

2. La réplication

Pour que deux cellules héritent par division du même patrimoine génétique, l'ADN, support de l'information génétique, doit être au préalable dupliqué fidèlement. Ces processus biologiques s'appelle la réplication.

La réplication est une synthèse d'ADN qui reproduit exactement le génome d'une cellule au cours du cycle cellulaire afin de préparer la division de cette cellule. Cette synthèse se produit à la phase S (au milieu du cycle cellulaire) grâce à l'activité d'enzymes spécifiques appelées **ADN polymérase** et elle est faite pour opérer rapidement tout en minimisant les erreurs et en corrigeant celles qui se produisent lorsque la séquence d'ADN est copiée.

La fidélité de la réplication repose sur le fait que chaque brin d'ADN sert de matrice pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire. La réplication est ainsi dite **semi-conservative** car, dans chaque molécule fille d'ADN, un brin provient de la molécule mère, il est de ce fait **conservé**, et un autre brin est nouvellement synthétisé (**néosynthétisé**).

La formation d'un brin d'ADN complémentaire s'opère par additions successives de désoxynucléotides à un oligonucléotide en élongation et elle a toujours lieu dans le sens **5'→3'**.

1. Le démarrage de la réplication :

La réplication démarre à l'intérieur de la molécule d'ADN en un point appelé **origine de réplication (oriC)** puis se poursuit dans les deux directions.

Le démarrage de la réplication suppose la séparation des deux brins parentaux et la formation de deux **fourches de réplication** qui s'éloignent l'une de l'autre au fur et à mesure que la réplication progresse. Chaque initiation définit une unité de réplication appelée **réplicon**.

- Chez les procaryotes :

L'ADN procaryote, appelé chromonème (chromosome bactérien circulaire), ne possède généralement qu'une seule origine de réplication à partir de laquelle deux fourches de réplication progresse dans les deux sens, donnant une forme intermédiaire appelée **thêta (Θ)**, et finissent par se rejoindre et fusionnent permettant ainsi l'achèvement de la réplication

- **Chez les eucaryotes :**

L'ADN des eucaryotes, en raison de sa longueur (chromosomes longs) possède plusieurs origines de réplication (plusieurs réplicans) qui permettent au processus de se dérouler en un temps raisonnable. Pour chaque réplican, les deux fourches de réplication progressent dans les deux sens et finissent par rentrer en collision et s'annuler.

Une cellule de mammifère possède 50000 à 100000 réplicans, chacun représente une copie d'ADN de 40 à 200 kilobases (kb).

2. Etapes du mécanisme général de la réplication in vivo :

L'initiation de la réplication nécessite la synthèse préalable d'**amorces** (séquences d'ARN longues de 10 à 40 nucléotides hybridées au brin à copier) résultant de la transcription de séquences d'ADN par une ARN polymérase appelée **primase**. Cette enzyme fonctionne en association avec d'autres polypeptides, l'ensemble formant un complexe protéique appelé **primosome**.

Au moment de l'initiation, une protéine spécifique appelée **déroutase** se fixe à une séquence nucléotidique retrouvée quasi constante dans l'ADN de différentes origines. Elle induit la séparation localisée des deux brins d'ADN et définit l'origine de réplication. Se fixent ensuite à l'ADN des protéines spécifiques appelées **hélicases** (DnaB, PriA) qui déroulent progressivement l'ADN dans les deux sens. Il en résulte des tensions largement suffisantes pour provoquer des surenroulements de la double hélice parentale non encore répliquée. Le surenroulement est amoindri par des enzymes appelées **topoisomérases**.

Le déroulement des deux brins d'ADN pour préparer la réplication crée des régions monocaténares dans la molécule d'ADN mère. Ces régions sont très rapidement recouvertes de protéines spécifiques, **SSB** (Single-Strand Binding Protein) qui n'ont pas d'activité enzymatique connue. Elles permettent de maintenir les deux brins d'ADN sous une forme monocaténaire indispensable à leur fonction de matrices et protègeraient également l'ADN monocaténaire contre des dégradations par les nucléases.

L'activité de polymérisation se fait par les **ADN polymérases** qui allongent l'amorce par addition de nucléotides à l'extrémité 3'OH de l'amorce. Chez les **procaryotes**, trois ADN polymérases sont connues. Ce sont les polymérases I, II et III, toutes indispensables pour la réplication. Elles possèdent non seulement une activité de polymérisation dans le sens

5'→3'mais également une activité exonucléasique dans le sens 3'→5'. L'ADN polymérase I possède de plus une activité exonucléasique dans le sens 5'→3' (dégradation de l'ARN de l'amorce au moment de la réplication).

Chez les **eucaryotes**, les ADN polymérases, au nombre minimum de cinq, sont nommées α β γ δ et ϵ . Elles assurent l'activité de polymérisation 5'→3' mais aussi, pour les formes γ δ et ϵ , une activité d'exonucléase 3'→5'.

