# La Réplication de l'ADN

Dr Alexandre JANIN Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – Hospices Civils de Lyon

> ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon Université Claude Bernard Lyon 1





Date	Horaire	Cours	Enseignant
28/08/2025	10h30-12h30	Intro + Ac nucléiques (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
01/09/2025	8h15-10h15	Organisation du génome (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
04/09/2025	10h30-12h30	Acides aminés (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
08/09/2025	10h30-12h30	Protéines (1+2/4)	Jonathan LOPEZ
09/09/2025	10h30-12h30	Protéines (3+4/4)	Jonathan LOPEZ
11/09/2025	10h30-11h30	Génétique des populations (1/1)	Jonathan LOPEZ
11/09/2025	11h30-12h30	Chimie Organique (QR)	Pascal NEBOIS
16/09/2025	10h30-12h30	Chimie Physique (QR)	Julie-Anne CHEMELLE
18/09/2025	10h30-12h30	Réplication (1+2/2)	Alexandre JANIN
23/09/2025	10h30-12h30	Lipides (1+2/4)	Olivier MEURETTE
25/09/2025	10h30-12h30	Réparation (1+2/2) Transcription	Alexandre JANIN
30/09/2025	10h30-12h30	Lipides (3+4/4)	Olivier MEURETTE
03/10/2025	10h30-12h30	Modifications du génome et pathologies (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
06/10/2025	10h30-12h30	Traduction (1+2/2) Traduction	Alexandre JANIN
09/10/2025	10h30-12h30	Cholestérol et stéroides (1+2/2)	Florence ROUCHER
16/10/2025	10h30-12h30	Transcription (1+2/2) Réparation	Alexandre JANIN
27/10/2025	Contrôle continu 1		
30/10/2025	10h30-12h30	Enzymologie (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
03/11/2025	10h30-11h30	QR Biomol Janin	Alexandre JANIN









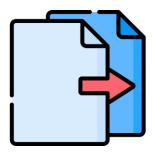


Activer les réponses par SMS

## Plan

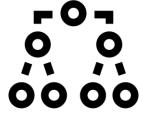
- 1. Définition et contexte général
- 2. Les acteurs de la réplication
- 3. Mécanismes de la réplication procaryote
  - 3.1. L'initiation de la réplication
  - 3.2. L'élongation
  - 3.3. Terminaison
- 4. Mécanismes de la réplication eucaryote
  - 4.1. Les spécificités par rapport aux procaryotes
  - 4.2. Notion de cycle cellulaire
  - 4.3. Les acteurs eucaryotes
  - 4.5. Cas particulier des télomères
  - 4.4. Les nucléosomes
- 5. Exemples d'applications médicales

## 1. Définition et contexte général



**Duplication** du patrimoine génétique

→ étape nécessaire à la survie et à la prolifération cellulaire



Précède la division cellulaire qui donnera 2 cellules filles identiques

La survie à court terme d'une cellule dépend de la prévention des modifications de son ADN

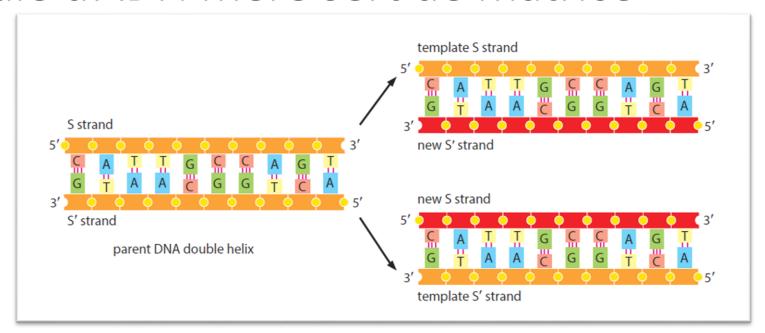




#### Taux de mutations des génomes extrêmement bas

environ 1 nucléotide modifié pour 109 nucléotides à chaque cycle de réplication (E. coli, nématode, Homme...)

#### La molécule d'ADN mère sert de matrice

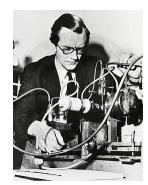


- Chaque brin d'ADN sert de matrice à la synthèse
- Complémentarité des bases → fidélité de la réplication !
- Vitesse et précision +++ :
  - Exemple : réplication de l'ADN d'une cellule humaine
    - → équivalent du recopiage de 1000 livres de 900 pages en 8h environ
    - → seulement quelques fautes sur la totalité des copies!
- Ensemble de protéines formant la machinerie cellulaire de réplication

## Différents modèles de réplication









**James Watson** 

Francis Crick Maurice Wilkins Rosalind Franklin

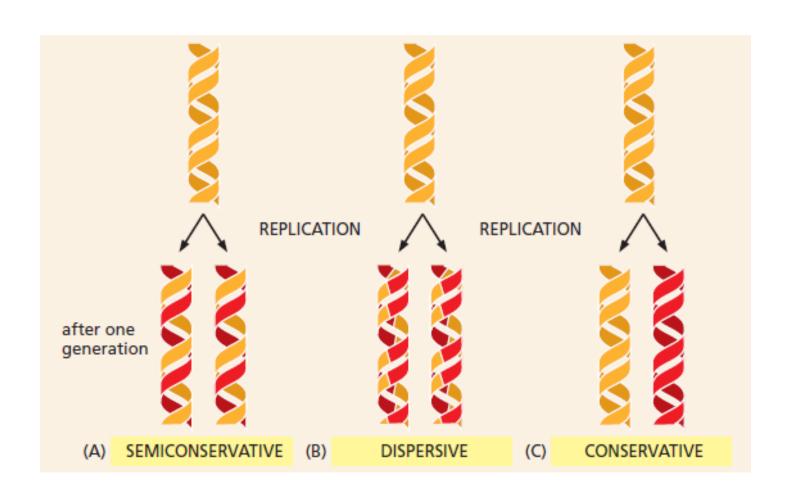
#### Prix Nobel de Médecine et de Physiologie en 1962

« pour leurs découvertes sur la structure moléculaire des acides nucléiques et sa signification pour la transmission de l'information pour la matière vivante »

