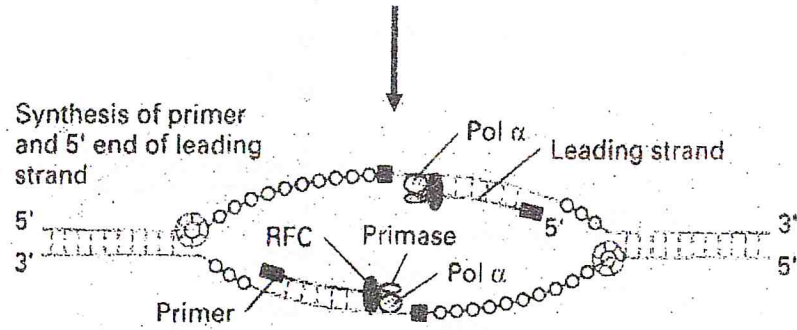
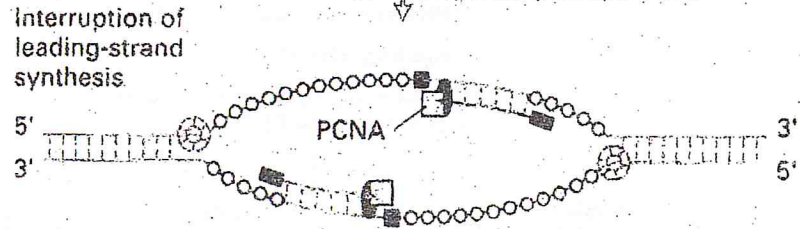


Binding of primase-Pol α
 Primer synthesis by primase
 Binding of RFC
 DNA-chain synthesis by Pol α
 stimulated by RFC



④ Binding of PCNA displaces primase-Pol α



LA REPLICATION DE L'ADN

1. GENERALITES

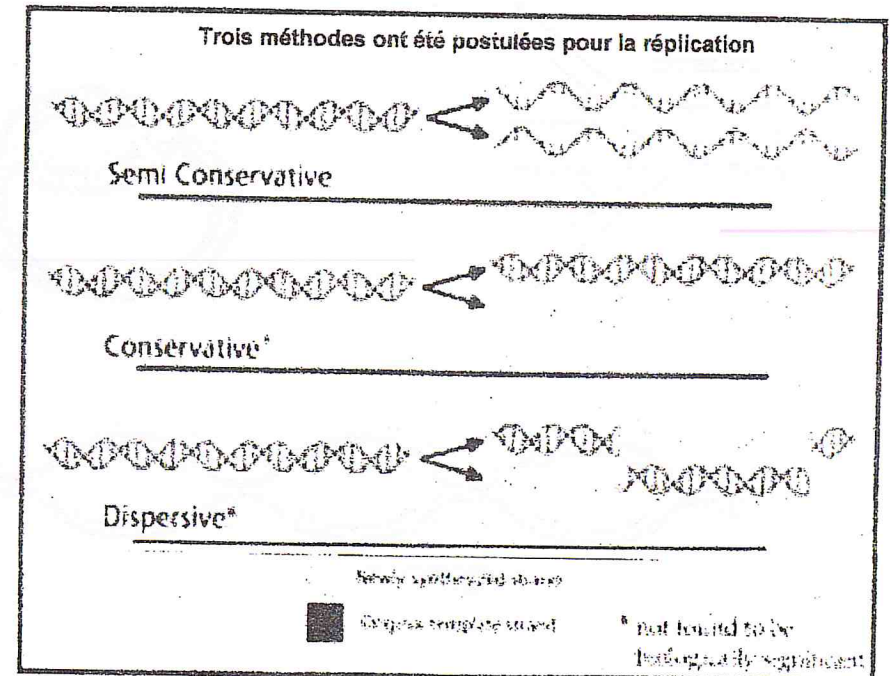
La répliation correspond à un ensemble de phénomènes par lesquels sont réalisés des copies fidèles des molécules de DNA, permettant une conservation stable de l'information génétique dans une espèce donnée et d'une génération à une autre.

