

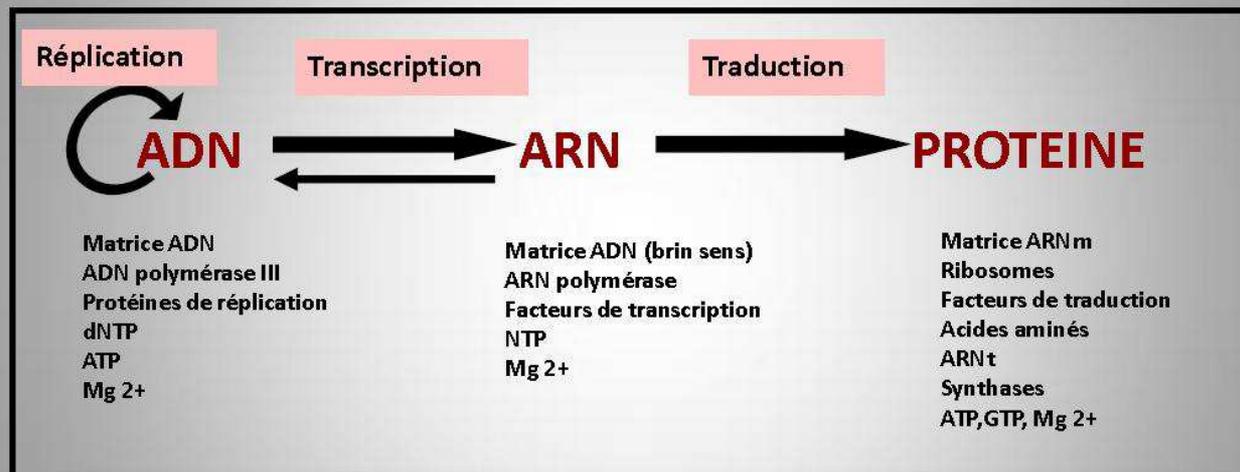
www.facebook.com/DomaineSNV

La répllication de l'ADN

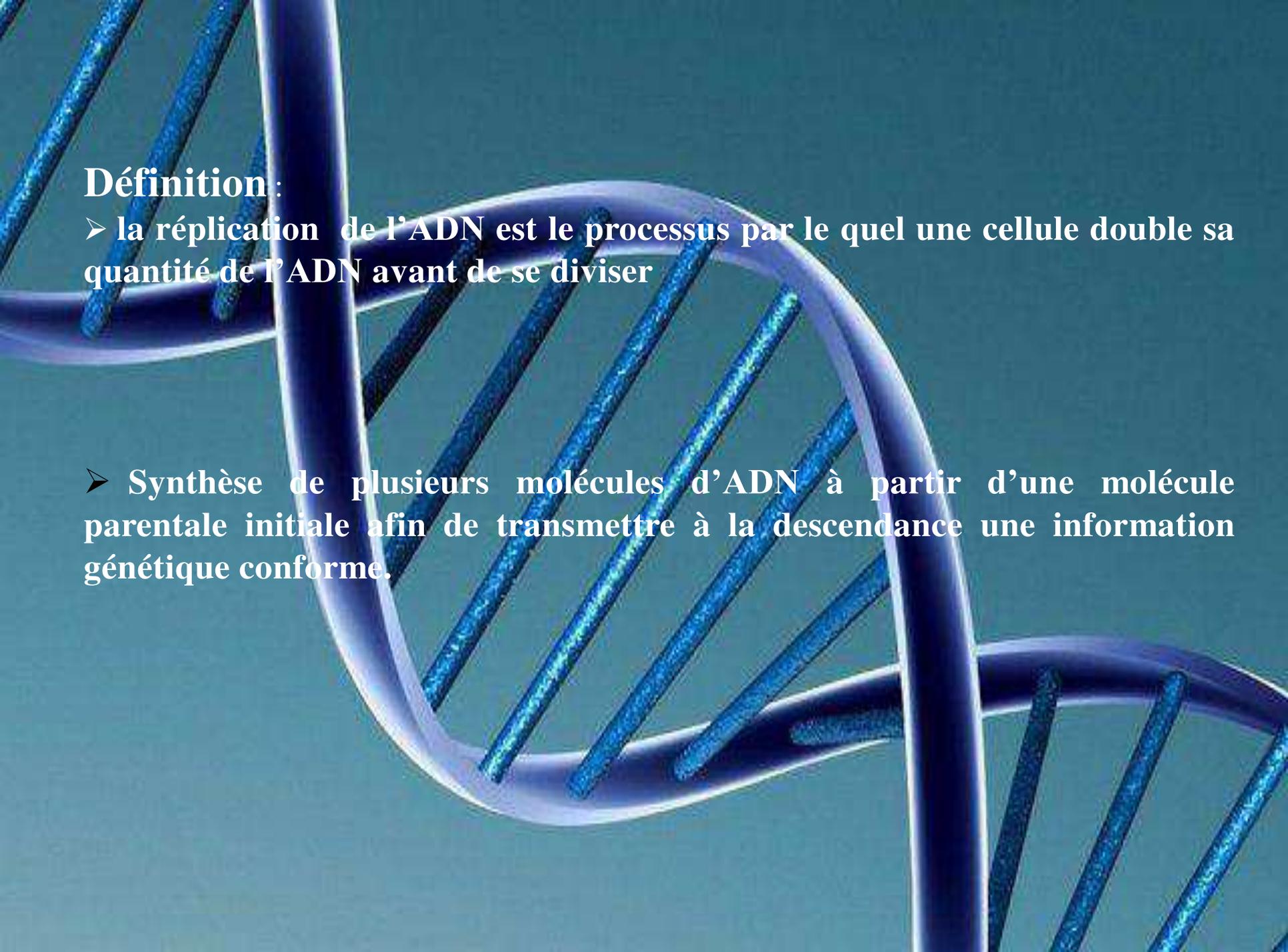
Page facebook ; Domaine SNV : Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie

Par: **HAMDOUCHE . N**

Le dogme central



**Le flux de l'information génétique
est unidirectionnel**



Définition :

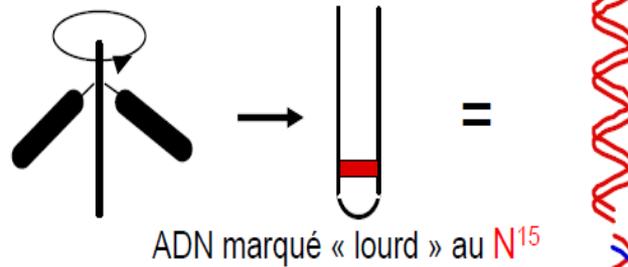
- la **réplication** de l'ADN est le processus par le quel une cellule double sa quantité de l'ADN avant de se diviser

- Synthèse de plusieurs molécules d'ADN à partir d'une molécule parentale initiale afin de transmettre à la descendance une information génétique conforme.

