

BIOCHIMIE

Les Acides Nucléiques

Hubert Becker
IPCB, UMR7156 4^{ème} étage

<http://gmgm.unistra.fr/index.php?id=3634>

Plan

I. Introduction

II. 1^{er} Niveau: Les Unités Monomériques des Acides Nucléiques

II.1. Composition et Structure des Nucléosides et Nucléotides

II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

III. 2^{ème} Niveau: Les Macromolécules d'Acides Nucléiques

III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques

III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques

IV. 3^{ème} Niveau: Les Complexes supramoléculaires (Structure IV^{aire})

IV.1. Structures quaternaires de l'ADN

V. Manipulation des acides nucléiques

V.1. Couper l'ADN

V.2. Couper l'ARN

V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques

V.4. fractionner les acides nucléiques

VI. Les gènes et le clonage

VI.1 Les gènes chez les procaryotes

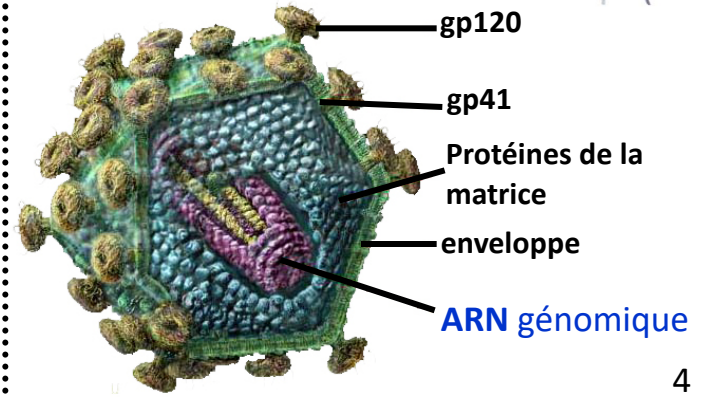
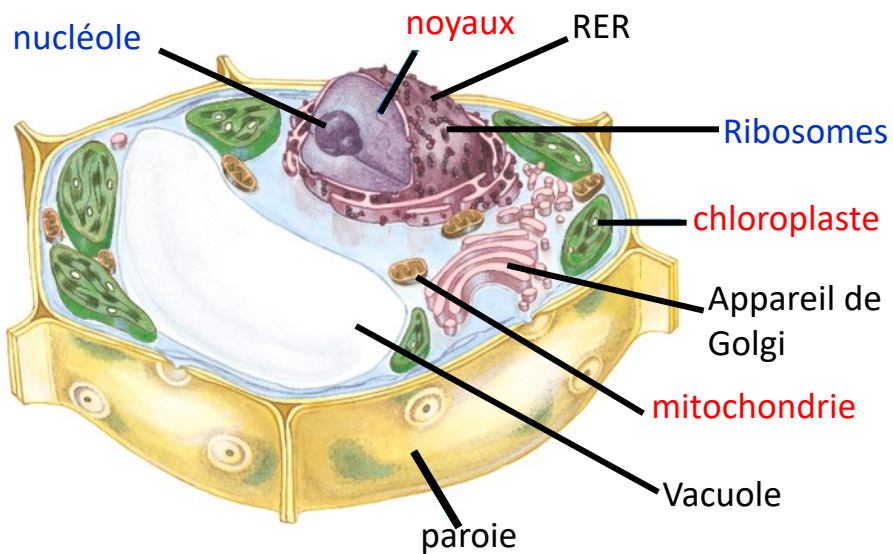
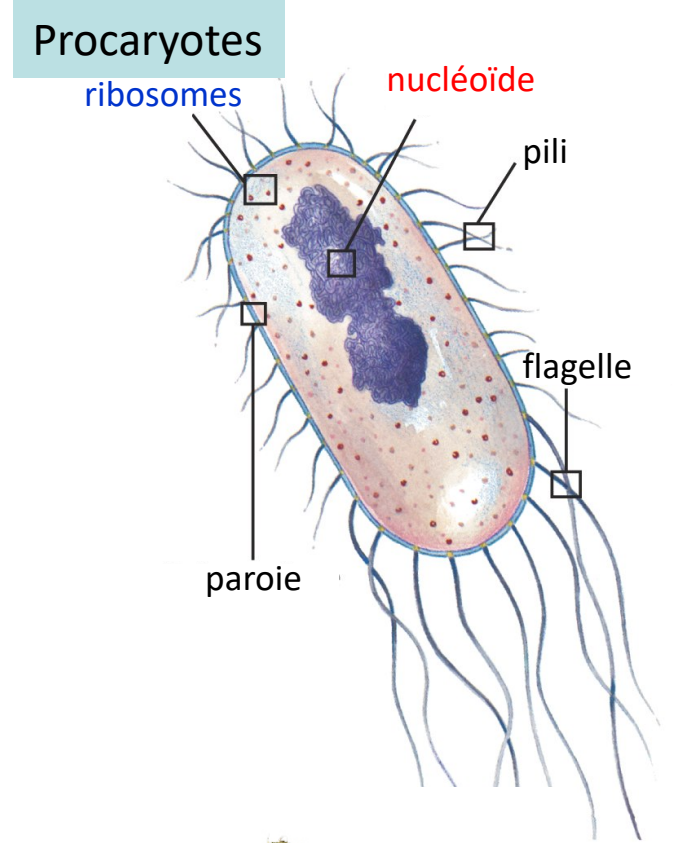
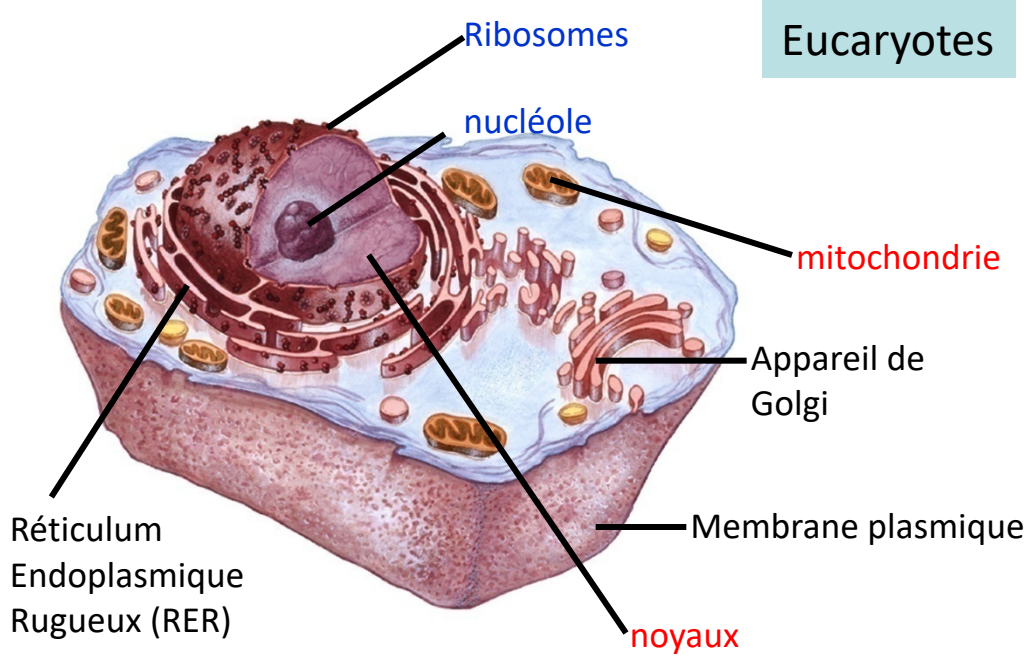
VI.2. Les gènes chez les eucaryotes

VI.3. Le clonage

I. Introduction

- I.1. Où trouve-t-on des acides nucléiques dans les cellules ?
- I.2. Les différents types d'acides nucléiques.
- I.3. Que représentent les acides nucléiques dans une cellule ?
- I.4. Comparaison de la taille des génomes.
- I.5. Les niveaux d'organisation des acides nucléiques.

I.1. Où trouve-t-on des acides nucléiques dans les cellules ?



I.2. Les différents types d'acides nucléiques

Types	Chez Qui?
ADN Génomique	Tous sauf certains virus
ADN Plasmidique	Bactéries
ARN Génomique	Virus
ARNr (Ribosomique)	Tous sauf Virus
ARNt (de Transfert)	Tous
SnARN (épissage)	Eucaryotes
SnoARN (Méthylation)	Eucaryotes
SiARN (défense anti-virale)	Eucaryotes
MiARN (Régulation de l'expression de gènes)	Eucaryotes
Ribonucléase P (Maturation des ARNt)	Tous sauf virus

I.3. Que représentent les acides nucléiques dans une cellule ?

TABLE 1-2 Molecular Components of an *E. coli* Cell

	<i>Percentage of total weight of cell</i>	<i>Approximate number of different molecular species</i>
Water	70	1
Proteins	15	3,000
Nucleic acids		
DNA	1	1
RNA	6	>3,000
Polysaccharides	3	5
Lipids	2	20
Monomeric subunits and intermediates	2	500
Inorganic ions	1	20

I.4. Comparaison de la taille des génomes

TABLE 1-4 Some Organisms Whose Genomes Have Been Completely Sequenced

<i>Organism</i>	<i>Genome size (millions of nucleotide pairs)</i>	<i>Biological interest</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0.8	Causes pneumonia
<i>Treponema pallidum</i>	1.1	Causes syphilis
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1.3	Causes Lyme disease
<i>Helicobacter pylori</i>	1.7	Causes gastric ulcers
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.7	Grows at 85 °C!
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8	Causes bacterial influenza
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	1.8	Member of the Archaea
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.2	High-temperature methanogen
<i>Synechocystis</i> sp.	3.6	Cyanobacterium
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2	Common soil bacterium
<i>Escherichia coli</i>	4.6	Some strains cause toxic shock syndrome
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.1	Unicellular eukaryote
<i>Plasmodium falciparum</i>	23	Causes human malaria
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97.1	Multicellular roundworm
<i>Anopheles gambiae</i>	278	Malaria vector
<i>Mus musculus domesticus</i>	2.5×10^3	Laboratory mouse
<i>Homo sapiens</i>	2.9×10^3	Human

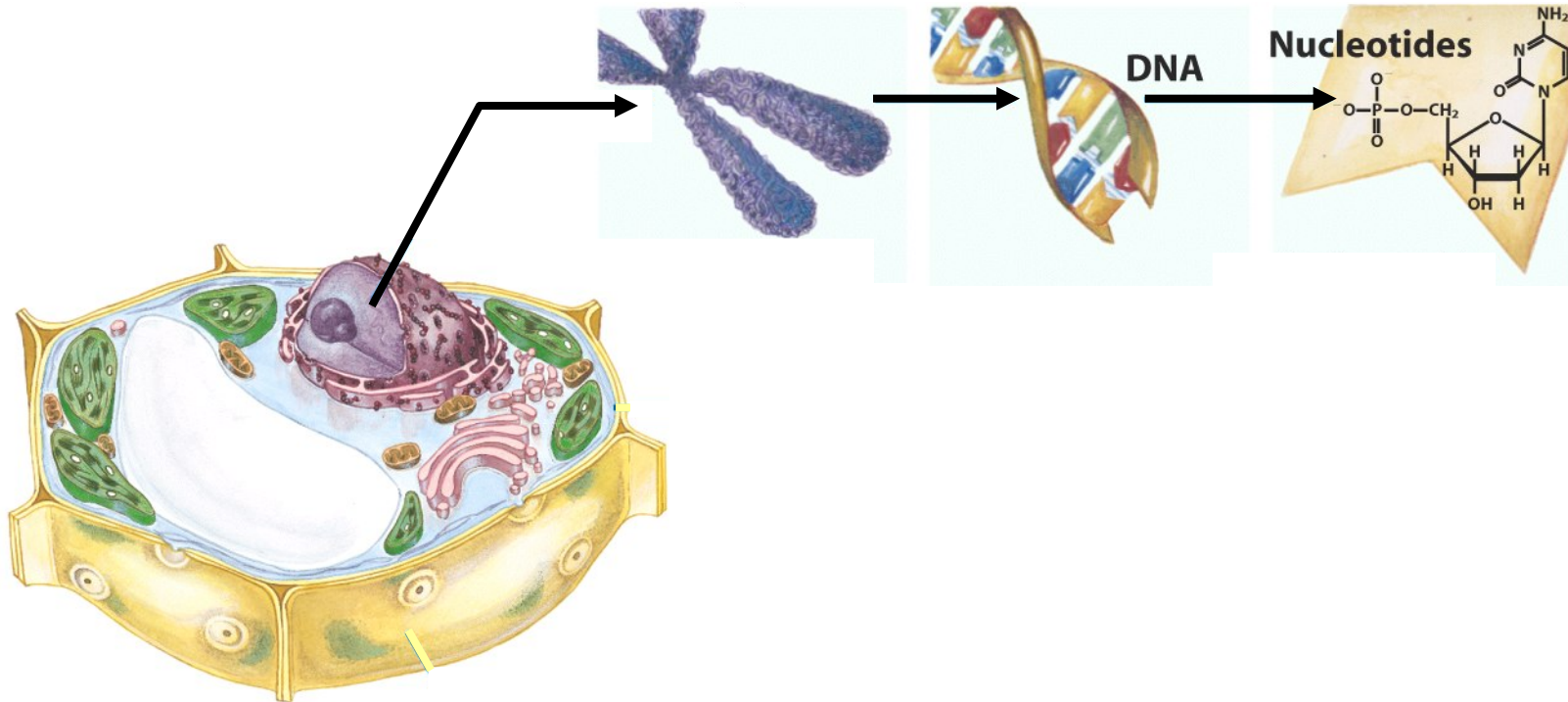
I.4. Les niveaux d'organisation des acides nucléiques

Niveau 4:
La cellule et
ses organites

Niveau 3:
Les complexes
supramoléculaires

Niveau 2:
Les macromolécules

Niveau 1:
Les unités
monomériques



II. 1^{er} Niveau: les unités monomériques des acides nucléiques

II.1. Composition et Structure des Nucléosides et Nucléotides

II.1.a. Le β -D-Ribose et le 2-Désoxy- β -D-Ribose

II.1.b. Les bases azotées

II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides

II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

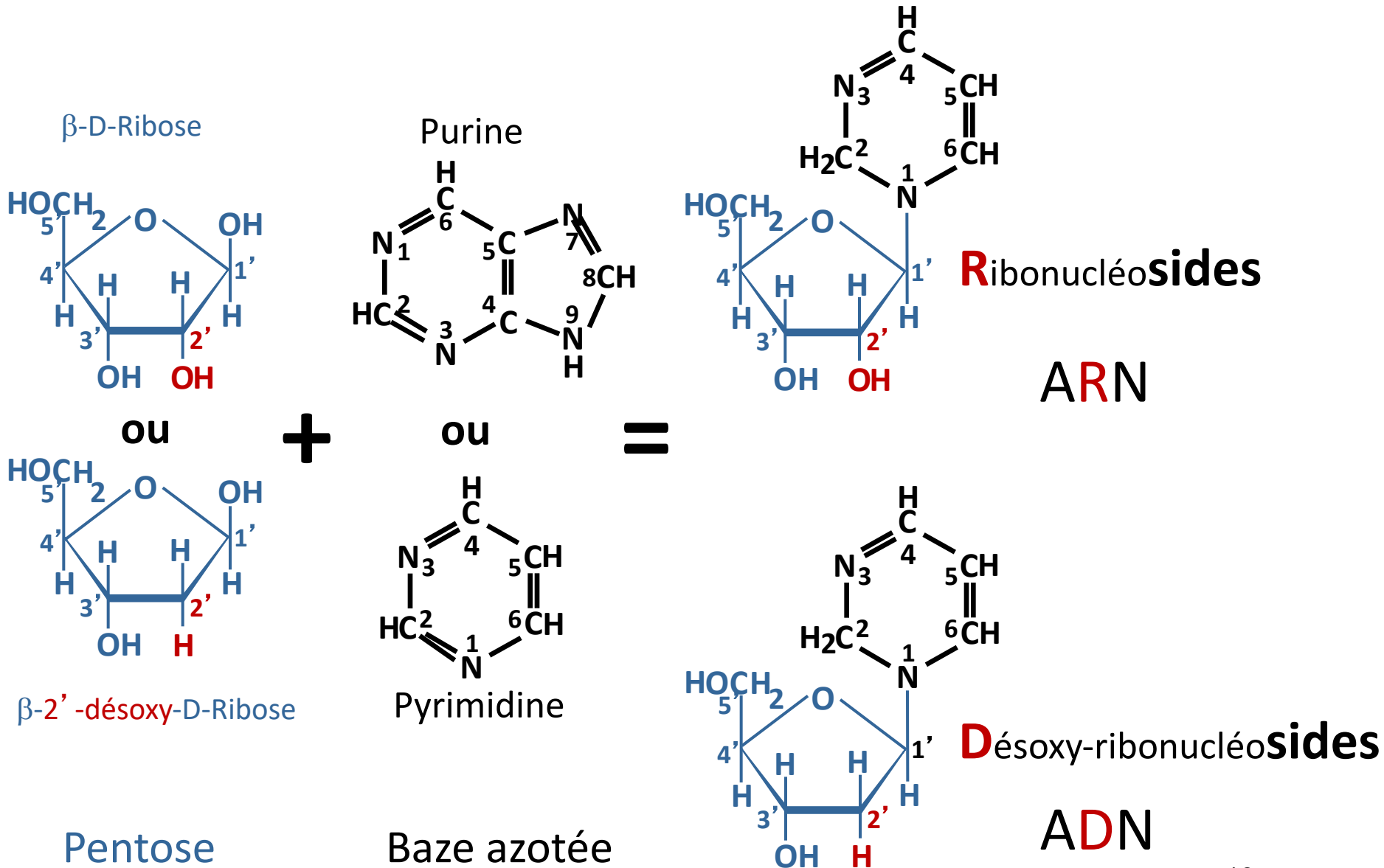
II.1.e. Les groupements que l'on rencontre dans les ANiques

II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

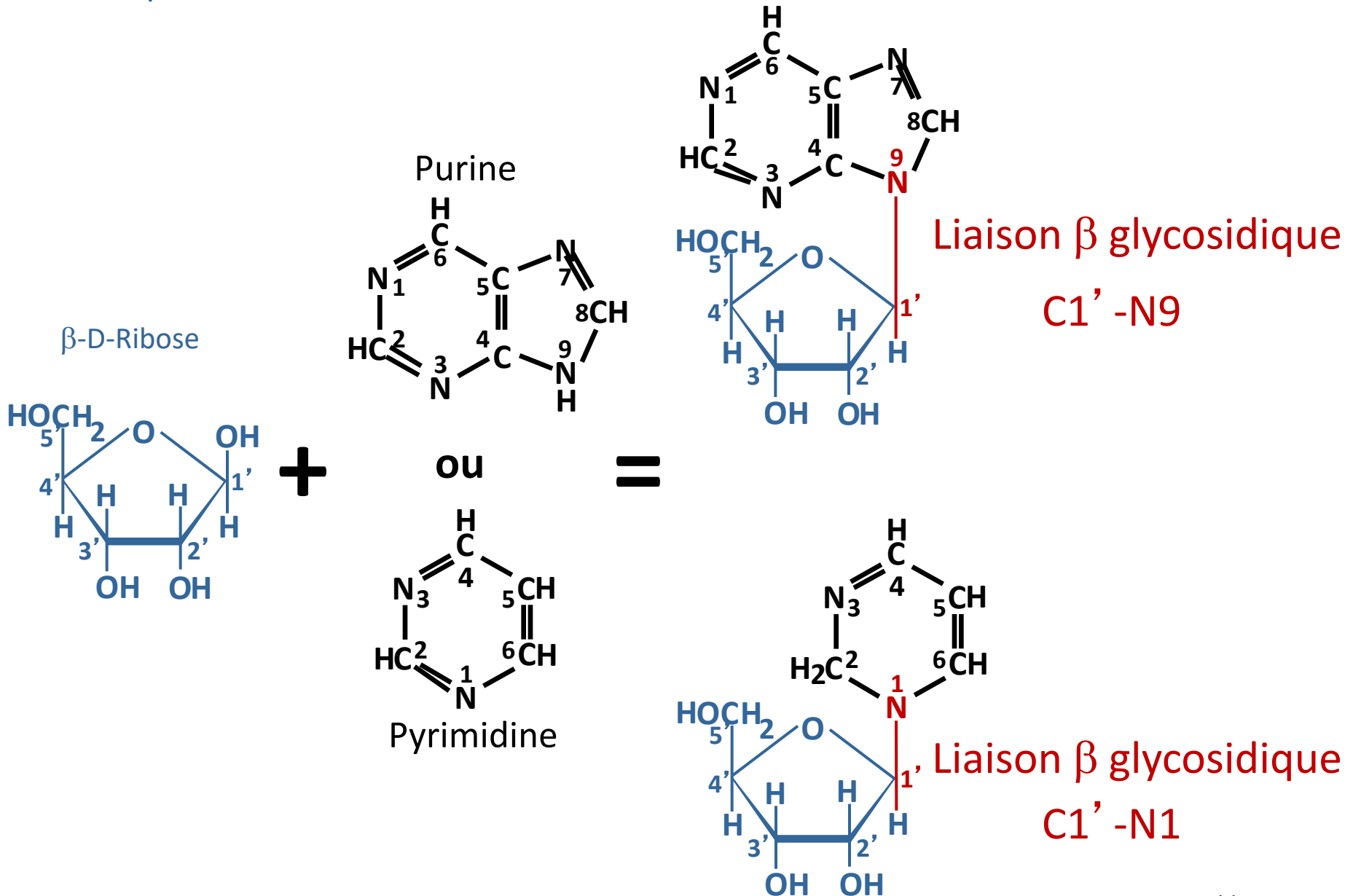
II.2.a. Propriétés spectroscopiques

II.2.b. Source d'énergie

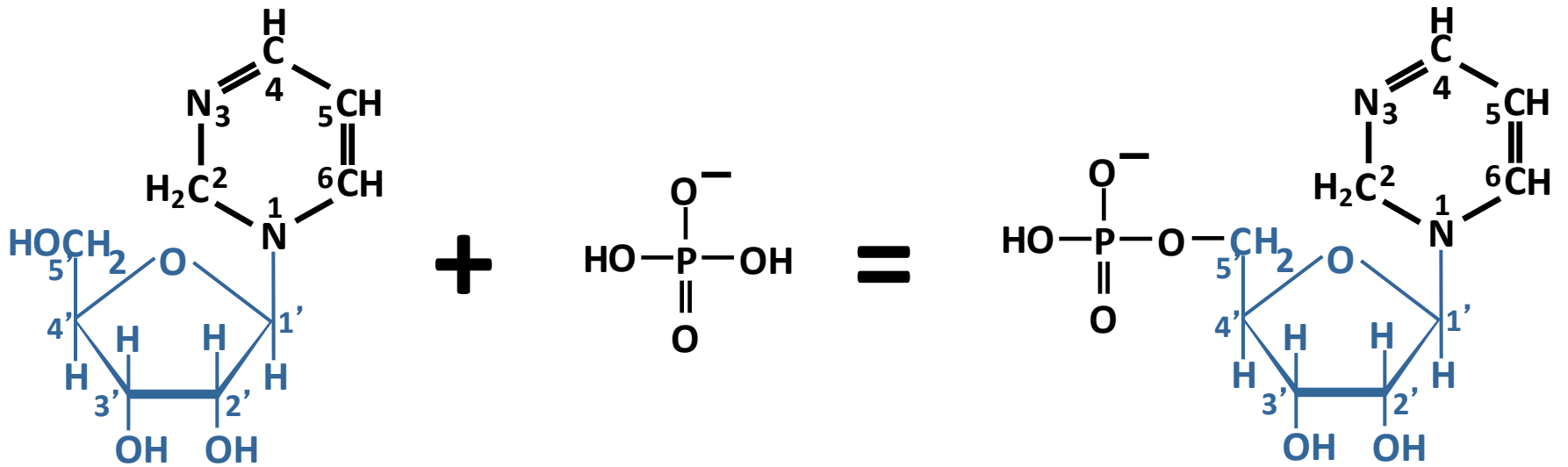
II.1. Composition et Structure des Nucléosides



II.1. Composition et Structure des Nucléosides



II.1. Composition et Structure des Nucléotides

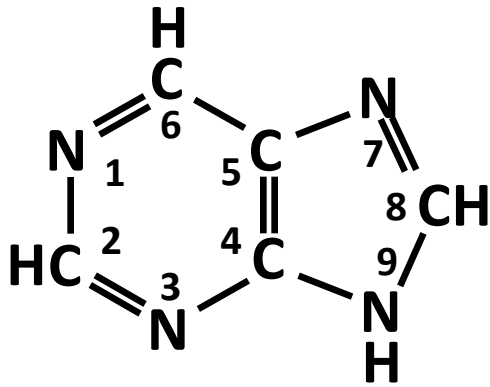


Nucléo**S**ide
Deux molécules (2nd)

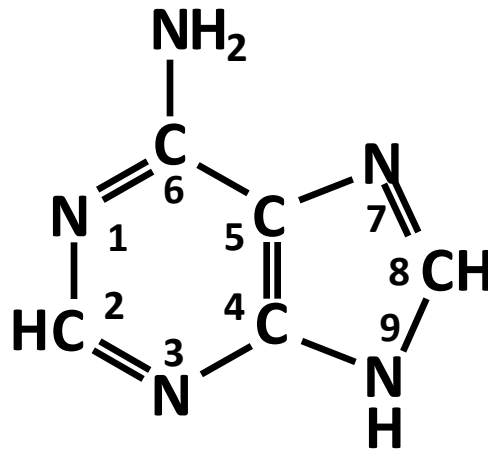
Acide phosphorique
(phosphate)

Nucléo**t**ide
Trois molécules (2nd)

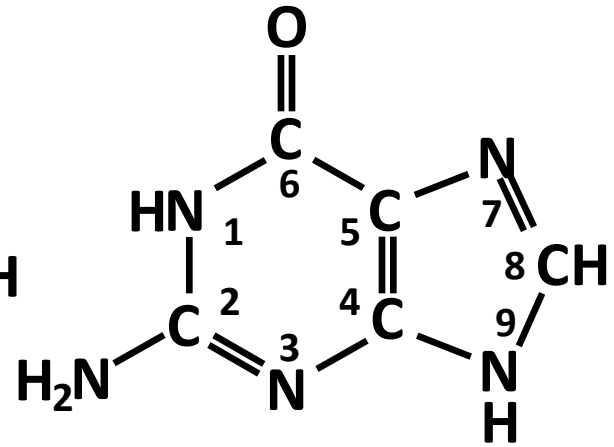
II.1.b. Les bases azotées



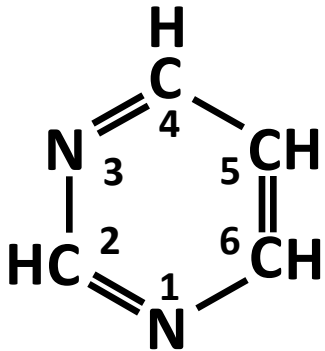
Purine



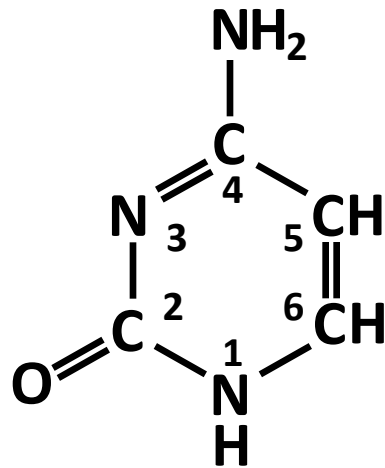
Adénine



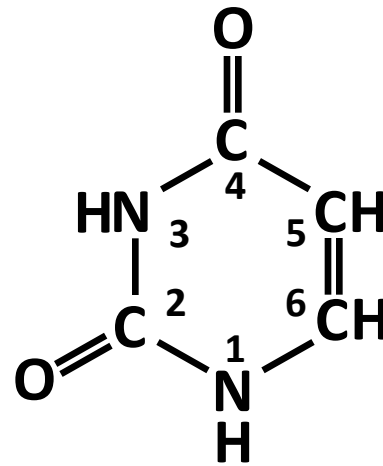
Guanine



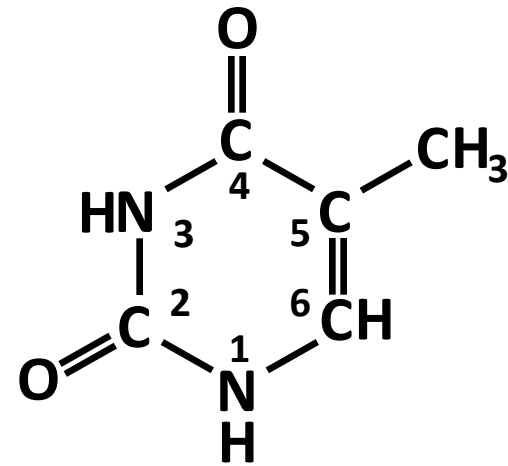
Pyrimidine



Cytosine



Uracile

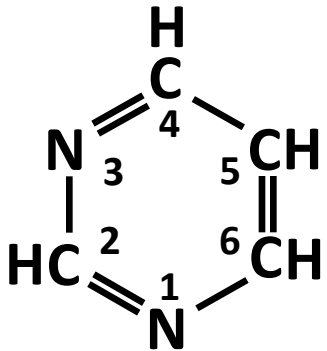


Thymine

(5-méthyl-uracile)¹³

II.1.b. Les bases azotées

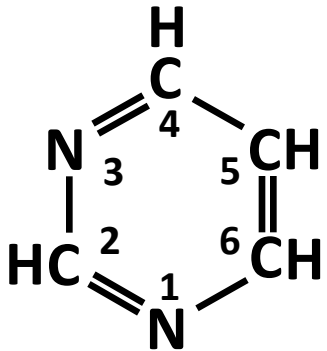
- Le cycle pyrimidique est un hexagone



Pyrimidine

II.1.b. Les bases azotées

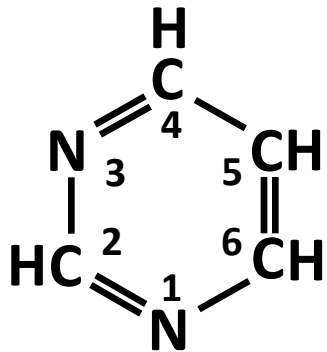
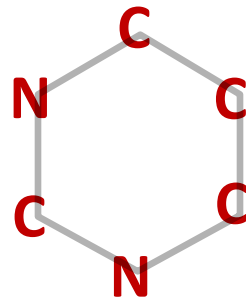
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte



Pyrimidine

II.1.b. Les bases azotées

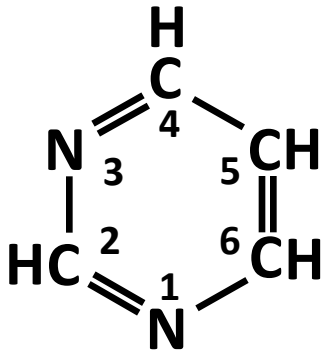
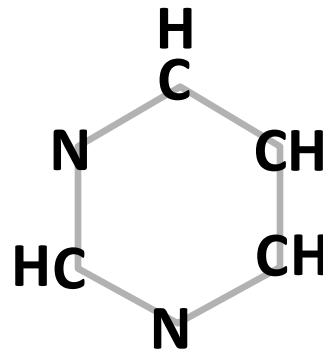
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte



Pyrimidine

II.1.b. Les bases azotées

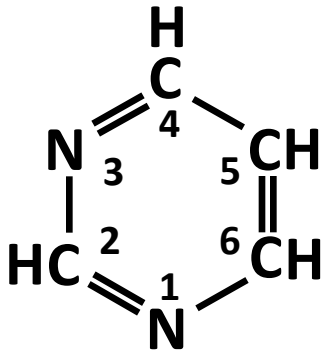
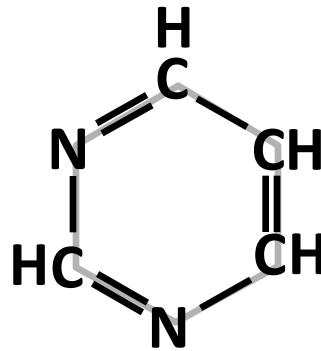
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH



Pyrimidine

II.1.b. Les bases azotées

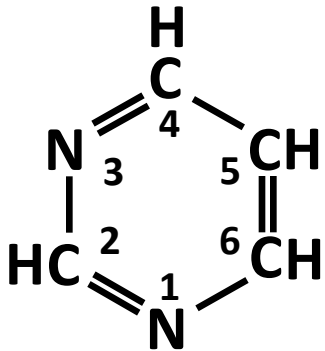
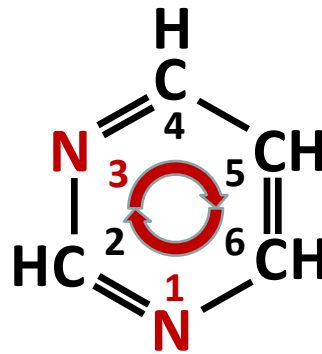
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH
- L'azote est trivalent, le carbone tétra



Pyrimidine

II.1.b. Les bases azotées

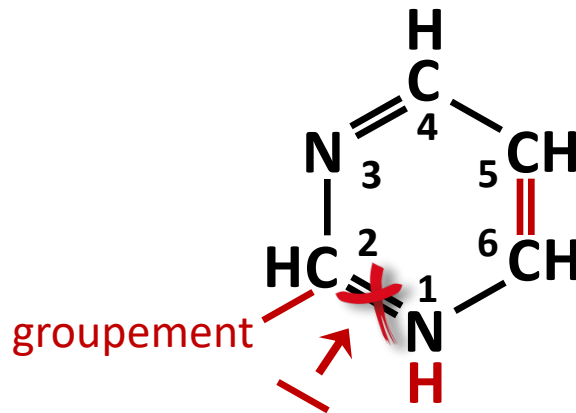
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH
- L'azote est trivalent, le carbone tétra
- On numérote à partir du bas, dans le sens des aiguilles d'une montre – N1,N3



Pyrimidine

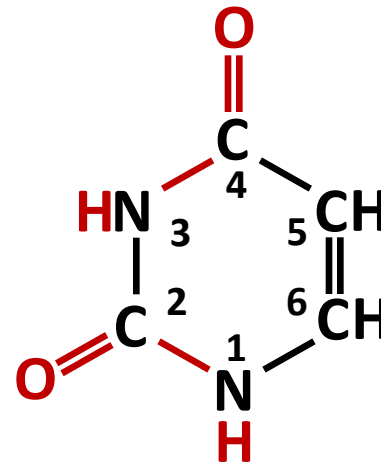
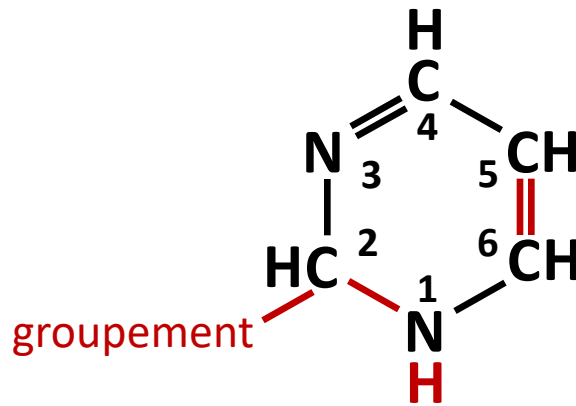
II.1.b. Les bases azotées

- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison β -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison $C_5=C_6$



II.1.b. Les bases azotées

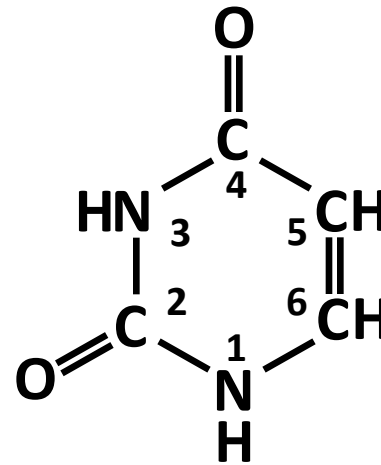
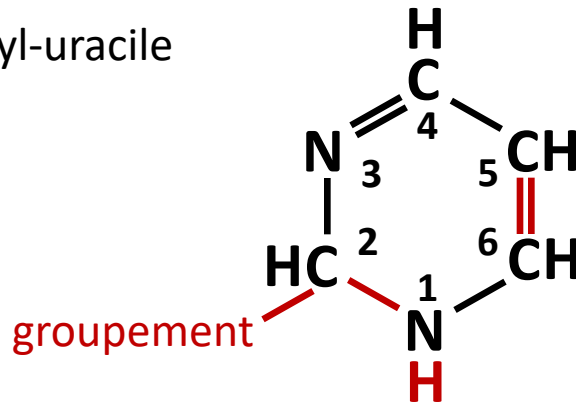
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison β -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison $C_5=C_6$
- L'Uracile est le plus simple: 2 carbonyles (2 et 4), carbone tétravalent, donc double liaison 3=4 saute



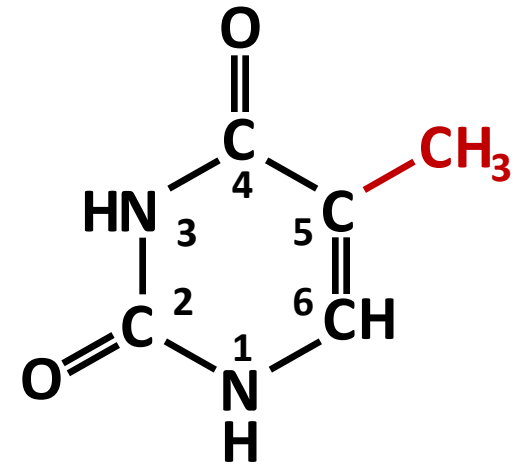
Uracile

II.1.b. Les bases azotées

- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison β -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison $C_5=C_6$
- L'Uracile est le plus simple: 2 carbonyles (2 et 4), carbone tétravalent, donc double liaison 3=4 saute
- Thymine = 5-méthyl-uracile



Uracile

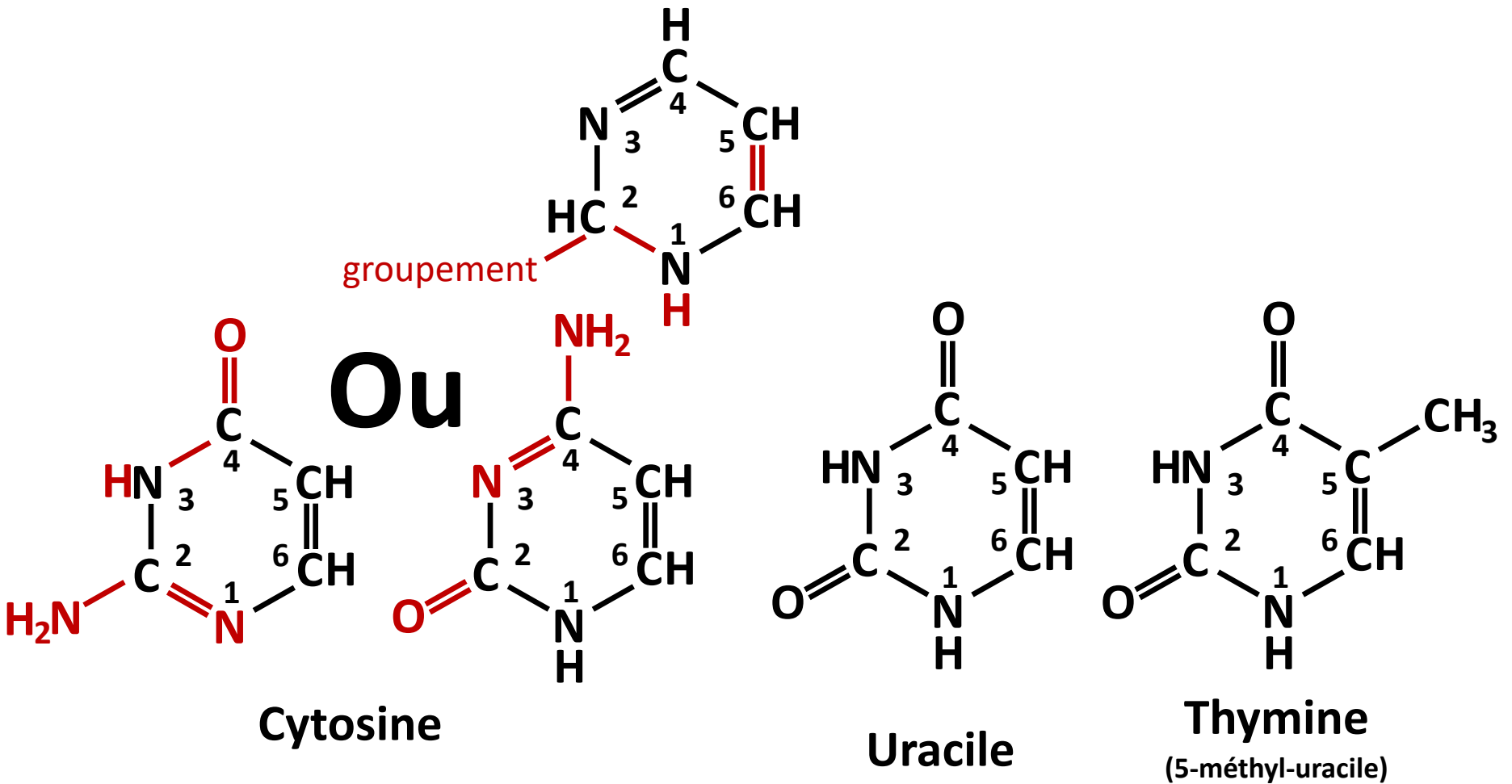


Thymine

(5-méthyl-uracile)

