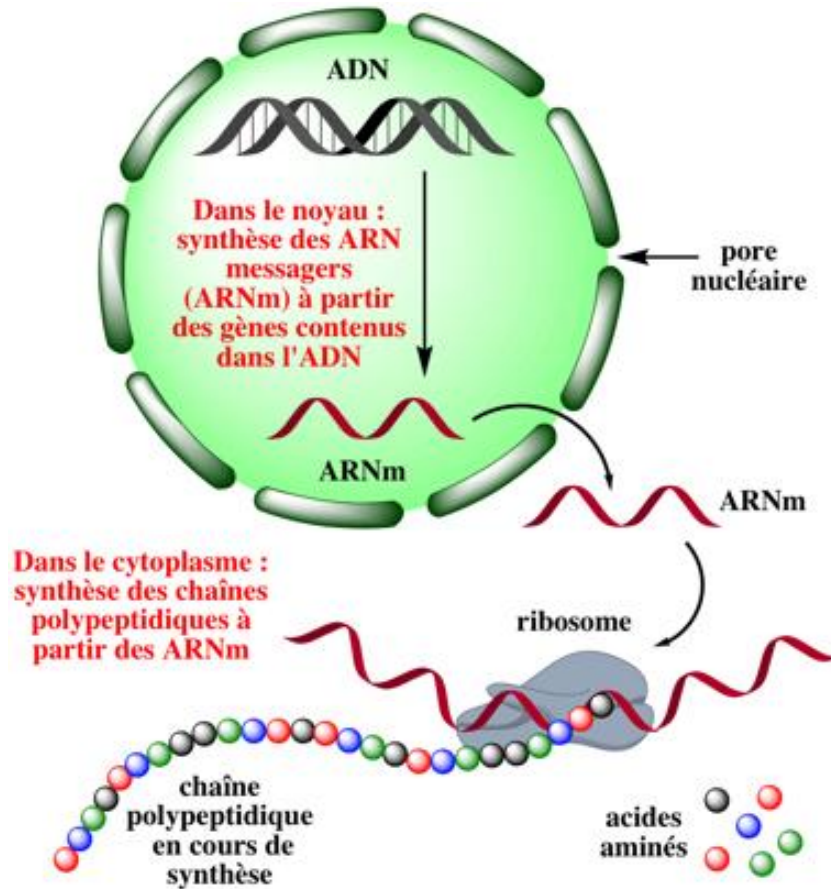


Les étapes de l'expression des gènes

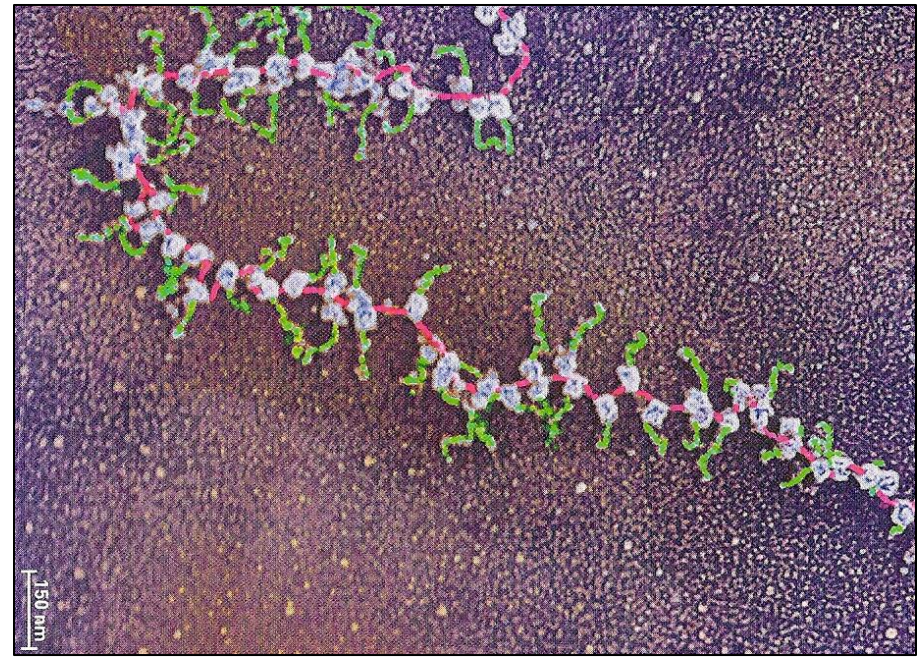
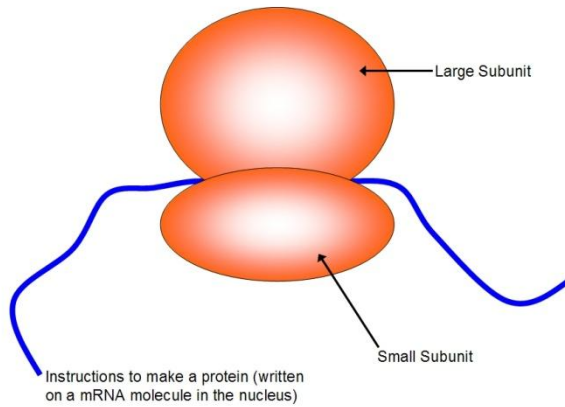


1^{ère} étape: transcription (noyau)

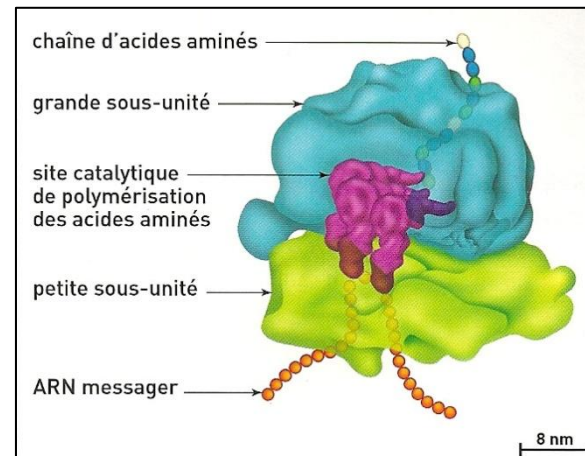
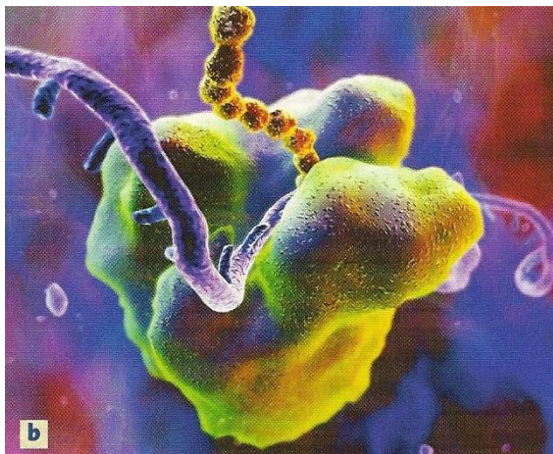
2^{ème} étape: traduction (cytoplasme)