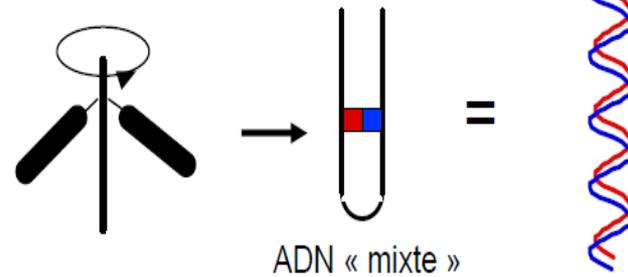
Caractéristiques fondamentales de la réplication

Mise en évidence expérimentale de la réplication **semi conservative** chez les bactéries par Meselson et Stahl (1957)

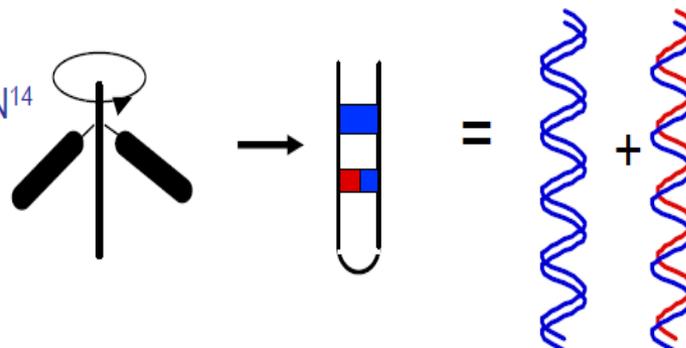
1. culture en milieu N^{15}



2. transfert et culture en milieu N^{14}

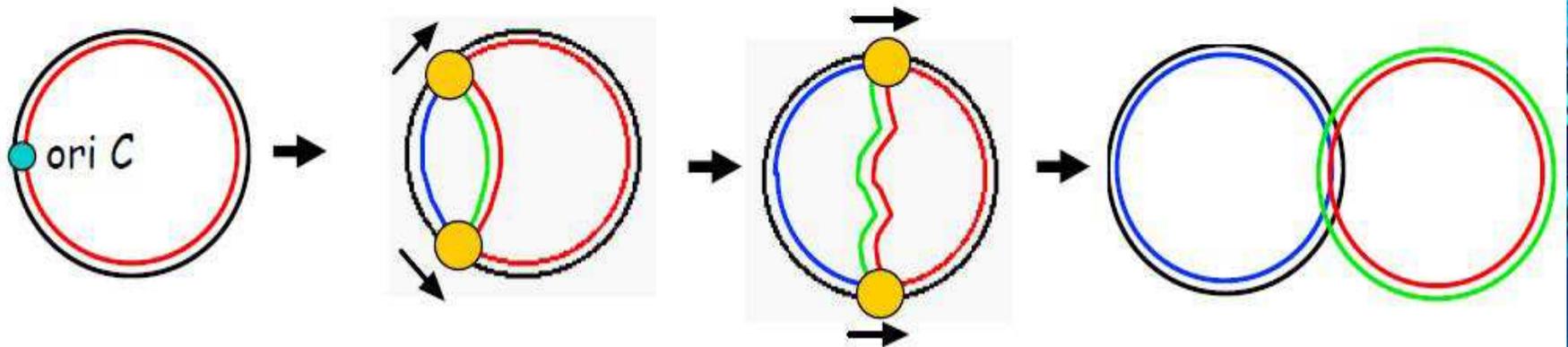
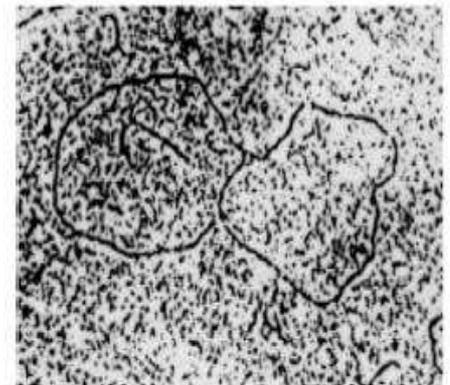
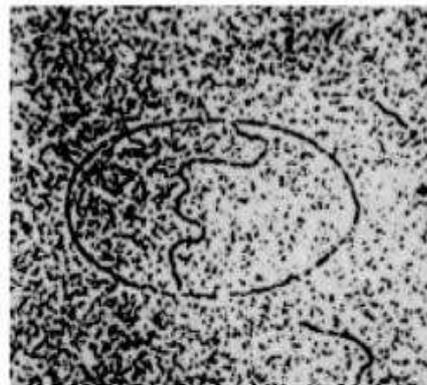
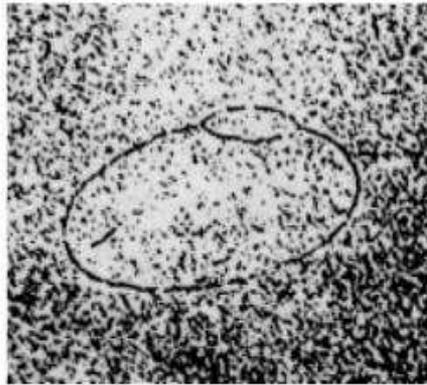


