

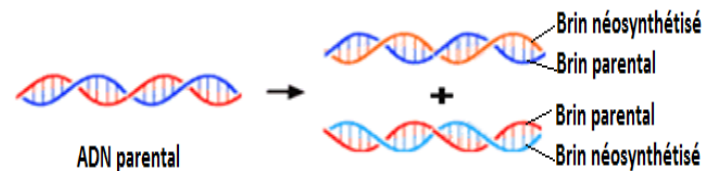
# La réplication de l'ADN

## I- Généralités- Définition

La transmission exacte de l'information héréditaire dépend d'une réplication (duplication) précise du matériel génétique qui est l'ADN. La réplication de l'ADN est un mécanisme par lequel la quantité de l'ADN se trouve en double exemplaire dans la cellule mère, pour qu'après une division cellulaire, chaque cellule fille reçoive une copie complète de l'ADN. La réplication se déroule pendant la phase S du cycle cellulaire.

## II -Mécanismes de la réplication de l'ADN

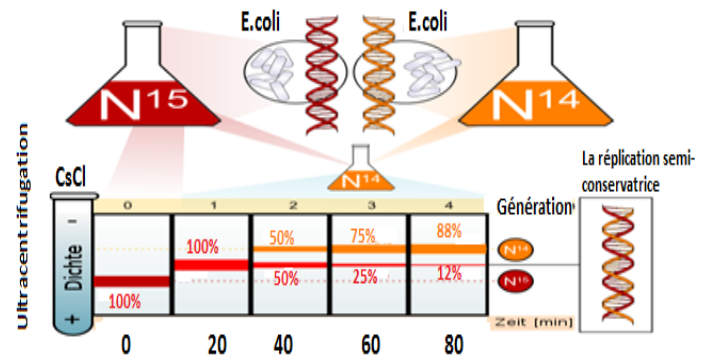
Les deux brins de la double hélice parentale sont copiés en brin complémentaire, chaque double hélice fille contient un brin parental et un brin néosynthétisé, on parle de réplication semi-conservatrice, C'est l'expérience de Meselson et Stahl en 1958 qui a permis de le démontrer.



La réplication de l'ADN est semi-conservatrice

### ➤ L'expérience de Meselson et Stahl

Des bactéries E.coli sont cultivées dans un milieu comportant du  $^{15}\text{N}$  (azote lourd) cet azote est incorporé dans les bases azotées, après plusieurs divisions cellulaires ces souches sont remises dans un milieu normal comportant du  $^{14}\text{N}$ , puis l'ADN est extrait après une, deux et plusieurs division cellulaire, de ces cellules et centrifugées sur un gradient salin de densité. La proportion d'ADN léger ( $^{14}\text{N}$ ) augmente avec le nombre de générations étant divisées dans le milieu contenu à  $^{14}\text{N}$ .

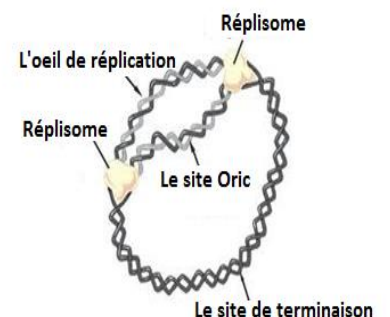


L'expérience de Meselson et Stahl

## A- Chez les procaryotes

### 1- Initiation

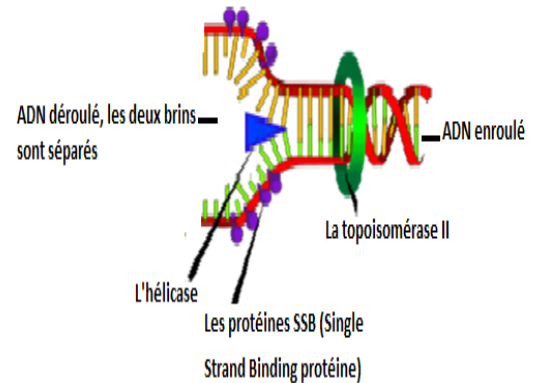
Chez E. coli la réplication débute à partir d'une seule origine de la réplication appelée : OriC, une séquence de nucléotides spécifiques de 245 à 246 paires de bases. La réplication est dite « ORIENTEE ». L'OriC est reconnu par des protéines : les facteurs d'initiation de la réplication, qui facilitent la fixation d'autres protéines qui vont séparer les deux brins d'ADN formant "l'œil de réplication", qui comprend deux fourches de réplication, migrant vers les deux extrémités de la molécule d'ADN, pour se terminer au niveau du site de terminaison. Ces protéines forment le complexe enzymatique de réplication, appelé réplisome.



L'initiation de la réplication

Les protéines qui interviennent dans l'initiation sont :

- la **topoisomérase II** : déroule l'ADN.
- L'**hélicase** : sépare les deux brins, pour pouvoir augmenter la taille de l'œil de réplication. Ces hélicases transforment les extrémités des yeux de réplication en forme de Y, appelées fourches de réplication.
- les **protéines SSB (Single Strand Binding protéine)**: Stabilisation transitoire de la partie déroulée (maintien de l'hélice ouverte).



