

MATERIEL GENETIQUE

INTRODUCTION.

La génétique est définie comme étant l'étude des phénomènes héréditaires qui ont intéressé l'homme très longtemps avant la naissance de notre civilisation, bien avant la biologie ou la génétique.

Les peuples anciens amélioraient déjà les plantes cultivées, ainsi que les animaux domestiques en sélectionnant des individus qu'ils réservaient à la reproduction.

L'hérédité est la transmission des caractères héréditaires d'une génération de parents aux descendants.

En 1860 un moine « Gregor Mendel » réalisa des expériences qui mirent en évidence les gènes d'où génétique.

La transmission des caractères est assurée par l'existence d'un substrat ou support véhiculant les caractères aux générations descendantes.

Ce support est le chromosome constitué par les gènes qui sont des segments d'une macromolécule filiforme organisé en double hélice, l'acide désoxyribonucléique = ADN qui est transcrit en ARN messager qui est à son tour traduit (décodé) en une chaîne d'AA = protéine. Le génome comporte une ou plusieurs molécules d'ADN très longues organisées en *chromosome*. LES GENES sont donc l'UNITE FONCTIONNELLE de l'ADN chromosomique.

Pourquoi étudier la génétique ?

Pour deux raisons fondamentales :

Comprendre la génétique est capitale pour tous ceux qui désirent étudier à fond la vie des êtres vivants à savoir plantes, animaux, microorganismes.

La génétique, plus que toutes les autres disciplines scientifiques, occupe une position centrale dans divers secteurs des activités humaines, donc concerne le genre humain de différentes façons

Lorsque vous regardez un organisme, que voyez-vous ? Soit la protéine ou bien un produit fabriqué par la protéine.

Exp : la couleur des yeux, fleurs, qualité des cheveux ou bien l'odeur des fleurs qui change d'une plante à une autre, couleur des cheveux, taille, rugosité des feuilles, présence ou absence des poils...

I. /MISE EN EVIDENCE DU MATERIEL GENETIQUE.

I.1/ ADN : Substance de l'hérédité.

I.1.1/ Expérience de Griffith 1928.

In vivo le chercheur réussit à transformer de façon définitive une souche non virulente et non encapsidée de la bactérie *pneumococcus* (pneumonie) en une souche virulente encapsidée.

Cette bactérie cause la *pneumonie* (*Diplococcus pneumoniae*) qui existe sous deux formes :

forme lisse S (Smooth = virulente) avec capsule polysaccharidique

et forme rugueuse R (Rough =non virulente) sans capsule.

Les techniques immunologiques ont différenciées 3 types de bactéries S :

S I $\xrightarrow{\text{MUTATION}}$ R I

S II \longrightarrow R II Ces trois formes antigéniques (S I,II,III) donnent par

S III \longrightarrow R III mutation 3 types R I . R II . R III

NB: Antigénique = virulente

Expériences: (figure 1)

1/ S III vivantes $\xrightarrow{\text{Injection}}$ Souris Mortes (virulentes)

2/ R II vivantes $\xrightarrow{\text{injection}}$ Souris Vivantes (non virulentes)

3/ S III TUEES \longrightarrow Souris Vivantes (non virulentes car bactérie morte)

4/ D III Tuées + R II vivantes $\xrightarrow{\text{injection}}$ Souris Mortes pneumonie due au S III.





Bactéries S	Bactéries R	Bactéries S tuées par la chaleur	Bactéries R + bactéries S tuées
			
Mort	Survie	Survie	Mort
Bactéries S dans le sang de la souris	Pas de bactéries dans le sang	Pas de bactéries dans le sang	Bactéries S vivantes dans le sang

FIG.1 : EXPERIENCE DE GRIFFITH(1928)

Interprétation :

Les « premières expériences sont des expériences témoins. Les 4 èmes expériences c.à.d. la mort des souris a été obtenue après infection par des S III. Il ne s'agit de mutation car les R II mutant en S II et non en S III.

Les bactéries R ont été transformées en bactéries S vivantes sous l'influence d'une substance provenant des bactéries S III tuées, en bactéries vivantes (RII).

Conclusion :

Il existe une substance contenue dans les cellules S tuées capable de modifier les potentialités héréditaires des bactéries R vivantes. A l'époque cette substance été appelé « Principe transformant ».

I.1.2/Expérience d'Avery Oswald 1944 :

Il reprit les travaux de Griffith, 16 ans après, en collaboration avec MacLeod et McCarty cette fois ci *in vitro*.

Le but de cette expérience était de connaître la nature du principe transformant intervenant dans la transformation des bactéries R en bactéries S donc mort des souris.

Leurs hypothèses étaient : les substances capables d'intervenir dans la transformation des bactéries ne peuvent être que des molécules de types protéiques : polysaccharidiques ou acide nucléique.

Expériences :

R II vivantes	+	ADN SIII tuées	→	S III vivantes + R II vivantes
R II vivantes	+	ADN S III + DNAase	→	R II vivantes
R II vivantes	+	Pro S III	→	R II vivantes
R II vivantes	+	polysaccharides S III	→	R II vivantes.

Conclusion :

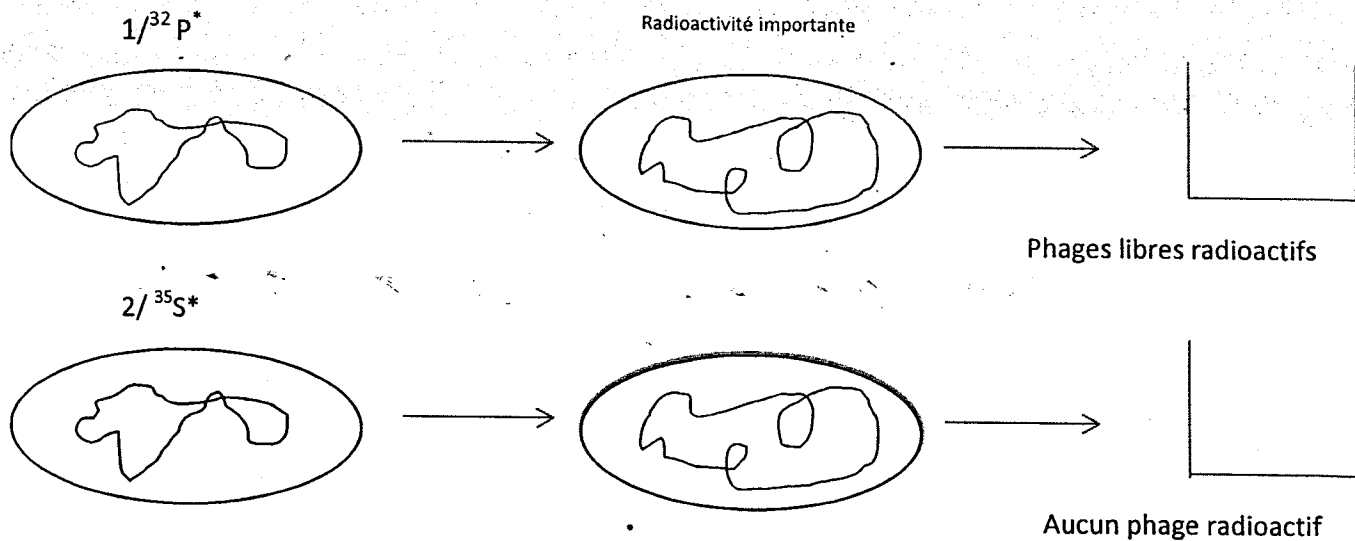
Ce ne sont ni les protéines ni les polysaccharides qui interviennent dans la transformation des bactéries S virulentes. C'est donc l'ADN qui a une activité génétique.

Il constitue *le matériel génétique*.

I.1.3/ Expérience de Hershey et Chase 1952 :

Ils ont travaillé, *in vitro*, sur des phages. Ces chercheurs veulent montrer quel est l'élément essentiel à la reproduction. Ils ont fait un marquage radioactif $^{32}\text{P}^*$ et $^{35}\text{S}^*$ de toutes les particules phagiques.

