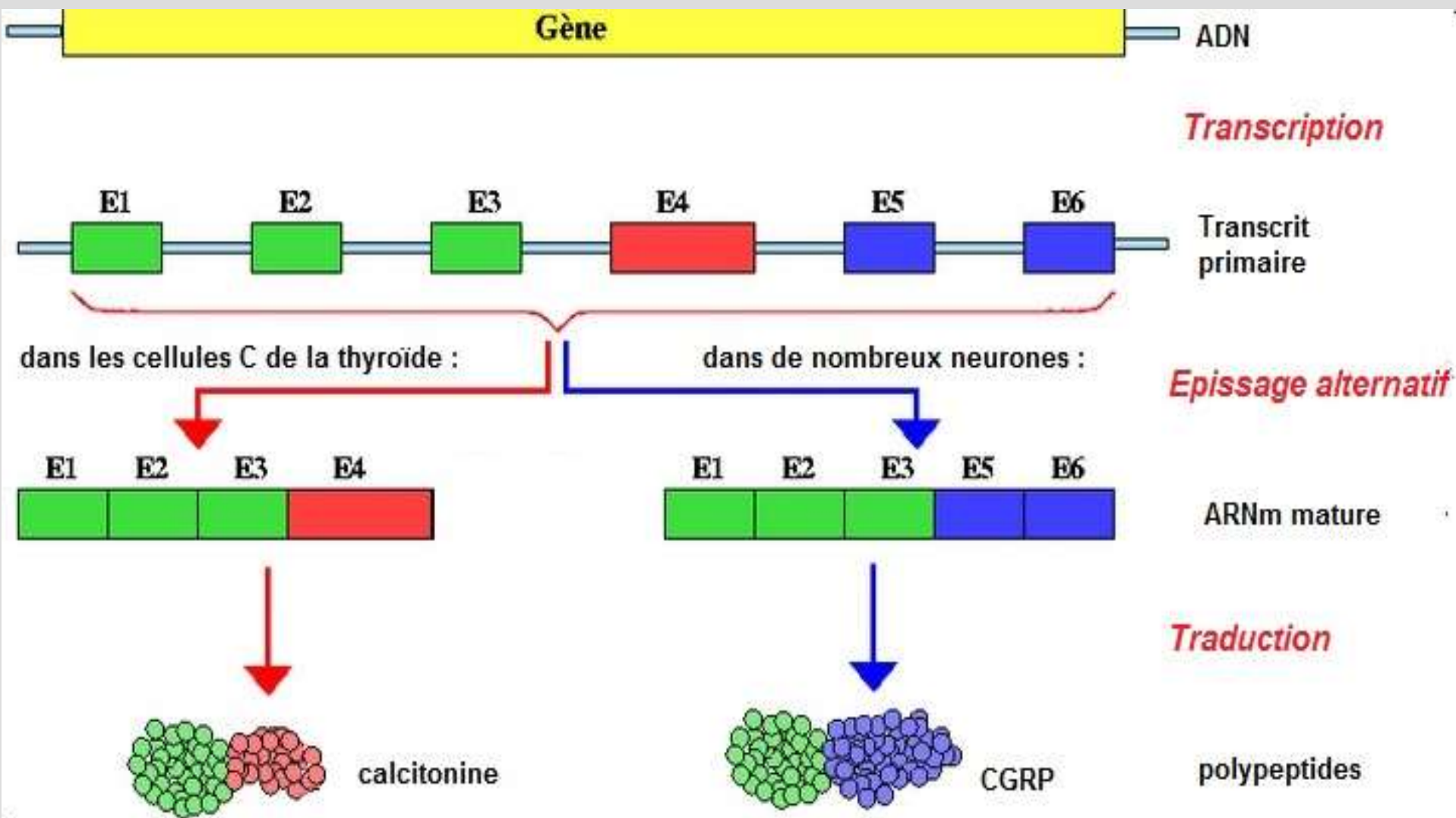


Les différents snRNP s'associent en un édifice qui replie l'intron et permet son élimination sous forme d'un « lasso ».



L'épissage

En jaune :
les snRNP

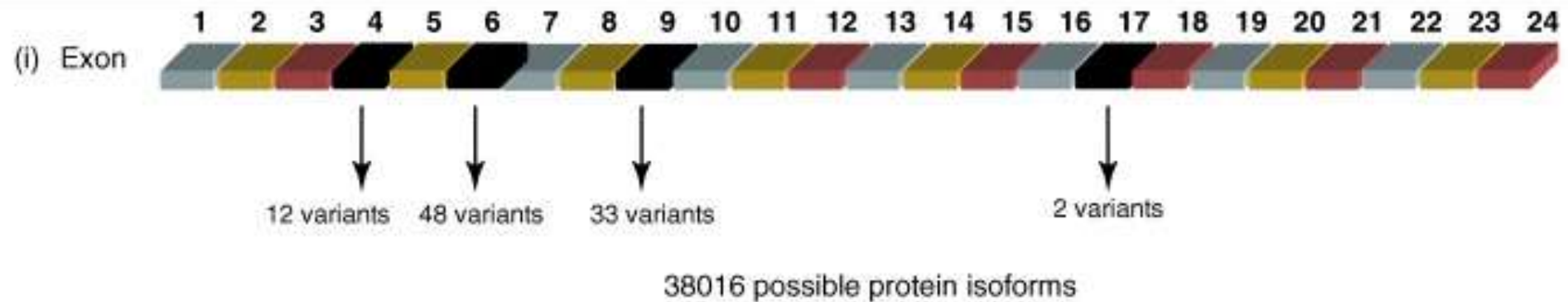


Document 3. Un épissage alternatif tissu dépendant : l'épissage alternatif calcitonine / CGRP.

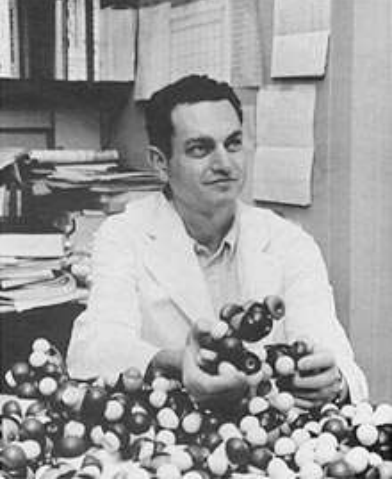
Le gène DSCAM

(Down Syndrom Cell Adhesion Molecule)

de la *Drosophila* peut
coder jusqu'à 38 016
ARNm différents

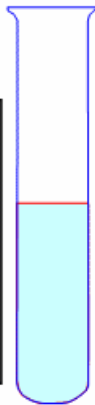


Les protéines codées sont des protéines membranaires intervenant dans le guidage des axones durant le développement post-embryonnaire.

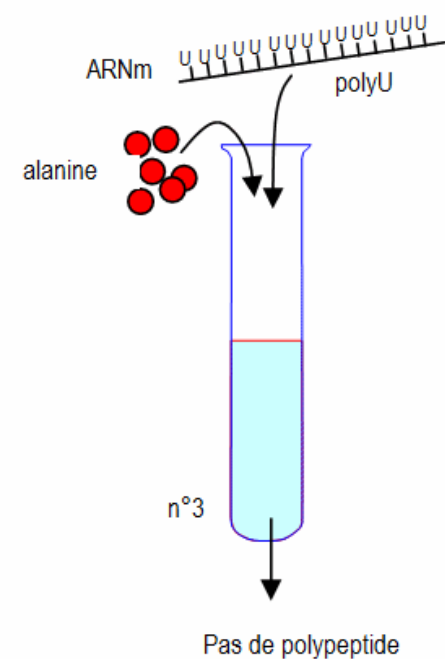
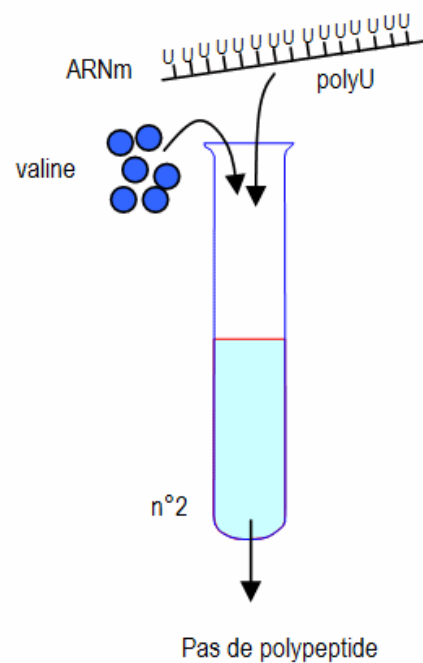
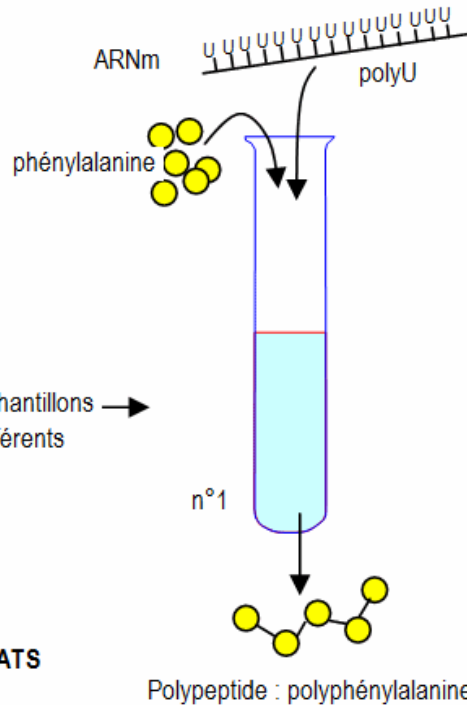


Expérience de Nirenberg, 1961

Système acellulaire
(extrait bactérien
d'E coli) sans ADN
ni ARNm avec
enzymes et
ribosomes
- 37°C- Mg²⁺ ;
énergie (ATP, GTP)


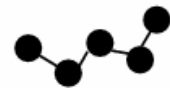


20 échantillons
différents



RESULTATS

Autres expériences : avec

ARNm	polypeptide obtenu
polyA	polymère de lysine 
polyC	polymère de proline 

		DEUXIÈME BASE				
		U	C	A	G	
U	UUU	UCU UCC	UAU UAC	UGU UGC	U C A G	
	UUC					UUA UUG
	UUA	UCA UCG	UGA Arrêt UGG Trp			
	UUG					
C	CUU	CCU CCC	CAU CAC	CGU CGC	U C A G	
	CUC					CUA CUG
	CUA	CCA CCG	CAU CAC	CGU CGC		
	CUG					
A	AUU	ACU ACC	AAU AAC	AGU AGC	U C A G	
	AUC					AUA AUG
	AUA	ACA ACG	AAU AAC	AGU AGC		
	AUG					
G	GUU	GCU GCC	GAU GAC	GGU GGC	U C A G	
	GUC					GUA GUG
	GUA	GCA GCG	GAU GAC	GGU GGC		
	GUG					

- **Unité de base : le codon**
- **Universel**
- **Non chevauchant**
- **Non ponctué**
- **Redondant (=« dégénéré »)**
- **Pas ambigu**
- **3 codons stop : UAG UGA UAA**
- **1 codon initiateur : AUG**

Document 4.

Le code génétique.

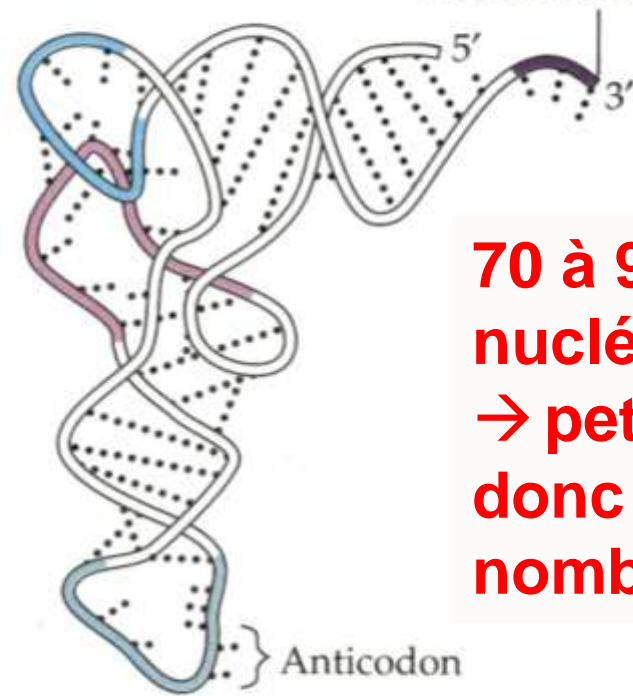
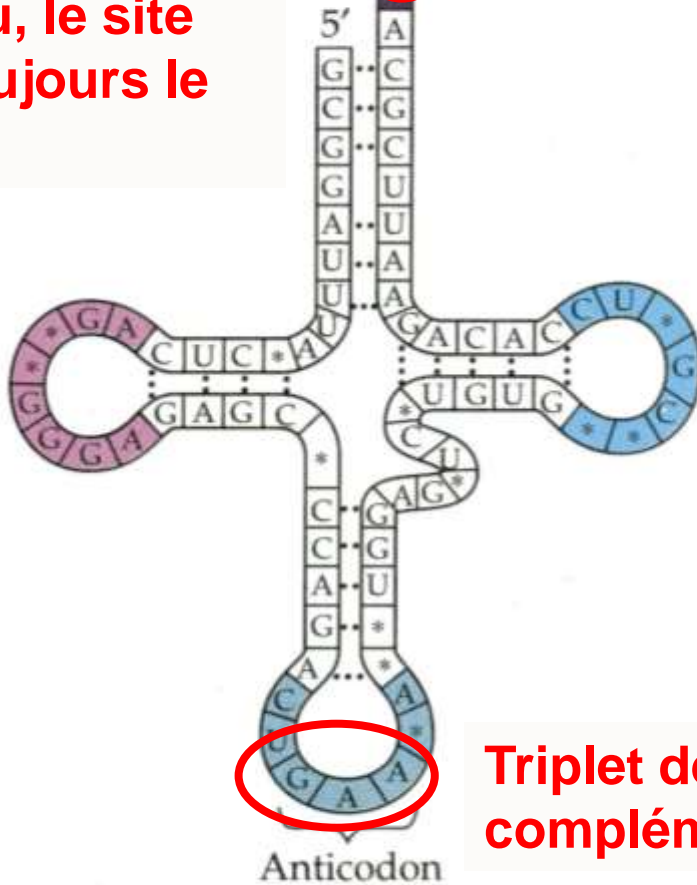
(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).

La charge de l'acide aminé se réalise à ce niveau, le site est toujours le même

3'
A
C
C
Site de liaison de l'acide aminé

31 ARNt différents

Site de liaison de l'acide aminé



70 à 90 nucléotides
→ petite taille,
donc très nombreux

Triplet de nucléotides complémentaire du codon

(a)

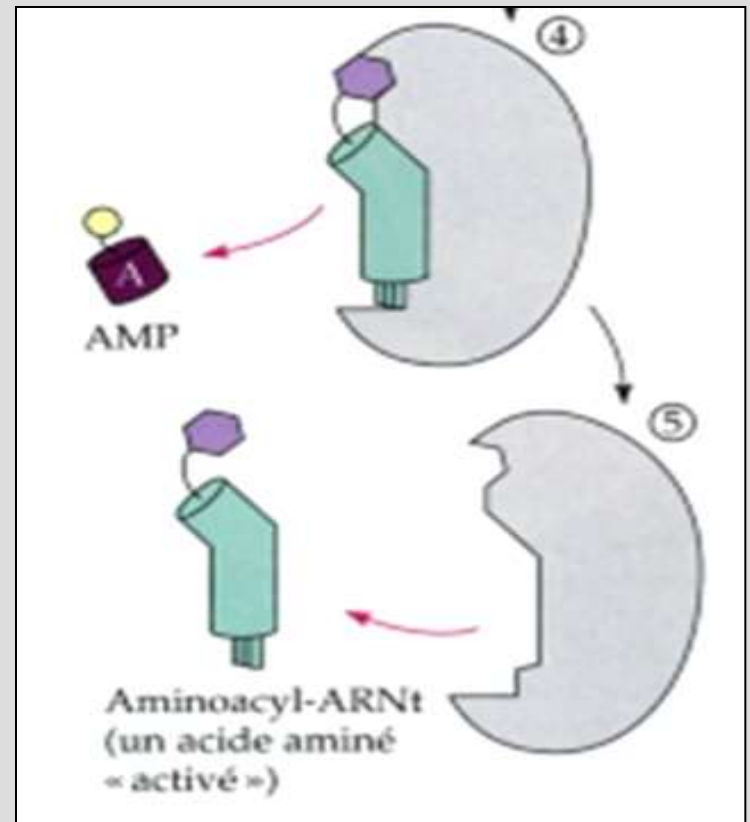
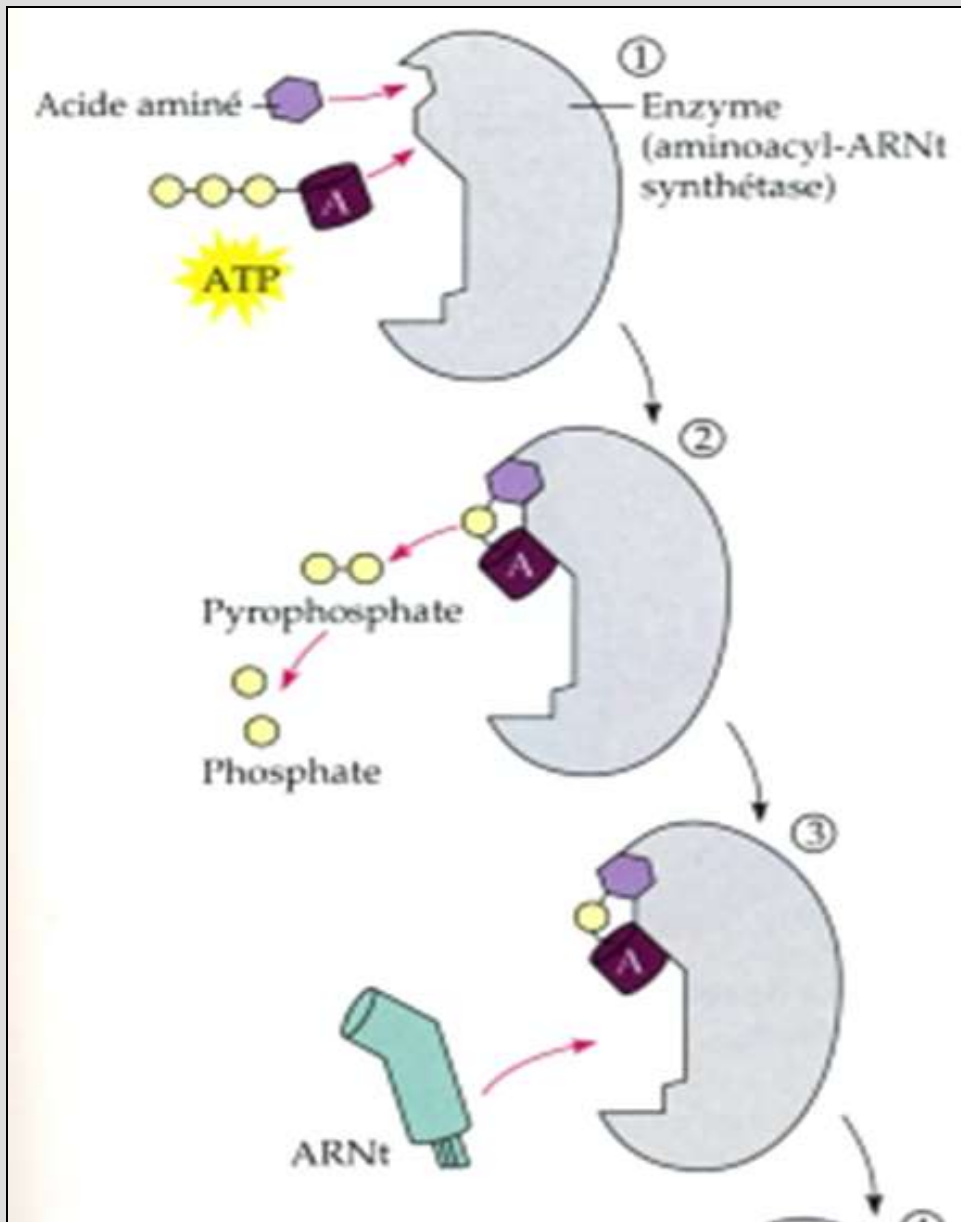
(b)

Document 5. Structure de l'ARN de transfert.

a. Structure bidimensionnelle en "feuille de trèfle".

b. Structure tridimensionnelle en L.

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



Document 6. Fixation de l'acide aminé sur l'ARNt correspondant par l'aminoacyl-ARNt synthétase.

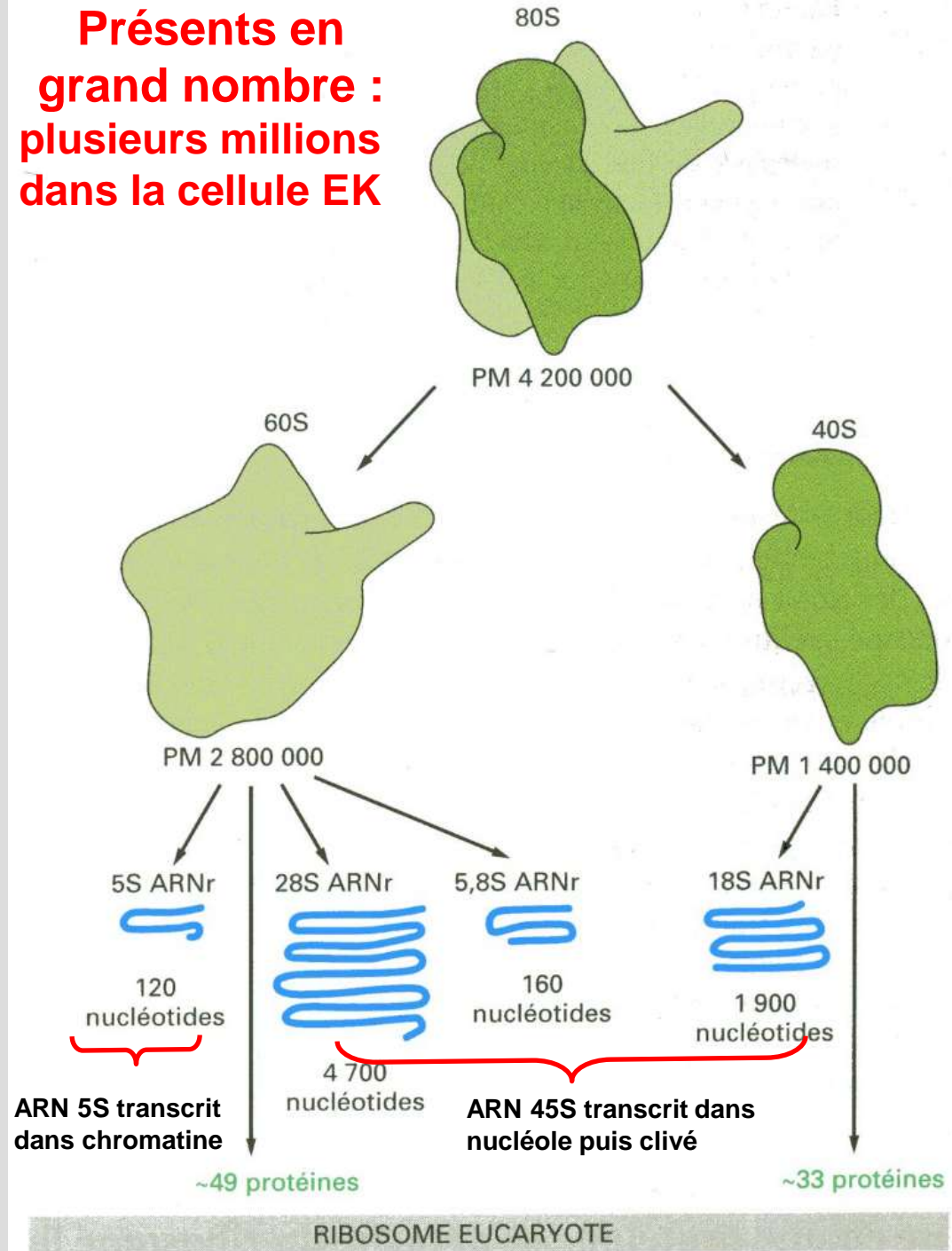
(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).

