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

Lyon 1 Université ISPB Faculté de Pharmacie

HCL HOSPICES CIVILS DE LYON

Date	Horaire	Cours	Enseignant
Je 03/09/26	10:30-12:30	Intro + Ac nucléiques (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
Lu 07/09/26	08:15-10:15	Organisation du génome (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
Je 10/09/26	10:30-12:30	Modifications du génome et pathologies (1+2/2)	Jonathan LOPEZ
Lu 14/09/26	10:30-11:30	Génétique des populations (1/1)	Jonathan LOPEZ
Lu 14/09/26	11:30-12:30	Chimie Organique (QR)	Luc ROCHEBLAVE
Ma 15/09/26	10:30-12:30	Réplication (1+2/2)	Alexandre JANIN
Je 17/09/26	10:30-12:30	~~Réparation (1+2/2)~~ Transcription	Alexandre JANIN
Ma 22/09/26	10:30-12:30	~~Transcription (1+2/2)~~ Traduction	Alexandre JANIN
Ma 29/09/26	10:30-12:30	~~Traduction (1+2/2)~~ Réparation	Alexandre JANIN
Je 01/10/26	10:30-11:30	QR Biomol Janin	Alexandre JANIN

Je 01/10/26 10:30-11:30 QR Biomol Janin Alexandre JANIN

Allez sur wooclap.com

Entrez le code d'événement dans le bandeau supérieur

Code d'événement

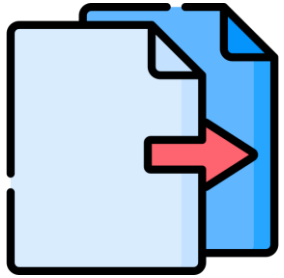
QRPASSLE

En attente de participants ...

Plan

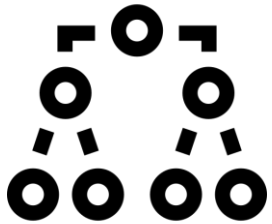
1. Définition et contexte général
2. Les acteurs de la réplication
3. Mécanismes de la réplication procaryote
    - 3.1. L'initiation de la réplication
    - 3.2. L'élongation
    - 3.3. Terminaison
4. Mécanismes de la réplication eucaryote
    - 4.1. Les spécificités par rapport aux procaryotes
    - 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**



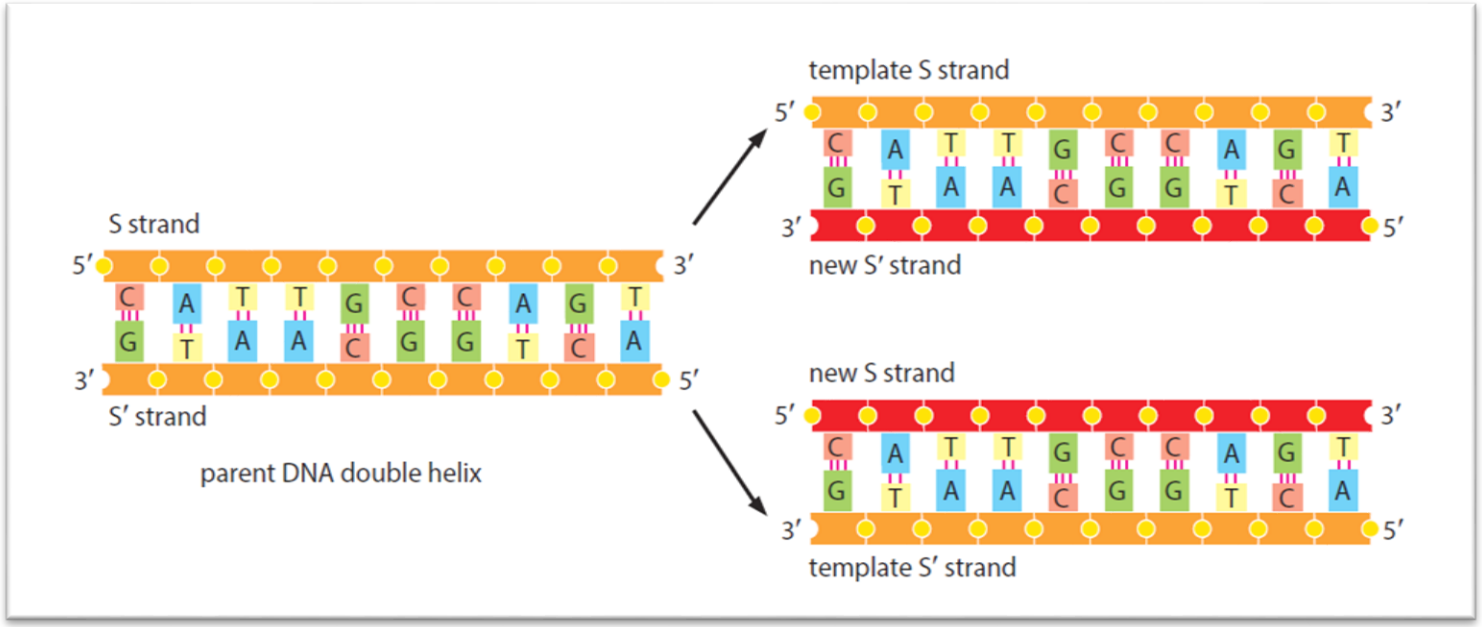
Fidélité de la réplication

Réparation de l'ADN

➔ Taux de mutations des génomes extrêmement bas

environ 1 nucléotide modifié pour 10^9 nucléotides à chaque cycle de réplication (*E. coli*, nématode, Homme…)

La molécule d'ADN mère sert de matrice

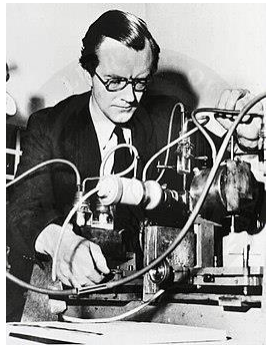


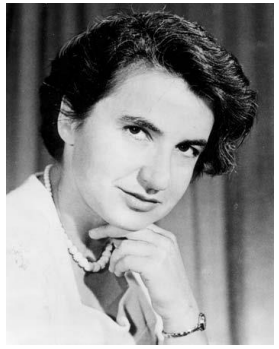
- Chaque brin d'ADN sert de **matrice** à la synthèse
- **Complémentarité** des bases → fidélité de la réplication !
- **Vitesse** et **précision** +++ :
  - Exemple : réplication de l'ADN d'une cellule humaine
    → équivalent du recopiage de 1000 livres de 900 pages en 8h environ
    → seulement quelques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

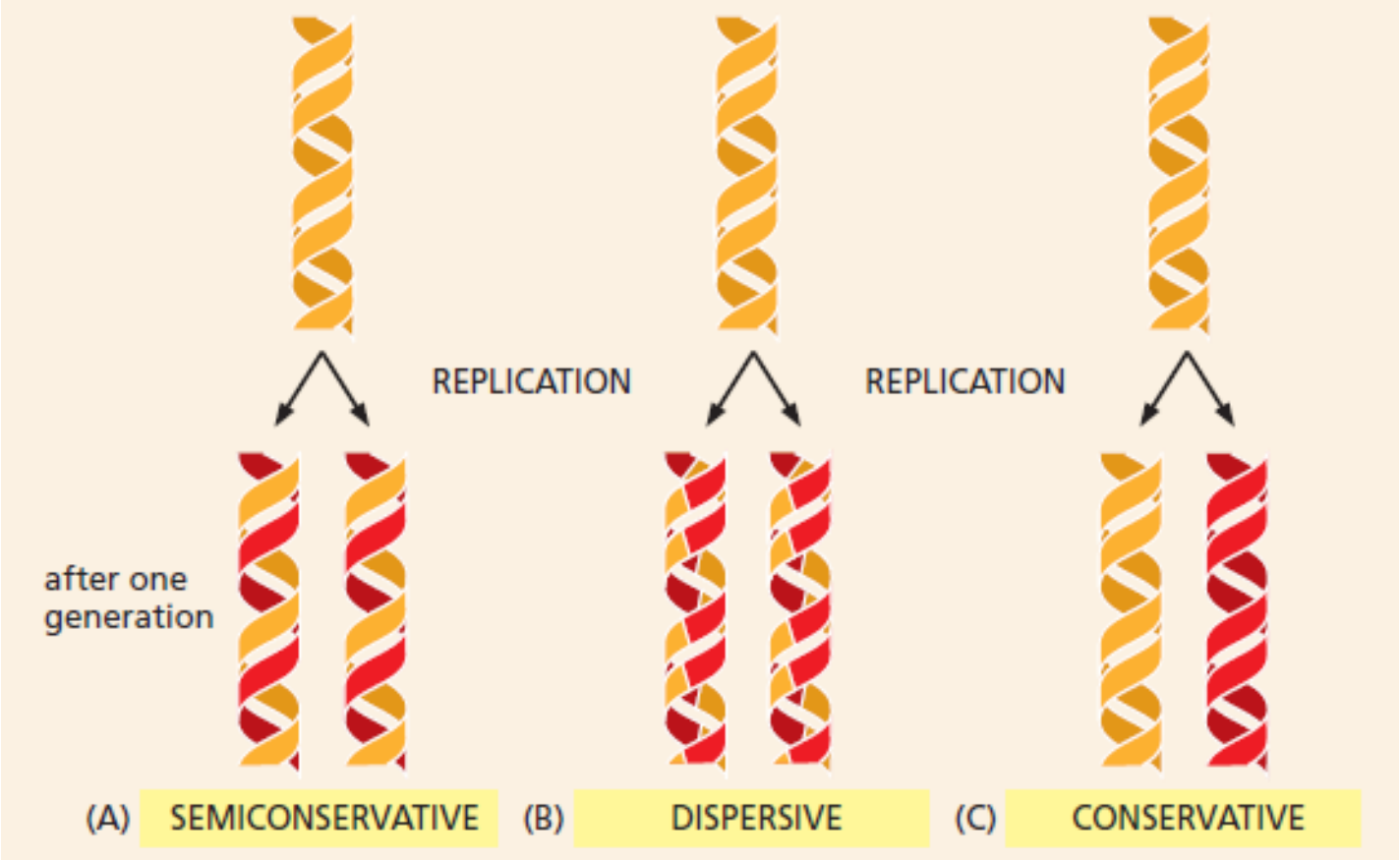

Rosalind Franklin

Prix Nobel de Médecine et de Physiologie en 1962

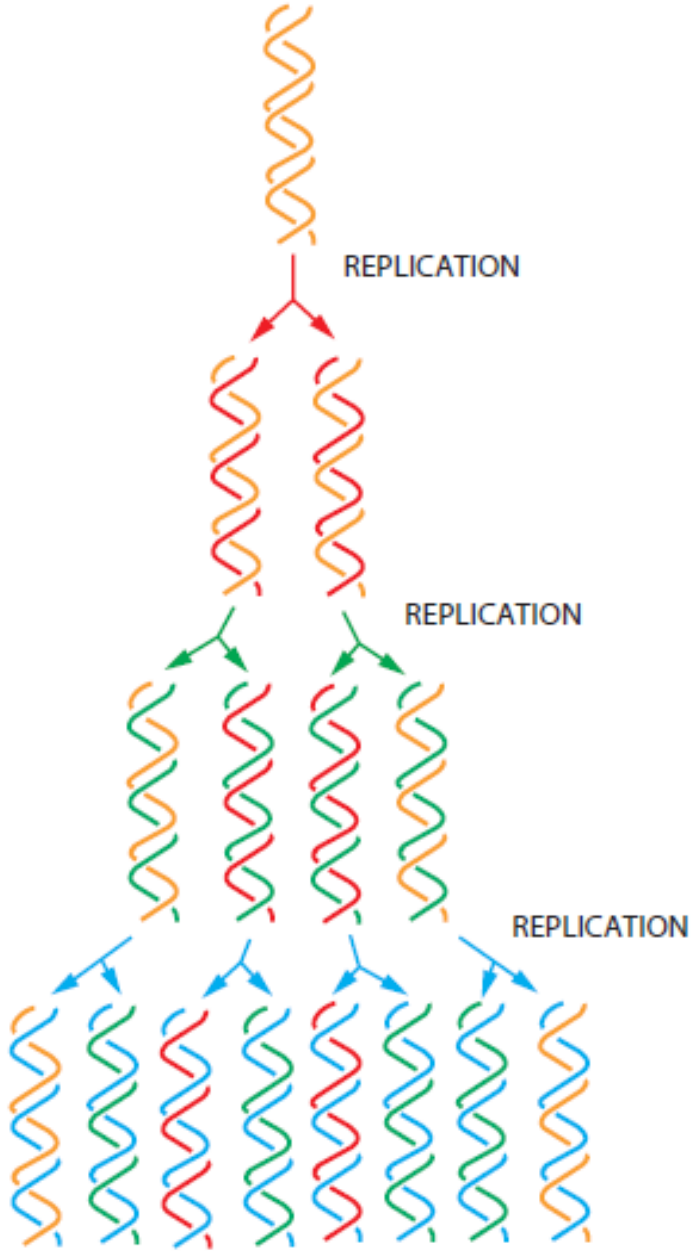
« pour leurs découvertes sur la structure moléculaire des acides nucléiques et sa signification pour la transmission de l'information pour la matière vivante »

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 »

