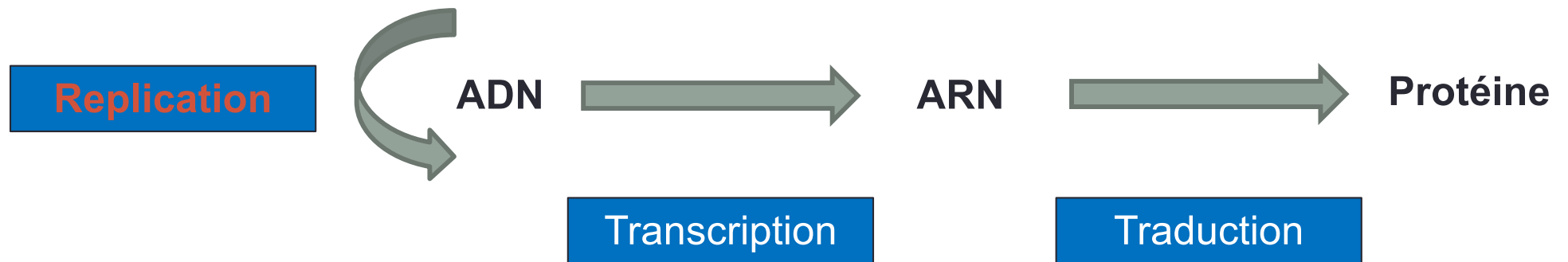




DU GÈNE À LA PROTÉINE

Réplication de l'ADN

12 mars 2025



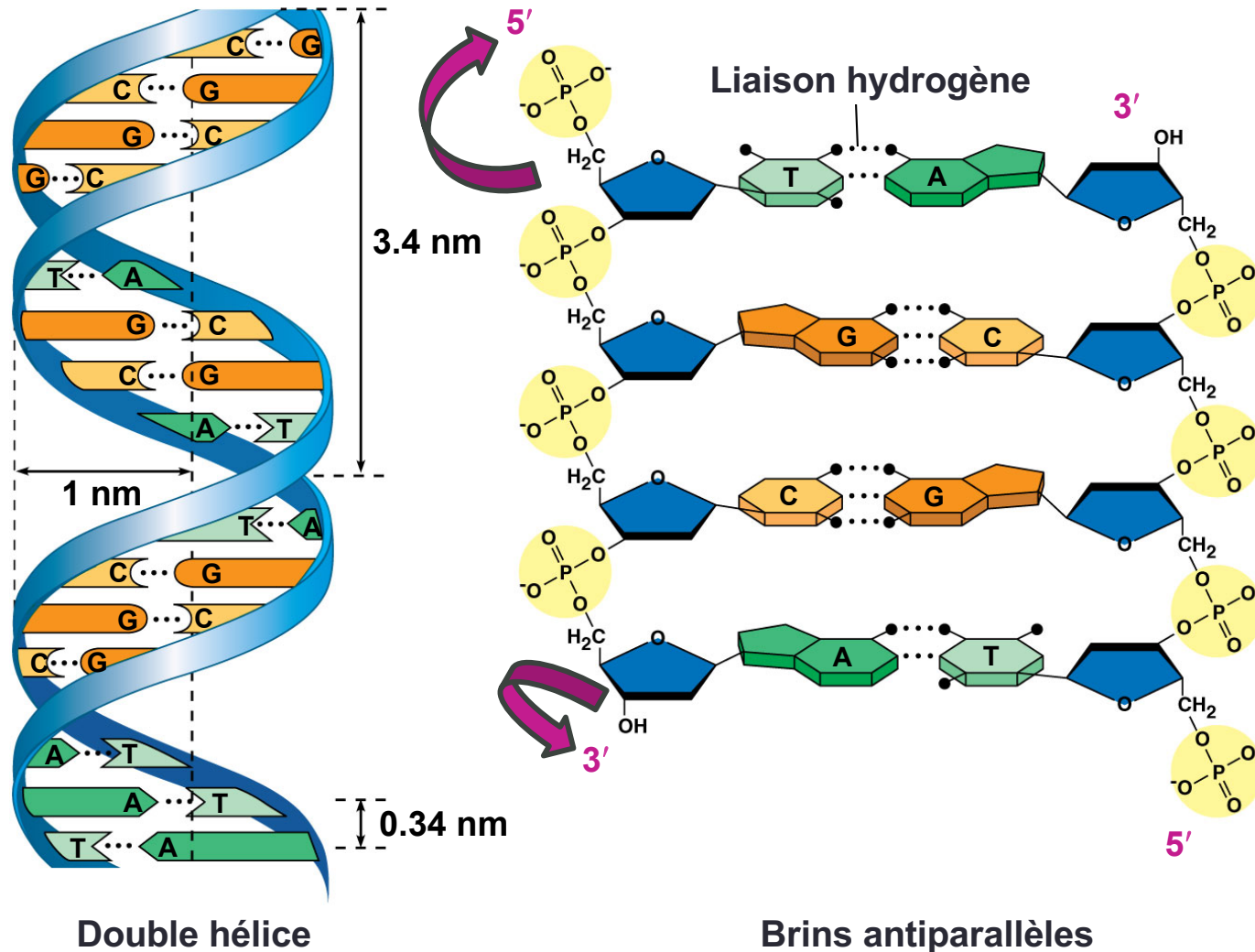
Réplication de l'ADN



“Maintenant notre modèle de l'acide désoxyribonucléique est, en réalité, une paire de matrices, chacune étant la complémentaire de l'autre. (...) Chaque chaîne est donc une matrice pour la formation, sur elle-même, d'une nouvelle chaîne associée, pour que finalement (...) nous ayons deux paires de chaînes (...). De plus, la séquence des paires de bases aura été exactement dupliquée.”

Watson and Crick, Nature, 1953

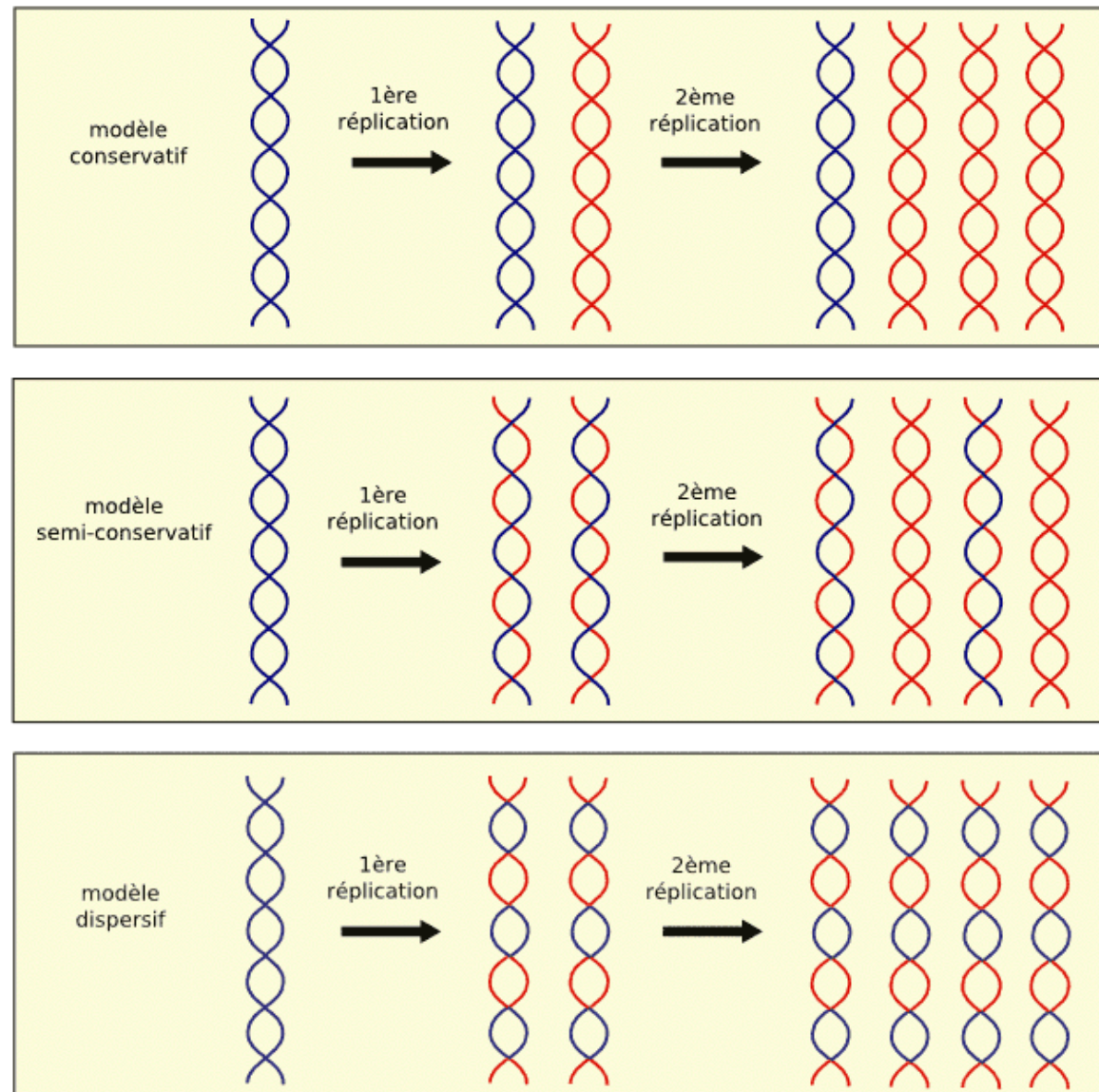
La structure de l'ADN



Cours d'aujourd'hui: Réplication d'ADN

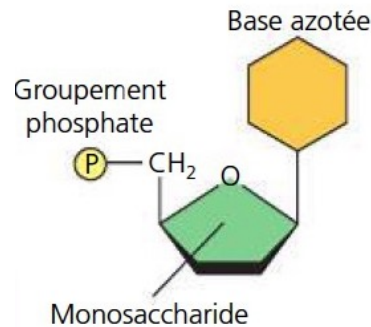
- 1) Mode de réplication
- 2) Réplication: Etape par étape
- 3) Où commencer?
- 4) Problèmes à résoudre lors de la replication
 - Stress torsionnel
 - Télomères
- 5) Théories du vieillissement

Modèles théoriques de la réplication

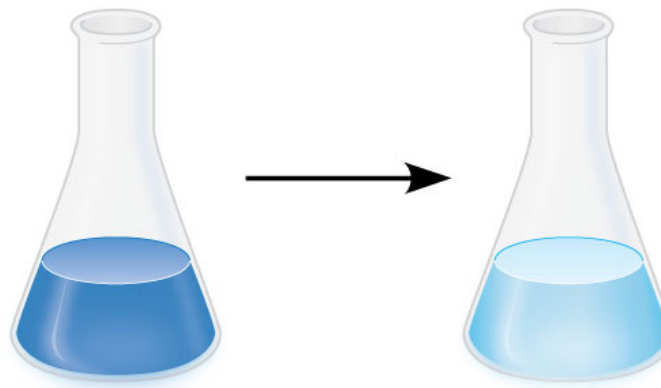


Expérience testant le mode de réplication

- Matthew Meselson et Franklin Stahl (1958):

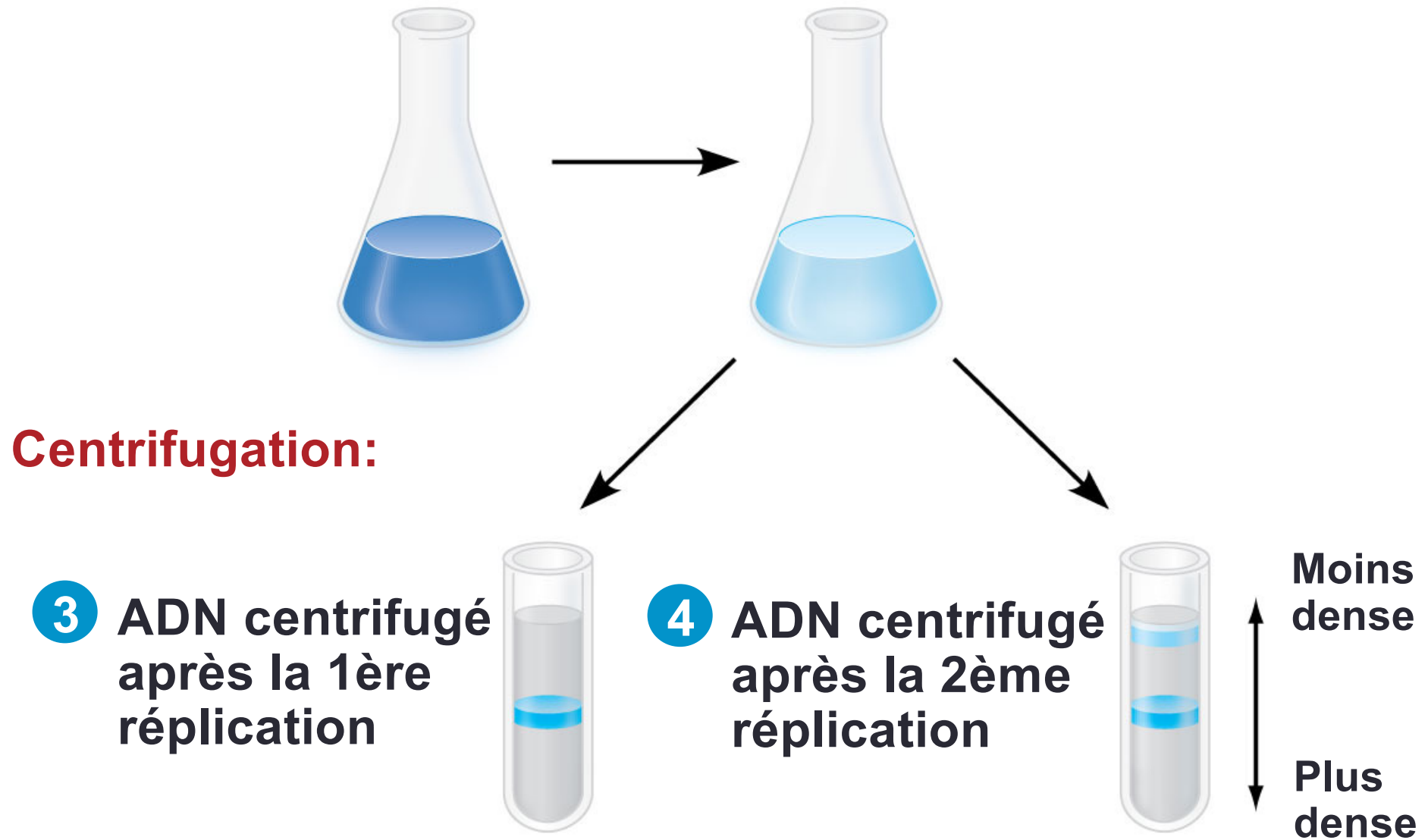


- 1 Bactéries cultivées en milieu lourd (isotope ^{15}N , qui marque l'ADN)**



- 2 Bactéries transférées en milieu léger (isotope ^{14}N , qui marque l'ADN)**

- L'expérience de Meselson & Stahl:



