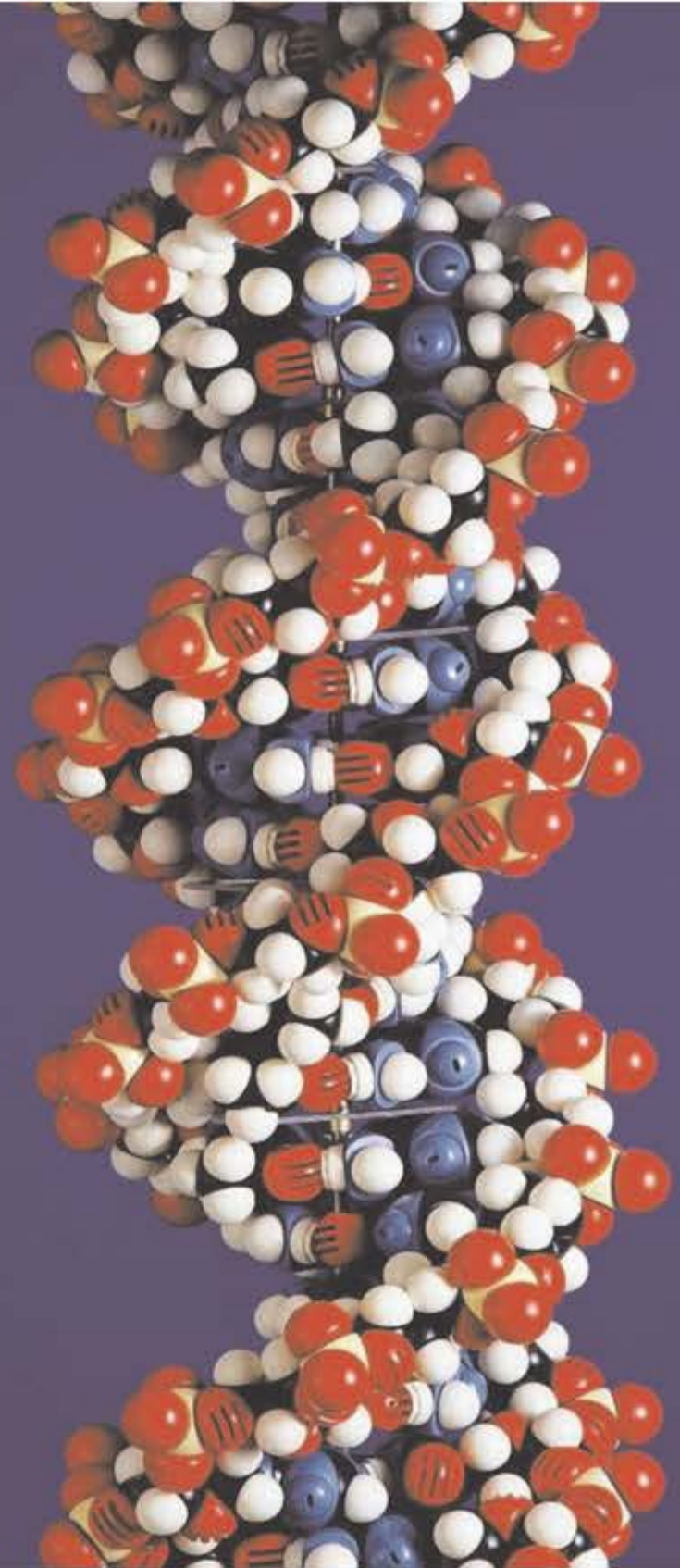


# CHAPITRE 14

## L'ADN : matériel génétique

### Aperçu du chapitre

- 14.1 Nature du matériel génétique
- 14.2 Structure de l'ADN
- 14.3 Caractéristiques générales de la réplication de l'ADN
- 14.4 La réplication chez les procaryotes
- 14.5 La réplication chez les eucaryotes
- 14.6 Réparation de l'ADN