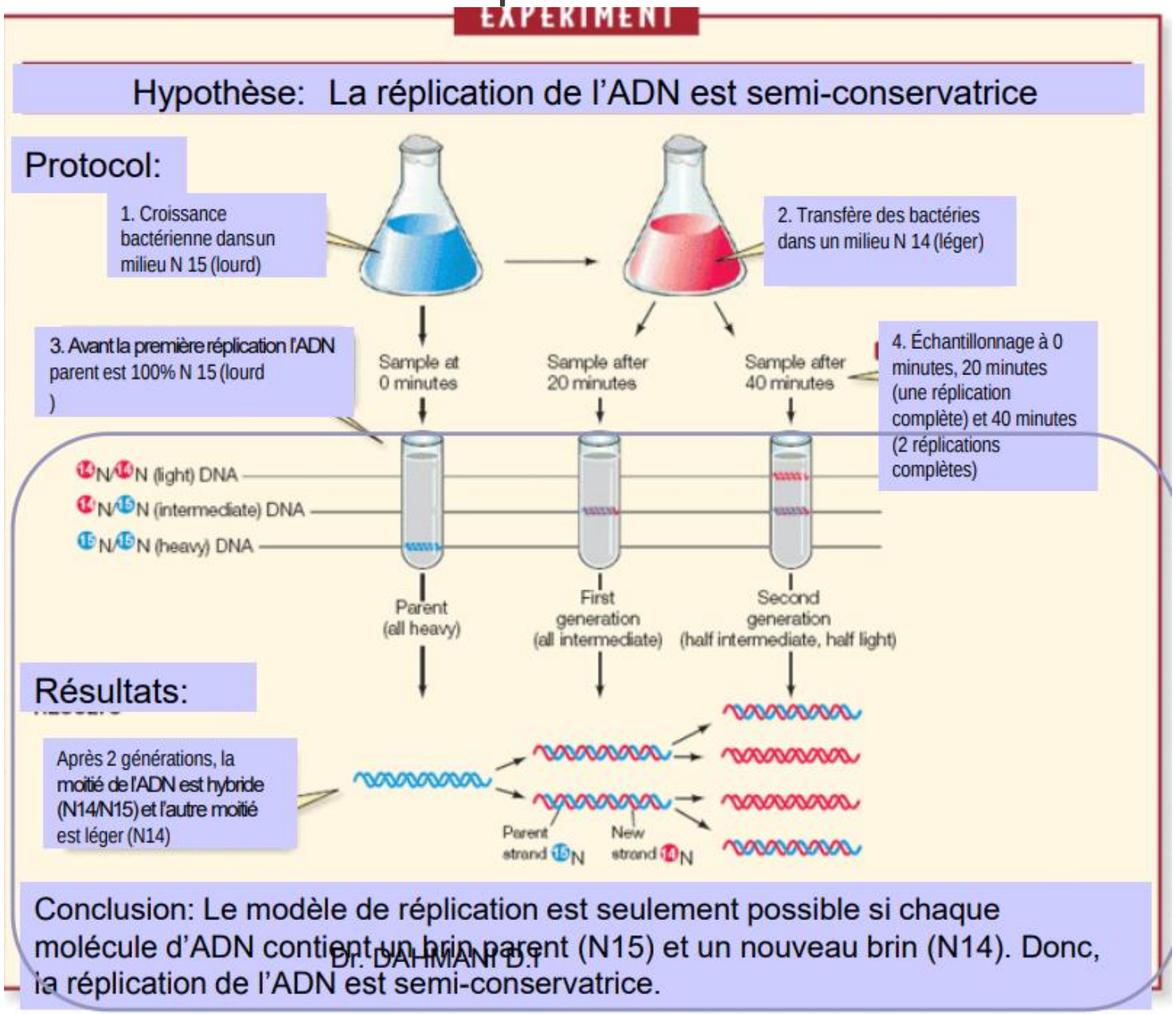


1ère réplication : Brin fils en **rouge**

2ème réplication : Brin fils en **vert**

3ème réplication : Brin fils en **bleu**

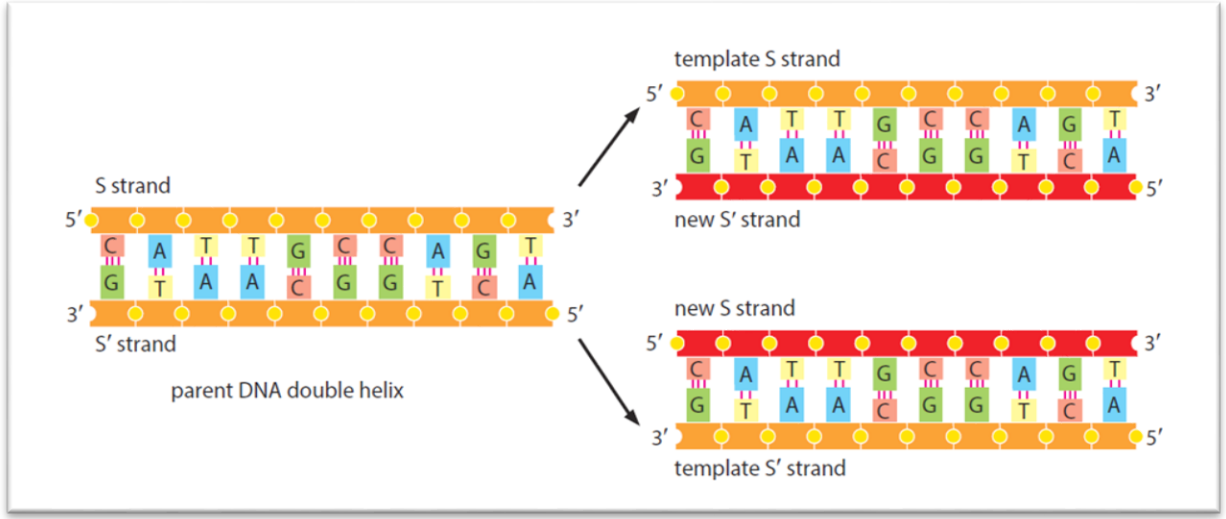
Différents modèles de réplication



2. Les acteurs de la réplication

Voir Cours
Jonathan Lopez

① L'ADN parental : la matrice

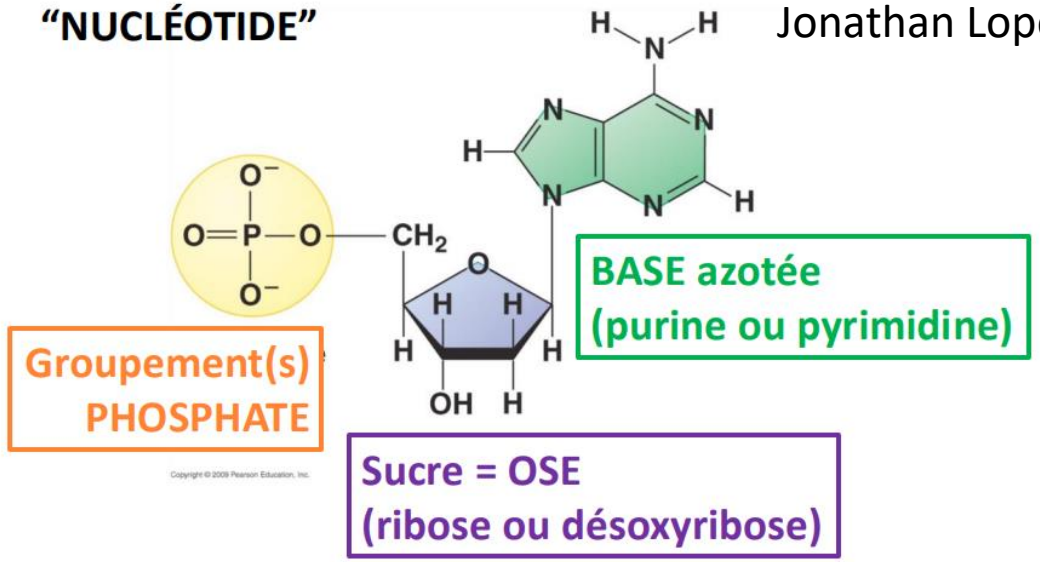


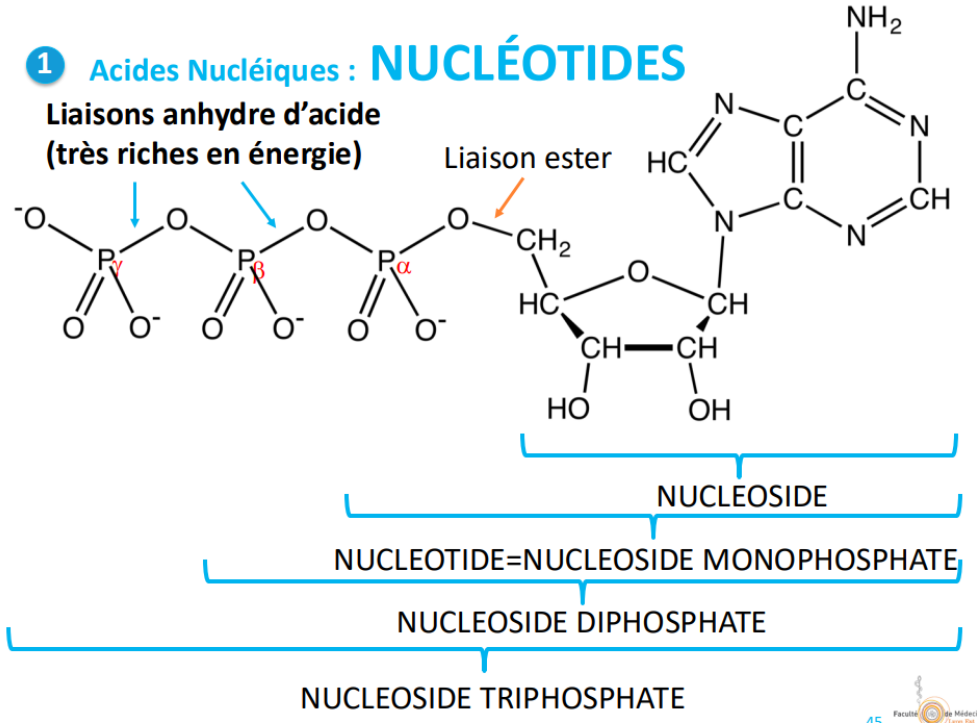
② Les dNTPs

Désoxyribonucléosides triphosphates

dATP : Désoxyadénosine triphosphate
dCTP : Désoxycytidine triphosphate
dTTP : Désoxythymidine triphosphate
dGTP : Désoxyguanosine triphosphate

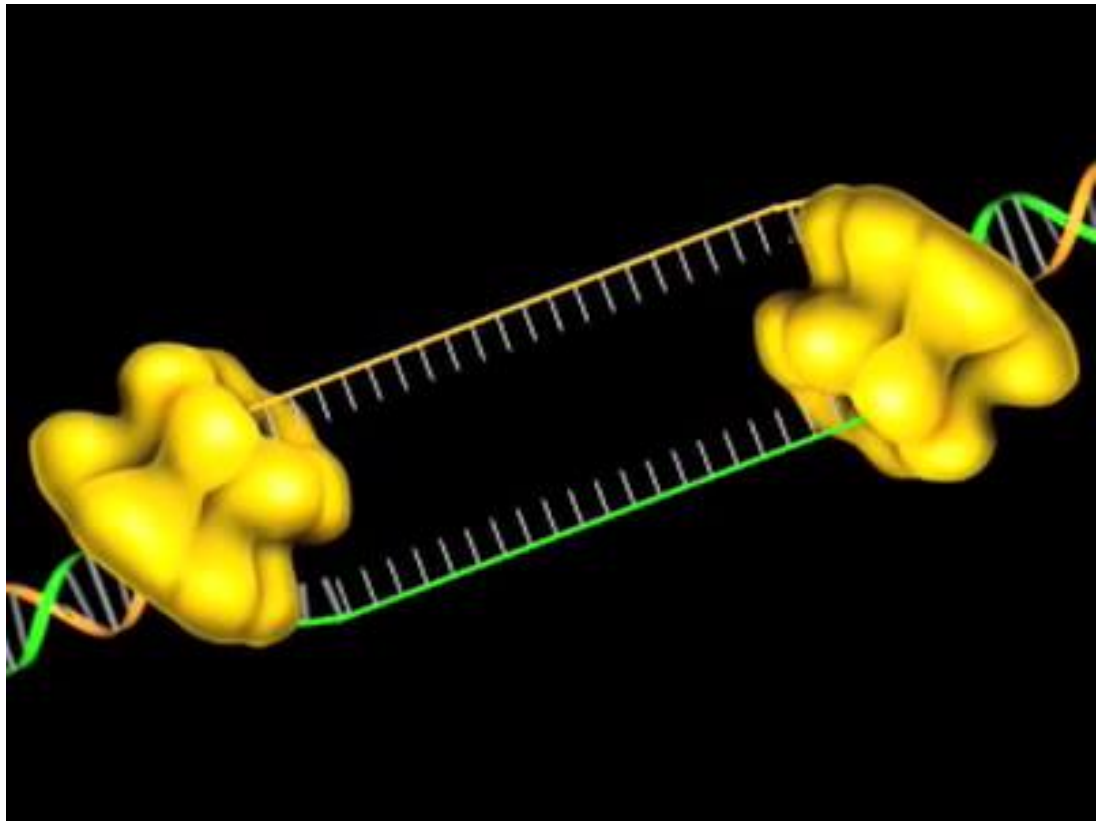
+ Mg^{2+} : stabilisation des dNTP et protection d'une hydrolyse

