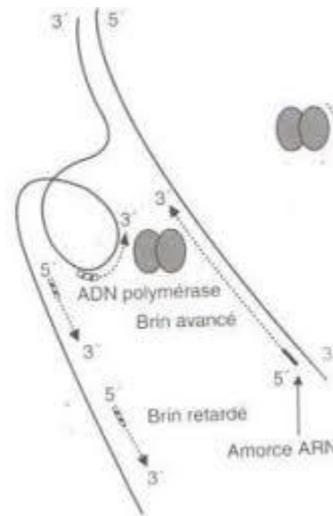


CHAPITRE II : INFORMATION GENETIQUE



II. REPLICATION DE L'ADN

La réplication de l'ADN est un mécanisme très important qui permet la duplication du patrimoine génétique pour obtenir deux exemplaires identiques, chacun transmis à une des deux cellules filles lors de la division cellulaire. La réplication a donc lieu avant la division cellulaire : se fait lorsque l'ADN est à l'état de chromatine, pendant la phase S de l'interphase.

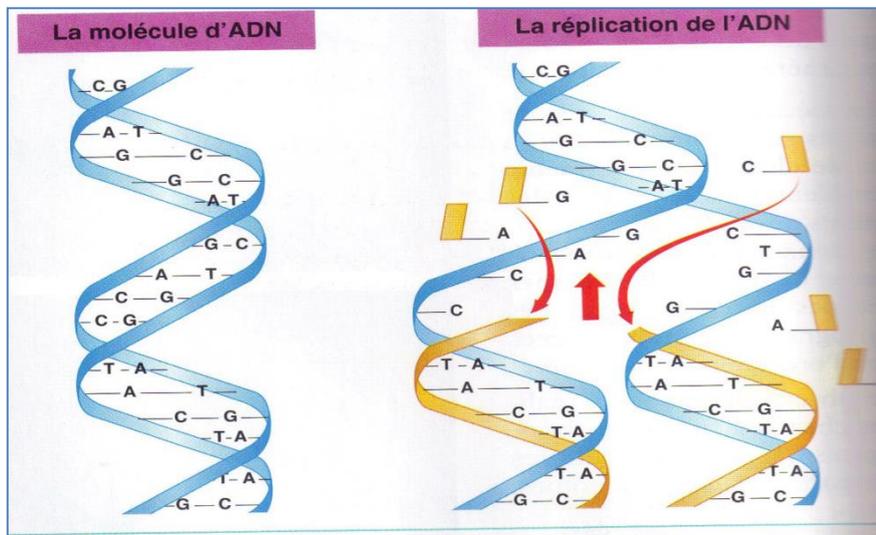
❖ La réplication est dite « semi conservative »

La réplication de l'ADN est un mécanisme cellulaire semi conservatif : sur la double hélice d'ADN de la cellule fille, un des deux brins provient du brin parental et l'autre est synthétisé « néosynthétisé » lors de la réplication. Pour cela les deux brins parentaux doivent se séparer suite à une rupture des liaisons hydrogènes.

La réplication se fait dans le sens $5' \rightarrow 3'$, de façon complémentaire, selon les règles d'appariement : A-T / G-C.

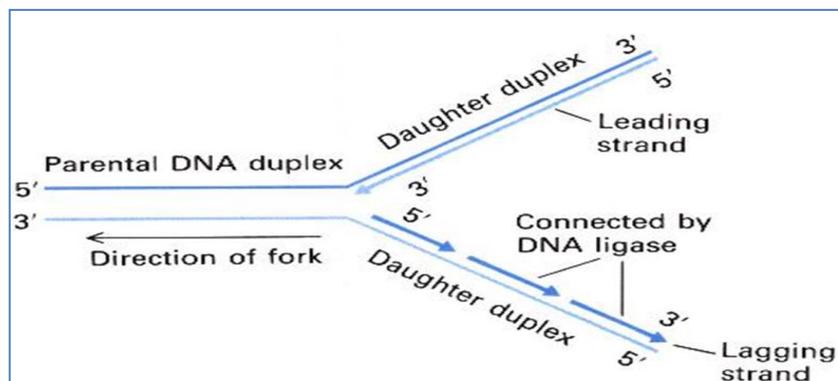
❖ La réplication est dite « bidirectionnelle »

La réplication de l'ADN débute à partir d'une ou plusieurs origines de réplication (séquences de nucléotides spécifiques reconnues par des protéines de réplication) et progresse dans les deux sens à partir de ce point créant ainsi deux fourches de réplication. On dit que la réplication de l'ADN est bidirectionnelle.



❖ Les brins de la fourche de réplication sont antiparallèles

Chaque brin parental est lu dans le sens 3'→5' et sert de matrice à la synthèse d'un nouveau brin (complémentaire et anti-parallèle au brin matrice), appelé brin néosynthétisé, synthétisé dans le sens 5'→3'.