La polymérisation ne s'opère que dans le sens 5'→3'. Comme les deux brins sont antiparallèles, un des brins en formation, le brin **avancé**, **précoce** ou **principal**, s'allongera de façon **continue** dans le sens 5'→3', sens de déplacement de la fourche de réplication. L'autre brin, dit **retardé**, **tardif** ou **secondaire**, se forme de façon **discontinue** par de petits fragments d'ADN (**fragments d'Okazaki**) dont la synthèse est à chaque fois amorcée dans le sens 5'→3', c'est-à-dire en sens inverse du déplacement de la fourche de réplication.

En ce qui concerne la synthèse du brin retardé, à mesure que la fourche de réplication avance, le primosome se déplace et forme dans le sens 5'→3', au contact de ce brin, des amorces qui sont ensuite allongés par les ADN polymérases en petites séquences d'ADN. Quand l'une de ces enzymes arrive à l'extrémité 5' de l'amorce précédente, elle est remplacée, dans le cas des procaryotes, par l'**ADN polymérase I** qui agit tout d'abord comme une exonucléase en dégradant l'ARN dans le sens 5'→3', puis comme une polymérase en remplaçant l'amorce ARN par l'ADN. Dans le cas des eucaryotes, l'élimination des amorces est assurée par une **RNase H**, et leur remplacement par l'ADN résulte de l'activité des **polymérases α et β** . Les différents fragments d'Okazaki sont ensuite réunis par l'enzyme **ADN ligase** qui établit une liaison phosphodiester entre une extrémité 5' monophosphate d'un brin d'ADN et l'extrémité 3' hydroxyle d'un autre brin.

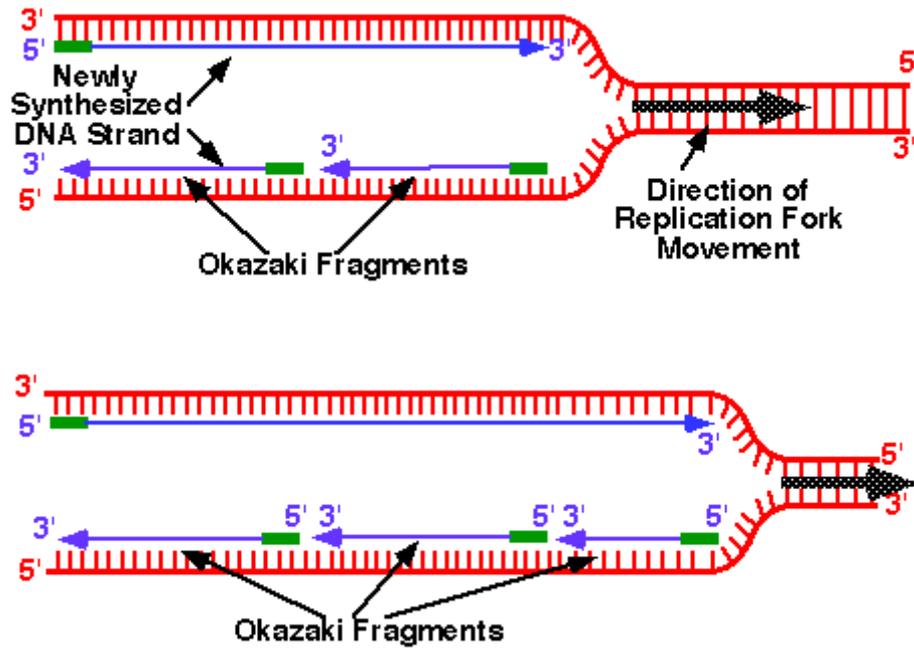
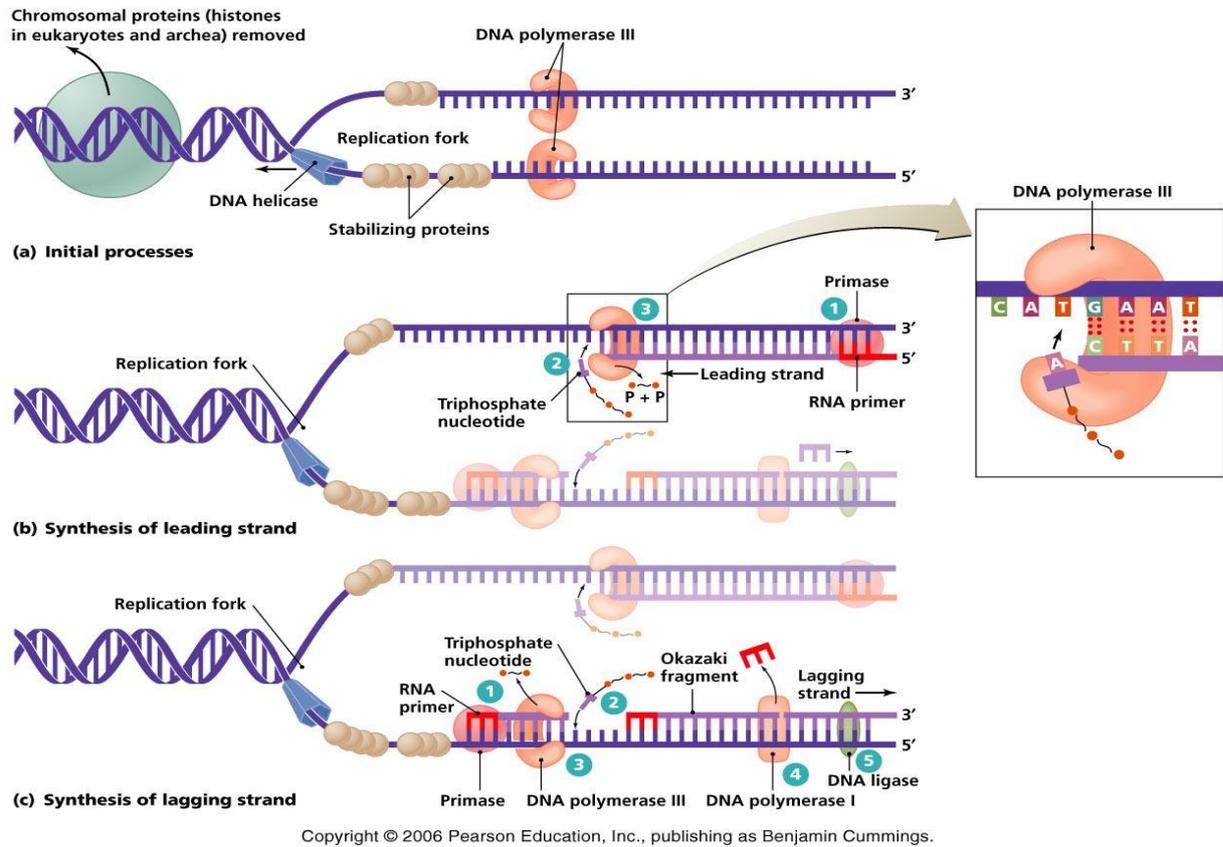


