REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE D'ALGER 1
FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

2ème ANNEE MEDECINE

CYCLE Préclinique

MODULE DE GENETIQUE

LA REPLICATION

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2020/2021

Auteurs : Dr BOUAZDI Z
Pr RAAF N B

PLAN :

OBJECTIFS PEDAGOGIQUES

INTRODUCTION/DEFINITION

- I) Le réplicon
- II) Réplication bidirectionnelle
- III) Polymérisation unidirectionnelle et réplication semi-conservative
- IV) Réplication semi-discontinue
- V) Les ADN polymérases
    - 1) Généralités
    - 2) Activités des ADN polymérases
    - 3) ADN polymérases procaryote dans la réplication
    - 4) Le polymorphisme de l'ADN
- VI) Mécanismes de la réplication procaryote chez E-Coli
    - 1) Les différentes protéines mise en jeu
    - 2) Origines et terminaisons chez E-Coli
    - 3) Les étapes de la réplication procaryote
    - 4) Régulation de la réplication chez E-Coli
- VII) La réplication eucaryote
    - 1) Les ADN polymérases eucaryotes
    - 2) Les télomères
    - 3) ADN Mitochondrial

Conclusion

OBJECTIFS PEDAGOGIQUES

A l'issue de sa formation, l'étudiant de 2ème année de Médecine doit être capable de :

- Définir la replication.
- Préciser les relations de la réplication avec le cycle cellulaire.
- Préciser les mécanismes de copie du matériel génétique.
- Préciser les caractéristiques générales de la réplication.
- Citer les outils moléculaires de la réplication.
- Décrire le mécanisme de la réplication chez les procaryotes avec ses différentes étapes (initiation, élongation, terminaison).
- Décrire le mécanisme de la réplication chez les eucaryotes.
- Comparer la réplication chez les eucaryotes et chez les procaryotes à l'aide d'un tableau.
- Décrire les points essentiels de la réplication de l'ADN mitochondrial.

Introduction/définition

La phase de réplication est rapide et fiable, et correspond à la reproduction de l'ADN à l'identique. Durant cette phase il peut y avoir des brassages mais aucune information n'est perdue. La réplication s'effectue entre la phase G1 et G2 du cycle cellulaire, c'est la phase « S ».

La réplication de l'ADN doit respecter deux principes :

- l'ensemble du génome doit être répliqué à chaque division cellulaire
- chaque molécule d'ADN n'est répliquée qu'une seule fois par cycle cellulaire.

Exception :

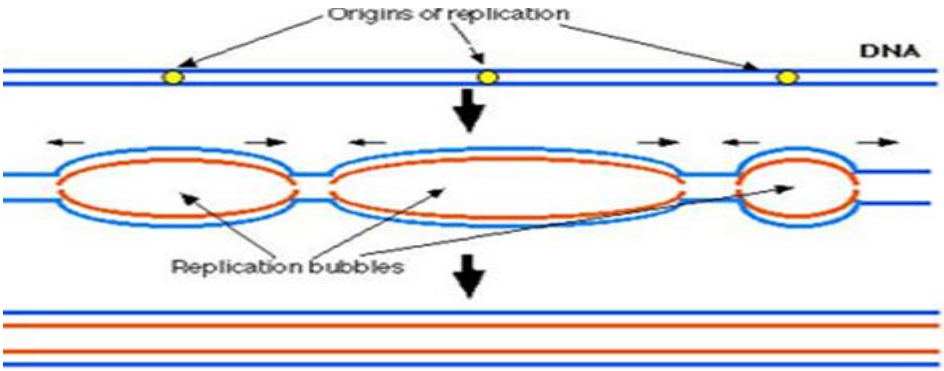
Les **chromosomes polythènes** sont soumis à des divisions sans mitose (= endomitose) qui entraîne une accumulation de copie d'ADN dans la cellule.