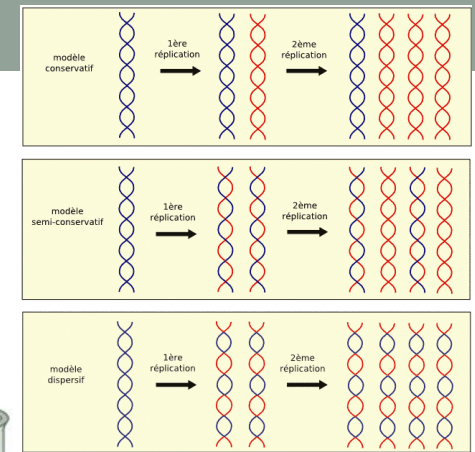
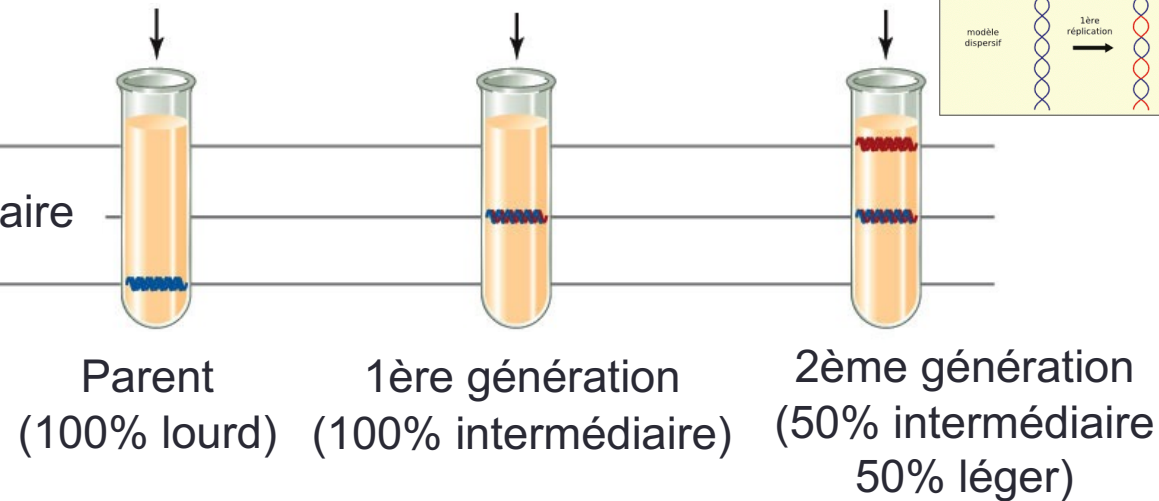
- L'expérience de Meselson & Stahl:

RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ ADN léger

$^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ ADN intermédiaire

$^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ ADN lourd



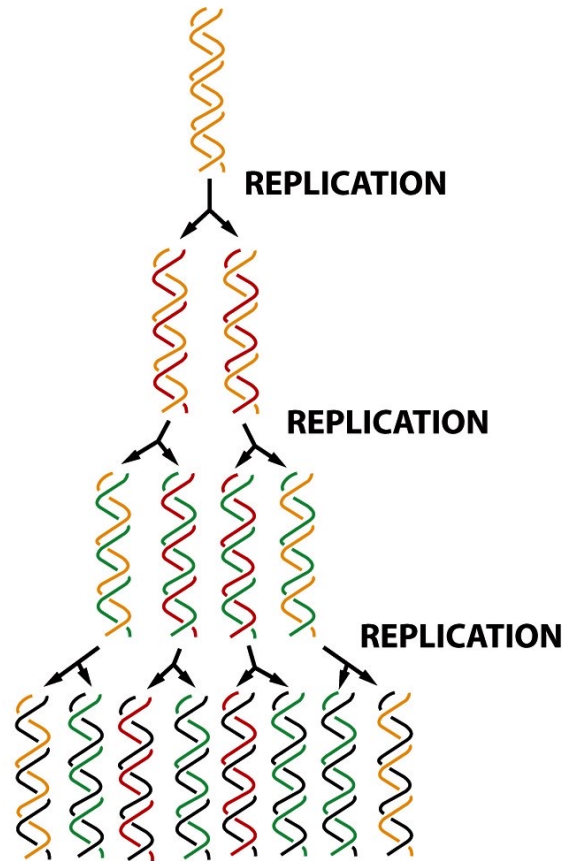
© 2011 Sinauer Associates, Inc.

- Première réplication: Uniquement ADN hybride
 - ~~Modèle conservatif~~
- Deuxième réplication : ADN hybride et ADN léger
 - ~~Modèle dispersif~~

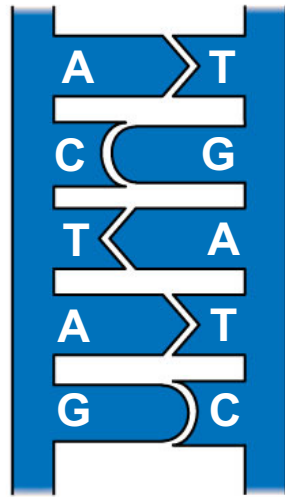
➔ **Modèle semi-conservatif !**

Réplication semi-conservative :

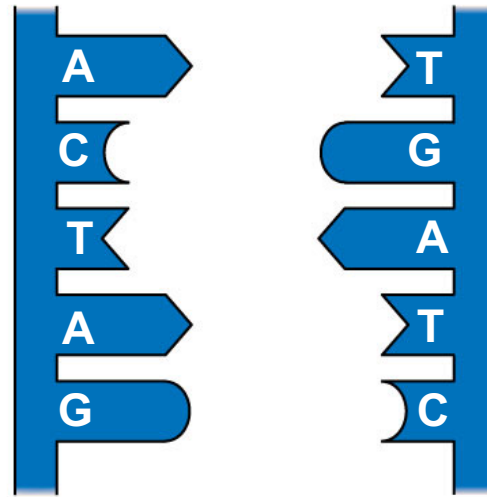
- Le brin original reste intact sur plusieurs générations !



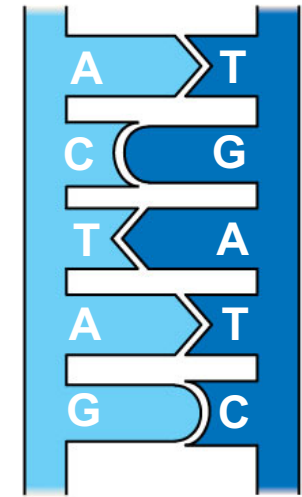
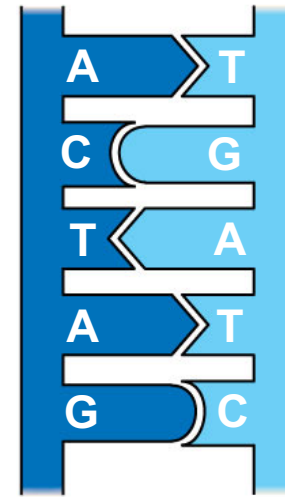
Réplication de l'ADN – Concept de base



(a) Molécule initiale



(b) Séparation des brins

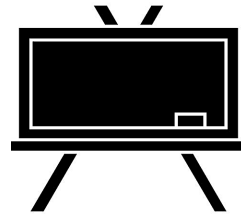


(c) Molécules d'ADN « filles » constituées d'un brin initial et d'un nouveau brin

Réplication d'ADN

- 1) Mode de réplication
- 2) Réplication: Etape par étape
- 3) Où commencer?
- 4) Problèmes à résoudre lors de la replication
 - Stress torsionnel
 - Télomères
- 5) Théories du vieillissement

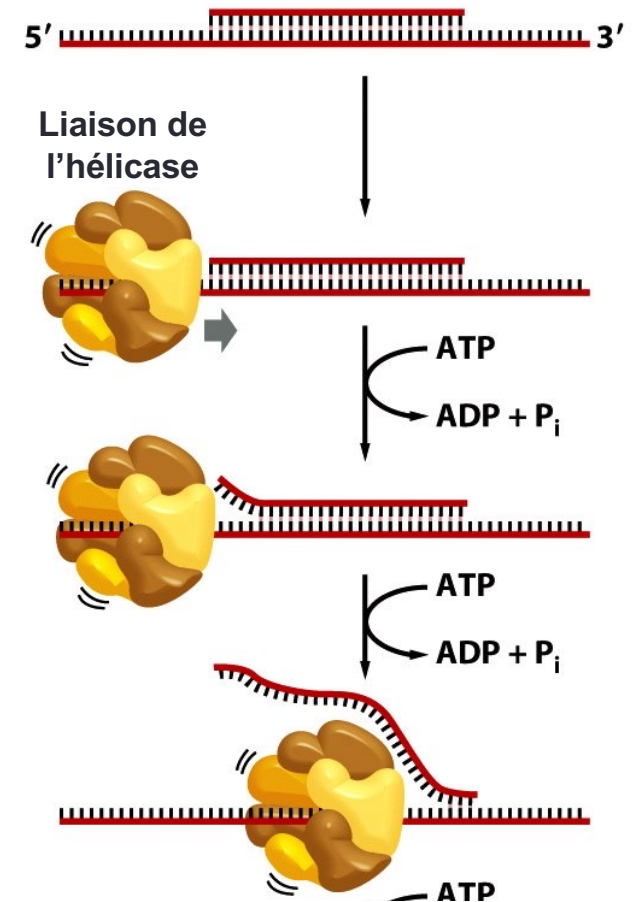
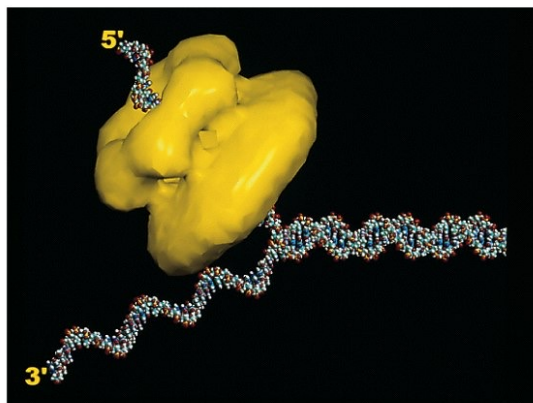
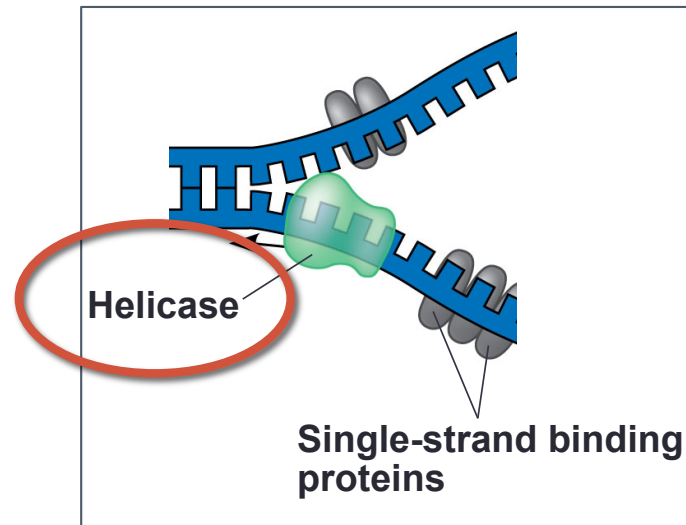
Réplication de l'ADN – Etape par étape



