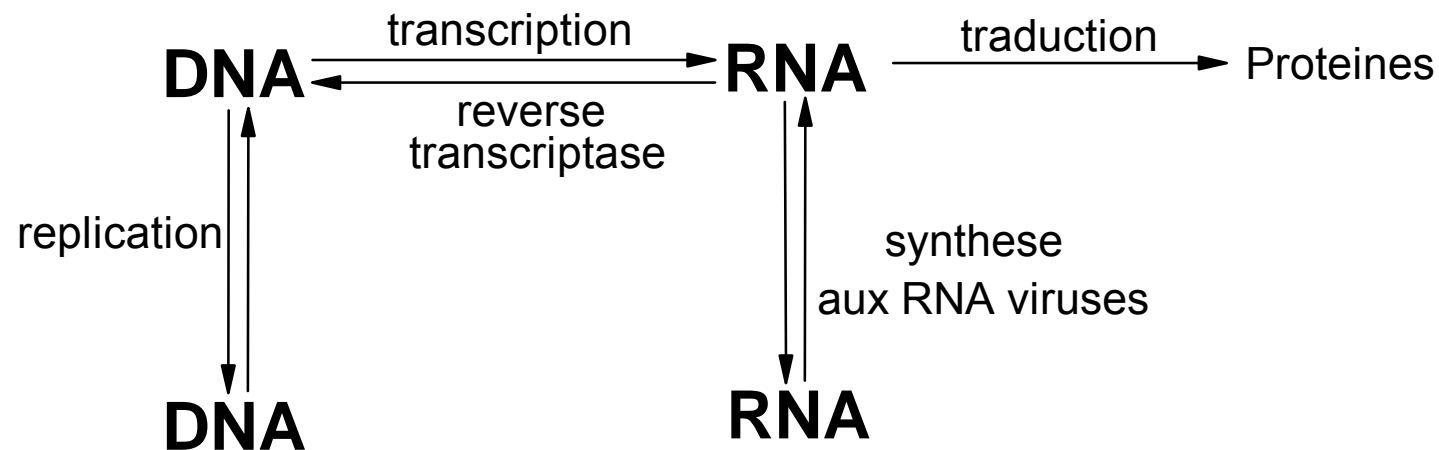


Conf. Dr. Adriana Kaycsa: kaycsa.adriana@umft.ro et adrianakaycsa@yahoo.com

Toutes les questions seront envoyées à Conf. Dr. Adriana Kaycsa aux les deux adresses de email fournis (**IMPORTANT** – les questions seront envoyées simultanément aux les deux adresses de email fournis et pas seulement a une !!!)

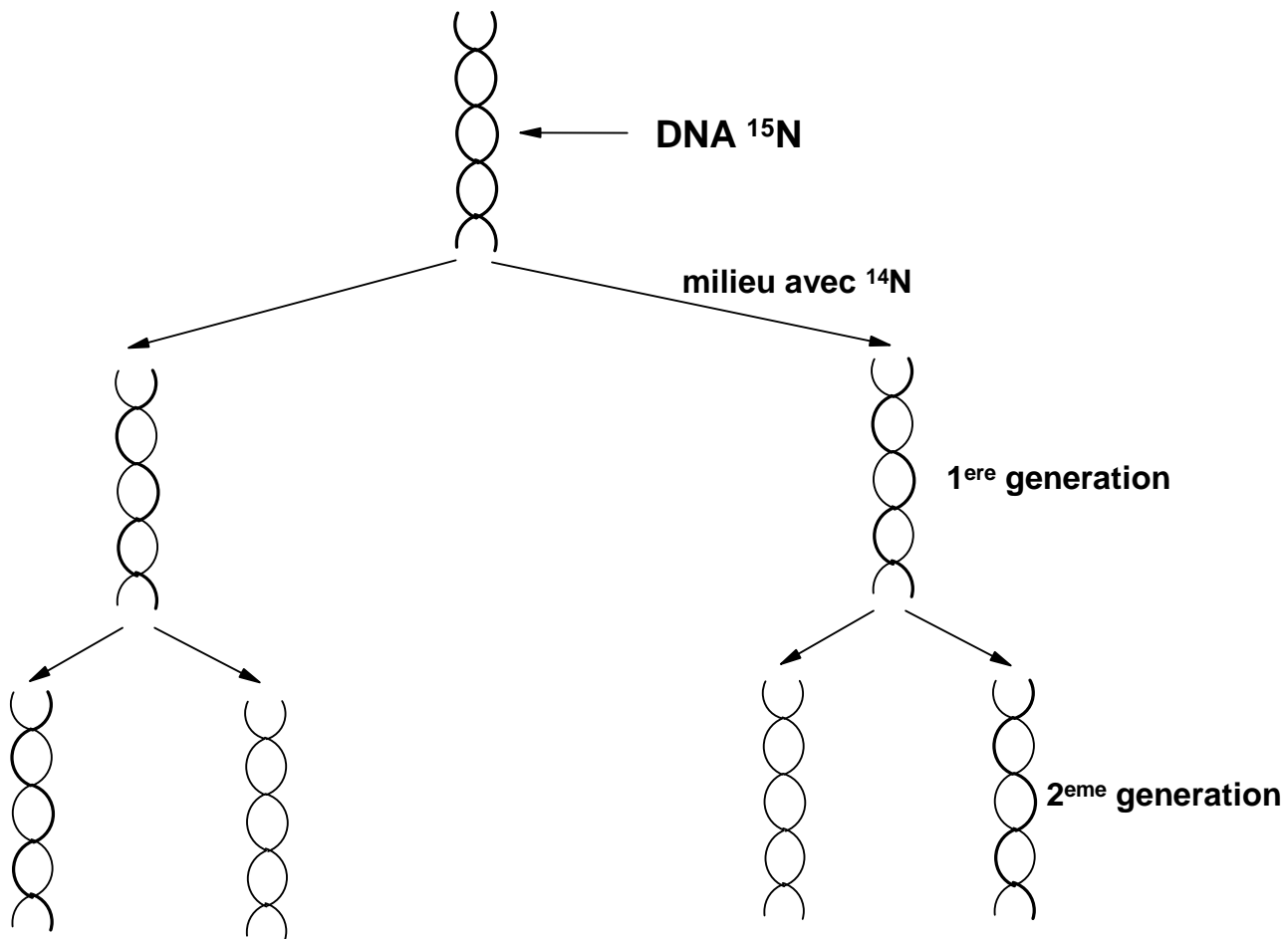
RÉPLICATION - SYNTHÈSE DE L'ADN

- **Réplication:** la **synthèse de l'ADN**: processus dont la molécule de l'ADN est la matrice copiée exactement, phénomène essentiel pour transmettre l'information génétique de la cellule mère aux cellules filles.
- **Transcription:** la **synthèse des ARN** utilisant le ADN comme matrice.
- **Traduction:** la **synthèse protéique** sur une matrice formée de ARN messenger.



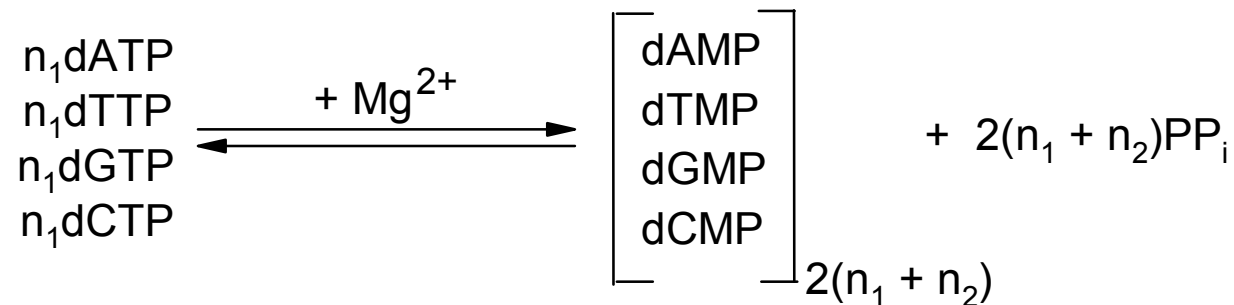
Synthèse de l'ADN (Réplication)

- Pendant la division cellulaire, les deux chaînes hélicoïdales se séparent par la **rupture des liaisons d'hydrogènes** entre les résidus des bases azotées.
- Chaque chaîne va servir de matrice pour reconstituer la chaîne complémentaire manquante, à partir des matériaux trouvés dans le milieu.
- On aura donc deux molécules de ADN formée, chacune d'une chaîne parentale et d'une chaîne synthétisée.
- Ainsi se trouvent expliquées les propriétés du ADN :
 - **La constance de composition** au cours des divisions cellulaires. Chaque chaîne permettant la synthèse de la chaîne complémentaire qui est parfaitement déterminée, les deux molécules formées à partir de la molécule mère **sont identiques**.
 - **La réplication**. L'ADN se multiplie avec la cellule et se reconstitue, de sorte que la quantité de ADN reste constante dans les cellules résultantes de divisions cellulaires. Le processus dans lequel une des chaînes servent de matrices pour la synthèse de la deuxième chaîne est appelé **semiconservatif** car après chaque division cellulaire **la moitié de l'ADN est conservée intacte**.

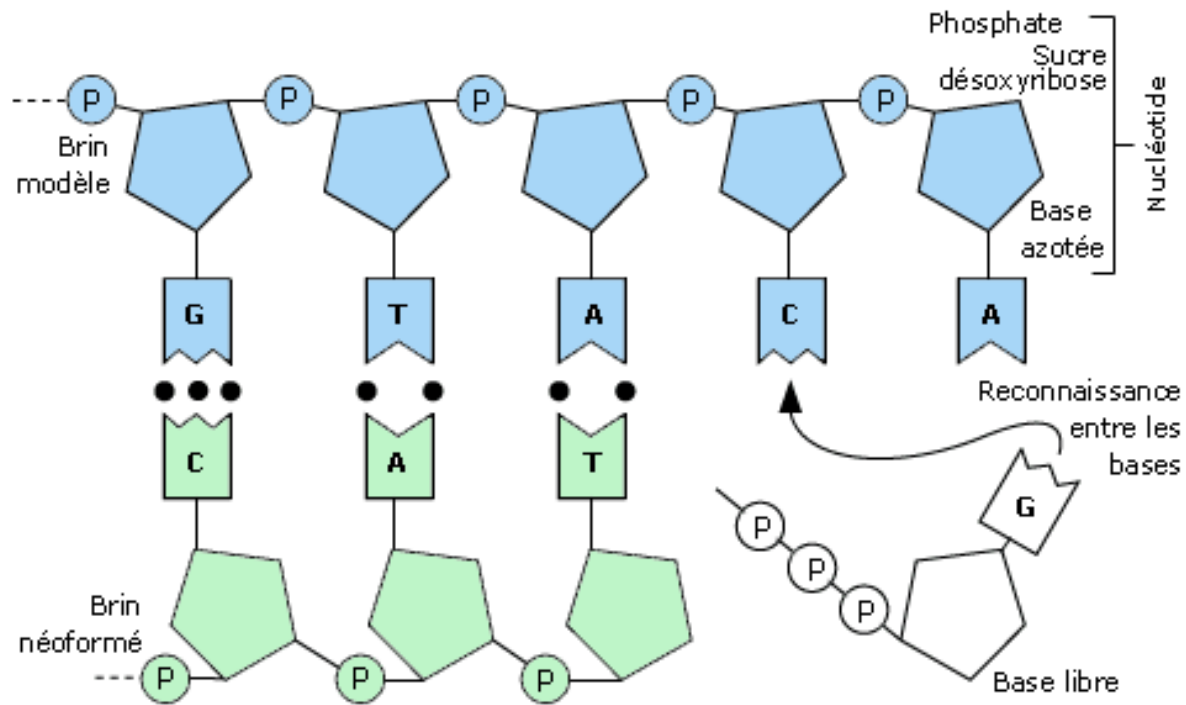


Mécanisme de la réplication

- La réplication nécessite une enzyme, **l'ADN polymérase**, qui catalyse la synthèse d'une des chaînes d'ADN en utilisant l'autre chaîne comme matrice.
- Le substrat de l'enzyme est formé par un mélange des **quatre dNTP**. **L'omission d'un de ces dNTP suffit à empêcher toute la synthèse**. Ils se libèrent autant de molécules de pyrophosphate qu'ils se sont incorporés de molécules de substrat. L'ion **Mg²⁺** est indispensable à la synthèse.



- La structure de l'ADN synthétisé est la même que celle du ADN en présence duquel a été réalisée la synthèse, **indépendamment de l'origine de l'enzyme**.