Document 7. Structure du ribosome des cellules eucaryotes.

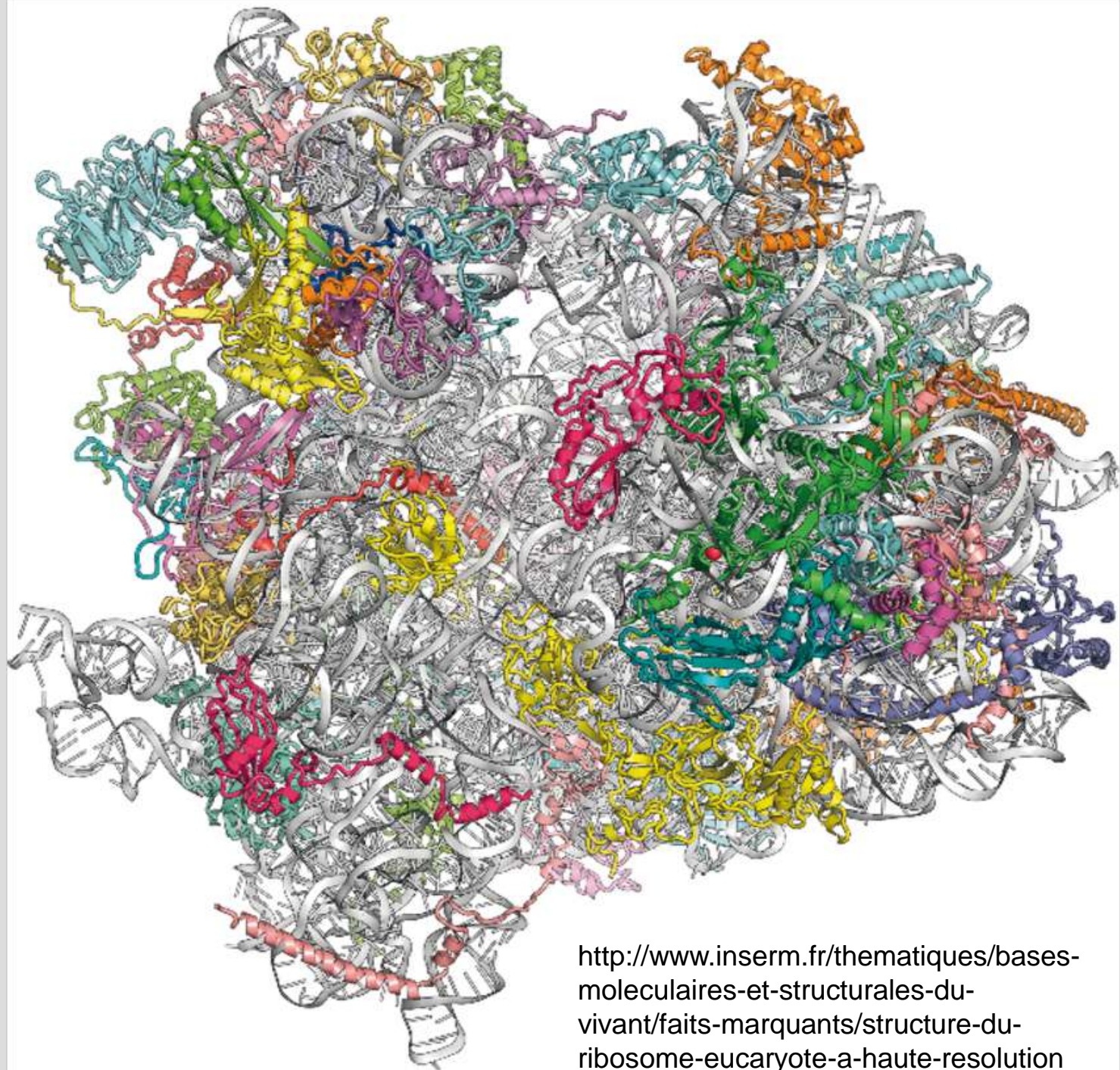
Les composants ribosomiaux sont généralement désignés par leur “ S ” qui représente leur vitesse de sédimentation par ultracentrifugation.

(ALBERTS B. et coll., “ Biologie moléculaire de la cellule ”, 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1998).

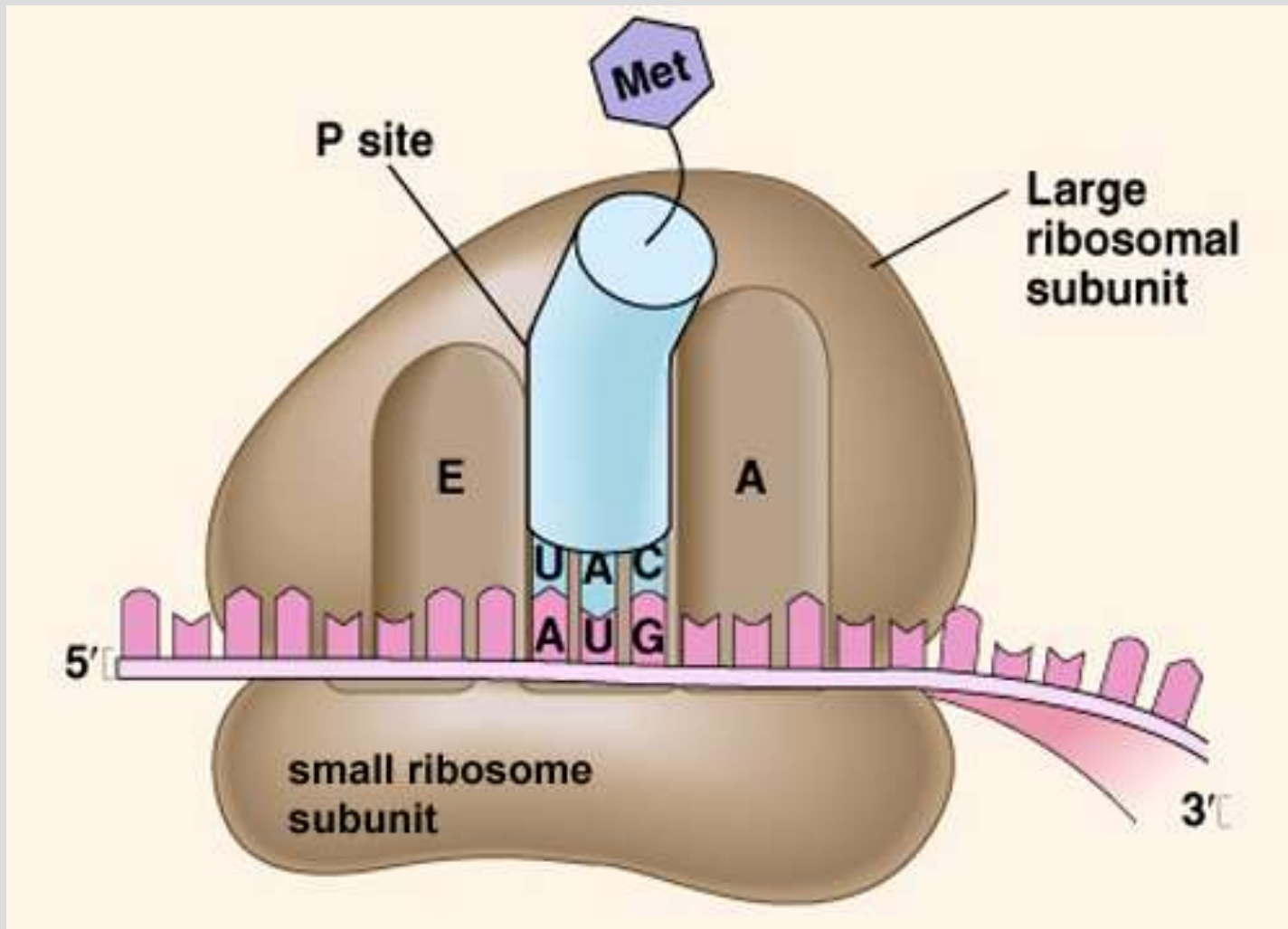
Présents en grand nombre : plusieurs millions dans la cellule EK



Premier modèle moléculaire du ribosome de l'Homme. Ce complexe macromoléculaire est composé de quatre molécules d'ARN (gris) et de 79 protéines (rubans colorés).



<http://www.inserm.fr/thematiques/bases-moleculaires-et-structurales-du-vivant/faits-marquants/structure-du-ribosome-eucaryote-a-haute-resolution>

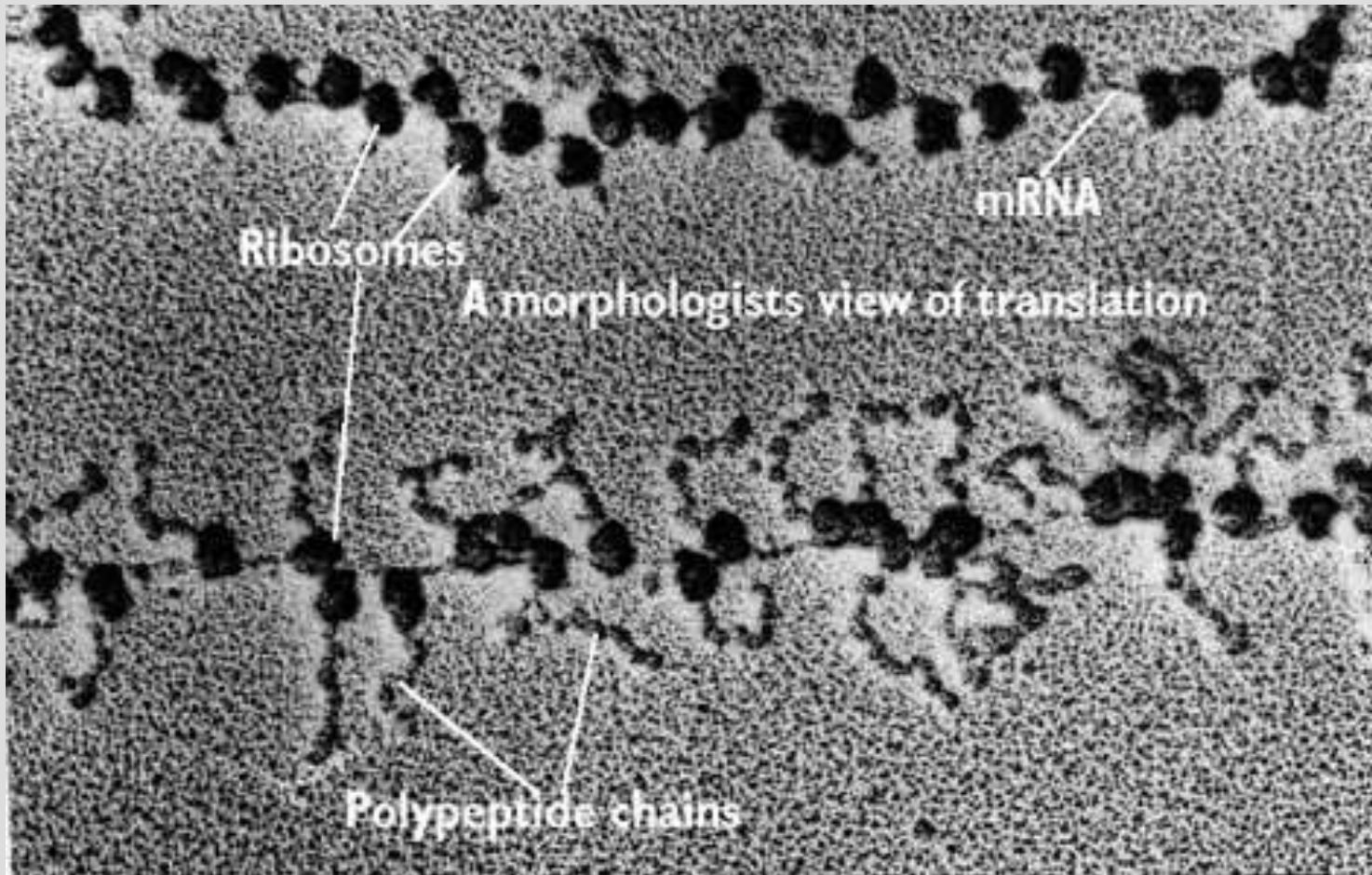


Structure d'un ribosome assemblé

Site E : « exit site » site de « sortie » de l'ARNt déchargé

Site P : site de liaison au peptidyl-ARNt

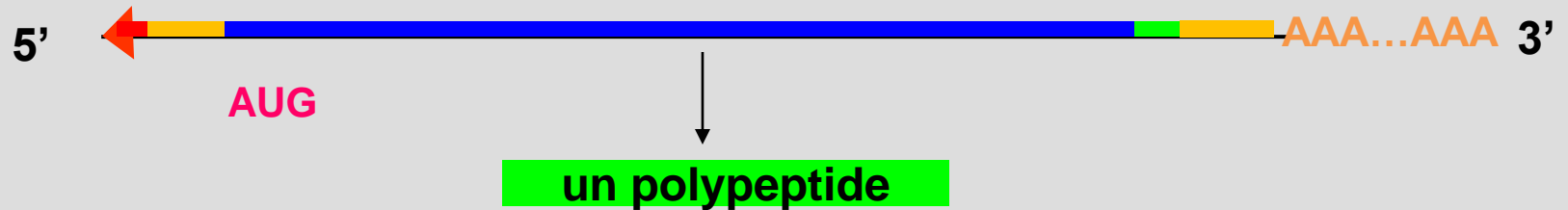
Site A : site de liaison à l'aminoacyl-ARNt



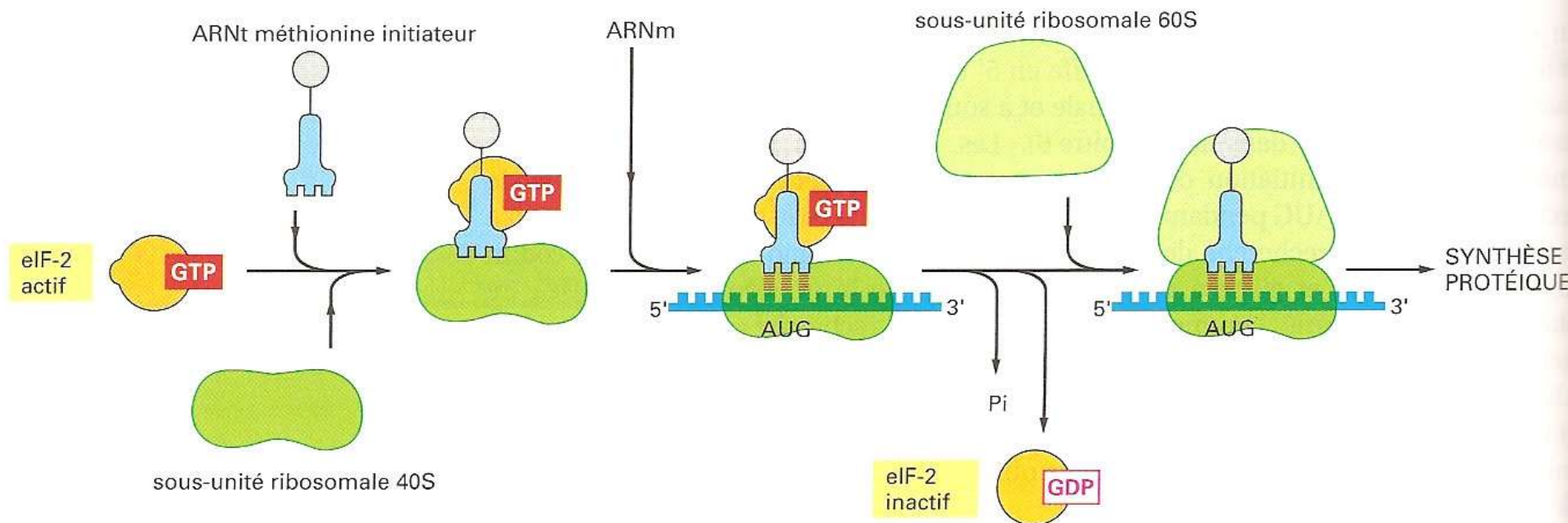
Polysomes

Plusieurs ribosomes sont associés à un même ARNm et chacun d'eux synthétise une chaîne polypeptidique.

Rappel : organisation d'un ARNm eucaryote



- site de liaison du ribosome
- séquence non codante
- séquence codante
- codon stop



Document 8. Initiation de la traduction :

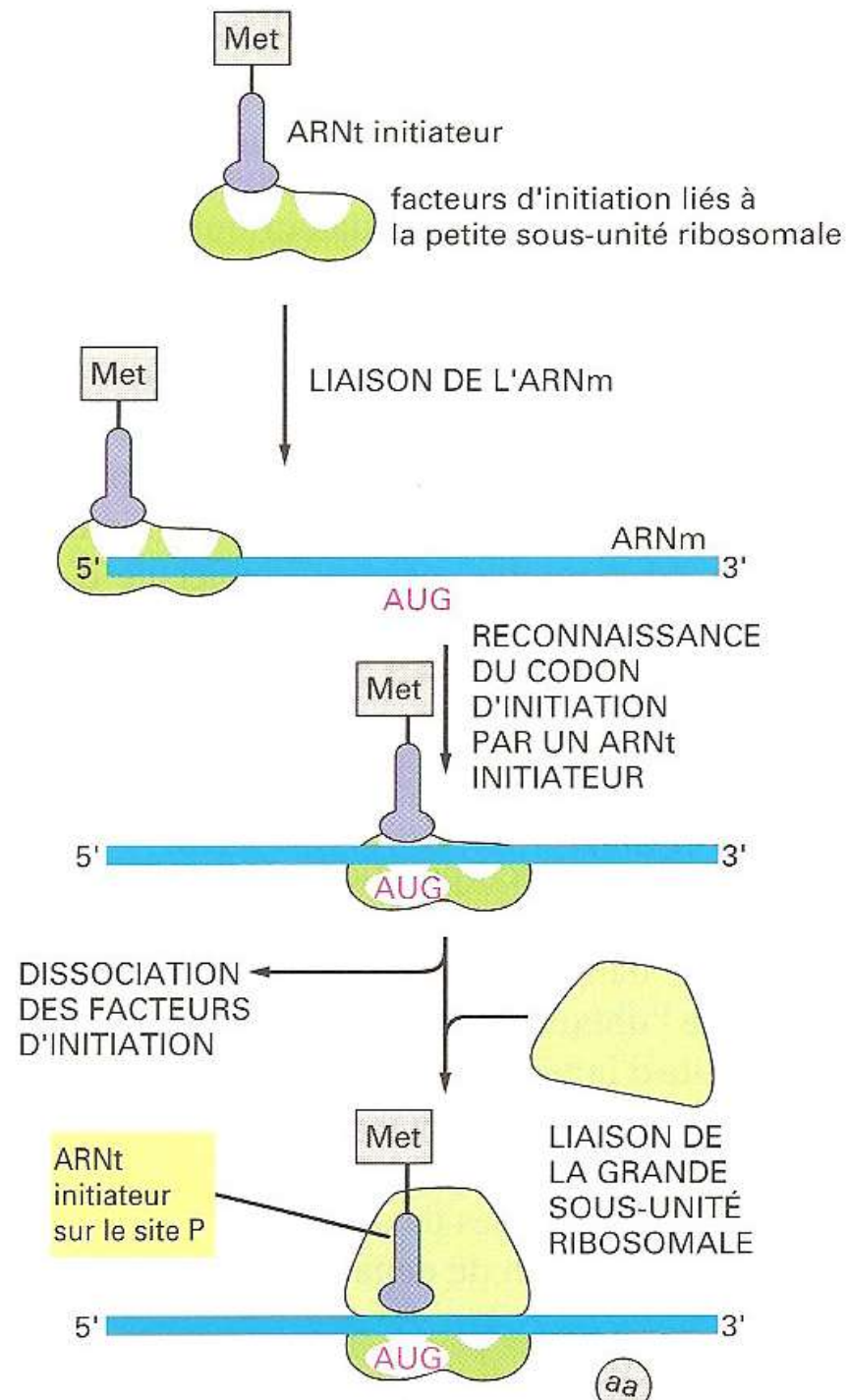
1 - rôle du facteur d'initiation eIF-2.

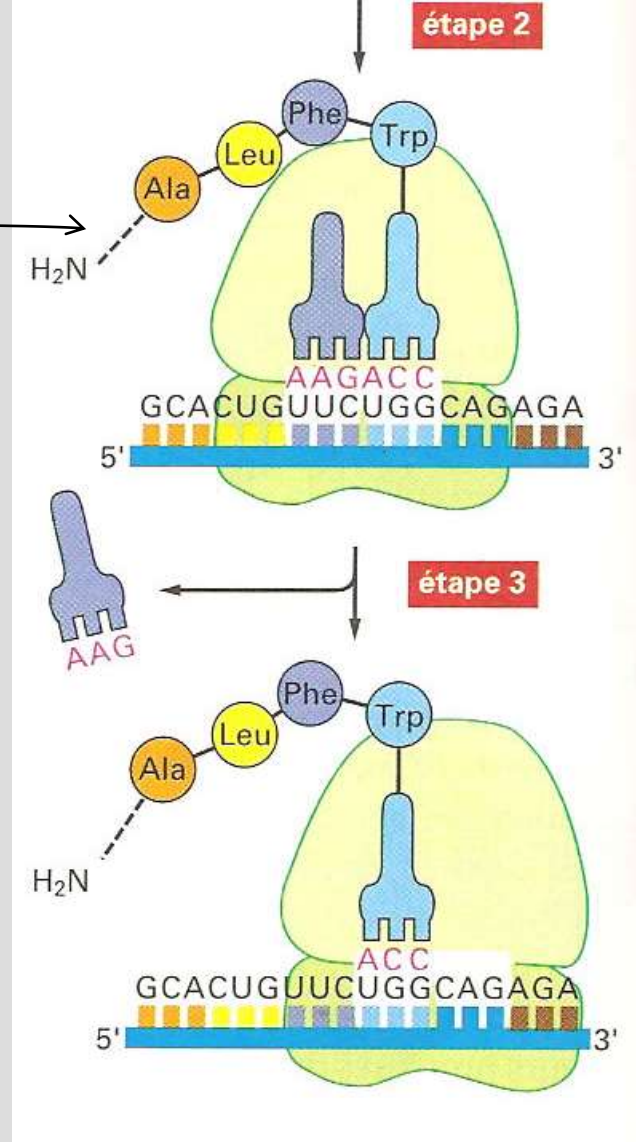
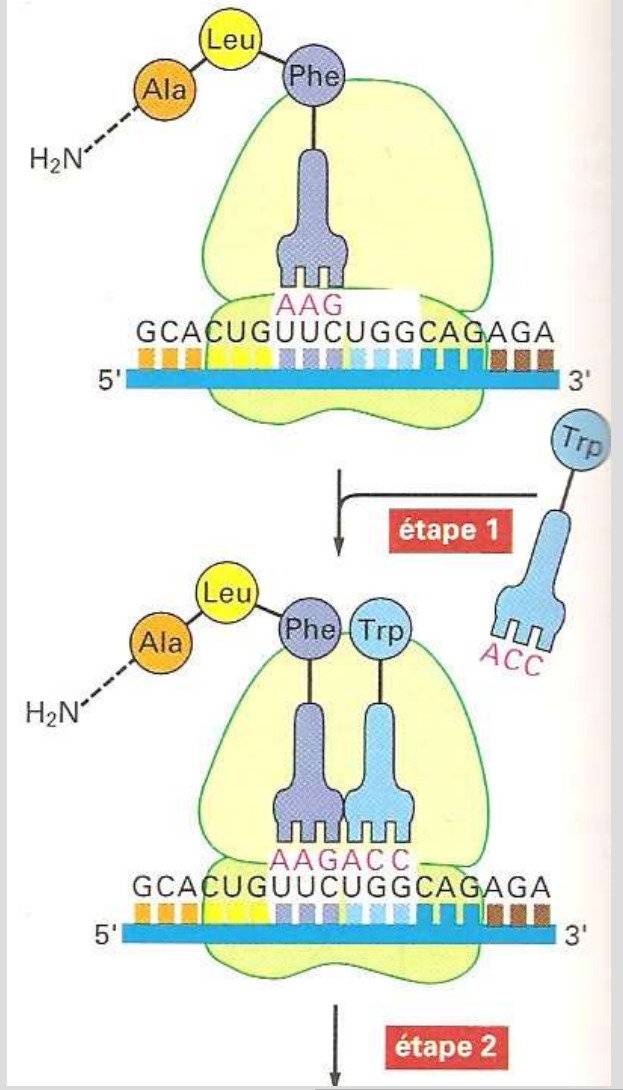
(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1998).