### Introduction

La redécouverte de Mendel au début du vingtième siècle a conduit rapidement à la découverte des mécanismes génétiques décrits aux chapitres 12 et 13. Une question qui n'a pas reçu de réponse directe pendant plus de 50 ans était peut-être la plus simple. En quoi consistent en fait les gènes ? On savait les gènes localisés sur les chromosomes, mais ceux-ci sont des structures complexes formées d'ADN, ARN et protéines. Ce chapitre décrit la série d'expériences qui a conduit à ce que nous connaissons aujourd'hui de l'ADN, illustré ci-dessus, et des mécanismes moléculaires de l'hérédité. Ces expériences sont parmi les plus élégantes en science. La découverte de la structure de l'ADN était à l'origine d'une ère moléculaire dont les progrès ne font que s'accélérer.

### 14.1 Nature du matériel génétique

#### Objectifs

1. Décrire le phénomène de la transformation.
2. Évaluer la preuve que l'ADN représente le matériel génétique.

Dans les deux chapitres 12 et 13, nous avons étudié la nature de l'hérédité et la manière dont les gènes, qui possèdent l'information pour les caractères spécifiques, sont localisés sur les chromosomes. Nous en sommes arrivés à cette question : dans quelle partie du chromosome réside en fait l'information génétique ? Les biologistes se sont plus particulièrement interrogés sur l'identité chimique de cette information. Ils savaient que les chromosomes se composent principalement de protéine et d'ADN. De laquelle de ces deux molécules organiques sont effectivement composés les gènes ?

À partir de la fin des années 1920 et pendant une trentaine d'années, une série de recherches ont abordé cette question. L'ADN se compose de quatre nucléotides chimiquement proches. Par contre, les

protéines contiennent 20 acides aminés différents dont la diversité chimique est bien supérieure à celle des nucléotides. Ces caractéristiques semblaient a priori montrer une plus grande capacité d'information dans les protéines que dans l'ADN.

Cependant, les expériences ont bientôt donné des arguments en faveur de l'ADN. Dans cette section, nous allons décrire trois de ces découvertes fondamentales.

## Griffith découvre la possibilité de transformer les cellules bactériennes

Le premier indice apparut en 1928 avec le travail du microbiologiste britannique Frederick Griffith. Griffith était à la recherche d'un vaccin contre la grippe, que l'on pensait à l'époque provoquée par la bactérie *Streptococcus pneumoniae*. Il existe deux formes de cette bactérie : la forme normale virulente qui entraîne la pneumonie et une forme mutante, non virulente, qui ne la provoque pas. On parle de forme S pour désigner la forme pathogène normale de cette bactérie parce qu'elle forme des colonies lisses (*smooth*) sur un milieu de culture. La forme mutante, non virulente, ne possède pas l'enzyme indispensable à la synthèse de l'enveloppe polysaccharidique ; on parle de forme R parce qu'elle donne des colonies rugueuses (*rough*).

Griffith réalisa une série d'expériences simples en infectant des souris avec ces bactéries et en observant les symptômes (figure 14.1). Les souris infectées par la forme virulente mouraient de pneumonie, alors que l'injection de la forme R non virulente n'avait pas d'effet. L'enveloppe de polysaccharide était donc nécessaire à la virulence. Si la forme

