

CHAPITRE 2

MECANISMES DE LA REPLICATION ET DE LA REPARATION DE L'ADN

S.BOUSLAMA

Objectifs du cours

L'étudiant après ce cours devrait

- Connaître le but de la réplication de l'ADN
- Enumérer les « matériaux » nécessaires à la synthèse de l'ADN
- Identifier les enzymes participant à la synthèse
- Les caractéristiques de cette synthèse
- Expliquer le mécanisme de réparation de l'ADN

Introduction

Pour assurer leur croissance et le renouvellement de leurs cellules (vieilles ou altérées) les êtres vivants recourent à la mitose (multiplication cellulaire). Lors de la mitose une cellule mère donne 2 cellules filles identiques. Chaque cellule fille hérite du matériel génétique (ADN). Pour ce faire les cellules lors de la phase S de la mitose vont dupliquer leur ADN pour donner dans chaque cellule fille un même ADN.

(Consulter ce lien : <https://www.youtube.com/watch?v=oebogqrX5F4>)

1. Caractéristiques fondamentales de la réplication

- Elle se fait de façon **complémentaire** : selon les règles d'appariement : A-T / G-C,
- Elle est **antiparallèle** : un brin est orienté dans le sens 5'—3' l'autre dans le sens 3'—5'.
- La **polymérisation d'un brin est unidirectionnelle**, se fait dans le sens 5'-- 3'. Il y a formation d'une liaison phosphodiester entre l'extrémité 3'OH du brin en voie d'élongation et l'extrémité 5'phosphate du nucléotide ajouté.
- L'enzyme de polymérisation nucléotidique est l'ADN polymérase qui fonctionne à sens unique (fig.1)

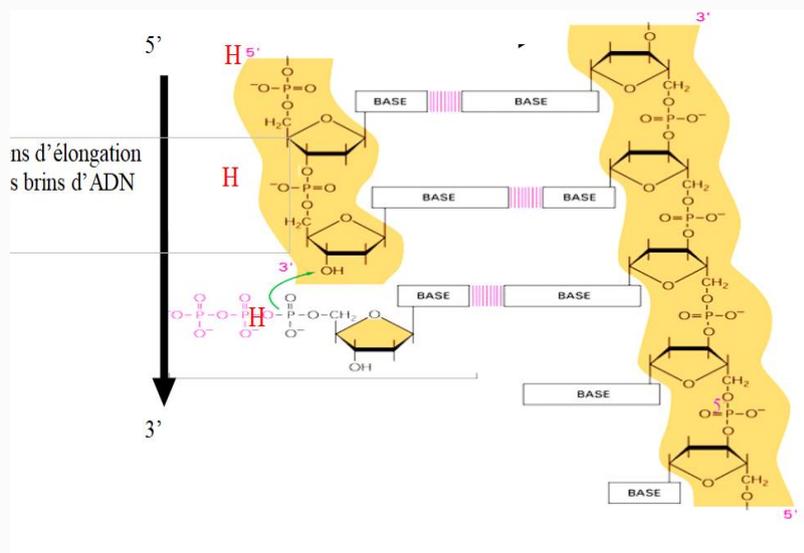


Figure 1 : orientation des 2 brins d'ADN

L'ADN polymérase a besoin des composés suivants pour synthétiser une chaîne d'ADN :

- Les quatre substrats ou nucléotides (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) et du Mg^{2+} ;
- Une amorce (extrémité 3'OH d'un nucléotide) ;
- L'ADN polymérase (ajoute les substrats à l'extrémité 3'OH de l'amorce) ;
- matrice d'ADN (la réplication se fait par copie de l'ADN matriciel).
- D'autres enzymes qui sont nécessaires (déroutases, hélicases, protéines stabilisatrices...)

La réplication est **semi-conservative** : c'est à dire que lors de la duplication, les deux brins d'ADN se séparent et chacun constitue une matrice pour la réplication. Donc à la fin, chaque hélice d'ADN sera formée d'un brin parental et d'un brin néo-synthétisé.

