

Module 1 de biologie moléculaire

I. Structure des acides nucléiques +++

A) Structure primaire des acides nucléiques

- Définitions :

- Les acides nucléiques sont constitués de *lettres* = les **nucléotides**.
- Un nucléotide est formé de 3 éléments :
 - ✓ 1-3 groupe(s) phosphate
 - ✓ Un sucre à cinq côtés (**pentose**)
 - ✓ Une **base azotée** variable d'un nucléotide à l'autre.
- Lorsqu'un pentose est relié à une base azotée, cela va former un **nucléoside** : la liaison formée est alors appelée **liaison N-Glycosidique**.
- Un nucléotide est formé après liaison de ce nucléoside à un ou plusieurs groupes phosphate par l'intermédiaire d'une **liaison 5'-phosphoester**.

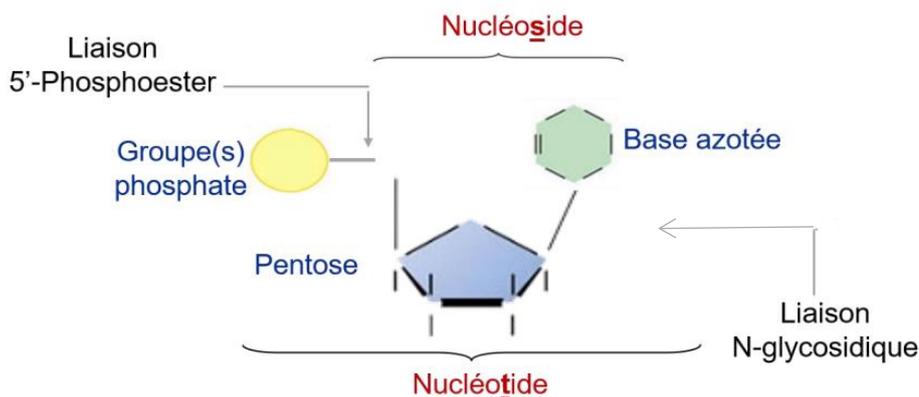


Schéma +++

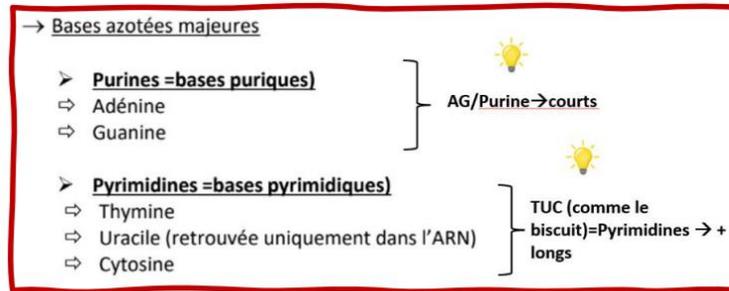
Alerte piège QCM :

- nucléoside/nucléotide

- ne pas confondre les liaisons

- Bases azotées et pentose :

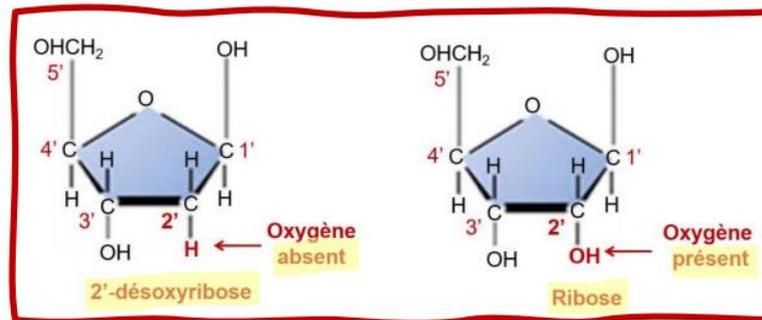
- Les nucléotides diffèrent entre eux par la base azotée qui les constitue. Il existe 5 bases azotées majeures et d'autres bases azotées mineures retrouvées dans l'ARN.



- Différences entre nucléotides constituant l'ADN et l'ARN :

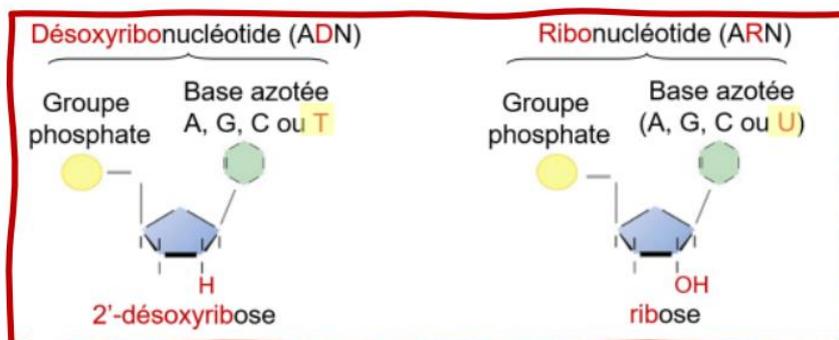
1) Le pentose

Le pentose de l'ADN est le 2'-désoxyribose ≠ ARN : ribose. Cette différence repose sur la présence (ARN) ou l'absence (ADN) d'un atome d'oxygène lié au carbone en position 2' du pentose.



2) Le choix des bases azotées

La seule différence sur ce point est qu'on retrouve la thymine seulement dans l'ADN et l'uracile seulement dans l'ARN.



- Nomenclature :

La nomenclature des nucléosides et nucléotides dérive du nom des bases qui les constituent. :

- On ajoute à ces bases différents suffixes pour différencier les **nucléosides puriques (osine)** ou **pyrimidiques (idine)** mais aussi pour différencier les **nucléotides puriques (ylique)** et **pyrimidiques (idylique)**
- On utilisera : **(d) pour l'ADN** afin de différencier les nucléosides et les nucléotides communs à l'ADN et à l'ARN. (Cette distinction sera inutile pour les dérivés de l'uracile, car cette base n'est retrouvée que dans l'ARN)
- On précisera s'il s'agit de nucléotides mono-, di- ou triphosphate.

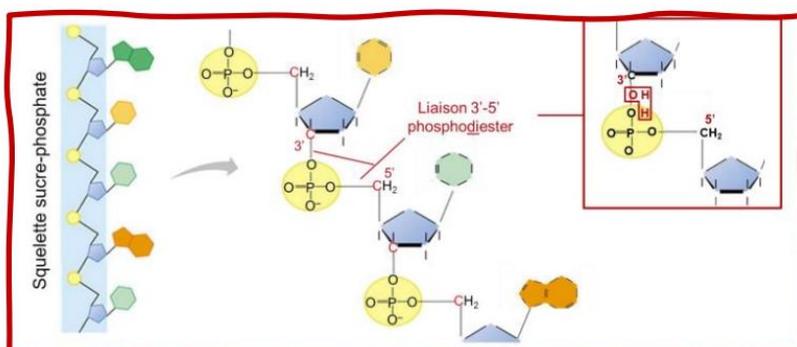
Bases azotée	Nucléoside (ARN) ou déoxynucléoside (ADN)	Nucléotide mono-, di-, triphosphate (d)NMP, (d)NDP ou (d)NTP
Purines		
Adénine	(d)Adénosine	Acide 5'-(désoxy)adénylique
Guanine	(d)Guanosine	Acide 5'-(désoxy)guanylique
Pyrimidines		
Cytosine	(d)Cytidine	Acide 5'-(désoxy)cytidylique
Thymine	(d)Thymidine	Acide 5'-(désoxy)thymidylique
Uracile	Uridine	Acide 5'-uridylique

- ADN et ARN forment une suite de lettres :

Les nucléotides sont reliés entre eux pour former un enchainement : soit un futur brin d'ADN ou d'ARN (selon les nucléotides utilisés)

- La liaison permettant de relier entre eux les nucléotides est appelée : **liaison 3'-5' phosphodiester** +++. Cette liaison va impliquer **la fonction hydroxyle du carbone 3' du pentose**, ainsi que **la fonction acide du groupe phosphate lié au carbone 5' d'un autre nucléotide** +++

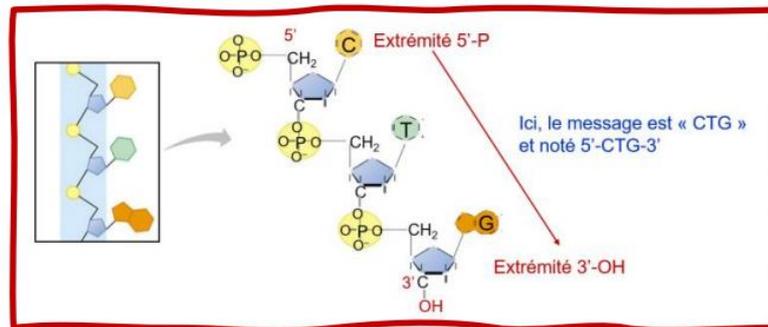
- L'ensemble des pentoses reliées par les groupes phosphate forme le **squelette sucre-phosphate**.