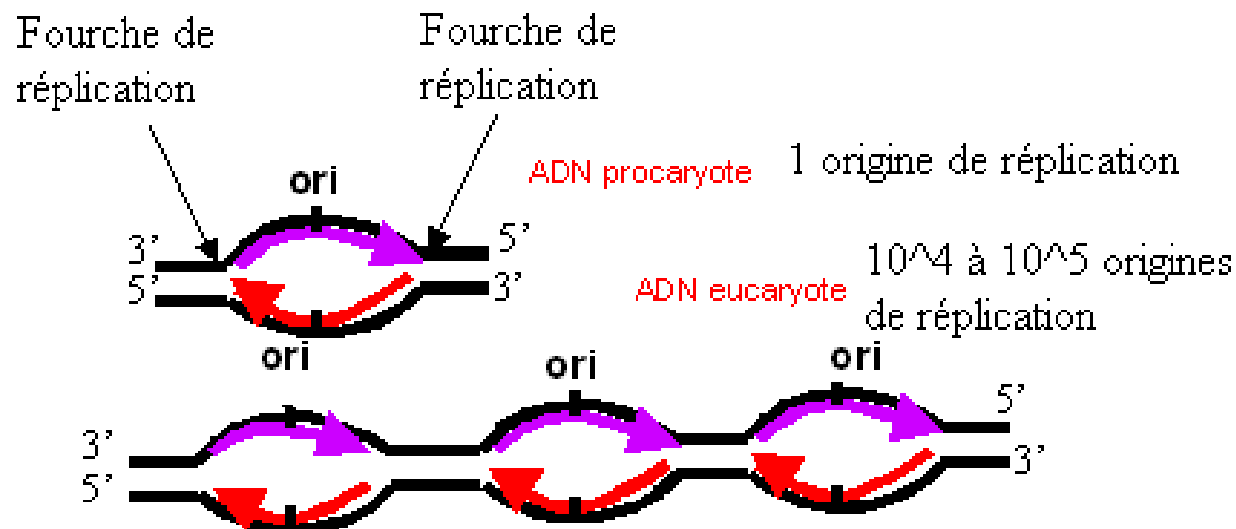
La complémentarité sera toujours **A ↔ T** et **C ↔ G**

Les étapes impliquées dans la réplication de l'ADN chez les eucaryotes sont :

- identification des origines de réplication
- désenroulement (dénaturation) de l'ADNdb (double brin) en matrice d'ADNsb (simple brin)
- formation de la fourche de réplication, synthèse d'amorces d'ARN, synthèse d'ADN
- formation de bulles de réplication et ligature des segments d'ADN nouvellement synthétisés
- reconstitution de la structure de la chromatine
- La réplication est réalisée dans les cellules humaines par un **complexe multienzymatique** nommé **réplicon** ou le ADN mère entre et les deux ADN filles sortent.

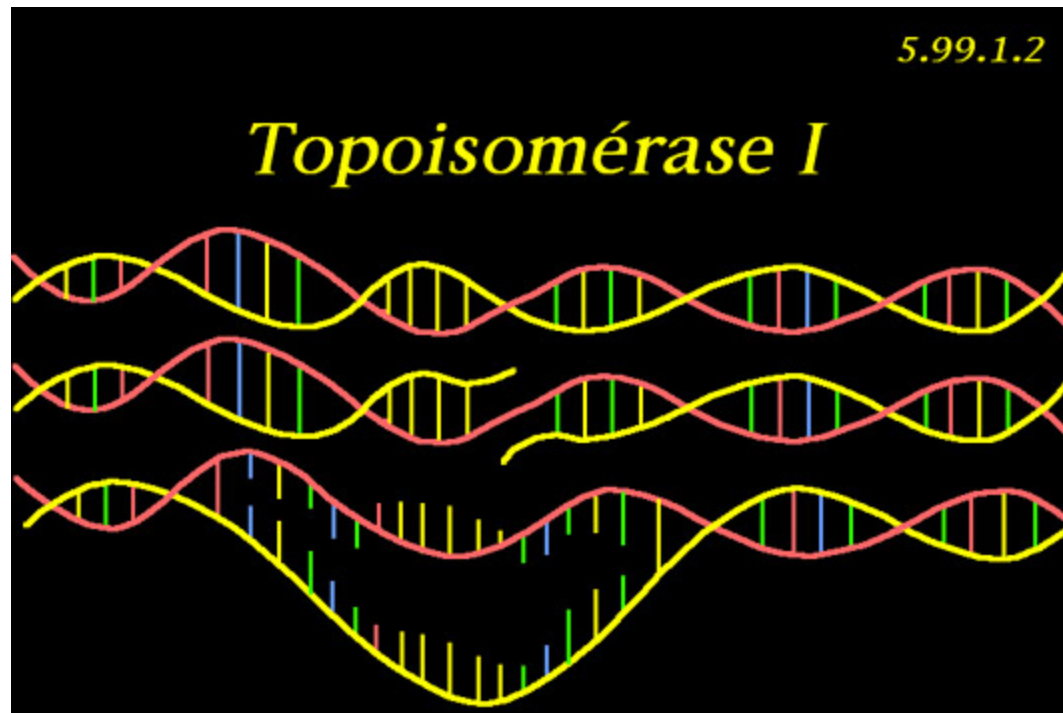
L'origine de réplication

- La réplication commence grâce à une (chez les procaryotes) ou plusieurs (chez les eucaryotes) **origines de réplication (ori)** qui sont des séquences de nucléotides spécifiques reconnues par des **protéines de réplication (RPA)**.
- Ces protéines (complexe **de reconnaissance de l'origine de réplication**) vont s'attacher aux origines de réplication et vont séparer les deux brins d'ADN, ce qui va former un **"œil" (fourche)** de réplication.



Désenroulement de l'ADN

- L'interaction de protéines avec **ori** définit **le site de démarrage** de la réplication et fournit une courte région d'ADNsb essentielle pour le démarrage de la synthèse du brin d'ADN naissant.
- Ce processus nécessite la formation d'un certain nombre **d'interactions protéines – protéines et protéines – ADN**.
- **L'ADN hélicase** permet de propager le désenroulement de l'ADN. Les **protéines** s'associant à l'ADNsb stabilisent ce complexe.
- **Les topoisomérases** éliminent les superstructures engendrées par le déplacement de la fourche de réplication (c'est – a – dire du point de séparation des les deux chaînes)

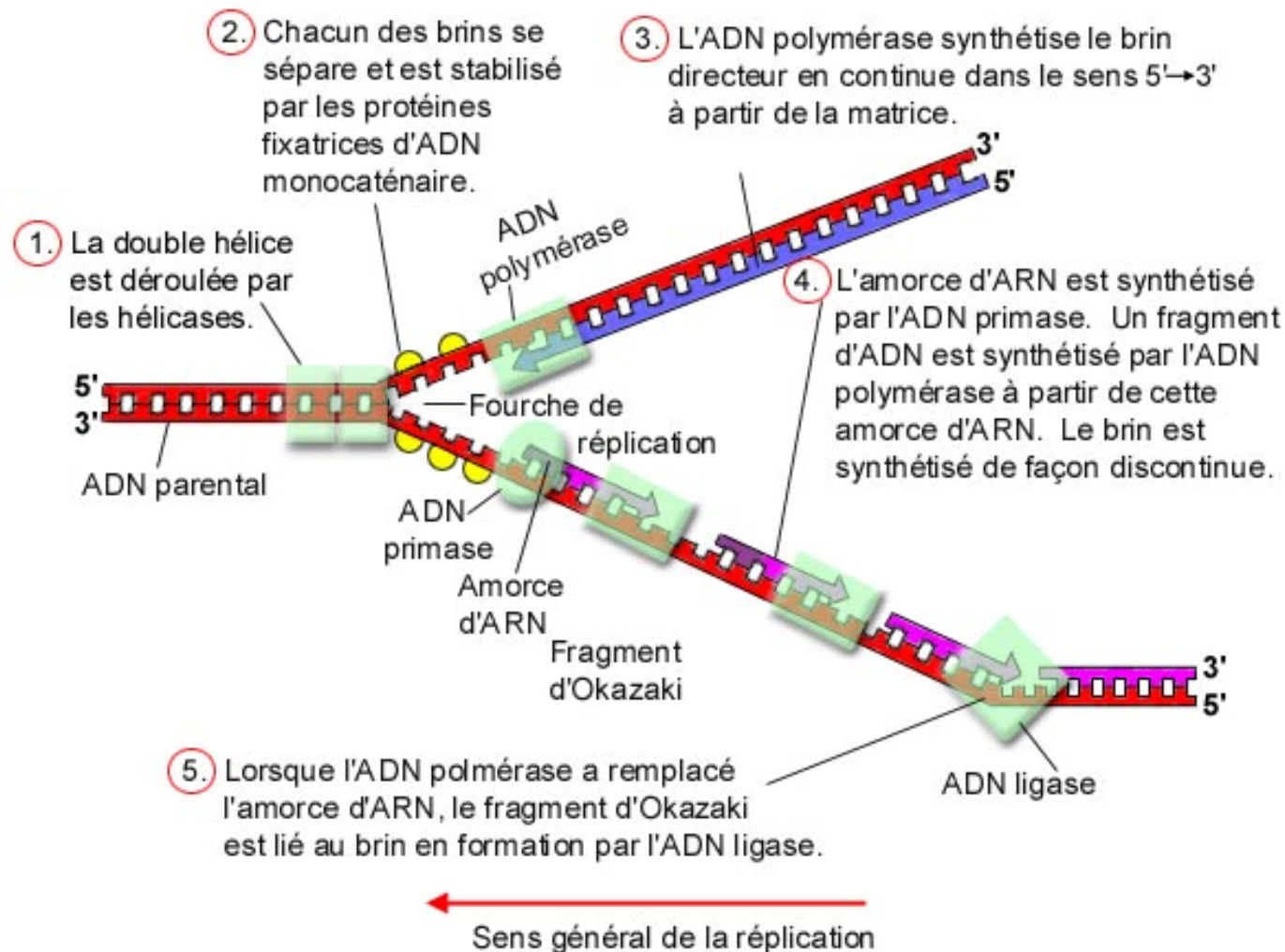


Formation de la fourche de réplication et synthèse d'ADN

- Une **fourche de réplication** se forme grâce à quatre réactions qui ont lieu dans l'ordre suivante :
 - **L'ADN hélicase** désenroule un court segment de la molécule d'ADN duplex parental
 - Une **primase (ARN synthétase ADN-dépendante)** démarre la synthèse d'une molécule **d'ARN primer** (40–80 ribonucléotides) qui est essentielle pour amorcer (initier) la synthèse d'ADN. Les ADN polymérases ne peuvent pas amorcer la synthèse d'ADN *de novo*.
 - Le complexe mobile hélicase - primase a été appelé **primosome**.
 - **L'ADN polymérase** commence la synthèse du brin fils naissant.

- Les protéines SSB s'associent aux ADNsb et empêchent la réassociation prématurée de l'ADNsb en ADNdb.
- **Les ADN polymérases synthétisent l'ADN seulement dans la direction 5'→3'.**
- Etant donné que les brins d'ADN sont antiparallèles, la polymérase fonctionne de manière asymétrique.
- Sur le **brin directeur** (ou direct, **leader**), le brin néosynthétisé s'allonge progressivement de 5' vers 3' au fur et à mesure du déplacement de la fourche de réplication.
- Sur le **brin retardé** (**rétrograde**, indirect), l'ADN est synthétisé sous forme de fragments courts, aussi appelés **fragments Okazaki**. Plusieurs fragments Okazaki (jusqu'à mille) doivent être synthétisés de manière séquentielle pour chaque fourche de réplication.
- Après que les nombreux fragments Okazaki aient été générés, le complexe de réplication commence à **enlever les ARN amorces** pour **remplir** les espaces libres après leur élimination avec du **désoxynucléotides** correctement appariés,
- Puis le complexe finit par souder les fragments d'ADN néosynthétisés à l'aide de l'enzymes appelées **ADN ligases**.

- Chez les eucaryotes le processus du déroulement et de la synthèse du ADN commence simultanément de 5000 points. Après la synthèse de l'ADN, **les hélicases** reconstituent la structure hélicoïdale.



- La molécule de ADN se déroule et les chaînes complémentaires s'éloignent. Chaque chaîne sert de matrice pour la synthèse des chaînes complémentaires. Lorsque le déroulement est terminé, on obtient deux molécules identiques de ADN : une qui reste dans la cellule mère et une qui part avec la cellule fille.
- Les deux **ADN polymérases (III et I)** ont aussi une **action réparatrice**. Elles reconnaissent les nucléotides non – complémentaires, les éliminent et les remplacent avec des nucléotides correctes.
- Le modèle semi – conservateur de la réplication avec l'action réparatrice des ADN polymérases font que le nombre des erreurs soit minimum – $1 : 10^9 - 10^{10}$ nucléotides.

Caractéristiques de la synthèse d'ADN chez les procaryotes

- Un seul centre d'initiation de réplication appelé Ori C avec structure standard et contenant 11 segments méthylés et 3 segments riches en adénine et thymine.
- La formation du réplicon commence avec la reconnaissance du centre d'initiation par des protéines spécifiques, hélicases et topoisomérases.
- Les chaînes déspiralées sont stabilisées par des protéines de stabilisation (SSB) ; après ça, le primosome synthétise les fragments d'amorces d'ARN primer.
- La synthèse du brin d'ADN est réalisée par l'ADN polymérase. La région terminale (T) lie une protéine de terminaison qui bloque la poursuite de la synthèse. La protéine de terminaison est en fait une contre-hélicase n'intervenant qu'en cas le replisome a parcouru aussi la séquence T (terminale).