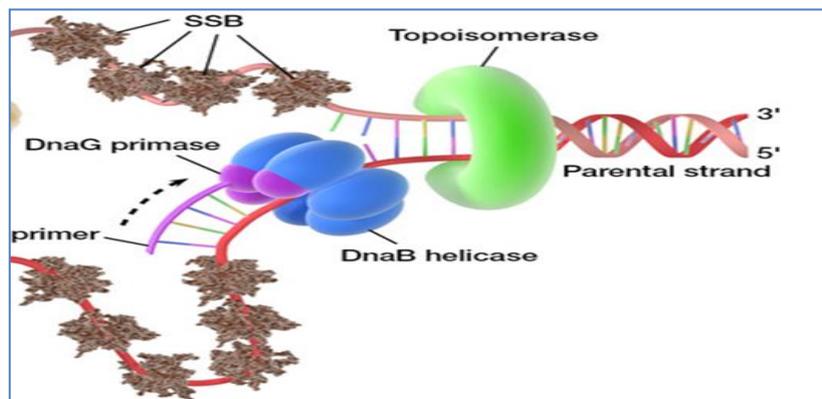


❖ Les étapes de réplication de l'ADN chez les procaryotes

1. Initiation

L'initiation de la réplication a lieu à l'origine de réplication. Il n'y a qu'une seule origine de réplication dans les chromosomes bactériens alors qu'il en existe plusieurs chez les eucaryotes (réplication plus rapide). Lors de cette étape il y a implication de :

- **Une hélicase** : elle sépare les deux brins de la double hélice d'ADN dans les deux sens en rompant les liaisons hydrogène entre les bases. Deux fourches de réplication sont ainsi créées.
- **Les protéines SSB** : sont des protéines se liant à l'ADN simple brin (monocaténaire) formé et évitent la reformation de la double hélice. Ce sont les protéines **SSB** (*single strand binding*) chez les bactéries et les protéines RPA chez les eucaryotes.
- **Les topoisomérases (gyrases)**: elles agissent derrière l'action de l'hélicase, qui induit des surenroulements positifs (en avançant) pour les supprimer et introduire des surenroulements négatifs de part et d'autre des deux fourches de réplifications.
- **Les primases** : ce sont des ARN polymérases ADN-dépendante capables de synthétiser de courtes séquences d'ARN (de 5 à 15 ribonucléotides) complémentaire à l'ADN matrice et nécessaires pour l'élongation des nouveaux brins d'ADN par l'ADN polymérase. La synthèse de l'amorce d'ARN se fait dans le sens 5'→3' (création d'un groupement OH libre). Chez *E. Coli*, la primase et l'hélicase forment un seul complexe appelé le « primosome ».



2. Elongation

Ce processus fait intervenir une enzyme de polymérisation nucléotidique (formation de la liaison phosphodiester) qui est l'ADN polymérase incapable d'initier la synthèse sans une extrémité 3'OH libre. On a purifié 3 ADN polymérases chez *E. coli* :

- **ADN polymérase I :**

- une fonction de polymérisation 5' → 3' pour remplacement des amorces d'ARN par un brin d'ADN et le remplissage des lacunes au cours de la réparation de l'ADN.

- une fonction exonucléase $5' \rightarrow 3'$ qui va éliminer les amorces d'ARN.
- une fonction exonucléase $3' \rightarrow 5'$ qui va éliminer les nucléotides mal appariés en les remplaçant par des nucléotides corrects.
- **ADN polymérase II** : n'est pas encore bien éclairci, mais pourrait intervenir dans la réparation de l'ADN lésée chimiquement.
- **ADN polymérase III** :
 - une fonction polymérase $5' \rightarrow 3'$ (addition de nucléotides à l'extrémité 3'OH d'une chaîne nucléotidique). C'est cette enzyme qui fonctionne aux fourches de réplication.
 - une fonction exonucléase $3' \rightarrow 5'$ comme celle de l'ADN polymérase I.

L'ADN polymérase a besoin des composés suivants pour synthétiser une chaîne d'ADN :

- Les quatre désoxyribonucléosides (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) et du Mg^{2+} .
- Une amorce d'ARN : l'ADN polymérase ajoute des désoxyribonucléotides à l'extrémité 3'OH d'une amorce, elle se positionne sur l'extrémité 3'OH pour polymériser de l'ADN dans le sens $5' \rightarrow 3'$.
- L'ADN matrice (les deux brins parentaux).