Expérience :



Hershey et Chase conclurent que seul l'ADN est responsable de la reproduction des phages. Cette conclusion est en accord avec celle de Avery et Oswald (1944). LE MATERIEL GENETIQUE EST L'ADN.

L'ADN viral seul est infectieux en l'absence des protéines virales, et qu'il peut conduire dans la cellule hôte à la descendance virale complète.

NB : ADN : absorbé à 260 nm au maximum en UV.

Protéine : absorbe à 280 nm.

1.2/ ARN : Matériel génétique.

Le rôle de l'ARN est important mais indirect dans la synthèse des protéines. Cependant chez certains organismes tel que les virus (pas tous), l'ARN joue un rôle direct puisqu'il constitue le seul matériel de ces organismes.

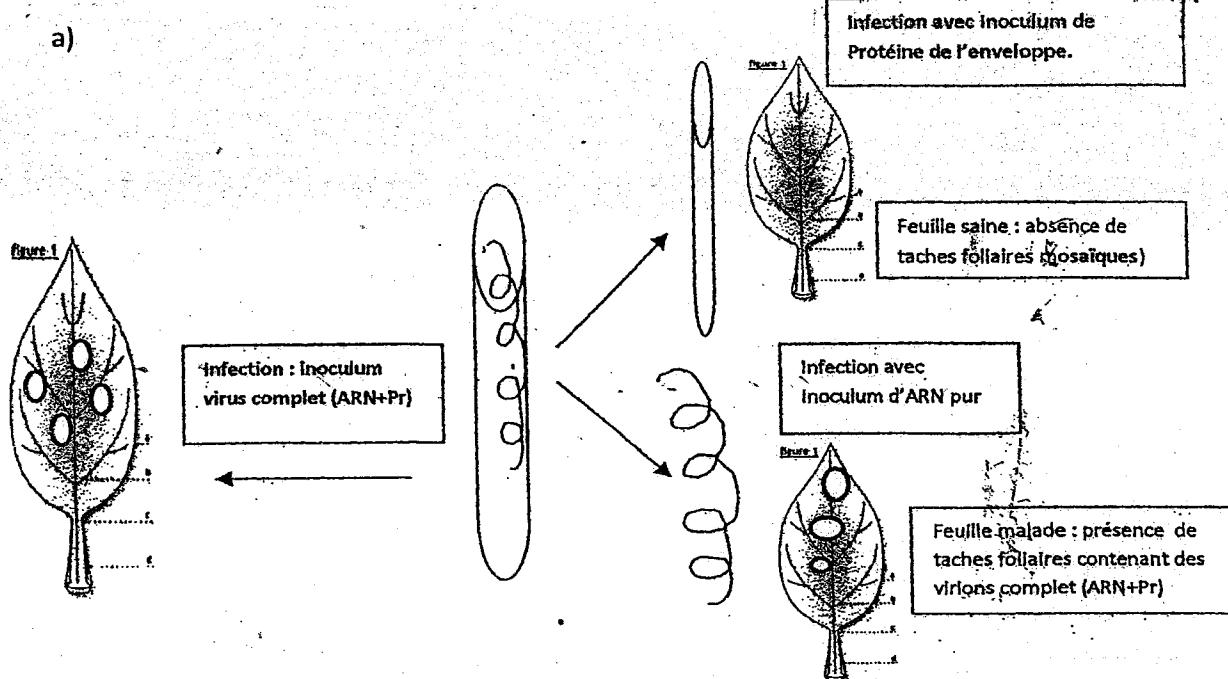
Les virus sont formés de protéines associées à l'ADN ou à l'ARN.

Chez les rétrovirus (Sida par exemple), virus à ARN, c'est l'ARN qui est la substance de l'hérédité comme le montre l'expérience suivante :

Expérience : Virus de la mosaïque du tabac

Virus qui produit la maladie de la plante du tabac causant des taches foliaires blanches, contenant la progéniture du virus inoculé. Ce virus possède une enveloppe protéique et un ARN. Ces deux constituants sont séparés par chocs osmotiques.

Matériel génétique

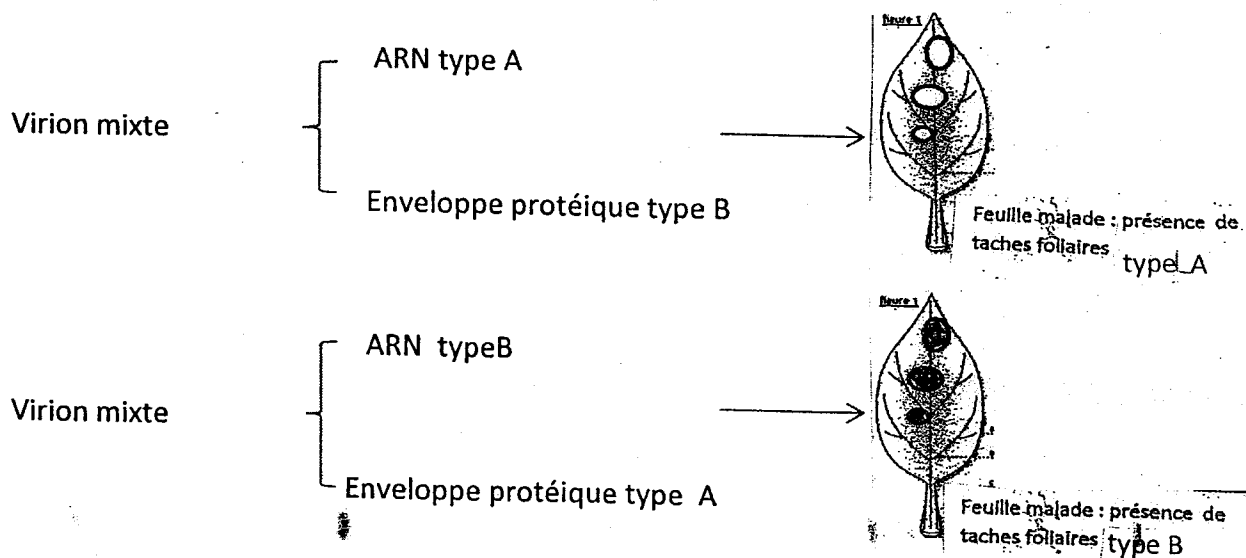


b) La preuve que l'ARN est la véritable substance héréditaire.

Chez le VTM est montré par l'expérience suivante :

+++ Souches du virus de la mosaïque du tabac.

ARN souche B + enveloppe protéique d'une deuxième souche → produit des virus mixtes fonctionnels.



- La composition en acides aminés des protéines de la descendance est identique à celle du parent qui produit l'ARN et non l'enveloppe.

En conclusion : la partie protéique du virus n'intervient pas dans les caractères de la descendance. Le facteur déterminant le caractère héréditaire est l'ARN. C'est donc l'ARN qui est le matériel génétique du VMT.

Adénovirus = virus à ADN.

Rétrovirus = virus à ARN.

II. Composition chimique et structure des acides nucléiques

II. 1/ Composition chimique.

Les monomères qui composent l'ADN et l'ARN sont des bases organiques azotées.

- L'ADN est composé de 4 bases azotées (Figure 2)
 - Adénine (A) et Guanine (G) = bases puriques ou purines
 - Thymine (T) et Cytosine (C) = bases pyrimidiques ou pyrimidines,

Et d'un sucre : le désoxyribose.

- L'ARN comprend également 4 bases azotées et un sucre
 - Thymine est remplacée par l'uracile (U).

Le sucre est le ribose. Il diffère du désoxyribose par la présence d'un groupement OH sur le 2^{ème} carbone.

- L'ADN peut être décomposé en sous unités appelés **nucléotides**.
- Nucléotide = 1 base + 1 sucre (C5) + 1 groupement -P.
- Les nucléotides sont disposés en chaîne.
- Le désoxyribose d'un nucléotide est relié au groupement d'un nucléotide adjacent (Figure 3).

II.2/ Structure :

Quel est le nombre de chaîne polynucléotide dans l'ADN ?

De nombreux travaux ont été réalisés pour répondre à cette question.

II.2.1 / Travaux de Chargaff (1950) : Données chimiques.

Dès 1950 Chargaff, par analyse des composants de l'ADN, montre qu'il existe une relation quantitative constante entre les différents nucléotides et plus précisément la quantité d'Adénine(A) est toujours égale celle de thymine(T).