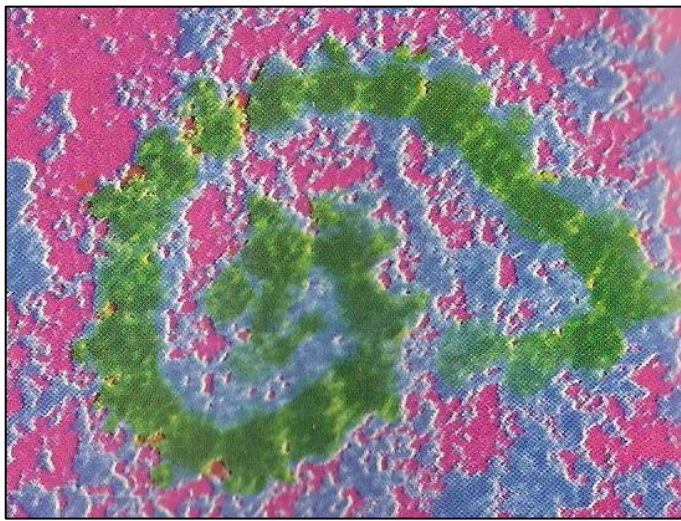
- L'étude de la structure et des propriétés physico-chimiques du ribosome montre que cet organite possède **divers sites spécifiques**, dont :
 - un site spécialisé dans la catalyse de la liaison chimique entre acides aminés,
 - un site de reconnaissance et de fixation à l'ARN messager.
- De plus, le ribosome est capable de glisser sur la molécule d'ARN messager, comme une perle sur le fil d'un collier.