Réplication de l'ADN

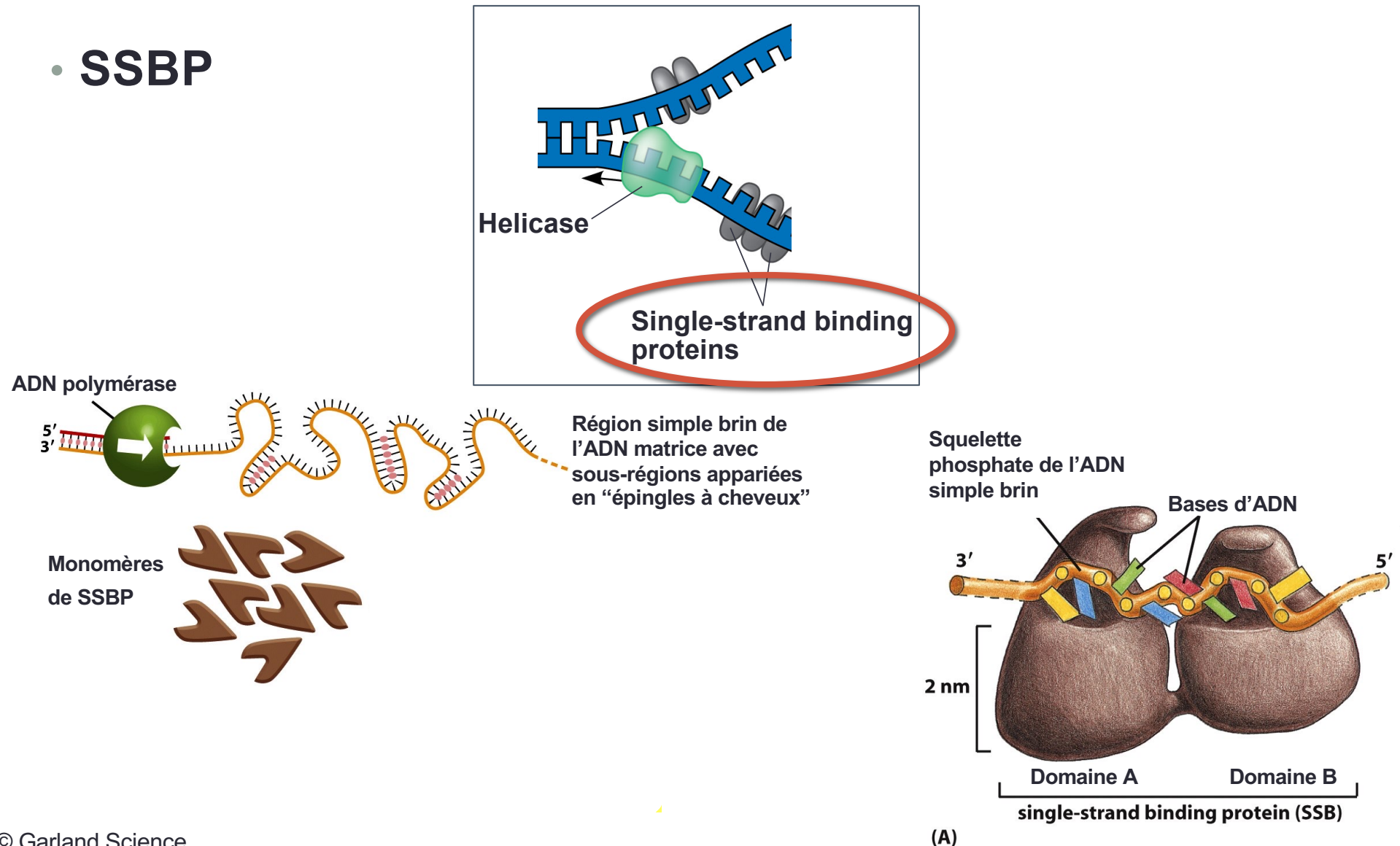
Réplication de l'ADN – Etape par étape

- Hélicase



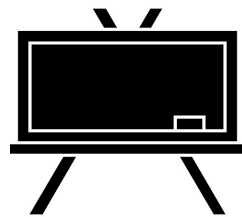
Réplication de l'ADN – Etape par étape

- SSBP

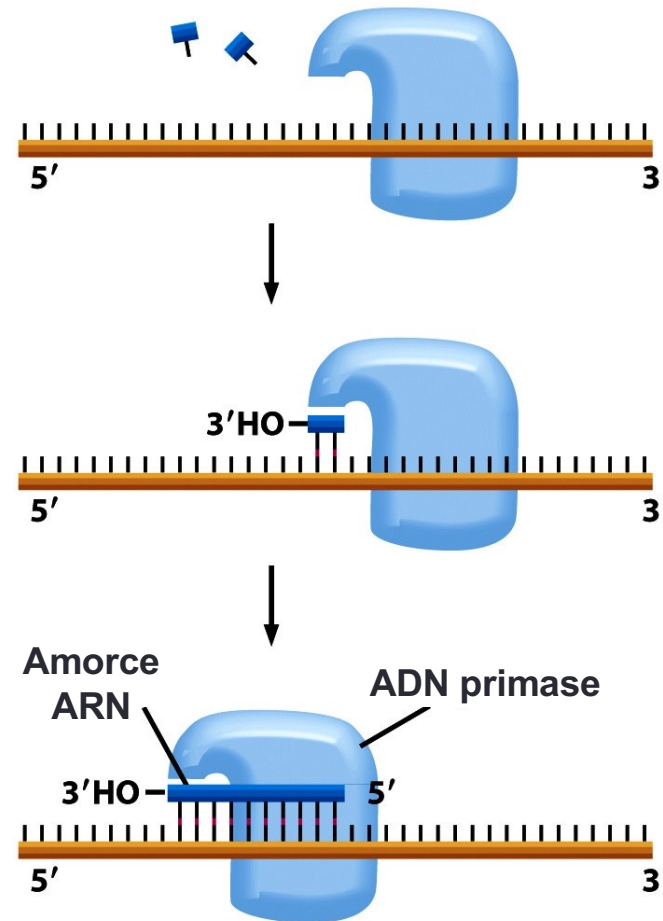


Réplication de l'ADN – Etape par étape

- **Primase**

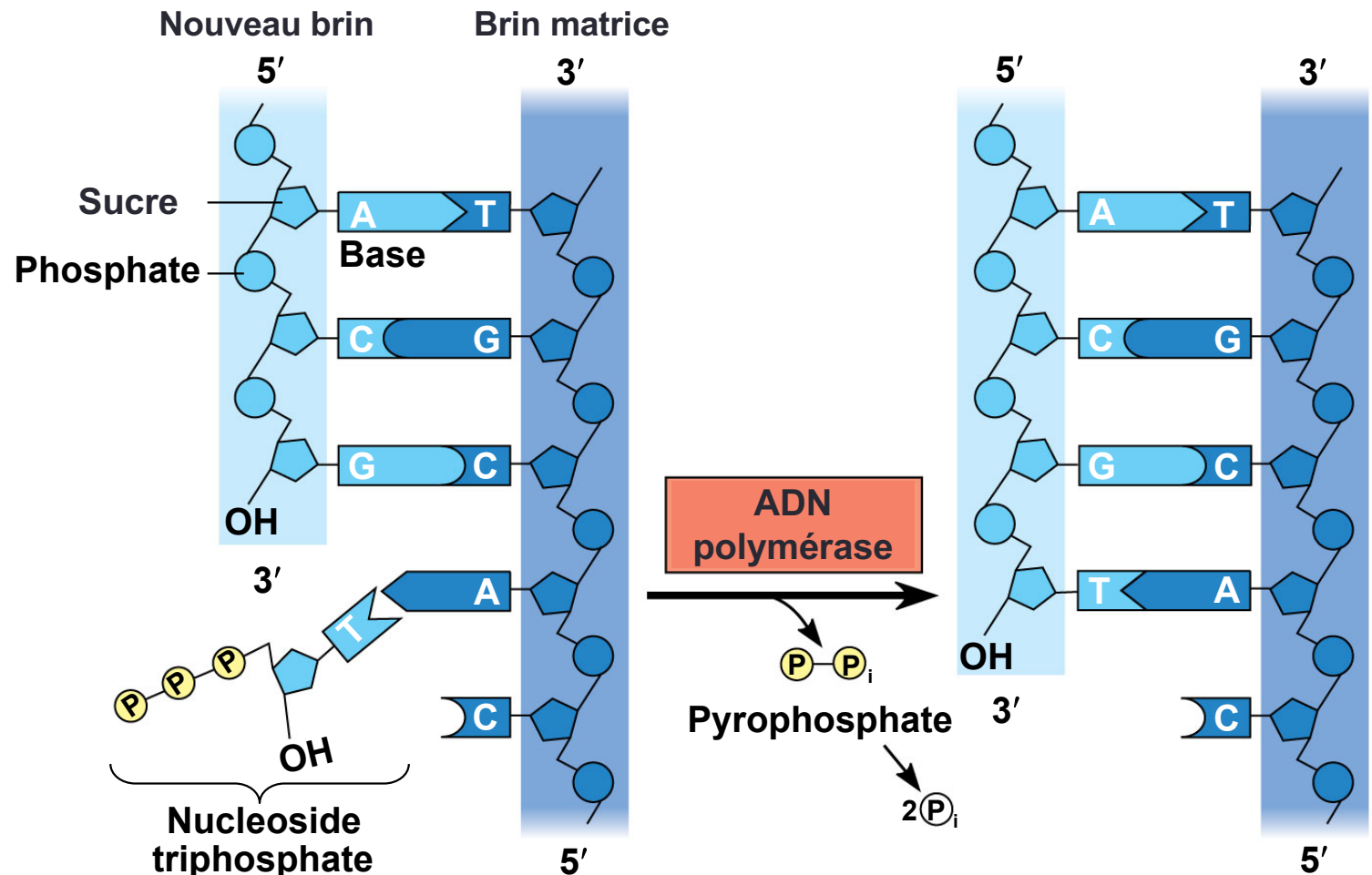


Primase



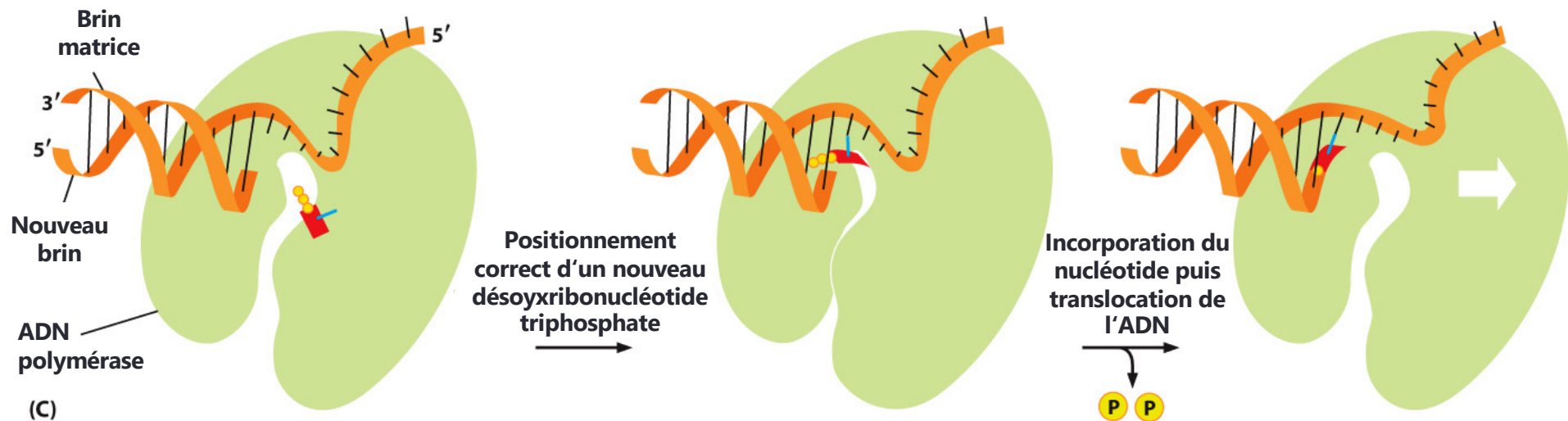
Réplication de l'ADN – Etape par étape

- **ADN Polymerase: ajoute des nucléotides 5' → 3'**



Réplication de l'ADN – Etape par étape

- **ADN Polymerase: ajoute des nucléotides 5' → 3'**



Découverte de l'ADN Polymérase

- Arthur Kornberg (Prix Nobel 1959):

- *E.coli* proteins +
- ADN matrice
- dNTPs
- Mg^{++}
- ATP



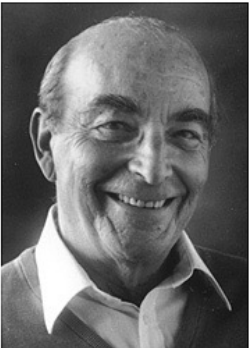
➤ rien!!!

- *E.coli* proteins +
- ADN matrice
- dNTPs
- Mg^{++}
- ATP



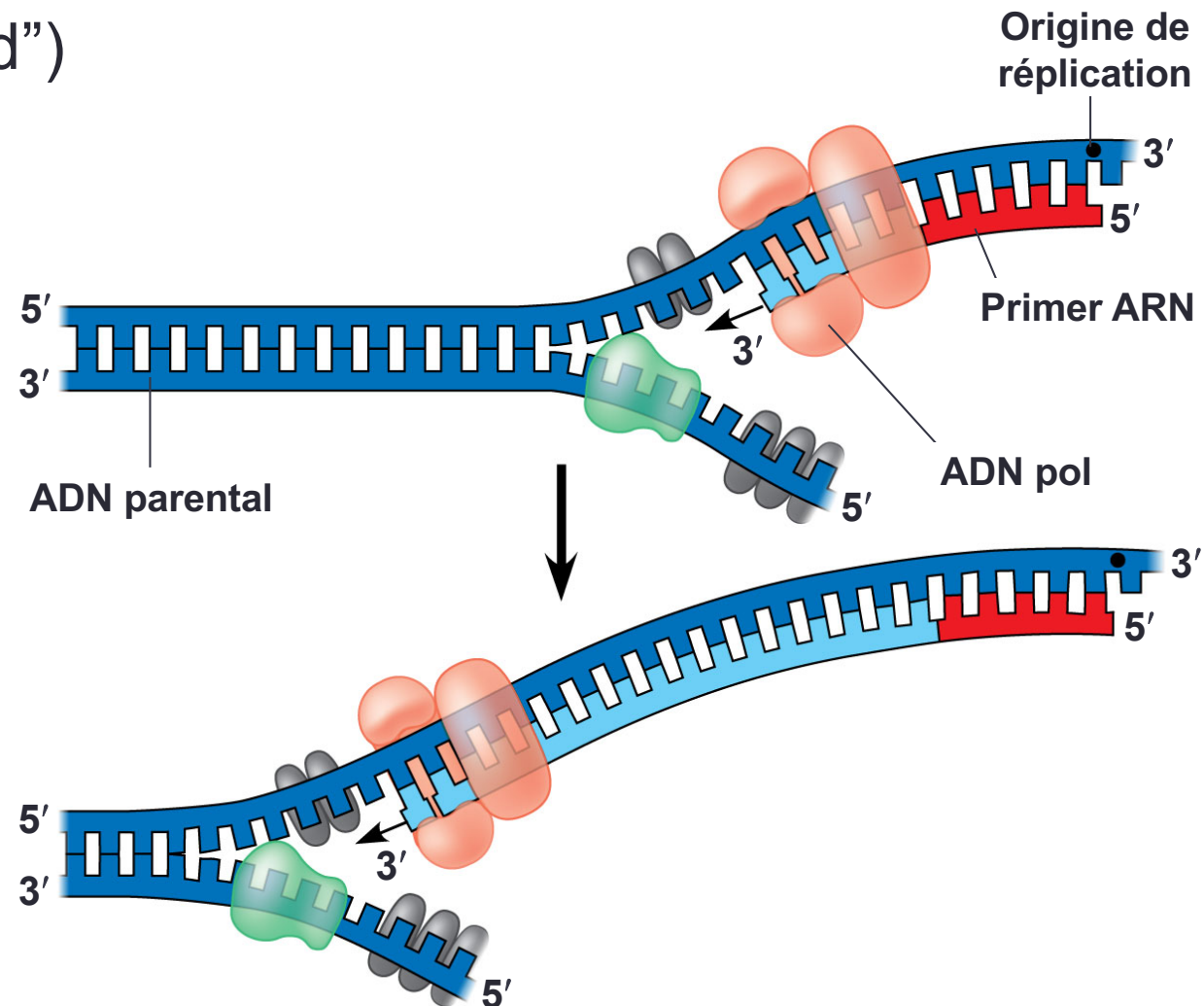
+ Court amorce ("primer") d'ARN
avec 3'-OH libre