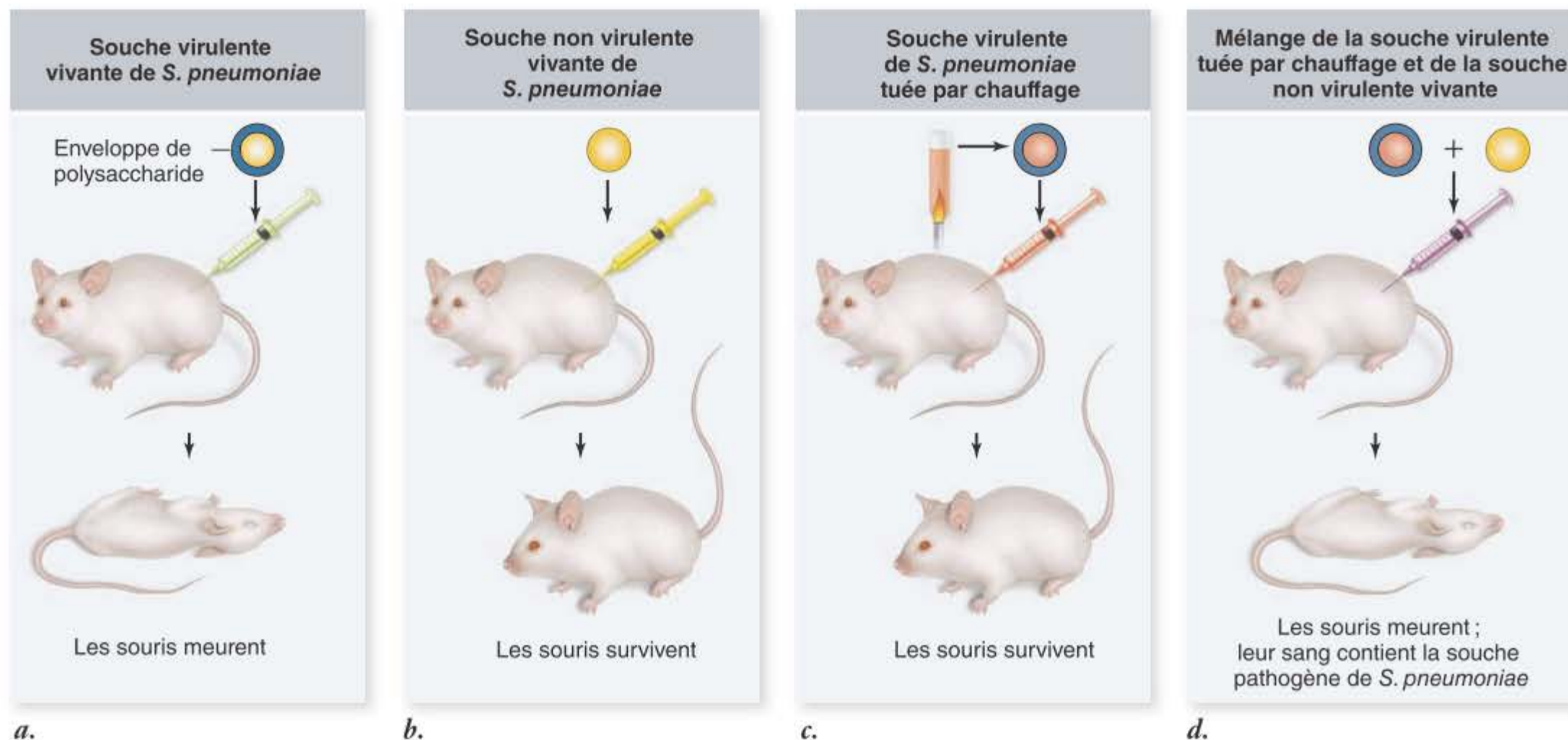
virulente S était d'abord tuée par la chaleur, les souris restaient en parfaite santé. Enfin, l'injection d'un mélange de la forme S tuée par la chaleur et de bactéries vivantes R entraînait la pneumonie et la mort des souris. On ne s'y attendait pas, aucun des traitements isolés n'entraînant la maladie. De plus, les poumons des souris mortes contenaient de grandes quantités de bactéries vivantes de la forme S.

D'une manière ou d'une autre, l'information spécifique pour l'enveloppe polysaccharidique était passée des bactéries virulentes S mortes aux bactéries R vivantes dépourvues d'enveloppe dans le mélange, transformant de façon permanente ces dernières en forme virulente S. Griffith appliqua, à ce transfert de virulence d'une cellule à une autre, le terme de **transformation**. Notre interprétation moderne est un transfert effectif de matériel génétique entre cellules.