Idem, on observe une relation quantitative entre les nucléotides à base de G et C.

Nombre de nucléotide A = Nombre de nucléotide T Nombre de nucléotide G = Nombre de nucléotide C
--

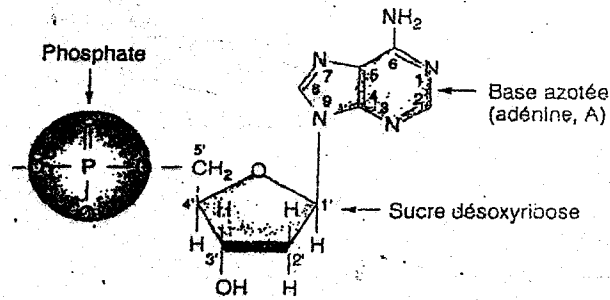
Cette relation constante est appelée : règle de Chargaff

Base purique (A, G) = Base pyrimidique (C, T)

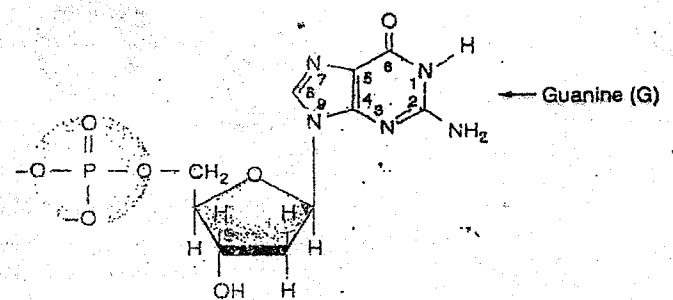
Il observe que la somme des nucléotides à bases puriques est égale à la somme des nucléotides pyrimidiques

$$A + G = T + C \quad \Longrightarrow \quad \frac{A + G}{T + C} = 1$$

Nucléotides puriques

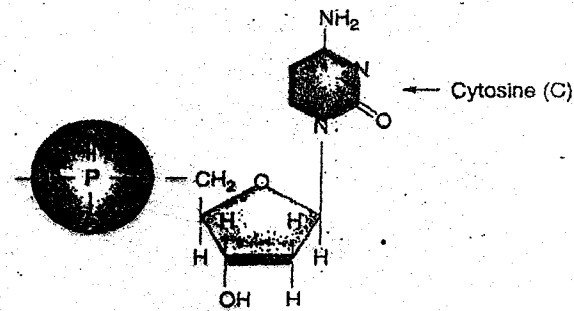


Désoxyadénosine 5'-phosphate (dAMP)

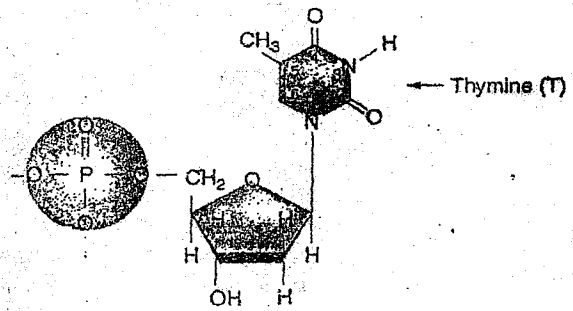


Désoxyguanosine 5'-phosphate (dGMP)

Nucléotides pyrimidiques

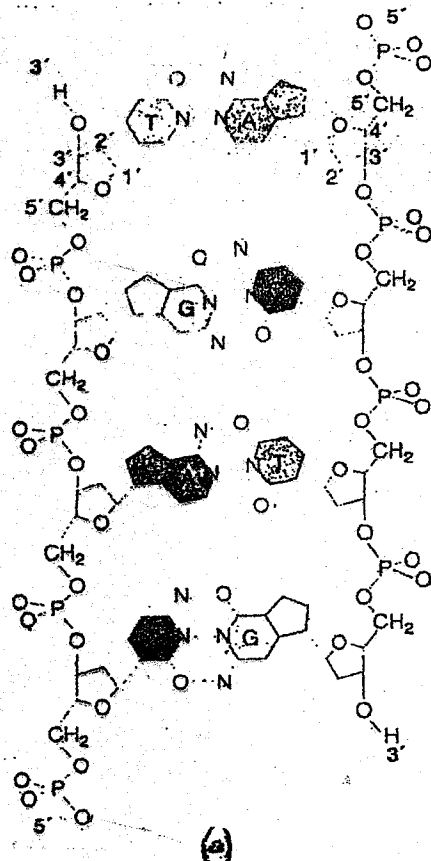


Désoxycytidine 5'-phosphate (dCMP)

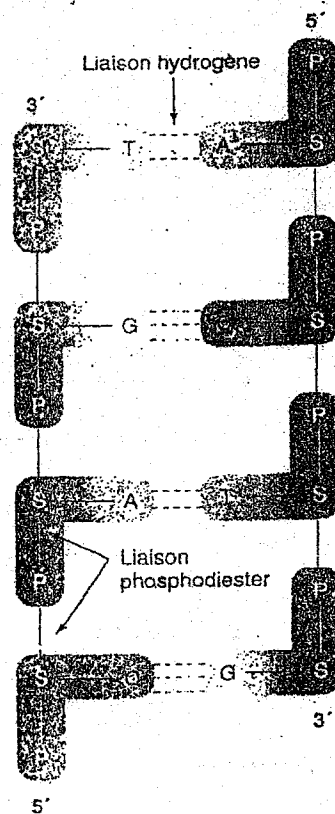


Désoxythymidine 5'-phosphate (dTMP)

Figure 2 Structure chimique des quatre nucléotides (deux avec des bases puriques et deux avec des bases pyrimidiques) qui sont les éléments de construction de l'ADN. Le sucre est appelé désoxyribose car il s'agit d'une variation d'un sucre courant, le ribose, qui possède un atome d'oxygène de plus.



(a)



(b)

Figure 3 L'organisation des composants de l'ADN. Un segment de la double hélice a été déroulé pour présenter plus clairement les structures. (a) Un schéma précis des constituants chimiques montrant le squelette sucre-phosphate en bleu et les liaisons hydrogène entre les bases au centre de la molécule. (b) Une version simplifiée du même segment, soulignant l'arrangement antiparallèle des nucléotides, qui sont représentés sous la forme de structures en L avec des «orteils» de phosphate en 5' et des «talons» de sucre en 3'.

REMARQUE : La composition en base des DNA varie fortement d'une espèce à l'autre.

Exemple : Chez l'homme, la paire A-T représente 62% du total des bases azotées

Chez la levure *saccharomyces* A-T représente 64%

Les proportions dépendent de l'origine de l'ADN analysé.

II.2.2/Travaux de Wilkins 1953.

Vers la même époque que Chargaff, Wilkins montre par analyse du spectre de diffraction aux rayons X de fibres d'1 ADN, présente toujours une même conformation spatiale, quelle que soit son origine cette structure est tridimensionnelle hélicoïdale et comporte au moins 2 hélices. Les travaux n'ont été publiés qu'en 1953 (Figure 4).

II.2.3/Travaux de Watson et Crick (1953).

Ils prennent connaissance des travaux de Chargaff et de Wilkson et proposent une structure de l'ADN qui leur a valu le prix Nobel en 1954. Ils postulent :

1. Le nombre de chaîne est de 2 .
2. Les deux chaînes sont enroulées en hélice, l'une autour de l'autre.
3. Les deux chaînes sont inversées l'une par rapport à l'autre.
4. La séquence de 2 bases se fait dans des directions opposées : les phosphates à l'extérieur et les bases à l'intérieur.
5. La structure est maintenue par des liaisons hydrogènes qui s'établissent transversalement entre 1 base purique et une base pyrimidique avec 2 liaisons entre A = T et 3 entre C \equiv G (Figure 5).

III/ Propriétés de l'ADN.

III.1/Concentration cellulaire

- ADN est le matériel génétique : support de l'hérédité.
- La concentration d'ADN par cellule est constante étant donné qu'il est composant des chromosomes. Dont le nombre est constant.
- La concentration d'ADN par cellule gamétique est de moitié par rapport au cellule somatique (diploïde) .

