

UE1 : Biochimie – Biologie moléculaire

Chapitre 3 :
**La réplication
du matériel génétique**

Professeur Joël LUNARDI

Année universitaire 2011/2012

Université Joseph Fourier de Grenoble - Tous droits réservés.

Chapitre 3

I. Réplication de l'ADN chez les procaryotes

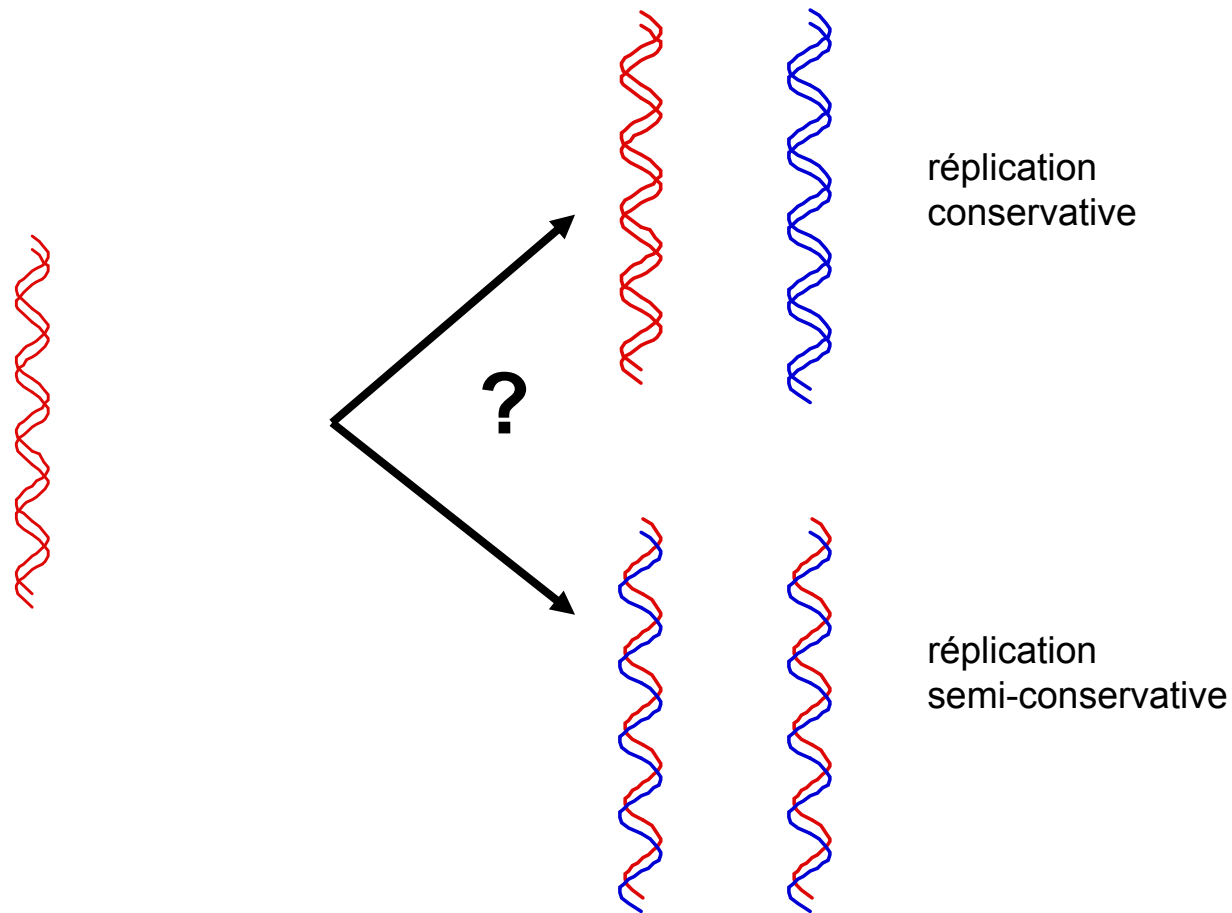
II. Réplication de l'ADN chez les eucaryotes

III. Réplication de l'ADN mitochondrial

IV. Réplication à partir d'ARN

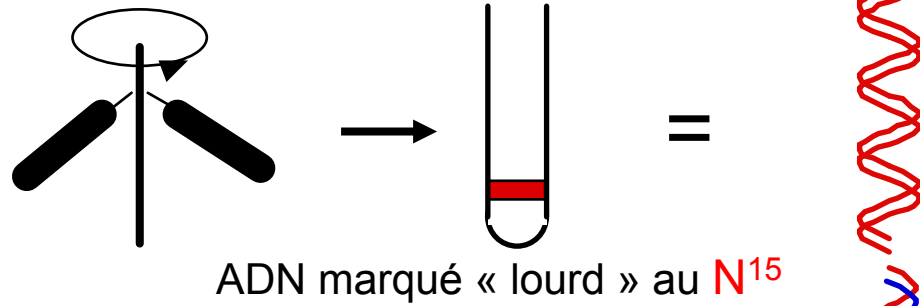
“Il n’a pas échappé à notre attention que l’appariement spécifique des bases dans l’ADN, suggère un possible mécanisme de copie du matériel génétique”

J. Watson et F. Crick

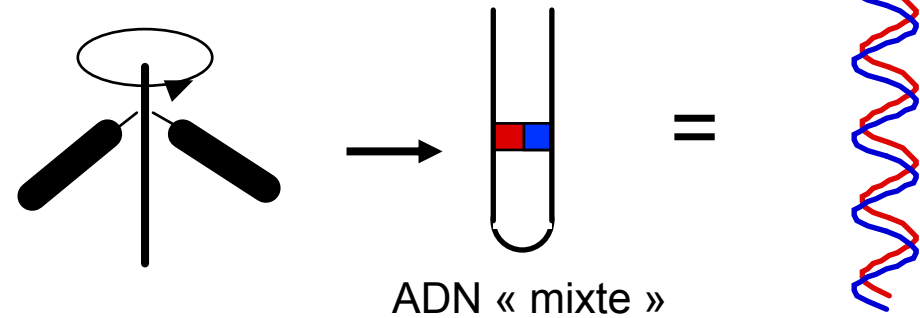


Mise en évidence expérimentale de la réplication **semi conservative** chez les bactéries par Meselson et Stahl (1957)

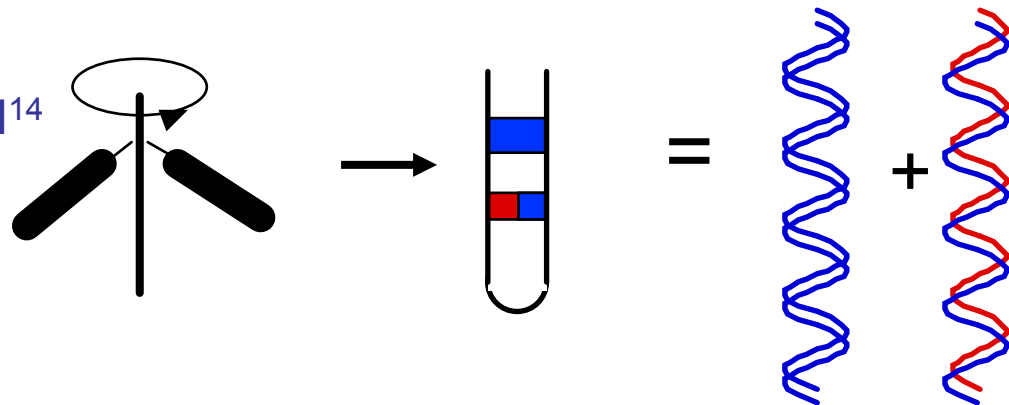
1. culture en milieu N^{15}



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



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



ADN parental

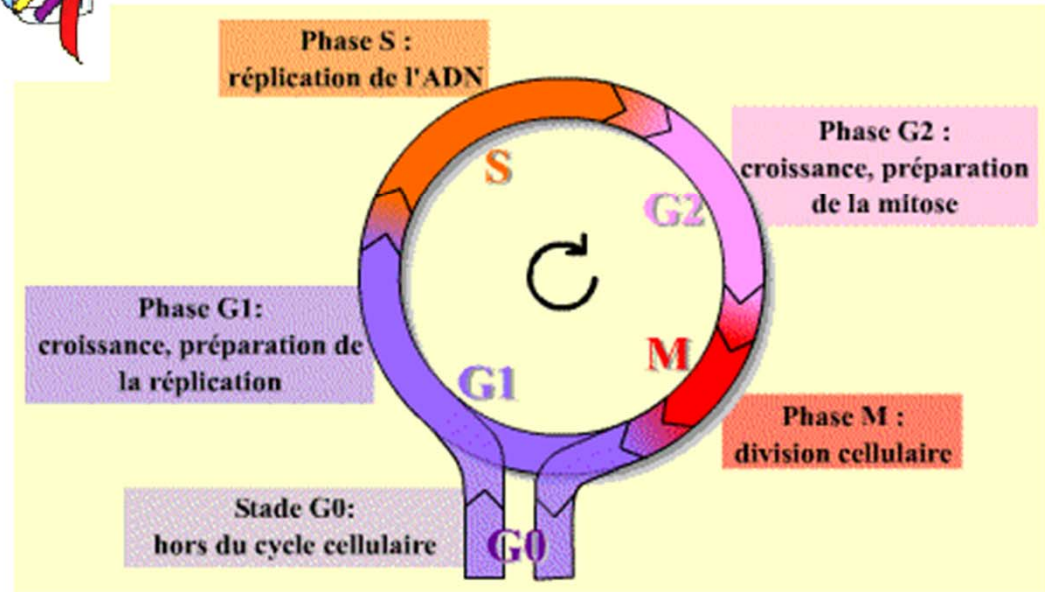
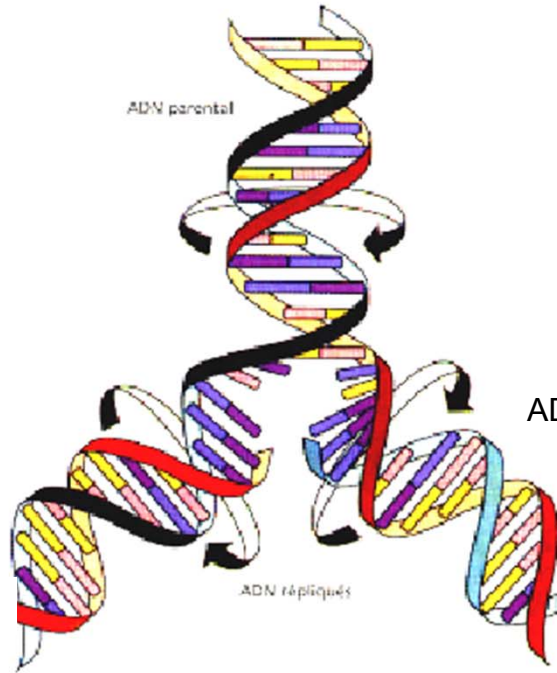
ADN parental

chaque nouveau double brin
comportera un brin parental et
un brin nouvellement synthétisé