**Alerte piège QCM :**

Ne pas confondre liaison 5'-phosphoester au sein du même nucléotide et liaison 3-5' phosphodiester entre deux nucléotides

- Sens de lecture :

- ADN et ARN ont un sens et sont **polarisés ++**
- L'extrémité du brin à laquelle avec un groupement phosphate libre non relié à un autre nucléotide est l'**extrémité 5'-P** et celle avec un hydroxyle libre est l'extrémité **3'-OH**.
- Ainsi, l'enchaînement variable des bases le long d'un brin d'ADN ou d'ARN va former un message qui se lira **toujours** dans le **sens 5'-3'**, c'est à dire de l'extrémité 5'-P vers l'extrémité 3'-OH +++

**B) Structure secondaire de l'ADN****- Travaux préliminaires :**

Cette structure a pu être élucidée grâce aux travaux préalables de 2 chercheurs :

1) L'étude de la composition en bases de l'ADN par Erwin Chargaff (1950)

Son étude a révélé des **constantes universelles** dans les proportions respectives des bases :

Quelle que soit l'espèce étudiée :

*Les règles de
Chargaff:*

- ✓ $A = T \leftrightarrow A/T = 1$
- ✓ $C = G \leftrightarrow C/G = 1$

- ➔ L'ADN contient autant d'A que de T
- ➔ L'ADN contient autant de G que de C
- ➔ Cependant, le rapport $(A+T)/(G+C)$ s'est montré être spécifique d'une espèce donnée.

2) L'étude de la diffraction des rayons X par l'ADN de Rosalind Franklin (1952)

Cette étude a permis de révéler que :

- l'ADN a une **structure en hélice** ;
- Le squelette sucre-phosphate est à l'extérieur de l'hélice tandis que les bases sont situées à l'intérieur ;
- Le diamètre de l'hélice est constant : **2 nm**

En revanche, cette étude n'a pas permis de préciser le nombre de brins d'ADN qui forment cette hélice +++

3) Le modèle de la double-hélice de Watson et Crick (1953)

- C'est à partir de ces 2 travaux préliminaires que les chercheurs Watson et Crick ont proposé le modèle de la double hélice en 1953 pour décrire la structure secondaire de l'ADN.

Dans ce modèle, ils proposent que deux brins d'ADN s'associent entre eux en formant des paires de bases et s'enroulent en une **double-hélice**.

Ainsi, on peut comparer l'ADN dans sa structure secondaire à une *échelle* dans laquelle les *montants* représenteraient le squelette sucre-phosphate et les *barreaux* représenteraient les paires de bases qui permettent à ces deux brins de s'associer entre eux.

Et en faisant subir une rotation à cette *échelle*, on obtient la représentation de la structure secondaire de l'ADN.

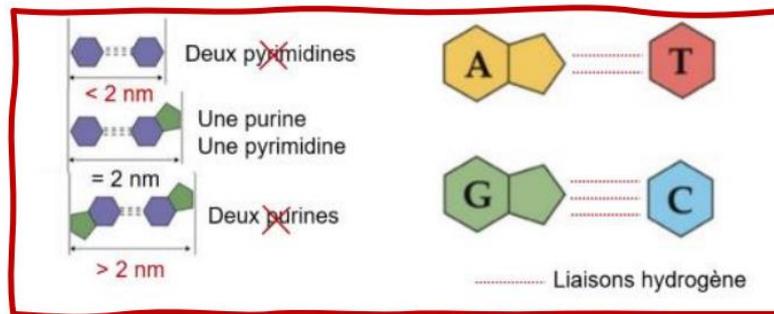
- Longueur de chaque tour d'hélice = 3,4 nm
- Distance entre 2 paires de bases = 0,34 nm

- Watson et Crick vont s'appuyer sur les travaux précédents pour proposer un principe fondamental qui est **le principe de complémentarité des bases** +++.

C'est ce principe qui va permettre aux deux brins d'ADN de s'associer entre eux. En effet, les bases ne vont pas s'associer de façon aléatoire entre elles pour former des paires de bases :

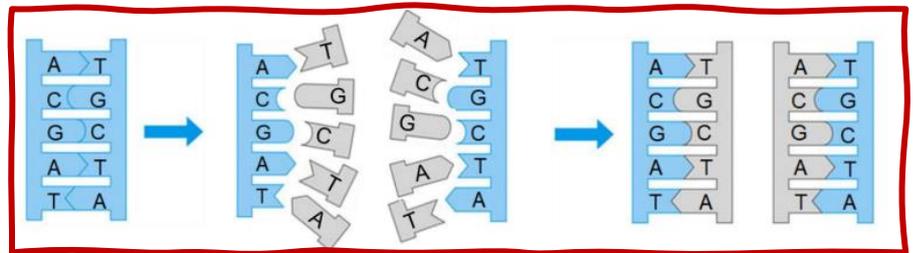
- Pour obtenir un diamètre de l'hélice de 2 nm, **une purine va toujours s'associer à une pyrimidine**. En effet, d'après la structure des pyrimidines, en associant entre elles **deux pyrimidines**, on obtiendrait un diamètre de l'hélice **inférieur à 2 nm**. En associant entre elles **deux purines**, on obtiendrait cette fois-ci un diamètre de l'hélice qui serait **supérieur à 2 nm**.

De plus, d'après les règles de Chargaff, A devra s'apparier obligatoirement avec T (à travers 2 liaisons hydrogène) et G avec C (3 liaisons hydrogène).



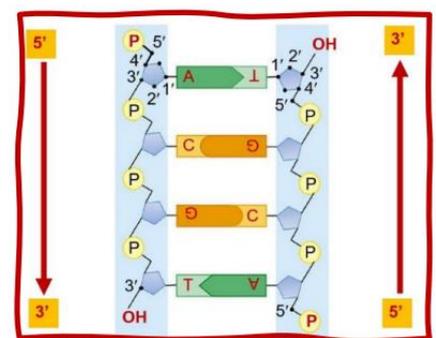
L'intérêt majeur du modèle de Watson et Crick a été de confirmer que l'ADN est la molécule (substrat biochimique) de l'hérédité.

La complémentarité des bases va fournir le mécanisme grâce auquel le matériel génétique pourra être **recopié** et **transmis** de génération en génération. En effet, en connaissant la séquence d'un brin de la double hélice d'ADN, on va pouvoir directement en déduire celle des brins complémentaires. A partir d'une seule molécule d'ADN, en utilisant ce principe de complémentarité des bases pour recopier chacun des deux brins de la double hélice, on va finalement obtenir **deux nouvelles molécules absolument identiques entre elles et à la molécule d'ADN de départ**.



- Principe des brins antiparallèles :

Une caractéristique de la double hélice va être que les brins qui la constituent sont orientés en sens inverse. On dira qu'ils sont **antiparallèles**. Dans la molécule d'ADN, lorsque l'on a sur un brin l'extrémité 5', on aura toujours en regard l'extrémité 3' et vice-versa.



- Conventions de représentation de l'ADN :

- On pourra représenter un brin d'ADN par un **simple trait** ou par une **flèche** qui indique quelle est l'extrémité 3' si on s'intéresse à l'orientation. Et par convention, **on représentera toujours l'extrémité 5' à gauche et l'extrémité 3' à droite**.
- Si cette fois-ci, on s'intéresse à la double hélice, on pourra utiliser **deux traits avec ou sans flèche** en se rappelant que les brins sont antiparallèles. Et on pourra représenter, si l'on veut, les bases appariées par des **lignes verticales** qui relient les deux brins. On peut aussi utiliser des lettres

uniquement et on peut ne représenter que la séquence d'un des brins puisque celle de l'autre brin pourra être directement déduite. Par convention, on représente toujours cette séquence de 5' vers 3'.

- Pour finir, si on s'intéresse aux mutations qui peuvent survenir dans la séquence de l'ADN, cette fois ci, on représentera la **séquence** des deux brins.



- Sillons :

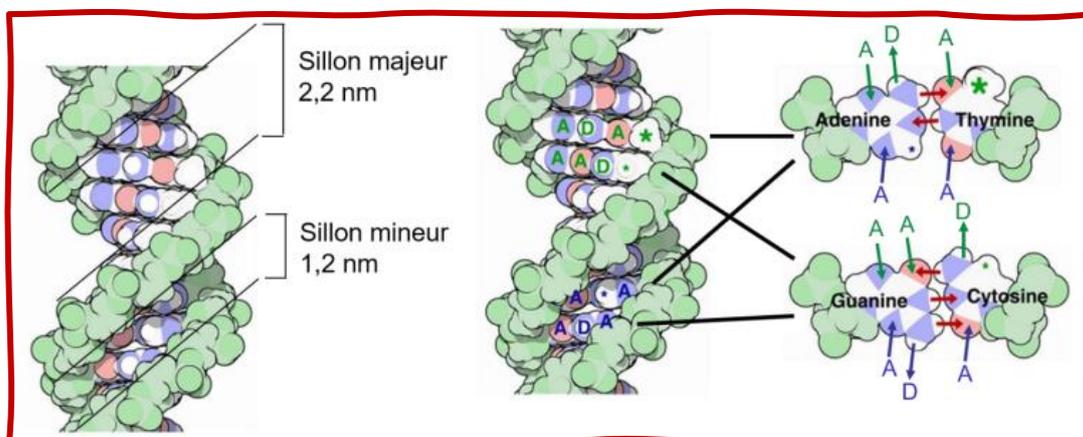
Une caractéristique de la double hélice d'ADN est que sa structure n'est **pas homogène**. En effet, elle va présenter des sillons au niveau desquels les bases sont exposées, ces bases pouvant alors établir avec d'autres molécules des interactions diverses.

