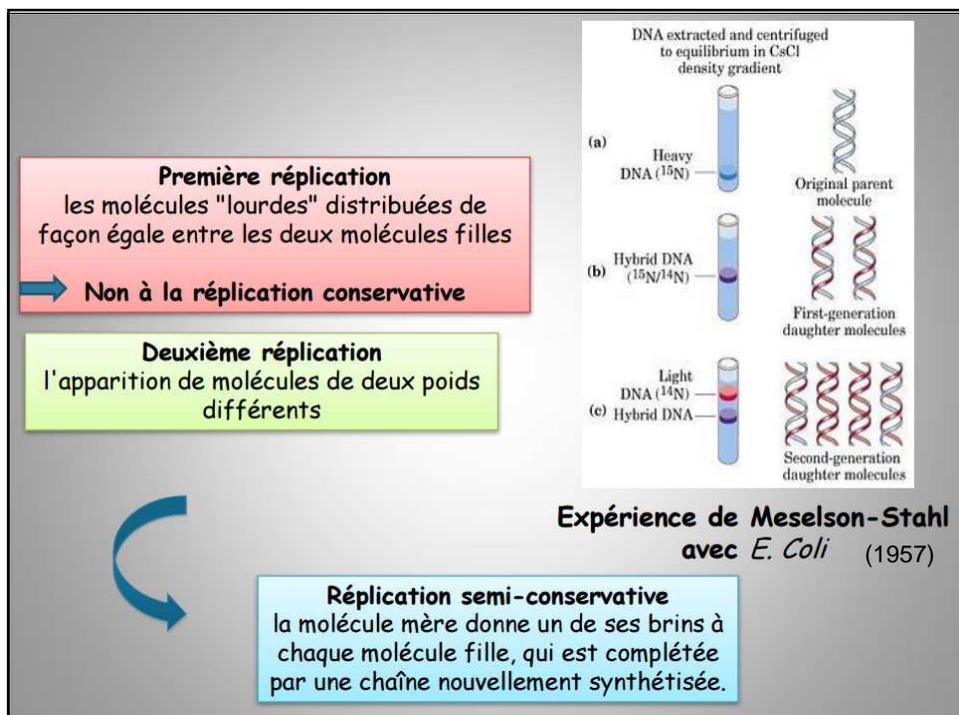
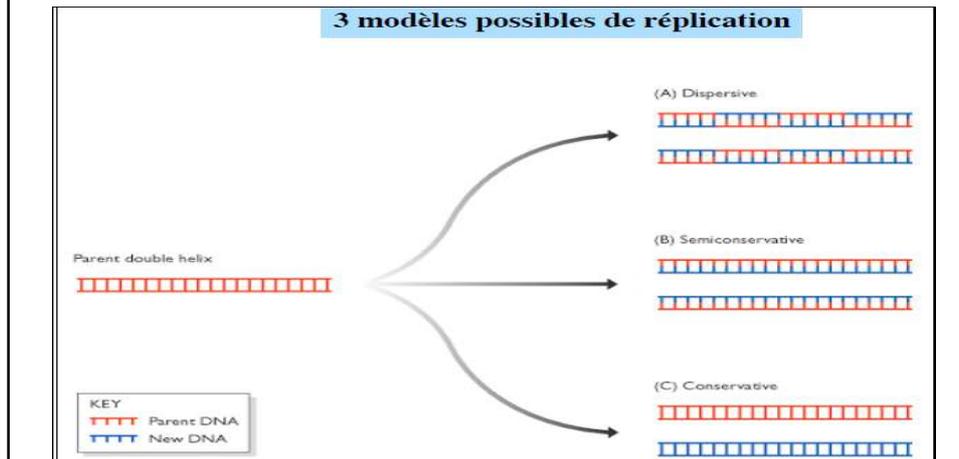


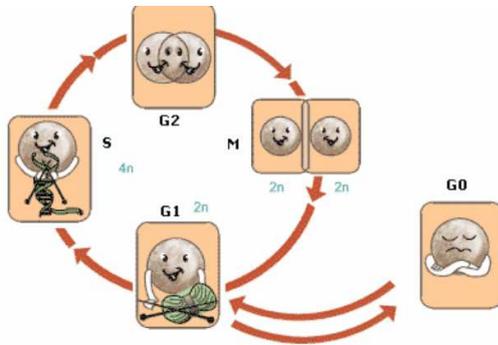
LA REPLICATION

- La réplication est le processus au cours duquel l'ADN est synthétisé grâce à l'ADN polymérase pour permettre à l'information de se transmettre d'une cellule mère aux cellules filles.
- Ce mécanisme permet à l'ADN d'être dupliqué (doublé) selon un processus de semi-conservateur.



LA REPLICATION de l'ADN

se déroule pendant la phase S du Cycle cellulaire



Les cellules passent la majorité de leur temps en phase G0 (copie d'ADN en ARN).

