

Chapitre 3 : Transmission et conservation de l'information génétiques

Rappel : Pour conserver l'information génétique, notre corps réalise une division cellulaire qui permet de former deux cellules-filles identiques à la cellule-mère. Pour cela, la cellule commence par faire une copie de chacun de ses chromosomes : c'est la duplication. Pendant cette phase, la cellule passe de 46 chromosomes SIMPLE chromatide à 46 chromosomes DOUBLE chromatides. Ensuite, les chromatides de chaque chromosome double sont séparés afin de former deux cellules-filles : c'est la mitose.

La réplication est à l'origine de la permanence des propriétés globales de chaque espèce animale, végétale, virale ou bactérienne. Elle comporte un certain nombre de caractéristiques, communes à tous les organismes. La réplication de l'ADN est le processus par lequel deux molécules d'ADN identiques sont produites à partir d'une seule molécule d'ADN d'origine.

Le génome correspond aux molécules d'ADN et est contenu dans les chromosomes localisés dans le noyau de la cellule. Lors de la division cellulaire, ce génome sera transmis aux deux cellules filles. Pour cela, les molécules d'ADN doivent se répliquer lors de la phase S du cycle cellulaire.

Cette réplication correspond à un doublement des molécules d'ADN par synthèse ; deux molécules d'ADN « filles » doivent être les copies exactes de la molécule mère, pour conserver le patrimoine génétique. Au cours de ce processus de réplication des modifications du génome peuvent apparaître :

- Des mutations, qui nécessiteront la mise en œuvre de systèmes de réparation ;
- Des phénomènes de recombinaison homologue.

1. La Réplication de l'ADN

1.1. Réplication semi-conservative

A chaque réplication, il se produit une séparation des deux brins d'ADN parental. Chaque brin servira de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire. On obtient deux molécules d'ADN identiques, chacune des deux contenant un brin parental et un brin fils.

1.2. Éléments nécessaires à la réplication

Les ADN polymérases nécessitent des conditions pour leur activité :

- Les quatre désoxyribonucléotides 5'-triphosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP). Ces derniers apporteront également l'énergie nécessaire à la réaction
- Des ions magnésium (Mg^{+2}) qui stabilisent l'ADN et les protéines
- Une matrice d'ADN qui correspond à un brin parental et qui sert de modèle
- Une amorce ayant une extrémité 3'-OH libre
- Des enzymes spécifiques.

1.3. Origines de réplication

-Point d'initiation ou origine de réplication chez les procaryotes

Chez les procaryotes (bactéries), la réplication débute en un point précis du chromosome, dit point d'initiation ou origine de la réplication (ORI). L'ADN répliqué à partir d'une unique origine est appelé réplicon. Le chromosome bactérien est considéré comme un seul réplicon.

-Multiples points d'initiation chez les eucaryotes

En raison de la grande longueur de l'ADN, la réplication chez les eucaryotes débute simultanément en plusieurs points d'un même chromosome. La fusion de tous les réplicons produit deux molécules d'ADN identiques.

1.4. Caractéristiques de la réplication

1.4.1. Elle est semi-conservatrice L'ADN se réplique selon un mode semi conservatif. Chaque cellule synthétisée présente un brin parental et un brin

1.4.2. Orientée : Chaque brin parental est lu dans le sens synthèse d'un brin complémentaire et néosynthétisé, synthétisé dans le sens de la réplication : conservatrice : ADN se réplique selon un mode semi conservatif.

Chaque cellule synthétisée présente un brin parental et un brin néo synthétisé. Chaque brin parental est lu dans le sens 3' à 5' et sert de matrice à la synthèse d'un brin complémentaire et antiparallèle, appelé brin fils ou brin synthétisé dans le sens 5' à 3'.

1.4.3. Bidirectionnelle : Les 02 brins d'ADN sont déroulés dans deux directions opposées et servent de matrice.

1.4.4. Semi discontinue : avec la synthèse d'un brin précoce et d'un brin tardif. La synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3' et le brin lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit brin discontinu.

Réplication et cycle cellulaire : la réplication se déroule pendant l'interphase avant toute division cellulaire. Elle se produit exactement au cours de la phase S (synthèse) de l'interphase chez les cellules eucaryotes.