III.2 / Stabilité métabolique .

Par usage de la radioactivité, il a été démontré que l'ADN reste stable pendant le cycle cellulaire (alors que les protéines, lipides, sucres, dégradation / synthèse).

On dit qu'il y a conservation du matériel génétique d'une génération à une autre.

III.3 / Action de la chaleur.

Un chauffage progressif entraîne la séparation des 2 brins d'ADN : dénaturation de l'ADN. Un refroidissement progressif permet la reconstitution de l'ADN en double brin.

III.4 / Sensibilité aux radiations UV et mutation.

- Les UV provoquent des mutations au niveau de l'ADN.

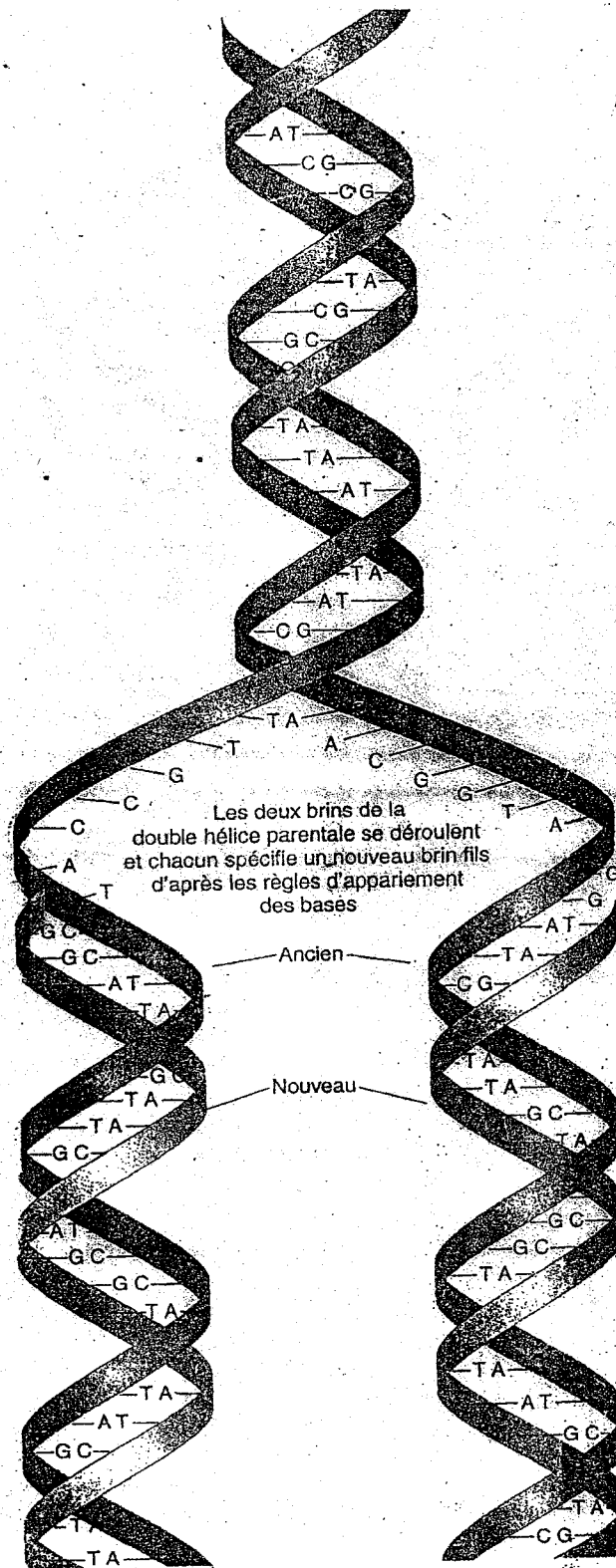


Figure 4 Le modèle de réplication de l'ADN proposé par Watson et Crick est basé sur la spécificité de formation de liaisons hydrogène entre les paires de bases. Les brins complémentaires sont représentés dans des couleurs différentes.

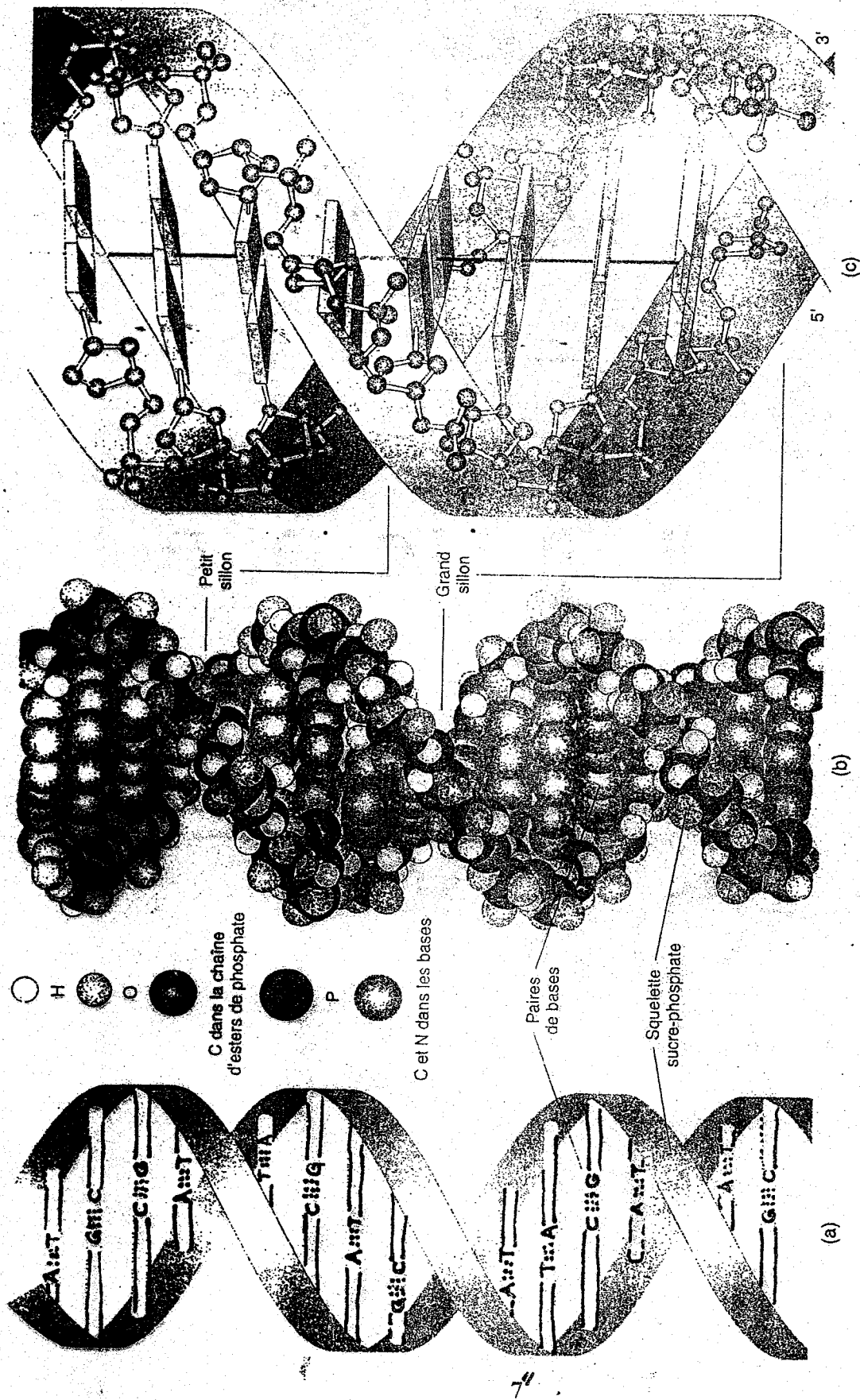


Figure 5 : Trois représentations de la double hélice d'ADN.

- Il y a superposition de la courbe d'action des UV à la courbe d'absorption des acides nucléiques avec un max. d'absorption à 260 nm.
- Le matériel génétique n'est donc pas constitué de protéines puisque celle-ci présentent un spectre d'absorption à 2800 Å qui est différent de la courbe d'action mutagène des UV.
- L'ADN se présente généralement sous forme de 2 chaînes poly nucléotidiques ADN bi caténaire.
- L'ADN existe aussi sous forme monocaténaire (1 seul brin) chez certain virus.