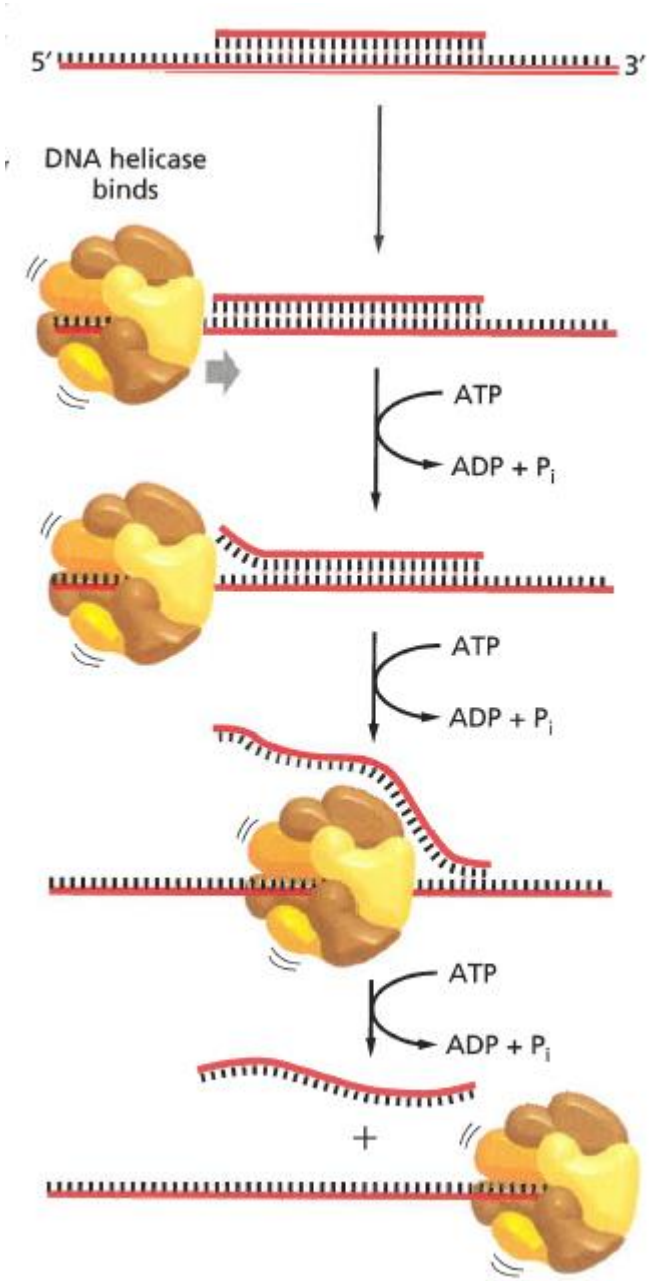




3 Hélicases

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

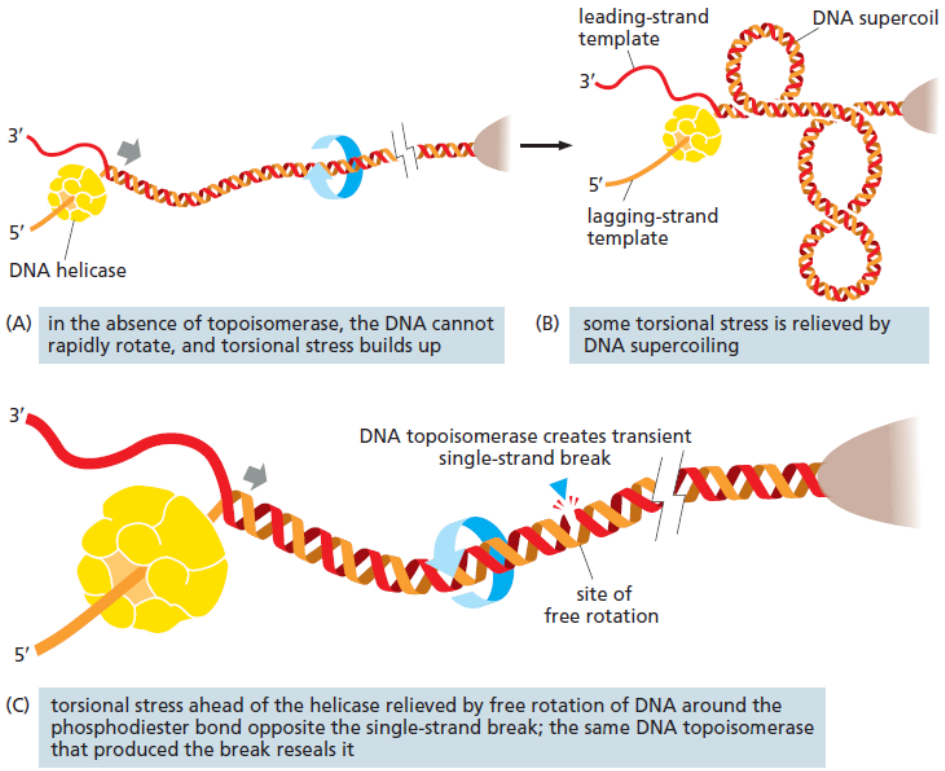




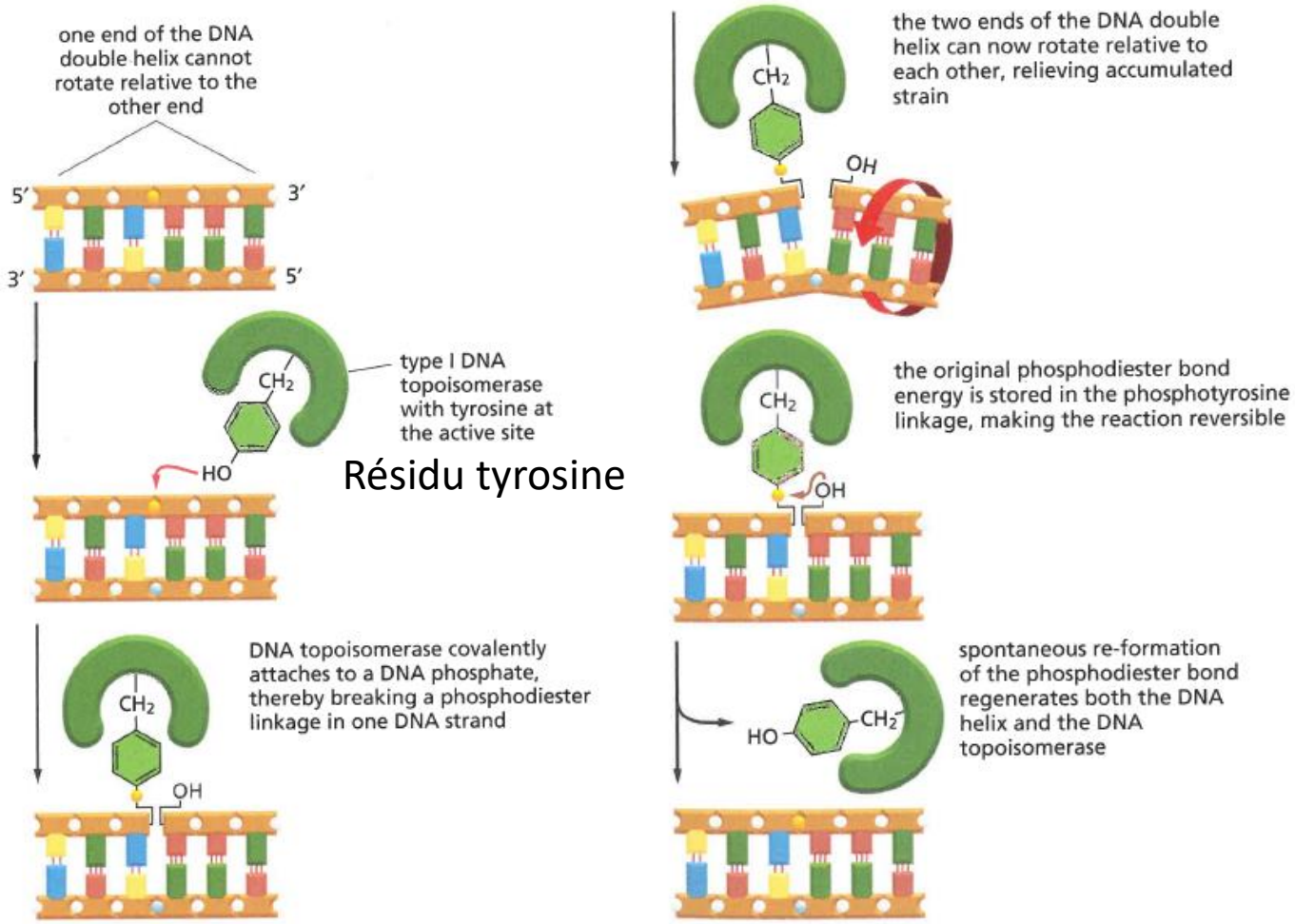
4 Topoisomérases

- 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



- Deux classes d'enzymes :
  ① Topoisomérase I
  ② Topoisomérase II
  Ex : gyrase bactérienne



5 ADN polymérases

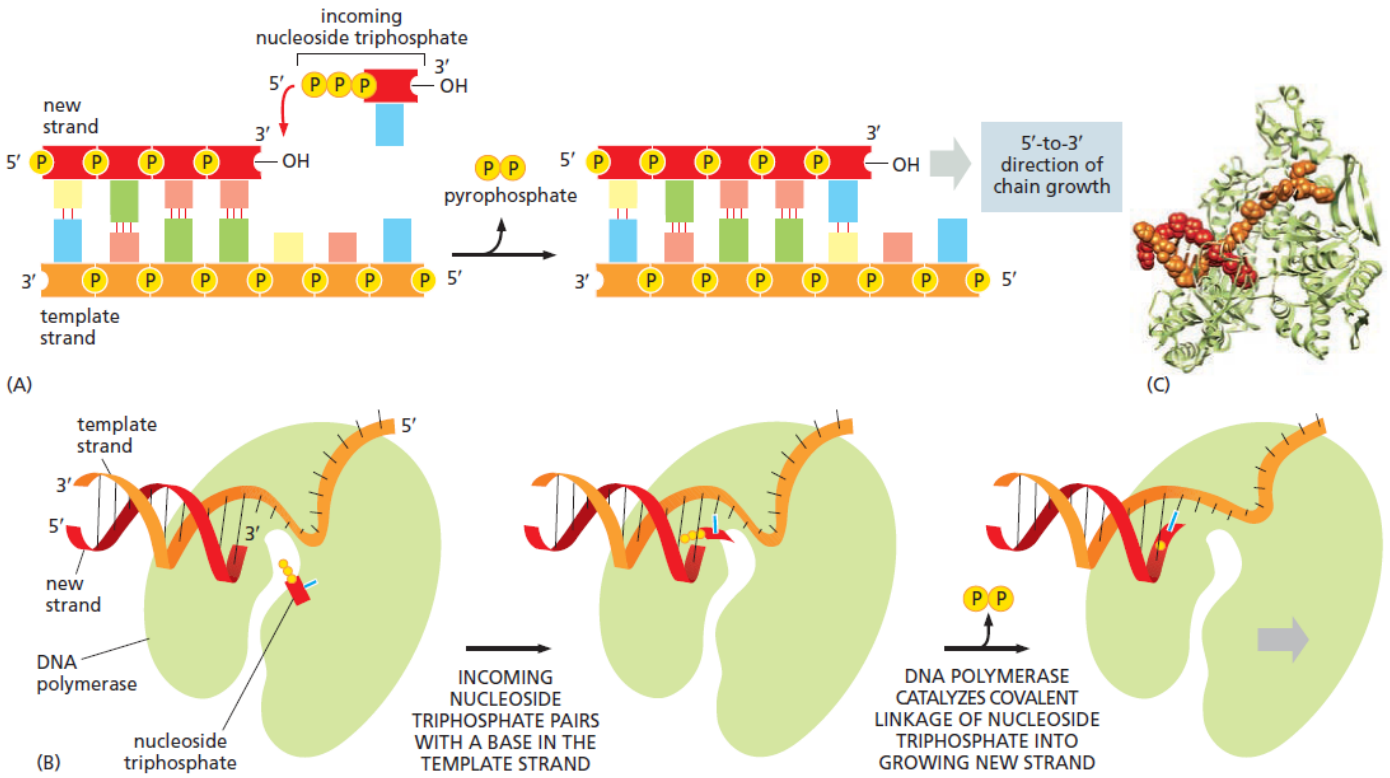
- Synthèse d'ADN dans le sens 5'→3'

- 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)

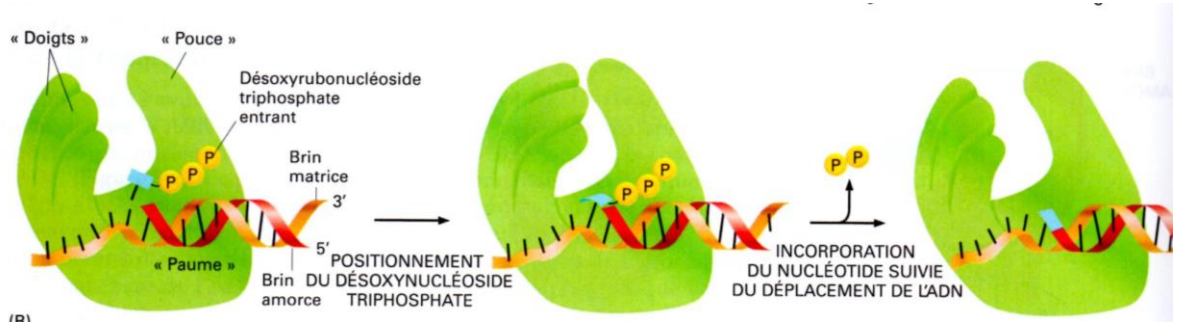
- Synthèse par polymérisation
  → complémentaire et
  → anti-parallèle



