

Coucou !!! On se retrouve ici pour la partie très certainement la plus importante à comprendre de ce cours pour pouvoir comprendre les cours suivants, mais également les cours d'autres matières ! (N'oubliez pas que la biomol est à la base de tout). Comme pour les autres fiches, en gris vous trouverez les parties moins importantes, (même si je dois vous avouer que y'en a pas bcp...) Mais ça c'est parce que c'est le best cours, tout est ++ mais tout est quali <3 Encore une fois, **COMPRENEZ AVANT TOUTE CHOSE !** Sur ce, bossez bien les boss <3

Réplication de l'ADN

I – Généralités

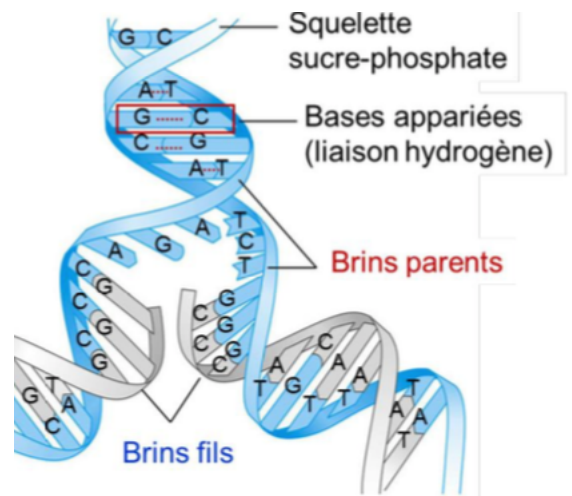
La réplication permet **la transmission du génome** aux générations suivantes

- Chez les virus, la réplication n'est pas **autonome** : elle passe par l'utilisation des ressources de l'hôte infecté afin de produire de nouvelles **particules virales**.
- Chez les procaryotes et les eucaryotes, le principe de réplication est **similaire** +++

Elle repose sur **le principe de complémentarité des bases** et aboutit finalement à **deux nouvelles molécules** finalement réparties entre deux cellules génétiquement identiques.

- ⇒ Elle débute au niveau **d'origines de réplication** situés sur les chromosomes
- ⇒ Elle nécessite l'ouverture de la double hélice d'ADN et la formation de **bulles & fourches de réplication**.
- ⇒ Elle respecte l'orientation des brins et nécessite un amorçage
- ⇒ Elle comprend dans l'ordre : une phase **d'initiation**, **d'élongation** et de **terminaison** +++
- ⇒ Elle comprend également des phases de **vérification de l'ADN** et si besoin **sa réparation** afin d'assurer la fidélité de la réplication.

- la réplication va être un processus **semi-conservatif**.
 - Au cours de la réplication, la double hélice d'ADN va être ouverte et **chacun des brins de cette hélice, qu'on va appeler brin parent**, va servir de **modèle pour la synthèse d'un nouveau brin**. ++
 - Chaque nouvelle molécule qui va être synthétisée va comprendre à la fois un brin parental et un brin fils. C'est ce que l'on appelle la semi-conservativité.



→ La réplication est rendue possible par la **complémentarité des brins** de l'ADN

⇒ Les nucléotides complémentaires aux brins parents sont reliés un à un pour former les brins fils.

INITIATION

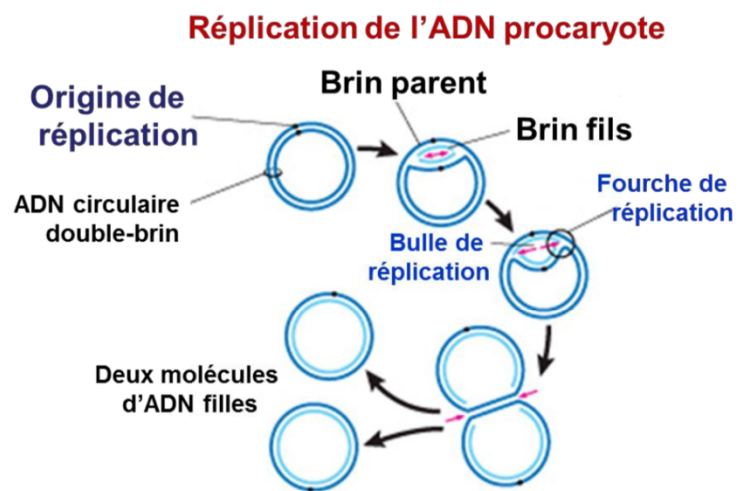
- correspond à l'**ouverture** de la double hélice **au niveau d'une ou plusieurs origines de réplication** (plusieurs chez les eucaryotes)
- Au niveau de ces origines la double hélice va être ouverte et former ce qu'on appelle une **bulle de réplication**.
- Chacune de ces bulles de réplication va comprendre à ses deux extrémités ce que l'on appelle une **fourche** de réplication.
- C'est à partir de ces fourches de réplication que la réplication va progresser de façon **bidirectionnelle**.