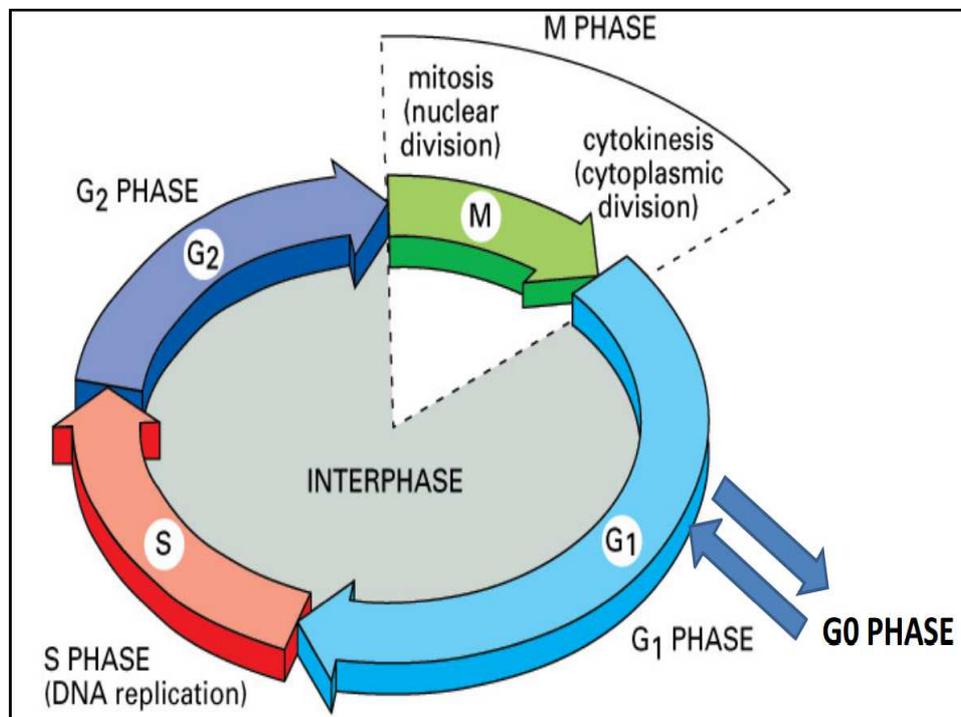
Lorsqu'elles se divisent, elles doivent doubler leur ADN (copie d'ADN en ADN), afin que les deux nouvelles cellules obtenues soient identiques.

Période de multiplication

G1 : phase de préparation à la synthèse de l'ADN
S : phase de synthèse de l'ADN
G2 : phase de préparation à la mitose
M : mitose

Période de quiescence

G0 : pas de processus de division cellulaire
 Cellule au repos exerçant ses fonctions



- Réplication est une réaction rapide:
 - Bactéries: 1000 pb/sec/fourche, Chromosome unique avec $4,4 \times 10^6$ pb copié par 2 fourches (nécessité de 40 min)
 - Cellules humaines: 100 pb/sec, le génome humain fait 3×10^9 pb , réplique en 8 heures, il faut au moins 1000 fourches de réplication

I - La réplication chez les procaryotes

La réplication se déroule de 5' vers 3', de façon **complémentaire** et **antiparallèle**.

Réaction asymétrique uniquement dans le sens 5'P- -->3'OH

Asymétrie est liée à l'activité de l'ADN polymérase:

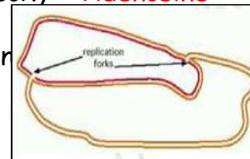
- nécessité d'avoir une amorce
- dernier résidus de l'amorce doit être apparié et avoir un groupement 3'OH libre
- Présence de nucléotides et du magnésium Mg^{2+} dans le milieu

Les différents acteurs :

- L'ADN parental = **matrice** = brin matrice qui sert de modèle
- Les nucléotides : sous forme **triphosphate** : dATP (désoxy **Adénosine** TriPhosphate), dCTP, dTTP, dGTP
- Les enzymes (séparation des brins, incorporation des n
- Co-facteurs (ex : Mg^{++})

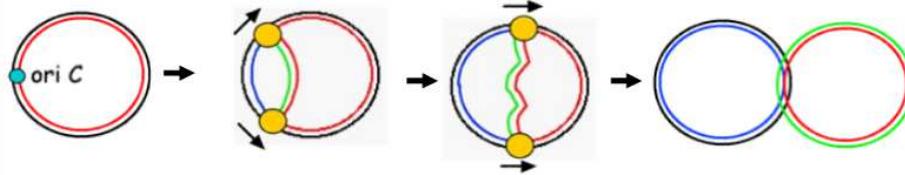
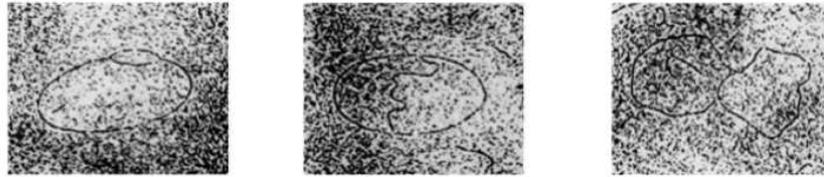
La réplication est **bidirectionnelle**.

Les deux extrémités s'appellent fourche de réplication



I. La réplication chez les procaryotes

1. Origine de réplication (microscopie électronique: Cairns, 1962)

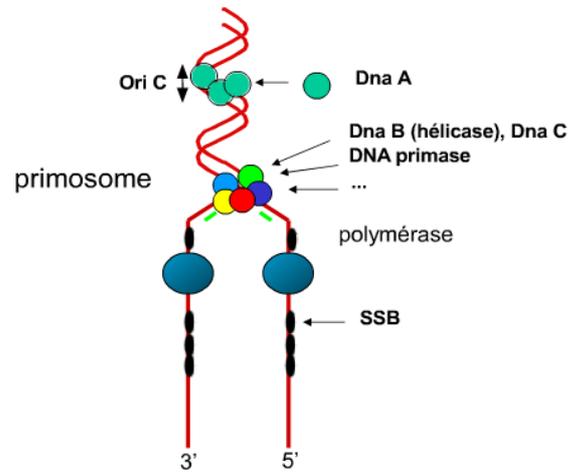


- 1 seule origine par chromosome : ori C
- réplication bidirectionnelle
- réplication rapide (20 à 100 min)
- 1 séquence de terminaison

Les enzymes qui interviennent

- **Protéine Dna A** : se fixe à l'origine de réplication et permet l'initiation de la réplication en aidant à l'ouverture de l'ADN.
- **hélicase ou Protéine Dna B (Hélicase)** : (une sur chaque brin) elle sépare progressivement les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes.
- **Protéine Dna C** : convoie Dna B au bon endroit.
- **Une Gyrase** : qui réduit les torsades formées par la progression de la fourche.
- **Une Déroulase ou protéine SSB** : elle fixe le simple brin ce qui permet la stabilisation pour éviter que l'ADN ne se referme.
- **Une Primase** : c'est **ARN polymérase ADN dépendante** qui synthétise des amorces **ARN** d'une dizaine de nucléotides.
- **L'ADN Polymérase de type III : ADN pol III** : **élongation de 5' en 3'** et de la correction sur épreuve (2 sous unité une pour chaque brin) → son **activité exonucléasique 3' 5'**
- **L'ADN Polymérase de type I = ADN pol I** : élimine les amorces **ARN** du brin retardé par son activité **exonucléasique 5'3'** et comble le vide par son activité polymérasique.
- **L'ADN ligase** : lie entre eux les fragments d'Okasaki.
- **Protéine Tus** au site de terminaison : met fin à la réplication