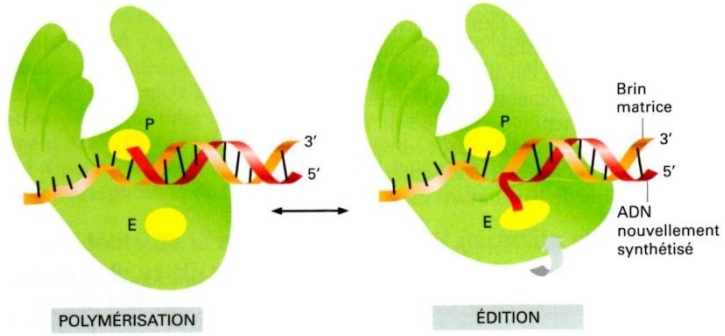
Hydrolyse de la liaison phosphoanhydride

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



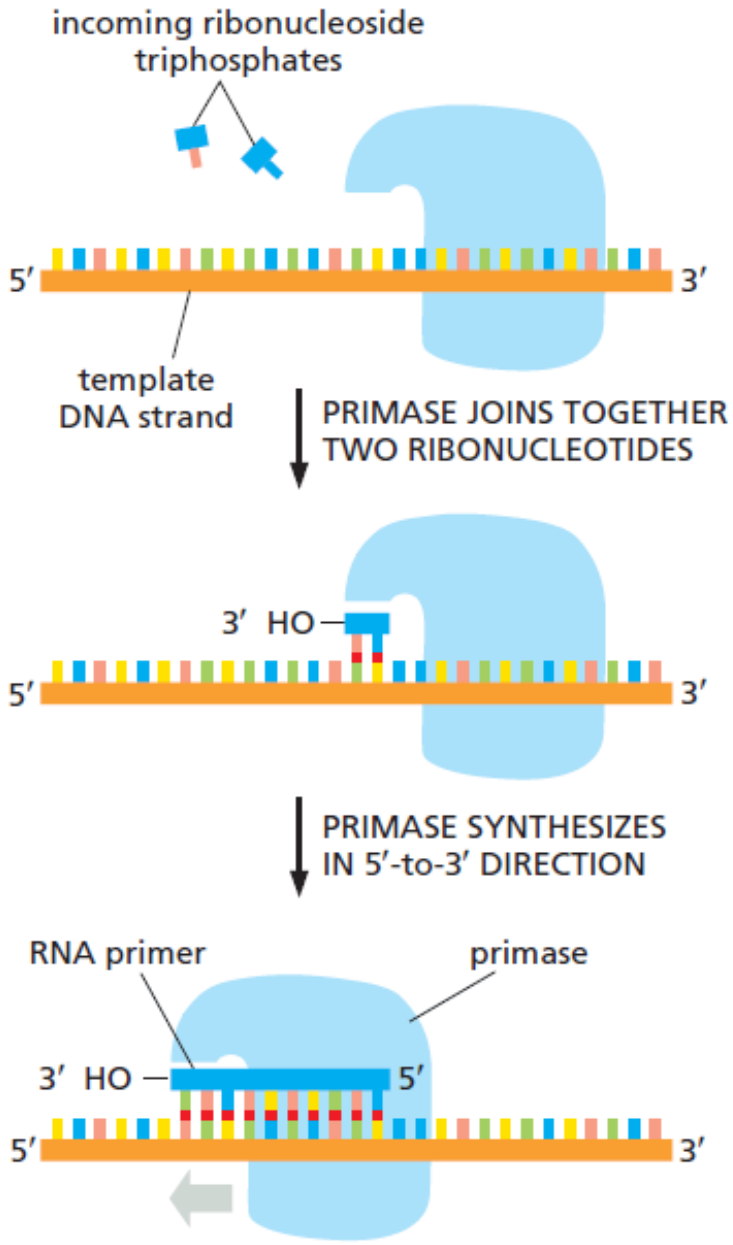
D'après Alberts , 5ème édition,2011

6 Primase

- 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

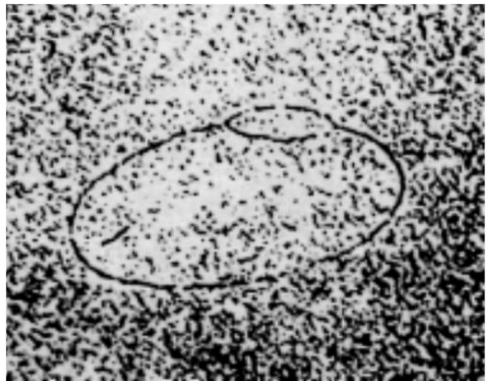
3.3. Terminaison

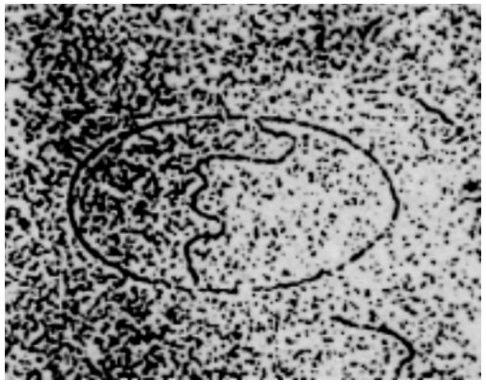
3.3.1. Finition des brins fils

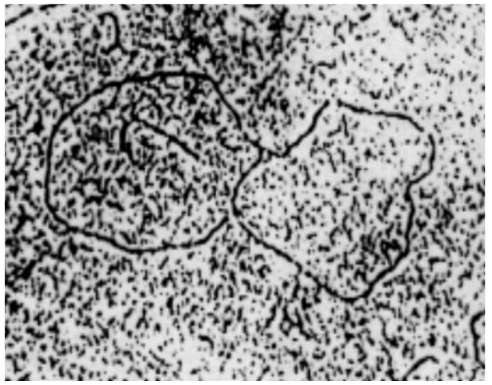
3.3.2. Séparation des brins et méthylation

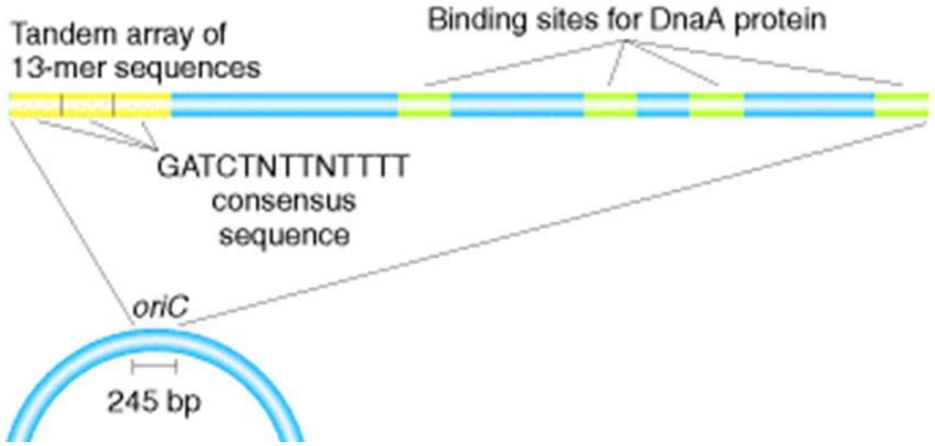
3.1. L'initiation de la réplication

3.1.1 Reconnaissance de l'origine de réplication







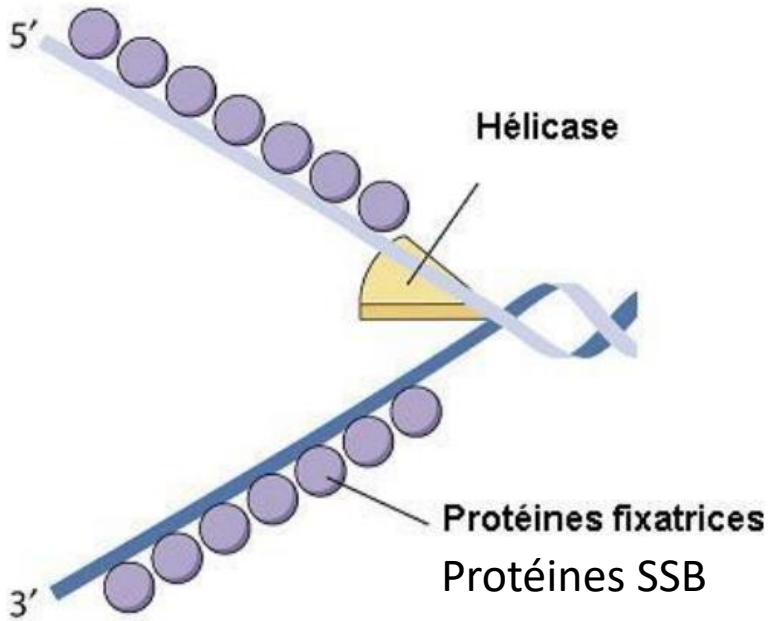


- Au niveau d'une origine de réplication : oriC
- Une seule origine par chromosome bactérien
- Réplication bidirectionnelle
- Réplication rapide (≈ 1kb/s ; 20 à 100 min pour le chromosome bactérien)
- 1 séquence de terminaison

3.1. L’initiation de la réplication

3.1.2 Le primosome

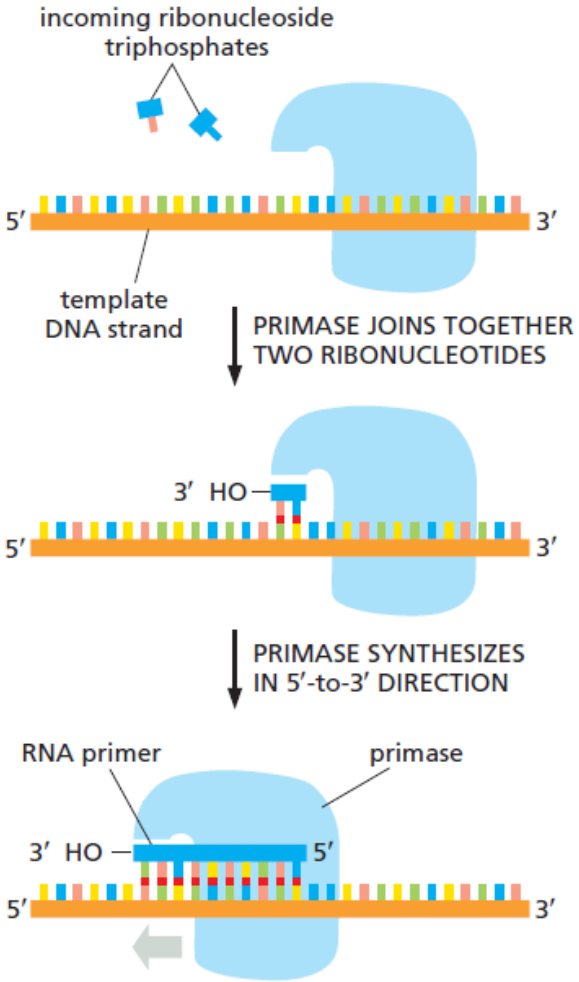
- Primosome = hélicase + primase
- Permet l’ouverture de la double hélice et stabilisation des structures simples brins
- Intervention de topoisomérases I pour éliminer les surenroulements