ADN répliqué

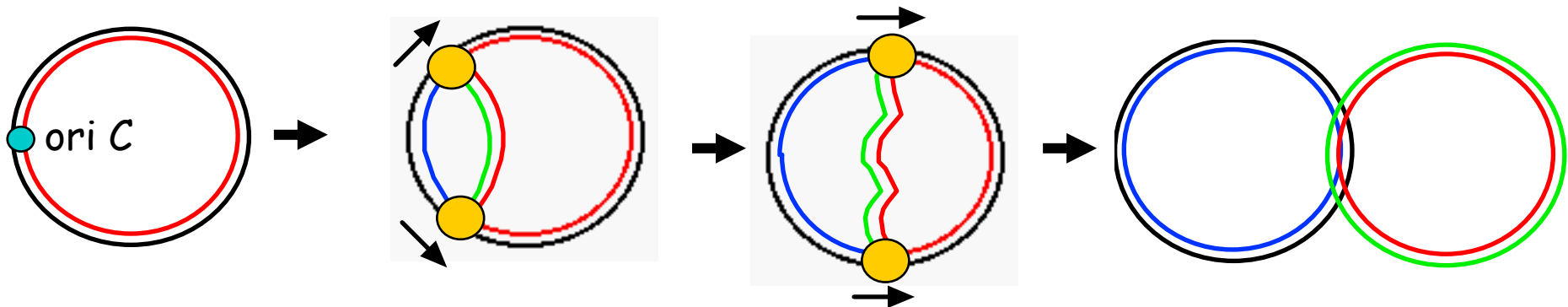
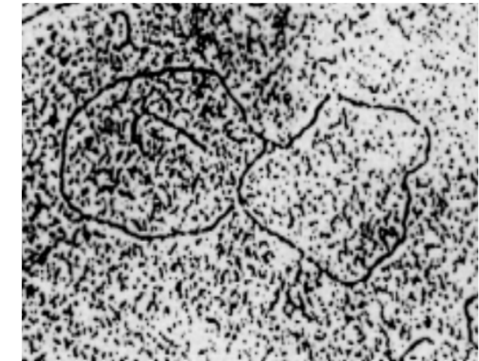
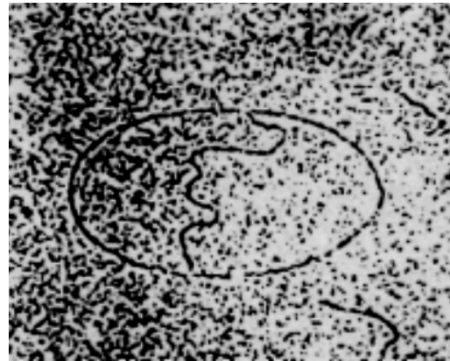
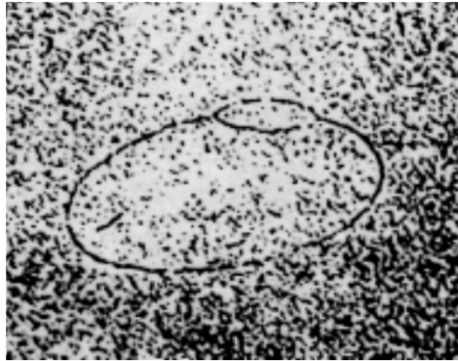
ADN répliqué

ADN répliqués



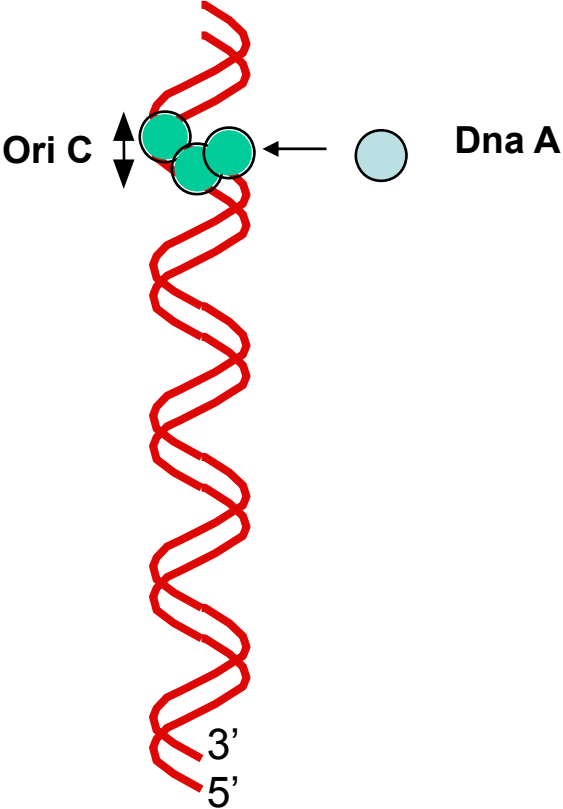
I. La réplication chez les procaryotes

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

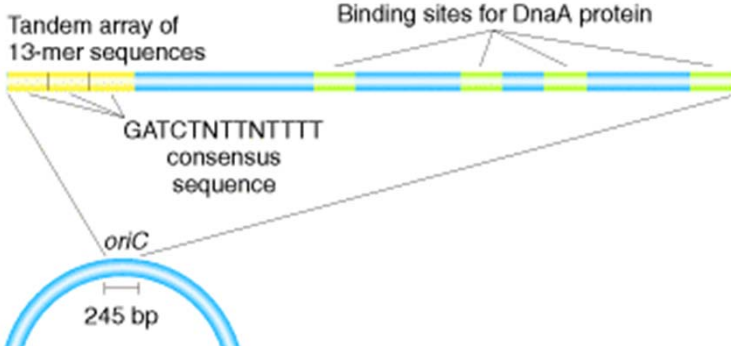


- 1 seule origine par chromosome : ori C
- réplication bidirectionnelle
- réplication rapide (≈ 1000 bases/s; 20 à 100 min)
- 1 séquence de terminaison