3. Poursuite de la culture en milieu N^{14}



La réplication est bidirectionnelle

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



Enzymes de la réplication

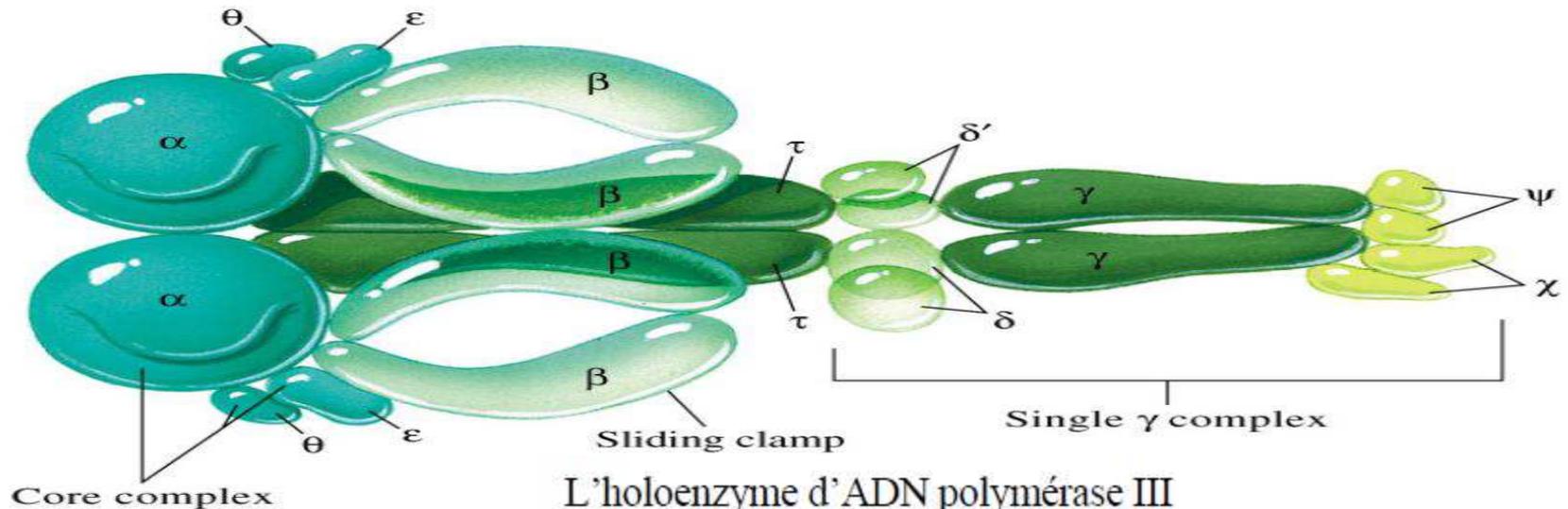
Enzyme	Fonction
ADN polymérase III (pol III)	Principales enzymes de polymérisation
ADN polymérase I (pol I)	Excise l'amorce ARN et remplit les trous
Hélicase (dnaB)	Déroule la double hélice à la fourche de réplication
Primase (dnaG)	Amorce les nouveaux brins d'ADN
Protéines se liant à l'origine de réplication (dnaA)	Facilite la fusion pour ouvrir le complexe
Protéines se liant à l'ADN simple brin (Ssb)	Empêche le réappariement des brins de l'hélice ouverte
ADN ligase (ligA, ligB)	Soude les coupures dans l'ADN
Gyrase	Réduit les torsades formées par la progression de la fourche et catalyse le superenroulement de l'ADN répliqué

- 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)

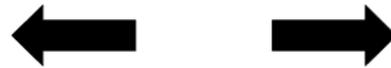
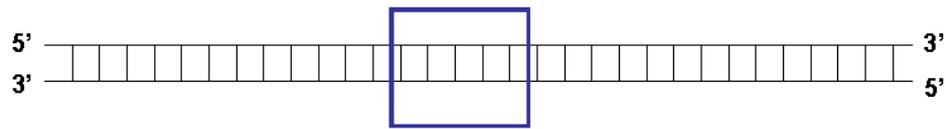
Organisation des sous unités de l'ADN Polymérase III



L'holoenzyme d'ADN polymérase III catalyse l'addition de 1000 nucléotides par seconde à 37°C. La sous-unité α provoque l'allongement de l'ADN par incorporation successive des résidus complémentaires à ceux du brin parental (il faut du Mg^{2+}). La sous-unité ϵ possède une activité d'exonucléase 3' → 5'.

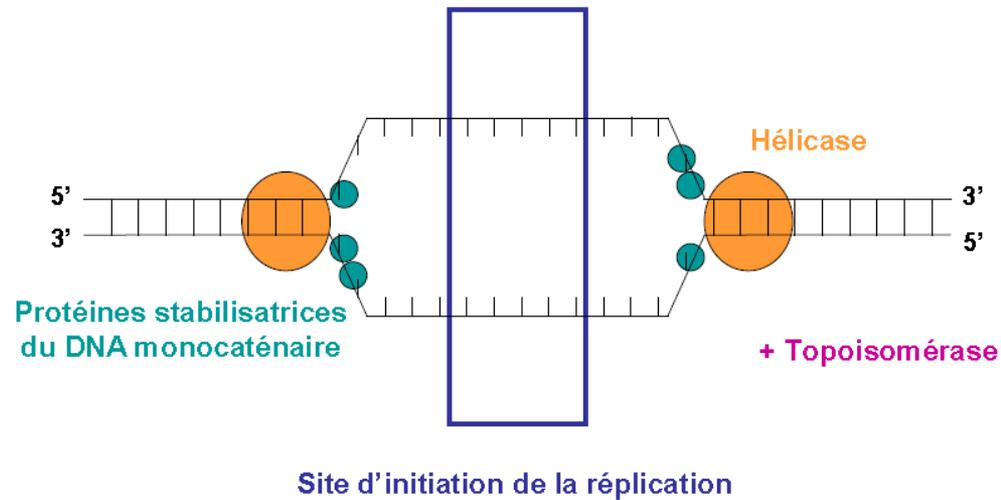
La sous-unité α insère 1 base erronée sur 10,000. L'unité ϵ corrige ces défauts avec un taux d'erreur de 1 sur 1,000. Le taux d'erreur global est donc de 10^{-7} .