➤ purification d'ADN polymérase

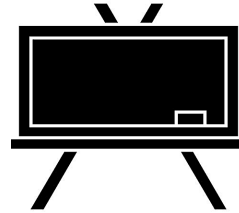


Réplication de l'ADN – Etape par étape

- Synthèse d'ADN sur le brin précoce ou continu (“leading strand”)



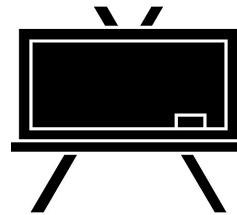
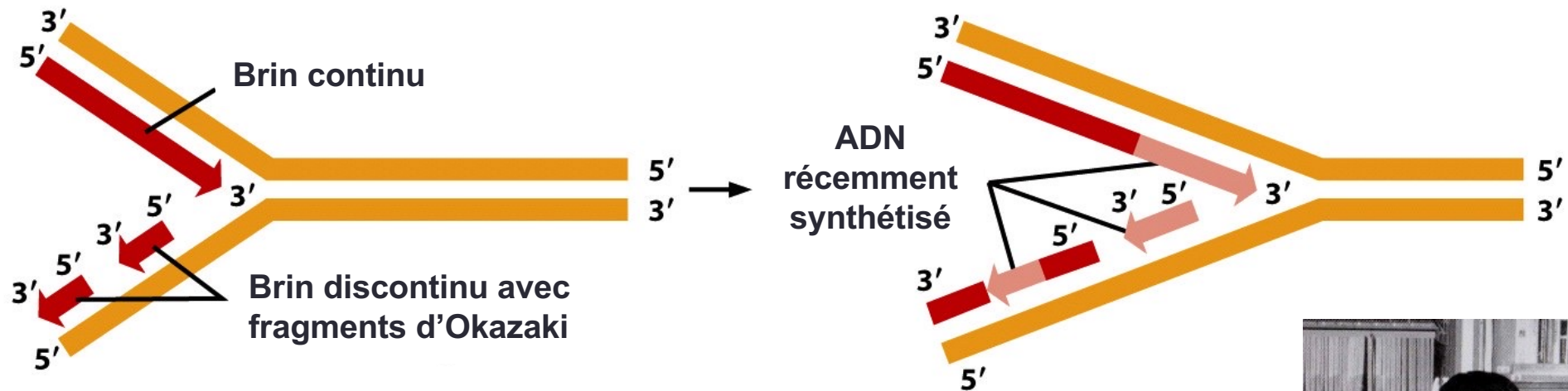
Réplication de l'ADN – Etape par étape



Brin tardif ou
discontinue

Réplication de l'ADN – Etape par étape

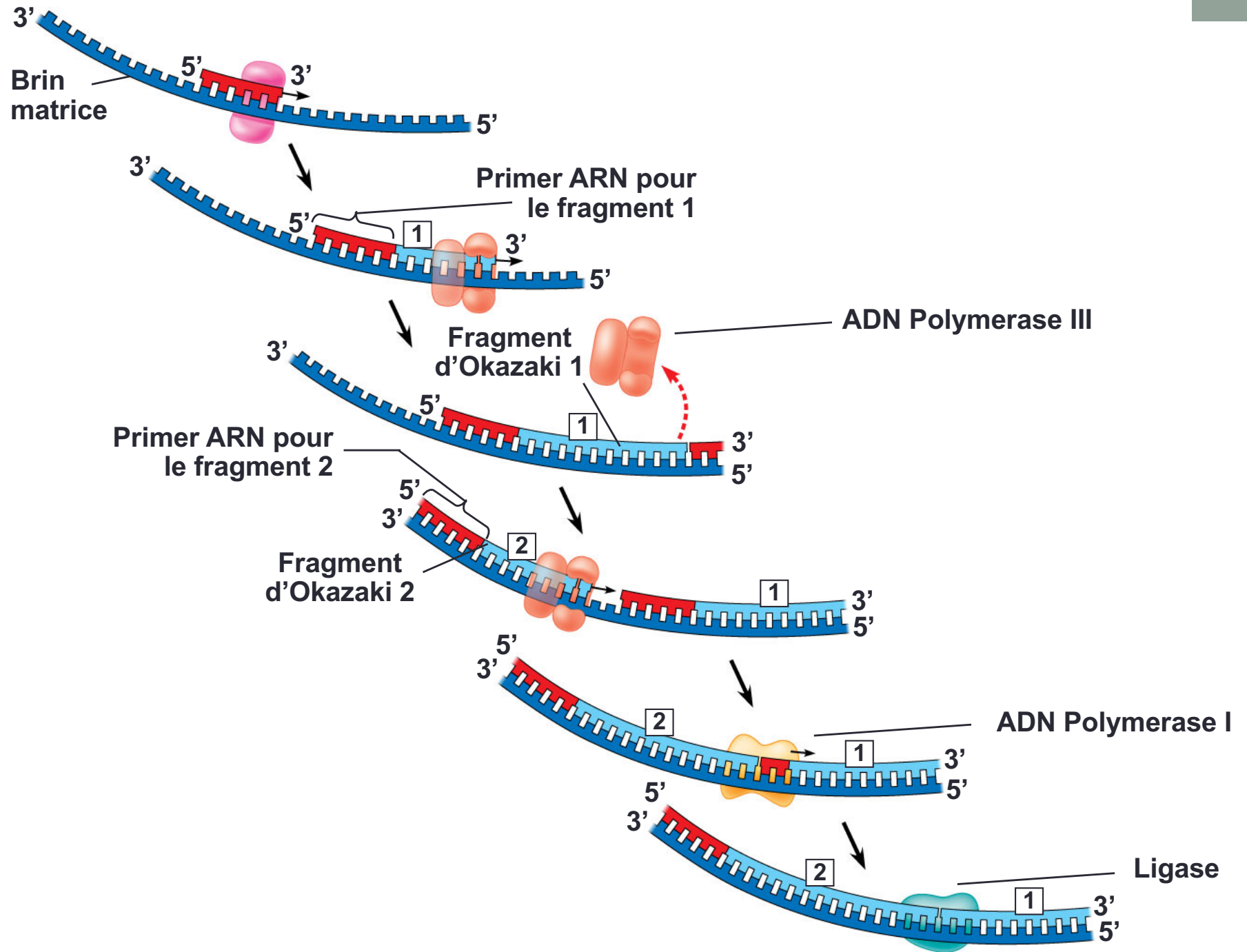
- **Synthèse d'ADN sur le brin tardif ou discontinu**
("lagging strand")



ADN pol I / ligase



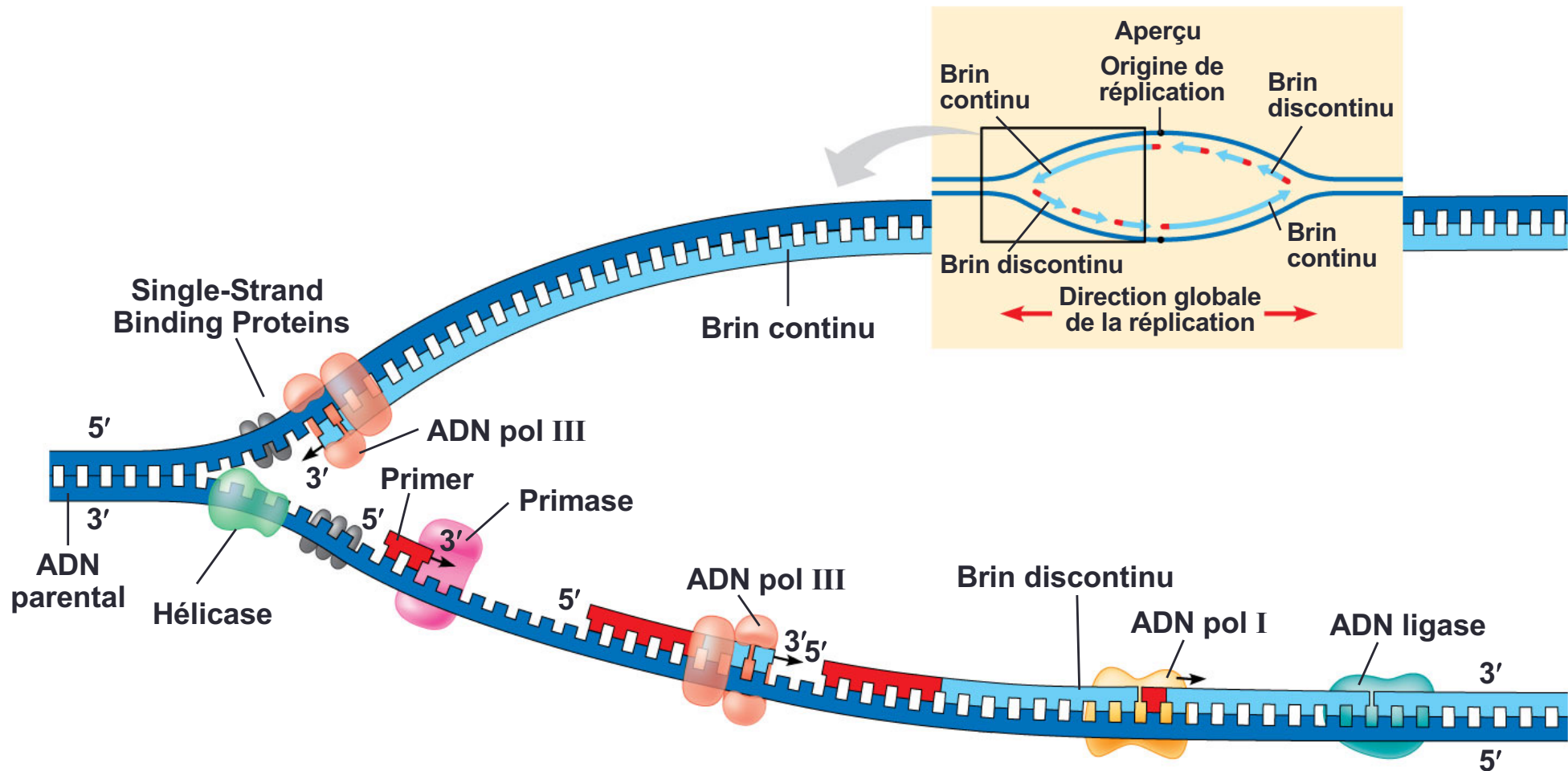
Reiji Okazaki
(1930-1975)



Réplication de l'ADN – enzymes à connaître

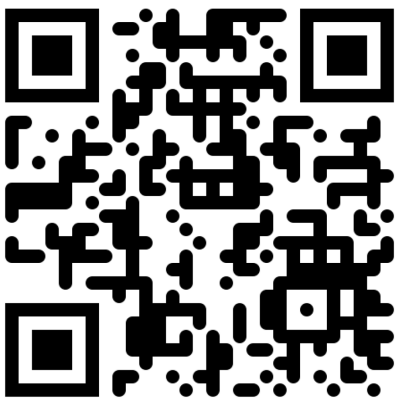
Proteines impliquées dans la réplication de l'ADN chez les bactéries et leurs fonctions	
Protéine	Fonction
Hélicase	Déroule la double hélice parentale en aval de la fourche de réplication
Single-strand binding protein (SSBP)	Se lie à l'ADN simple brin pour le stabiliser jusqu'à ce qu'il soit utilisé comme matrice
Primase	Synthétise un primer d'ARN à l'extrémité 5' du brin continu, et à chaque fragment d'Okazaki du brin discontinu
ADN pol III	A partir d'un brin d'ADN matrice, synthétise le nouveau brin d'ADN en ajoutant de façon covalente des nucléotides en 3' d'un brin d'ADN ou d'un amorce ("primer") d'ARN
ADN pol I	Enlève les nucléotides ARN du primer à partir de l'extrémité 5' et les remplace par des nucléotides d'ADN
ADN ligase	Lie l'extrémité 3' de l'ADN qui remplace l'amorce ("primer") du brin continu, ainsi que les fragments d'Okazaki du brin discontinu
Topoisomérase	Libère la tension du surenroulement à l'avant des fourches de réplication en coupant, tournant et liant à nouveau les brins d'ADN

Réplication de l'ADN – Vue d'ensemble



Dans les expériences de Meselson & Stahl, les chercheurs ont marqué l'ADN bactérienne avec des isotopes radioactives. Lequel?

- A. C_{14} / C_{15}
- B. N_{14} / N_{15}
- C. C_{12} / C_{13}
- D. N_{14} / O_{15}



Lors de la réplication, quelle est la séquence des enzymes qui est correcte?

