EXERCICE 1: TRANSCRIPTION (difficulté ★) 15min

La technique du pulse/chase consiste à incuber des cellules dans un milieu contenant de l'uracile radioactif pendant quelques minutes, puis à transférer ces cellules sur un milieu dit "froid", contenant de l'uracile non radioactif. La quantité de radioactivité est mesurée au cours du temps dans les différents compartiments cellulaires.

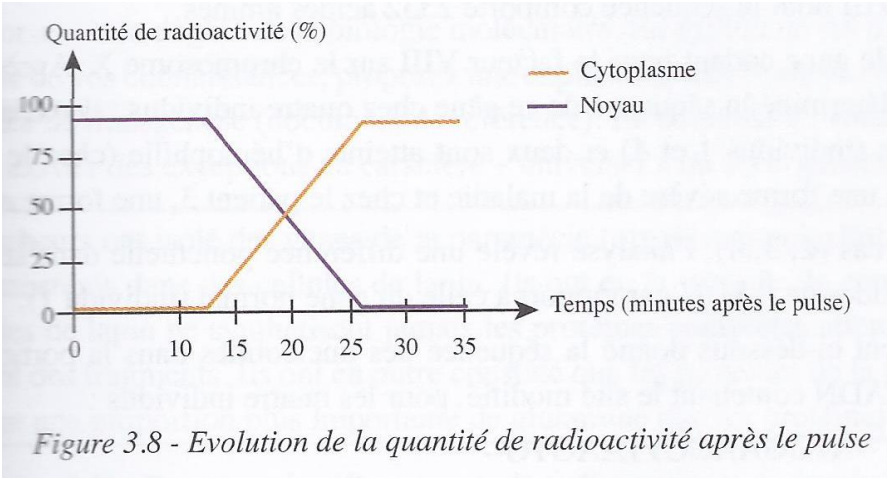


Figure 3.8 - Evolution de la quantité de radioactivité après le pulse

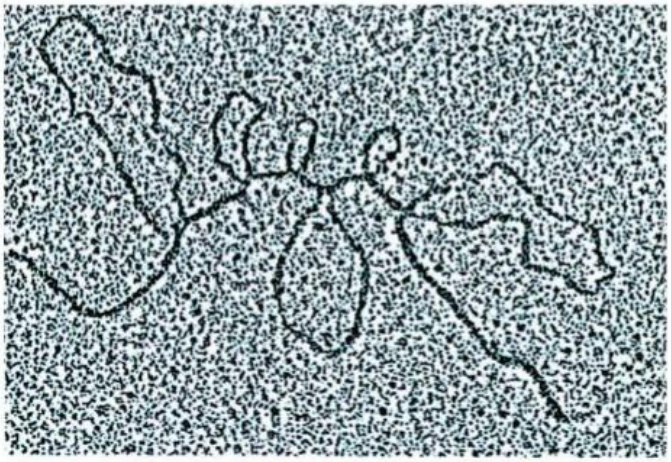
Question: A partir de vos connaissances, interprétez les résultats obtenus.

EXERCICE 2: Une expérience d'hybridation entre ADN et ARNm (difficulté ★★) 15min

Une expérience d'hybridation entre ADN et ARNm

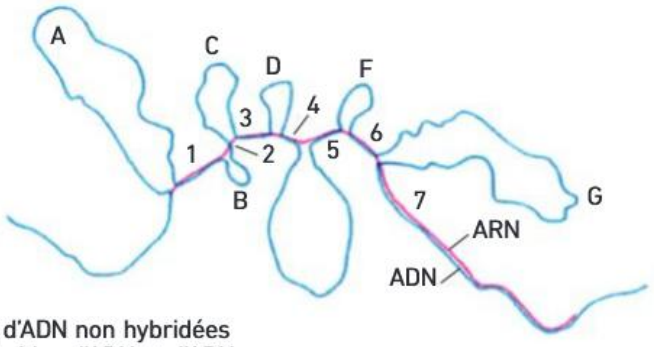
Des agents chimiques permettent de séparer les deux chaînes de l'ADN. Après cette dénaturation, les brins d'ADN peuvent s'hybrider, c'est-à-dire se réassocier avec d'autres molécules de séquence complémentaire. Une telle expérience d'hybridation a été réalisée entre l'ADN codant pour une protéine, l'ovalbumine, et l'ARNm correspondant. Le résultat est présenté sur la micro-photographie ci-contre.

Le schéma d'interprétation permet de situer l'ADN et l'ARN présents sur cette image.