Site d'initiation de la réplication

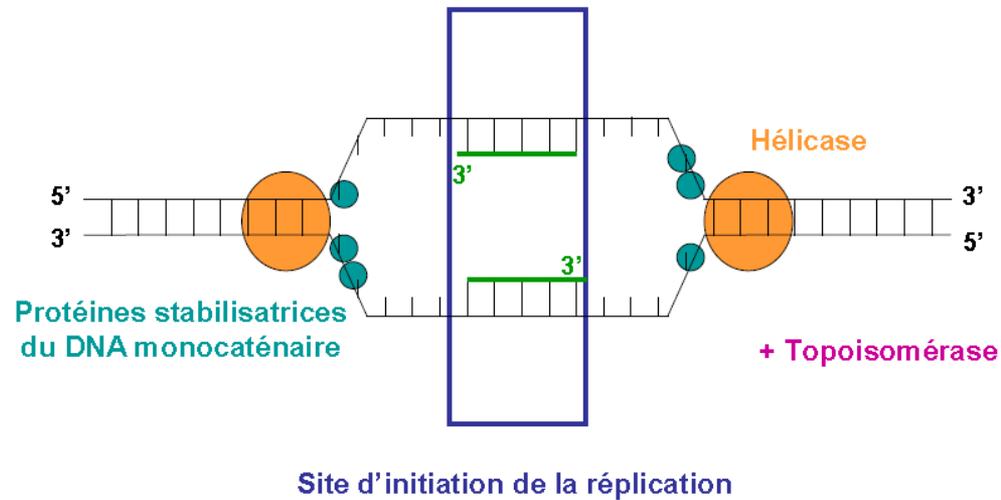


La réplication est bidirectionnelle

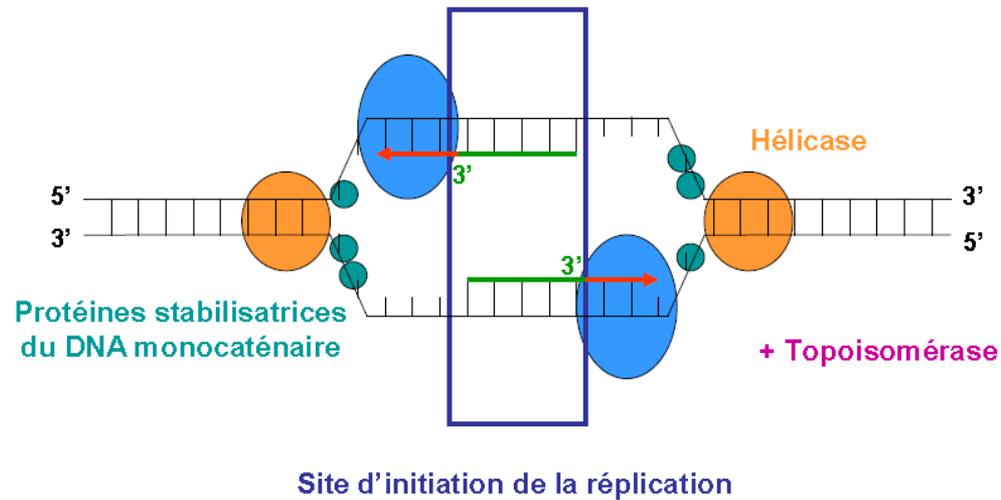
**FORMATION D'UN ŒIL DE REPLICATION:
Séparation des 2 chaînes polynucléotidiques du DNA parental**



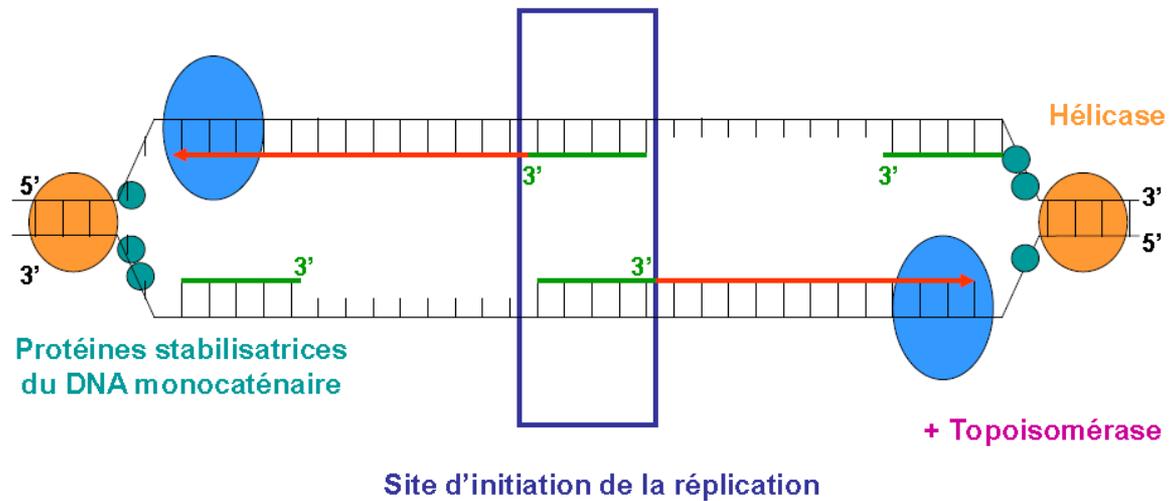
FORMATION D'UNE AMORCE de RNA PAR LA PRIMASE



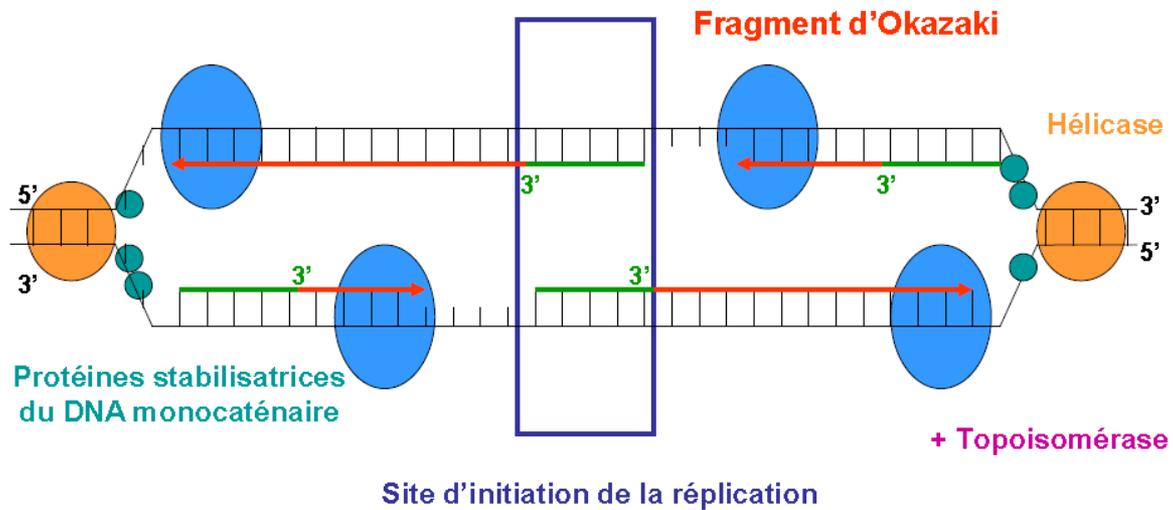
SYNTHÈSE D'UN BRIN CONTINU PAR UNE DNA POLYMERASE
à partir de l'extrémité 3' de l'amorce



**FORMATION D'UNE AMORCE DE RNA PAR LA PRIMASE
pour initier la synthèse du brin discontinu**



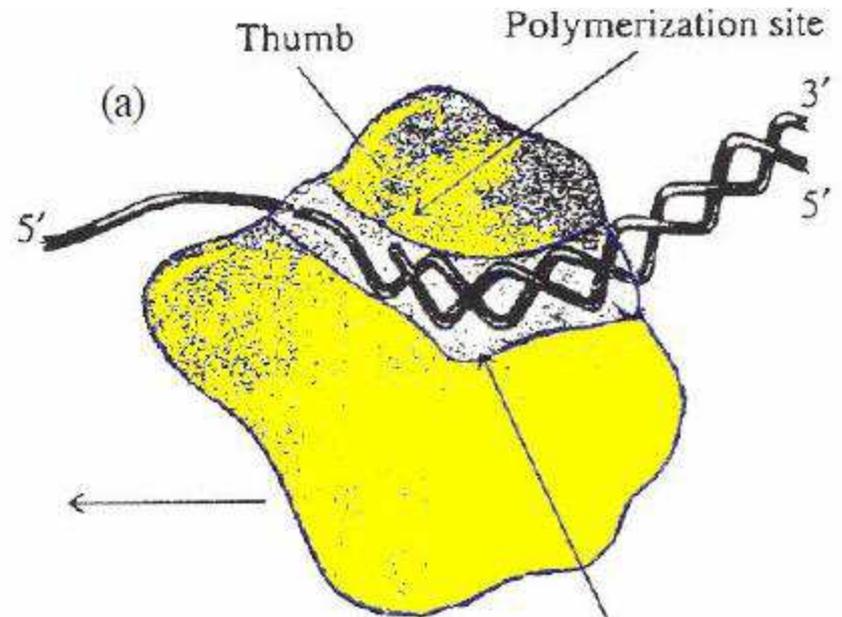
SYNTHÈSE D'UN BRIN DISCONTINU PAR UNE DNA POLYMERASE
à partir de l'extrémité 3' de l'amorce



