

La synthèse des protéines (suite)

Nous avons (2^{de}) que l'ADn contient l'information génétique, responsable de l'hérédité. Nous avons vu (cette année) que l'expression des gènes — qui se manifeste dans le phénotype — dépend directement de protéines. Quelle est l'hypothèse la plus simple qui permette d'expliquer cela ?

1. Observation microscopique d'une coupe = Nous avons vu que la synthèse des protéines se fait dans le cytoplasme (autoradiographie des cellule acineuses pancréatiques). La coloration « vert de méthyl + pyronine » colore l'ADN en vert.

Mais ... **Le vert de méthyle n'est pas un colorant spécifique de l'ADN.** Employé seul sur des cellules entières, il colore à peu près tout et en particulier la paroi pectocellulosique. Pour augmenter

sa spécificité apparente, il faut soit utiliser un colorant complémentaire, soit utiliser un extrait dans lequel on suppose qu'il n'y a que de l'ADN.

Exemple - Cellules d'épiderme végétal 'in vivo' (sans coupe). Le

vert de méthyle associé à la **fuchsine** ne colore que les noyaux (ni la paroi, ni le cytoplasme, ni même les nucléoles). Il y a là une apparente spécificité (il vaut mieux parler d'un colorant électif).

Conclusion ?

2. Une hypothèse de François Jacob et Jacques Monod (1961) :

Bien que ces deux chercheurs soient français, toutes leurs publications sont en anglais. Je n'ai pas trouvé plus simple que le texte suivant. Quelques question simples, ne nécessitant pas du tout la compréhension totale du texte :

1. Pourquoi un "missing messenger" ?
2. Sur quel organisme ont travaillé ces trois chercheurs ?
3. Leurs noms ?
4. Le vrai nom du "messenger" ?
5. Quel argument biochimique ?
6. Quel argument physiologique ?
7. Quel argument bibliographique ?

The problem of the "missing messenger" was solved with a combination of experiment and collective insight about the role of ribonucleic acid (RNA). The principal difference is that uracil, rather than thymine, is one of the bases. RNA was known to play at least one role in protein synthesis. RNA-containing molecules, known as ribosomes, were found in the cytoplasm of cells, and protein synthesis could not proceed without them.

In this regard, experiments with *E. coli* bacteria, conducted at the Institut Pasteur, became the focus of intense interest in 1959. The "PaJaMo" experiments—performed by Arthur Pardee, François Jacob, and Jacques Monod—was built upon research into the system of bacterial enzyme production. In previous experiments, Monod had learned how to genetically manipulate the compounds that control sugar metabolism in *E. coli*—collectively known as the B-galactosidase system.

He had first bred mutated "female" bacteria in which this system ceased to function. When normal "male" bacteria then penetrated and inserted genes into such bacteria, however, the system was immediately—within minutes—restored to normal and the bacteria could digest sugar. How such information transfer could take place so quickly suggested the existence of a specific, relatively simple molecule that was complementary to DNA.

Discussions among Monod, Jacob, Crick, and Brenner led to a solution. They recalled research from the early 1950s with bacteriophages—viral parasites that invade bacteria. Experiments had shown that soon after bacteriophages insert their DNA into bacterial cells, traces of RNA rapidly appear. In addition, the composition of such RNA closely resembled the DNA of the invading bacteriophage.

With this as context, the PaJaMo experiments suggested that another type of RNA was rapidly synthesized from DNA. Comparatively short-lived, its crucial presence had been initially overlooked. But in 1960, François Jacob and Jacques Monod named this hypothetical molecule "messenger RNA" (mRNA).

