

Biologie moléculaire

Lalaoui Meryem

1.0 Avril 2022

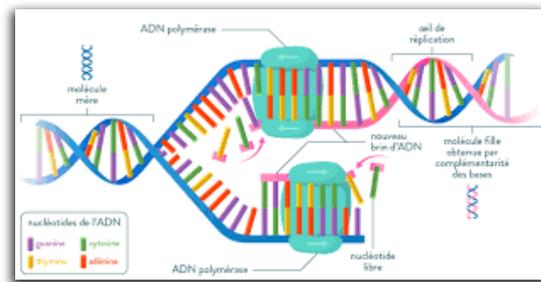
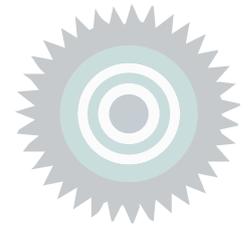


Table des matières

Objectifs	3
Introduction	4
I - prérequis	5
II - Exercice : pré-test	6
III - Exercice : pré-test	7
IV - Chapitre 2 : La transmission de l'information génétique (la réplication)	8
1. La réplication	8
2. Lois fondamentales de la réplication du DNA	8
3. La réplication de l'ADN chez les procaryotes.....	8
3.1. Éléments nécessaires à la réplication de l'ADN	9
3.2. Les étapes de la réplication chez les procaryote	10
3.3. ADN polymérase procaryotes dans la réplication.....	12
4. La réplication de l'ADN chez les eucaryotes	13
4.1. Les caractéristiques de la réplication.....	13
4.2. ADN polymérase eucaryotes dans la réplication	13
4.3. Exercice : différent entre la replication chez les procaryote et les eucaryote	14
4.4. Les télomères	14
Solutions des exercices	16
Glossaire	17
Abréviations	18
Bibliographie	19

Objectifs



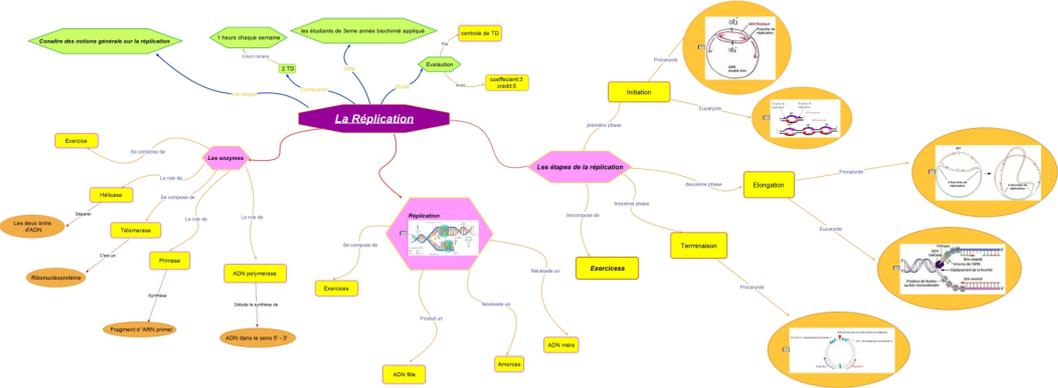
Dans ce deuxième chapitre l'étudiant :

- connaître le principe de la réplication
- Différencier les éléments nécessaires (amorce, protéine, enzymes...etc.) pour la réplication d'un gène
- Illustrer les étapes de la réplication et les facteurs impliqués.
- Examiner la différences entre la réplication chez les procaryotes et les eucaryotes.
- Remettre en ordre le rôle des éléments nécessaires pour la réplication de l'ADN.
- évaluer les connaissance par des activité



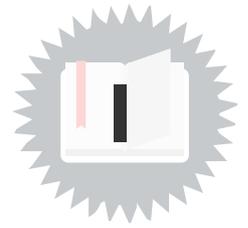
Introduction

La réplication est le mécanisme de production de nouvelles molécules nucléiques d'ADN (ou d'ARN dans le cas de certains virus). Au niveau cellulaire, la copie de l'ADN résulte en la formation de deux molécules filles identiques entre elles et à la molécule mère



Carte mentale (chapitre2)

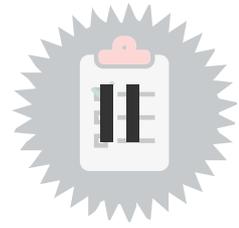
prérequis



- connaître la notion générale de la réplication

Exercice : pré-test

[solution n°1 p. 16]



l'ADN est répliqué

- En plusieurs petits fragment qui sont ensuite réunis
- En entier (la totalité de l'ADN d'une cellule est répliquée lors de la réplication)
- Plusieurs fois de suite avant une division