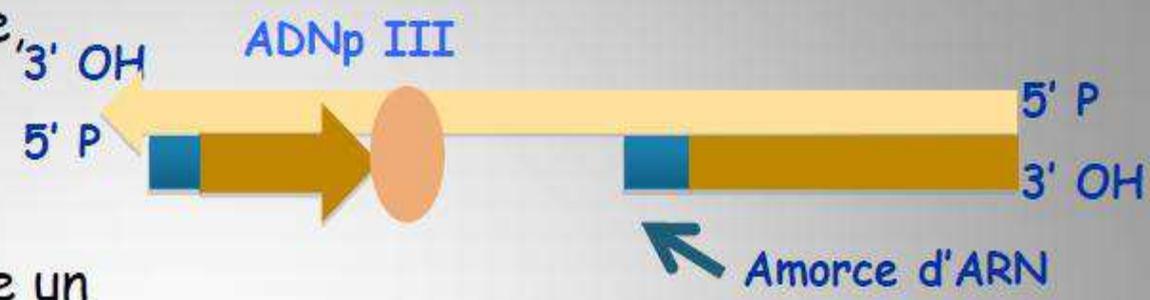
L'ADN polymérase I est constituée de 2 chaînes polypeptidiques (76 kdal et 36 kdal).

Le plus grand fragment (de Klenow) possède une activité de $3' \rightarrow 5'$ exonucléase et de $5' \rightarrow 3'$ polymérase.

Le petit fragment est une $5' \rightarrow 3'$ exonucléase.

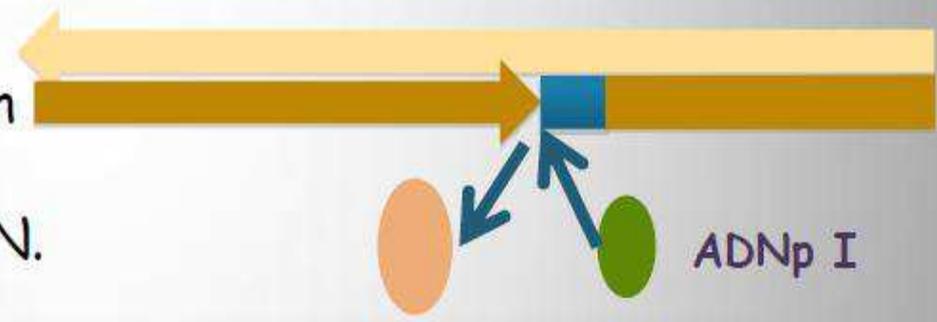


Après la synthèse de l'amorce, la primase est remplacée par ADNp III (dnTP).

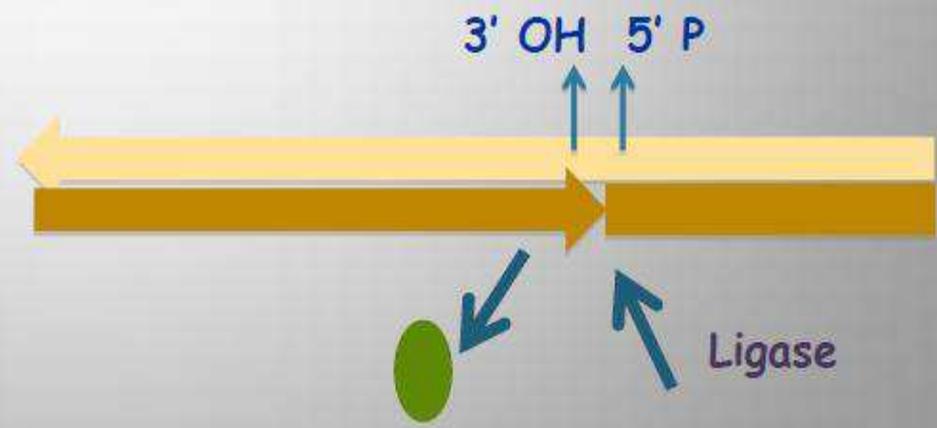


>>> Synthèse jusqu'à atteindre un ADN précédemment synthétisé.

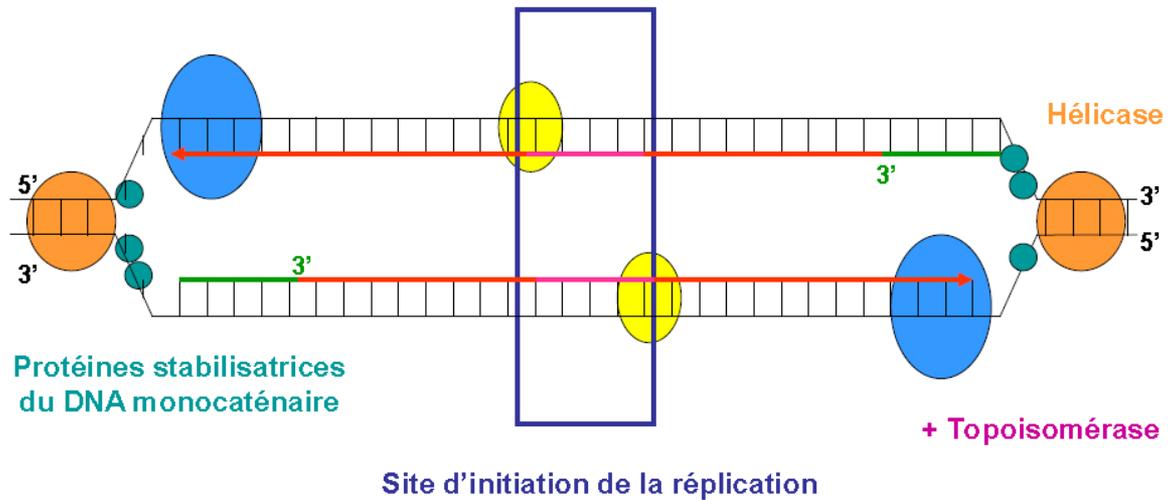
L'ADN pol I prend alors le relais en continuant la synthèse de l'ADN pendant qu'elle enlève l'amorce ARN.