## Avery, MacLeod et McCarty identifient l'agent transformant

L'agent responsable de la transformation de *Streptococcus* resta inconnu jusqu'en 1944. Dans une série classique d'expériences, Oswald Avery et ses collègues Colin MacLeod et Macllyn McCarty ont identifié la substance responsable de la transformation dans l'expérience de Griffith.

Ils préparèrent d'abord le mélange de *Streptococcus* S mort et de *Streptococcus* R vivant utilisé par Griffith. Ils éliminèrent les protéines de leur préparation aussi complètement que possible, pour arriver à une pureté de 99,98 %. En dépit de l'élimination de presque toutes les protéines, ils ne constatèrent aucune réduction de la transformation.



**Figure 14.1** Expérience de Griffith. Griffith essayait de trouver un vaccin contre la pneumonie et, au lieu de cela, il découvrit la transformation. *a.* L'injection, dans les souris, de bactéries virulentes entraîne la pneumonie. L'injection de bactéries non virulentes (*b*) ou de bactéries virulentes tuées par la chaleur (*c*) n'a pas de conséquences. *d.* Cependant, un mélange de bactéries virulentes tuées par la chaleur et de non virulentes vivantes entraînait la pneumonie chez les souris. Cela montrait que l'information génétique pour la virulence était transférée des cellules virulentes mortes aux cellules non virulentes vivantes et les transformait en cellules virulentes.

En outre, les propriétés de cette substance offraient plusieurs ressemblances avec celles de l'ADN :

1. La composition de la substance correspondait étroitement à celle de l'ADN.
2. À l'ultracentrifugation, le principe transformant migrerait au même niveau (densité) que l'ADN.
3. L'extraction des lipides et des protéines ne réduisait pas l'activité de transformation.
4. Les enzymes digérant les protéines ou les ARN ne réduisaient pas l'activité.
5. Les enzymes digérant l'ADN éliminaient toute activité de transformation.

Ces expériences prouvaient que l'ADN était la substance transférée entre cellules lors de la transformation et indiquaient que le matériel génétique était l'ADN, au moins dans cette espèce de bactérie.

## Hershey et Chase prouvent que le matériel génétique des phages est l'ADN

Les résultats d'Avery ne furent pas unanimement admis d'emblée, parce que beaucoup de biologistes persistaient à croire que les protéines repré-

sentaient le matériel génétique. Une preuve supplémentaire confortant la conclusion d'Avery fut donnée en 1952 par Alfred Hershey et Martha Chase, qui travaillaient sur des virus infectant les bactéries. Ce sont les **bactériophages** ou, plus simplement, les **phages**.

Les virus, décrits en détail au chapitre 27, sont beaucoup plus simples que les cellules ; ils sont composés d'un matériel génétique (ADN ou ARN) entouré d'une enveloppe de protéine. Quand un phage infecte une cellule bactérienne, il se fixe d'abord à sa surface externe, puis il injecte son information génétique à l'intérieur. Dès lors, l'information génétique utilise le système de traitement de l'information de la cellule pour fabriquer les protéines et produire des milliers de nouveaux virus. La synthèse des virus entraîne enfin la lyse de la cellule et la libération des nouveaux virus.