I) <u>Le réplicon</u>

Le réplicon est l'unité de réplication de l'ADN eucaryote, il contient une origine et une terminaison (Remarque : L'ADN procaryote est circulaire et présente une seule origine de réplication). En effet l'ADN peut être répliqué à plusieurs endroits en même temps, sans cela la réplication de l'ADN eucaryote durerait 800 heures et l'homéostasie de l'organisme ne serait pas respectée. L'ADN eucaryote présente plusieurs origines

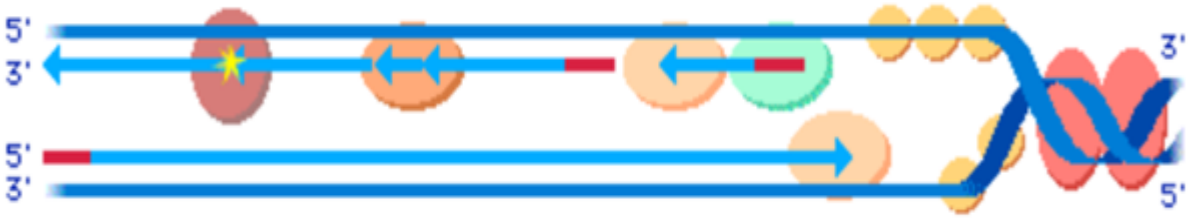
Les réplicons sont des segments de taille variant de 30 000 à 150 000 bases .

L'origine de réplication n'est pas localisée au hasard sur la molécule d'ADN, elle se présente sous forme de petite séquence répétée reconnue par des protéines. Elle mesure environ 200 paires de bases (pdb) pour les procaryotes et 2000 pdb pour les eucaryotes.



II) <u>Réplication bidirectionnelle</u>

A chaque origine de réplication, il y a formation d'un œil de réplication qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des fourches de réplication. Il y a ainsi deux systèmes de réplication qui évoluent en sens opposés. On dit que la réplication est **bidirectionnelle**.



III) <u>Polymérisation unidirectionnelle & réplication semiconservative</u>

Les deux brins d'ADN sont associés de manière antiparallèle, chacun d'eux possédant une extrémité 5'-phosphate et une extrémité 3'-OH libre.

La polymérisation est **unidirectionnelle**,

La réplication est semiconservatrice se fait par copie de l'ADN matriciel. Chaque molécule d'ADN initialement présente se séparera en deux brins d'ADN qui serviront de matrice aux brins néo-synthétisés.

IV) Réplication semi-discontinue

La synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3', ceci nécessite donc la présence d'un **brin précoce** (ou primaire) qui est le brin lu dans le sens de la fourche et d'un **brin tardif**(ou secondaire) qui est le brin lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit **brin discontinu**. On parle ainsi de **réplication semi-discontinue**.

V) Les ADN polymérases

1) Généralités

Les ADN polymérases (ou désoxynucléotidyl-transférase) sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN.

Les ADN polymérases procaryotes sont de 3 types (I, II et III) et les ADN polymérases eucaryotes de 5 types (α, β, δ, ε et γ)

Les ADN polymérases nécessitent un certain nombre de conditions d'activités :

- Les 4 désoxy-ribo-nucléotides 5' tri-phosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP) en quantité équimolaire.
- Des ions magnésiums (Mg2+) qui stabilisent l'ADN et les protéines.
- Une matrice d'ADN (mono ou bicaténaire).
- Une amorce d'ADN ou d'ARN ayant une extrémité 3'OH libre.

2) Activités des ADN polymérases :catalyse

Les ADN polymérases ont des activités bien spécifiques :

- Une **activité polymérasique 5' vers 3'** qui est leur activité principale.
- Une **activité exo-nucléasique** qui correspond à la dégradation d'une des extrémités du brin néo-synthétisé de l'ADN lors de la réplication et qui peut être de 2 types :
    - De 3' vers 5', L'activité exo-nucléasique 3' vers 5' de l'extremité 3'OH permet le **proofreading**, qui correspond à la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié.
    - De 5' vers 3', de l'extrémité 5'phosphate, lors de la jonction des segments d'ADN synthétisé sur le brin retardé.

3) ADN polymérases procaryotes dans la réplication sont de 3 types

- Les **ADN polymérases I** (ou **enzyme de Kornberg**) Elles présentent l'activité polymérasique 5' vers 3' ainsi que les activités exo-nucléasique 5' vers 3' et 3' vers 5'. La vitesse de synthèse des ADN polymérase I est faible (20 nt/s.

- Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN ainsi que pour combler les brèches laissées par l'ADN polymérase III.
- Les **ADN polymérases III** (ou **enzyme cœur**) sont des multimères hétérogènes de gros poids moléculaire qui sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN, ayant une vitesse de synthèse rapide (environ 1000 nt incorporés/s) ainsi qu'une grande processivité (105 nt/évènement). Elles présentent les activités polymérasique 5' vers 3' et exo-nucléasique de 3' vers 5' mais pas exo-nucléasique de 5' vers 3'.

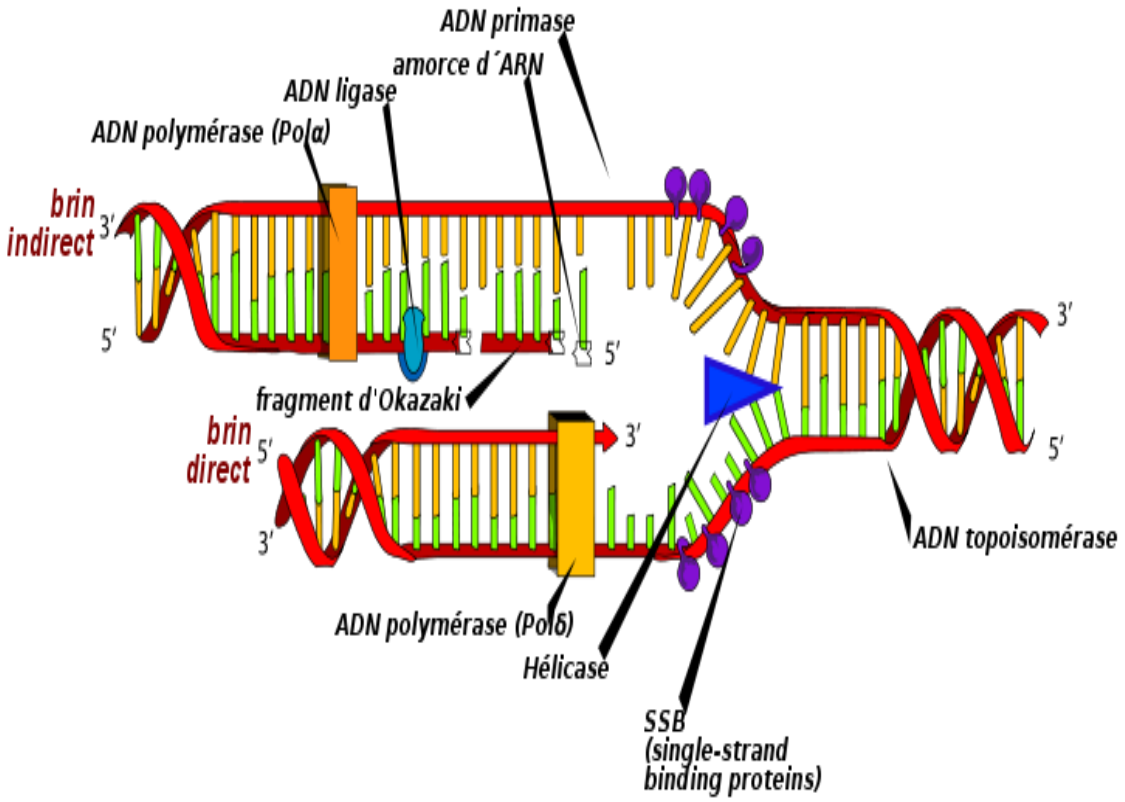
VI) Mécanismes de la réplication procaryote chez E-Coli

La synthèse doit respecter certaines propriétés : les deux fourches réplicatives doivent migrer dans des sens opposés, la synthèse de l'ADN se fait dans la direction 5' vers 3' et ainsi le brin matriciel est lu de 3' vers 5', les deux brins de l'ADN sont antiparallèles et synthétisés simultanément.

1) Les différentes protéines mise en jeu

- Les **protéines de reconnaissance** reconnaissent les sites d'initiation et de terminaison.
- Les **hélicases** (ou DNA B) déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogènes présentes entre les deux brins de l'ADN, avec consommation d'**ATP**.
- Les **protéines SSB** (pour *single stranded binding protein*) ont une forte affinité pour l'ADN simple brin et l'empêche ainsi de se réenrouler lors de la migration des fourches réplicatives.
- La **primase** est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise l'amorce.
- Les **topo-isomérases** relâchent les contraintes de torsion de l'ADN,

Les ADN ligases (ou DNA G) catalyse la formation de la liaison phosphodiester,



-

2) Origines et terminaisons chez E-Coli

L'origine de réplication possède une séquence répétée de 13 pdb riche en thymine (T), ainsi qu'une séquence GATC présente une dizaine de fois.

