

Réplication de l'ADN

1) réplication chez les procaryotes :

- Synthèse de la nouvelle chaîne dans le sens 5'-3' : La synthèse de la nouvelle chaîne d'ADN est réalisée par une ADN polymérase, qui ajoute les nucléotides présents dans le milieu à l'extrémité 3'OH d'un nucléotide correctement apparié. La synthèse se fait donc dans le sens 5'-3' :

La synthèse du nouveau brin se fait dans le sens 5'-3' et l'activité correctrice dans le sens 3'-5'. L'activité correctrice consiste à exciser un nucléotide mal apparié qui vient d'être ajouté en bout de chaîne et à reprendre l'élongation. Or, pour ajouter un nucléotide, il faut que le phosphate venant réaliser la fonction diester soit activé, et l'excision d'un nucléotide laisse un phosphate inactivé. Si la synthèse se faisait dans le sens 3'-5', le phosphate participant à la liaison diester serait celui de la chaîne en croissance, qui verrait donc son élongation s'arrêter. Tandis que si la synthèse se fait dans le sens 5'-3', le phosphate désactivé est celui du nucléotide, et l'extrémité 3' OH de la chaîne en croissance peut continuer à recevoir de nouveaux nucléotides.

1-1 Initiation de la réplication : La fourche de réplication est initiée par des protéines d'initiation (gyrases) qui se fixent sur une séquence particulière riche en AT : l'origine de réplication pour dérouler l'ADN par un mécanisme de cassure et réunion. (Fig.1)

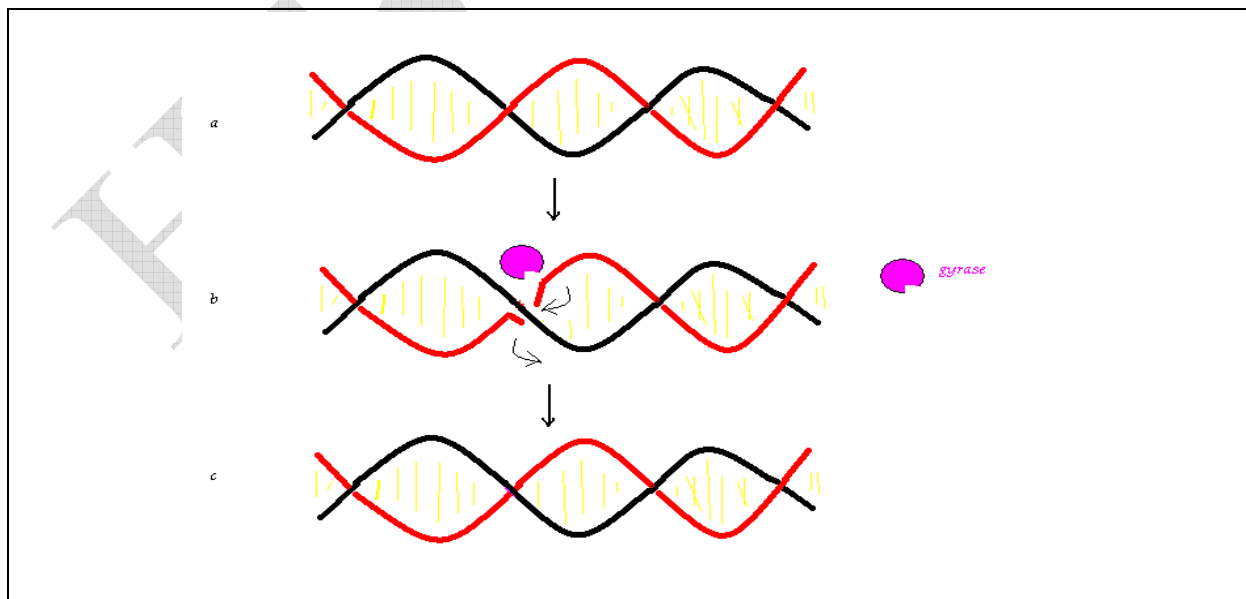


Figure 1 : déroulement de la double hélice par la gyrase

Explication de la figure 1 :

a : La double hélice avant l'action de la gyrase

b : La gyrase coupe le brin (en rouge sur le schéma) et le rabat en dessous du brin (noir) et le recolle.

c : ainsi sur deux sillons successifs le brin noir et au- dessus du brin rouge. La double hélice est donc déroulée à cet endroit. (Fig. 1bis)



Figure 1bis : Double hélice déroulée au niveau de l'origine de réplication

L' hélicase se lie ensuite à ce complexe et sépare les deux brins d'ADN en cassant les liaisons hydrogènes. (Fig.2).