2. Phase d'initiation

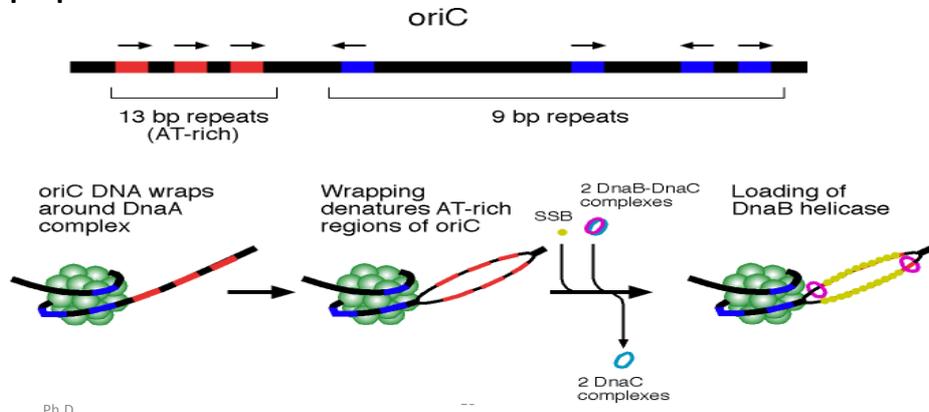


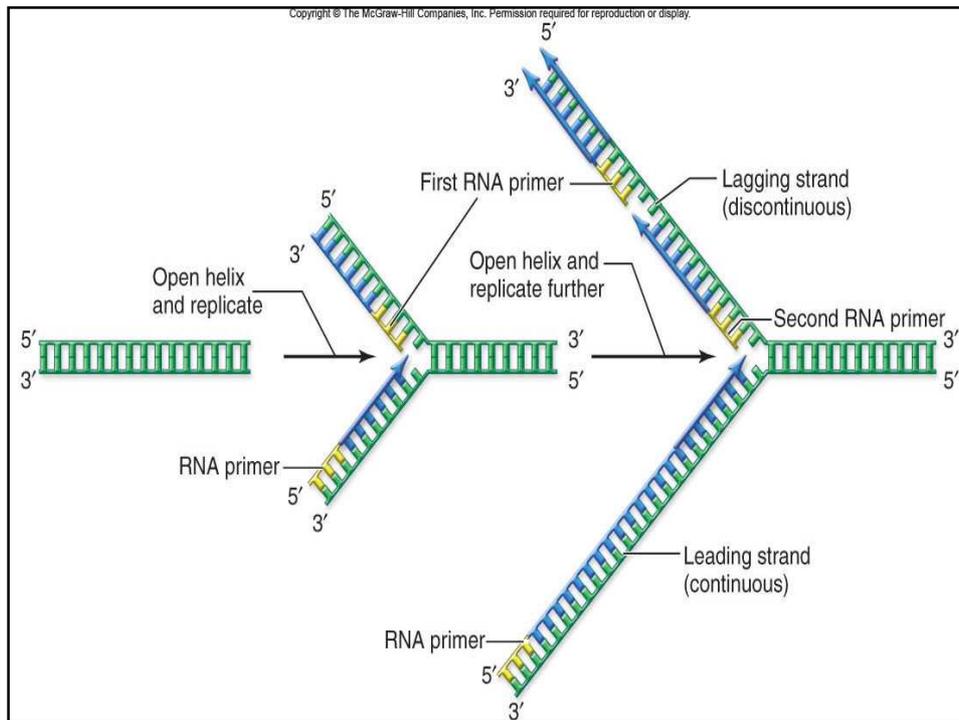
1. reconnaissance de la séquence d'origine
2. formation du primosome, ouverture du double brin et stabilisation des brins
3. accrochage de l'ADN polymérase
4. **synthèse d'une amorce ARN par la primase**

- La réplication de l'ADN commence à un site précis: origine de réplication: **OR**

- Les OR sont des séquences formées de petites séquences répétitives reconnues par des complexes enzymatiques.

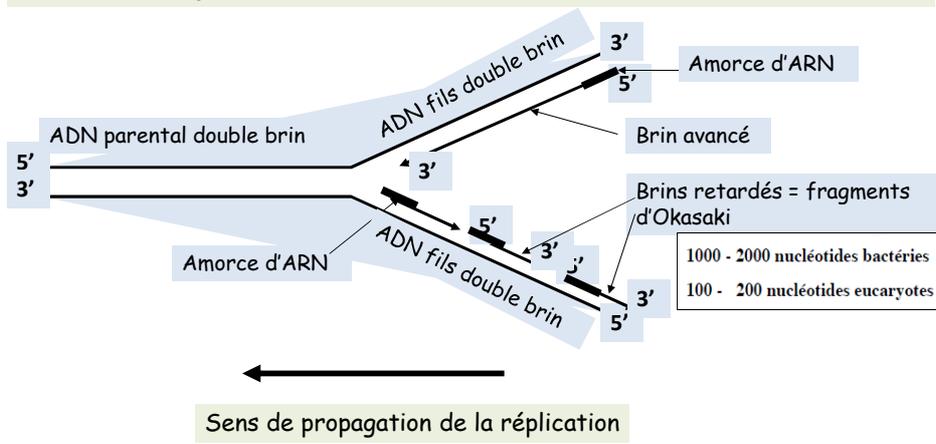
- Cette zone est flanquée de séquences riche en AT, disposition propice à la détorsion de l'hélice bicaténaire