Ribosome diameter = 10 nm

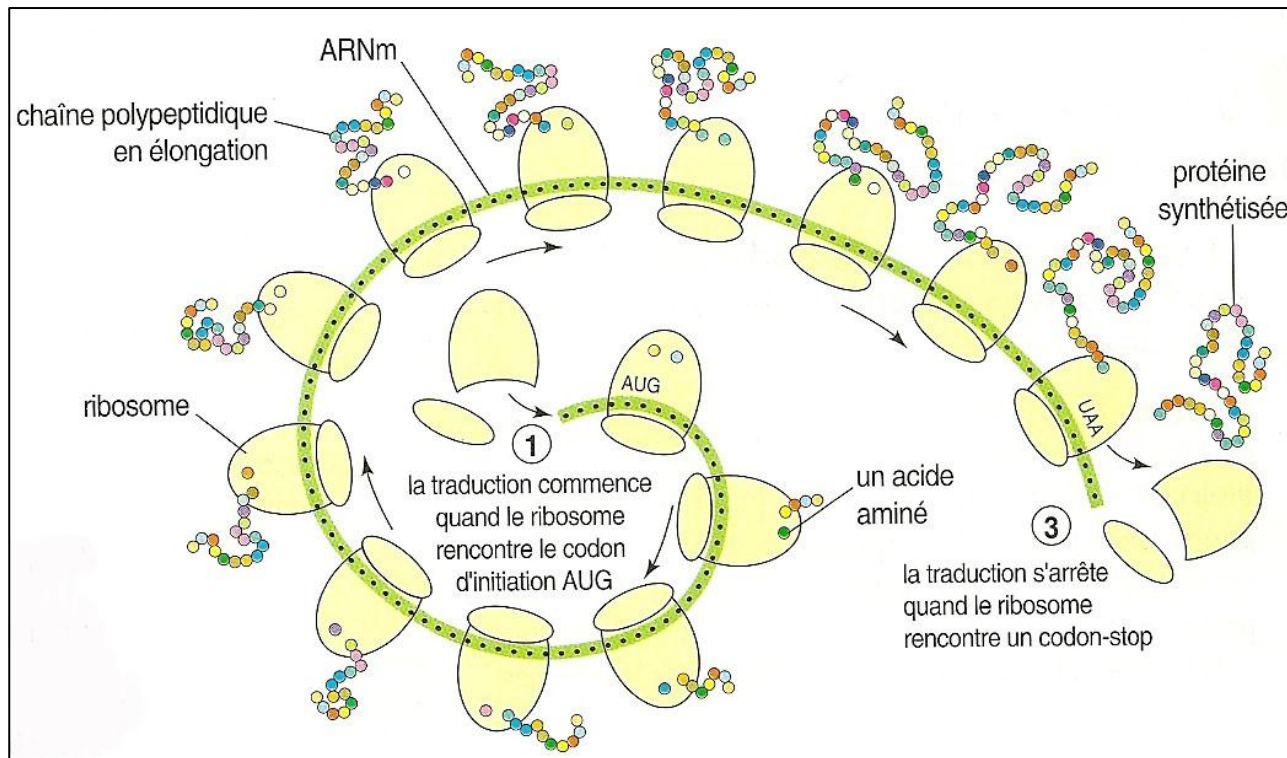


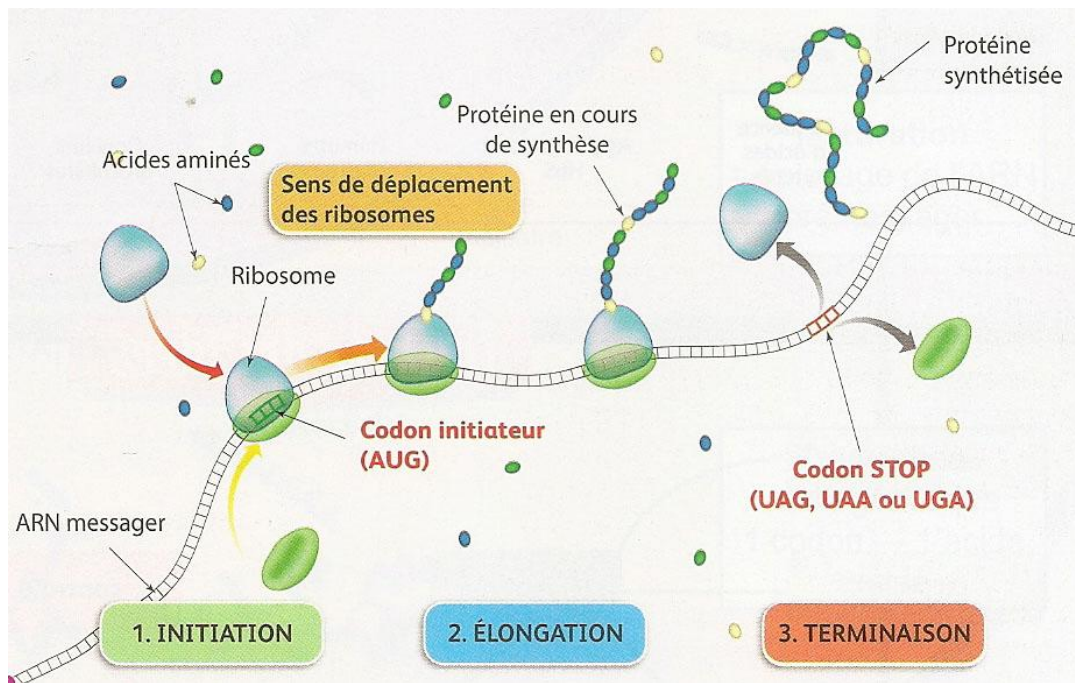
Les ribosomes



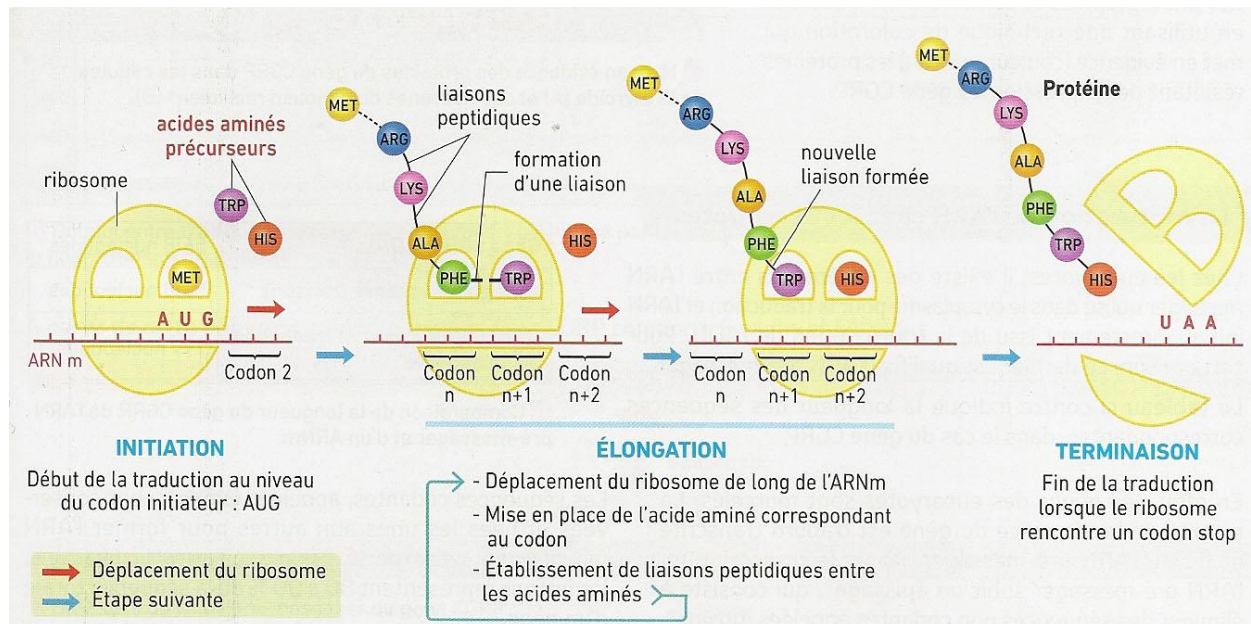


Interprétation d'un polyribosome



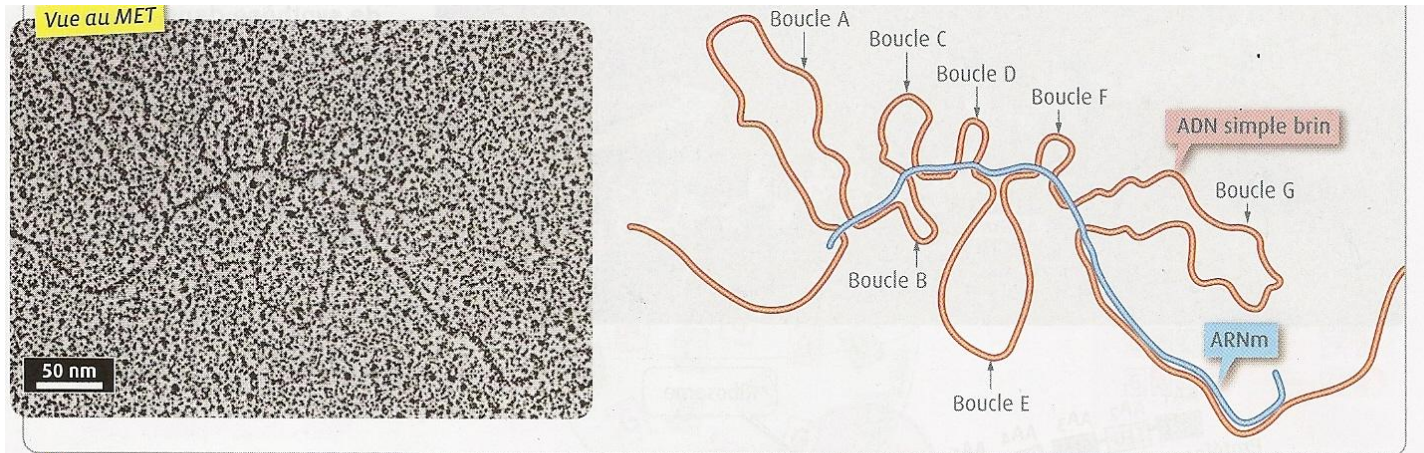


La traduction



Du génome au protéome

Le protéome humain c'est-à-dire l'ensemble des protéines humaines synthétisées est estimé à plusieurs centaines de milliers, voire plus. Pourtant le génome humaine ne comporterait que 20 000 à 30 000 gènes.