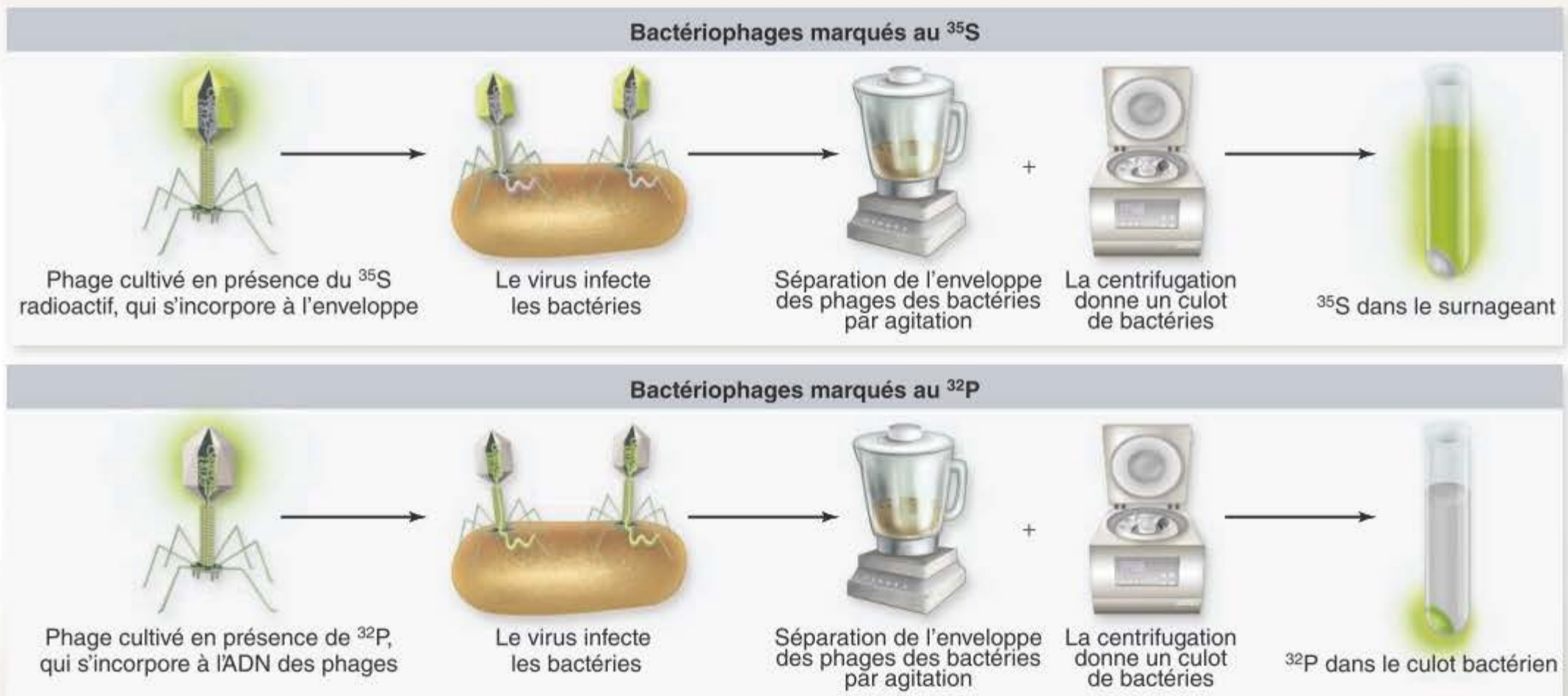
Le phage utilisé par Hershey et Chase ne contient que de l'ADN et des protéines ; c'est donc le système le plus simple possible pour distinguer le rôle de l'ADN et des protéines. S'ils pouvaient identifier la molécule injectée dans la cellule, ils pourraient identifier le matériel génétique du virus. Pour ce faire, ils devaient pouvoir marquer séparément l'ADN et les protéines. Les nucléotides contiennent du phosphore, mais pas les protéines, et certains acides aminés contiennent du soufre, mais pas l'ADN. L'isotope radioactif  $^{32}\text{P}$  marquera donc spécifiquement l'ADN et l'isotope  $^{35}\text{S}$  marquera les protéines. On peut faci-

### DÉMARCHE SCIENTIFIQUE

**Hypothèse:** l'ADN est le matériel génétique du bactériophage.

**Prédiction:** Le cycle vital du phage passe par une reprogrammation de la cellule pour la synthèse des protéines du phage. L'information nécessaire doit être introduite dans la cellule au cours de l'infection.