La répliation est un processus commun chez les procaryotes et les eucaryotes se déroulant dans les cellules somatiques avant leur division mitotique.

Elle est catalysée par un groupe d'enzymes et un groupe de protéines hautement spécifiques.

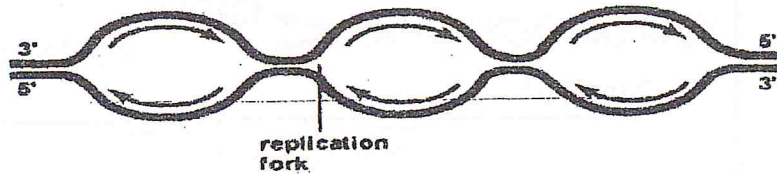
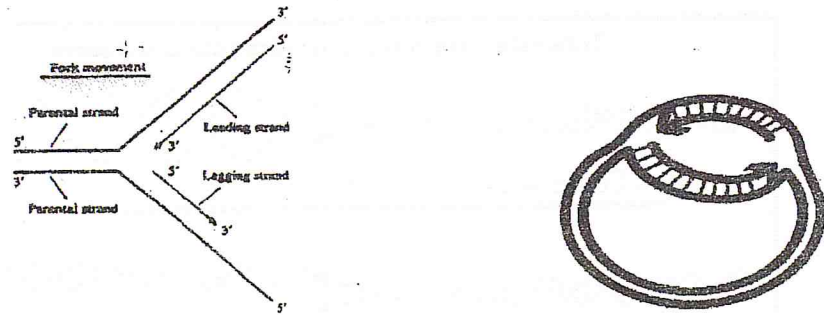
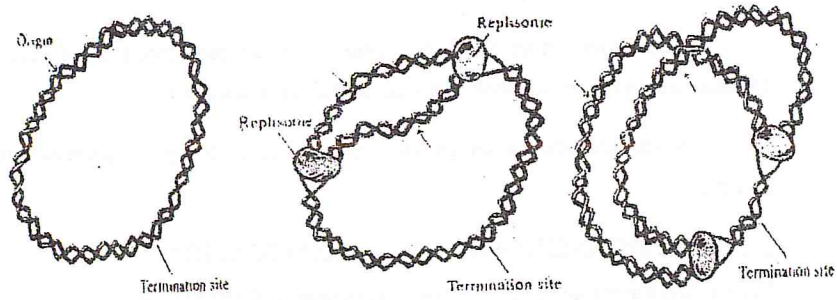
2. LOIS FONDAMENTALES DE LA REPLICATION