IV. Réplication de l'ADN.

Le terme de réplication englobe aussi bien la duplication que la synthèse de l'ADN. Watson et Crick proposent la structure de l'ADN, ainsi que l'hypothèse concernant le mode de réplication de l'ADN.

Hypothèse : le mode de duplication est semi conservatif

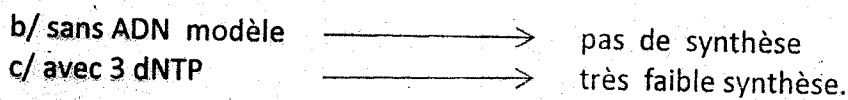
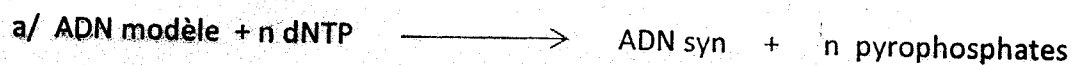
Lors de la réplication chaque chaîne poly nucléotidiques ou brin a un rôle matriciel. La despiralisation et la séparation des chaînes débute à une extrémité et se poursuit à la manière de l'ouverture d'une fermeture à glissière (éclair). Chaque chaîne sert de modèle (matrice) pour la formation d'une nouvelle chaîne complémentaire.

Cette hypothèse du modèle de duplication a été vérifiée par de nombreux travaux de recherche.

IV.1/ Synthèse « in vitro » de l'ADN par Kornberg et ses collaborateurs (1956) :

Cette synthèse nécessite la présence :

- D'un ADN modèle : ADN mono ou bi caténaire provenant d'un individu (E.coli, Bacillus subtilis...)
- De nucléotides : ce sont des désoxyribonucléotides 5' triphosphates dATP, dCTP, dGTP, dTTP.
- La réaction est catalysée par une enzyme : la polymérase I de Kornberg. Enzyme extraite d'E.coli en présence d'ions Mg^{2+} .



Interprétation :

- ✓ Ils parviennent à réaliser des synthèses d'ADN en quantité égale à 20 fois la quantité d'ADN initialement présent dans le milieu.
- ✓ Des pyrophosphates inorganiques sont retrouvés en fin de réactions en nombre proportionnel à celui des nucléotides incorporés.
- ✓ La synthèse de l'ADN nécessite la présence d'un ADN modèle et des nucléotides. Quand l'un des 4 nucléotides marqué, la polymérisation est très réduite, (1/200 par rapport à la polymérisation avec 4 nucléotides).
- ✓ L'auteur montre que la composition en bases azotées des ADN synthétisés est pratiquement identique à celle des ADN ayant servi de modèle est cet effet, il réalise l'expérience suivante :

ADN modèle : un ADN artificiel obtenu après un temps assez long à partir de 2 dNTP : dTTP et dATP.

Cet ADN artificiel utilisé comme modèle est bicaténaire et composé d'une succession d'Adénine et de Thymine.

Cet ADN est mis en évidence soit :

- dATP et dTTP.
- dATP, dCTP, dGTP, dTTP.

Dans les 2 cas, l'ADN néoformé est formé presque exclusivement d'A et de T.

Conclusion :

Les expériences de Kornberg sont en accord avec l'hypothèse de la réplication de l'ADN suivant le modèle des matrices complémentaires.

Extrait de quelques résultats de Kornberg :

ADN	A	T	G	C	A+T / G+C
Mycobacterium					
ADN Modèle	0.65	0.66	1.35	1.34	0.49
ADN Synthétisé	0.66	0.65	1.34	1.37	0.48
E. Coli					
ADN Modèle	1.00	0.97	0.98	1.05	0.97
ADN Synthétisé	1.04	1.00	0.97	0.98	1.02
Phage T2					
ADN Modèle	1.31	1.32	0.67	0.70	1.92
ADN Synthétisé	1.33	1.29	0.69	0.70	1.98
ADN artificiel					
ADN Modèle	2.00	2.00	0.00	0.00	
ADN Synthétisé	1.99	1.98	< 0.005	< 0.005	40

IV.2 / Modèle de réplication de l'ADN :

Question : quel est le mode de réplication de l'ADN permettant de conserver les chaînes originales comme modèle à la synthèse de nouvelles chaînes d'ADN?

Plusieurs modes théoriques ont été proposés :

1. Conservatif.
2. Semi conservatif.
3. Dispersif.
4. Non conservatif.
5. Additif.

Une démonstration décisive du mode de réplication de l'ADN a été donnée par Meselson et Stahl (1959).

IV.2.1 / Travaux de Meselson et Stahl (1958).

ADN (de E.coli) peut être marqué par divers isotopes et notamment par l'azote lourd N^{15} qui est à une masse atomique plus élevée que celle de l' N^{14} . Par ultracentrifugation, les molécules d'ADN marquées au N^{15} peuvent être séparées en fonction de leur gradient de densité. La mise en évidence de ces groupes de molécules se fait des procédés photographiques (Figure 6).

1. Meselson et Stahl font pousser pendant plusieurs générations des E.coli sur un milieu ne contenant que du N^{15} donc l'ADN de ces bactéries sont marqués au N^{15} .
2. Ces bactéries marquées sont transférées sur un milieu contenant N^{14} . Ils procèdent à des prélèvements d'échantillons à des intervalles de temps réguliers.
3. Chaque intervalle correspond à une génération (division).

Au temps $T_0 \rightarrow G_0$: Tout l'ADN est marqué N^{15} .

T_1 G_1 : \rightarrow Apparition d'un ADN de densité intermédiaire entre N^{15} et N^{14} .

T_2 G_2 : \rightarrow 2 ADN : 50 % ADN N^{14} et 50% ADN intermédiaire

T_3 G_3 : \rightarrow 2 ADN : 75 %V ADN N^{14} et 25 % ADN intermédiaire.

L'expérience a été réalisée avec du N^{15} . Le fait de trouver de l'ADN normal N^{14} démontre que la réplication de l'ADN est de type semi-conservative.

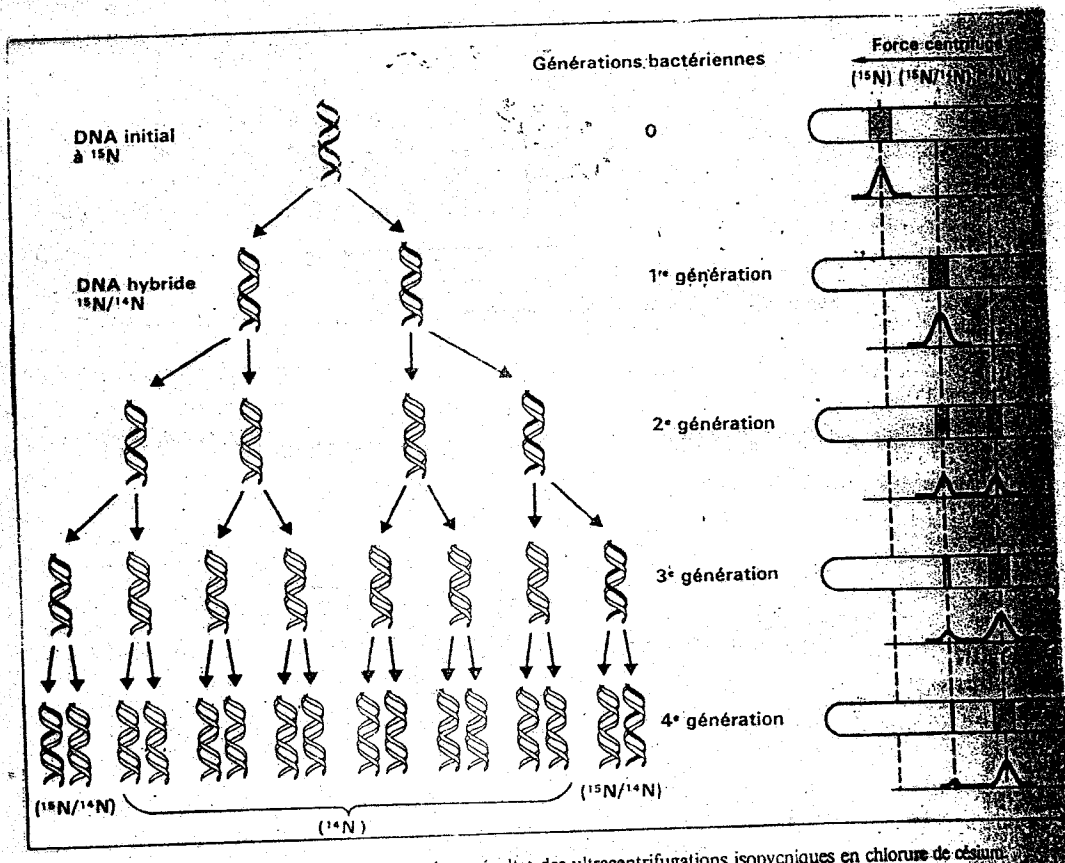


Figure 6

Expérience de Meselson et Stahl (1958) : théorie et résultat des ultracentrifugations isopycniques en chlorure de césium.