Exemple de la réplication procaryote : (à comprendre)

L'ADN procaryote (comme vu plus haut) est sous forme **d'ADN circulaire double-brin**, avec une zone qui va constituer **l'origine de réplication**.

Au niveau de cette origine, la double-hélice va être **ouverte** et la réplication des brins fils à partir de chaque brin parent va commencer.

Cette réplication va progresser de façon bidirectionnelle jusqu'à ce que la synthèse des deux nouveaux brins soit complète et qu'on obtienne deux nouvelles molécules filles.



Réplication eucaryote (similaire à la réplication proca) : Grandes lignes

- Elle va se produire **au niveau de chaque chromatide** des chromosomes et sur ces chromatides, il va exister **différentes origines de réplication**.
- Au niveau de chacune des origines de réplication :
 - on va observer l'ouverture de la double hélice,
 - la formation de bulles de réplication
 - la progression de la réplication de l'ADN de façon bidirectionnelle au niveau des fourches.
- Puis, la réplication des brins fils va se poursuivre jusqu'à ce que l'on obtienne au final la **fusion des différents bulles de réplication**. On obtiendra alors un chromosome qui va être constitué de deux chromatides sœurs.

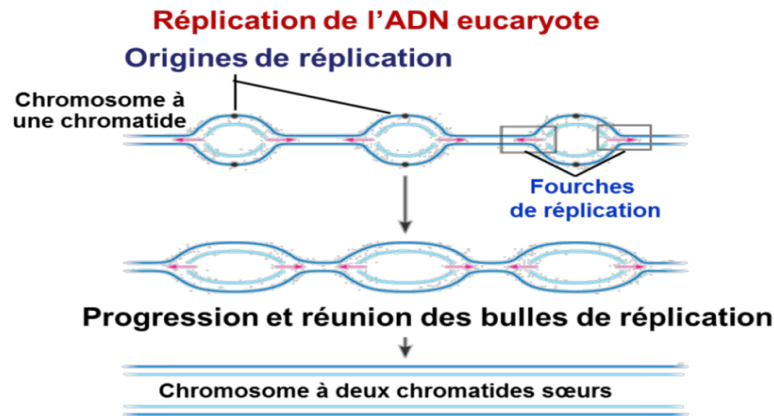
ÉLONGATION

Définition

- **synthèse des brins fils après l'ouverture de la double hélice au niveau des origines de réplication.**
- assuré par une enzyme : **l'ADN polymérase**
 - va utiliser des désoxyribonucléotides triphosphate qui seront complémentaires du brin parent, qu'on appelle également le brin matrice, pour synthétiser le nouveau brin fils en respectant la polarité de ce brin, c'est à dire dans le sens 5'-3'.

Particularité de cette étape : l'ADN polymérase nécessite une **amorce** pour pouvoir débuter.

