

XII. La réplication de l'ADN

1- Présentation

La réplication permet, de former, à partir d'une molécule d'ADN, deux molécules d'ADN identiques. Ce mécanisme explique comment l'information génétique est conservée dans toutes les cellules de l'organisme, lesquelles vont permettre la transmission de cette information à la descendance (c'est l'hérédité). 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 :

- **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**.

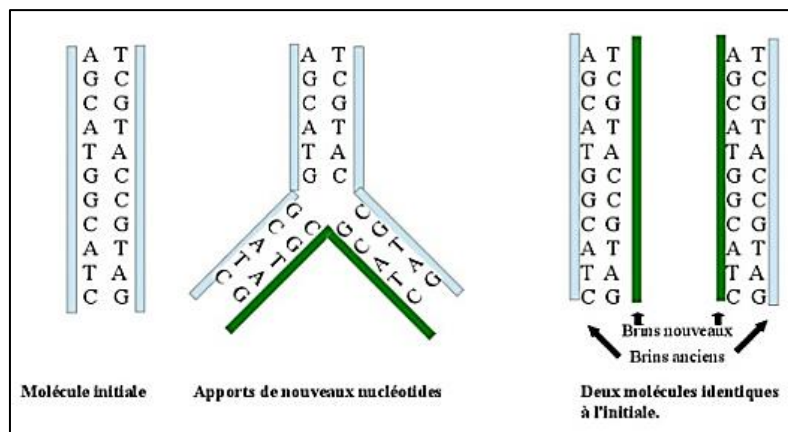


Figure 1 : Modèle de réplication semi-conservative

- **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.

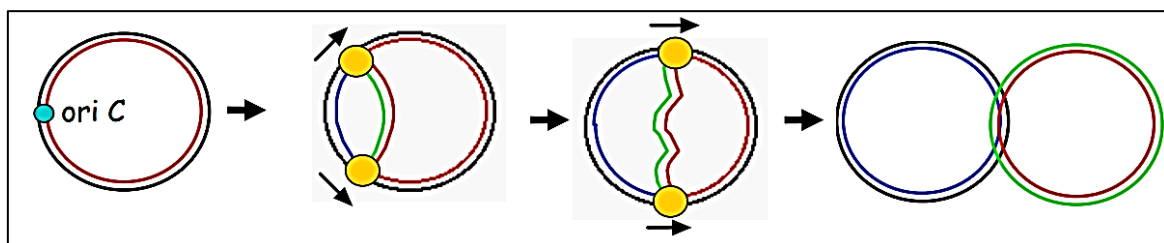


Figure 2 : Origine de réplication chez les procaryotes

- 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.

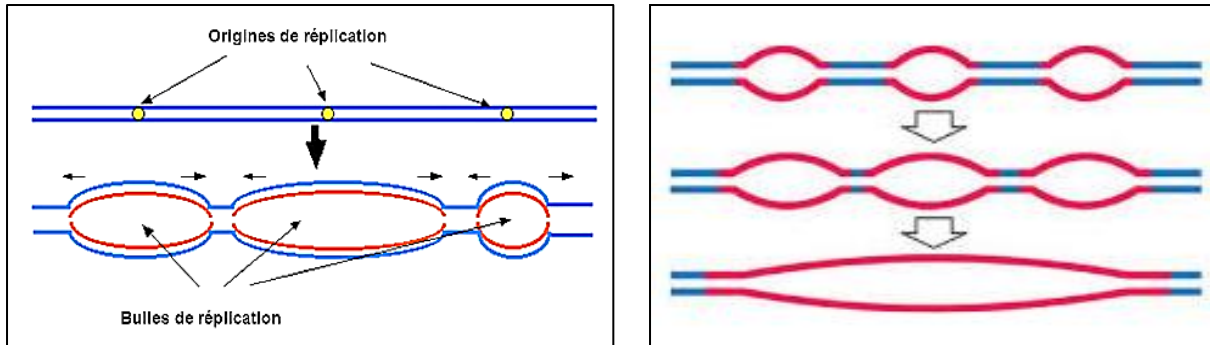


Figure 3 : Bulles de réplication et fusion des réplicons chez les eucaryotes

• Les ADN polymérases

Les ADN polymérases sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN. Elles sont ADN dépendantes. Elles possèdent deux activités :

- Une **activité polymérasique 5' vers 3'** : qui est leur activité principale
- Une **activité exo-nucléasique** : qui peut être de 2 types (selon les polymérases) : **De 3' vers 5'** lors de la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié, ou **de 5' vers 3'** lors de la jonction des segments d'ADN synthétisés sur le brin retardé.