Protéines SSB

3.1. L'initiation de la réplication

3.1.3 Synthèse de l'amorce et fixation de l'ADN polymérase



<u>Amorces d'ARN :</u>

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

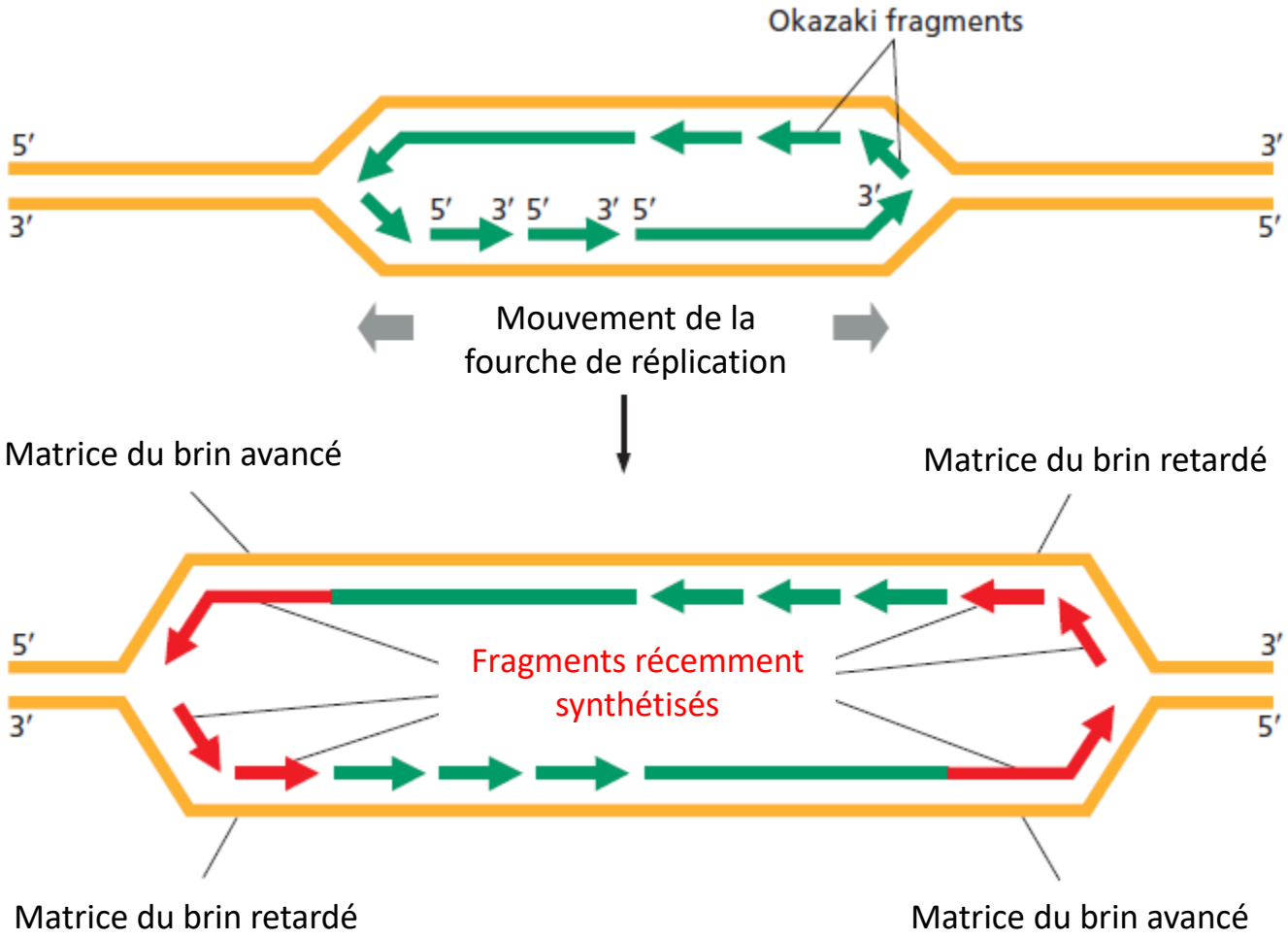
3.2. L'élongation

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



Fragments d'Okazaki procaryotes
≈ 1000 à 2000 nucléotides
= ARN + ADN

L'élongation est monodirectionnelle 5' → 3'

↓

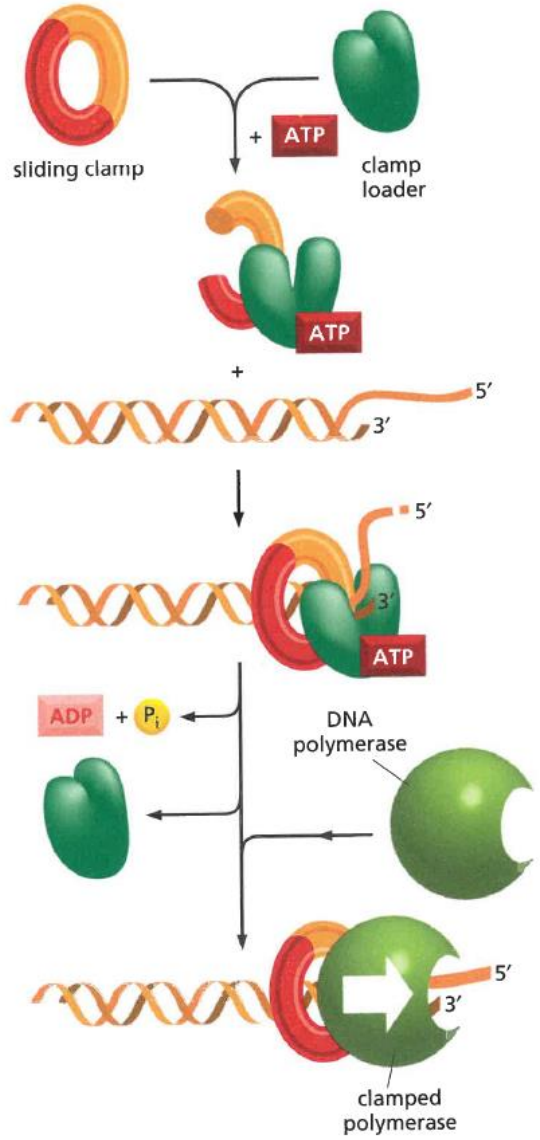
La réplication est discontinue sur un des 2 brins

↓

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

3.2. L'élongation

3.2.3. Maintien de l'ADN polymérase III

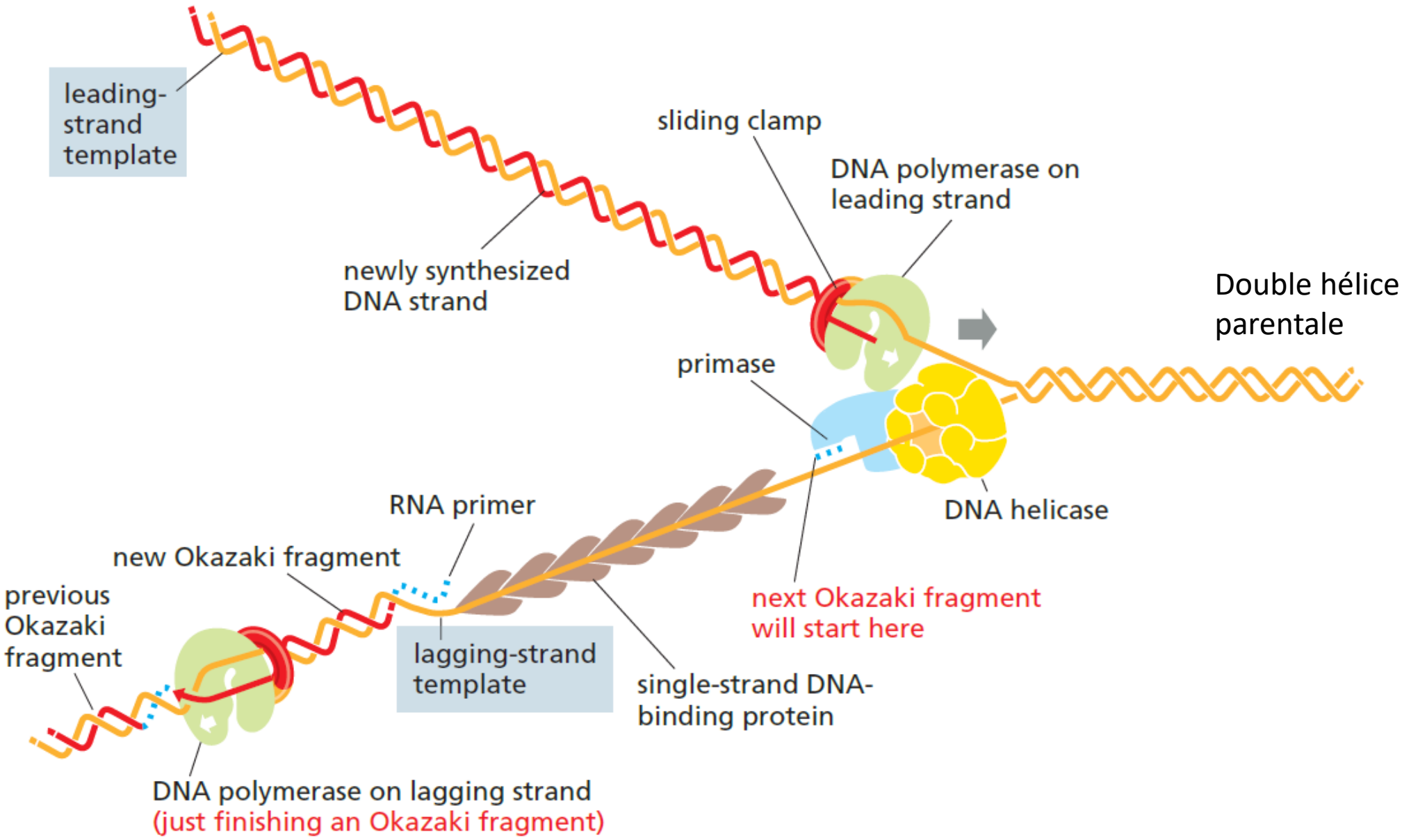


Maintien de l'ADN polymérase III sur l'ADN parental par un collier coulissant (« Clamp »)

Sous-unité β du complexe holoenzyme ADN polIII

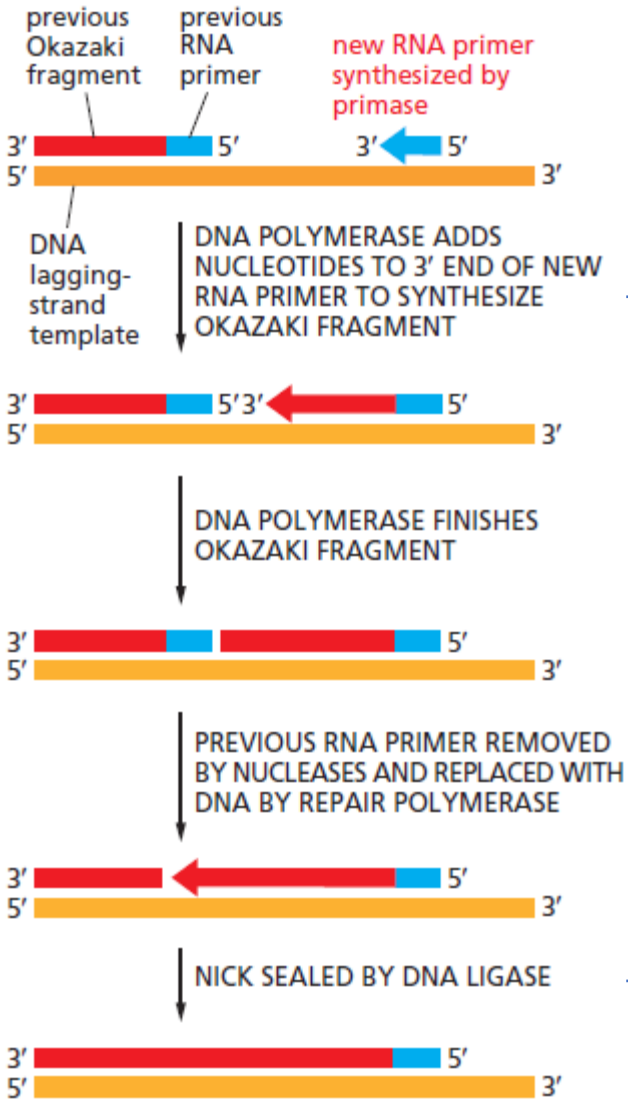
Permet de maintenir une vitesse de réplication élevée (≈ 1kb/s ; 20 à 100 min pour le chromosome bactérien)

Schéma d'une fourche de réplication procaryote



3.3. Terminaison

3.3.1. Finition des brins fils



→ Rôle de l'ADN pol III

<u>Rôle de l'ADN pol I :</u>

- Allongement du fragment d'ADN situé en arrière par son activité ADN polymérase 5'→3'
- Ce fragment a été préalablement synthétisé par l'ADN pol III
- Hydrolyse de l'amorce d'ARN située en aval par son activité exonucléase 5'→3'

→ ADN ligase : liaison des fragments d'ADN (liaison phosphodiester)

3.3. Terminaison

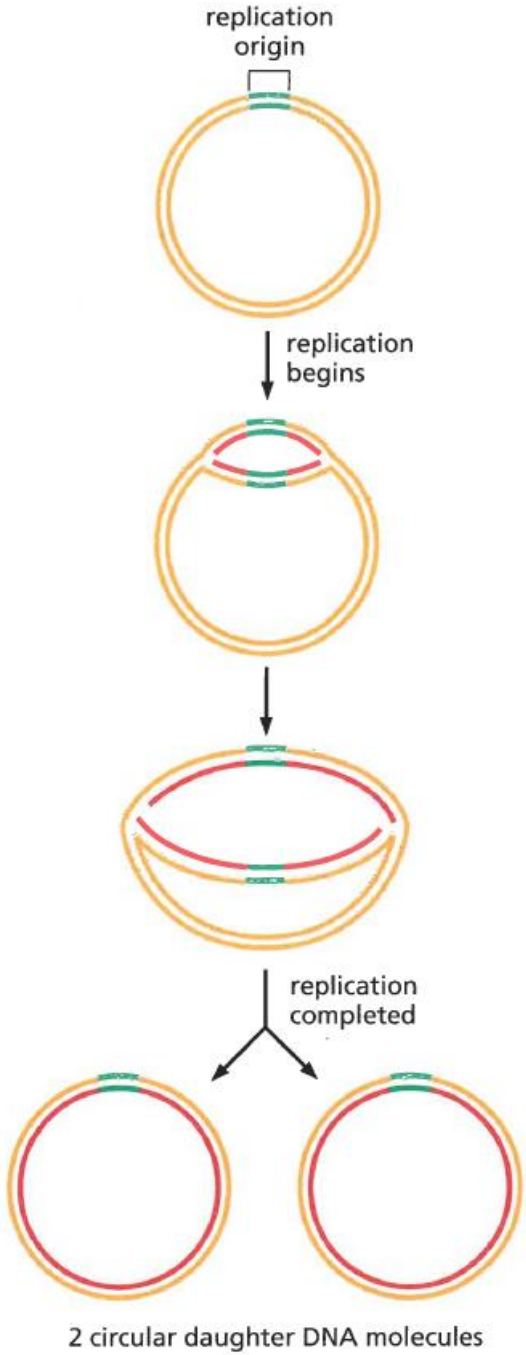
3.3.2. Séparation des brins et méthylation