- L'amorce, synthétisée par une autre **enzyme appelée PRIMASE** fournit l'extrémité **3'OH** à laquelle elle va ajouter un à un les différents nucléotides qui sont complémentaires du brin matrice **sous la forme d'ARN** ++



Détails du processus d'élongation au niveau des fourches :

□ **La progression d'une fourche de réplication doit respecter deux contraintes :**

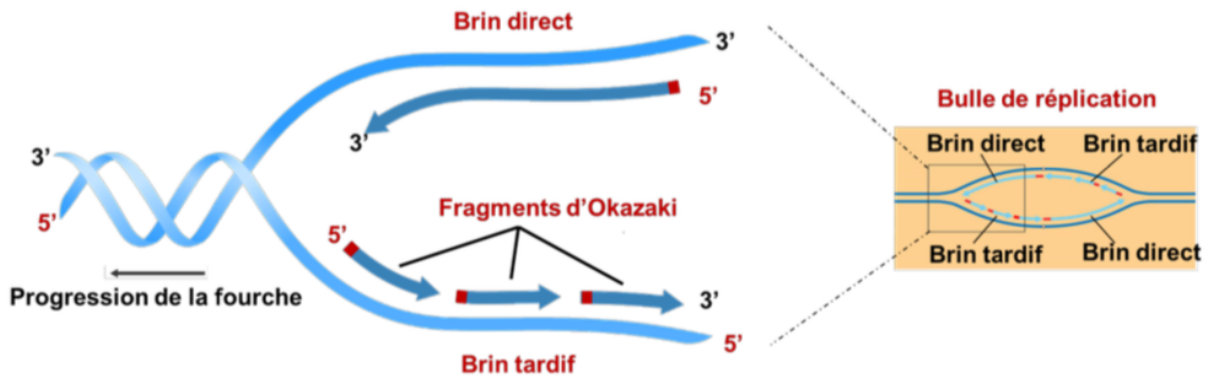
- ⇒ Les brins de l'hélice sont **antiparallèles** : à l'extrémité **5'** d'un brin correspond l'extrémité **3'** de l'autre brin. Ceci est également valable entre **un brin parent** et **le brin fils** dont il permet la synthèse.
- ⇒ L'élongation ne peut se faire que dans le sens **5'-3'** +++ : ainsi chaque brin parent est répliqué dans une direction **opposée** par rapport **au sens de progression** de la fourche.

+++ En pratique, du fait de ces contraintes, la réplication d'une fourche va être asymétrique, semi-discontinue et rétrograde +++

- Le brin synthétisé dans le sens de progression de la fourche est appelé **brin direct**
 - ⇒ va pouvoir être synthétisé en continu à partir d'une seule et unique amorce qui aura été fabriquée par la primase au niveau de l'origine de réplication.
- Le brin synthétisé dans le sens opposé à la progression de la fourche et sera appelé le **brin tardif**.
 - ⇒ va devoir être synthétisé de façon discontinue et rétrograde en fragments qu'on appelle des fragments d'Okazaki, et ce, à partir de multiples d'amorces

