



FONCTIONNEMENT DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Prof. Guimogo DOLO, M.Sc., PhD

RAPPELS 1

1- Qu'est-ce qu'une cellule ?

Notre organisme est constitué de plus de 50 000 milliards de cellules. Au départ, nous sommes une cellule unique (cellule œuf) issue de la fécondation d'un ovule par un spermatozoïde. La plupart de ces fonctions sont assurées par des protéines (grandes molécules biologiques) spécialisées. Certaines ont un rôle architectural, d'autres servent à transformer des substances pour les "recycler" ou pour assurer leur transport vers d'autres cellules. Dans les cellules, il y a d'autres éléments comme les mitochondries qui permettent de produire de l'énergie, les lysosomes qui recyclent les matières issues du fonctionnement cellulaire ou le noyau

RAPPELS 2

2- Qu'est-ce qu'un chromosome ?

Toutes les cellules de notre organisme contiennent la même information génétique, le même code. Ce sont **les chromosomes situés dans le noyau de chaque cellule, qui renferment cette information.** Les chromosomes sont eux-mêmes constitués d'ADN (Acide Désoxyribonucléique) très compact.

RAPPELS 3

3- Qu'est-ce que l'ADN ?

L'ADN (Acide Désoxyribonucléique) est une molécule retrouvée dans toutes les cellules vivantes. Elle renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme. C'est aussi le **support du patrimoine génétique car l'ADN est transmis lors de la reproduction**. Les chromosomes sont constitués d'ADN très compact. Si on "déroule" cet ADN, on obtient une structure composée de deux brins complémentaires enroulés en double hélice. Les deux brins sont reliés entre eux grâce à quatre substances chimiques appelées "bases" : l'adénine (A), la thymine (T), la cytosine (C) et la guanine (G). Le "langage ADN" est ainsi écrit à l'aide de quatre lettres : A, T, C et G.

RAPPELS 4

4- Qu'est-ce qu'un gène ?

Un gène est une **séquence d'ADN qui permet la fabrication d'une protéine (grande molécule biologique) spécifique**. On dit qu'un "gène code pour" la fabrication de telle ou telle protéine. C'est en fait l'ordre d'enchaînement des quatre lettres (bases) de l'ADN qui constitue un message, une information. C'est ce message qui permet la fabrication de la protéine correspondante. **Chaque chromosome contient des milliers de gènes qui vont donc permettre la synthèse de milliers de protéines**. Ces protéines assurent l'essentiel des fonctions de la cellule. Elles ont différentes dénominations selon leur fonction : enzymes, neurotransmetteurs, hormones, etc., et ont un temps d'utilisation défini.

FONCTIONNEMENT DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

1. Le concept de gène.

C'est un fragment défini du chromosome occupant un emplacement fixe; le locus et gouvernant une **fonction** précise, identifiable au niveau du phénotype.

Les allèles représentent les différentes formes du même gène, dérivant les uns des autres par **mutation** et conditionnant les différents caractères pouvant se manifester dans le cadre de cette fonction. Des allèles portés par deux génomes distincts peuvent être échangés à la suite de recombinaisons. Cette notion classique du gène recouvre donc en fait trois aspects distincts: le gène est à la fois l'unité de **fonction**, l'unité de **mutation**, et l'unité de **recombinaison**.

1.1. La fonction

1.1.1. Phénotype.

Le programme génétique de la cellule sert à la synthèse des **enzymes** responsables du métabolisme. Les enzymes de nature protéique sont constituées par un ou plusieurs polymères d'acides aminés: les polypeptides. Le phénotype résulte de l'existence et du développement de divers assemblages polypeptidiques, il en résulte qu'on peut considérer que **l'unité de phénotype est le polypeptide**, et que la fonction primordiale du matériel génétique est la synthèse d'un polypeptide.

1.1.2. L'unité génétique de fonction.

a) Le matériel génétique.

Les travaux d'Avery, McLeod, McCarty (1944) sur la transformation bactérienne ont permis d'établir que la Substance porteuse de l'information génétique est un acide nucléique: **ADN**.

Le programme fonctionnel de la cellule est inscrit sous forme codée dans la séquence de bases successives des deux chaînes.

1.1.2. L'unité génétique de fonction

b) Le cistron.