II.1.b. Les bases azotées

- Pour la cytosine, 1 carbonyle et 1 amino, donc 2 possibilités: carbonyle 2, amino 4 ou vice-versa

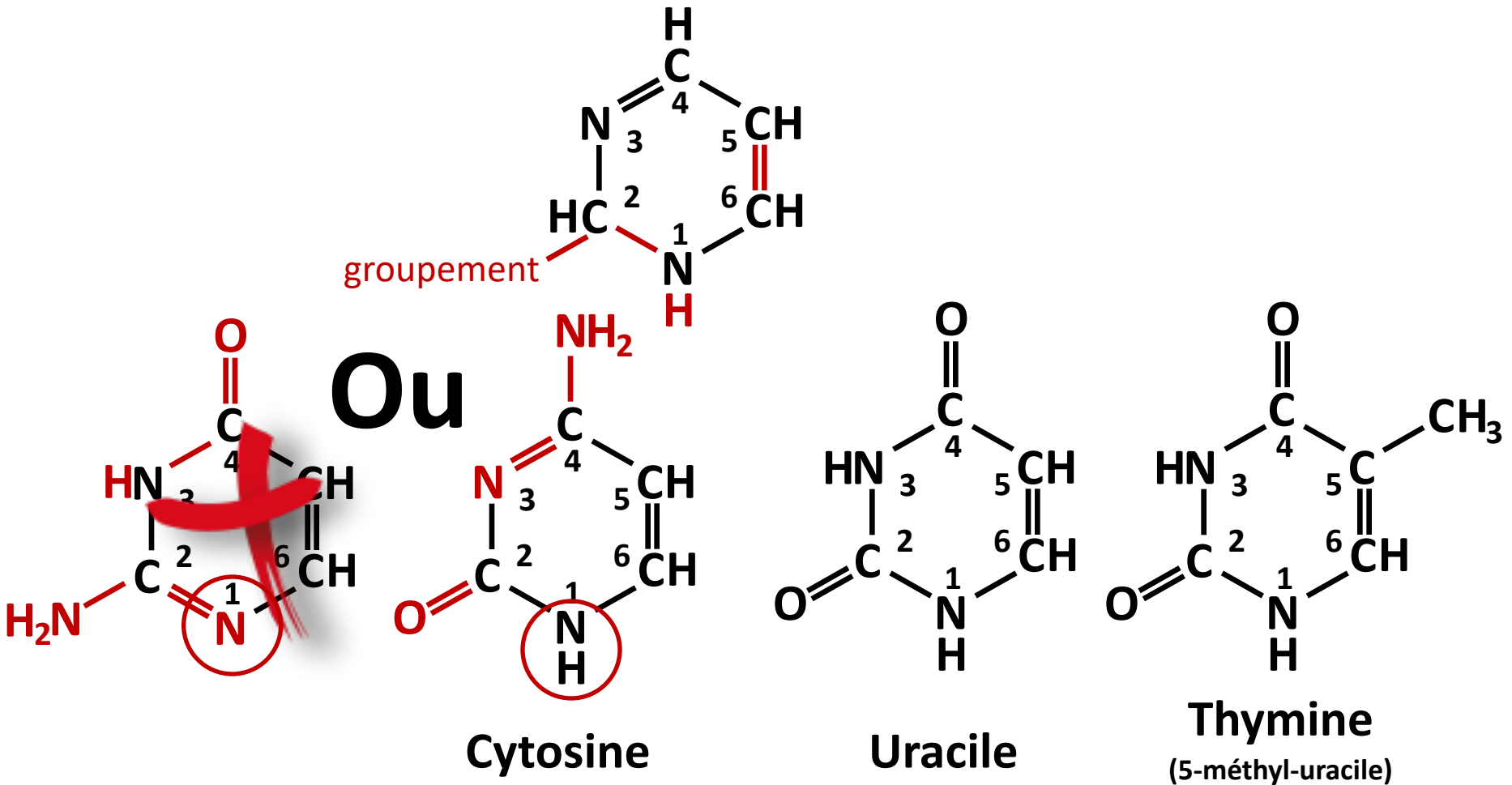


II.1.b. Les bases azotées

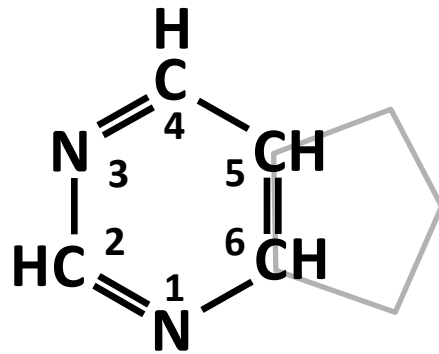
- Pour la cytosine, 1 carbonyle et 1 amino, donc 2 possibilités: carbonyle 2, amino 4 ou vice-versa

Or

- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison β -glycosidique

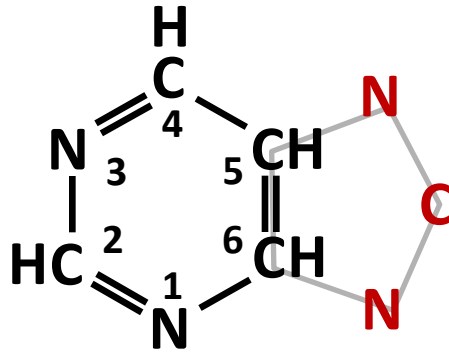


II.1.b. Les bases azotées



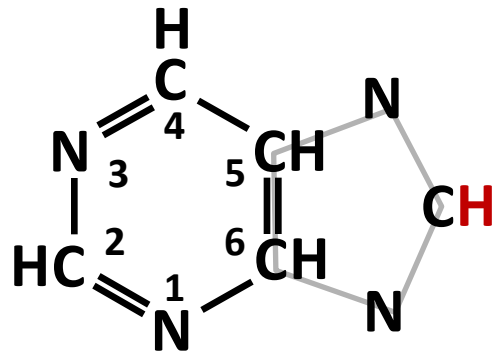
- Pour la purine, on rajoute un pentagone

II.1.b. Les bases azotées



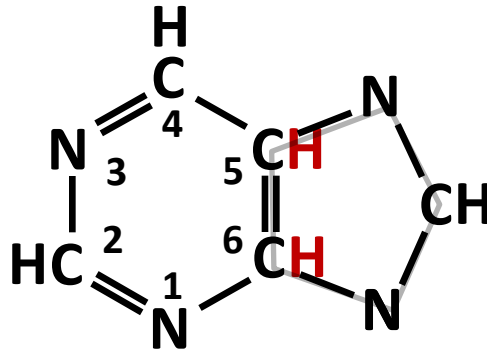
- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte

II.1.b. Les bases azotées



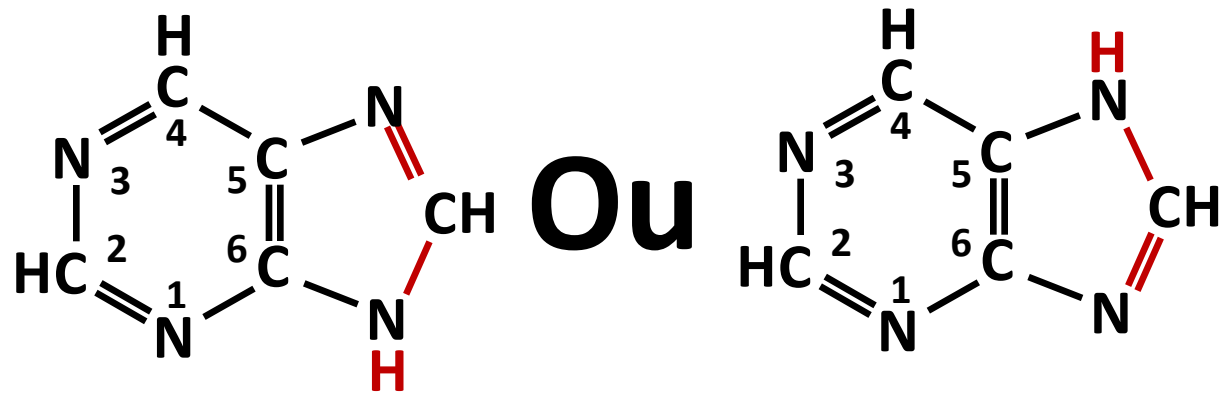
- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH

II.1.b. Les bases azotées



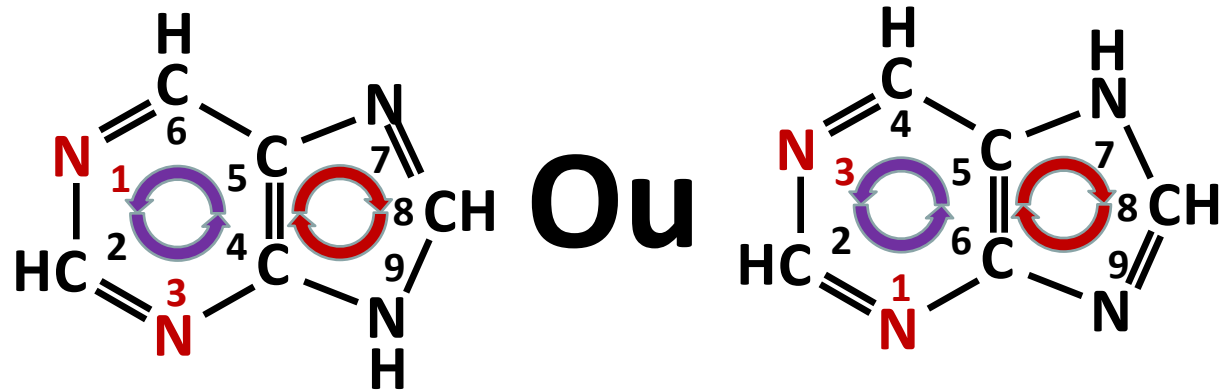
- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent

II.1.b. Les bases azotées



- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

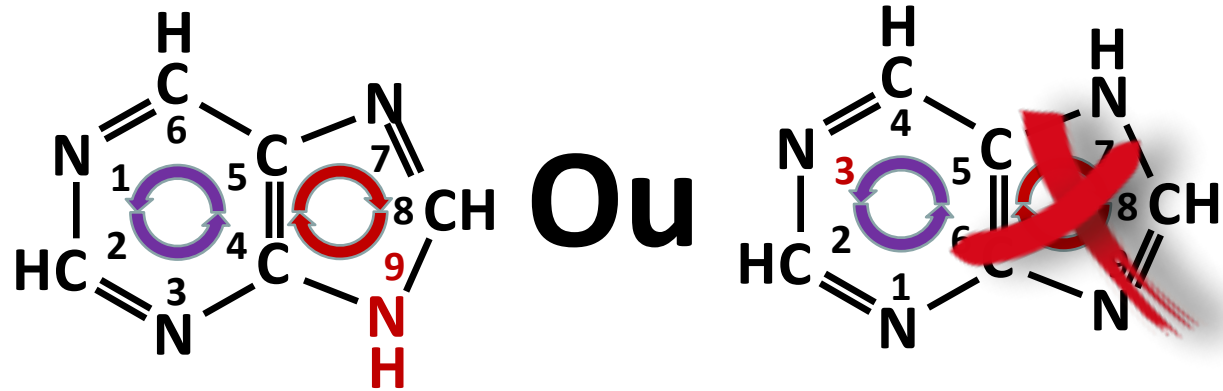
II.1.b. Les bases azotées



- On change le sens de la numérotation: sens inverse des aiguilles d'une montre dans l'hexagone et on commence par l'autre azote et on recharge de sens dans le pentagone **MAIS ON GARDE** N_1, N_3

- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

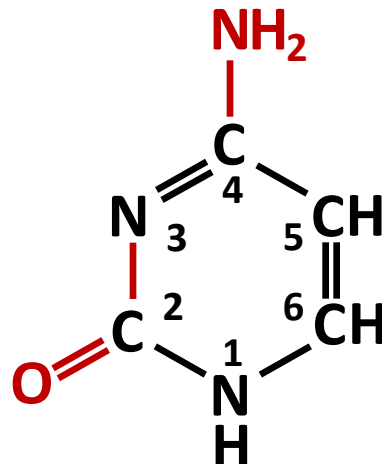
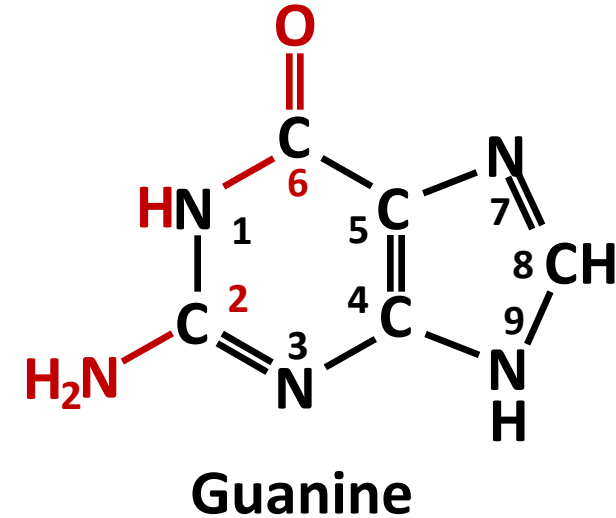
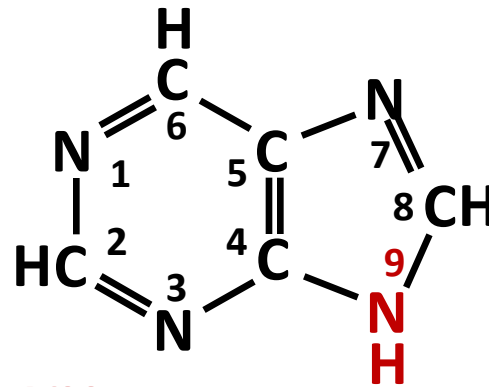
II.1.b. Les bases azotées



- On change le sens de la numérotation: sens inverse des aiguilles d'une montre dans l'hexagone et on commence par l'autre azote et on rechange de sens dans le pentagone **MAIS ON GARDE** N_1, N_3
- L'amine du pentagone est en 9 et c'est l'azote qui fait la liaison β -glycosidique

- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

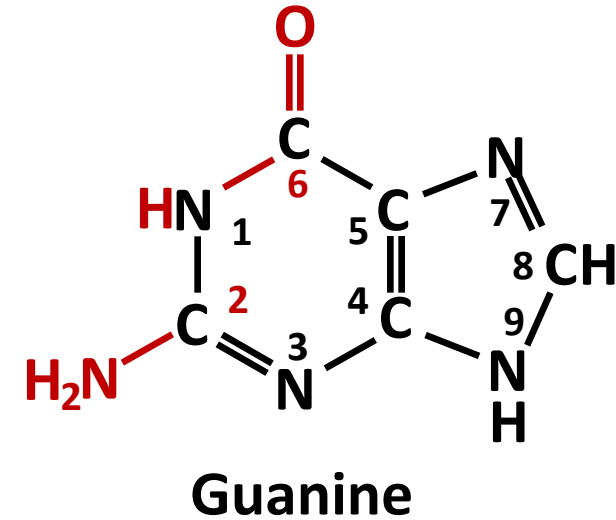
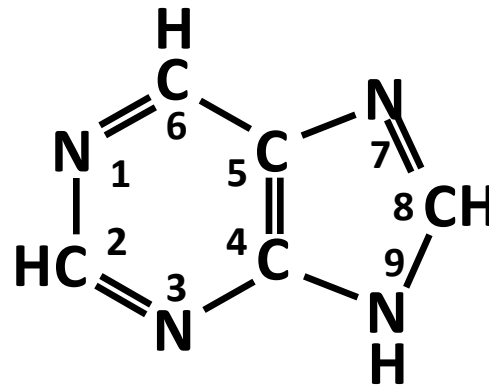
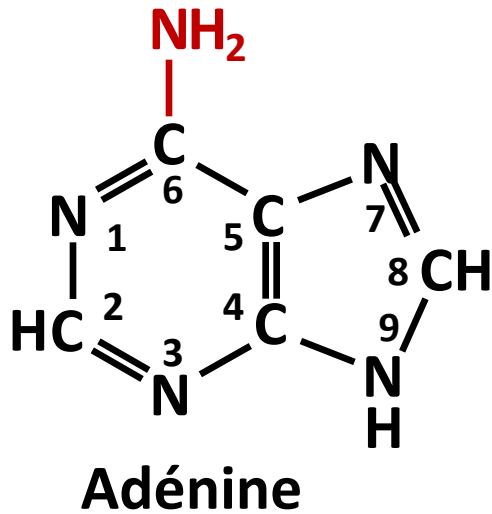
II.1.b. Les bases azotées



Cytosine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

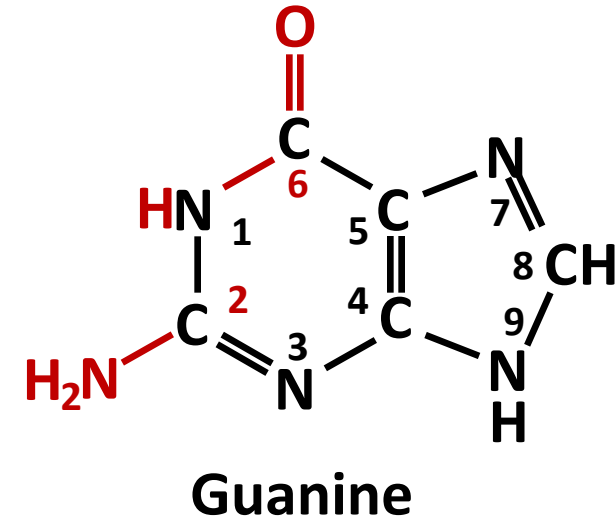
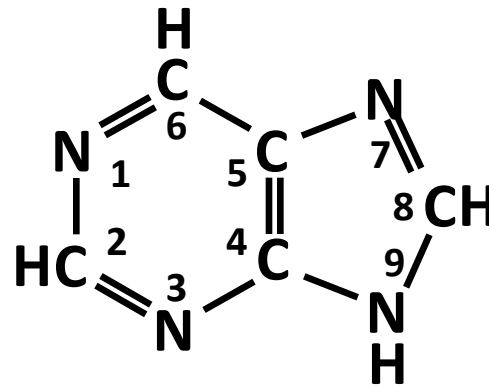
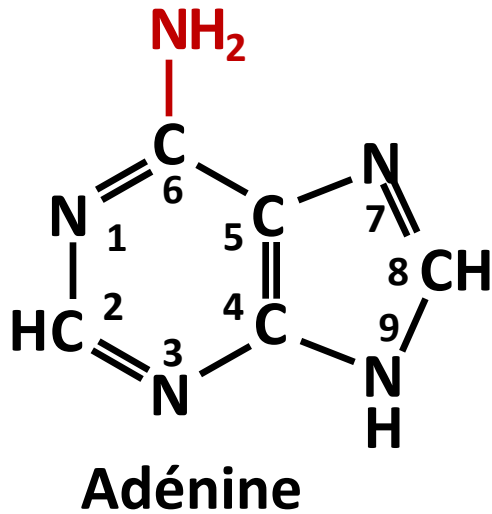
II.1.b. Les bases azotées



- L' adénine, une seule substitution: NH₂ et pas dans la même position que la guanine ou 6-amino-purine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

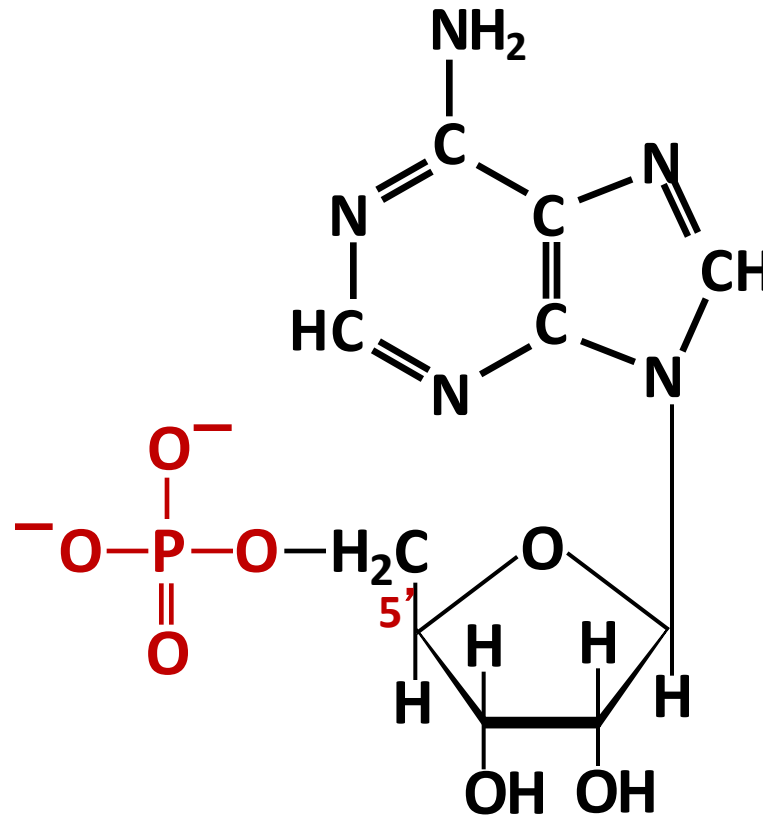
II.1.b. Les bases azotées



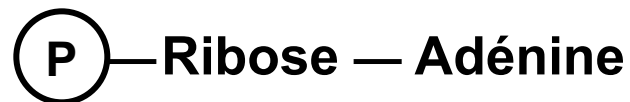
- L' adénine, une seule substitution: NH₂ et pas dans la même position que la guanine ou 6-amino-purine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

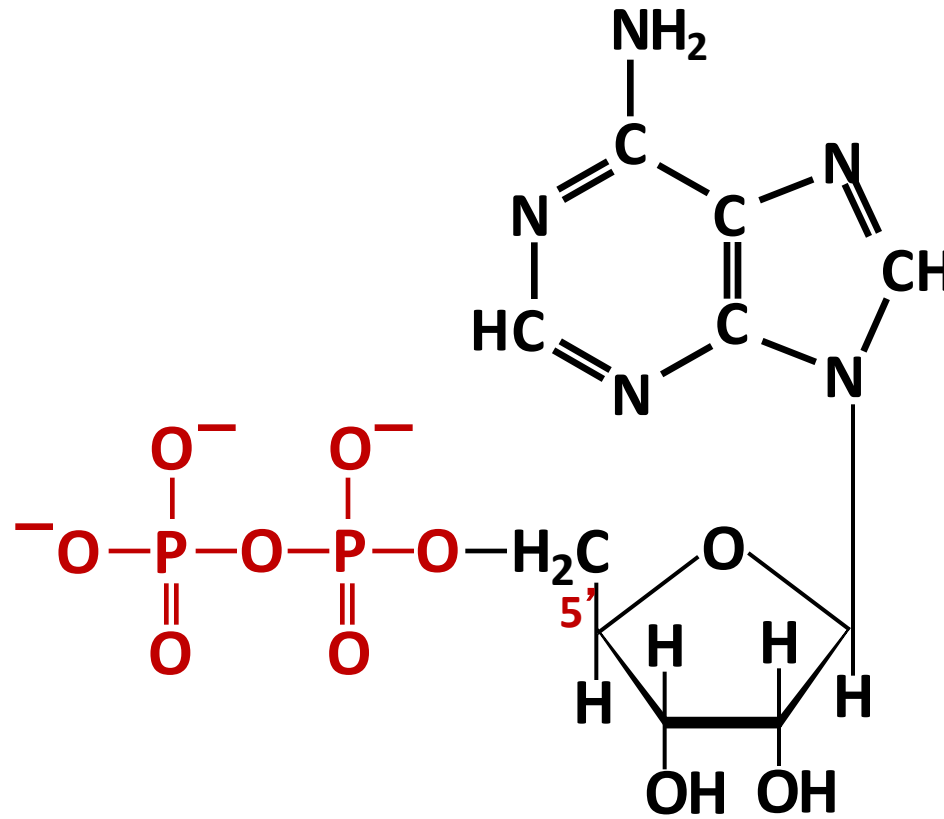
II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -**mono**phosphate



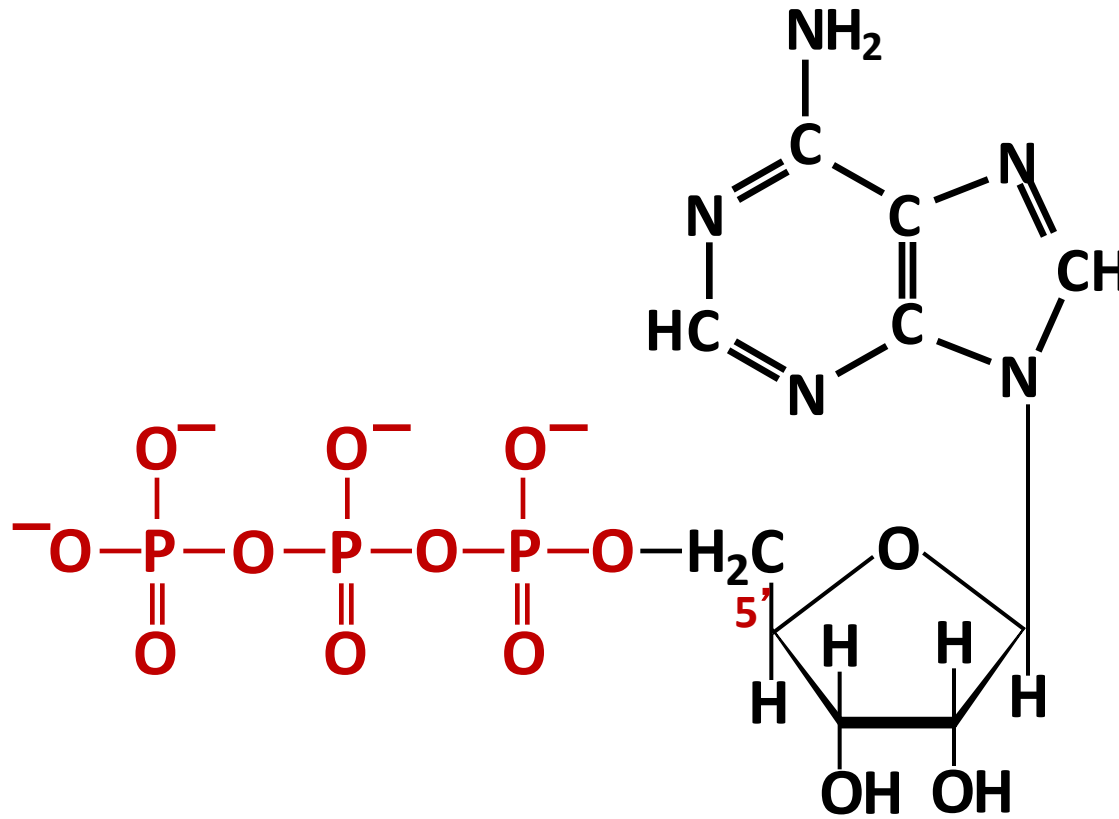
II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -diphosphate



II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -triphosphate



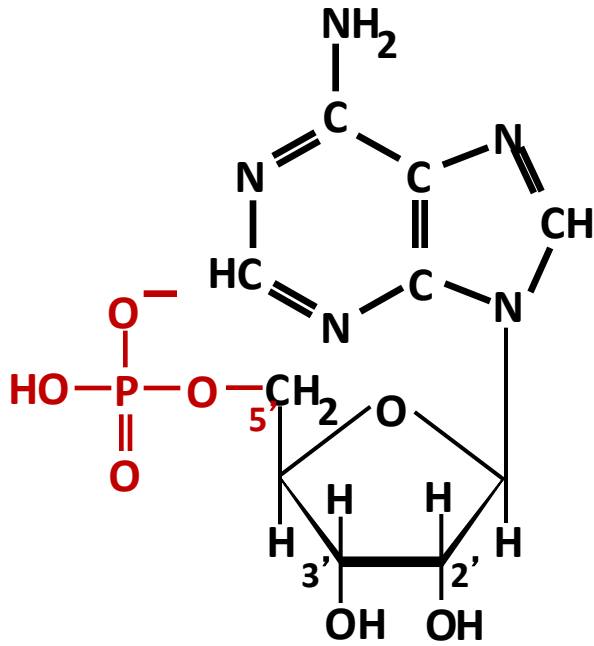
II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

Nomenclature des Nucléosides, Nucléotides et Acides nucléiques

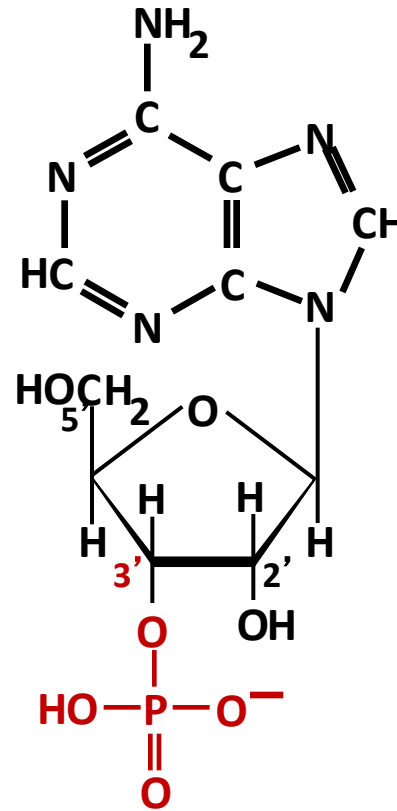
<i>Base</i>	<i>Nucléoside</i>	<i>Nucléotide</i>	<i>ANique</i>	<i>Symbole</i>
Purine				
Adénine	Adénosine	Adénylate	ARN	A, AMP
	Désoxyadénosine	Désoxydénylate	ADN	dA, dAMP
Guanine	Guanosine	Guanylate	ARN	G, GMP
	Désoxyguanosine	Désoxyguanylate	ADN	dG, dGMP
Pyrimidine				
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	ARN	C, CMP
	Désoxycytidine	Désoxycytidylate	ADN	dC, dCMP
Thymine	Désoxythymidine	Désoxythymidylate	ADN	dT, dTMP
Uracile	Uridine	Uridylate	ARN	U, UMP

II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides

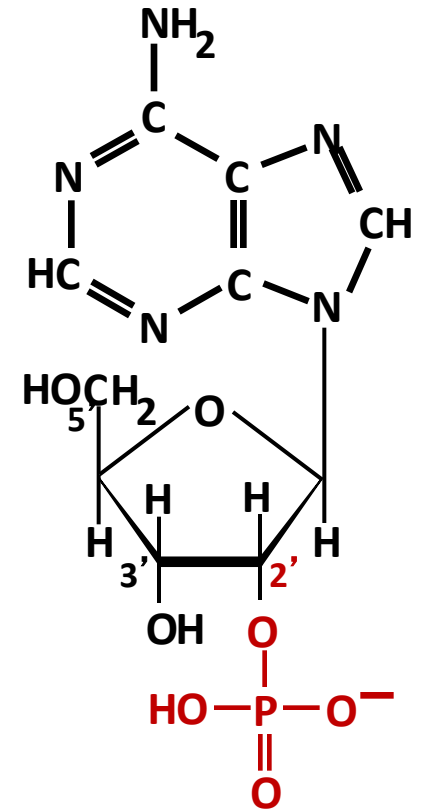
Adénosine-2'-**mon**ophosphate



Adénosine-5'-**mon**ophosphate



Adénosine-3'-**mon**ophosphate



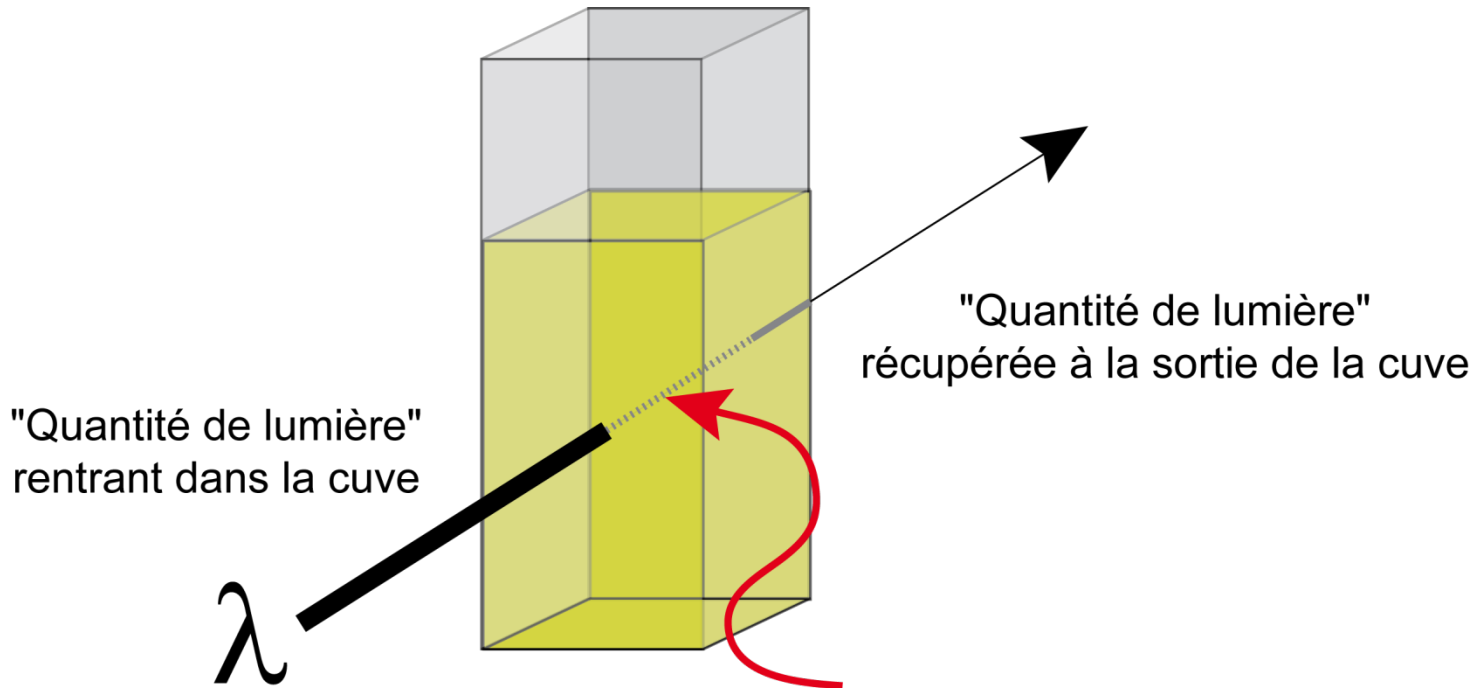
II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

Nomenclature des Nucléosides, Nucléotides et Acides nucléiques

<i>Base</i>	<i>Nucléoside</i>	<i>Nucléotide</i>
Purine		
Adénine	Adénosine	Adénosine-5' -monophosphate
	Désoxyadénosine	Désoxyadénosine-5' monophosphate
Guanine	Guanosine	Guanosine-5' -monophosphate
	Désoxyguanosine	Désoxyguanosine-5' -monophosphate
Pyrimidine		
Cytosine	Cytidine	Cytidine-5' -monophosphate
	Désoxycytidine	Désoxycytidine-5' -monophosphate
Thymine	Désoxythymidine	Désoxythymidine-5' - monophosphate
Uracile	Uridine	Uridine-5' -monophosphate

II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

II.2.a. Propriétés spectroscopiques



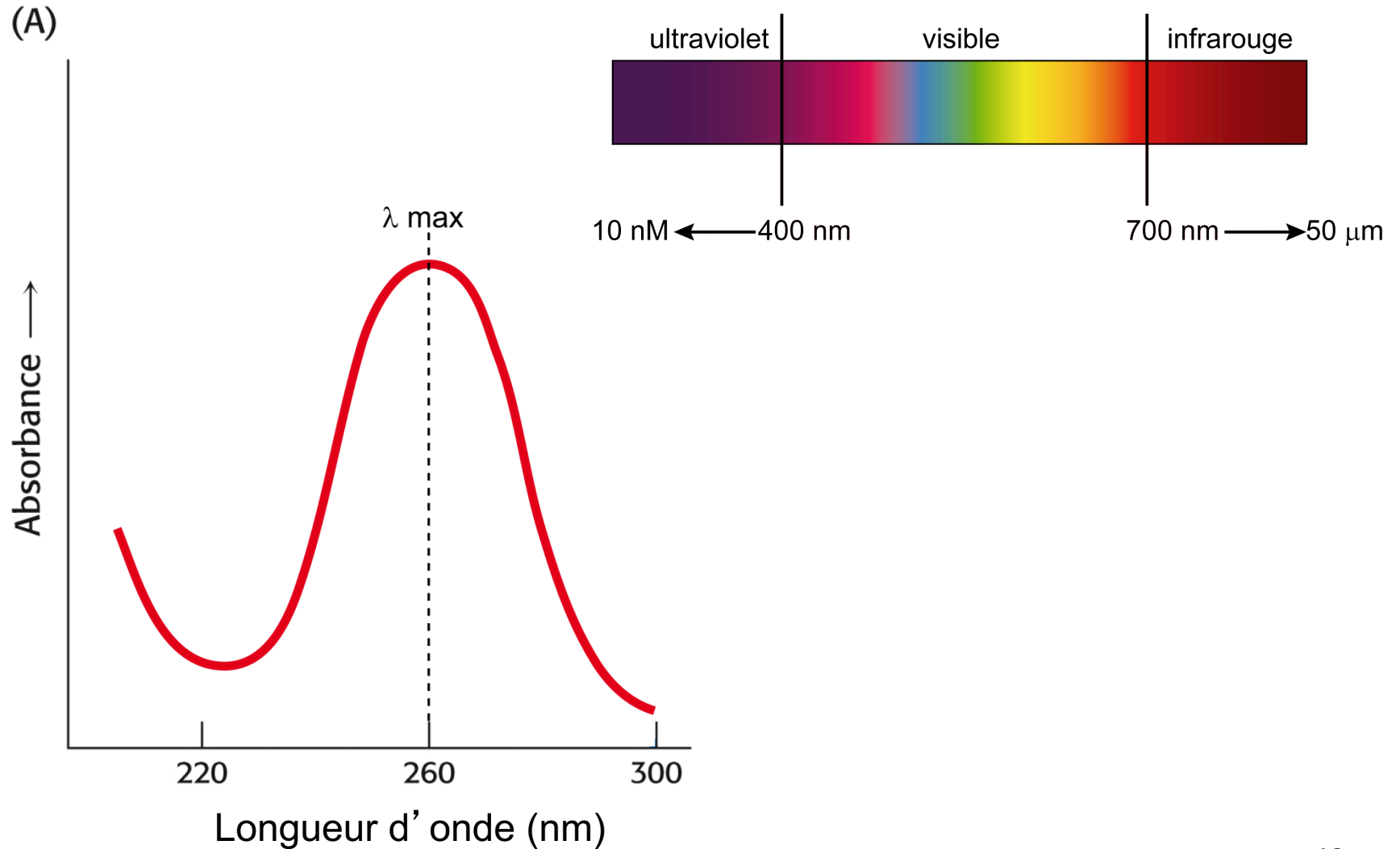
"Quantité de lumière"
rentrant dans la cuve

"Quantité de lumière"
récupérée à la sortie de la cuve

"Quantité de lumière" absorbée
par la molécule présente dans la
cuve = Absorbance. Cette absor-
bance est proportionnelle à la
concentration de la molécule
dans la solution présente dans la
cuve.