Caractéristiques de réplication chez les eucaryotes

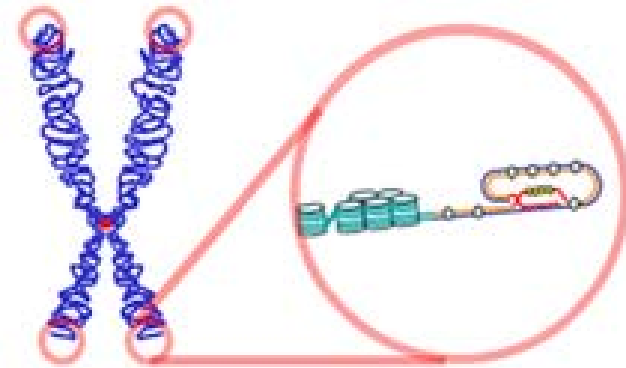
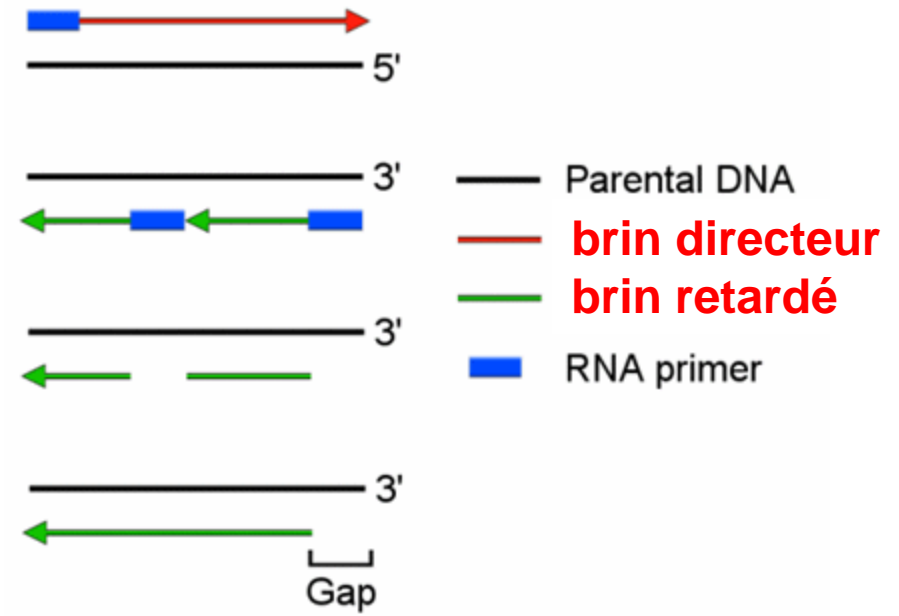
1. Une plus de complexité en raison de la **multitude de facteurs impliqués** et les différences générales entre les procaryotes et les eucaryotes:
 - Les procaryotes ayant une croissance rapide, la synthèse d'ADN se produit immédiatement après la division cellulaire.
 - Chez les eucaryotes, la synthèse de l'ADN et de histones est seulement **une phase du cycle cellulaire (phase S)**, la division aura lieu dans la phase M.
2. La **différence de taille** d'ADN.
3. La **différence dans la structure d'ADN**:
 - Chez les procaryotes il y a un seul chromosome double brin circulaire avec emplacement cytoplasmique.
 - Chez les eucaryotes, l'ADN a **plusieurs niveaux de condensation**, en commençant par les nucléosomes....chromatine et se terminant avec des chromosomes

- Pour cette raison, la **vitesse de synthèse** chez les eucaryotes est beaucoup plus faible (2500 nucléotides / sec. à 15 000 nucléotides / sec. chez les procaryotes).
- La **basse vitesse** est compensée chez les eucaryotes par les processus suivants:
 - Un **nombre plus grand de réplicons** (environ 100 / chromosome ; les procaryotes ont un seul réplicon).
 - Le **nombre** de molécules **d'ADN polymérases est beaucoup plus élevé** (20 000) chez les eucaryotes; seulement quelques dizaines chez les procaryotes.
 - Le **nombre de types d'ADN-polymérases**. Ainsi, tandis que les procaryotes ont un seul type d'ADN polymérase avec une structure dimère, chez les eucaryotes sont au moins quatre, ayant des activités spécialisées telles que:
 - ADN polymérase σ qui porte la **synthèse du brin leader**.
 - ADN polymérase ϵ qui est conçu pour **réparer les erreurs** dans la chaîne.
 - ADN polymérase α **synthétise le brin en retard**.
 - ADN polymérase γ qui est spécifique aux **mitochondries**

4. Le **centre d'origine** (complexe de reconnaissance de l'origine de réplication)
- Chez les procaryotes ce centre est fixe (ori C) ; chez les eucaryotes la position de ce centre **est variables**. En général, il contient de séquences riches en adénine et thymine, séquences à qui se fixe un complexe protéique appelé **complexe de reconnaissance de l'origine de réplication**.
 - La reconnaissance des centres d'initiation **doit être coordonnée pour tous les chromosomes**, de sorte que, dans la phase S du cycle cellulaire, toutes les régions du chromosome soient répliquées et aucun de régions ne pas être répliquée plusieurs fois.
 - À cet égard interviennent des **cyclines et des kinases cycline-dépendantes** (CDK) qui contrôlent le cycle cellulaire. Leur dégradation produit l'inhibition de la division cellulaire.
5. La **réplication des extrémités** des chromosomes (chez les eucaryotes).
- Les extrémités des chromosomes d'eucaryotes sont appelées **télomères**. Ce sont de régions de taille variable (20 pb chez les protozoaires à 150 kb chez les souris). Ils sont constitués de séquences répétitives ; chez les humains sont des séquences de 6 nucléotidiques - TTAGGG - répétées des milliers de fois.
 - Les télomères jouent deux rôles importants:
 - a) **protègent les chromosomes de l'attaque de nucléases**
 - b) **bloquent la fusion tête - queue des chromosomes**

- Les télomères montre une structure fermée en forme de piège.
- **La synthèse de la chaîne complémentaire est incomplète. A la suite, les nouvelles extrémités de chaîne synthétisées auront des têtes plus courtes.**
On estime que chaque télomère perte 100 pb (env. 16 répétitions TTAGGG) à chaque mitose. Ainsi, après 125 divisions mitotiques, les télomères disparaîtront complètement. En général, les cellules humaines se divisent environ 100 fois, mais la fréquence de réplication diminue avec l'âge.
- La **télomérase** synthétise les télomères. L'enzyme contient un segment d'ARN matrice, complémentaire à la séquence télomérique TTAGGG. En outre, elle a une activité enzymatique de type **reverse transcriptase** (ADN polymérase ARN-dépendante).
- L'activité de la télomérase maintient une longueur constante de séquences télomériques des chromosomes, ayant une activité maximale chez les cellules embryonnaires.
- **Après la naissance, l'activité diminue, de sorte que l'activité de la télomérase de stade adulte est égale à zéro.**
- Pour cette raison, à **chaque réplication, tous les chromosomes de cellules somatiques deviennent plus courtes.**
- **Lorsque le raccourcissement atteint les séquences codantes des chromosomes se produit une instabilité chromosomique,** un processus caractéristique au vieillissement cellulaire.
- Ainsi, la longueur des télomères est considérée comme l'horloge biologique des cellules et de l'organisme.

- Dans les **cellules cancéreuses la télomérase est ré-activée** et donc les cellules tumorales peuvent se diviser indéfiniment, sans perdre de leurs chromosomes, telles que les cellules cancéreuses peuvent être considérées comme immortelles.
- Pour cette raison, la télomérase est devenu l'une des cibles de la thérapie anti-cancer.



La synthèse d'ADN sur la matrice d'ARN

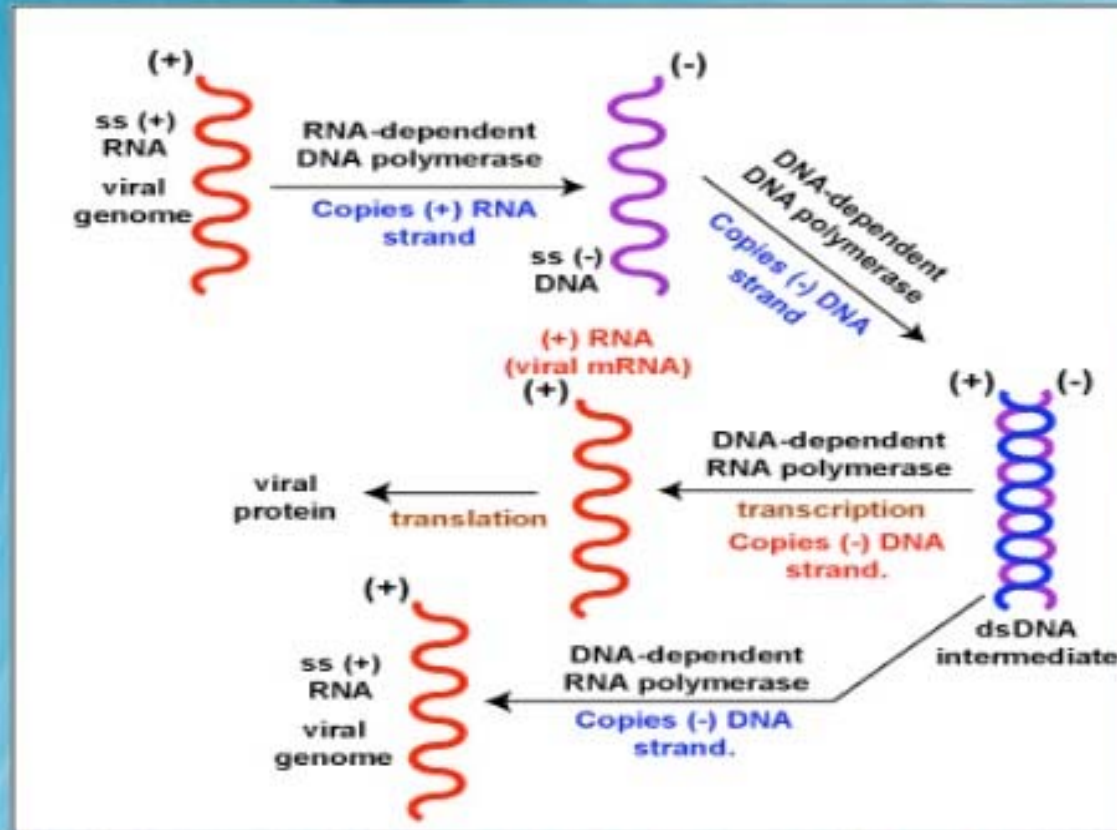
- Les virus (oncogènes), ne **contenant que ARN (rétrovirus)**, contiennent l'enzyme **transcriptase reverse (ADN polymérase ARN-dépendante)**. Ces virus insèrent leur ARN dans la cellule hôte où l'enzyme virale transcriptase reverse, en utilisant leurs ARN comme matrice, fera la synthèse d'un brin **d'ADN complémentaire**.
- **L'ADN complémentaire s'autoréplique** et, en forme de double brin, entre dans le noyau où **s'insère dans l'ADN de la cellule hôte**. Cela initie la transcription suivie de la traduction, des procédés pour obtenir de l'ARN et de protéines virales et qui par assemblage vont produire de multiples copies virales.
- **L'amorce (primer) utilisée** par la transcriptase reverse virale est un **ARN de transfert** pris par la particule virale des infections antérieures.
- A la différence de l'ADN polymérase, la transcriptase reverse **ne possède pas une activité réparatrice**. Ainsi, le processus de synthèse produira beaucoup d'erreurs (erreurs de réplication) qui vont changer le génome viral. **Cela explique l'énorme nombre de souches virales, leurs modification rapide** pendant les processus de multiplication. En cas du virus HIV, l'existence d'un grand nombre de mutations, produites rapidement, explique **la faible efficacité des traitements** jusqu'à présent.
- Un autre exemple d'activité **transcriptase reverse** est l'action de la **télomérase**.
- La découverte de la transcriptase reverse a développé des technologies pour la production des **gènes synthétiques** à partir de l'ARNm cytoplasmique des gènes originelles.

Replication of a Single-Stranded Plus RNA Viral Genome and Production of Viral mRNA by way of Reverse Transcriptase

The diagram illustrates the replication cycle of a single-stranded plus RNA virus using reverse transcriptase. The cycle begins with a single-stranded plus RNA viral genome. This is converted into a double-stranded DNA intermediate by RNA-dependent DNA polymerase. The double-stranded intermediate is then used by DNA-dependent RNA polymerase to produce copies of the single-stranded plus RNA viral genome and single-stranded minus DNA strands. The single-stranded minus DNA strands are used by DNA-dependent RNA polymerase to produce copies of the single-stranded plus RNA viral genome. The single-stranded plus RNA viral genome is then translated into viral protein.

```

graph TD
    A["ss (+) RNA viral genome"] -- "RNA-dependent DNA polymerase  
Copies (+) RNA strand" --> B["ss (-) DNA"]
    B -- "DNA-dependent DNA polymerase  
Copies (-) DNA strand" --> C["dsDNA intermediate (+) (-)"]
    C -- "DNA-dependent RNA polymerase  
transcription  
Copies (-) DNA strand." --> D["(+ ) RNA (viral mRNA) (+)"]
    C -- "DNA-dependent RNA polymerase  
Copies (-) DNA strand." --> E["ss (+) RNA viral genome"]
    D -- "translation" --> F["viral protein"]
    
```