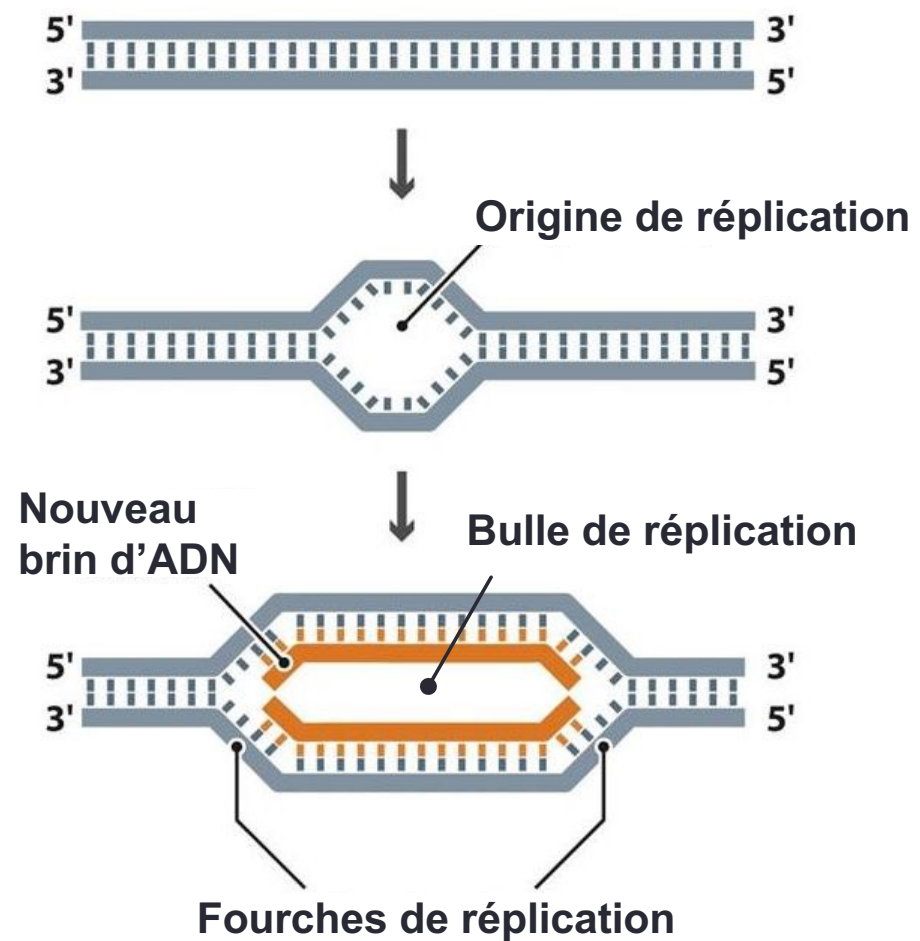
- A. Hélicase → SSBP → Primase
→ ARN pol III
- B. Hélicase → SSBP → Primase
→ ARN pol I
- C. TFIIH → SSBP → Primase
→ ARN pol III
- D. TFIIH → SSBP → Primase
→ ARN pol I
- E. Aucune réponse est correcte

Réplication d'ADN

- 1) Mode de réplication
- 2) Réplication: Etape par étape
- 3) Où commencer?
- 4) Problèmes à résoudre lors de la replication
 - Stress torsionnel
 - Télomères
- 5) Théories du vieillissement

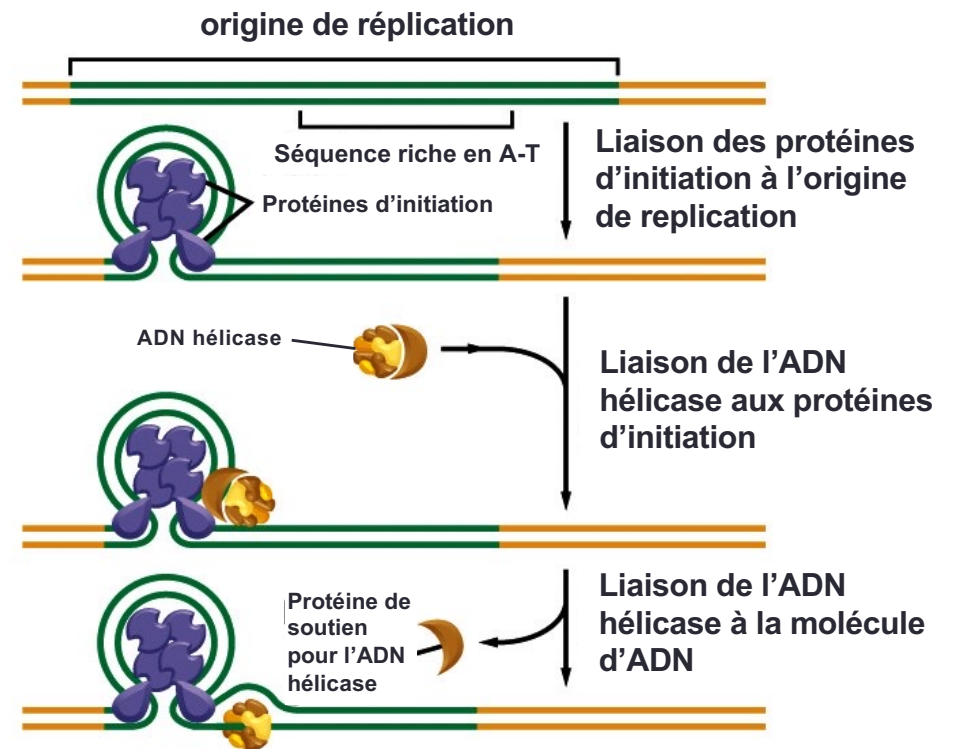
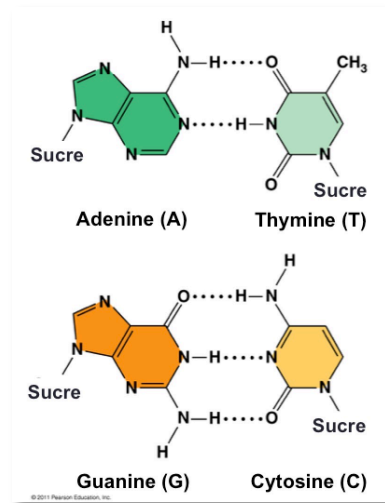
Réplication de l'ADN : où commencer ?

- **Origines de réplication**
 - Séquences spécifiques
- Fourches de réplication
- Bulle de réplication

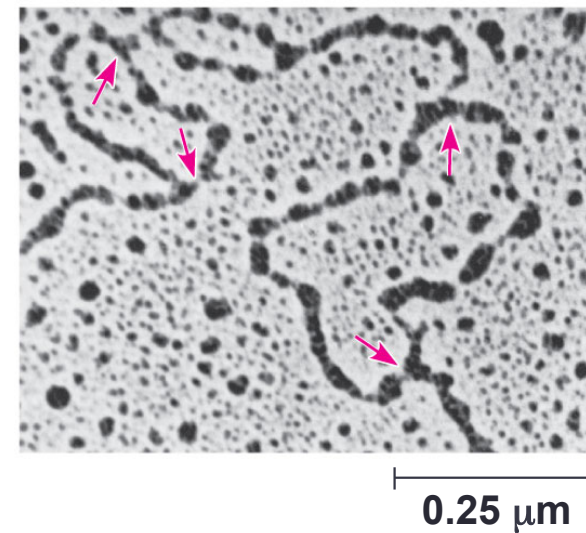
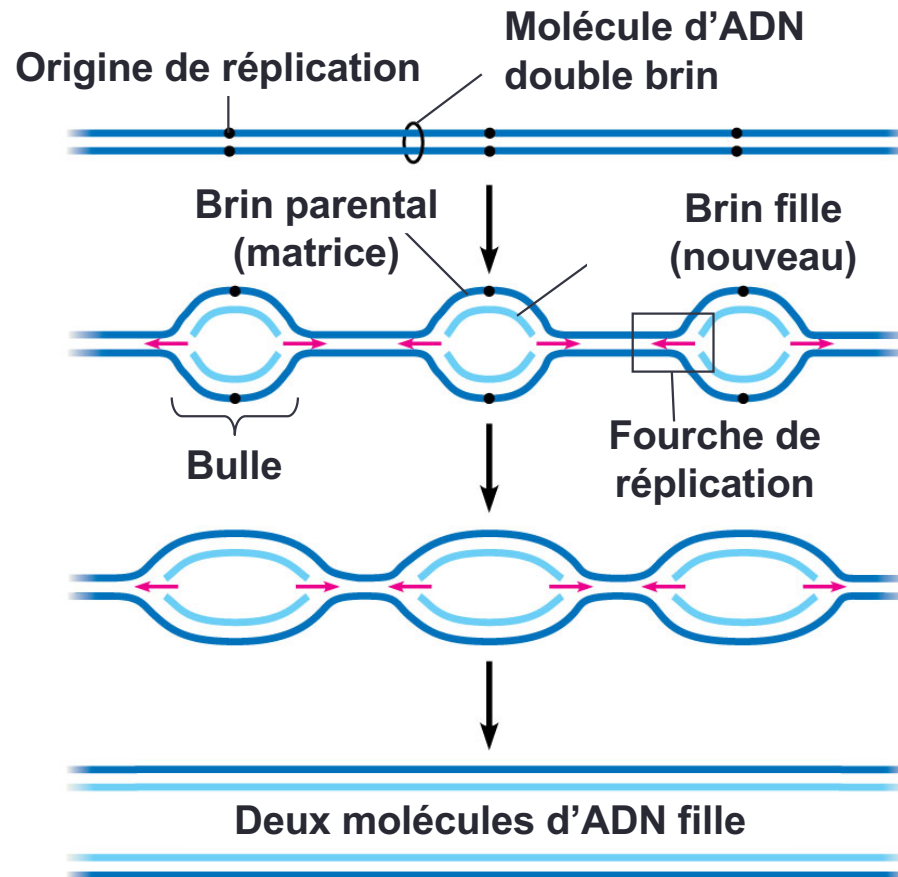


Réplication de l'ADN : où commencer ?

- **Origines de réplication**
 - Séquences spécifiques
 - Riches en A-T : moins stables



Origine de réplication:

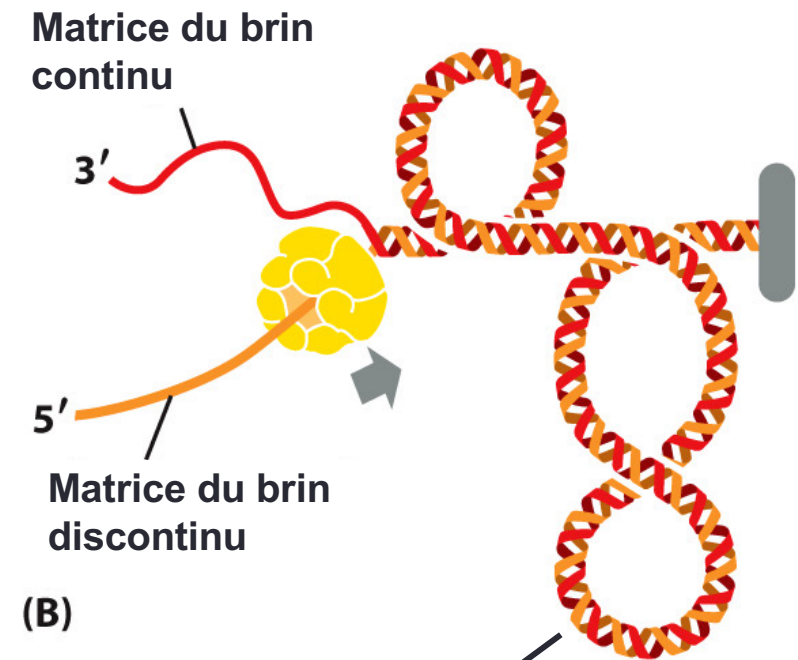


Réplication d'ADN

- 1) Mode de réplication
- 2) Réplication: Etape par étape
- 3) Où commencer?
- 4) Problèmes à résoudre lors de la replication
 - Stress torsionnel
 - Télomères
- 5) Théories du vieillissement

Réplication de l'ADN – un problème

- Surenroulement / stress torsionnel



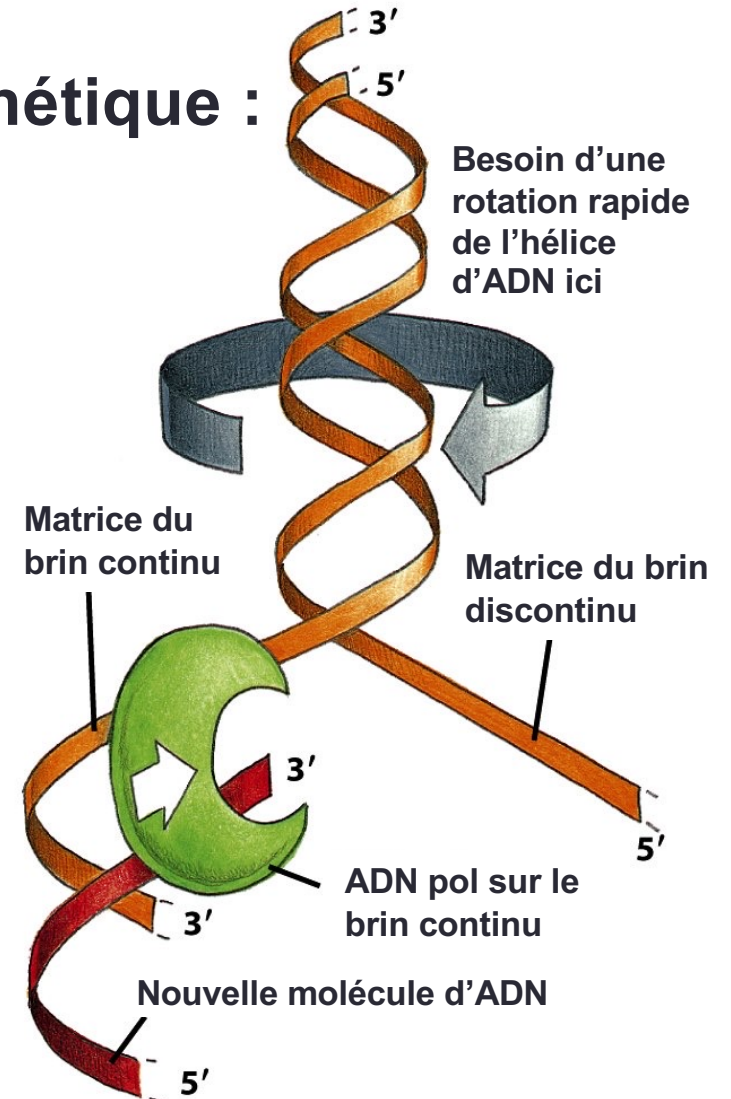
Surenroulement



Réplication de l'ADN – un problème

- **Surenroulement - la solution hypothétique :**

- Rotation rapide
- MAIS : coût énergétique élevé, donc...