**Test:** On peut marquer spécifiquement l'ADN par un phosphate radioactif ( $^{32}\text{P}$ ) et les protéines par du soufre radioactif ( $^{35}\text{S}$ ). Le phage est cultivé sur  $^{35}\text{S}$  ou  $^{32}\text{P}$ , puis utilisé pour infecter des cellules dans deux expériences. Les têtes de phages restent fixés à l'extérieur de la cellule et il est possible de les éliminer par une courte agitation dans un mélangeur. On peut récolter la suspension cellulaire par centrifugation et laisser les têtes de phages dans le surnageant.



**Résultat:** Après l'expérience, seul le  $^{32}\text{P}$  se retrouve dans la cellule en quantité significative.

**Conclusion:** L'ADN doit donc être la molécule utilisée pour reprogrammer la cellule.

**Autres expériences:** En quoi cette expérience est-elle un complément ou une extension du travail d'Avery sur l'identité du principe transformant ?

**Figure 14.2** L'expérience de Hershey-Chase a montré que l'ADN est le matériel génétique des phages.

lement reconnaître ces deux isotopes par les particules émises par leur désintégration.

Deux expériences furent effectuées (figure 14.2). Dans la première, les virus furent cultivés sur un milieu (des bactéries) contenant  $^{32}\text{P}$ , et cet isotope s'incorpora à l'ADN. Dans l'autre, les virus furent cultivés en présence de  $^{35}\text{S}$ , qui s'incorpora aux protéines des enveloppes. On infecta ensuite des cultures de bactéries par les deux groupes de virus marqués.

Après l'infection, la suspension de cellules bactériennes fut secouée dans un mélangeur pour séparer les particules virales infectantes de la surface des bactéries. On s'assurait ainsi de ne détecter que la partie du virus injectée dans les cellules bactériennes – c'est-à-dire le matériel génétique.

Après centrifugation des deux suspensions bactériennes, les culots furent analysés. Dans l'expérience avec  $^{32}\text{P}$ , on a trouvé une grande quantité de phosphore radioactif dans le culot de cellules mais, dans l'expérience avec le  $^{35}\text{S}$ , il y avait très peu de soufre radioactif (voir figure 14.2). Hershey et Chase en déduisirent que l'information héréditaire injectée dans les bactéries était de l'ADN et non de la protéine.

### Questions d'apprentissage 14.1

Les expériences avec des bactéries responsables de la pneumonie ont montré que la virulence pouvait être transmise d'une cellule à l'autre : c'est la transformation. Quand on a purifié le facteur responsable de la transformation, on a montré que c'était l'ADN. Les expériences de marquage des phages aussi ont montré que le matériel génétique se composait d'ADN et non de protéine.

- Pourquoi les protéines étaient-elles un bon candidat comme matériel génétique ?

## 14.2 Structure de l'ADN

### Objectifs

1. Expliquer comment la structure de Watson-Crick rassemblait de façon cohérente les données dont ils disposaient.
2. Montrer ce qu'implique la complémentarité pour la structure et la fonction de l'ADN.