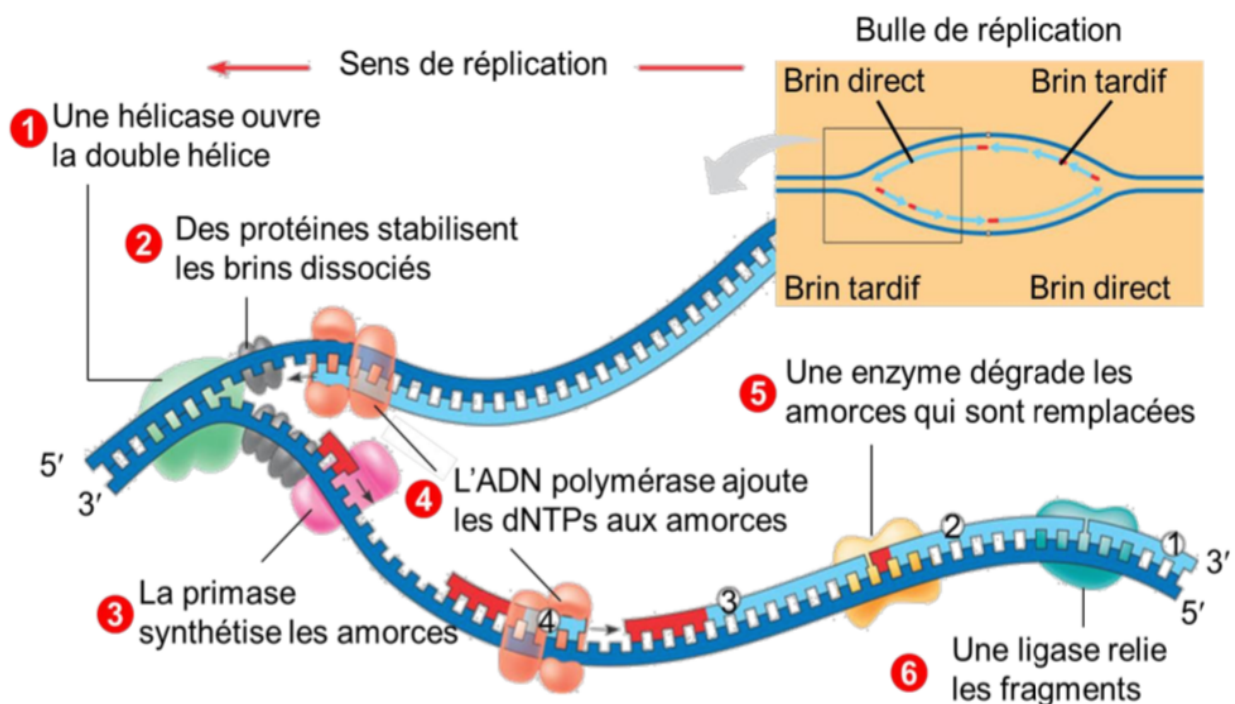
Entre le brin direct et le **brin tardif**, la réplication va être asymétrique, et elle va se faire pour ce dernier brin de façon **rétrograde**.

Attention !! **La situation va être inversée entre les deux fourches d'une bulle de réplication.** Étant donné que ces fourches de réplication progressent dans deux directions opposées, le brin direct d'une fourche va devenir le brin tardif de l'autre et inversement. C'est la raison pour laquelle on dit que la réplication est semi-discontinue, semi-discontinue sur un brin donné.



Résumé et précision : (à visualiser +++)

1. Ouverture de la double hélice : réalisée par une enzyme qu'on appelle une **hélicase**.
2. Ensuite, des **protéines** vont venir s'associer aux brins parents pour éviter qu'ils ne se réassocient immédiatement.
3. Puis la **primase** va venir synthétiser les amorces qui sont indispensables à l'élongation.
4. **L'ADN polymérase** va donc pouvoir commencer le processus de synthèse des brins fils à partir de l'extrémité 3'-OH fournie par ces amorces.
5. Au niveau du **brin direct**, cette synthèse va se faire en continu à partir d'une seule et unique amorce et au niveau du **brin tardif**, cette synthèse va se faire de façon semi-discontinue et rétrograde.
6. Une fois que les différents fragments d'Okazaki vont être synthétisés, à leur jonction, une enzyme va venir dégrader les amorces qui sont constituées d'ARN. Celles-ci vont être ensuite **remplacées par de l'ADN par une ADN polymérase**.
7. Et une fois que le brin tardif ne sera constitué que de fragments d'ADN, une **ligase** va venir les relier entre eux pour que **le brin fils soit ininterrompu**.



II/ Mécanismes permettant d'assurer la fidélité de la réplication

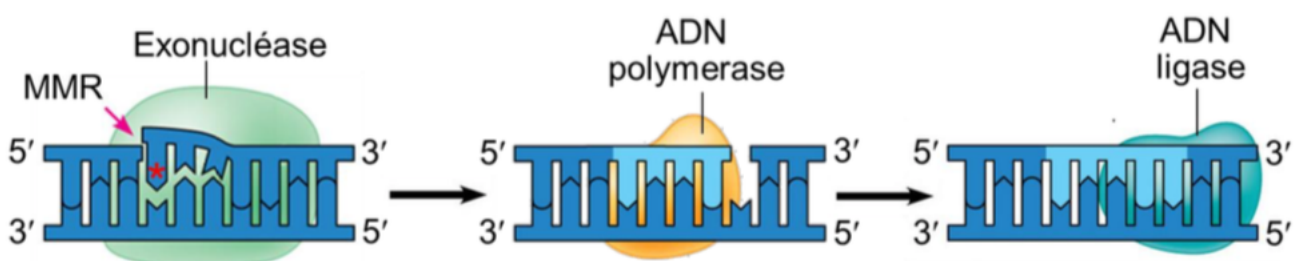
La réplication de l'ADN est un processus qui est censé permettre la transmission du génome. Ce processus doit donc être parfaitement fidèle. Et tout au long de la réplication des brins fils, trois mécanismes successifs vont permettre d'assurer cette fidélité.