L'ADN détermine la séquence des AA dans les polypeptides à partir des triplets de bases: Les **codons** (Khorana et Nirenberg 1968). On peut obtenir 64 codons (codons-sens) à partir des Quatre bases (4^3) dont 61 correspondent aux 20AA qui entrent dans la constitution des polypeptides.

Trois codons sont dit "non-sens" et servent à marquer une ponctuation: (codon stop: UAA, UAG, UGA appelés aussi respectivement ocre, ambre et opale).

Le polypeptide étant défini comme l'unité biochimique de phénotype, on peut lui faire correspondre une **unité génétique de fonction: le cistron**.

1.1.2. L'unité génétique de fonction

b) Le cistron

Le cistron est sur le génome, la séquence polynucléotidique nécessaire et suffisante pour coder la synthèse d'un Polypeptide retenu comme caractère marqueur au sein du phénotype.

Le cistron débute par un **codon de départ** et se termine par un codon non-sens, il comporte autant de codons que le Polypeptide d'acides aminés, la séquence de ses codons se reflétant très exactement dans la séquence des acides aminés du polypeptide

1.2. Mutation et recombinaison.

1.2.1. L'unité de mutation.

C'est le plus petit fragment de la séquence nucléotidique dont l'altération peut empêcher ou modifier l'expression phénotypique du cistron.

L'unité de mutation peut varier d'un nucléotide à un ou plusieurs codons.

1.2.2. L'unité de recombinaison (RECON).

C'est la plus petite partie du génome qui puisse être échangée contre une autre; l'unité de recombinaison correspond donc à un **nucléotide**. Deux nucléotides adjacents peuvent être séparés par recombinaison.

1.3. Gène et cistron

La notion de gène correspond à un concept global couvrant à la fois unité de fonction, unité de mutation, et unité de recombinaison .

La notion de **cistron** bien que couvrant les mêmes aspects, est plus spécifique et ne peut être employée que lorsque la structure et l'activité de l'unité génétique sont établies sur le plan biochimique ou définies par des opérations génétiques précises (le test cis-trans).

2. Activité des gènes

2.1. Nombre de gènes dans la cellule.

Le nombre d'unité de fonction du génome d'une cellule est difficile à déterminer.

Un polypeptide comprend en moyenne une centaine d'AA, un cistron doit donc comporter quelques centaines de codons, un millier de nucléotides. Par ailleurs la quantité d'ADN (nombre de nucléotides) constituant le génome d'une cellule peut être déterminée et une simple division permet alors d'obtenir le nombre approximatif de cistrons. Les valeurs obtenues par cette méthode sont très élevées: 10 000 unités de fonction pour une bactérie, plusieurs dizaines de milliers pour une cellule humaine (3 milliards de paires de nucléotides pour les 46 chromosomes humains).

2. Activité des gènes

2.1. Nombre de gènes dans la cellule

Ces chiffres sont sûrement surestimés puisque la totalité de l'ADN du génome n'a pas une activité génétique, et l'activité génétique ne s'exprime pas dans tous les cas par la synthèse d'un polypeptide, enfin l'estimation ne tient pas compte des phénomènes de **redondance** (un même cistron pouvant être répété plusieurs fois sur un génome).

Il est plus raisonnable d'admettre que le génome bactérien comporte de 1000 à 4000 gènes et le génome humain quelques dizaines ou centaines de milliers.

2. Activité des gènes

2.2. Fonctionnement.

Il diffère selon que la cellule est eucaryote nucléée ou procaryote bactérienne.

2.2.1. Cellule eucaryote.

- L'ADN se trouve dans le noyau alors que la synthèse des polypeptides s'effectue dans le cytoplasme
- ADN protégé par des protéines histones
- l'ARNm passe du noyau au cytoplasme. Il existe autant d'ARNm différents que de gènes différents.

2.2.1. Cellule procaryote (bactérie).

Chez les bactéries le chromosome est constitué par de l'ADN non lié aux protéines et directement au contact du cytoplasme.

a) Synthèse des ARNm et des polypeptides.

Le chromosome déployé se présente comme une longue fibre circulaire d'ADN sur laquelle on observe des structures complexes séparées les unes des autres par des zones où la fibre d'ADN demeure nue. Ces structures correspondent à des gènes actifs; elles sont constituées par une portion de la fibre axiale, portant des granules au niveau desquels des fibrilles latérales s'insèrent perpendiculairement. La longueur des fibrilles latérales s'accroît régulièrement le long de la fibre axiale d'un bout à l'autre de la structure considérée, la polarité est la même pour tous les gènes.

