

# REPLICATION ET REPARATION DE L'ADN

**Service de Biochimie et Biologie moléculaire**

*Dr Arame Ndiaye*

# OBJECTIFS

- 1- Définir la réplication de l'ADN
- 2- Citer les éléments nécessaires à la réplication et préciser leurs rôles
- 3- Décrire les différentes étapes de la réplication
- 4- Définir les types de mutations
- 5- Décrire les systèmes de réparation de la réplication

# PLAN

I- GENERALITES

II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

III- REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

IV- REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

V- LES MUTATIONS

VI- REPARATION DE L'ADN

# I-GENERALITES

□ Processus de copie des séquences d'ADN et de correction

□ Tout être vivant possède la capacité de :

✓ **se multiplier**

✓ **répliquer son matériel génétique.**

transmis aux cellules filles lors de la division cellulaire

□ Réplication = ***duplication***

✓ transmission de l'information génétique

✓ multiplication cellulaire

# I-GENERALITES

□ agents chimiques ou physiques (*mutagènes*)

→ **mutations** ( réparées par des systèmes cellulaires)

certaines mutations peuvent :

- être létales
- conférer un **avantage sélectif** à l'origine de l'évolution des espèces

# I-GENERALITES

□ Réplication :

✓ brins existants = *brins parentaux* = *brins matrices*

✓ brins synthétisés = *brins fils*

✓ complémentarité entre les 2 brins

✓ appariement comme démontré par Watson et Crick

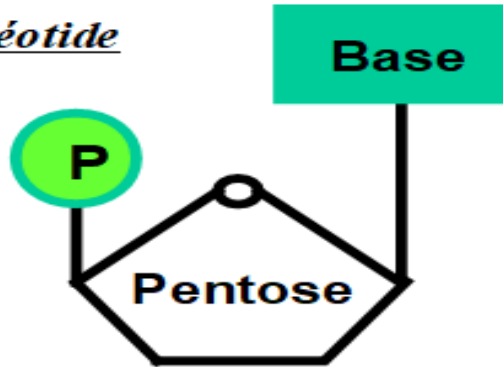
C-G (3 liaisons hydrogènes)

T-A (2 liaisons hydrogènes)

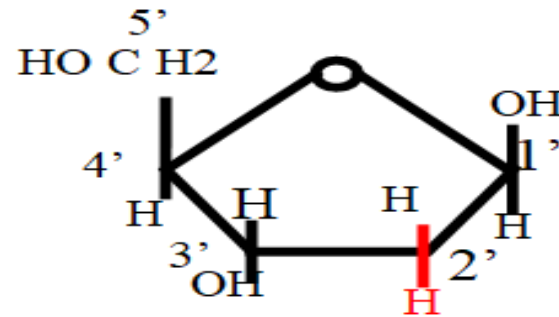
# I-GENERALITES

## Rappels sur la structure de l'ADN

Nucléotide



Sucre = Désoxyribose



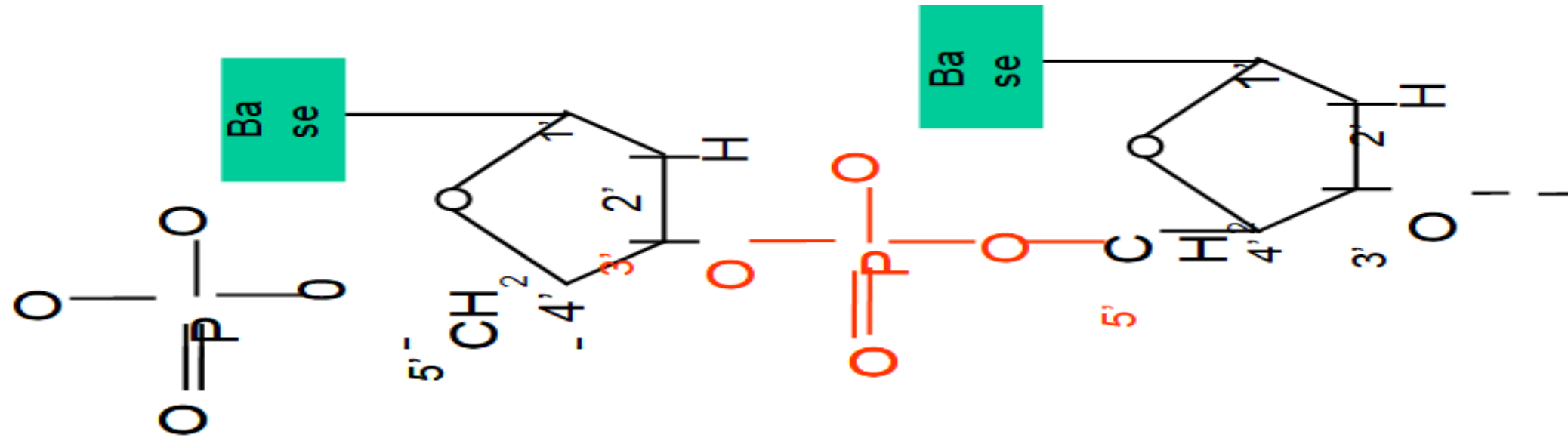
ADN : macromolécule, polymère de **désoxyribonucléotides** , monomères = **nucléotides**  
nucléotide :

- base **purique** (Adénine (A) , Guanine (G)) ou **pyrimidique** (Thymine (T),Cytosine (C),
- pentose** (désoxyribose)
- estérifié par un **phosphate**

**bases puriques et pyrimidiques** recèlent l'information génétique  
**sucre et phosphate** jouent un rôle structural. -

# I-GENERALITES

## *Rappels sur la structure de l'ADN*



**Squelette ADN, désoxyriboses unis par des ponts phosphodiesters :**

OH en 3' de la partie osidique d'un désoxyribonucléotide lié par une **liaison phosphodiester** à OH en 5' de l'ose adjacent

# II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

❖ sens 5' => 3'

❖ complémentaire : A-T / G-C

❖ antiparallèle

❖ enzyme : *ADN polymérase ou polymérase d'ADN* :

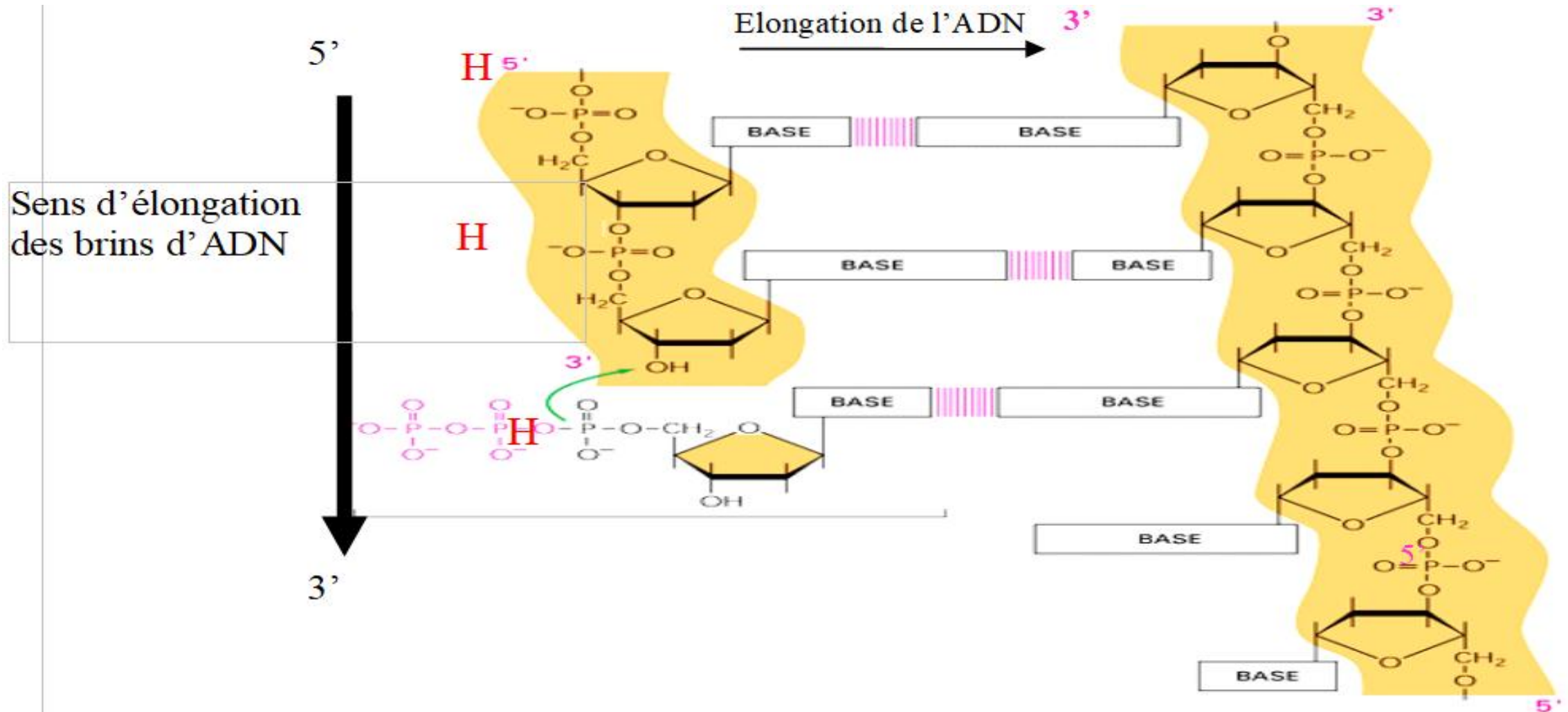
✓ enzyme de polymérisation nucléotidique dont le fonctionnement nécessite :

✓ 4 désoxyribonucléosides 5' triphosphate (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) = substrats de cette enzyme, ajoutés au niveau 3'OH d'une amorce