Expériences montrant ce mécanisme : des cellules sont marquées par la dTTP [3H] pendant la phase de synthèse de l'ADN. A la fin de la première mitose, les chromosomes métaphasiques montrent par autoradiographie un marquage des chromatides sœurs, alors qu'à la seconde division mitotique une seule d'entre elles est marquée. (fig2)

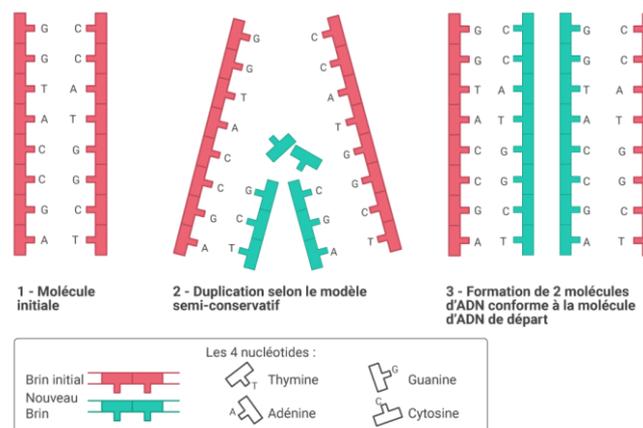


Figure2 : réplication des brins d'ADN

La **réplication est bidirectionnelle** : La réplication démarre à l'intérieur de la molécule d'ADN en un point appelé **origine de réplication** puis se poursuit dans les deux directions en copiant les deux brins à chaque fourche. Chaque origine de réplication engendre deux fourches de réplication. (fig.3). Dans un chromosome circulaire (chez les bactéries et certains virus), une origine est souvent suffisante et les deux fourches qui en partent se confondent du côté opposé du cercle pour finir la réplication.

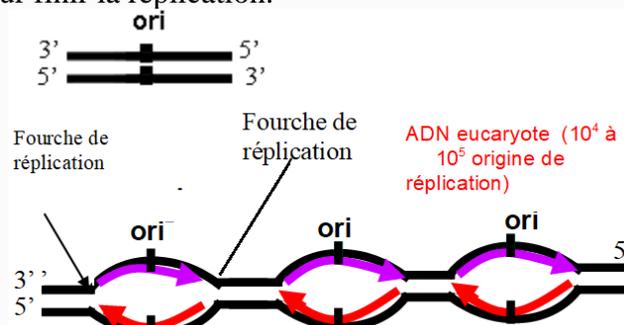


Figure 3 : réplication bidirectionnelle de l'ADN

La réplication est **semi-discontinue** : la synthèse de l'ADN nécessite (*) la présence d'un brin précoce (ou primaire) qui est le brin lu dans le sens de la fourche et (**) d'un brin tardif (ou secondaire) qui est le brin lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit brin discontinu. On parle ainsi de réplication semi-discontinue.

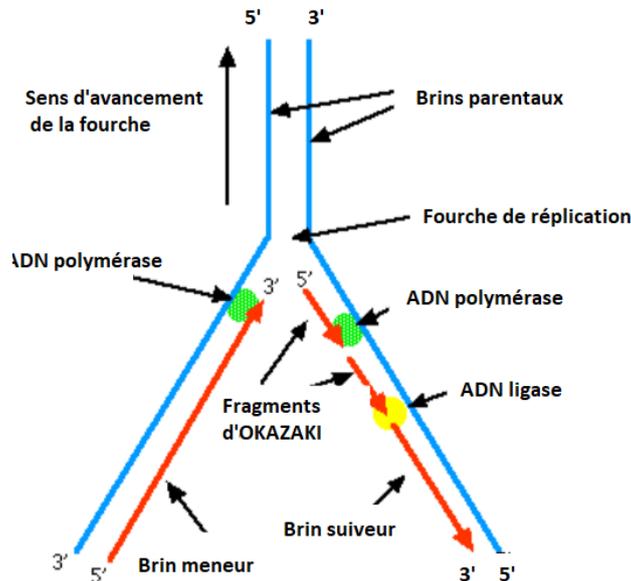


Figure 4 : Avancement de la synthèse des 2 brins n d'ADN

2. Mécanismes de la réplication

Etant donné que la synthèse de l'ADN se fait dans la direction $5' \rightarrow 3'$, les deux brins progresseront dans donc des sens opposés. les deux brins de l'ADN sont synthétisés simultanément.

L'ADN est super enroulé (voir chapitre1). Pour que la réplication se fasse rapidement, plusieurs enzymes y contribuent. L'ADN polymérase est l'enzyme clé.