Figure2 : séparation des deux brins par l'hélicase

Une fois la double hélice ouverte par l'hélicase, des protéines de liaison à l'ADN simple brin (SSB) maintiennent l'hélice déroulée à l'état simple brin, en empêchant l'appariement des bases complémentaires. (Figure3)

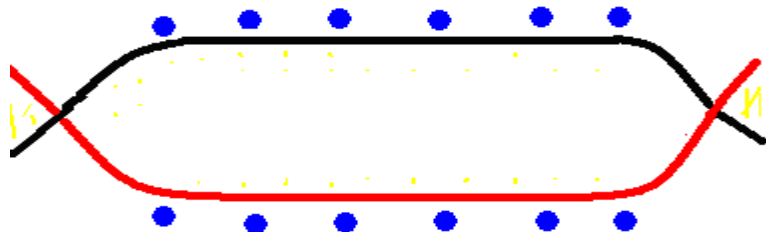


Figure 3 : stabilisation des monobrins par les SSB

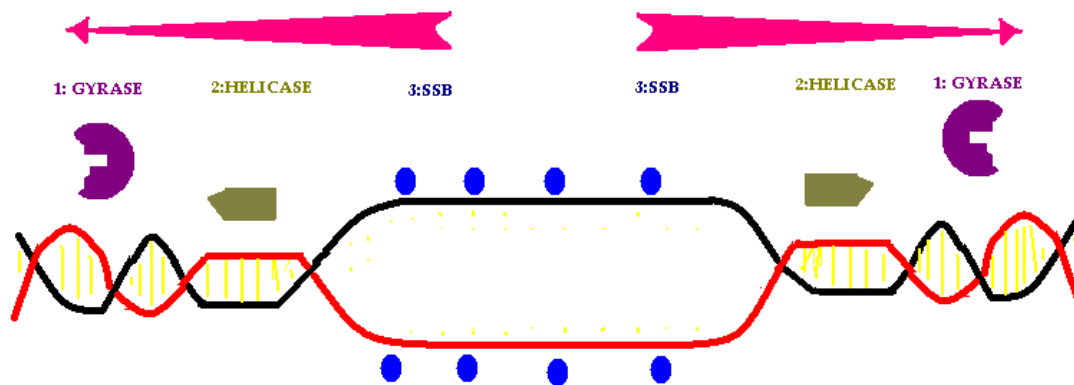


Figure 4 : récapitulatif de l'action des 3 enzymes lors de la formation de l'œil de réplication

1-2 élongation des nouvelles chaînes d'ADN

La réplication commence au milieu de l'œil de réplication (Fig. 5), qui est divisé en deux fourches de réplifications.

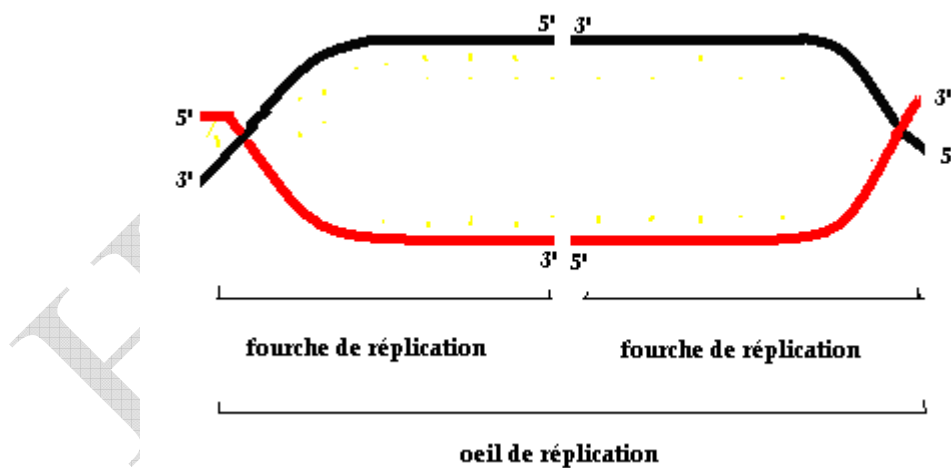


Figure 5 : œil de réplication

Pour que la synthèse de la nouvelle chaîne puisse commencer, il faut une amorce (—) (qui est une courte séquence d'ARN qui se termine par un OH libre, car l'ADN polymérase III (▼) ne peut pas commencer une réplication "dans le vide" c'est-à-dire sans extrémité OH sur le brin à allonger.