2.2.1. Cellule procaryote (bactérie).

a) Synthèse des ARNm et des polypeptides (suite).

Les fibres latérales représentent l'ARNm, elles s'allongent au fur et à mesure que la transcription progresse tout le long d'un segment d'ADN qui correspond à un gène. Les granules situés à leur base sont des molécules d'**ARN polymérase**, enzyme qui catalyse la transcription.

En contact direct avec le cytoplasme, l'ARNm est aussitôt complexé avec les ribosomes; dès qu'une fibre d'ARNm naissant est assez longue, un ribosome s'y attache et la traduction (synthèse d'un polypeptide) s'engage. Au fur et à mesure que la fibre d'ARNm s'allonge, d'autres ribosomes viennent s'y attacher, on assiste à la formation d'un polysome.

2.2.1. Cellule procaryote (bactérie).

b) Synthèse des ARNr.

Sur certains sites chromosomiques on observe deux gènes successifs d'une longueur voisine de $1,5 \mu$ au niveau desquels les fibrilles latérales sont dépourvues de ribosomes. Les fibrilles latérales sont plus courtes que pour l'un des deux gènes. Ces gènes codent chacun pour la synthèse d'une des deux molécules principales de ARNr qui entrent dans la Constitution du ribosome bactérien.

3. Régulation chez les procaryotes

Les activités des gènes de structure sont réglées et coordonnées en fonction des besoins de la cellule (répression: régulation négative, induction: régulation positive, feed-back, allostérie..)

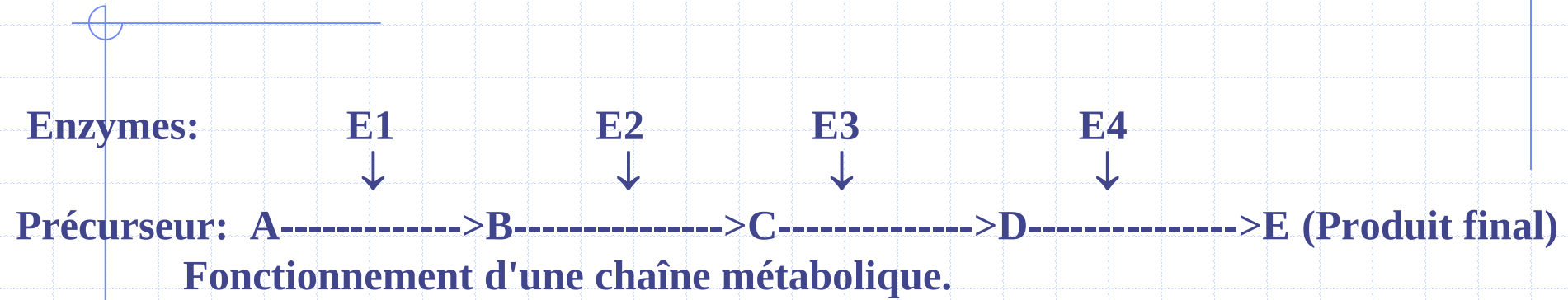
3.1. Le contrôle de l'anabolisme (répression).

3.1.1. Répression de la synthèse de l'arginine.

a) Synthèse de l'arginine.

La synthèse de l'arginine à partir d'une substance A appelée **précurseur** s'effectue en **quatre** étapes successives contrôlées chacune par une enzyme. L'enzyme **E1** catalyse la transformation du précurseur A en une substance B, l'enzyme **E2** transforme B en C, l'enzyme **E3** transforme C en D, l'enzyme **E4** transforme D en E; le produit final: **l'arginine**.

ENZYMES



3.1.1. Répression de la synthèse de l'arginine

a) Synthèse génétique de contrôle.

La synthèse des quatre enzymes E1, E2, E3, E4 est gouvernée par quatre gènes de structure adjacents sur le chromosome et qui se succèdent dans l'ordre même où agissent les enzymes G1, G2, G3, G4. A l'une des extrémités de ce groupe se trouvent deux autres gènes, le **promoteur et l'opérateur**, qui sont **actifs dans le contrôle des gènes de structure**.