✓ Mg<sup>2+</sup>

✓ matrice d'ADN

# II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

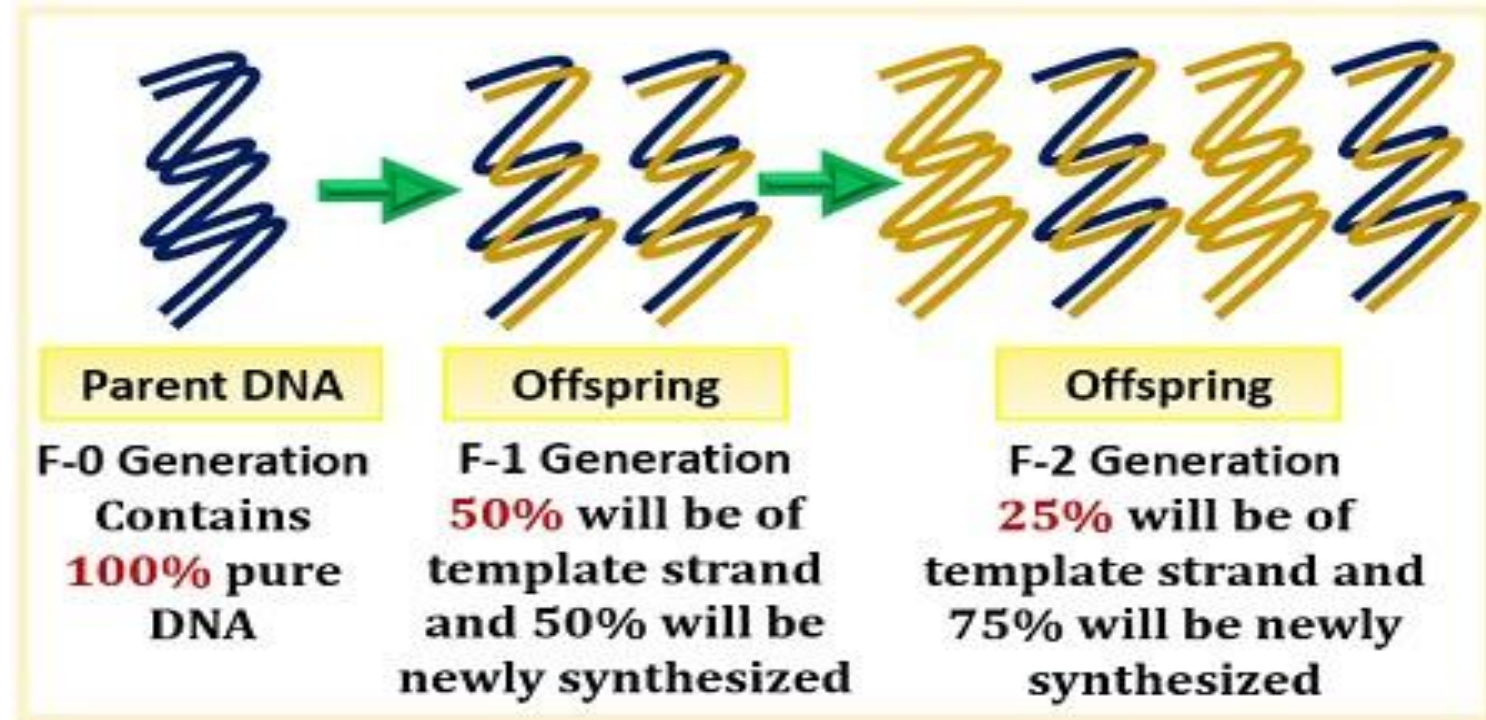


# II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

❖ *Réplication est semi-conservative:* (pour procaryotes et eucaryotes)

✓ brin d'ADN parental (brin ancien)

✓ brin d'ADN fils (brin nouvellement formé)



Caractère semi- conservative  
de la réplication

# II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

## ❖ *Réplication est bidirectionnelle*

- début à l'intérieur de la molécule (**Origine de réplication**)
- se poursuit dans les 2 directions .
- chaque origine avec 2 fourches

## ✓ **Bactéries** et certains virus (chromosomes circulaires)

1 seule origine, souvent suffisante

les 2 fourches se confondent du côté opposé du cercle pour finir la réplication

## ✓ **Eucaryotes** (chromosomes longs)

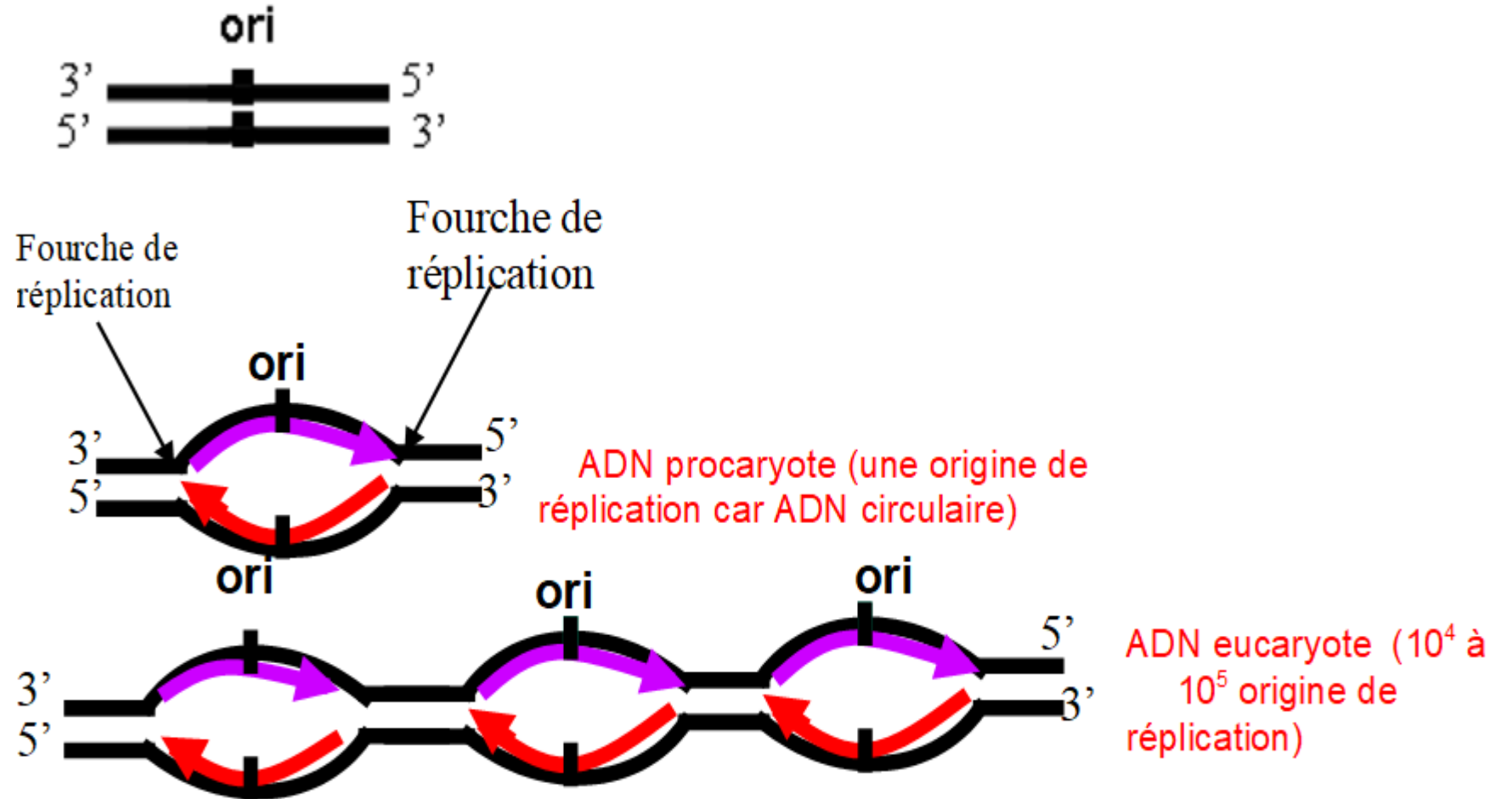
plusieurs origines

les 2 fourches progressent jusqu'à rencontrer les fourches d'origine voisines

→ *duplication de l'ADN eucaryote plus rapide que celle de l'ADN procaryote*

# II- CARACTERISTIQUES DE LA REPLICATION

Fourches de réplication  
Procaryote et eucaryote



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

- nécessite plusieurs enzymes :
  - ✓ Pour permettre aux 2 brins de s'écarter
  - ✓ Pour accrocher les nucléotides les uns aux autres
  
- **Pol III** : principale enzyme de la réplication
  - polymérisation par addition de nucléotides au niveau 3'OH
  - exonucléase 3' => 5'
  
- **Pol. I, II IV** : vérification, réparation des erreurs et terminaison de la réplication

# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

- ❑ réplicon = partie ADN où se produit la réplication (origine où est initiée la réplication et une terminaison où est arrêtée la réplication)
- ❑ matrice d'ADN = brin parental (template)
- ❑ nucléotides (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)
- ❑ cations bivalents:  $Mg^{2+}$ , indispensable à la synthèse d'ADN (catalyseur)

# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

✓ Se déroule en 3 étapes :

## ***Initiation***

- ✓ reconnaissance de l'origine de réplication
- ✓ ouverture de la chaîne par des hélicases
- ✓ synthèse de l'amorce par une primase

## ***Elongation***

synthèse d'ADN dans le sens 5'- 3'

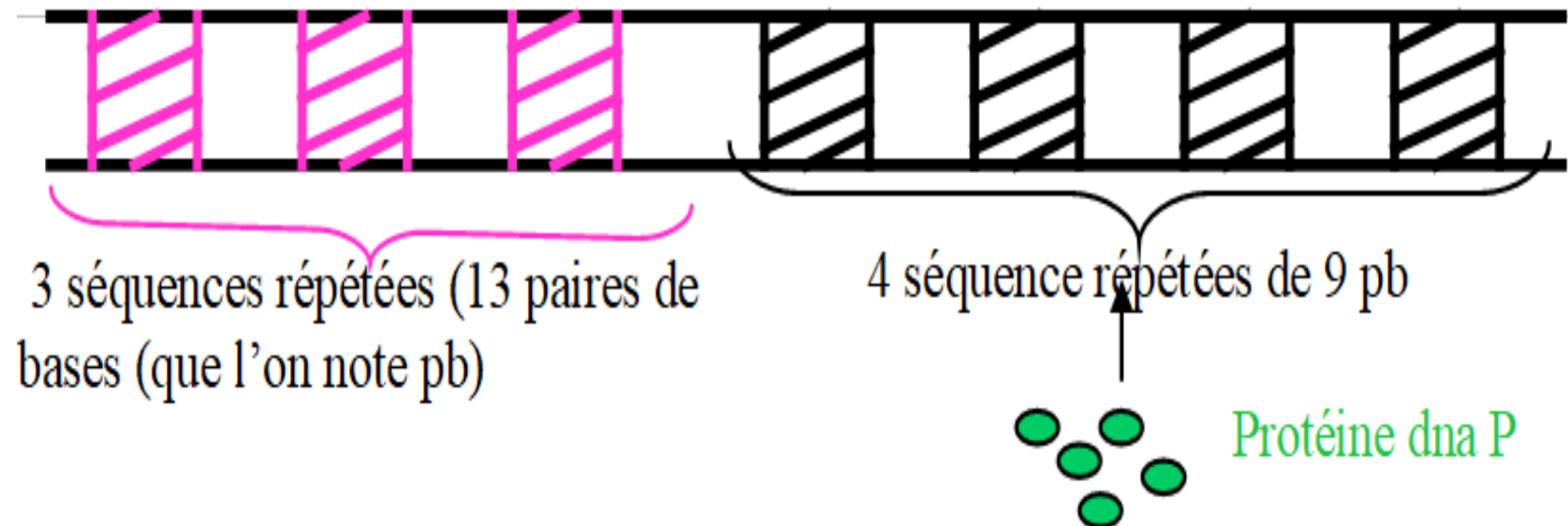
## ***Terminaison***

# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Initiation*

origine de réplication contient :