II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

II.2.a. Propriétés spectroscopiques



III. 2^{ème} Niveau: Les Macromolécules d' Acides Nucléiques

III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques

III.1.a. La polymérisation des nucléotides (liaison Phosphodiester)

III.1.b. La liaison hydrogène

III.1.c. Les paires de bases

III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques

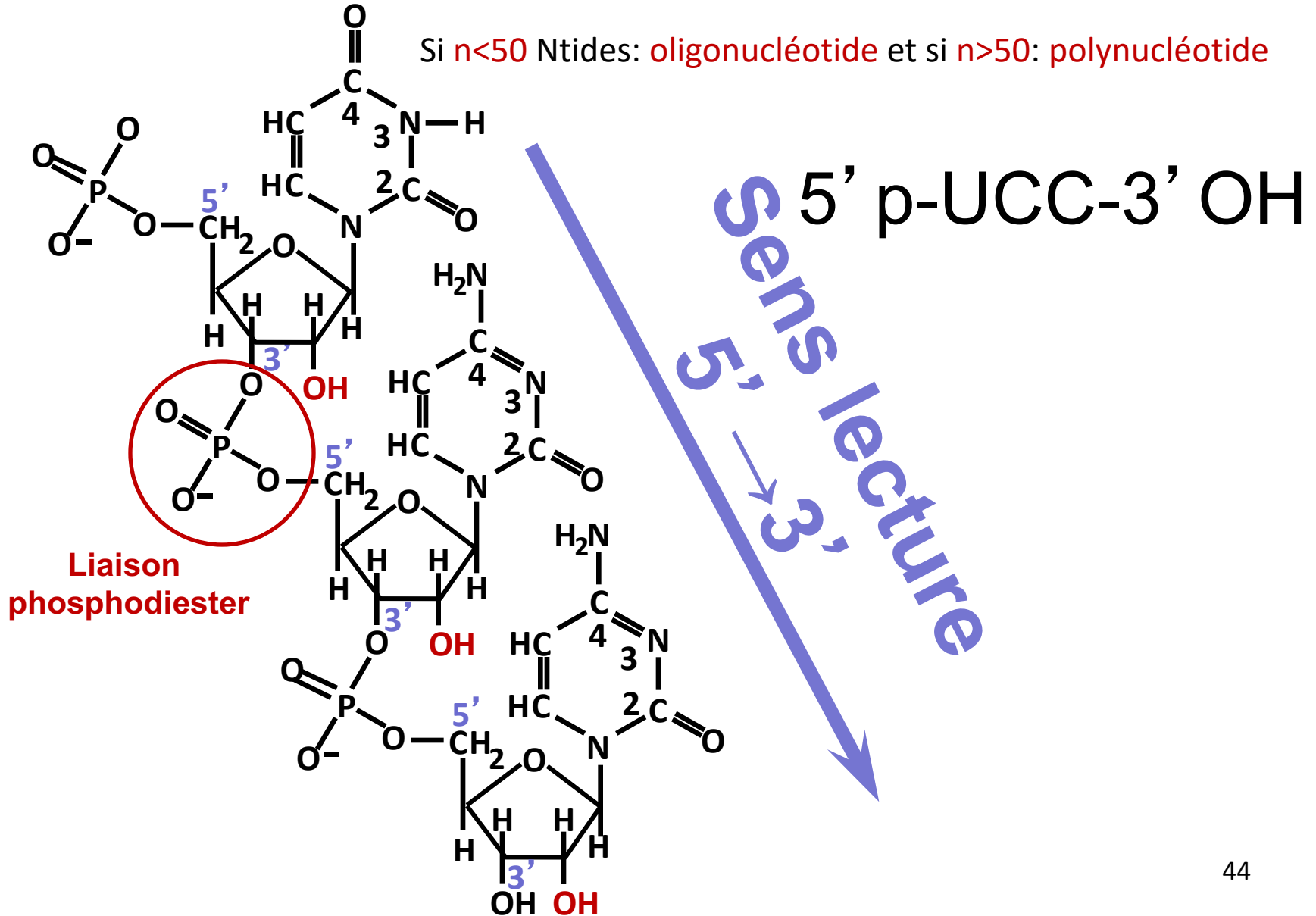
III.2.a. La double hélice d' ADN (Structure III^{aire})

III.2.b. Différentes structures III^{aire} d' ARN

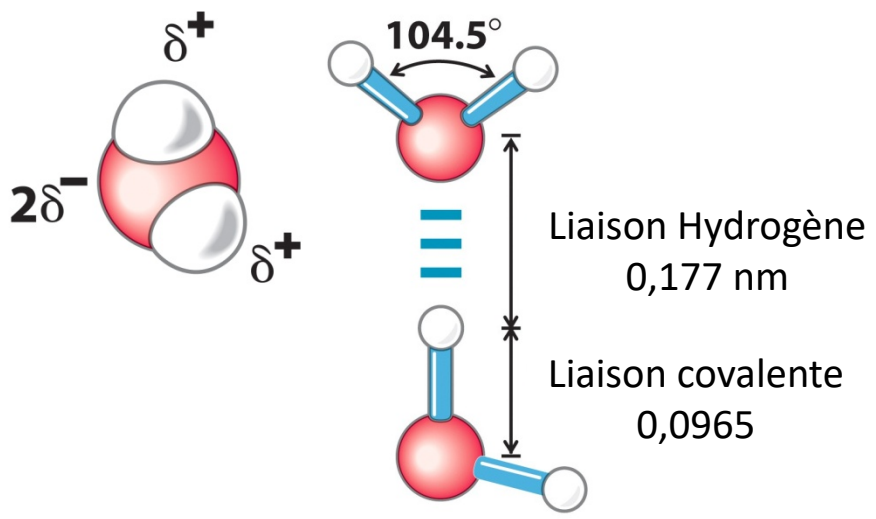
III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques

III.1.a. La polymérisation des nucléotides (liaison Phosphodiester)

Si $n < 50$ Ntides: **oligonucléotide** et si $n > 50$: **polynucléotide**

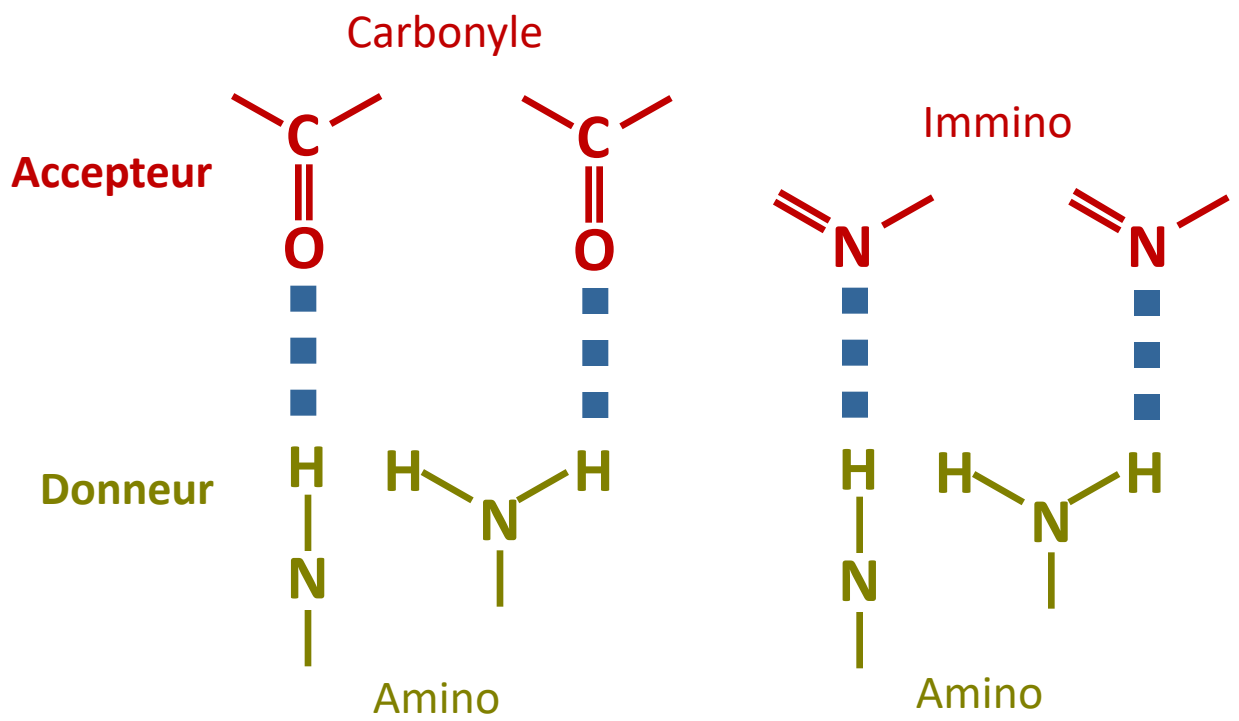


III.1.b. La liaison hydrogène



La **liaison hydrogène** est une liaison physique non covalente, de type dipôle-dipôle. Elle est de basse intensité (vingt fois plus faible que liaison covalente classique), et relie des molécules en impliquant un atome d'hydrogène.

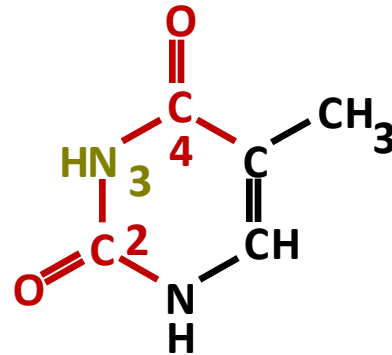
Il faut un donneur de liaison hydrogène et un accepteur :
 le donneur est un composé : azote, oxygène, fluor, porteur d'un atome hydrogène (comme dans les amines, alcools, thiols) ;
 l'accepteur est un composé: uniquement azote, oxygène ou fluor) porteur de doublets libres.



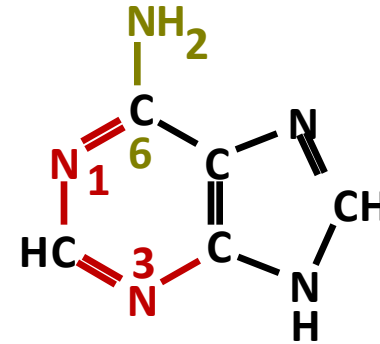
Pour l'établissement des Paires de bases

III.1.c. les paires de bases

Thymine

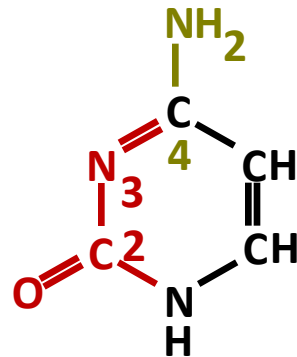


Adénine

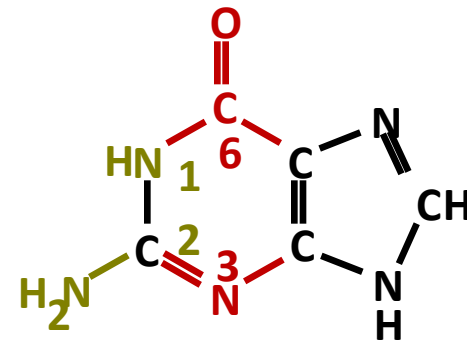


- Les groupements potentiellement impliqués

Donneur de liaison H
Accepteur de liaison H

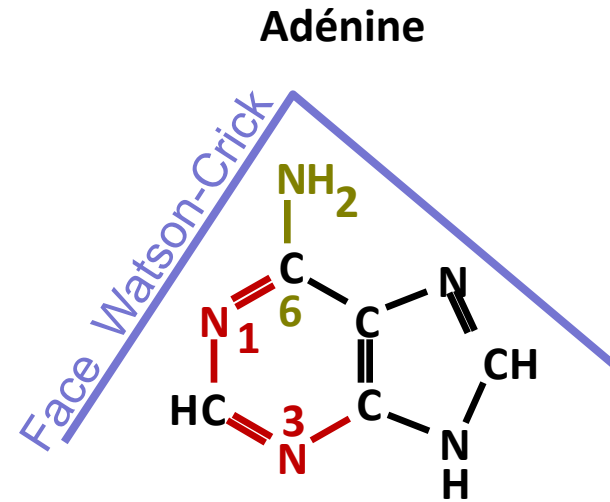
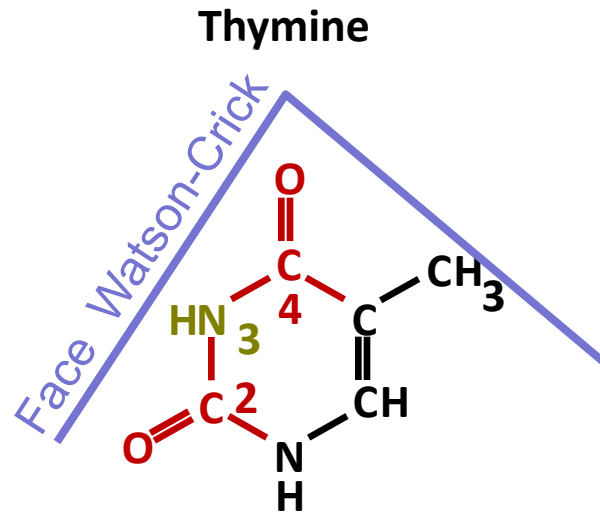


Cytosine

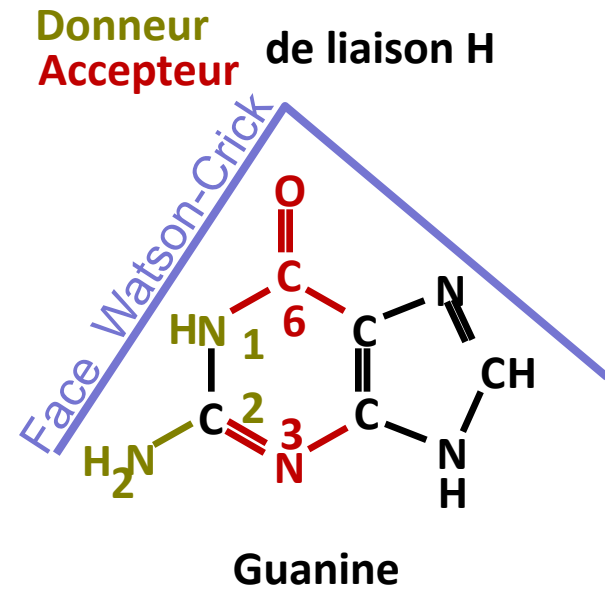
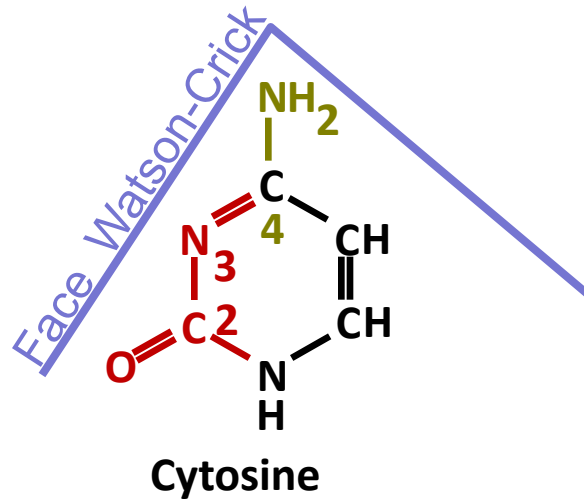


Guanine

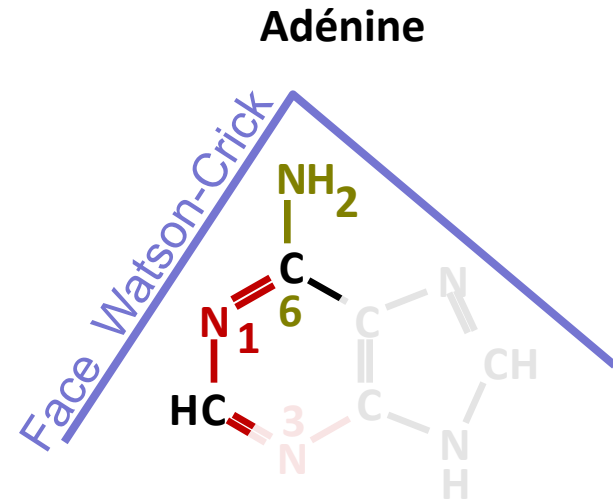
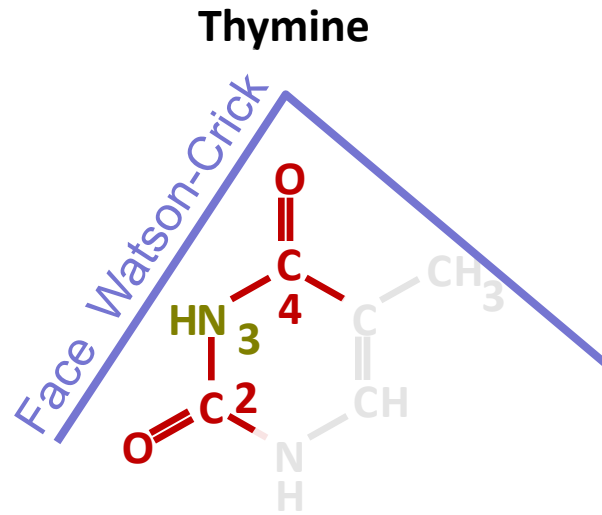
III.1.c. les paires de bases



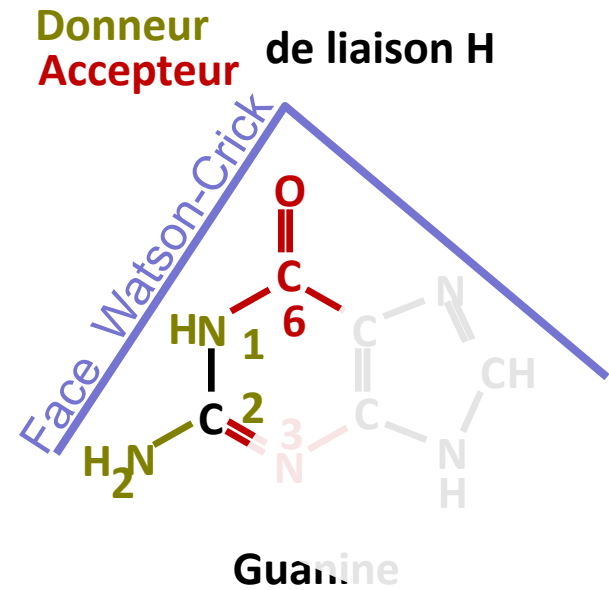
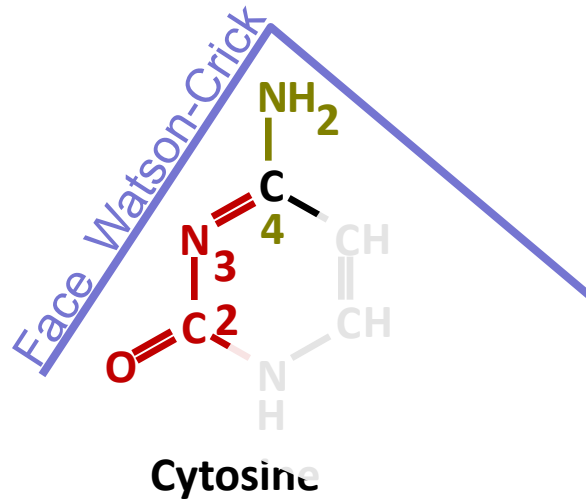
- La face Watson-Crick



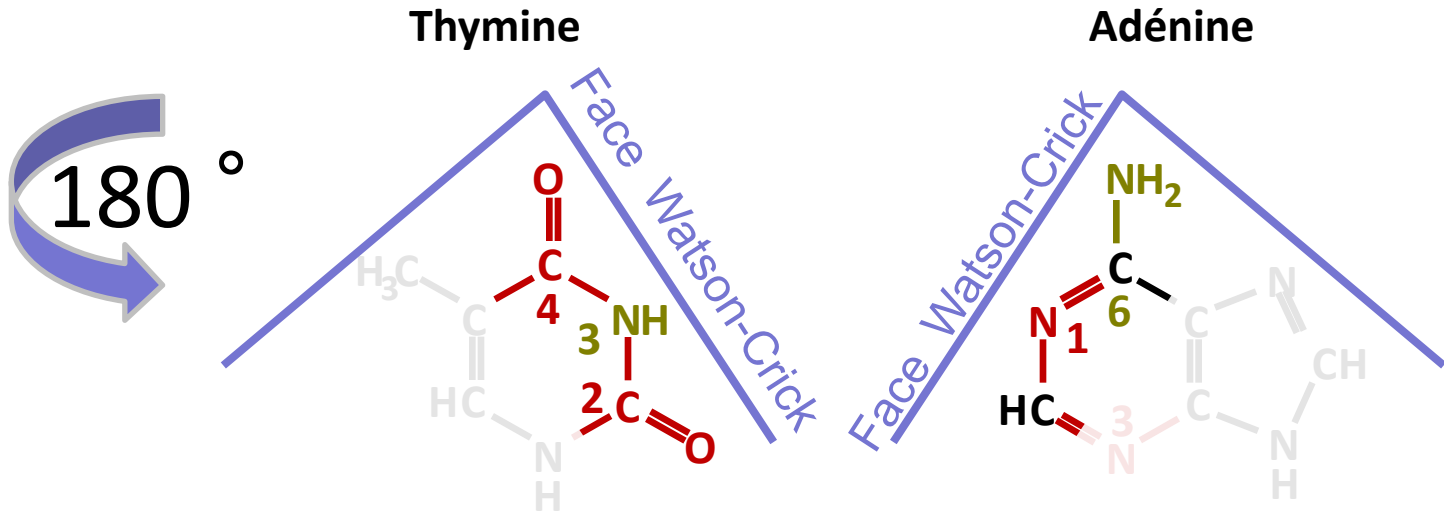
III.1.c. les paires de bases



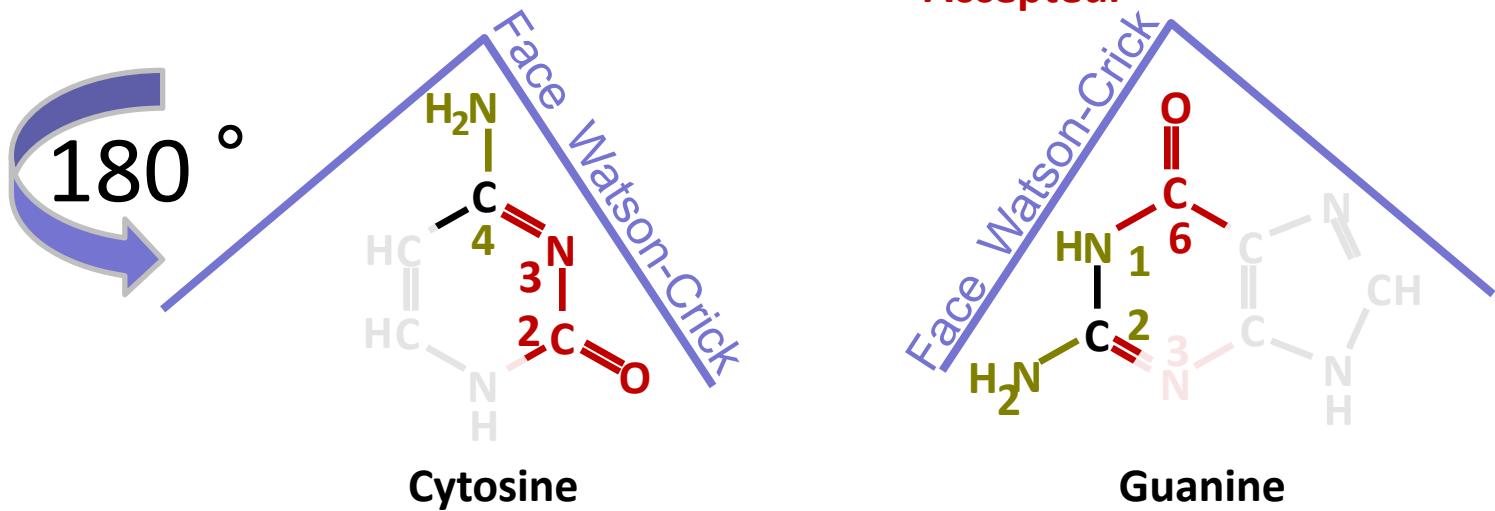
- La face Watson-Crick



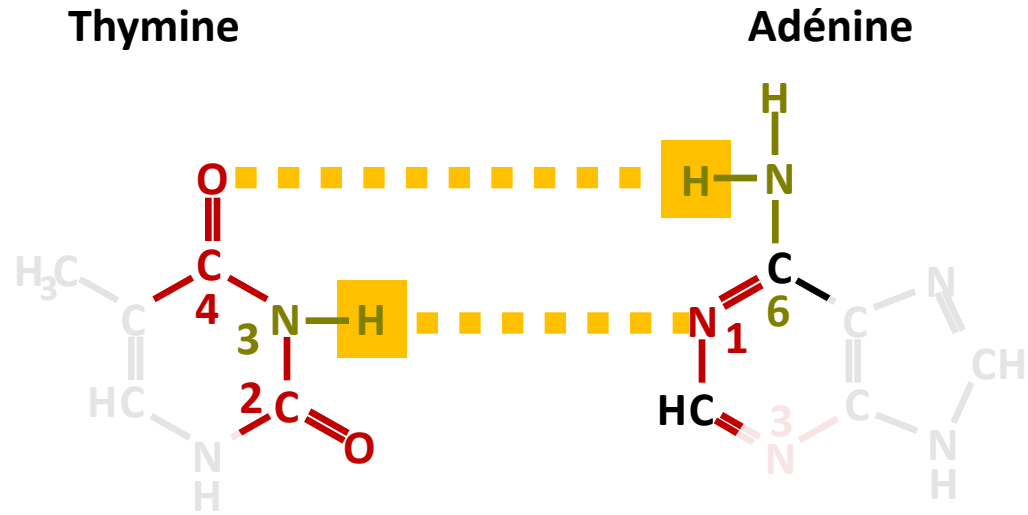
III.1.c. les paires de bases



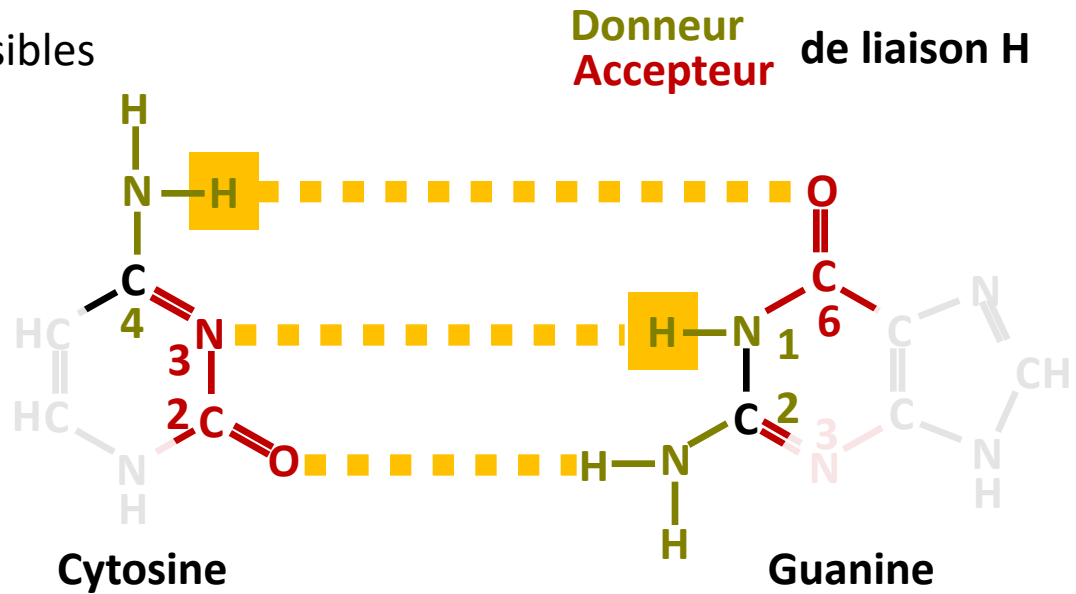
- Le face à face Watson-Crick



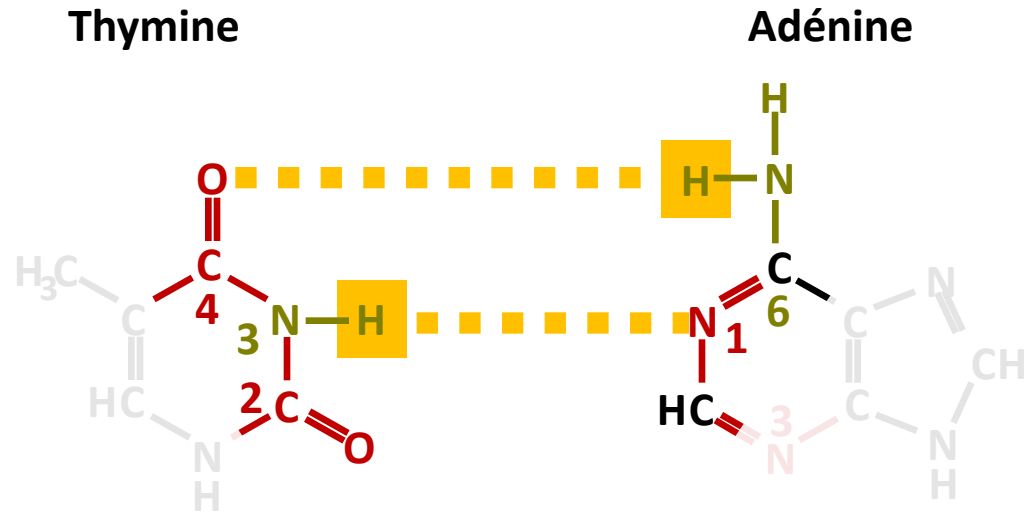
III.1.c. les paires de bases



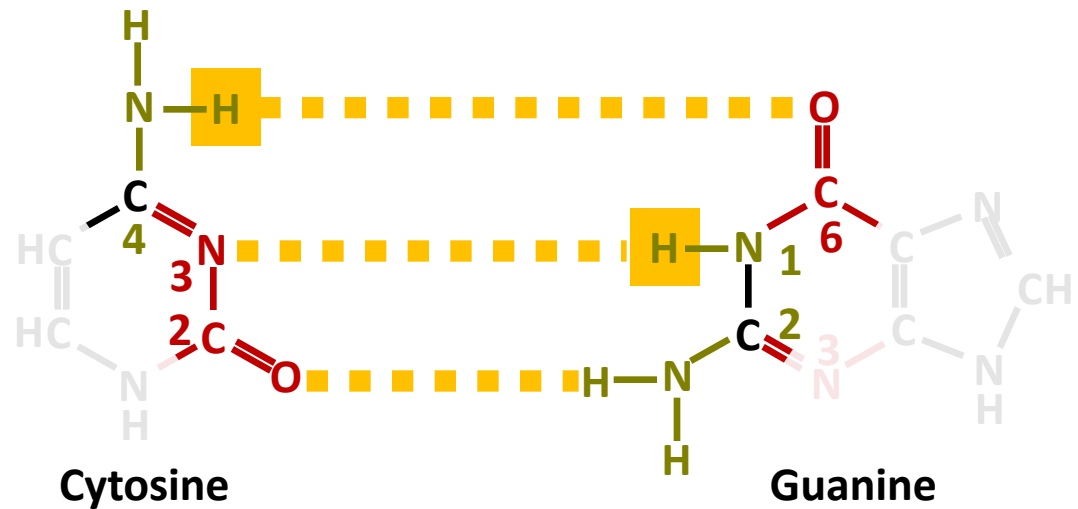
- Les liaisons H possibles



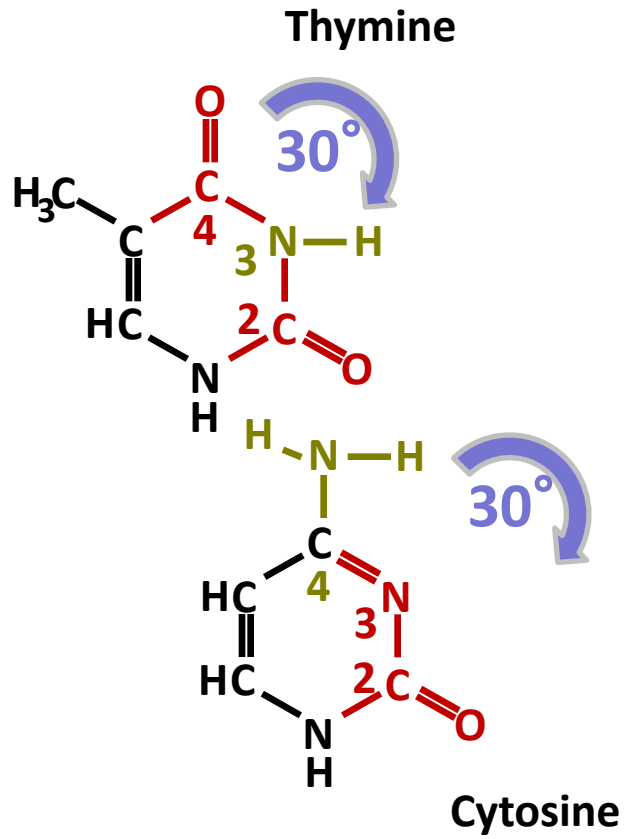
III.1.c. les paires de bases



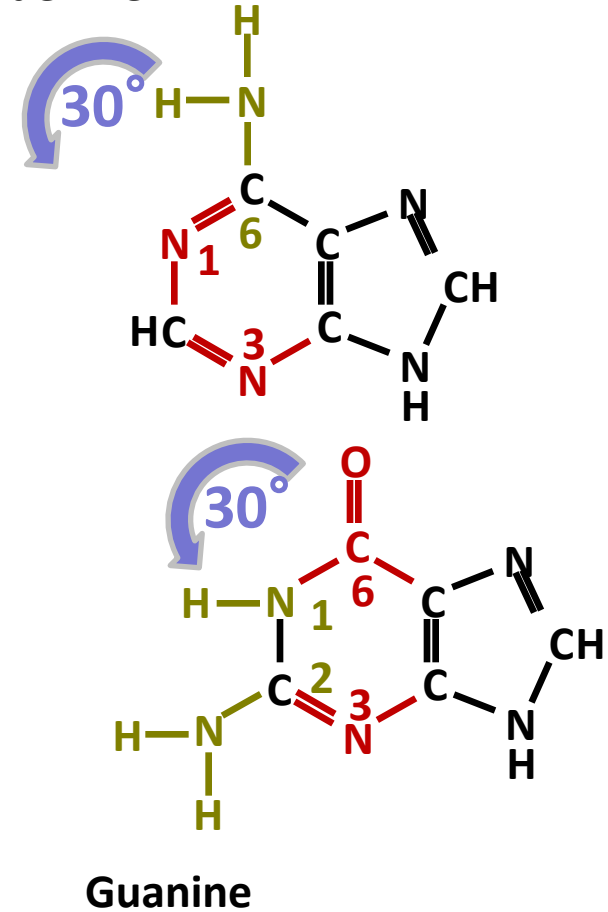
Toujours N₁-H-N₃



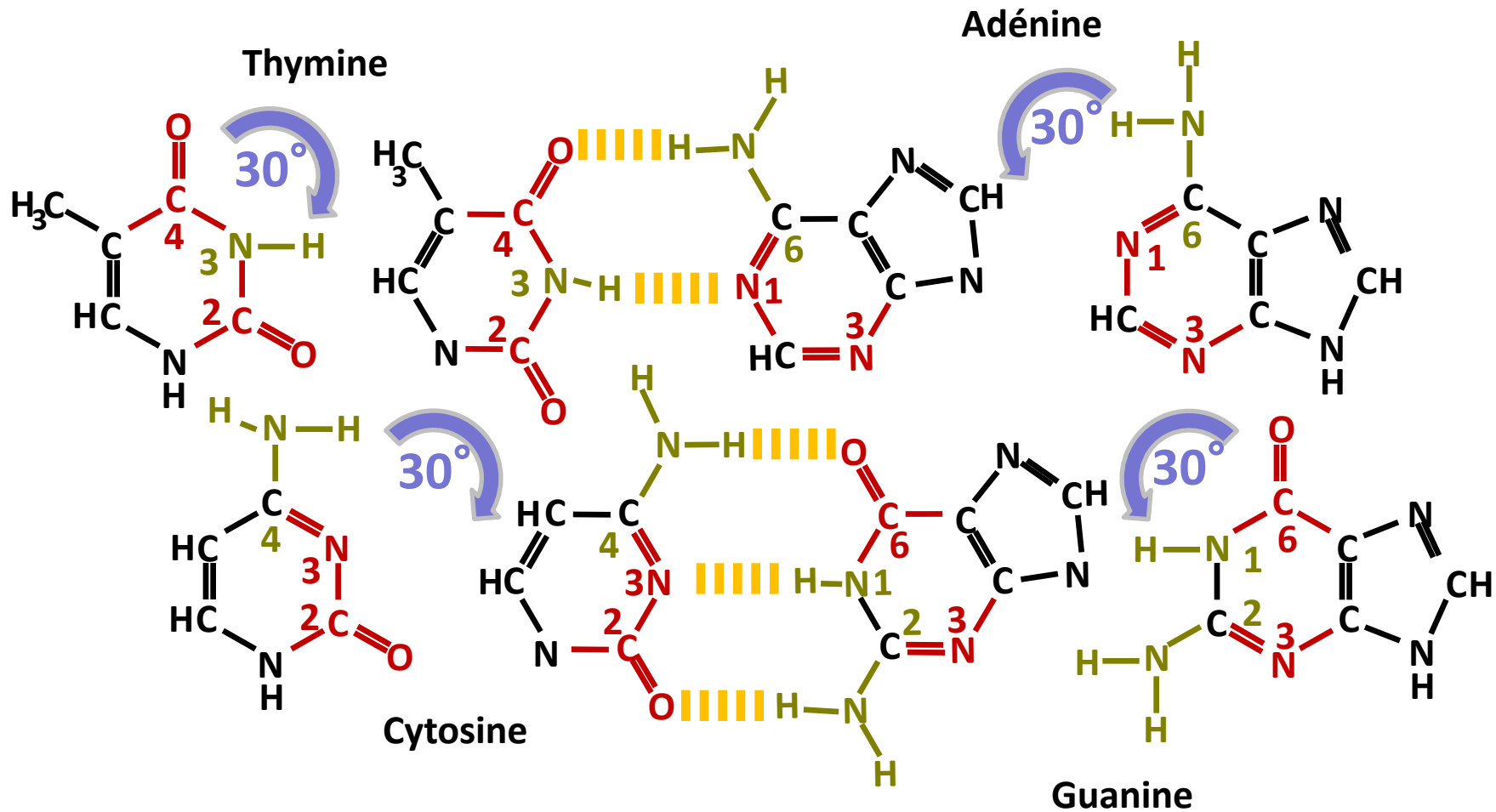
III.1.c. les paires de bases



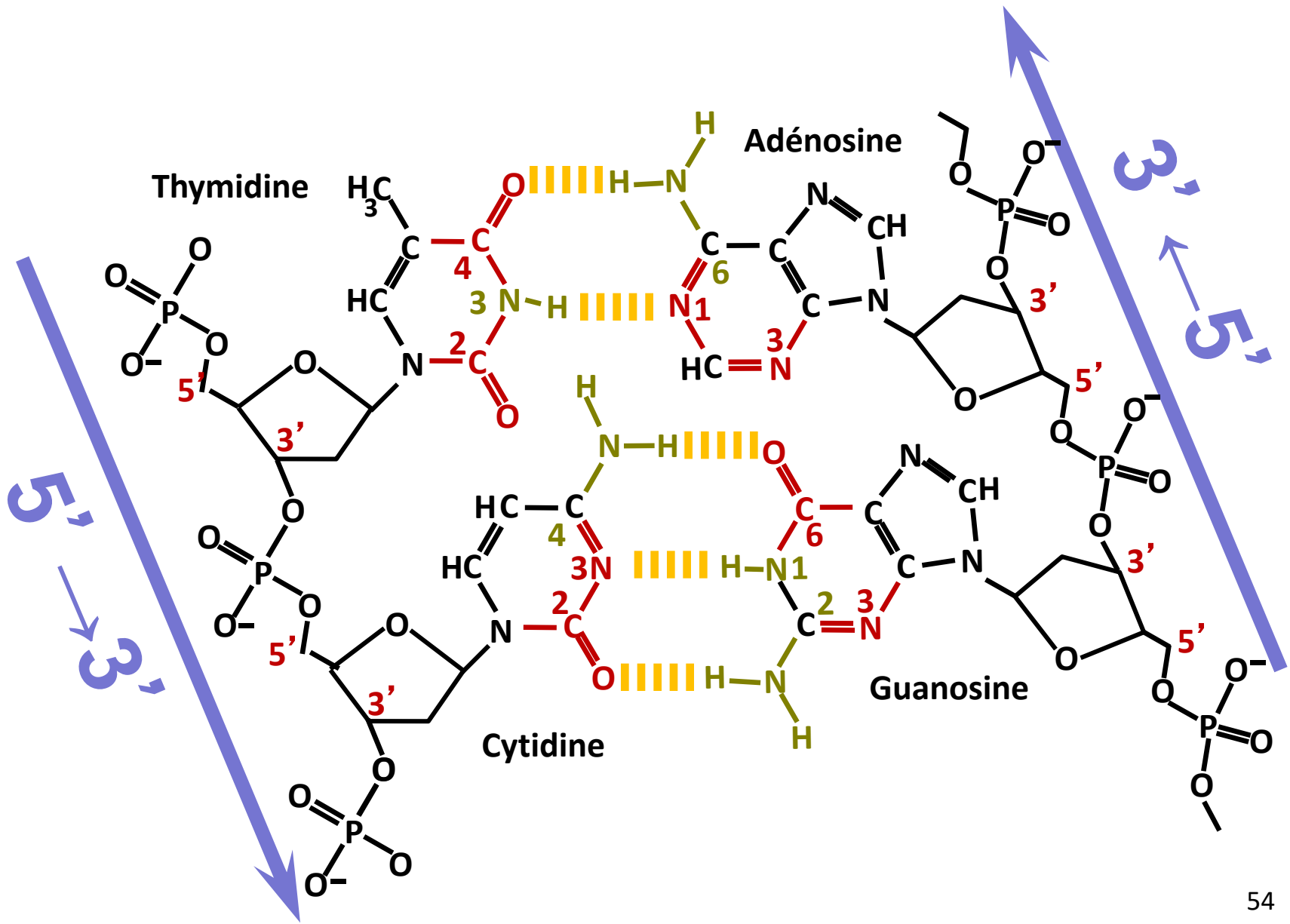
Adénine



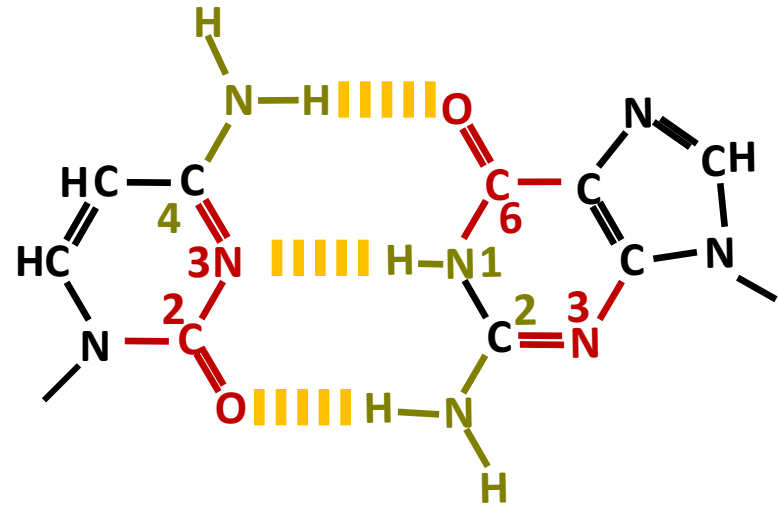
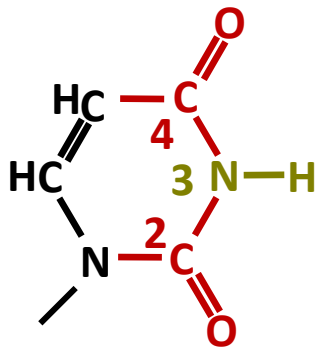
III.1.c. les paires de bases