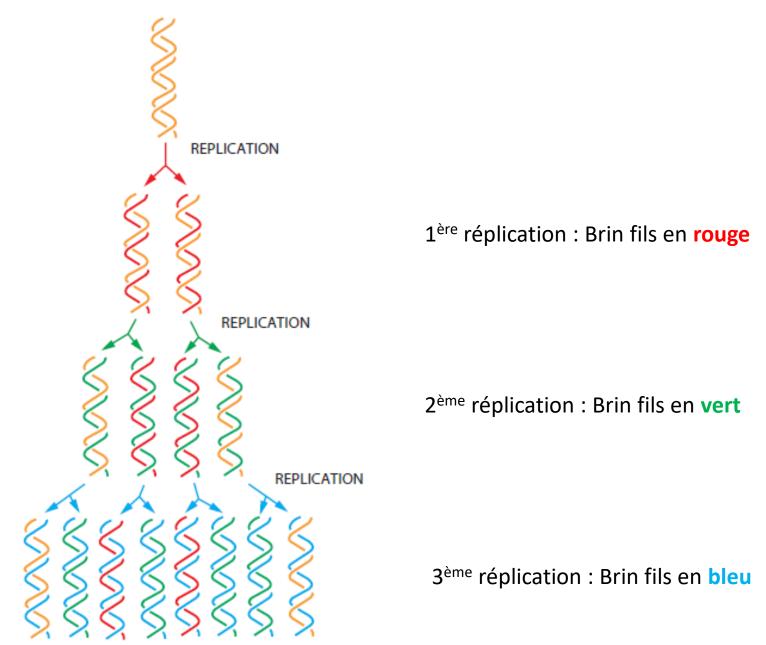
## Différents modèles de réplication

« Il n'a pas échappé à notre attention que l'appariement spécifique des bases dans l'ADN, suggère un possible mécanisme de copie du matériel génétique »

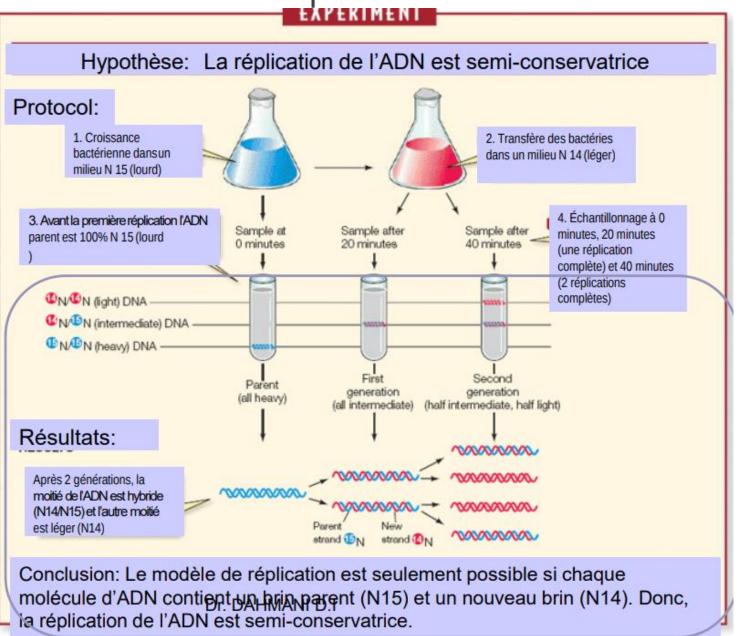
J. Watson et F. Crick



## La réplication est donc « semi-conservative »

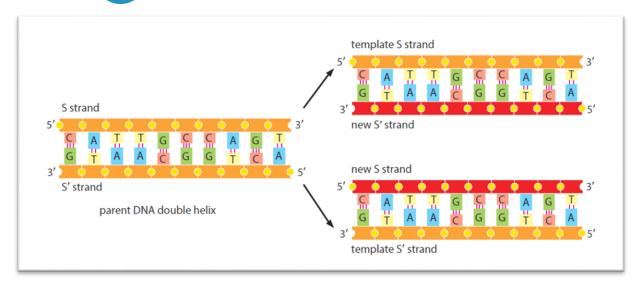


Différents modèles de réplication



## 2. Les acteurs de la réplication

1 L'ADN parental : la matrice



2 Les dNTPs

Désoxyribonucléosides triphosphates

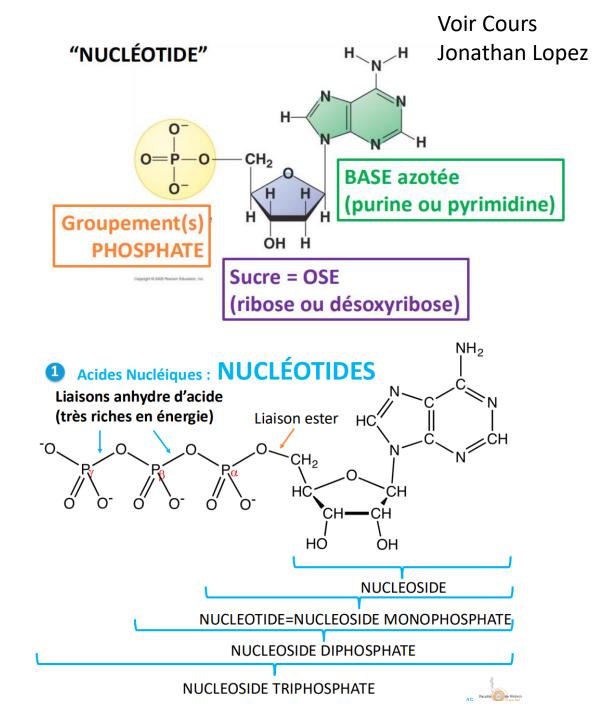
dATP : Désoxyadénosine triphosphate

dCTP: Désoxycytidine triphosphate

dTTP: Désoxythymidine triphosphate

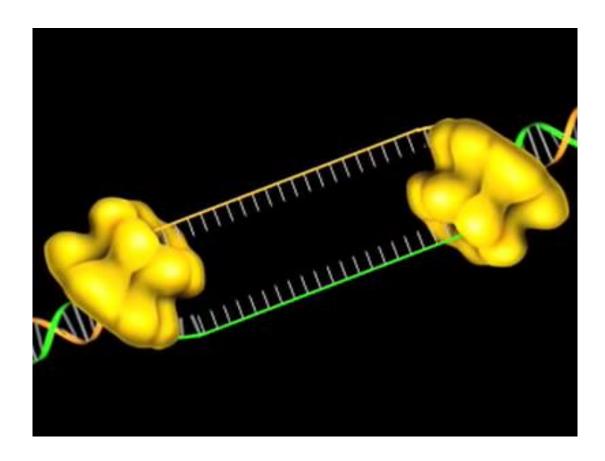
dGTP: Désoxyguanosine triphosphate

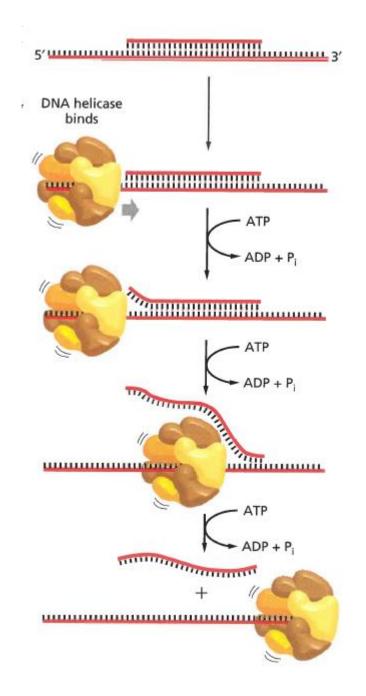
+ Mg<sup>2+</sup>: stabilisation des dNTP et protection d'une hydrolyse