Exercice : pré-test

[solution n°2 p. 16]



La réplication

- Est une réaction enzymatique qui demande de l'énergie
- Est une réaction de polymérisation (les monomères sont les nucléotides)
- Est de type conservatif

Chapitre 2 : La transmission de l'information génétique (la réplication)



Lors de **la mitose** (ou division cellulaire), une **cellule-mère** donne **deux cellules-filles**, et il est essentiel que l'ADN présent dans les cellules-filles soit la copie identique de l'ADN présent dans la cellule-mère. Cette copie de l'ADN est indispensable à réaliser avant la mitose : c'est **la réplication de l'ADN**. Préalablement à toute division cellulaire, la quantité d'ADN est multipliée par deux. Les mécanismes de réplication conditionnent donc le déroulement de la division cellulaire.

1. La réplication



La réplication est un mécanisme **hautement fidèle** qui repose sur la synthèse du brin **d'ADN fils** par copiage du brin parental ; le mécanisme est appelé **hémisynthèse***



La réplication de l'ADN correspond à un ensemble de phénomènes par lesquels sont réalisées des copies fidèles des molécules de DNA, permettant une **conservation stable de l'information génétique** dans une espèce donnée et d'une génération à une autre. La réplication est un processus commun chez les eucaryotes et les procaryotes, et elle est **catalysée** par un **groupe d'enzymes** et un **groupe de protéine hautement spécifique***

2. Lois fondamentales de la réplication du DNA

La réplication est gouvernée par un ensemble de lois fondamentales :

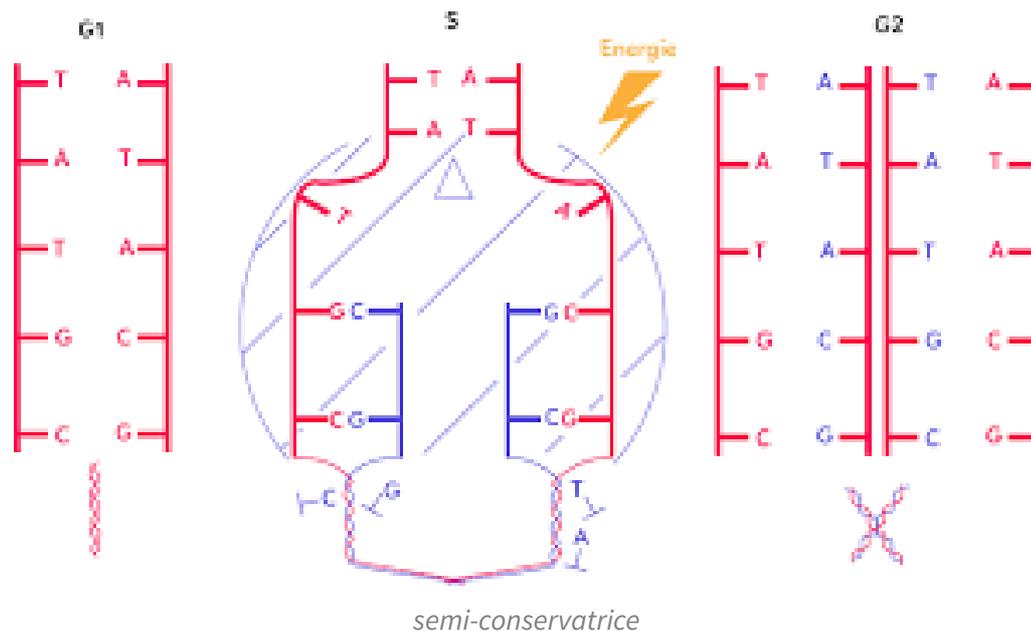
- Semi-conservative.
- Complémentaire et dans le sens 5' 3'.
- Bidirectionnelle.
- Discontinue.
- Nécessite la présence d'une amorce.