1 Hybridation de la molécule d'ADN du gène de l'ovalbumine de poule et de son ARN messager (ARNm).

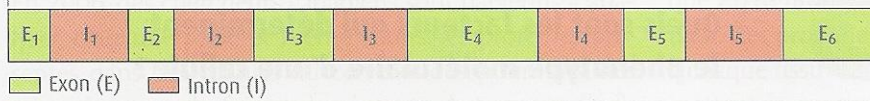
Dans un tube à essai, la molécule d'ADN du gène de l'ovalbumine de poule est chauffée, ce qui sépare ses deux brins. On ajoute ensuite l'ARN messager (simple brin) correspondant à ce même gène. L'ARN peut alors établir des liaisons faibles avec l'un des brins d'ADN du gène (le brin transcrit, voir doc. 5 p. 51) quand sa séquence de nucléotides lui est complémentaire : on dit que l'ADN et l'ARN s'hybrident. Les molécules hybrides ADN/ARN sont ensuite observées au microscope électronique à transmission (MET).

Gène	Insuline	Collagène VII	CFTR	Dystrophine
Taille de l'ARNm	32 %	18 %	3,2 %	0,7 %

2 Taille de l'ARN messager de différents gènes humains (en % de la taille de l'ADN du gène correspondant)

Chez les eucaryotes, la longueur totale d'un gène est beaucoup plus importante que celle de l'ARN exporté dans le cytoplasme. L'ARN initial produit dans le noyau appelé ARN pré-messager va subir dans le noyau une maturation.

ARN pré-messager *Calc-1* = 5 700 nucléotides (nt)

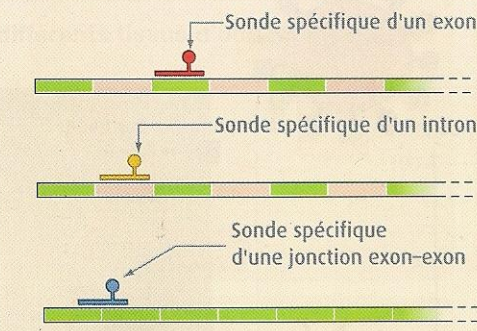
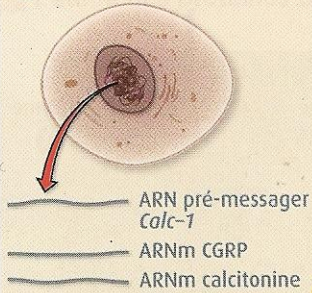


ARN messenger calcitonine = 1 000 nt
ARN messenger CGRP = 1 100 nt

5 Le gène *Calc-1* : un gène pour deux protéines. Dans certaines cellules, le gène *Calc-1* entraîne la production de la calcitonine (qui régule le métabolisme du calcium), alors que dans d'autres, il provoque la synthèse de la protéine CGRP (qui agit sur les vaisseaux du cerveau). L'ARN synthétisé par l'ARN polymérase après la transcription du gène *Calc-1* est appelé «ARN pré-messager *Calc-1*».

Principe de l'expérience

1 Isolement des ARN



3 Hybridation de chacune des sondes avec chacun des 3 ARN



Résultats

Taille des ARN (nt)	Sonde utilisée											
	spécifique des exons ou des introns						spécifique des jonctions exon-exon					
	E1, E2, E3	I1, I2, I3	E4	I4	E5	I5	E6	E1-E2, E2-E3	E3-E4	E3-E5	E5-E6	
5 700	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
1 100	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	
1 000	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	

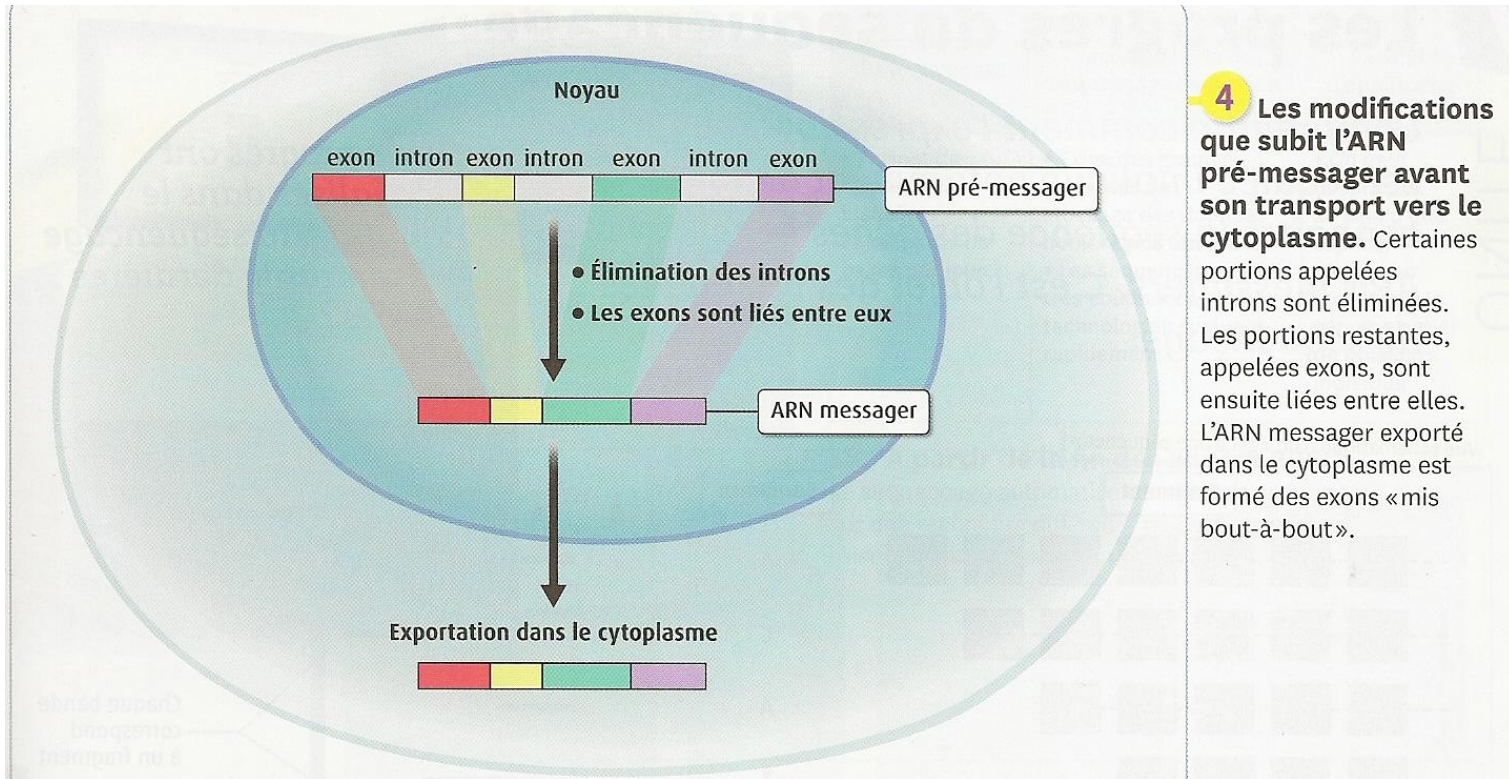
+ : présence du signal émis par la sonde ; - : absence du signal émis par sonde

6 Étude de la maturation de l'ARN du gène *Calc-1*.