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

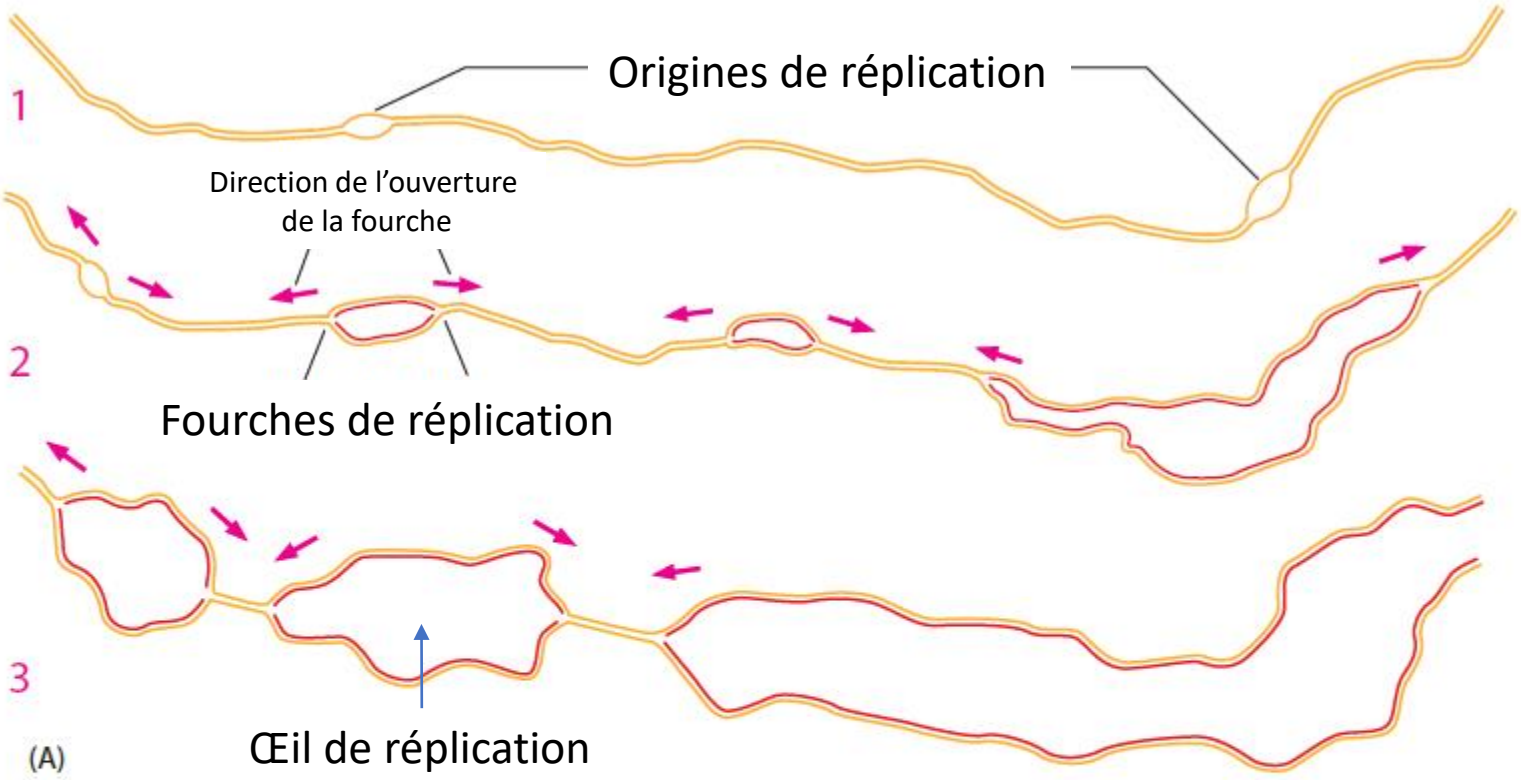
4.1. Les spécificités par rapport aux procaryotes

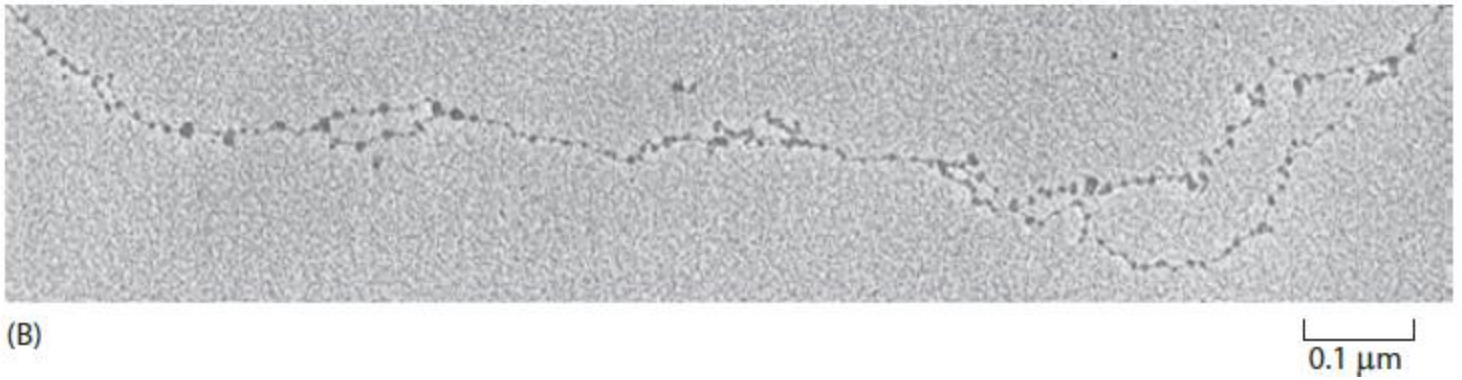
- Génome eucaryote :
→ Chromosomes
→ Linéaire
→ Chromatine

- Vitesse de réplication ≈ 50 nt / secondes

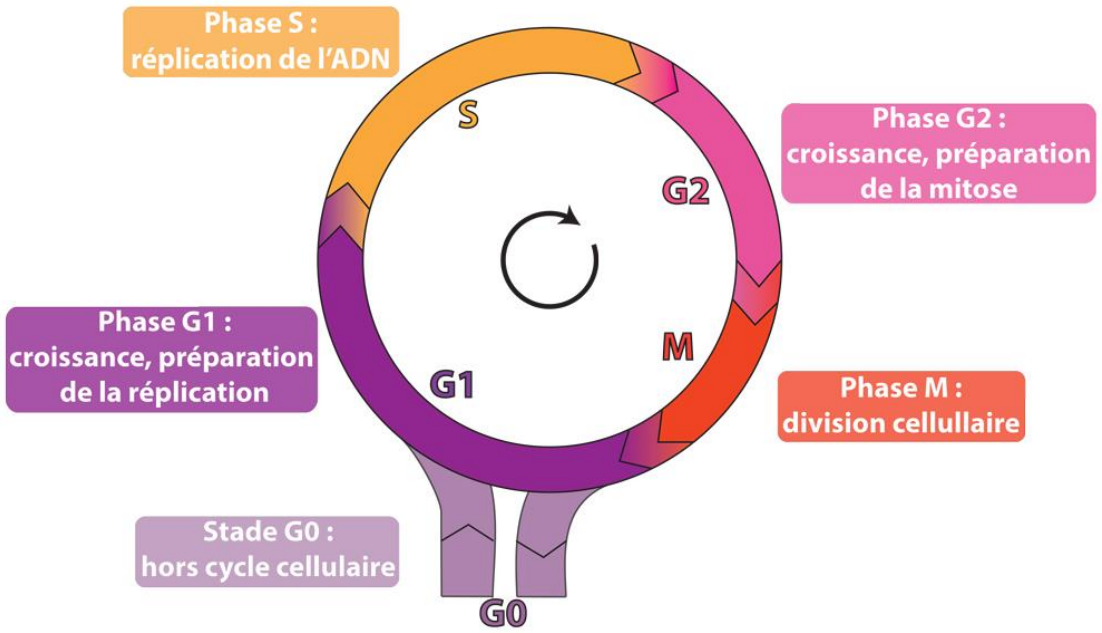
- Plusieurs origines de réplication par chromosomes
→ 20 à 100 000 OR par cellules

- 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
4. 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

1 ADN polymérase δ

- 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

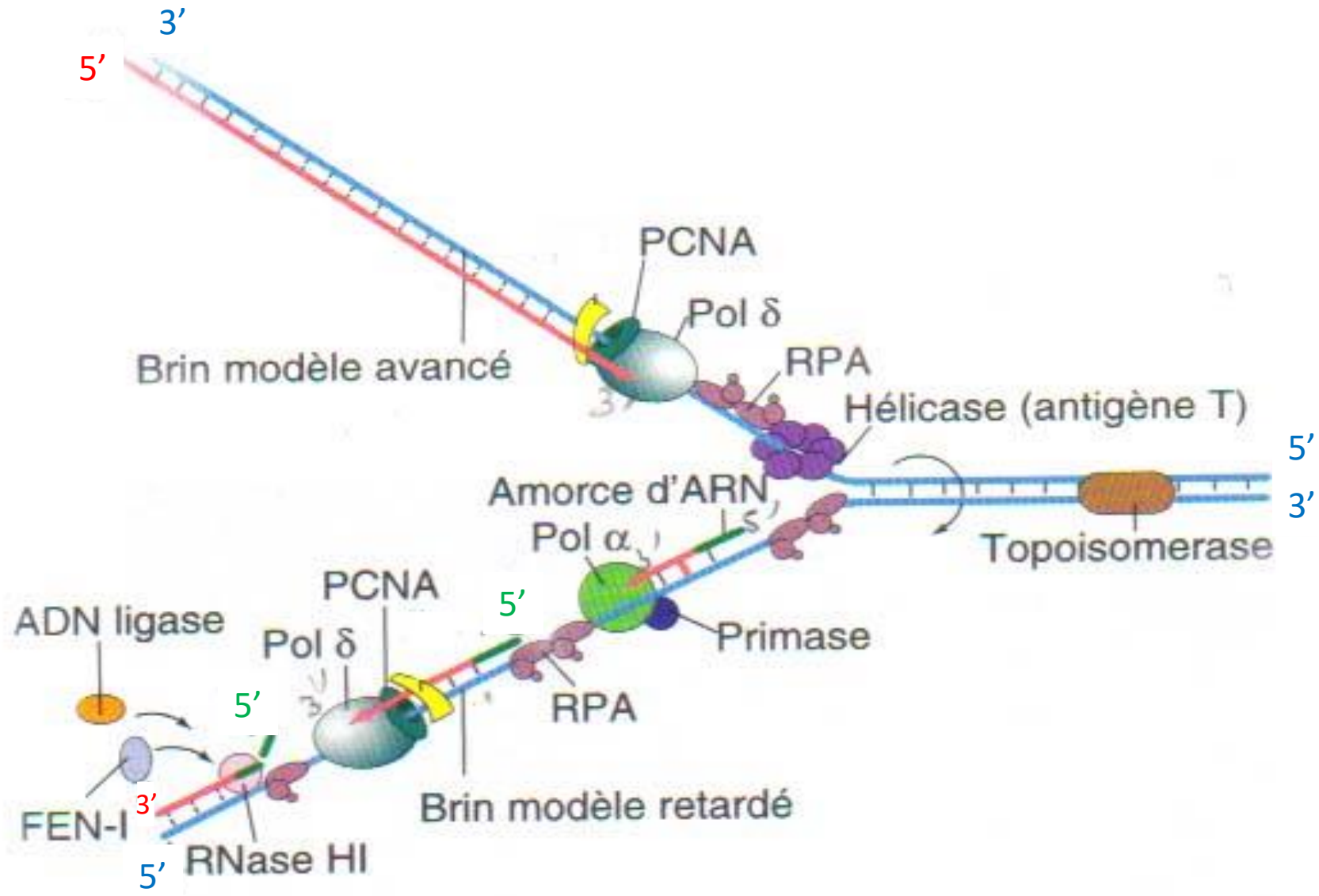
- Réplication de l'ADN mitochondrial

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	+	
κ	*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	?	