On distingue **sillon majeur** dont la largeur est de 2,2 nm et un **sillon mineur** dont la largeur est de 1,2 nm

Les sillons de l'hélice vont également permettre aux bases exposées d'exposer **des atomes donneurs ou des accepteurs d'hydrogène** qui vont pouvoir former, à leur tour, des liaisons hydrogène avec d'autres protéines impliquées dans la compaction, réplication ou transcription de l'ADN.

	Sillon majeur	Sillon mineur
A+T	ADA	AA
C+G	AAD	ADA

Tableau : séquences exposées par les paires de bases dans les sillons



C) Structure tertiaire de l'ADN

L'ADN va pouvoir adopter trois formes différentes de structure tertiaire. On va ainsi distinguer les conformations **A, B et Z**.

- **Qu'est-ce qui diffère entre ces 3 formes ? → 4 aspects :**
 - Sens d'enroulement de l'hélice
 - Longueur du tour de l'hélice
 - Nombre de paires de bases par tour d'hélice
 - Différences de taille des sillons mineur et majeur
- **Mais dis-moi Biomol'ka, en fonction de quoi ces différences s'opèrent-elles ? → 2 paramètres :**
 - L'état d'hydratation
 - La présence de sel

En pratique, c'est la conformation B qui représente la structure décrite par Watson et Crick et qui est la plus abondante dans la cellule.

D) Structure quaternaire de l'ADN

Des protéines peuvent s'associer à l'ADN au niveau des sillons et en particulier les **histones** sont des protéines qui vont pouvoir interagir avec l'ADN au niveau du **sillon mineur**. Ces interactions très importantes vont permettre de moduler la compaction de l'ADN selon différents niveaux (*on y revient +++*).

E) Structure de l'ARN

La structure primaire de l'ARN est semblable à celle de l'ADN. Cependant, le groupement -OH en plus au niveau du carbone en position 2' va lui conférer des **propriétés propres**.

Il pourra également être donneur ou accepteur d'hydrogène et former des liaisons hydrogène qui sont impliquées dans la formation de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire des différents sous-types d'ARN.

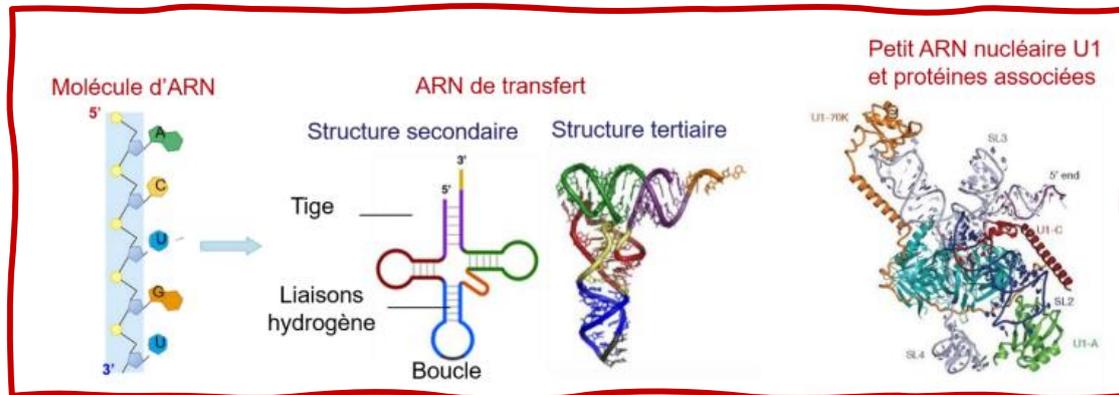
⚠ Une molécule d'ARN n'est constituée que d'un seul brin de ribonucléotides !! (≠ ADN) ⚠

Ce brin d'ARN peut se replier sur lui-même via des appariements intramoléculaires de bases complémentaires pour former de manière localisée, une hélice (**duplex d'ARN**) avec des caractéristiques différentes de celle de la molécule d'ADN.

La structure des ARNs est très **variée**. Ils peuvent contenir des régions **appariées (tiges)** et **non appariées (boucles)**

L'ensemble de ces régions forment des structures tertiaires et quaternaires très complexes associées à des protéines.

Sur ce schéma, nous avons par exemple, concernant l'**ARN de transfert**, une représentation de sa structure secondaire avec **une tige** et **trois boucles**, la tige étant formée par ces appariements intramoléculaires de bases grâce à des liaisons hydrogène. Et nous avons par ailleurs la structure très complexe d'un petit ARN qu'on appelle ARN nucléaire **U1**, celui-ci étant également associé à des protéines.



II. Organisation et compaction du génome

A) Organisation du génome viral

Les virus ne sont généralement **pas considérés comme des organismes vivants**, même s'ils possèdent un génome. En effet, ce sont des parasites cellulaires qui sont **incapables de répliquer autonome**.

Concernant leur génome, ses caractéristiques sont variables selon les espèces de virus. Il peut être constitué :

- ADN ou ARN
- Simple ou double brin
- Unique molécule ou segmentée (génome en pièce)
- Molécule linéaire ou circulaire

Ex : rétrovirus : ARN simple brin

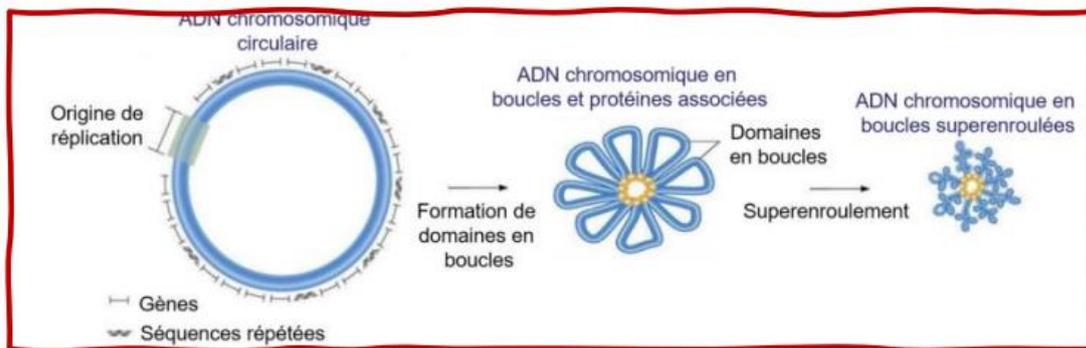
Ce génome va être contenu dans une **capside protéique sans organisation particulière ++**

B) Organisation du génome procaryote

Les bactéries sont bien des **organismes considérés comme vivants**, puisqu'elles sont capables de répliquer leur ADN.

Par définition, les organismes procaryotes ne possèdent pas de noyau +++ et leur génome est organisé par une structure **lâche** : le **nucléoïde**. Elles possèdent un **unique chromosome circulaire formé d'ADN double brin +++**. Par ailleurs, les bactéries peuvent posséder, en plus, une ou plusieurs **molécules d'ADN accessoire : des plasmides**. Ces plasmides peuvent contenir certains gènes, comme notamment des gènes de résistance aux antibiotiques.

Sur ce schéma, nous voyons le contenu d'un ADN chromosomique avec 1 origine de réplication qui va être importante pour la duplication de l'ADN, puis différents gènes qui sont interrompus par des régions d'ADN non codantes constituées de séquences répétées. Le chromosome des bactéries va pouvoir être sous une forme relâchée ou compacté par deux mécanismes successifs, la formation des domaines en boucle associés à des protéines et le super enroulement de ces boucles.

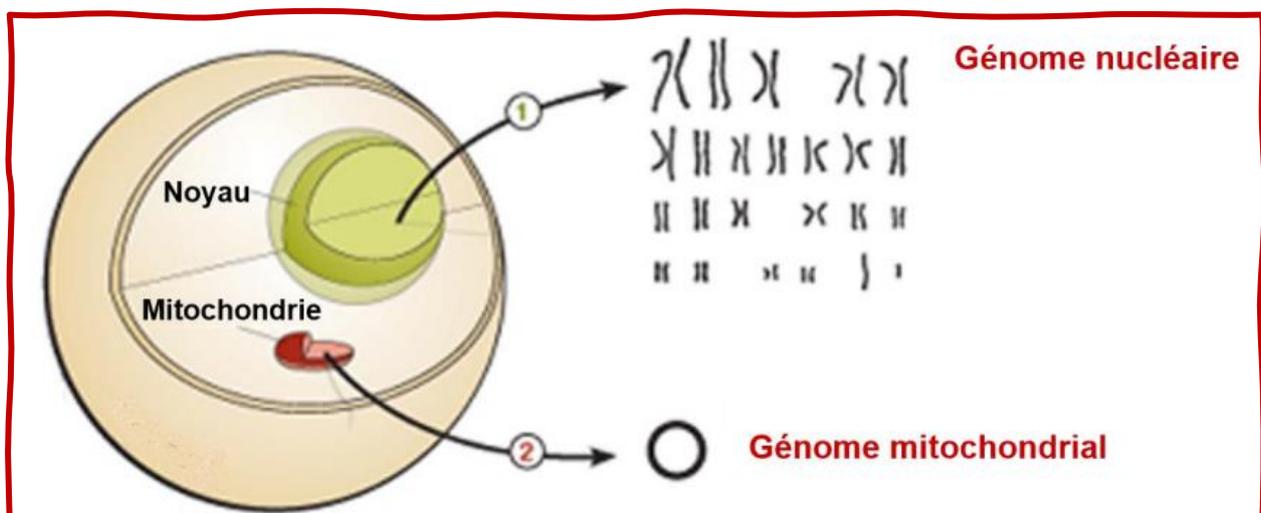


C) Organisation du génome eucaryote

Les eucaryotes (=possèdent un noyau) sont des êtres qui peuvent être uni ou multicellulaires