Le terminateur mesure environ 350 kb et est composé de 7 séquences quasi identiques de 23 pdb.

3) <u>Les étapes de la réplication procaryote</u>

- **<u>Ouverture de la double hélice et formation de la fourche réplicative</u>** est permise par reconnaissance de l'origine de réplication par les **DNA A**. Les topo-isomérases relâchent les contraintes topologiques
- L'ouverture de l'ADN entraîne la formation de l'œil de réplication et des deux fourches de réplication.
- Les hélicases (DNA B) permettent le déroulement des deux brins ;
- les topo-isomérases, permettent d'enlever les contraintes essentielles à l'avancée de l'hélicase.
- D'autre part les protéines SSB protègent les ADN simples brins les empêche de se ré enrouler.
- **<u>Elongation du brin précoce dans le sens de déplacement de la fourche :</u>**Le brin matrice au brin précoce est lu dans le même sens 3' vers 5'. Au niveau de l'origine de réplication les ADN polymérases nécessitent une amorce qui sera mise en place par les primases. Cette amorce sera ici de l'ARN,. L'ADN polymérase III sera responsable de l'initiation et de l'élongation du brin précoce.
- **<u>Elongation du brin tardif dans le sens inverse du déplacement de la fourche</u>** Le brin matrice pour le brin tardif doit également être lu dans le sens 3' vers 5', donc l'ADN polymérase III qui sera également responsable de l'élongation du brin tardif. De cette manière sa synthèse sera segmentée en fragment de taille relativement constante. Ces fragments sont appelés **fragments d'Okasaki**. A chaque segment il y a recrutement d'une primase pour la synthèse d'une amorce d'ARN constitué de 10 à 50 nucléotides selon l'espèce. les amorces vont être détruites par des protéines à activité ribonucléasique telles que des RNases, et l'ADN polymérase I va compléter la brèche entièrement. La dernière liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' du premier fragment et l'extrémité 3' du deuxième fragment, ce qui correspond à l'épissage, sera réalisée par la ligase.
- **<u>Terminaison :</u>**Le terminateur est le site de fixation de protéines « Tus » qui reconnaît les régions Ter. Chez E-Coli, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliqué, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, on utilise alors la topo-isomérase II pour les dissociés. L'ADN polymérase I complètera ensuite les parties non répliquées.

VII) <u>La réplication eucaryote</u>

1) <u>Les ADN polymérases eucaryotes</u>

L'ADN polymérase γ est présente dans les mitochondries mais est codée par un gène nucléaire. Elle est impliquée dans la réplication de l'ADN mitochondrial (16000 pdb) qui L'ADN polymérase α on une fonction de primase. Les ADN polymérases δ et ε sont responsable de la réplication du brin précoce et des fragments d'Okasaki.

2) <u>Les télomères</u>

Les chromosomes raccourcissent à chaque division cellulaire. Si l'extrémité des chromosomes était libre il y aurait perte de matériel génétique. Les chromosomes présentent ainsi ce qu'on appelle des télomères dont leur taille et leur nombre de réplication (qui sont reliés l'un à l'autre) sont très