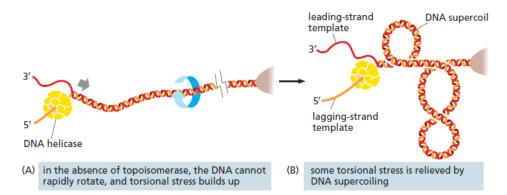
- Permettent d'ouvrir la molécule d'ADN
- Consommation d'ATP
- Stabilisation de la structure simple brin par des protéines spécifiques

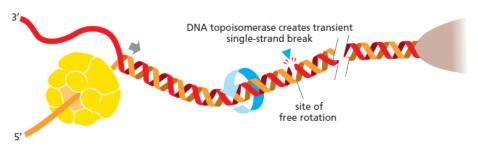




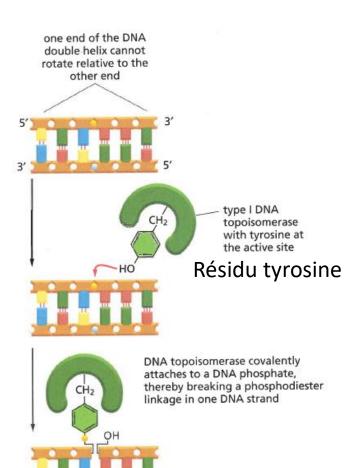


- Enzymes modifiant l'état d'enroulement de l'ADN
  - → Introduction ou suppression du nombre d'enlacements
- Mécanisme d'action :
  - ① Coupure transitoire de l'ADN
  - ② Libre rotation de l'ADN
  - ③ Ressoudure





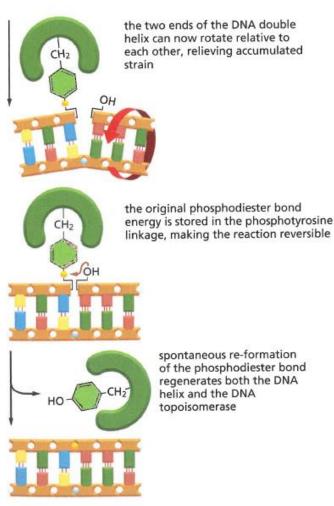
(C) torsional stress ahead of the helicase relieved by free rotation of DNA around the phosphodiester bond opposite the single-strand break; the same DNA topoisomerase that produced the break reseals it





- ① Topoisomérase I
- ② Topoisomérase II

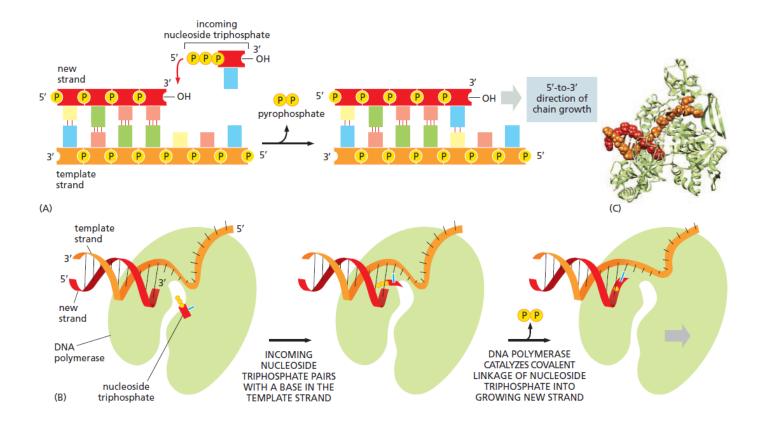
Ex : gyrase bactérienne





- Synthèse d'ADN dans le sens 5'→3'
- Nécessite une amorce de nucléotides
  - → amorce d'ARN
  - → rôle de la primase (ARN polymérase)

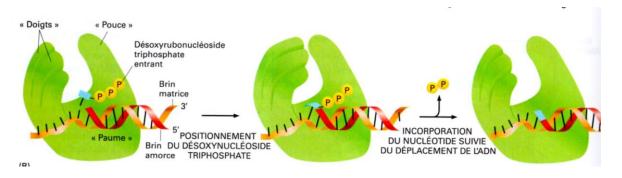
- Utilisation du brin d'ADN parental comme modèle
- Utilisation de Désoxyribonucléosides triPhosphates (dNTP)
- Synthèse par polymérisation
  - → complémentaire et
  - → anti-parallèle



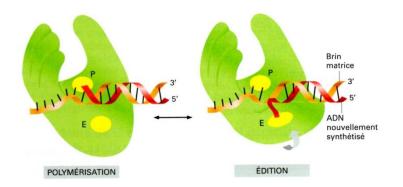
Hydrolyse de la liaison phosphoanhydride

# La haute fidélité de la réplication nécessite plusieurs mécanismes de vérification par l'ADN polymérase

- Première étape de vérification (avant addition covalente du nucléotide)
  - Transconformation de l'enzyme pour vérifier la géométrie de la pb



- Après addition covalente du nucléotide: Activité exonucléasique
  - □ Exonucléase 3' →5'
  - = fonction de correction ou d'« édition »
  - □ ↑ fidélité de la réplication

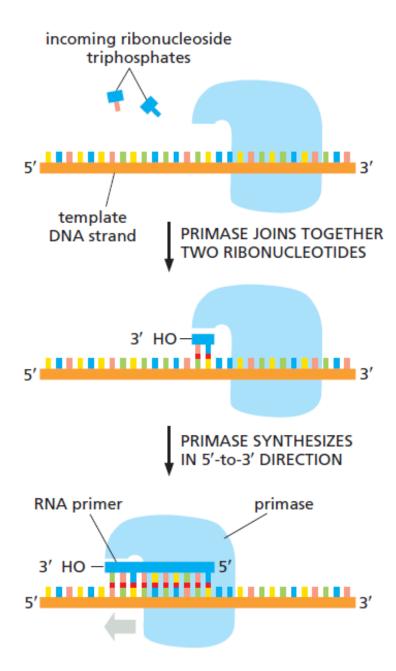




- ARN polymérase ADN dépendante

- Synthétise les amorces d'ARN

- Caractéristiques de l'amorce différentes chez les procaryotes et les eucaryotes



## 3. Mécanismes de la réplication procaryote

## 3.1. L'initiation de la réplication

- 3.1.1 Reconnaissance de l'origine de réplication
- 3.1.2 Le primosome
- 3.1.3 Synthèse de l'amorce et fixation de l'ADN polymérase