Document 8. Initiation de la traduction :

2 – De la liaison à l'ARNm à la formation du ribosome fonctionnel.

(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1998).



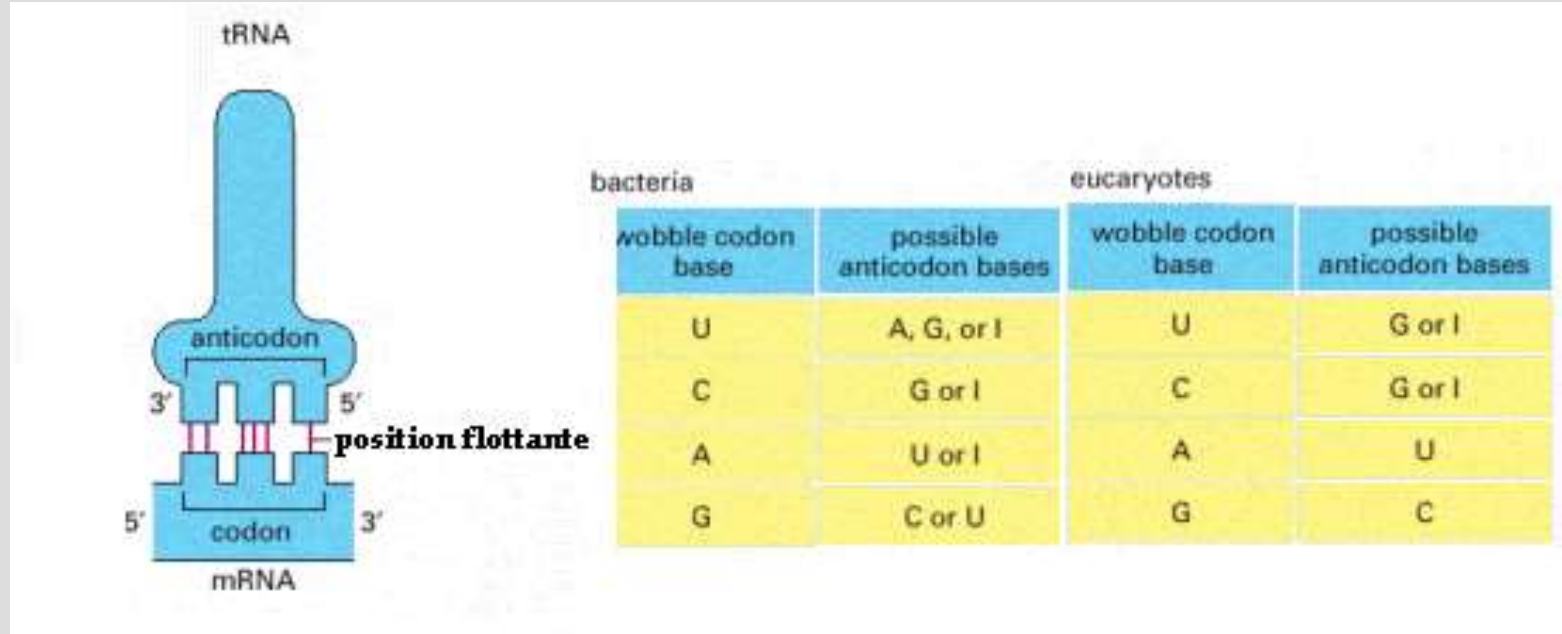


Document 9. L'élongation.

(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1998).

➤ appariement codon-anticodon

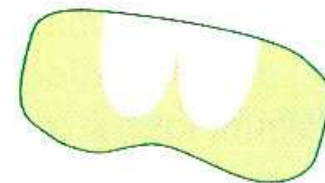
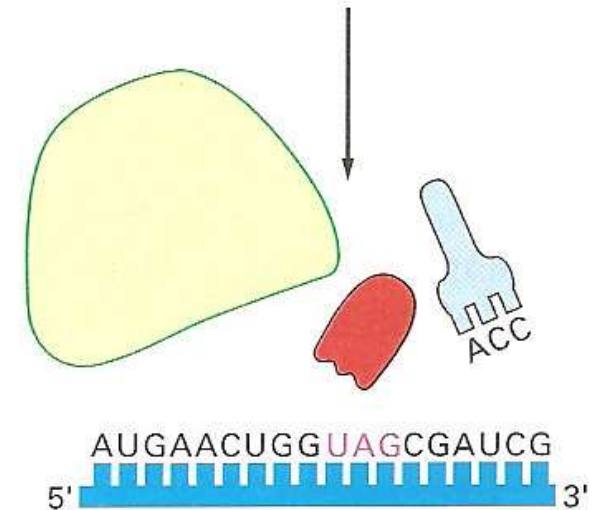
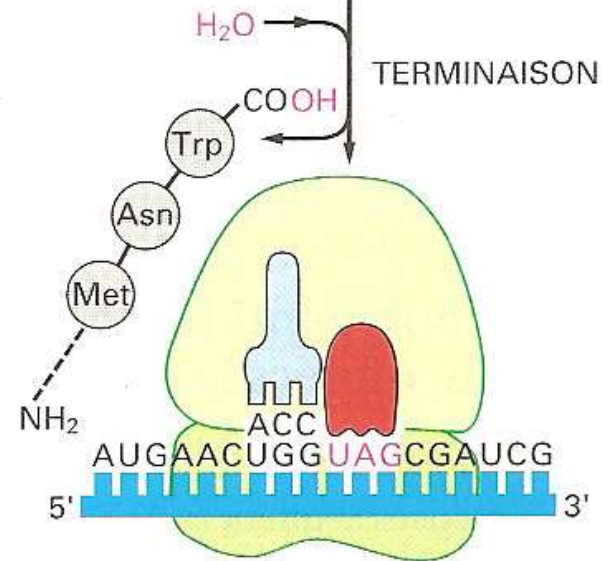
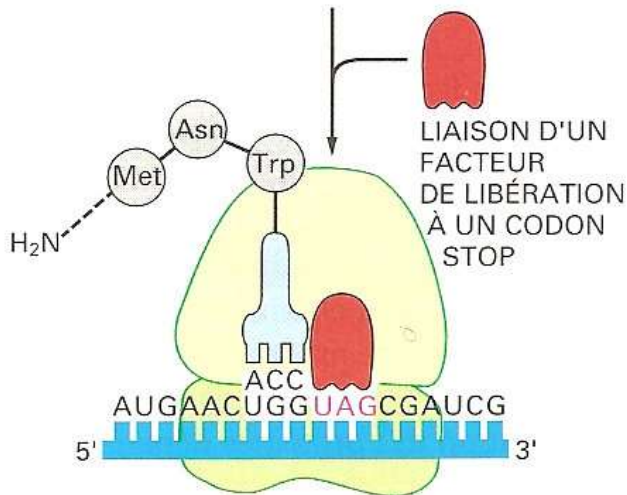
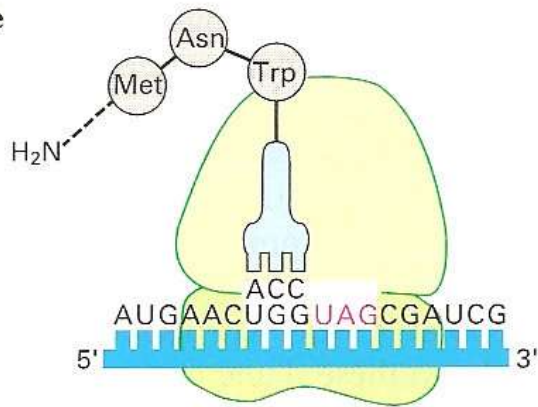
➤ flottement de la 3^{ème} base ou wobble



I : inosine, équivalent désaminé de la guanosine

Les codons UUU(5'-3') et UUC de Phe sont tous les deux reconnus par l'ARNt dont l'anticodon est GAA (5'-3').

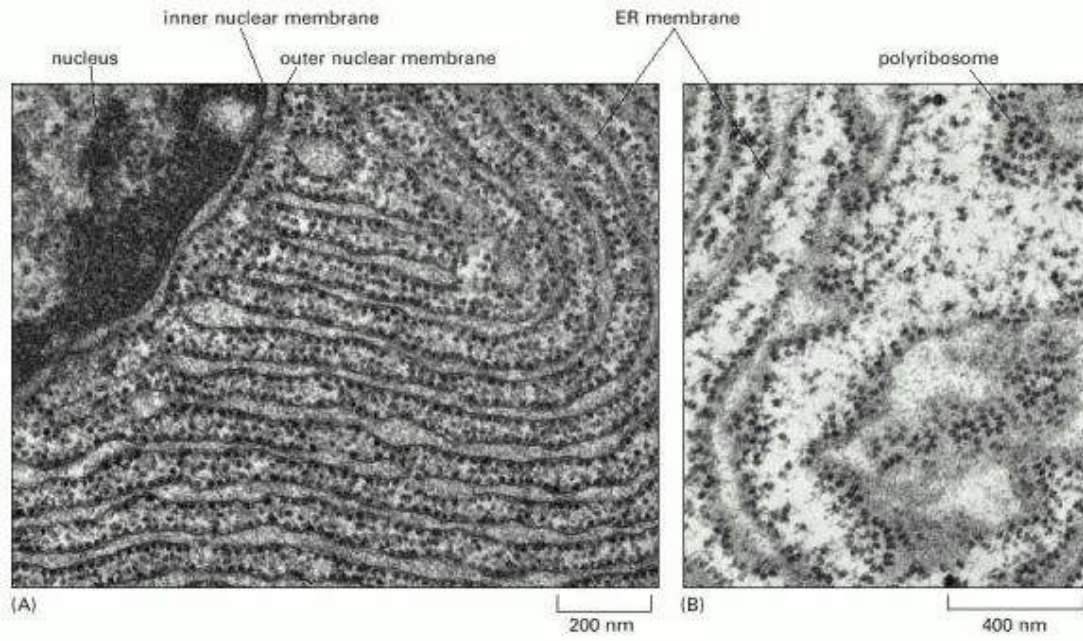
se



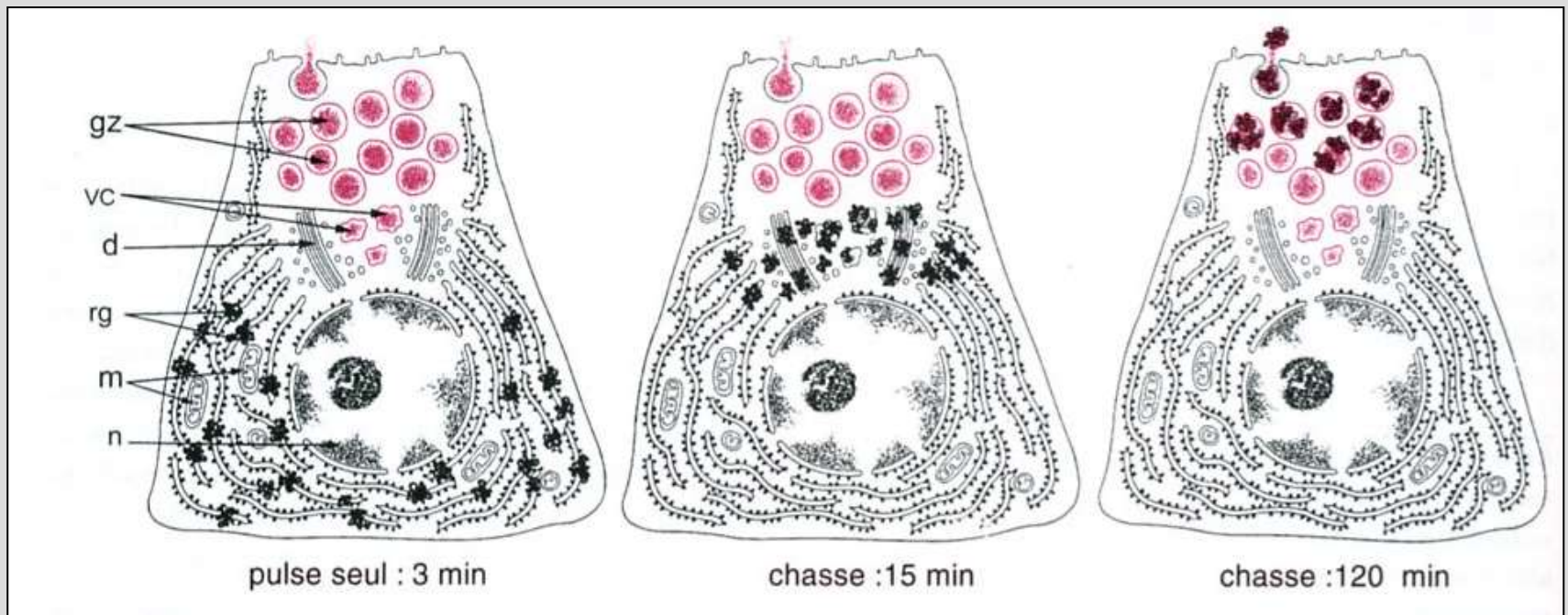
Document 10. La terminaison.

(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1998).

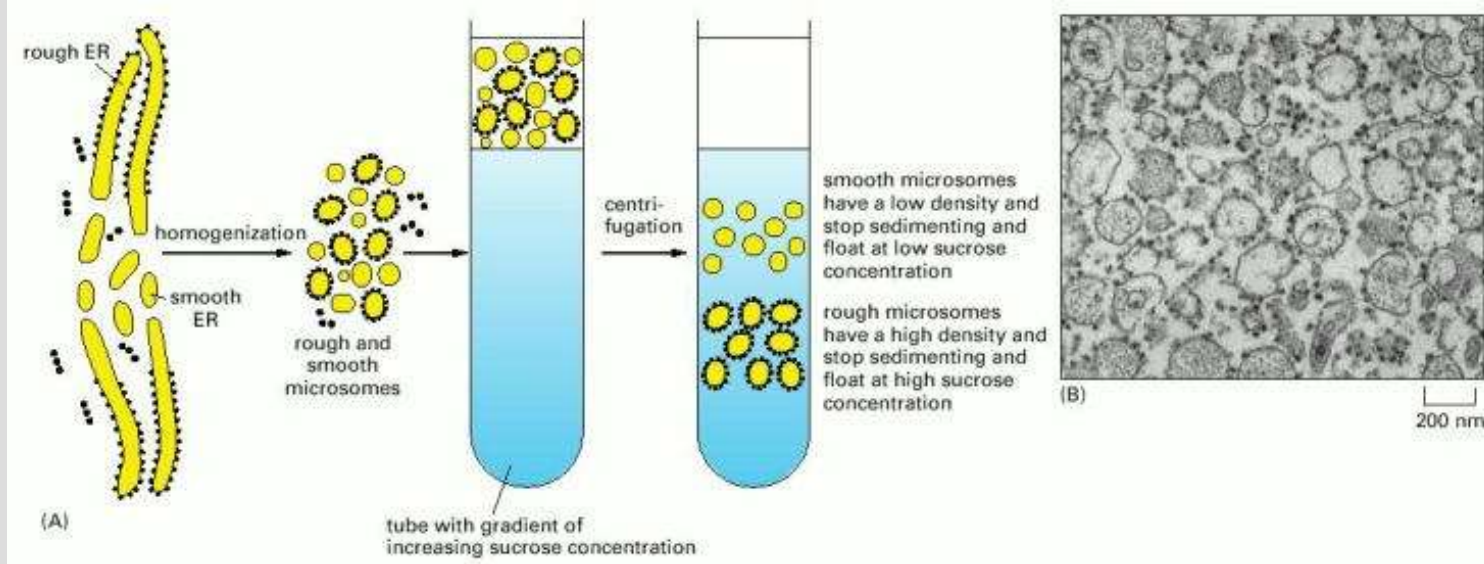
→ [Animation traduction](#)



Expérience de Palade :
localisation de la
synthèse protéique et
devenir des protéines
dans une cellule
sécrétrice : la cellule
acineuse pancréatique



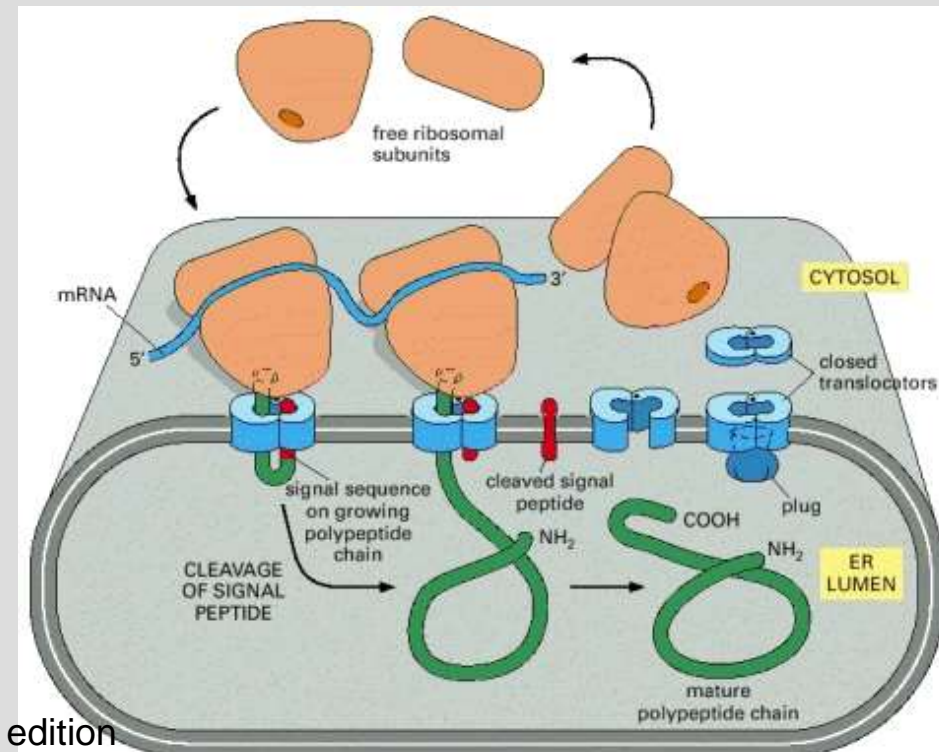
Obtention de microsomes

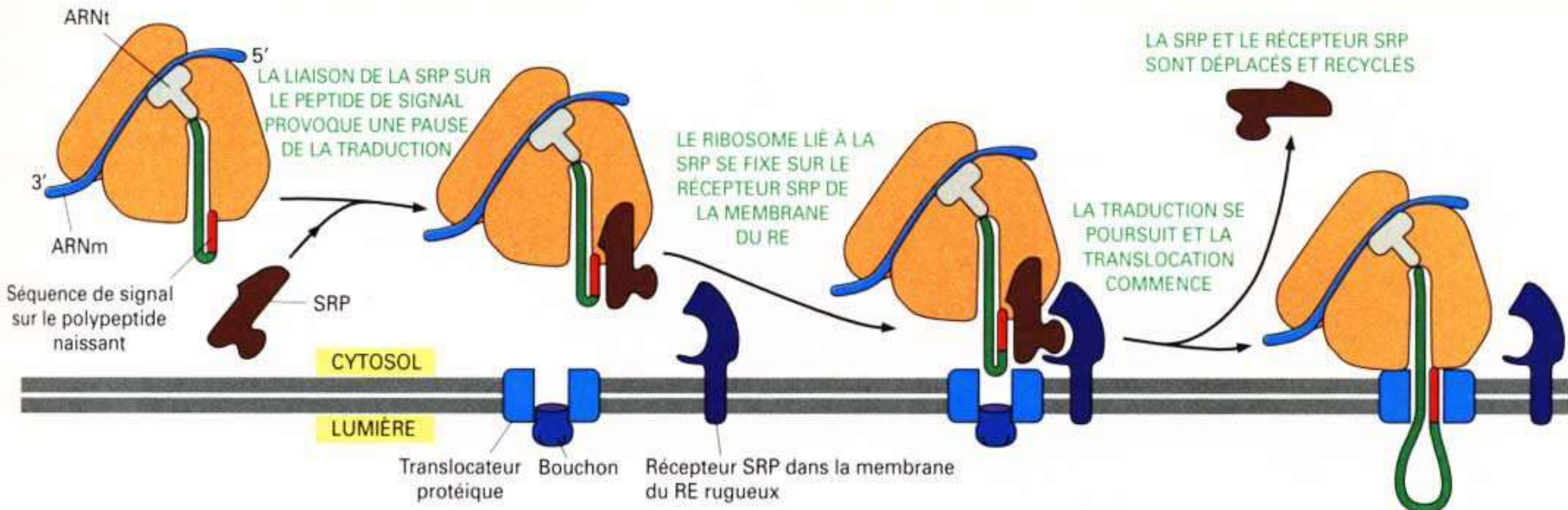


Expériences de traduction in vitro d'une protéine sécrétée :

→ Hypothèse du signal

- Sans microsomes → plus longue
- Avec microsomes → longueur normale
- Sans microsomes et ajout protéases → protéine dégradée
- Avec microsomes et ajout protéases → protéine intacte
- protéine dépourvue de signal + microsomes + protéases → protéine dégradée





Document 11. Modalités d'adressage au REG et translocation co-traductionnelle des protéines destinées aux membranes et à la sécrétion

Document 12. Modalités de maturation des protéines.

chaîne polypeptidique native



↓ repliement et liaison
(interactions non
covalentes) à un cofacteur



↓ modifications covalentes par
glycosylations, phosphorylations,
acétylations...