III.1.c. les paires de bases



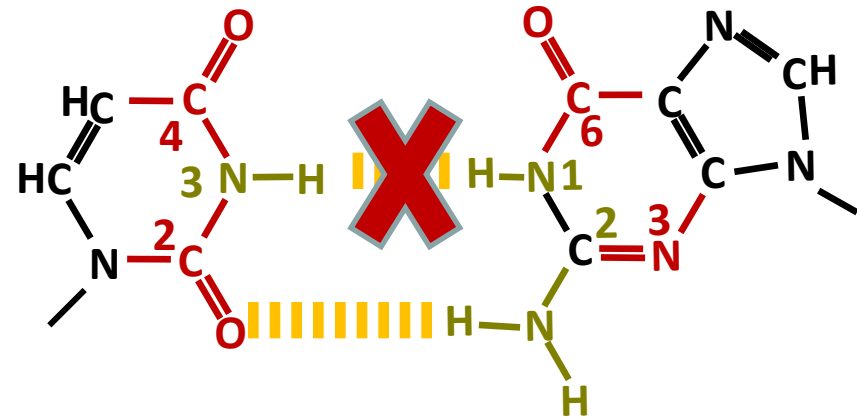
III.1.c. les paires de bases



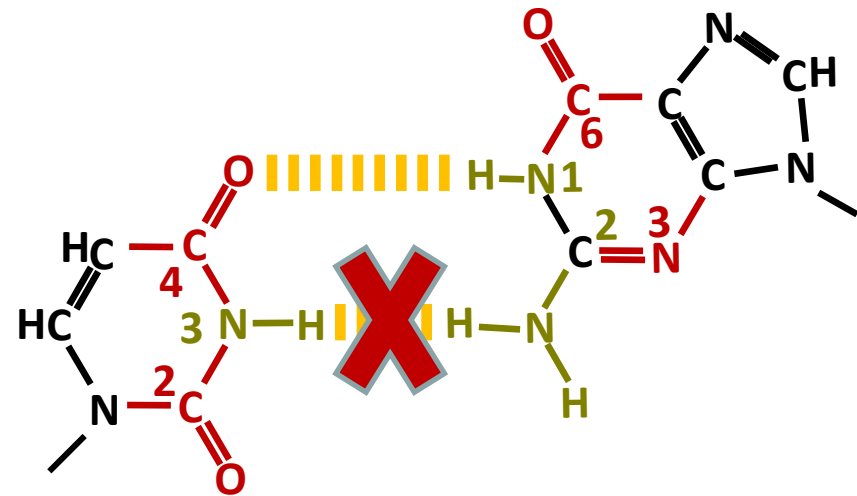
U

C G

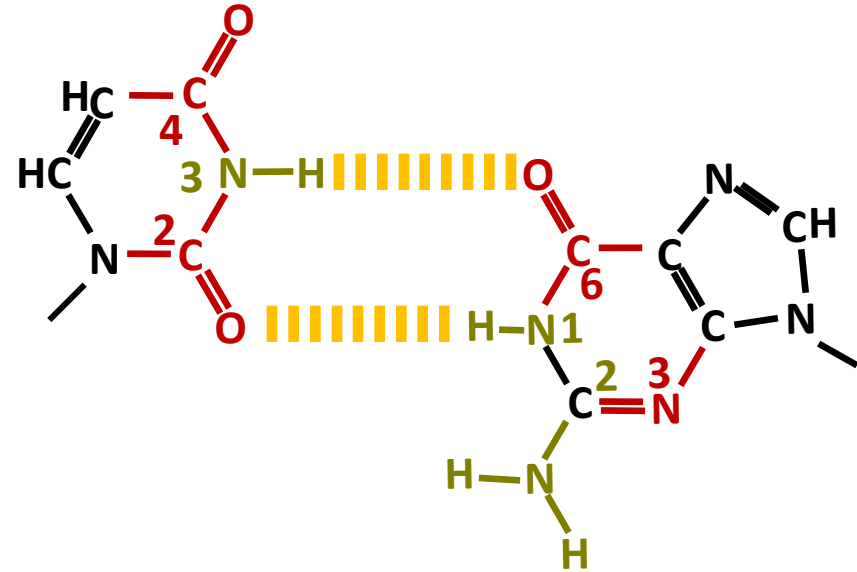
III.1.c. les paires de bases



III.1.c. les paires de bases

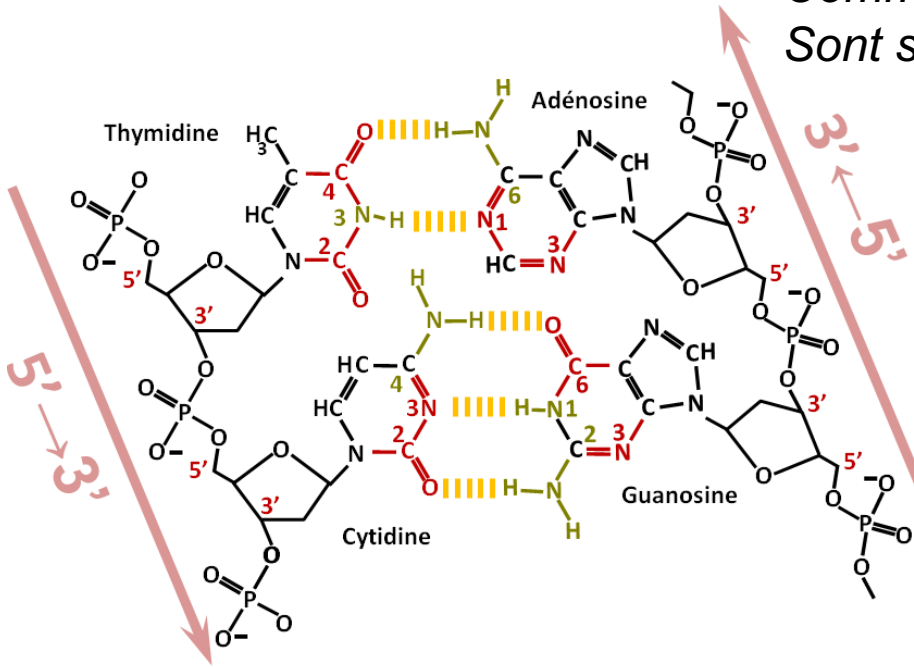


III.1.c. les paires de bases



III.1.c. Les paires de bases

Comme l'ADN est bicaténaire et que les 2 brins sont liés par liaisons hydrogènes A=T et G≡C:



$$\frac{A}{T} = 1 \text{ et } \frac{G}{C} = 1 \text{ d'où } \frac{A+G}{T+C} = 1$$

En revanche le rapport d'asymétrie: $R = \frac{A+T}{G+C} \neq 1$

Il est caractéristique de chaque organisme:

Chez *E. coli* $R=0,87$ il y a donc 53,47% de pdb $G \equiv C$ et 46,52 de pdb $A=T$. Comme $G \equiv C$ 3 liaisons H et $A=T$ 2 liaisons H, plus il y a de $G \equiv C$ plus la structure bicaténaire de l'ADN est stable c'est pourquoi les organismes vivant à haute température ont un %age de $G \equiv C$ important.

III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques

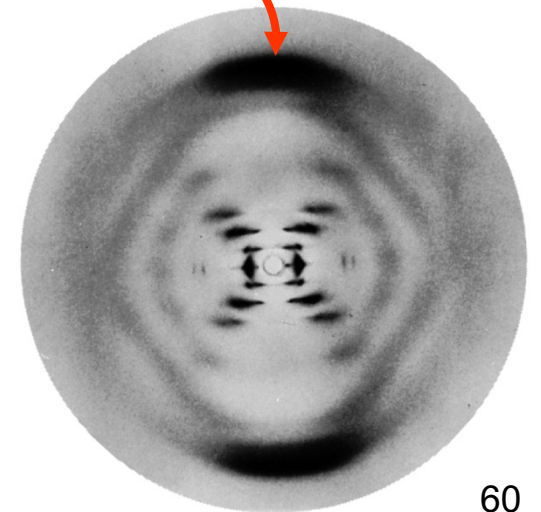


James Watson

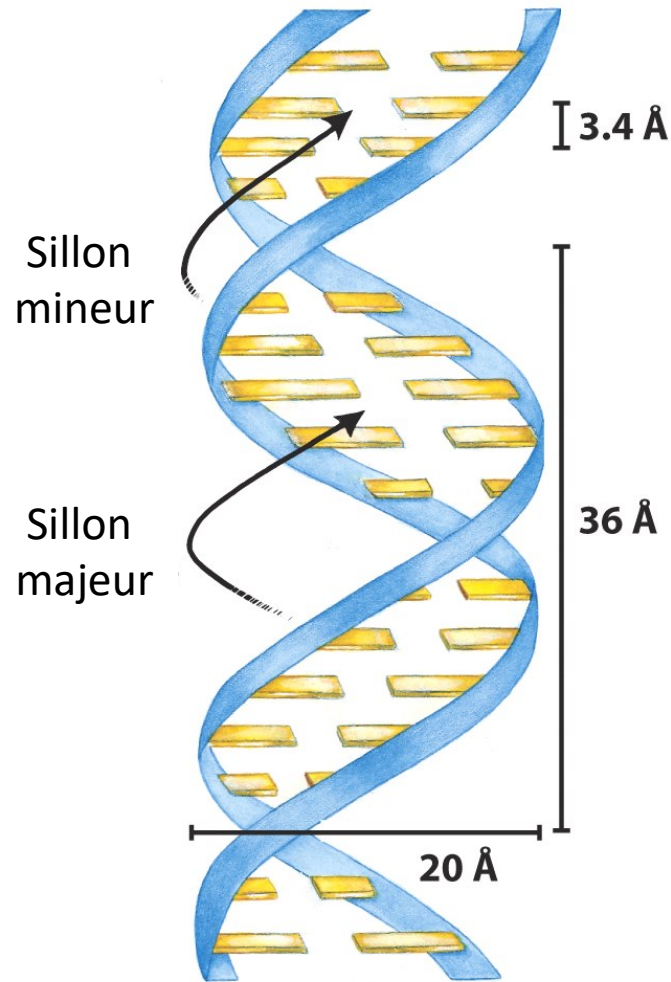
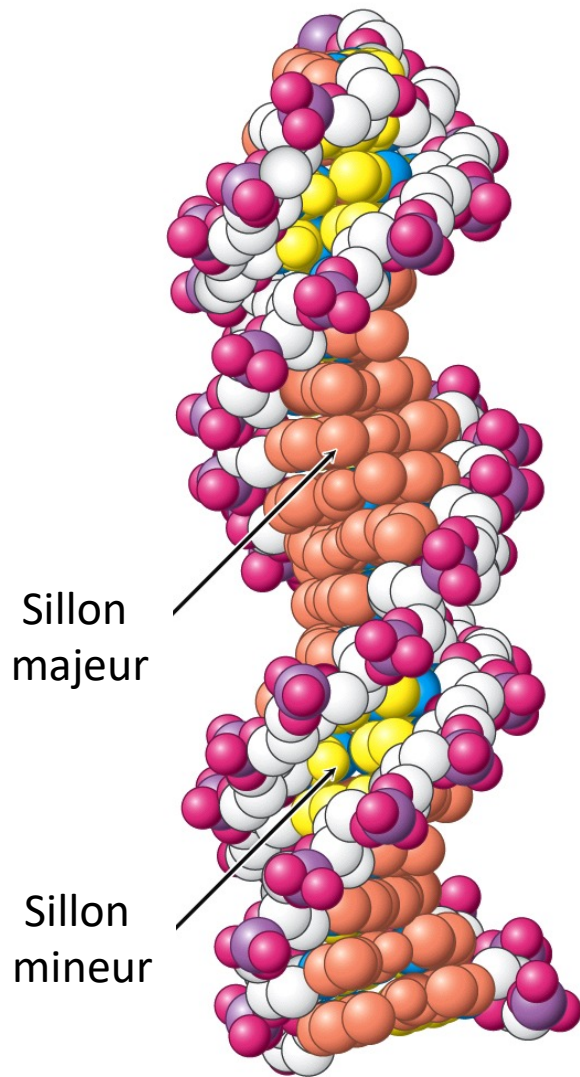


Francis Crick

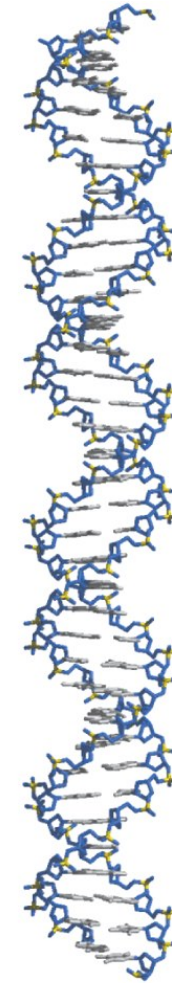
3,4 Å de
résolution



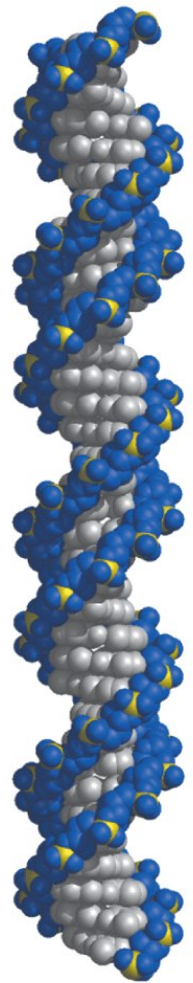
III.2.a. La double hélice d'ADN (Structure IIIaire)



(a)

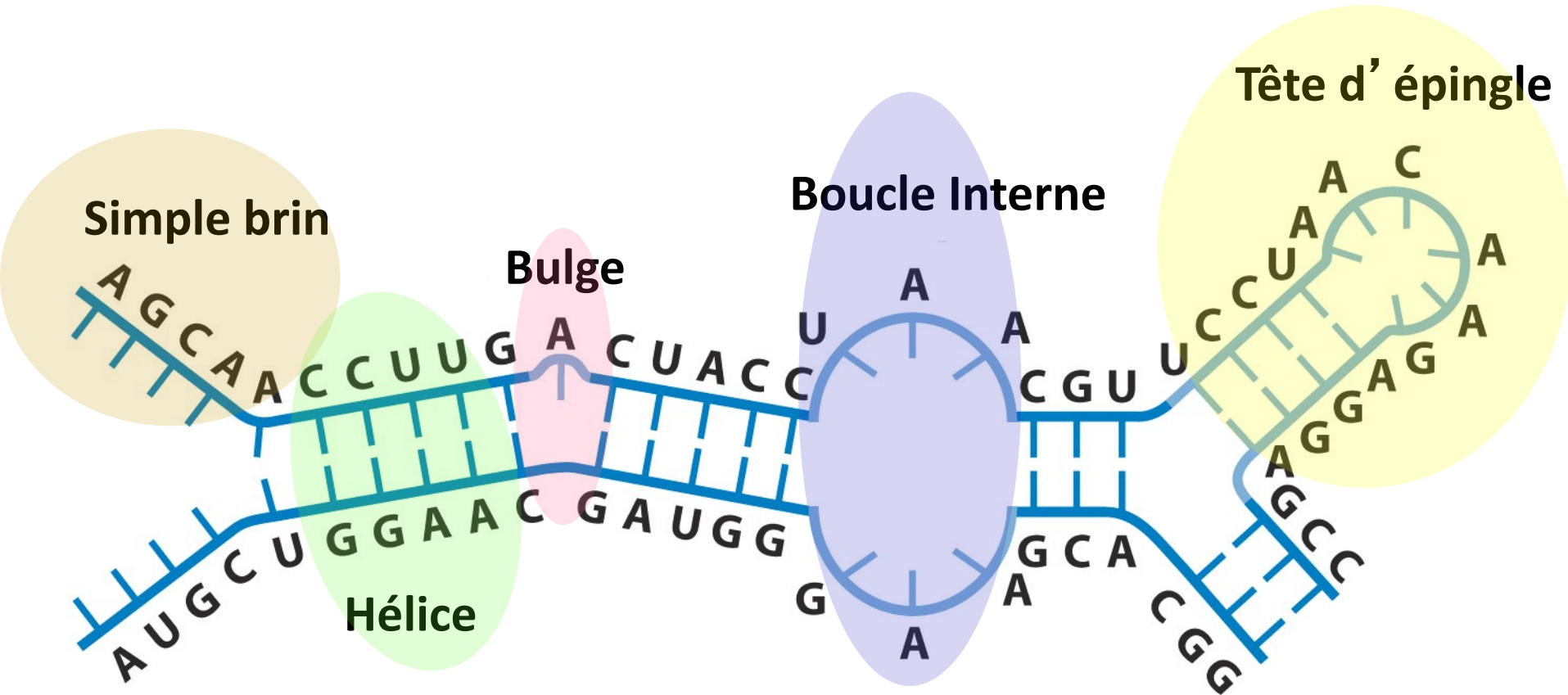


(b)



(c)

III.2.b. Différentes structures IIIaire d'ARN



IV. 3ème Niveau: Les Complexes supramoléculaires (IV^{aire})

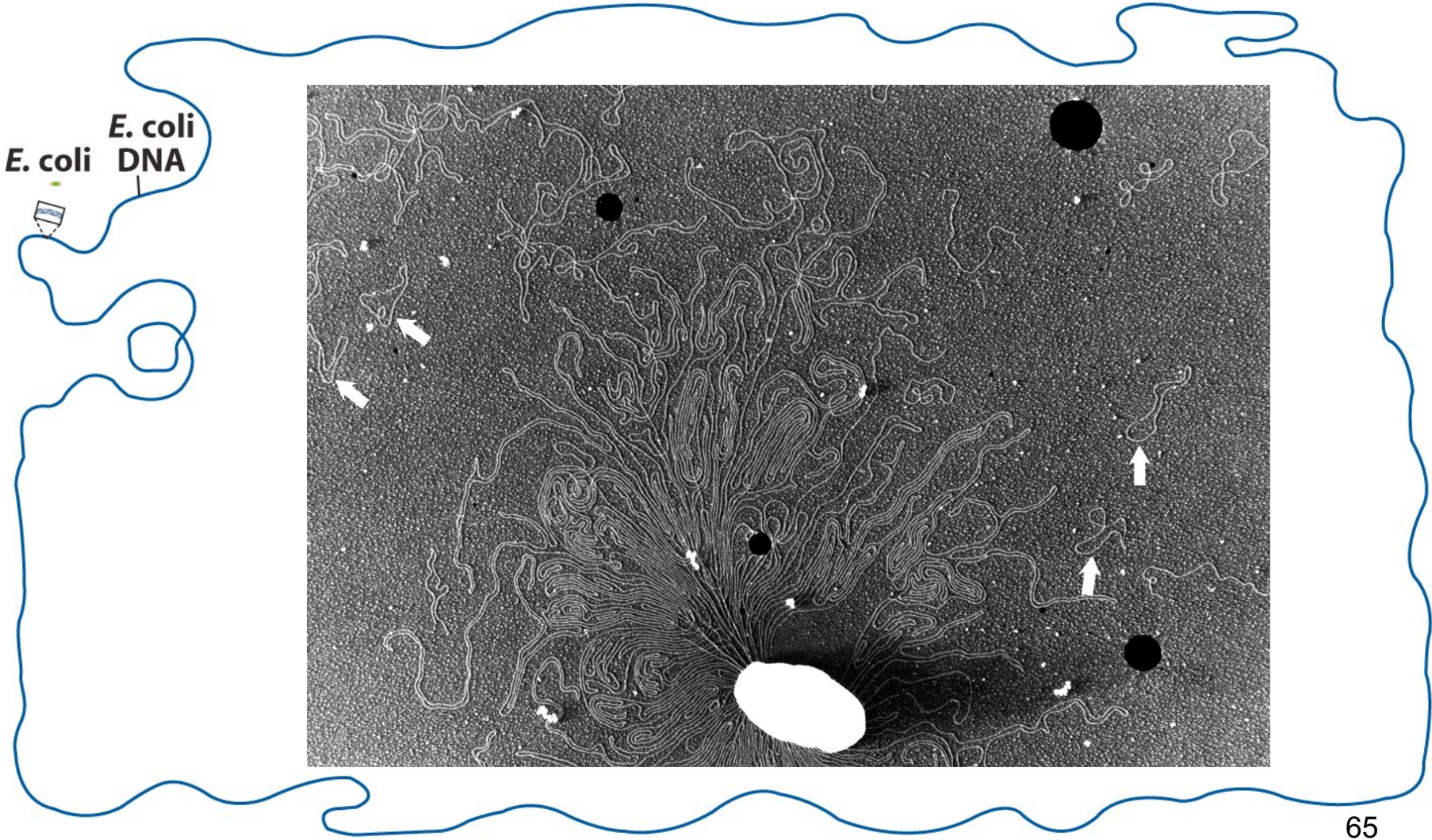
IV.1. Structures quaternaires de l'ADN

IV.1.a. Chez les procaryotes

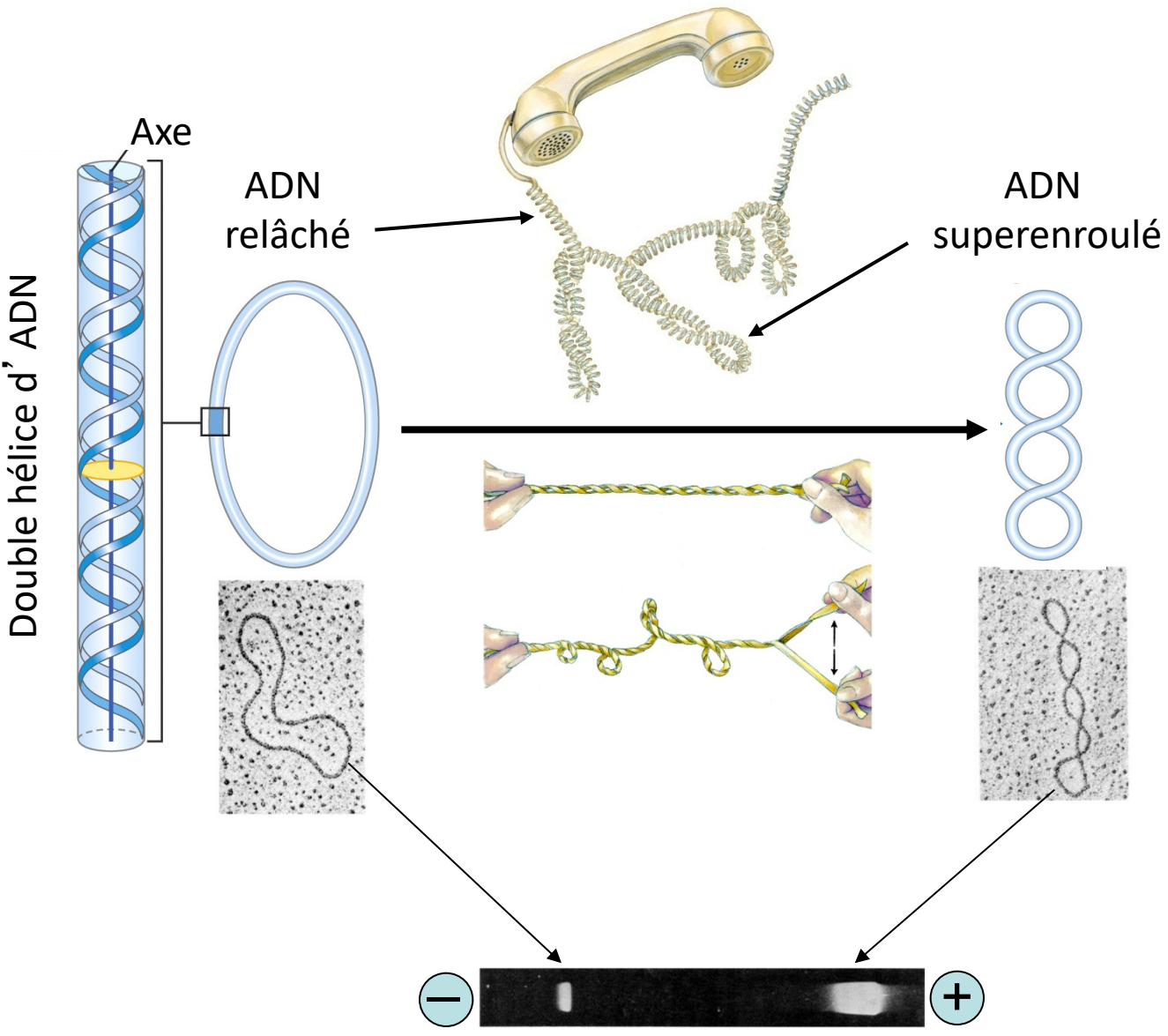
IV.1.b. Chez les eucaryotes

IV.1.a. Structures quaternaires de l'ADN chez les procaryotes

L'ADN chromosomique ou plasmidique bactérien doit être compacté

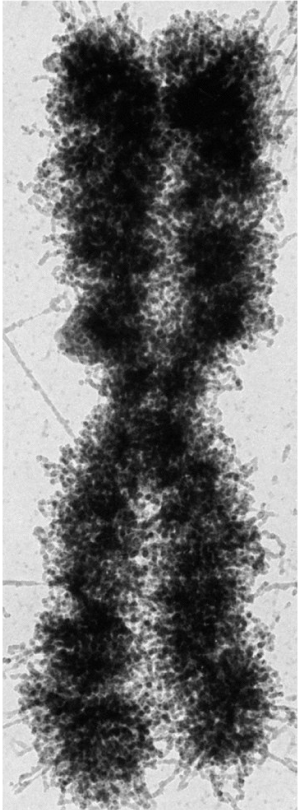


IV.1.a. Structures quaternaires de l'ADN chez les procaryotes



IV.1.b. Structures quaternaires de l'ADN chez les eucaryotes

Une cellule humaine contient environ 2 m d'ADN repartis dans 46 chromosomes qui sont renfermés dans un noyau de 6 μ M.



Les chromosomes sont tous constitués d'une seule molécule d'ADN qui est condensée par la formation de différents niveaux d'enroulements ou boucles

V. Manipulation des acides nucléiques

V.1. Couper l'ADN

V.1.a. Les endonucléases de restriction

V.2. Couper l'ARN

V.2.a. L'hydrolyse alcaline

V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques

V.3.a. Dénaturation thermique, hyperchromicité

V.3.b. Hybridation

V.3.c. Température de fusion

V.4. fractionner les acides nucléiques

V.4.a. Par chromatographie échangeuse d'ions

V.4.b. Par électrophorèse en gel d'agarose ou d'acrylamide

V. Manipulation des acides nucléiques

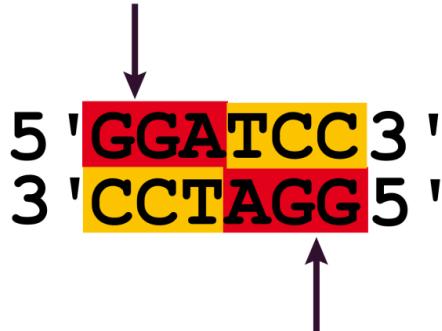
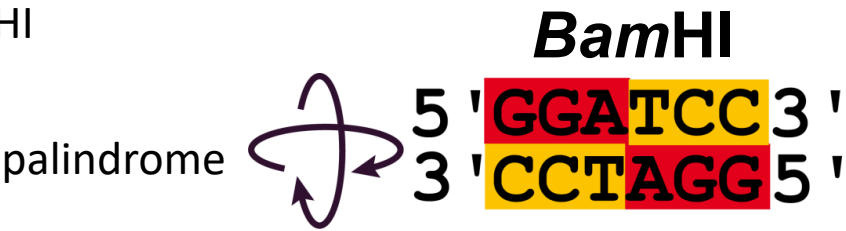
V.1. Couper l'ADN

Il existe des exonucléase qui coupent l'ADN DB à partir de l'extrémité soit 3' OH soit 5'
La digestion est récurrente.

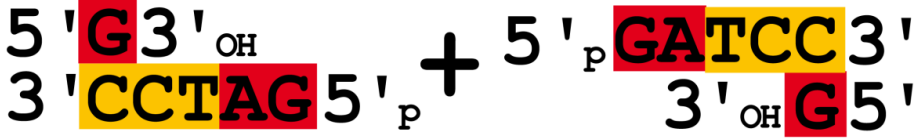
V.1.a Les endonucléases de restriction

Elles hydrolysent l'ADN DB en faisant une coupure interne.

Ex: *Bam*HI



Coupure du site *Bam*HI
par *Bam*HI

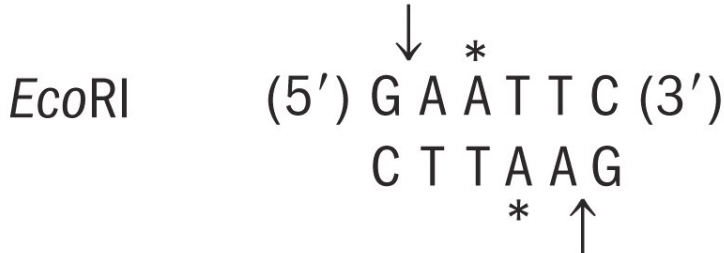
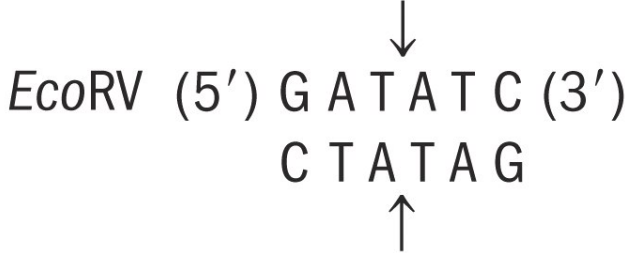
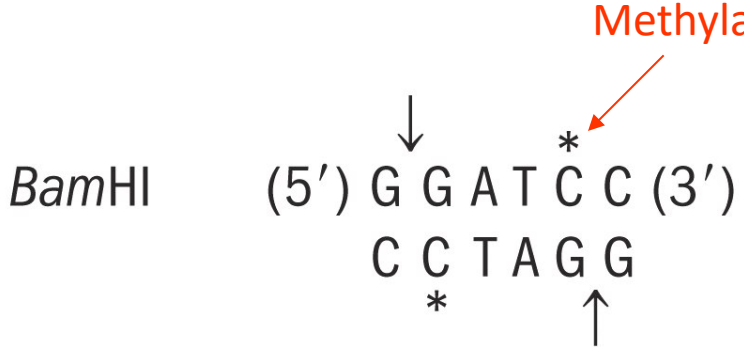


V.1.b Les endonucléases de restriction

Elles font partie du système dit de "Restriction/Modification". Ces enzymes sont là pour protéger la bactérie qui les produit, contre l'entrée dans la cellule d'ADN exogène. Pour éviter que son propre ADN ne soit coupé par les ER certaines bases des sites de restriction reconnus par ces ER sont méthylées par des méthylases spécifiques.