2. Mécanisme de la réplication :

- -La réplication débute par la séparation des deux brins de l'ADN. L'ADN est déroulé en un point précis appelé : origine de la réplication. A partir de l'origine de réplication apparaît.
- A partir de l'origine de réplication apparaît : Une fourche mobile ayant la forme de Y. La réplication débute dans les deux sens à partir d'un point commun. Au niveau de chaque origine de réplication, **un réplicon** se développe.
- La double hélice de l'ADN est déroulée par une enzyme l'hélicase. Les protéines SSB (single strand binding protein) s'attachent à chacun des 02 brins pour garder les 02 brins séparés et empêcher la reformation de la double hélice.
- Chacun des 2 brins d'ADN joue le rôle de modèle pour former à son contact un brin **complémentaire**. Les fourches de réplication sont activées de façon bidirectionnelle. Au fur et à mesure que la réplication progresse, l'ADN est déroulé de ses nucléosomes. Après le passage du réplicon les nucléosomes se reforment.

La synthèse des 02 brins d'ADN se déroule de façon simultanée, ils sont déroulés dans des sens opposés. Le mécanisme de réplication est différent pour chacun des brins, car les 02 brins sont **antiparallèles**. La réplication est continue pour un brin dit : **brin précoce** (de 5' à 3'), et pour l'autre brin dit : **brin tardif** (de 3' à 5') le nouvel ADN est synthétisé sous forme de petits fragments appelés : **fragments d'Okasaki**.

Brin précoce : dans la réplication de l'ADN, le brin précoce est le brin d'ADN le long duquel le nouveau brin est synthétisé en continu, dans la même direction que la fourche.

Brin retardé (ou tardif) : dans la réplication de l'ADN, le brin retardé est le brin d'ADN le long duquel le nouveau brin est synthétisé de manière discontinue, en fragments.

Les fragments d'Okazaki sont les courts fragments d'ADN qui sont synthétisés de manière discontinue le long du brin retardé lors de la réplication de l'ADN.

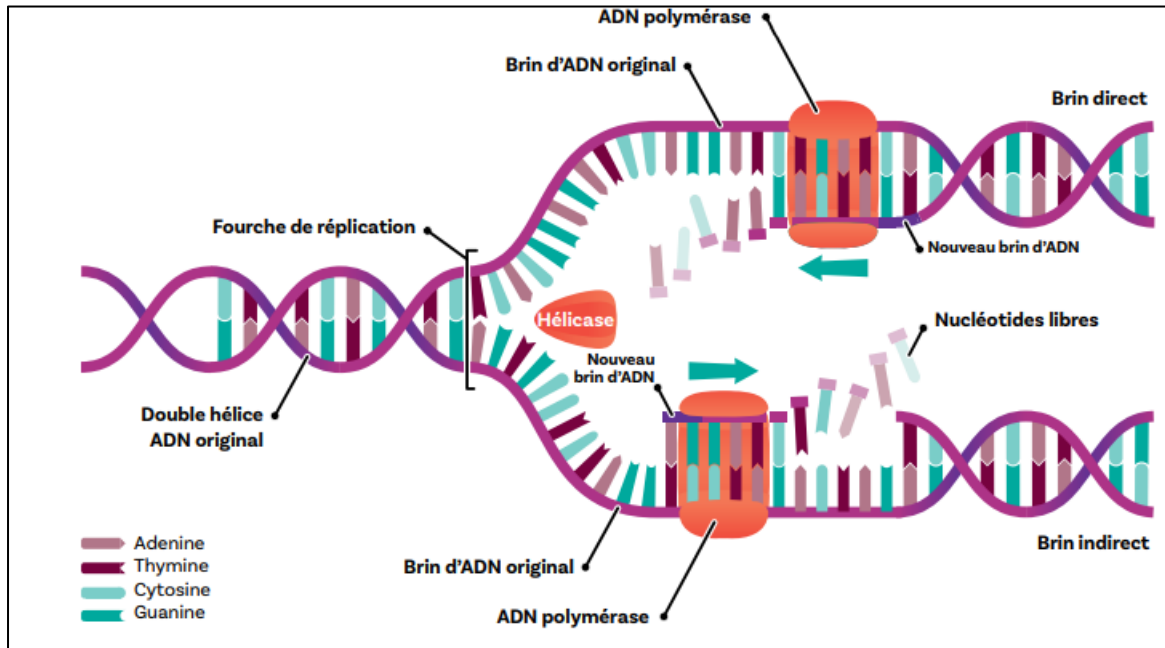


Fig1. La réplication de l'ADN

-**L'initiation de la réplication** ne peut se faire qu'avec une amorce (primers) constituée par un petit fragment d'ARN (court fragment de 8 à 12 nucléotides complémentaires à une région spécifique) synthétisé par une ARN polymérase (ou primase). L'enzyme responsable de la synthèse de l'ADN est une ADN polymérase III. Les amorces doivent être supprimées avant la fin de la réplication, les lacunes temporairement créées sont comblées par l'ADN.