Dans des cellules capables de produire à la fois de la calcitonine et du CGRP, on isole l'ARN pré-messager *Calc-1* et les ARN messagers permettant la synthèse des deux protéines. Chacun de ces ARN est mélangé avec des fragments d'ADN simple brin, ou sondes. On dispose de sondes dont la séquence est complémentaire soit d'un intron (sondes I₁ à I₅), soit d'un exon (sondes E₁ à E₆), soit d'une jonction exon-exon de l'ARN pré-messager du gène *Calc-1* (sondes E₁-E₂ à E₅-E₆). Si une sonde rencontre un ARN dont la séquence est complémentaire, elle s'hybride avec lui et émet un signal. Pour chacun des trois ARN étudiés, on détecte le signal émis par les différentes sondes.

Un exemple de maturation de l'ARN pré-messager

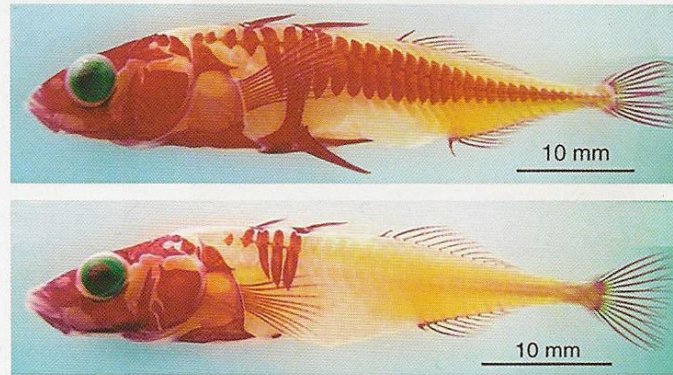
La maturation de l'ARN pré-messager



La maturation consiste à exciser des portions d'ARN pré-messager appelés introns puis d'assembler les exons restants constituant l'ARN messenger.

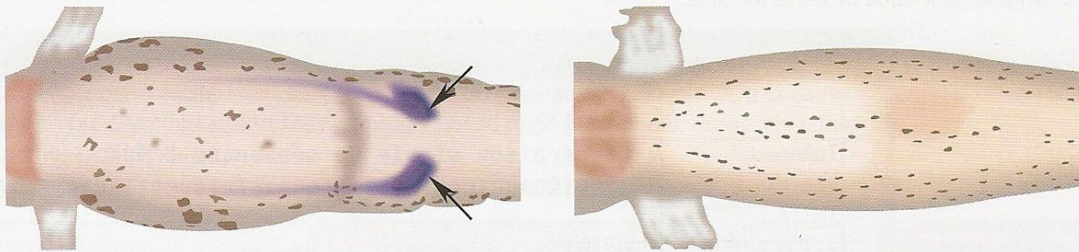
Exemple d'une variation du plan d'organisation chez l'épinoche

Les poissons sont des vertébrés qui possèdent en principe deux paires de membres sous forme de nageoires : les nageoires antérieures (ou pectorales) et les nageoires postérieures (ou pelviennes). L'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*) présente deux phénotypes sensiblement différents : la variété marine possède deux nageoires pelviennes épineuses développées, tandis que la variété lacustre* en est dépourvue. Des croisements réalisés en laboratoire entre ces variétés ont démontré que ces différences sont génétiquement déterminées et ne dépendent pas du milieu de vie.

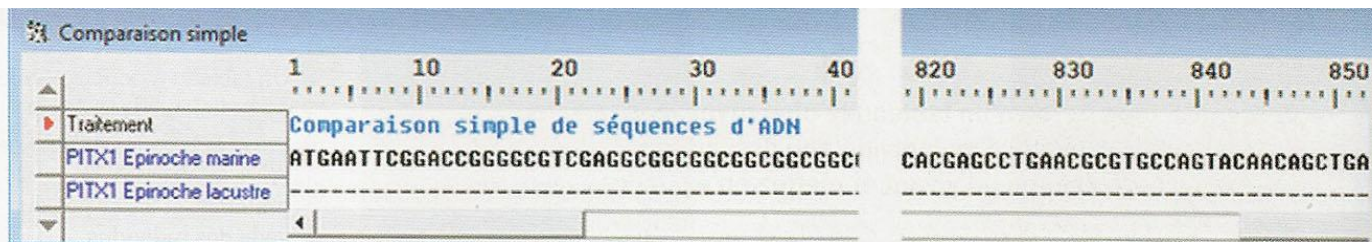


A Deux phénotypes différents (en haut : forme marine ; en bas : forme lacustre).

Les scientifiques ont identifié un gène, dénommé PITX1, dont le rôle est déterminant dans la mise en place des nageoires pelviennes. Grâce à un colorant spécifique, il est possible de repérer la présence d'ARNm correspondant à l'expression de ce gène, au stade embryonnaire durant lequel se forment les membres.



B Zone d'expression du gène PITX1 chez un embryon d'épinoche marine (à gauche) et lacustre (à droite). Les flèches indiquent la zone d'expression du gène PITX1 observée sur la face ventrale des embryons.