- ☞ **Protéine ADN A** : se fixe à l'origine de réplication et permet l'initiation de la réplication en aidant à l'ouverture de l'ADN ;
- ☞ **Hélicase** : sépare progressivement les 2 brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes ;
- ☞ **Topo-isomérase (ADN gyrase)** : qui réduit les torsades (hyper-enroulement) formées par la progression de la fourche ;
- ☞ **Une Déroulase (protéine SSB *single stranded binding protein*)**: fixe le simple brin l'empêche ainsi de se réenrouler lors de la migration des fourches répliquatives.
- ☞ **Une Primase** : c'est ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise des amorces ARN d'une dizaine de nucléotides ;
- ☞ **ADN Polymérase III** : permet d'ajouter les nucléotides dans le sens $5' \rightarrow 3'$ (élongation) ;
- ☞ **L'ADN Polymérase I** : élimine les amorces ARN du brin suiveur par son activité exonucléasique $5'3'$ et comble le vide par son activité polymérasique ;
- ☞ **L'ADN ligase** : lie entre eux les fragments d'Okasaki ;
- ☞ **Protéine Tus** au site de terminaison : met fin à la réplication (fig.5)

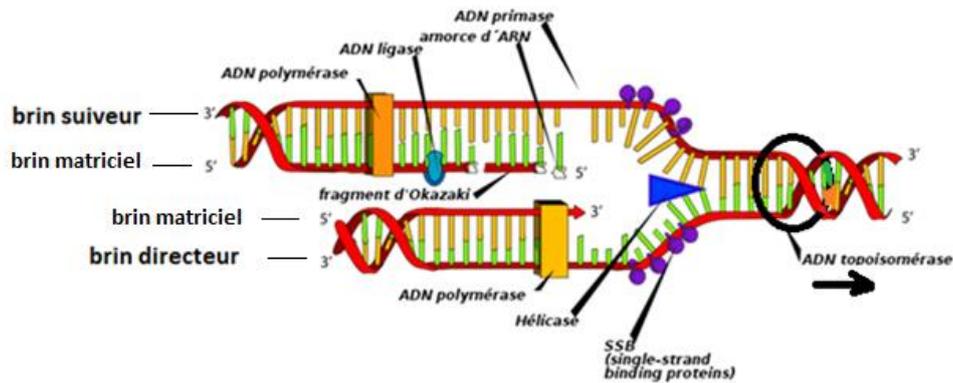


Figure 5 : schéma du mécanisme de la réplication de l'ADN

Fragments d'Okazaki

Quand la fourche de réplication progresse, le brin qui servira de matrice pour la synthèse du brin suiveur (tardif) est orienté dans le sens $5' \rightarrow 3'$. Seulement l'ADN polymérase III ne peut lire un brin matriciel que s'il est dans le sens $3' \rightarrow 5'$. Dans ces conditions, la réplication de ce brin matriciel démarre en retard (d'où le nom tardif ou suiveur). En effet pour le brin directeur (meneur ou leader) dès que la fourche s'ouvre il commence à être synthétisé. Alors que pour le brin suiveur il faut que son brin matriciel soit assez découvert pour commencer sa synthèse. De cette manière sa synthèse sera segmentée en fragment de taille relativement constante. 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 'soudure' des deux fragments se fait par une ligase.

Consulter le lien : <https://www.youtube.com/watch?v=1je9pMgzD-s>

3. La réparation de l'ADN

3.1. Erreurs commises lors de la réplication

Les erreurs commises lors de la réplication entraînent une erreur dans le code génétique. L'erreur peut se faire par les ADN polymérase lors de la réplication, ou par des agents externes radiations, ionisantes, UV, radicaux libres, agents alkylants...etc.

Nous nous résumerons aux erreurs commises par le système enzymatique.

3.1.1. Mutation par substitution

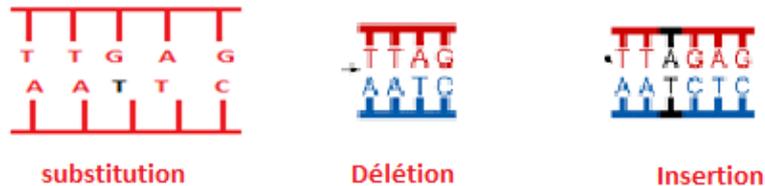
Cela correspond à une mauvaise incorporation de nucléotide sur le brin fils. Une base, est alors remplacée par une autre.

3.1.2. Mutations par délétion

Il s'agit d'un oubli d'incorporation d'un nucléotide par l'ADN polymérase. Lorsque le brin fils va servir d'ADN matrice, cela entraîne un décalage du cadre de lecture (codons erronés).

3.1.3. Mutations par insertion

Il s'agit d'une introduction d'un nucléotide en trop par l'ADN polymérase. Cela entraîne également un décalage de cadre de lecture.