IV.2.2/ Réplication semi-conservative des chromosomes.

➤ Travaux de Taylor (1957).

Les expériences ont été réalisées sur des chromosomes de fèves. Taylor voulait démontrer que la réplication est semi-conservative.

Les mitoses s'observent dans la pointe des racines après fixation et coloration des chromosomes au stade de la métaphase.

Pour cela il utilise un produit chimique, la colchicine, qui inhibe la formation du fuseau achromatique.

Ainsi les chromosomes sont observés facilement.

Avant le traitement à la colchicine, Taylor traite les racines à la thymidine tritiée (^3H).

Plante : vicia faba ($2n = 12$).

Racines marquées :

- Stade 12 chromosomes (10 heures dans la colchicine) :
Observation des chromosomes au niveau des cellules.

- Stade 24 chromosomes :
Observation des chromosomes.

- Stade 48 chromosomes :
Certaines cellules ont leurs chromosomes marqués sur une seule chromatine et d'autre ont leur chromatine entière non marquée.
+ 34 heures de traitement à la colchicine : l'observation des cellules en métaphase révèle l'existence de chromosome marqué sur une chromatide pour certaines cellules et non pour d'autre.

Interprétation :

Les expériences peuvent être interprétées de la façon suivante :

A partir de cette expérience, il montre que les chromosomes se dédoublent de façon semi conservative : les chromatides originales servent de modèles aux nouvelles chromatides.

➤ Travaux de Cairns (1963)

- Il fait croître des cultures d'E.coli en présence de Thymidine tritiée (nucléotides à base de thymine ^3H).
- Il fait varier 2 paramètres : le temps de contact au T^* , et la concentration de la T^* .
- 3' dans le milieu radioactif..... observation de 2 molécules d'ADN de 60 à 80 μm de longueur.
- 6' d'exposition Observation de 2 molécules d'ADN de longueur double par rapport à celle observées avec 3' (120 - 160 μm).
- 60' une seule molécule non brisée de 1000 μm de longueur plus des structures en formant la fourche de réplication.

A partir de ces expériences, Cairns tire plusieurs conclusions :

- La réplication du chromosome d'E.coli se fait selon le mode semi conservatif.
- La molécule est bicaténaire. Elle se réplique à partir d'un point fixe : origine de réplication.
- Le chromosome d'E.coli est formé d'une molécule unique de longueur 11mm (Figure 7).

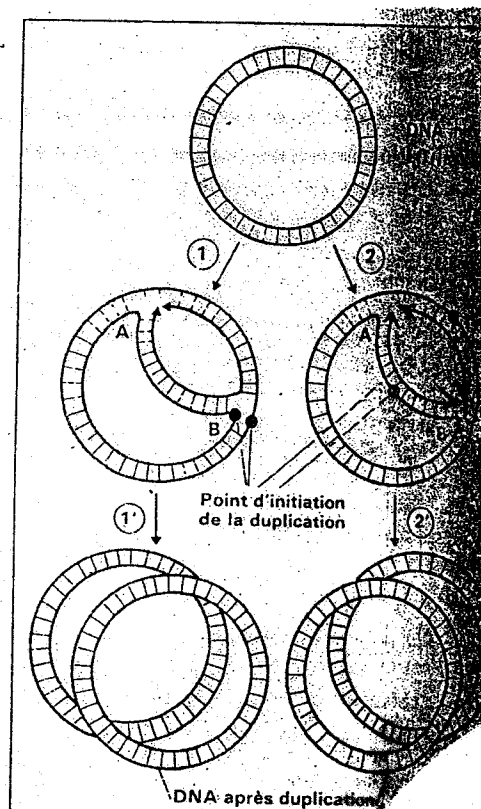
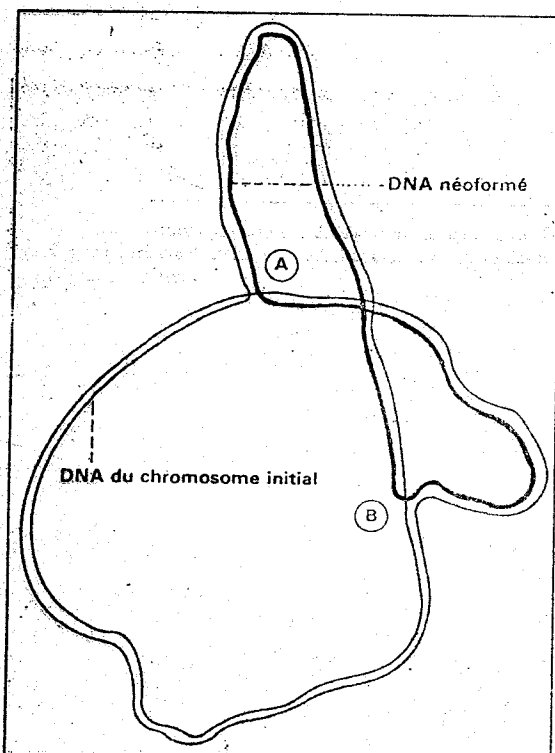


Figure 7 : Travaux d'autoradiographie de J. Cairns : marquage radioactif du chromosome circulaire d'Escherichia coli A et B sont les zones des fourches de biosynthèse.

Les deux hypothèses de duplication :
 1, 1'. Mécanisme unidirectionnel ;
 2, 2'. Mécanisme bidirectionnel.

IV. 3/ Mécanismes de la réplication chez les eucaryotes et les procaryotes :

a/ Mécanisme général de la réplication de l'ADN et le rôle des enzymes.

Tant chez les procaryotes que chez les eucaryotes, la réplication de l'ADN est un préalable à la division cellulaire. Cette phase de réplication est la **phase S** (synthèse). L'ADN se réplique de façon **semi-conservatrice** grâce à l'utilisation comme matrice des simples brins séparés de la double hélice.

Les nucléotides sont polymérisés au niveau des extrémités 3' des nouvelles chaînes.

L'addition se déroule de façon : continu pour le brin précoce et discontinu pour le brin retardé (tardif). La réaction est catalysée par l'ADN polymérase intervenant au niveau de la fourche de réplication. Cette fourche apparaît au point de départ de la synthèse puis se déplace le long des doubles brins d'ADN au cours de la réplication (Figure 8).