- **Trois mécanismes successifs permettent d'assurer une fidélité optimale de la réplication tout au long de la formation des brins fils**

- ⇒ **La sélection stricte des bases de la matrice** par le site actif de la primase et des ADN polymérases
- ⇒ **L'activité de correction d'épreuve** (proofreading) : les ADN Polymérase I ; II ; III et δ/ϵ peuvent détecter et réparer aussitôt les erreurs qu'elles font en **excisant** un nucléotide dans le sens 3'-5' (**activité 3'-5' exonucléasique**).

La primase qui assure la synthèse des amorces est dénuée de cette activité de correction d'épreuve et c'est la raison pour laquelle les amorces qu'elle a synthétisées pour favoriser le processus de réplication vont devoir être remplacées. +++

- Ainsi, la détection d'un **mésappariement** (mismatch) après l'incorporation d'un nucléotide entraîne un déplacement du brin dans le site d'activité 3'-5' exonucléasique et **l'excision de la base incorrecte**.
- ⇒ **Le système MMR** (*Methylation-directed Mismatch Repair*) détecte et permet la réparation d'erreurs ayant échappées à la Polymérase .
- Il est constitué de MutS ; MutL et MutH (*retrouvé dans E.Coli*) ou d'homologues chez **les eucaryotes**.
- Ce système reconnaît ainsi le brin qui contient l'erreur (*) et la coupe grâce à son activité **endonucléase** +++
- Une **exonucléase** vient alors ensuite dégrader / exciser le fragment contenant l'erreur.
- Le fragment est finalement resynthétisé par **l'ADN Polymérase** et **l'ADN ligase**



III/ Différences procaryotes VS eucaryotes

- ⇒ **Différences « de forme »** : il s'agit des noms et des fonctions respectives des polymérases **procaryotes** et **eucaryotes** dont la fonction réelle in vivo n'est pas toujours évidente à définir.

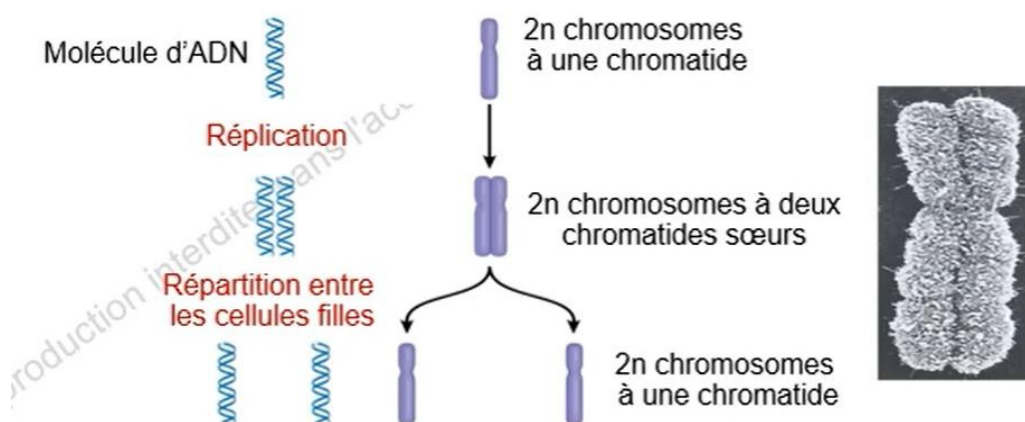
Fonction	Procaryotes	Eucaryotes
Synthèse des amorces	DnaG	ADN polymérase α
Elongation	ADN polymérase III	ADN polymérase δ et ϵ
Dégradation des amorces	ADN polymérase I	RNase H

- ⇒ **Différences « notables »** :