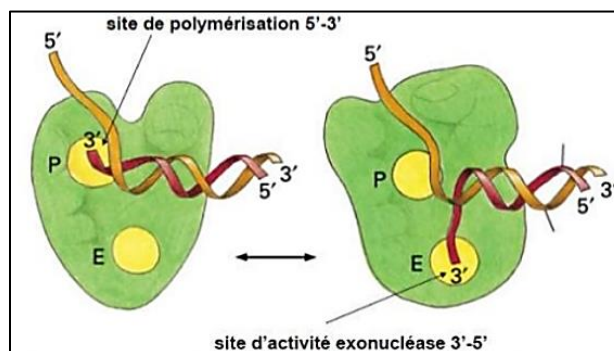


Figure 4 : Sites polymérasique et exonucléasique de l'ADN polymérase

• Réplication bidirectionnelle

La région où la double hélice est déroulée et le nouvel ADN synthétisé est appelée fourche de réplication (structure en forme de Y). A chaque origine, il y a formation d'un **œil de réplication** qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des fourches. A partir de ce point

d'initiation, la réplication procède dans les deux directions jusqu'à ce que l'ADN soit dédoublé. On dit que la réplication est **bidirectionnelle**.

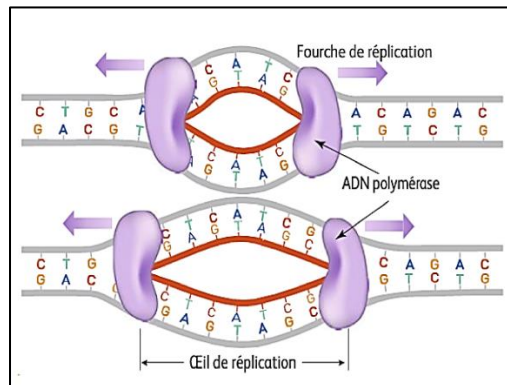


Figure 5 : Réplication bidirectionnelle au niveau des fourches

- **Polymérisation unidirectionnelle**

La polymérisation est unidirectionnelle et se fera toujours dans le même sens : **5' vers 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.

- **Réplication semi-discontinue**

Au niveau d'une fourche de réplication, les deux brins fils sont synthétisés simultanément. Puisque la synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3', il existe un **brin précoce ou avancé (primaire)** qui est le brin lu dans le sens de la fourche et un **brin tardif ou retardé (secondaire)** qui est lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit brin discontinu. La synthèse de ce dernier sera segmentée en fragments de taille relativement constante à chaque fois que le brin matriciel sera assez « découvert ». Ces fragments sont appelés fragments d'Okazaki.

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.

3- Réplication chez les procaryotes

3-1- Les ADN polymérases procaryotes

- Les **ADN polymérases III** sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN. Elles présentent les activités polymérasique 5' – 3' (mais pas exo-nucléasique 5' - 3'). Elles prolongent les fragments d'Okazaki.
- Les **ADN polymérases I** présentent les activités polymérasique 5' vers 3' et exo-nucléasiques 5'-3' et 3'-5'. Ce sont des enzymes peu processives, ce qui ne leur permet pas de faire la majorité de la réplication des ADN procaryotes. Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN et pour combler les brèches laissées par l'ADN polymérase III. Elles enlèvent les amorces d'ARN et les remplacent par de l'ADN.
- Les **ADN polymérases II** sont douées d'une activité de réparation.

3-2- Les protéines nécessaires à la réplication

- Les **topo-isomérases** : relâchent les contraintes de torsion de l'ADN. Il en existe 2 types (I et II). Seule la topoisomérase de type II consomme de l'ATP ; la topoisomérase II d'*E. coli* s'appelle l'**ADN gyrase**.
- Les **hélicases** : déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogène avec consommation d'ATP. Elles coupent et déroulent de courts segments d'ADN juste avant chaque fourche de réplication.