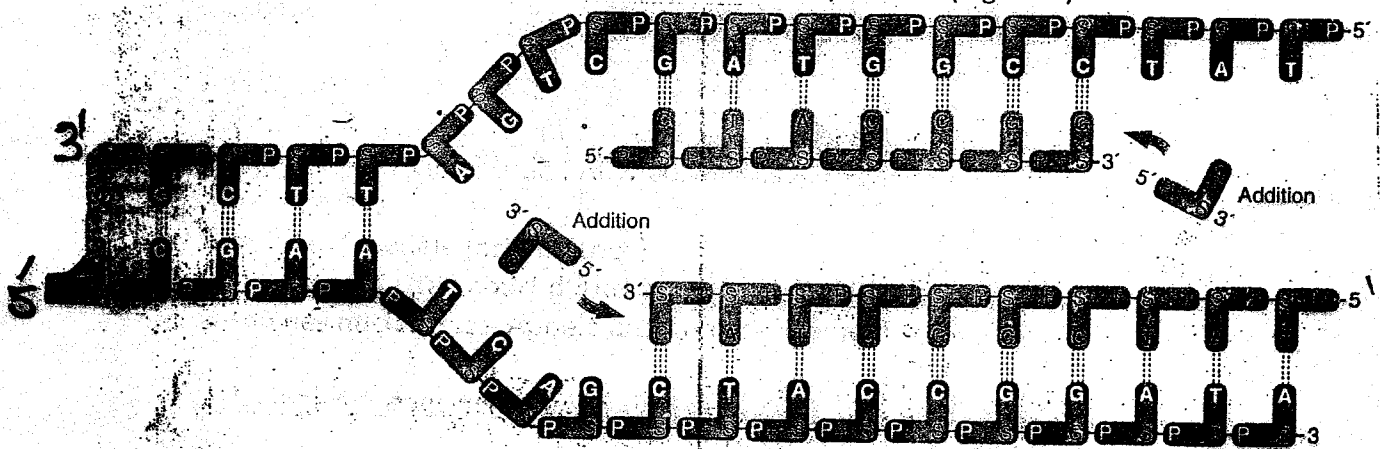


Figure 8 : Fourche de réplication de l'ADN montrant de façon simplifiée la manière dont les nucléotides sont ajoutés aux extrémités 3' en cours d'élongation, sur chaque matrice mais en sens opposés.

Les enzymes impliquées sont de deux types :

- ADN polymérases (synthèse du brin nouveau) enzyme (séparer les 2 brins)
- Les Topo-isomérases (séparation des 2 brins).

Lors réplication les enzymes utilisent :

- 4 dNTP (substrat de l'ADN polymérase).
- Ions Mg^{2+}
- ADN modèle (brin matrice)
- Amorçe : brin court d'ARN qui permet à l'ADN polymérase d'amorcer la polymérisation des nucléotides. Appelé aussi brin ou filament inducteur.

b/ Les principales étapes de la réplication de l'ADN :

❖ Chez les procaryotes.

Le processus de polymérisation est catalysé par :

1°) ARN polymérase : Primase (Primer = Premier)

Elle synthétise un brin court d'ARN complémentaire à certaines zones de l'ADN matrice, permettant l'amorçage de l'activité de l'ADN polymérase impliquée dans la réplication de l'ADN.

2°) L'ADN poly III :

Son rôle est exclusivement polymérasique, elle est essentielle à la réplication et allonge l'extrémité 3' de l'amorce, dans le sens 5'→3'.

Elle assure cette élévation jusqu'à la rencontre de l'amorce suivante.

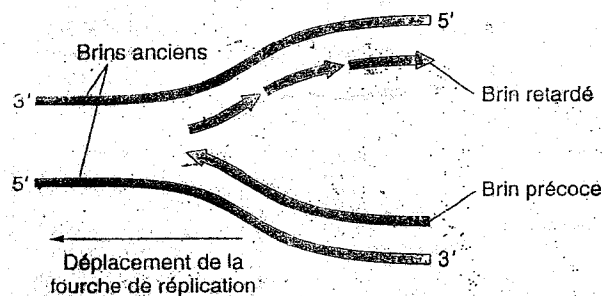
En 1968 Okazaki et ses collaborateurs observent cette alternance de segments d'ADN et d'ARN dans la molécule d'ADN en cours de synthèse. Ces fragments mixtes sont appelés fragments d'Okazaki (fragments transitoires).

3°) L'ADN poly I :

Possède deux activités :

- * hydrolasique (exonucléasique) dans le sens 3'→5' : agit à partir de l'extrémité 5' : détache un ribonucléotide (ARN) et le remplace par un désoxyribonucléotide.
- * polymérasique : agit à partir de l'extrémité 3' : synthétise des désoxyribonucléotides dans le sens 5'→3'.

Cette molécule en se déplaçant sur le filament modèle dans le sens 3'→5', hydrolyse les ponts phosphodiester en utilisant l'extrémité 5' du fragment synthétisé par l'ADN poly III pour détacher 1 ribonucléotide (amorce d'ARN) et le remplace par 1 désoxyribonucléotide (fonction exonucléasique), simultanément cette même molécule utilise l'extrémité 3' du filament d'ADN synthétisé par la poly III pour fixer des désoxyribonucléotides (fonction polymérasique) donc le remplissage par l'ADN des vides laissés par ce retrait (Figure 9).



Synthèse du brin retardé

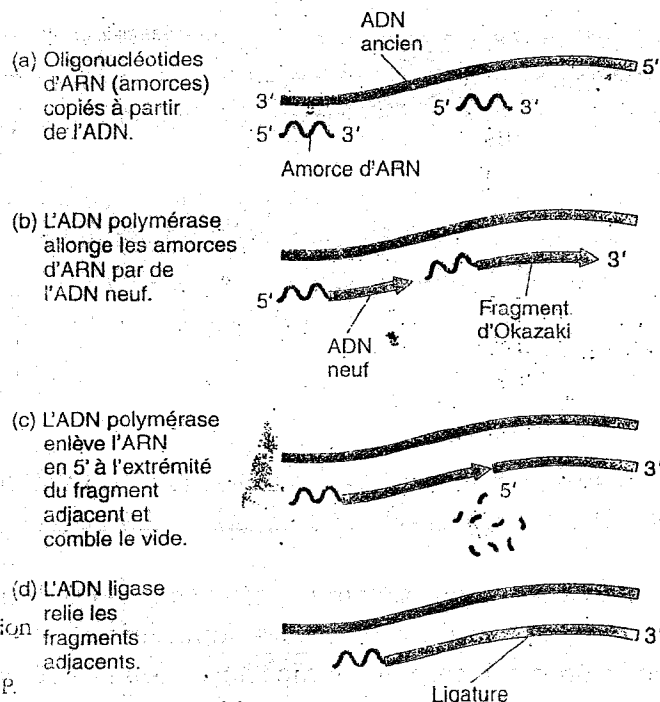


Figure 9

Structure complète d'une fourche de réplication
Les étapes de la synthèse du brin retardé.

Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P.
et J. Darnell, *Biologie moléculaire de la cellule*.
française de la 3^e édition chez De Boeck, 1997.)

4°) L'ADN ligase :

Elle lie les fragments d'ADN entre eux, liaison entre l'extrémité 3' d'un nucléotide et l'extrémité 5' du nucléotide voisin.

Elle répare les interruptions du brin d'ADN.

5°) Les Topo - isomérases :

Elles assurent le déroulement de l'hélice d'ADN et la séparation des 2 brins.

- Gyrase : intervient dans le déroulement des super - hélices d'ADN (formant le chromosome).
- Hélicase : déroule la double hélice d'ADN et assure le déplacement de la fourche de réplication (Figure 10).