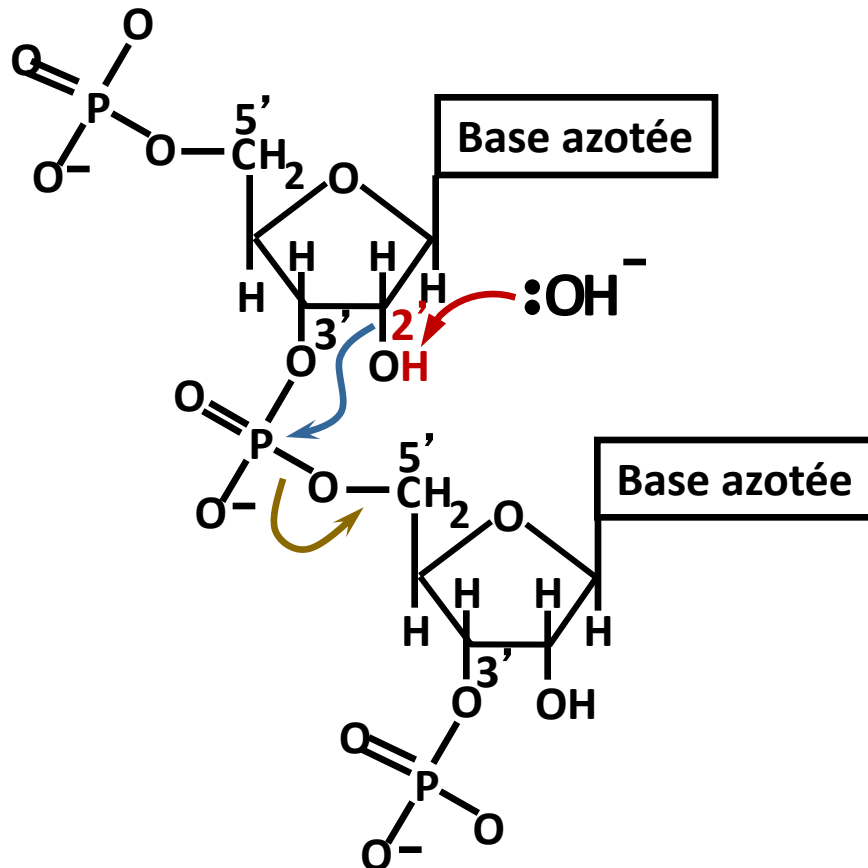
Libère des extrémités cohésives

Libère des extrémités franches



V.2. Couper l'ARN

V.2.a. L'hydrolyse alcaline



Du fait d'un 2'-OH les liaisons phosphodiesteres de l'ARN peuvent être hydrolysées à pH alcalin

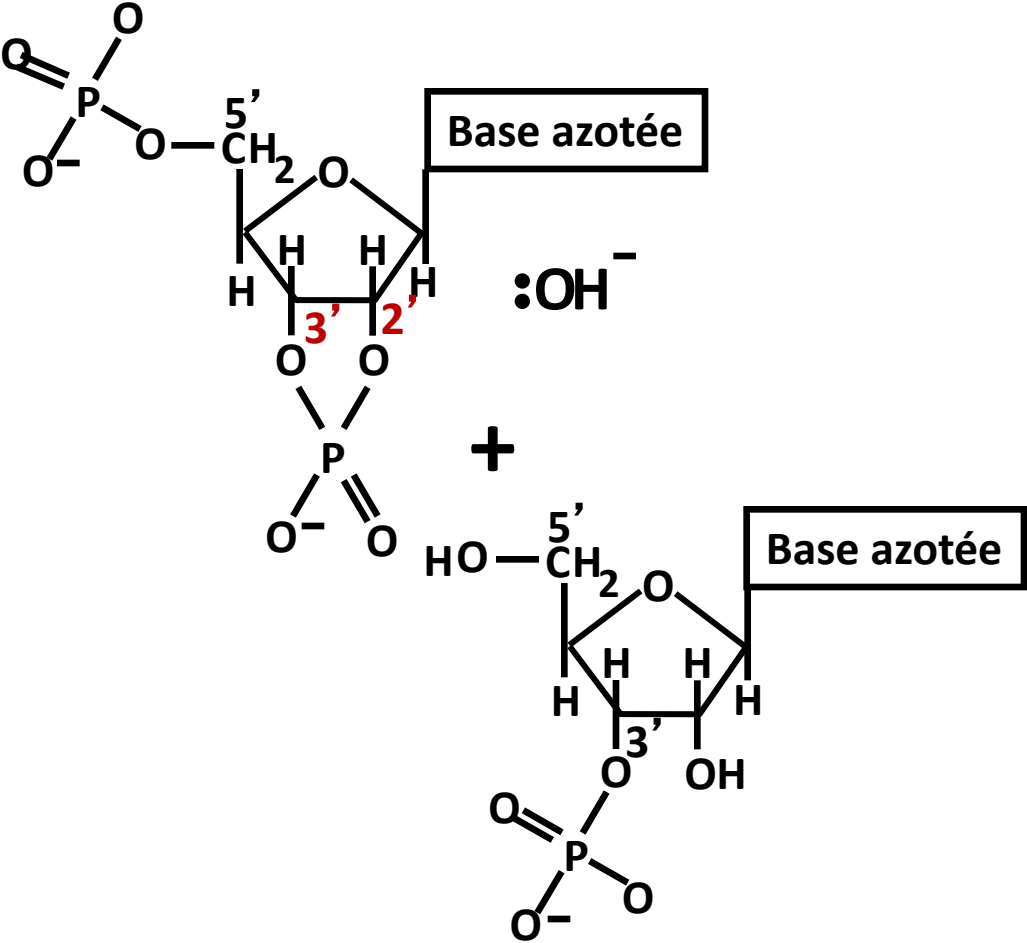
Déprotonation du groupe 2'-OH

Facilite l'attaque nucléophile du noyau phosphore proche

Clivage de la chaîne de l'ARN et Formation d'un cycle phosphate lié aux C2' et C3'

V.2. Couper l'ARN

V.2.a. L'hydrolyse alcaline



Du fait d'un 2'-OH les liaisons phosphodiester de l'ARN peuvent être hydrolysées à pH alcalin

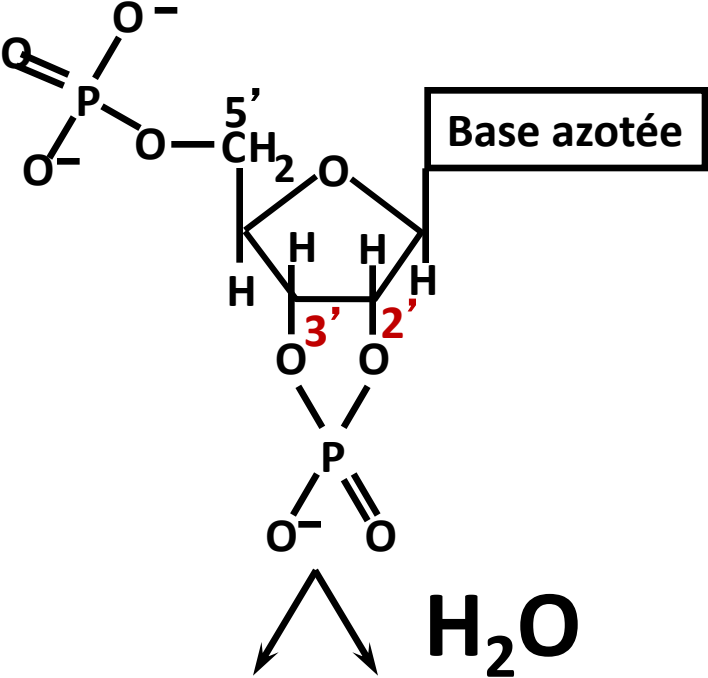
Déprotonation du groupe 2'-OH

Facilite l'attaque nucléophile du noyau phosphore proche

Clivage de la chaîne de l'ARN et Formation d'un cycle phosphate lié aux C2' et C3'

V.2. Couper l'ARN

V.2.a. L'hydrolyse alcaline

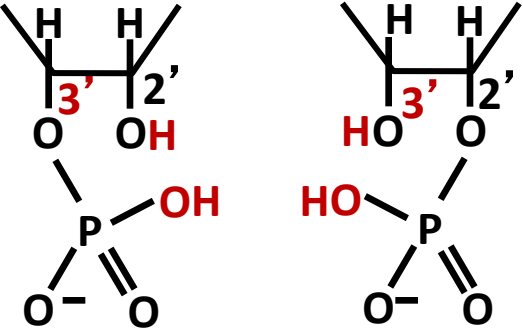


Du fait d'un 2'-OH les liaisons phosphodiesteres de l'ARN peuvent être hydrolysées à pH alcalin

Déprotonation du groupe 2'-OH

Facilite l'attaque nucléophile du noyau phosphore proche

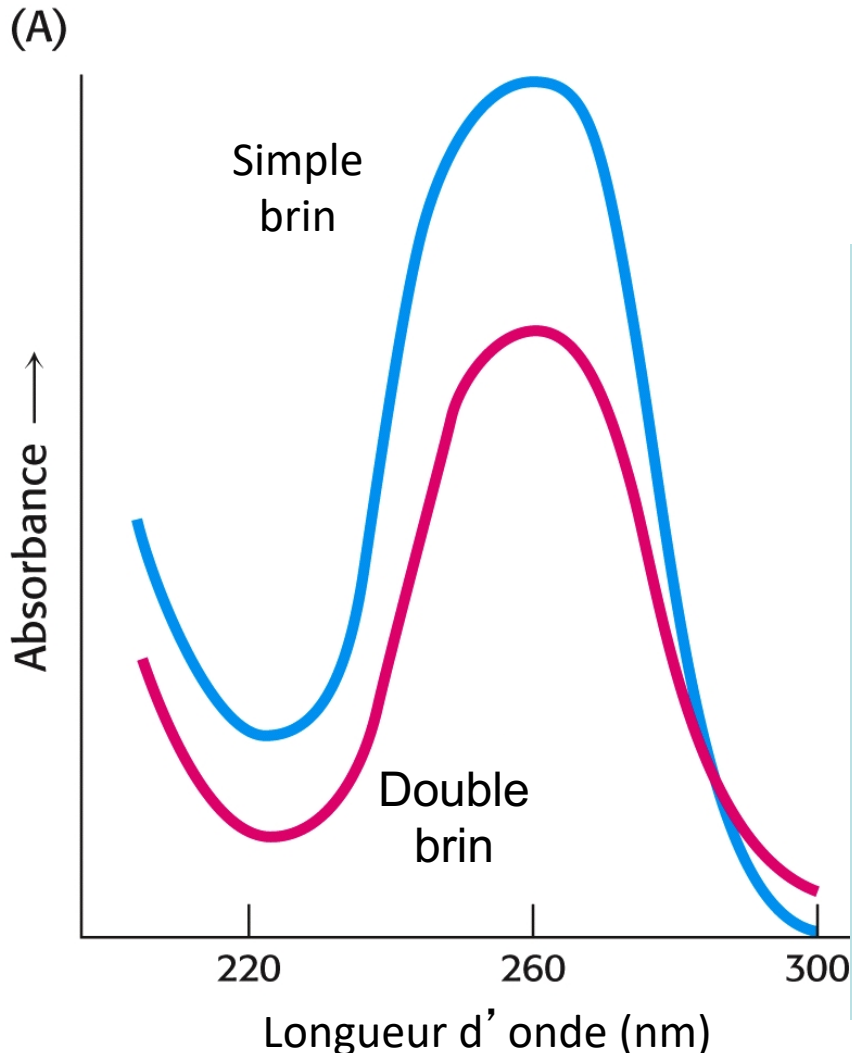
Clivage de la chaîne de l'ARN et Formation d'un cycle phosphate lié aux C2' et C3'



Mélange de Nucléotides 2' et 3' monophosphate

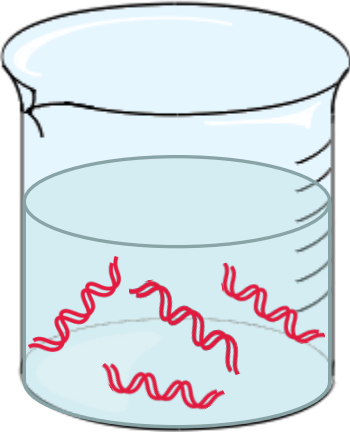
V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques

V.3.a. Dénaturation thermique, hyperchromicité

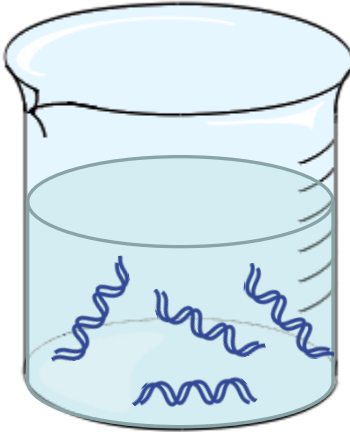


L'ADN absorbe à 260 nm à cause des doubles liaisons conjuguées des bases puriques et pyrimidiques. Dans une double hélice d'ADN les bases sont empilées et ceci diminue leur absorption dans l'UV. Lorsque l'on chauffe l'ADN, les brins se séparent, les bases sont plus exposées et la densité optique à 260 nm augmente. C'est l'hyperchromicité ou effet hyperchrome qui est dû à la séparation des 2 brins d'ADN appelée fusion, cad à la rupture des liaisons des paires de bases.

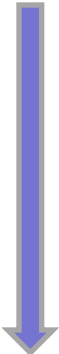
V.3.b. Hybridation



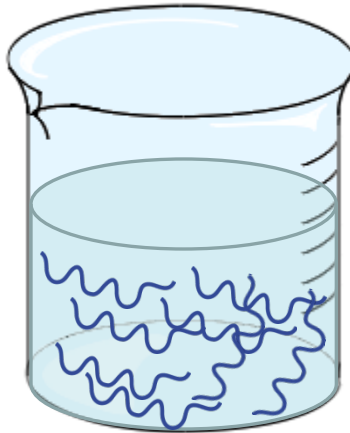
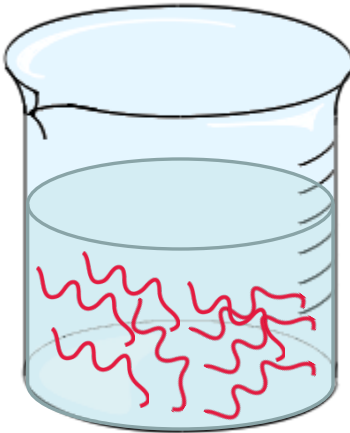
ADN₁



ADN₂

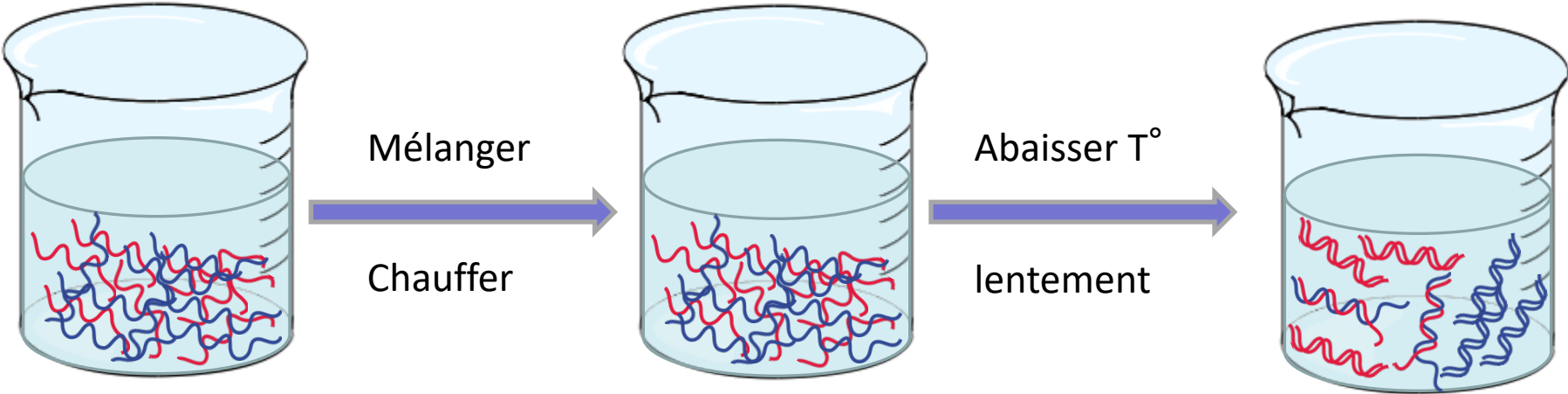


Si on abaisse brutalement la T° d'une solution d'ADN DB qui a été dénaturée par chauffage, l'ADN restera sous forme SB.



V.3.b. Hybridation

Si on abaisse graduellement la T° d'une solution d'ADN DB qui a été dénaturée par chauffage, les 2 brins d'ADN SB se réassocient par complémentarité de bases. Ce phénomène s'appelle: **Hybridation**

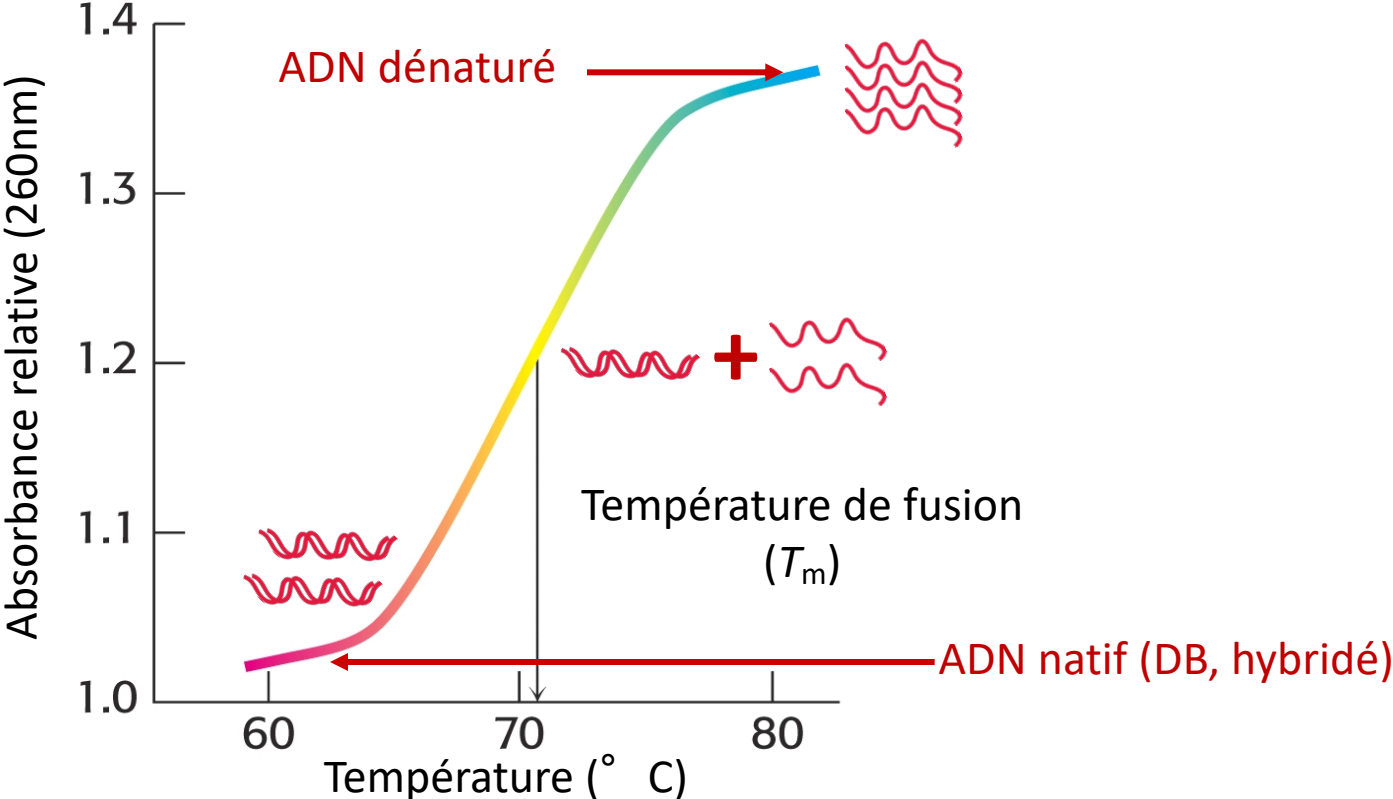


- Homoduplex ADN_1
- Homoduplex ADN_2
- Hétéroduplex ADN_1-ADN_2

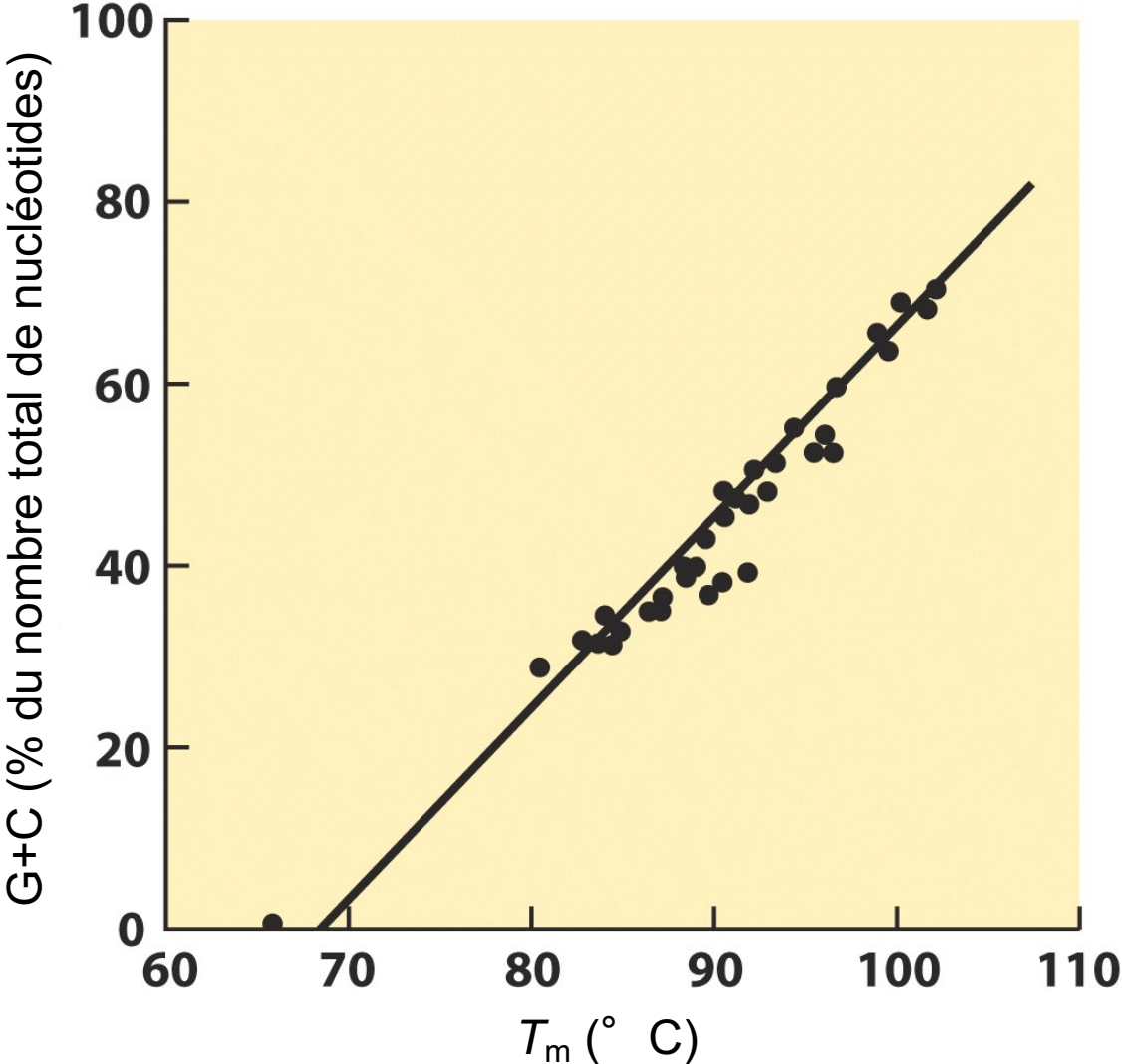
V.3.c. Température de fusion

On parle alors de température de fusion ou de T_m .

T_m est le point de transition où la moitié des brins sont dissociés.



V.3.c. Température de fusion

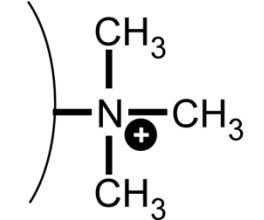


Comme il y a 3 liaisons H entre G et C et seulement 2 entre A et T, plus le taux en G≡C est élevé plus T_m est élevée

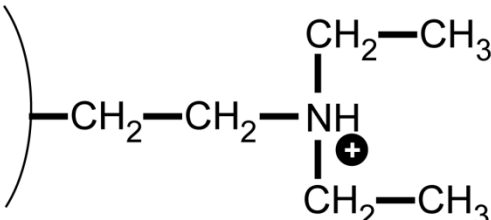
V.4. fractionner les acides nucléiques

V.4.a. Par chromatographie échangeuse d'ions

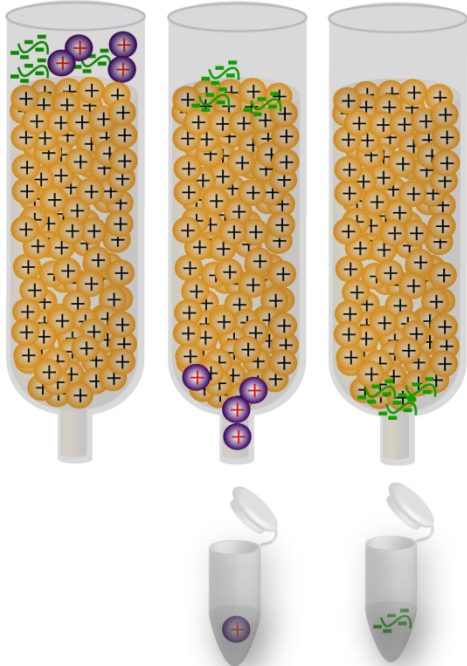
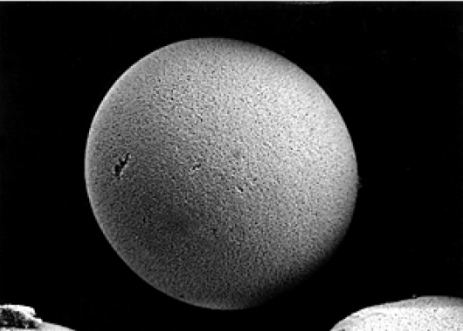
Les acides nucléiques **sont tous chargés négativement** à pH physiologique, ce sont des **polyanions**. On peut les purifier sur une **colonne échangeuse d'anions**:



Ammonium IVaire (monoQ)



DiÉthylAminoÉthyl (DEAE)

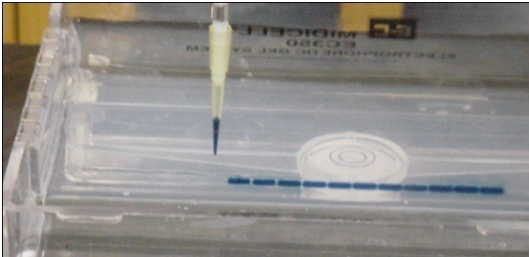


V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide

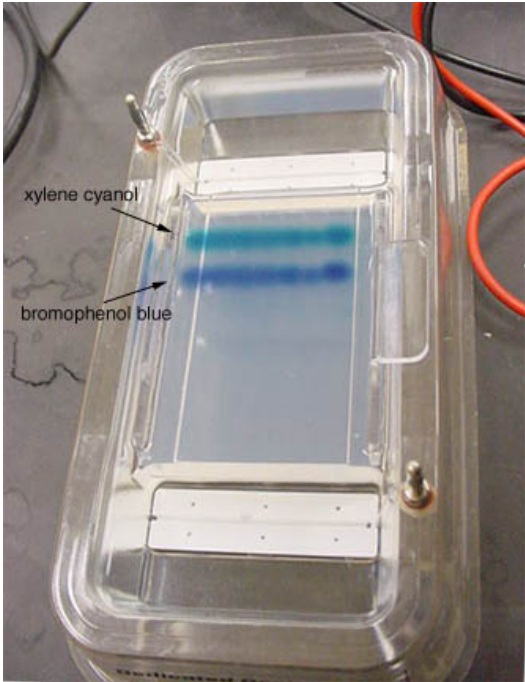
L' **électrophorèse** est la séparation dans un champ électrique, les acides nucléiques (ANiques) étant des polyanions ils migreront tous vers l' électrode chargée positivement = l' anode. Elle se fait dans un gel, donc dans un support semi-liquide, semi-solide. Ce gel peut être assimilé à un réseau de mailles qui séparera les ANiques en fonction de leurs tailles. En effet dans une électrophorèse la migration des biomolécules dépend de 2 facteurs: la **charge** et la **taille**; or le nombre de charges portées par les différents ANiques est proportionnel à leurs tailles, il s' en suit que pour tous les ANiques quelque soit leur taille, le rapport (**Taille de l' ANique / nombre de charges qu' il porte**) est identique. La séparation dans le champ électrique ne dépendra donc pas du nombre de charges portées par l' ANique mais **uniquement de sa taille**. Les longues molécules d' ANiques étant plus gênées dans leur progression dans le gel à cause des mailles que les petites elles migreront moins loin. C' est pourquoi les molécules d' ANiques sont séparées en fonction de leur taille; des plus grandes au sommet du gel (**du côté de la cathode**) vers les plus petites au bas du gel (**du côté de l' anode**).

V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide

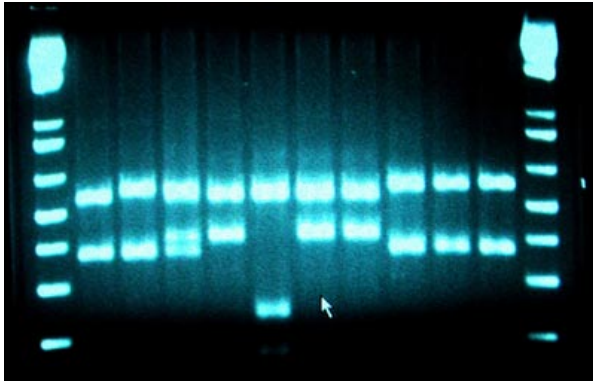
Dépôt



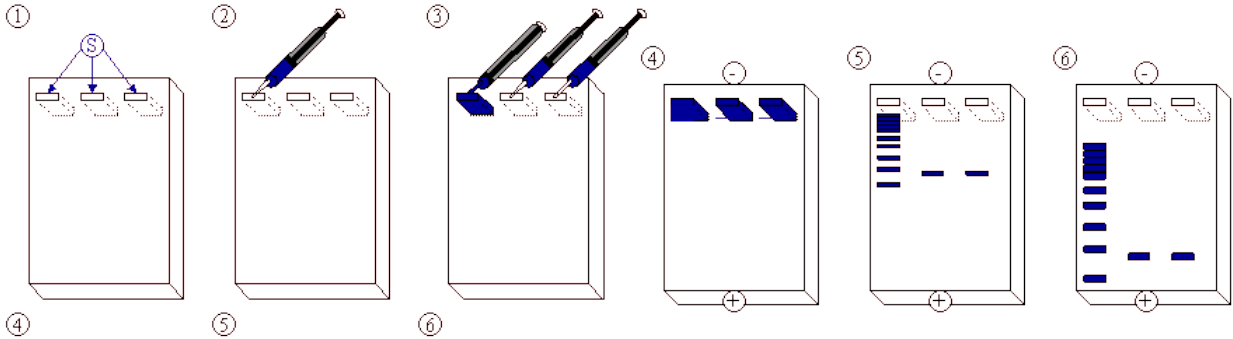
Electrophorèse



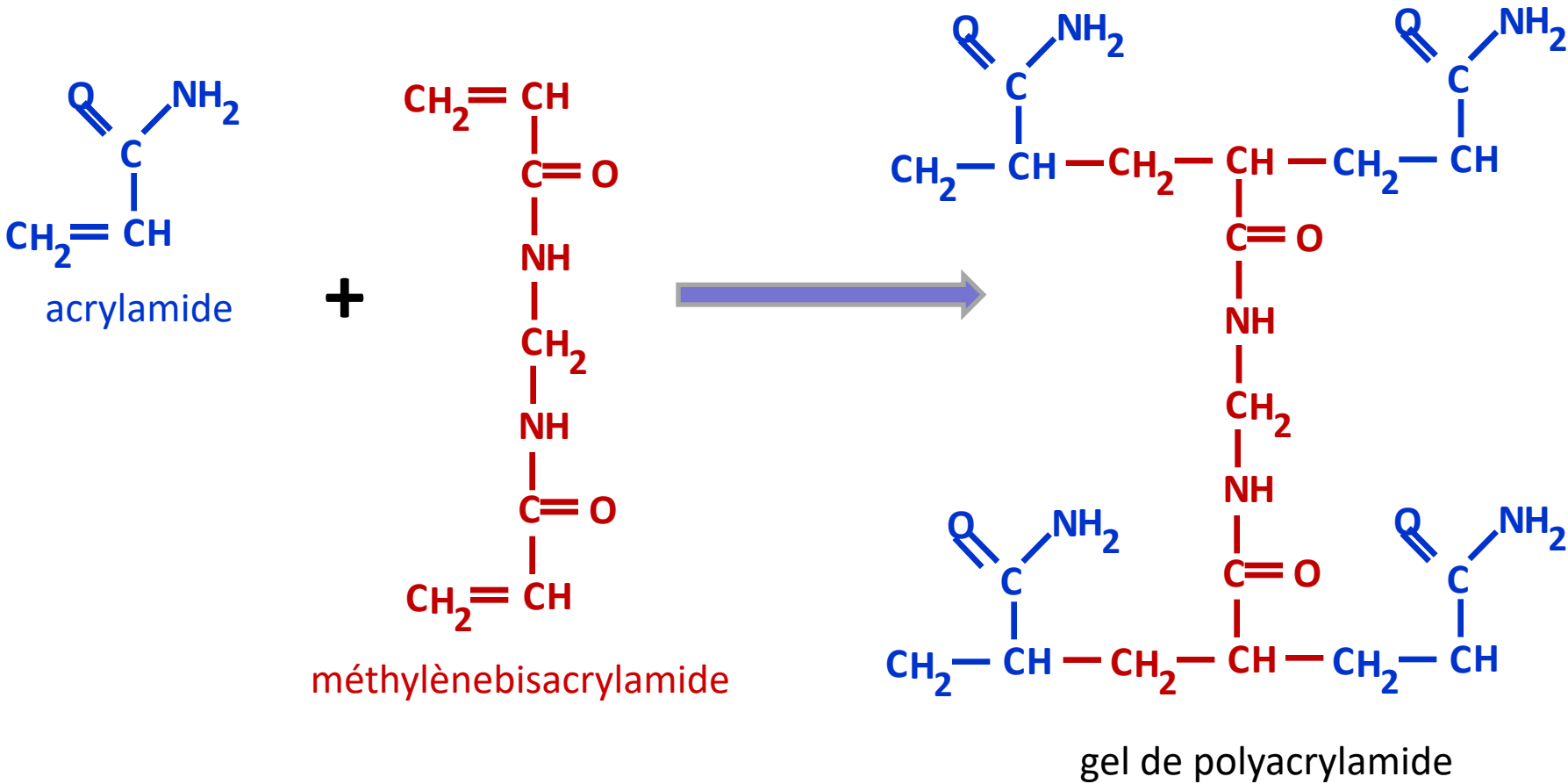
Analyse



Les acides nucléiques sont visualisés sous UV grâce à un colorant phosphorescent le bromure d' éthidium qui s' intercale entre les plateaux de bases

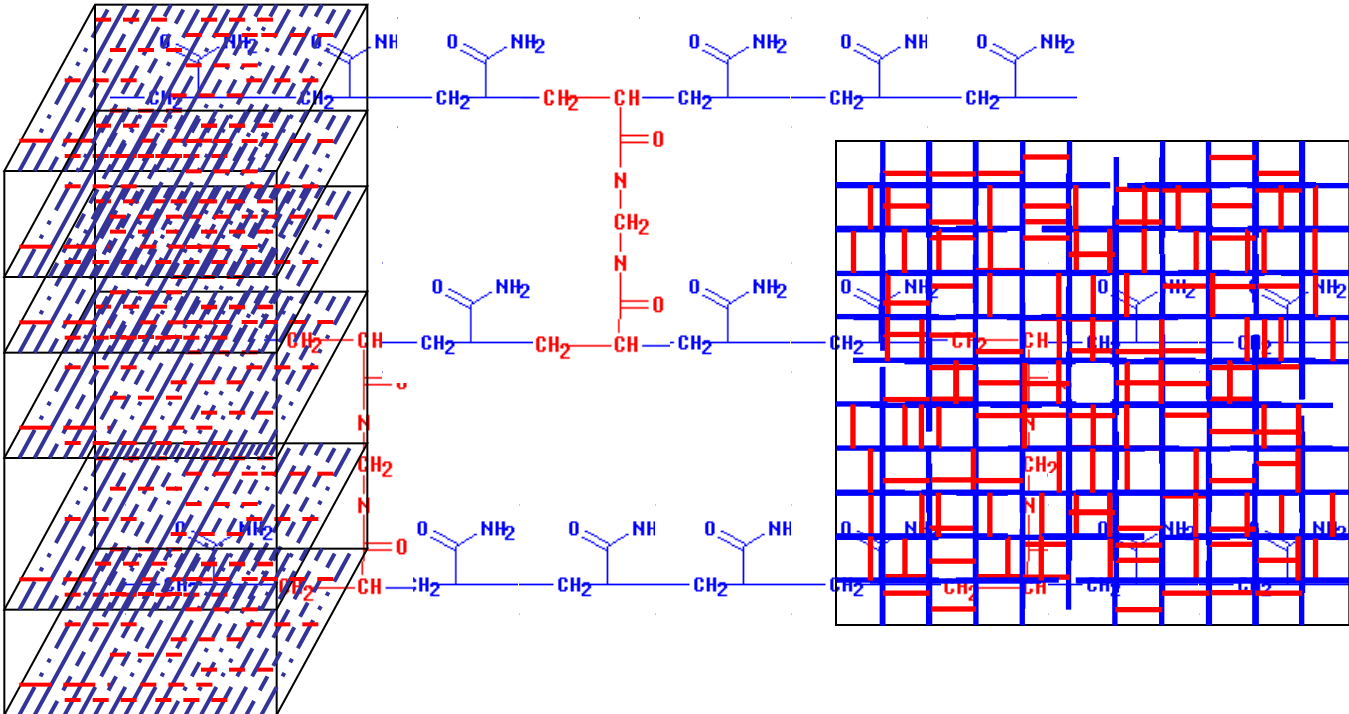


V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide



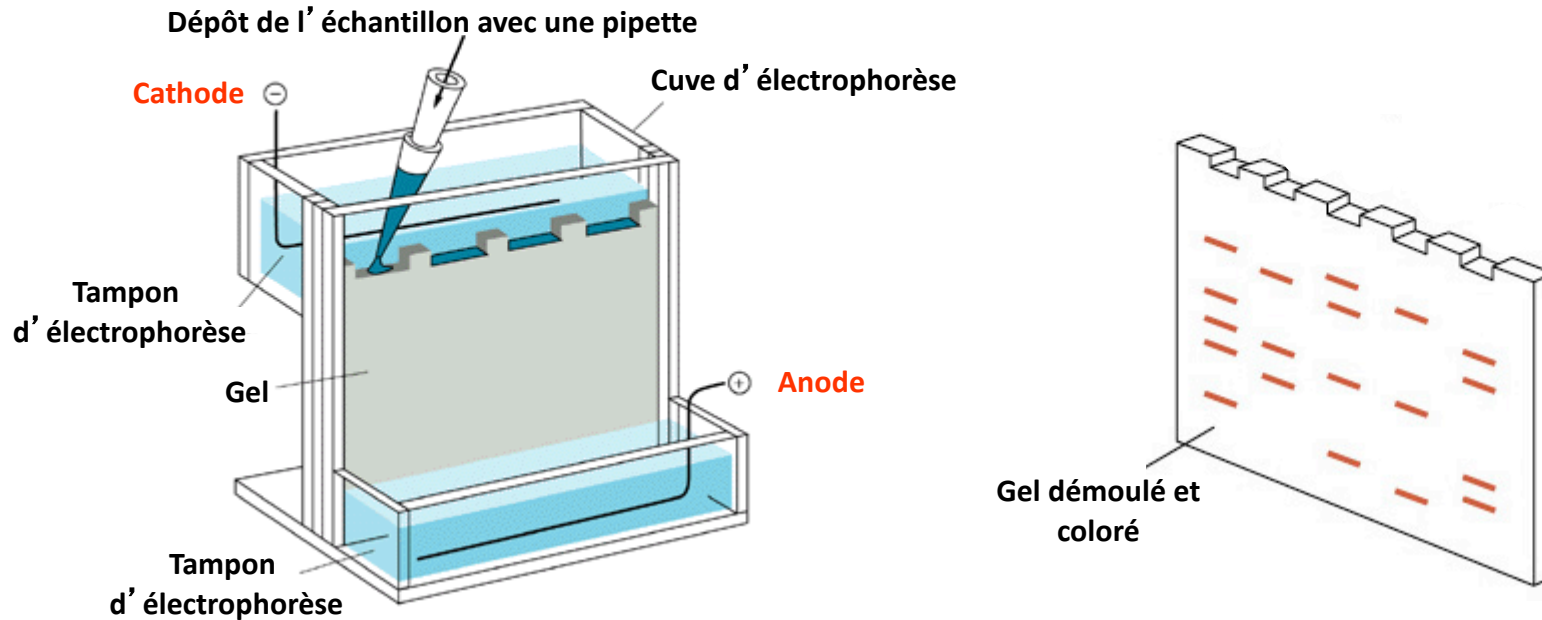
Les chaînes d' acrylamide sont pontées par la bisacrylamide.

V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide



La porosité du gel dépend de la quantité d' acrylamide et du rapport: $\frac{\text{bisacrylamide}}{\text{acrylamide}}$

V.4.b. Par électrophorèse en gel d'agarose ou d'acrylamide



Sur gel de polyacrylamide 2 conditions d'électrophorèse peuvent être utilisées:

- en conditions natives
- en conditions dissociantes (+ urée = rompt les liaisons H)

VI. Les gènes et le clonage

VI.1 Les gènes chez les procaryotes

VI.2. Les gènes chez les eucaryotes

VI.3. Le clonage

VI. Les gènes et le Clonage

VI.1. Les gènes chez les procaryotes

Chez les procaryotes il n'y a pas d'introns.

Mais les gènes peuvent être organisés sous forme d'opérons: 2 ou plusieurs gènes forment un opéron lorsqu'ils sont sous la dépendance du même promoteur, ils sont donc transcrits sous forme d'un transcrit unique portant les 2 (ou plus) phases codantes.