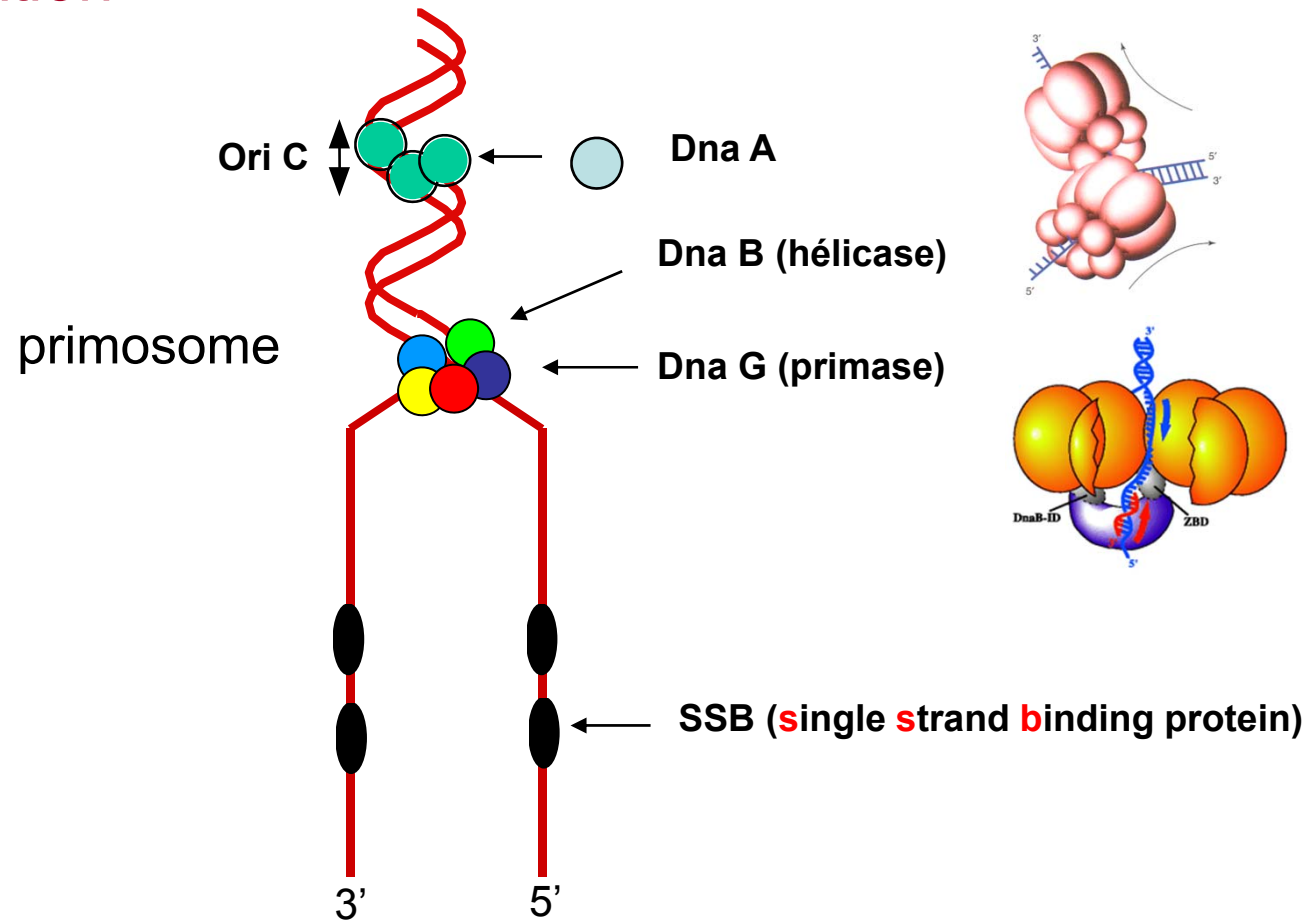
2. Phase d'initiation



1. reconnaissance de la séquence d'origine

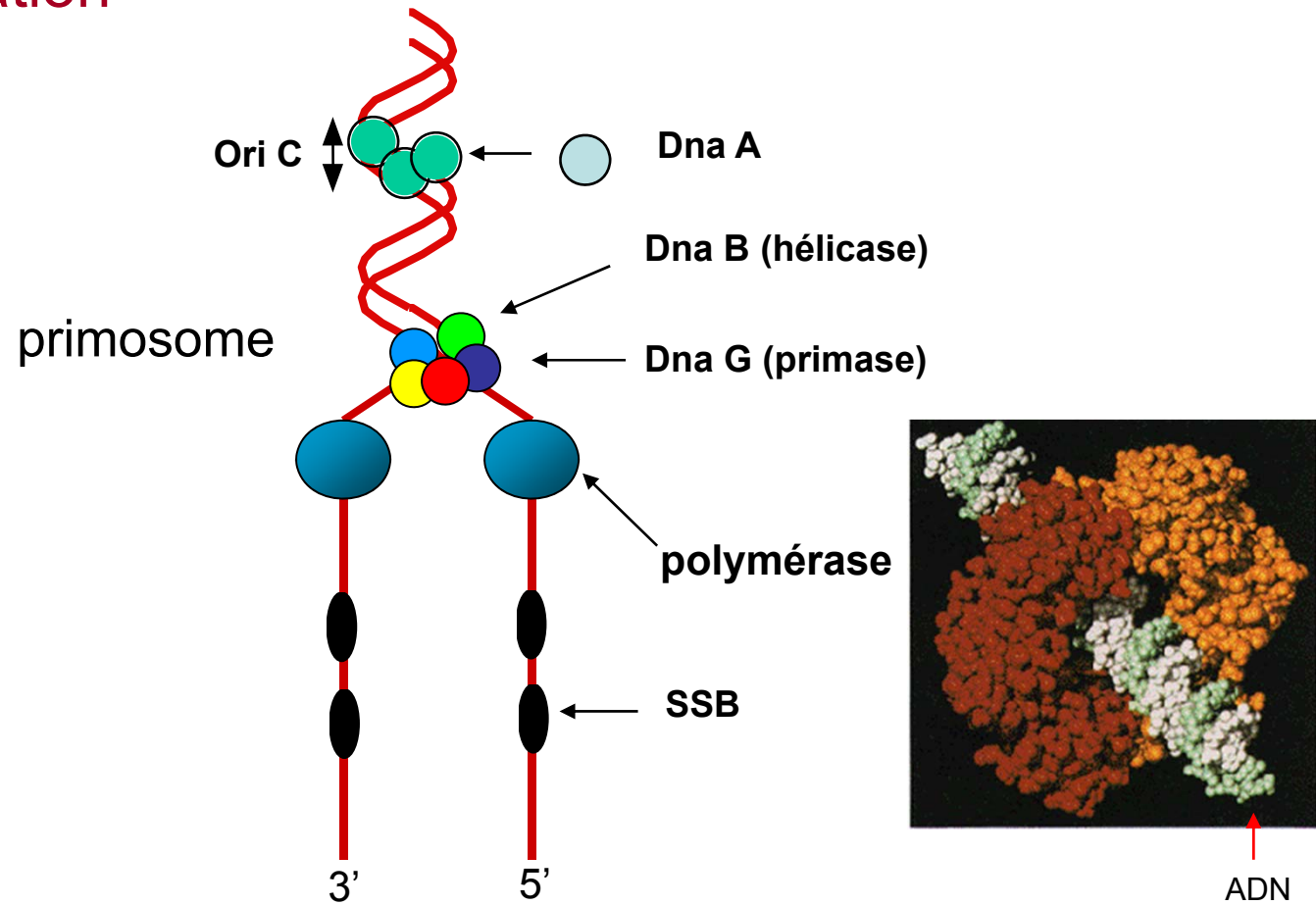


2. Phase d'initiation



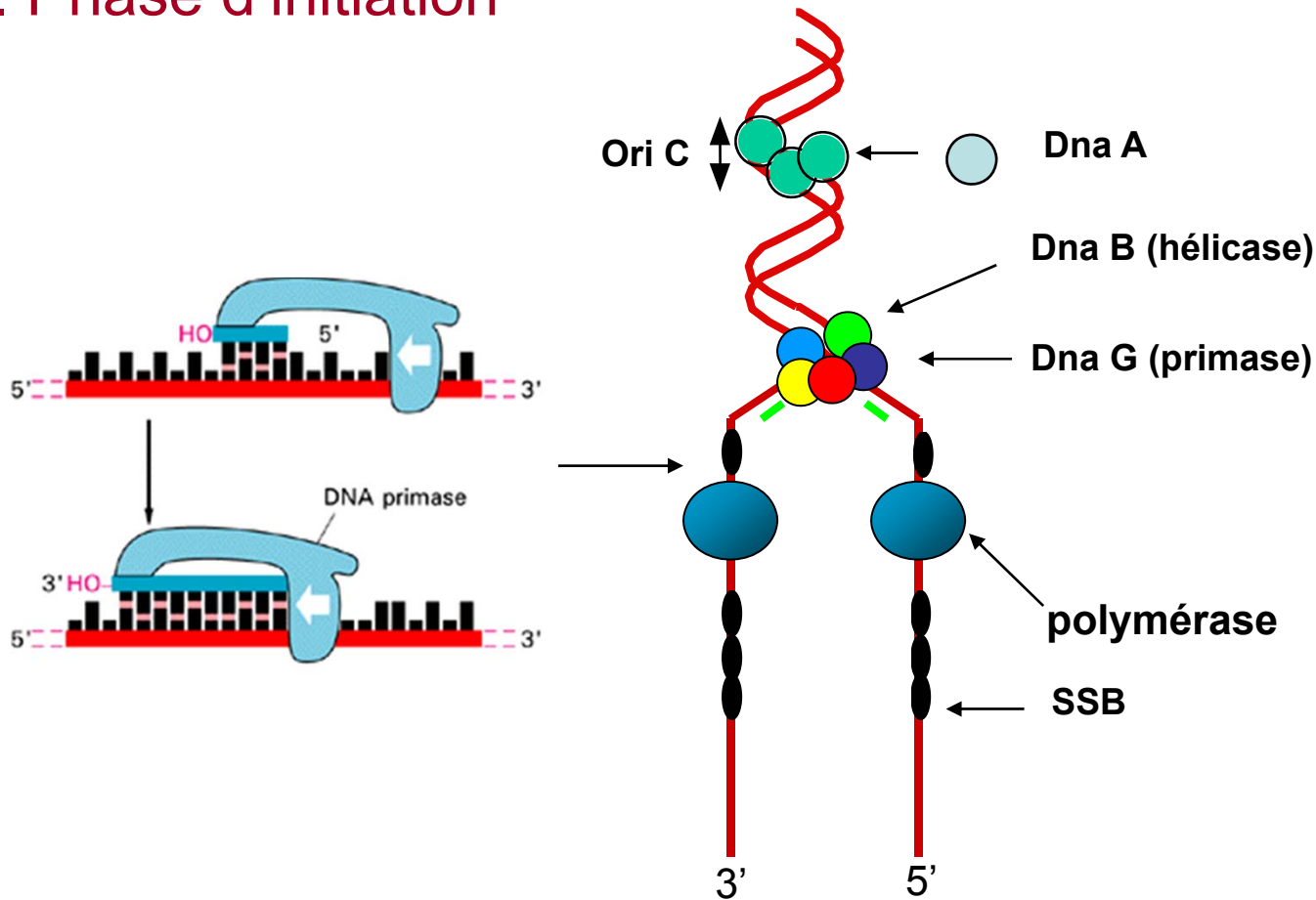
1. reconnaissance de la séquence d'origine
2. formation du primosome, ouverture du double brin et stabilisation des brins

2. Phase d'initiation



1. reconnaissance de la séquence d'origine
2. formation du primosome, ouverture du double brin et stabilisation des brins
3. **accrochage de l'ADN polymérase**

2. Phase d'initiation



1. reconnaissance de la séquence d'origine
2. formation du primosome, ouverture du double brin et stabilisation des brins
3. accrochage de l'ADN polymérase
4. **synthèse d'une amorce ARN par la primase**

3. Elongation

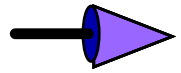
➤ L'élargissement nécessite:

- 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

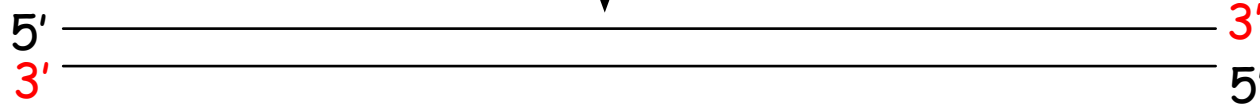
Tableau récapitulatif des principales polymérases procaryotes (il existe d'autres polymérases : Pol IV et V)

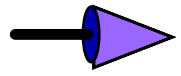
- matrice formée par 1 simple brin, dNTP, Mg⁺⁺
- amorce ARN avec OH libre en 3'
- hélicases, gyrases (topoisomérase) ...



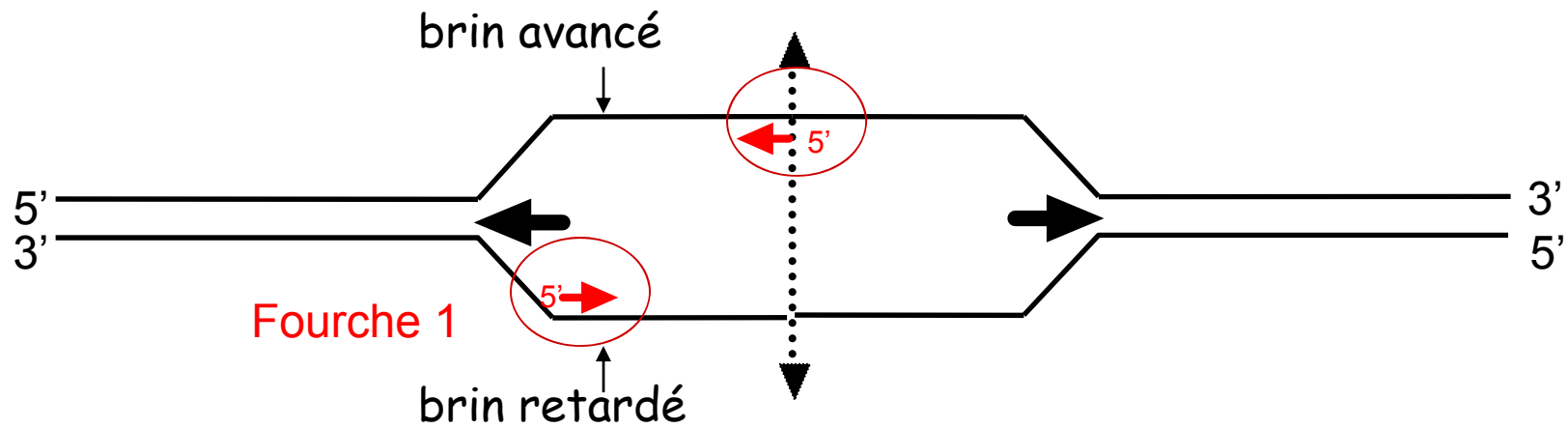
L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »

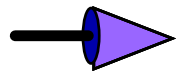
origine de la réplication



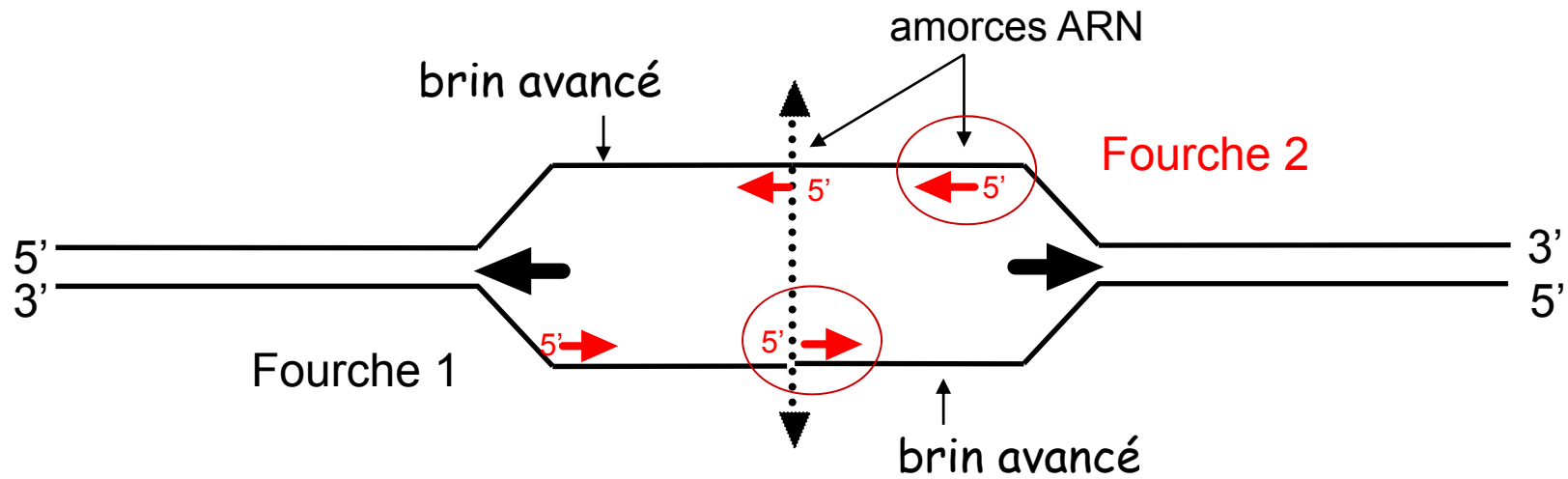


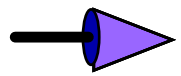
L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »



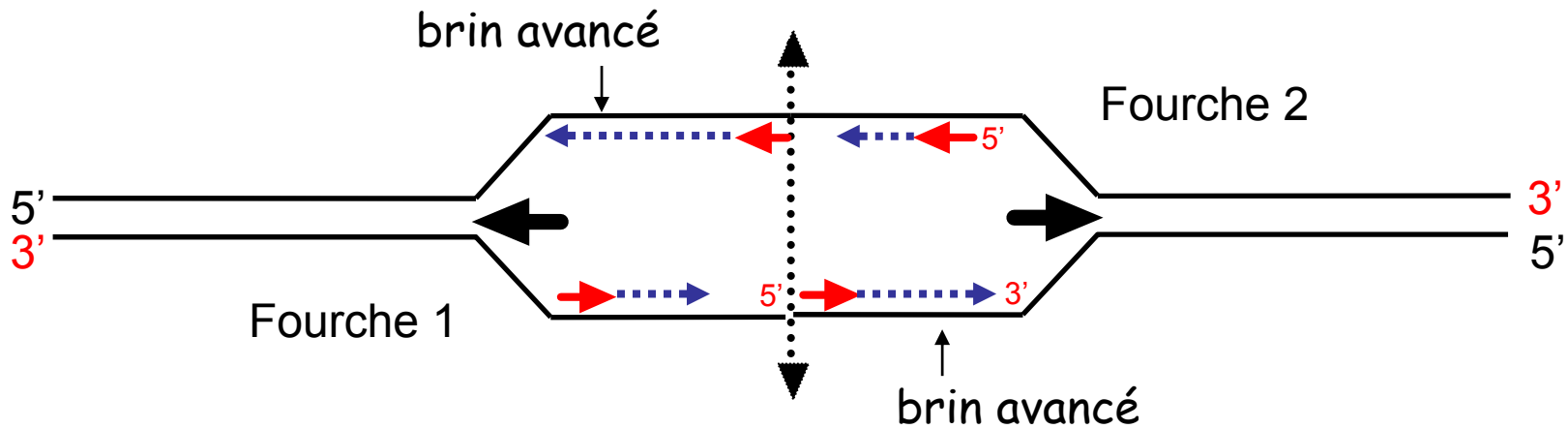


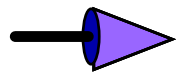
L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »



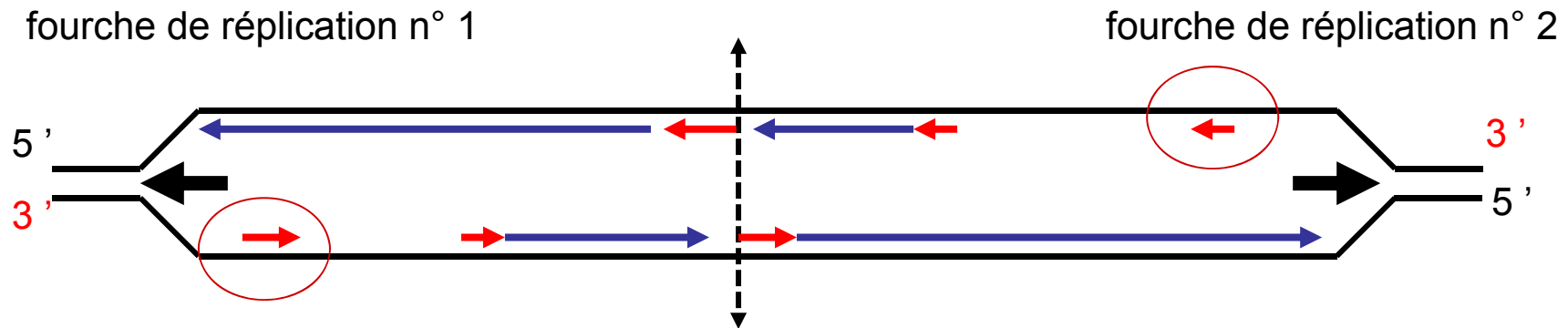


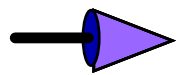
L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »



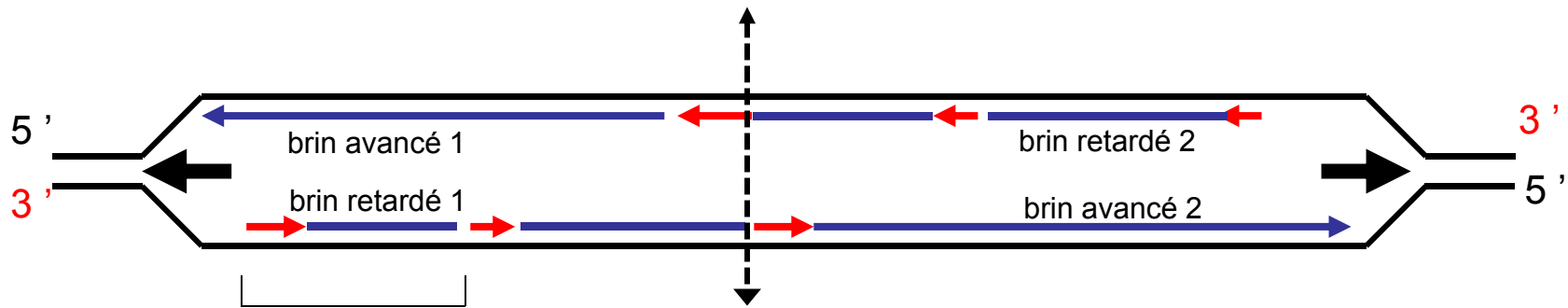


L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »

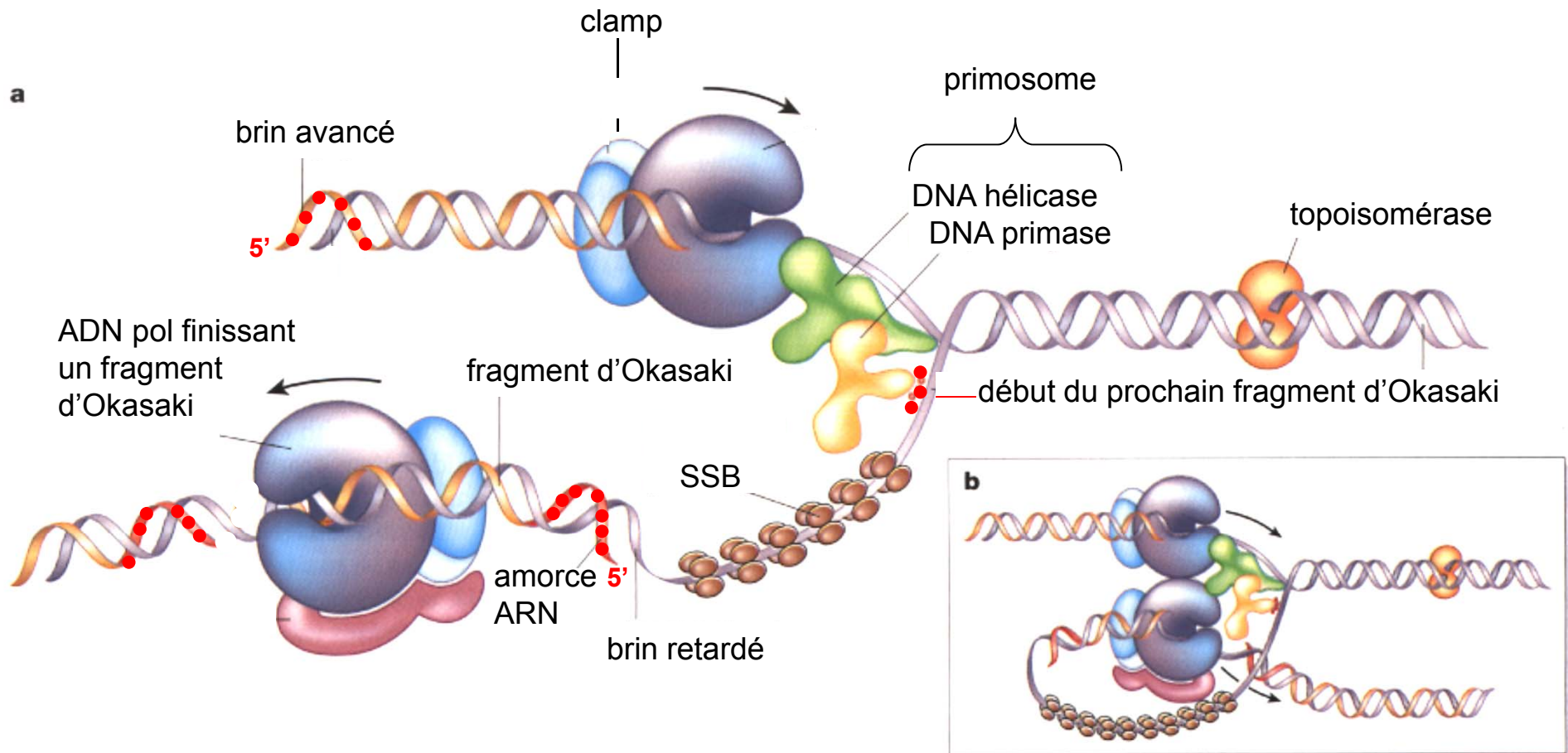




L'élongation est mono directionnelle $5' \rightarrow 3'$ sur chacun des brins : la synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »



fragment d'Okasaki : ARN + ADN



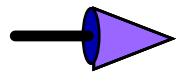
- **brin avancé : extension continue**
- **brin retardé : extension discontinue du brin néosynthétisé par fragments d'Okasaki**

Vidéos :

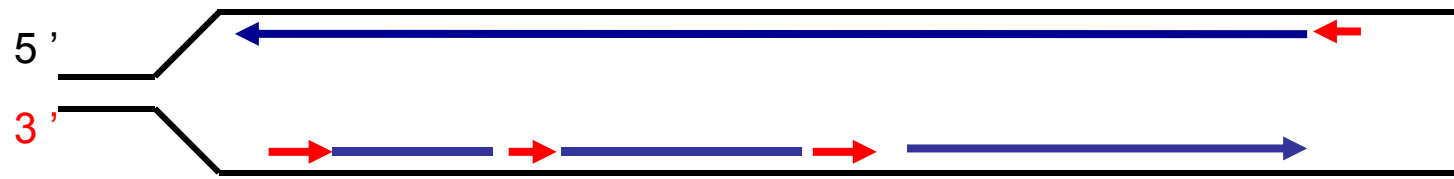
http://intellego.fr/soutien_scolaire/aide_scolaire_svt/videos_sur_la_duplication_ou_replication_de_l_adn/41117