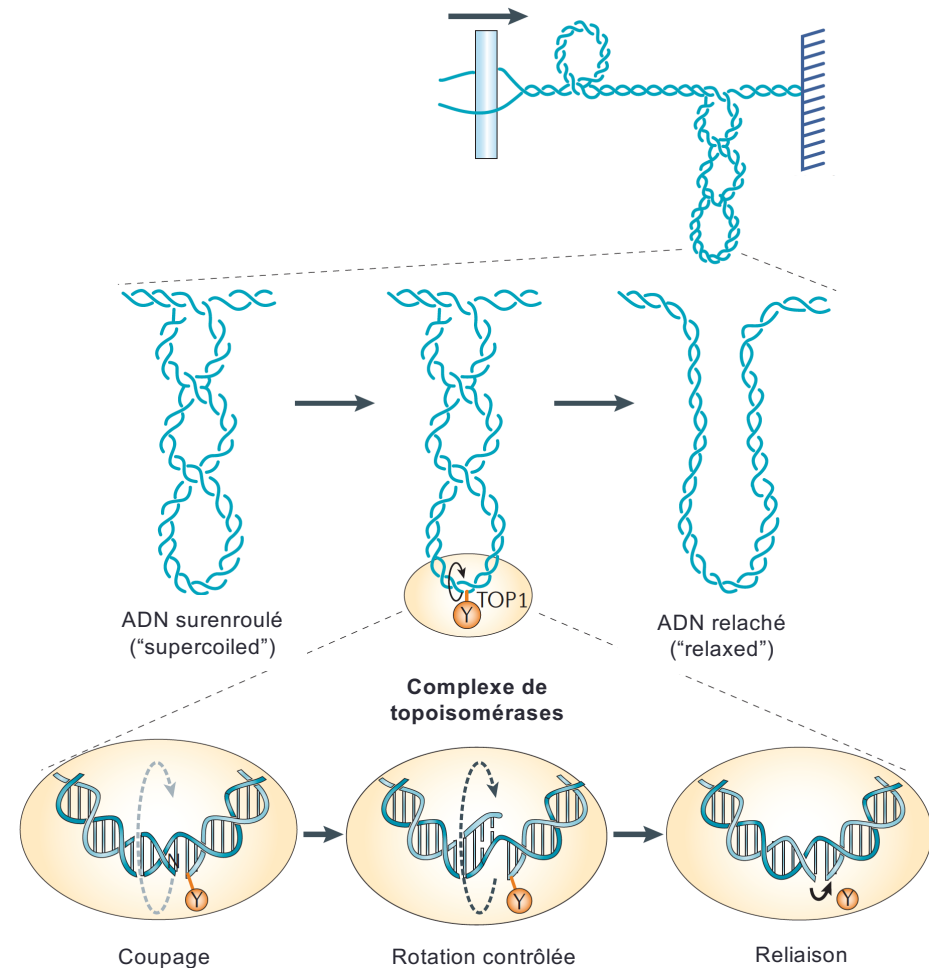


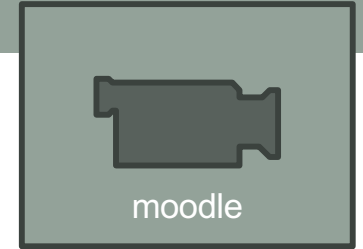
Réplication de l'ADN – un problème

- **Surenroulement - la vraie solution :**

- Couper

- Enzymes: Topoisomérases





Topoisomérase

- Deux types :
 - La **topoisomérase I** coupe un seul brin de façon transitoire, permettant la rotation libre des 2 brins pour éviter le surenroulement.
 - La **topoisomérase II** coupe les 2 brins de façon transitoire, permettant de démêler les doubles hélices d'ADN entre elles.
- Nomenclature : Dans le cas de la réplication de l'ADN :
 - **Formation de 2 isomères qui sont topologiquement différents**
(-> topo-isomères; topo-isomér-ase)

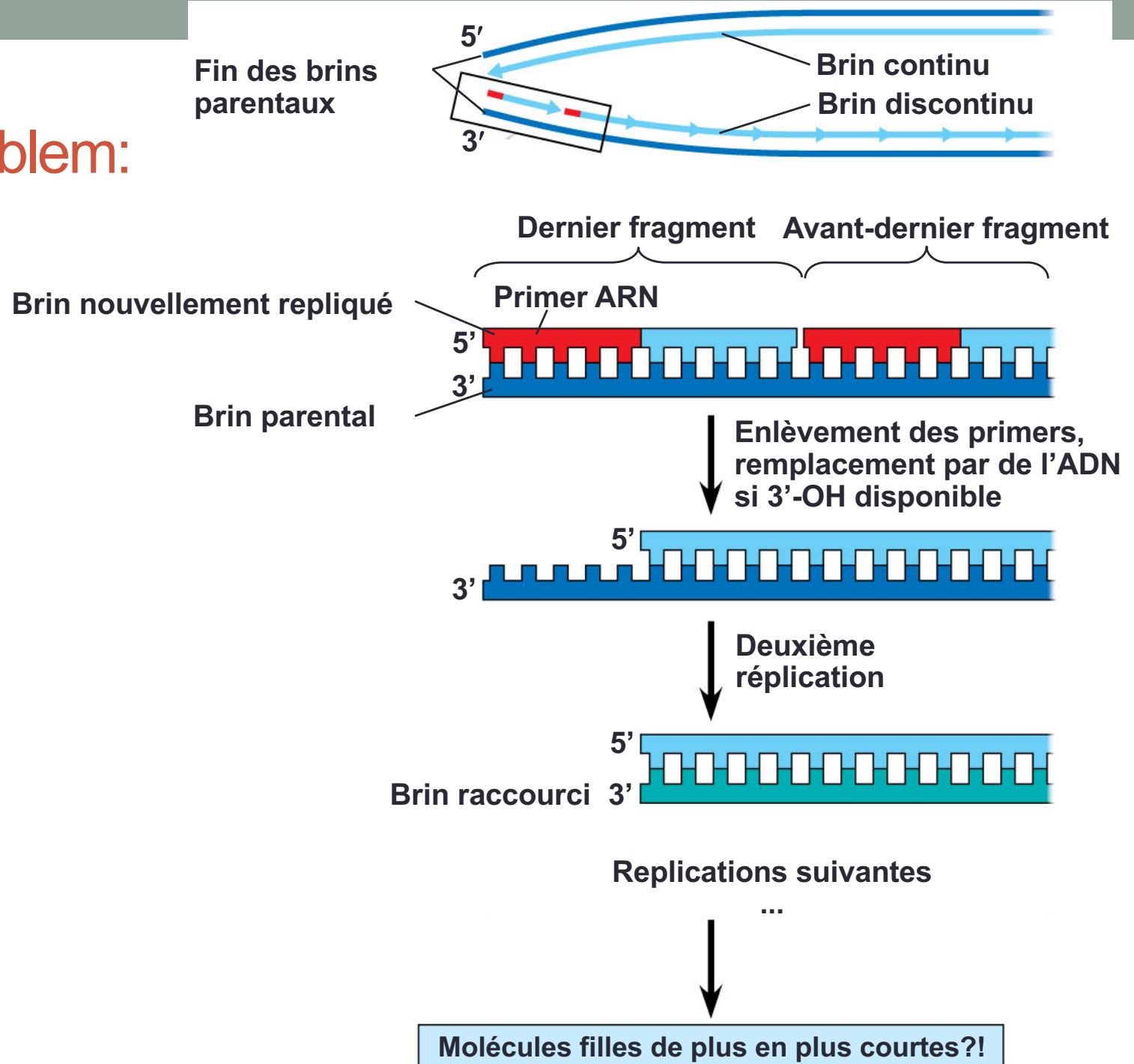
Topoisomérase

- Implications cliniques :
 - Les **inhibiteurs de topoisomérase I** sont utilisés comme antibiotiques
 - Parce que la Top I bactérienne est différente de la Top I eucaryotique
 - inhiber la croissance bactérienne
 - Les **inhibiteurs de topoisomérase I** sont utilisés comme traitements anti-cancéreux
 - Ex. doxorubicine
 - inhiber la croissance des cellules cancéreuses

Réplication de l'ADN : un autre problème

- **Que se passe-t-il à la fin des molécules d'ADN ?**
 - **Que se passe-t-il à l'extrémité 3' du brin discontinu?**

3' end problem:

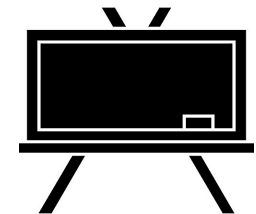
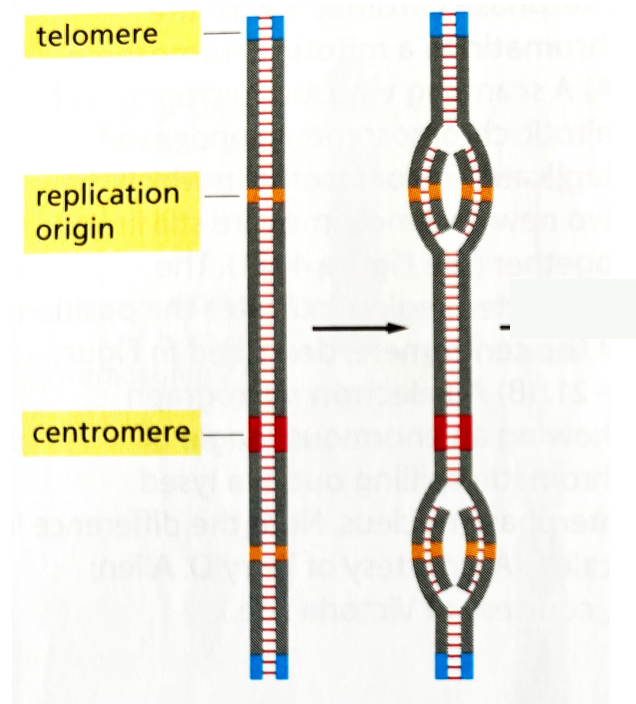




Elizabeth Blackburn

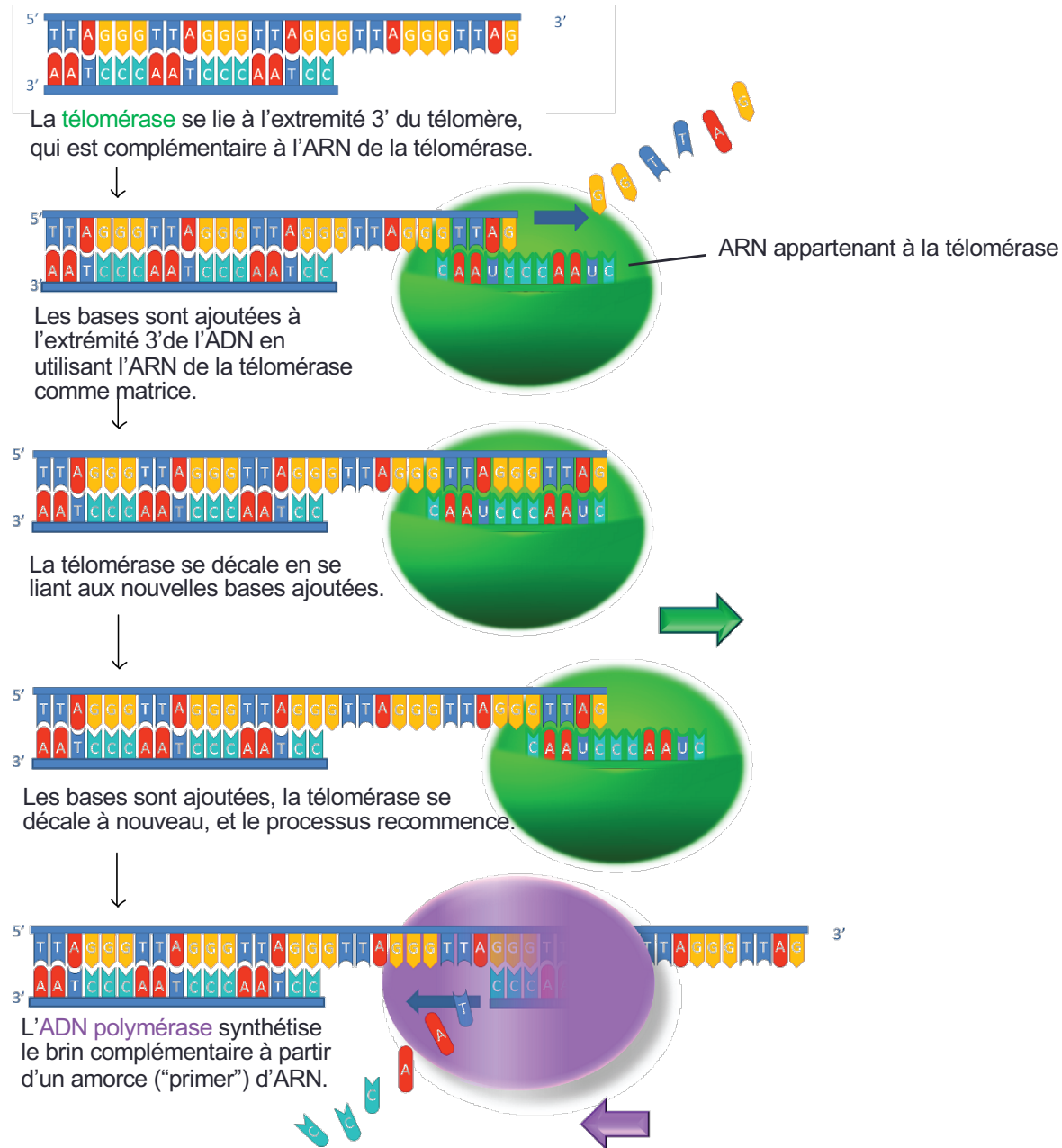
Solution: Les télomères

- une région hautement répétitive d'ADN (GGGTTA) à l'extrémité des chromosomes (Prix Nobel 2009)



Télomères et
télomérases

Les télomérases



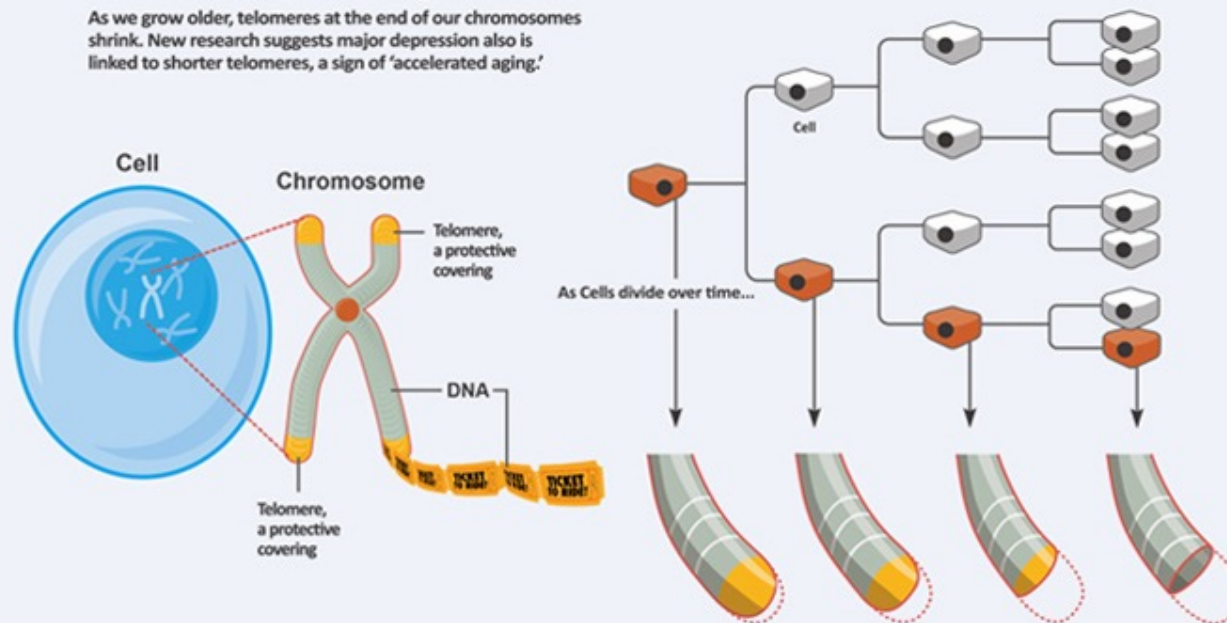
Phénomène du raccourcissement des télomères

- Dans la plupart des cellules somatiques, les télomérases sont inactives, et les télomères se raccourcissent progressivement. Ce phénomène s'appelle la **sénescence des cellules réplicatives**.
 - Dans les cellules souches et la plupart des cellules cancéreuses, les télomérases sont actives et maintiennent la longueur des télomères
- Est-ce que le raccourcissement des télomères serait responsable d'un **vieillissement non stochastique** ?