## 3.2. L'élongation

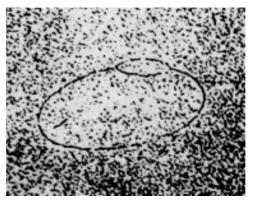
- 3.2.1. Caractéristiques des ADN polymérases procaryotes
- 3.2.2. La réplication des 2 brins d'ADN parentaux
- 3.2.3. Maintien de l'ADN polymérase III

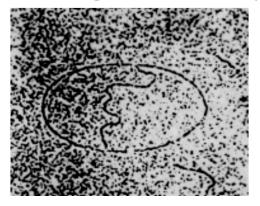
#### 3.3. Terminaison

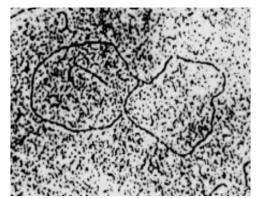
- 3.3.1. Finition des brins fils
- 3.3.2. Séparation des brins et méthylation

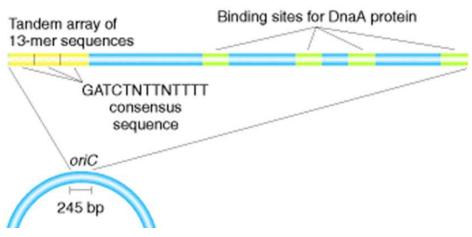
## 3.1. L'initiation de la réplication

## 3.1.1 Reconnaissance de l'origine de réplication





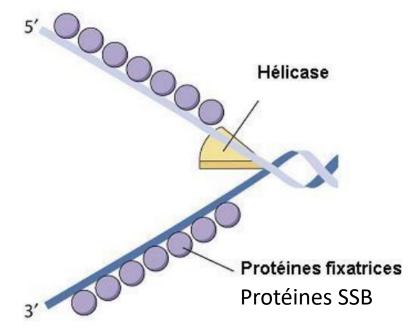




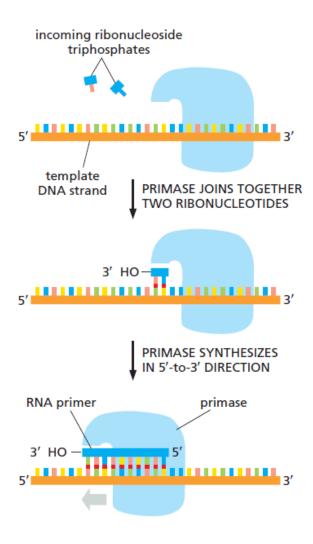
- Au niveau d'une origine de réplication : oriC
- Une seule origine par chromosome bactérien
- Réplication bidirectionnelle
- Réplication rapide (≈ 1kb/s ; 20 à 100 min pour le chromosome bactérien)
- 1 séquence de terminaison

# 3.1. L'initiation de la réplication3.1.2 Le primosome

- Primosome = hélicase + primase
- Permet l'ouverture de la double hélice et stabilisation des structures simples brins
- Intervention de topoisomérases I pour éliminer les surenroulements



## 3.1. L'initiation de la réplication 3.1.3 Synthèse de l'amorce et fixation de l'ADN polymérase



#### Amorces d'ARN:

- 4 à 12 nucléotides
- Synthétisées dans le sens 5'→3'
- Complémentaires à l'ADN parental

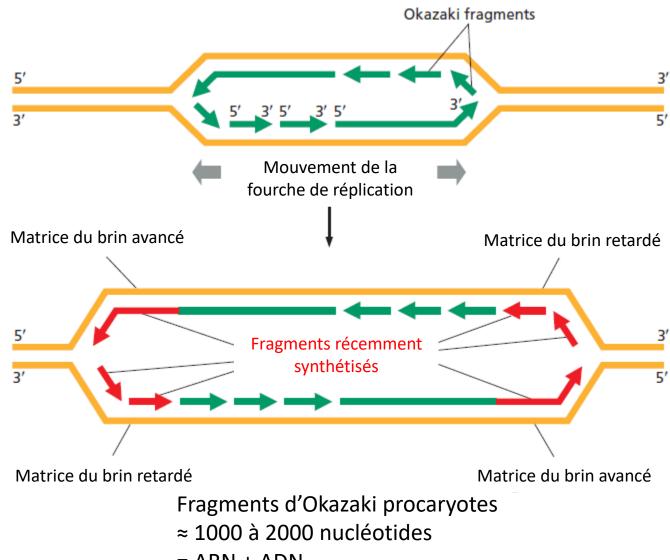
## 3.2. L'élongation

## 3.2.1. Caractéristiques des ADN polymérases procaryotes

	ADN polymérase I	ADN polymérase II	ADN polymérase III
Structure	Monomèrique	> 4 sous unités	> 10 sous unités (core + clamp + protéines associées)
Rôle	Elimine les amorces lors de la réplication + réparation	Réparation de l'ADN	Réplication de l'ADN génomique
Polymérisation 5'→3'	Oui	Oui	Oui (sous-unité α)
Exonucléase 3' →5 '	Oui	Oui	Oui (sous-unité ε)
Exonucléase 5' →3'	Oui	Non	Non
Vitesse de polymérisation	16-20 bases / sec	5-10 bases / sec	250-1000 bases / sec

## 3.2. L'élongation

#### 3.2.2. La réplication des 2 brins d'ADN parentaux



L'élongation est monodirectionnelle  $5' \rightarrow 3'$ 

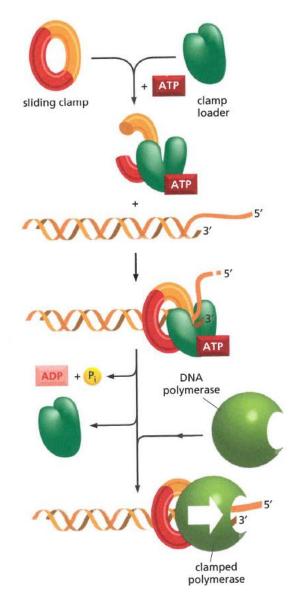
La réplication est discontinue sur un des 2 brins

La synthèse est continue sur le brin « avancé » et discontinue sur le brin « retardé »