1- La réplication commence donc par l'action d'une ARN polymérase appelée Primase (●) qui synthétise l'amorce. (Fig.6)

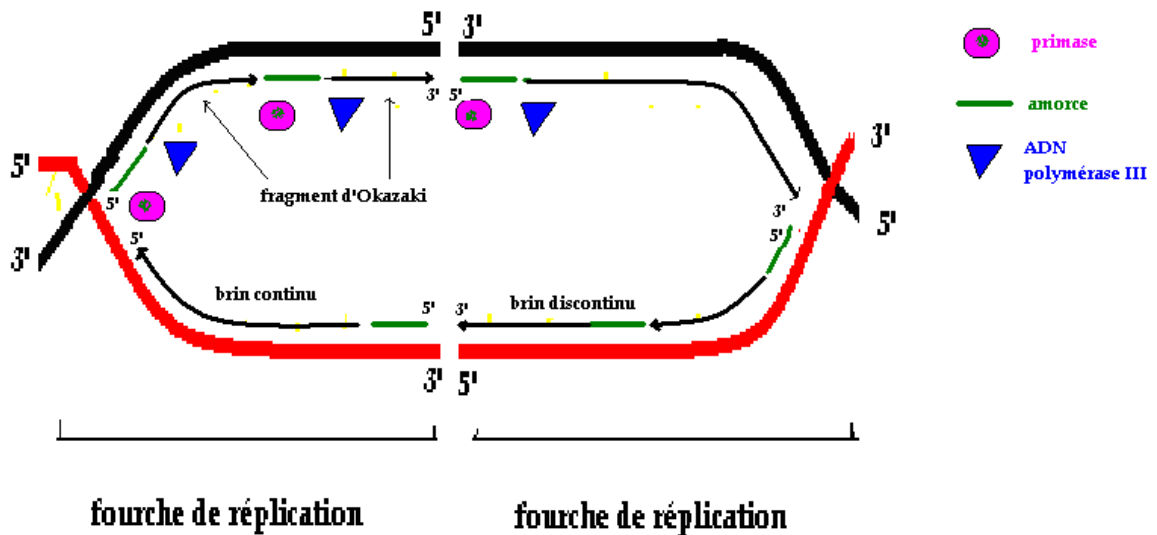


Figure6 : différentes étapes de la réplication de l'ADN au niveau de l'œil de réplication

2- l'ADN polymérase III prolonge l'amorce par de l'ADN grâce à son activité polymérasique 5'-3'

Sur le brin matrice qui commence par 3' et se termine par 5' le brin nouvellement synthétisé est un brin continu ou précoce, orienté dans le sens 5'-3'.

Sur le brin matrice qui commence par 5' et se termine par 3' le brin nouvellement synthétisé ne peut pas démarrer à partir de l'extrémité 3' car il n'existe pas d'activité polymérasique 3'-5', le point de départ de la réplication doit être décalé de façon à trouver une extrémité 3' sur la matrice pour faire une réplication dans le sens 5'-3' du nouveau brin, ce décalage est réalisé par la formation d'une boucle au niveau du brin orienté dans le sens contraire du déplacement de l'ADN polymérase III. (Fig. 7)

Au niveau de chaque boucle est synthétisé un fragment d'ADN de 100 nucléotides appelé fragment d'Okazaki. Les fragments d'Okazaki forment le brin tardif ou discontinu (succession de courtes séquences d'ADN séparées par des amorces (ARN)).