<http://www.youtube.com/watch?v=teV62zrm2P0>

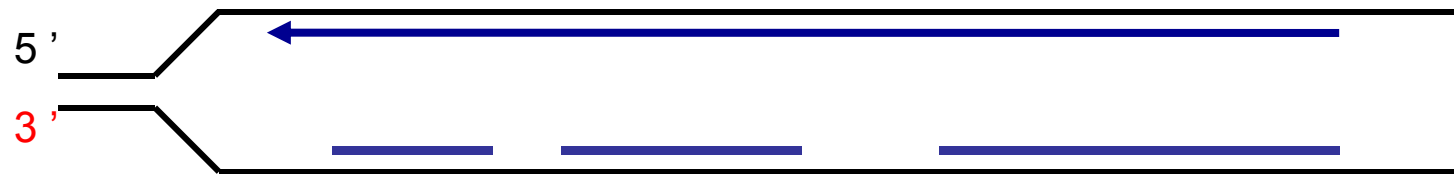
http://www.wehi.edu.au/education/wehitv/molecular_visualisations_of_dna/



finition du brin



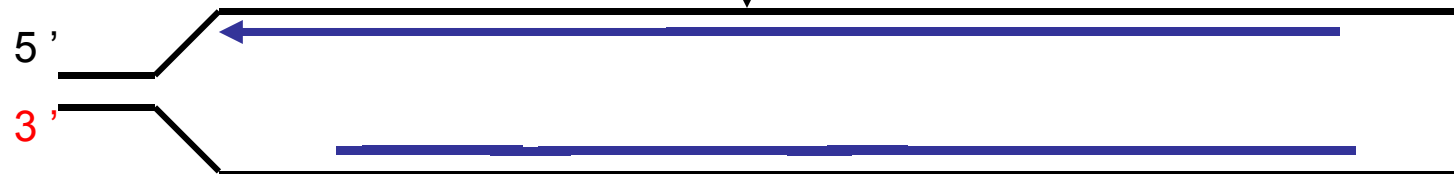
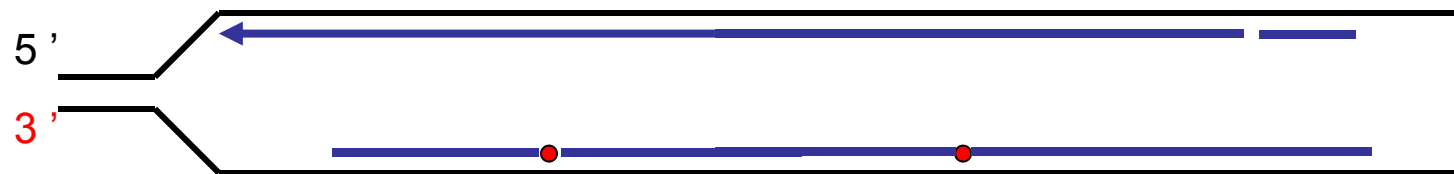
digestion des amorces ARN (RNase H, ADN pol I)



« reconstruction » par ADN Pol I (5' → 3')

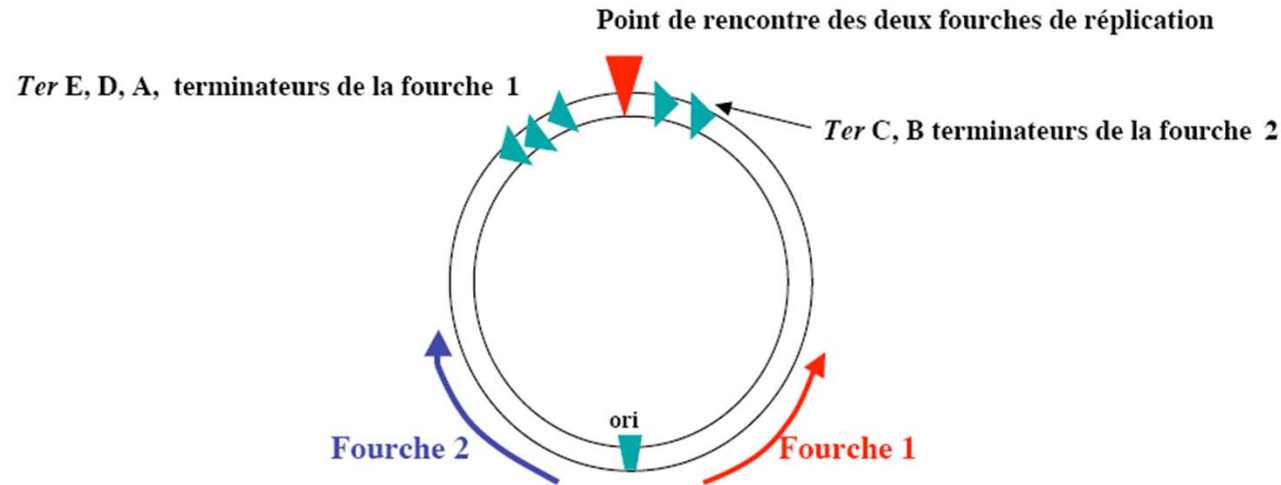


ligation des fragments (ligase + ATP)

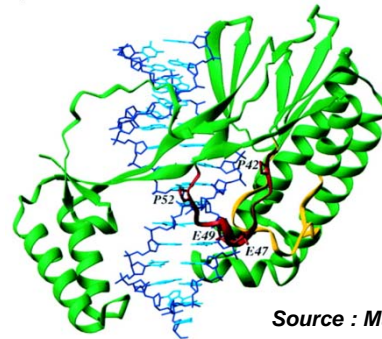


4. Terminaison

- ❖ 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

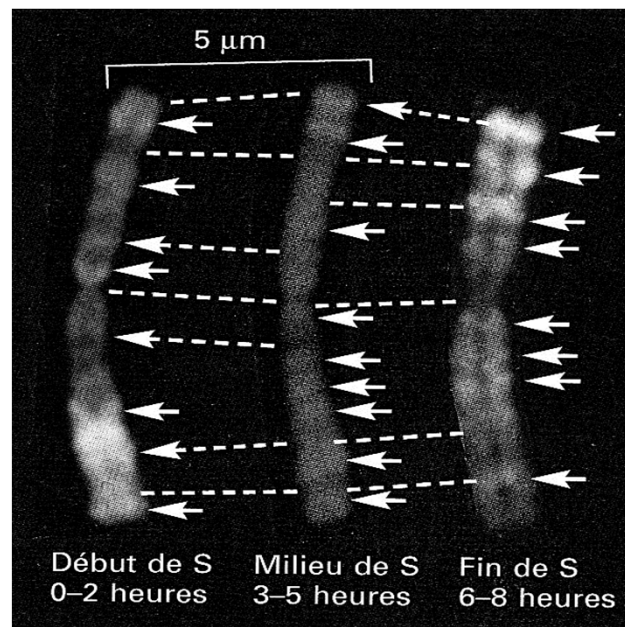


Source : Mulugu et coll., PNAS 2001

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

II. La réplication chez les eucaryotes

- le mécanisme général est \approx de celui des procaryotes
- la réplication a lieu pendant la phase S du cycle cellulaire
- présence de nombreuses régions (20 à 30 000 chez l'homme) capable de fixer le complexe de reconnaissance de l'origine (ORC) et définissant des unités de réplication d' \approx 100 à 200 kpb: les réplicons.
- présence de « minichromosome maintenance proteins » (MCM)
- l'activation de ORC/MCM est régulé par les cyclines et les « cyclin-dependent protein kinases » (voir cours de Bio Cellulaire)



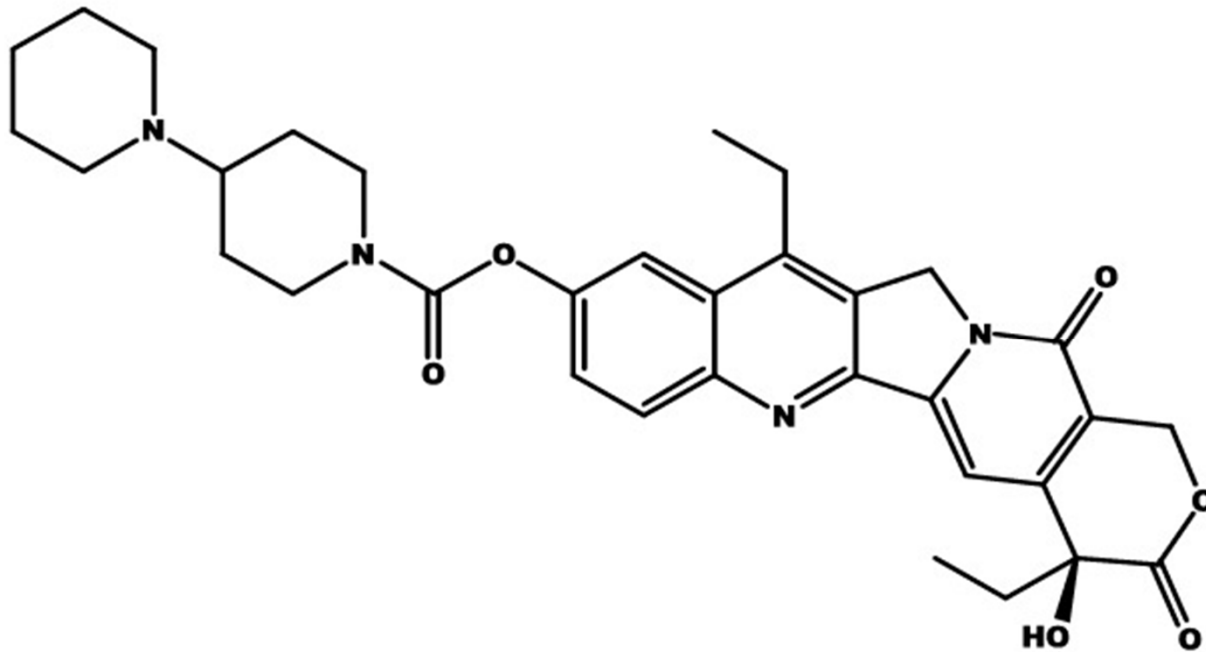
1. Les ADN polymérases

❖ ADN polymérases

		localisation	équivalent procaryote	activité	activité 3'-5' exonucléase	facteurs associés
α	= POLA	noyau	ADN Pol I	initiation	-	Primase, RP-A
β	= POLB	noyau		réparation , finition	-	
γ	= POLG	mitochondrie		synthèse, réparation	+	
δ	= POLD1	noyau	ADN Pol III	synthèse , finition	+	RF-C, PCNA
ϵ	= POLE	noyau	ADN Pol II	synthèse , réparation	+	
κ	= POLK	noyau		liaison des cohésines	?	
η, ι, ζ	= POLH, I, Z	noyau		réparation "by-pass »	?	
θ, λ	= POLQ, L	noyau		réparation	?	
σ	= POLS	noyau		cohésion des chromatides	?	