2.1. La Répliation de l'ADN est semi conservatrice (Expérience de Meselson et Stahl en 1957)

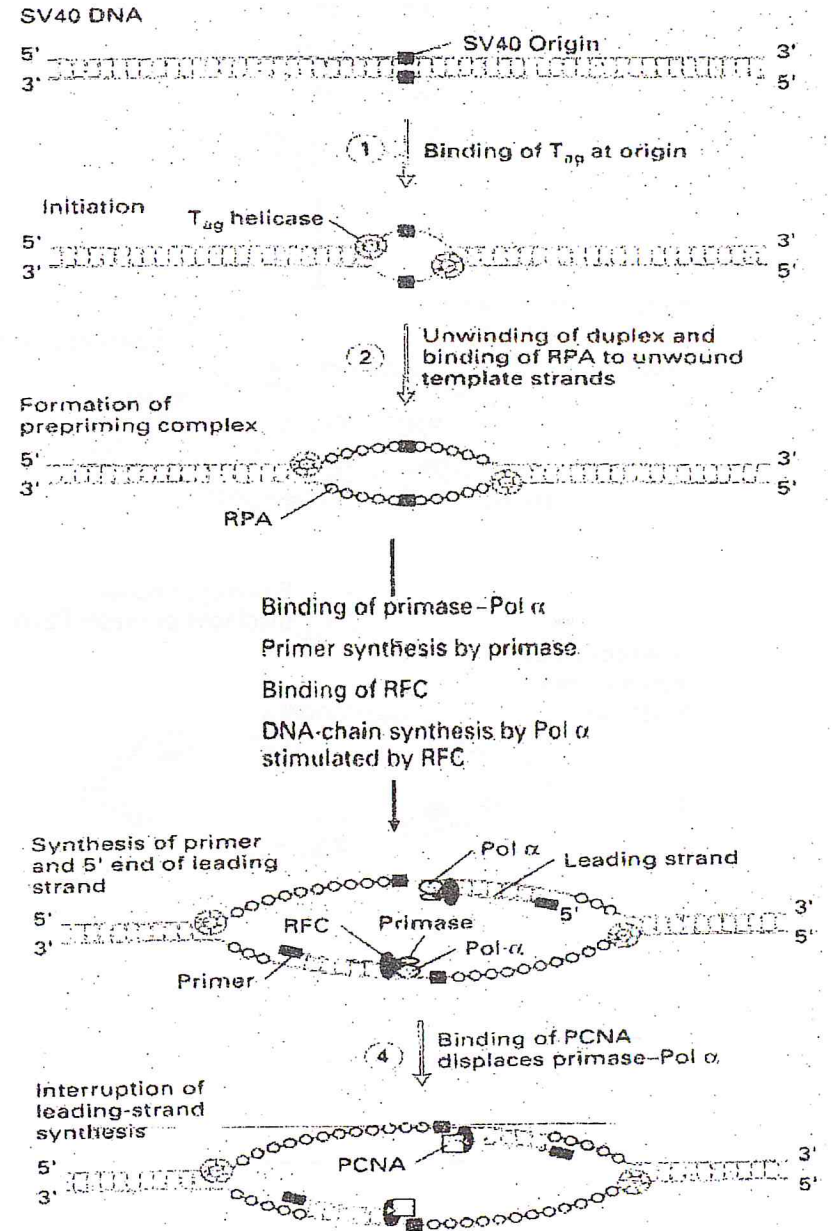


2.2. SENS BIDIRECTIONNELLE

Pour un ADN de procaryote circulaire, deux réplisomes ou réplicateurs vont en sens inverse à partir d'une origine commune. Pour un ADN d'eucaryote linéaire et de beaucoup plus grande taille, la réplication démarre en un très grand nombre de sites (jusqu'à 6000 fourches de réplication).



Réplication du virus SV40



6. La réplication chez les eucaryotes

Caractéristiques particulières.

La réplication se fait en de nombreux points d'initiation.

Elle fait intervenir un nombre d'ADN polymérases plus important que chez les procaryotes.

De nombreuses protéines interviennent comme facteurs de réplication.

6.1. Les ADN polymérases eucaryotes

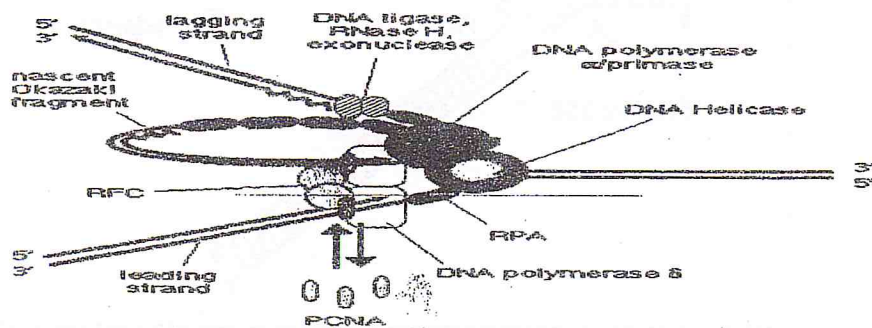
On connaît au moins 5 ADN polymérases chez les eucaryotes.