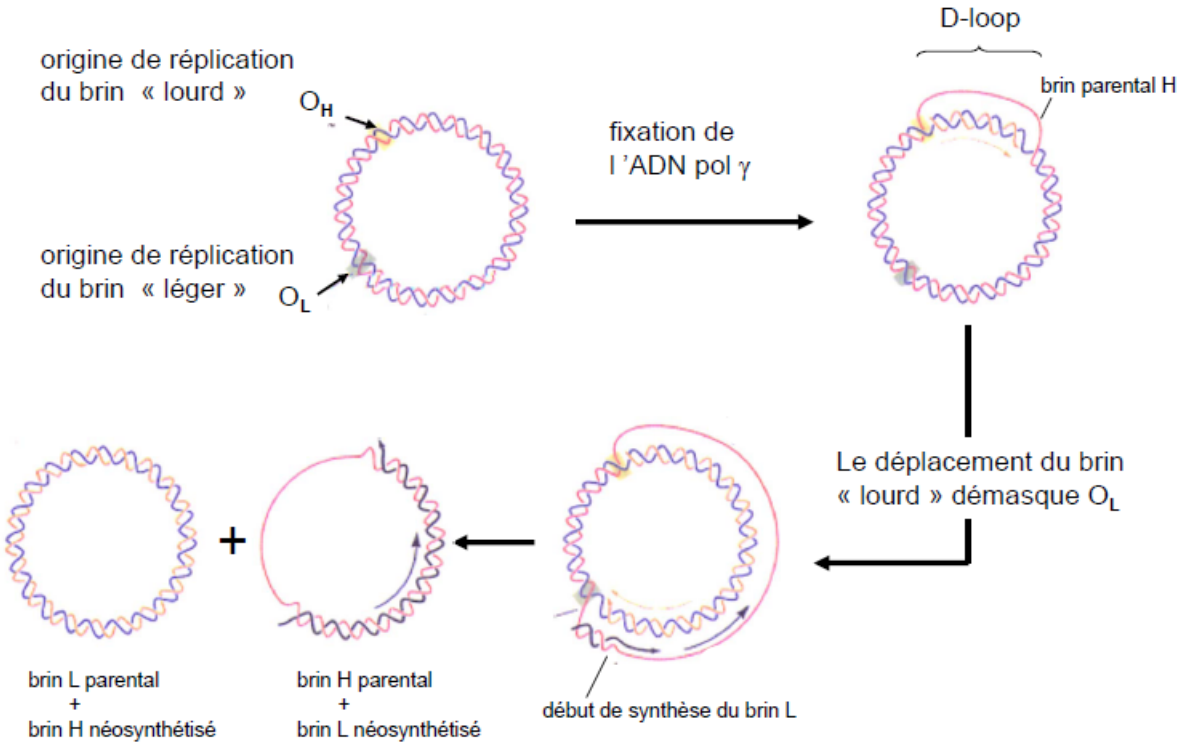
important. En effet lorsque le télomère disparaît, la cellule meurt par apoptose. Le télomère est formé grâce à des télomérases qui sont des ribonucléoprotéines pouvant s'associer à des séquences répétées spécifiques de l'extrémité du chromosome. Les télomérases jouent le rôle de matrice pour les ADN polymérases qui synthétiseront les télomères.

Les télomères ont différents rôles : maintenir l'intégrité des informations génétiques, protéger les ADN vis-à-vis des exo-nucléases, éviter les fusions des chromosomes au niveau des extrémités, rôle dans l'organisation de la chromatine durant l'interphase par interaction avec la membrane nucléaire.

2) <u>La réplication mitochondriale</u>

Début de la synthèse de la nouvelle chaîne H (Heavy), avec la chaîne L comme matrice, jusqu'à découvrir OL (au 2/3). L'ancienne chaîne H est en simple brin (exposée). (ADN polyméarase γ) 2 – Nécessite une synthèse préalable d'une amorce ARN (primer). 3 – La replication du brin L (light) démarre à partir d'une structure en épingle à cheveux reconnue par l'ADN polyméarase γ avec l'ARNr 5,8 S cytoplasmique comme amorce. 4 – Une ADN ligase lies les extrémités 3' et 5' des nouveaux brins. 5 – Une ADN gyrase torsade les nouvelles molécules d'ADNmt (ATP). 5 – Un cycle complet dure 2h environ.

La réplication de l 'ADNmit circulaire utilise 2 origines de réplication, une ADN pol γ et fait intervenir une structure intermédiaire à 3 brins.



Conclusion

La réplication est semi-conservative et nécessite la dissociation de la double hélice
- la synthèse est polarisée (5'-3') et repose sur l'appariement de bases complémentaires
- savoir à quoi correspondent les différentes étapes de la réplication (initiation, élongation, terminaison)
- connaître les éléments nécessaires à la réplication (matrice, polymérases, Mg++, …)
- savoir définir les termes de fourche de réplication, d'élongation mono-directionnelle, de brin avancé ou retardé, de fragments d'Okasaki, de facteurs associés de réplication
- connaître les principales différences entre la réplication chez les procaryotes et les eucaryotes.