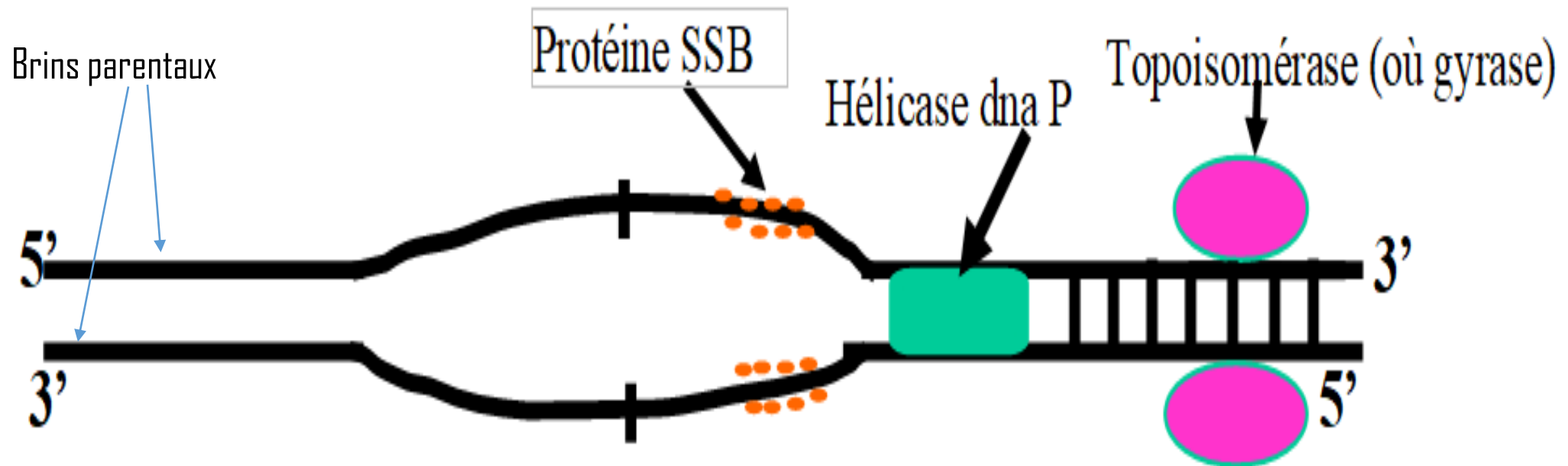
- ✓ **3 séquences nucléotidiques** (13 nucléotidiques chacune)
- ✓ **4 séquences répétées** de 9 pb liées à une protéine appelée dnaP



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Initiation*

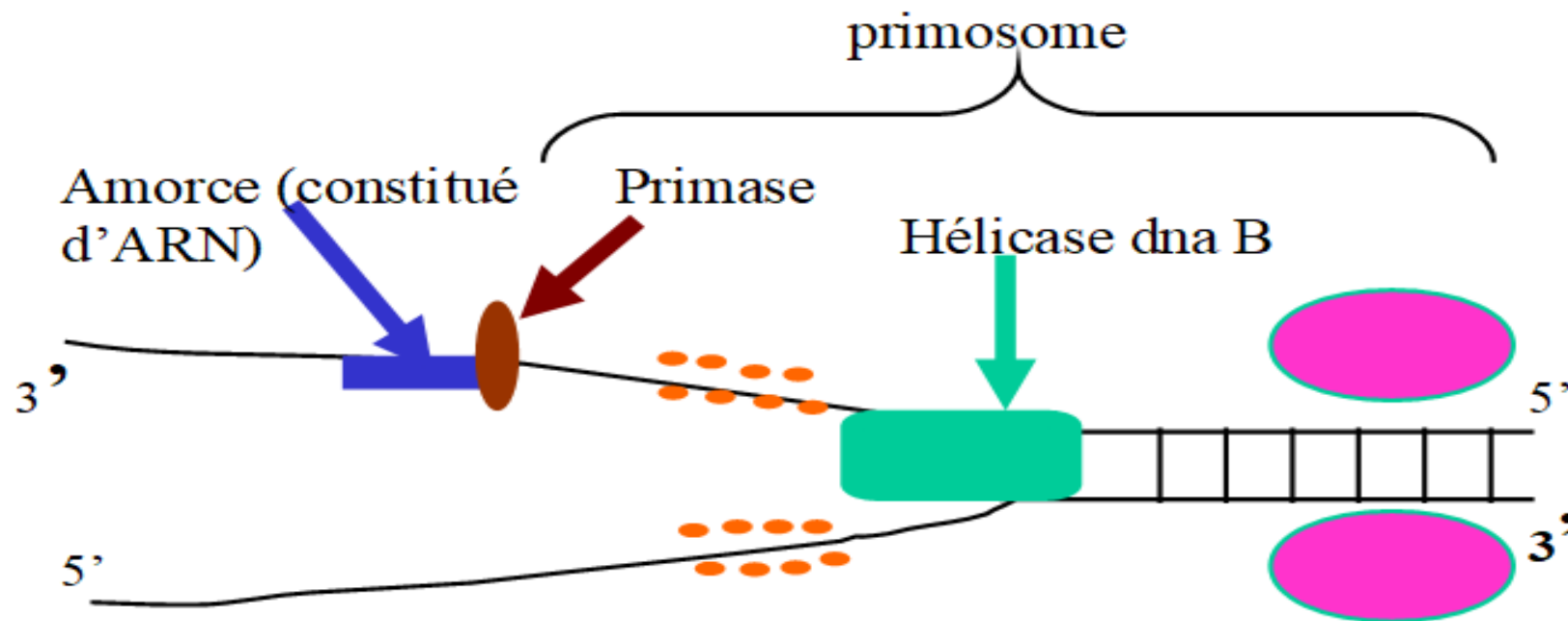
- ✓ déroulement ADN /*topoisomérase* en présence d'ATP
- ✓ fixation protéines *dnaB* (hélicase)
- ✓ Fixation protéine **SSB** (Single-Strand-binding protein)



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Initiation*

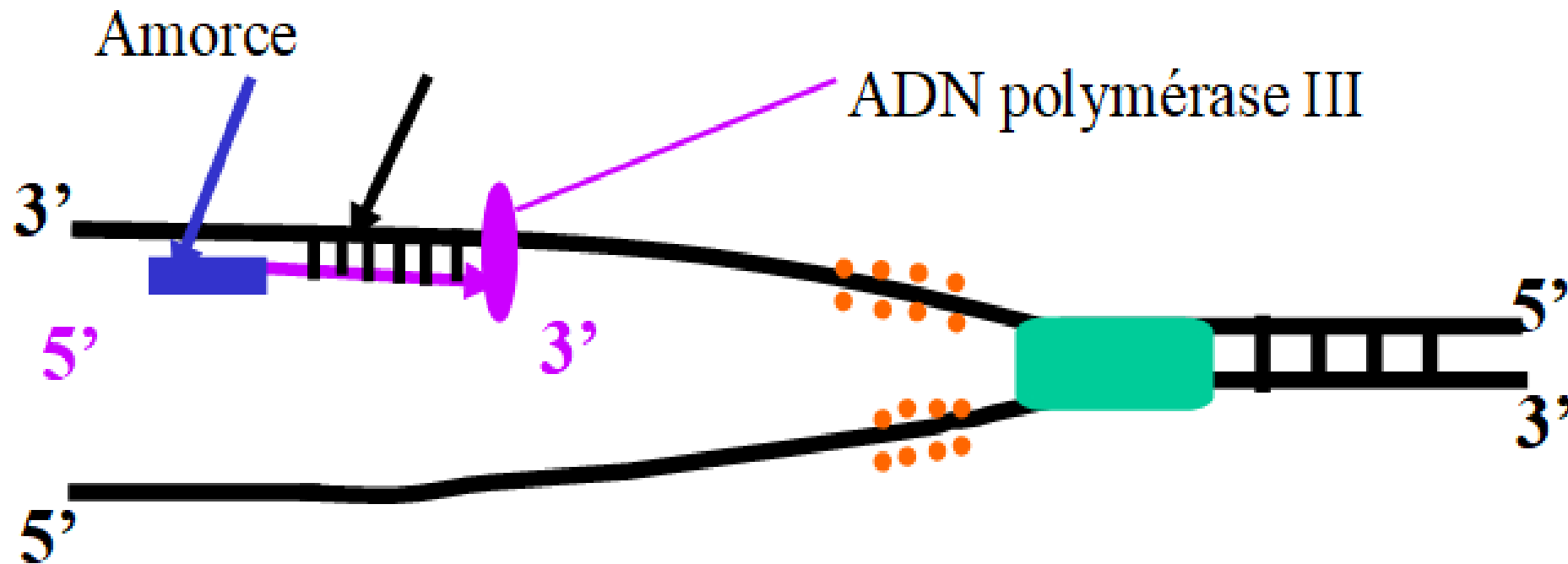
- ✓ formation complexe = **primosome**
- ✓ rôle primase = synthétise amorce ARN.