- Double origine :

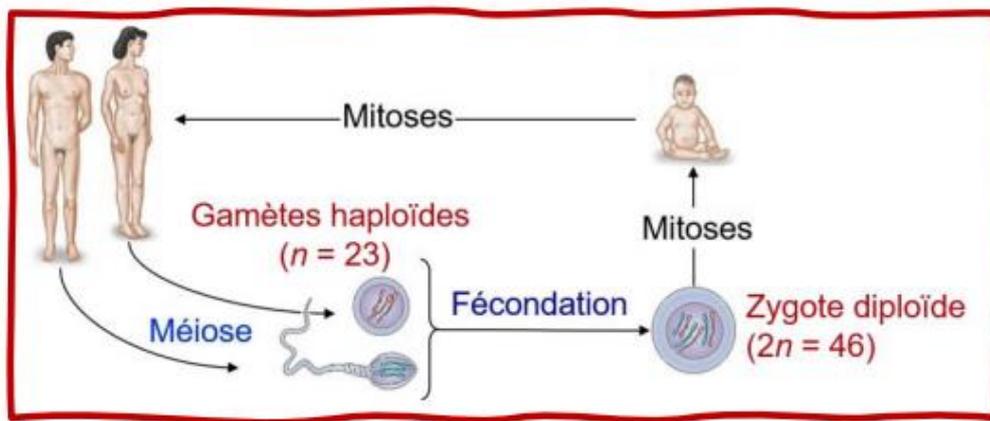
- Génome nucléaire : ADN double brin segmenté sous la forme de **chromosomes linéaires** et associé à des protéines
- Génome mitochondrial : Les cellules eucaryotes possèdent également des mitochondries qui contiennent leur propre génome → ADN double brin formant un **unique chromosome circulaire** est apparenté à celui des bactéries ++



- Haploïdie/Diploïdie :

$K = \text{chromosome} / \text{Spz} = \text{spermatozoïde}$

Les cellules somatiques = diploïdes	Les gamètes = haploïdes
<ul style="list-style-type: none"> - 2 jeux de K - K quasi-identiques 2 à 2 → paires de K homologues - Chez l'H : $2n=46$ K - Dans chaque paire, 1 K du père + 1 K de la mère - Chez l'H : 22 paires d'autosomes + 1 paire de gonosomes (XX/XY) 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 seul jeu de K - Formées à partir de cellules germinales lors de la méiose - Spz/Ovocytes - 1 seul jeu de K → $n=23$ K - 22 autosomes + 1 gonosome X/Y



La fécondation permet de rétablir la diploïdie par la formation d'un zygote

⚠ Ne pas confondre cellules germinales (diploïdes) et cellules sexuelles (=gamètes haploïdes) +++

D) Compaction du génome eucaryote +++

L'ADN dans une cellule eucaryote existe sous différents niveaux de compaction, et notamment les **chromosomes qui constituent le niveau maximal de compaction de l'ADN**. Cette compaction va remplir de multiples fonctions. Elle va notamment permettre le stockage de l'ADN dans le noyau, le protéger contre d'éventuels dommages, être indispensable pour sa transmission correcte durant la division cellulaire et également permettre une organisation qui va faciliter l'expression des gènes.

La compaction de l'ADN va faire intervenir de nombreuses protéines et les protéines qu'on appelle **histones** sont celles qui vont initier le processus de compaction.

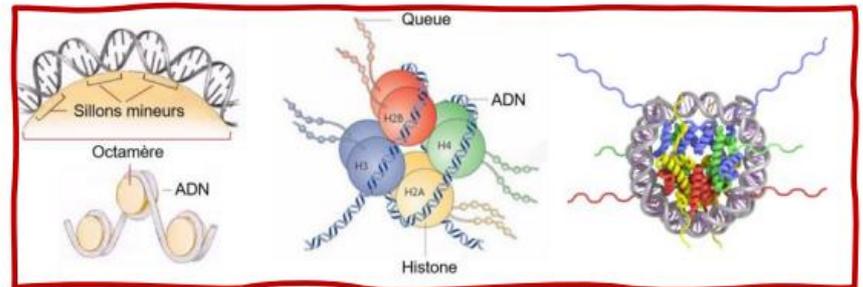
Ces protéines forment une famille dont les principaux membres sont les histones **H1, H2A, H2B, H3 et H4**. Ces protéines possèdent une structure commune qui comprend un **domaine globulaire central** et une **extrémité N-terminale variable** appelée **queue des histones** dont les modifications vont réguler le processus de compaction de l'ADN.

Les histones ont la particularité d'être des protéines **riches en acides aminés basiques** comme la lysine et l'arginine, et dont la **charge positive** va faciliter l'interaction avec l'ADN, dont la charge est quant à elle négative du fait de la présence des groupes phosphate.

0) Initiation du processus de compaction

Ce cœur protéique va donc être constitué de 8 molécules histones et sera pour cette raison appelée **octamère**. À l'extérieur de ce cœur protéique, va se trouver la queue N-terminale variable des histones.

Et c'est autour de ce cœur protéique que l'ADN va venir s'enrouler pour son premier niveau de compaction par l'intermédiaire des sillons mineurs de l'ADN.

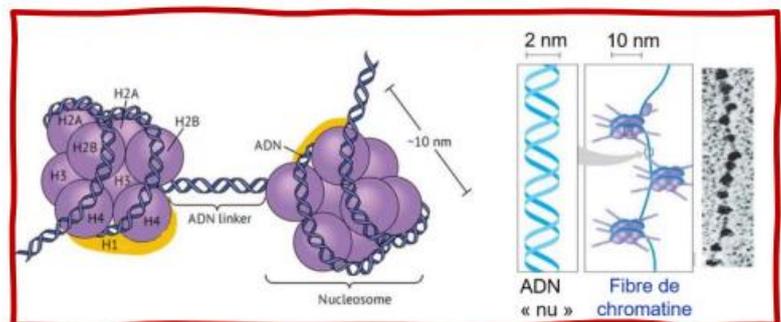


1) 1^{er} niveau de compaction = fibre de chromatine = 10 nm

L'ADN enroulé autour de l'octamère va former l'unité de base : le **nucléosome**.

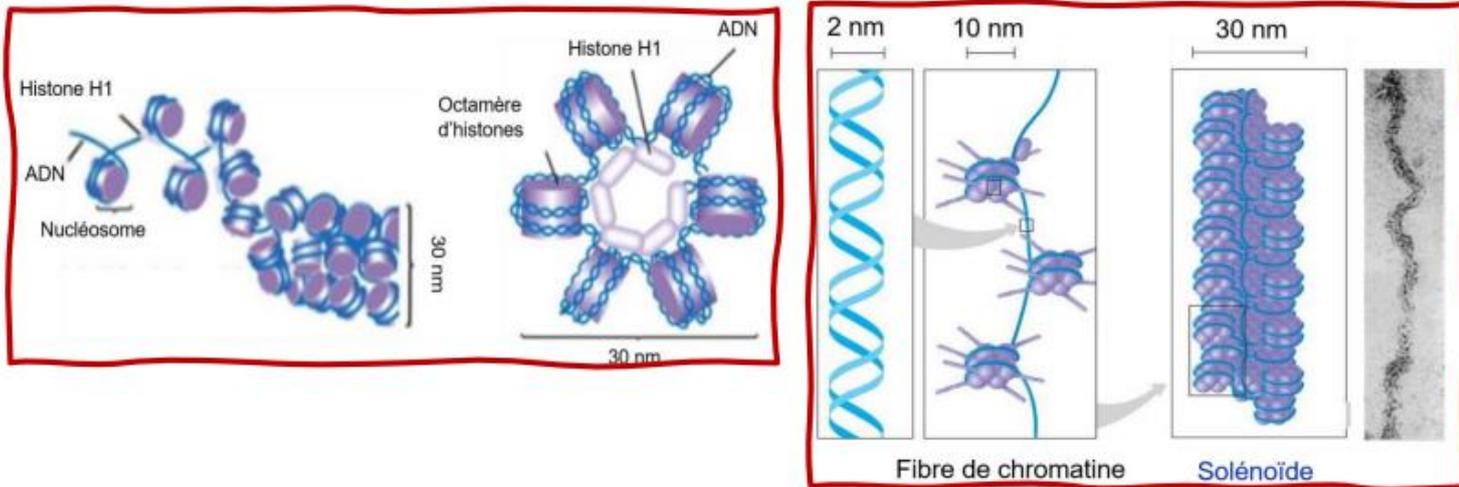
A ce nucléosome va se rajouter une autre molécule d'histone, l'histone **H1** qui va permettre de stabiliser l'ensemble.