= ARN + ADN

## 3.2. L'élongation

## 3.2.3. Maintien de l'ADN polymérase III

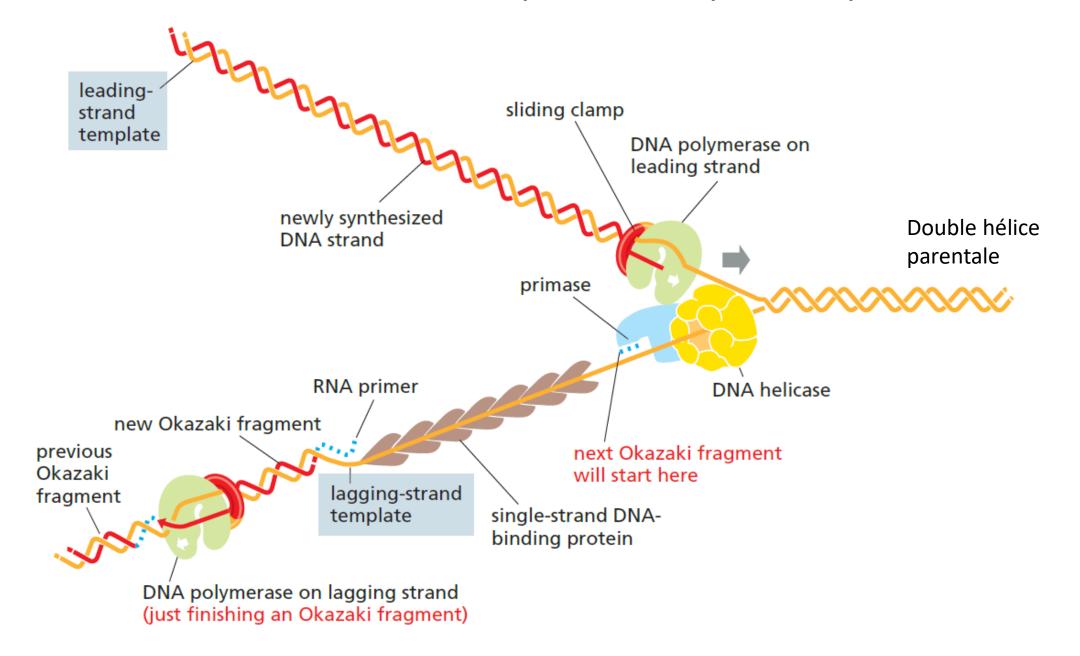


Maintien de l'ADN polymérase III sur l'ADN parental par un collier coulissant (« Clamp »)

Sous-unité β du complexe holoenzyme ADN polIII

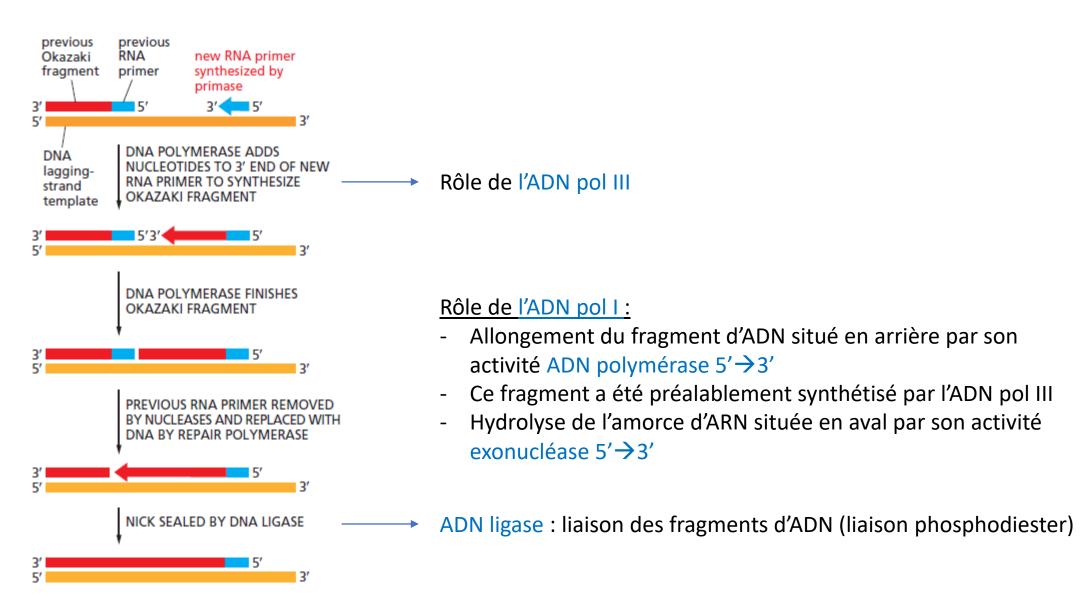
Permet de maintenir une vitesse de réplication élevée (≈ 1kb/s ; 20 à 100 min pour le chromosome bactérien)

## Schéma d'une fourche de réplication procaryote



#### 3.3. Terminaison

#### 3.3.1. Finition des brins fils



#### 3.3. Terminaison

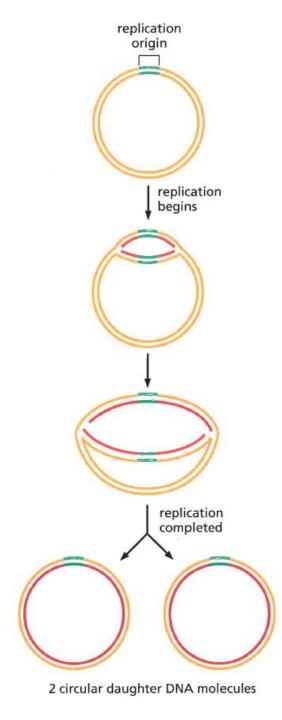
## 3.3.2. Séparation des brins et méthylation

#### ① Séparation des 2 brins fils

→ Rôle de la gyrase bactérienne (topoisomérase II)

#### ② Méthylation des brins néo-synthétisés

- Ajout d'un CH3 sur les cytosines ou adénines des brins fils
- Intervention d'une méthylase
- Reconnaissance de séquences palindromiques
- Méthylation uniquement si le brin parental est méthylé
- Latence par rapport à la polymérisation