- **La terminaison** correspond à l'arrêt de la réplication lorsque deux fourches de réplication se rencontrent ou lorsqu'une fourche rencontre un signal de terminaison de la réplication. Les 02 molécules filles sont séparées grâce à l'action des topoisomérases II.

2.1. Réplication chez les procaryotes

L'ADN procaryote est circulaire et présente une seule origine de réplication. Les molécules de l'ADN circulaires sont répliquées à partir d'une seule origine de réplication, cette origine est appelée réplicon. La fourche de réplication progresse dans les deux directions et se rencontrent et finissent par s'annuler.

Le déroulement de la double hélice génère un ADN circulaire super-enroulé. Ce superenroulement est diminué ou réduit par une enzyme appelée **Topoisomérase I**.

Cette enzyme produit une coupure temporaire dans l'un des deux brins de l'ADN circulaire à un emplacement qui se trouve avant la fourche de réplication, ce qui permet au brin roulé de tourner librement autour de l'autre brin et d'annuler le super-enroulement.

L'enzyme relie ensuite les deux bouts du brin coupé pour le refermer. Lorsque la réplication d'un chromosome bactérien est achevée on obtient deux molécules filles circulaires entrelacées. Elles sont séparées par l'action de la **Topoisomérase II** qui agit en coupant transitoirement les deux brins de l'une des deux molécules filles, permettant à l'autre molécule de se libérer séparant ainsi les deux molécules d'ADN produites.

2.2. Réplication chez les eucaryotes :

Chez les eucaryotes, la réplication est plus complexe .On compte environ 104 réplicons pour une cellule eucaryote.

-Chez les eucaryotes, la réplication a plusieurs points de départ et il y a simultanément 10 000 à 100 000 renflements signalant la fourche de séparation sur une cellule somatique humaine en cours de division, ce qui pose un problème majeur de synchronisation, cette synchronisation est assurée par les« **replication licening factor** ».