- La polymérase alpha/primase. Cette polymérase est impliquée dans l'initiation de la réplication ("priming").
- La polymérase bêta.
- La polymérase gamma. Cette polymérase est à localisation mitochondriale, bien que codée par un gène du noyau cellulaire.
- La polymérase delta.
- La polymérase epsilon.

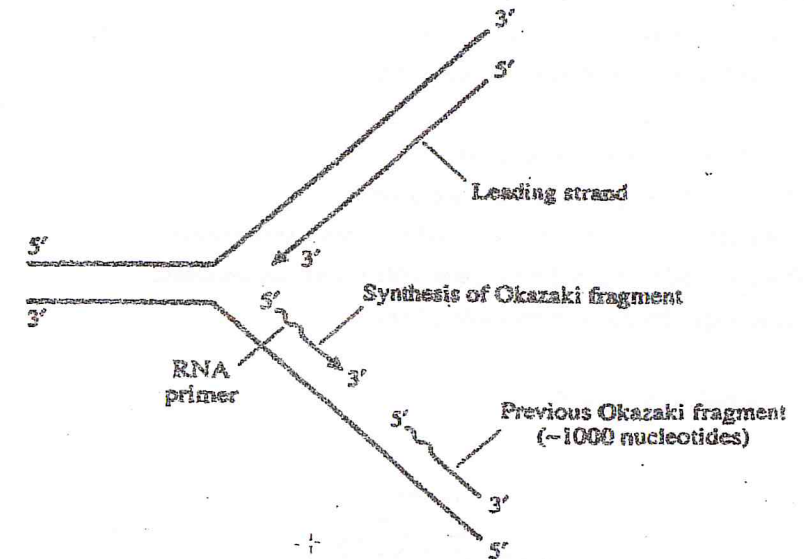
La polymérase alpha/primase synthétise les amorces d'ARN. Une protéine appelée PCNA ("proliferating cell nuclear antigen") intervient. L'ADN simple brin au cours de la réplication est stabilisé par des protéines correspondant aux protéines SSB du colibacille: Replication Protein A (RPA). Les amorces d'ARN sont détruites par la Rnase H. Les lacunes formées sont comblées par les polymérases bêta ou alpha.

6.2. La réplication chez les eucaryotes

Model of a eukaryotic replication fork



2.3. ORIENTATION



2.4. La réplication nécessite la présence d'une amorce

- La synthèse du brin avancé ou précoce est continue dans le sens 5' → 3'.
- Aucune ADN polymérase ne fonctionne dans le sens 3' → 5'.
- La synthèse du brin retardé ou tardif est discontinue dans le sens 5' → 3'.
- L'holoenzyme d'ADN polymérase III synthétise l'ADN sur l'amorce d'ARN.
- La primase est l'enzyme qui pose les amorces d'ARN du brin retardé (1 amorce par seconde).
- Cette enzyme fait partie du primosome, une région du réplicateur qui opère à la fourche de réplication. Le primosome est constitué d'au moins 17 sous-unités peptidiques.
- Les amorces d'ARN sont constituées de 1 à 3 nucléotides.

3. Les enzymes de la réplication

- La réplication est catalysée par un complexe multienzymatique appelé réplicase de l'ADN ou réplisomes (E. Coli).
- Ces enzymes présentent de grandes similitudes chez les procaryotes et les eucaryotes, parfois même sont communes.

On distingue:

3.1. Les hélicases ou déroulases:

❖(Une sur chaque brin) elles séparent progressivement les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes. Elles sont ATP dépendante.