Raccourcissement des télomères et vieillissement

What We Lose With Age

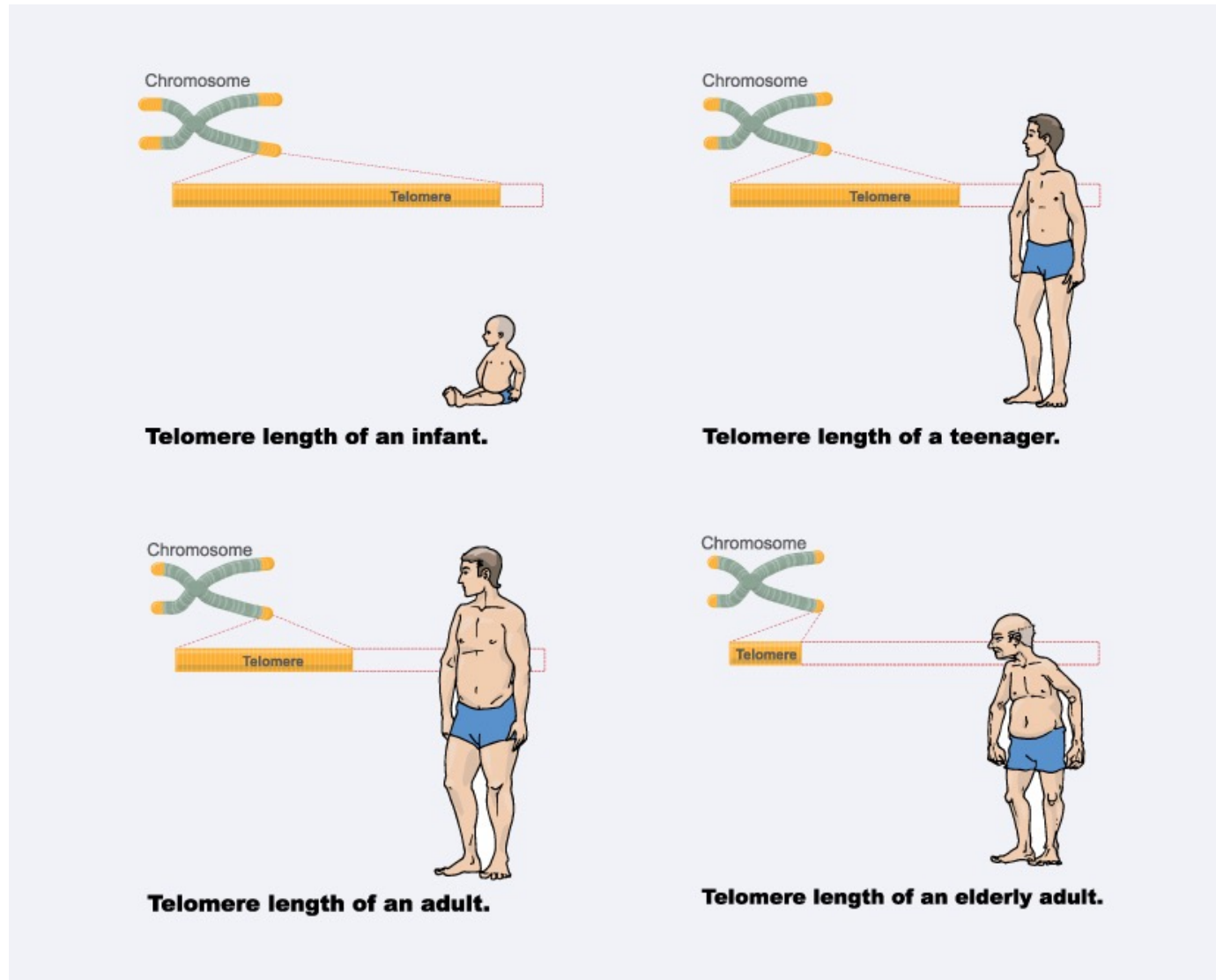
As we grow older, telomeres at the end of our chromosomes shrink. New research suggests major depression also is linked to shorter telomeres, a sign of 'accelerated aging.'



...telomeres shorten, and eventually cell division stops.

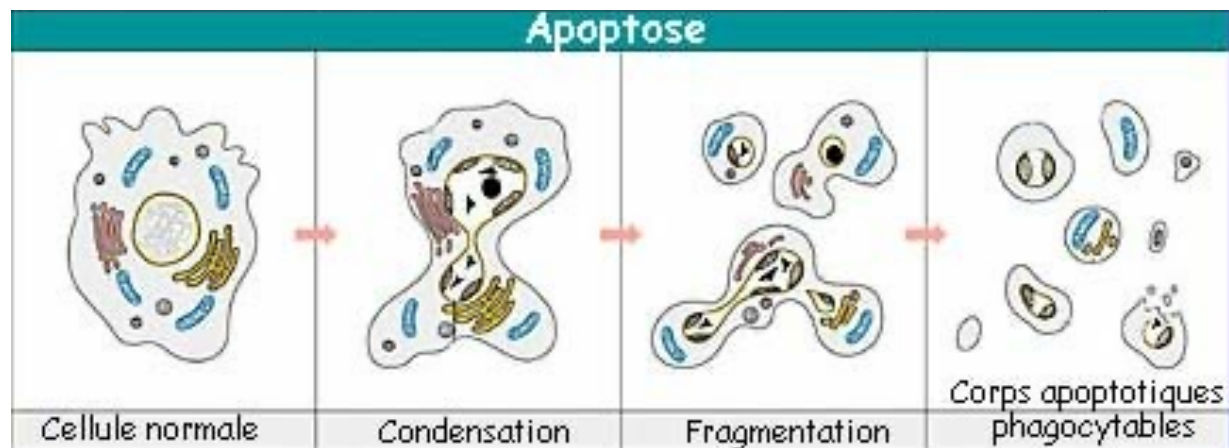
Source: WSI research

Raccourcissement des télomères et vieillissement



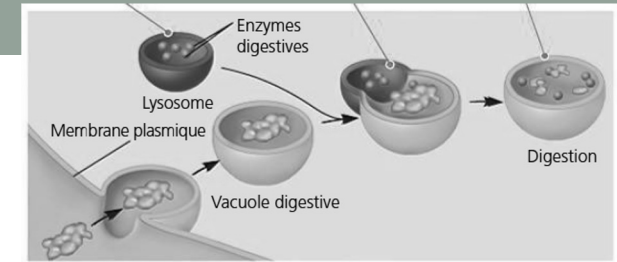
Théories non stochastiques du vieillissement

- Les théories non stochastiques considèrent le vieillissement comme une série d'événements prédéterminés qui se produisent dans un cadre temporel.
- Les cellules se divisent jusqu'à ce qu'elles ne puissent plus se diviser, après quoi l'infrastructure de la cellule reconnaît cette incapacité à se diviser davantage et déclenche la séquence d'**apoptose** (=mort de la cellule)

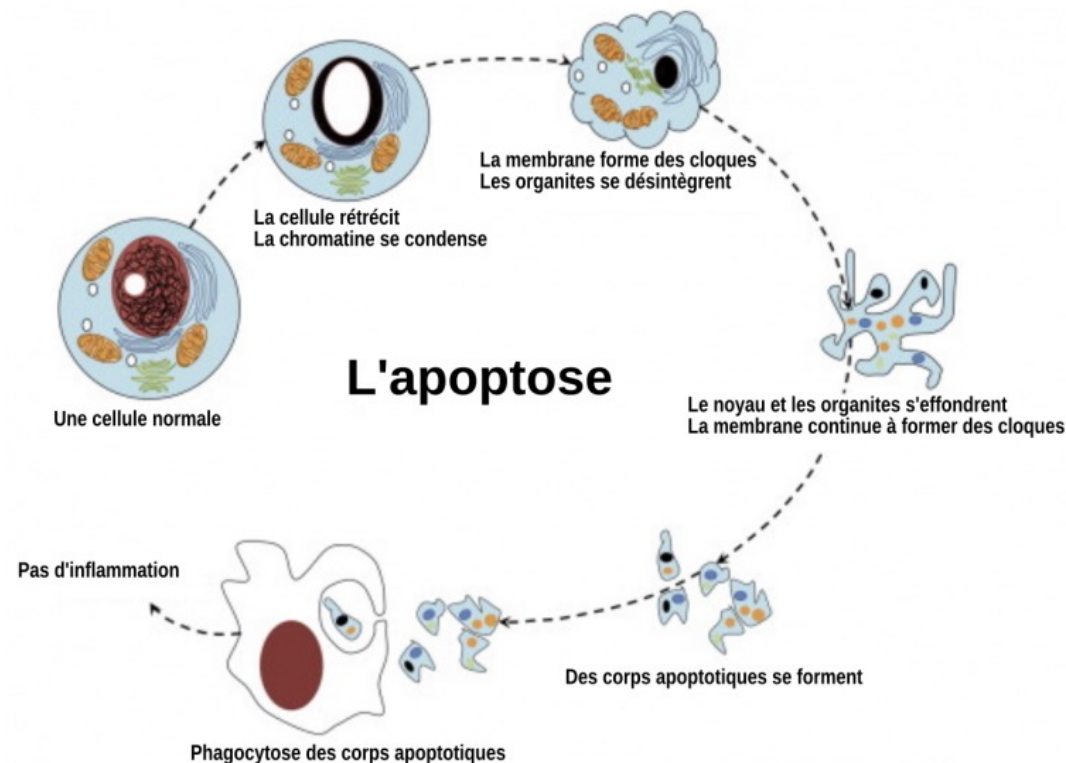


L'apoptose

- Mort cellulaire contrôlée
- Finit avec la **phagocytose** des cellules mortes

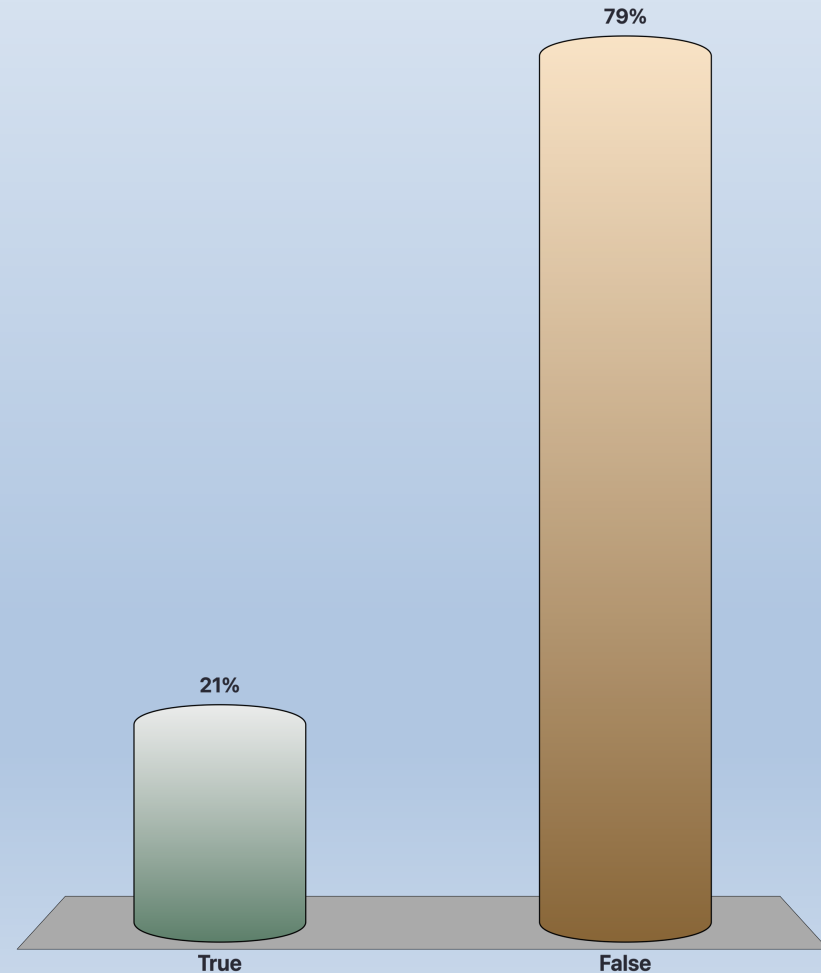
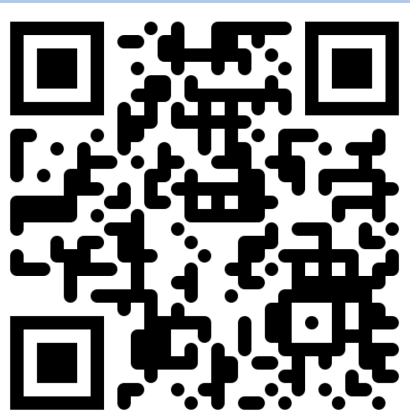