## 2 Elongation

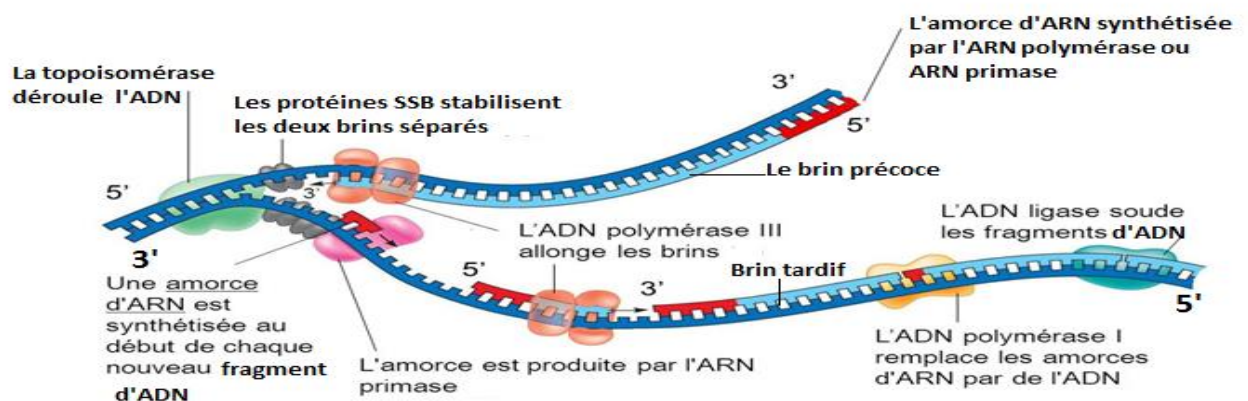
### L'initiation de la réplication chez E.coli

-L'élongation est bidirectionnelle, se fait grâce à l'ADN polymérase III, qui progresse toujours dans le sens 5'→3' et utilise comme substrat les désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP).

- L'ADN polymérase III est incapable de débiter la chaîne, elle a besoin d'une amorce d'ARN d'une dizaine de bases appariées aux brins matrices, Cette amorce (primer) est synthétisée par une primase qui utilise une ARN polymérase. L'ADN polymérase III a besoin d'une extrémité 3'-OH libre fournie par l'amorce d'ARN, pour lier le premier dNTP.

- L'action de l'ADN polymérase III se fait que dans le sens 5'-3' :

- La synthèse continue (brin précoce = brin direct) jusqu'au point de terminaison dans le sens 5'→3', complémentaire du brin parental orienté 3'→5'.
- La synthèse discontinue (brin tardif = brin indirect) sous la forme d'une série de petits fragments appelés : fragments D'OKAZAKI, complémentaire du brin parental orienté 5'→3'. Chaque fragment d'ADN synthétisé est précédé d'une amorce d'ARN.
- L'ADN polymérase I comble les vides qui subsistent dans le brin tardif.
- L'ADN ligase fait la soudure entre tous les fragments d'ADN synthétisés.



### La réplication chez les procaryotes (E.coli)

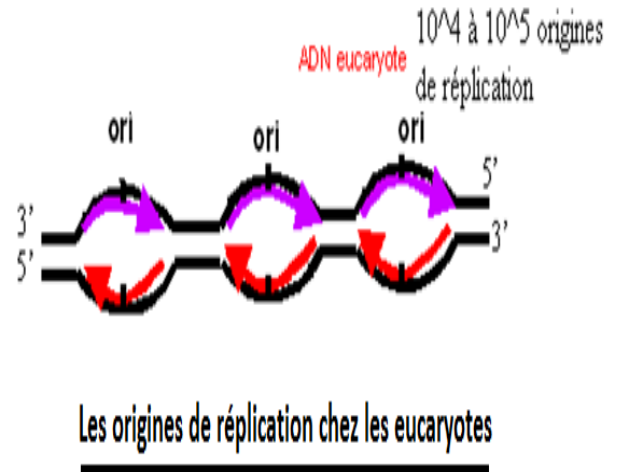
### 3- Terminaison

Les mécanismes enzymatiques de la terminaison sont encore mal connus. Chez E.coli la réplication de l'ADN prend la forme de  $\theta$  (théta) aboutissant à la séparation des deux molécules d'ADN formées.

### B- Chez les eucaryotes

- Les bactéries telles qu'E.coli ont un cycle de réplication-division de 40 minutes, alors que chez les eucaryotes il dure de 24 à 200 heures.

- La réplication chez les eucaryotes a lieu à partir d'origines multiples, qu'on appelle « Séquence autonome de réplication » (ARS = autonomous replication sequence). Il existe sur l'ADN linéaire un très grand nombre d'ARS. La réplication semble commencer simultanément en plusieurs endroits des chromosomes eucaryotes. Chez l'homme on estime à plus de 10000 le nombre de fourches de réplication simultanées. Il se forme alors plusieurs yeux de réplication sur un même chromosome. Chaque unité de réplication est appelée REPLICON.