3. La réplication de l'ADN chez les procaryotes

Au cours de processus de réplication, les brins d'ADN sont écartés et le complexes enzymatiques synthétise, à partir de nucléotide libres et en consomme l'énergie, deux brins d'ADN dits néosynthétisés des séquences complémentaire de celle des brins préexistantes (brins parentaux)

Chaque brin néosynthétisé **s'associe** alors au brin parental dont il est **complémentaire**. La réplication est de ce fait qualifié **semi-conservative**

La réplication semi-conservative de l'ADN est un mécanisme extrêmement fiable de copie de l'information génétique ou très peu d'erreurs se produisent. C'est cette fiabilité qui permet la reproduction conforme des cellules



3.1. Éléments nécessaires à la réplication de l'ADN

- une **matrice d'ADN** constituée par un brin parental.
- **des amorces ARN.**
- **des nucléotides** propres à l'ADN, c'est-à-dire contenant du 2'-désoxyribose, des bases A, T, G et C et sous forme de nucléotides triphosphates (dATP, dTTP, dCTP et dGTP).
- la présence de **certains ions** (notamment le Mg^{2+} , cation indispensable à l'activité de l'ADN polymérase).
- Les protéines de reconnaissance reconnaissent les sites d'initiation et de terminaison.
- Les protéines **SSB** (pour single stranded binding protein) ont une forte affinité pour l'ADN simple brin et l'empêche ainsi de se réenrouler lors de la migration des fourches répliquatives.
- la présence de nombreux enzymes, dont **l'ADN polymérase.**
- Les hélicases (ou **DNA B**) déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogènes présentes entre les deux brins de l'ADN, avec consommation d'ATP.
- La primase est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise l'amorce.
- Les **topo-isomérases** relâchent les contraintes de torsion de l'ADN, elles sont de deux types et seule la topo-isomérase de types II consomme de l'ATP. La topo-isomérase de type II d'E-Coli s'appelle l'ADN-gyrase.
- Les ADN ligases (ou **DNA G**) catalyse la formation de la liaison phosphodiester, mais est incapable de placer les nucléotides. Lors de réparation de l'ADN les nucléotides en place ne sont plus triphosphatés, l'ADN ligase a donc besoin d'un apport en ATP.

Notion réplicon



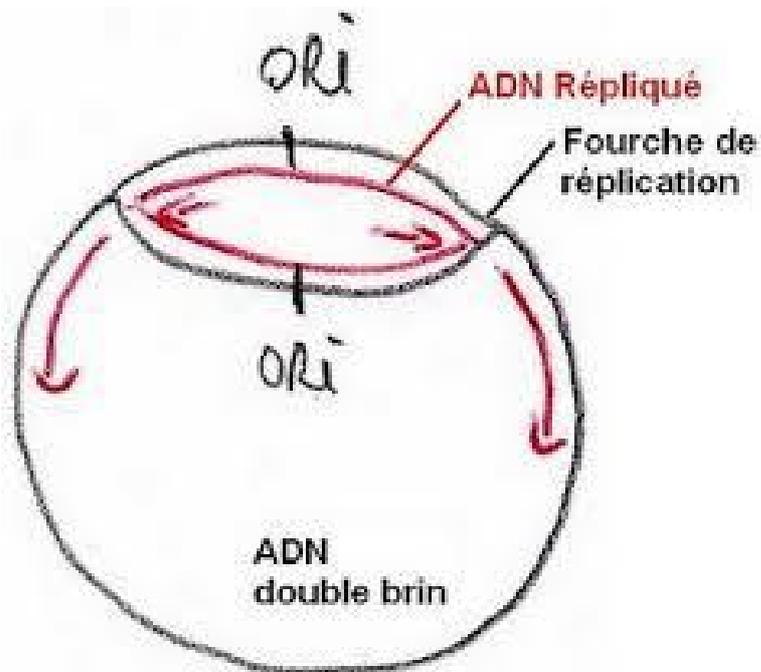
L'unité d'ADN où se produit la réplication est appelée le réplicon. Ce **réplicon** a une **origine** où est **initiée** la réplication et une **terminaison** où est arrêtée la réplication. L'ADN bactérien constitue à lui seul un réplicon.