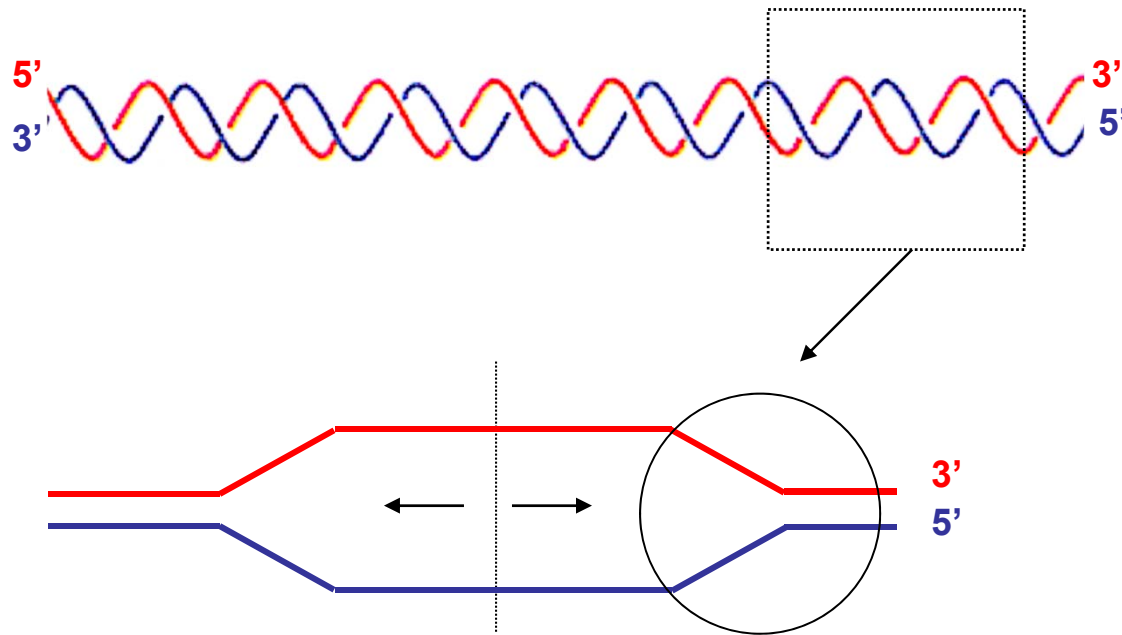
- ❖ élimination des amorces ARN par RNase H et l'exonucléase FEN1
- ❖ pas d'équivalent de séquence *ter* et de protéine TUS des procaryotes
- ❖ intervention de cohésines pour stabiliser les chromatides jusqu'à l'anaphase
- ❖ intervention de topo-isomérases de type I (A, B) et II
- ❖ répartition aléatoire des nucléosomes entre les deux nouveaux double brins

- ☞ Les topo-isomérases humaines sont la cible de certains agents de chimiothérapie anti-tumorale

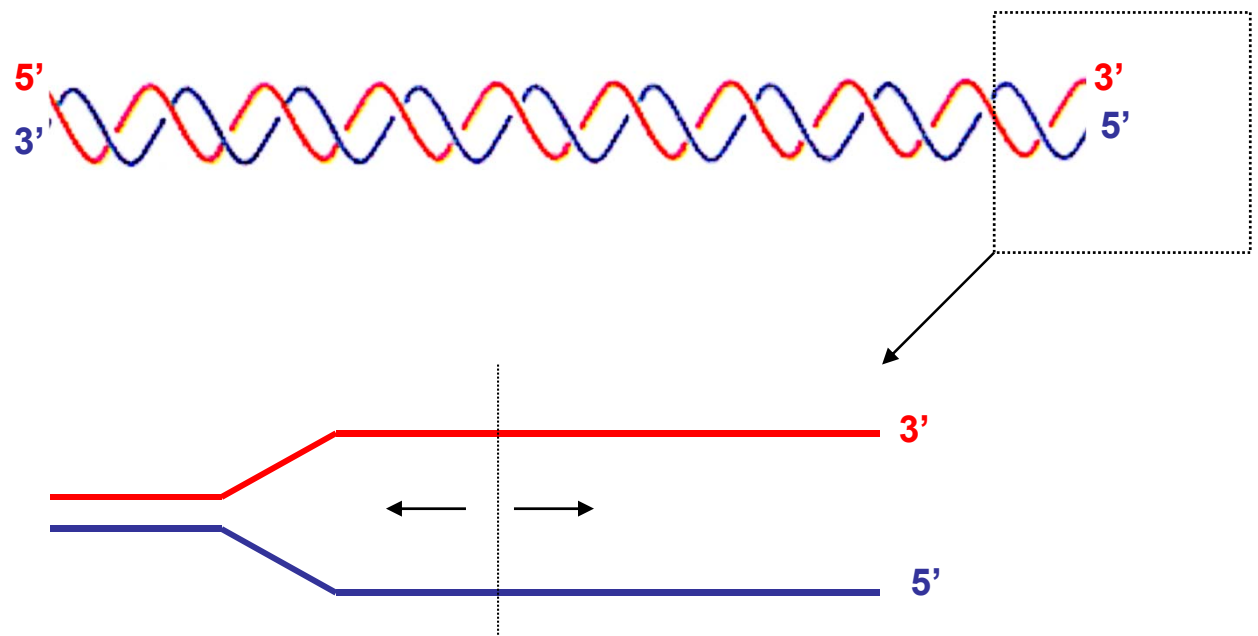


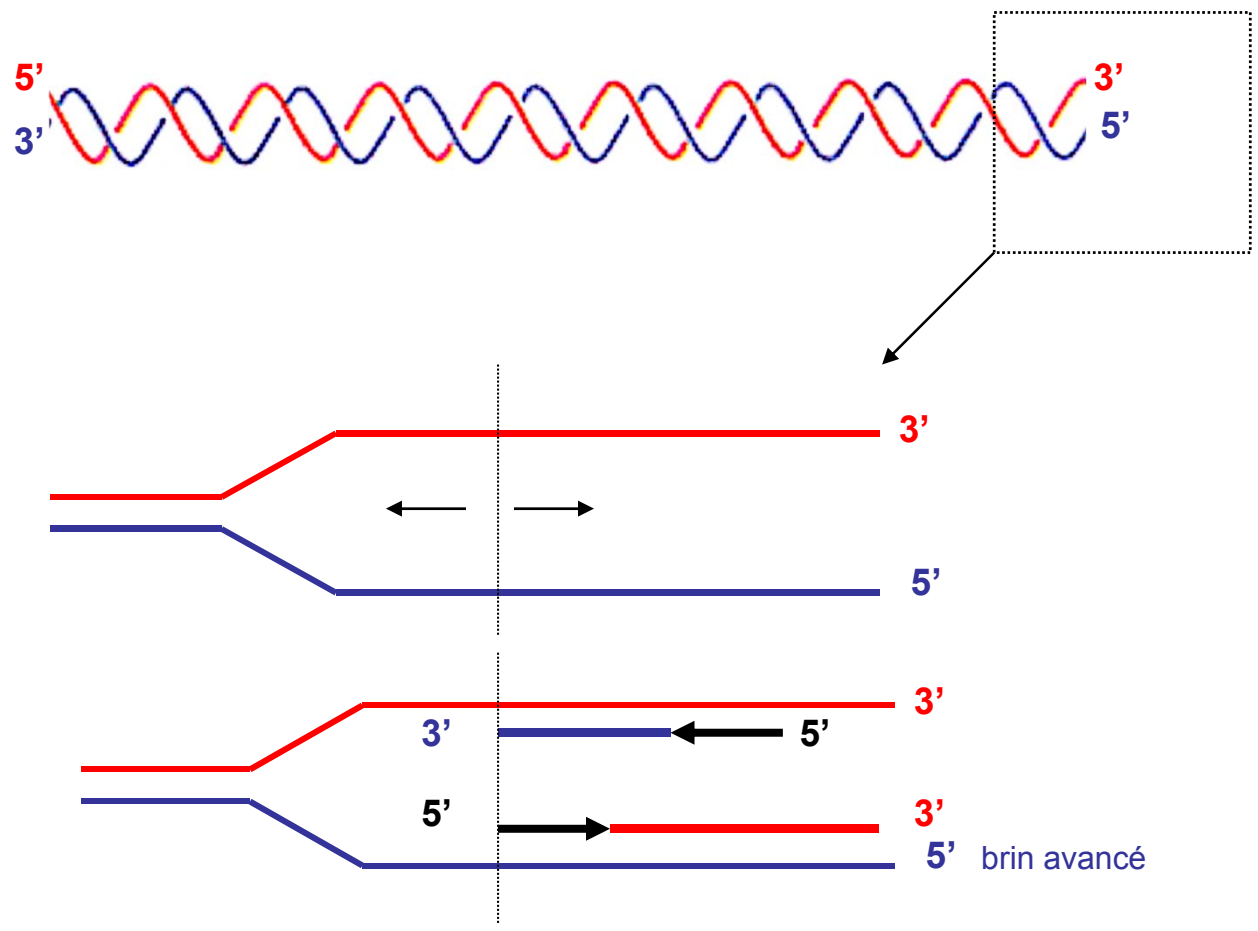
Exemple : irinotecan® (inhibiteur de la topo I humaine)

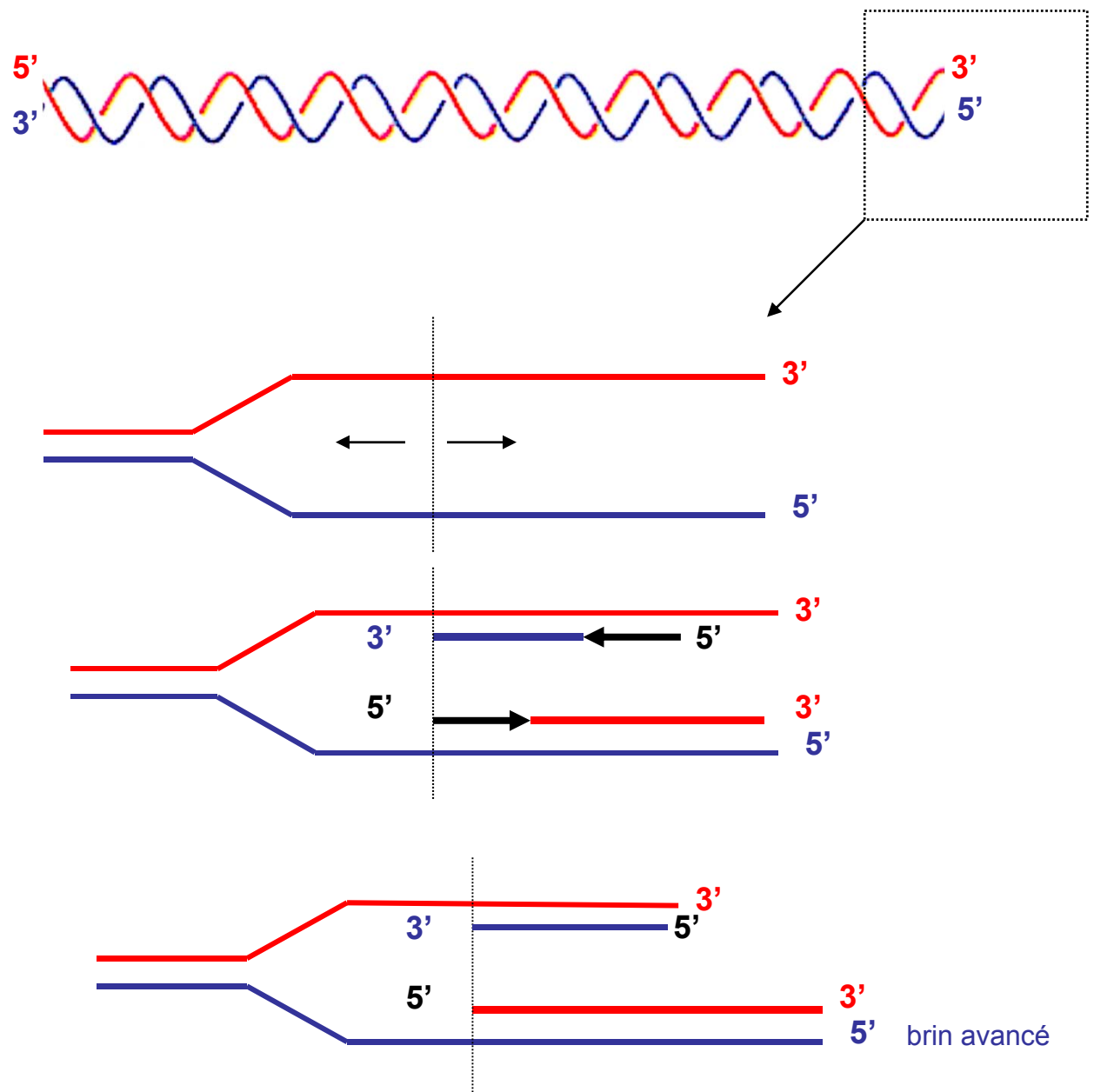
2. La réplication des extrémités télomériques