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Elongation*

- ✓ insertion pol III au niveau de la fourche de réplication
- ✓ synthèse du brin complémentaire à partir de l'amorce dans le sens 5' → 3'



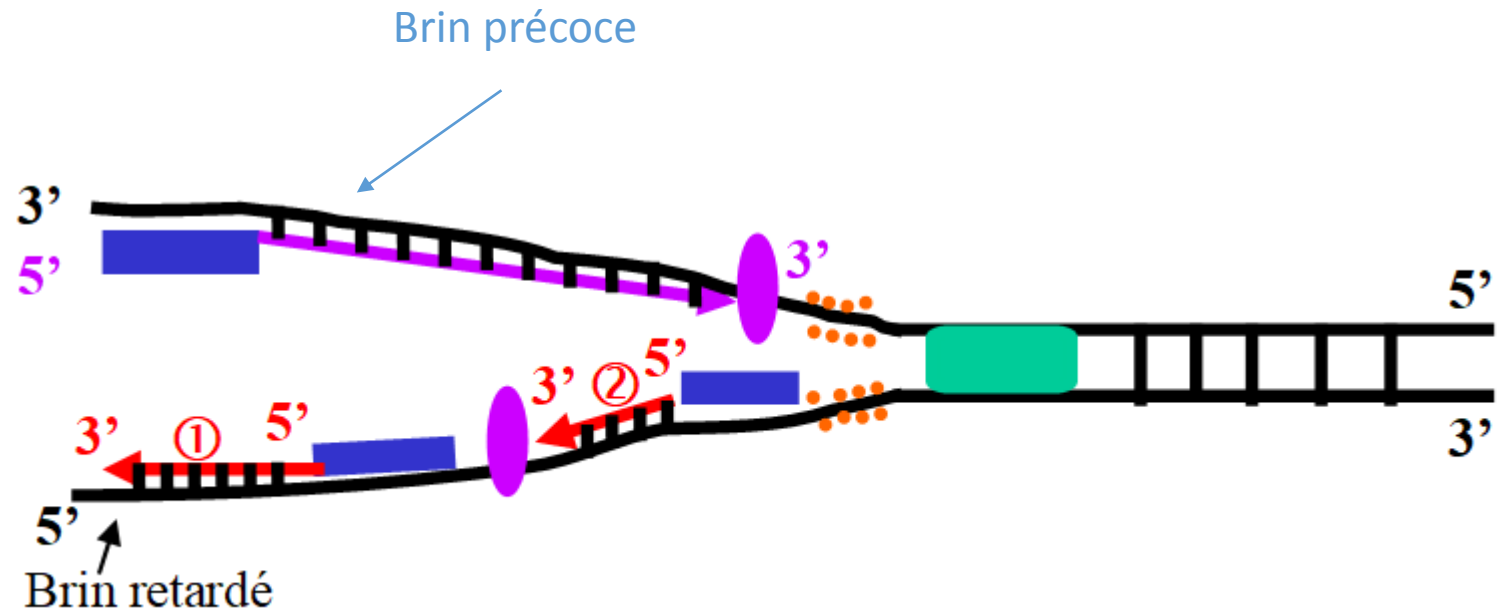
# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Elongation*

✓ 2 types de brin :

- *brin avancé ou précoce :*

s'allonge à partir d'une amorce  
(sens 5' → 3')



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Elongation*

- brin retardé

synthèse plus complexe

croissance dans le sens de déplacement de la fourche ( $3' \rightarrow 5'$ )

**(polymérase attache les désoxyribonucléotides que dans le sens  $5' \rightarrow 3'$ )**



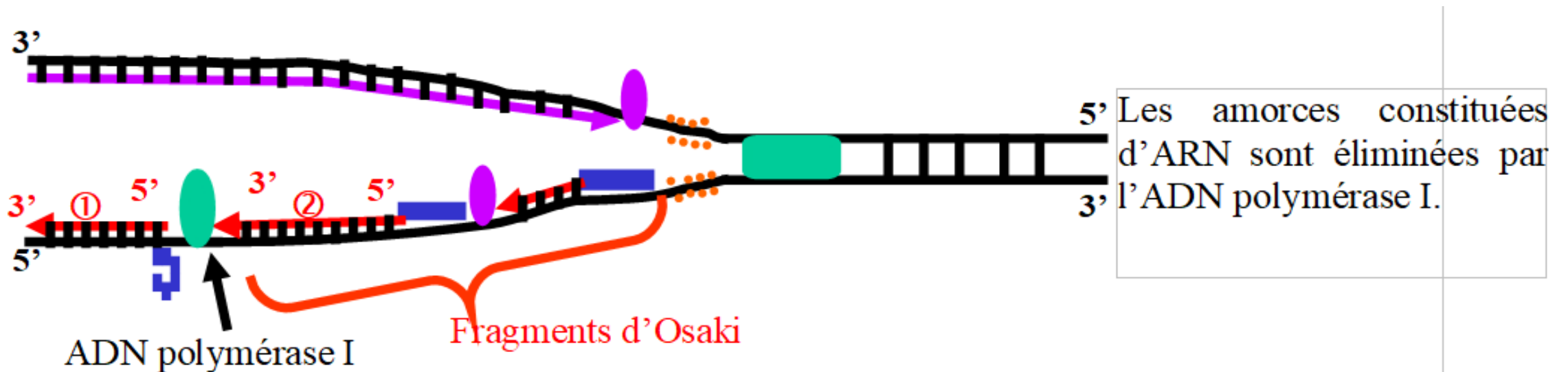
synthèse par *fragments greffés* sur autant d'amorces

fragments ARN-ADN / *fragments d'Okasaki*

# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Elongation*

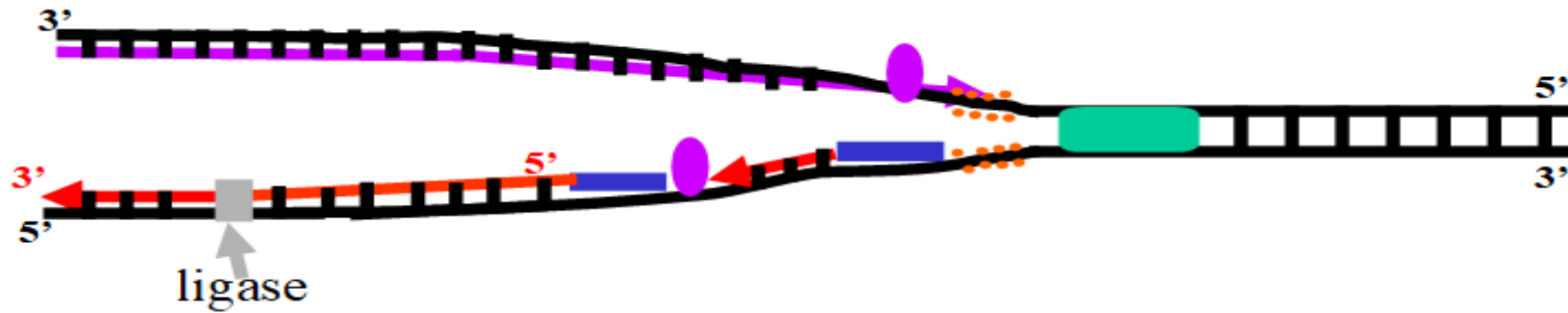
- Hydrolyse, remplacements des amorces ARN/ADN
- ✓ **Pol I** (activité exonucléase 5') : élimine ARN, résynthétise ADN (remplaçant l'ARN)



# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## *Elongation*

*Ligase* pour lier les fragments d'Okazaki

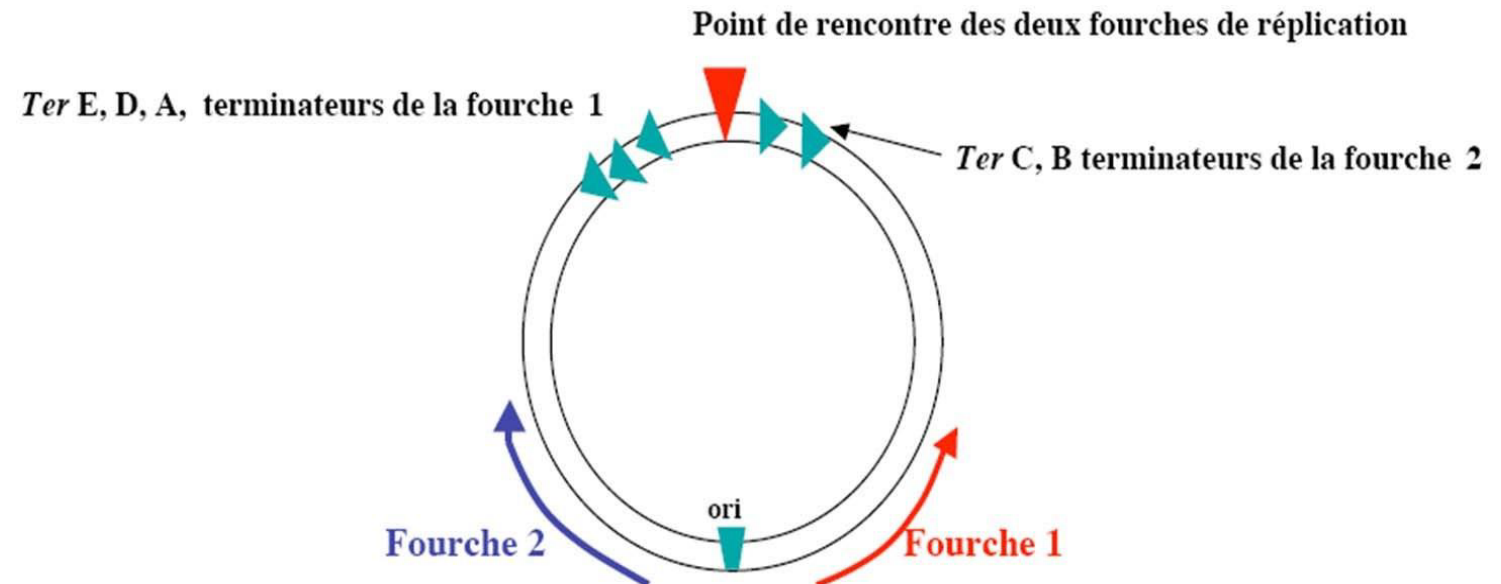


**NB** : synthèse concertée des 2 brins

# III-REPLICATION CHEZ LES PROCARYOTES

## **Terminaison**

- ✓ rencontre de 2 fourches
- ✓ présence de séquences « terminator » pour chacune des 2 fourches
- ✓ protéine Tus (terminator utilisation substance) reconnaît les séquences d'arrêt de réplication et bloque dnaB



# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

- comparable à celui procaryotes (semi conservative, bidirectionnelle, complémentaire, anti parallèle....)
- grande quantité d'ADN  $\longrightarrow$  avec plusieurs points d'initiation (réplicon)
- présence chromatine (ADN et histones)  $\longrightarrow$  réplication eucaryotes +++ complexe

5 ADN polymérase intervienne : nommées  $\alpha$  ,  $\beta$  ,  $\gamma$  ,  $\delta$  et  $\epsilon$

présentent une activité de polymérisation  $5' \Rightarrow 3'$

# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

- $\alpha$  : associée à la primase, intervient uniquement sur le brin retardé pour initier la réplication
- $\beta$  : intervient exclusivement dans la réparation de l'ADN (excision de bases)
- $\gamma$  : responsable de la réplication de l'ADN mitochondriale
- $\delta$  : ADN polymérase ADN-dépendante, activité DNA pol et exonucléase 3'-5'
- $\varepsilon$  : activité exonucléase (réparation ADN)

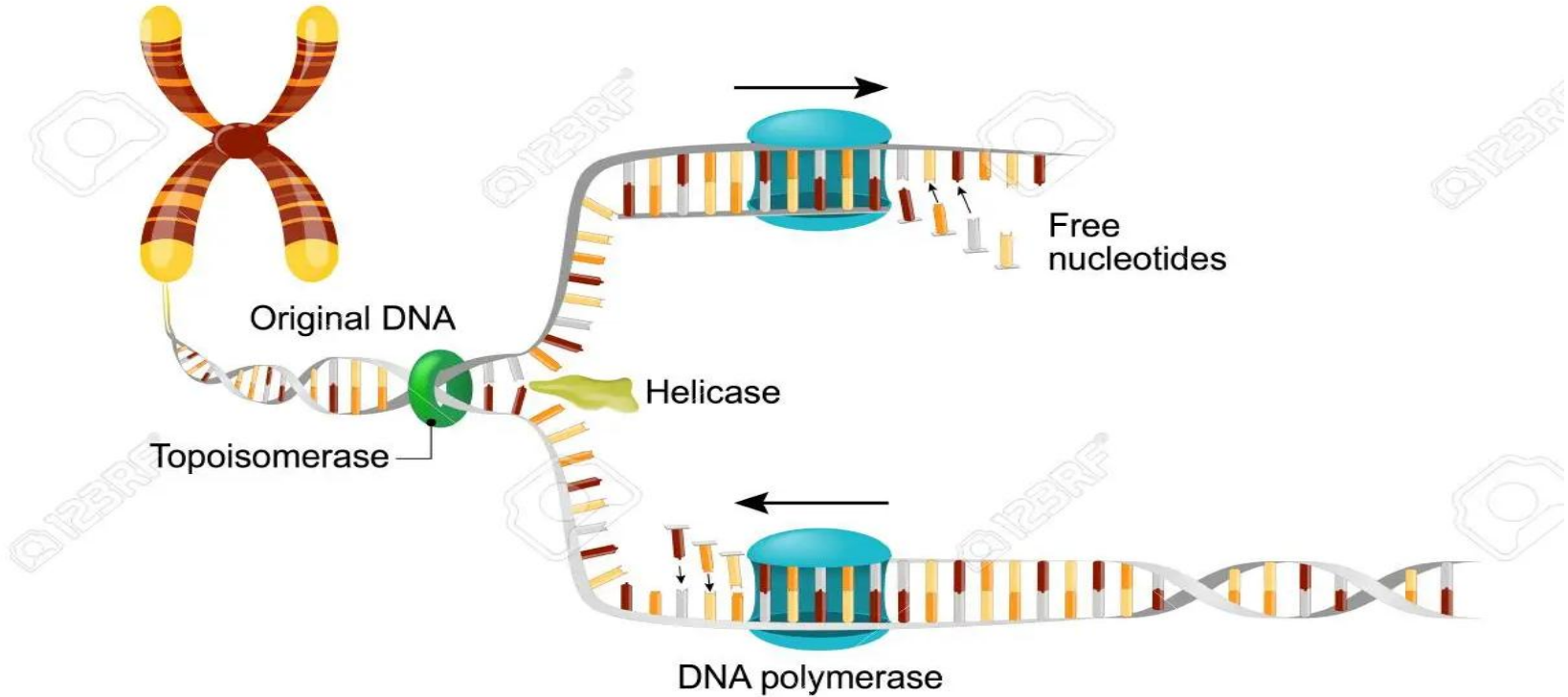
NB :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\varepsilon$  et  $\delta$  sont nucléaires  
 $\gamma$  mitochondriale

# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

## *Les étapes*

- activité hélicase ( ouverture de la double hélice et production de matrices simples brins)
- fixation de protéines RPA (protéines SSB chez la bactéries) : maintenir les 2 brins séparés
- complexe primase-pol  $\alpha$  synthétise les amorces
- complexe PCNA (Proliferating Cellular Nuclear Antigen)-Rfc-pol  $\delta$ ,  $\epsilon$  allonge les brins précoces
- complexe primase-pol  $\alpha$  synthétise les brins retardés /allonge fragments d'okazaki
- ligature en 5' des brins précoces

# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES



Réplication DNA

Adenine	Thymine	Cytosine	Guanine
---------	---------	----------	---------

# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

NB : Particularité des eucaryotes

1- présence de nucléosomes : unité de bases d'organisation de la chromatine (ADN lié à des protéines)

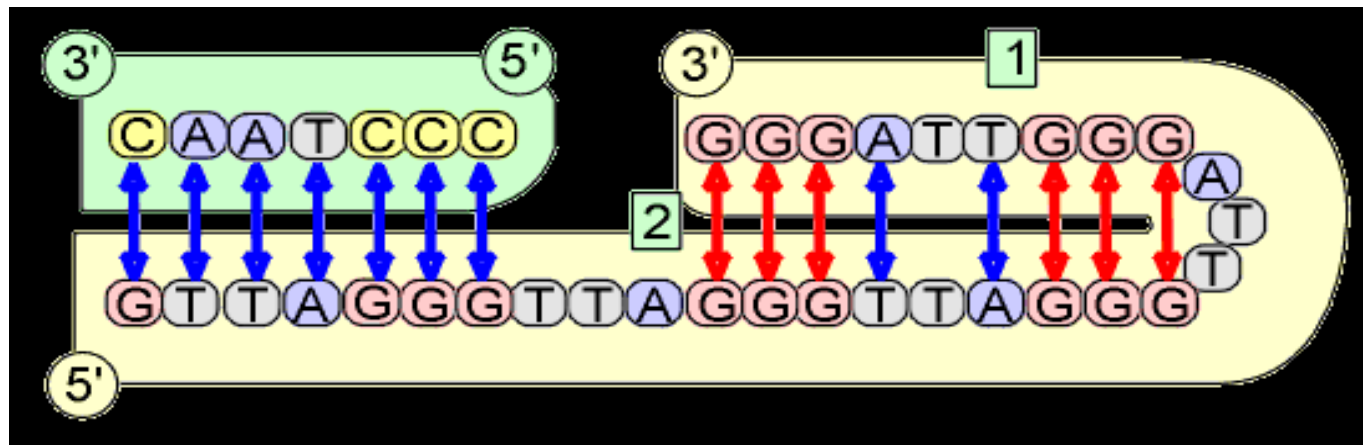
2- présence de télomères au niveau extrémités des chromosomes

□ télomères = répétitions des centaines de nucléotides, très régulières, en tandem, motifs 5 à 8 paires de bases riches en **G**  
sous forme de boucles, de tiges ,très stables

# IV-REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES

□ ajout des télomères/téломérases

□ perte télomères ou absence de réparation  instabilité chromosomique



# V-LES MUTATIONS

□réplication ADN semble être ordonnée mais en présente des erreurs

✓ une erreur tous les 10000 à 100000 nucléotides

✓ altérations de l'ADN peuvent se produire :

▪ transitoires (la plus part), éliminées/système de réparation de l'ADN

▪ stables (exceptionnellement) = mutations qui sont rares, héréditaires, dues :

*erreurs accidentelles, non réparées*

*modifications de l'information génétique /agents mutagènes*

*mécanismes de transposition*

# V- LES MUTATIONS

- Mutations chromosomiques détectables/microscopie optique (affectent soit la structure ou le nombre des chromosomes)
- Mutations ponctuelles (alléliques) : changement d'1 seule paire de bases dans ADN
- ✓ Mutations sans changement du cadre de lecture (substitution de base)
- ✓ Mutations avec changement du cadre de lecture (insertion ou délétion de bases)

# V- LES MUTATIONS

CAC TGG AAT TTG ADN brin transcrit  
 GUG ACC UUA AAC ARNm  
 Val — Thr — Leu — Asn protéine

## Addition

CAC TGG AAT TTG ADN avant  
 CAC TGG **TAA** TTT ADN après  
 GUG ACC **AUU** AAA ARNm  
 Val — Thr — **Ile** — **Lys** protéine

## Délétion

CAC TGG AAT TTG ADN avant  
 CAC TGG ATT TG ADN après  
 GUG ACC UAA AC ARNm  
 Val — Thr ... protéine

Substitution

## Mutation silencieuse

CAC TGG AAT TTG ADN avant  
 CAC TG**T** AAT TTG ADN après  
 GUG AC**A** UUA AAC ARNm  
 Val — Thr — Leu — Asn protéine

## Mutation faux-sens

CAC TGG AAT TTG ADN avant  
 CAC T**C**G AAT TTG ADN après  
 GUG A**G**C UUA AAC ARNm  
 Val — **Ser** — Leu — Asn protéine