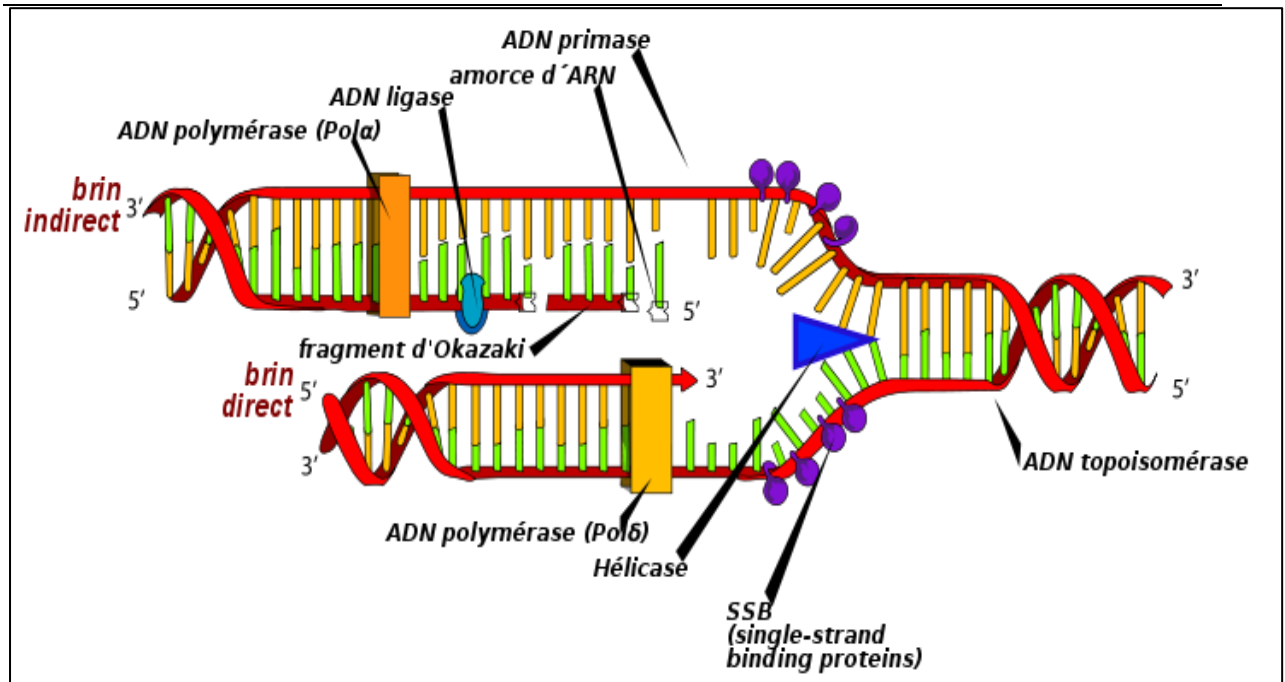


Figure 2. La réplication de l'ADN chez les eucaryotes

Chez l'homme, la vitesse de la réplication est environ 40 à 50 nucléotides /seconde. La vitesse de la réplication est beaucoup plus lente chez eucaryotes par rapport aux procaryotes.

- Contrairement au chromosome bactérien circulaire, les chromosomes eucaryotes sont linéaires. Ils font face à un problème des extrémités ou télomères. Il s'agit de séquences répétées d'ADN liées à des protéines, problème résolu par une enzyme la télomérase qui permet un allongement des chromosomes.

3. Transmission des mutations

Dans le cas où la mutation n'engendre pas des modifications qui empêchent la survie de la cellule, la mutation sera transmise si la cellule se divise.

La séquence des nucléotides au sein d'un gène constitue un message qui contrôle un caractère héréditaire. Une cellule mutée transmet son patrimoine génétique à ses cellules filles : on obtient alors un clone de cellules mutées.

La conséquence d'une mutation est différente selon le type de cellules qu'elle affecte :

A- Mutations somatiques

Les cellules somatiques (soma, « corps) sont les cellules de l'ensemble du corps. Les mutations somatiques n'ont de conséquences qu'au niveau de l'organisme porteur de la mutation. Par exemple le mélanome ou cancer de la peau développé chez des personnes après des dizaines d'années de trop fortes expositions au soleil.

B- Mutations germinales

Les cellules germinales ou germen, sont issues des cellules souches et peuvent former les spermatozoïdes et ovules. Les mutations germinales peuvent donc se retrouver portée par une cellule œuf à l'origine d'un nouvel individu. Cette mutation va alors se transmettre de génération en génération.

4. La réparation de l'ADN et détection du pouvoir mutagène

4.1. Correction des erreurs d'appariement lors de la réplication

Rappel : Les premières fonctions de correction sont celles qui s'exercent pendant la réplication

- La fonction exonucléasique de l'ADN polymérase, en cas de reconnaissance d'un mésappariement.
- Le système MMR (MISMATCH REPAIR) : supprime les erreurs de réplication comme la substitution, glissement) ainsi que des protéine sont impliqué dans la correction par ce système (MutS, MutL, MutH, Helicase 2, exonucleases, SSB, ADN poly 3, ADN ligase).

4.1.1. Correction immédiate : fonction d'édition de l'ADN polymérase

4.1.2. Système de réparation guidée par les CH₃ : SYSTEME MMR

Rappel : Le système MMR (Methyl Mismatch Repair) est un système de réparation permettant la correction d'un mésappariement oublié par la fonction d'édition. Grâce à ce système, on aboutit à un taux d'erreur de 1 pour 10⁹ bases.

Lorsque le système détecte un mésappariement, il détecte aussi le brin qui doit être corrigé. Pour pouvoir savoir quel est le brin avec le mésappariement, il se base sur le temps où il n'ya pas encore eu méthylation du brin fils. Le nucléotide du mésappariement du brin non méthylé est celui qui doit être corrigé.

Ce système existe aussi bien chez les cellules eucaryotes et que chez les cellules procaryotes.

- Chez les procaryotes, le système de réparation repère la méthylation des adénines des séquences GATC et fait intervenir les enzymes **MUT**.
- Chez les eucaryotes, le système repère la méthylation des cytosines des séquences CG et fait intervenir les enzymes hMSH, hMLH, hPMS.