A partir d'un point d'initiation, la réplication peut progresser soit de manière unidirectionnelle, soit de manière bidirectionnelle. Chez les procaryotes, à partir d'une origine de la réplication (ou œil de réplication), la réplication progresse dans les deux sens. On compare souvent cette progression de la réplication dans le sens bidirectionnel à un œil qui s'agrandit jusqu'à que la réplication s'achève.*

3.2. Les étapes de la réplication chez les procaryote

a) La phase d'initiation

- Ouverture de la double hélices sur 40 pnb et formation de la fourche réplivative et permise par reconnaissance de l'origine de réplication par le DNA A
- Les topo-isomérase relâchent les contraintes topologiques
- L'ouverture de l'ADN entraîne la formation de l'œil de réplication et des deux fourches de réplication,
- Les hélicases (DNA B) permettent le déroulement des deux brins
- Les topomérase permettent d'enlever les contraintes essentielles à l'avancée de l'hélicase
- D'autre part les protéines SSB protègent les ADN simple brins les empêche de se réenrouler. Elles se fixent le long de l'ADN qui interagit au niveau du squelette phosphoribose et pas au niveau des bases



Initiation

? Exemple

Chez l'E.Coli l'origine de la réplication est appelée oriC, et se compose de 245 paires de bases. Les séquences clés sont formées de deux séries de courtes répétitions

- 3 répétitions d'une séquence de 13 paires de bases: GATCTNTTNTTTT

- 4 répétitions d'une séquence de 9 paires de bases: TTATCCACA

b) phase d'élongation

du brin précoce dans le sens de déplacement de la fourche : Le brin qui servira de matrice au brin précoce est lu dans le même sens que l'avancée de la fourche, c'est-à-dire de 3' vers 5'. Au niveau de l'origine de réplication les ADN polymérases nécessitent une amorce qui sera mise en place par les primases.

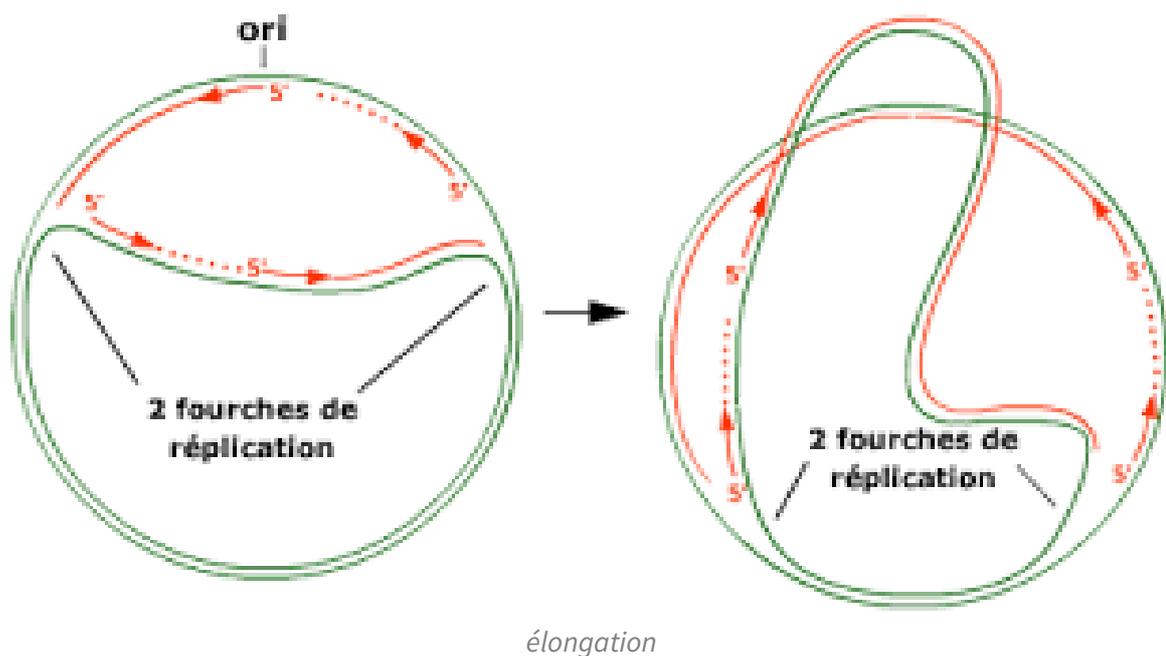
Cette amorce sera ici de l'ARN, l'ADN pouvant être utilisé *in vitro*. L'ADN polymérase III sera responsable de l'initiation et de l'élongation du brin précoce.

Élongation du brin tardif dans le sens inverse du déplacement de la fourche : Le brin qui servira de matrice pour le brin tardif doit également être lu dans le sens 3' vers 5', mais comme nous l'avons déjà vu précédemment, la fourche se déplace dans le sens inverse et donc l'ADN polymérase III qui sera également responsable de l'élongation du brin tardif.