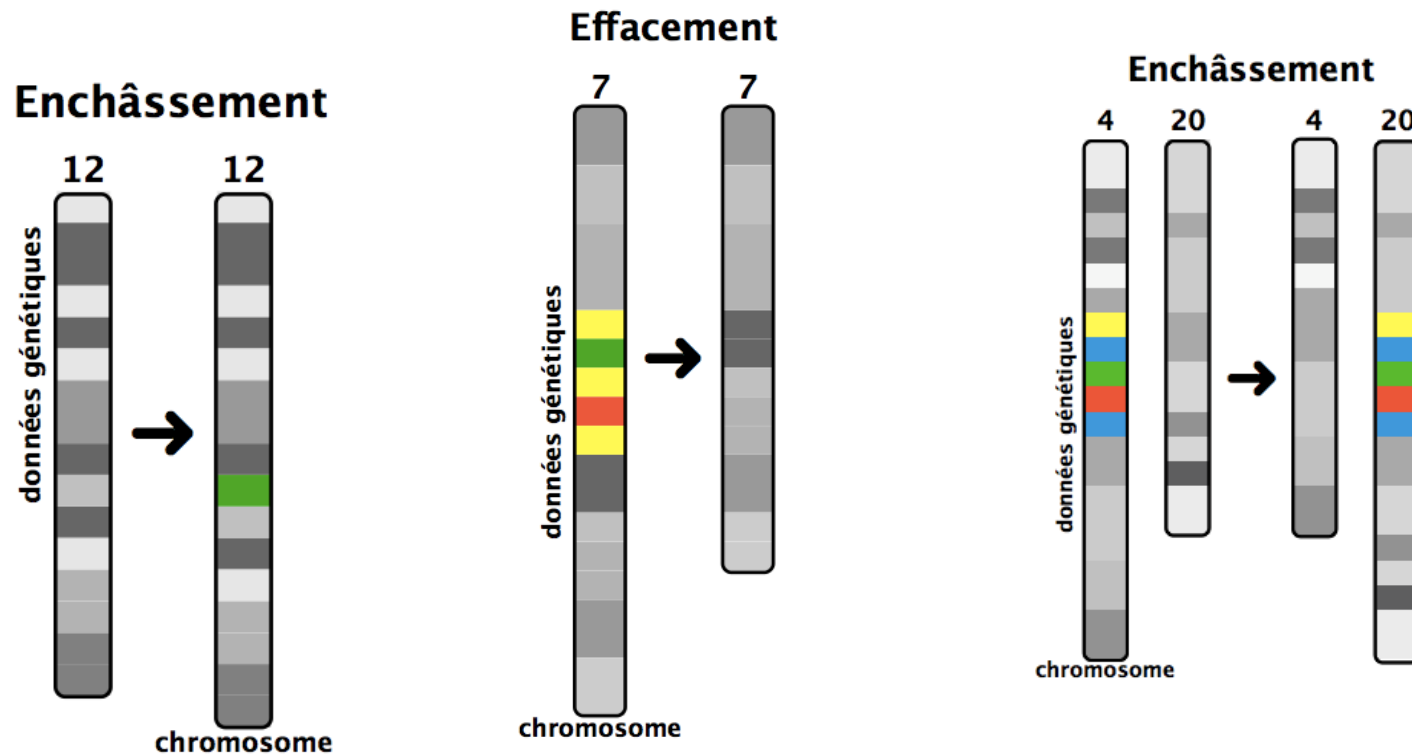
Mutations - Les changements dans la réplication de l'ADN

- Lors de la synthèse de nouvelles chaînes de nucléotides se produit une nucleotide mal insérée tous les 10^4 à 10^5 nucléotides.
- Pour éviter cela, les **ADN-polymérases** utilisées dans la réplication de l'ADN exercent une **action réparatrice**. Ainsi, elles détectent les nucléotides tort incorporés et les remplacent par les bons nucléotides.
- Cette activité se poursuit **dans la période entre les réplications**, l'ADN polymérases étant des gardiens de l'intégrité de l'ADN lors de la réplication et de la fonctionnalité de l'ADN. Par conséquent, on obtient une fidélité spéciale du processus de réplication de 1- nucléotides mauvais à 10^9 nucléotidique correcte, c'est-à-dire 3 - 5 erreurs par l'ADN d'une cellule.
- Si nous commençons à partir du nombre total de cellules dans le corps humain, 10^{13} , le nombre d'erreurs générés par la réplication devient énorme.
- En outre, il s'ajoute des **modifications de l'ADN induites par des facteurs internes ou externes**, ce qui soulève considérablement le risque de changements pathologiques de l'ADN cellulaire.
- Dans le cas des eucaryotes, en plus des **polymérases qui synthétisent et réparent en même temps** le brin directeur respectivement le brin en retard, il y a des **polymérases spécialisés pour les réparations**.

Mutations d'ADN

- Les mutations sont des **changements du matériel génétique**. Elles peuvent affecter **les cellules somatiques et les cellules germinales (héréditaires)**
- Les mutations non réparées peuvent conduire à diverses **maladies, le cancer, la sénescence, l'apoptose**. Par conséquent, les procédés de réparation sont continus et indispensables.
- Les organismes vivants ont des **mécanismes de réparation**, de modifications de la structure de l'ADN. Certaines lésions sont directement réparées, mais la plupart sont supprimées.
- La clé pour le processus de réparation est **la nature de l'ADN double brin** qui contient l'information génétique en double exemplaire, ce qui permet la restauration de séquences modifiées en utilisant de modèle les informations à partir de l'autre chaîne.
- Les mutations peuvent être des **changements spontanés ou indirects dans les bases azotées** :
 - On perde, ajoute ou modifie certaines bases azotées
 - Isomérisation de bases azotées (forme céto-énol, amino-imino)
 - Dimérisation de la thymine sous l'action du rayonnement UV
 - **Désamination des bases** (cytosine → uracile, adénine → hypoxanthine, la guanine → xanthine).
- Les mutations peuvent également être provoquées par un **dysfonctionnement du processus de réparation de l'ADN ou de la réplication**.

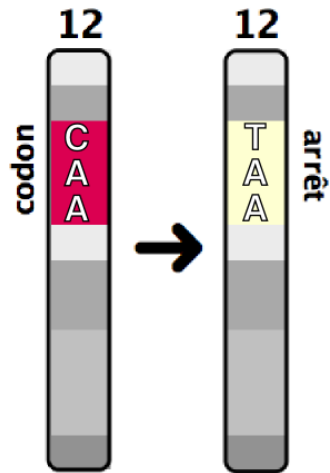
- En termes d'amplitude, les mutations sont divisés en deux catégories:
 - a) **Macrolésions d'ADN**
 - **Amputations** (effacement - des délétions de matériel)
 - **Duplication et amplification** (enchâssement) du matériel génétique de différentes tailles
 - **Fusions des gènes**
 - **Inversions**, constitués d'une inversion du segment
 - **Insertions** des séquences d'ADN de longueur variable.
- Du point de vue thérapeutique, **les macrolésions d'ADN sont difficiles à réparer, dans la plupart des cas survenant la mort cellulaire.**



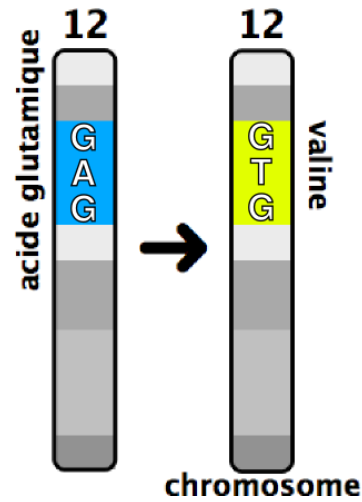
b) **Microlésions d'ADN (mutations ponctuelles)**

- se produisent par un seul **changement de paires de bases**. Selon le type de changement, nous avons:
 - **Transitionnelles** (une nucléotide purique est remplacée tout d'une nucléotide purique ou une nucléotide pyrimidique est remplacé tout d'une nucléotide pyrimidique)
 - **Transversales** ('une nucléotide purique est remplacé par un nucléotide pyrimidique ou vice versa)
 - **Mutations non-sens** se produisant par le remplacement d'une paire de bases avec une autre, à la suite se produise **un codon d'arrêt** qui va bloquer la synthèse de la protéine codée.
 - **Mutations faux-sens** : une paire de nucléotides est remplacé par un autre ; à la suite un autre codon apparaisse, qui va générer un autre acide aminé dans la protéine codée par le gène, en modifiant la structure primaire et la fonction biologique de la protéine.
 - **Des mutations dans le cadre de lecture** dans lequel on ajoute ou supprime une paire de nucléotides. \Rightarrow des changements complets de la séquence nucléotidique organisée dans les codons, annulant la synthèse d'ARN transcriptionné du gène.
 - **Mutations silencieuses** se produisent lorsque la substitution d'un nucléotide par un autre n'affecte pas la séquence d'acides aminés de la protéine codée.
- Généralement, **les effets des micromutations sont inférieurs à ceux des macrolésions**.
- Les mutations les plus courantes sont celles de substitution d'une paire de bases avec une autre.

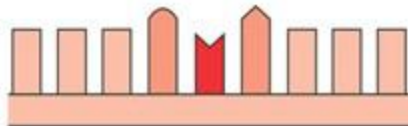
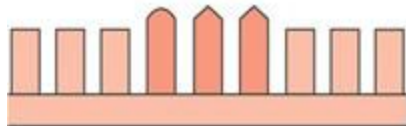
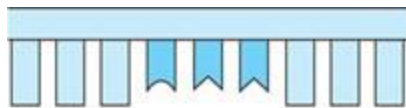
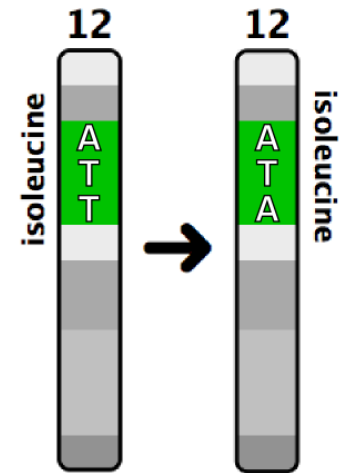
Non-sens



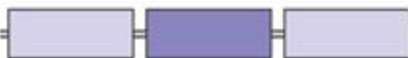
Faux-sens



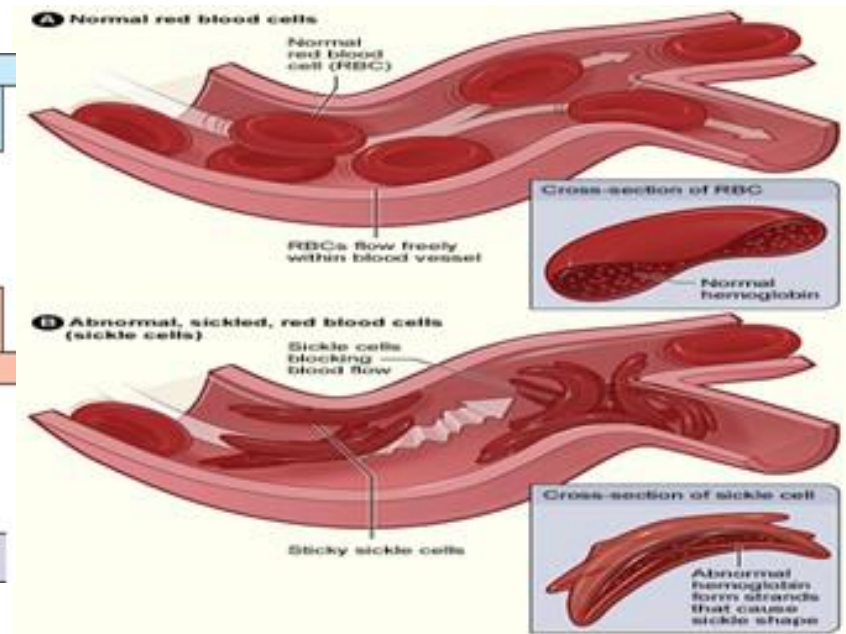
Même-sens Silencieux



Glu



Val



Causes de mutations

- Les causes internes:
 - la tautomérisation spontanée des bases azotées ; les formes céto \leftrightarrow énoliques et amino \leftrightarrow imino. Bien que les formes amino et céto sont prédominantes, cependant, environ 10^4 bases adoptent transitoirement les autres formes tautomères, période de temps dans laquelle ces formes vont provoquer des appariements faux des bases, telles que **imino-adénine** avec **cytosine** au lieu d'une thymine.
 - Cela va générer, pendant la réplication, une ADN fille avec une paire de base fausse C-G au lieu de T-A.
- Les causes externes sont dues aux rayonnements UV, rayonnement de haute énergie (X, alpha, beta, gamma) et agents chimiques.

Agents chimiques:

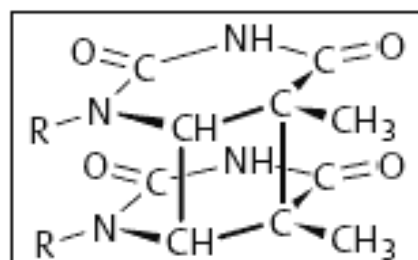
- **HNO₂** modifie par **désamination les bases azotées** contenant un groupe amino :
 - □ adénine → hypoxanthine,
 - □ guanine → xanthine,
 - □ cytosine → uracile.
- ⇒ Hypoxanthine s'apparie avec la cytosine, l'uracile avec adénine, produisant ainsi **mutations de type transitionnel A – T ↔ C - G**.
- **Les composés aromatiques polycycliques**, par exemple les **acridines**, peuvent être **insérés entre les deux brins** de l'hélice d'ADN, causant des **mutations dans la trame de lecture**, par l'insertion ou la suppression d'une ou plusieurs paires de bases.
- **Les agents alkylantes** (ex. nitrosamines) modifient chimiquement les bases azotées et **produisent des faux appariements**.

Les rayonnements ultraviolets

- C'est l'agent endommageant d'ADN le plus courant.
- Ils produisent **une liaison covalente de deux bases pyrimidiques adjacentes** de la chaîne d'ADN, formant un dimère de pyrimidine. Ce dimère **bloque le processus de réplication ou de transcription**, des processus qui peuvent avoir lieu seulement après la réparation de la lésion.

Agenti mutageni

1.