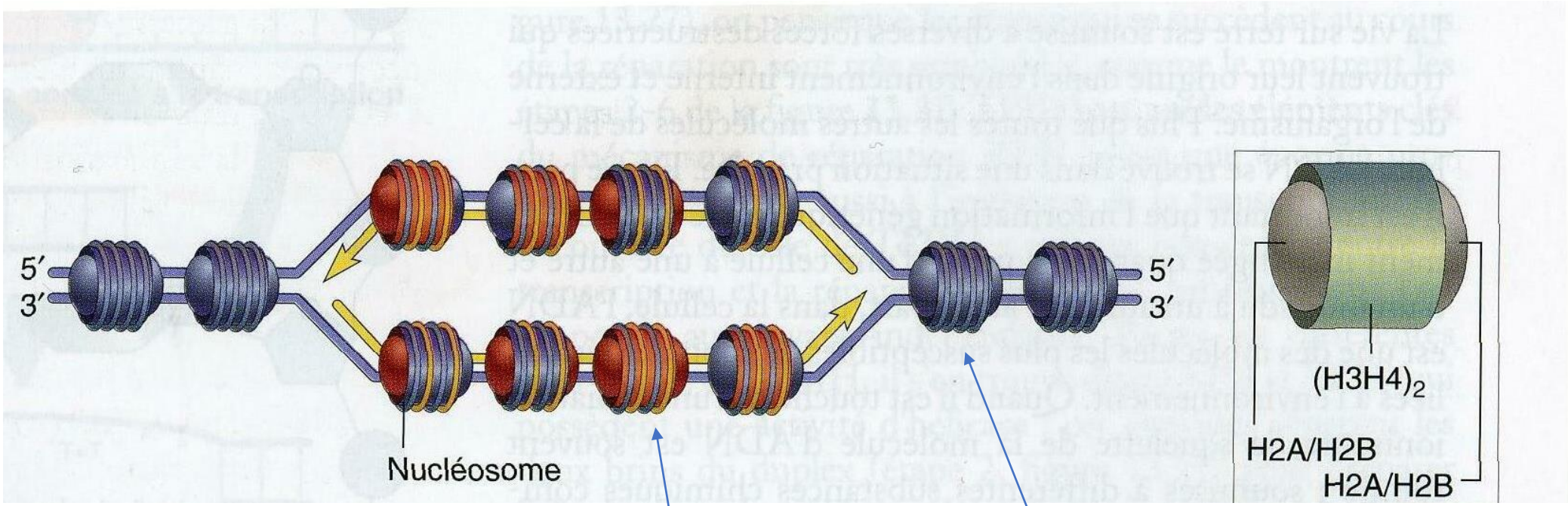
- élimination des amorces ARN par RNAse H et l'exonucléase FEN1
  → Comblement des lacunes par l'ADN pol δ
  → Action d'une ligase

Schéma d'une fourche de réplication procaryote



Fragments d'Okazaki eucaryotes = 100 à 200 nt

4.4. Les nucléosomes

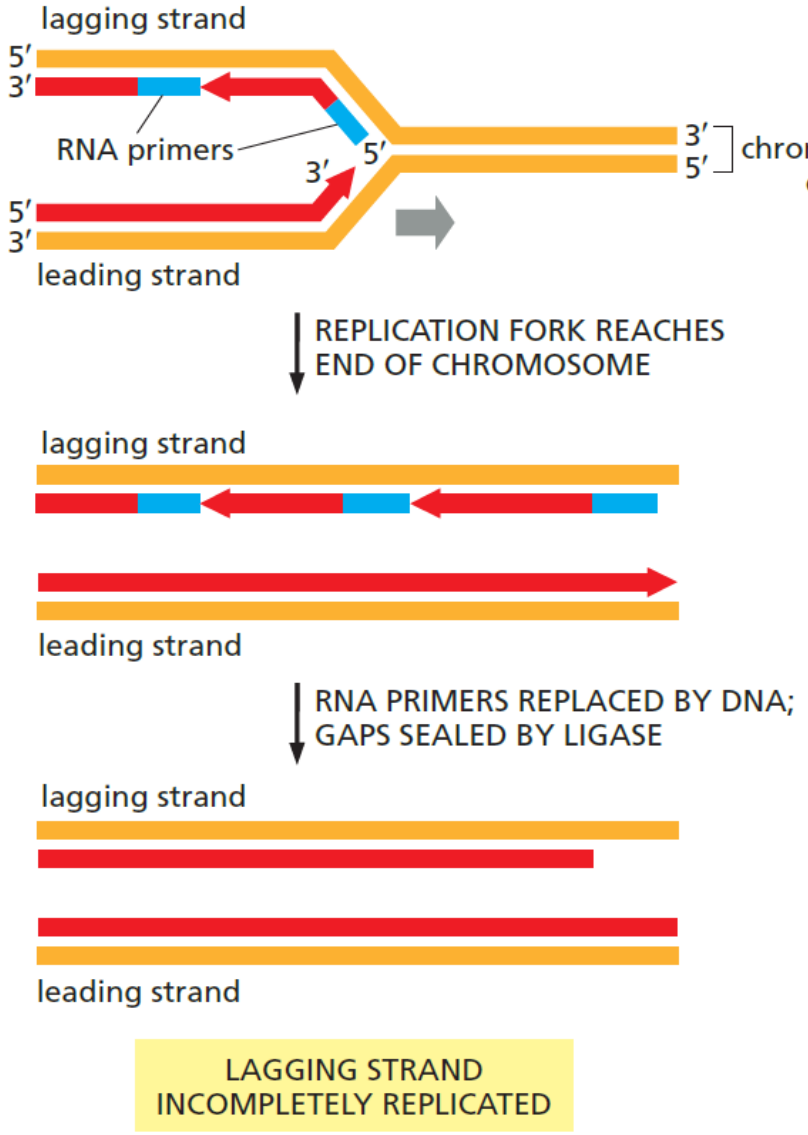


Nucléosomes néo-synthétisés

Nucléosomes parentaux

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

4.5. Cas particulier des télomères

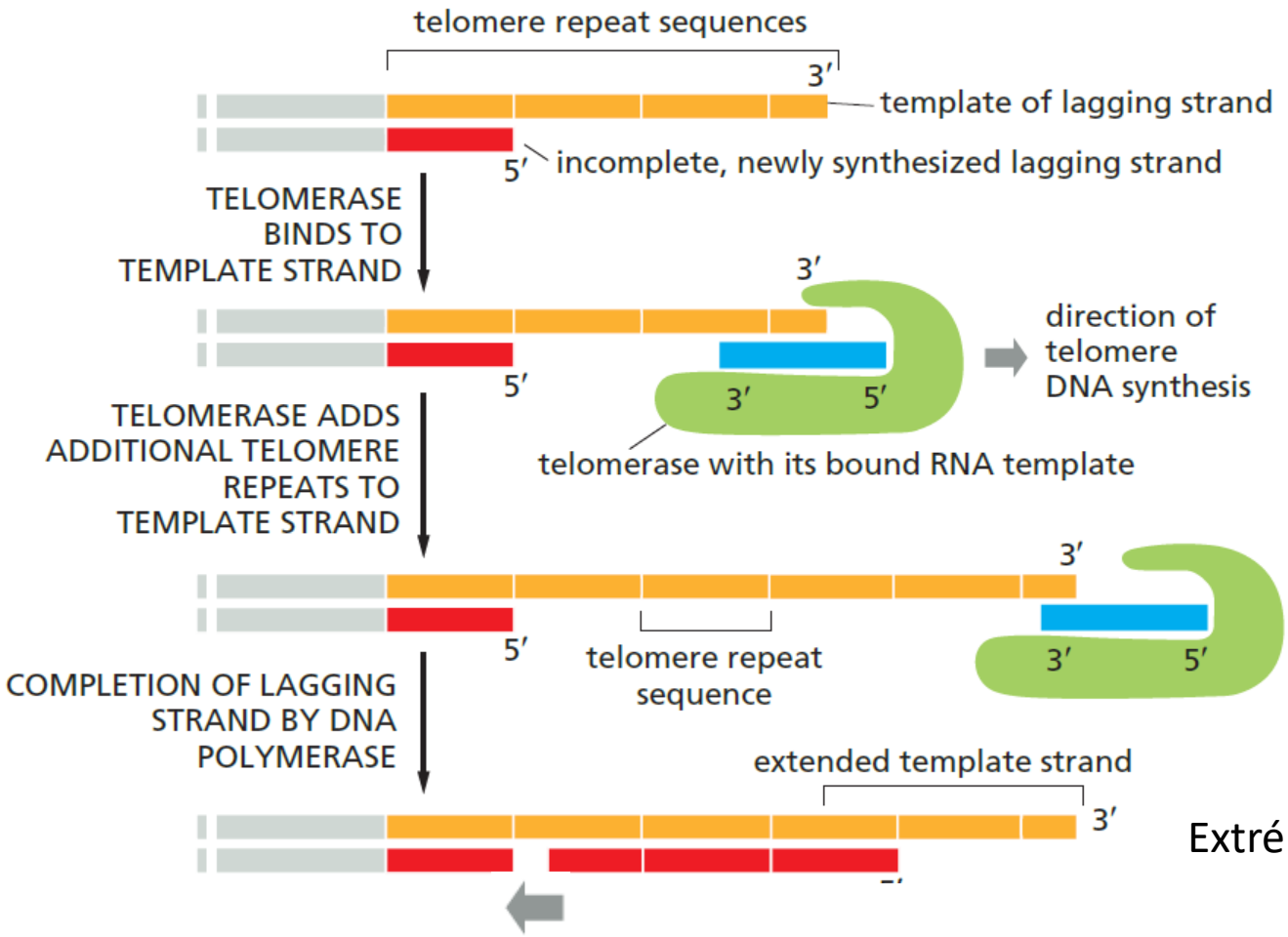


Télomères = extrémités des chromosomes

→ 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



ADN polymerase α + primase

Intervention d'une **télomérase** :

- ribonuléoprotéine
- ADN polymérase ARN dépendante
- rétro-transcription
- ARN = matrice interne de l'enzyme

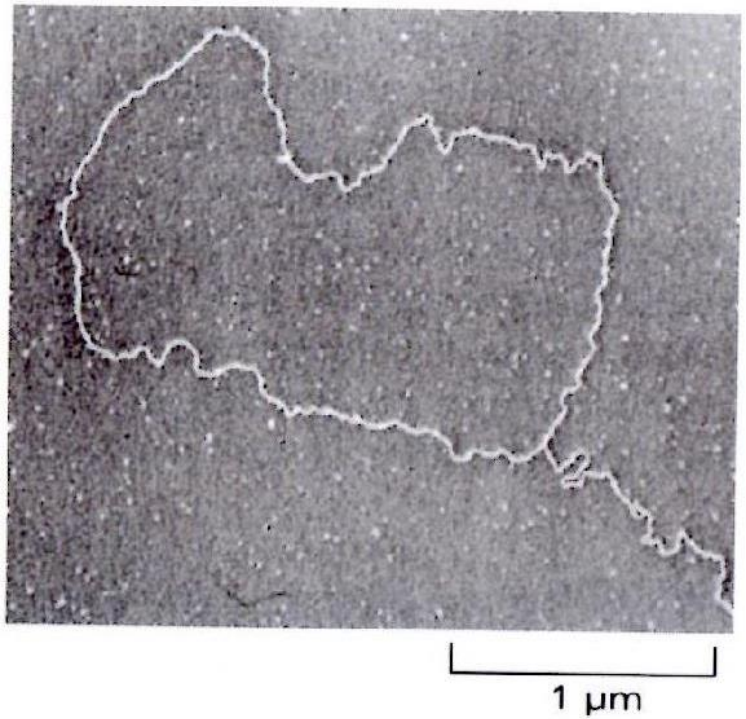
Extrémité 3' des chromosomes plus longue que l'extrémité 5'

↓

Structure simple brin

↓

Enroulement vers l'arrière pour former une **boucle-t**



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

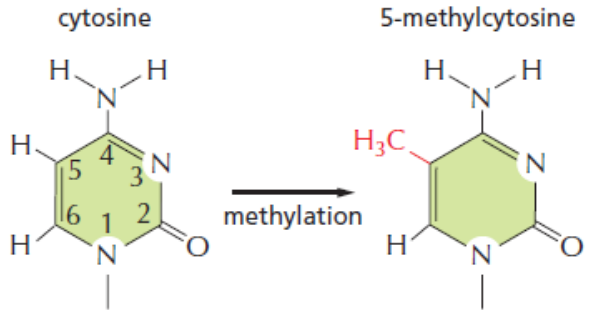
- Vieillissement cellulaire = raccourcissement des télomères
  = Sénescence

- Culture *in vitro*
  - De cellules normales (activité télomérase faible/diminuée)
  ⇒sénescence réplicative (arrêt de la division cellulaire)

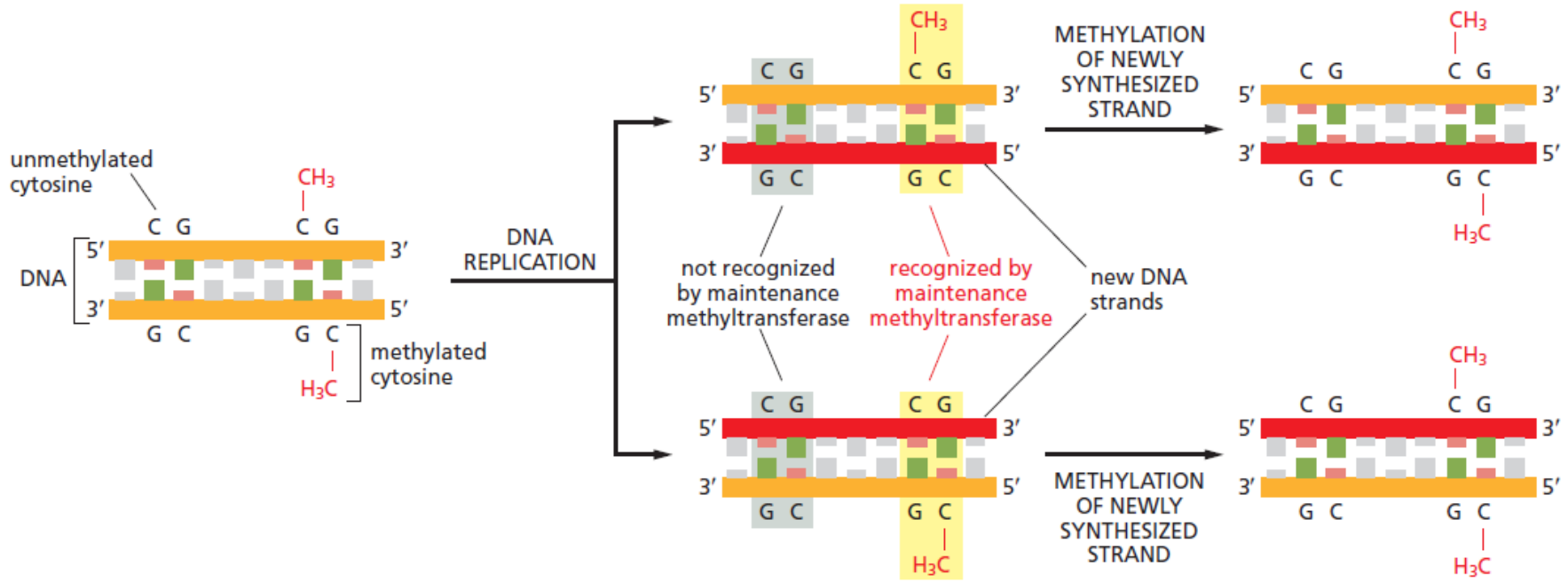
  - De cellules cancéreuses (télomérase active)
    Recherche: Médicaments anti-cancéreux anti-télomérase