La réplication chez les procaryotes

- Toutes les ADN polymérase font la synthèse de 5' en 3', et aucune ne peut amorcer de synthèse *de novo*, sans amorce ADN ou ARN préexistantes.
- Au niveau du **brin 5'3'** la synthèse se fait **de 5' en 3'** de façon continue : il s'agit du brin avancé ou précoce.
- Au niveau du brin **3'5'** la synthèse se fait également de **5' en 3'** grâce au fragment d'okasaki : il s'agit du brin retardé



3. Elongation

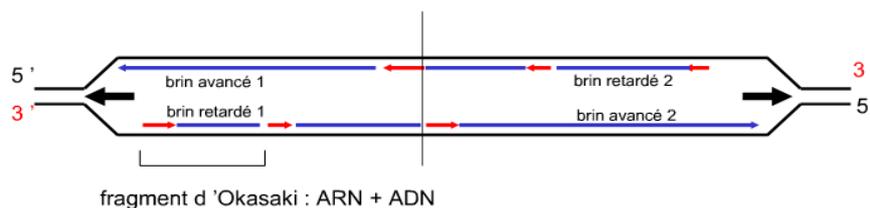


L'élongation nécessite:

- ADN polymérase (activité de copie 5' → 3') : III > I, II
- matrice formée par 1 simple brin, dNTP, Mg⁺⁺
- amorce ARN avec OH libre en 3'
- hélicases, topoisomérases ...



L'élongation est mono directionnelle 5' → 3' : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »



- ADN polymérase (activité de copie 5' → 3') : III > I, II

	ADN polymérase I	ADN polymérase II	ADN polymérase III
Structure	Monomérique	> 4 sous unités	> 10 sous unités (core + clamp + protéines associées)
Rôle	Élimine les amorces lors de la réplication + réparation	Réparation de l'ADN	Réplication de l'ADN génomique
Polymérisation 5' → 3'	Oui	Oui	Oui (sous-unité α)
Exonucléase 3' → 5'	Oui	Oui	Oui (sous-unité ε)
Exonucléase 5' → 3'	Oui	Non	Non
Vitesse de polymérisation	16-20 bases / sec	5-10 bases / sec	250-1000 bases / sec

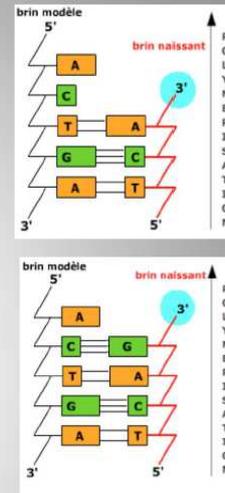
Tableau récapitulatif des principales polymérases procaryotes (il existe d'autres polymérases : Pol IV et V)

2- Élongation de la réplication:

Les polymérases ont 2 rôles:

1- Incorporation des bases en respectant les règles de complémentarité >>> synthèse en continue d'un nouveau brin précoce (ADN pol III)

2- Dégradation des amorces ARN grâce à son activité d'exonucléase **5'3'** et resynthèse de la partie manquante pour assurer la fidélité de la réplication (ADN pol I).



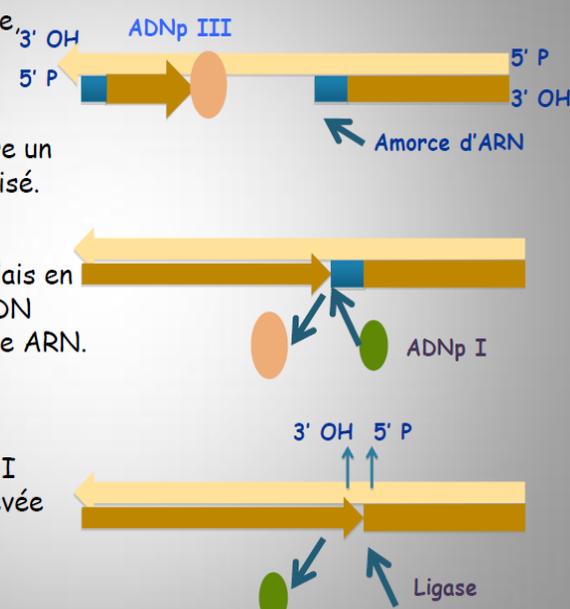
Assemblage de deux fragments sur le brin retardé