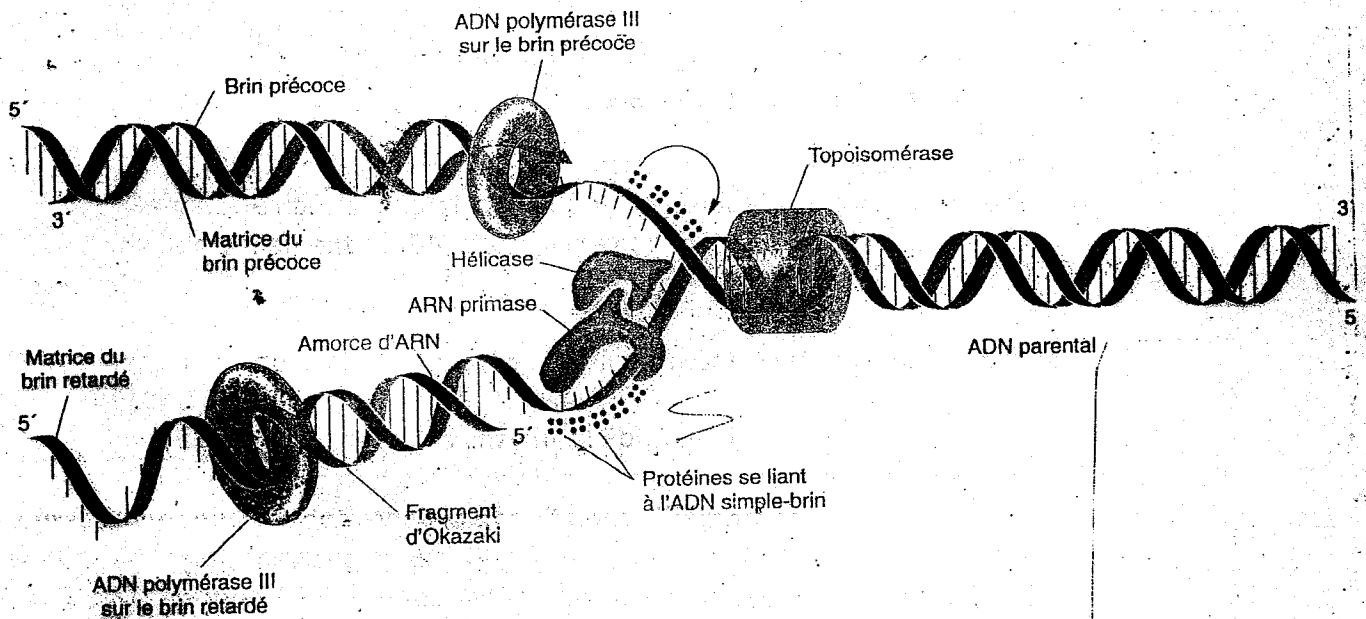


Figure 10 Fourche de réplication de l'ADN. (D'après Purves, Orians, Heller. *Life : The science of*

Les 2 enzymes ont un rôle réversible : reformant la double hélice et les super hélices.

L'hélicase est suivie dans son déplacement par certaines protéines dites de fusion (S S B) qui se fixent sur le filament d'ADN et empêchent l'appariement des bases en agissant sur les liaisons H.

NB : Le mécanisme de la réplication chez E.coli est montré grâce à l'utilisation des différentes souches d'E.coli.

Mutation : inactivité d'un des trois enzymes : Poly I ,II ,III

Test in vivo : Fixation des enzymes aussi bien sur le brin amorce que sur le brin modèle.

La fixation des nucléotides se fait à des vitesses différentes :

Poly I : 10 nucléotides / seconde.

Poly II : 1 nucléotide / 2 secondes.

Poly III : 150 nucléotides / seconde.

6°) ADN poly II :

Rôle encore mal connu. Elle a un rôle probablement réparateur des erreurs, donc exonucléasique.

❖ Chez les eucaryotes.

Les mêmes enzymes sont impliquées ; Topo isomérases, hélicases et protéines de fusions SSB.

Origine de la réplication. Il y a plusieurs origines de réplication donc plusieurs réplicants.

Chez les procaryotes il y a une seule origine.

La synthèse des brins est bidirectionnelle avec la synthèse d'un brin précoce (directeur) et l'autre tardif (Figure 11).

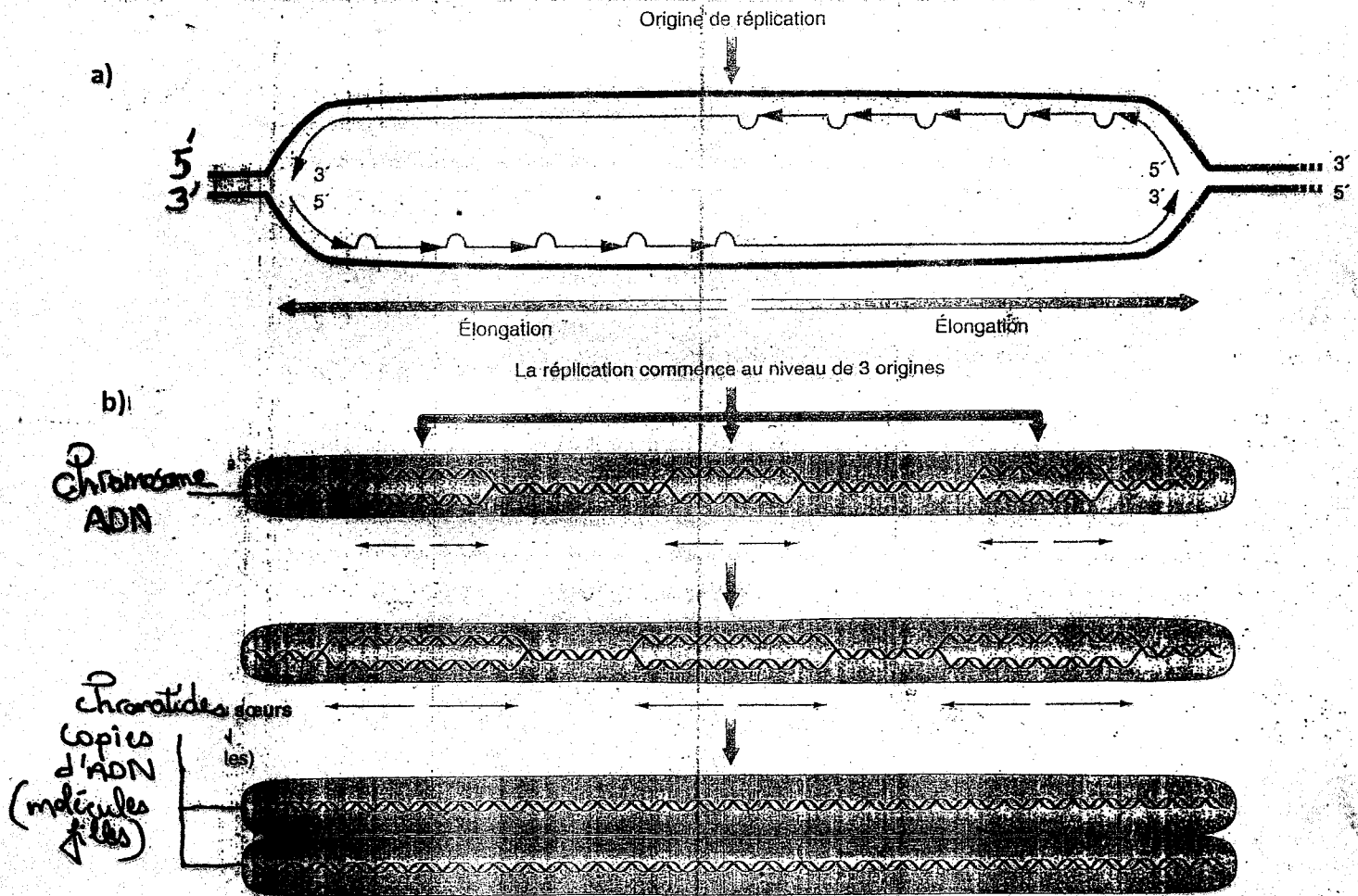


Figure 11

- a) La nature bidirectionnelle de la réplication de l'ADN. Commenant au niveau de l'origine de réplication, les ADN polymérases s'en éloignent dans les deux sens. Les flèches longues montrent les brins précoces et les flèches courtes qui se touchent indiquent les brins retardés.
- b) Déroulement de la réplication au niveau du chromosome. (Trois origines sont présentées en exemple).

L'ADN polymérase.

Il existe de nombreuses DNA poly. Dont l'activité se rapproche beaucoup de celle des homologues β .
Les 3 plus importantes sont : ADN poly α , β , γ qui n'ont pas d'activité exonucléasique associée.

> L'ADN poly α , β :

Ont une localisation nucléaire, leur rôle est identique, essentiel dans la réplication = duplication.
 α assure l'ensemble de la réplication : c'est la réparation.
 β moins active assure la réparation des erreurs.

> L'ADN γ :

Localisée dans les mitochondries ou elle est responsable de la duplication du DNA mitochondriale. Les noyaux en contiennent cependant une petite quantité.
On connaît depuis une 4^{ème} poly ADN chez les eucaryote ; agit simultanément que α .

> DNA δ :

Ressemble à la DNA poly α , qui possède une action exonucléasique associée.