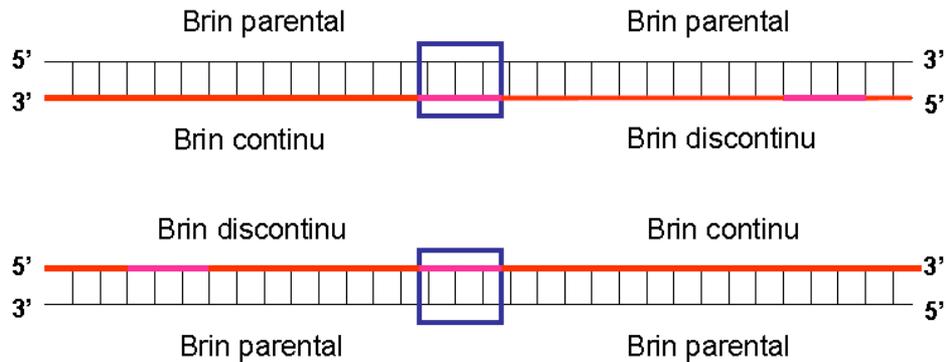
L'ADN ligase remplace la pol I après que l'amorce a été enlevée et soude les deux fragments ensemble.



**LIAISON DE L'EXTREMITÉ 3' DU DNA
A L'EXTREMITÉ 5' DU BRIN CONTINU
à l'aide d'une **LIGASE****



LA REPLICATION EST SEMI-CONSERVATIVE

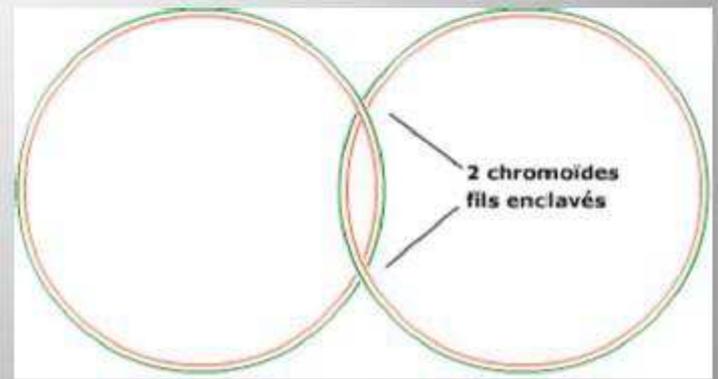


LE **NOUVEAU BRIN** DU DNA RENFERME
UNE PARTIE SYNTHETISEE DE FACON CONTINUE
ET UNE AUTRE PARTIE SYNTHETISE DE FACON DISCONTINUE

- Terminaison de la réplication

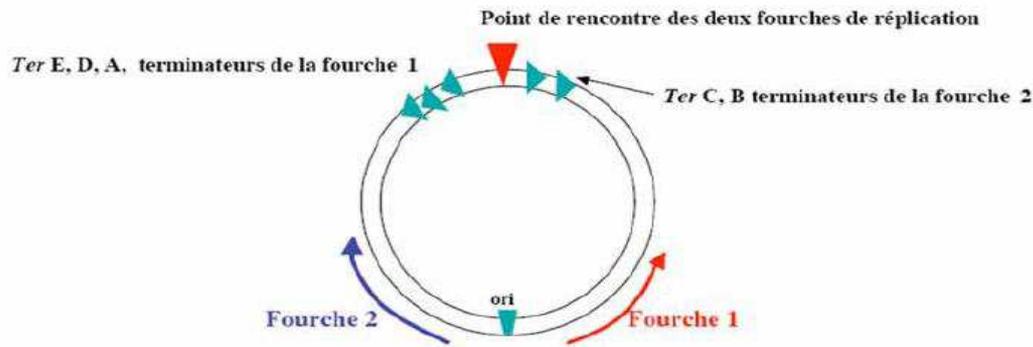
- ❖ Au niveau d'une séquence TER située à l'opposé de l'origine de réplication reconnu par la protéine Tus qui met fin à la réplication
- ❖ Rencontre de 2 fourches de réplication (Topoisomérase type IV assure la ligation)
- ❖ Lorsque la réplication d'un chromosome circulaire est terminée, les 2 molécules obtenues sont reliées ensemble, comme les maillons d'une chaîne.

>>> La séparation se fait par une topoisomérase

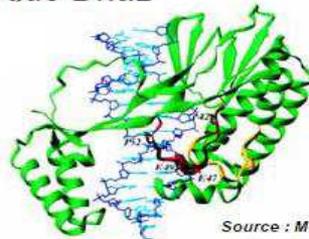


4. Terminaison

- ❖ Présence de séquences « terminator » pour chacune des deux fourches



- ❖ La protéine Tus (terminator utilisation substance) reconnaît les séquences d'arrêt de réplication et bloque DnaB



Source : Mulugu et coll., PNAS 2001

- ❖ Intervention d'une topoisomérase IV pour catalyser la séparation des 2 chromosomes

Réplication d'ADN chez les Eucaryotes

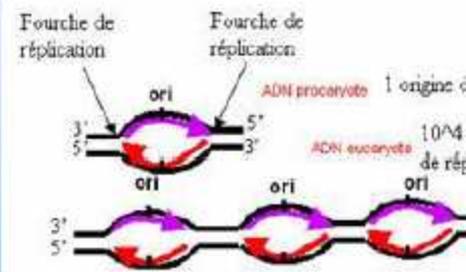
- **Plusieurs origines de réplication,**
- **20 à 80 unités de réplication, séparées par 30 à 300 Kb**
- **5 différentes DNA polymérases chez les Eucaryotes,**

VI- Réplication chez les eucaryotes:

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)



- Plusieurs polymérases agissant simultanément tout en ayant des fonctions différentes:

α : synthèse de l'amorce, élongation et réparation de l'ADN;

β : réparation de l'ADN,

γ : réplication de l'ADN mitochondriale ...

δ : Élongation des brins plus réparation de l'ADN

ϵ : Réparation et remplacement de l'ARN au niveau du brin retardé

(Similaire à Pol)

Les ADN Polymérase eucaryotes

Alpha: synthèse de l'amorce et réparation de l'ADN

Bêta: réparation de l'ADN

Gamma: réplication de l'ADN mitochondrial

Delta: Élongation des brins Leading et lagging,
+ réparation de l'ADN

Epsilon: réparation et remplacement de l'ARN au niveau du brin lagging (similaire à Pol I).

Ic] ADN polymérase eucaryotes supérieu

-DNApol β : réparation de l'ADN, pas d'activité exonucléase.

Levure ADN pol II

-DNApol ϵ : synthèse du brin continu. réparation

-DNApol γ : ADN mitochondrial.