1 à 7 : exons
A à G : introns

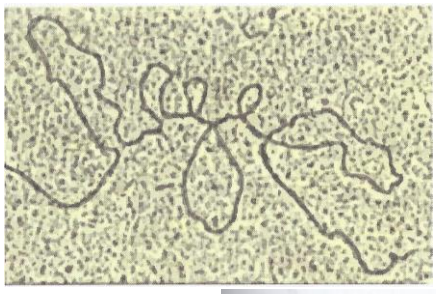
1. **Montrez que cette photographie met en évidence des ressemblances et des différences entre ADN et ARNm correspondant.**
2. **À l'aide de vos connaissances, expliquez l'aspect pris par cette hybridation entre la séquence d'ADN et la séquence d'ARNm dirigeant la production d'ovalbumine.**



A, B, C, D, E, F, G : boucles d'ADN non hybridées
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 : brins hybrides d'ADN et d'ARN

EXERCICE 3: Maturation des ARN (difficulté ★★★) 20min

A partir d'une étude rigoureuse des documents et de vos connaissances vous rappellerez en quoi consiste la maturation des ARN pré-messagers et vous donnerez une explication pour la maladie présentée dans le doc 2C



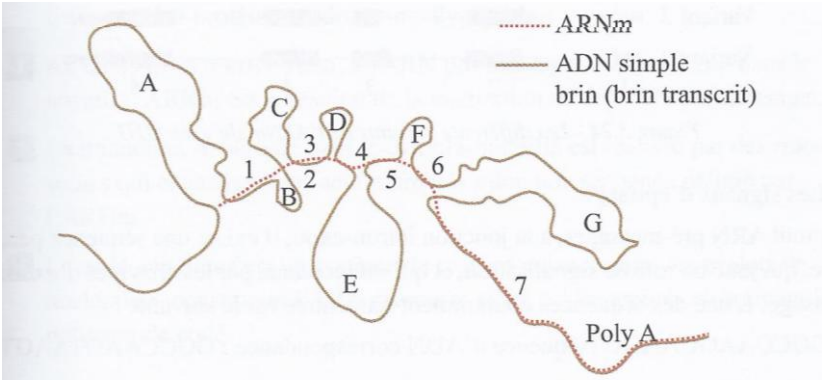


Figure 3.23 - Document 1 : on a hybridé l'ARN messager du gène de l'ovalbumine de poule avec le brin codant (le brin ayant servi de modèle lors de la transcription).

Document 2 : Le déficit en hormone de croissance

Le déficit congénital en hormone de croissance désigne une maladie qui se caractérise par une petite taille à l'âge adulte. Elle est due à une production nulle ou très faible d'une protéine, l'hormone de croissance. Cette protéine est normalement produite par l'hypophyse, une glande située à la base du cerveau, à partir du gène GH1.

A. Les variants de l'ARNm du gène de l'hormone de croissance

Le gène GH1 comporte 5 exons et 4 introns. On a mis en évidence 5 variants de l'ARN messager du gène GH1.

- Le variant 1 est constitué par les 5 exons du gène. La protéine correspondante représente 90% environ de l'hormone de croissance produite.
- Le variant 2 comprend les exons 1, 2, une partie de l'exon 3 et les exons 4 et 5. Les 45 premiers nucléotides de l'exon 3 sont éliminés (donc une partie de l'exon 3 est éliminée). Ce variant code pour une protéine qui représente 10% de l'hormone de croissance produite, elle a une activité biologique assez proche de l'hormone majoritaire.
- Le variant 3, le variant 4 et le variant 5 sont présents à l'état de traces et n'ont pas d'activité biologique connus.

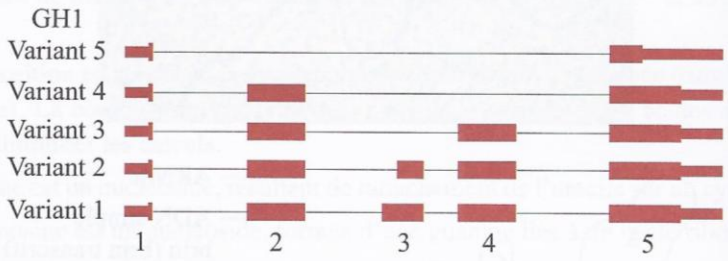


Figure 3.24 - Les différents variants de l'ARNm du gène GH1

B. Les signaux d'épissage

Sur tout ARN pré-messager, à la jonction intron-exon, il existe une séquence particulière, qui joue un role de signalisation, et qui est reconnue par les enzymes d'excision-épissage. L'une des séquences couramment rencontrée est la suivante :

GGCCAAGUAAGU (séquence d'ADN correspondance : GGCCAAGTAAGT)

C. Étude de cas

Afin de comprendre l'origine d'un cas de nanisme, on a sequencé le gène GH1 chez un patient. On a trouvé la mutation suivante, au niveau de la jonction entre le 1er intron et le 2ème exon :

Normal : GGCCAAGTAAGT

Mutant : GGCCAAATAAGT

Figure 3.25 - Excision et épissage de l'ARN de GH1

CORRECTION

EXERCICE 1: TRANSCRIPTION (difficulté ★) 15min

Dès les cinq premières minutes après le pulse, la totalité de l'uracile radioactif se trouve dans le noyau de la cellule. Puis le pourcentage d'uracile radioactif dans le noyau diminue progressivement pour être nul 27 minutes après le pulse. Or l'uracile est la base azotée caractéristique de l'ARN ; la concentration d'uracile dans le noyau cinq minutes après le pulse est donc due à son intégration dans des molécules d'ARN et en particulier dans l'ARN messager (ou pré-messager) au cours de la transcription des gènes s'exprimant dans la cellule.