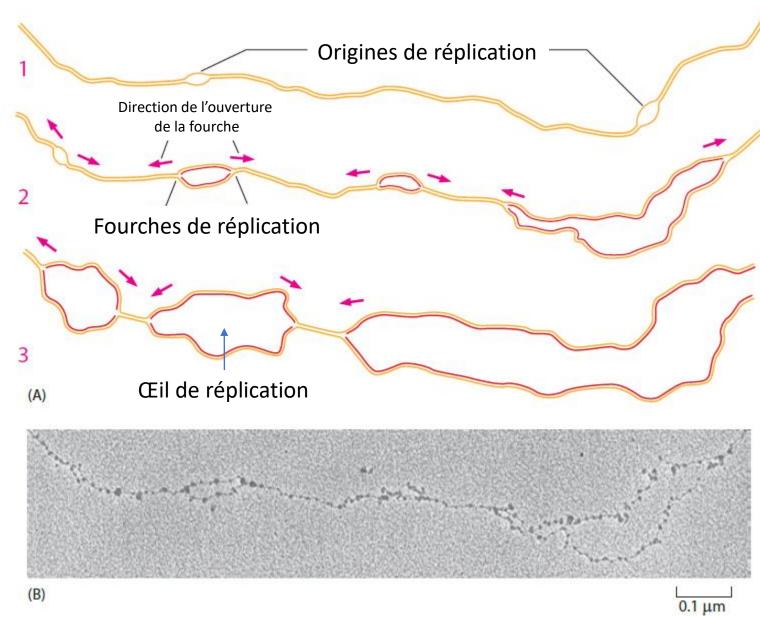


## 4. Mécanismes de la réplication eucaryote

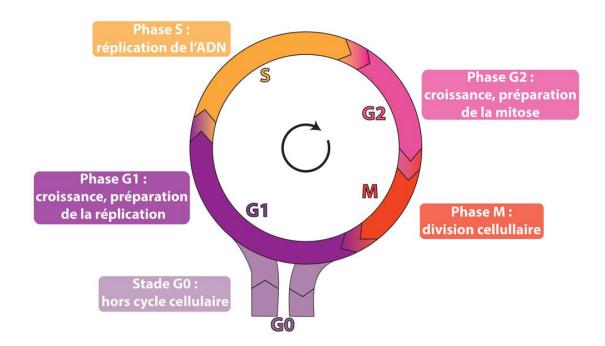
- 4.1. Les spécificités par rapport aux procaryotes
- 4.2. Notion de cycle cellulaire
- 4.3. Les acteurs eucaryotes
- 4.4. Les nucléosomes
- 4.5. Cas particulier des télomères

# 4.1. Les spécificités par rapport aux procaryotes

- Génome eucaryote :
- → Chromosomes
- → Linéaire
- → Chromatine
- Vitesse de réplication ≈ 50 nt / secondes
- Plusieurs origines de réplication par chromosomes
- $\rightarrow$  20 à 100 000 OR par cellules
- Unité de réplication = activation d'un groupe de 20 à 80 OR



## 4.2. Notion de cycle cellulaire



- Réplication pendant la phase S du cycle cellulaire
- Cycle cellulaire :
- ① M = Mitose
- ② S = Synthèse d'ADN
- 3 G1 + S + G2 = Interphase

#### <u>Différence de temporalité de réplication :</u>

- La chromatine fortement condensée (hétérochromatine) se réplique tardivement
  - → Activation tardive des origines de réplication
- La chromatine moins condensée à tendance à se répliquer précocement
  - → Activation précoce des origines de réplication

## 4.3. Les acteurs eucaryotes

- 1) L'ADN parental : la matrice
- 2 Les Désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP)
- 3 Hélicases → Protéines RPA
- Topoisomérases Intervention de topoisomérases de type I (A, B) et de type II
- **5** ADN polymérases Voir diapo suivante
- 6 Primase

## Les principales ADN polymérases eucaryotes

## $\bigcirc$ ADN polymérase $\delta$

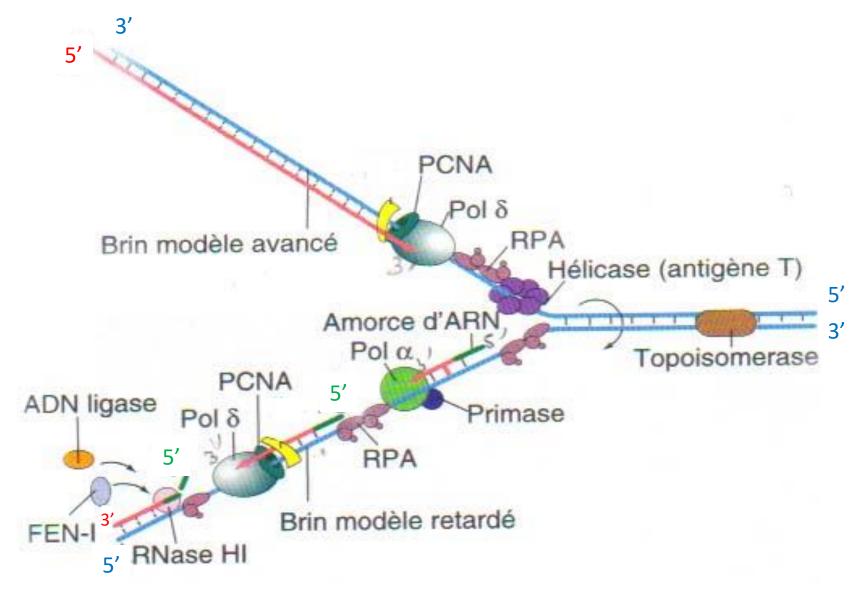
- Enzyme principale de la réplication des 2 brins fils
- Réplication totale du brin avancé, partielle du brin retardé
- Finition des brins
- Activité polymérasique + fonction d'édition
- Protéine PCNA (proliferating cellular nuclear antigen) : « Clamp »
- **2** ADN polymérase α
  - Initiation de la réplication sur brin retardé
  - Associée à la primase
- **3** ADN polymérase γ
  - Réplication de l'ADN mitochondrial

## Les principales ADN polymérases eucaryotes

	Gène	Localisation	Equivalent procaryote	Activité	Activité 3'-5' exonucléase	Facteurs associées
α	POLA	Noyau	ADN Pol I	Initiation	-	Primase, RPA
β	POLB	Noyau		Réparation, finition	-	
γ	POLG	Mitochondrie		Réplication, Réparation	+	
δ	POLD1	Noyau	ADN Pol III	Réplication, finition	+	PCNA
ε	POLE	Noyau	ADN Pol II	Réplication, Réparation	+	
K	POLK	Noyau		Liaison des cohésines	?	
η,ι,ζ	POLH,I,Z	Noyau		Réparation	?	
θ,λ	POLQ,L	Noyau		Réparation	?	
σ	POLS	Noyau		Cohésion des chromatides	?	