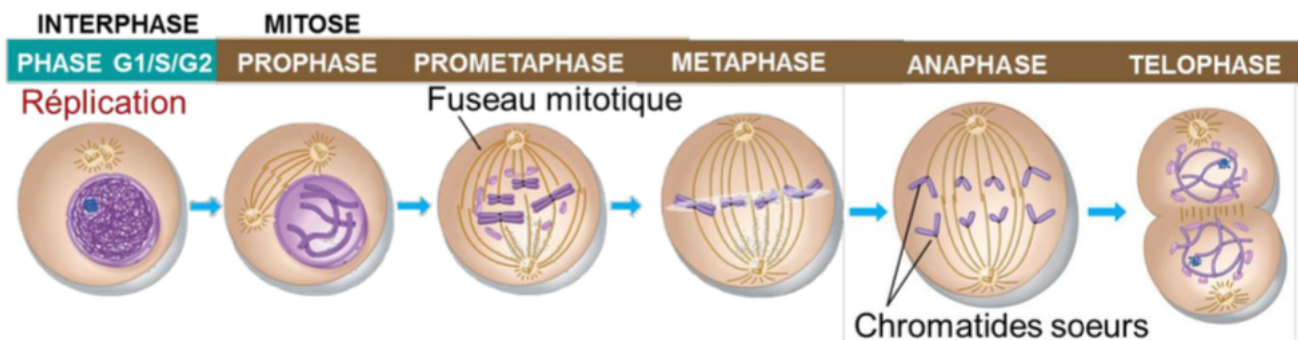
- L'ADN procaryote est circulaire et sa réplication est un processus **continu** ayant lieu dans le cytosol
- L'ADN eucaryote est linéaire et est répliqué dans le noyau en phase **S** du **cycle cellulaire**
- Chez les eucaryotes, l'ADN est associé à des histones et la présence des extrémités (**les télomères**) pose un problème de protection de l'ADN et de réplication.

Particularité réplication eucaryote

- La réplication permet de dupliquer le génome d'une cellule fille **diploïde** avant sa division
 - *Avant la réplication*, la cellule possède 2n chromosomes à une chromatide
 - *Après la réplication*, la cellule possède 2n chromosomes à deux chromatides sœurs.
- Après la mitose, chaque cellule fille hérite d'une **copie du génome** de la cellule mère.

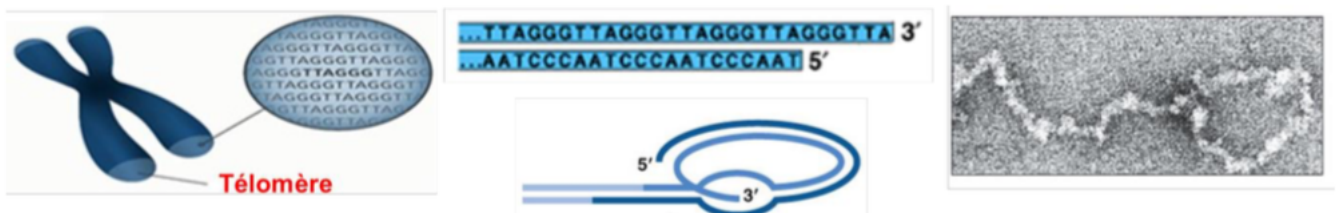


- La réplication survient en phase **S** du **cycle cellulaire** :
 - ⇒ En Interphase, l'ADN est sous forme d'euchromatine accessible. Pendant cette phase S, on passe ainsi de 2n chromosomes à **une chromatide** à 2n chromosomes à **deux chromatides** sœurs identiques.
 - ⇒ En Mitose, le noyau disparaît et l'ADN **se condense** en hétérochromatine. En métaphase, la compaction est **maximale** et les chromosomes s'alignent à l'équateur de la cellule. Chacune des chromatides est alors orientée vers un pôle opposé de la cellule : elles seront dès lors **dissociées** et **réparties** entre les cellules filles génétiquement identiques.