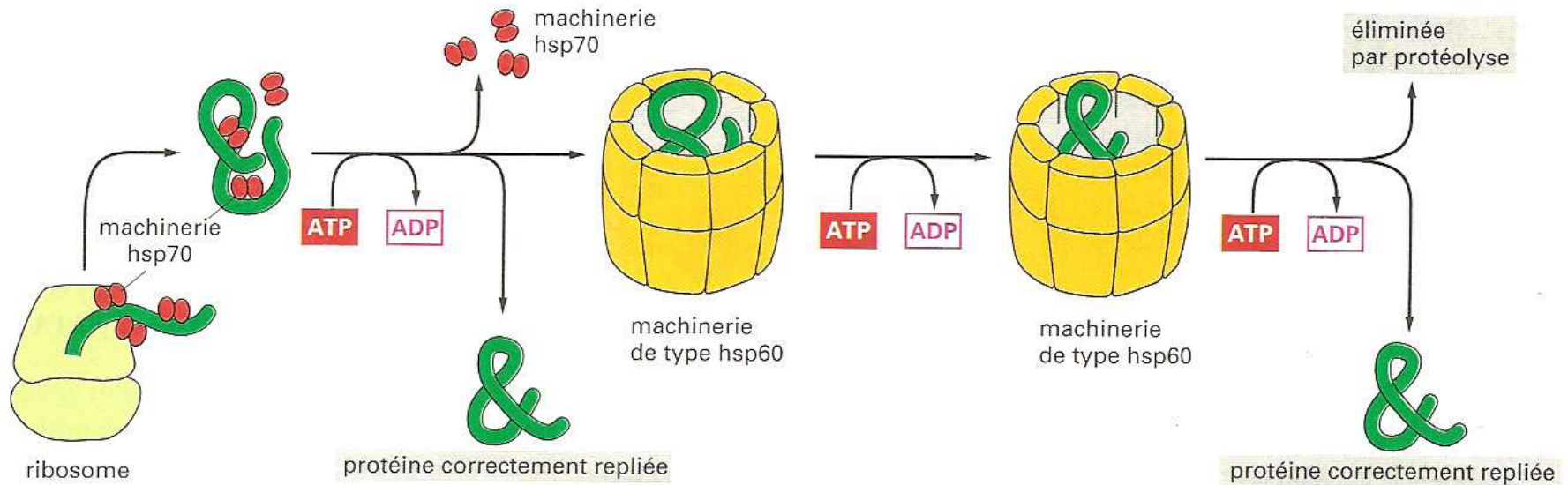


↓ liaison à d'autres sous-
unités protéiques



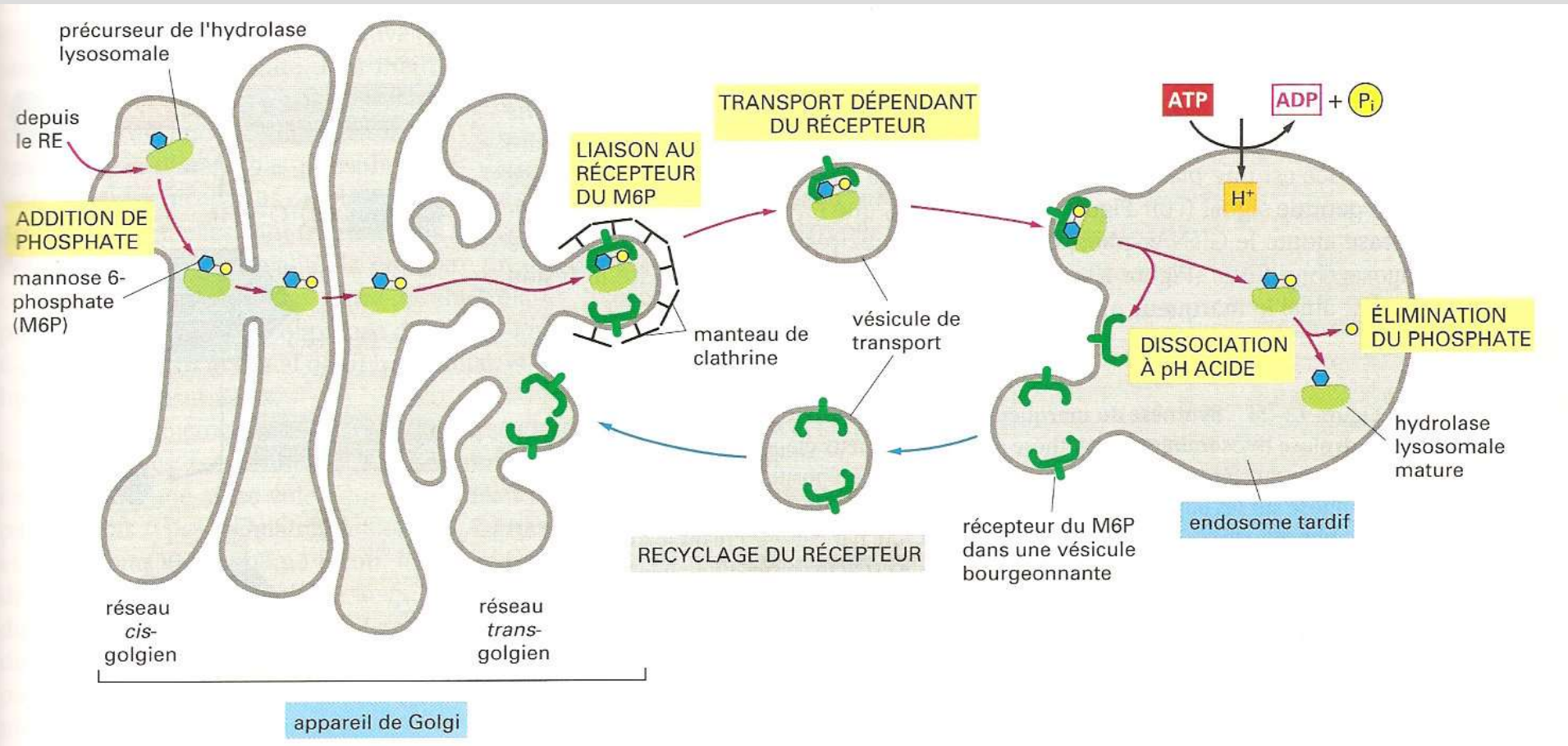
protéine mature fonctionnelle

Document 13. Rôle des protéines chaperonnes hsp70 et hsp60.

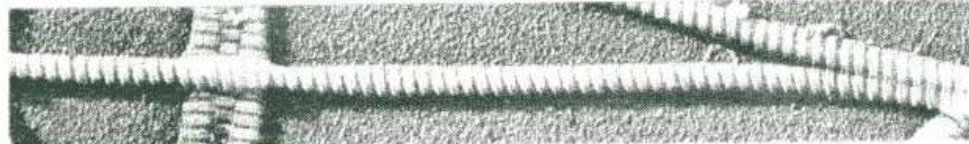
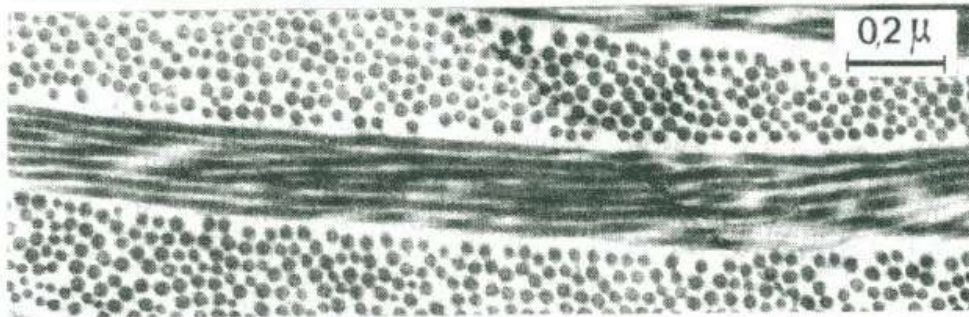
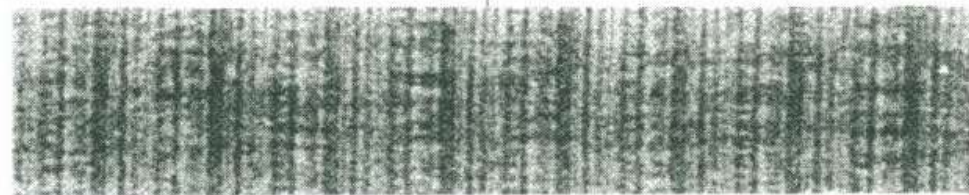
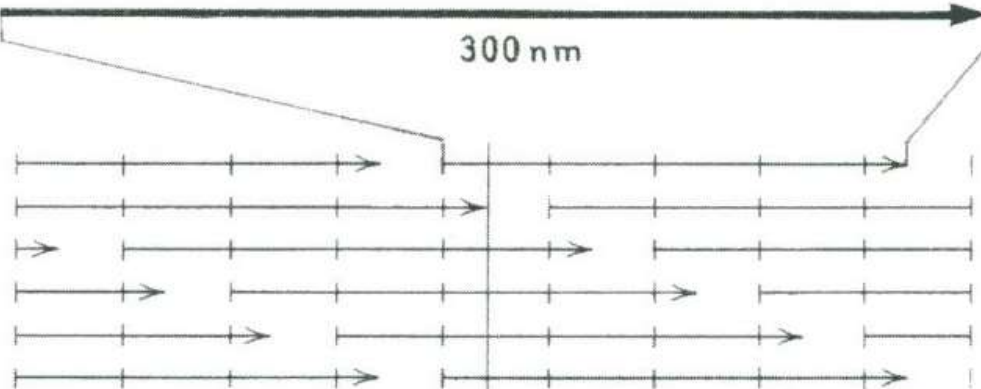
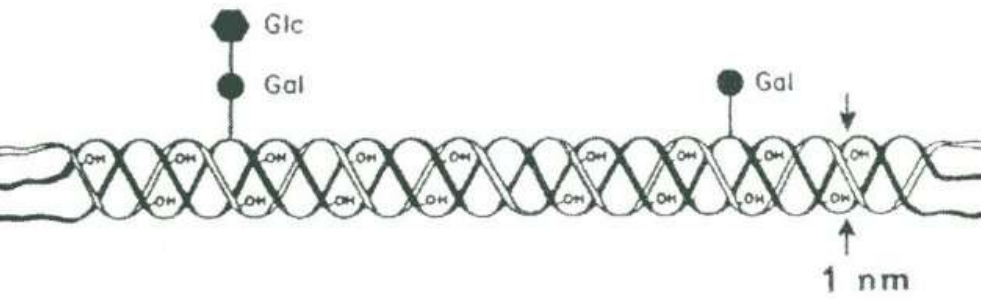


Les protéines hsp70 agissent précocement, en reconnaissant de petites régions à la surface de protéines. Les protéines hsp60 agissent ensuite sur les protéines qui n'ont pas réussi à se replier correctement. L'hydrolyse de l'ATP par les protéines hsp contribue à la liaison et à la libération des protéines et les aide à adopter leur conformation finale.

Document 14. Transport des enzymes lysosomales vers les lysosomes.



(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3^e édition)



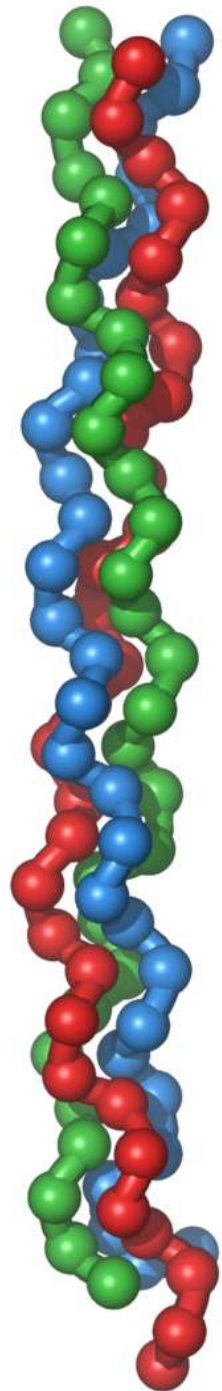
Organisation moléculaire et structure des fibres de collagène de type I.

Le collagène s'organise en fibres épaisses visibles en ME dans les tissus conjonctifs.

(CALLEN JC., " Biologie cellulaire : des molécules aux organismes " ; Dunod Ed., 1999).

Molécules de (tropo)collagène associées en fibrille

Fibrilles associées en fibres



Etapas de la synthèse du collagène

Étape 1 : excision du peptide signal.

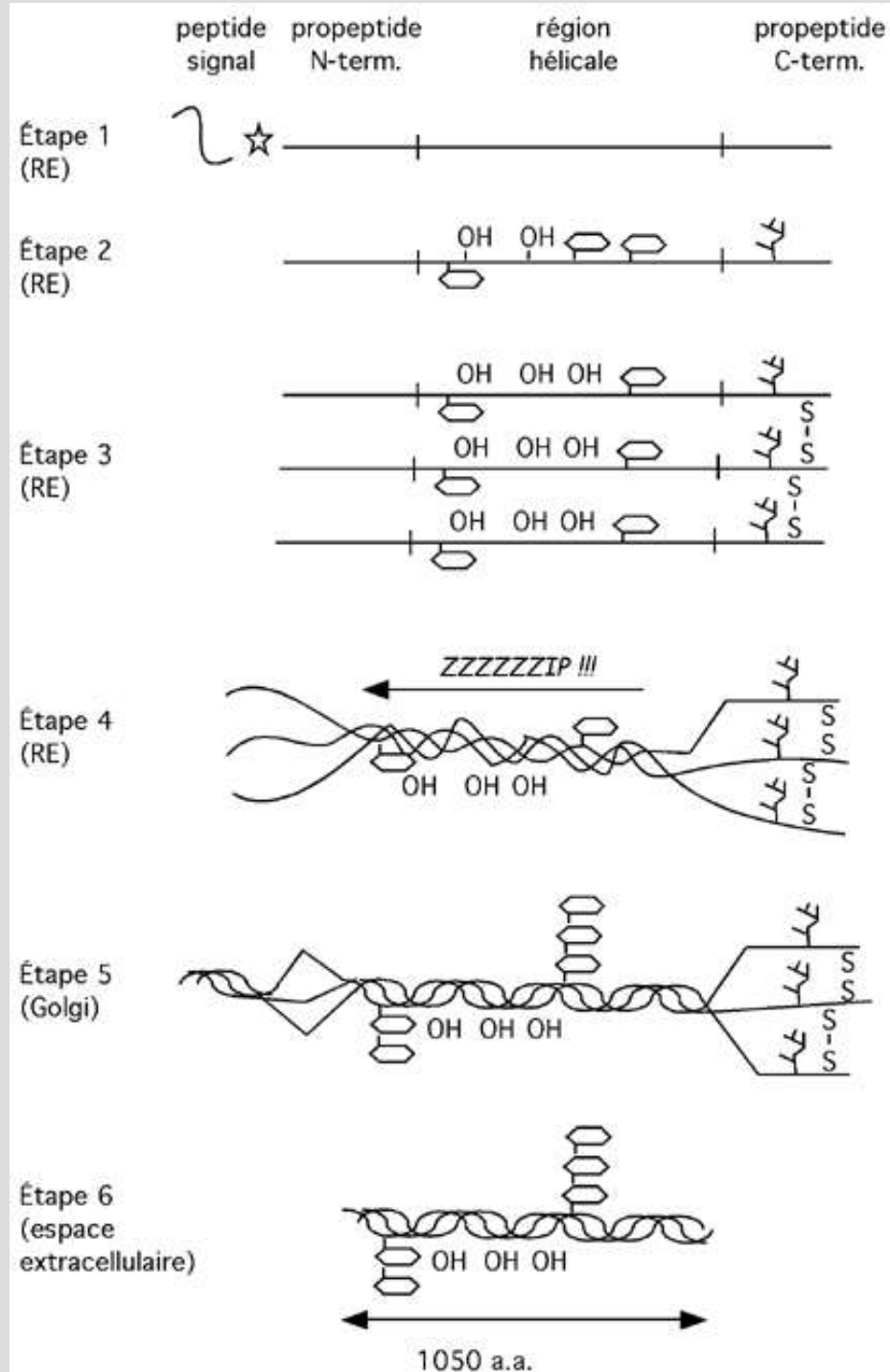
Étape 2 : hydroxylation de plusieurs PRO et LYS, N-glycosylation du propeptide C-terminal, O-glycosylation de certaines hydroxyLYS.

Étape 3 : alignement de trois chaînes grâce à des modifications + formation de ponts S-S entre propeptides C-terminaux.

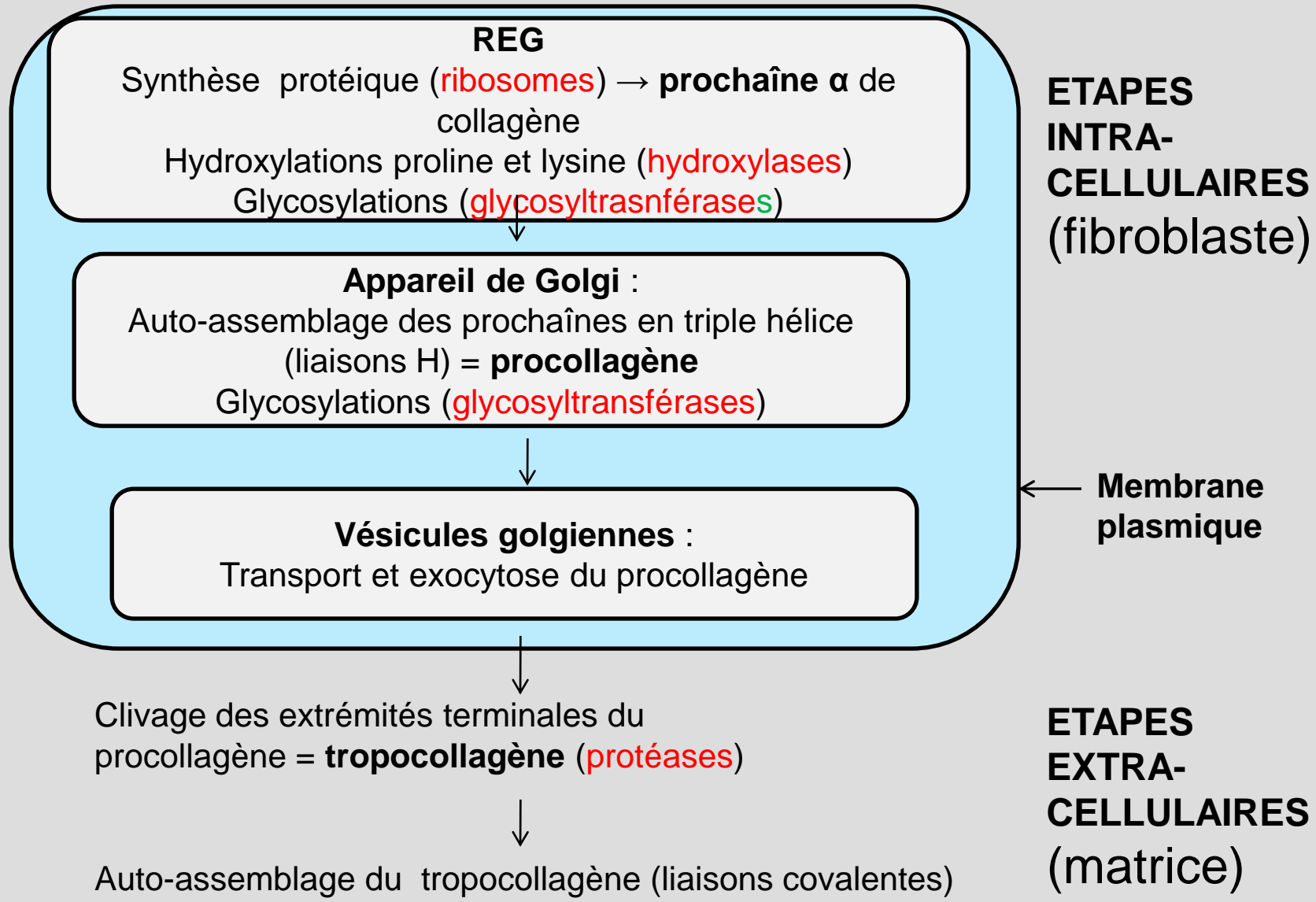
Étape 4 : dans l'appareil de Golgi, enroulement de la triple hélice « comme une fermeture éclair » en direction du N-terminus.

Étape 5 : suite de la maturation, puis exocytose.

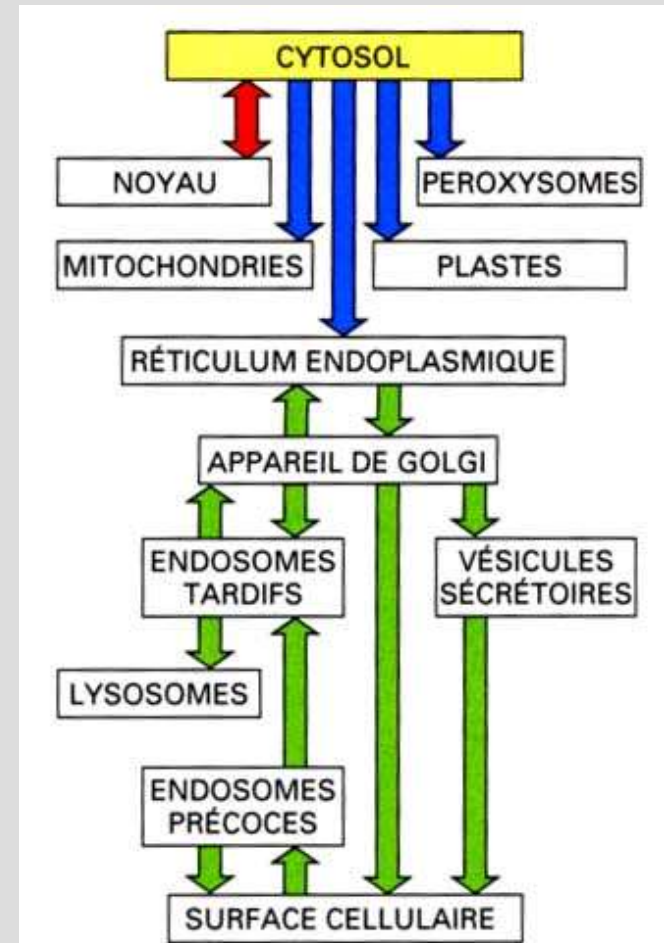
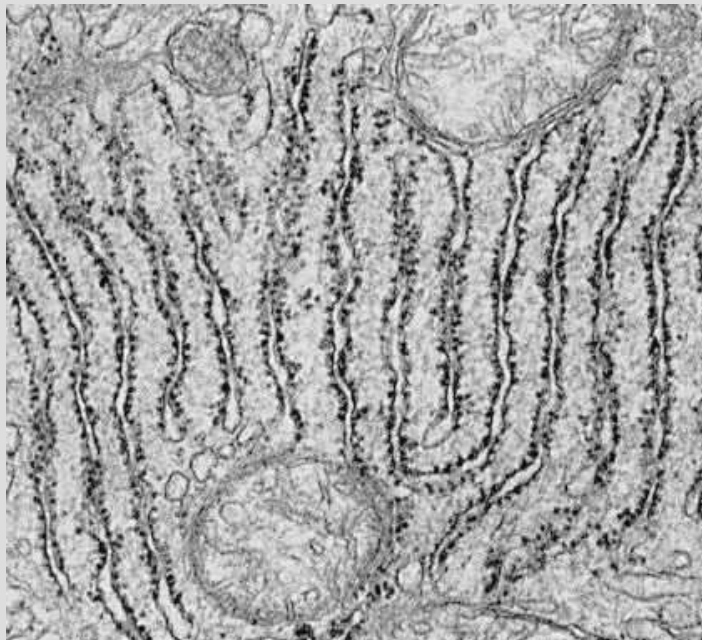
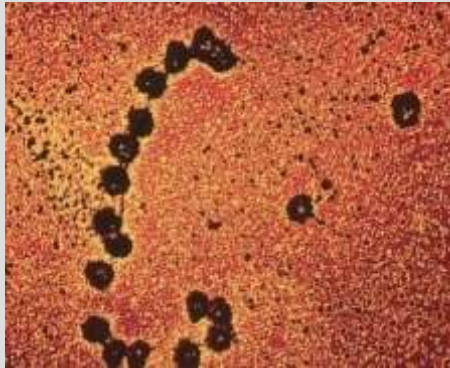
Étape 6 : des procollagène-peptidases ont clivé les propeptides terminaux, libérant une triple hélice mature de tropocollagène.



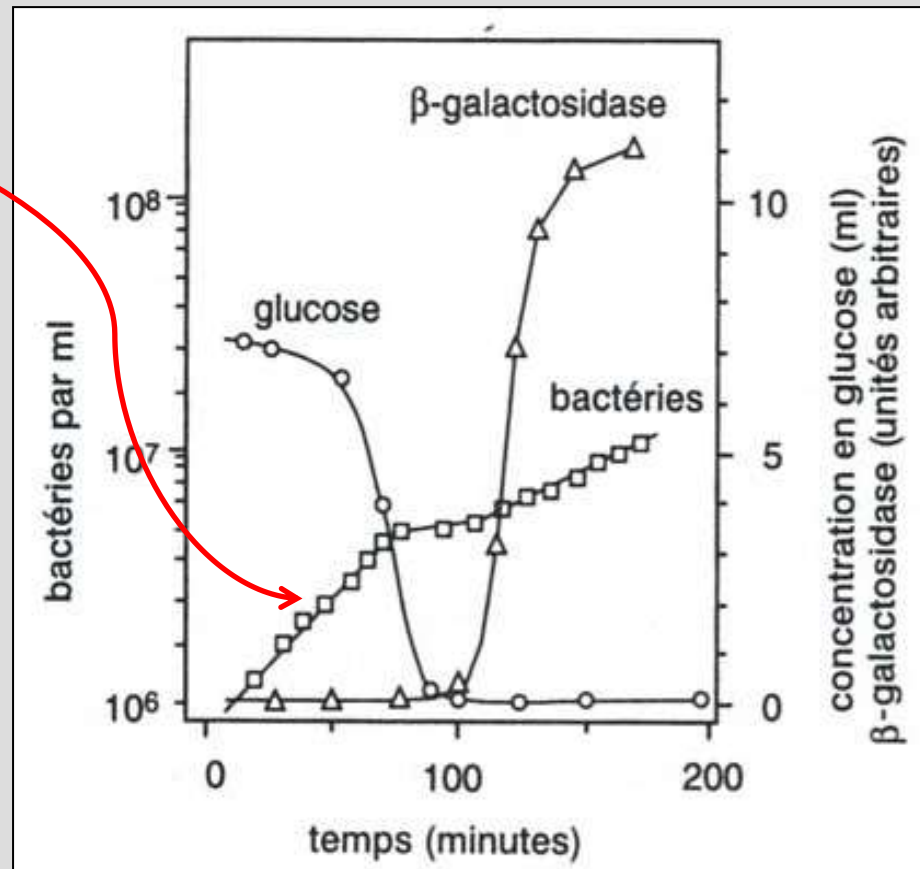
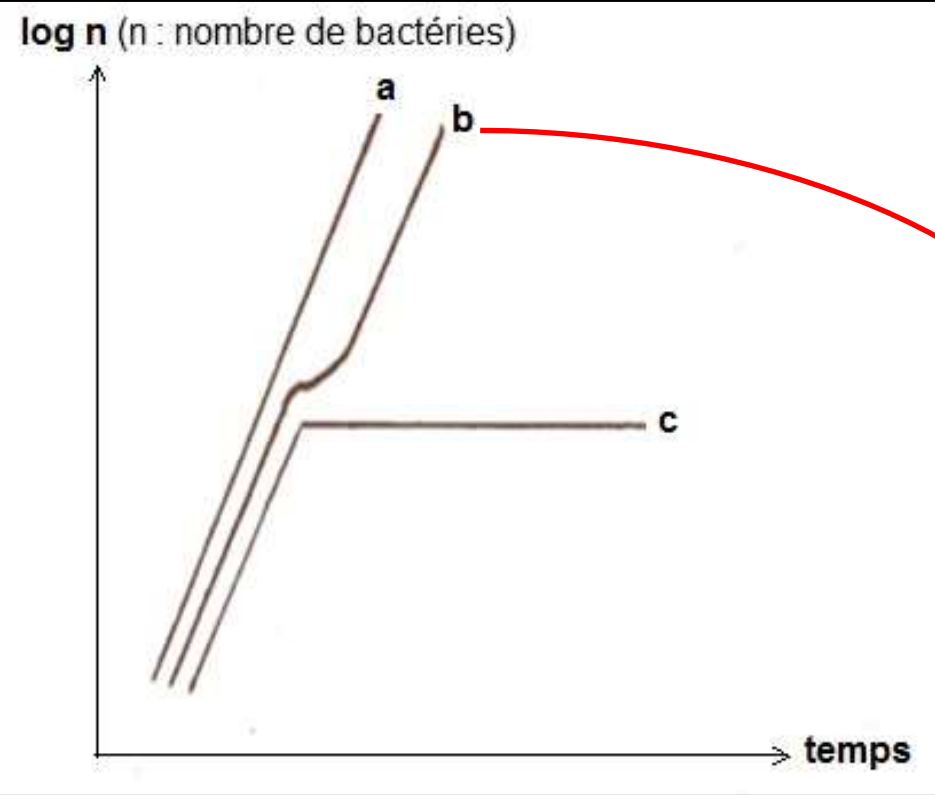
Document 15. Maturation dans le REG puis l'appareil de Golgi : exemple de la biosynthèse et de l'acheminement du collagène.