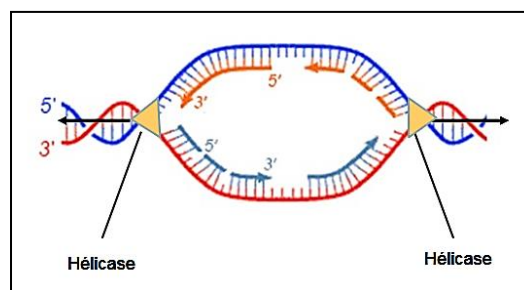


Figure 6 : Positionnement des hélicases au niveau des fourches

- Les **protéines SSB** (Single Stranded Binding protein), appelées aussi « protéines déstabilisant l'hélice »: se lient aux brins exposés et les gardent séparés en bloquant la formation des liaisons hydrogènes. De plus, elles empêchent qu'une chaîne se replie sur elle-même en formant une boucle.

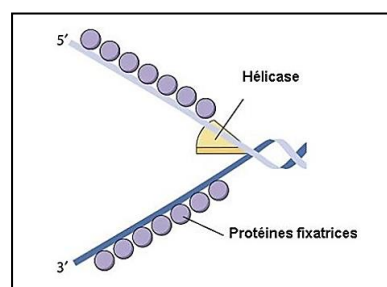


Figure 7 : Emplacement des SSB sur les deux brins de l'ADN

- La **primase** : il s'agit d'une ARN polymérase ADN-dépendante. Elle synthétise une amorce de nucléotides d'ARN avec une séquence de bases complémentaire à la matrice d'ADN. En effet, l'ADN polymérase n'a aucun « esprit d'initiative », elle ne sait pas commencer une chaîne. Elle ne sait qu'allonger une chaîne de nucléotides (c'est à dire qu'elle ne sait qu'ajouter un nucléotide à l'extrémité 3'OH d'un acide nucléique). C'est l'ARN polymérase qui est capable de commencer une chaîne d'acide nucléique.

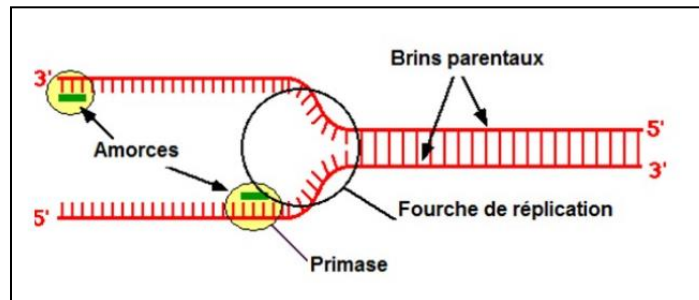


Figure 8 : Intervention de la primase dans la synthèse des amorces

- Les **ADN ligases** : catalysent la formation de la liaison phosphodiester. Elles ligaturent les fragments d'Okazaki. L'ADN ligase a besoin d'ATP.

3-3- Mécanisme de la réplication procaryote

- **Ouverture de la double hélice et formation de la fourche réplivative**

Cette étape fait intervenir les topoisomérases, les hélicases et les protéines SSB.

- **Addition des nouveaux nucléotides, élongation du brin précoce et du brin tardif**

La primase met en place l'amorce d'ARN. L'ADN polymérase III est responsable de l'initiation et de l'élongation du brin précoce et du brin tardif. A chaque fragment d'Okazaki, une **primase** synthétise une **amorce d'ARN**. Les amorces sont ensuite détruites par des ribonucléases. L'ADN polymérase I va combler la brèche entièrement.

- **Terminaison**

Chez *E. coli*, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliquée, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, et dissociés par la topoisomérase II. L'ADN polymérase I complètera ensuite les parties non répliquées. La dernière liaison phosphodiester entre l'extrémité 5' du premier fragment et l'extrémité 3' du deuxième fragment sera réalisée par la **ligase**. Cette dernière lie également les fragments d'Okazaki.