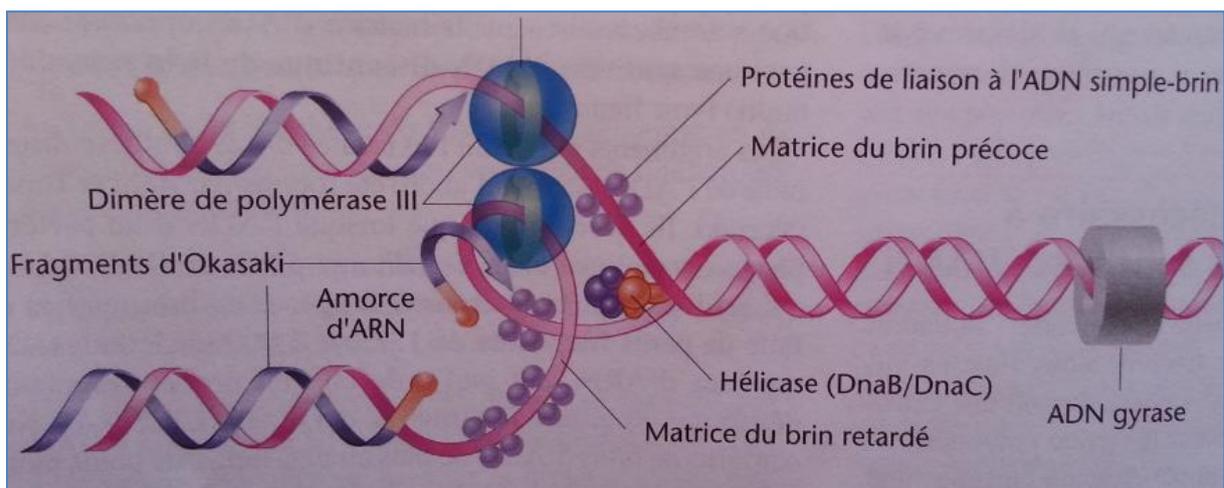
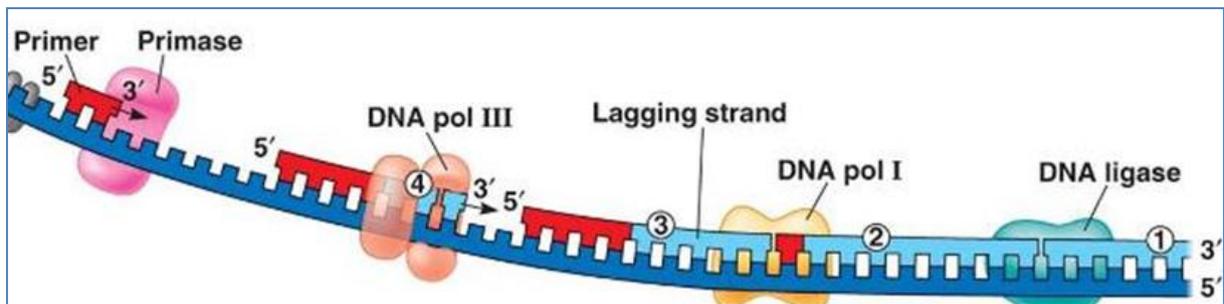
❖ **La synthèse de l'ADN se déroule toujours dans le sens $5' \rightarrow 3'$.**

➤ **le brin avancé ou précoc** : il s'allonge continuellement à partir d'une seule amorce d'ARN dans le sens $5' \rightarrow 3'$, qui coïncide avec le sens de déplacement de la fourche (copie du brin parental orienté dans le sens $3' \rightarrow 5'$). « **synthèse continue** »

➤ **le brin retardé** : puisque la polymérase agit comme un dimère d'enzyme, les deux brins matrices sont répliqués simultanément. La synthèse du brin retardé est plus compliquée puisque la polymérisation doit suivre le sens de déplacement de la fourche, et que l'ADN polymérase n'attache les désoxyribonucléotides que dans le sens $5' \rightarrow 3'$. Le brin parental, matrice du brin retardé, formerait une boucle autour de l'ADN polymérase III. Il se produirait ainsi une inversion de sens de brin retardé si bien que l'addition de nucléotides (en 3') dans le sens $5' \rightarrow 3'$ pourrait se faire simultanément sur les deux brins. Ceci a été résolu en synthétisant le brin retardé de façon discontinue sous forme de petits fragments greffés sur autant d'« amorces ». Les fragments ARN-ADN ainsi formés, sur le brin retardé sont appelés fragments d'Okasaki. « **synthèse discontinue** ».

Les amorces d'ARN sur les deux brins néosynthétisés sont ensuite éliminées, hydrolysées et remplacées par de l'ADN. C'est l'enzyme polymérase I qui élimine les amorces d'ARN par son activité exonucléase $5' \rightarrow 3'$ et qui resynthétise à la place de l'ADN.

Finalement, les fragments d'ADN, libérés de leur amorce d'ARN vont être soudés par une **ligase**.