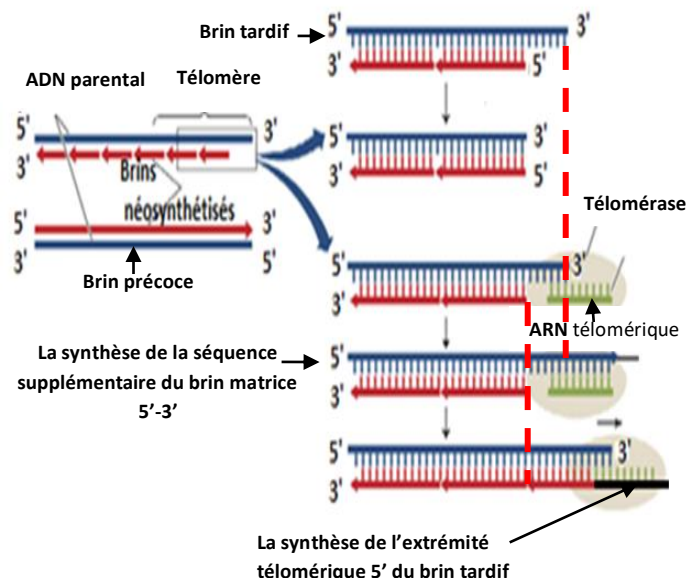
#### ➤ Il existe plusieurs ADN polymérase :

- **ADN polymérase  $\alpha$**  : s'arrête rapidement après avoir ajouté environ 5 à 10 nucléotides à la suite de l'amorce d'ARN, ne possède pas d'activité exonucléasique.
- **ADN polymérase  $\beta$**  et **ADN polymérase  $\epsilon$  (epsilon)** : impliquées dans les mécanismes de réparation car elles ont une activité exonucléasique 3'  $\rightarrow$  5'.
- **ADN polymérase  $\delta$  (delta)**: responsable de l'élongation de l'ADN nucléaire (activité exonucléasique 3'  $\rightarrow$  5').
- **ADN polymérase  $\gamma$  (gamma)**: responsable de l'élongation de l'ADN mitochondrial.

#### La réplication des télomères :

- **Le brin continu (précoce)** ne pose pas de problème, puisque l'ADN polymérase peut aller jusqu'au dernier nucléotide de l'extrémité 5' du brin matrice (3'-5').

- **Pour le brin discontinu (tardif)**, l'amorce d'ARN ne peut être placée au-delà de l'extrémité 3' du brin matrice (5'-3') afin de répliquer l'extrémité 3' télomérique constituée de la répétition (n fois) de la séquence non codante : **TTAGGG**, ces séquences répétées non répliquées sont progressivement perdues au cours des divisions cellulaires (raccourcissement des chromosomes) jusqu'à ce que la cellule deviendrait non viable et mourrait (apoptose).



-Il existe une enzyme qu'on appelle la télomérase qui est une ribonucléoprotéine à activité transcriptase inverse. Son ARN contient une séquence complémentaire de la séquence Télomérique (TTAGGG) de l'extrémité 3' du brin matrice 5'-3'. La télomérase se fixe et réalise un appariement entre son ARN et la séquence TTAGGG de l'extrémité 3' du brin matrice 5'-3'. Ainsi son ARN sert de matrice pour la synthèse d'une séquence télomérique répétée supplémentaire au niveau l'extrémité 3' du brin matrice 5'-3'. Cette séquence supplémentaire sert de matrice pour la synthèse de l'extrémité télomérique du brin discontinu 3'- 5' par l'ADN polymérase.

**Ce processus s'oppose à la tendance au raccourcissement des chromosomes lors de la réplication**

-La télomérase ne s'exprime que peu voire pas dans les cellules somatiques, alors qu'elle est très active dans les cellules souches et germinales.

-La télomérase est très active dans les cellules cancéreuses, c'est un des facteurs qui contribuent à la prolifération et à l'immortalisation des cellules cancéreuses.

#### **Bibliographie :**

- 1 - Cau, Pierre. Seite, Raymond. Cours de Biologie Cellulaire. Paris: éd. Ellipses, 1996
- 2- Chevalier S, Chevalier N. How is a cycle of DNA replication initiated in eukaryotes. Published online 1997. doi:10.4267/10608/567
- 3- Dantzer F, de Murcia G. What DNA polymerases for DNA-replication and DNA-repair in eukaryotes. Published online 1998. doi:10.4267/10608/1125
- 4- Gire V. La sénescence : Une barrière télomérique à l'immortalité ou une réponse cellulaire aux stress physiologiques. Med Sci (Paris). 2005;21(5):491-497. doi:10.1051/medsci/2005215491
- 5- Griffiths, Anthony.J.F.Miller, Jefferey. H. SUZUKI, DAVIDT. 3éd.Introduction à l'analyse génétique. Paris: de boeck; 2002,