De cette manière sa synthèse sera segmentée en fragment de taille relativement constante à chaque fois que le brin matriciel sera assez « découvert » et ainsi on respectera le sens d'élongation de 5' vers 3'. Ces fragments sont appelés fragments d'Okasaki.

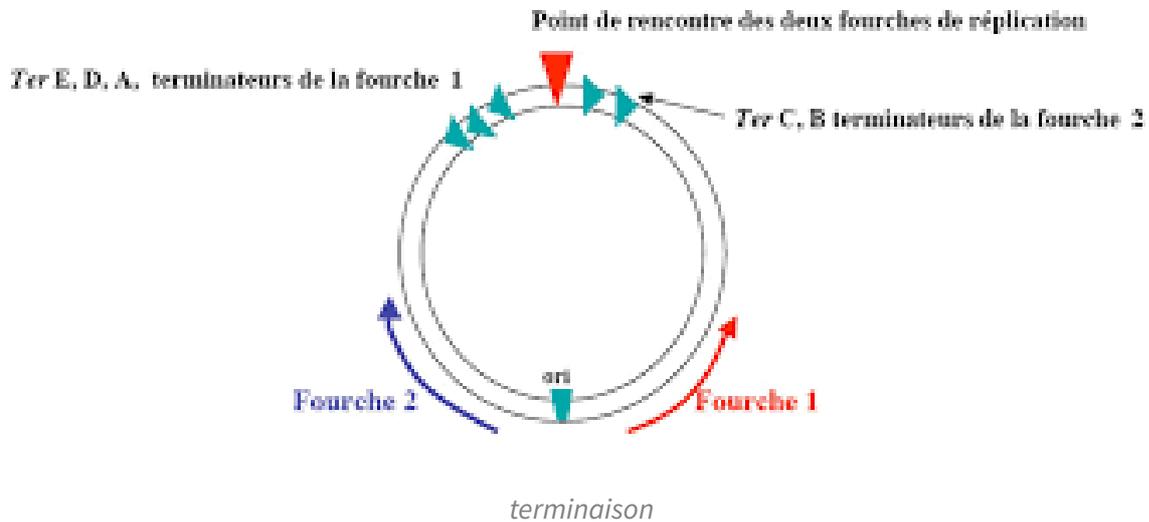
Les fragments d'Okasaki eucaryote mesurent 100 à 200 pnb et les procaryotes 1000 à 2000 pnb. A chaque segment il y a recrutement d'une primase pour la synthèse d'une amorce d'ARN constitué de 10 à 50 nucléotides selon l'espèce.

Par la suite les amorces vont être détruites par des protéines à activité ribonucléasique telles que des RNases, et l'ADN polymérase I va compléter la brèche entièrement. La dernière liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' du premier fragment et l'extrémité 3' du deuxième fragment, ce qui correspond à l'épissage, sera réalisée par la ligase.



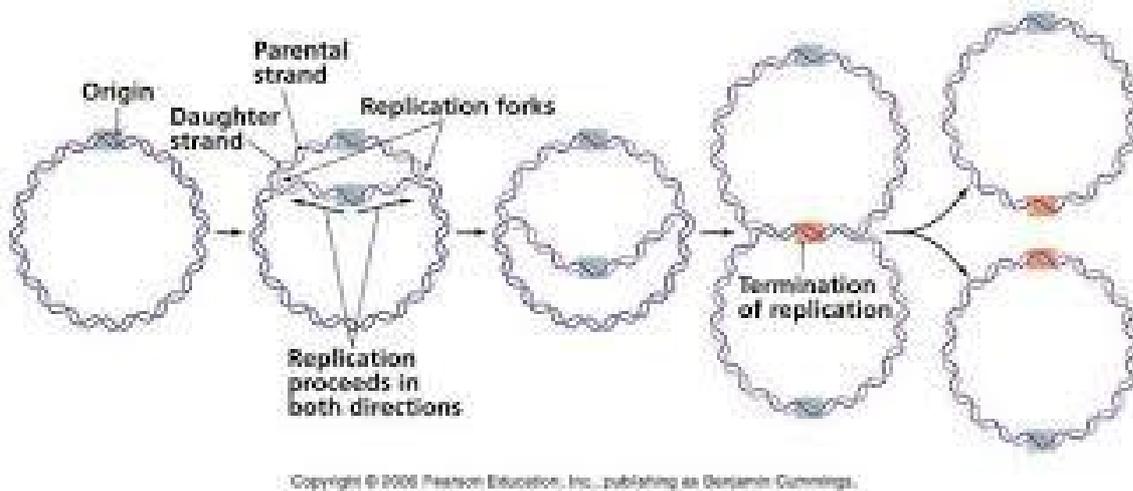
c) Phase de terminaison

Le terminateur est le site de fixation de protéines « Tus » qui reconnaît les régions Ter. Chez E-Coli, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliquée, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, on utilise alors la topo-isomérase II pour les dissocier. L'ADN polymérase I complétera ensuite les parties non répliquées.