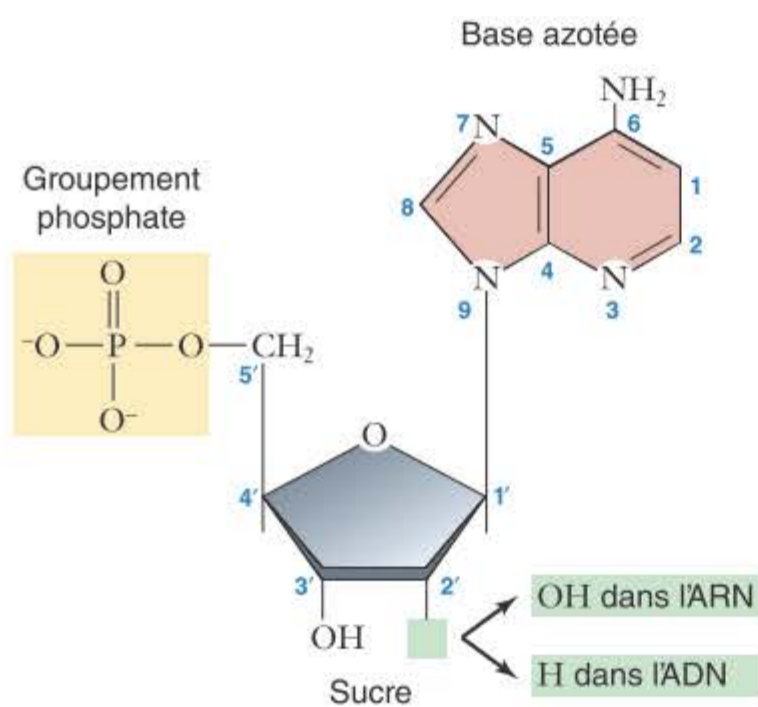
Un chimiste suisse, Friedrich Miescher, découvrit l'ADN en 1869, quatre ans seulement après la publication des travaux de Mendel – il est cependant peu probable que Miescher ait eu connaissance des expériences de Mendel.

Miescher avait extrait une substance blanche des noyaux de cellules humaines et du sperme de poisson. Le rapport entre l'azote et le phosphore de cette substance était différent de celui de tous les autres constituants connus des cellules et Miescher était donc convaincu d'avoir découvert une nouvelle substance biologique. Il nomma cette substance « nucléine » parce qu'elle semblait spécifiquement associée au noyau. Cette nucléine étant légèrement acide, on l'appela ensuite *acide nucléique*.

### On connaissait les composants de l'ADN, mais sa structure tridimensionnelle restait un mystère

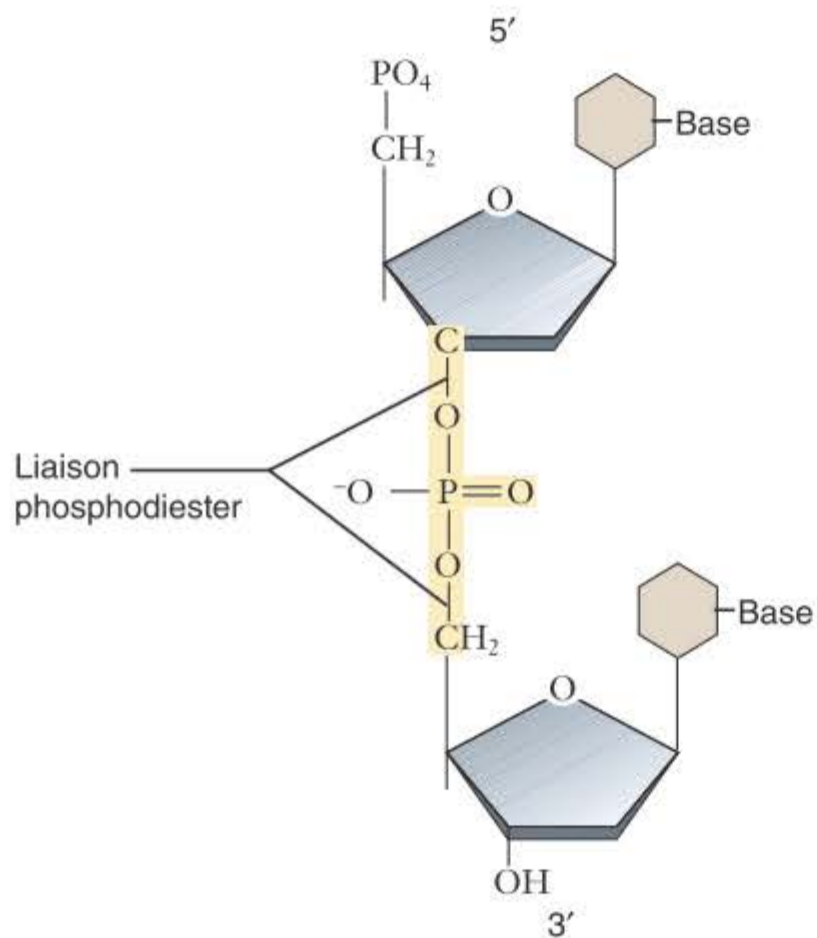
On n'a pas élucidé la structure tridimensionnelle de l'ADN avant Watson et Crick, mais on savait qu'il contenait trois composants :