- La linéarité des chromosomes eucaryotes les rend fragiles :**

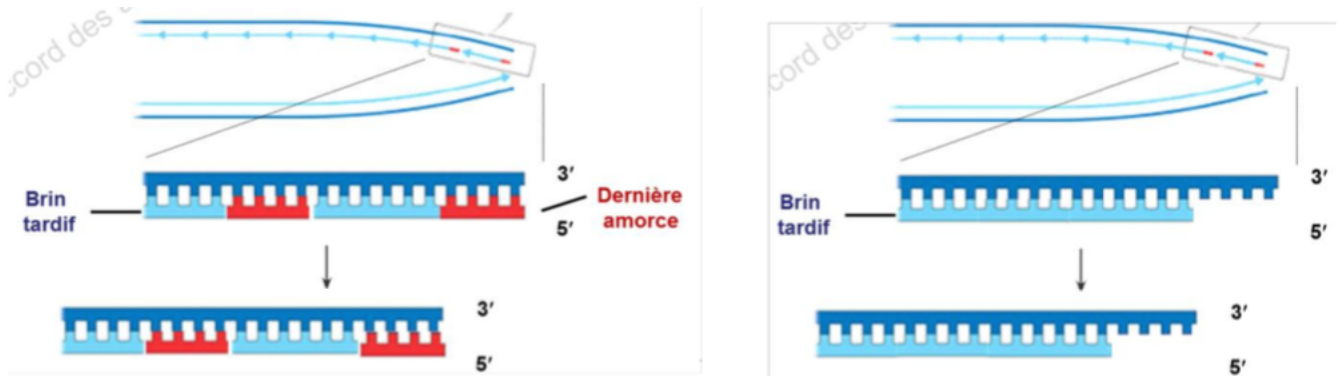
- ⇒ Les extrémités peuvent être interprétées par la cellule, comme des « cassures » de l'ADN. Ce type d'anomalie peut entraîner une **fusion chromosomique** entraînant à terme, une mort cellulaire.
- ⇒ Les télomères jouent un **rôle protecteur** des chromosomes :
 - Ils sont constitués de séquences répétées (ex : TTAGGG) sans rôle fonctionnel
 - L'extrémité 3' de la chromatide est plus longue que son extrémité 5' on dit qu'elle est « **3'-sortante** »
 - Cette extrémité envahit la double hélice : le télomère forme alors une boucle de structure dite « **T-Loop** »
 - Cette boucle protège alors **l'extrémité du chromosome** et prévient des problèmes de fusion



- Pour achever la réplication, les amorces servant à l'initiation doivent être dégradées :**

- ⇒ Une fois les amorces dégradées au cours de la réplication, l'ADN polymérase utilise une extrémité 3'-OH afin **de synthétiser de l'ADN** et donc **combler les brèches** entre les fragments d'Okazaki.

- ⇒ Cependant, à l'extrémité du brin tardif, une fois la dernière amorce dégradée, il apparaît une brèche qui **ne peut plus être comblée**, faute d'extrémité 3'-OH
- ⇒ A chaque division, l'extrémité des chromosomes **va se raccourcir** de plus en plus et au-delà d'un seuil critique (**limite de Hayflick**), la cellule devenue alors sénescence arrête de se diviser et **meurt**.



Ce problème de raccourcissement progressif des télomères ne va pas se poser à toutes les cellules de l'organisme.

- Les cellules souches ou germinales ont un potentiel réplicatif quasi-illimité car elles expriment une enzyme appelée **télomérase** (\neq télomères attention !)
- ⇒ Cette enzyme est dotée d'un ARN matrice complémentaire des répétitions télomériques. Elle est capable de synthétiser de **l'ADN** à partir **d'ARN** (c'est le principe de reverse transcriptase +++)
- ⇒ Elle est ainsi capable de **s'apparier** au brin parent et de synthétiser de l'ADN afin de l'allonger dans le sens 5'-3'
- ⇒ l'ADN polymérase alpha (**primase**) synthétiser **une amorce** sur ce brin allongé ce qui permet alors de fournir l'extrémité 3'OH nécessaire pour combler la brèche du brin fils tardif.
- ⇒ L'amorce sera alors **dégradée** et la réplication des télomères sera complète dans les cellules exprimant la **télomérase**.