L'ensemble constitué par des gènes de structure, le promoteur (site de reconnaissance) et l'opérateur (site d'initiation) a reçu le nom d'**opéron**.

Sur un autre locus du chromosome, qui n'est en général pas situé à proximité immédiate de l'opéron, se trouve un autre gène de contrôle: **le régulateur**.

3.1.1. Répression de la synthèse de l'arginine

b) Fonctionnement du système.

Le gène régulateur dirige en permanence la production d'une substance protéique appelée répresseur, ou pour être plus précis **aporépresseur** (inactif).

- Si l'arginine en excès s'accumule dans le cytoplasme, elle se comporte comme un **corépresseur** et se combine avec l'**aporépresseur** formant un **holorépresseur** actif qui se fixe sur le gène opérateur. L'holorépresseur bloque ainsi l'activité des gènes de structure, vraisemblablement en empêchant la progression vers ces gènes de l'enzyme ARN polymérase (responsable de la transcription de l'ADN en ARNm), qui serait fixée au niveau du promoteur. Les enzymes E1, E2, E3, E4 ne sont plus synthétisées, la production d'arginine est interrompue.

b) Fonctionnement du système (Suite)

-Si par contre l'arginine est immédiatement utilisée au fur et à mesure de sa production (forte activité de synthèses protéiques dans la bactérie), elle ne peut s'accumuler, ni jouer le rôle d'un corépresseur. Dans ce cas l'opérateur n'est pas bloqué et la synthèse des enzymes E1, E2, E3, E4 se poursuit, de même par conséquent que la synthèse de l'arginine.

Ce système économique pour la cellule, permet d'adapter sur le plan quantitatif la production aux besoins. On note que le répresseur n'exerce pas son action de façon directe au niveau de l'enzyme, mais agit au niveau génétique en bloquant la synthèse des ARNm gouvernant la synthèse des enzymes soumis à son contrôle.

Il existe un mécanisme complémentaire de régulation qui n'affecte pas la synthèse des enzymes, mais leur activité.

3.1.2. Régulation par feed-back (rétro-inhibition).

Le phénomène de feed-back a pour effet d'interrompre de façon immédiate le processus de synthèse de l'arginine dès lors que celle-ci s'accumule en excès dans le cytoplasme.

a) L'allostérie.

De nombreuses protéines enzymatiques fonctionnant en début d'une chaîne de biosynthèse (c'est le cas de E1) possèdent deux sites spécifiques de liaison. L'un permet la **liaison au substrat** sur lequel l'enzyme est active (ici le précurseur A), l'autre est **spécifique du produit final** de la chaîne (dans ce cas l'arginine). Les deux sites sont spatialement et fonctionnellement définis et distincts. Si le produit final s'attache à l'enzyme, il en modifie les propriétés, l'enzyme devient incapable de catalyser la réaction $A \rightarrow B$, ce phénomène est connu sous le nom **d'allostérie** ou de **transition allostérique**.

3.1.2. Régulation par feed-back (rétro-inhibition).

b) Mécanisme du feed-back.

Le processus mis en oeuvre est simple et rapide. L'arginine en excès entre en compétition avec le précurseur, elle vient se fixer directement sur la première enzyme de la chaîne, E1 qui est allostérique et inhibe son action. Cela suffit à bloquer toute la chaîne de réaction et la production du produit final (l'arginine) est interrompue.

Par rapport à la régulation génétique qui constitue un moyen "lourd" utilisé lors de changements importants dans l'activité de la bactérie, le feed-back représente un moyen "léger", plus souple, susceptible d'intervenir rapidement à tout moment.

NB. Cet exemple de régulation de la synthèse d'un acide aminé s'applique sans modifications notables à toutes les activités anaboliques: réplication de l'ADN, division cellulaire, croissance, etc.

3.2. Le contrôle du catabolisme (induction).

On appelle **catabolisme**, le métabolisme de dégradation, qui permet la production à partir des aliments cellulaires; de l'énergie et des précurseurs nécessaires au métabolisme de synthèse.

Les bactéries comme *E.coli* qui vivent dans l'intestin de l'homme, ont comme aliments une douzaine de substrats différents parmi lesquels le glucose ou le lactose.