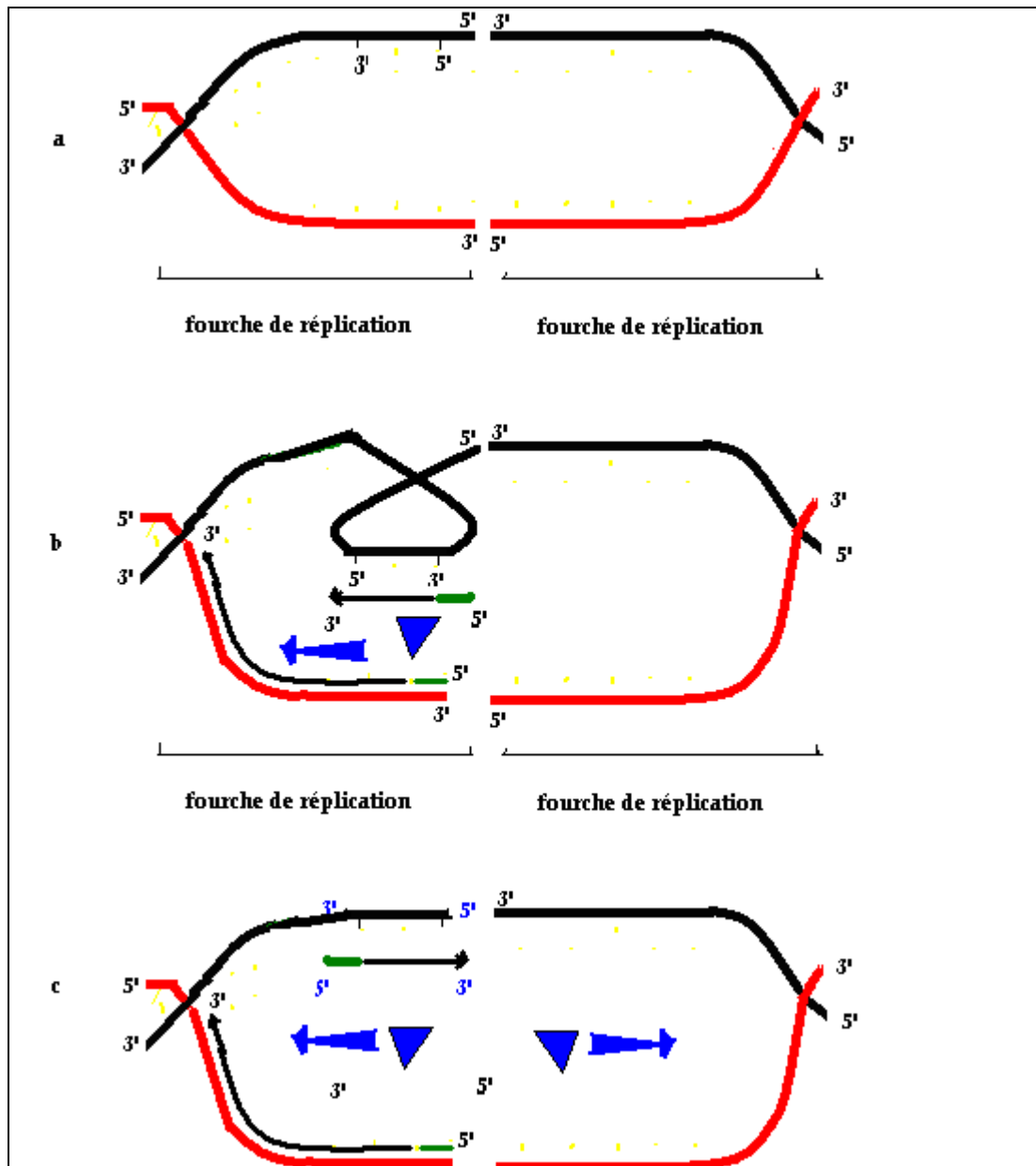


Figure 7 : Synthèse des fragments d'Okazaki au niveau de la boucle de répllication

3- L'ADN polymérase I remplace les amorces par de l'ADN grâce à ses activités exonucléasique 5'-3' et polymérasique 5'-3'.

4- La ligase lie les fragments d'Okazaki grâce aux liaisons phosphodiesters.

Il -Réplication chez les eucaryotes : chez l'homme il existe environ une origine de réplication tout les 150 nucléotides. La vitesse de réplication est de 50 nucléotides/seconde pour chaque brin et il faut 6 à 7 heures pour répliquer les 6.10^9 nucléotides pendant la phase S. Les contraintes topologiques sont les mêmes que pour les procaryotes lors de l'initiation où il y a intervention de topoisomérases qui éliminent ces contraintes grâce à l'activité endonucléasique qui provoque une coupure d'une liaison phosphodiester et rotation des deux extrémités libres. Les brins séparés sont ensuite stabilisés par des protéines RP-A (replication protein A) qui forment un manchon autour des monobrins.