A l'inverse dans le cytoplasme, la quantité d'uracile radioactif est nulle au début de l'expérience et augmente progressivement pour être maximale 27 minutes après le pulse. Les molécules d'ARN messager marquées à la radioactivité ont donc migré dans le cytoplasme. Cette expérience met donc en évidence que l'ARN messager (en réalité l'ARN pré-messager) est synthétisé dans le noyau et migre secondairement dans le cytoplasme où s'effectue la traduction.

EXERCICE 2: Une expérience d'hybridation entre ADN et ARNm (difficulté ★★) 15min

1. Les boucles correspondent à des zones où l'ARN et l'ADN diffèrent, tandis que les segments entre les boucles correspondent à des séquences complémentaires entre l'ADN et l'ARNm correspondant.

2. Les séquences complémentaires correspondent aux exons. L'existence de boucles s'explique par le fait que les introns ont été supprimés de la séquence de l'ARNm et ne peuvent donc pas s'hybrider avec l'ADN.

EXERCICE 3: Maturation des ARN (difficulté ★★★)

Dans le doc. 1 on remarque que l'hybridation, c'est-à-dire l'association de l'ARN messager du gène de l'ovalbumine de poule avec le brin ayant servi de modèle à l'élaboration de cet ARN ne correspond pas en tout point ce qui est surprenant en premier lieu. En effet, lors de la transcription normalement les 2 brins de l'ADN s'écartent sous l'action de ARN polymérase et une molécule monocaténaire, l'ARN messager se forme par complémentarité avec un des 2 brins, le brin transcrit. On constate ici que l'ARNm est plus court, certaines portions du brin codant ne se retrouvent pas dans l'ARN et forment des boucles « monobrin ».

L'explication est la suivante : le gène de l'ovalbumine de poule est un gène morcelé, il est constitué de séquences codantes « exons » intercalées avec des séquences non codantes « introns ». Lors de la transcription du gène, une copie complète du brin codant est réalisée et appelée ARN pré-messager. Ensuite lors de la maturation, il y a coupure ou excision des introns et soudure ou épissage des exons entre eux ce qui donne l'ARN messager : molécule fonctionnelle mais plus courte que l'ARN pré-messager ou le brin codant du gène correspondant.

Dans le doc. 1, les portions associées ARNm et brin codant correspondent aux exons ou parties codantes et les boucles (absentes dans l'ARNm) correspondent aux introns, parties non codantes.

L'hormone de croissance citée dans le document est une protéine produite grâce au gène GH1 qui est aussi un gène morcelé avec 5 exons (parties codantes) et 4 introns (parties non codantes).

On nous précise dans le doc 2A qu'il peut exister 5 ARNm différents pour ce gène dans les cellules : majoritairement le variant n°1 qui possède les 5 exons en entier et qui assure une protéine fonctionnelle, le variant n°2 qui possède un exon n°3 un peu plus petit avec toujours une protéine fonctionnelle et enfin les variants 3, 4 et 5 en quantité infime qui ne donnent pas de protéine fonctionnelle.

Le variant n°3 ne possède pas l'exon 3, le variant n°4 n'a pas les exons 3 et 4 et enfin le variant n°5 a seulement les exons 1 et 5.

Il parait donc indispensable que l'ARN messager possède les exons 2, 4 et la partie de l'exon 3 du variant n°2 pour que l'hormone de croissance soit fonctionnelle.

D'autre part, il existe des signaux d'épissage (soudure) sur le gène et donc sur l'ARN pré-messager qui vont permettre lors de la maturation de coller les 5 exons entre eux pour constituer l'ARN messager fonctionnel. On nous donne la version la plus courante de ces signaux (document 2B). Or dans l'étude de cas (document 2C), on compare justement cette séquence avec celle présente en avant du 2ème exon chez un patient atteint de nanisme. On constate qu'il existe une mutation ponctuelle au niveau du 6ème nucléotide : il y a substitution du G en A.

Cette mutation pourrait être à l'origine de l'absence de la protéine.

L'explication plausible est la suivante : lors de la maturation de l'ARN pré-messager, les 5 exons sont séparés mais la mutation en avant de l'exon n°2 ne permet pas aux enzymes d'excision-épissage de reconnaitre l'exon n°2, ainsi il ne peut pas être collé et est absent dans l'ARN messager.

L'exon n°2 étant indispensable pour synthétiser une protéine fonctionnelle, l'ARN messager de ce patient comme les variants 3, ne produit pas d'hormone de croissance et cette personne ne pouvant pas grandir est atteinte de nanisme.