d) phase de vérification et correction

- Après qu'un brin d'ADN est construit, l'ADN polymérase II le relise et l'édite
- Si l'ADN polymérase trouve un erreur, un enzyme s'appelle nucléase l'enlève
- ADN polymérase remplace l'erreur avec le/les nucléotide(s) correct(s)



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

La réplication chez les procaryote

3.3. ADN polymérasés procaryotes dans la réplication

Il y a plusieurs ADN polymérasés dans la bulle de réplication à la fois

Polymérase III: poursuit la synthèse de ADN sur l'amorce (Réplication du brin avancé et synthèse des fragments d'Okazaki).

polymérase II: Réparation de l'ADN endommagé grâce à une activité exonucléase 3' vers 5'.

Polymérase I: hydrolyse les amorces et les remplace par de ADN

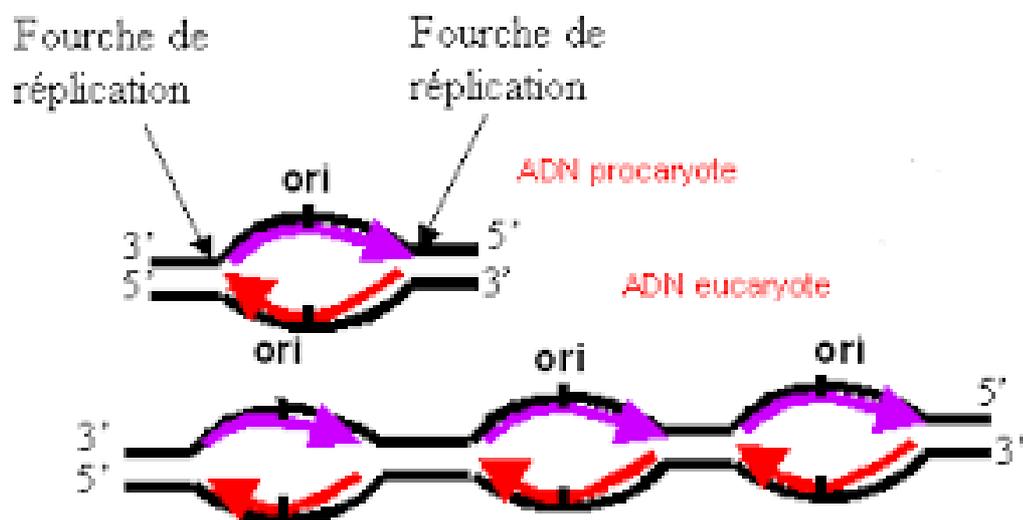
4. La réplication de l'ADN chez les eucaryotes

L'ADN des **eucaryote** est beaucoup **plus grand** que celui des procaryotes et organisé en **chromatine**. Les caractéristiques essentielles de la réplication sont identiques chez les eucaryotes que chez les procaryotes. Quelques variations cependant, permettent d'envisager des **éléments nouveaux** concernant la régulation de la réplication et de la relation avec le cycle cellulaire.

pour voir la vidéo clique ici¹

4.1. Les caractéristiques de la réplication

- La réplication se fait en de nombreux **points d'initiation**.
- Elle fait intervenir un **nombre d'ADN polymérases** plus important que chez les procaryotes. (9 ADN polymérases chez les eucaryotes).
- La polymérase alpha/primase. Cette polymérase est impliqué dans l'initiation de la réplication ("priming").
- La polymérase bêta. La polymérase delta. La polymérase epsilon



4.2. ADN polymérases eucaryotes dans la réplication

-L'**ADN polymérase α** : Synthèse les amorce mixte ARN/ADN de 25 à 30 nucléotides à l'origine de la réplication sur le brin avancé et pour les fragments d'okazaki du brin retardé.