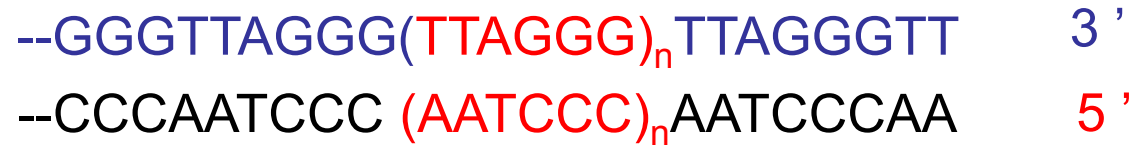
Le prix Nobel de Médecine et Physiologie 2009 est décerné à Elizabeth H Blackburn, Carol W Greider, Jack W Szostak pour « la découverte du mécanisme de protection des chromosomes par les télomères et la télomérase »



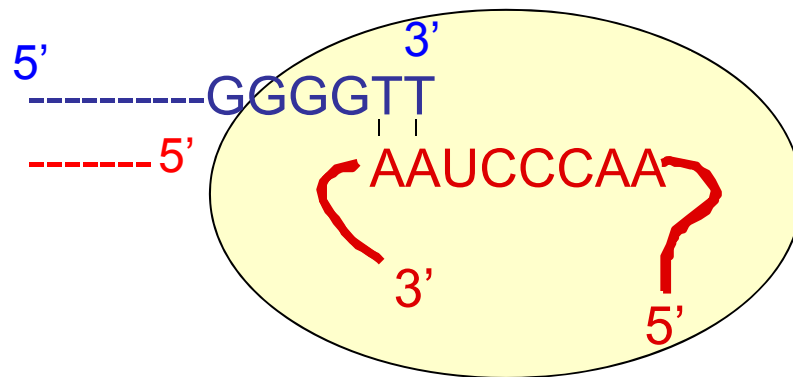
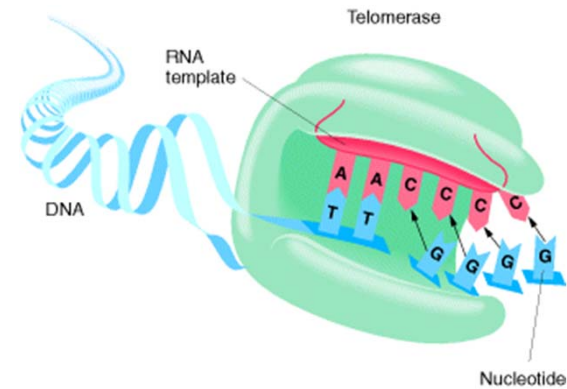




❖ L'ADN des télomères contient des séquences répétées



❖ télomérase à ARN possédant une activité reverse-transcriptase

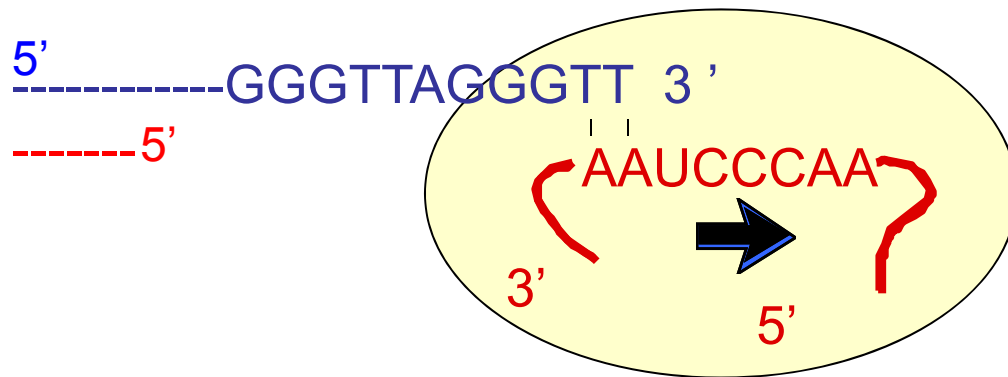
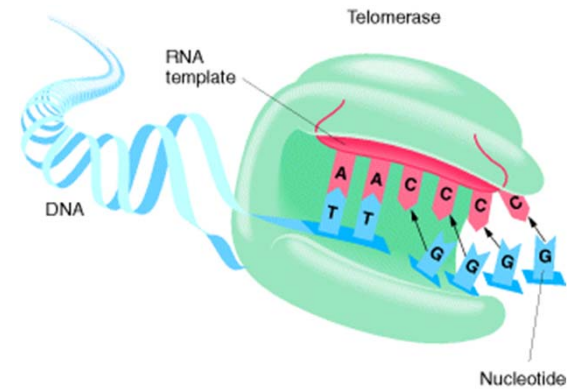


1. Appariement de l'ARN de la télomérase avec l'extrémité 3'

❖ L'ADN des télomères contient des séquences répétées



❖ télomérase à ARN possédant une activité reverse-transcriptase

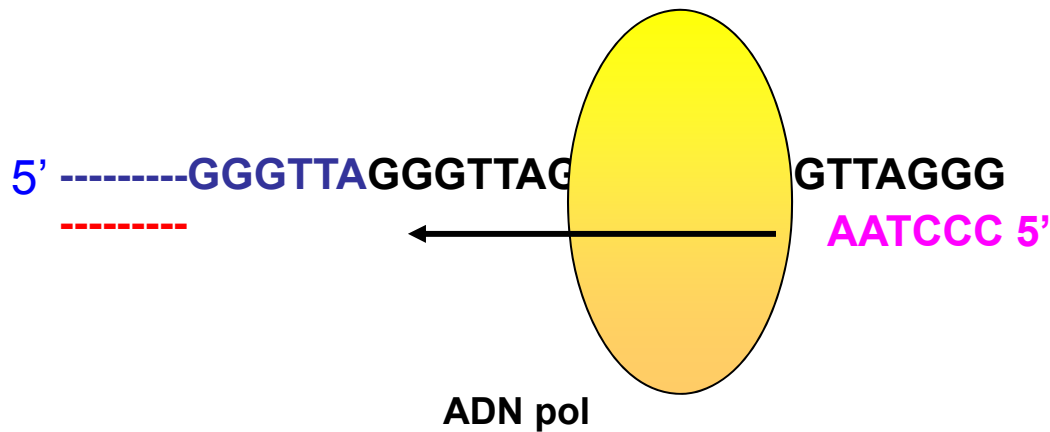
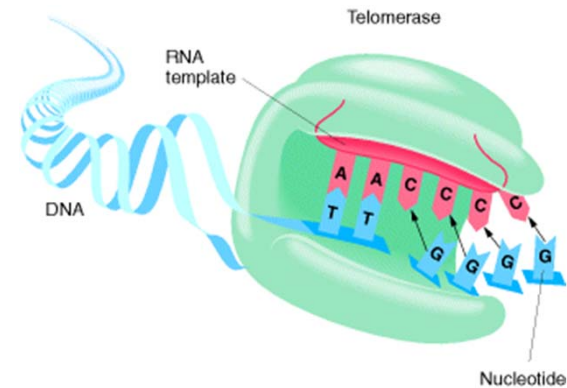


1. Appariement de l'ARN de la télomérase avec l'extrémité 3'
2. Elongation
3. Translocation

❖ L'ADN des télomères contient des séquences répétées



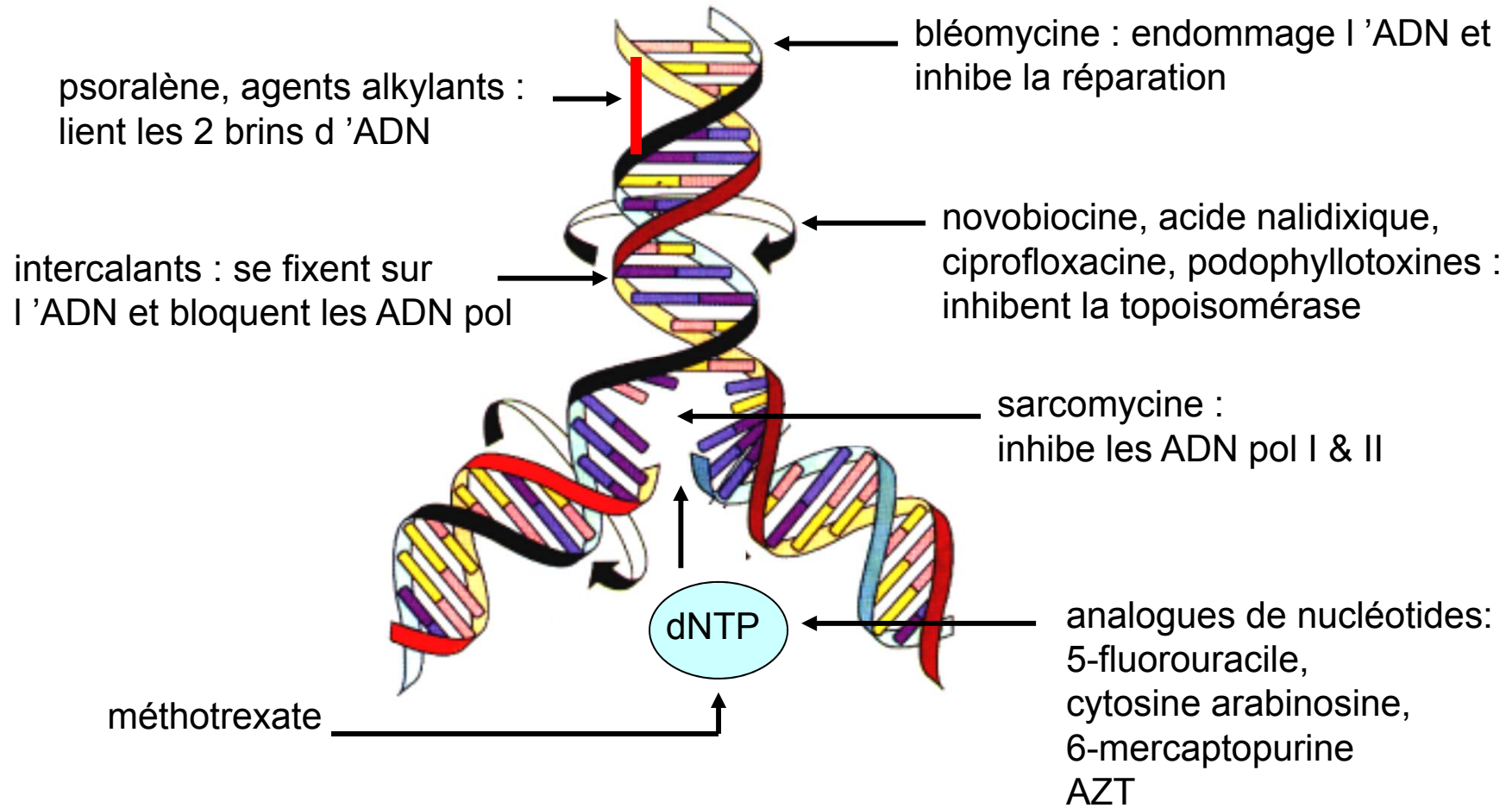
❖ télomérase à ARN possédant une activité reverse-transcriptase