Document 16. Des lieux de synthèse des protéines vers leur lieu de fonctionnement.



Code : █ = transport par « porte »
█ = transport transmembranaire
█ = transport vésiculaire



Mise en évidence du phénomène de diauxie.

Souches d'E. coli :

(a) souche lac^+ sur lactose

(b) souche lac^+ sur glucose limitant et lactose

(c) souche lac^- sur glucose limitant et lactose

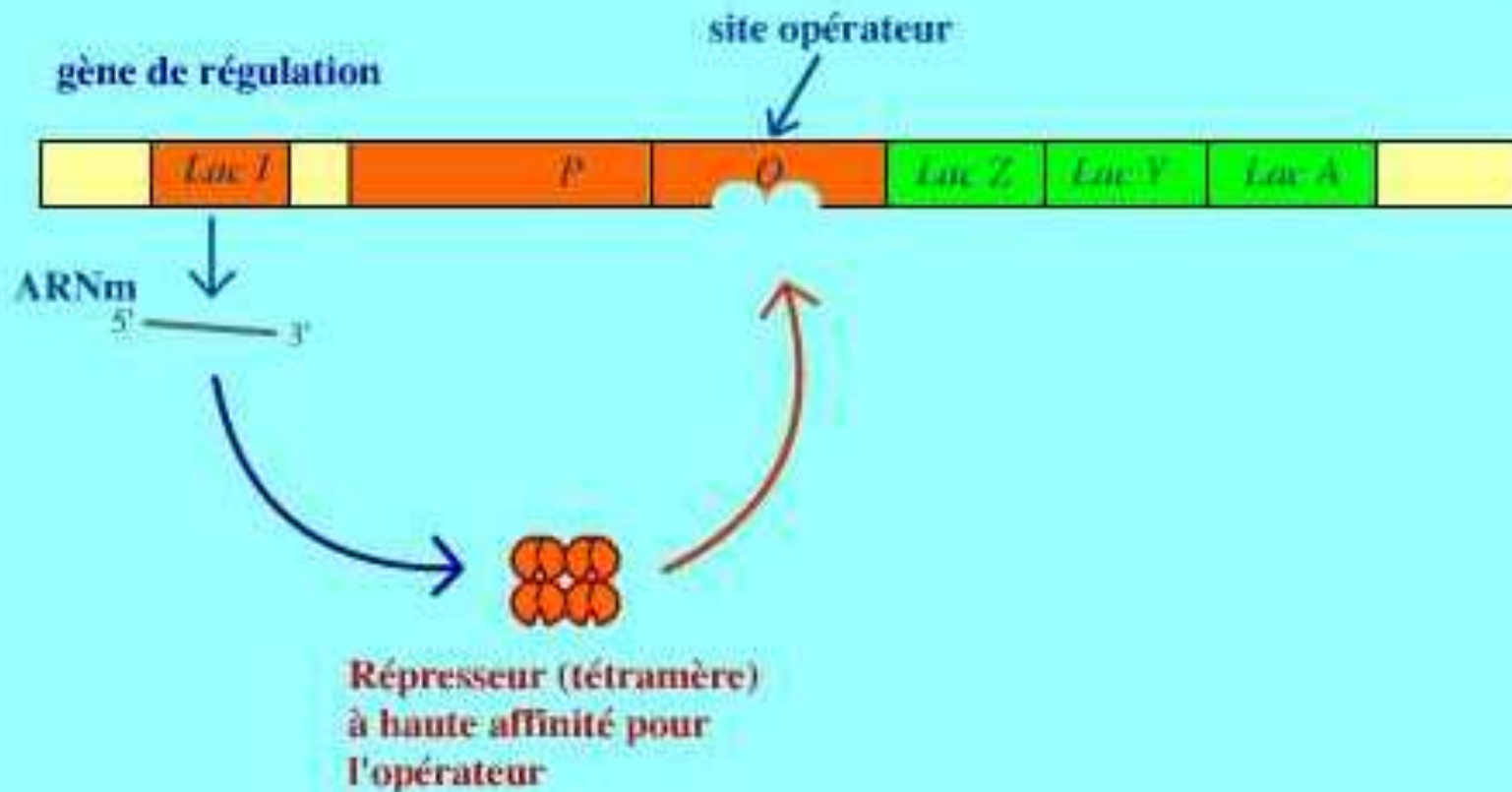
Document 17. Mise en évidence expérimentale du contrôle de l'opéron lactose.

(WILSON J. et HUNT T., " Biologie moléculaire de la cellule – livre d'exercices ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1995).

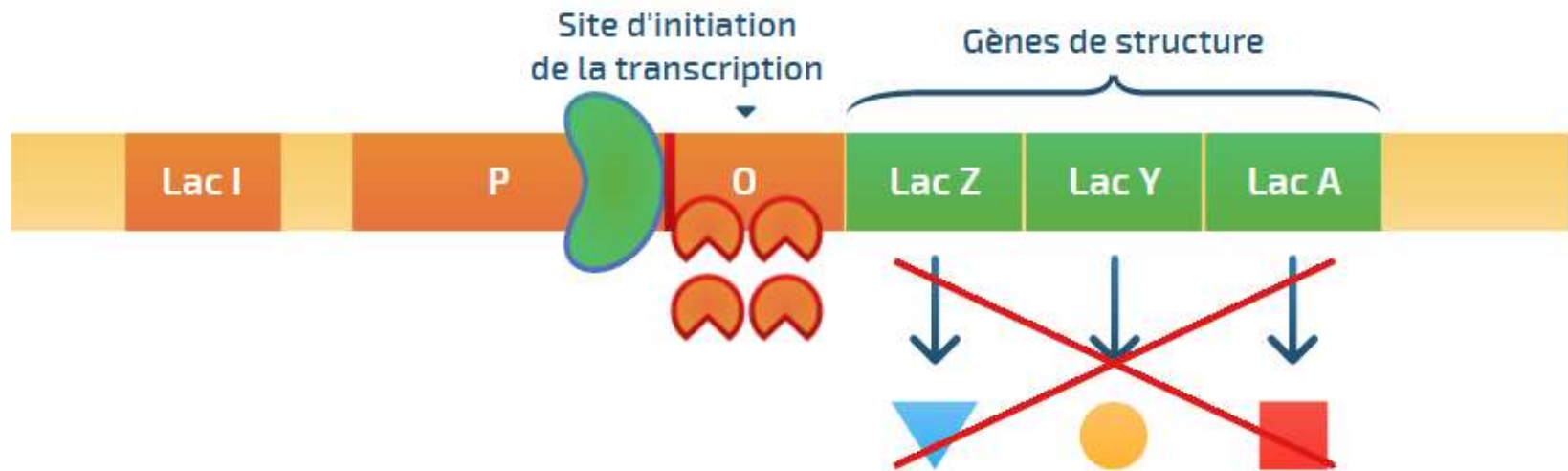
Expression des gènes de l'opéron lactose en l'absence de lactose

Régulation de l'opéron lactose

Synthèse du répresseur



Régulation de l'opéron lactose en absence de lactose



Les gènes structuraux ne sont pas exprimés

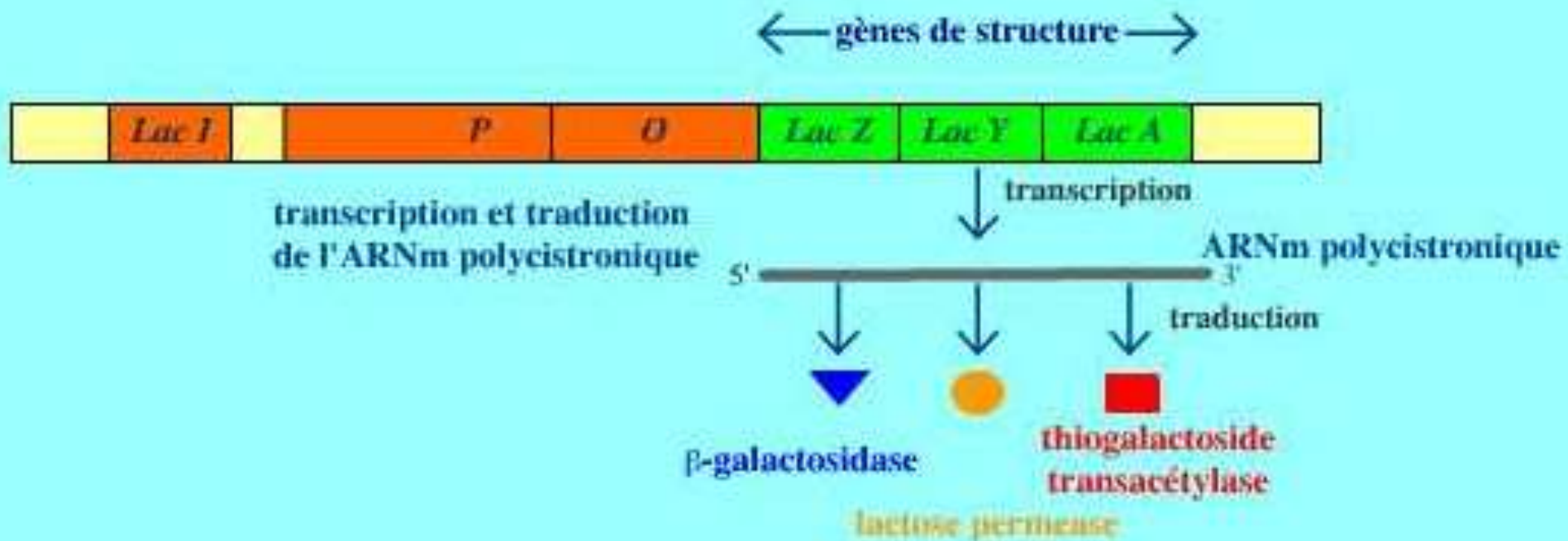
L'ARN polymérase peut se lier au promoteur mais elle est bloquée au niveau de l'opérateur et ne peut pas atteindre le site d'initiation de la transcription.

Liaison du répresseur au niveau de l'opérateur de l'opéron lactose

Animation :

https://rnbio.upmc.fr/sites/default/files/animations/bio_mol/operon_lactose_3/operon_lactose_3.html

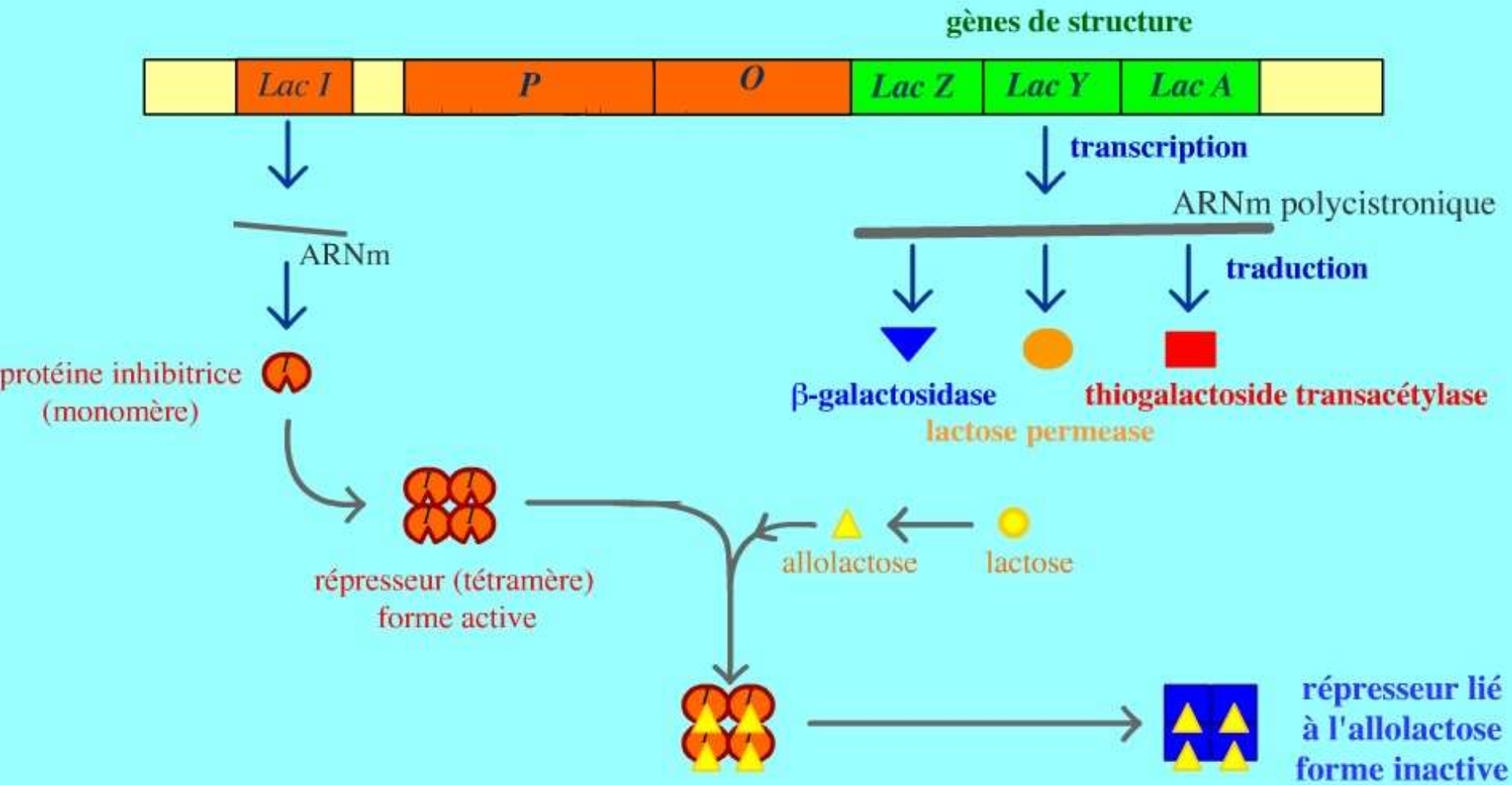
Expression des gènes de l'opéron lactose en présence de lactose



Animation :

https://rnbio.upmc.fr/sites/default/files/animations/bio_mol/operon_lactose_4/operon_lactose_4.html

Régulation de l'opéron lactose en présence de lactose



Régulation de l'opéron lactose

mélange de lactose + glucose



ARNm



répresseur
forme active

allolactose ← lactose

répresseur
forme inactive

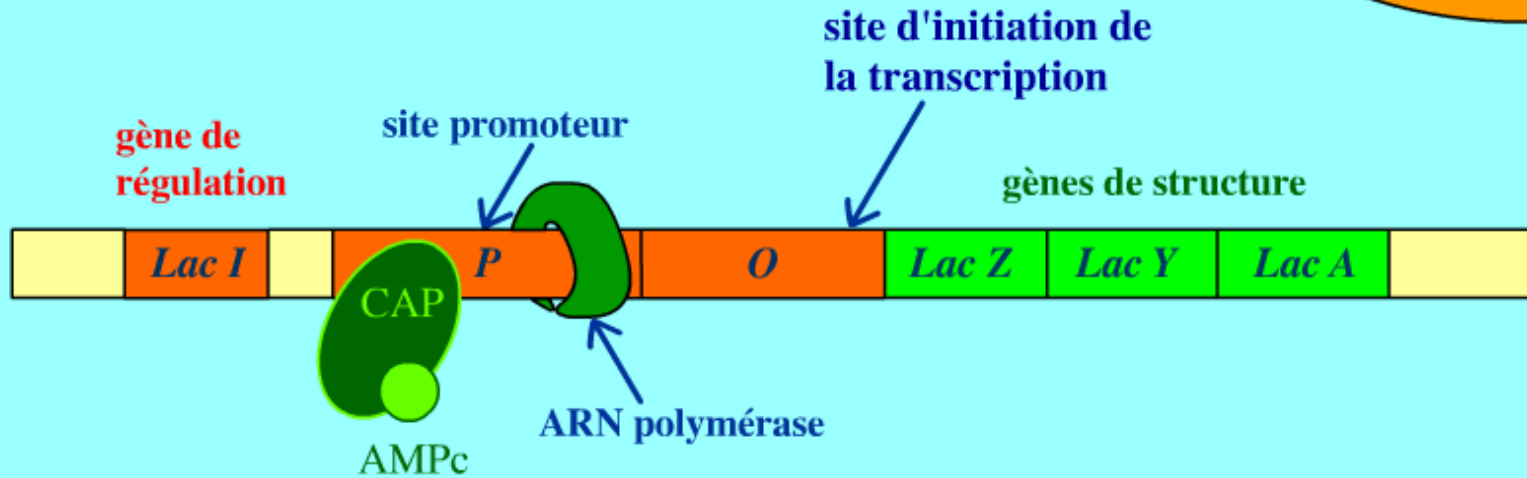
En présence d'un mélange de glucose et de lactose, le répresseur est inactivé mais il n'y a pas d'expression des gènes de l'opéron lactose. L'expression de ces gènes n'est indispensable qu'en absence de glucose.

Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

Lorsque le glucose vient à manquer...

Régulation de l'opéron lactose

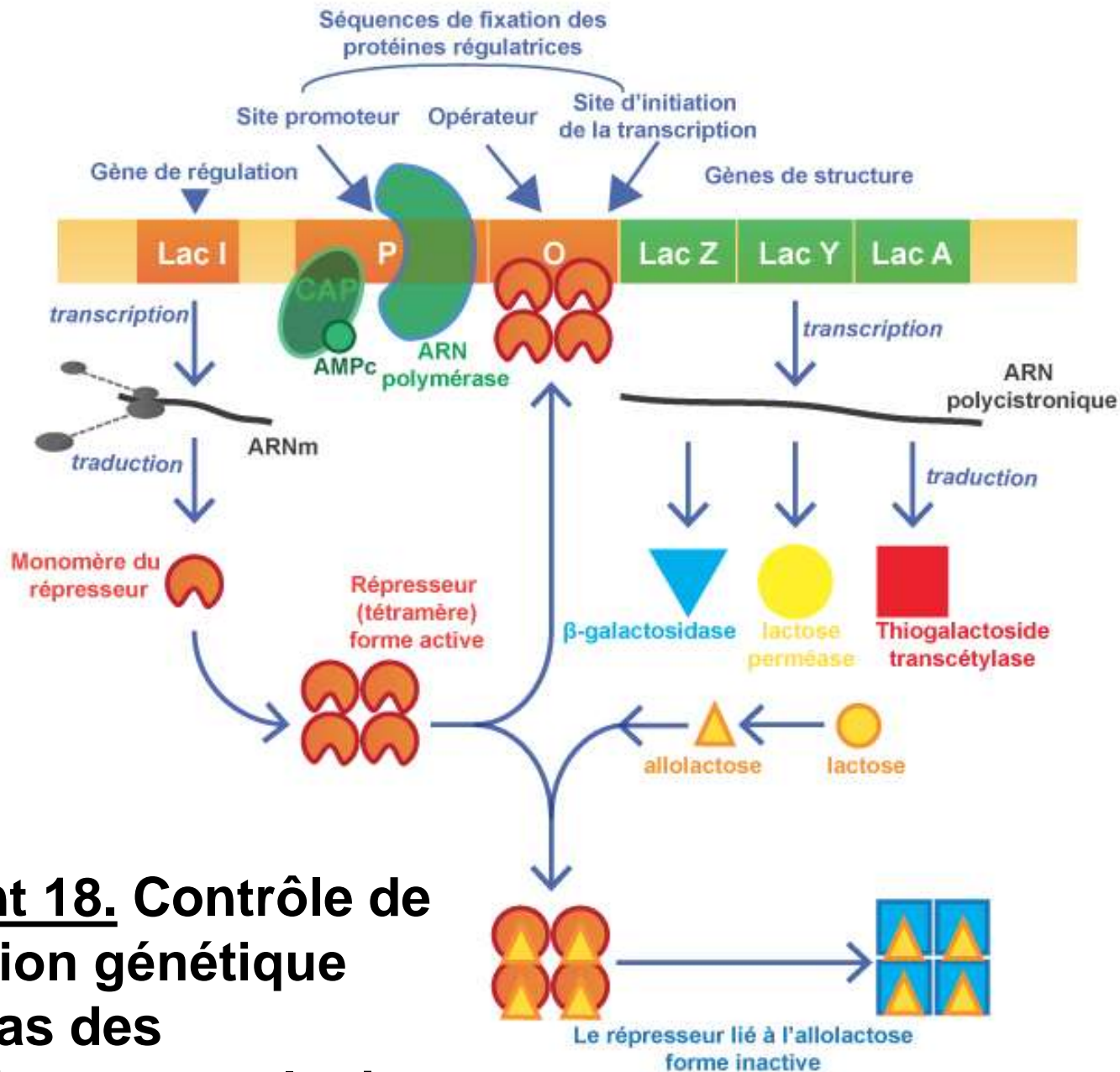
mélange de lactose + glucose



↓ **glucose** → ↑ **AMPc**
(signal de carence alimentaire)

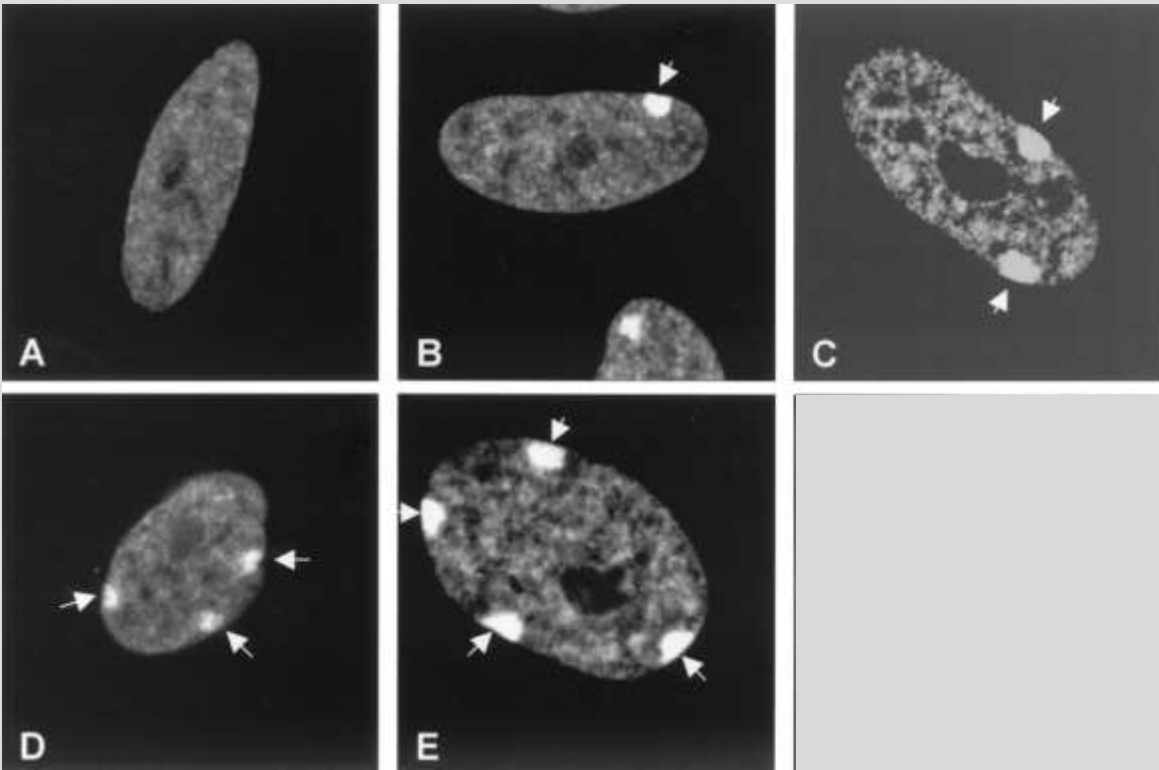
L'interaction du complexe CAP-AMPc avec l'ADN permet d'augmenter l'affinité de l'ARN polymérase pour le promoteur de l'opéron. La transcription est alors fortement augmentée.