Les différents états des topoisomères

Etat relâché: configuration la plus stable (10pb/t)

Etat surenroulé: nombre d'enlacements élevé (surenroulement positif)

Etat surenroulé : nombre d'enlacements faible (surenroulement négatif)

➡ favorise la séparation des 2 brins

Les topoisomères du DNA

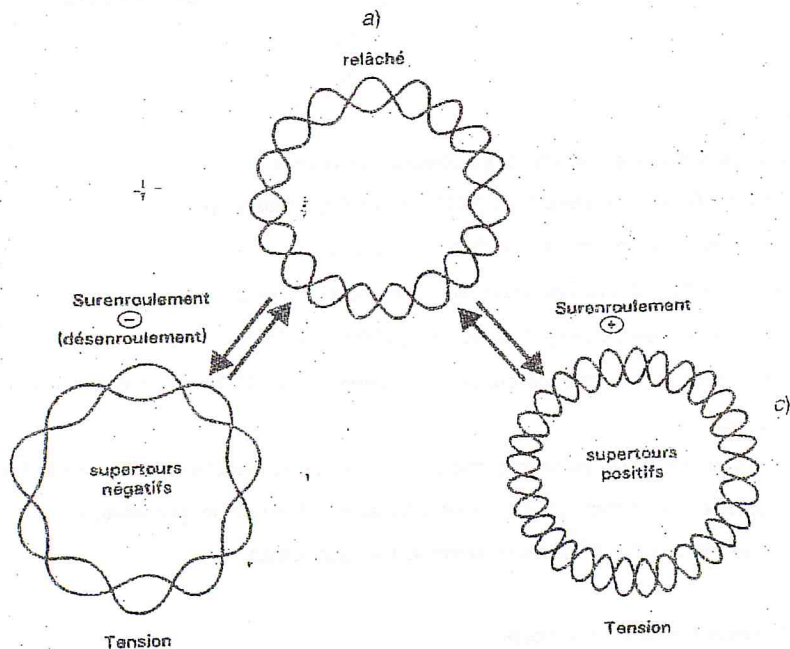


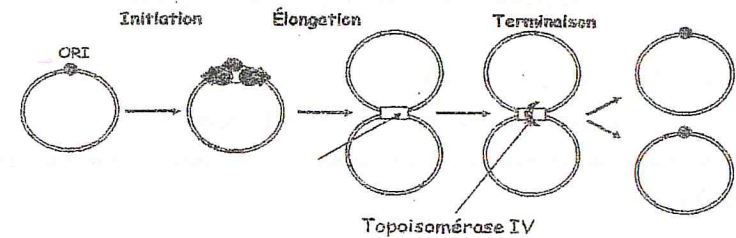
Fig. 20. - Les topoisomères du DNA. a) Forme relâchée. b) Forme surenroulée négativement. c) Forme surenroulée positivement.

➤ La terminaison

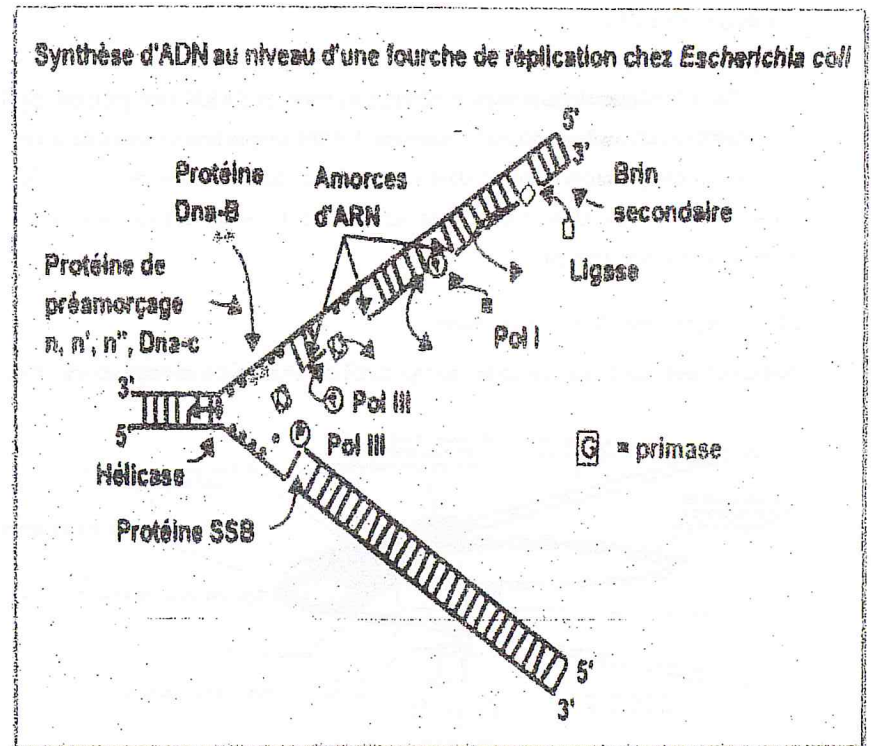
Les deux fourches de réplication se rencontrent à 180° d'ORI, au niveau des sites Ter.