-L'**ADN polymérase β** : impliquée dans la réparation d'ADN dans des cellules en cours de division que dans des cellules quiescentes

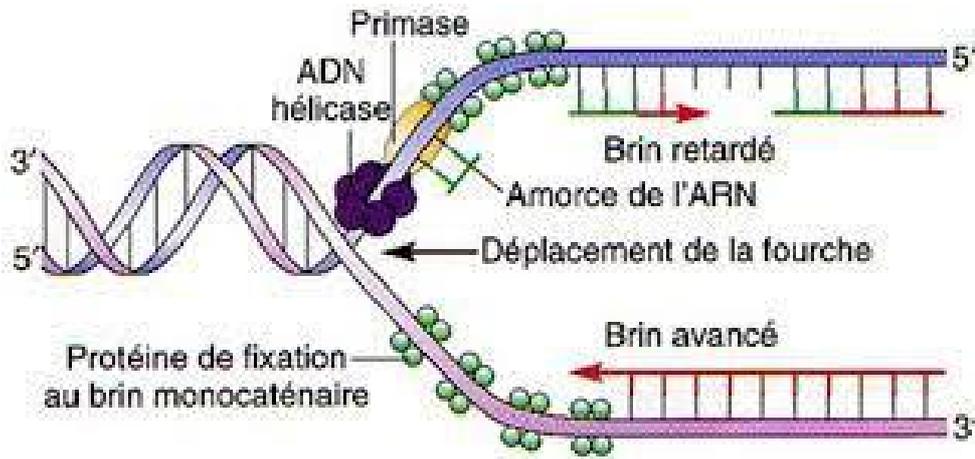
- **L'ADN polymérase δ** : Principale action polymérase eucaryotique intervenant dans la réplication de l'ADN:

- Synthèse du brin avancé.
- Synthèse du brin retardé.
- Réparation grâce à son activité exonucléase dans le sens 3' vers 5'.

- **L'ADN polymérase γ** : responsable de la réplication de l'ADN mitochondriale dont la réplication est indépendante de l'ADN nucléaire.

- **L'ADN polymérase ϵ** : Peut remplacer la DNA polymérase dans certains cas tel que la réparation et la synthèse du brin retardé.

¹<https://youtu.be/1je9pMgzD-s>



réplication de l'ADN

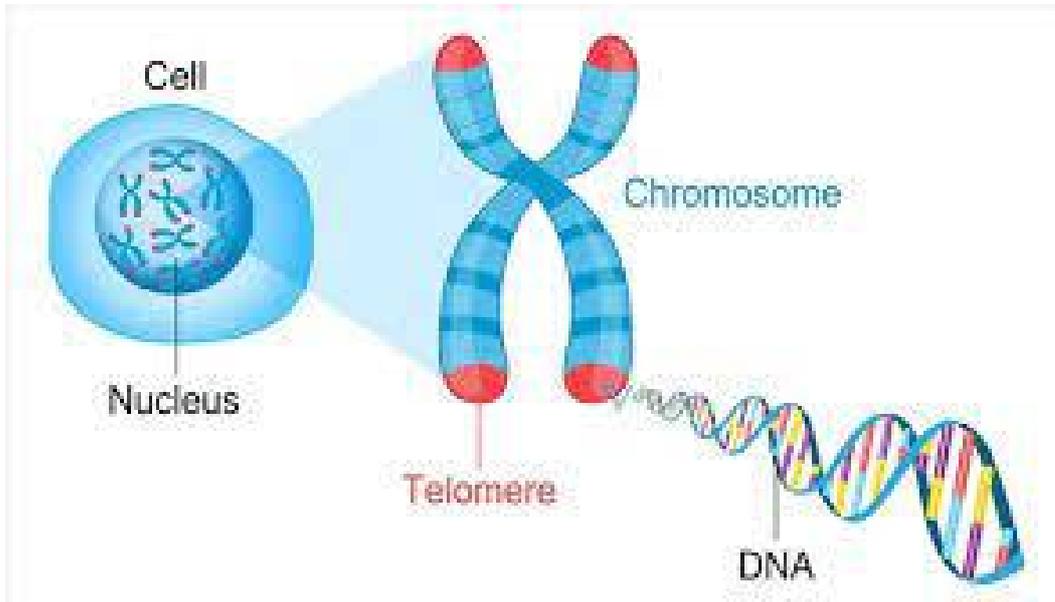
4.3. Exercice : différent entre la replication chez les procaryote et les eucaryote

le différence principale est que la réplication de l'ADN procaryote se fait par une [solution n°3 p. 16] de réplication et a lieu dans [] alors que la réplication chez les eucaryote se produit par [] de réplication et a lieu dans le []

4.4. Les télomères

Le problème majeur lors de la réplication de l'ADN linéaire des eucaryotes est l'**élimination** potentielle de l'**amorce d'ARN** la plus externe de l'extrémité 5' du brin retardataire ce qui pourrait entraîner un **raccourcissement de l'ADN** à chaque cycle de réplication d'où **une perte d'information génétique**.