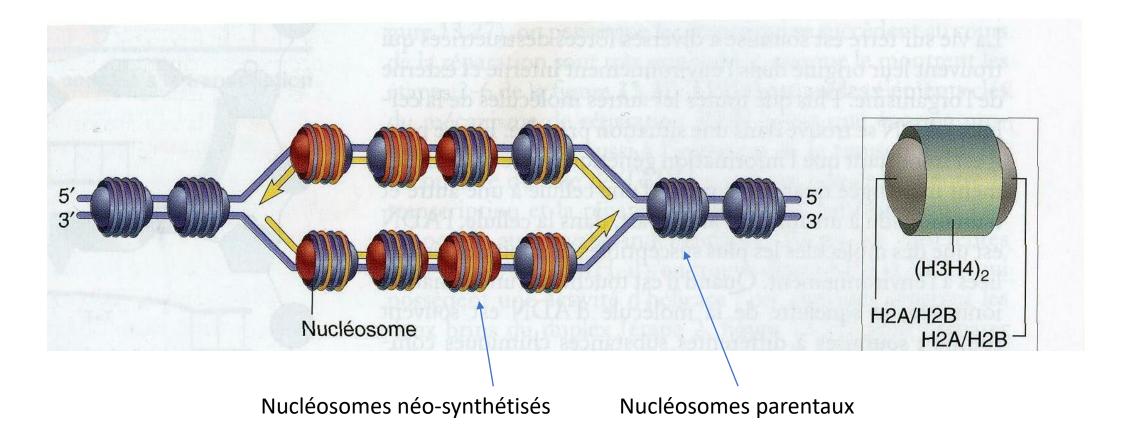
- élimination des amorces ARN par RNAse H et l'exonucléase FEN1
  - $\rightarrow$  Comblement des lacunes par l'ADN pol  $\delta$
  - → Action d'une ligase

## Schéma d'une fourche de réplication procaryote



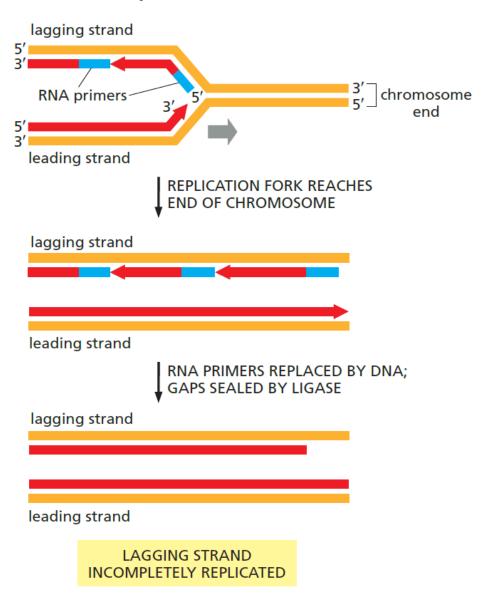
Fragments d'Okazaki eucaryotes = 100 à 200 nt

## 4.4. Les nucléosomes



Conséquences: ralentissement de la vitesse de réplication (1/10 de la vitesse de réplication bactérienne)

## 4.5. Cas particulier des télomères

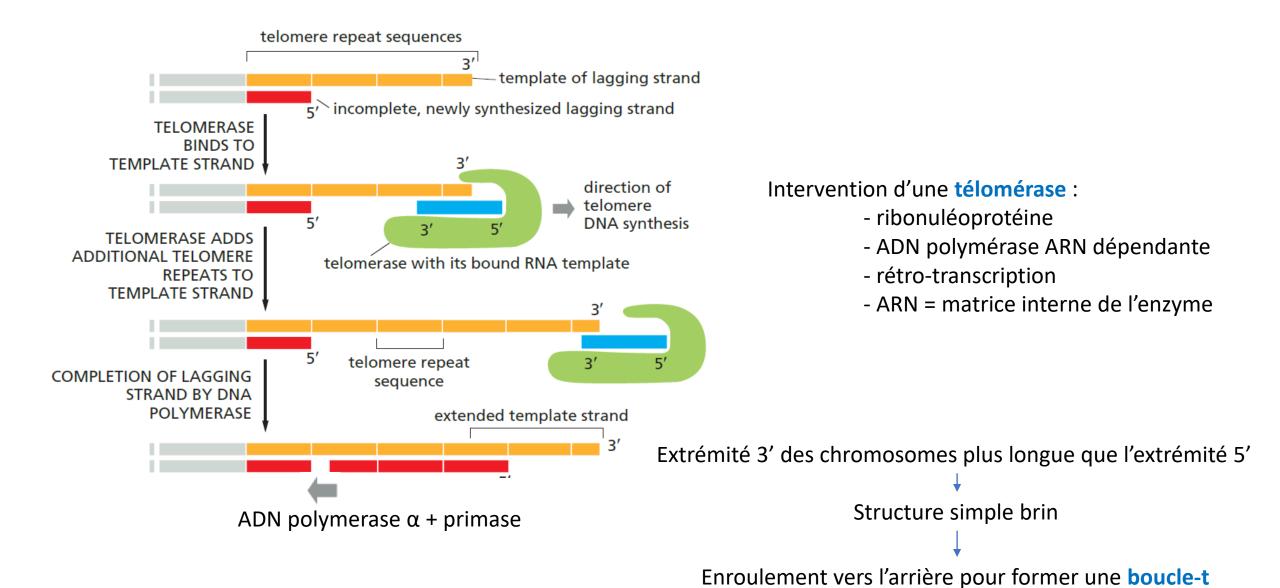


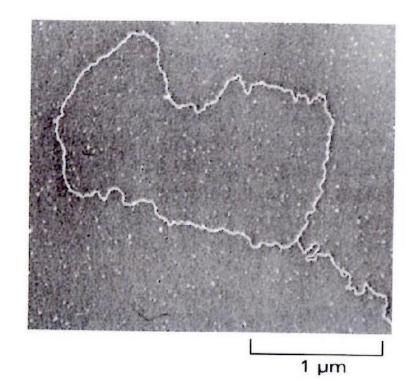
Télomères = extrémités des chromosomes

→ Séquences répétées TTAGGG chez l'homme

Sans mécanisme de réplication dédié : raccourcissement des chromosomes à chaque cycle de réplication

## 4.5. Cas particulier des télomères





Boucle-t à l'extrémité d'un chromosome de mammifère

Structure de protection contre les enzymes de la dégradation

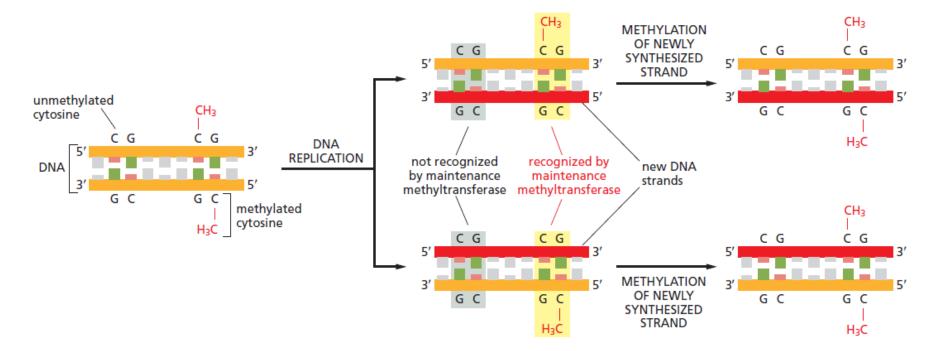
# La longueur du télomère est régulée par les cellules et les organismes