La protéine Tus inhibe l'action de l'hélicase, donc les deux molécules d'ADN double brins restent liées.

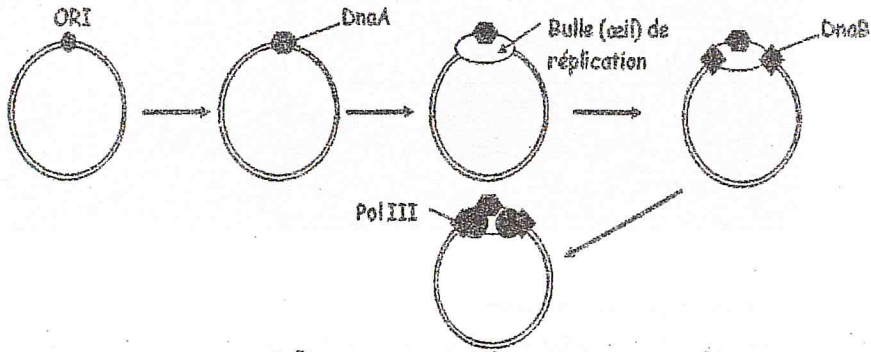
Dissociation par la topoisomérase IV.



Mécanisme de la réplication chez les procaryotes



- Fixation du complexe multimérique de DnaA
- Ouverture de la double hélice
- Fixation des protéines DnaB (hélicase)
- Fixation des protéines SSB : stabilise les simples brins d'ADN
- Fixation de l'ADN polymérase (Pol I et Pol III)



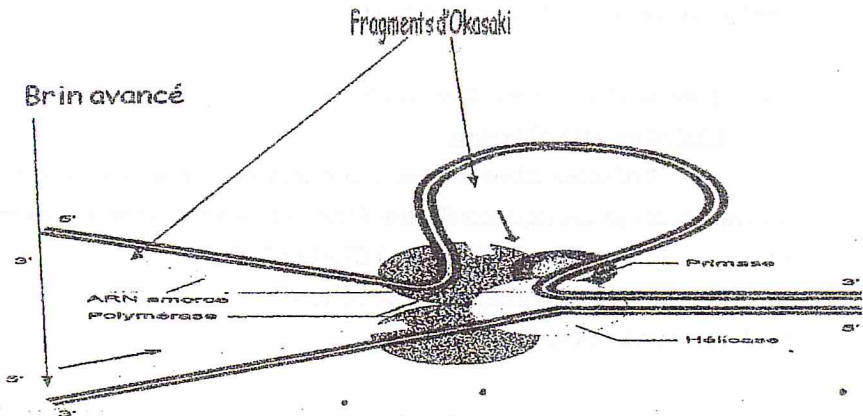
➤ L'élongation :