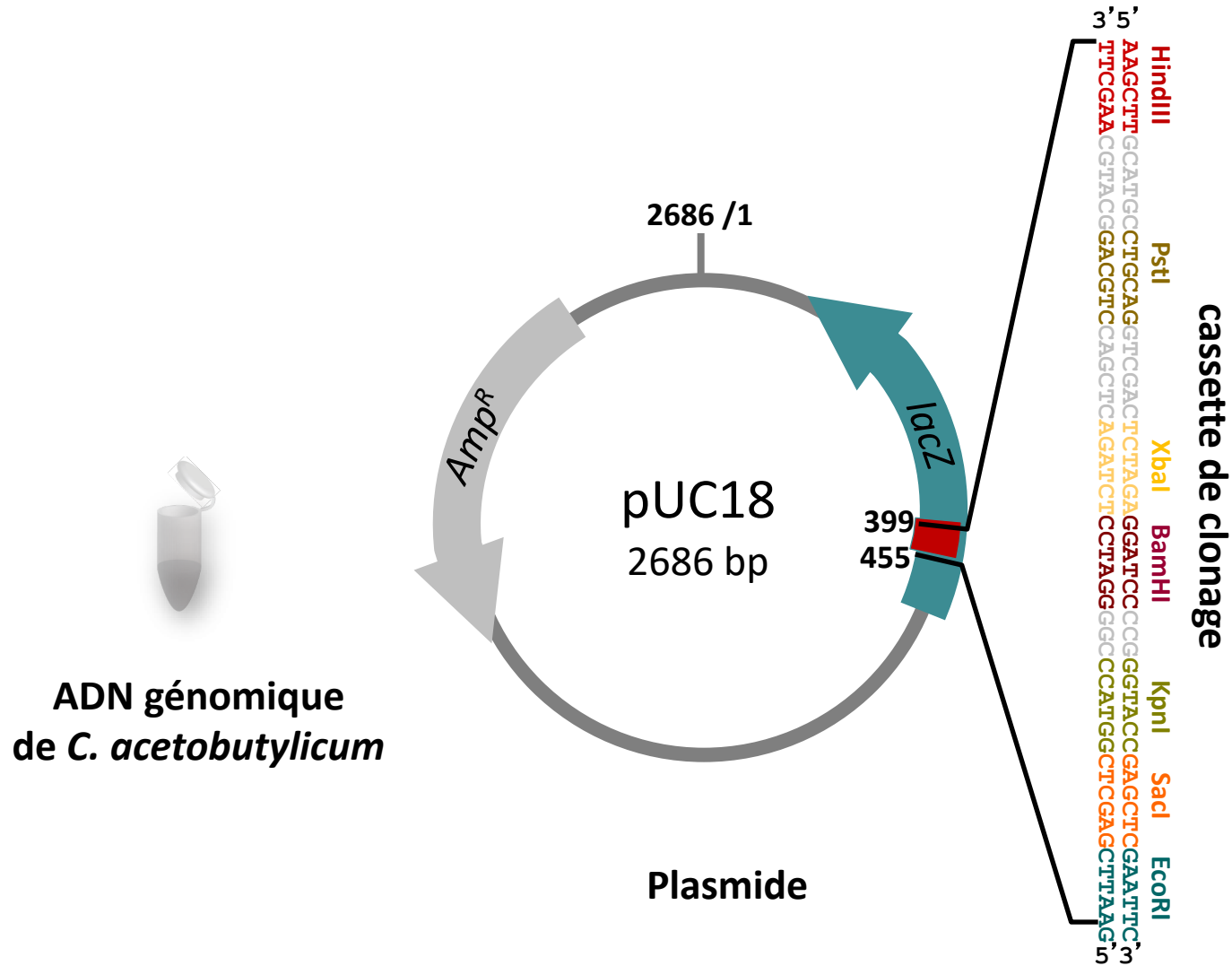
VI.2. Les gènes chez les eucaryotes

Chez les eucaryotes il y a des introns: ce sont des séquences non codantes interrompant la séquence codante qui est donc morcelée en exons. L'ensemble du gène (introns + exons) est transcrit sous forme d'un ARN appelé préARNm qui sera maturé pour donner l'ARNm. Une des étapes de maturation est l'épissage des introns.



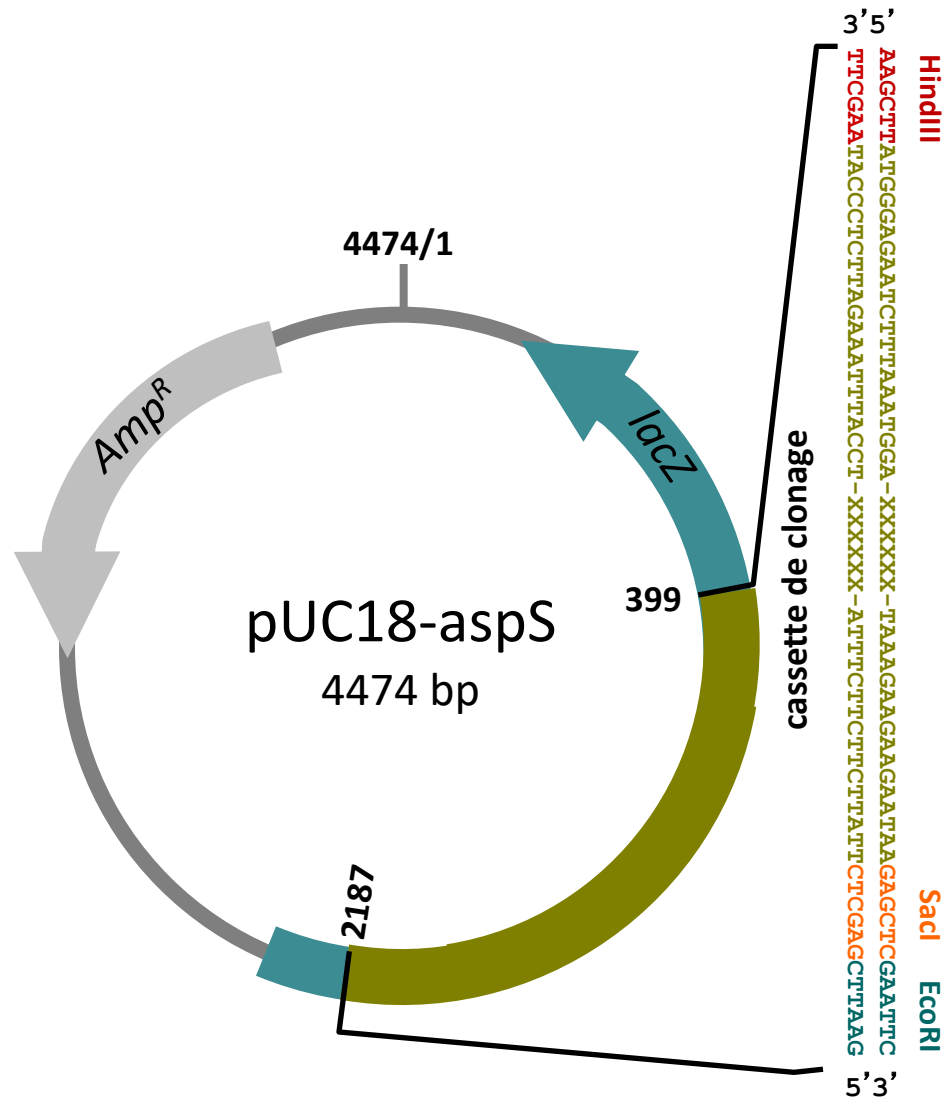
VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*



VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*



VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

<http://cmr.jcvi.org/tigr-scripts/CMR/CmrHomePage.cgi>

Genome Search
Organism name: Search

Genome List
[View All CMR Genomes](#)

Gene Search
Search by:
Locus: Go
Match:
 Exact Inexact
Keywords/Accession: Search

Data Summary

	Complete	Draft	Totals
Bacteria	608	64	672
Archaea	48	0	48
Viruses	3	0	3
Totals	659	64	723

Welcome to the Comprehensive Microbial Resource

The Comprehensive Microbial Resource (CMR) is a free website used to display information on all of the publicly available, complete prokaryotic genomes. In addition to the convenience of having all of the organisms on a single website, common data types across all genomes in the CMR make searches more meaningful, and cross genome analysis highlight differences and similarities between the genomes. A [CMR Mirror](#) site maintained by the Genome Encyclopedia of Microbes (GEM) in Korea is also available. [\[More Information\]](#) [\[Publication Information\]](#)

CMR Menu Bar Tools

CMR offers a wide variety of tools and resources, all of which are available off of our menu bar at the top of each page. Below is an explanation and link for each of these menu options. First time users can use our [CMR tutorial](#) to learn how to navigate this site.

- Genome Tools**
Find organism lists as well as summary information and analyses for selected genomes.
- Searches**
Search CMR for genes, genomes, sequence regions, and evidence.
- Comparative Tools**
Compare multiple genomes based on a variety of criteria, including sequence homology and gene attributes. SNP data is also found under this menu.
- Lists**
Select and download gene, evidence, and genomic element lists.
- Downloads**
Download gene sequences or attributes for CMR organisms, or go to our FTP site.
- Carts**
Select genome preferences from our Genome Cart or download your Gene Cart genes.

Additional Resources

Announcements

Recent News
NEW! January 21, 2010
Data Release [24.0](#) is now available. 150 new genomes have been added to the CMR.

March 31, 2009 Data Release [23.0](#) is now available. 116 new genomes have been added to the CMR.

Latest Releases
Data Release: [23.0](#)
Website Release: [3.0](#)

Contact Us
Can't find what you are looking for on the site? Want to alert us to new news or tools? Please [contact us](#).

Genomes: All Genomes [Download](#)

723 Total Genomes
659 Complete, 64 Incomplete 0 Eukarya, 48 Archaea, 672 Bacteria, 3 Viruses
[G] = GenBank FTP [T] = JCVI FTP [S] = Sequencing Center Genome Page [N] = NCBI Genome Page [P] = Publication

Organism Name (sort)	Kingdom (sort)	Taxon ID (sort)	Size (sort)	Complete Genome (sort)	Sequencing Center (sort)	Links (sort)
Acarvochloris marina MRI/C11017	Bacteria	329726	8.36 Mb	Yes	TGen Washington Univ Arizona State Univ	[G] [T] [S] [N] [P]
Acholeplasma laidlawii PG-8A	Bacteria	441768	1.49 Mb	Yes	RIPCM	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidiphilium cryptum JF-5	Bacteria	349163	3.96 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidithiobacillus ferrooxidans ATCC 23270	Bacteria	243159	2.98 Mb	Yes	J. Craig Venter Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidobacteria bacterium Ellin345	Bacteria	204869	5.65 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidothermus cellulolyticus 11B	Bacteria	351607	2.44 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidovorax avenae subsp. citrulli AAC00-1-0	Bacteria	397945	5.35 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acidovorax sp. JS42	Bacteria	232721	4.58 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acinetobacter radioresistens SK82	Bacteria	596318	3.28 Mb	No	J. Craig Venter Institute	[G] [T] [S] [N] [P]
Acinetobacter sp. ADP1	Bacteria	62977	3.59 Mb	Yes	Genoscope	[G] [T] [S] [N] [P]

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

Chlamydia trachomatis L2b/UCh-1/proctitis	Bacteria	471473	1.03 Mb	Yes	Sanger Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlamydia trachomatis serovar D	Bacteria	315277	1.04 Mb	Yes	Stanford Univ Univ of California, Berkeley	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlamydomphila abortus S26 3	Bacteria	218497	1.14 Mb	Yes	Sanger Institute Moredun Res Inst Scottish Crop Research Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlamydomphila caviae GPIC	Bacteria	227941	1.18 Mb	Yes	J. Craig Venter Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlamydomphila felis Fe/C-56	Bacteria	264202	1.17 Mb	Yes	Yamauchi Univ Kitasato Univ	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlorobium chlorochromatii CaD3	Bacteria	340177	2.57 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute Penn State Univ	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chlorobium tepidum TLS	Bacteria	194439	2.15 Mb	Yes	J. Craig Venter Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chromobacterium violaceum ATCC12472	Bacteria	243365	4.75 Mb	Yes	Brazilian Genome	[G] [T] [S] [NI] [P]
Chromohalobacter salexigens DSM 3043	Bacteria	290398	3.69 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute Hiram College Purdue Univ	[G] [T] [S] [NI] [P]
Citricella sp. SE45	Bacteria	501479	5.52 Mb	No	J. Craig Venter Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clavibacter koseri ATCC BAA-895	Bacteria	290338	4.73 Mb	Yes	Washington Univ	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis NCPPB 382	Bacteria	443906	3.39 Mb	Yes	Bielefeld Univ	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus	Bacteria	31964	3.40 Mb	Yes	Sanger Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium acetobutylicum ATCC824	Bacteria	272562	4.13 Mb	Yes	Genome Therapeutics	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium beijerinckii NCIMB 8092	Bacteria	290402	6.00 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute Univ of Illinois	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium botulinum A ATCC 19397	Bacteria	441770	3.86 Mb	Yes	Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium botulinum A Hall	Bacteria	441771	3.76 Mb	Yes	Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium botulinum A2 Kyoto	Bacteria	536232	4.15 Mb	Yes	Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium botulinum A3 strain Loch Maree	Bacteria	498214	4.25 Mb	Yes	Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute	[G] [T] [S] [NI] [P]
Clostridium botulinum B Eklund 17B	Bacteria	508765	3.84 Mb	Yes	DOE Joint Genome Institute Los Alamos National Laboratory	[G] [T] [S] [NI] [P]

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search for

Home Genome Tools Searches Comparative Tools Lists Downloads Carts

CMR Manual Home > [Clostridium acetobutylicum ATCC824 Genome Page](#) [Clostridium acetobutylicum ATCC824](#)

Clostridium acetobutylicum ATCC824 Genome Page

Gene Search

Search by: Locus

Match: Exact Inexact

Keywords/Accession: Search

Region View

Molecule:

Chromosome C.acetobutylicu

Coordinates: - Search

Sequence Retrieval

Molecule:

Chromosome C.acetobutylicu

Coordinates: -

Strand: Forward Reverse

General Information for Clostridium acetobutylicum ATCC824

Sequencing Center: [Genome Therapeutics](#)

Funding Center: [DOE](#)

Publication: [PubMed Abstract](#)

Sequence & Annotation Acquisition: [CMR Batch Download](#)

[CMR Gene Attribute Download](#)

[GenBank FTP Download](#)

Other: [Sequencing Center Genome Page](#)

[Background Information](#)

[Integrated Microbial Genomes](#)

Completed Genome: Yes

CMR Version Number: Version 9.0

Date added to the CMR: December 11, 2002

GenBank Accession.Version: [AE001437.1](#) [AE001438.3](#)

Genome Properties: [View All Properties](#)

Statistics for Clostridium acetobutylicum ATCC824

DNA Molecule Summary

Total Number of all DNA molecules:	2	100.00%
Total Size of all DNA molecules:	4132880 bp	100.00%
Number of Primary Annotation coding bases:	3534097 bp	85.51%
Number of JCVI Annotation coding bases:	3573613 bp	86.46%
Number of G+C bases:	1278098 bp	30.92%

Primary Annotation Summary

Total genes:	3848	100.00%
Protein coding genes:	3848	100.00%
Genes assigned a role category:	2886	75.5%
Genes not assigned a role category:	346	8.99%
Conserved hypothetical genes:	575	14.94%
Hypothetical genes:	41	1.06%

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

Role Category Lists

Download

- [Amino acid biosynthesis](#)
- [Biosynthesis of cofactors, prosthetic groups, and carriers](#)
- [Cell envelope](#)
- [Cellular processes](#)
- [Central intermediary metabolism](#)
- [DNA metabolism](#)
- [Disrupted reading frame](#)
- [Energy metabolism](#)
- [Fatty acid and phospholipid metabolism](#)
- [Hypothetical proteins](#)
- [Mobile and extrachromosomal element functions](#)
- [Protein fate](#)
- [Protein synthesis](#)
- [Purines, pyrimidines, nucleosides, and nucleotides](#)
- [Regulatory functions](#)
- [Signal transduction](#)
- [Transcription](#)
- [Transport and binding proteins](#)

Role Category Search: Protein synthesis

1. Please select the genome(s) you want to search:

Search List Show All Tree View

Citrobacter koseri ATCC BAA-895
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis NCPPB 382
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus
Clostridium acetobutylicum ATCC824
Clostridium beijerinckii NCIMB 8052
Clostridium botulinum A ATCC 19397
Clostridium botulinum A Hall
Clostridium botulinum A2 Kyoto

Add All Genome Cart Genomes >>

Add >>

<< Remove

Clostridium acetobutylicum ATCC824

Tip: Double-click to add directly, or use ctrl to select multiple entries at once before clicking on the add button.

2. Please select your annotation type:


Primary Annotation (Default)

3. Hit the "Submit" button to get your results:

Submit

Reset

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie


Comprehensive Microbial Resource
Search Locus for

[Home](#) | [Genome Tools](#) | [Searches](#) | [Comparative Tools](#) | [Lists](#) | [Downloads](#) | [Carts](#)

[CMR Manual](#) | [Home > Lists > Role Category Lists > Role Category Search > Role Category Search Results](#)

Role Category Search Report

Selected Organism: *Clostridium acetobutylicum* ATCC824
 Selected Annotation: Primary Annotation
 Selected Main Role: Protein synthesis
 Selected Sub Role: tRNA aminoacylation

1 - 35 of 35 results

Cart	Locus	Gene Symbol	Common Name	EC Number	5' End	3' End	DNA molecule
<input type="checkbox"/>	CAC0017	serS	Seryl-tRNA synthetase		24976	26253	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0021	serS	Seryl-tRNA synthetase (serine-tRNA ligase)		30670	31944	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0609		Cyclic beta 1-2 glucan synthetase		706105	714717	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0626	trpS	Tryptophan-tRNA synthetase, trpS		728417	729448	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0637	tyrS	Tyrosyl-tRNA synthetase		741074	742297	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0646	leuS	Leucyl-tRNA synthetase		753750	751312	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0780	tyrZ	Tyrosyl-tRNA synthetase		903118	904320	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0935	hisZ	Histidyl-tRNA synthetase		1076406	1077629	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC0990	glxX	Glutamyl-tRNA synthetase		1138618	1137161	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC1041	argS	Arginyl-tRNA synthetase		1191581	1193272	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC1678	alaS	Alanyl-tRNA synthetase		1827028	1829673	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC1723	fmt	Methionyl-tRNA formyltransferase		1872002	1872934	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2269	aspS	Aspartyl-tRNA synthetase		2373519	2371732	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2273		Uncharacterized protein YihZ family		2376145	2375696	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2356	pheT	Phenylalanyl-tRNA synthetase (beta subunit)		2468046	2465668	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2357	pheS	Phenylalanyl-tRNA synthetase (alpha subunit)		2469087	2468068	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2362	thrS	Threonyl-tRNA synthetase		2473509	2471596	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2399	vals	Valyl-tRNA synthetase		2510811	2508166	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2669		Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit B		2787178	2785748	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2670		Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit A		2788655	2787198	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2671		Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit C		2788976	2788677	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2740	hisS	Histidyl-tRNA synthetase		2868987	2867695	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2976		Glu-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit B		3112927	3111491	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2977	gatA	Glutamyl-tRNA ^{Gln} amidotransferase subunit A		3114367	3112931	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2978	gatC	Glu-tRNA amidotransferase, subunit C		3114675	3114382	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2979	aspS	Aspartyl-tRNA synthetase		3116010	3114718	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC2991	metS	Methionyl-tRNA synthetase		3129544	3127610	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC3038	ileS	Isoleucyl-tRNA synthetase		3188062	3184955	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	CAC3177	cysS	Cysteinyl-tRNA synthetase		3314230	3312836	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search for

Home Genome Tools Searches Comparative Tools Lists Downloads Carts

CMR Manual | Home > Genome Tools > Gene Page CAC2269/NT01CA2499

- Primary Annotation
- Primary Sequences
- JCVI Annotation
- JCVI Sequences
- Gene Graphic
- Gene Codon Count
- Protein vs. All Alignment
- TmHMM Information
- TIGRFAM & Pfam Matches
- Secondary Structure
- Related Links
- Gene Ontology (GO)Display

Primary Annotation Display: CAC2269 ⓘ

Primary Locus: CAC2269 | JCVI Locus: NT01CA2499 | UniProt AC: Q97GU6 | MPIDB AC: None | GenBank ID: AAK80226.1

Function: Aspartyl-tRNA synthetase

Locus Name	CAC2269
Putative identification	Aspartyl-tRNA synthetase
Gene Symbol	aspS
Coordinates	2373519-2371732
DNA Molecule Name	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
Gene length	1788
Protein length	595
Molecular Weight	68243.31
pI	4.9567
% GC	34.50
JCVI Cellular Role Category	Protein synthesis: tRNA aminoacylation
Gene Ontology (GO) Role Category	GO:0004815: molecular_function, aspartate-tRNA ligase activity
Gene Ontology (GO) Role Category	GO:0006422: biological_process, aspartyl-tRNA aminoacylation

VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

CMR Manual | Home > Genome Tools > Gene Page CAC2269/NT01CA2499

Primary Annotation

Primary Annotation Sequence Display: CAC2269

Download

Primary Locus: CAC2269 | JCVI Locus: NT01CA2499 | UniProt AC: Q97GU6 | MPIDB AC: None | GenBank ID: AAK80226.1
Function: Aspartyl-tRNA synthetase

Primary Sequences

JCVI

Annotation

JCVI

Sequences

Gene Graphic

Gene Codon

Count

Protein vs. All

Alignment

TmHMM

Information

TIGRFAM &

Pfam Matches

Secondary

Structure

Related Links

Gene Ontology

(GO)Display

Third Position

GC Skew

COG Display

Genome

Region

Comparison

Region View

Primer Search

```
>CAC2269
ATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCATATGTGTGGAGAAAATAGAGAGAAC
CATATTGGAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCAGAGAAAAAGAAATCTTGGAGGG
TTAGTATTCTAGATTAAAGAGATAGAGAAGGTATACTCAAGTAGTTTTGGAGAGAA
ATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATATGTATTTCAGTT
TCTGGAACCTTAGTCAAGAGAGAATCGCCAAACCCAAATATGCCAACAGGAATGGTGGAA
CTAAAGGGCGAAGAAAATAAAAATATTGTCAAGAAAGTGAAGACACCCTATTACATAAAA
GAAAATCTGTGATGCTGCTGAAAATATAAGACTCAGATATAGATATCTGTATCTAGAAGA
CCGATATGCAGAAAATTTTAAAGATAAGACATAAGACTACAAAATAATAAGGGATTTC
ATGGATGAAGAGAACTTCCCTTGAATGGAGACACCTATACTTACTAAGAGTACACCAGAA
GGTGCAAGGGACTATTGGTTCCAAGCAGAAAATATAATGGAAAATTTTATGCACTTCCA
CAGTCACCAGTTATTTAAGCAGCTTTAATGGTTCTGGATACGATAAATATTTCAA
ATAGCAAAGTGCTTTAGAGACGAGGATTTAAGGGCTAATAGGCAGCCAGAGTTTACACAA
GTAGATATGGAATGTCAATTTAGTAAGAAGATGATGTAATAGAATTAATGAAAGACTT
ATACAGAAGGTATTTAAGAAAATGGCGGAGTAGAGGTTAACTTCCAATAGAGAGAATG
ACTTGGAAAAGTCTATGGAAAAGTACGGTTCGGATAAACCGGATTTAAGATTTGGTATG
GAAATCAATGATATAAGTGAAGGCTGTAAGTACTCAGATTTTAAAGTATTTAAGTCAAGC
ATAGAAGAAGGCGGAAAGTGTAGAGCAATTAAGCACCAAAATCTGCGATATGCTGATA
AAGAAGATAGATAAGTTAGGGGAGTTTGTAAAACCTTACAAAGCAAAAAGGTTAGCATGG
ATAGCATTAAAAGAAGATGGAATAAAATCACCTATTGCAAAAGTTTTAAAAGAGGAAAGAA
TTAAAGGCAATAAATCGACAAAGTTCAAGGAAAACAGGAGATCTATACTTATAGTAGCA
GATAAAAATCTGTGTATCCAGTCATTAGGAGCACTTAGATTAGAGATTGCAAAGGAA
CTCGAAATTTTAAAGGATAATAAAGAAATTTAGATTTGTTGGATTACCGAATCCCACATA
TTATCATACAATGAGGAAGAAGAAAGATTTCAAGCTGAACATCATCCATTTACAATGCT
ATGGATGAAGATATAGAATATCTTGAATCTGATCCGGGAAGAGTAGGGCTAAGGCATAT
GATATAGTTTTAAATGGAGAAGAGCTGGAGGAGGAAGTGTAGAATTCATGATACTGCA
CTTCAAGAAAAGAAATGTTCAAGGTTCTTGGTTTTCAAAAGGAATCAGCCTGGGAAAGATTT
AGTTTTCTACTAGAAGCATTAAAGTTTGGGCCACCACCACATGCTGGTCTTGCTTATGGA
TTAGATAGACTTATAATGTTCCCTTGCGAGTACTGAAAACATCAAGGACGTAATAGCCTTC
CTAAAATCAAAATGCAATCTGTCTCTTACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAAT
CAGATTGAGGAGCTTGAATAAAAATGAAAGTAAAGAAGAAGATAA
```

```
>CAC2269
MGE SLNGLKRTIMCGEIRENHI GNRVVMGWVQRKRLGGLVFDLDRREGILQVVFGE
INKDAFMKADLVKSEYICISVSGTLVKRESPNPNMPTGMVELKGEI KILSESETPPIYIK
ENLDAENIRLRYYLDLRRPDMQKIFKIRHKTIKIRDFMDEENFLEMETPILTKSTPE
GARDYLVPSRNYNGFYALPQSPQLFKQLLMVSGVDKYFQIAKCFRDEDLRANRQPEFTQ
VDMEMSFVEEDDVI ELNERLIQVFKEMAGVEVKLPIERMWKTAMEKYGSDKPD LRFGM
EINDISEAVSTSDFKVFKSAIEEGGSVRAIKAPNSADMPKKIKDLGEFVKTYKARGLAW
IALKEDGIKSPIAKFLKEELKAIIDKVQKGTGDLILIVADKNSVVFQSLGALRLEIAKE
LEILKDNKEFRFVWITEFPLLSYNEEERFQAEHPFTMPMDEIDIEYLEDSPGRVRAKAY
DIVLNGEELGGGSVRIHDTALQERMFKVLTGFTKESAWERFSLLEAFKFGPPPHAGLAYG
LDRLIMFLAGTENIKDVIAFPKNQNAFCPLTEAPNVVDENQIEELGIKVESKEE
```


VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

HindIII

SacI

5' **AAGCTT**GCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTC3'
3' **TTCGAA**CGTACGGACGTCCAGCTGAGATCTCCTAGGGGCCCATGGCTCGAGCTTAAG5'

HindIII

SacI

5' **A**CGAATTC3'
3' **TTCGA**CTCGAGCTTAAG5'

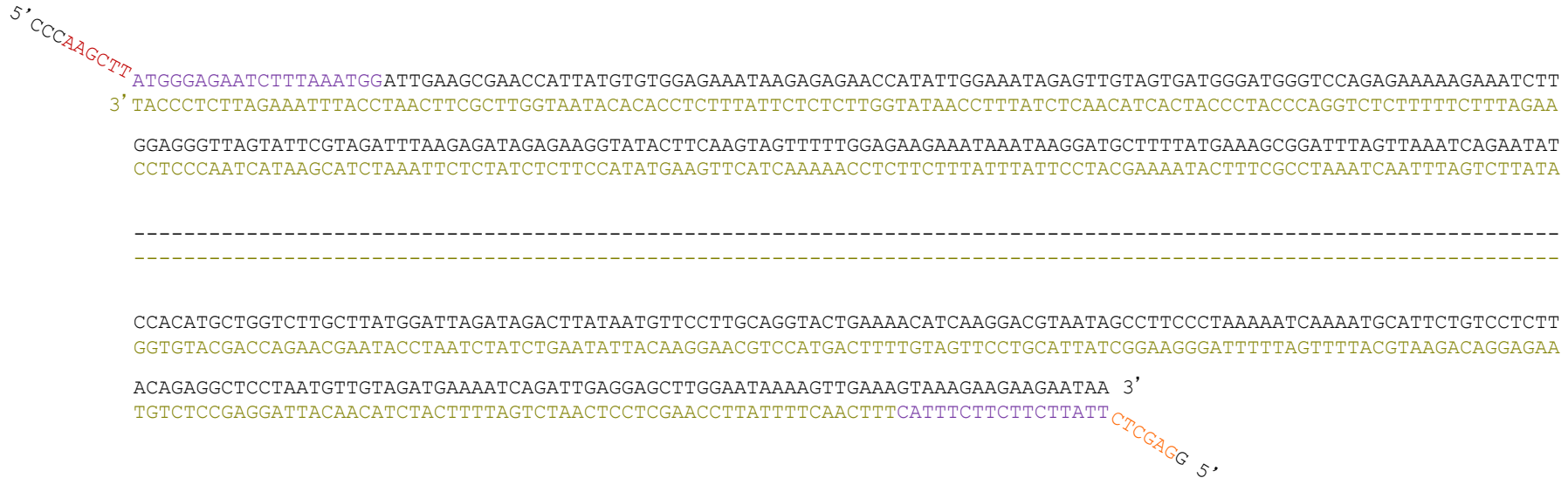
AGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCT
ACGTACGGACGTCCAGCTGAGATCTCCTAGGGGCCCATGGC

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

5' ATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCATATATGTGTGGAGAAATAAGAGAGAACCATATTTGAAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCCAGAGAAAAAGAAATCTT
3' TACCCTCTTAGAAAATTTACCTAACCTTCGCTTGGTAATACACACCTCTTTATTCTCTCTTTGGTATAACCTTTATCTCAACATCACTACCCTACCCAGGTCTCTTTTTCTTTAGAA
GGAGGGTTAGTATTTCGTAGATTTAAGAGATAGAGAAGGTATACTTCAAGTAGTTTTTGGAGAAGAAATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATAT
CCTCCCAATCATAAGCATCTAAATTCTCTATCTCTTCCATATGAAGTTTCATCAAAAACCTCTTCTTTATTATTCTTACGAAAATACTTTTCGCTAAATCAATTTAGTCTTATA
TGTATTTTCAGTTTCTGGAACCTTAGTCAAGAGAGAATCGCCAAACCCAAATATGCCAACAGGAATGGTGGAACTAAAGGGCGAAGAAATAAAAATATTGTCAGAAAGTGAGACA
ACATAAAGTCAAAGACCTTGAATCAGTTCTCTTAGCGGTTTGGGTTTATACGGTTGTCCTTACCACCTTGATTTCCCGCTTCTTTATTTTTATAACAGTCTTTCCTCTGT
CCACCTATTTACATAAAAAGAAAATCTTGATGCTGCTGAAAAATAAGACTCAGATATAGATATCTTGATCTTAGAAGACCAGATATGCAGAAAATTTTTAAGATAAGACATAAG
GGTGGATAAATGTATTTTTCTTTTAGAACTACGACGACTTTTATATTCTGAGTCTATATCTATAGAACTAGAATCTTCTGGTCTATACGCTTTTTAAAAATTTCTATTCTGTATTC
ACTACAAAATAAATAAGGGATTTTCATGGATGAAGAGAATTCCTTGAATGGAGACACCTATACTTACTAAGAGTACACCAGAAGGTGCAAGGGACTATTTGGTTCGAAGCAGA
TGATGTTTTTATTATTCCCTAAAGTACCTACTTCTCTTGAAGGAACCTTACCTCTGTGGATATGAATGATTTCTCATGTGGTCTTCCACGTTCCTGATAAACCAAGGTTCTGCT
AATTATAATGGAAAATTTTATGCACTTCCACAGTCAACCACAGTTATTTAAGCAGCTTTTAAATGGTTTCTGGATACGATAAATATTTTTCAAATAGCAAAGTGCTTTAGAGACGAG
TTAATATTACCTTTTAAAATACGTGAAGGTGTCAGTGGTGTCAATAAATTCGTCGAAAATTACCAAAGACCTATGCTATTTATAAAAGTTTATCGTTTCACGAAATCTCTGCTC
GATTTAAGGGCTAATAGGCAGCCAGAGTTTACACAAGTAGATATGAAATGTCATTTGTAGAAGAAGATGATGTAATAGAATTAATGAAAGACTTATACAGAAGGTATTTAAG
CTAAATTCCCGATTTATCCGTCGGTCTCAAATGTGTTTCATCTATACCTTTACAGTAAACATCTTCTTCTACTACATTATCTTAATTTACTTTCTGAATATGTCTTCCATAAAATTC
GAAATGGCGGGAGTAGAGTTAAACTTCCAATAGAGAGAATGACTTGGAAAACCTGCTATGAAAAGTACGGTTCGGATAAACCCGATTTAAGATTTGGTATGGAAATCAATGAT
CTTTACCGCCCTCATCTCCAATTTGAAGGTTATCTCTCTTACTGAACCTTTTACGATACCTTTTCATGCCAAGCCTATTTGGCCTAAATTTCAAACCATACTTTTAGTTACTA
ATAAGTGAGGCTGTAAGTACTTCAGATTTTAAAGTATTTAAGTCAAGCATAGAAGAAGGCGGAAGTGTAGAGCAATTAAGCACCATAATTCGAGATATGCCTAGAAAAGAG
TATTCCTACTCCGACATTCATGAAGTCTAAAATTTTATAAATTCAGTCCGTTATCTTCTTCCGCTTCCAAATCTCGTTAATTTTCGTGGTTTAAAGACGTCTATACGGATCTTCTTTC
ATAGATAAGTTAGGGGAGTTTGTAAAACTTACAAAGCAAAAGGTTTAGCATGGATAGCATTAAGAAGATGGAATAAAATCACCTATTGCAAAGTTTTTAAAAGAGGAAGAA
TATCTATTCAATCCCTCAAACATTTTTGAATGTTTCGTTTTCCAAATCGTACCTATCGTAATTTTCTTCTACCTTATTTTAGTGGATAACGTTTCAAAAATTTTCTCCTTCTT
TTAAAGGCAATAATCGACAAAGTTCAAGGGAAAACAGGAGATCTTATACTTATAGTAGCAGATAAAAATTTCTGTTGTATCCAGTCATTAGGAGCCTTAGATTAGAGATTGCA
AATTTCCGTTATTAGCTGTTTCAAGTTCCTTTTGTCCCTPAGAATATGAATATCATCGTCTATTTTTAAGACAACATAAGGTGAGTAACTCCTCGTGAATCTAATCTCTAACGT
AAGGAACTCGAAATTTTAAAGGATAATAAAGAATTTAGATTTGTTTGGATTACCGAATTTCCACTATTATCATACAATGAGGAAGAAGAAAGATTTCAAGCTGAACATCATCCA
TTCCCTTGAGCTTTAAAATTTCTATTTTCTTAAATCTAAACAAACCTAATGGCTTAAGGGTATAATAGTATGTTACTCCTTCTTCTTCTTAAAGTTCGACTTGTAGTAGGT
TTTACAATGCCTATGGATGAAGATATAGAATATCTTGAATCTGATCCGGGAAGAGTAAGGGCTAAGGCATATGATATAGTTTTAAATGGAGAAGAGCTTGGAGGAGGAAGTGTT
AAATGTTACGGATACCTACTTCTATATCTTATAGAACTTAGACTAGGCCCTTCTCATTCCCGATTCCGTATACTATATCAAAATTTACCTTCTTTCGAACTCTCCTTCACAA
AGAATTCATGATACTGCACCTCAAGAAAGAATGTTCAAGGTTCTTGGTTTTACAAAGGAATCAGCCTGGGAAAGATTTAGTTTTCTACTAGAAGCATTAAAGTTTGGGCCACCA
CTTAAAGTACTATGACGTGAAGTCTTTCTTACAAGTTCAGAACCAAAATGTTTCTTAGTCGGACCTTTCTAAATCAAAAGATGATCTTTCGTAATTTCAAACCCGGTGGT
CCACATGCTGGTCTTGCTTATGGATTAGATAGACTTATAATGTTTCTTGCAGGTAAGGACATCAAGGACGTAATAGCCTTCCCTAAAAATCAAAATGCATTCTGTCTCTT
GGTGTACGACCAGAACGAATACCTAATCTATCTGAATATTACAAGGAACGTCATGACTTTTGTAGTTCTGCATTATCGGAAGGGATTTTTAGTTTTACGTAAGACAGGAGAA
ACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAATCAGATTGAGGAGCTTGAATAAAGGTTGAAAGTAAAGAAGAAGAAATAA 3'
TGCTCCGAGGATTACAACATCTACTTTTAGTCTAACTCCTCGAACCTTATTTTCACTTTCATTTCTTCTTATT 5'

VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

Amorce sens: 5' CCCAAGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGG 3'



Amorce antisens: 3' CATTTCTTCTTCTTATTCTCGAGG 5'

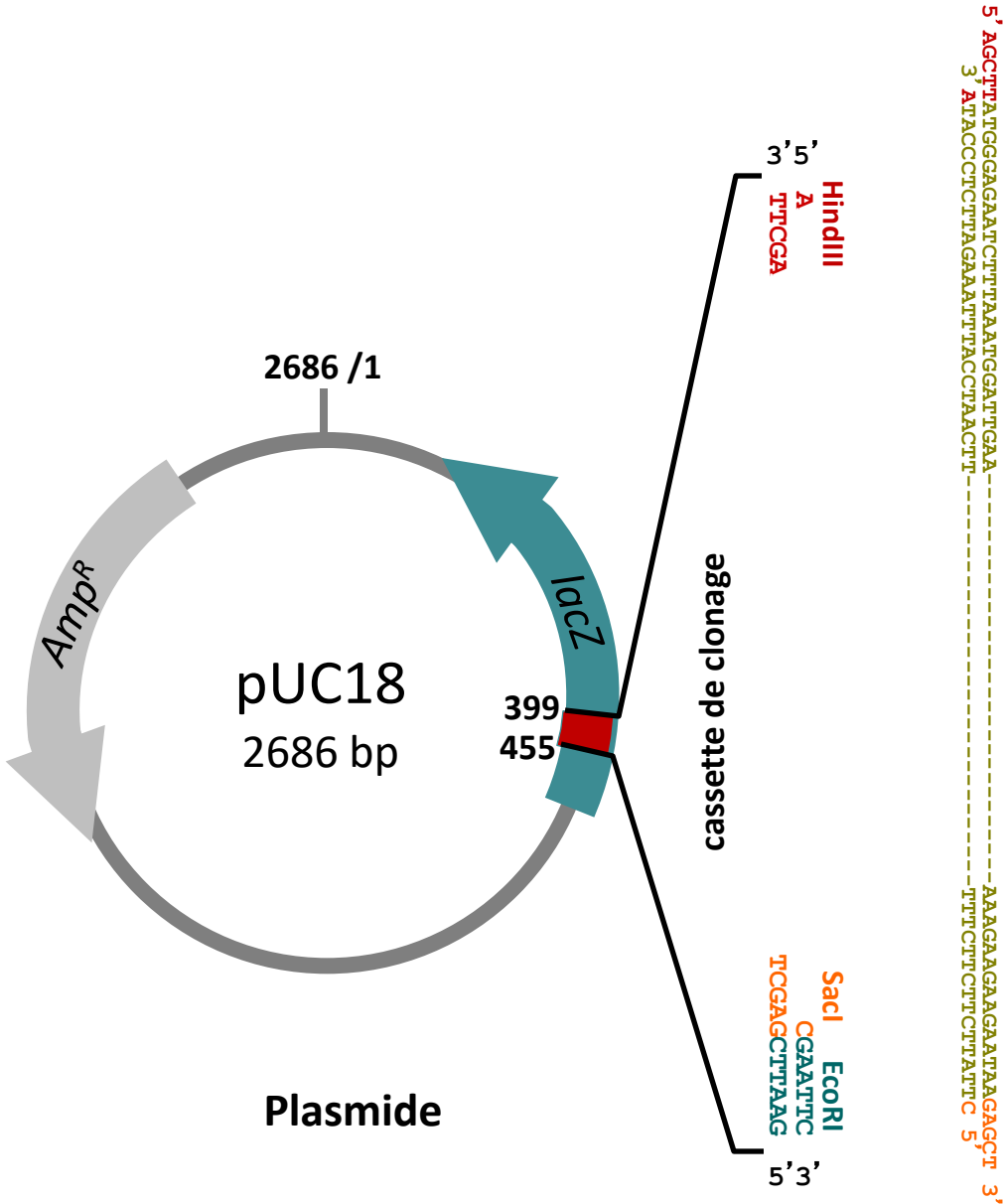


VI. Les gènes et le Clonage

5' CCCA 3' 5' CCCAAGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAA-----AAAGAAGAAGAATAAGAGCTCC 3'
 3' GGGTTCGA 5' 3' GGGTTCGAATACCCTCTTAGAAATTTACCTAACTT-----TTTCTTCTTCTTATTCTCGAGG 5'