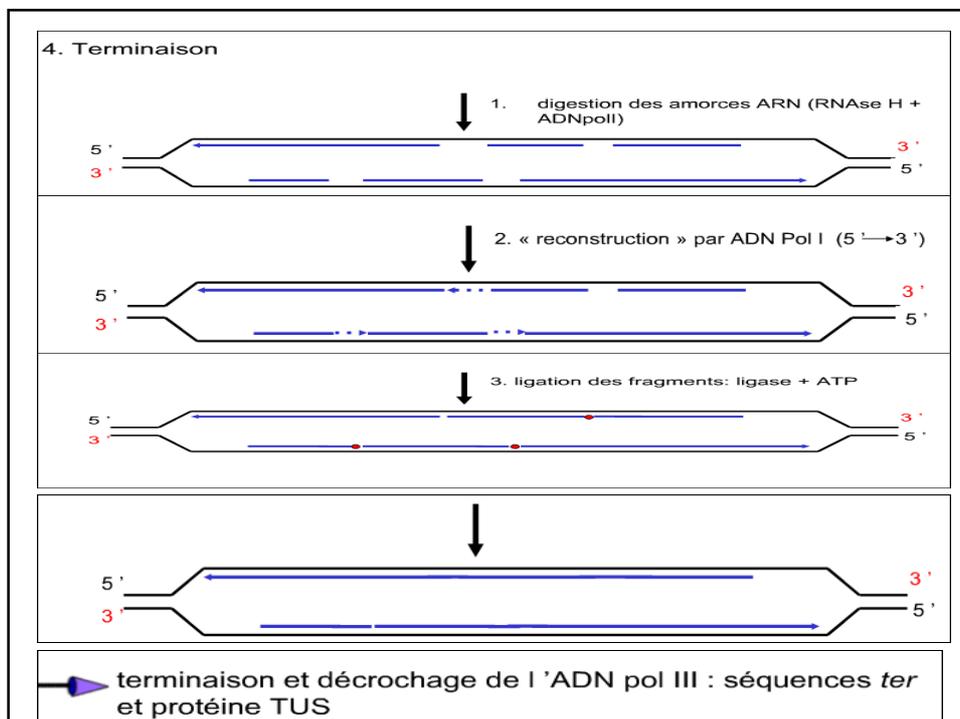
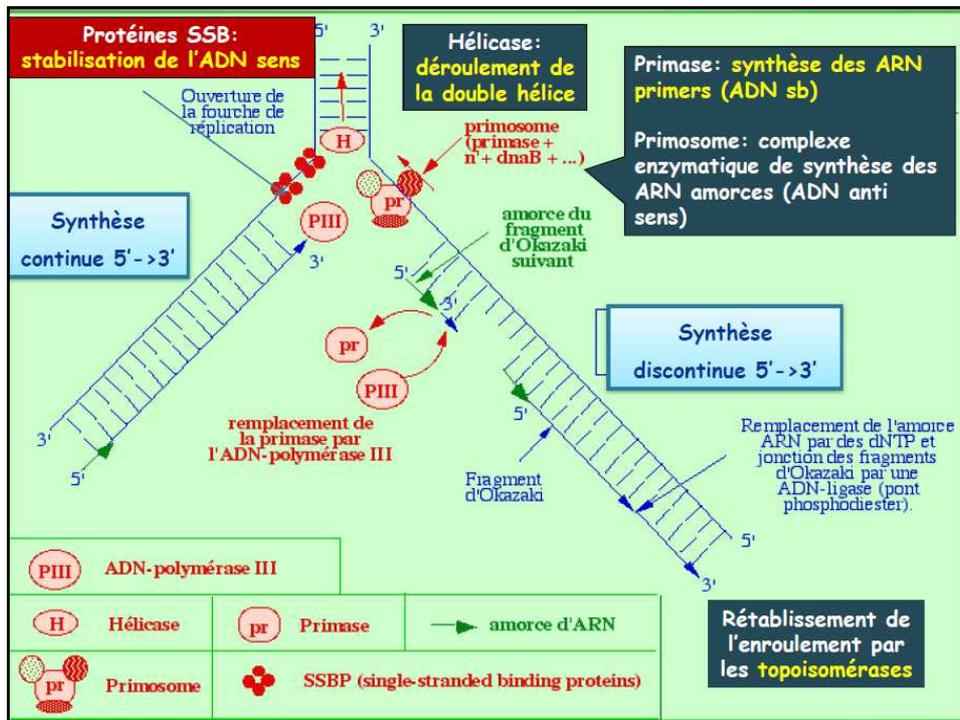
Après la synthèse de l'amorce, la primase est remplacée par ADNp III (dnTP).

>>> Synthèse jusqu'à atteindre un ADN précédemment synthétisé.

L'ADN pol I prend alors le relais en continuant la synthèse de l'ADN pendant qu'elle enlève l'amorce ARN.

L'ADN ligase remplace la pol I après que l'amorce a été enlevée et soude les deux fragments ensemble.

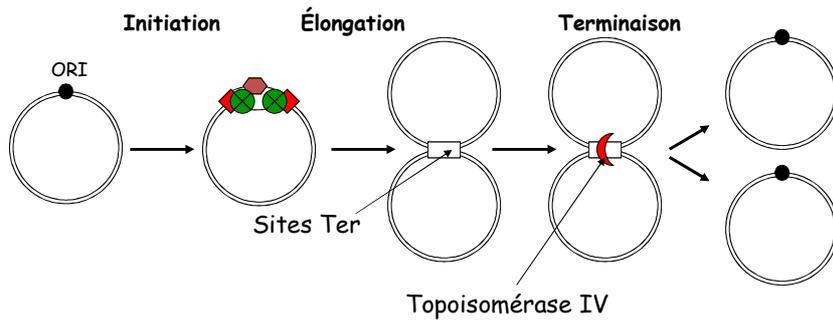




La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ La terminaison :

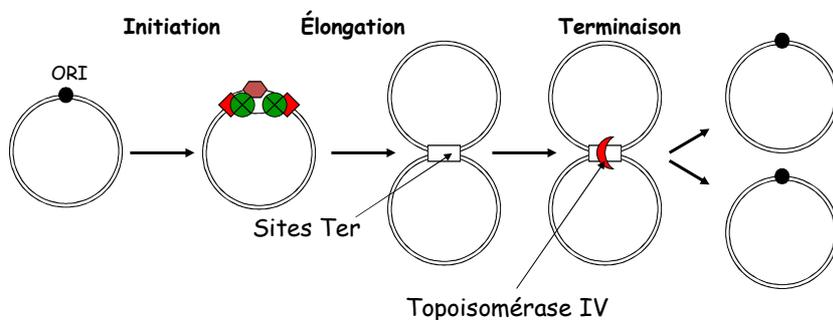
Les deux fourches de réplication se rencontrent à 180° d'ORI, au niveau des sites Ter
 La protéine Tus inhibe l'action de l'hélicase, donc les deux molécules d'ADN double brins restent liées
 Dissociation par la topoisomérase IV



La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ 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

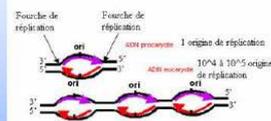


La réplication chez les eucaryotes

Se déroule pendant la phase S du cycle cellulaire

Même système que celui des procaryotes avec le brin avancé et le brin retardé >>> **Mais, quelques différences**

- ADN plus long
- Plusieurs **origines de réplication** activées de manière synchronisée et progressant à la même vitesse (50 nucléotides/s) **20.000 a 30.000 OR**

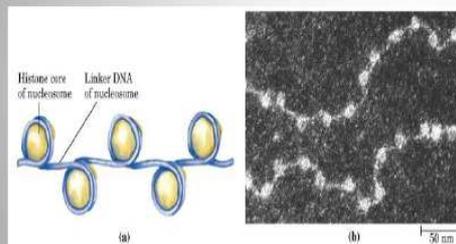


- Plusieurs polymérases agissant simultanément tout en ayant des fonctions différentes:
 - α : synthèse de l'amorce, élongation et réparation de l'ADN; **contient une s/unité primase**
 - β : réparation de l'ADN,
 - γ : réplication de l'ADN mitochondriale ...
 - δ : Elongation des brins plus réparation de l'ADN
 - ϵ : Réparation et remplacement de l'ARN au niveau du brin retardé (Similaire à Pol)

Téломère synthase ou télomérase empêche le brin retardé de se raccourcir progressivement lors de la réplication.