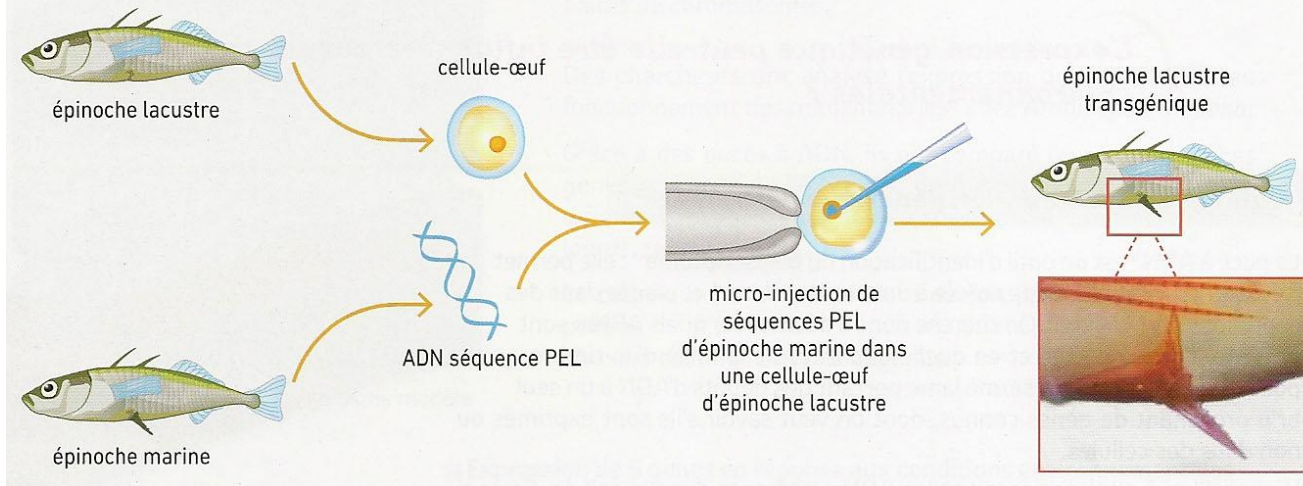
C Comparaison des séquences codantes du gène chez les deux formes d'épinoches. Les deux portions du gène affichées sont représentatives des résultats obtenus sur l'ensemble du gène.

La régulation de l'expression des gènes

Des protéines régulatrices

En analysant et comparant le génome des deux variétés, les chercheurs ont identifié un segment d'ADN appelé séquence PEL présent à côté du gène PITX1 (en amont). La séquence PEL est longue de 2500 paires de nucléotides. Chez les épinoches lacustres, une portion de 488 paires

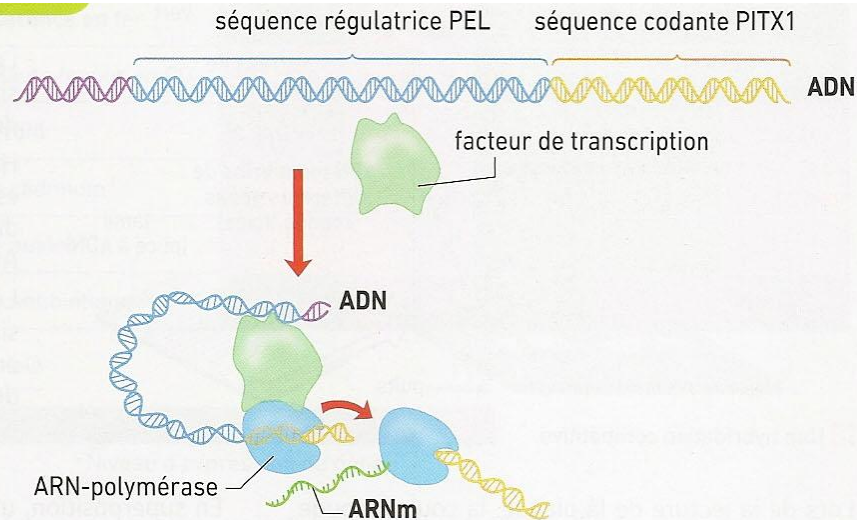
de nucléotides de la région PEL a disparu par délétion*. Les chercheurs ont réalisé une expérience de transgénèse* en insérant à l'intérieur d'un œuf d'épinoche lacustre une construction génétique comportant la séquence PEL des épinoches marines.



La séquence PEL est une séquence d'ADN sur laquelle peuvent normalement se fixer un ou des **facteurs de transcription***.

La formation du complexe [facteur de transcription-ADN] déclenche l'entrée en action de l'ARN-polymérase et active donc l'expression du gène situé en aval.

Pour cette raison, la séquence PEL est qualifiée de **séquence régulatrice*** du gène PITX1.



■ La régulation de l'expression du gène PITX1.

La régulation des gènes par des facteurs environnementaux

3 Forme de l'œil de la drosophile

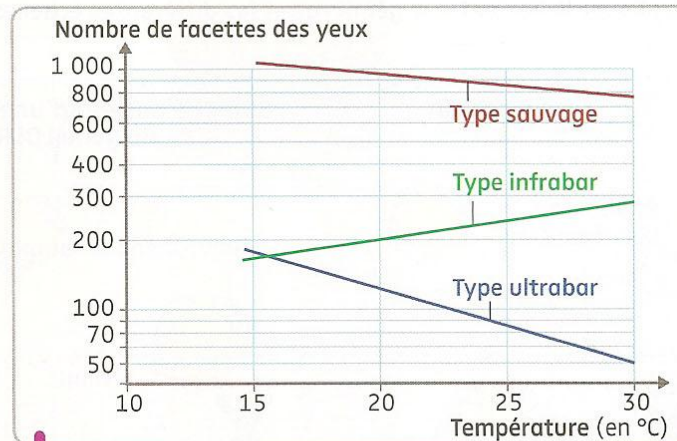


Œil de drosophile (MEB, fausses couleurs) et variations de la forme de l'œil pour les mutants bar.

■ Les drosophiles présentent une variabilité de la forme de l'œil. L'œil est constitué d'un ensemble de facettes et sa taille est proportionnelle au nombre de facettes. Le mutant sauvage coexiste avec les phénotypes ultrabar et infrabar qui possèdent des allèles mutés du gène bar.

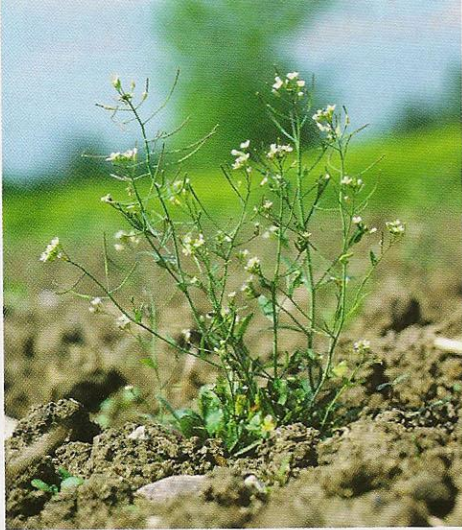
■ On mesure le nombre de facettes des drosophiles sauvages, infrabar et ultrabar élevées à des températures différentes.