3.2. Détection des dommages

La cellule dispose de plusieurs "sondes" lui permettant de détecter les dommages de l'ADN. Ces sondes sont des protéines, comme la glycosylase, qui vont être capables de détecter spécifiquement les différentes altérations se produisant sur l'ADN. Chaque système de réparation utilise ses sondes spécifiques. Ces différentes sondes vont reconnaître et se fixer à des **structures anormales** présentes au sein de l'ADN.

3.3. Conséquences de la modification de l'ADN

La **réparation de l'ADN** est un ensemble de processus par lesquels une cellule identifie et corrige les dommages aux molécules d'ADN. Ce dernier est soumis continuellement à des facteurs chimiques comme les radicaux libres de l'oxygène, les agents alkylants, ou à des agents physiques, comme les radiations ultraviolettes et les rayonnements ionisants.

Ces stress induisent des modifications chimiques des bases nucléiques de l'ADN, des cassures simple brin de l'ADN, des pontages intra-brins et inter-brins, des pontages ADN protéines et finalement des cassures double brin de l'ADN détruisant ainsi l'intégrité du chromosome.

L'endommagement de l'ADN peut faire entrer la cellule dans :

- un état de dormance irréversible, connu sous le nom de sénescence ;
- une mort par apoptose ;
- une division cellulaire non contrôlée conduisant à la formation d'une tumeur cancéreuse.

3.4. Système de réparation

Pour répondre aux attaques chimiques et/ou physiques, la cellule a développé des systèmes lui permettant de sonder son ADN et de le réparer si nécessaire. Il y a plusieurs systèmes de réparation. Nous verrons ici le plus utilisé ou système par excision. (fig.6)

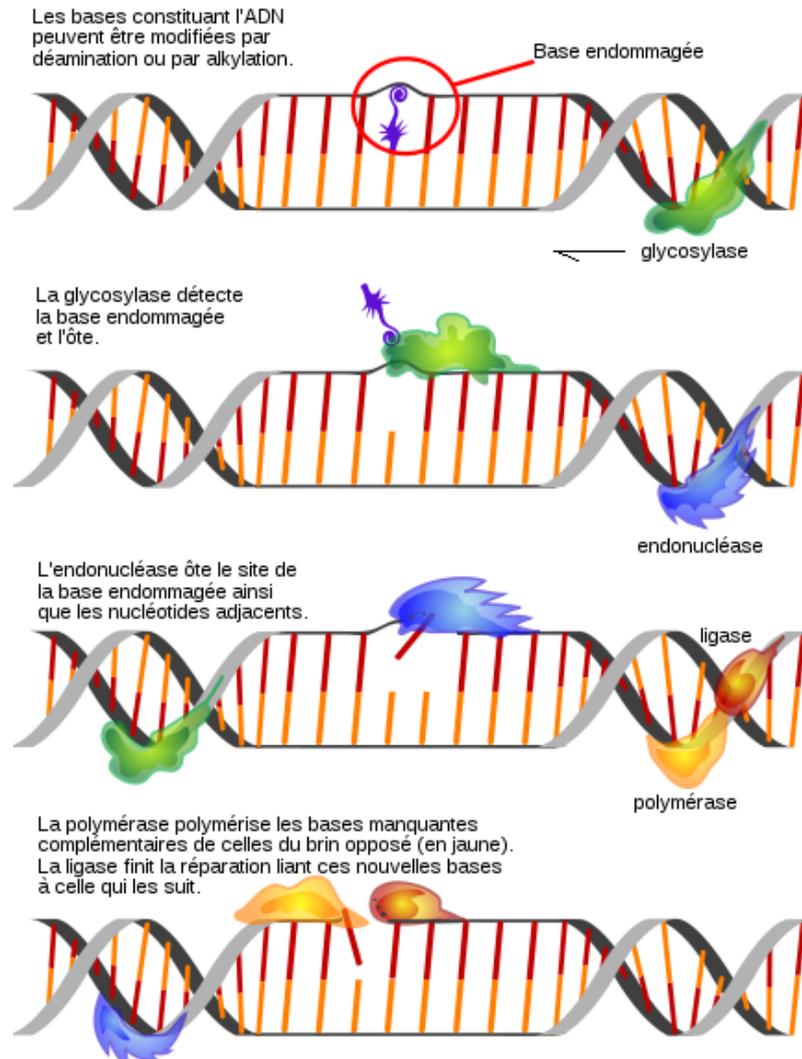


Figure 6 : Réparation de l'ADN par excision

[https://www.news-medical.net/life-sciences/Mechanisms-of-DNA-Repair-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Mechanisms-of-DNA-Repair-(French).aspx)

https://www.youtube.com/watch?v=Auqe1_jAsWk