- La longueur des télomères résulte d'un équilibre entre le raccourcissement à chaque division cellulaire et l'activité de la télomérase
- Vieillissement cellulaire = raccourcissement des télomères
  - = Sénescence
- Culture in vitro
  - De cellules normales (activité télomérase faible/diminuée)
  - ⇒sénescence réplicative (arrêt de la division cellulaire)
  - De cellules cancéreuses (télomérase active)
     Recherche: Médicaments anti-cancéreux anti-télomérase

## 4.6. La méthylation

Cytosines = seules bases méthylables par les méthylases chez les eucaryotes

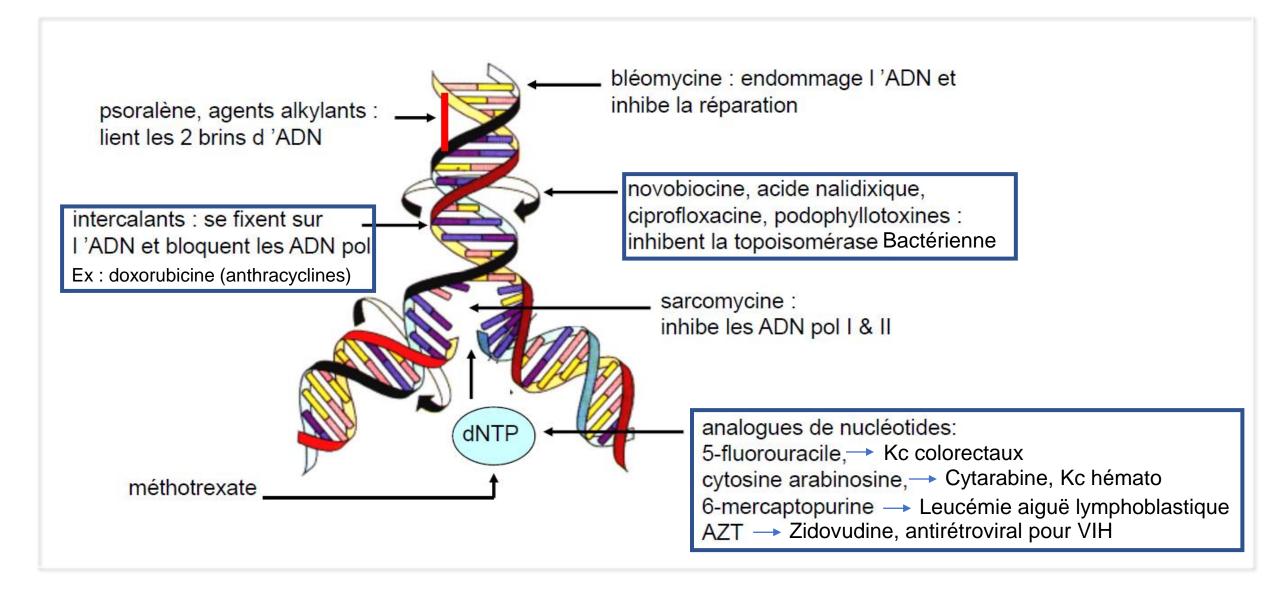
Distinction brin fils/brin parental (réparation des mésappariements de l'ADN)



## 5. Exemples d'applications médicales

- 5.1. La réplication comme cible thérapeutique
- 5.2. Les acteurs de la réplication comme cause de certaines maladies génétiques
- 5.3. Applications en biologie médicale.

## 5. Exemples d'applications médicales 5.1. La réplication comme cible thérapeutique

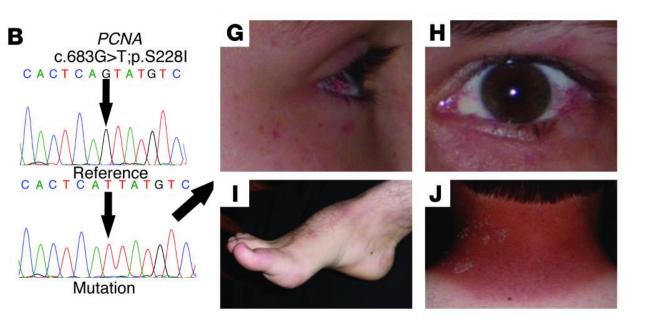


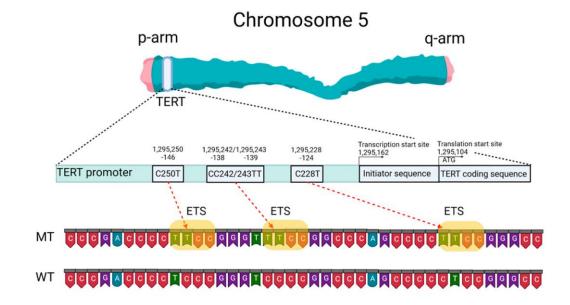
## 5. Exemples d'application médicales

5.2. Les acteurs de la réplication comme cause de certaines maladies génétiques

1 Variations dans le gène codant le clamp (PCNA)

2 Variations dans le gène codant la télomérase (*TERT*)





Ataxia telangiectasia like disorder

Baple et al. J Clin Invest. 2014;124(7):3137-46

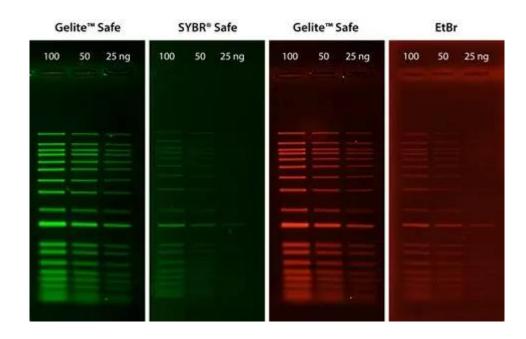
Tumeurs du système nerveux central

Hasanau et al. Biomedicines. 2022;10(3):728

# Exemples d'application médicales Application en biologie médicale

La PCR : Polymerase Chain Reaction STEP 3 **DNA SYNTHESIS** STEP 1 STEP 2 5' 3' **HEAT TO COOL TO** SEPARATE ANNEAL + DNA polymerase **STRANDS PRIMERS** + dATP products of + dGTP + dCTP first cycle + dTTP region of 5′ double-stranded DNA to be amplified pair of primers

Les intercalants



FIRST CYCLE OF AMPLIFICATION

## Conclusion

# Duplication du patrimoine génétique

## La réplication se doit d'être fidèle

ÉTAPE DE RÉPLICATION ERREURS PAR N	IUCLÉOTII	DE POLYMÉRISÉ
Polymérisation 5' vers 3'	$1 \times 10^5$	lemen pour
Correction exonucléolytique 3' vers 5'	$1 \times 10^2$	The rest of the
Correction des mésappariements contrôlée par un brin	$1 \times 10^2$	
Total	$1 \times 10^9$	