Les substrats sont dégradés par les enzymes en plusieurs étapes, au cours d'une chaîne de dégradation spécifique à chacun d'eux. Les processus de dégradation font eux aussi l'objet d'une régulation.

Le mécanisme mis en oeuvre est analogue à celui qui intervient dans le contrôle des activités anaboliques, mais ici c'est la présence du substrat qui active la synthèse des **enzymes de la chaîne de dégradation**. Par ailleurs, parmi plusieurs substrats disponibles, la bactérie peut utiliser en priorité celui qui est le plus économique.

3.2.1. Cas particulier du glucose

Le glucose constitue pour la bactérie le substrat le plus économique et généralement le plus abondant. Pour cette raison la chaîne enzymatique correspondant à la dégradation du glucose est **toujours fonctionnelle**, la synthèse des quelques dix enzymes qui y travaillent n'est **jamais inhibée**.

Lorsque le glucose est fourni à la bactérie en quantité suffisante, les chaînes de dégradation correspondant aux autres substrats **ne fonctionnent pas**. La synthèse des enzymes participant à ces chaînes de dégradation est inhibée, l'activité des gènes de structure gouvernant la production de ces enzymes est réprimée.

3.2.2. Induction de la synthèse des enzymes de la chaîne d'hydrolyse du lactose (Jacob et Monod, 1965).

Chez *E.coli* la chaîne enzymatique impliquée dans la dégradation du lactose comporte en particulier trois enzymes: perméase (codée par gène **lac Y**), β galactosidase (gène **lac Z**), transacétylase (gène **lac A**), qui interviennent successivement.

La synthèse de ces enzymes est contrôlée par un opéron (promoteur-opérateur-gènes de structure) et dépend d'un gène régulateur qui élabore un répresseur (protéine).

NB. gène lac Y -----> phénotype Lac Y... (majuscule).

Lorsque le glucose fait défaut dans le milieu et que du lactose est par contre disponible, une substance à laquelle on donne le nom d'**inducteur** se lie au répresseur et le rend inactif, c'est-à-dire incapable de se fixer sur l'opérateur. La transcription des gènes de structure peut alors s'effectuer normalement; le lactose pénètre rapidement dans la cellule (perméase), où il est hydrolysé (en glucose et en galactose). L'ensemble du phénomène devient tout à fait clair et prend tout son sens lorsqu'il apparaît que l'**inducteur n'est autre que le lactose lui-même.**

3.2.2. Induction de la synthèse des enzymes de la chaîne d'hydrolyse du lactose (Jacob et Monod, 1965).

Par ailleurs lorsque le glucose est peu abondant dans le milieu, il y a production accélérée (x 20) dans la cellule d'une substance appelée adénosine monophosphate cyclique (AMP cyclique).

L'AMP cyclique, après s'être combiné à une protéine réceptrice (CAP: catabolite gene activator protein), se fixe sur le promoteur qu'il active, **stimulant** ainsi la transcription de l'opéron lactose (en augmentant l'affinité de l'ARNm pour le promoteur).

Si le glucose redevient abondant dans le milieu, le taux de l'AMP cyclique décroît dans la cellule et la transcription de l'opéron lactose est fortement réduite.

4. Régulation chez les eucaryotes.

Différences entre l'organisation génétique des procaryotes et des eucaryotes.

Les bactéries sont des cellules isolées, soumises à des variations fréquentes de leur environnement, et à une pression de la concurrence pour le milieu.

Pour ces raisons elles doivent développer des mécanismes de régulation qui soient aussi souples que possible. Par contre des cellules des eucaryotes ne sont pas forcément soumises aux mêmes impératifs. Elles appartiennent le plus souvent à une communauté cellulaire qui réalise un environnement peu sujet aux variations, et où les échanges intercellulaires sont actifs.

Il existe de nombreuses différences entre les eucaryotes et les procaryotes en ce qui concerne la transcription et la traduction, ainsi que l'organisation du génome.

Dans une cellule eucaryote, une seule chaîne polypeptidique peut être traduite à partir d'un ARNm mature. Ainsi il n'existe pas de structure de type opéron comme chez les procaryotes. Les gènes de structure travaillant dans le cadre d'une même fonction peuvent être dispersés sur plusieurs chromosomes différents chez les eucaryotes.