Le problème est résolu par l'intervention d'une structure spécialisée à l'extrémité du chromosome, **appelée télomère***, et par une enzyme spécifique: **appelée la télomérase.***



télomère

a) Les télomères ont différents rôles

- **Maintenir** l'intégrité des informations génétiques
- **protéger** les ADN vis-à-vis des exo-nucléases
- **éviter les fusions** des chromosomes au niveau des extrémités
- rôle dans l'organisation de la chromatine durant l'interphase par interaction avec la membrane nucléaire

- En absence de télomères les **extrémités chromosomiques fusionnent** provoquant des cassures des chromosomes et déstabilisation du génome aboutissant à **la mort cellulaire**.

b) Mode d'action de la télomérase :

1. En utilisant le pseudo-nœud du *TERC** comme modèle, le *TERT** ajoute une séquence répétée de six nucléotides: 5'-TTAGGG (chez tous les vertébrés, la séquence est différente chez d'autres organismes) à l'extrémité 3' des chromosomes. La région modèle de TERC est 3'-CAAUCCCAAUC-5'
2. Après cette synthèse l'enzyme glisse le long du brin de DNA et recommence de nouvelles unités télomériques.
3. L'extrémité 3' du brin modèle ainsi allongée peut servir à la pose d'une amorce nouvelle : l'extrémité 3'-OH de cette amorce sert alors de point de départ pour la DNA polymérase δ pour synthétiser l'autre brin.
4. Après l'hydrolyse de l'amorce d'ARN, on aura toujours un brin fils plus court vers son extrémité 5' que le brin parental à son extrémité 3', mais cela n'a pas d'importance car on dispose maintenant d'un très grand nombre de séquences répétées. La perte à chaque réplication de quelques nucléotides ne sera pas grave puisqu'elle aura lieu dans une zone où il n'y a pas d'information génétique (le télomère). Les télomères humains sont prévus pour se raccourcir d'environ 100 paires de bases par division cellulaire et lorsque la perte atteint plusieurs milliers de bases, les cellules cessent de se diviser et entrent en sénescence : c'est le vieillissement.

pour voir la vidéo clique ici¹

¹<https://youtu.be/Z6cvsAlk5fw>

Solutions des exercices



Solution n°1

[exercice p. 6]

l'ADN est répliqué

- En plusieurs petits fragment qui sont ensuite réunis
- En entier (la totalité de l'ADN d'une cellule est répliquée lors de la réplication)
- Plusieurs fois de suite avant une division

Solution n°2

[exercice p. 7]

La réplication

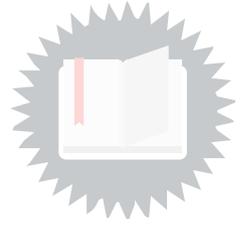
- Est une réaction enzymatique qui demande de l'énergie
- Est une réaction de polymérisation (les monomères sont les nucléotides)
- Est de type conservatif

Solution n°3

[exercice p. 14]

le différence principale est que la réplication de l'ADN procaryote se fait par une seule origine de réplication et a lieu dans le cytoplasme alors que la réplication chez les eucaryote se produit par plusieurs origine de réplication et a lieu dans le noyau

Glossaire



La télomérase

est une enzyme qui prolonge les télomères.

Les télomères

sont les séquences de nucléotides retrouvés à l'extrémité des chromosomes linéaires.

Abréviations



TERC : Telomerase RNA Component

TERT : telomerase reverse transcriptase gene

Bibliographie



Meselson, M., and Stahl, F.W. (1958). The replication of DNA in Escherichia coli. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 44, 671

Bouldjadj.R (2019), BIOLOGIE MOLECULAIRE, Chapitre II : La réplication d'ADN génomique, UNIVERSITE CONSTANTINE 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale B.P. 25000 - Constantine - ALGERIE

Ounis.L (2016) , BIOLOGIE MOLECULAIRE, 3ème Année Biologie Moléculaire Et Cellulaire Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1