1. Montrer que le nombre de facettes est sous la dépendance du génotype.
2. Montrer que l'environnement peut modifier le phénotype.
3. Indiquer dans quelles conditions le même phénotype peut être observé alors que les génotypes sont différents.



Nombre de facettes de l'œil en fonction de la température d'élevage et du génotype.

La régulation des gènes par des facteurs environnementaux



A *Arabidopsis thaliana* : un organisme modèle pour les chercheurs.

L'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*) est une plante très étudiée par les généticiens depuis plusieurs décennies. Le génome de l'arabette a été le premier génome de plante à être totalement séquencé*, en 2000. Il comporte 33 323 gènes répartis sur cinq paires de chromosomes.

Des chercheurs ont analysé l'expression de 5 gènes liés au fonctionnement des mitochondries* chez *Arabidopsis thaliana*.

Grâce à des puces à ADN, ils ont comparé l'expression de ces gènes et ont testé l'influence de facteurs hormonaux et de différents facteurs externes de stress (froid, carence, métaux lourds, teneur en CO₂ ...).

Le cadmium est un métal lourd parfois présent dans les sols pollués.

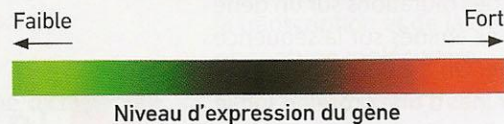
L'auxine est une hormone végétale.

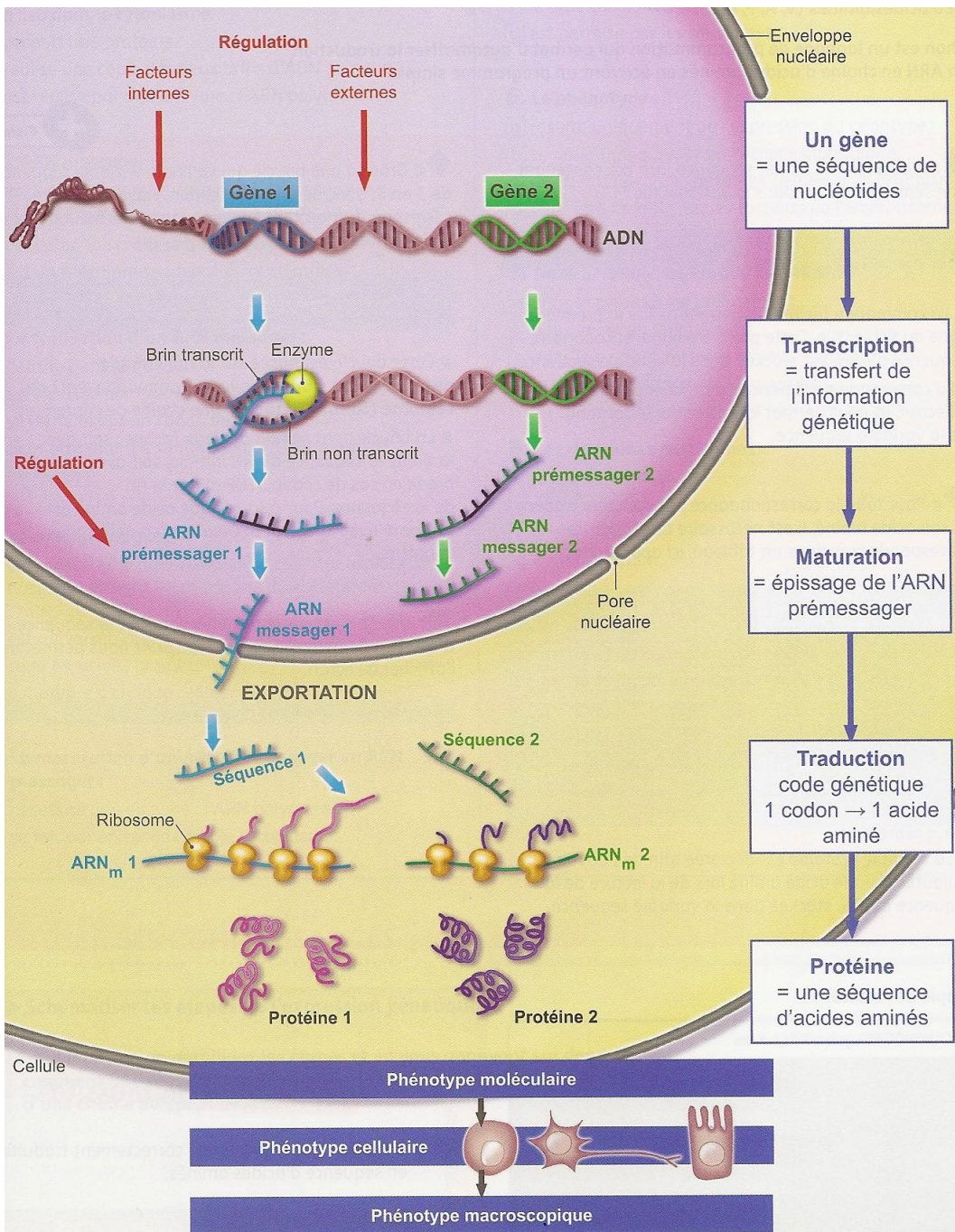
■ Expression de 5 gènes en réponse aux conditions environnementales

Le tableau ci-contre présente le profil d'expression de ces gènes, c'est-à-dire le degré d'expression de chaque gène dans les différentes conditions expérimentales.

La couleur rouge signifie qu'un gène est surexprimé, la couleur verte qu'il ne s'exprime pas. Les couleurs ternes correspondent à un niveau d'expression plus ou moins important.