L'hélicase DnaB ouvre la double hélice en aval de la polymérase

Synthèse des amorces ARNs par la primase

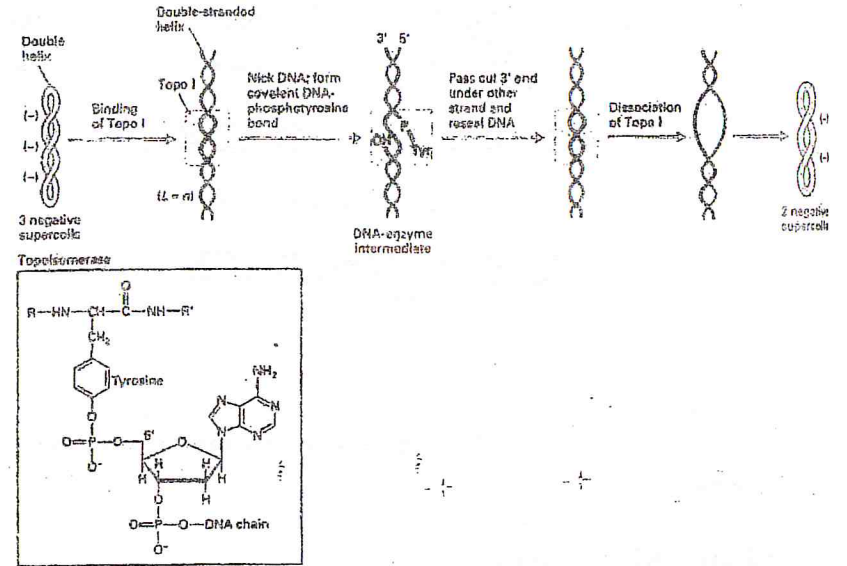
L'incorporation des nucléotides du brin avancé s'effectue par Pol III

La synthèse des fragments d'Okasaki débute par Pol III et se termine par la digestion et le remplacement des amorces d'ARN par la polymérase I (Pol I) et leur liaison par la ligase

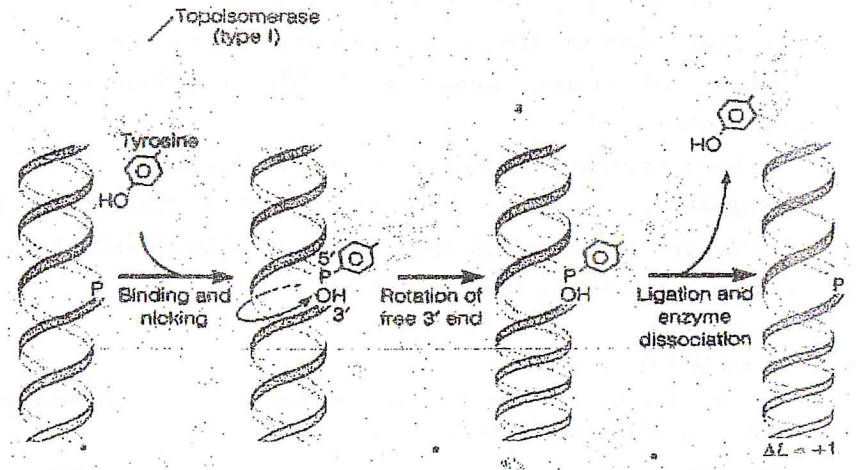


3.2. Les topoisomérases

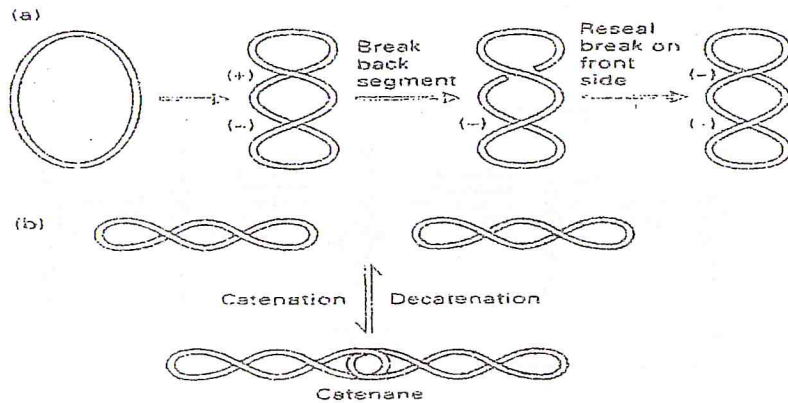
3.2.1. Topoisomérases I



Mécanisme d'action de la topoisomérase I



3.2.2. Topoisomerase II (DNA gyrase)



3.3. La primase

C'est l'ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise des amorces d'une 10^{ème} de nucléotides.