A. Chez E. Coli

- Le système enzymatique de réparation est multi-protéique. Il est capable de reconnaître un mésappariement et une séquence GATC située dans l'environnement du mésappariement (jusqu'à 1000 pb), afin de vérifier le brin méthylé.
- Ce complexe multi enzymatique est codé par les gènes MUT et constitué des enzymes MUT. Il peut se positionner sur le mésappariement et détecter le brin méthylé. Il a une activité endonucléasique : il peut cliver les liaisons phosphodiester à l'intérieur d'une chaîne. Ce complexe excise le fragment d'ADN simple brin qui contient le mésappariement (donc sur le brin non méthylé). Cela entraîne la formation d'une lacune qui doit être comblée.
- **L'ADN POL III** se positionne alors en 3'OH en synthétise l'ADN complémentaire et antiparallèle. La dernière liaison phosphodiester est effectuée par l'ADN ligase. Ce système doit agir dans le laps de temps où la méthylation du brin fils n'est pas encore effectuée. Une fois ce laps de temps écoulé, les ADN méthylase rentrent en jeu et méthylent en miroir le brin fils. Le complexe ne peut alors plus reconnaître le brin fils.

B. Chez l'homme

Le complexe multienzymatique aux mêmes fonctions Le complexe multienzymatique a les mêmes fonctions, mais il est basé sur les méthylations des cytosines des séquences répétées GC. Les enzymes qui interviennent ne sont pas les enzymes MUT mais les enzymes hMSH, hMLH et hPMS (h pour humain).

Pathologie : Dans certaines formes familiales **du cancer du colon**, comme le syndrome du **cancer colique familial** (ou HNPCC ou syndrome de Lynch), il y a une inactivation ou altération de ce système au niveau génique. Dans ces cancers héréditaires du colon, il y a une **mutation constitutionnelle au niveau des gènes MSH1 et 2**. C'est un syndrome à transmission autosomique dominant, qui aboutit à un défaut de réparation de l'ADN. Cela représente environ 4% des cancers colorectaux diagnostiqués.

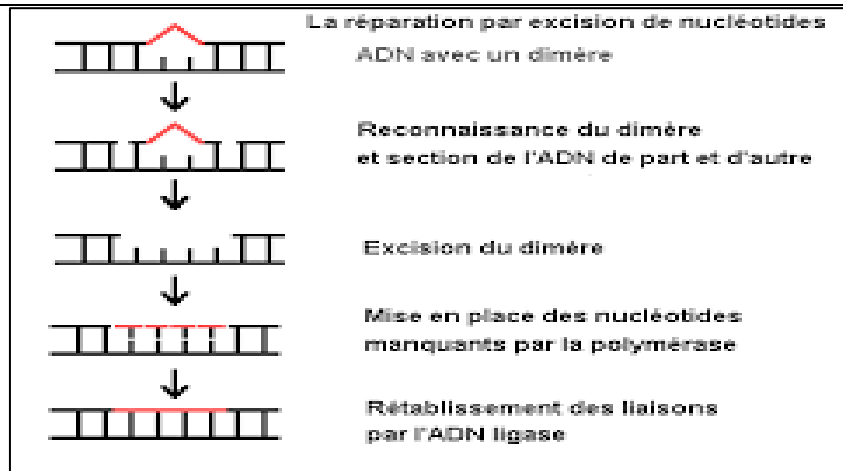


Figure 3 : Le mécanisme de réparation

Le système NER a pour fonction de réparer des lésions étendues de l'ADN (suite à des radiations par exemple). Ce système fonctionne en trois étapes : la reconnaissance de la région lésée, l'excision des nucléotides lésés et la synthèse du nouveau brin d'ADN. Le système NER comprend deux voies, l'une spécifique des régions non codantes de l'ADN (Global Genome NER) et l'une spécifique des régions transcrites (transcription coupled-NER)

5. Les systèmes de restriction –modification

5.1. La carte de restriction

Une carte de restriction montre l'arrangement linéaire des sites de reconnaissance de l'endonucléase de restriction le long d'une molécule d'ADN. Exemple, On utilise les sites de restriction comme marqueurs dans ce cas. On applique généralement cette technique aux fragments d'ADN courts. Les plasmides participent aux transferts horizontaux de gènes, donc entre espèces et populations différentes. Ils concourent à la dissémination de gènes conférant des avantages sélectifs (par exemple des résistances aux antibiotiques, à des biocides ou encore des facteurs de virulence).