3. Terminaison

Les mécanismes impliqués dans la terminaison n'ont pas été encore élucidés. Un site de terminaison TER où se fixe une protéine Tus qui met fin à la réplication a été déterminé chez *E. coli*.

❖ La réplication de l'ADN chez les eucaryotes

Les grands principes de la réplication sont les mêmes chez les eucaryotes que chez les bactéries. Cependant, l'organisation de l'ADN en chromatine (ADN et histones) conduit à un degré supérieur de complexité de la réplication dont toutes les étapes ne sont pas

complètement élucidées. L'aspect le plus complexe de la réplication chez les eucaryotes est l'ensemble des ADN polymérase impliquées dans ce processus :

- **Pol α (alpha)** : également nommée ARN Pol, elle synthétise de courtes amorces d'ARN à l'origine de la réplication sur le brin avancé ainsi que pour les fragments d'Okazaki du brin retardé. Cette polymérase ne possède pas de fonction exonucléasique $3' \rightarrow 5'$.
- **Pol β (bêta)** : cette polymérase est impliquée dans des processus de réparation de l'ADN. Elle ne possède pas de fonction exonucléasique. Elle correspond à la Pol II bactérienne.
- **Pol γ (gamma)** : cette polymérase intervient dans la réplication de l'ADN mitochondrial.
- **Pol δ (delta)** : c'est la polymérase principale qui intervient dans la réplication de l'ADN chez les eucaryotes, avec l'ADN Pol ϵ , dans la synthèse du brin avancé et du brin retardé. Elle possède aussi une activité exonucléasique $3' \rightarrow 5'$ intervenant dans la correction des erreurs et dans des processus de réparation. Cette polymérase correspond à la Pol III bactérienne.
- **Pol ϵ (epsilon)** : elle possède une activité polymérase $5' \rightarrow 3'$ et exonucléase $3' \rightarrow 5'$ et intervient dans la réplication et la réparation de l'ADN. Elle lit dans le sens $3' \rightarrow 5'$ et synthétise $5' \rightarrow 3'$ la zone du télomère qui ne peut être synthétisée par la Pol δ (une amorce préalable doit être posée par la primase sur l'extrémité $3'$ allongée du télomère). Une ligase réalise ensuite la suture entre les deux brins.
- **Pol ζ (zêta), Pol η (êta), Pol θ (thêta), Pol ι (iota), Pol κ (kappa) et Rev1.**

Réparation des erreurs de la réplication

Ce mécanisme doit être le plus fidèle possible (fidélité de la polymérase), pour que le patrimoine génétique qui va être transmis aux cellules filles soit le plus parfaitement identique à celui de la cellule mère. En effet, les modifications peuvent conduire à des événements extrêmement délétères : mutations, associées à certaines pathologies (cancer). La réplication est un événement crucial où peuvent se produire des erreurs, il y a donc des mécanismes de contrôle, pour limiter ces erreurs. Ces mécanismes peuvent être complétés par des mécanismes de réparation de l'ADN. C'est pourquoi, lorsque ces mécanismes sont fonctionnels, il y a un taux de mutations de génome extrêmement bas : un seul nucléotide modifié pour 10⁹ nucléotides à chaque cycle de réplication.

Réplication des extrémités des chromosomes linéaires

Les chromosomes des eucaryotes sont linéaires, lors de la réplication ils font face à un problème au niveau de leurs extrémités (télomères). Ces derniers sont formés de séries de courtes séquences d'ADN répétées en tandem (TTAGGG chez l'homme).

- Lors de la réplication, la synthèse du brin précoce se poursuit jusqu'à l'extrémité du chromosome.

- Un problème se pose pour le brin retardé. Une fois que l'amorce d'ARN du dernier fragment d'Okasaki est éliminée, la brèche formée ne peut pas être comblée, puisque il s'agit de l'extrémité de la molécule d'ADN, il n'y a pas de fragment Okasaki présent pour fournir une extrémité 3'OH libre. **Théoriquement** une lacune se maintient sur le brin retardé à chaque cycle, ce qui raccourcit les chromosomes.

Une unique enzyme eucaryote appelée « télomérase » permet de résoudre ce problème. Cette enzyme est capable de synthétiser plusieurs répétitions de séquence de six nucléotides à l'extrémité 3' du **brin matrice du brin retardé** (par synthèse de 5' vers 3'), ce qui empêche le raccourcissement des chromosomes. Ces répétitions se replient sur elles-mêmes pour former une boucle en « épingle à cheveux » stabilisée par des liaisons hydrogènes entre guanines opposées (**G=G**), créant ainsi un groupement 3'-OH à l'extrémité de l'épingle à cheveux qui sert de substrat à l'ADN polymérase I qui va combler la brèche. La boucle à épingle à cheveux peut être clivée à son extrémité puis éliminée.