2. Dimeri de timina

Deletii sau
insertii
datorate
recombinarii
defectuoase



Radiatii
UV

Radiatii ionice



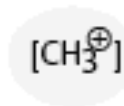
α, β, γ
X

HNO_2

Dezaminare

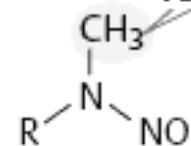
Radicali
liberi

Compusi
alchilati



Epoxid

Grup
metil
reactiv



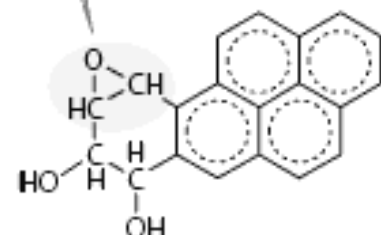
3. Metilnitrozamina

Formarea
dimerilor
de
pirimidina

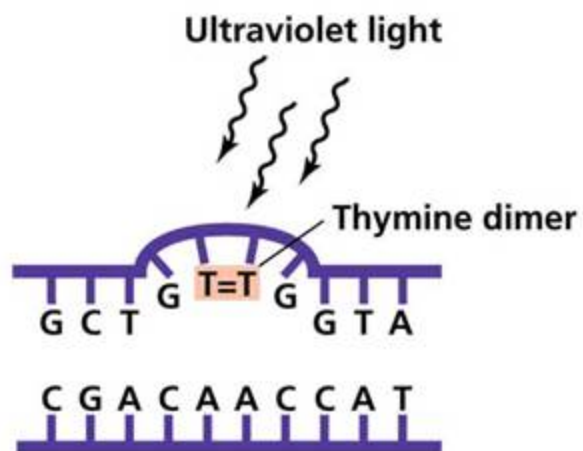
Schimb
de baze:
C — U
A — I

Pierdere
spontana
de baze

Modificarea
chimica a
bazelor



4. Derivat mutagen
din benzopiren

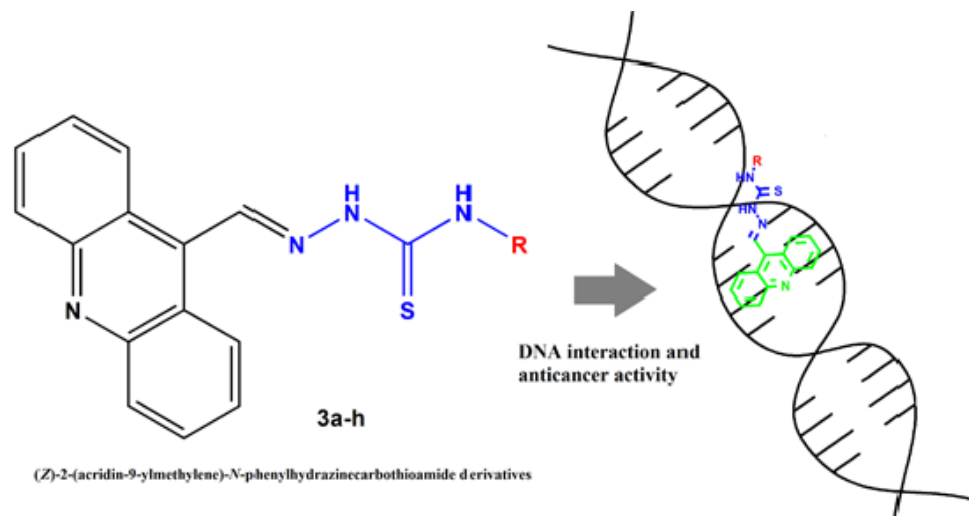


Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Before:

Incoming
UV photon

After:



Réparation des mutations de l'ADN

- Elles peuvent être :
 - Les réparations directes - les changements sont rejetés sans interrompre (couper) la chaîne
 - Réparation des bases azotées par excision
 - Réparation par l'excision de nucléotides modifiés
 - Réparation au cours des processus de réplication ou de transcription.
 - Le couplage de la réparation à la transcription est une forme de réparation par excision déclenchée par le complexe d'ARN polymérase bloquée qui dirige la réparation vers le brin matrice de la région transcrite, de sorte que ces lésions sont réparées plus rapidement.

Les agents chimiothérapeutiques impliqués dans la réplication

- Le traitement est basé sur l'intervention dans les processus de réplication.

Antibiotiques

- Dans le cas d'infections bactériennes, le blocage de la multiplication de l'agent bactérien cellulaire peut être obtenue par l'utilisation de médicaments qui inhibent l'activité des composants du processus de réplication.

Fluoroquinolones (norfloxacin, lomefloxacin, fléroxacin, la ciprofloxacine, l'énoxacin, la trovafloxacin, novobiocine, acide nalidixique) sont des **inhibiteurs des topoisomérases** ; elles se lient au complexe enzyme-ADN.

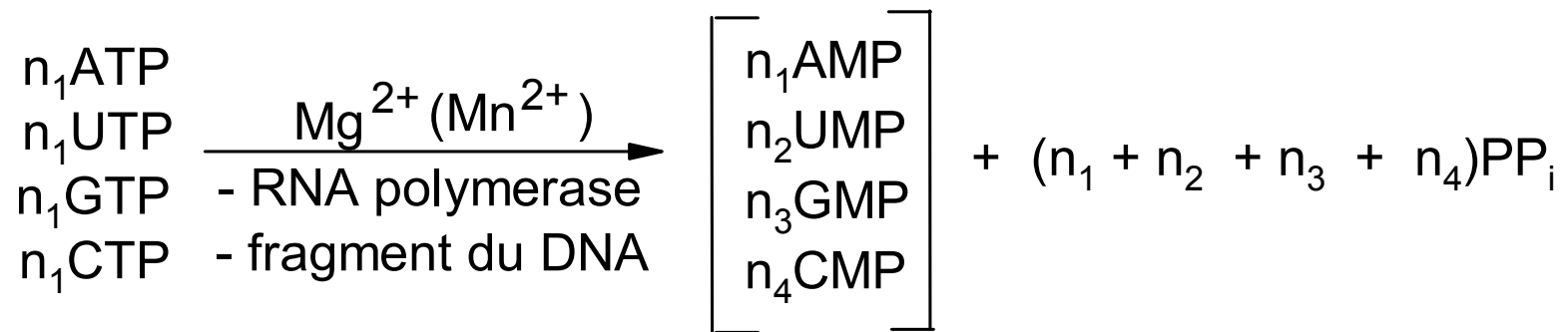
Le métronidazole produit de **ruptures au niveau des brins d'ADN** microbienne.

Les agents anticancéreux

- **Inhibent la réplication de l'ADN dans les cellules** cancéreuses, bloquant ainsi processus de développement de la tumeur.
- Selon le composant affecté dans la réplication, on peut avoir plusieurs catégories:
 - **Agents alkylants** tels que le **cyclophosphamide** (Cytosan, Neosar), **le chlorambucil** (Leukeran), **procarbazine** (Matulane, Natulan). La plupart de ces substances sont dérivées du gaz moutarde, utilisé dans la première guerre mondiale.
 - **Les agents qui bloquent topoisomérases tel que:**
 - **Les anthracyclines** (doxorubicine, la daunorubicine, l'adriamycine) inhibent la topoisomérase II ; sont utilisés dans le traitement des néoplasmes hématologiques
 - **Les camptotecines** (Irinotecan, topotecan) inhibent la topoisomérase I
 - **Les etoposides** (Vepesid) inhibent la topoisomérase I
 - **Les agents qui bloquent la formation du fuseau mitotique** (**vincristine, la vinblastine**, etc.).
 - **Les agents qui hyperstabilisent les microtubules**, ce qui bloque la division cellulaire tel que le **paclitaxel** (Taxol) ou le **docétaxel** (Taxotere).

La synthèse de l'ARN (Transcription)

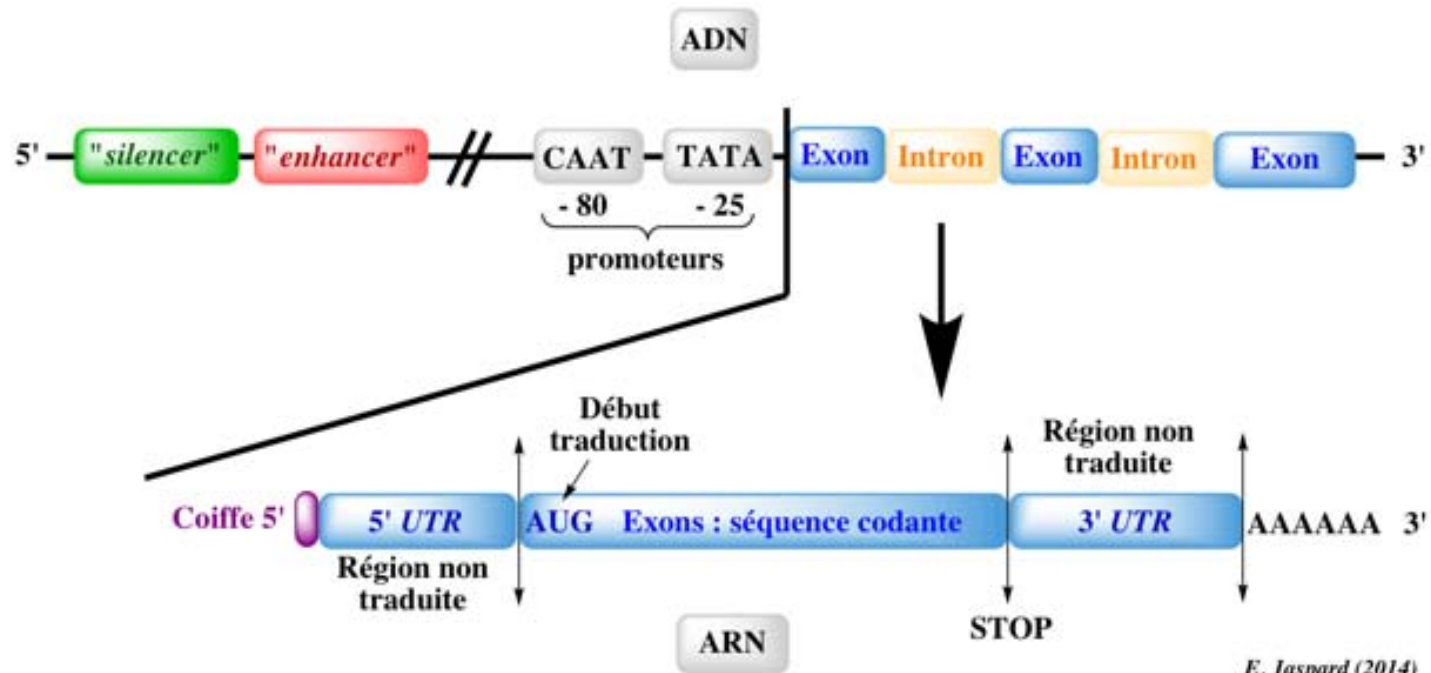
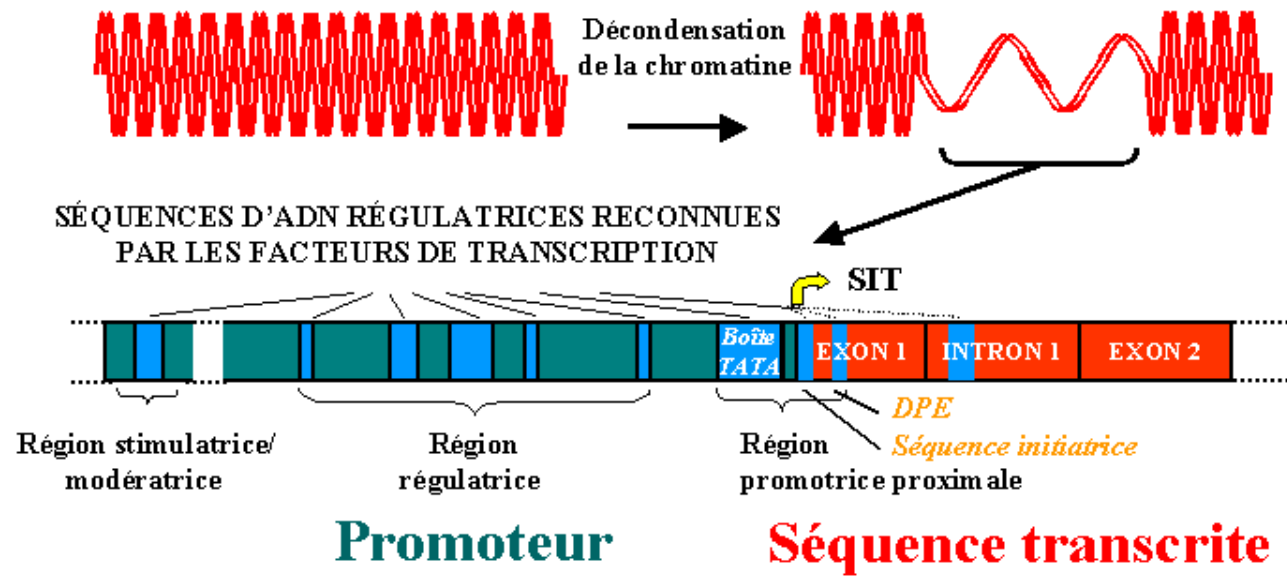
- La synthèse du ARN est réalisée par les **ARN polymérases** (ADN dépendante) qui copient une séquence spécifique de l'ADN (une gène).



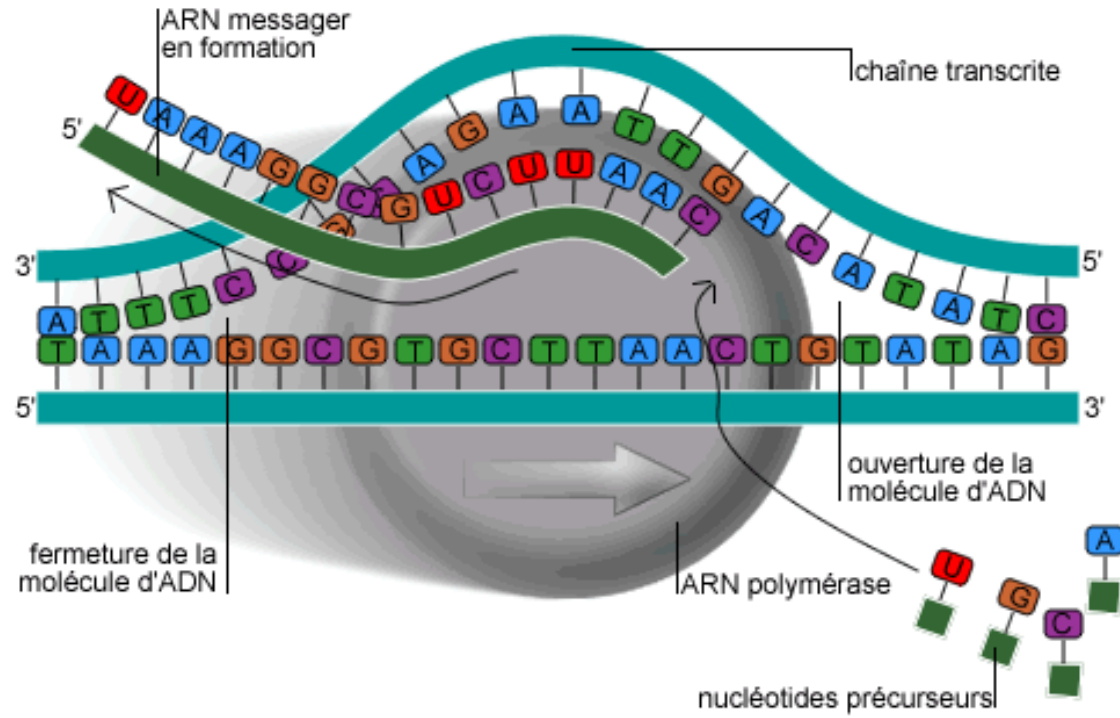
I. La transcription est réalisée par l'action de ARN polymérase.