Les Plasmides sont des structure d'ADN circulaire double brin, extra-chromosomique présents dans les bactéries et ils sont capable de répliqué indépendamment du chromosome bactérien leur taille est de 3-10 Kb, sont utiliser comme des vecteur de colonage et d'expression des gènes

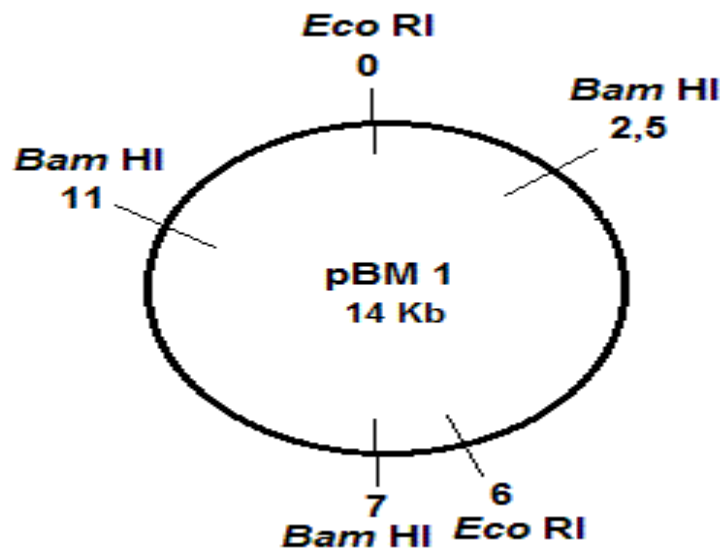


Figure 4. Carte de Restriction

Un vecteur de clonage (ou plasmide) est une molécule d'ADN généralement circulaire distincte de l'ADN chromosomique. Permettant d'intégrer une information génétique dans un microorganisme, ils sont utilisés afin de lui faire produire une protéine d'intérêt ou encore pour amplifier un fragment d'ADN donné.

5.2. LES ENZYMES DE RESTRICTION

5.2.1. Les sites de restriction

Les enzymes de restriction sont réparties en trois classes en fonction des types de sites qu'elles reconnaissent :

- **Type I** : Elles reconnaissent des séquences particulières mais qui ne présentent aucune symétrie, et ne coupent pas l'ADN au niveau de ce site mais plus loin sur l'ADN (environ 1000 nucléotides).
- **Types III** : Mêmes particularités que les enzymes de type I, mais elles coupent l'ADN à environ 20 nucléotides du site de reconnaissance.
- **Type II** : Ce sont les enzymes les plus nombreuses, reconnaissent une séquence spécifique et coupent en un endroit spécifique de cette séquence. ces sites sont le plus souvent des séquences palindromiques, c'est-à-dire des séquences d'ADN de 4 à 8 nucléotides à symétrie inversée

Les enzymes de restriction sont utiles pour de nombreuses applications différentes. Étant donné que la séquence d'ADN est différente dans chaque organisme, le schéma des sites de restriction sera également différent. La source d'ADN isolé peut être identifiée par ce motif

- Ces enzymes sont capables de couper l'ADN au niveau de sites appelés site de restriction.
- Elles appartiennent à la classe des endonucléases, elles sont capables de cliver les liaisons phosphodiester entre deux nucléotides à l'intérieur de la chaîne d'un acide nucléique par opposition aux exonucléases qui n'attaquent que les nucléotides situés aux extrémités des fragments ; on dénombre à l'heure actuelle une centaine de ces enzymes, chacune possédant son propre site de restriction.
- Il est évident que les sites de restriction, constitués pour la plupart uniquement de quelques nucléotides, sont retrouvés de nombreuses fois dans le génome, et que l'action de ces enzymes de restriction va engendrer de nombreux fragments. Ces enzymes ont la particularité de couper l'ADN sur ces deux brins.
- Ces enzymes sont issues de micro-organismes, le plus souvent les bactéries, qui synthétisent ces enzymes pour couper l'ADN des virus qui tenteraient de les infecter.

Pour éviter que l'enzyme de restriction ne coupe l'ADN de son propre génome, la bactérie fabrique aussi une deuxième enzyme appelée méthylase, qui reconnaît également le site de restriction. La méthylase ne coupe pas l'ADN, mais le modifie en rajoutant un groupement méthyle sur un ou plusieurs nucléotides du site. Cette méthylation empêche la coupure par l'enzyme de restriction.

La nomenclature des enzymes de restriction est précise. Leur nom comporte 3 ou 4 lettres:

- La première lettre est en majuscule cela correspond à la première lettre du genre de la bactérie dont a été isolé l'enzyme
- La seconde et troisième lettre sont en minuscule et correspondent aux deux premières lettres de l'espèce bactérienne
- Le chiffre romain caractérise l'enzyme lorsque plusieurs ont été isolées de la même source