3.4. ADN - POLYMERASES

◊ **ADN-pol III procaryote** : Enzyme de la réplication qui poursuit la synthèse de l'ADN sur l'amorce ~250 nt/sec (15.000 nt/min)

(Eucaryote : 50 nt/sec (3000 nt/min))

◊ **ADN-pol II procaryote** : Activité surtout de réparation.

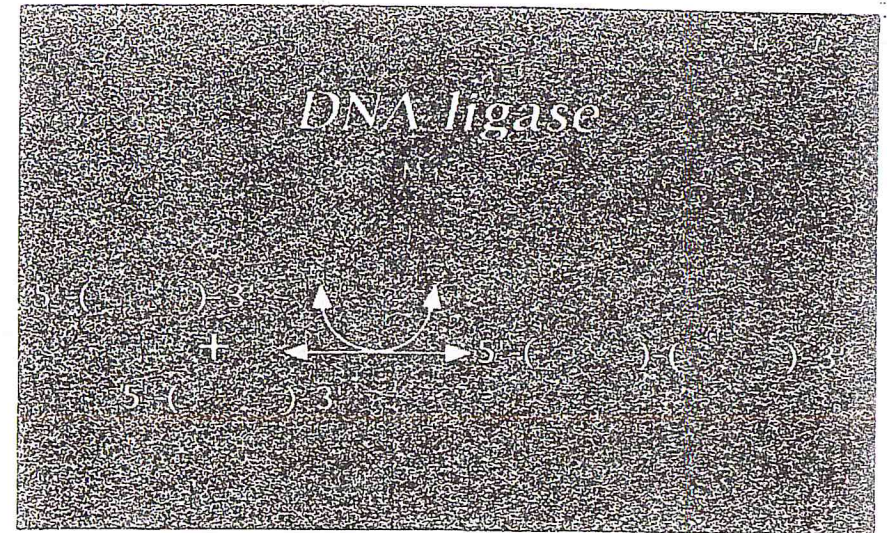
◊ **ADN-pol I procaryote** : Hydrolyse les amorces et les remplace par de l'ADN.

Toutes les ADN-polymérase possèdent une **ACTIVITÉ DE CORRECTION** = activité exonucléasique 3'→5'

◊ **ADN-pol I procaryote**: possède en plus une activité exonucléasique 5'→3' = **ACTIVITÉ DE RÉPARATION**, qui se trouve dans un domaine particulier. Ce domaine peut être séparé de l'enzyme et ce qui reste est appelé **Fragment de Klenow** possédant une activité polymérasique sans l'activité exonucléasique 5'→3'.

3.5. Les DNA ligases

◊ Ce sont des enzymes qui catalysent la formation de liaisons phosphodiester entre 2 chaînes polynucléotidiques assurant la liaison des fragments d'Okazaki.



4. Les protéines de la réplication

Protéine DnaA : qui se fixe à l'origine de réplication et permet l'initiation de la réplication en aidant à l'ouverture de l'ADN. ATP dépendante.

• 2 **hélicases** ou **Protéine DnaB** : (une sur chaque brin) elles séparent progressivement les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes. Elles sont ATP dépendante.

Protéine DnaC : convoie DnaB au bon endroit.

Protéine SSB : elle fixe le simple brin ce qui permet la stabilisation pour éviter que l'ADN ne se referme.

La protéine HU : stimule l'initiation de la réplication.

Protéine Tus au site de terminaison met fin à la réplication.

5. La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ L'initiation de la réplication :

Réplication débute dans une région précise (l'origine de réplication): **ORIC**, composée de 245 pb. Les séquences clés sont formées de 2 séries de courtes répétitions.

• 3 répétitions d'une séquence de 13 pb: **GATCTNTTNTTTT**

• 4 répétitions d'une séquence de 9 pb: **TTATCCACA**

N: n'importe quel nucléotide