Répression catabolique :
régulation positive par le CAP et l'AMPc



Document 18. Contrôle de l'expression génétique dans le cas des eubactéries : exemple de l'opéron lactose.

Mise en évidence du corpuscule de Barr par immunofluorescence



Les cellules utilisées sont des fibroblastes humains au caryotype atypique, contenant un nombre variable de chromosomes X :

A : 46 chromosomes dont XY, 0 cb;

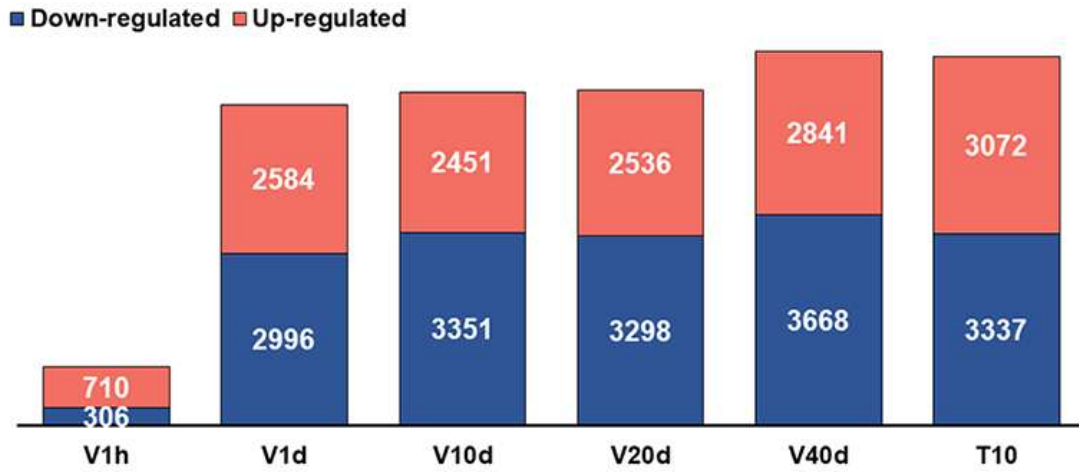
B : 46 chromosomes dont XX, 1 cb;

C : 47 chromosomes dont XXX, 2 cb;

D : 48 chromosomes dont XXXX, 3 cb;

E : 49 chromosomes dont XXXXX, 4 cb.

Présent dans le noyau des cellules des femelles de Mammifères, le corpuscule de Barr a été découvert en 1948 par le Docteur Barr. Il est localisé contre la face interne de l'enveloppe nucléaire. C'est de l'hétérochromatine qui correspond à l'un des deux chromosomes X inactivé, indifféremment d'origine maternelle ou paternelle.

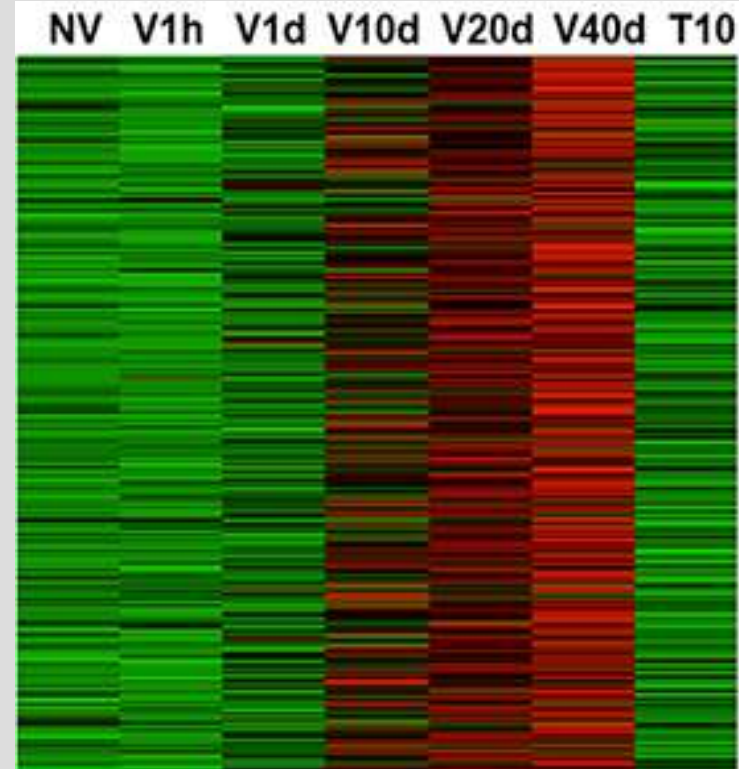


Effets de la vernalisation sur l'expression du génome d'*Arabidopsis thaliana*

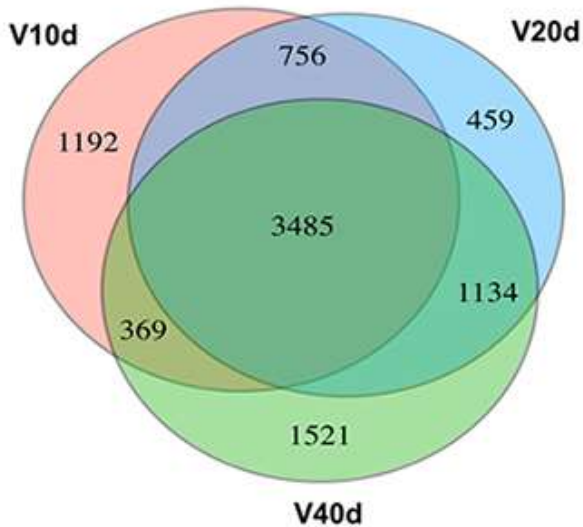
Etude de l'expression d'un groupe de gènes en particulier.

En vert : sous-expression

En rouge : sur-expression



Nombre de gènes dont le niveau d'expression change à la suite d'une exposition au froid, selon la durée de cette exposition.



Nombre de gènes exprimés et co-exprimés pour 10 j, 20 j ou 40 j d'exposition au froid.

Histone H4



Histone H3



Histone H2A



K : lysine
 R : arginine
 S : sérine

Histone H2B



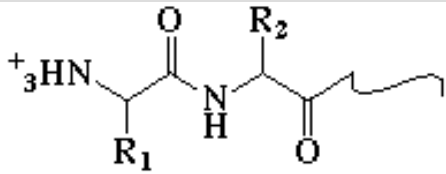
Ac Acétylation Ub Ubiquitinylation Me Méthylation P Phosphorylation

Les modifications post-traductionnelles des histones

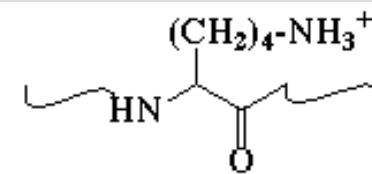
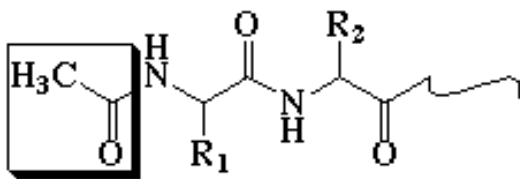
La lysine 9 de l'histone H3 peut être soit acétylée, soit méthylée.

N. Lacoste, J. Côté, M/S : médecine sciences Vol 19, n°10, oct 2003, p. 955-959

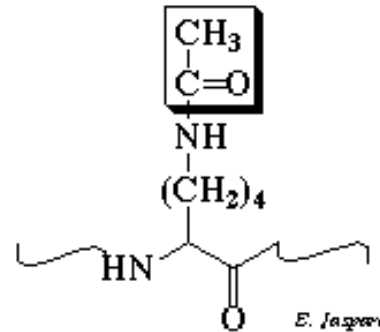
<http://www.erudit.org/revue/ms/2003/v19/n10/007166ar.html>



acétylation de l'acide aminé N-terminal

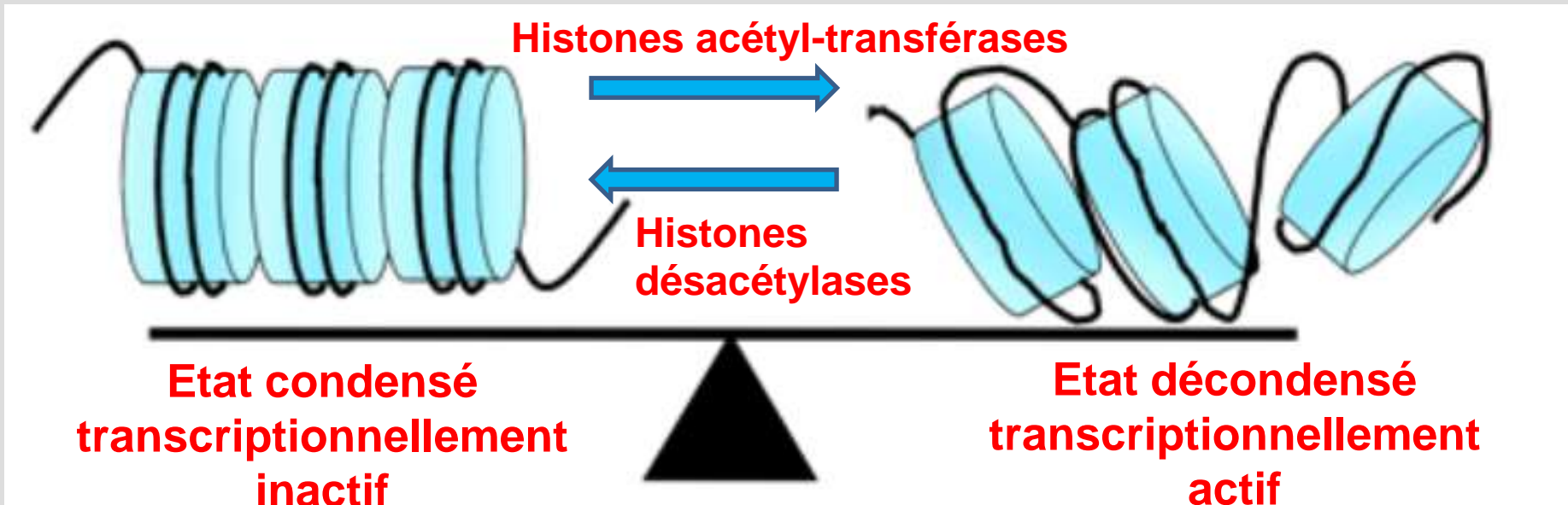


acétylation latérale de la chaîne de la lysine



E. Jaspard (2004)

L'acétylation / désacétylation des histones



Effets de l'absence de méthylation CG



Effets de l'absence de méthylation CG sur des fleurs d'*Arabidopsis thaliana*.

A gauche : fleur sauvage.

Au milieu : l'absence de la méthylation CG conduit notamment à la formation d'étamines supplémentaires toutefois ces plantes restent fertiles.

A droite : dans des mutants déficients pour les mécanismes de sauvetage déclenchés en l'absence de méthylation CG, l'organisation florale est profondément bouleversée et ces plantes sont totalement stériles .

Effets de l'absence de méthylation CG sur la structure de noyaux de cellules de feuille d'*A. thaliana*.

A gauche : architecture habituelle, les séquences hétérochromatiques (en rouge) sont compactées.

A droite : forte relaxation de l'hétérochromatine consécutive à l'absence de méthylation CG pendant plusieurs générations successives.

La méthylation de l'ADN est contrôlée

Comment l'abeille devient reine

On comprend pourquoi la gelée royale fait que certaines larves deviennent des reines et d'autres des ouvrières.

De grande taille, lente à se mouvoir, la reine d'une colonie d'abeilles passe l'essentiel de sa vie – quatre à cinq ans – à pondre, choyée par sa cour. Les

ouvrières, au contraire, petites, agiles et stériles ne vivent que quelques semaines. Pourtant, la reine et les ouvrières sont génétiquement identiques. Comment un même génome peut-il produire des individus si différents ? Une équipe germano-australienne vient d'éclairer les mécanismes moléculaires en jeu.

On savait l'alimentation en jeu : les larves élevées comme de futures reines et la reine survivante (après avoir éliminé ses rivales) sont nourries exclusivement de gelée royale. Les autres larves, qui deviendront des ouvrières, sont nourries surtout de miel et de pollen.

En 2008, l'équipe de Sylvain Forêt et Ryszard Maleszka, de l'Université de Canberra, en Australie, a montré que la suppression d'une enzyme, l'ADN méthyl-

transférase, chez des larves nourries pour devenir ouvrières, fait qu'elles se développent en reines fécondes : supprimer cette enzyme a le même effet que la gelée royale. Cette enzyme étant nécessaire à la méthylation de l'ADN, c'est-à-dire à l'ajout de groupes méthyle sur certaines bases (des cytosines) de l'ADN, la gelée royale apporte vraisemblablement des substances inhibant ce processus, dit épigénétique.

Supposant que les gènes ne s'expriment pas de la même façon chez la reine et les ouvrières, ces biologistes associés à un groupe du Centre allemand de recherche sur le cancer, à Heidelberg, ont séquencé les génomes de reines et d'ouvrières et identifié tous les sites méthylés de l'ADN. Ils ont observé que quelque 560 gènes

étaient méthylés différemment. La méthylation paraît réguler le type et la quantité des protéines produites chez une reine et chez une ouvrière.

Comment les enzymes de méthylation repèrent-elles les cytosines cibles parmi les dix millions de sites possibles chez l'abeille ? On l'ignore, mais un mécanisme expliquant les différences entre reines et ouvrières se dessine : la présence ou l'absence de gelée royale détermine différents profils de méthylation de leur ADN. En ajustant l'expression de certains gènes, ces profils donnent lieu à des caractéristiques anatomiques, physiologiques et comportementales distinctes.

→ Jean-Jacques Peirier

F. Lyko et al., *Nat. Biol.*, vol. 8, p. 2100-2006, 2006

La gelée royale contient des substances qui inhibent la méthylation de certains gènes : la larve se développe en reine



Une reine et sa cour.

8 | Actualités

© Pour la Science - n° 398 - Décembre 2010

L'alimentation du père entraîne des variations de la méthylation de gènes dans les spermatozoïdes, ce qui exerce des effets dans la génération suivante

Pères gras, filles diabétiques ?



L'empreinte de l'environnement sur les gènes se transmettra à des pères à leurs filles.

Chez l'animal, des mères obèses durant la gestation et la lactation enfantent plus souvent que la normale des petits atteints eux-mêmes d'obésité ou de maladies métaboliques à l'âge adulte. Le surpoids des pères a-t-il aussi un effet sur la descendance ? Probablement, montre l'équipe de Margaret Morris, de l'Université des Nouvelles Galles du Sud, à Sydney : des femelles de rats sont plus souvent atteintes de diabète si leur géniteur a été nourri trop grassement.

Les chercheurs australiens ont soumis neuf rats mâles à un régime

hypergras dès leur quatrième semaine, et huit rats contrôlés à un régime normal, puis les ont mis chacun en présence d'une femelle nourrie normalement, pour qu'ils se reproduisent. Les descendants femelles ainsi obtenus ont présenté, à partir de quatre semaines, deux signes de diabète dont l'intensité a augmenté avec l'âge. La cause en était la réduction du volume des îlots de Langerhans, qui, dans le pancréas, produisent l'insuline. De plus, l'expression de plusieurs centaines de gènes y était anormale.

Ces résultats suggèrent que des changements chimiques, dits épi-

génétiques, sont intervenus dans l'ADN des spermatozoïdes des pères : des variations de la méthylation de l'ADN (la fixation de groupes méthyle en différents sites de la molécule), qui perturbent l'expression de certains gènes. Ainsi, en modifiant l'expression des gènes paternels, l'alimentation exercerait des effets d'une génération de rats à la suivante. Chez l'homme, il est vraisemblable que des facteurs liés au mode de vie influent aussi sur la régulation épigénétique et l'expression des gènes.

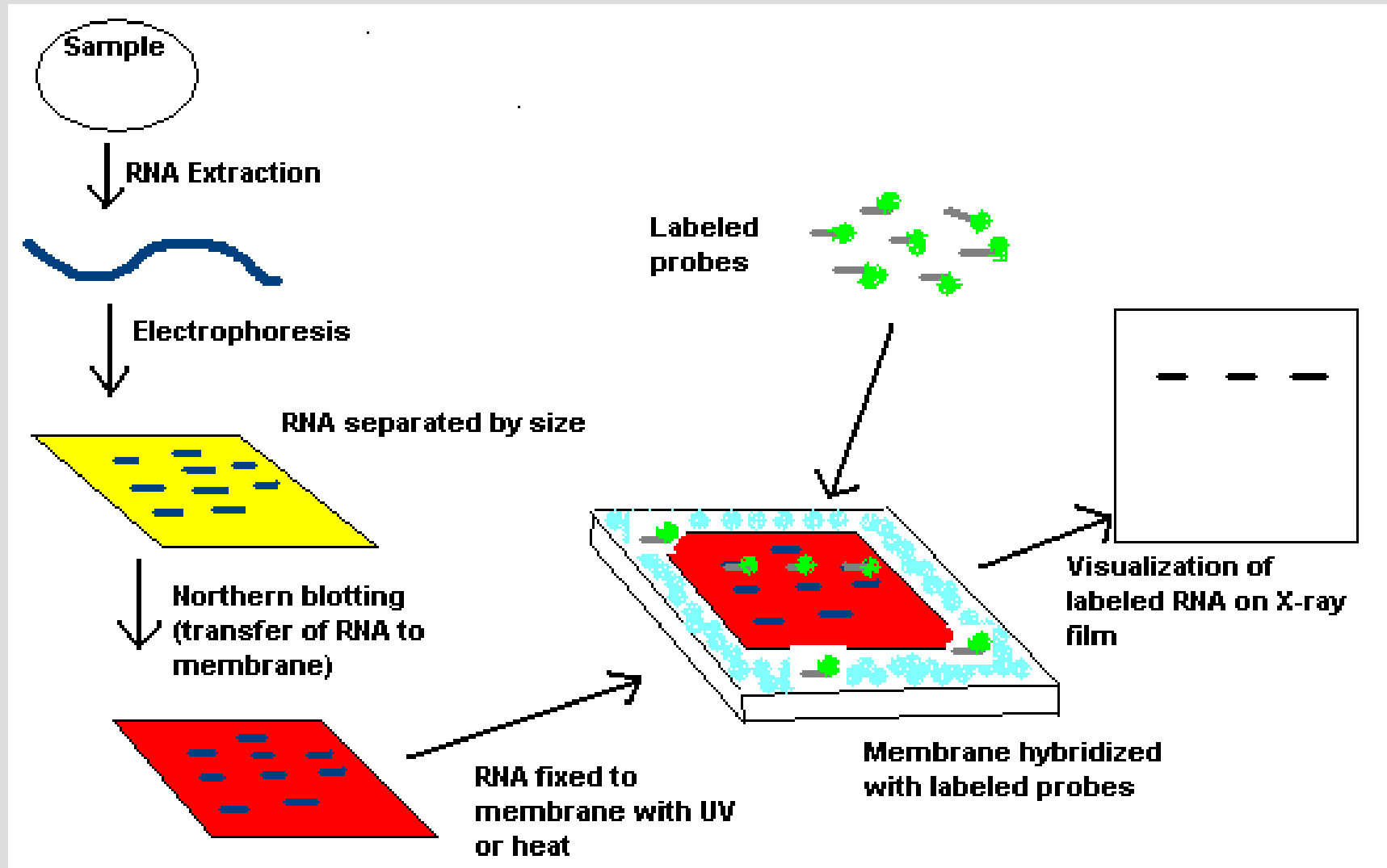
→ J.-J. P.

S.-F. Ng et al., *Nature*, vol. 467, pp. 963-967, 2010

12 | Actualités

© Pour la Science - n° 398 - Décembre 2010

Technique de Northern blot ou transfert d'ARN

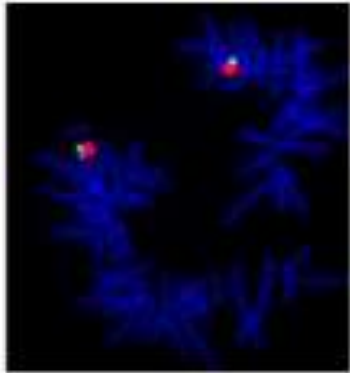


Elle consiste à transférer les molécules à analyser sur un support solide (par exemple, une membrane de nitrocellulose ou de nylon) puis à utiliser une sonde spécifique ARN de la cible recherchée.

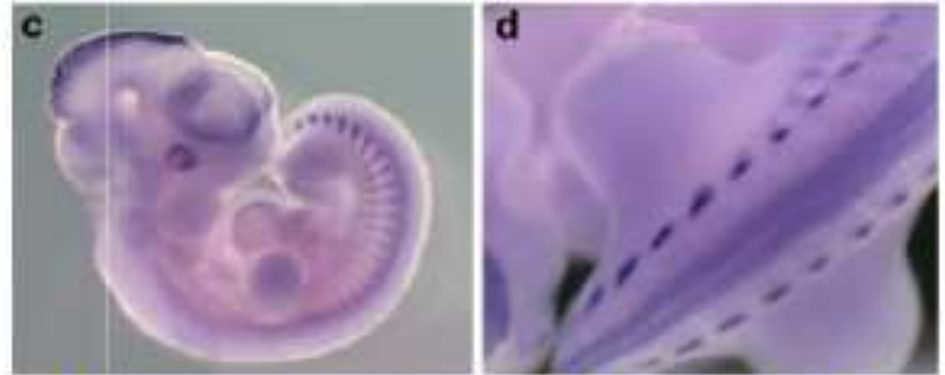
Définition de l'hybridation *in situ*

= révélation *in situ* d'une séq. d'acide nucléique dans une cellule

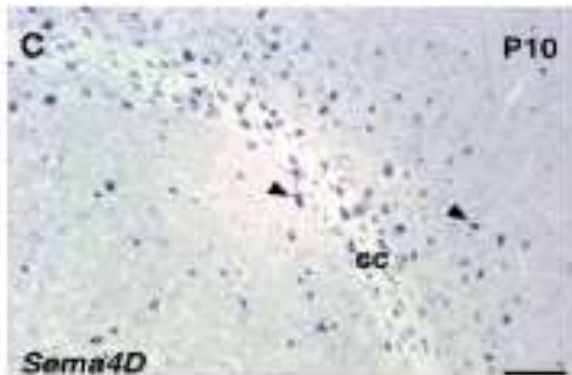
L'HIS consiste à repérer donc identifier et localiser une portion ± grande d'un acide nucléique.