(a) Phagocytose : lysosome en train d'effectuer son travail de digestion



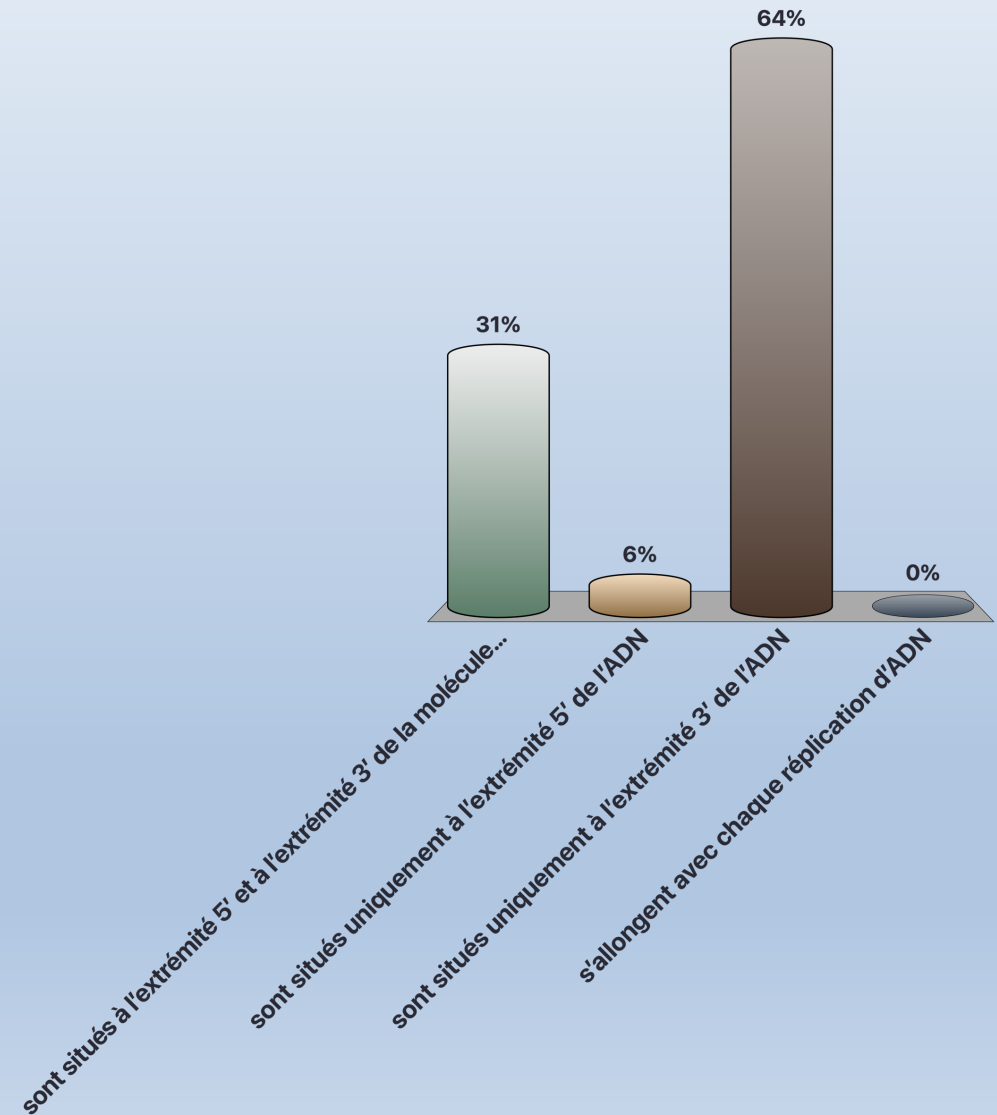
Au sein des topoisomérases on trouve une molécule d'ARN qui leur aide à reconnaître le morceau d'ADN à couper.

- A. True
- B. False



Les télomères...

- A. sont situés à l'extrémité 5' et à l'extrémité 3' de la molécule d'ADN
- B. sont situés uniquement à l'extrémité 5' de l'ADN
- C. sont situés uniquement à l'extrémité 3' de l'ADN
- D. s'allongent avec chaque réplication d'ADN



Réplication d'ADN

- 1) Mode de réplication
- 2) Réplication: Etape par étape
- 3) Où commencer?
- 4) Problèmes à résoudre lors de la replication
 - Stress torsionnel
 - Télomères
- 5) Théories du vieillissement

Vieillissement biologique

Théories stochastiques	Théories non stochastiques
Usure	Programmé (p.ex. télomères)
Radicaux libres	Horloges biologiques
Liaisons croisées	Neuroendocrine (p.ex. inflammation)
Mutations somatiques	Immunologique

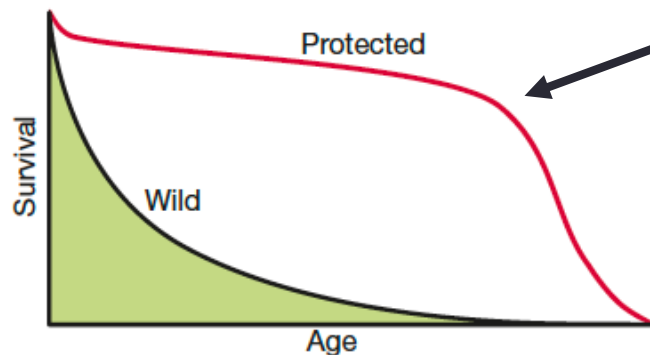
+ Théories évolutives du vieillissement

Théories évolutives

- Ici, nous nous intéressons à la question de savoir **pourquoi** le vieillissement existe, plutôt que **comment** nous vieillissons biologiquement parlant
- 3 théories :
 - 1) Accumulation des mutations
 - 2) Pléiotropie antagoniste
 - 3) Soma jetable

Théories évolutives

- Le vieillissement existe même dans un environnement (hypothétique) protégé



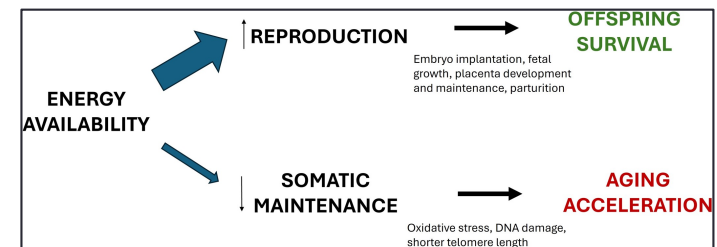
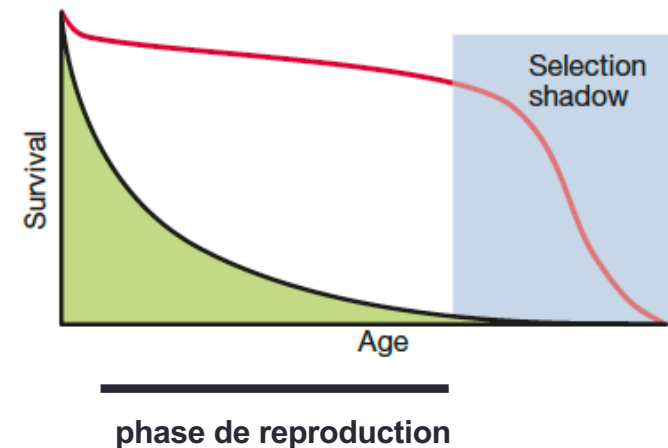
- Donc, la question est **pourquoi** ceci existe?

1) Théorie de l'accumulation des mutations

- La pression de sélection pour survivre diminue avec l'augmentation de la durée de vie:

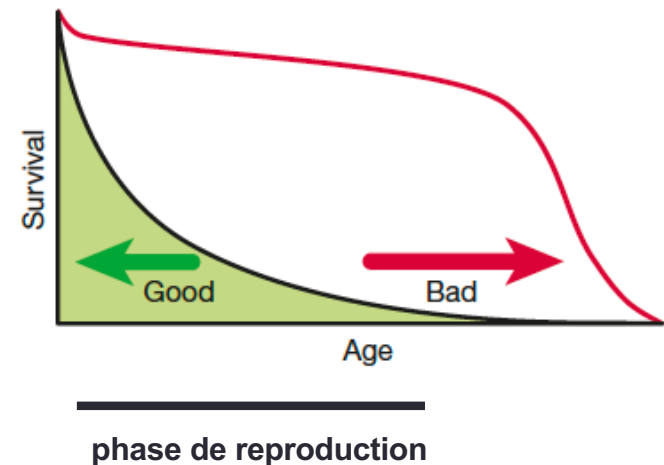
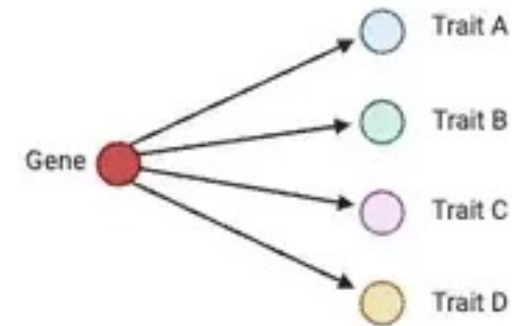
Pourquoi?

- Le but de la vie n'est pas la longévité, mais la reproduction
- Ainsi, il y a une « ombre de sélection » après avoir atteint l'âge de la reproduction, ce qui diminue la maintenance de la forme physique de l'organisme



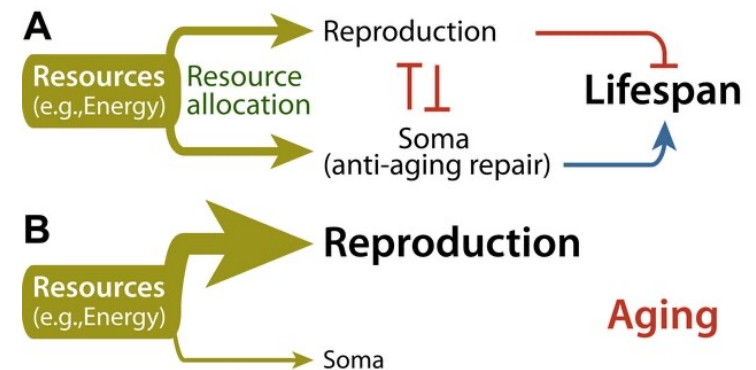
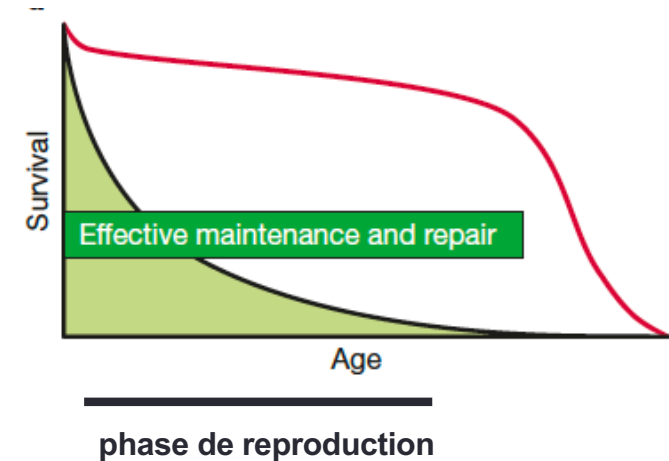
2) Théorie de la pléiotropie antagoniste

- **Pléiotropie** = Un seul gène contrôle plusieurs traits
- La présence d'un gène pourrait être bénéfique pour la capacité de reproduction, mais désavantageux/nuisible pour la survie



3) Théorie du soma jetable

- Le soma – par opposition à la lignée germinale – est jetable (il est à usage unique)
- Les ressources pour l'entretien et la réparation sont investies pendant la période de reproduction, mais pas au-delà

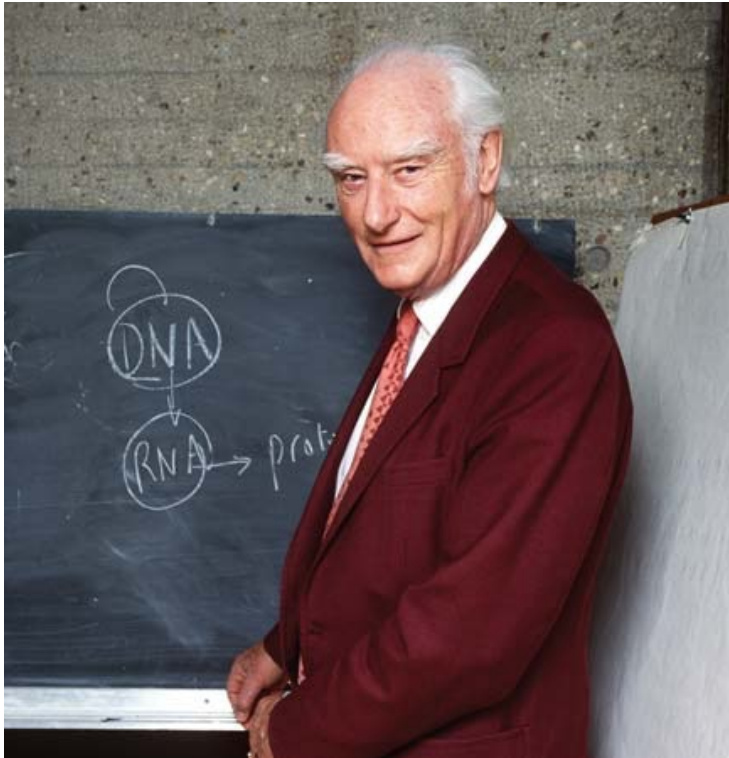


Mots clés:

réplication
vieillessement
brin
polymérase
télomère
discontinu
semi
amorce
antagoniste
primase
hélicase
conservatif
somat
mutations
jetable
topoisomérase
télomérase
ADN
Okazaki
tardif
précoce
pleiotropie
continuu
apoptose

Réplication

- **Objectifs d'apprentissage:**
 - Connaître le mode de réplication de l'ADN et l'expérience clé grâce à laquelle on l'a pu déterminer
 - Connaître la réplication de l'ADN étape par étape, avec les enzymes qui y sont impliquées
 - Comprendre le problème lié au stress de torsion ainsi que sa solution: Topoisomérases
 - Comprendre le « 3'-end problem » ainsi que sa solution: Télomères et télomérases
 - Être au courant des trois théories évolutives du vieillissement



Bonne chance pour la suite!