Il existe chez les eucaryotes 5 ADN polymérases : alpha, delta, bêta, gamma, epsilon.

Alpha : elle a une activité polymérasique 5'-3' et une activité Primase. Elle intervient en premier lors de la réplication pour synthétiser une amorce(ARN) qu'elle prolonge grâce à son activité ADN polymérasique par 30 desoxyribonucléotides.

Delta : elle a une activité polymérasique 5'-3' et une activité exonucléasique 3'-5', elle a une forte processivité (nombre de nucléotides polymérisés par moment de fixation) .Cette processivité est augmentée par un cofacteur appelé 'PCNA' ou Prolifération cell nuclear antigen. Le complexe Delta/PCNA synthétise la majeure partie de l'ADN.

Bêta : elle comble les vides causés après l'élimination des amorces par la RNAse H.

Gamma : elle intervient dans la réplication de l'ADN mitochondrial.

Epsilon : son rôle n'est pas bien défini.

Réplication des télomères

Dans la plupart des cellules somatiques différenciées les télomères, (séquence répétée GGTTAG GGTTAG associée à une protéine) situés aux extrémités des chromosomes se raccourcissent à chaque réplication d'environ 100 nucléotides. Ce raccourcissement est dû à l'incapacité de l'ADN polymérase de remplacer l'amorce éliminée par la RNAse H. il subsiste un monobrin à l'extrémité 3' qui est alors dégradé. Les télomères passent de 12000 nucléotides chez un nouveau né à 4000 nucléotides chez une personne de 80 ans. Le raccourcissement conduit la cellule vers la sénescence. Au bout d'une certaine limite, la cellule cesse de se diviser, elle est orientée vers l'Apoptose et meure.

Dans les cellules embryonnaires, les cellules souches, les cellules germinales et cancéreuses, les télomères sont rallongés grâce à une enzyme de type transcriptase réverse. Cette enzyme TERT (télomérase retrotranscriptase) n'a pas besoin d'une matrice de l'ADN chromosomique, car elle possède elle-même une matrice ARN appelée TERC (télomérase RNA component) (fig.8)

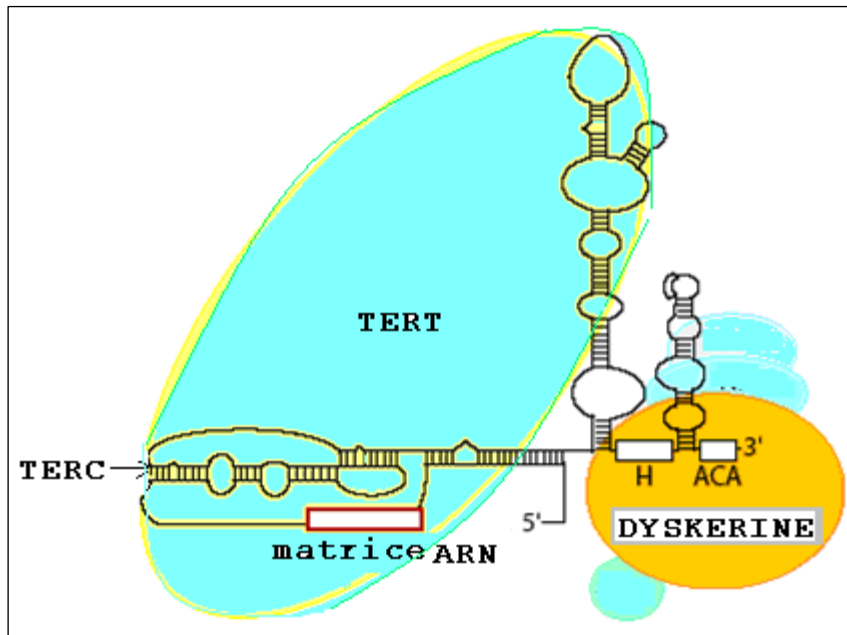


Figure 8 : schéma simplifié d'une télomérase

H. Belhocine