## Mutation non-sens

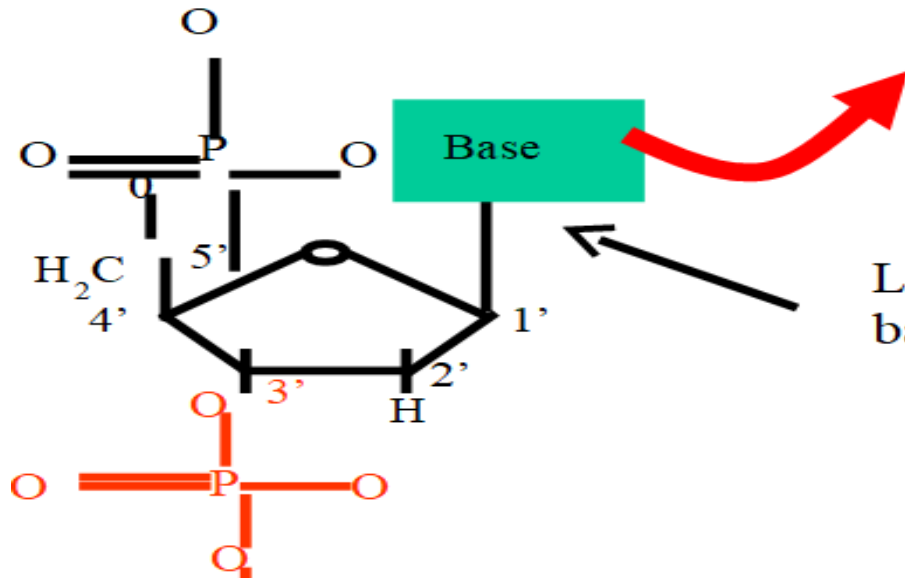
CAC TGG AAT TTG ADN avant  
 CAC TGG A**C**T TTG ADN après  
 GUG ACC **UGA** AAC ARNm  
 Val — Thr ... protéine

Les différents types de mutations

# V- LES MUTATIONS

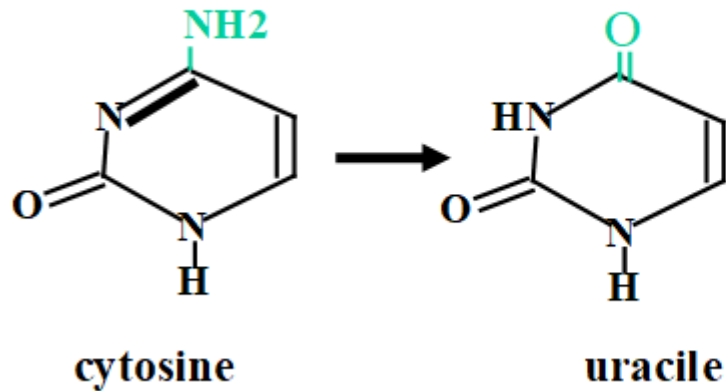
- ✓ Mutation par modifications chimiques des bases nucléiques
  - modifications spontanées des bases due instabilité chimique de la liaison N-glycosidique
  - tautomérisation, désamination, alkylation

# V- LES MUTATIONS



Liaison glycosidique est labile → perte d'une base crée un site basique

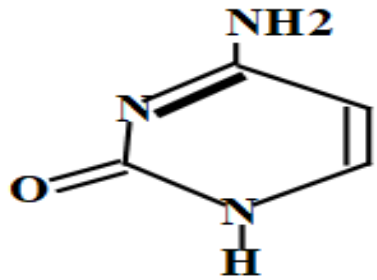
Action d'agents chimiques : modification d'une base



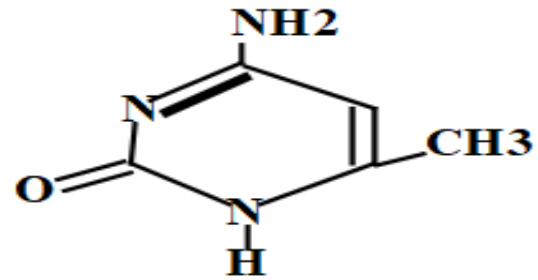
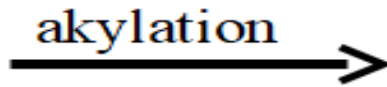
Le groupe NH<sub>2</sub> est instable, la désamination transforme la base.

# V-LES MUTATIONS

## ➤ Action d'agents chimiques : Alkylation



cytosine



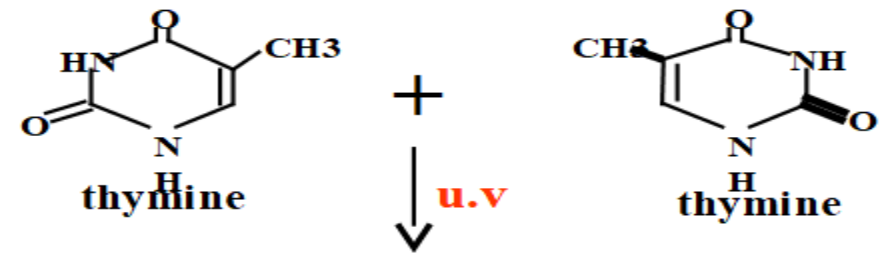
5-méthyl-cytosine

## ➤ Action des agents physiques (U.V) :

Les bases absorbent dans UV

→ modifications chimiques

possibilité de correction durant la réplication  
parfois persistance des mutations



thymine – thymine  
stables

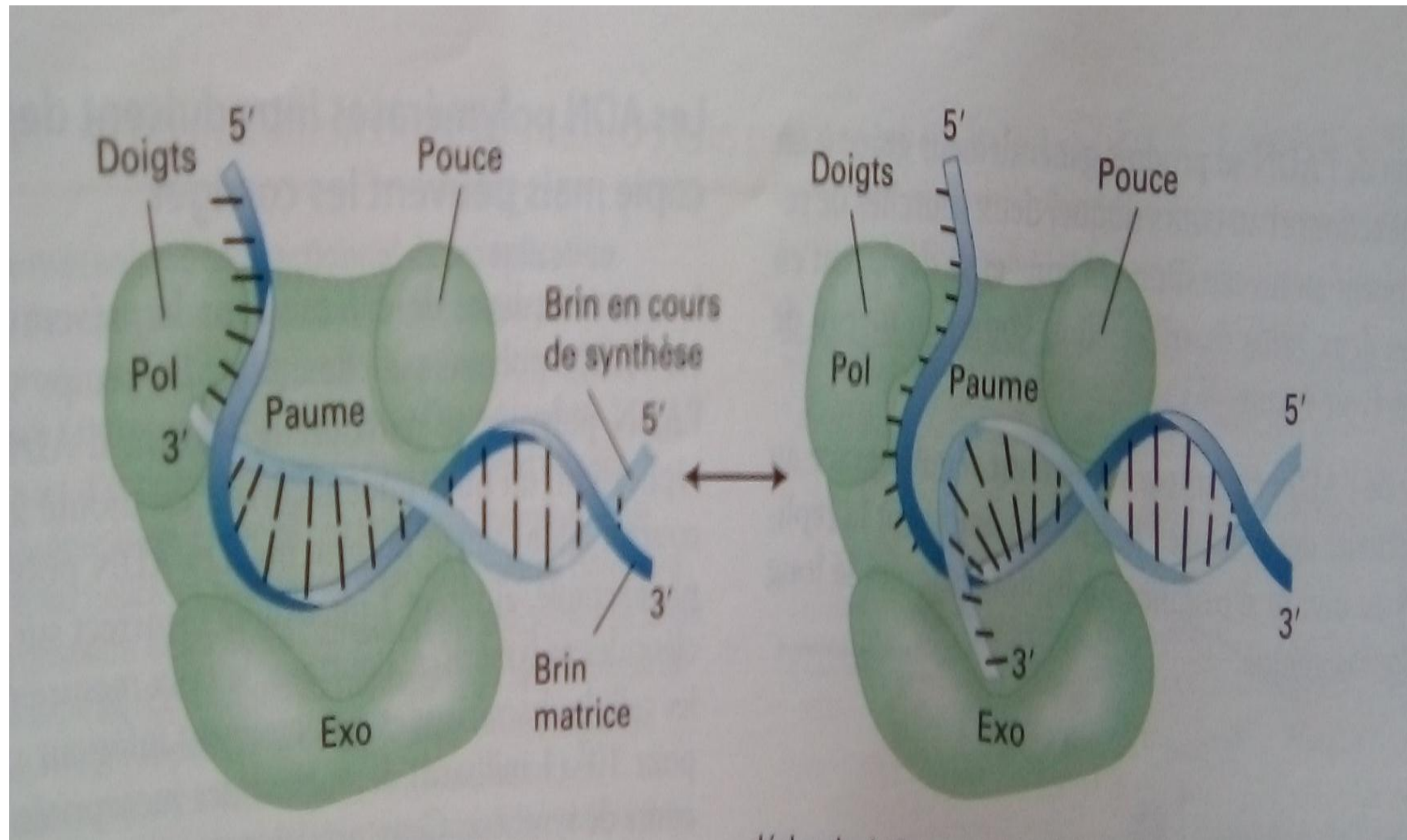
# V-LES MUTATIONS

- ✓ Mutations au niveau de cellules somatiques ou germinales
    - Au niveau cellule somatique, peuvent entrainer le développement d'une tumeur
    - Au niveau cellule germinale, l'individu lui-même non affecté, maladie retrouvée chez les descendants
- maladies génétiques, héréditaires (copie défectueuse du gène étant transmise de génération en génération)

# VI-REPARATION

- ❑ *ADN polymérase, grâce à l'activité exonucléase 3'-5'*
- ✓ première ligne de défense dans la prévention des mutations
- ✓ incorporation base incorrecte
- ✓ arrêt ADN polymérase
- ✓ transfert extrémité 3' du brin fils au site exonucléasique, base incorrecte retirée
- ✓ transfert extrémité 3' vers le site polymérasique
- ✓ reprise de la copie