Et les différents nucléosomes vont être reliés entre eux par de l'ADN qui reste nu et qui est appelé **ADN linker**. Le diamètre d'un nucléosome ainsi formé va être de 10 nm et cet ensemble de nucléosomes reliés entre eux par l'ADN linker va former une structure en **collier de perles** qu'on appelle la fibre de **chromatine**. Cela correspond donc au 1^{er} niveau de compaction permettant de passer de l'ADN nu, qui possède un diamètre de 2 nm, à la fibre de chromatine dont le diamètre est de 10 nm.



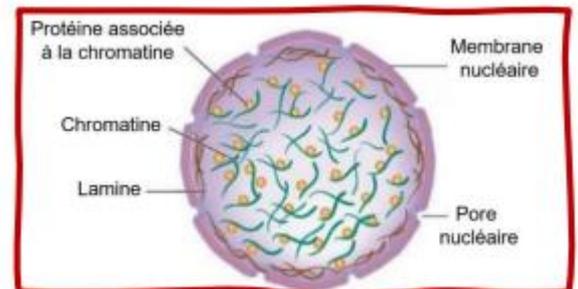
2) 2^{ème} niveau de compaction = solénoïde = 30 nm

La compaction va ensuite se poursuivre lorsque la fibre de chromatine va à son tour s'enrouler en une **hélice**. Ce nouvel enroulement va faire intervenir les **monomères d'histone H1** qui sont associés aux nucléosomes. Ces différents monomères vont interagir ensemble et s'enrouler en une hélice, pour que l'ensemble forme une fibre de 30 nm de diamètre qu'on appelle le **solénoïde**. On est donc passé de la fibre de chromatine de 10 nm de diamètre à un nouveau niveau de compaction de 30 nm de diamètre.

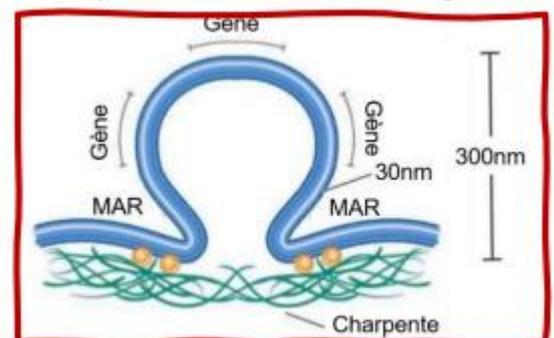


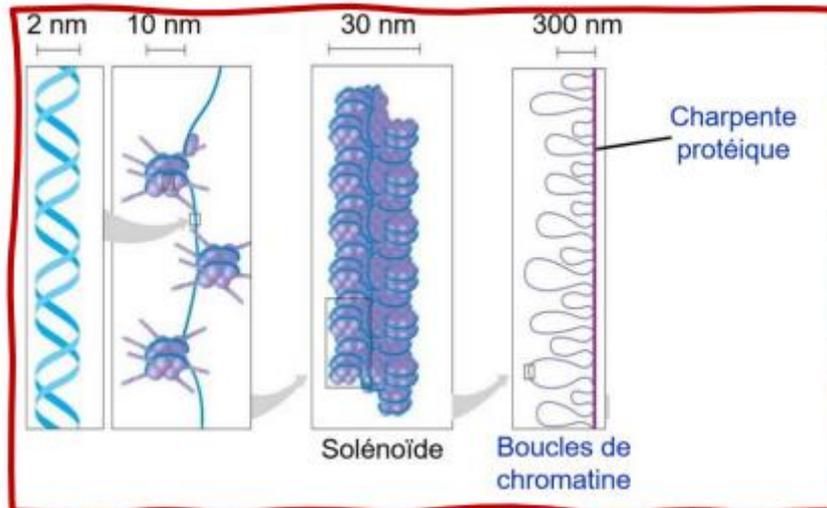
3) 3^{ème} niveau de compaction = euchromatine = 300 nm

Le niveau de compaction de l'ADN suivant correspond à l'euchromatine. Pour atteindre cet état, le solénoïde va venir former des **boucles amarrées sur une charpente protéique**. Cette étape de compaction va faire intervenir deux types de protéines, la **lamine**, qui est accolée à la face interne de la membrane nucléaire, et des **protéines de la matrice nucléaire** qui sont associées à la chromatine. Ces protéines sont associées à la chromatine au niveau de séquences d'ADN particulières qu'on appelle les séquences **MAR** pour *Matrix Attachment Regions*.



Pour former ces boucles, les protéines qui sont associées à la chromatine au niveau des séquences MAR vont se fixer à la lamine et entraîner la formation de domaines en boucle. L'intérêt de ces domaines en boucle est qu'ils vont permettre d'isoler les gènes qui sont contenus dans la boucle d'éventuels éléments régulateurs qui seraient situés en dehors de cette boucle.



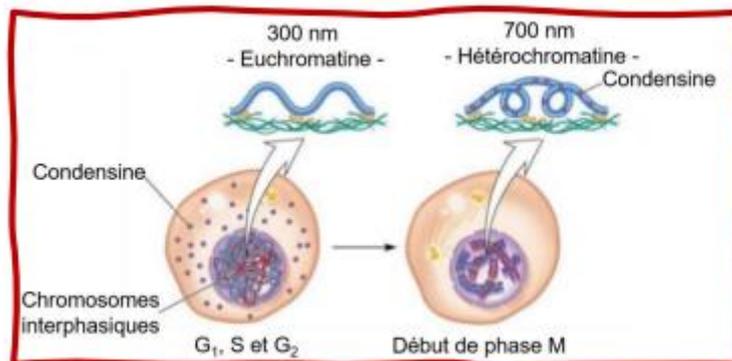


4) 4^{ème} niveau de compaction = hétérochromatine → chromatide = 700 nm

Le dernier niveau possible de compaction de l'ADN va former l'hétérochromatine dont sont formés les K. Cette compaction va dépendre d'une protéine : la **condensine**.

En début de mitose, cette condensine va venir s'associer aux domaines en boucle et induire une compaction supplémentaire de ces domaines.

Les chromosomes interphasiques sont situés dans le noyau sous la forme d'euchromatine dont le diamètre est de 300 nm et la condensine est quant à elle située dans le **cytosol**.



L'hétérochromatine de 700 nm est ce qui constitue le **chromatide** d'un chromosome. Lorsqu'un chromosome sera constitué de deux chromatides, son diamètre final sera de **1400 nm**.

→ Pour résumer, par l'intermédiaire de ces différents niveaux de compaction, on a pu passer de l'ADN nu dont le diamètre est de 2 nanomètres par différents stades, permettant d'arriver au niveau de compaction maximale de l'ADN qui est visible sous la forme de chromosomes.

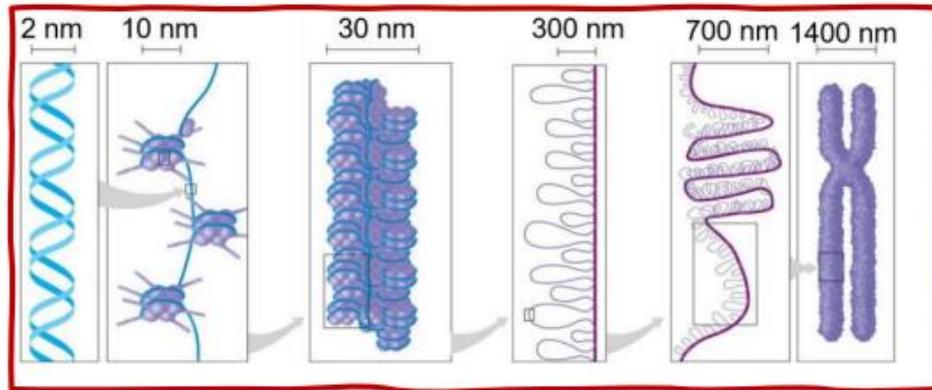
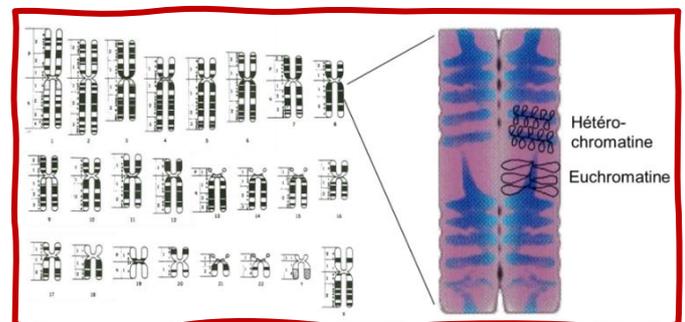


Schéma récap +++

Attention à bien lire les QCMs et à ne pas confondre chromatine et chromatide

- K=alternance de régions d'euchromatine et d'hétérochromatine :

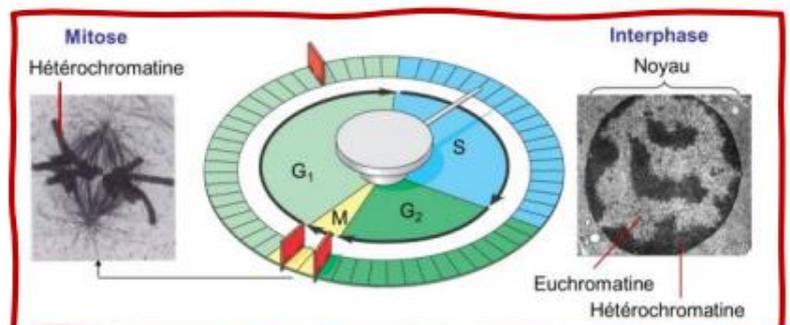
Cette alternance peut être directement mise en évidence sur le caryotype après coloration des chromosomes, faisant apparaître une alternance de **zones sombres** qui correspondent à de l'**hétérochromatine** et de zones plus **claires** qui correspondent à de l'**euchromatine**.