-DNApol α -primase: complexe qui synthétise des amorces d'ARN-ADN pour le brin avancé (précoce), synthétise les fragments d'Okazaki du brin retardé (tardif). Pas d'activité exonucléase. Primase

Levure ADN pol I

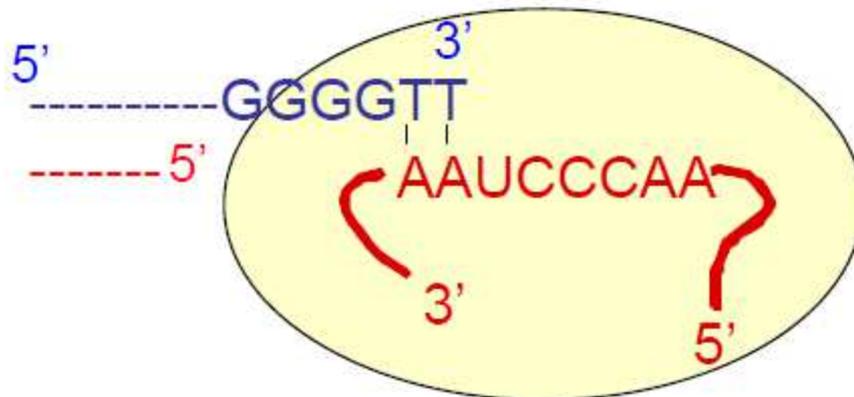
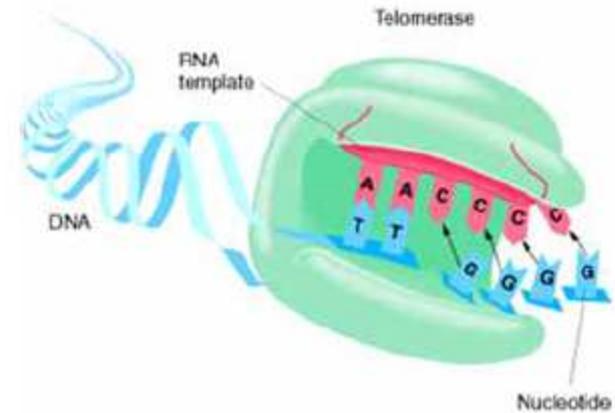
-DNApol δ : principale, brin retardé, possède une activité 3' 5' exonucléase. (Pol III). Intervient également dans la réparation.