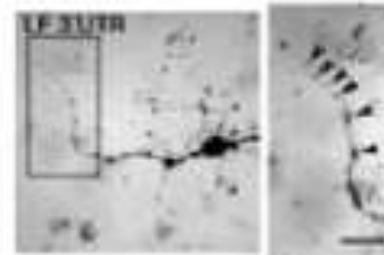
Chromosomes
Interphasiques
(FISH)



Un organisme entier de petite taille



Une préparation
histologique



Cellules en
culture

➔ Présence d'ARNm témoignant de la transcription
du gène correspondant

Principe de l'HIS:

- Repose sur la propriété qu'ont 2 séquences nucléiques complémentaires de s'apparier de façon spécifique avec une affinité extrêmement forte.
- acide nucléique marqué : « sonde »
- acide nucléique recherché : « séquence-cible »

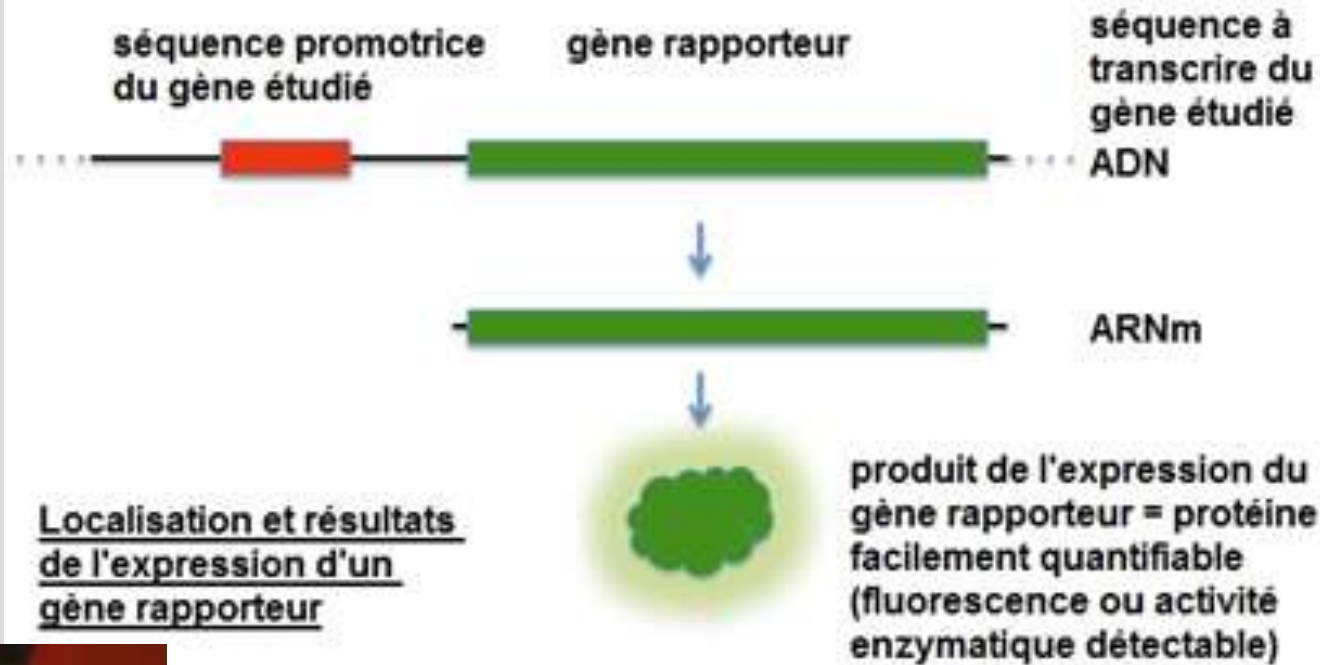
Séquence-cible



Sonde



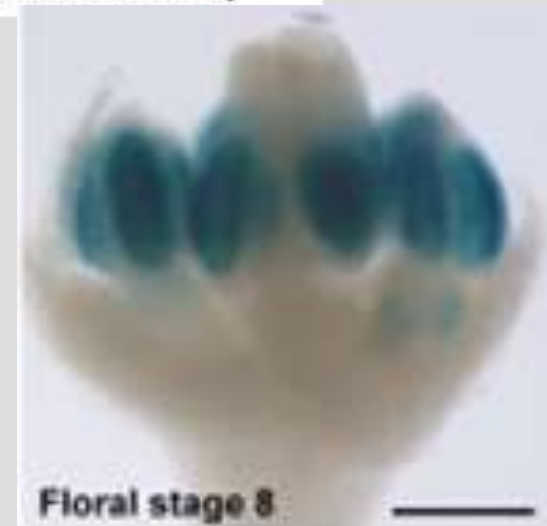
- ARNm = structure monocaténaire
enchaînement de 4 ribonucléotides monophosphate
(adénosine, guanosine, uridine et cytidine)



Lucie, souris transgénique exprimant le gène de la GFP.

Laboratoire de Biologie Animale, (Université de Limoges <http://www.unilim.fr>)

Analyse de la transcription à l'aide des gènes rapporteurs



Fleur d'*A. thaliana* en cours de développement.

Le gène GUS a été inséré après le promoteur du gène dont on étudie le rôle. Barre d'échelle = 100 μ m. (<http://www.biomedsearch.com/nih/Arabidopsis-bZIP-transcription-factors-TGA9/20805327.html>)

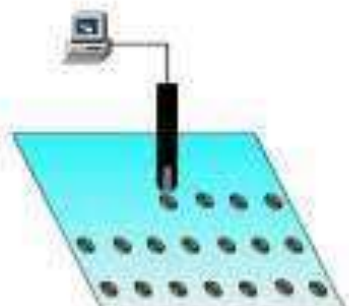
Fabrication des puces à ADN

Lames de verre
recouvertes de polylysine



+

6116 ORFs de levure
amplifiées par PCR



Spotting (dépôt)

Hybridation

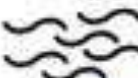
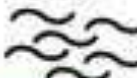
Souche 1



Souche 2



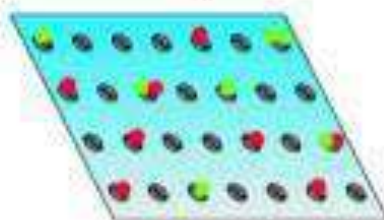
Extraction
des ARN



Cy3

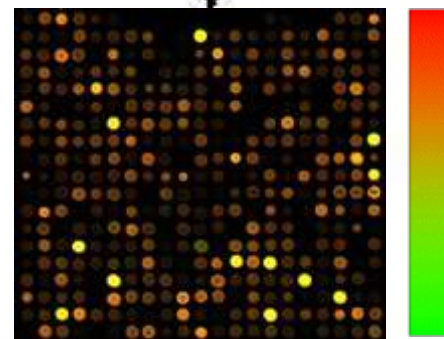
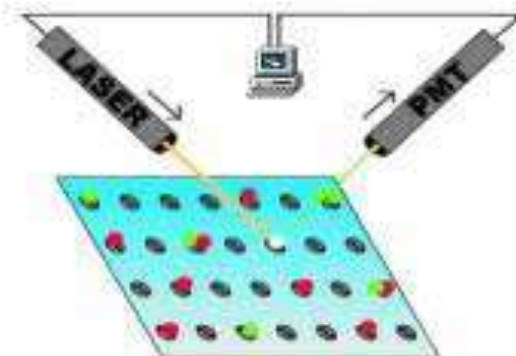
Transcription
des ARNm
en ADNc

Cy5



Obtention des résultats

Lecture (scanner)

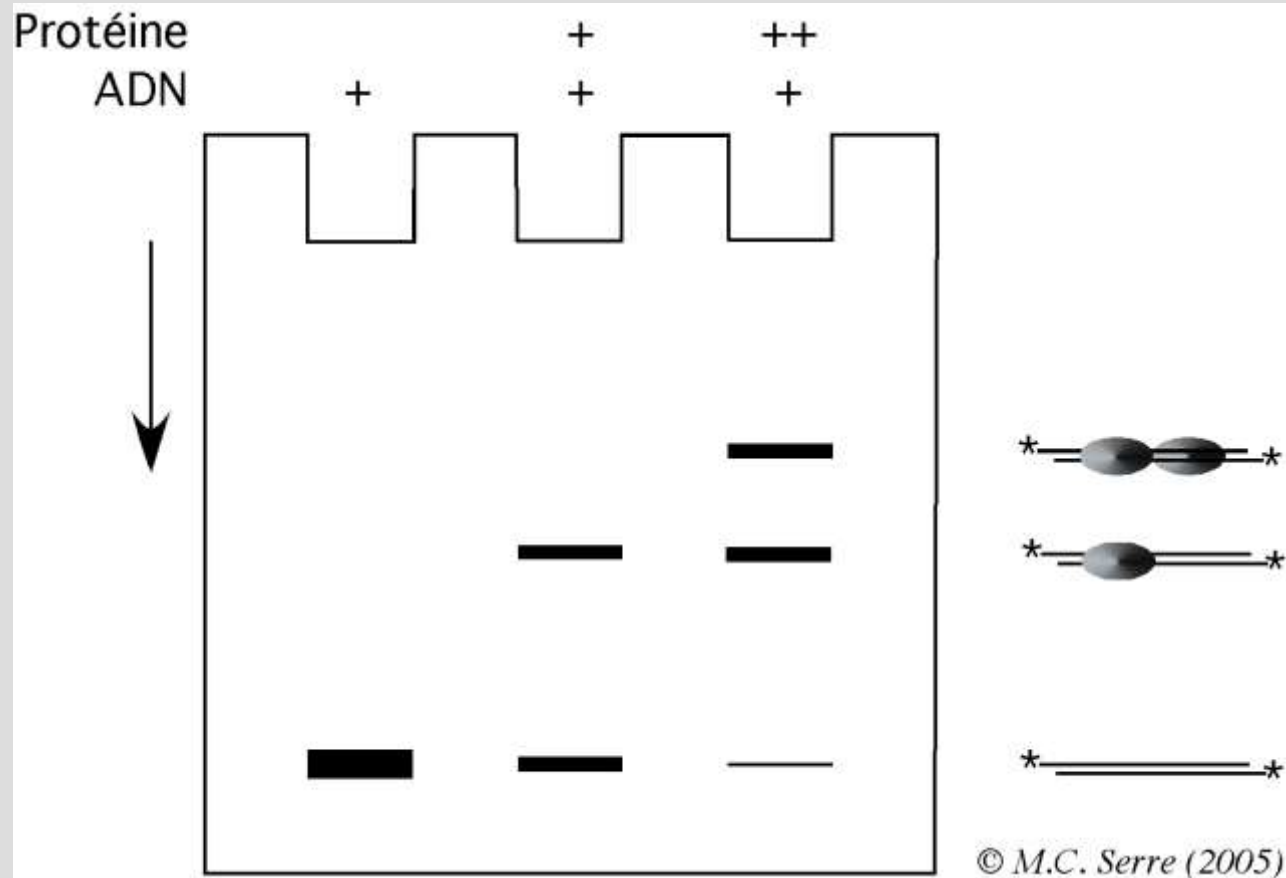


Analyses des résultats

Le principe de la puce à ADN

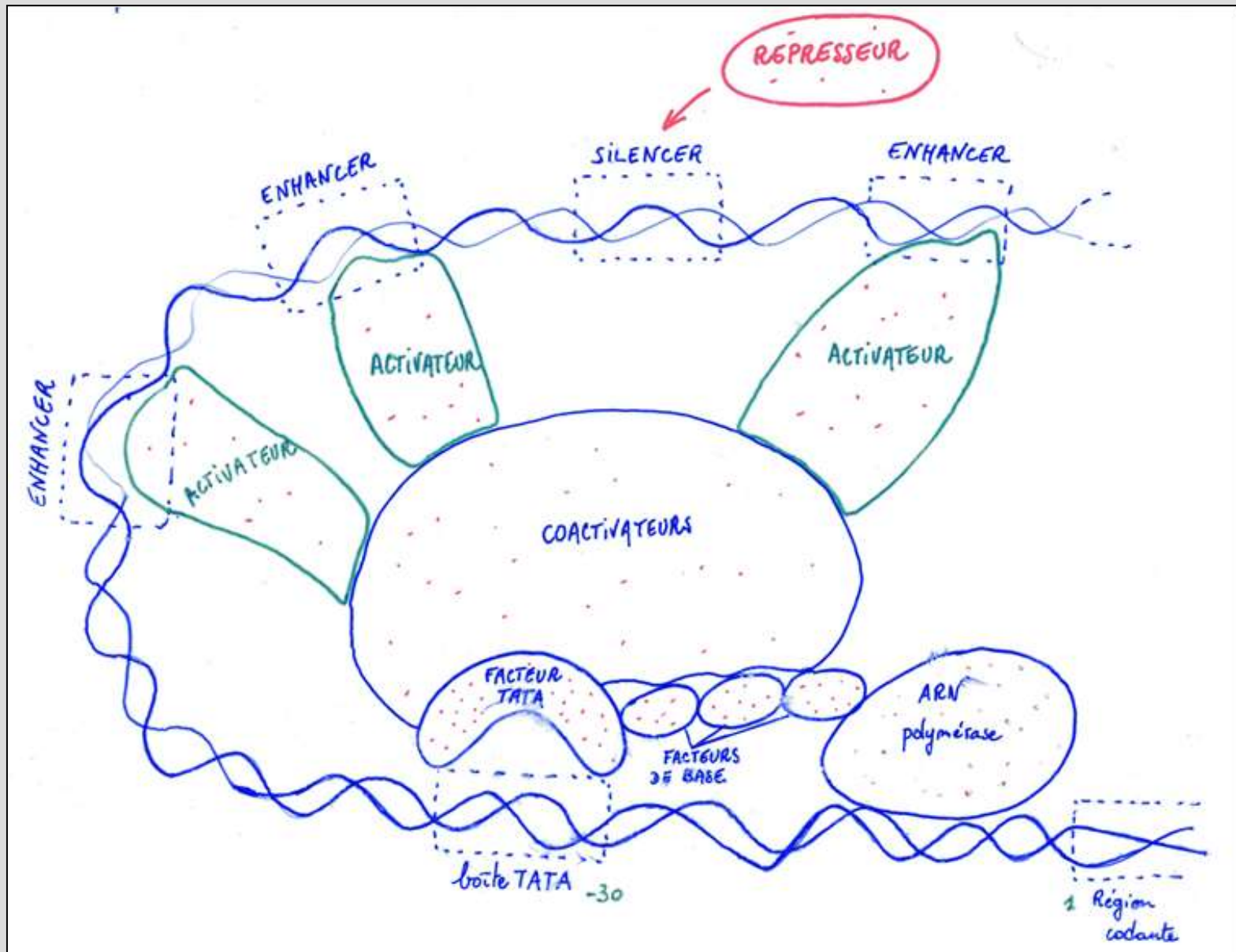
Technique de retardement sur gel

Un complexe ADN-protéine ou ARN-protéine migre moins vite sur un gel qu'un ADN ou un ARN nu. Ce retard de migration permet de juger au premier coup d'oeil si une séquence particulière d'ADN ou d'ARN a été reconnue et liée par une protéine.



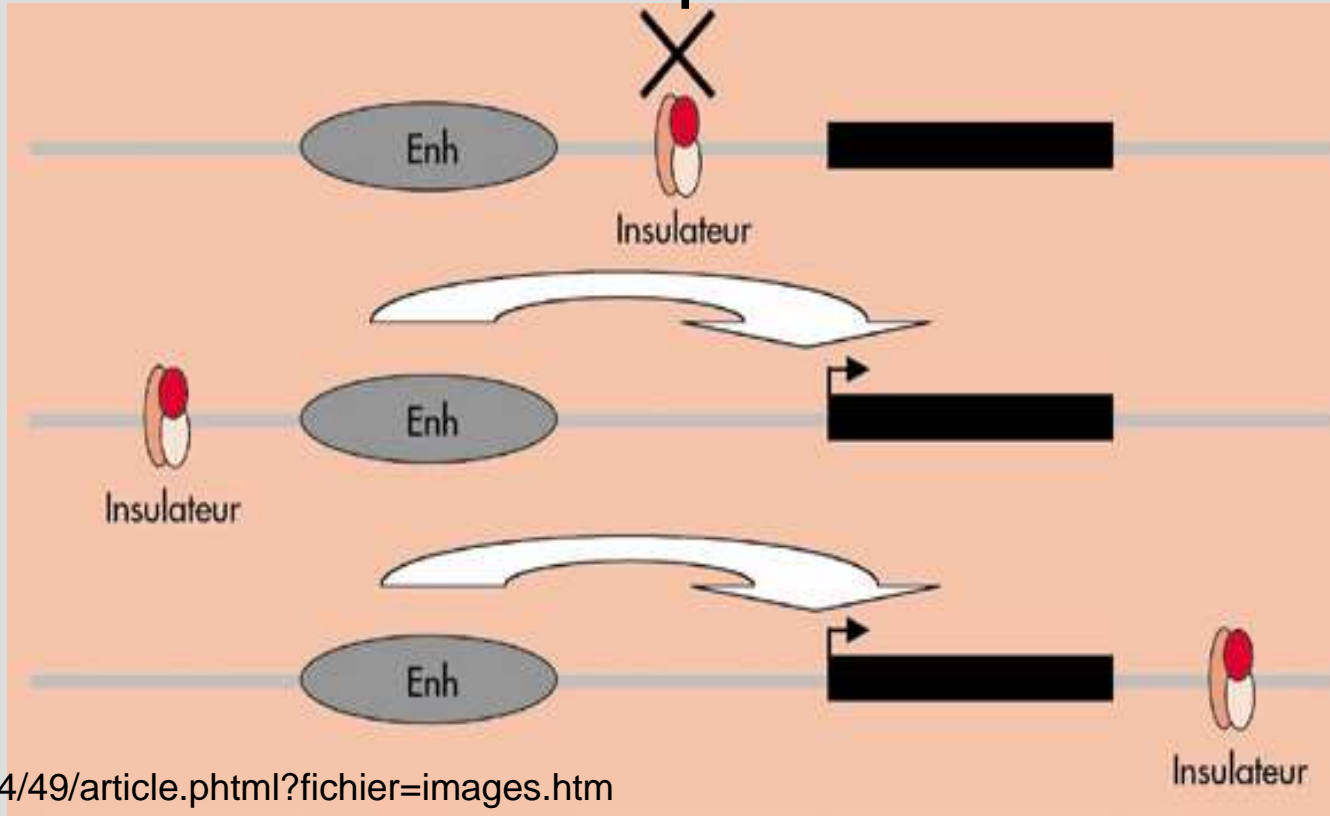
Dans le cas présent, le fragment d'ADN porte deux sites de fixation de la même protéine. Selon la concentration en protéine de la solution, le second complexe apparaît ou pas.

Document 19. Contrôle exercé au niveau du complexe de transcription.

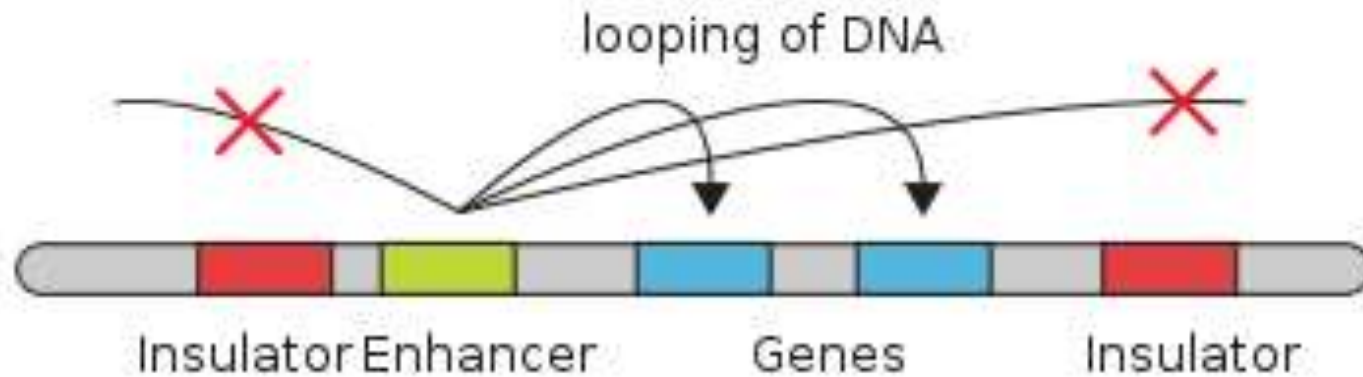


Document 20. Séquences insulateurs et domaines de transcription.

L'insulateur « protège » un gène (en noir) de l'action d'un enhancer uniquement s'il est situé entre ce gène et l'enhancer.

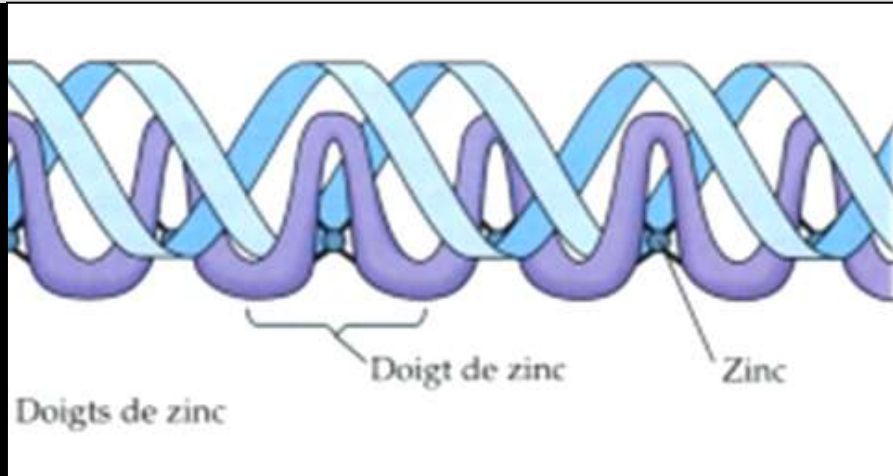
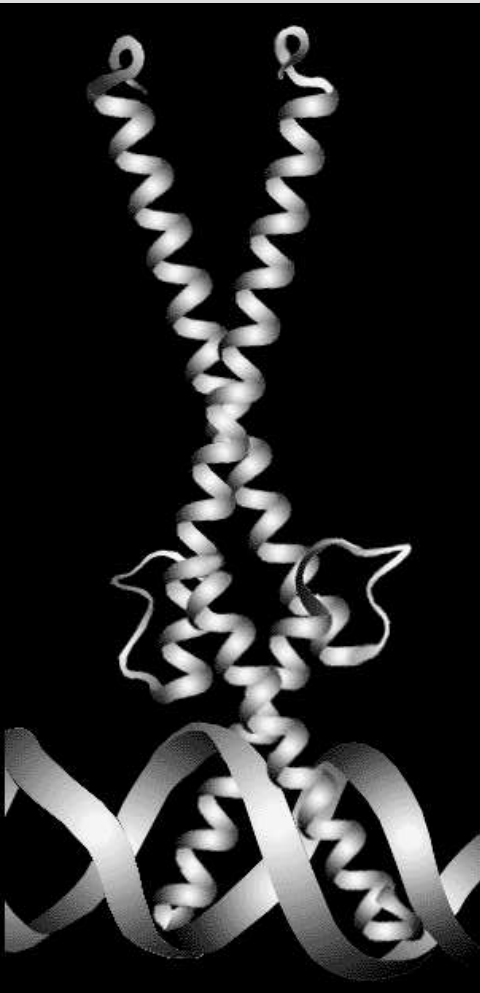