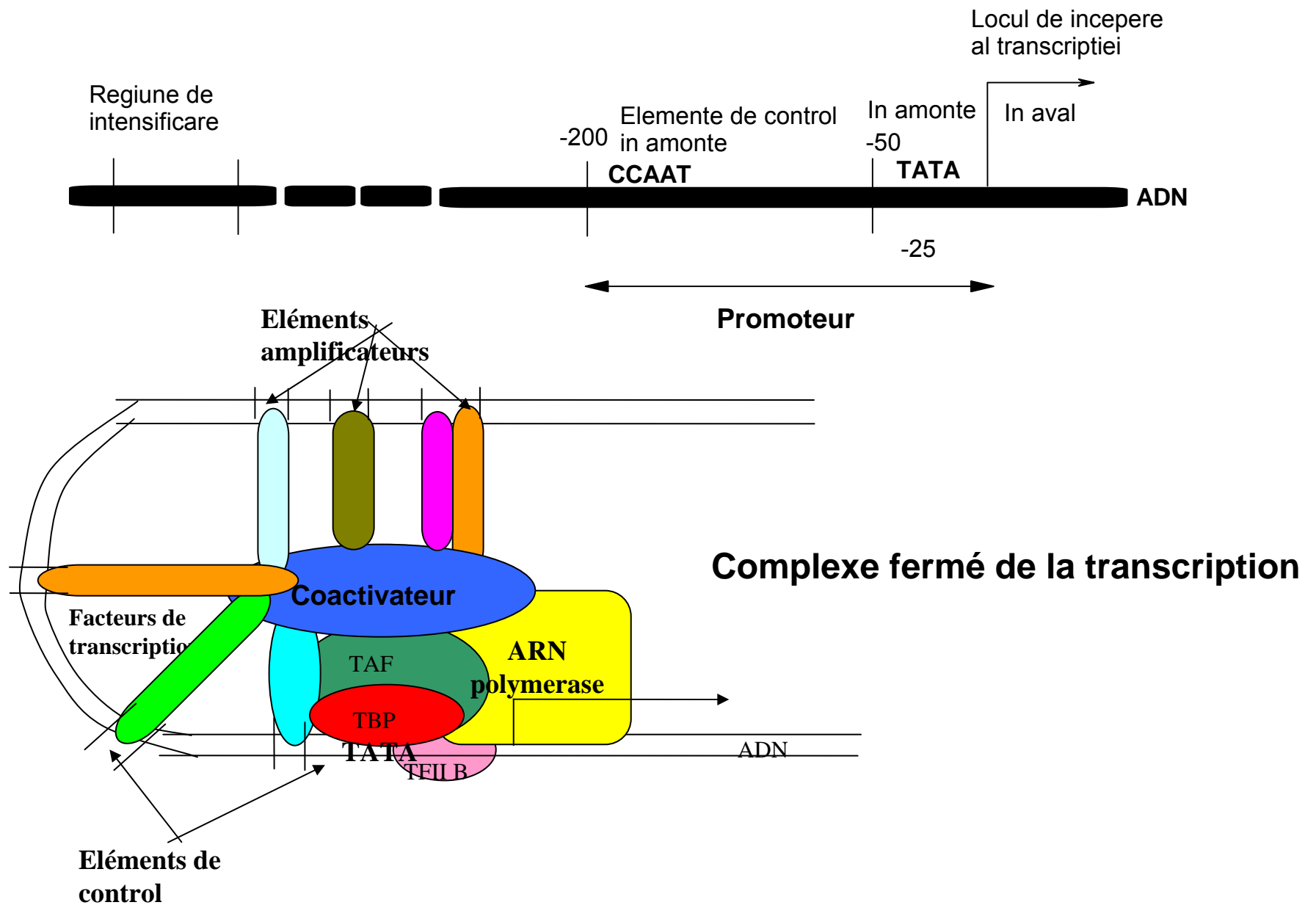
- Les ARN polymérases se fixent sur le ADN à une certaine distance en amont du site d'initiation de la synthèse du ARN, sur une séquence de ADN appelée **promoteur**. Chez le eucaryotes existent, à environ 30 nucléotides en amont du site d'initiation de la synthèse du ARN, une séquence TATA (la boîte TATA) qui est le site de fixation de la ARN polymérase II.
- .

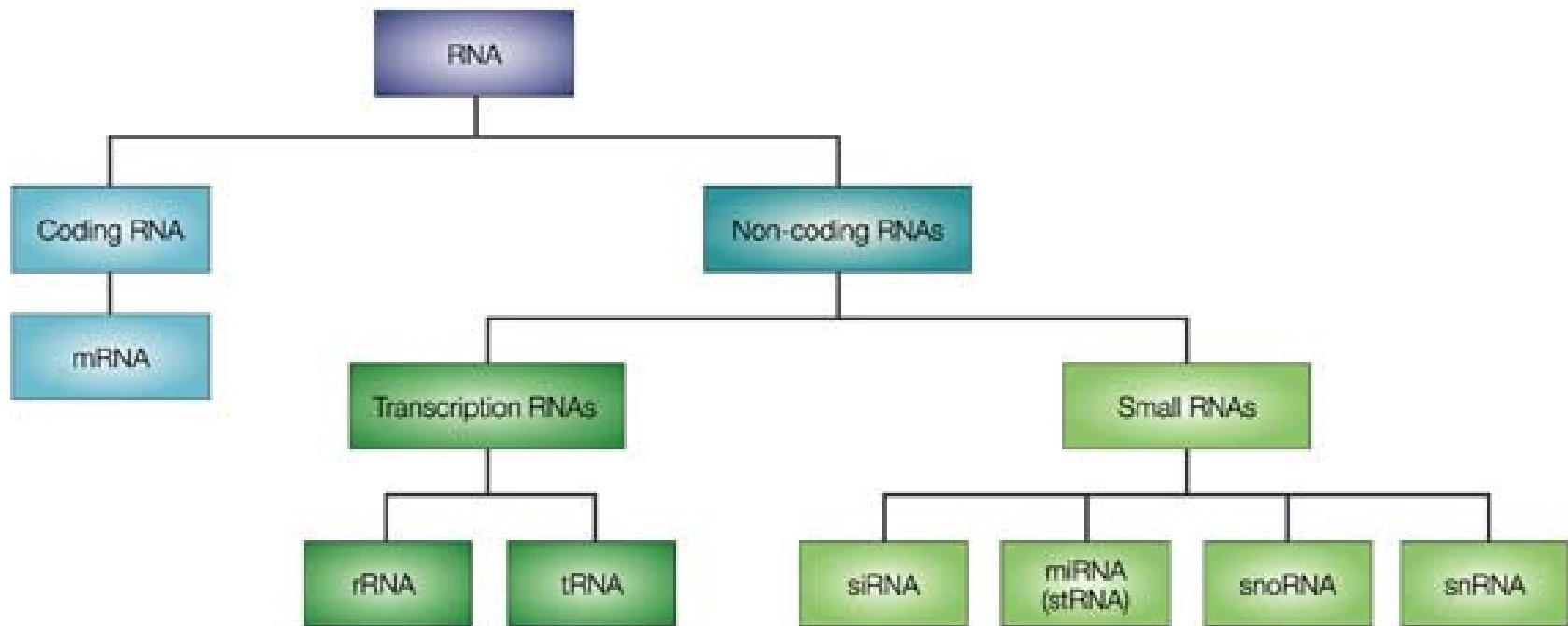
Euchromatine



- La ARN polymérase se fixe sur le promoteur, glisse le long du ADN, provoque l'ouverture du ADN et commence la transcription.
- La synthèse du ARN se fait dans la direction 5'-3'. Dans chaque gène une seule des deux chaînes de ADN est transcrite, mais ce n'est pas nécessairement la même pour tous les gènes portés par un même ADN.
- On utilise UTP, ATP, CTP et GTP
- La synthèse du ARN est précédée par le déroulement de la double hélice, mais celle-ci se reforme après le passage de la ARN polymérase.
- Les ARN polymérase des eucaryotes sont trois :
 - **polymérase I ou A** : nucléaire, elle est responsable de la biosynthèse des ARN ribosomiaux 28S, 18S et 5,8S.
 - **polymérase II ou B** : chromatinienne, elle est responsable de la synthèse des ARN messagers.
 - **polymérase III ou C** : chromatinienne, elle est responsable de la biosynthèse des petits ARNr, 5S et 4 S (+ARN) et des petits ARN nucléaires.





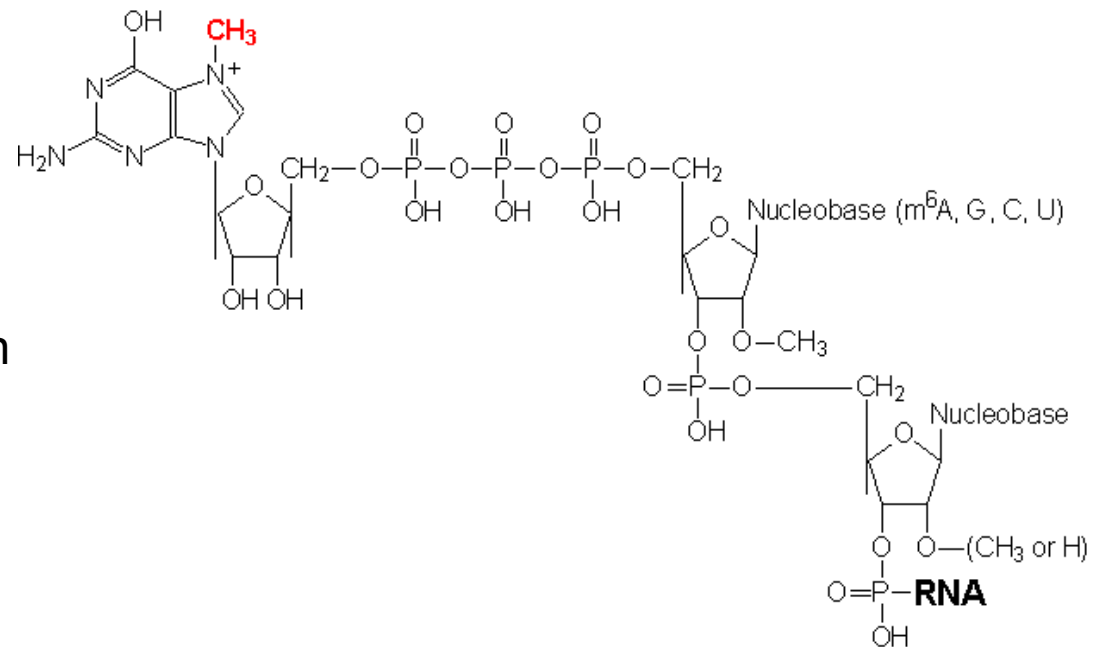


II. La maturation (les modifications posttranscriptionnelles).

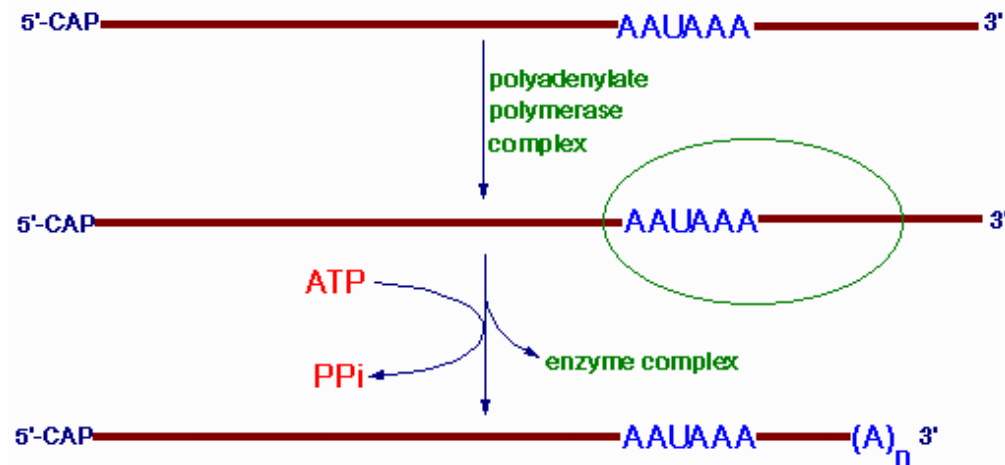
- Chez les procaryotes les molécules d'ARN nouvellement synthétisées passent directement dans le cytoplasme où les informations transférées par l'intermédiaire de l'ARNm seront entièrement utilisées pour la synthèse des protéines.
- Chez les eucaryotes, les produits primaires de la transcription vont subir des modifications profondes qui varient avec le type de ARN.