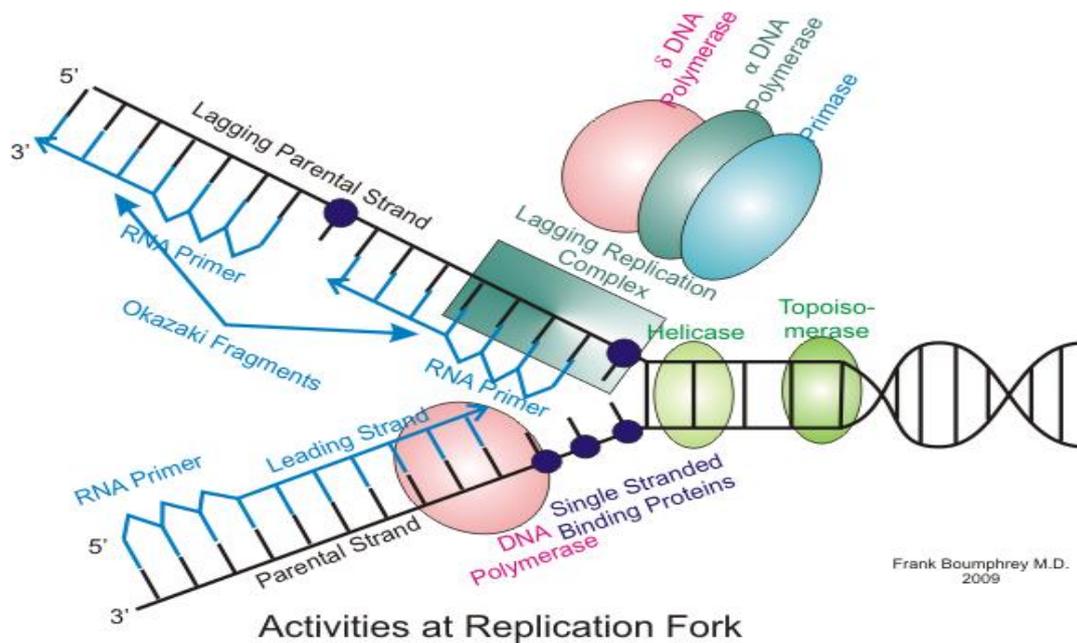
Schéma illustrant la synthèse des brins précoce et tardif au cours de répliation de l'ADN

3. Synthèse de l'ADN in vitro :

Pour la synthèse in vitro, on a besoin de mettre dans un milieu réactionnel une molécule d'ADN (matrice), les nucléotides triphosphates (dATP, dGTP, dCTP et dTTP), un couple d'amorces et une enzyme de polymérisation (ex : Taq polymérase). Cette réaction de polymérisation est appelée technique d'amplification d'ADN ou PCR (polymerase chain reaction).



La réplication chez les procaryotes



La réplication chez les eucaryotes