- Variation des niveaux de compaction en fonction du cycle cellulaire :

La compaction de l'ADN va également être variable au cours du cycle cellulaire. Durant l'**interphase** qui comprend les **phases G₁, S et G₂**, l'ADN va prédominer sous sa forme **peu compactée** = l'**euchromatine** ++ C'est sous cette forme peu compactée qu'il va être répliqué ou que les gènes vont pouvoir s'exprimer.

Dans le noyau interphasique, on pourra observer l'**euchromatine** préférentiellement au **centre** du noyau, alors que l'**hétérochromatine** sera localisée en **périphérie**. Par la suite, au cours de la **mitose** (= phase **M**), l'ADN va être totalement compacté sous forme d'**hétérochromatine**.



C'est à ce moment qu'il va former les chromosomes et qu'il ne sera plus accessible pour la réplication ou l'expression des gènes.

- Hétérochromatine facultative et constitutive :

Certaines régions de chromosomes vont en permanence rester sous cette forme compactée. Ces régions sont formées d'hétérochromatine qui est dite constitutive par opposition à l'hétérochromatine facultative des régions dont la compaction va pouvoir varier entre l'interphase et la mitose. La particularité de ces régions formées d'hétérochromatine constitutive est qu'elles sont constituées de **séquences d'ADN très répétées et qu'elles ne contiennent pas de gènes** ++. Ces régions d'hétérochromatine constitutive vont jouer un rôle structural, comme les **centromères** qui maintiennent la cohésion des chromatides ou encore les **télomères** qui vont protéger l'extrémité des chromosomes.

- Organisation spatiale du génome

L'organisation spatiale du génome n'est pas non plus aléatoire. Durant l'interphase, chaque chromosome va occuper un territoire défini dans le noyau. On peut d'ailleurs mettre en évidence le territoire occupé par chacun des chromosomes après avoir coloré ces derniers à l'aide de différents fluorochromes. Dans ce noyau, il va exister des zones où des boucles d'euchromatine de chromosomes différents sont décompactées et situées à proximité les unes des autres. Cette organisation spatiale va permettre de faciliter l'**expression coordonnée de gènes** qui sont impliqués dans une même fonction, mais situés sur les chromosomes différents.

Hop, Hop, Hop ! Pas si vite ! Il reste encore une partie. Prends-toi une petite pause ! La compaction c'est vraiment un gros bloc et la partie qui vient est vraiment très importante ! Ne t'inquiète pas ! Rien n'est insurmontable, tu vas y arriver ! Vraiment la biomol c'est que du love !

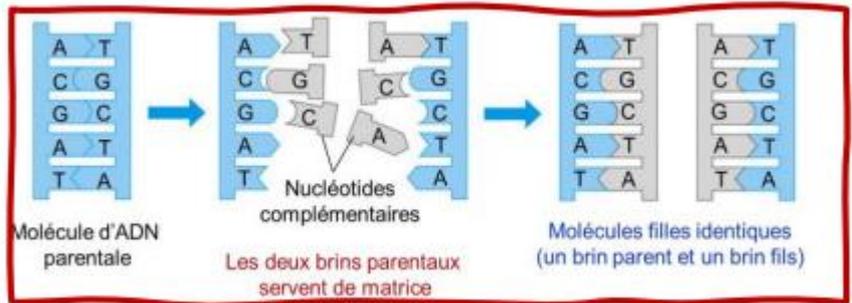
III. La réplication de l'ADN

La réplication de l'ADN est un processus qui va permettre la **transmission du génome aux générations suivantes**.

Comme nous l'avons noté, chez les virus, la réplication n'est pas autonome. Elle doit passer par l'utilisation des ressources de l'hôte infecté pour produire de nouvelles particules virales.

Chez les procaryotes et les eucaryotes, le principe général de la réplication est **similaire**. Elle va reposer sur le **principe de complémentarité des bases** et aboutir à deux nouvelles molécules qui vont être ensuite réparties entre deux cellules génétiquement identiques entre elles. Chez les eucaryotes, elle permet de passer **d'un K à 1 chromatide à 1 K à 2 chromatides**.

La réplication va être un processus **SEMI-conservatif +++**. En effet, chaque brin de l'ADN parental va servir de matrice pour synthétiser un brin fils et chaque nouvelle molécule qui va être synthétisée va comprendre à la fois un brin parental et un brin fils.



- Etapes de la réplication ++++ :

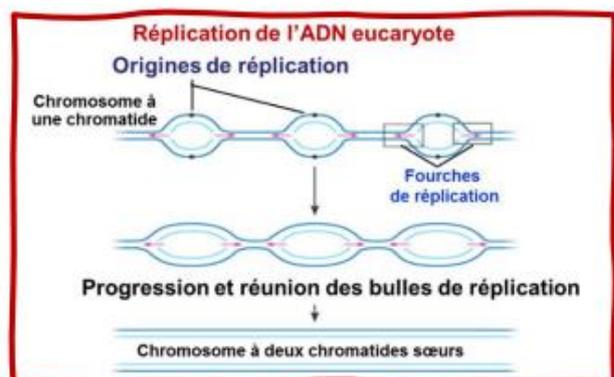
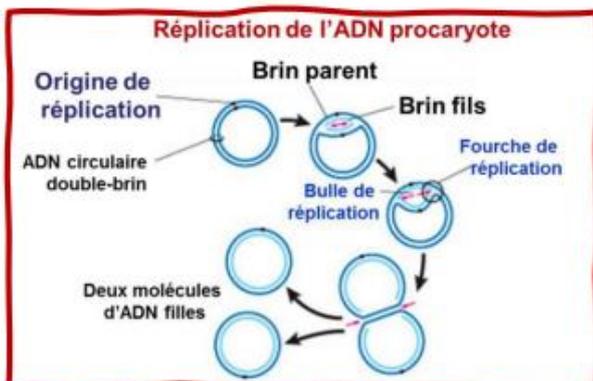
1) Initiation

Cette phase d'initiation va correspondre à **l'ouverture de la double hélice au niveau d'une ou plusieurs origines de réplication (plusieurs chez les eucaryotes)** par une enzyme : **l'hélicase**.

Au niveau de ces origines, donc, la double hélice va être ouverte et former ce qu'on appelle une **bulle de réplication**. Chacune de ces bulles de réplication va comprendre à ses deux extrémités une **fourche de réplication**.

1 origine de réplication = 1 bulle = 2 fourches

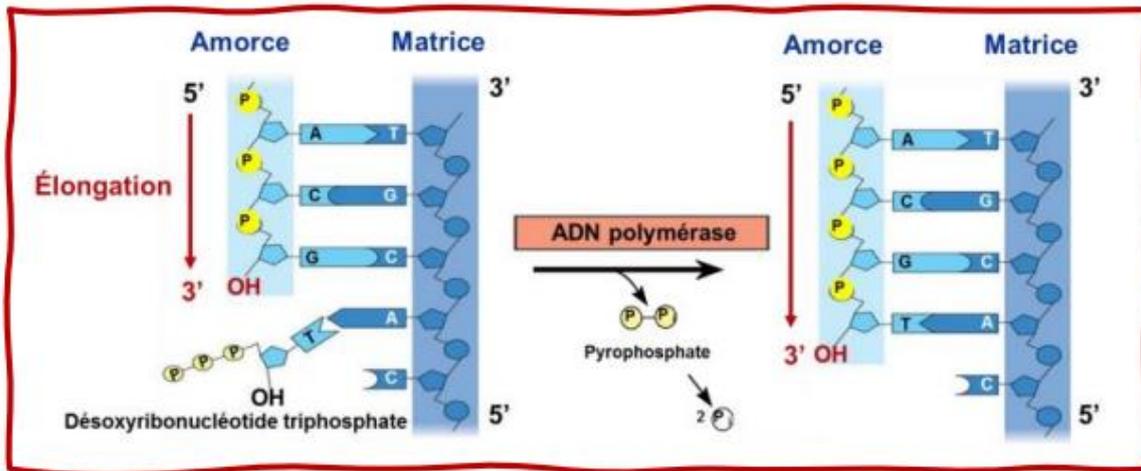
C'est à partir de ces fourches de réplication que la réplication va progresser de façon **bidirectionnelle**.



2) Elongation

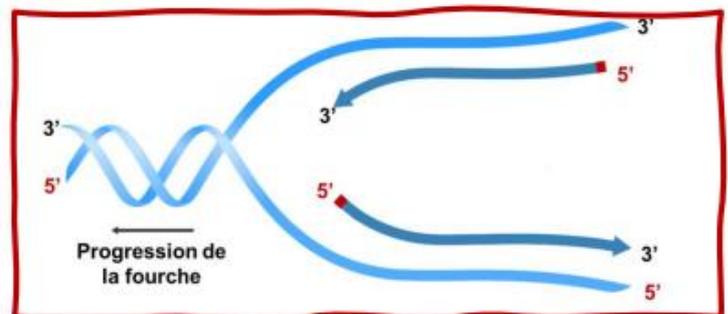
Cette phase d'élongation va correspondre au début de la **synthèse des brins fils**.