- L'ADN est intégré dans la chromatine associée aux histones.

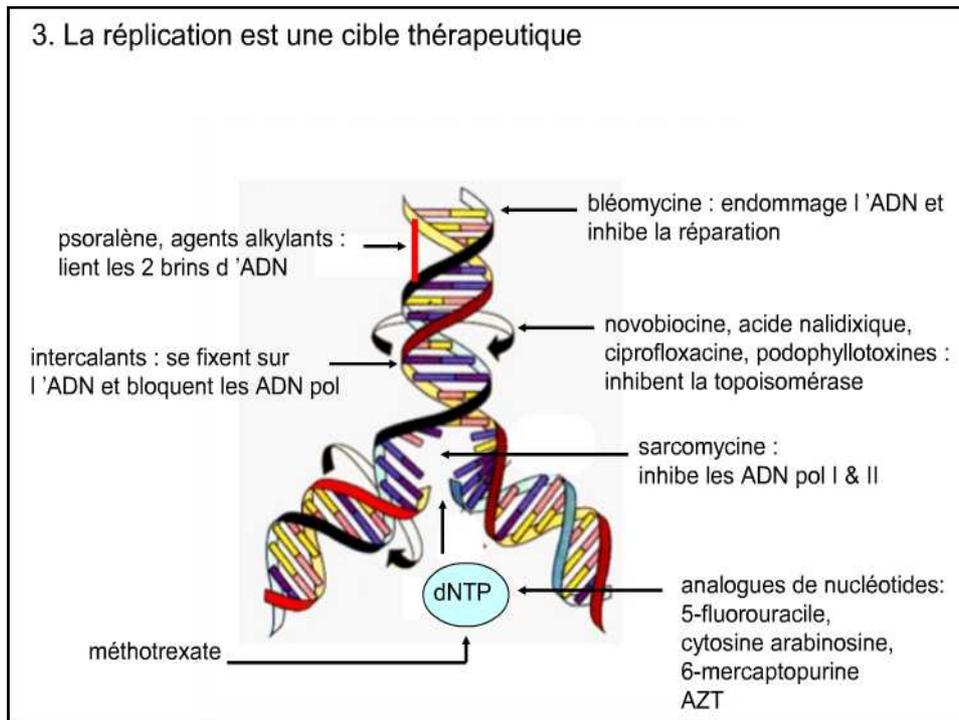
Donc, au moment de la réplication, il y a production d'histones >>>> duplication de la masse d'histones aussi.



Structure complexe des chromosomes (chromatine et protéines histones)

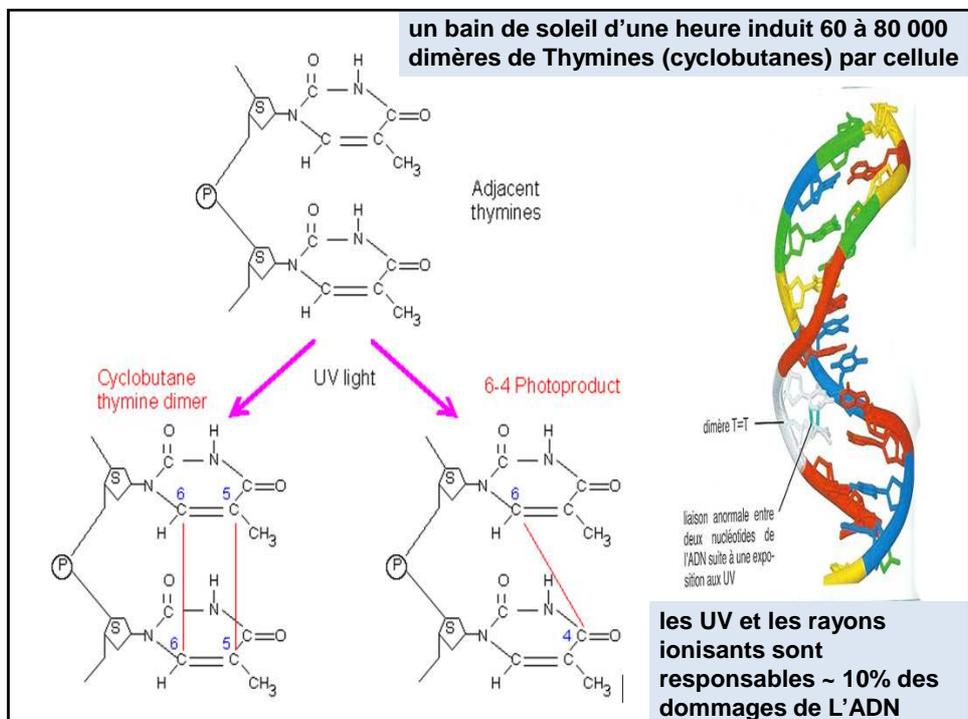
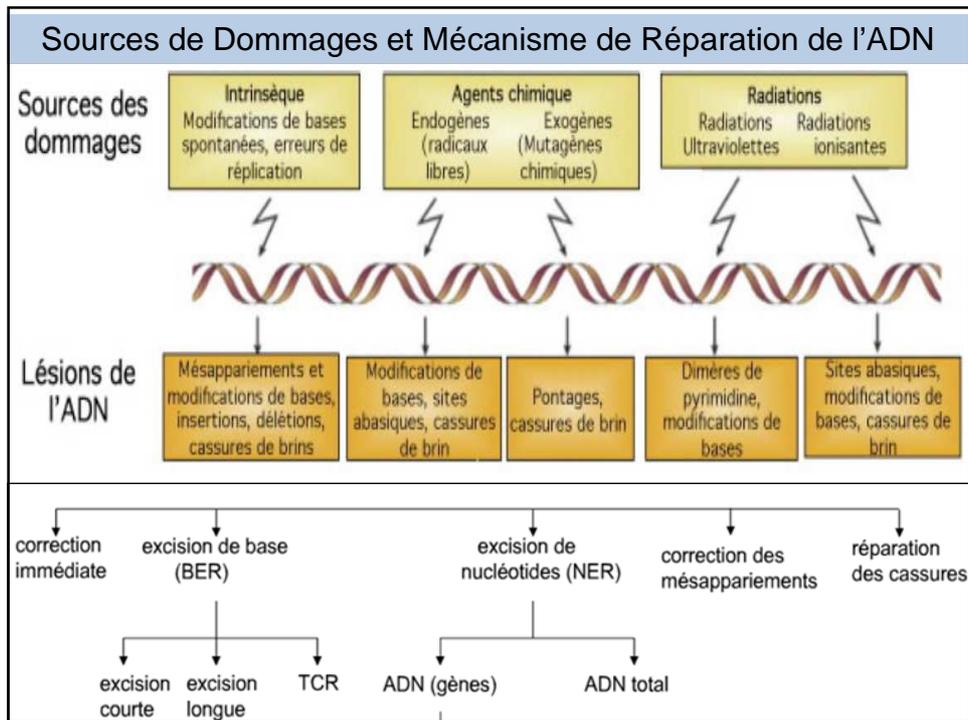
Structures complexes discoïdes autour desquelles est entouré l'ADN : **nucléosomes** constituent une barrière ralentissant la polymérase (faible vitesse de progression de la fourche de réplication)