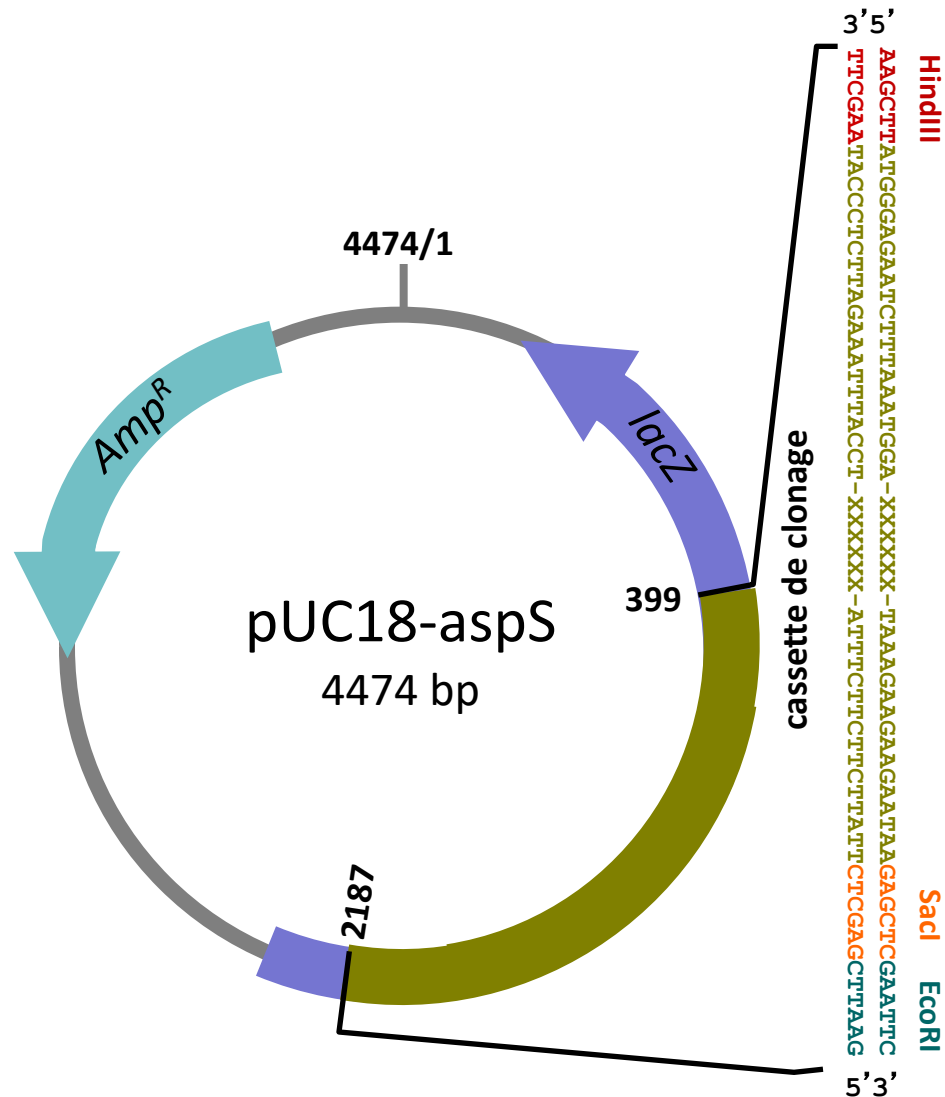
5' CCCA 3' 5' AGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAA-----AAAGAAGAAGAATAAGAGCT 3' CC 3'
 3' GGGTTCGA 5' 3' ATACCCTCTTAGAAATTTACCTAACTT-----TTTCTTCTTCTTATTC 5' TCGAGG 5'

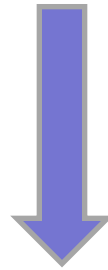
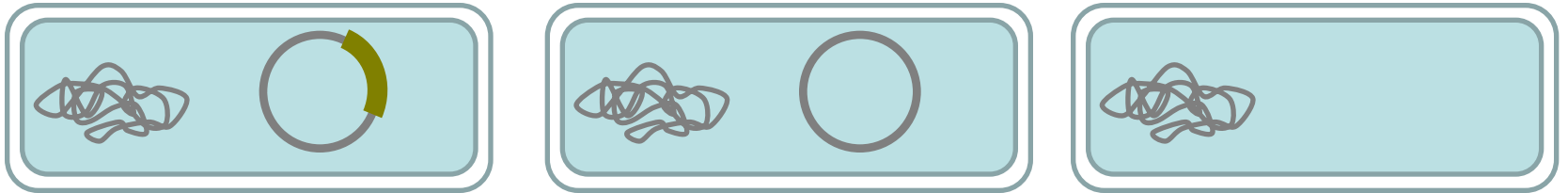
VI. Les gènes et le Clonage



VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

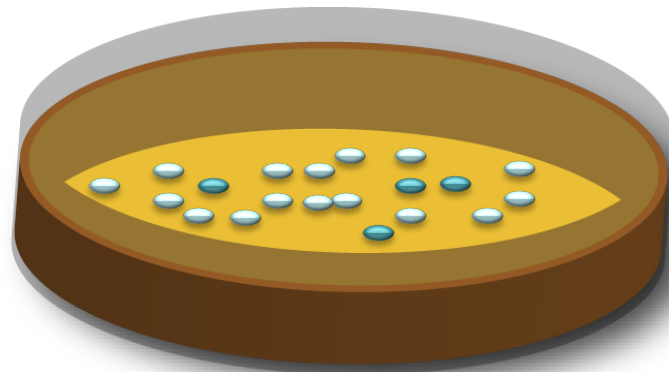
Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*

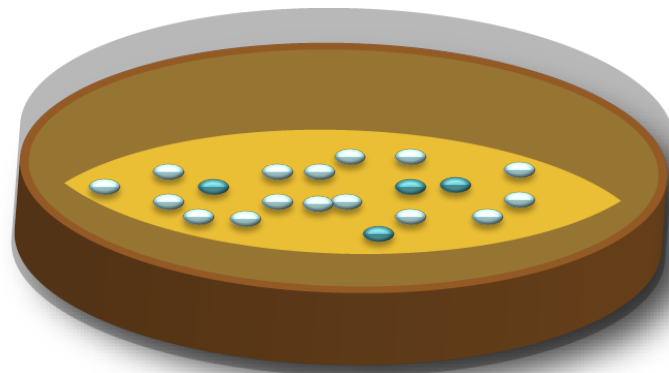
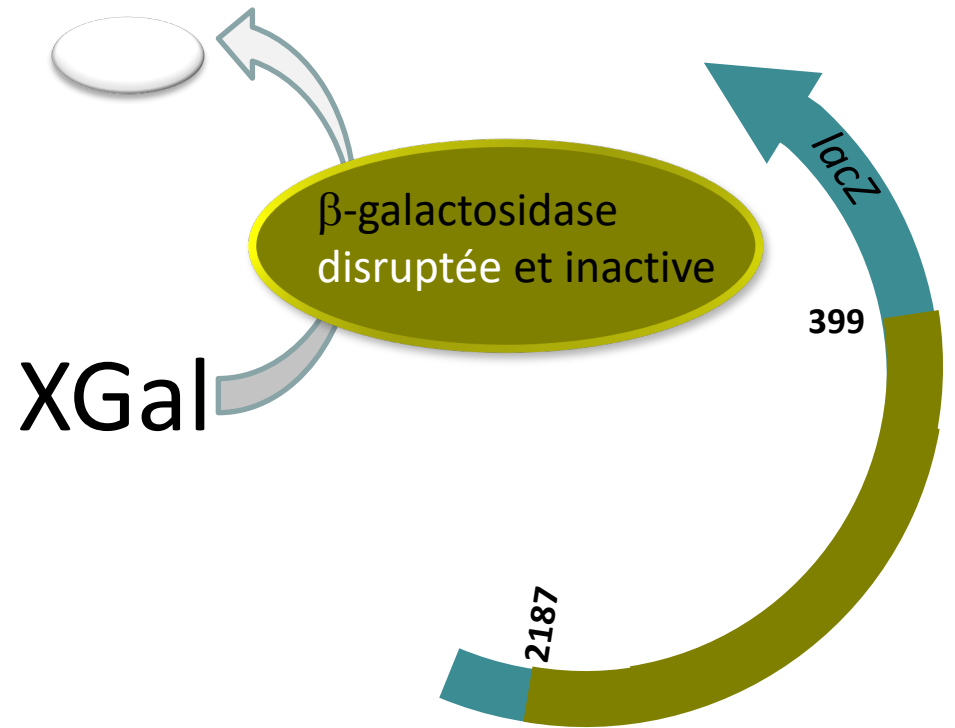
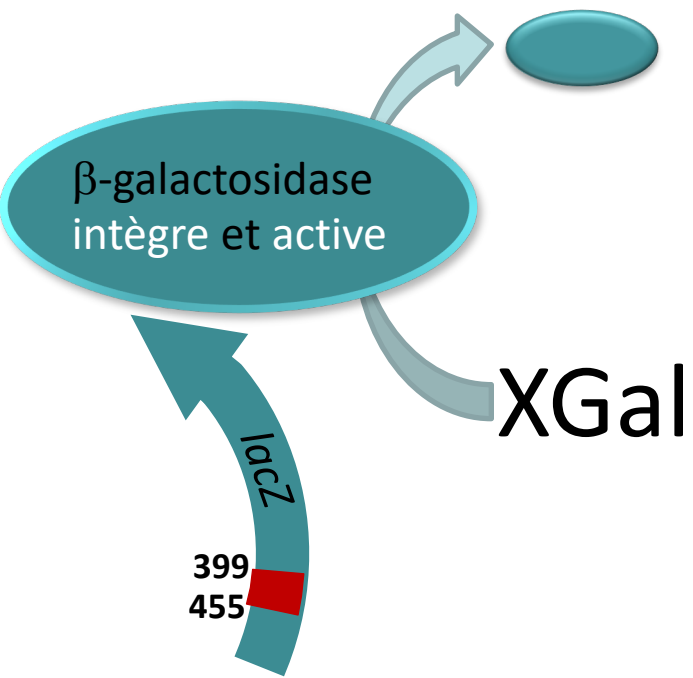


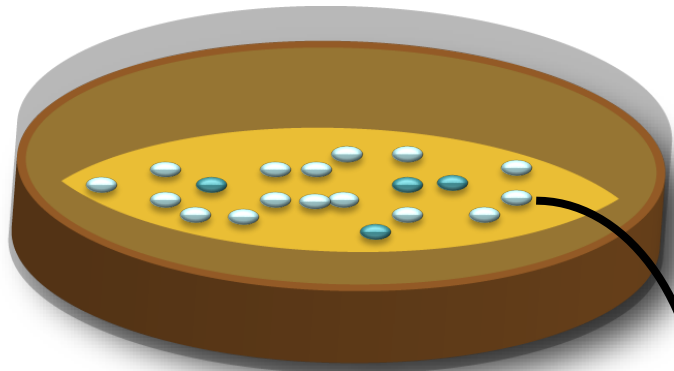


Etallement sur milieu sélectif

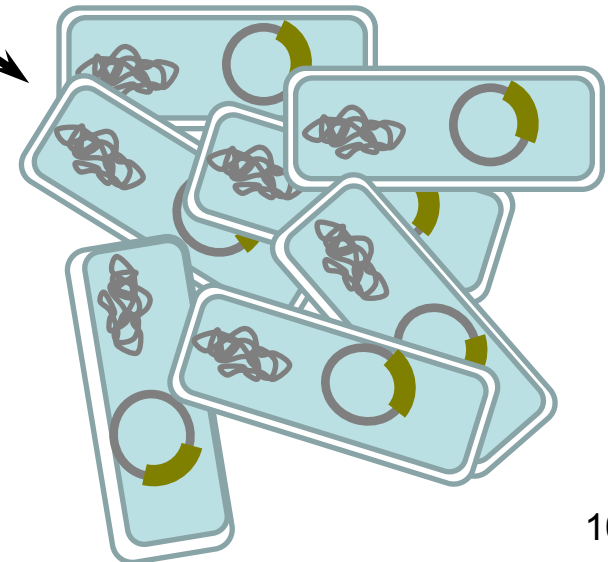
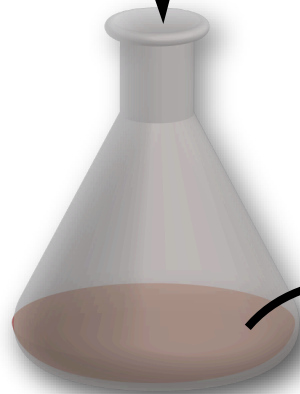
LB + Amp







Identification du bon clone et
amplification du plasmide



La Traduction de l'information génétique

Plan

I. Le code génétique

II. L' aminoacyl-ARNt

III. La synthèse de l' aminoacyl-ARNt

IV. L'identité d'un ARNt

V. Le ribosome

VI. La traduction

I. Le code génétique

La découverte du code



Marshall Nirenberg



H. Gobind Khorana

[¹⁴C]Aminoacyl-ARNt lié au ribosome

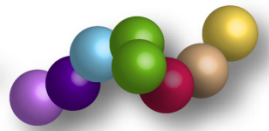
Trinucléotide	Phe-ARNt ^{Phe}	Lys-ARNt ^{Lys}	Pro-ARNt ^{Pro}
UUU	4,6	0	0
AAA	0	7,7	0
CCC	0	0	3,1

Source: Modified from Nirenberg, M. & Leder, P. (1964) RNA code words and protein synthesis. *Science* **145**, 1399.

I. Le code génétique



		Deuxième lettre				
		U	C	A	G	
U	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
		Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	C	Leu	Ser	Stop	Stop	A
		Leu	Ser	Stop	Trp	G
A	U	Leu	Pro	His	Arg	U
		Leu	Pro	His	Arg	C
	C	Leu	Pro	Gln	Arg	A
		Leu	Pro	Gln	Arg	G
G	U	Ile	Thr	Asn	Ser	U
		Ile	Thr	Asn	Ser	C
	C	Ile	Thr	Lys	Arg	A
		Met	Thr	Lys	Arg	G
G	U	Val	Ala	Asp	Gly	U
		Val	Ala	Asp	Gly	C
	C	Val	Ala	Glu	Gly	A
		Val	Ala	Glu	Gly	G



Nirenberg, M. W. & Matthaei, J. H. (1961). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 47, 1588-1602.
 Crick, F. H. (1968). *J. Mol. Biol.* 38, 367-379.

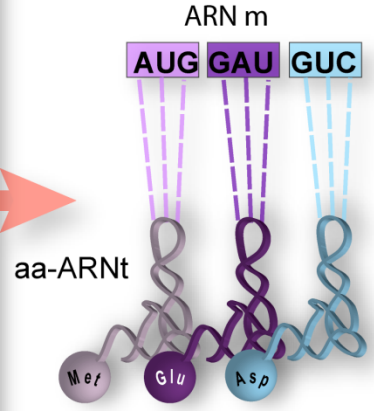
II. L' aminoacyl-ARNt



Deuxième lettre

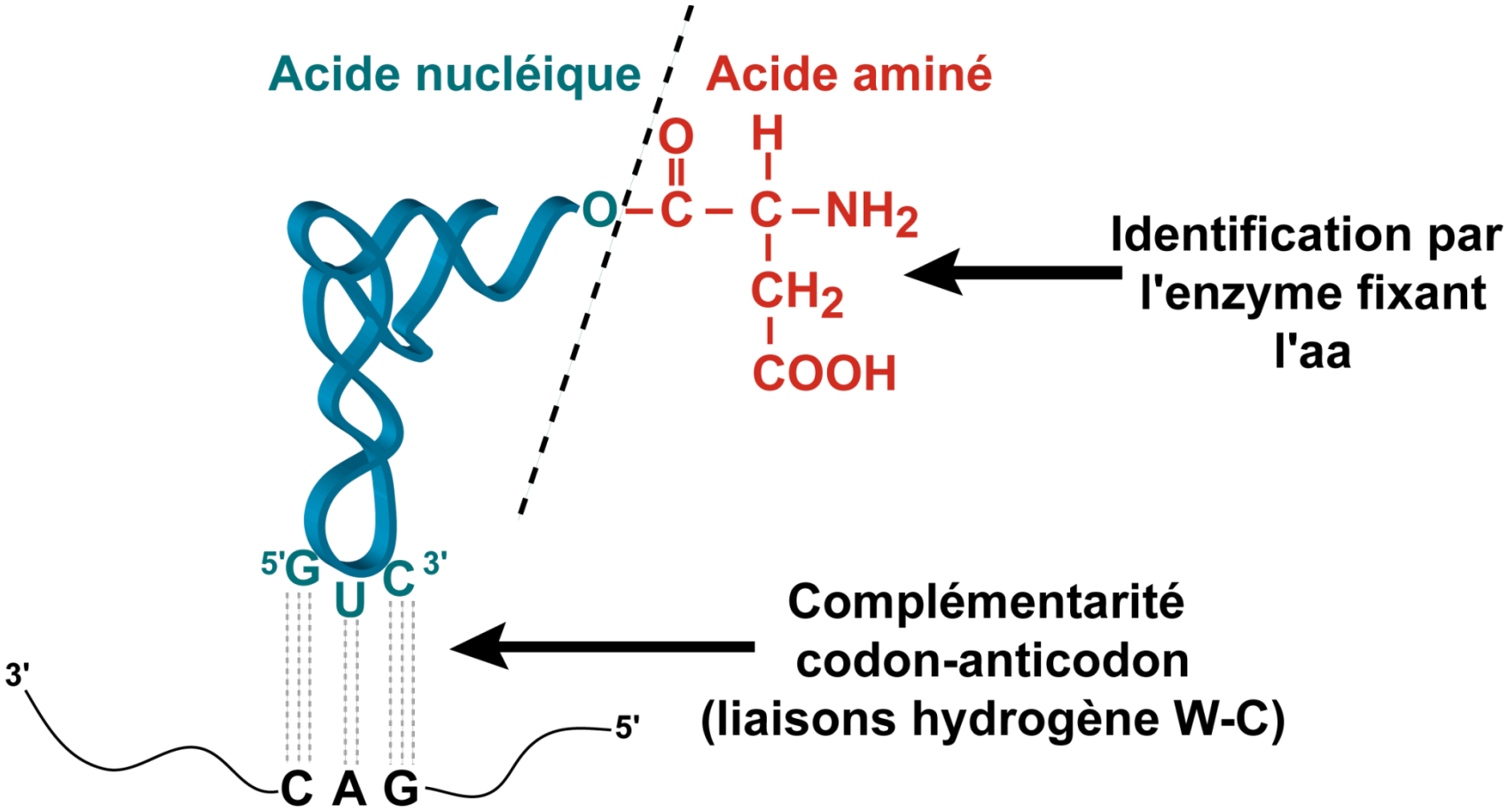
		U	C	A	G	
Première lettre	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Leu			Stop	Stop	C
				Stop	Trp	A
	C		Pro	His	Arg	G
				Gln		U
						C
A	Ile	Thr	Asn		A	
Met			Lys		C	
Val		Ala	Asp		A	
G			Glu		G	
					U	
					C	
					A	
					G	

Troisième lettre



Crick, F.H.C. (1958). Symp. Soc. Exp. Biol. 12, 138–163.

II. L' aminoacyl-ARNt



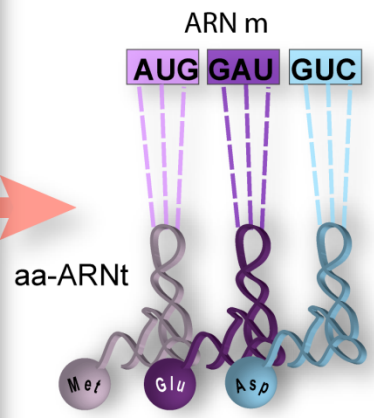
III. La synthèse de l' aminoacyl-ARNt



Deuxième lettre

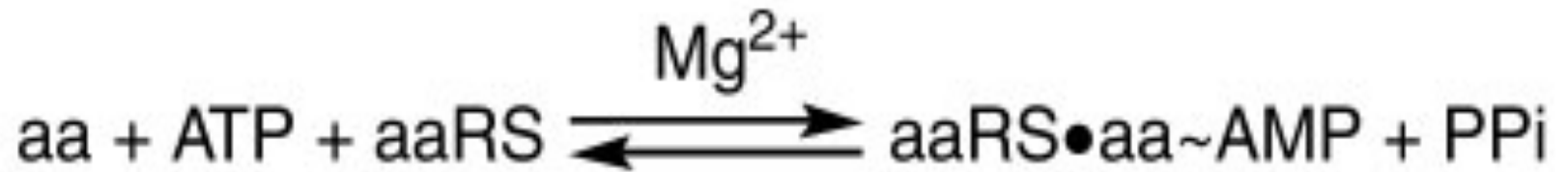
		U	C	A	G	
Première lettre	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Leu			Stop	Stop	C
				Stop	Trp	A
	C	Ile	Pro	His	Arg	G
	Met		Gln			U
	Val			Asn		C
A	Met	Thr	Lys		A	
Val			Asp		G	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U	
			Glu		C	
					A	

Troisième lettre

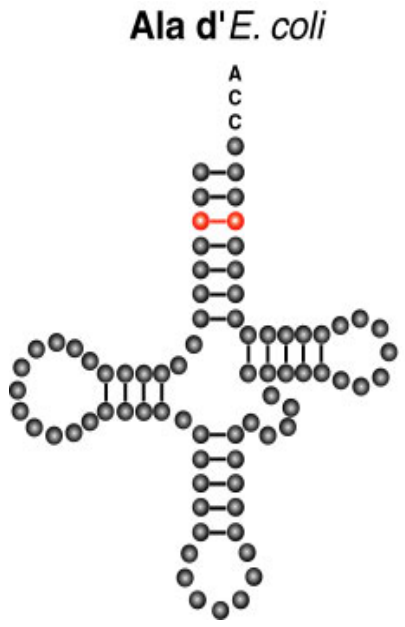
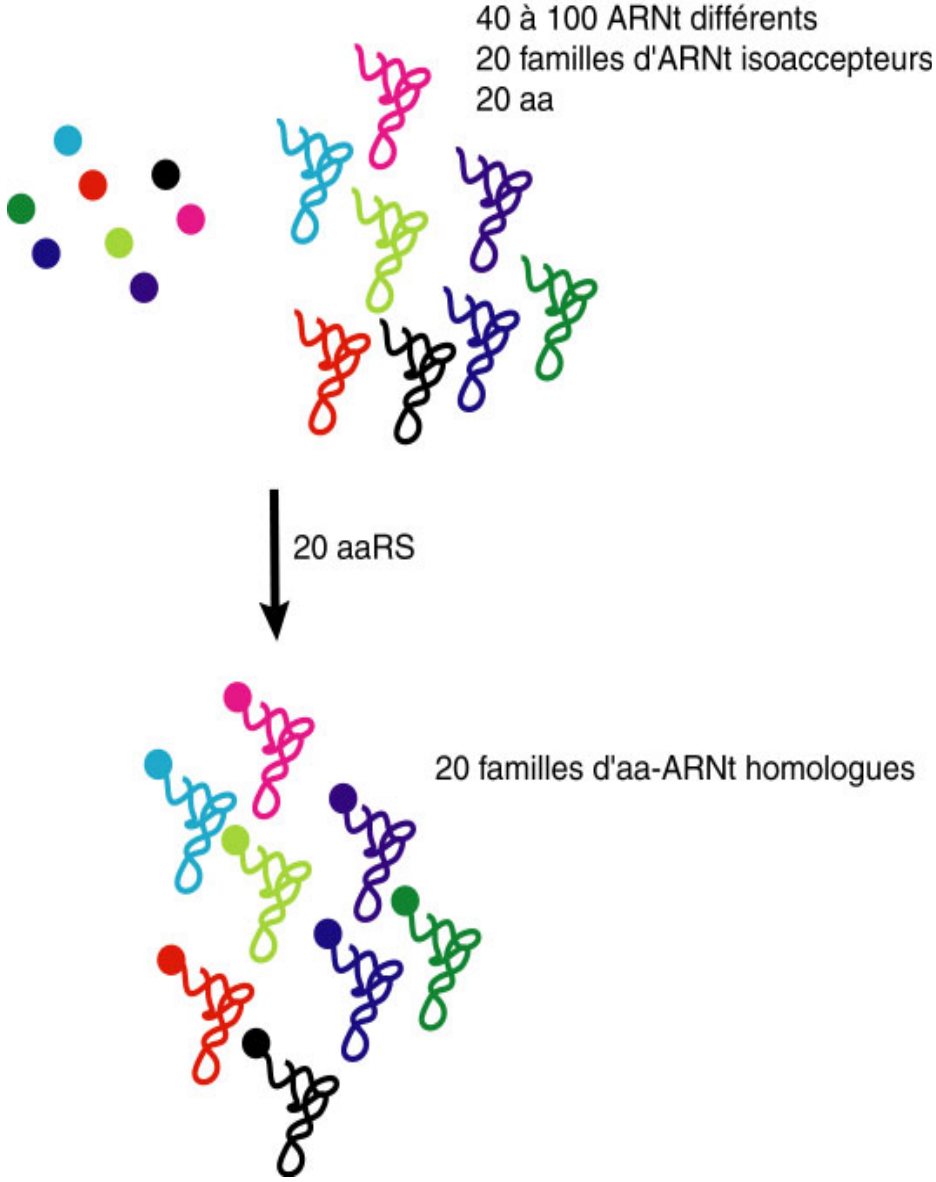


III. La synthèse de l' aminoacyl-ARNt

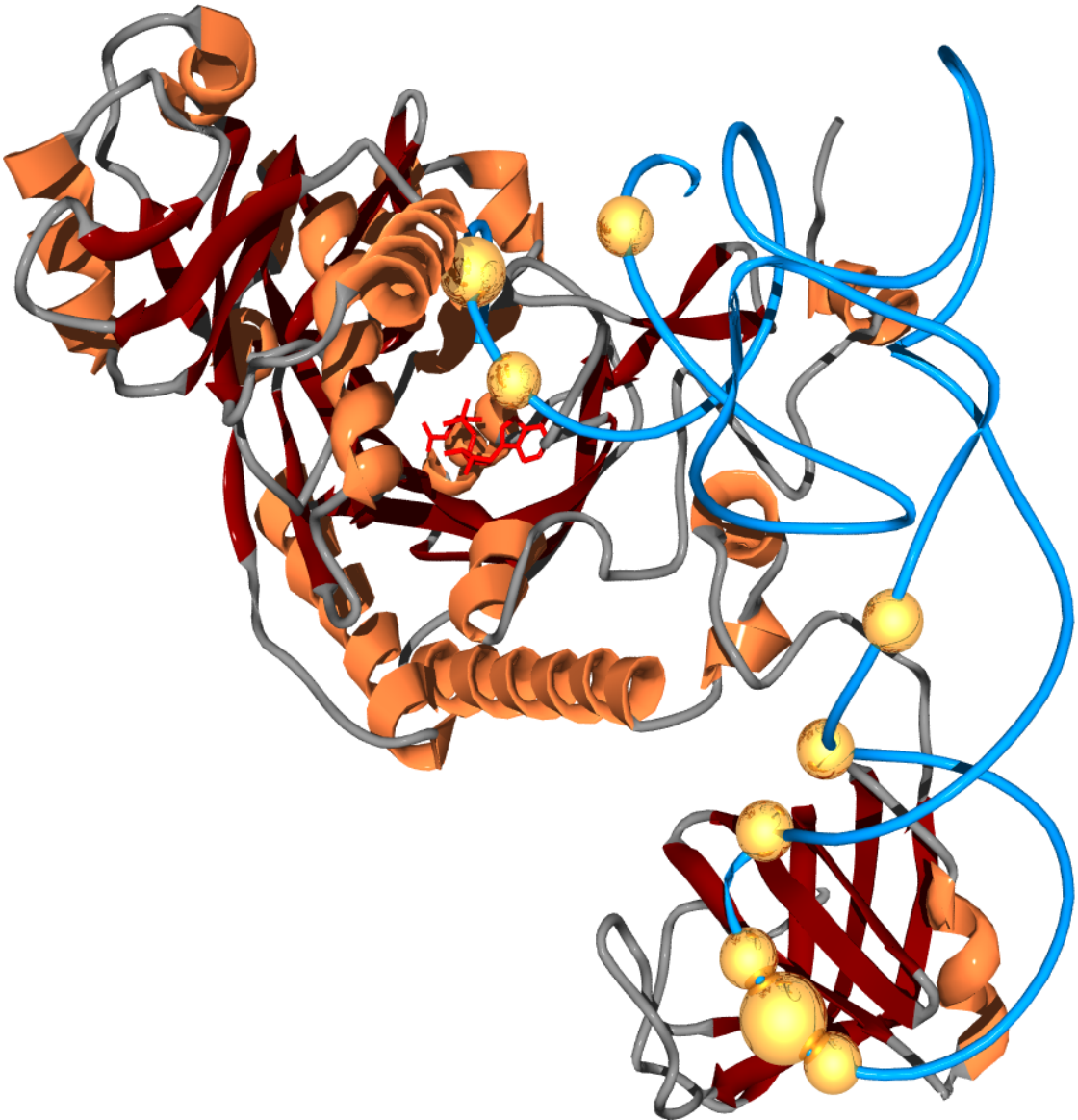
La réaction d' aminoacylation



IV. L'identité d'un ARNt



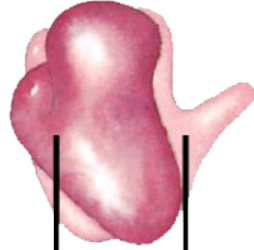
IV. L'identité d'un ARNt



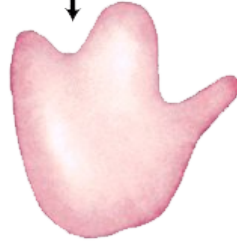
V. Le ribosome

Ribosome bactérien 70S

$$M_r = 2,7 \times 10^6$$



50S



30S



Ribosome eucaryotique 80S

$$M_r = 4,2 \times 10^6$$



60S



40S



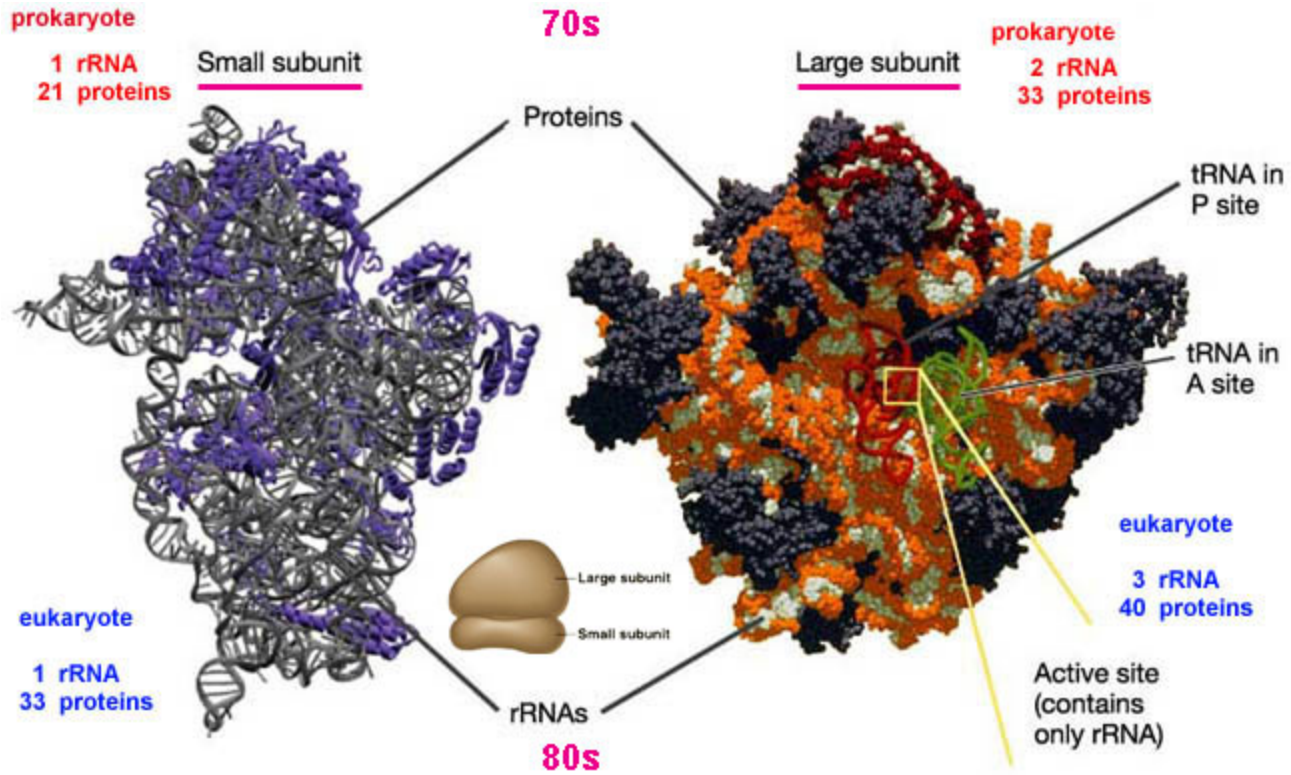
$M_r = 1,8 \times 10^6$
ARNr 5S (120 Ntides)
ARNr 23S (3200 Ntides)
36 protéines

$M_r = 0,9 \times 10^6$
ARNr 16S (1540 Ntides)
21 protéines

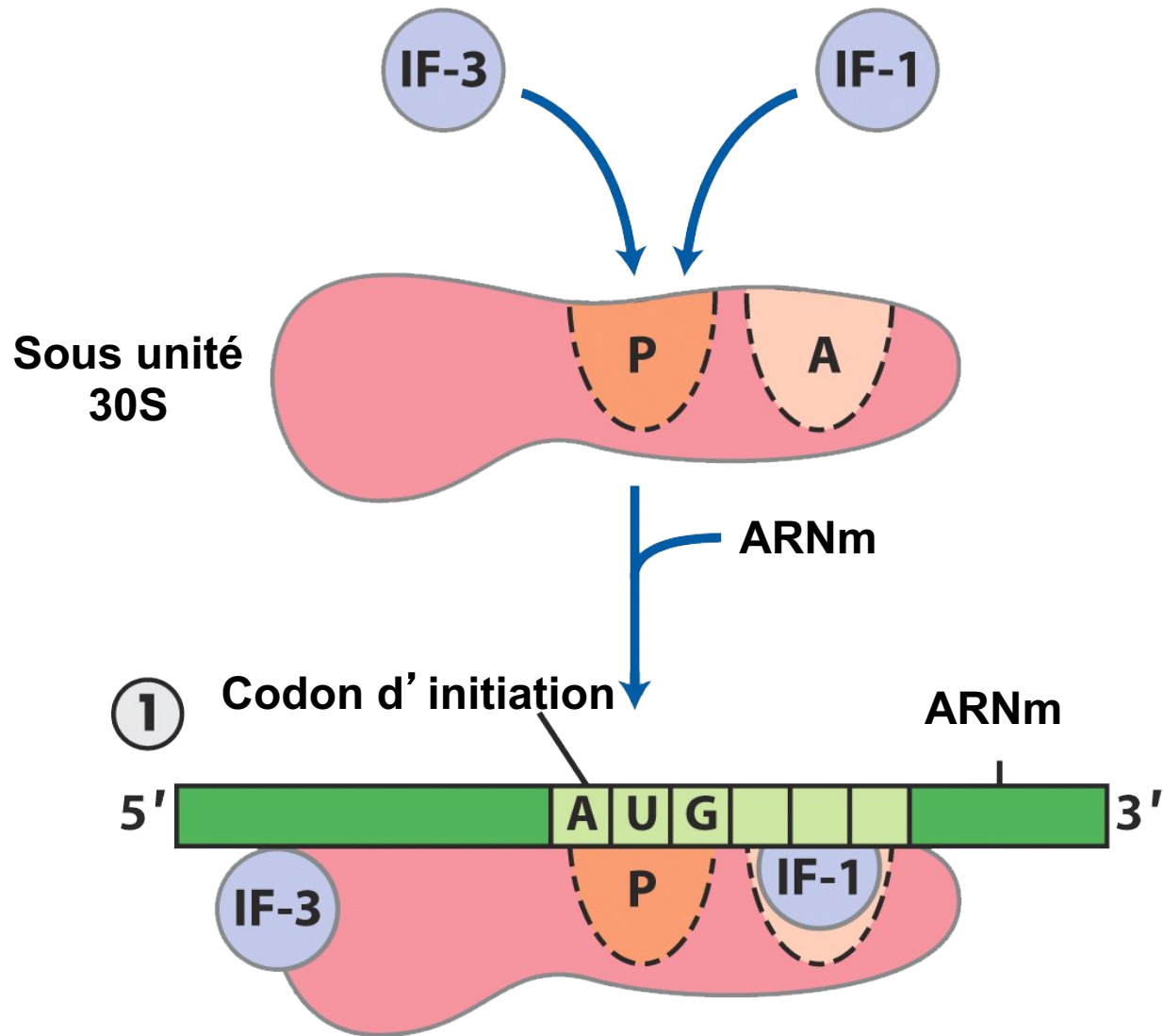
$M_r = 2,8 \times 10^6$
ARNr 5S (120 Ntides)
ARNr 28S (4700 Ntides)
ARNr 5,8S (160 Ntides)
49 protéines