Ce processus va être assuré par une enzyme : **l'ADN polymérase**. Cette enzyme va utiliser des **désoxyribonucléotides triphosphate** qui seront **complémentaires** du brin parent (=brin matrice) pour synthétiser le nouveau brin fils en respectant la polarité de ce brin, c'est à dire dans le sens 5'-3'. La particularité de cette étape de synthèse est que l'enzyme va devoir nécessiter une amorce pour pouvoir débiter. Cette **amorce** va en effet fournir une **extrémité 3'-OH** à laquelle elle va ajouter un à un les différents nucléotides qui sont complémentaires du brin matrice. C'est une autre enzyme : la **primase**, qui va synthétiser cette courte amorce complémentaire du brin matrice sous la forme d'**ARN** (*attention piège*).



Intéressons-nous maintenant aux détails du processus de réplication au niveau des fourches. Ce processus va être rendu un peu plus complexe, car la réplication doit respecter 2 contraintes.

1. Les brins de l'hélice sont **antiparallèles**. Et ceci est aussi valable entre un brin parent et le brin fils dont il va permettre la synthèse.
2. L'élongation ne peut se faire que dans le sens 5'-3'. Chaque brin parent va donc être répliqué dans une direction opposée par rapport au sens de progression de la fourche.



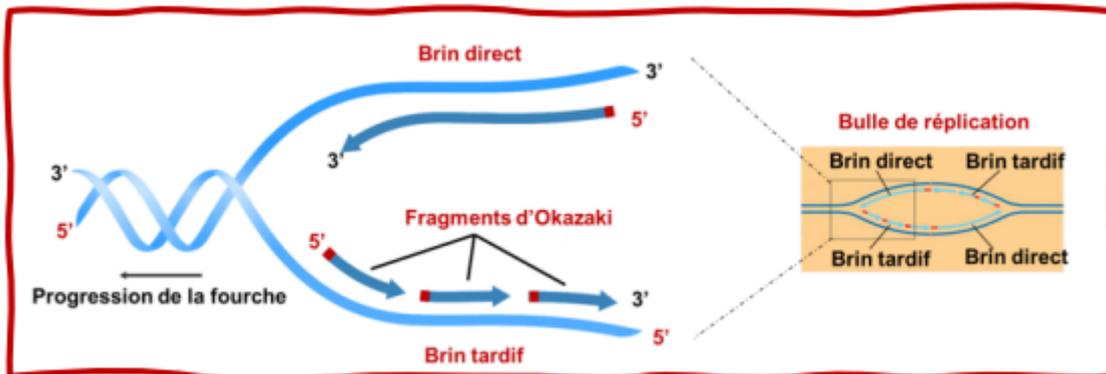
En pratique, du fait de ces contraintes, la réplication d'une fourche va être **asymétrique, SEMI-discontinue** et **rétrograde** +++.

En effet, il existe un brin qui va être synthétisé dans le sens de progression de la fourche = brin **direct**. Ce brin va pouvoir être synthétisé en **continu** à partir d'**une seule et unique amorce** qui aura été fabriquée par la primase au niveau de l'origine de réplication.

L'autre brin va être synthétisé dans le sens opposé à la progression de la fourche = brin **tardif**. Ce brin va devoir être synthétisé de façon **discontinue** et **rétrograde** en fragments qu'on appelle des **fragments d'Okazaki**, et ce, à partir de **multiples amorces**.

Ainsi, entre le brin direct et le brin tardif, la réplication va être **asymétrique**.

De plus, la situation va être inversée entre les deux fourches d'une bulle de réplication. Étant donné que ces fourches de réplication progressent dans deux directions opposées, **le brin direct d'une fourche va devenir le brin tardif de l'autre et inversement**.



3) Terminaison

Une fois que les différents fragments d'Okazaki vont être synthétisés, à leur jonction, une enzyme va venir dégrader les amorces qui sont constituées d'ARN. Celles-ci vont être ensuite remplacées par de l'ADN par une **ADN polymérase**. Et une fois que le brin tardif ne sera constitué que de fragments d'ADN, une **ligase** va venir les relier entre eux pour que le brin fils soit ininterrompu.

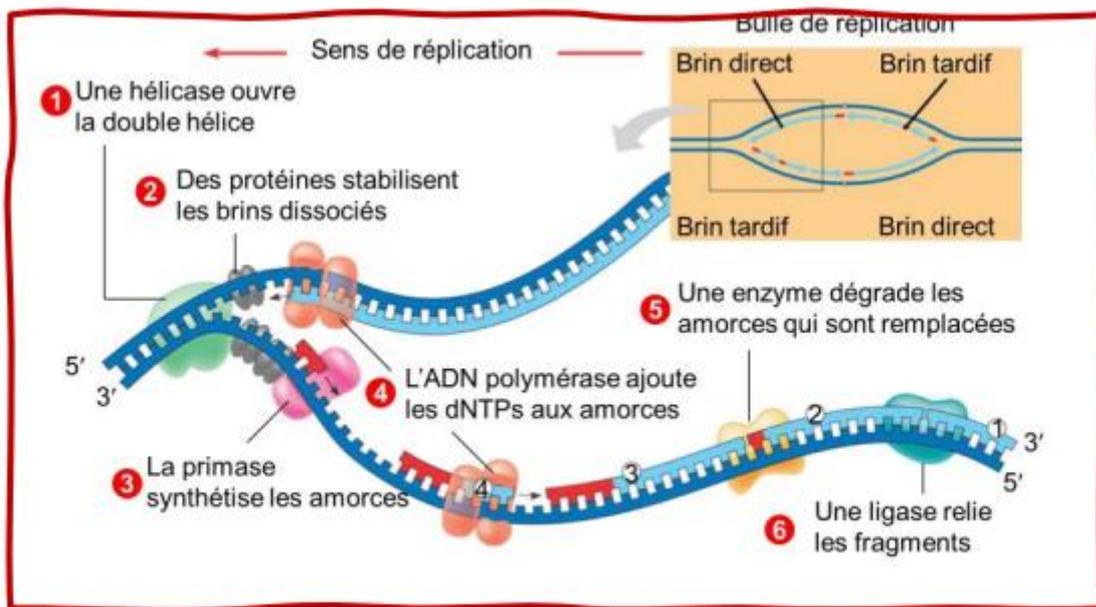
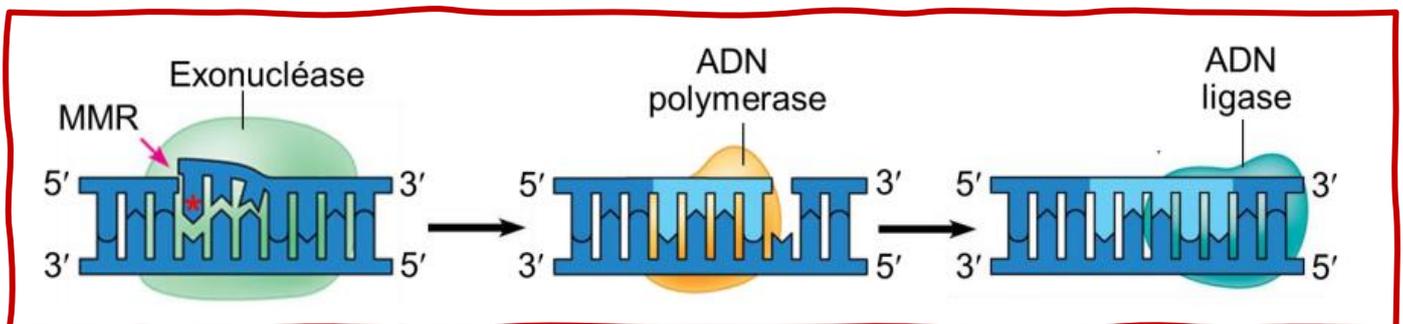


Schéma récap +++

- Mécanismes de réparation (revu dans le module 4 de biomol ++)

La réplication de l'ADN est un processus qui est censé permettre la transmission du génome. Ce processus doit donc être parfaitement fidèle. Et tout au long de la réplication des brins fils, trois mécanismes successifs vont permettre d'assurer cette fidélité :