Levure ADN pol III

❖ L'ADN des télomères contient des séquences répétées

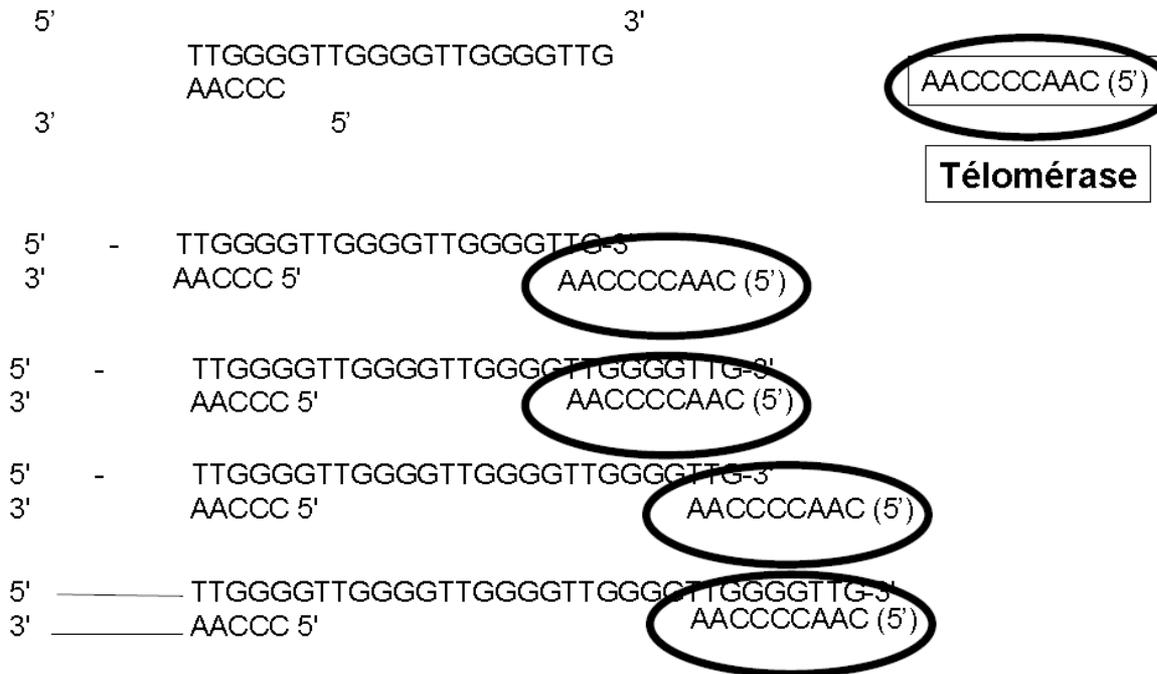


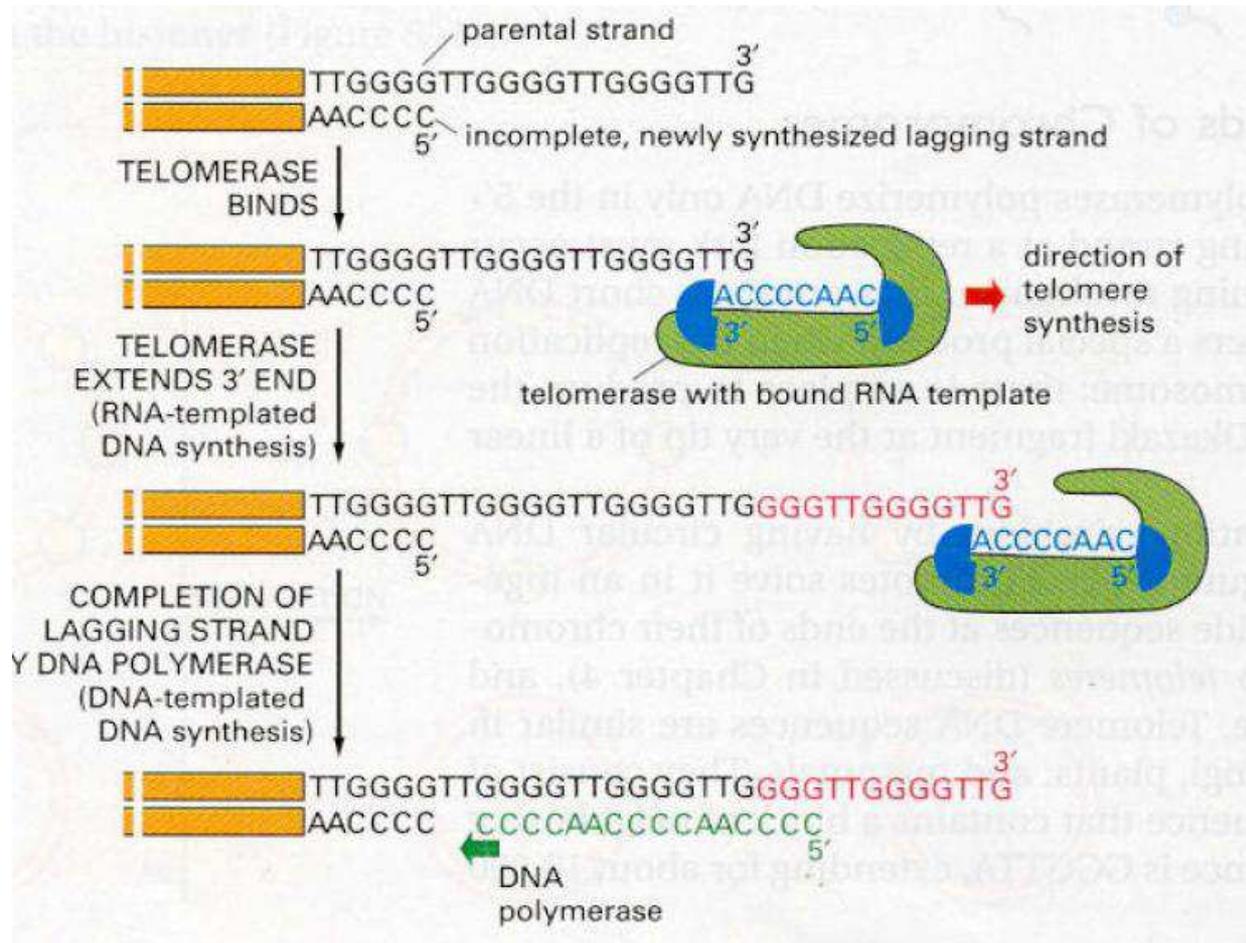
❖ télomérase à ARN possédant une activité reverse-transcriptase



1. Appariement de l'ARN de la télomérase avec l'extrémité 3'

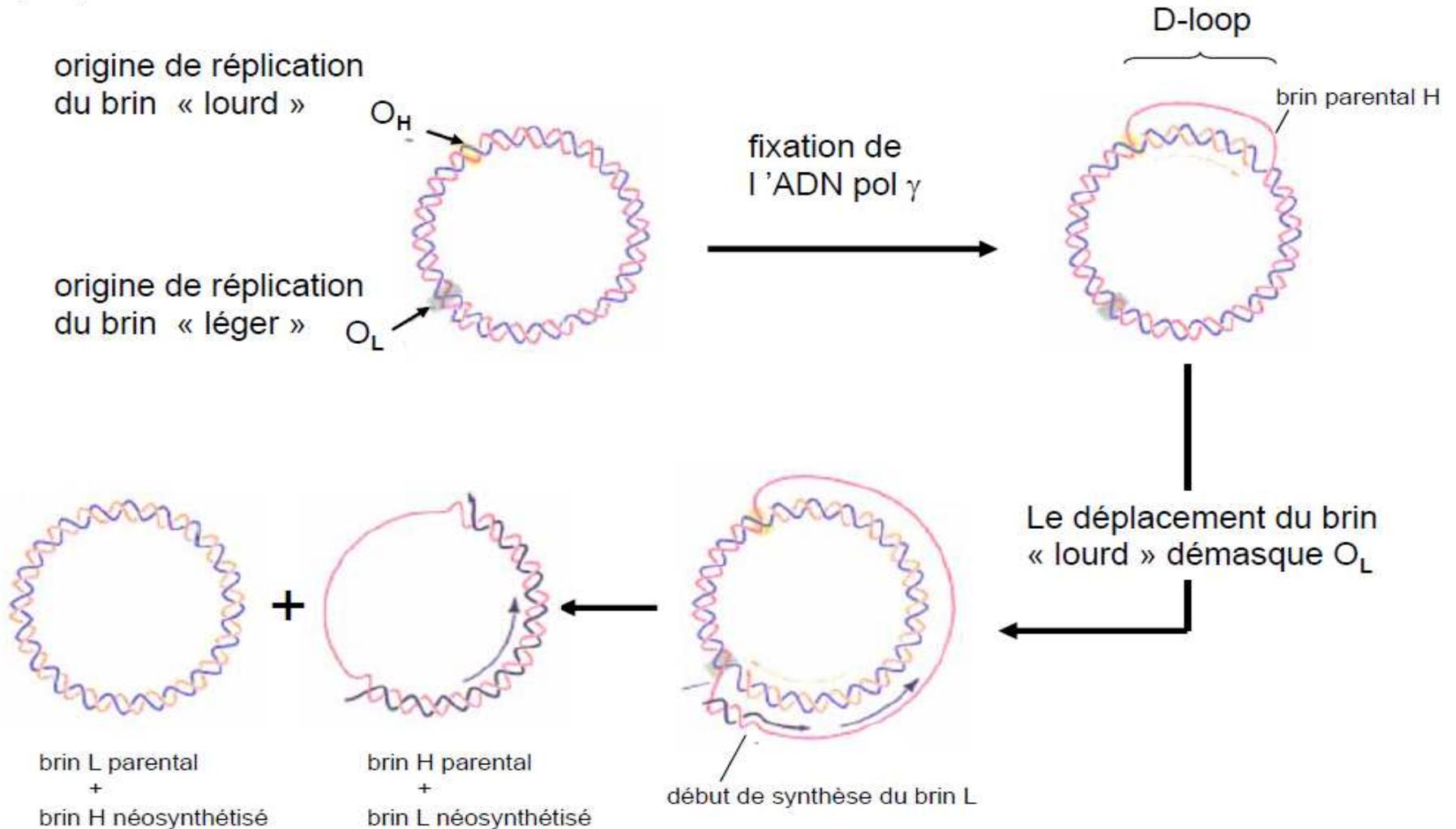
Mécanisme d'action de la télomérase





III. Réplication de l'ADN mitochondrial

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



❖ Réplication de l'ADN

- 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 (origines de réplifications, polymérases, facteurs associés...)

❖ Cas particuliers de la réplication du matériel génétique

- savoir expliquer le mécanisme de la réplication des extrémités télomériques
- savoir définir les spécificités de la réplication de l'ADN mitochondrial (origines de réplication, structure intermédiaire à 3 brins, ADN polymérase spécifique)
- connaître le principe de la réplication du matériel génétique des virus à ARN et savoir définir l'activité d'une reverse transcriptase