1. Appariement de l'ARN de la télomérase avec l'extrémité 3'
2. Elongation
3. Translocation
4. Synthèse d'une amorce ARN puis fixation de l'ADN polymérase

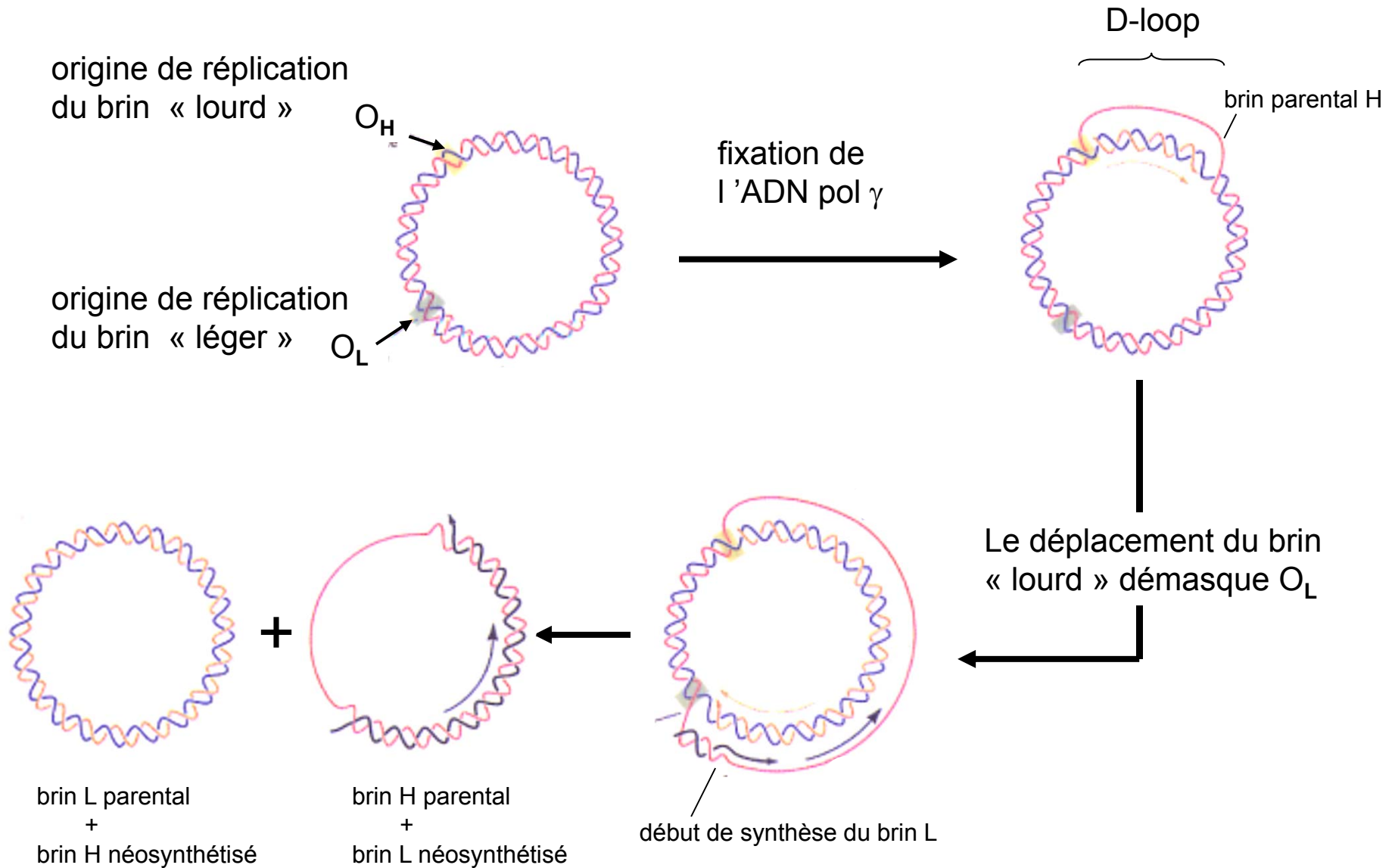
Vidéo : <http://www.youtube.com/watch?v=AJNoTmWsEOs>

3. La réplication est une cible thérapeutique

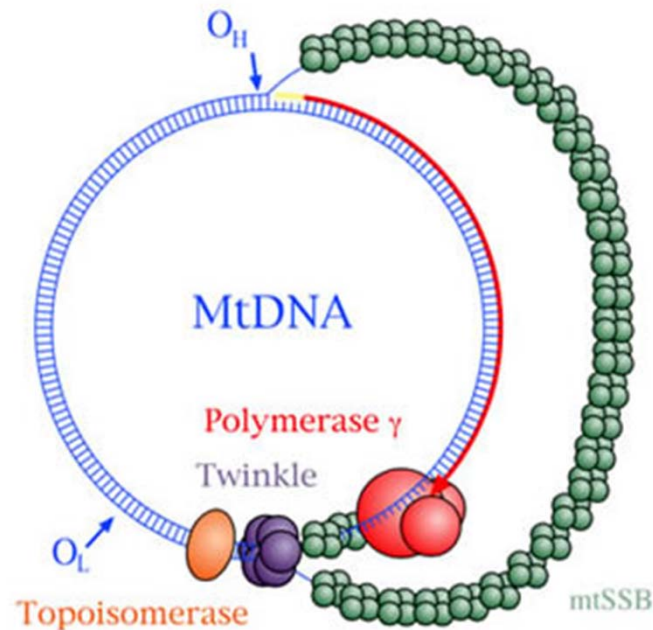


III. Réplication de l'ADN mitochondrial

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



- ❖ La réplication de l'ADNmit est contrôlée par des gènes nucléaires et fait intervenir de nombreux facteurs protéiques



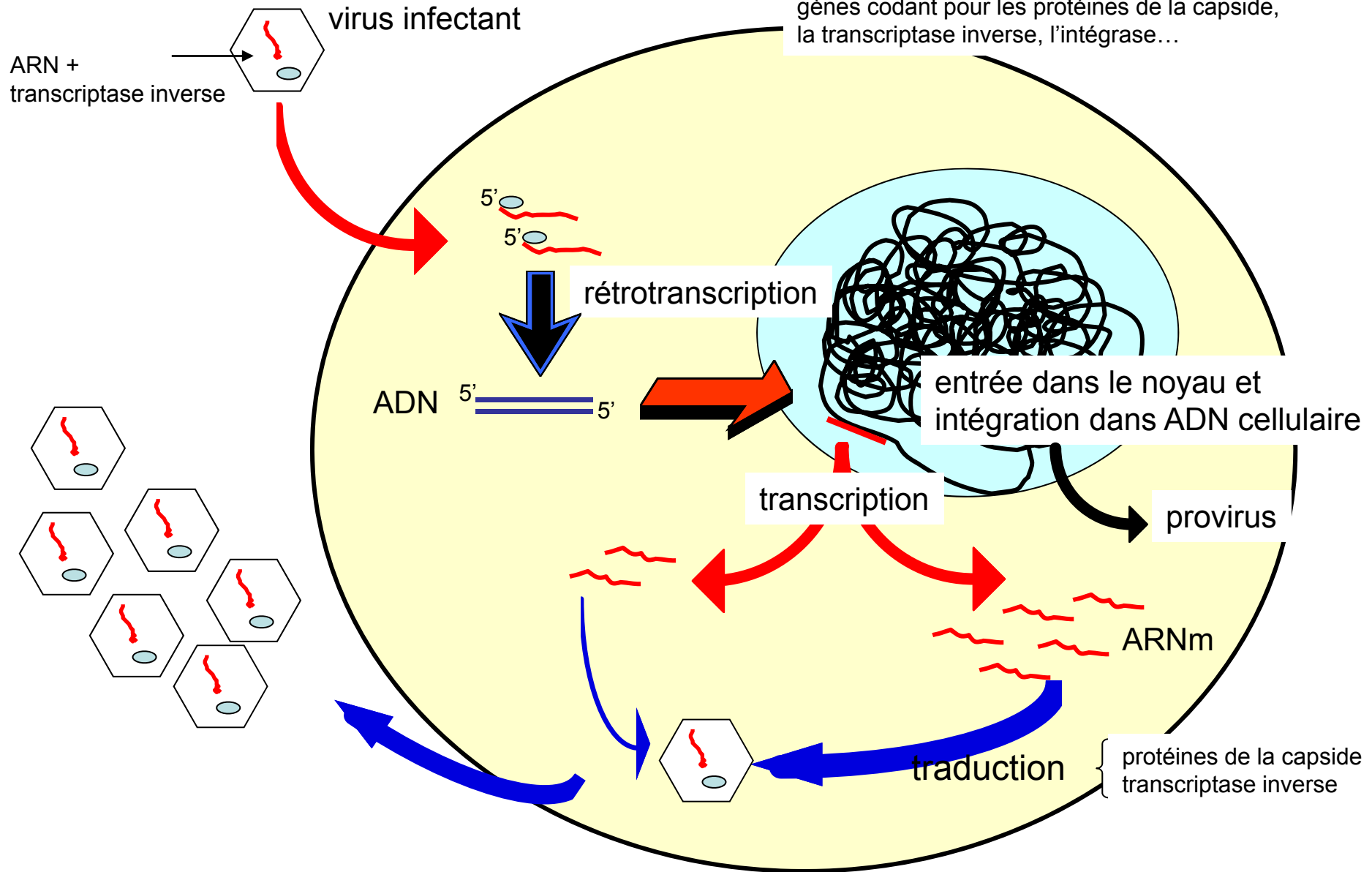
Initiation Factors:	Additional Activities:
RNA Polymerase	Priming
mtTFA	RNaseH1/5'-3' Exonuclease
mtTFB1	Ligase III
mtTFB2	

- ❖ La réplication de l'ADNmit n'est pas limitée à la phase S du cycle cellulaire

IV. Réplication des rétrovirus :



gènes codant pour les protéines de la capsid, la transcriptase inverse, l'intégrase...



+ la transcriptase inverse du virus HIV est inhibée par l'AZT, un analogue de nucléotide

Que faut il retenir ^a :

❖ 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, polymérase, 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, polymérase, 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

❖ Comprendre pourquoi la réplication est une cible potentielle pour les médicaments à visée anti-tumorale ou pour les antibiotiques

^a : *les exemples numériques et de pathologies sont destinés à illustrer le cours et à permettre une meilleure intégration des connaissances, de même les détails des séquences ou des protéines ainsi que les noms des médicaments cités à titre d'exemples ne sont pas à apprendre systématiquement*

Mentions légales

L'ensemble de cette œuvre relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle, littéraire et artistique ou toute autre loi applicable.

Tous les droits de reproduction, adaptation, transformation, transcription ou traduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Cette œuvre est interdite à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1 et ses affiliés.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1, et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.