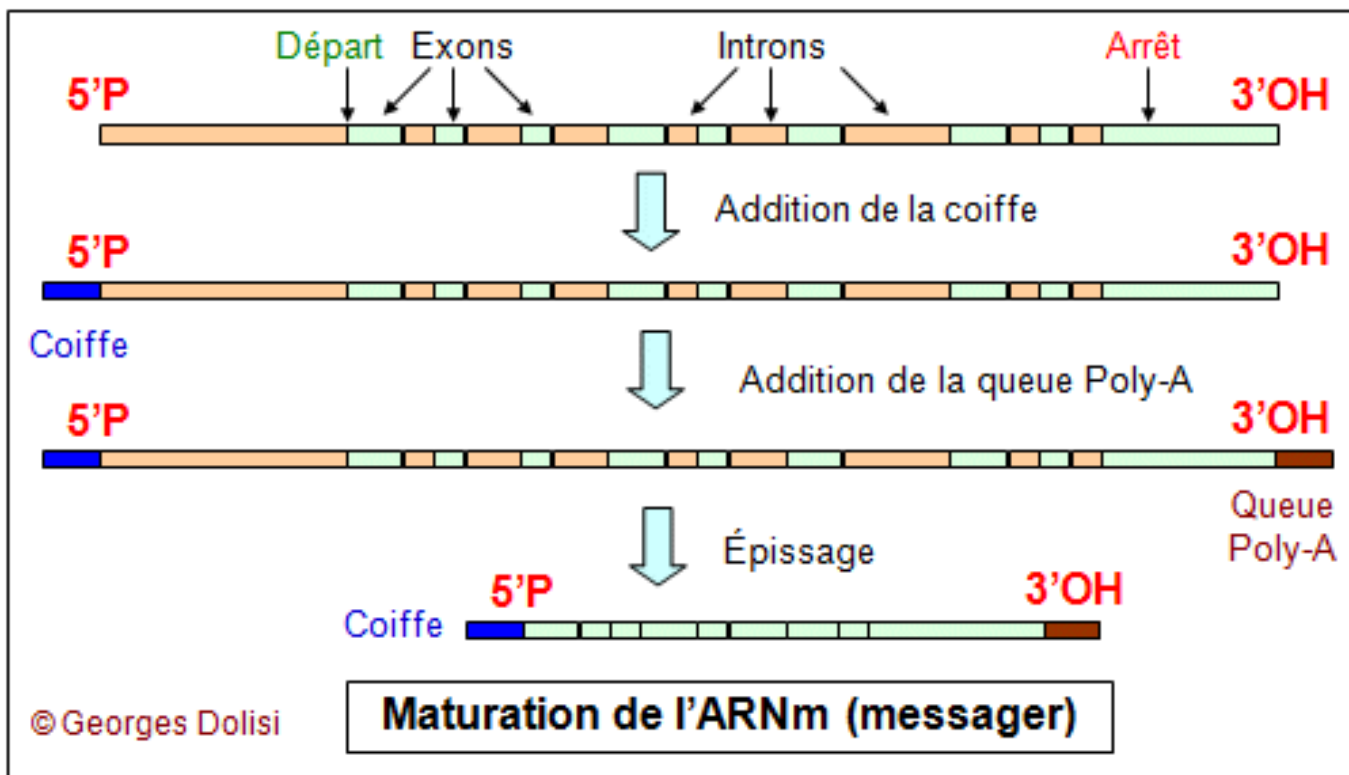
a. ARN messagers

L'extrémité 5' de transcription est protégé par la fixation d'un résidu **7-methylguanosine**, sous l'action de guanyl transférase et GTP. La protection à la 5' peut être complétée par la **méthylation de la position 2' des riboses** des nucléotides suivants (résidus nucléotidiques 10 à 30) à l'extrémité 5'.

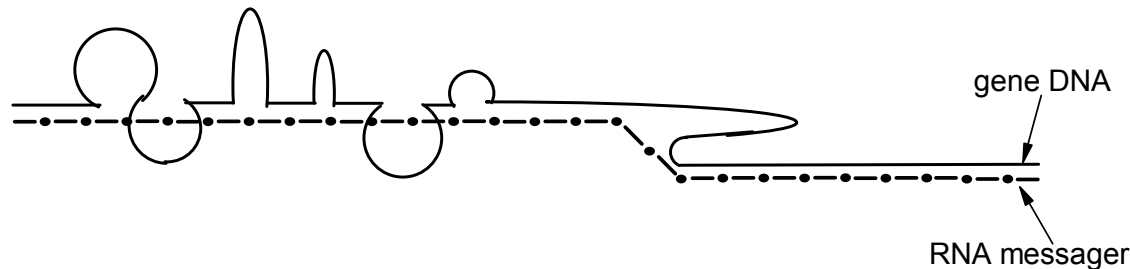


- Le transcrit primaire d'un gène comprend la totalité du gène, y compris **les introns** et il se prolonge en 3' et en 5' largement au-delà de la partie codante. On trouve toujours, à une certaine distance de **la fin 3' du ARN messenger, une séquence AAUAAA**. A une distance d'environ 20 nucléotides en aval de cette séquence une nucléase va détacher la partie terminale du ARN et une **poly A (Adénine) polymérase** va synthétiser sur la plupart des ARN messagers une **séquence poly A** d'une longueur généralement comprise entre 50 – 250 nucléotides.





- Si l'on hybride le ADN correspondant à un gène avec le ARN messager synthétisé au niveau de ce gène, on observe que l'hybridation ne se réalise que sur des segments discontinus du ADN, les segments hybrides sont séparés par des boucles de ADN non hybridées.



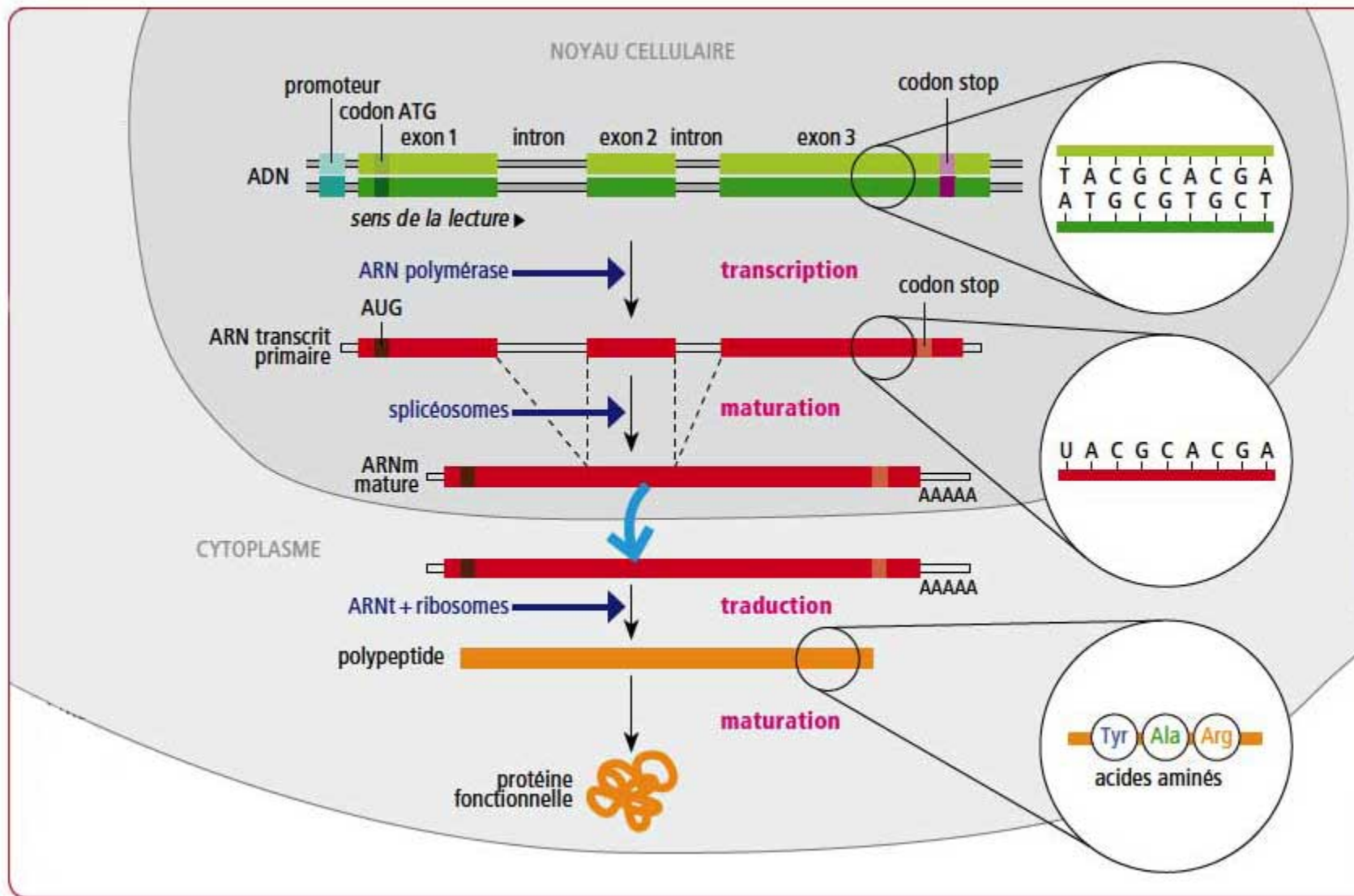
On appelle **exons** les segments d'un gène dont on retrouve les transcrits dans le ARN message et **introns**, les segments de ARN qui ont été éliminés au cours de la maturation du ARN messager.

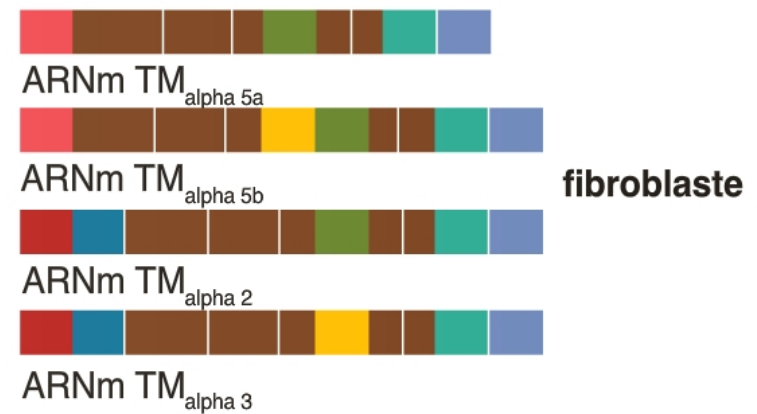
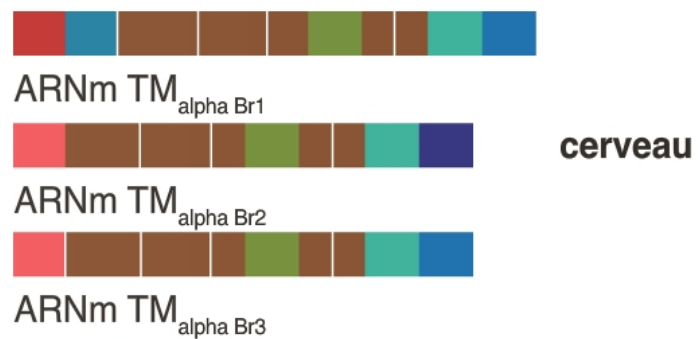
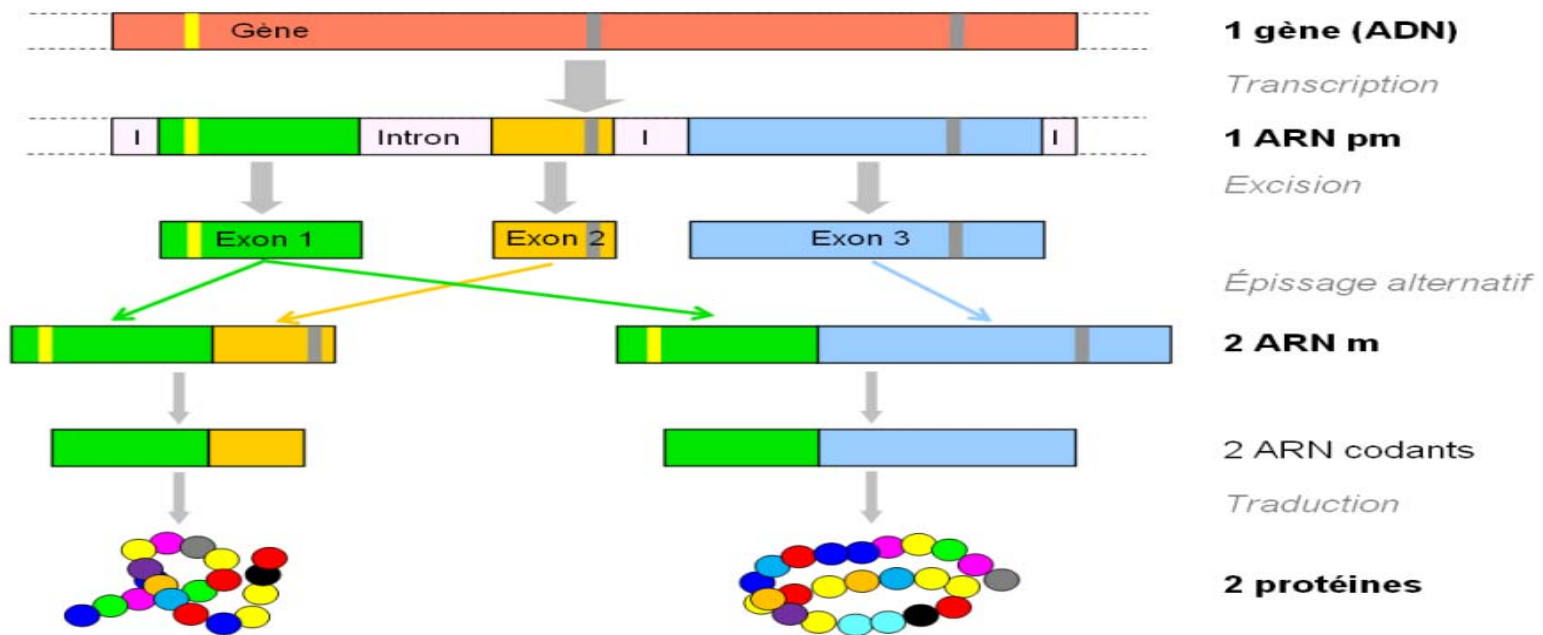
Seuls les exons peuvent être codants pour des parties de protéines, les introns ne sont jamais codants.