3. La réplication est une cible thérapeutique



Comparaison entre la réplication chez les eucaryotes et chez les procaryotes :

	les procaryotes	les eucaryotes
Origine	Une seule	Plusieurs
Protéines stabilisatrices	La protéine SSB	La protéine RPA (replicative protéine A)
Progression des fourches/origine	500 à 1000nt/s	50 à 100nt/s (multiples origines)
Fragments d'Okazaki	1000 à 2000nt	200 à 300nt
Amorces ARN	- Synthétisées par une primase - Allongée par une poly III - Dégradée, remplacée par la poly I.	- Synthétisées par une poly α /primase - Allongée par une poly α et la poly δ - Dégradée par la RNase H et la FEN ₁ , remplacée par la poly δ .
ADN polymérase	La poly III et poly I	La poly α , poly γ , poly ϵ , poly δ
La régulation de l'initiation	Plusieurs fois par cycle cellulaire	Une seule fois par cycle cellulaire
Terminaison	- Rencontre des terminators - Décaténation du brin circulaire par la topoisomérase II	- Intervention des télomérases



- Fidélité de la réplication de l'ADN: Correction des erreurs d'élongation PROOFREADING

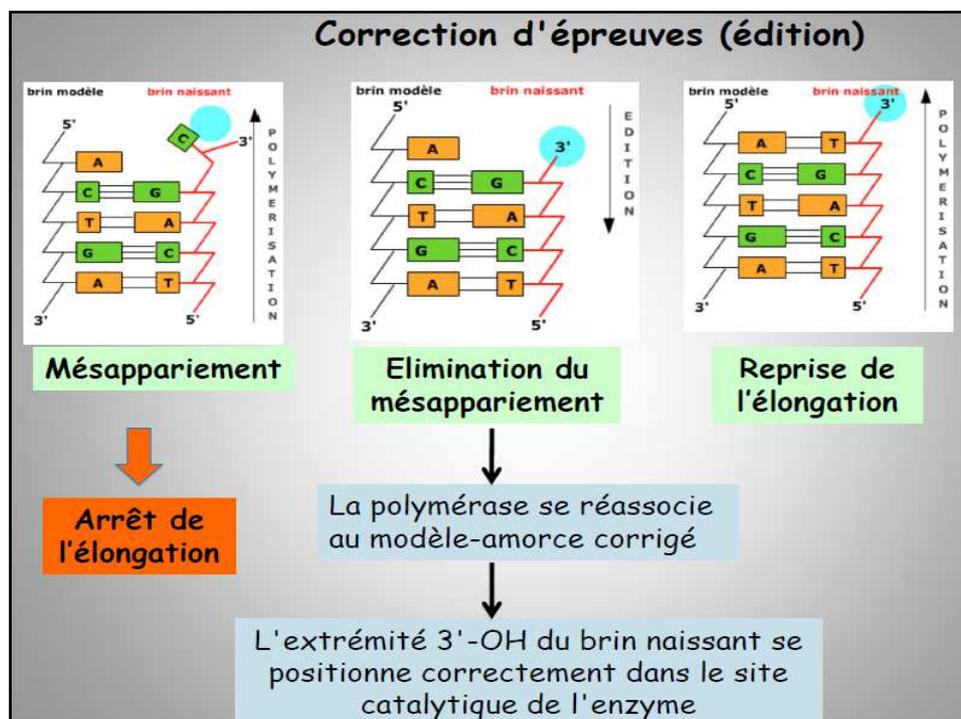
C'est la correction d'une absence de complémentarité entre les nucléotides de 2 brins d'ADN

Taux de mutation faible de 10^{-8} à 10^{-11} erreurs/paire de bases insérées grâce à:

- Règles d'appariement des bases sur le modèle du brin matriciel
- Activité correctrice des enzymes Pol I et III

➔ Activité *exonucléasique* 3' → 5' (enlever un nucléotide mal apparié et remplacer par le bon nucléotide)

- Existence d'un **système multi enzymatique** comprenant une **endonucléase** associée à une **exonucléase bidirectionnelle (3'5' et 5'3')**, à une **ligase** et à une **ADN pol III**.