# VI-REPARATION



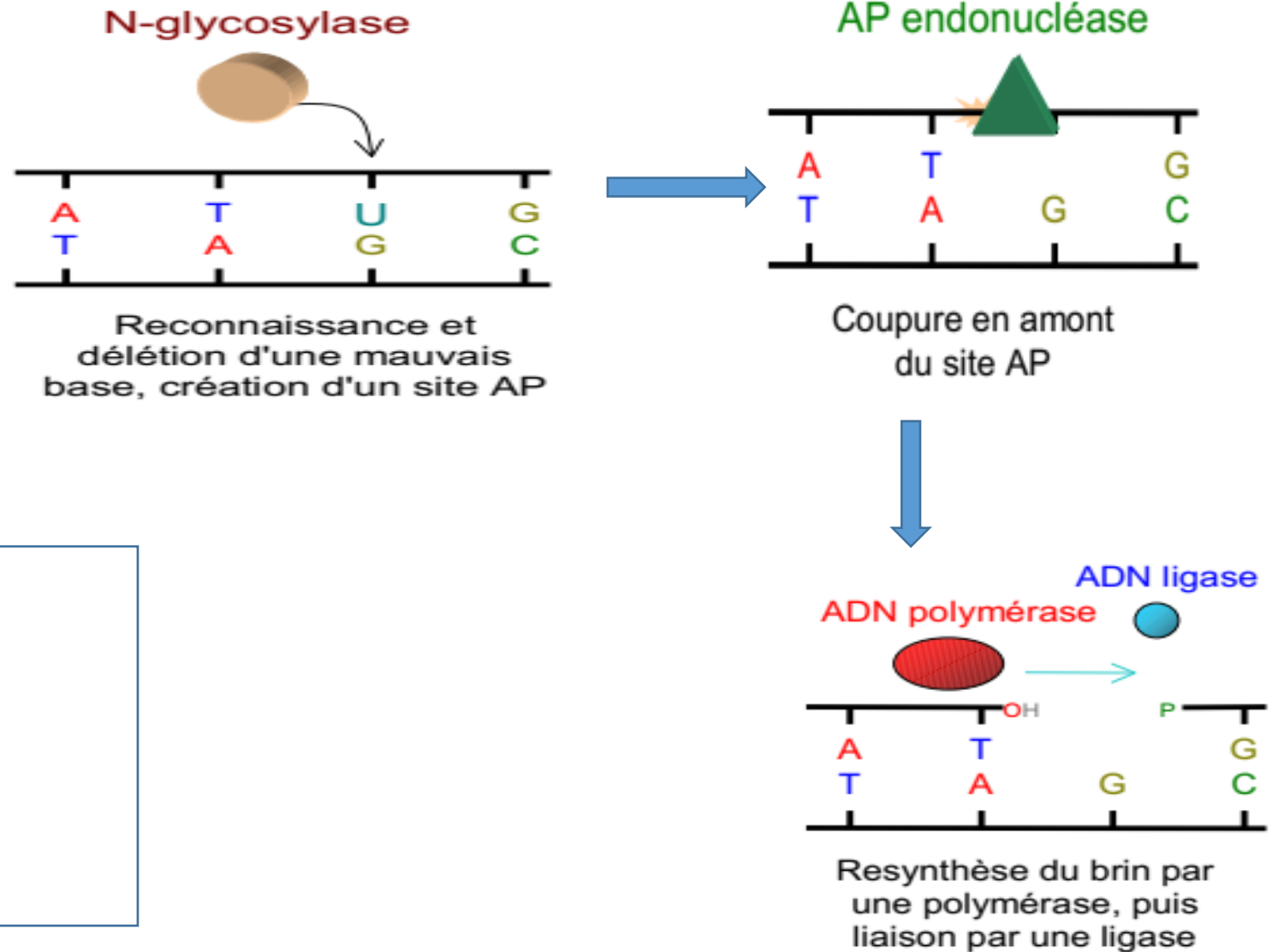
Correction par ADN  
polymérase

# VI-REPARATION

## □ *Réparation par excision- réparation de base* (système BER)

- existe chez procaryotes et eucaryotes
- impliquée dans les réparations de mutations endogènes (jusqu'à 4 nucléotides)
- utilisée pour éliminer les bases incorrectes (uracile, les bases alkylées, désamination cytosine  uracile)
- fréquence de ces types de mutations  *points chauds de mutations* (*fréquence liaisons U-G*)
- reconnues et supprimées / **ADN glycosylase** (coupe la liaison N-glycosidique avec formation d'un site **AP**)

# VI-REPARATION



- ✓ *endonucléase 3'-5'*
- ✓ *ADN-polymérase*
- ✓ *ADN-ligase*

# VI-REPARATION

## □ *Réparation par excision de nucléotides (système NER)*

✓ existe aussi bien chez procaryotes et eucaryotes

✓ permet la réparation de plusieurs nucléotides

fait intervenir :

***Endonucléase 3'-5'***

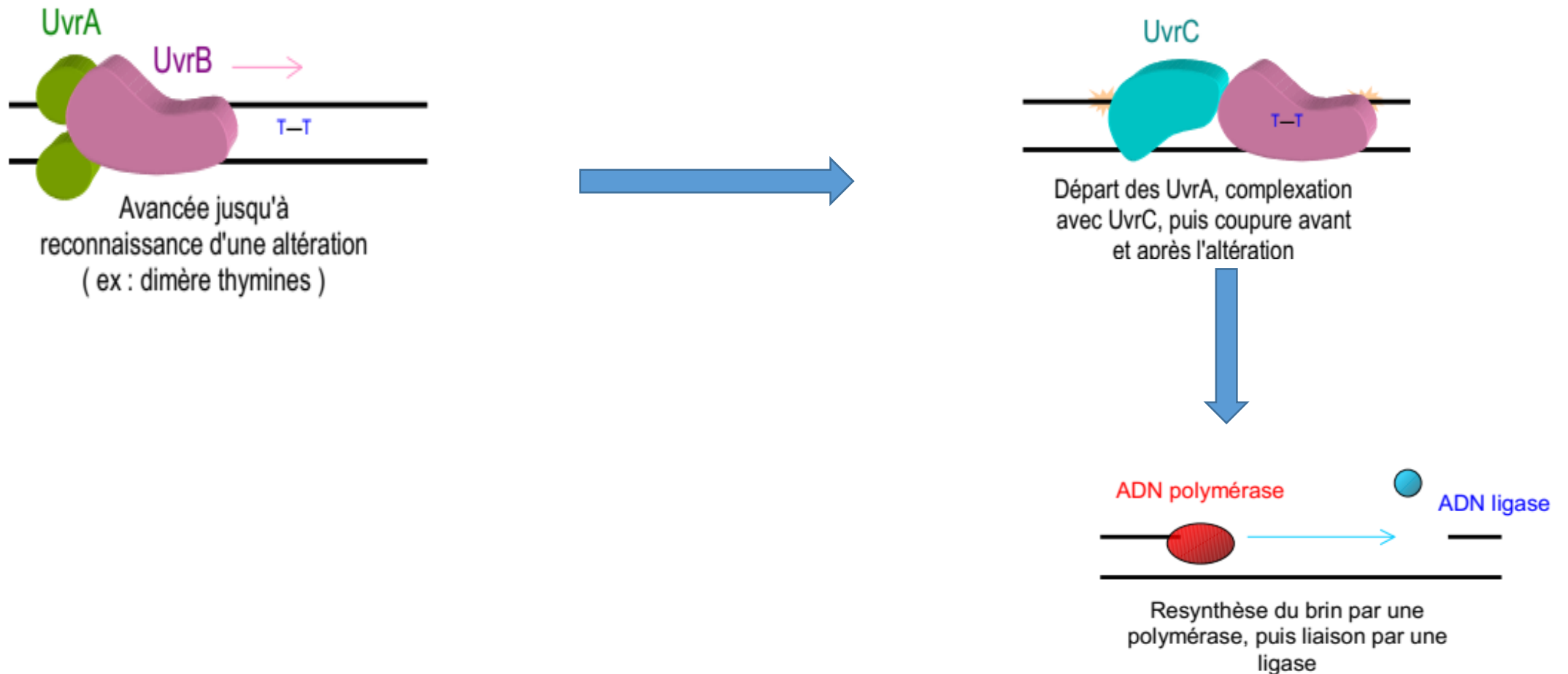
***ADN-polymérase***

***ADN-ligase***

# VI-REPARATION

## □ Réparation par excision de nucléotides (système NER)


exemple : gènes E. coli (Uvr avec différentes formes)



# VI-REPARATION

## ❑ Réparation des erreurs d'appariement (mésappariements)

✓ système de réparation des erreurs = mismatch repair (MMR)

mauvaise fonctionnement du système  instabilité génome avec apparition de certaines mutations (cancer)

✓ surviennent après la réplication ou après une désamination d'une cytosine méthylée

✓ Avec les protéines :

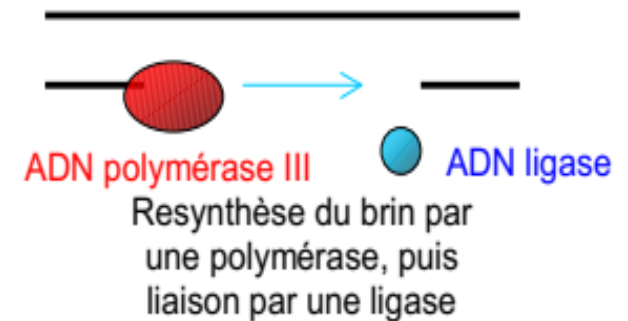
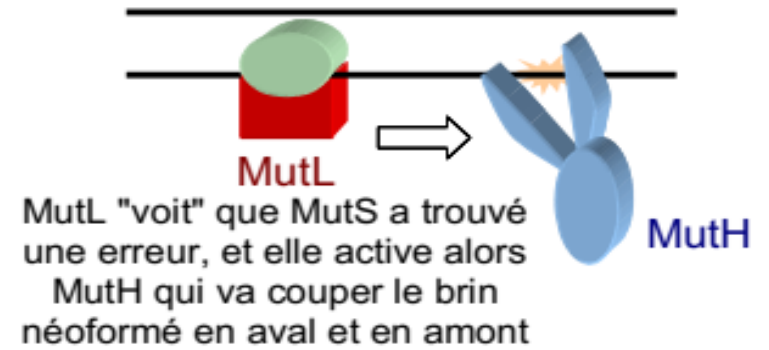
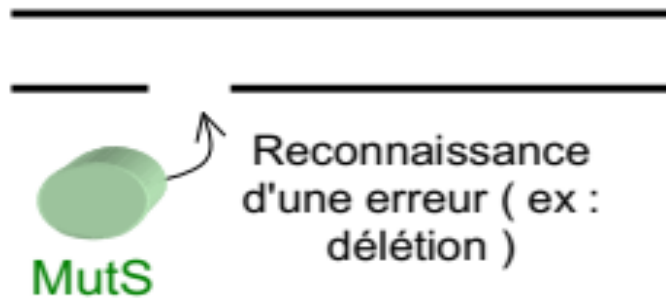
MutS