4- Réplication chez les eucaryotes

4-1- Les ADN polymérases eucaryotes

- L'ADN polymérase γ est impliquée dans la réplication de l'**ADN mitochondrial**

- L'ADN polymérase α a une fonction de **primase**. Il s'agit d'un complexe réunissant une ARN polymérase et une ADN polymérase. Elle synthétise d'abord de courtes amorces d'ARN, puis les prolonge par de l'ADN pour donner l'amorce finale.
- Les ADN polymérases δ et ϵ sont responsables de la réplication du **brin précoce et du brin tardif**. Le PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) est une molécule qui augmente fortement la processivité. Elle ressemble à un collier coulissant associé à l'ADN polymérase (on parle de **clamp β** chez *E. coli*). L'ADN polymérase δ est très processive en présence de PCNA. L'ADN polymérase ϵ est très processive même en absence de PCNA.

4-2- Les télomères

Le télomère est formé grâce à des **téломérases** qui sont des ribonucléoprotéines pouvant s'associer à l'extrémité du chromosome.

4-3- Les phases de la réplication

- **Activation** : une partie de la double hélice est déroulée. Les enzymes séparent les deux brins pour ouvrir **une bulle de réplication**. Les doubles-brins sont ouverts, au niveau de chaque origine de réplication pour permettre l'entrée d'une **hélicase**. Les **protéines fixatrices** se lient aux brins exposés et les gardent séparés
- **Elongation** : L'ADN polymérase s'insère dans la bulle de réplication. Une **primase** synthétise une amorce d'ARN. L'ADN polymérase remplace l'amorce avec des bases d'ADN. L'ADN polymérase utilise les brins parents pour créer les nouveaux brins complémentaires. La synthèse du brin tardif s'effectue plus lentement que le brin principal. Enfin, une **ligase** lie les fragments d'Okazaki pour créer un nouveau brin d'ADN continu
- **Achèvement** : L'ADN polymérase corrige les erreurs. Les brins parentaux et les brins fils se reforment en hélice.

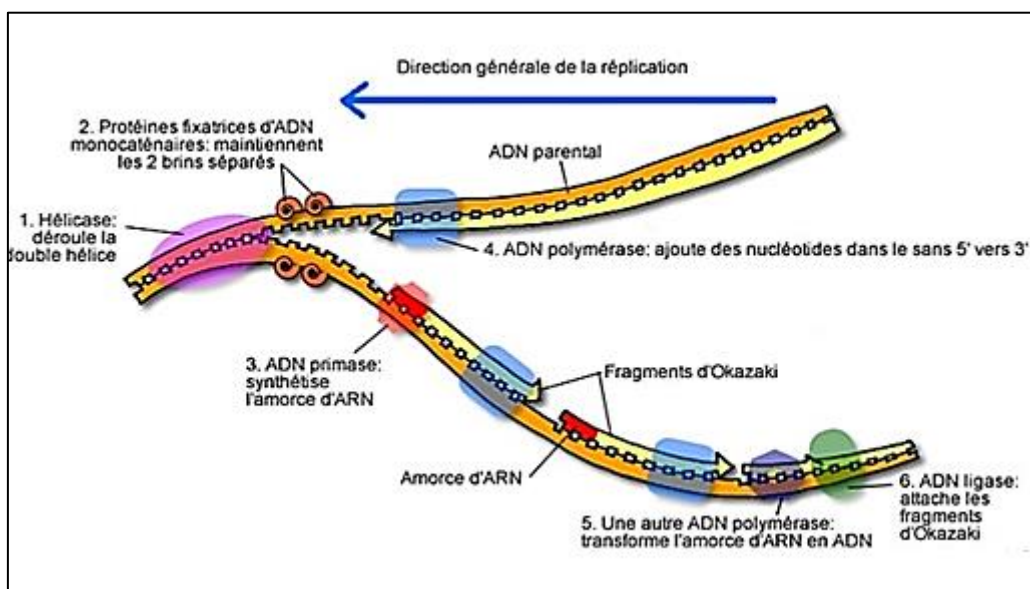


Figure 9 : Etapes de la réplication de l'ADN