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

DNA with adjacent thymines

UV light

Helix distorted by thymine dimer

Thymine dimer

Photolyase binds to damaged DNA

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Photolyase

Visible light

Thymine dimer cleaved

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Mécanisme de réparation de l'ADN par photolyase

La photolyase est une enzyme qui répare certains des dommages causés dans l'ADN par les ultraviolets et en particulier les dimères de thymine

La photolyase est présente chez les procaryotes et chez de nombreux eucaryotes, comme les levures, les plantes

29

BER : Base Excision Repair

- mécanisme présent chez les eucaryotes et les procaryotes.
- Mécanisme de réparation des lésions endogène: **Dépurination, désamination. Oxydation,**

BER: Mécanismes d'excision en deux temps

Eucaryotes

Etape I

Etape II

Formation d'une brèche

Désamination de C
Présence de U

ADN N-glycosidase (U)

site AP

AP endonucléases (5' et 3')

ADN pol β puis ADN ligase

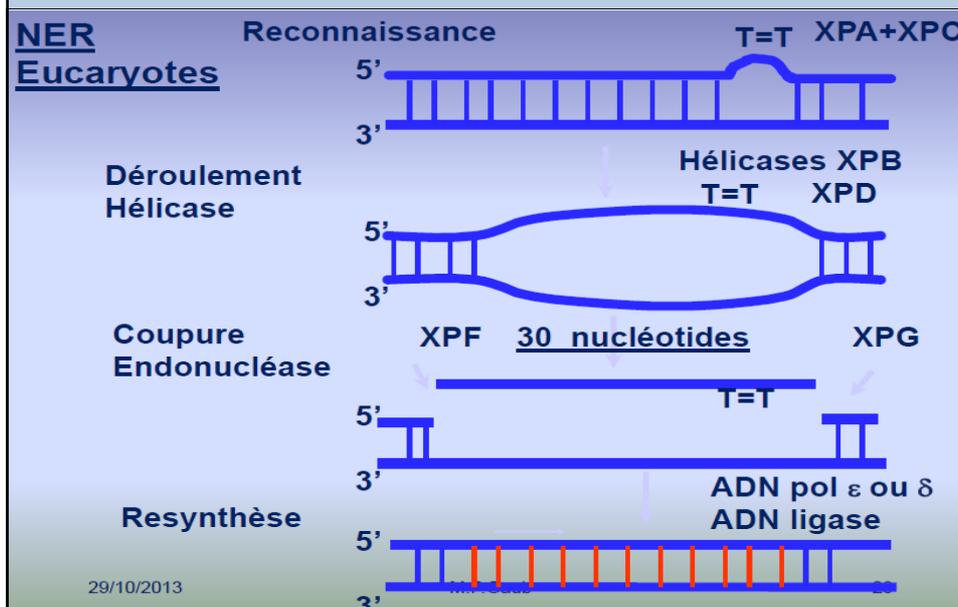
29/10/2013
25

Réparation par **Excision de Nucléotides** = **NER**

mécanisme présent dans toutes les cellules (exposition aux UV /RX).

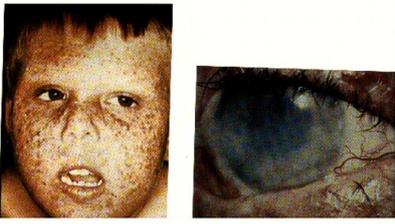
- Excision sur le brin endommagé d'un segment de plusieurs nucléotides encadrant la lésion.
- Intervention d'un ensemble de facteurs protéiques : reconnaissance et liaison à la région endommagée
 - **hélicases pour ouvrir le duplexe d'ADN**
 - **des endonucléases SB pour couper en 5' et en 3' de la lésion.**
 - **une ADN polymérase synthétise à nouveau le brin enlevé**
 - **une ADN ligase qui suture le squelette phosphodiester de l'ADN.**
- **Chez les bactéries, réparation par le complexe Uvr/ABC.**
- **Chez l'homme, ce sont les protéines de la famille XP, associées au facteur de transcription TFIIH qui assurent cette fonction : déficience dans cette voie de réparation de l'ADN provoque le *Xeroderma pigmentosum* (XP) une génodermatose grave, affection génétique sévère.**

NER est mécanisme de réparation survenant pendant la transcription : les hélicases XPB et XPD sont des s/unités du facteur de transcription TFIIH



NER : PATHOLOGIES LIEES

Xeroderma pigmentosum



pigmentation anormale de la peau exposée au soleil (UV)
opacification de la cornée et perte des cils
prédisposition aux cancers cutanés

Xeroderma Pigmentosum XP :
sensibilité à la lumière
défauts de pigmentation
cancers de la peau précoces + autres Kc
problèmes neurologiques
gènes : XPA à XPG



Cockayne syndrome

Syndrome de Cockayne : nanisme
sensibilité à la lumière
anomalie des membres et de la face
anomalies neurologiques
mort précoce par neurodégénérescence
gènes : CSA, XPB, XPD, XPG (sous-groupe)



Trichodystrophie : anomalie des cheveux
anomalies faciales
petite taille
ichtyose et sensibilité à la lumière (50% des cas)
gènes : TTD-A, XPB-TTD, XPB-TTD

Correction des mésappariements: Mismatch repair

Réparation post-réplivative

Le **Mismatch repair** est un mécanisme de surveillance de l'ADN lors de la **réplication** qui permet de réparer préférentiellement ces **erreurs** dans le **brin nouvellement synthétisé**

- Ce mécanisme concerne procaryotes et eucaryotes.
- Il est essentiel pour maintenir l'intégrité de l'information génétique contenue dans le **génom**e au cours des multiples divisions cellulaires.
- La reconnaissance du brin matrice par rapport au brin nouvellement synthétisé est basée sur la présence de **méthylations** spécifiques dans le premier.
- chez les bactéries : plusieurs protéines, connues sous le nom de Mut sont impliquées
- Chez l'homme, l'altération des gènes correspondants (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1) est responsable de l'apparition de cancers précoces avec une forte prévalence.