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

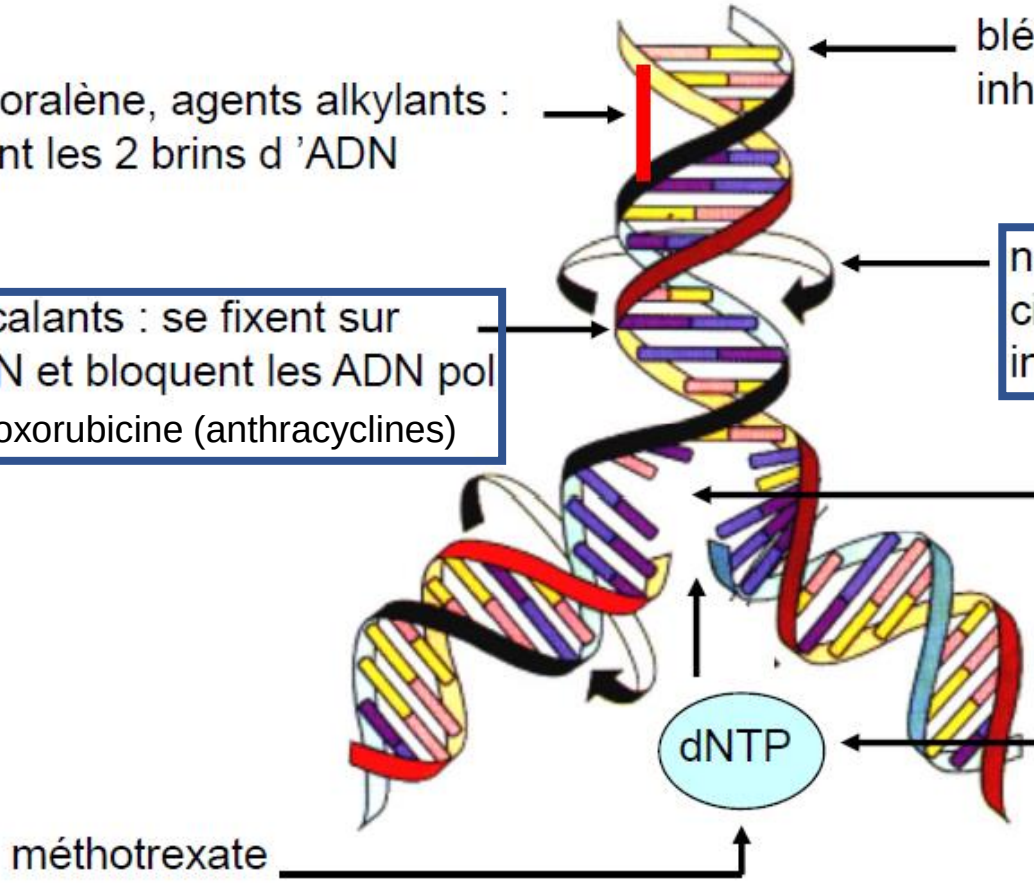
5.1. La réplication comme cible thérapeutique

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



bléomycine : endommage l 'ADN et inhibe la réparation

psoralène, agents alkylants : lient les 2 brins d 'ADN

novobiocine, acide nalidixique, ciprofloxacine, podophyllotoxines : inhibent la topoisomérase Bactérienne

intercalants : se fixent sur l 'ADN et bloquent les ADN pol

Ex : doxorubicine (anthracyclines)

sarcomycine : inhibe les ADN pol I & II

dNTP

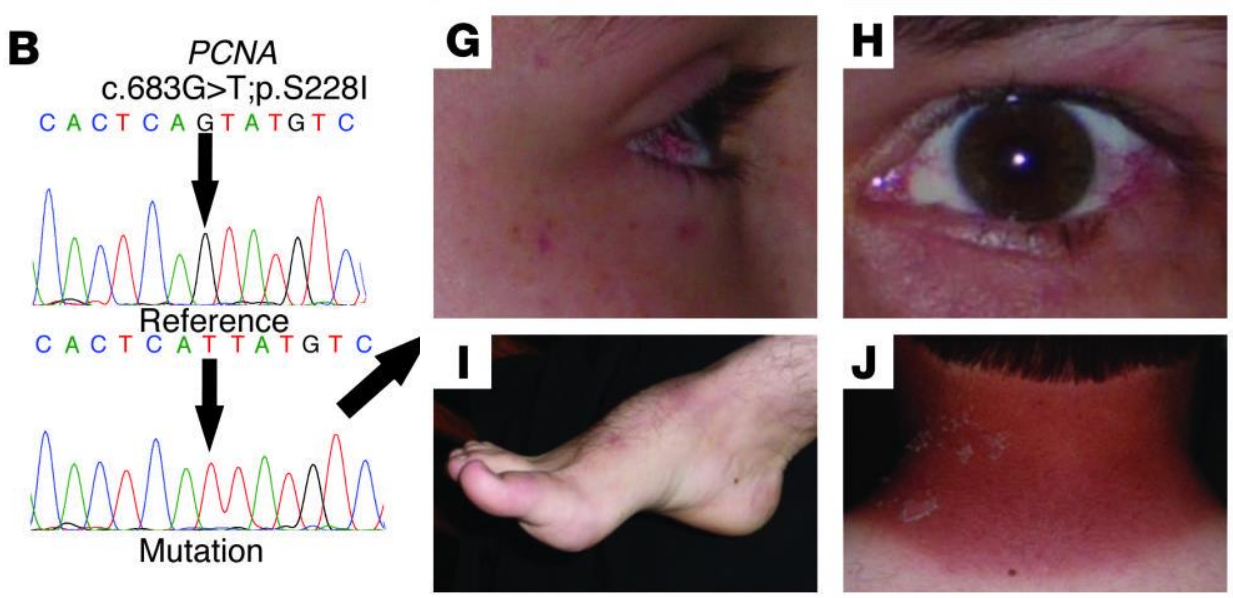
méthotrexate

analogues de nucléotides:
5-fluorouracile, → Kc colorectaux
cytosine arabinosine, → Cytarabine, Kc hémato
6-mercaptopurine → Leucémie aiguë lymphoblastique
AZT → Zidovudine, antirétroviral pour VIH

5. Exemples d'application médicales

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

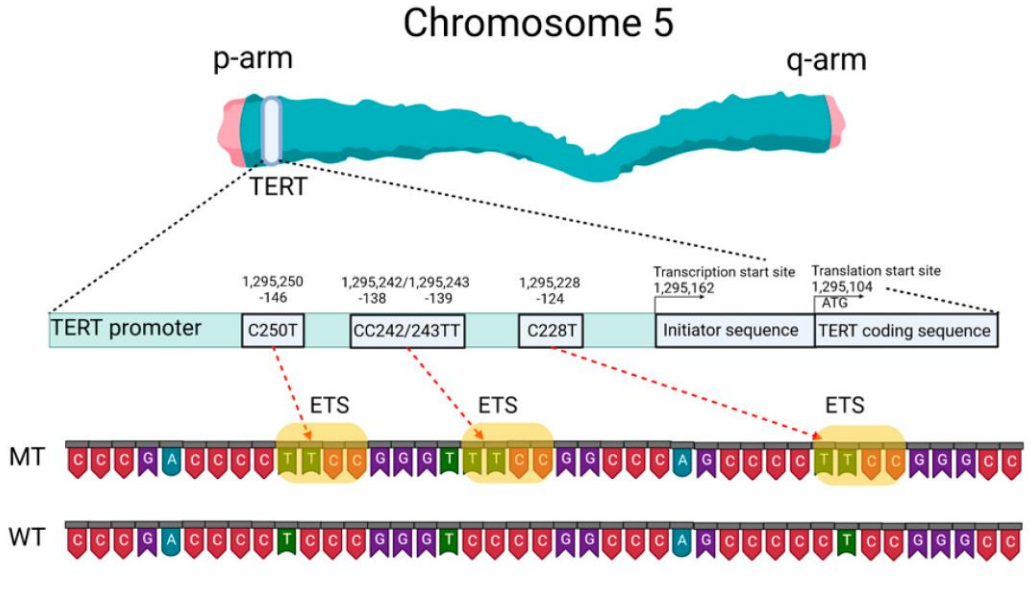
① Variations dans le gène codant le clamp (*PCNA*)



Ataxia telangiectasia like disorder

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

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



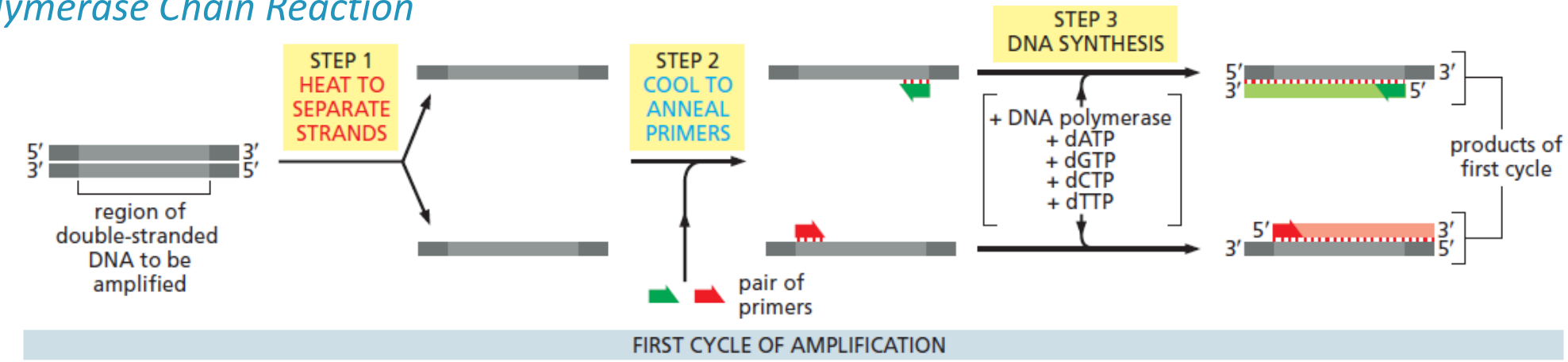
Tumeurs du système nerveux central

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

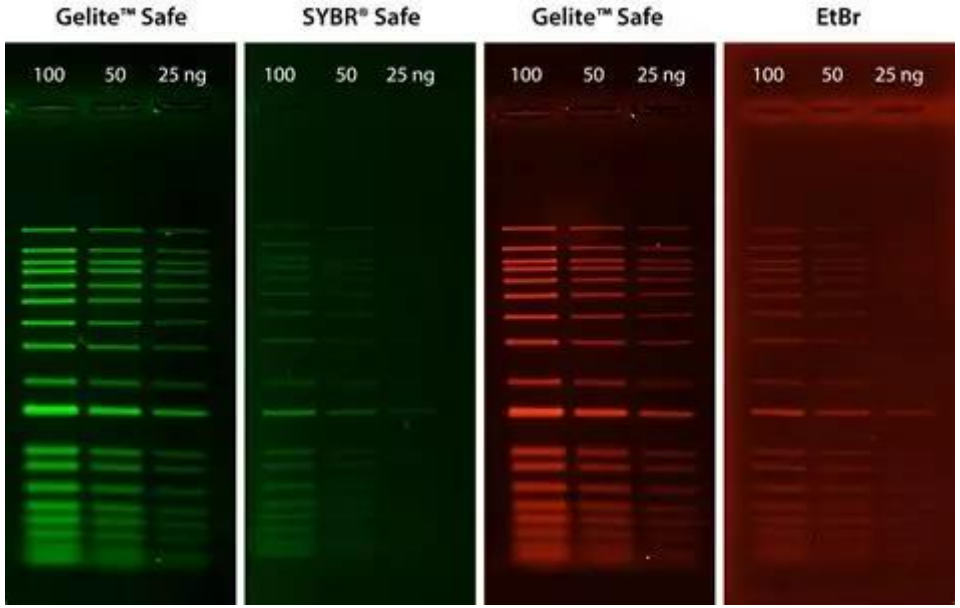
5. Exemples d'application médicales

5.3. Application en biologie médicale

La PCR : *Polymerase Chain Reaction*



Les intercalants



Conclusion

Duplication du patrimoine génétique
=
La réplication se doit d'être fidèle

ÉTAPE DE RÉPLICATION	ERREURS PAR NUCLÉOTIDE POLYMÉRISÉ
Polymérisation 5′ vers 3′	1×10^5
Correction exonucléolytique 3′ vers 5′	1×10^2
Correction des mésappariements contrôlée par un brin	1×10^2
Total	1×10^9