<http://www.jle.com/e-docs/00/02/24/49/article.phtml?fichier=images.htm>

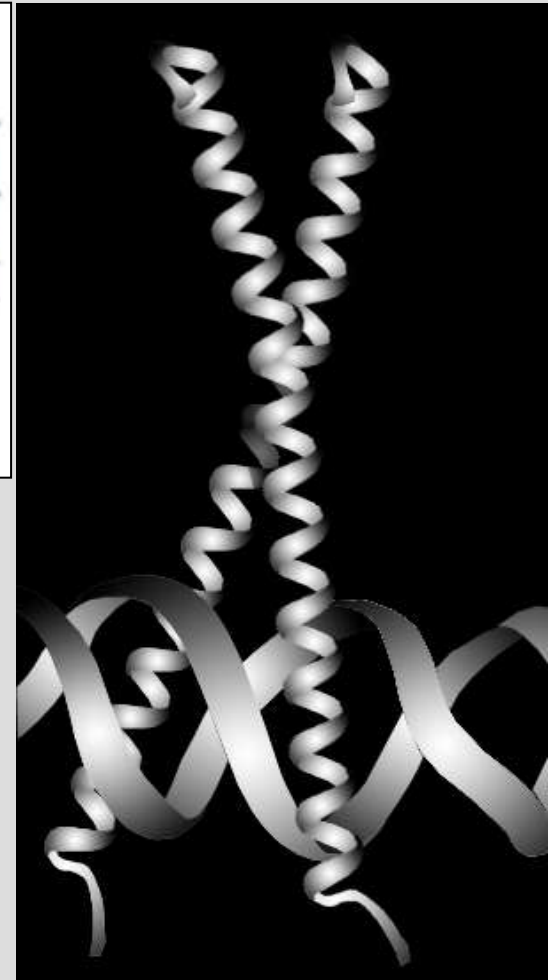


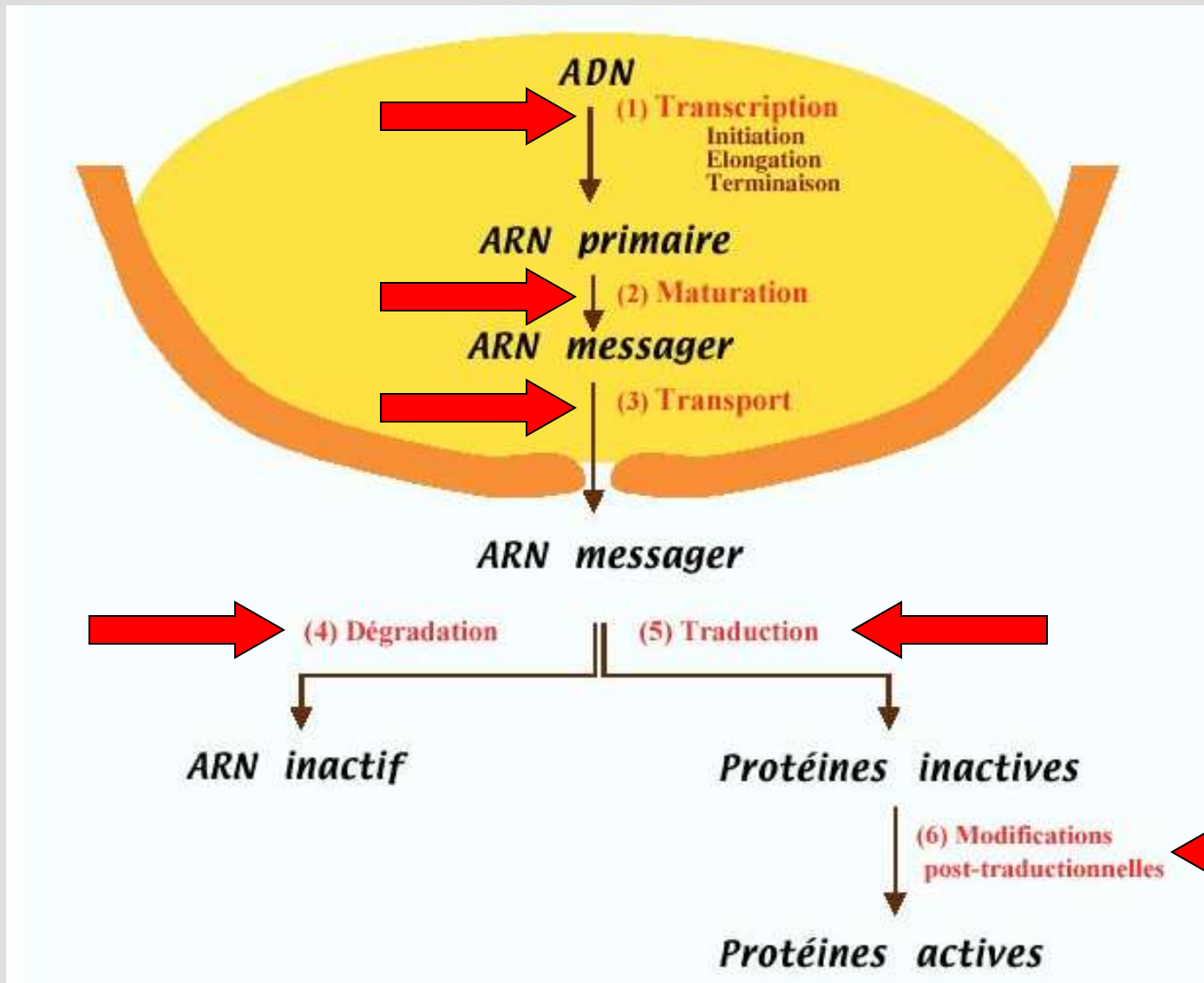
Les insulateurs délimitent des domaines de transcription.

Quelques motifs communs des protéines qui se lient à l'ADN (voir document 21).



A gauche : domaine de liaison à motif hélice – boucle – hélice
Au centre : domaine de liaison à motif en doigts de zinc
A droite : domaine de liaison à motif fermeture à glissière de leucines.





Document 22. Les différents niveaux de contrôle de l'expression des gènes chez les Eucaryotes.

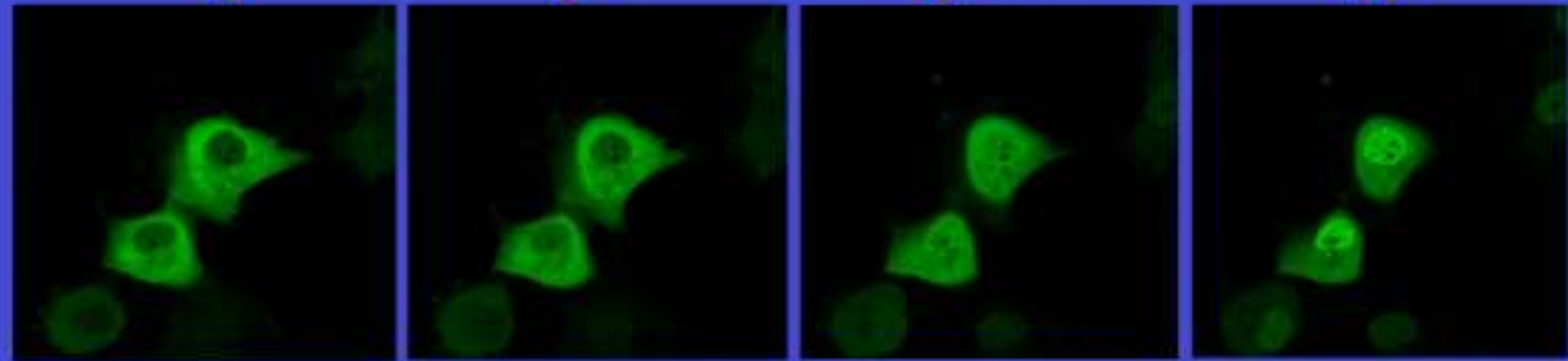
Mise en évidence de l'importation dans le noyau d'un récepteur nucléaire suite à la liaison avec une hormone stéroïdienne.

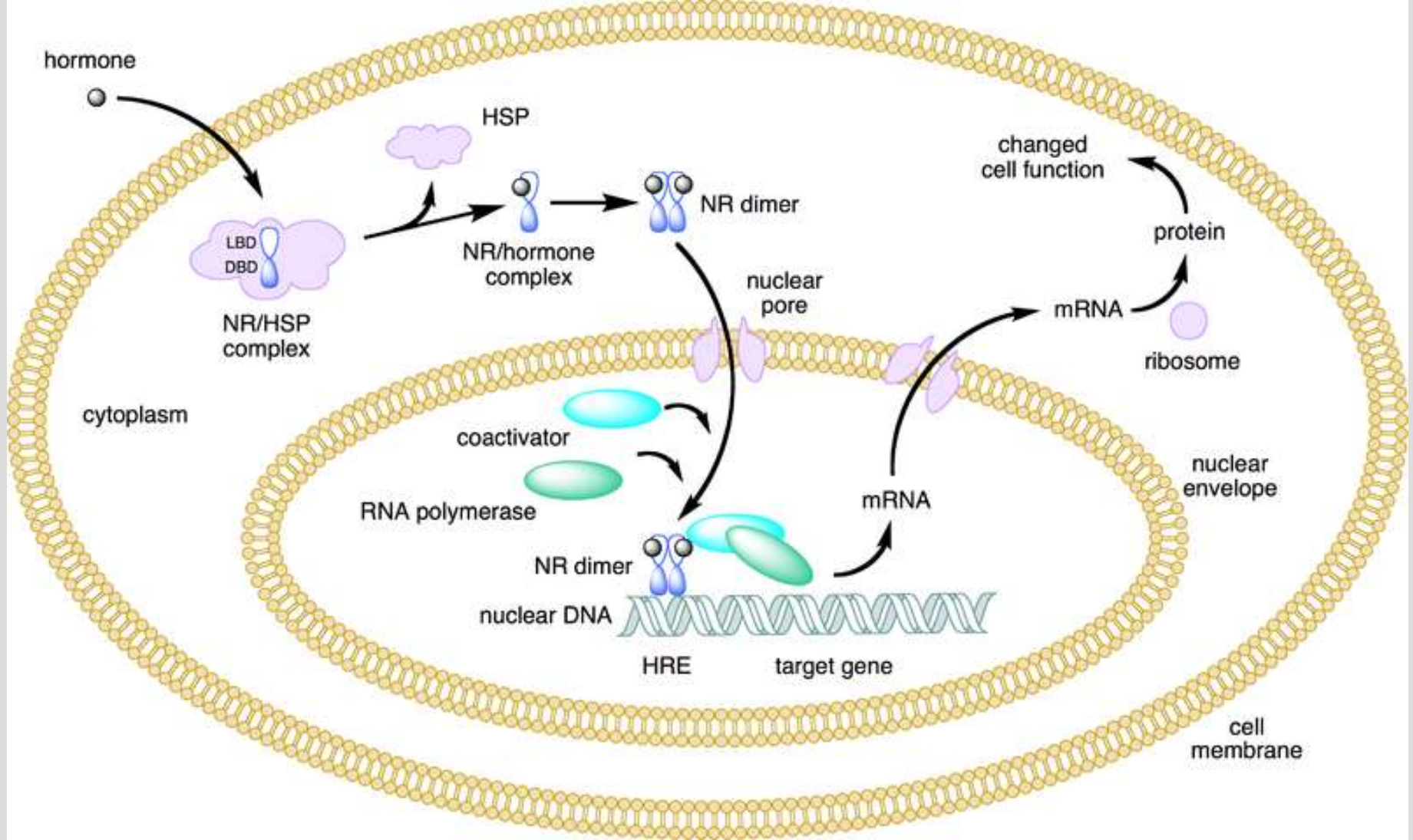
0

5'

10'

15'

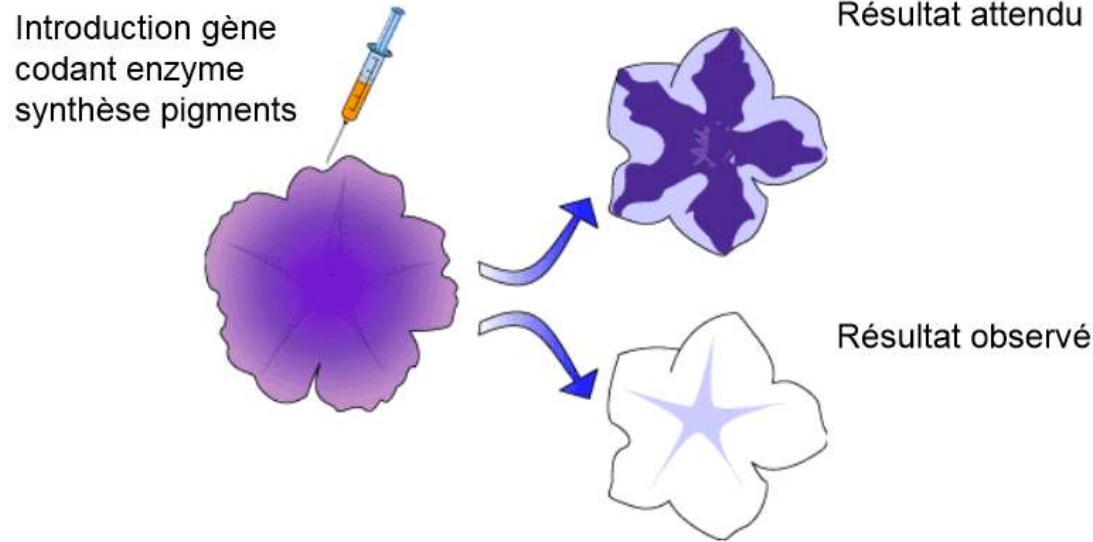




Régulation de la transcription via un facteur de transcription ligand dépendant :
le récepteur nucléaire aux hormones stéroïdes.

Les ARN interférents

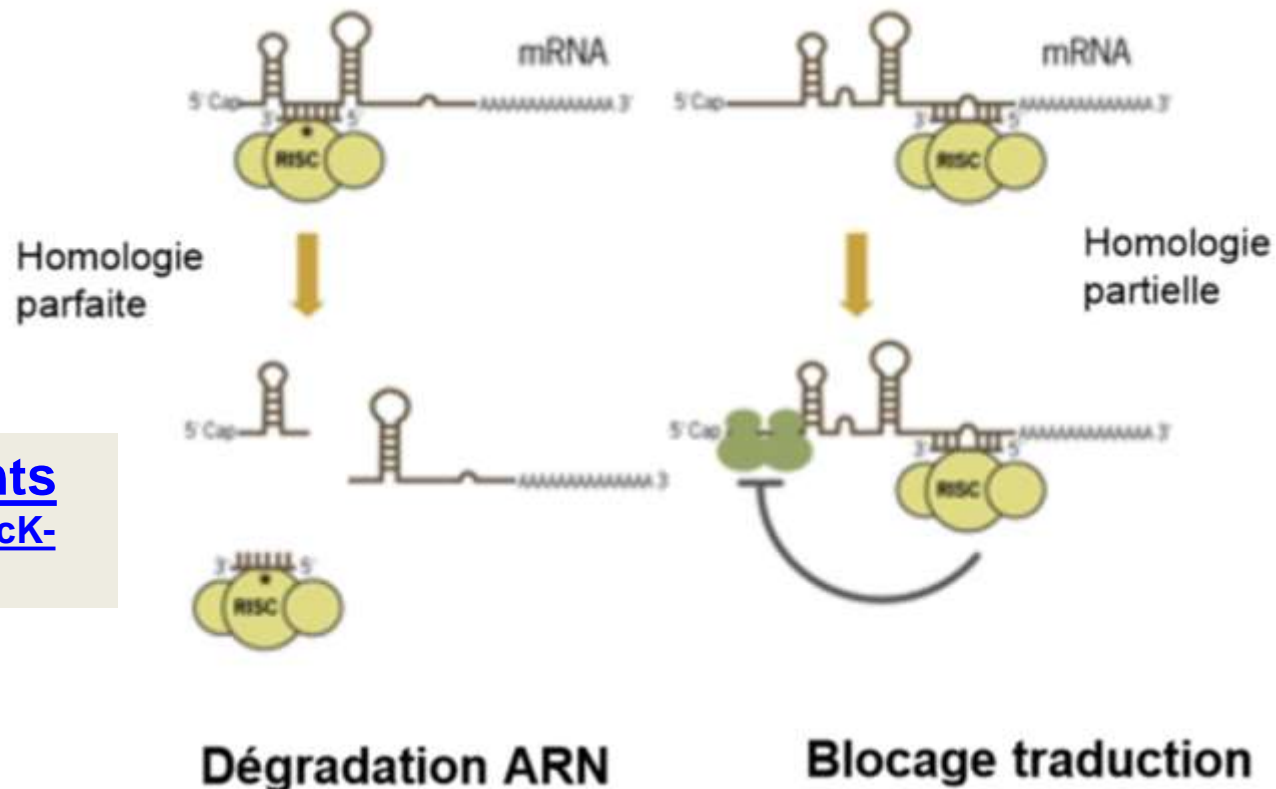
Historique de la découverte



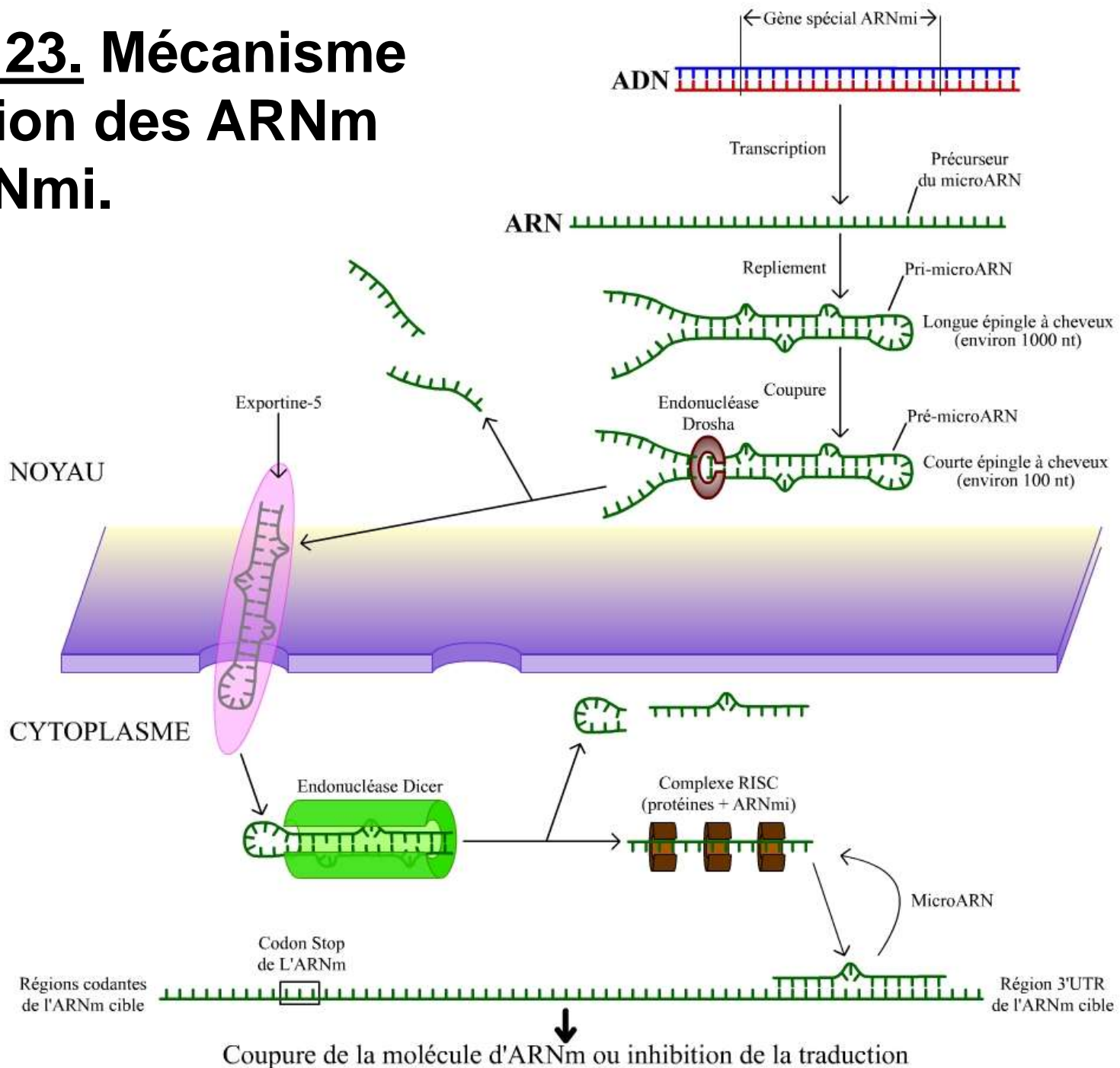
Les mécanismes de contrôle par ARNi

→ [Vidéo ARN interférents](https://www.youtube.com/embed/cK-OGB1_ELE?wmode=transparent)
https://www.youtube.com/embed/cK-OGB1_ELE?wmode=transparent

<http://www.u-picardie.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1225182978501&LANGUE=0>



Document 23. Mécanisme de l'inhibition des ARNm par les ARNm.



Découverte de CRISPR, bibliothèque de courtes séquences palindromiques dans le génome de la bactérie *Escherichia Coli*. Ces séquences peuvent être transcrites en ARN.



Identification de CRISPR chez d'autres bactéries.

Philippe Horvath et Rodolphe Barrangou démontrent l'intérêt de CRISPR dans la défense immunitaire des bactéries contre les virus.



Identification des séquences sur l'ADN des virus, où se fixe le système CRISPR.

Découverte de la protéine Cas9, l'enzyme capable de couper l'ADN à un endroit précis.

CRISPR :
Clustered
Regularly
Interspaced
Short
Palindromic
Repeats

1987

1995

2007

2010

2011

La découverte récente du système CRISPR...

...révolutionne les outils disponibles pour l'ingénierie des génomes.

Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna démontrent que l'assemblage d'ARN guide et de Cas9 coupe des séquences ADN ciblées dans des cellules eucaryotes (dont le matériel génétique est dans le noyau).



L'outil CRISPR-Cas9 est testé pour corriger des gènes dans différentes cellules végétales, animales et humaines.

Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna reçoivent le Breakthrough Prize.



Des embryons humains non viables sont testés.



Feng Zhang découvre une nouvelle enzyme, Cpf1, capable de couper l'ADN et s'associer à des ARN guides.



2012

2013

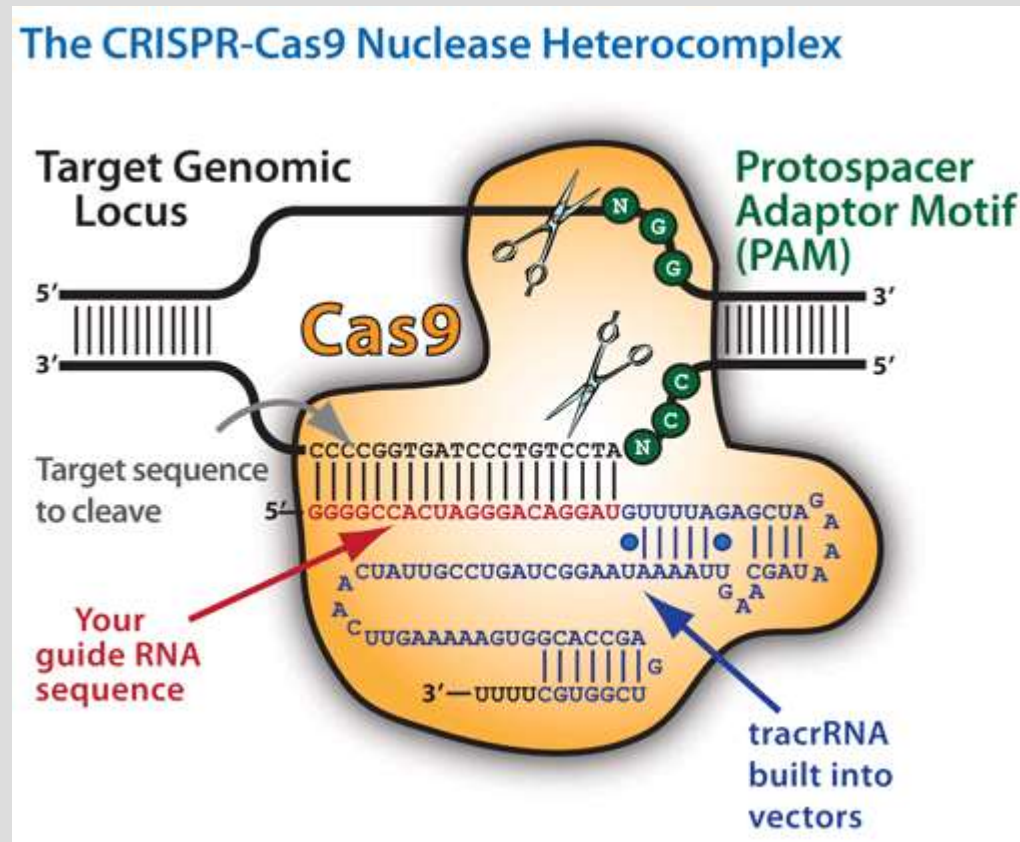
2014

2015

2015

« Avec «*Crispr/Cas9*», modifier un ADN devient presque aussi simple qu'un copier-coller »

Le **système CRISPR** a été découvert chez *Streptococcus pyogenes*, agissant comme **mécanisme de défense contre les virus et ADN étrangers**. Ce système utilise **une nucléase, Cas9** (*CRISPR-associated*), qui **complexée à un ARN guide (ARNg) complémentaire de la séquence-cible, clive l'ADN de façon spécifique** en amont d'une séquence PAM (*Protospacer Adaptor Motif*) localisée sur l'ADN génomique.



***Les scientifiques Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna sont à l'origine de cette découverte**