$M_r = 1,4 \times 10^6$
ARNr 18S (1900 Ntides)
33 protéines

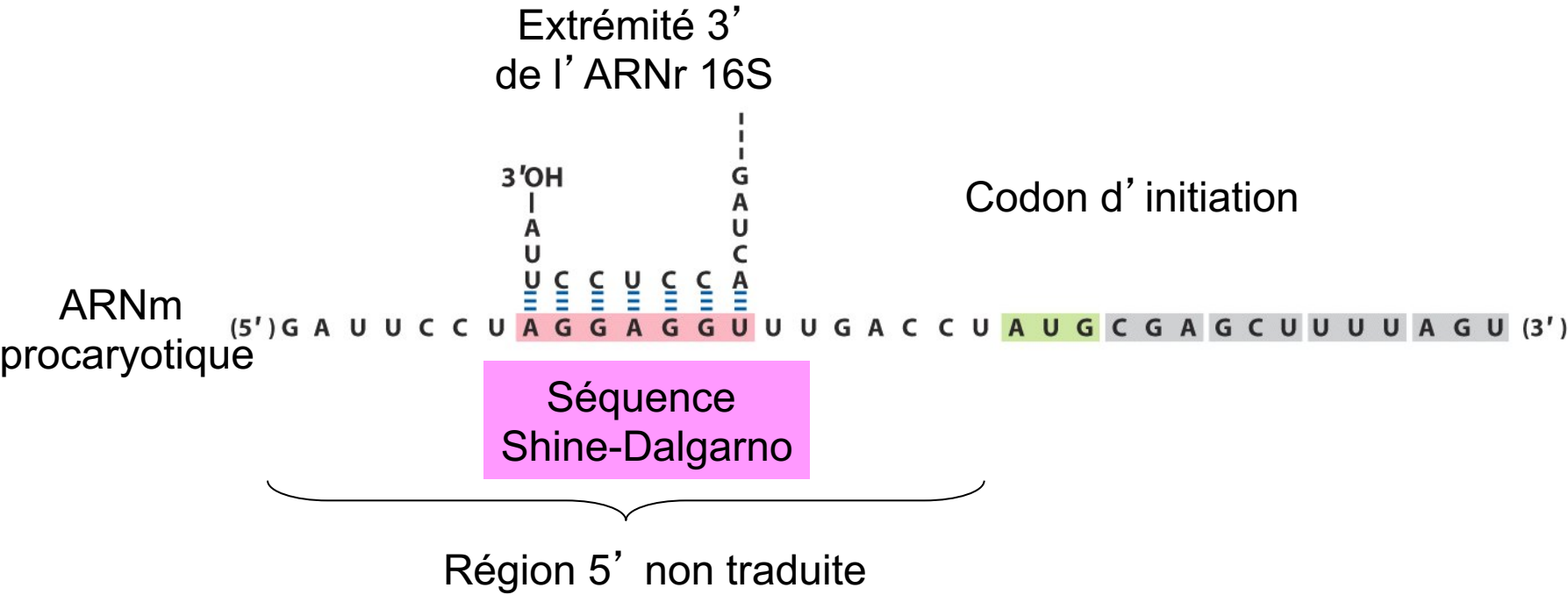
V. Le ribosome



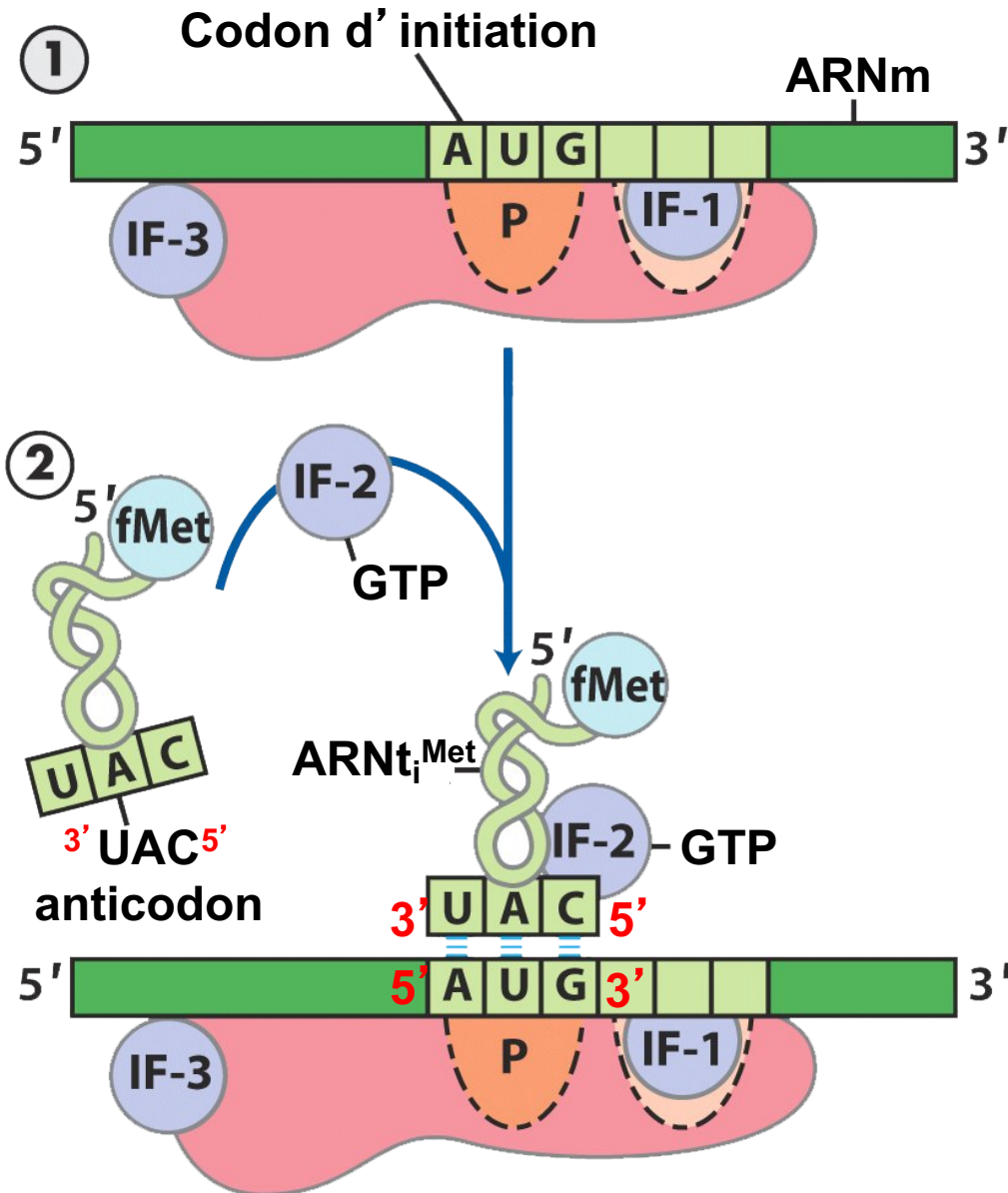
VI. La traduction



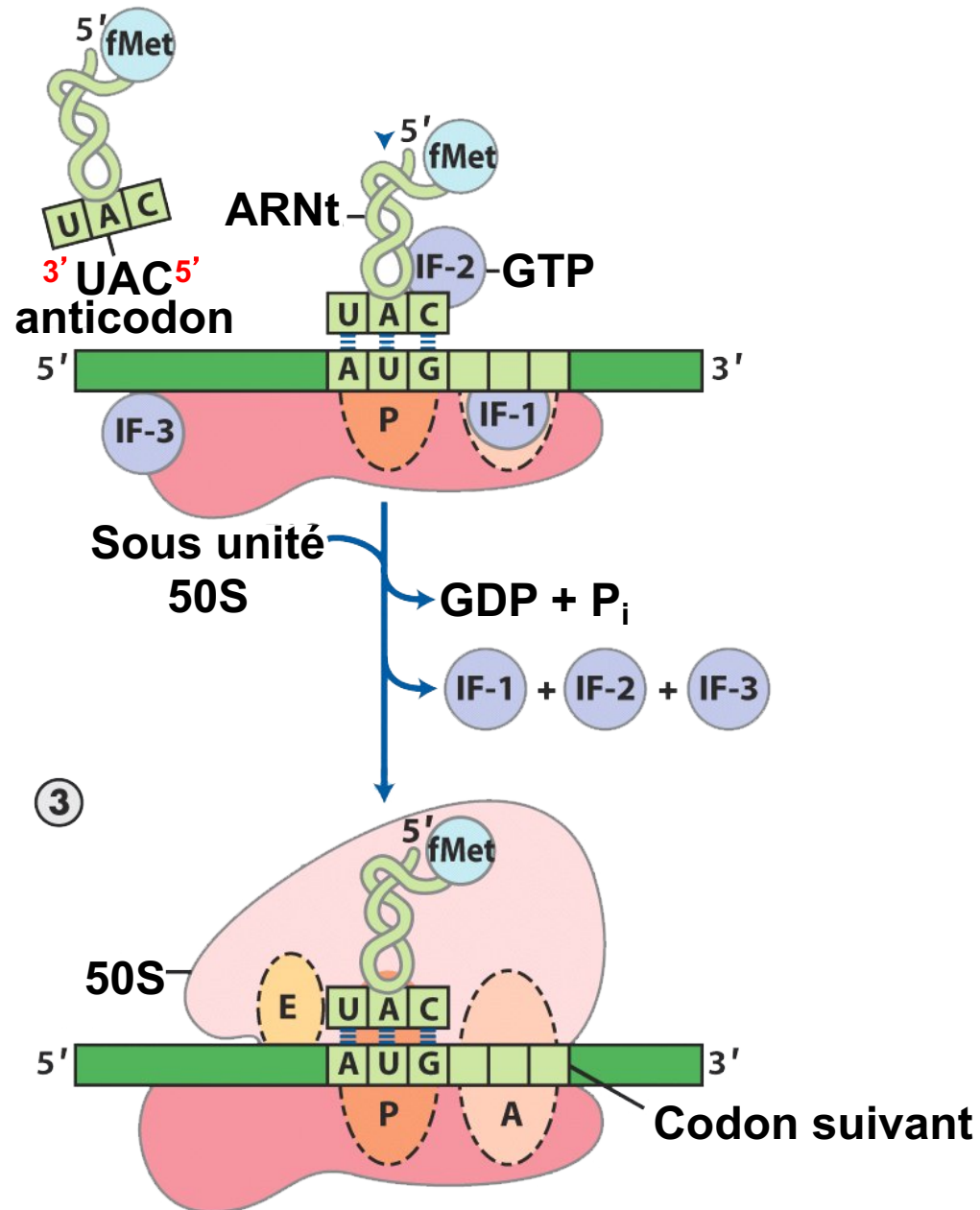
VI. La traduction



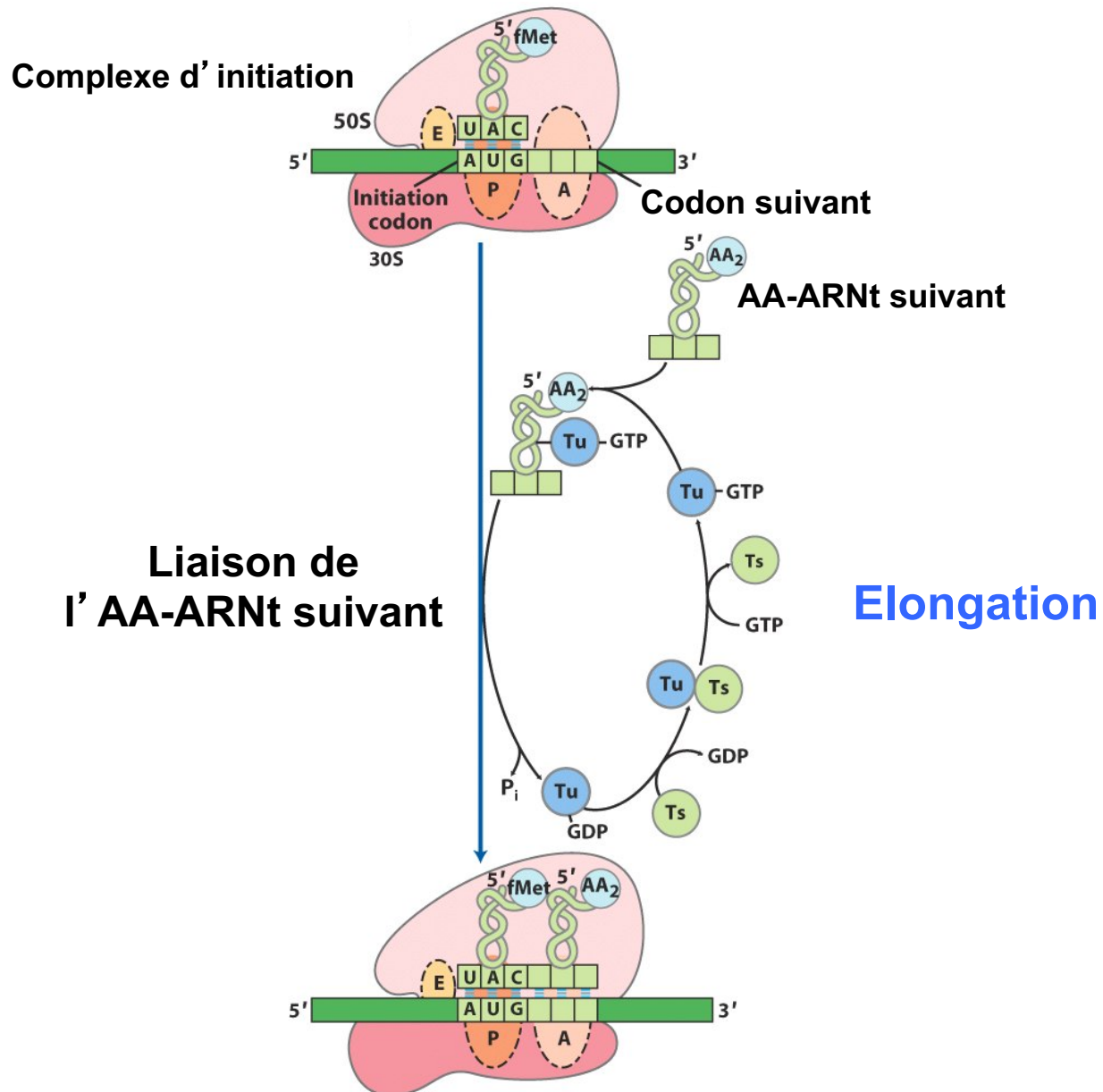
VI. La traduction



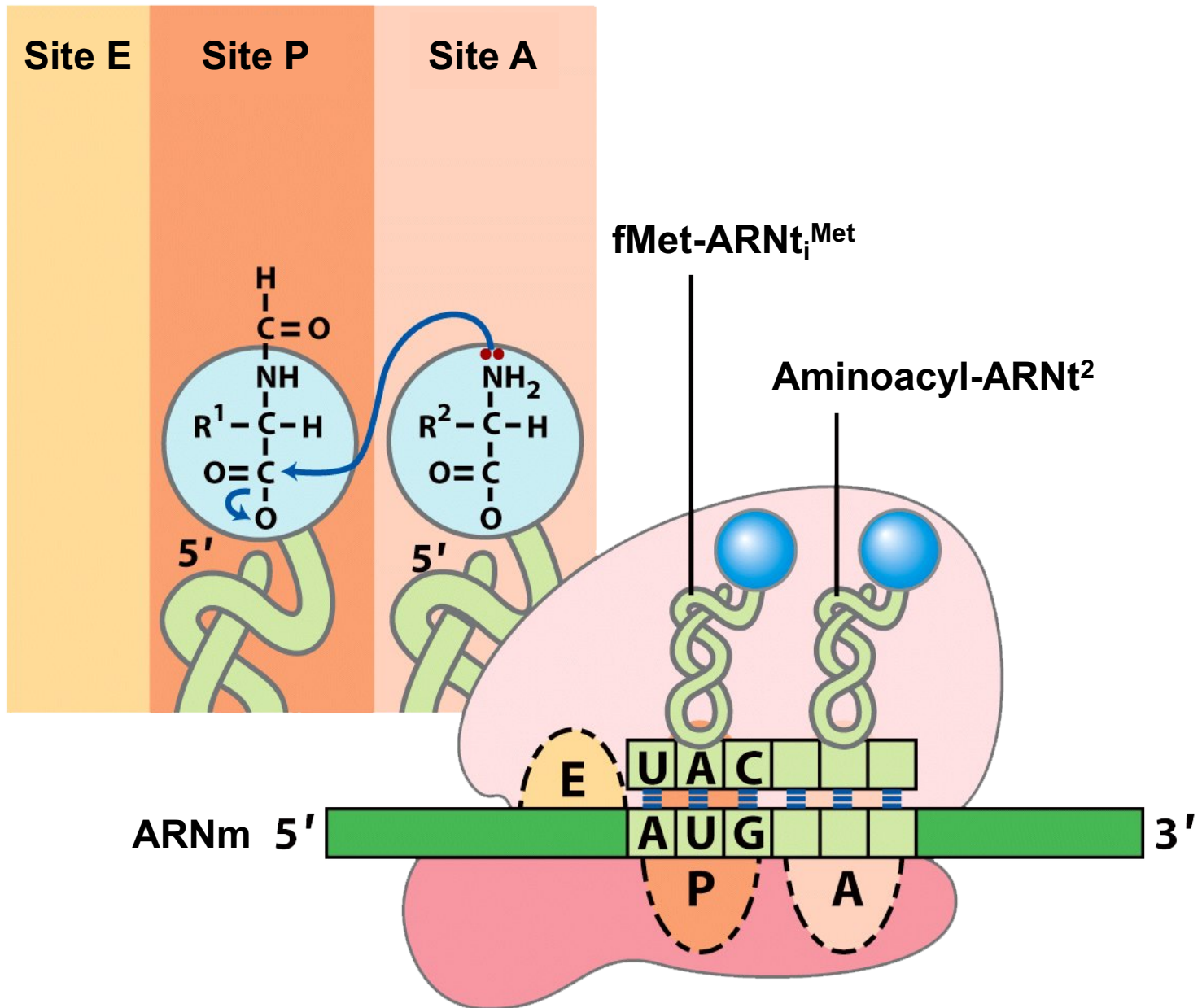
VI. La traduction



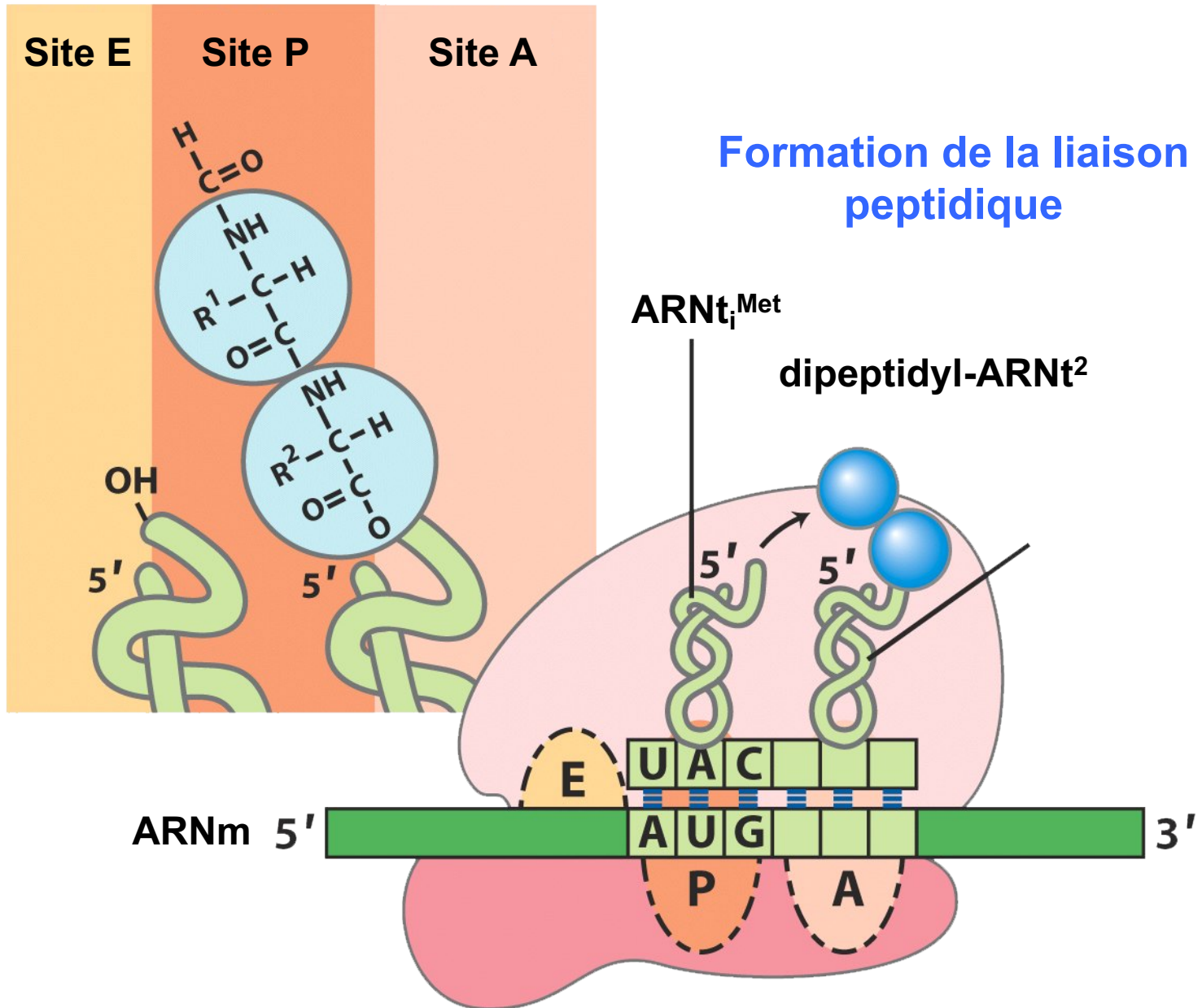
VI. La traduction



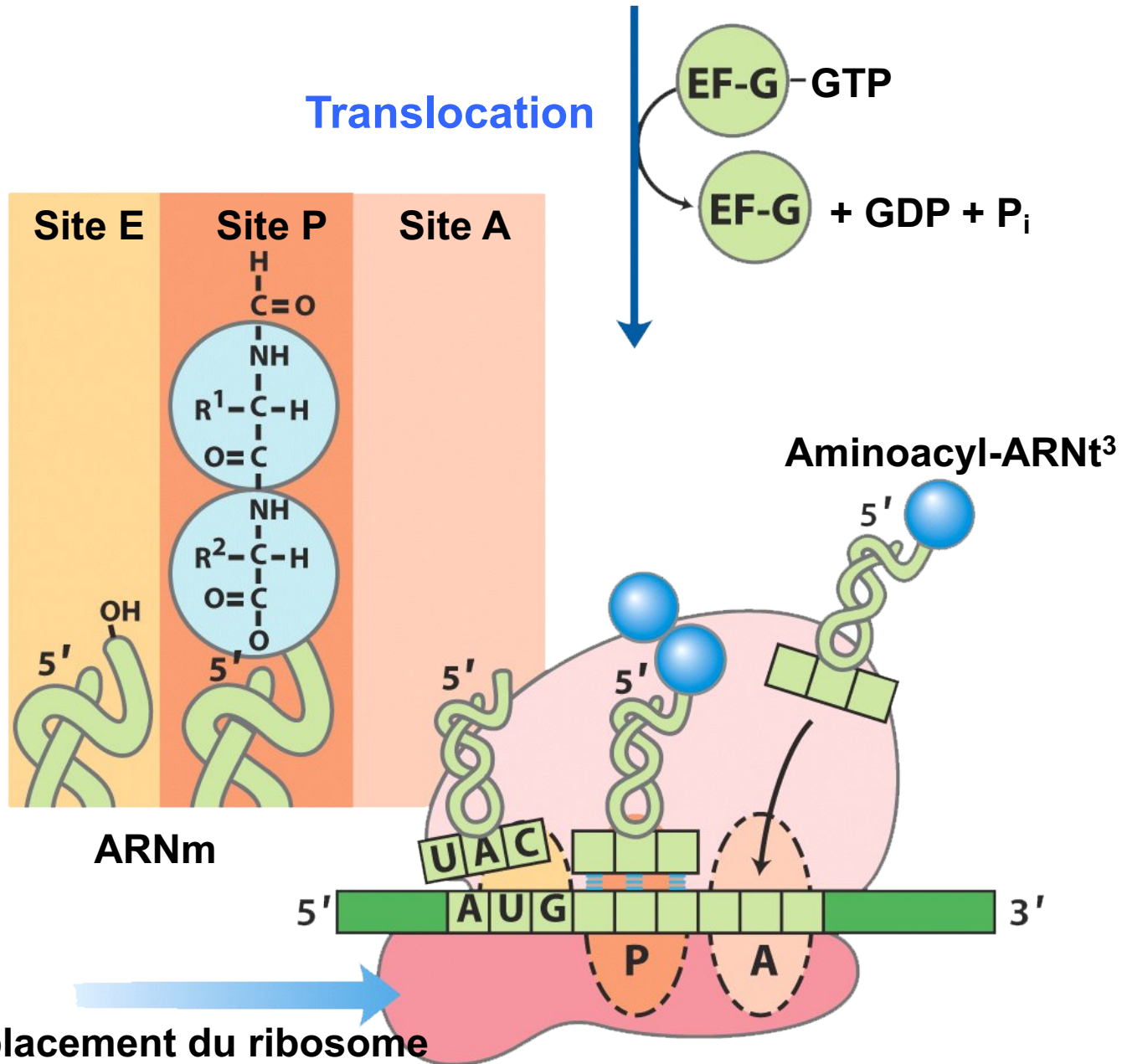
VI. La traduction



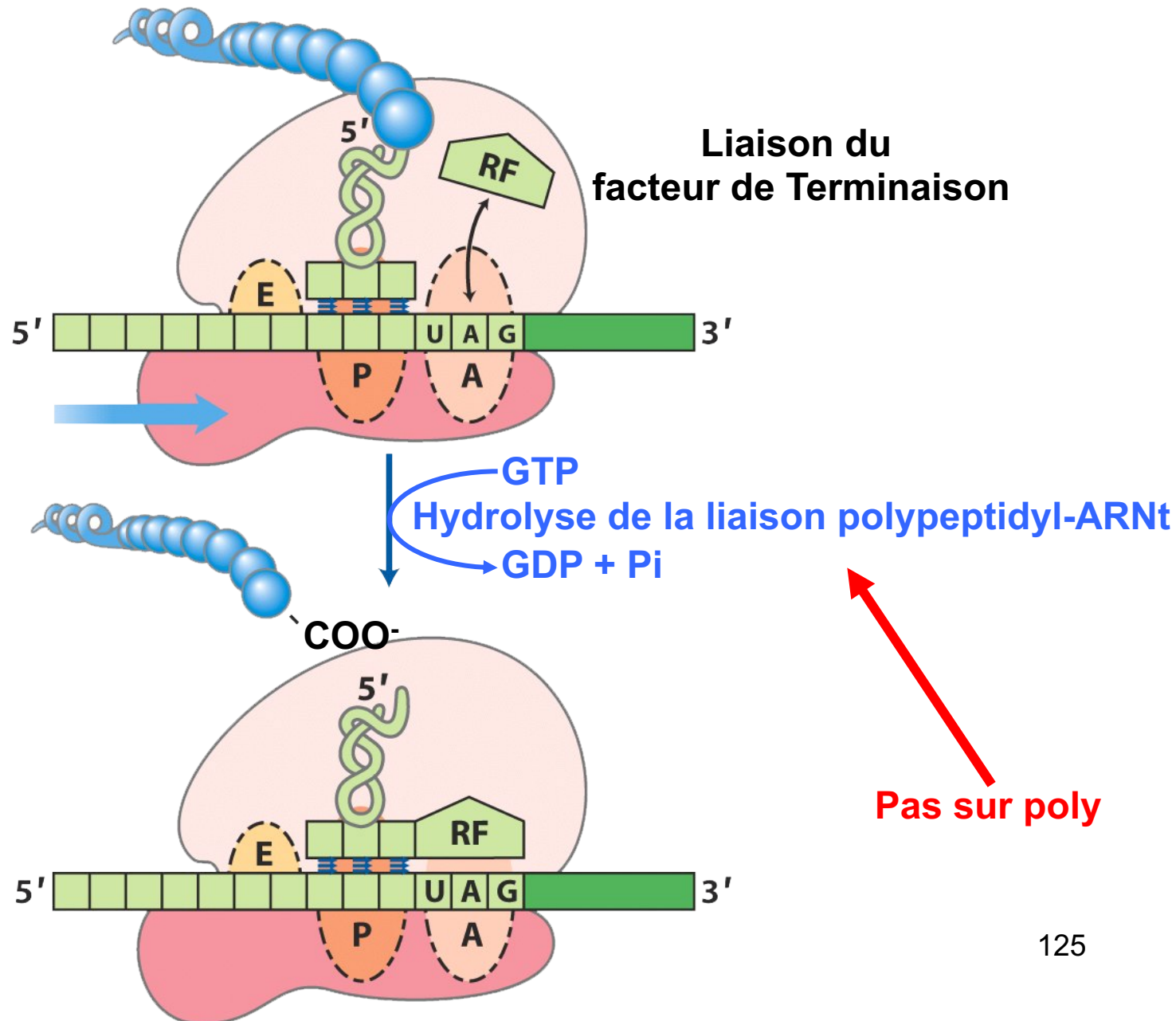
VI. La traduction



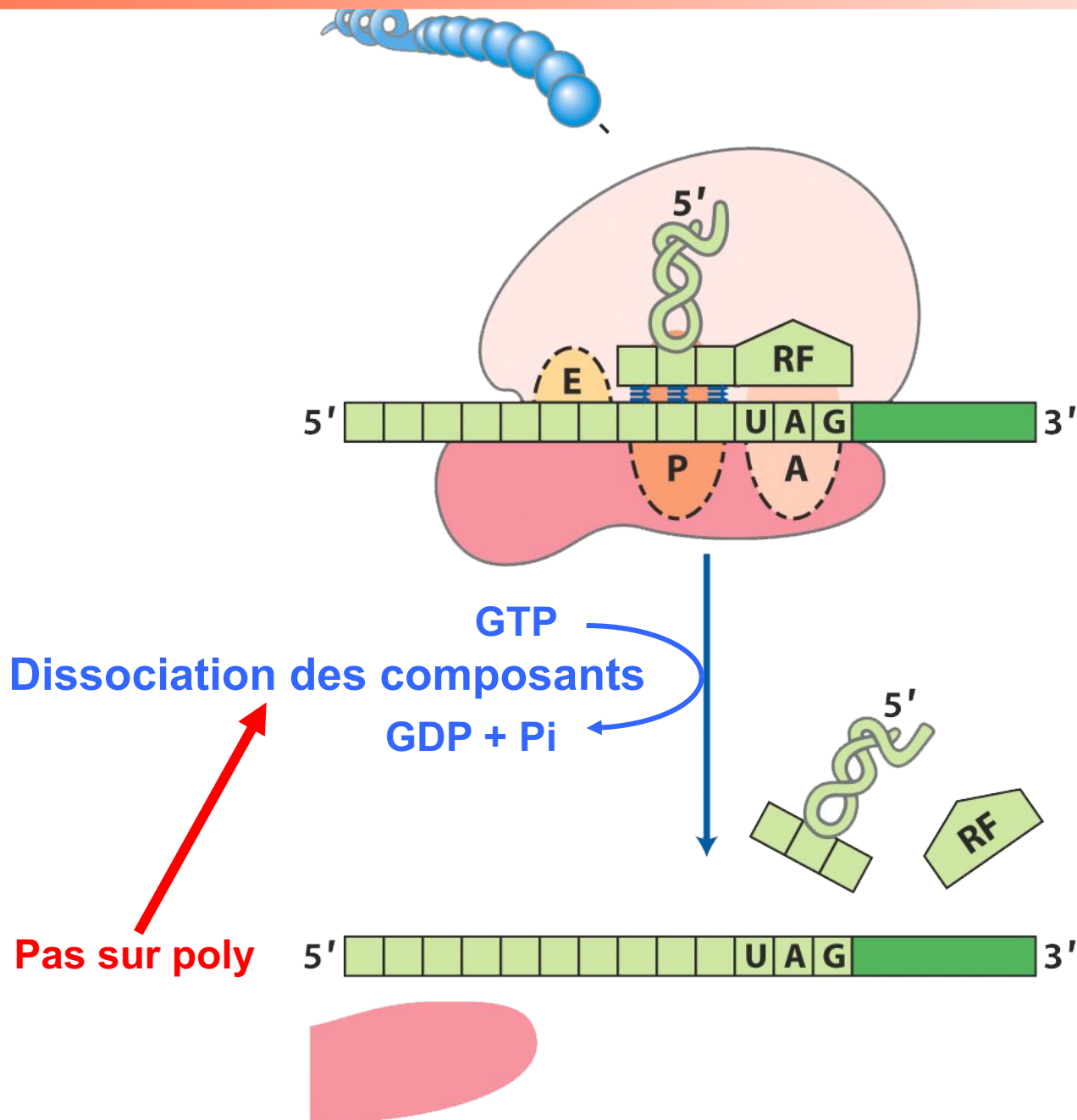
VI. La traduction



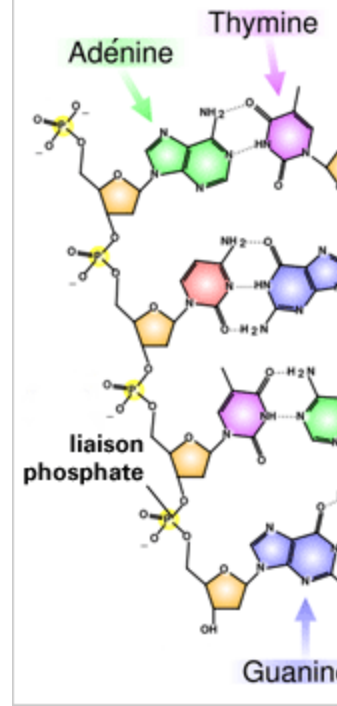
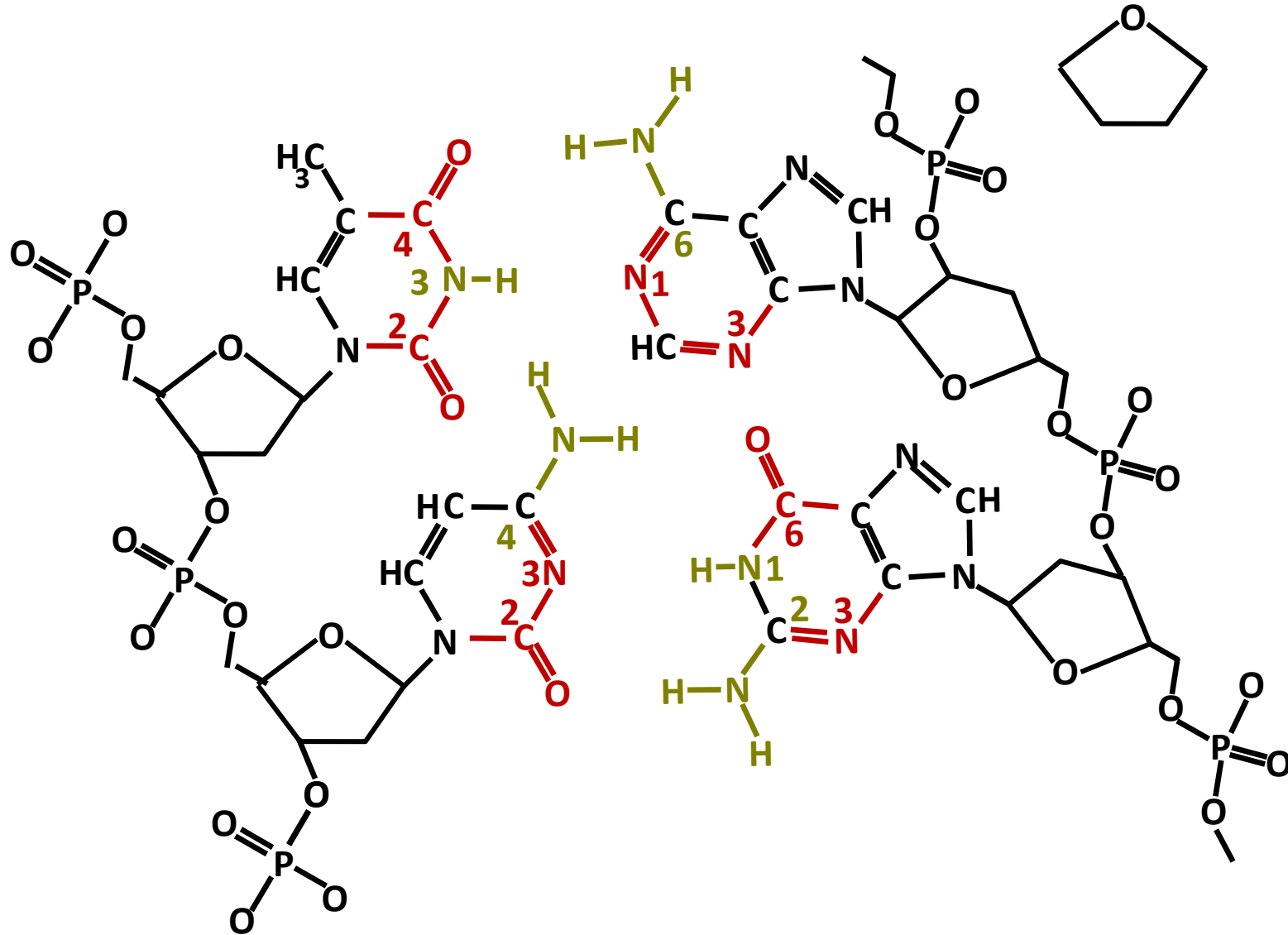
VI. La traduction



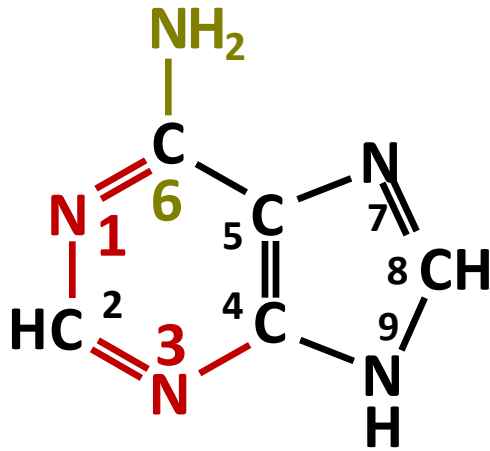
VI. La traduction



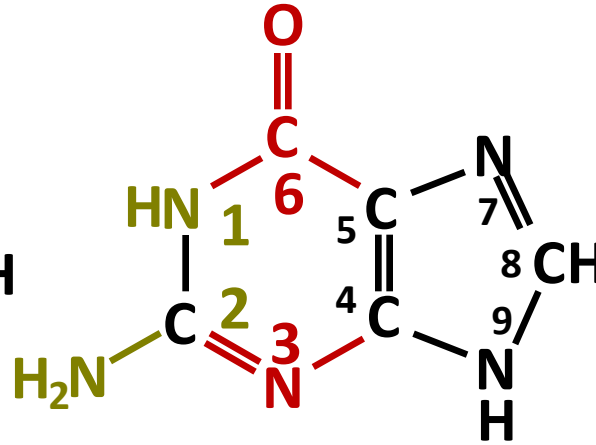
III.1.b. La liaison hydrogène



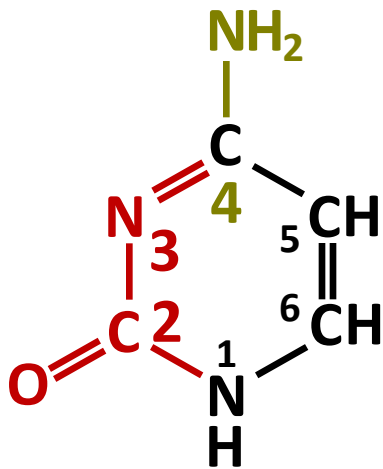
III.1.b. La liaison hydrogène



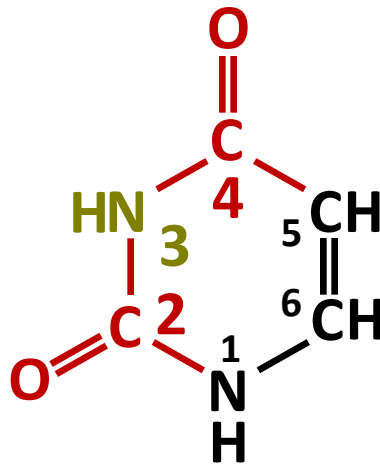
Adénine



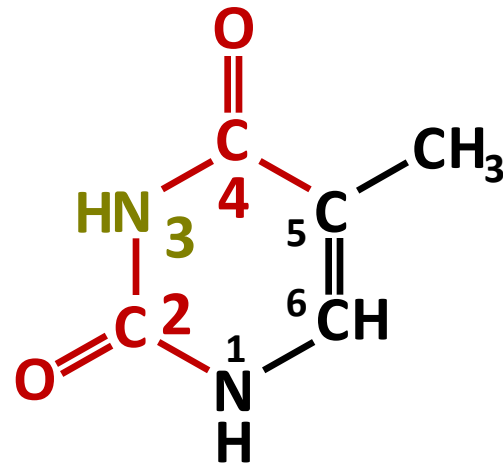
Guanine



Cytosine

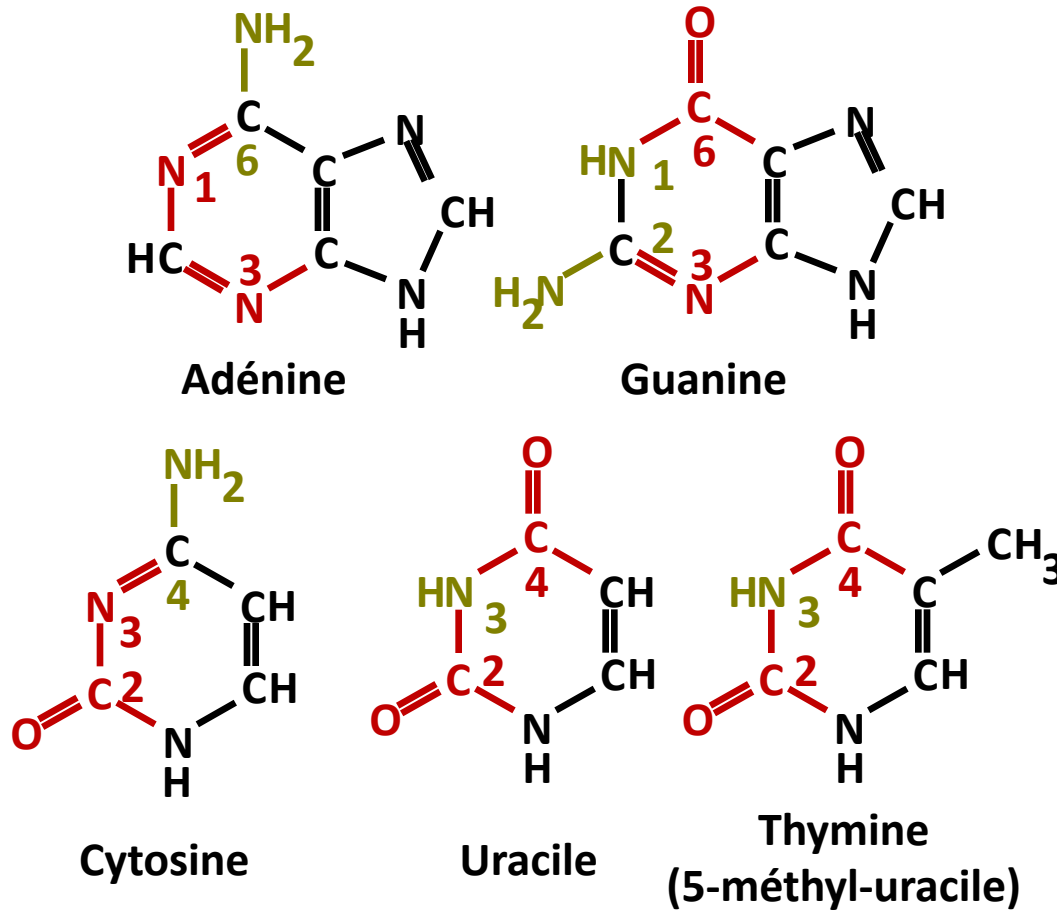


Uracile



Thymine
(5-méthyl-uracile)

III.1.b. La liaison hydrogène



Accepteur

Donneur