Tous les gènes des eucaryotes possèdent des introns, ainsi le gène de l'ovalbumine possède 7 introns séparant 8 exons.

On assiste alors à **l'élimination des séquences correspondantes aux introns** par une opération appelée **épissage**. Tous les introns sont éliminés et les exons sont liés les uns aux autres par leur extrémités, formant un ARN messager continu (mature).

- **L'épissage alternatif** - Parfois un même gène peut donner naissance à deux ARN messagers différents, donc deux protéines différentes, par un mécanisme de maturation différentielle, selon le tissu où se produit cette maturation.
 - Selon le signal utilisé on aura deux ARNm de longueur et de région 3' différentes.
 - Un gène peut avoir deux promoteurs différents; selon le promoteur utilisé, des ARN messagers différents par leur extrémité 5' se produisent, car le point de départ de la synthèse sera différent.
 - Une séquence de ADN peut se comporter comme un exon dans un tissu, comme un intron dans un autre, si bien que les deux messagers seront différents.
- Deux protéines différentes codées par un même gène peuvent parfois être synthétisées dans la même cellule. Ceci représente une exception à l'aphorisme : un gène, une enzyme.





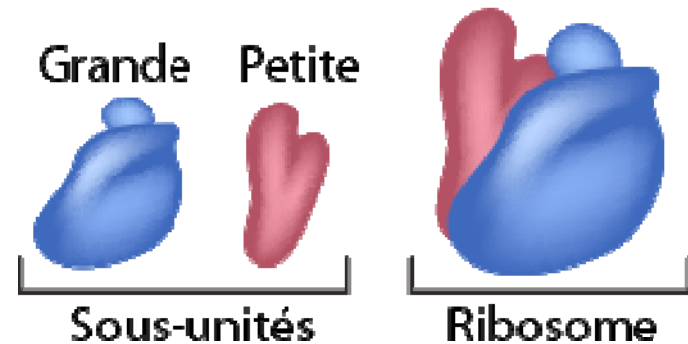
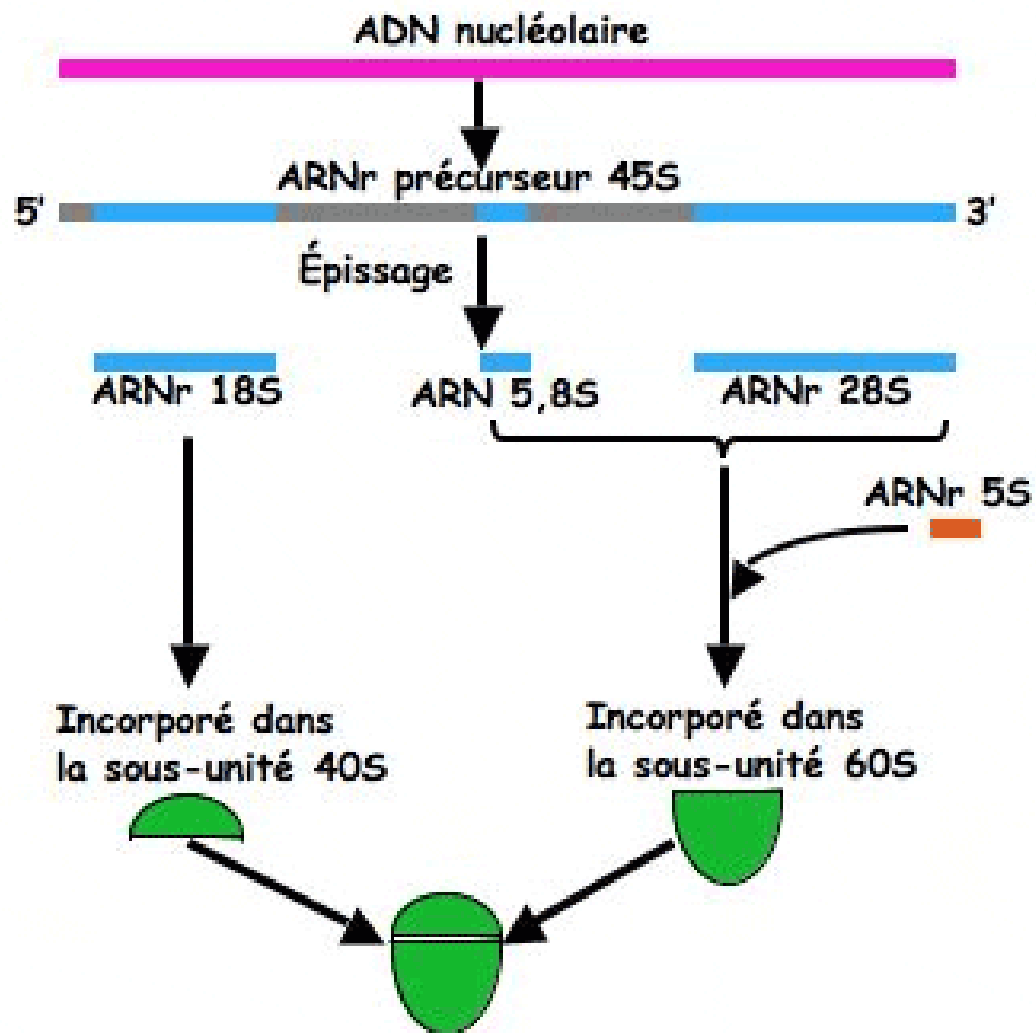
Le rôle des introns

- Chez les vertébrés les introns sont précurseurs de petites molécules d'ARN du nucléole (ARN sno). Ceux-ci participent à la maturation de l'ARN ribosomal ou peuvent servir de matrice à la synthèse des télomères.
- Dans le cas du réarrangements des chromosomes, les segments codants (exons) doit être transférés intacts, de sorte que le point de contact et rupture du chromosome doit être au niveau des régions non codantes (introns) qui sont situés sur les deux côtés des segments de codage. Pour cette raison, la taille des introns est beaucoup plus élevée que celle des exons.
- A l'origine, chaque exon a été un gène codant pour une petite protéine, caractérisée par un seul domaine
- ⇒ le soudage de plusieurs gènes petites dans un grand gène ⇒ protéine grande avec plusieurs domaines
- ⇒ les exons représentent le segment codant de gènes qui sont réunis et les introns sont les séquences non codantes des fins 3'et 5'.
- ⇒ les troubles du processus d'épissage ⇒ diverses pathologies.

Maturation d'ARN ribosomiaux

- Les gènes d'ARNr sont situés dans le nucléole
- Il y a des centaines d'exemplaires de gènes de chaque type d'ARNr, organisés en tandem répétitif.
- Chaque motif répétitif contient une copie de chaque type de l'ARNr 28S; 18S; 5,8 S, séparés par des régions non codantes.
- Chaque unité répétitif est transcrit unitairement, assurant ainsi la synthèse équimolaire des trois types d'ARNr.
- Après la transcription et maturation \Rightarrow un seul ARN d'une masse 45S. Ceci se lie au petits complexes ribonucleoproteiques nucléaire (snoRNPs) qui le coupe en fragments de 28S, 18S et 5,8S.
- Les ARNr seront transportés dans le cytoplasme où, avec les protéines ribosomiaux, vont constituer les 2 sous-unité ribosomiaux :
 - La petite sous-unité 40S: ARNr 18S + 33 protéines
 - La grande (grosse) sous-unité 60S : ARNr 5,8S; 28S; 5S + 49 protéines

SYNTHÈSE DES ARN RIBOSOMAux

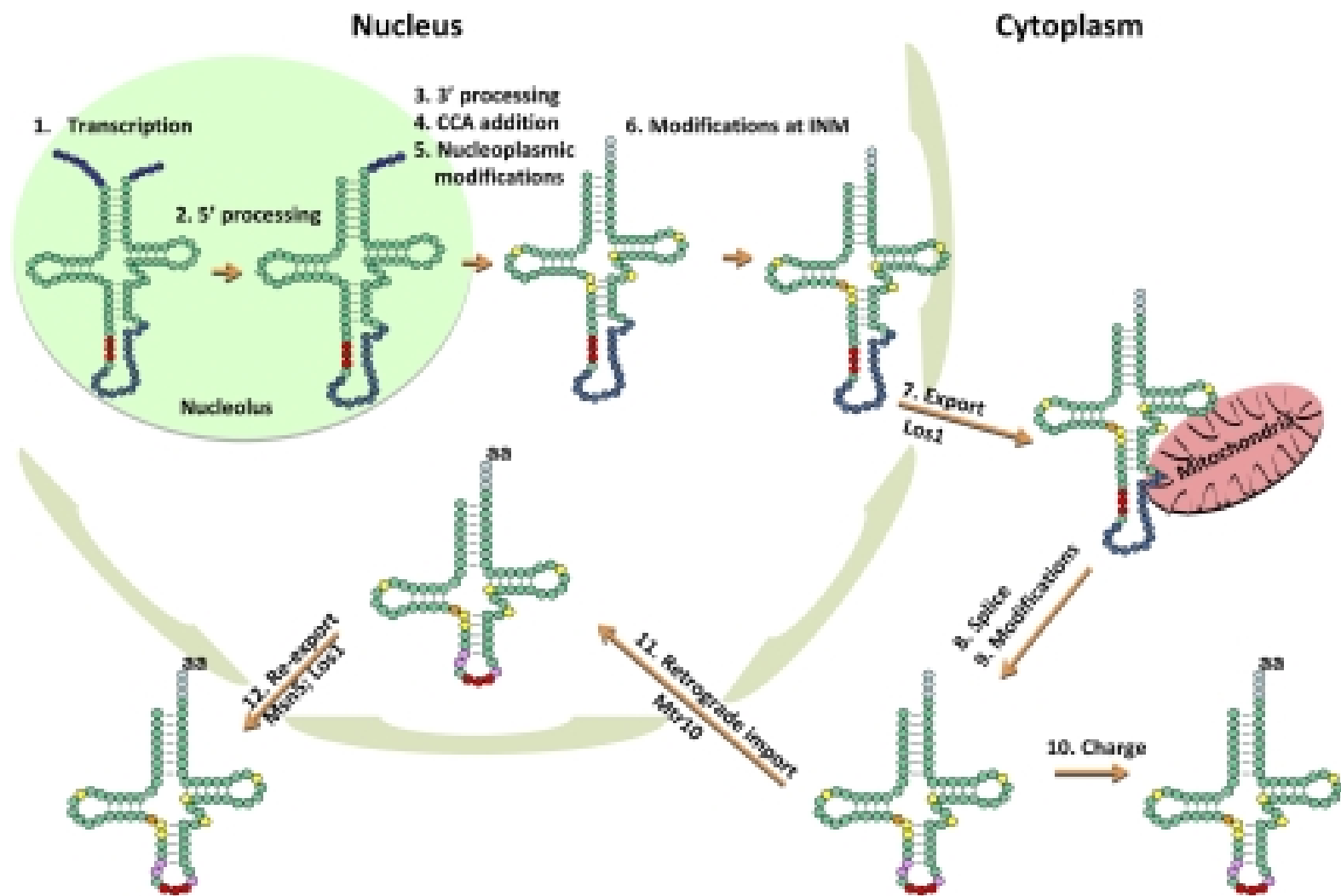


Maturation de l'ARN de transfert

- On synthétise **une grosse molécule inopérante**, contenant des extensions aux deux extrémités et des introns.
- **Les extensions sont éliminés** par les nucléases.
- **A l'extrémité 3' obtenue on ajoute le trinuécléotide CCA.**
- Les **introns sont éliminés** par l'action d'une endonucléase couplée à une ligase.
- $< 1/3$ de **bases azotées souffrent des changements chimiques**
- > 60 types de modifications, réalisées par plus de 100 enzymes.
- Les changements (réductions isomérisation, fixation de groupes fonctionnels) se produisent au niveau des bases azotées
- Des exemples de bases modifiées: bases méthylées, pseudouridine, 4-thiouridine, thymine, etc.

Activité de correction de la transcription

- **Il n'y a pas aucun système de correction d'erreurs** dans la synthèse d'ARN, le taux d'erreur de transcription étant d'un ribonucléotide mauvaises incorporés pour 10^4 ribonucléotides intégrés dans la molécule d'ARN
- Ce degré élevé d'erreur est toléré parce que la molécule **d'ARN a une courte durée de vie et des mutations dans les produits d'ARN ne sont pas transférables**. La durée de vie de l'ARNm varie, ayant un maximum de 30 heures, alors que l'ARNt atteint 5 jours.



Le blocage de la transcription

La connaissance des mécanismes de la transcription a permis le développement des moyens thérapeutiques.

Par exemple, un certain nombre d'agents chimiothérapeutiques, de type antibiotique, fonctionne par l'inhibition de la transcription des micro-organismes, en bloquant leurs processus vitaux et donc le développement et la multiplication.

Par exemple:

La rifampicine - fonctionne en **bloquant l'ARN polymérase bactérienne**, sans affecter l'ARN polymérase des eucaryotes.

L'actinomycine D - est **inséré entre les paires G - C du segment promoteur de la gène**, ce qui bloque l'initiation de la transcription à la fois aux procaryotes et eucaryotes.