- 1) Le premier mécanisme va être assuré par le site enzymatique de la **primase** et des **ADN polymérase** qui vont **sélectionner** de façon très stricte les bases qui sont complémentaires de la matrice.
- 2) Certaines polymérase vont également posséder une activité de correction d'épreuve qu'on appelle une activité de **proofreading**. Par exemple, les **ADN polymérase I, II et III**, qui sont des ADN polymérase **procaryotes**, et les **ADN polymérase delta et epsilon** des eucaryotes vont être capables de détecter et de réparer aussitôt les erreurs qu'elles font en excisant le nucléotide erroné dans le sens **3'-5'**. C'est ce qu'on appelle une **activité 3'-5' exonucléasique**. Au cours de cette activité de correction d'épreuve, dès lors qu'un mésappariement ou **mismatch** est détecté après l'incorporation d'un mauvais nucléotide, le brin en cours de synthèse va se déplacer du site enzymatique qui assure la synthèse vers un autre site qui possède une activité 3'-5' exonucléasique. Et c'est ce site exonucléasique qui va permettre l'excision de la base incorrecte, puis la reprise de la synthèse de l'ADN. Il faut noter ici que la primase qui assure la synthèse des amorces est dénuée de cette activité de correction d'épreuve et c'est la raison pour laquelle les amorces qu'elle a synthétisées pour favoriser le processus de réplication vont devoir être remplacées.
- 3) Il existe un troisième mécanisme qui va permettre d'assurer une fidélité optimale de la réplication. Ce mécanisme repose sur le système **MMR** pour Methylation-Directed Mismatch Repair. Ce système va être capable de détecter et de permettre la réparation des erreurs qui ont échappé aux deux processus précédents. Ces erreurs pouvant être ce qu'on appelle des **substitutions** ou des **dérappages réplcatifs** qui sont liés à l'existence tout au long du génome de **séquences répétées** telles que les **microsatellites**. Ce système a été initialement étudié chez la bactérie *Escherichia coli* où il est constitué de trois protéines MutS, MutL et MutH. Chez les eucaryotes, ce seront des protéines homologues qui vont constituer le système MMR. Tout d'abord, ce système va être capable de reconnaître le brin qui contient l'erreur et va le cliver grâce à une activité **endonucléase**. Une fois qu'une extrémité libre est fournie sur ce brin qui contient l'erreur, une exonucléase va être capable de dégrader l'ADN sur une certaine longueur et ensuite le fragment va être resynthétisé par l'ADN polymérase et il va être relié au reste du brin fils par une ADN ligase.



- Différences de réplication entre procaryotes et eucaryotes

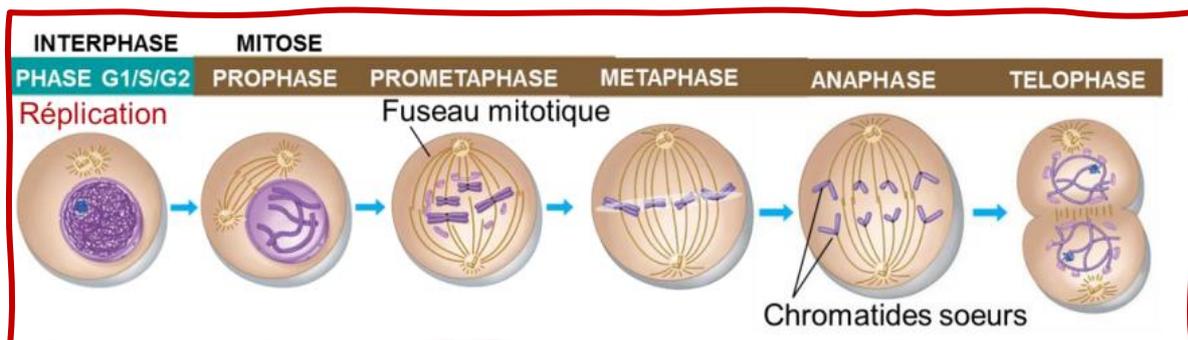
- Il existe certaines différences entre les noms et fonctions des enzymes procaryotes et eucaryotes

Fonction	Procaryotes	Eucaryotes
Synthèse des amorces	DnaG	ADN polymérase α
Elongation	ADN polymérase III	ADN polymérase δ et ϵ
Dégradation des amorces	ADN polymérase I	RNase H

- L'ADN **procaryote** est **circulaire** et sa réplication est un processus **continu**. Il a lieu en permanence dans le **cytosol**. Chez les **eucaryotes**, l'ADN est **linéaire** et ne va être répliqué que dans le **noyau** et au cours de la **phase S** du cycle cellulaire.

Chez les eucaryotes :

- L'ADN du génome eucaryote est sous forme linéaire et la réplication va survenir dans les cellules diploïdes pour permettre de dupliquer le génome avant la division cellulaire. Avant la réplication, la cellule diploïde possède **2n chromosomes à une chromatide**. Chaque chromatide est constituée d'une molécule d'ADN. Lorsque cette molécule d'ADN va être dupliquée, la cellule diploïde va posséder **2n chromosomes à deux chromatides sœurs absolument identiques**. Ensuite, au cours de la **mitose**, les chromatides des chromosomes vont être réparties entre les cellules filles qui posséderont à nouveau 2n chromosomes à une chromatide. Après la mitose, chaque cellule fille aura hérité d'une copie du génome de la cellule mère.
- Une autre particularité de la réplication, chez les eucaryotes et qu'elle va survenir uniquement en **phase S** du cycle cellulaire. Comme nous l'avons déjà vu durant l'interphase, l'ADN est sous forme d'euchromatine et accessible. Et la réplication va avoir lieu en phase S pour permettre de passer de 2n chromosomes à une chromatide à 2n chromosomes formés de deux chromatides sœurs identiques. Puis va survenir la mitose avec ses différentes sous-phases et le noyau va disparaître et l'ADN se condenser en hétérochromatine. En métaphase, la compaction des chromosomes va être maximale et ces derniers vont s'aligner à l'équateur de la cellule. Grâce à cet alignement, chacune des chromatides va être orientée vers un pôle opposé de la cellule. Ces chromatides vont ensuite se dissocier et être réparties entre les cellules filles qui sont génétiquement identiques. *Tout cela est revu largement dans le module 3 et en BDR ++*



- Linéarité des K -> Fragilité de l'ADN (uniquement chez les eucaryotes)

Les extrémités peuvent être interprétées par les systèmes de surveillance de la cellule comme des cassures de l'ADN. Ce type d'anomalie peut entraîner des **fusions** de chromosomes et la **mort cellulaire**.

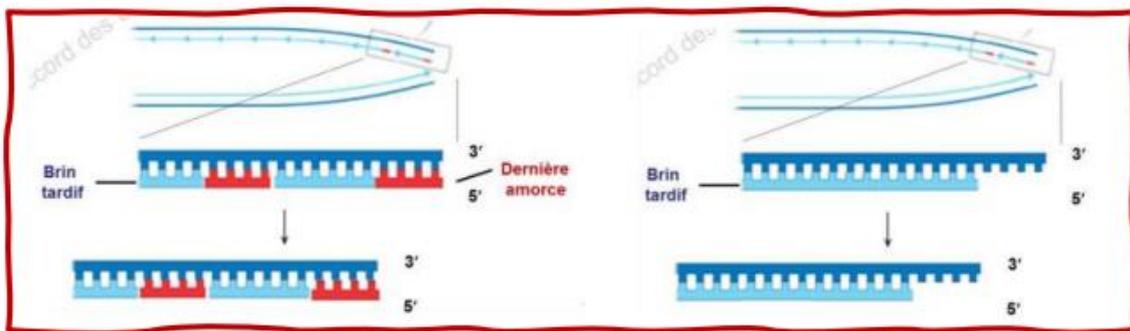
- Les **télomères** vont jouer un rôle protecteur des K. Ce sont des régions qui sont constituées de **séquences répétées**, par exemple TTAGGG, sans rôle fonctionnel.

L'extrémité 3' de la chromatide à ce niveau est plus longue que son extrémité 5' et est appelée **extrémité 3' sortante**. Cette extrémité va envahir la double hélice, le télomère formant alors une structure en boucle qu'on appelle la **T-Loop**. Cette boucle va protéger l'extrémité du chromosome des phénomènes de fusion.

- La linéarité des chromosomes eucaryotes va poser un autre problème. En effet, la réplication va être incomplète dans la plupart des cellules eucaryotes.

Pour achever la réplication, des amorces qui servent à l'initier doivent être dégradées. Et l'ADN polymérase utilise alors une extrémité 3'-OH pour synthétiser de l'ADN et combler la brèche. **A l'extrémité du bras tardif, une fois la dernière amorce dégradée, il apparaît une brèche qui ne peut plus être comblée, faute d'extrémité 3'-OH.**

Et à chaque division, l'extrémité des chromosomes va se raccourcir de plus en plus. Au-delà d'un seuil critique qu'on appelle la **limite de Hayflick** (*revue en biocell*), la cellule qui est devenue sénescence va arrêter de se diviser et mourir.



Ce problème de raccourcissement progressif des télomères ne va pas se poser à toutes les cellules de l'organisme. Certaines d'entre elles, comme les **cellules souches** ou les **cellules germinales**, possèdent un potentiel réplcatif quasi-illimité, car elles expriment une enzyme qu'on appelle la **télomérase**.

Cette enzyme a la particularité d'être capable **de synthétiser de l'ADN à partir d'ARN**. On parle d'activité **réverse transcriptase**.

La **télomérase** est en effet dotée d'un ARN matrice qui est complémentaire des répétitions télomériques. Elle peut ainsi s'apparier au brin parent et synthétiser de l'ADN pour allonger dans le sens 5'-3'.

Ainsi, **l'ADN polymérase alpha (=primase)** va pouvoir synthétiser une amorce sur ce brin qui a été allongé. Cette amorce va ensuite fournir l'extrémité 3'-OH pour combler la brèche du brin fils tardif.

Et une fois cette amorce dégradée, la réplication des télomères sera complète dans ces cellules qui expriment la télomérase.