	Gène At1g14140	Gène At5g17400	Gène At5g14040	Gène At3g08580	Gène At5g19760
Conditions normales	Verte	Rouge	Terne	Terne	Terne
Carence en fer	Verte	Rouge	Verte	Terne	Terne
Haute teneur en CO ₂	Rouge	Rouge	Terne	Terne	Terne
Froid	Rouge	Rouge	Verte	Terne	Rouge
+ cadmium*	Rouge	Rouge	Terne	Terne	Rouge
+ auxine*	Rouge	Rouge	Terne	Terne	Rouge
+ antibiotique	Terne	Rouge	Terne	Rouge	Rouge





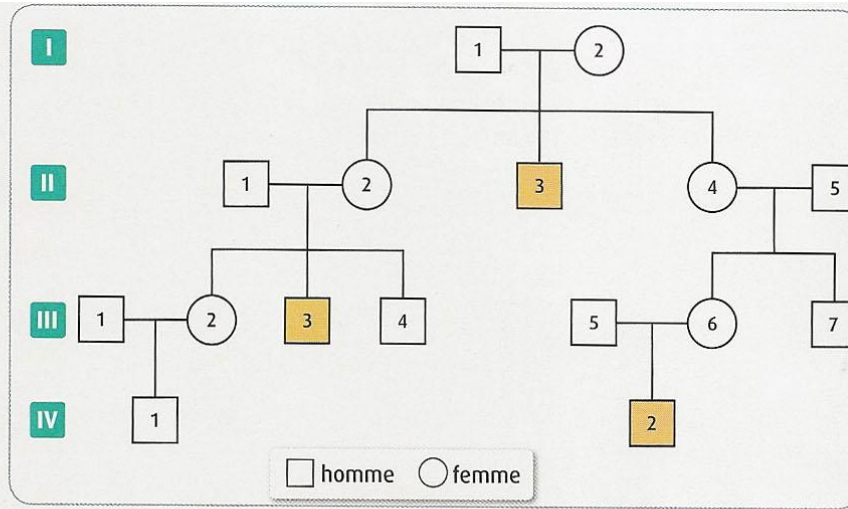
Bilan : l'expression du patrimoine génétique

L'ADN, constitué de 2 brins complémentaires est localisé dans le noyau. Son expression débute par la **transcription** c'est-à-dire la synthèse d'un ARN pré-messager (complémentaire du brin transcrit, mais la thymine est remplacé par l'uracile et les nucléotides contiennent du ribose). Toujours dans le noyau cet ARN pré-messager va subir une maturation au cours de laquelle les introns sont excisés (**épissage**). Cela permet de produire plusieurs protéines à partir d'un seul gène. La molécule produite ou ARN messenger quitte le noyau par les pores nucléaires. Dans le cytoplasme un premier ribosome se fixe sur l'ARNm et commence la **traduction**, triplet par triplet en incorporant les acides aminés dans la chaîne peptique qui s'allonge progressivement. De nombreux ribosomes réalisent simultanément (polysomes = polyribosomes) la traduction les uns derrière les autres multipliant le rendement de la synthèse protéique. L'expression des gènes peut être régulée par des facteurs internes (protéines régulatrices) ou externes (température, hormones ...)

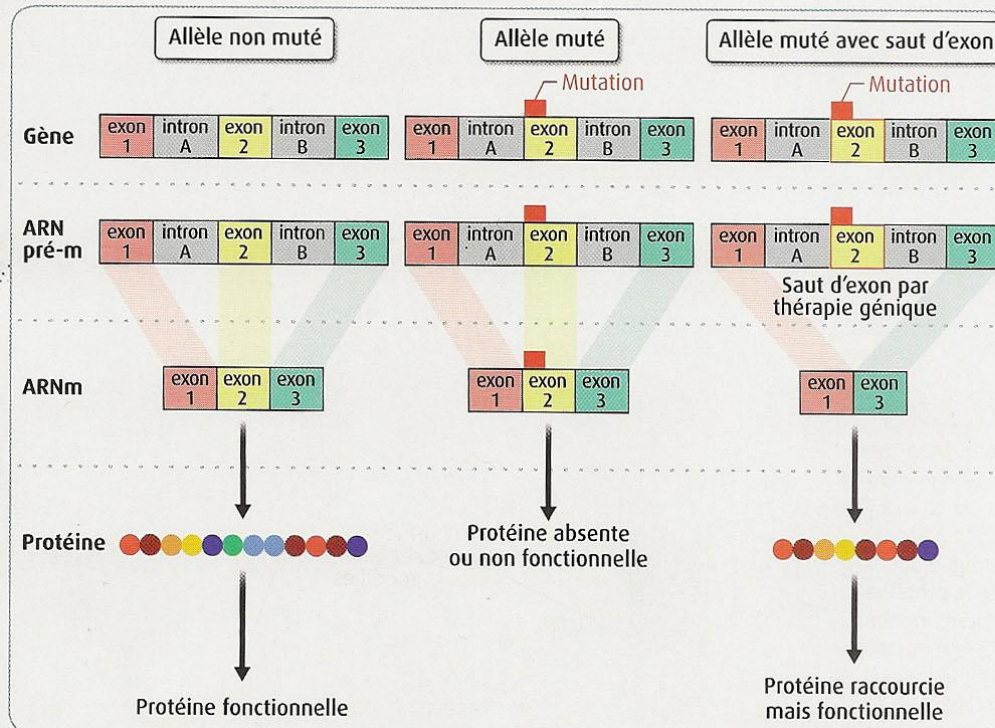
Le code génétique est le système de correspondance entre les triplets d'ARNm et les acides aminés: il est universel, univoque et redondant. La synthèse s'arrête lorsque le ribosome rencontre un des 3 codons non sens ou stop. L'ensemble se dissocie alors, les protéines s'organisent dans l'espace et sont utilisées dans le métabolisme cellulaire (rôle structural ou fonctionnel); elles peuvent aussi être stockées dans des vésicules puis exportées. C'est ainsi que le phénotype moléculaire détermine le phénotype cellulaire et finalement le phénotype macroscopique.

La myopathie de Duchenne

La myopathie de Duchenne est une maladie génétique qui se manifeste par la dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme. Elle est causée par un allèle muté du gène DMD. Cet allèle produit une protéine (la dystrophine) non fonctionnelle. De nouvelles pistes de thérapie génique, visant à mettre au point un traitement curatif sont à l'étude, dont celle du « saut d'exon ».



▲ 1. Arbre généalogique d'une famille présentant des cas de myopathie de Duchenne (figurés en orange).



◀ 2. « Le saut d'exon » : une piste de traitement par thérapie génique. La mutation du gène DMD est localisée sur l'exon 2.

QUESTIONS

À l'aide des documents et de vos connaissances :

- Montrez que la maladie que le gène DMD est situé sur le chromosome X et que la maladie est récessive.
- Calculez la probabilité pour le couple III5 et III6 d'avoir un nouvel enfant malade.
- Expliquez en quoi consiste le « saut d'exon » par thérapie génique et son intérêt pour traiter la myopathie de Duchenne. Vos réponses devront être argumentées.

Exercice