MutL

MutH

} fixation sur ADN pour réparation des erreurs

# VI-REPARATION



# VI-REPARATION

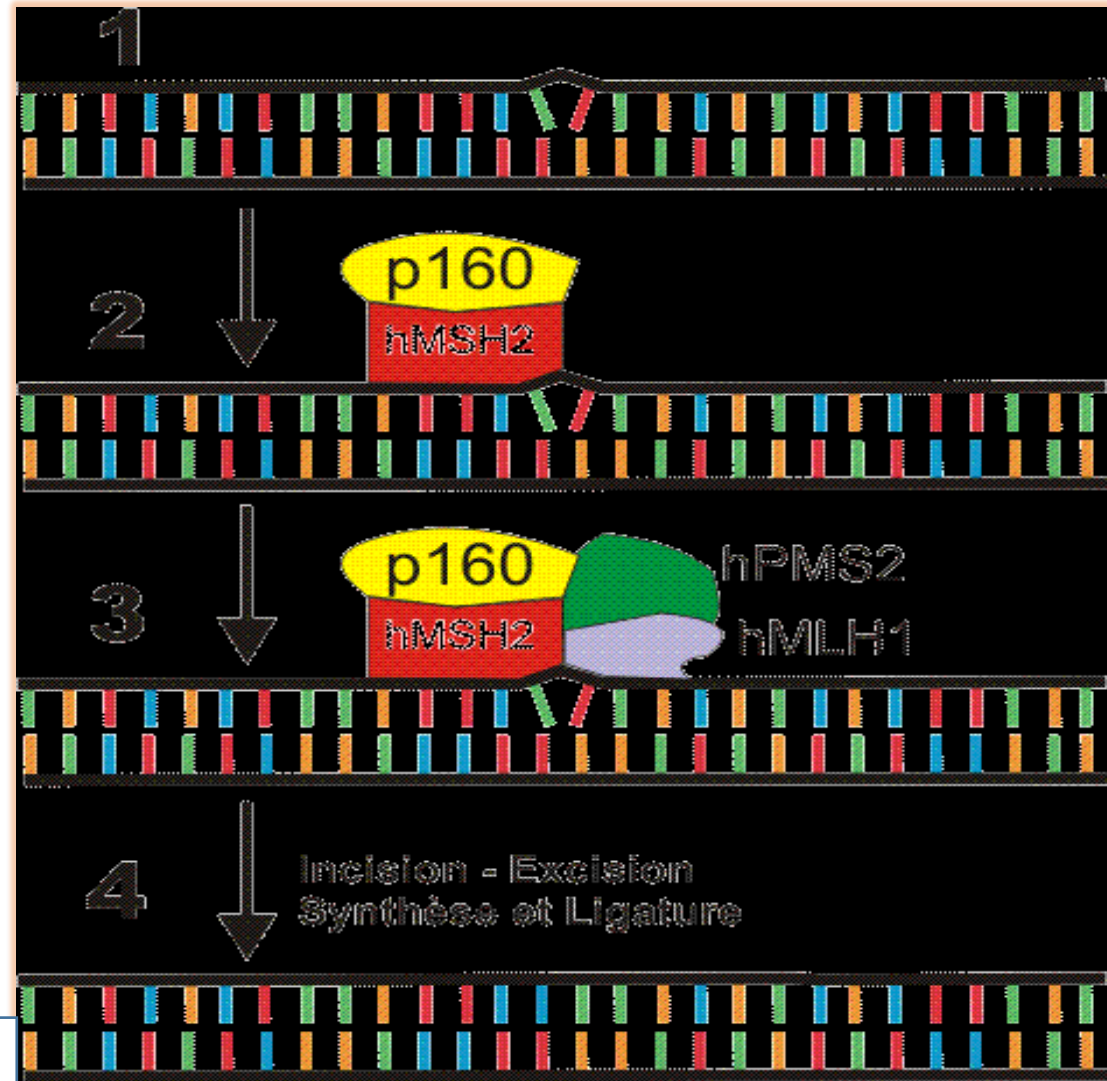
## □ Réparation des erreurs d'appariement (mésappariements)

✓ Avec les gènes MMR ( MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

- protéines hMSH2 et p160 repèrent les mésappariements
- fixation d'autres protéines de réparation : hPMS2, hMLH1
- incision –excision
- synthèse et ligature

# VI-REPARATION

## □ Réparation des erreurs d'appariement (mésappariements)



Réparation de 2 mésappariements

# VI-REPARATION

## □ Réparation des lésions simultanées des deux brins

- ✓ Erreur= perte information sur un court fragment d'ADN pour chacun des 2 brins
- ✓ rencontré le plus souvent après la réplication
- ✓ formation d'une brèche = *lacune post-réplivative*

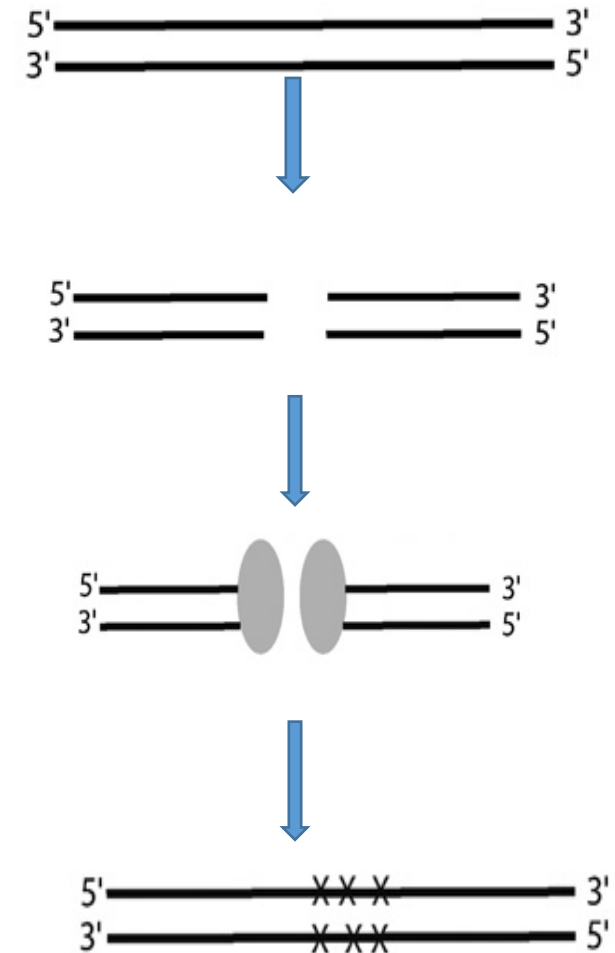
# VI-REPARATION

## ❑ Réparation des lésions simultanées des deux brins

- ✓ réunion d'extrémité non homologe (non homologous and joining = NHE)

fixation de protéines spécifiques permettant de limiter la dégradation des nucléotides et permettant le pontage des extrémités (2 protéines ,Ku, DNA-PK)

ligature des extrémités par des ligases après alignement des séquences



# VI-REPARATION

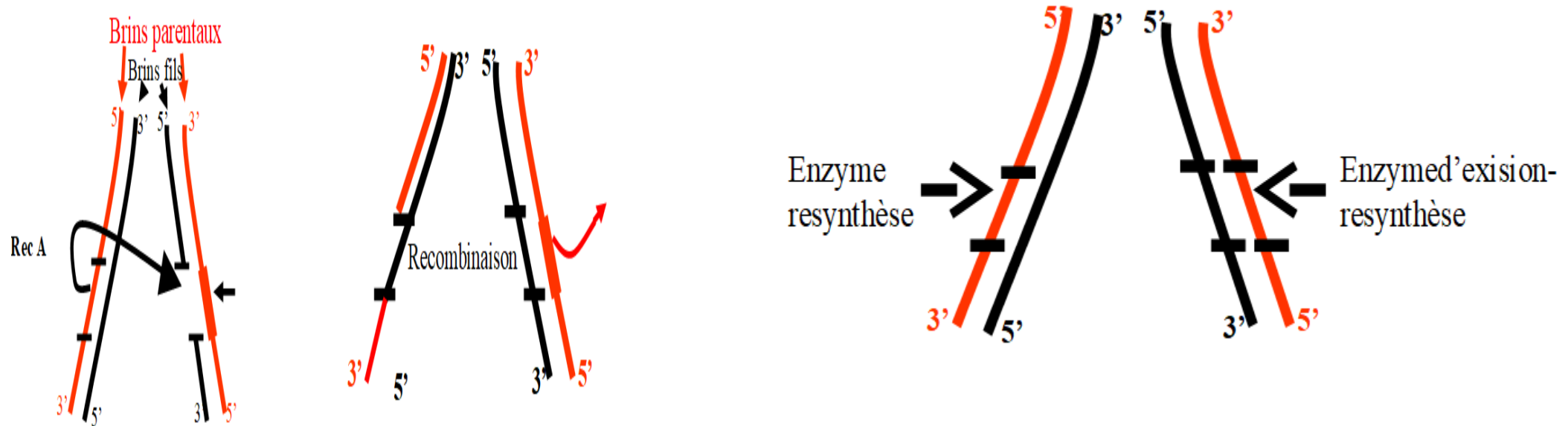
## ✓ réparation par recombinaison de molécules filles (homologue)

- décrite surtout chez les procaryotes, mais existe aussi chez les eucaryotes
  - erreur : un œil de réplication avec altérations ( ex 1 dimère de thymine sur le brin parental)
- blocage réplication (lacune post-réplivative) sur le brin fils
- chez la bactérie, réparation assurée par la protéine **Rec A** (prélève la séquence du brin parental opposé identique à ce brin fils)

# VI-REPARATION


→ formation séquence correcte, mais création d'une 2e lacune sur le brin parental opposé

- excision du dimère ayant arrêté la réplication/ enzymes d'excision
- formation lacune sur l'autre brin parental
- les 2 lacunes (à la place du dimère de thymines et sur le brin parental opposé) sont corrigées /ADN polymérase ( synthétise la séquence complémentaire et antiparallèle de chaque brin parental)



# CONCLUSION

## Réplication

- ✓ processus de fabrication de nouvelles molécules d'acide nucléique
- ✓ se déroule avant la division cellulaire
- ✓ possibilités de survenues d'erreurs
- ✓ non corrigées  mutations