3. Confirmation ou invalidation de l'hypothèse précédente ?

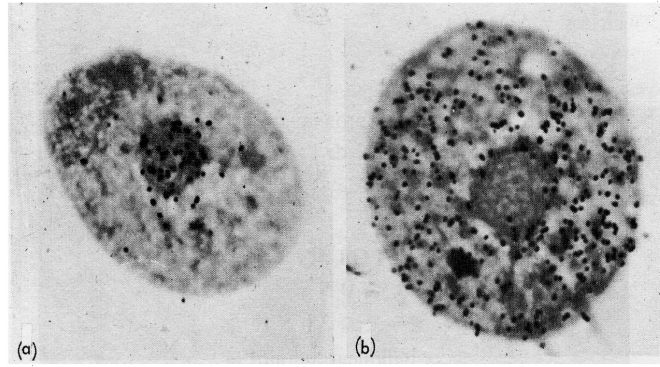


FIGURE 10-1 (a) Autoradiogramme d'une cellule (*Tetrahymena*) exposée à la cytidine radioactive pendant 15 minutes. On superpose à la photographie d'une émulsion d'argent exposée, la photographie d'une coupe fine de la cellule. Chaque point noir représente l'impact d'un électron émis par un atome de H^3 (tritium) qui a été incorporé dans l'ARN. L'ARN nouvellement formé se trouve presque en totalité dans le noyau. (b) Autoradiogramme d'une cellule semblable exposée à la cytidine radioactive pendant 12 minutes puis maintenue en croissance 88 minutes en présence de cytidine non radioactive. Pratiquement tous les produits marqués pendant les 12 premières minutes ont quitté le noyau et ont migré vers le cytoplasme (D. M. Prescott, Faculté de Médecine de l'Université du Colorado, Prog. Nucleic Acid Res., III, 35, 1964, reproduction autorisée).

4. Synthèse *in vitro* (1961 par Marshall Nirenberg).

On met en présence : de l'ARN_{messager}, des acides aminés, des ribosomes, des acides aminés, de l'ARN_{transfert}. Ce système acellulaire permet la synthèse d'une protéine.

En quoi ceci confirm-t-il l'existence de l'ARN_m ?

5. La découverte du code génétique.

Francis Crick avait montré que l'on devait avoir un code du type 3 nucléotides (ordonnés) codent pour un acide aminé. Dès 1961, le code génétique commença à être déchiffré, travail qui fut terminé en moins de trois ans et valut le prix Nobel en 1968 à M. Nirenberg (né en 1927), G. Khorana (né en 1922) et R. Holley (né en 1922).

Expérience de Nirenberg et Matthaei (PNAS, vol 47 n°10 pp 1588-1602)

ARN _m	polypeptide formé.
UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU UUU	phénylalanine

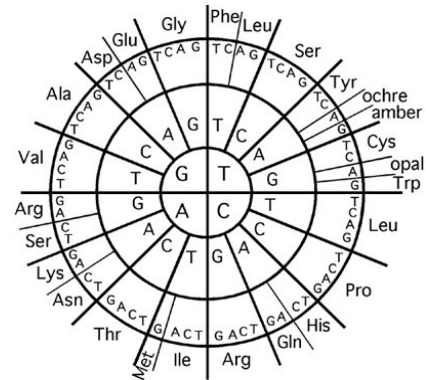
Résultats recalculés d'après les expériences de Speyer, Lengyel, Basilio et Ochoa (PNAS vol 48 n°3 pp 441-448)

ARN _m	polypeptide formé.
UC (5:1)	Beaucoup Phe UUU et UUC ; un peu de Ser UCU et Leu CUU ; le reste = traces non mesurables.
UA (5:1)	Beaucoup Phe UUU et ; un peu de Leu UUA Tyr UAU et Ile AUU ; le reste = traces non mesurables
UG (5:1)	Beaucoup Phe UUU ; un peu de Leu UUG , Cys UGU et Val GUU ; le reste = traces non mesurables
UAC (6:1:1)	Beaucoup Phe UUU UUC ; un peu de Leu UUA et CUU CUA un petit peu de Tyr UAU UAC Ile AUU AUC Ser UCU UCA ; des traces de Thr ACU His CAU

6. Voici le Code génétique.

		secondé base du codon							
		U		C		A		G	
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	
	AUG	Ile	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	

Présentation classique



Une autre façon de le visualiser.

Pourquoi dit on que ce code est dégénéré ?

7. Utilisation d'anagène pour voir comment l'ADN est traduit en protéine.

8. Utilisation de résultats antérieurs publiés par Wittman et Tsugita (Speyer et al)

Des mutants du virus de la mosaïque du tabac présentent des protéines anormales.

Thr → Ile ; Asp → Ala ; Arg → Gly ; Pro → Ser

9. Composition de la viande :

Acides aminés	pourcentage
Tryptophane	1,17
Thréonine	4,56
Isoleucine	4,7
Leucine	8,26
Lysine	8,69
Méthionine	2,68
Cystine	1,17
Phénylalanine	4,08
Tyrosine	3,51
Valine	5,08
Arginine	6,6
Histidine	3,58
Alanine	6,3
Acide aspartique	9,55
Acide glutamique	15,7
Glycine	5,7
Proline	4,61
Sérine	4

Problème sans question