4. Régulation chez les eucaryotes

- De nombreuses protéines sont fixées sur l'ADN des eucaryotes comme les histones qui participent à la formation de la chromatine. Seule une petite partie de l'ADN est nue.
- Une grande partie des séquences d'ADN des eucaryotes n'est pas traduite du fait que le gène est discontinu (fragmenté) en exons (traduits et transcrits) et en introns (transcrits mais non traduits).
- Les eucaryotes possèdent des mécanismes qui permettent le réarrangement de segments d'ADN de manière contrôlée; processus de réparation (coupure, réunion et excision, épissage).
- Il existe des introns dans la plupart des gènes eucaryotes (espaceurs, qui codent parfois ARNt et ARNr) .
- Chez les procaryotes, les sites de régulation de la transcription sont petits et proches. Ils sont situés généralement en amont des promoteurs. La fixation des protéines régulatrices au niveau de tels sites stimule ou inhibe directement la fixation de l'ARN polymérase.

4. Régulation chez les eucaryotes

- A la différence des procaryotes la RNA polymérase des eucaryotes semble incapable de reconnaître directement le promoteur (reconnaît plutôt un complexe multiprotéique: complexe d'initiation).

Chez les eucaryotes, les régions régulatrices sont beaucoup plus grandes et peuvent être situées à une centaine de paires de bases des promoteurs. Les protéines régulatrices se fixent au niveau de ces régions, mais à une distance trop grande pour interagir directement sur le promoteur.

- Chez les eucaryotes tous les gènes ne s'expriment pas dans toutes les cellules.

- Les ARN des eucaryotes sont synthétisés dans le noyau et doivent être transportés à travers la membrane nucléaire vers le cytoplasme pour y être traduits. Une telle compartimentation n'existe pas chez les procaryotes.

- Chez les eucaryotes des substances d'origine cytoplasmique qui sont des **protéines**, peuvent agir sur le noyau et modifier son activité (Arms, 1968), malgré la barrière qui constitue l'enveloppe nucléaire.

4. Régulation chez les eucaryotes

- Chez les eucaryotes, la région 5' en amont du site d'initiation de la transcription est une région de contrôle de la transcription très complexe. Elle est formée de divers motifs de nucléotides dits "cis-régulateurs" qui serviront de cibles à des facteurs dits "trans-régulateurs".
- La fixation de ces facteurs trans-régulateurs (protéines et diverses autres substances non protidiques) provoquera selon les cas un démarrage, une activation (quelques rares fois une diminution) de la transcription.

Différents éléments cis-régulateurs (séquences nucléotidiques) sont maintenant connus. Ils sont retrouvés dans plusieurs gènes, mais chaque gène, dans une cellule animale, possède une combinaison particulière d'éléments cis-régulateurs uniques dans leur type, leur nombre et leur localisation.

Conclusion. Cependant, il est vraisemblable que des mécanismes de régulation au moins comparables dans leur principe à ceux des procaryotes fonctionnent dans la cellule des eucaryotes, mais sans avoir le rôle presque exclusif qui est le leur chez la bactérie. On peut penser que chez les eucaryotes la régulation cellulaire est surtout régie par des mécanismes qui n'affectent pas directement la transcription de l'ADN en ARNm, mais qui agissent plutôt au niveau de la traduction des ARNm en protéines.

Enfin la vie en communauté offre d'autres possibilités de régulation, le rôle des hormones en particulier est essentiel.

5. Le test de complémentarité ou test cis-trans

Il s'agit d'un test de complémentation fonctionnelle contribuant à établir si deux mutations sont localisées dans un même cistron ou dans des cistrons distincts (détermine les limites d'un cistron).

Il consiste à comparer l'expression de deux mutations récessives par croisement en configuration **cis** dans un individu et en configuration **trans** dans un autre.

Cis: Les deux mutations sont sur le même chromosome $+/m1\ m2$

Trans: Les deux mutations sont sur deux chromosomes homologues $m1\ +\ /\ +\ m2$.

- Si le phénotype est mutant en configuration trans et sauvage en configuration cis, les deux mutations appartiennent au même cistron (schéma 1).
- Si le phénotype est sauvage quelle que soit la configuration, les deux mutations appartiennent à deux cistrons différents (schéma 2).

5. Le test de complémentarité ou test cis-trans