1. un sucre à cinq carbones
2. un groupement phosphate ( $\text{PO}_4$ )



Base azotée		
Purines		Adénine
		Guanine
Pyrimidines		Cytosine (ADN et ARN)
		Thymine (ADN seulement)
		Uracile (seulement ARN)

**Figure 14.3** Sous-unités nucléotidiques de l'ADN et de l'ARN. Les sous-unités nucléotidiques de l'ADN et de l'ARN sont composées de trois éléments : un sucre à cinq carbones (désoxyribose dans l'ADN et ribose dans l'ARN), un groupement phosphate et une base azotée (une purine ou une pyrimidine).



**Figure 14.4** Une liaison phosphodiester.

- une base azotée. La base peut être une **purine** (adénine, représentée par A, ou cytosine, C), structure à deux cycles, ou une **pyrimidine** (thymine, T ou cytosine, C), structure à un seul cycle. Dans l'ARN, l'uracile (U) remplace la thymine.

Nous devons pouvoir nous référer sans ambiguïté aux différents atomes de carbone d'un nucléotide. Par convention, les numéros attribués aux carbones du sucre portent l'apostrophe (') pour les distinguer des numéros des atomes de carbone des bases. Dans les riboses des acides nucléiques, quatre atomes de carbone et un atome d'oxygène forment un anneau. Comme le montre la figure 14.3, les atomes de carbone sont numérotés de 1' à 5', en allant dans le sens des aiguilles d'une montre à partir de l'atome d'oxygène.

Avec ce système de numérotation, le groupement phosphate est fixé à l'atome de carbone 5' du sucre et la base est fixée à l'atome de carbone 1'. De plus, un groupement hydroxyle ( $-OH$ ) est fixé à l'atome de carbone 3'.

On peut unir les monomères de nucléotides par une réaction de condensation impliquant le phosphate 5' d'un nucléotide et l'hydroxyle de l'autre. Cette liaison est appelée une liaison **phosphodiester** parce que le groupement phosphate est ainsi uni aux deux sucres par une paire de liaisons ester (figure 14.4). Plusieurs milliers de nucléotides peuvent s'unir par ces liaisons et former de longs polymères d'acides nucléiques.

Quelle que soit leur longueur, les brins linéaires d'ADN ou d'ARN auront toujours un groupement phosphate 5' libre à une extrémité et un groupement hydroxyle 3' à l'autre. Toutes les molécules d'ADN ou d'ARN possèdent donc une polarité intrinsèque et l'on peut reconnaître les deux extrémités sans ambiguïté possible.

## Chargaff, Franklin et Wilkins ont obtenu des résultats sur la structure

Pour comprendre le modèle proposé par Watson et Crick, nous devons voir les données dont ils disposaient pour construire ce modèle.

### Les lois de Chargaff

Une étude soignée, menée par Erwin Chargaff, montrait que la composition nucléotidique des molécules d'ADN variait de façon complexe, en fonction de l'origine de l'ADN. Il semblait donc bien que l'ADN n'était pas un simple polymère répétitif et que ses propriétés étaient susceptibles de coder l'information requise d'un matériel héréditaire. Cependant, malgré la complexité de la molécule, Chargaff observait une grande régularité dans le rapport entre les bases de l'ADN natif : *la quantité d'adénine présente dans l'ADN est toujours égale à la quantité de thymine et la quantité de guanine est toujours égale à la quantité de cytosine*. Ces deux découvertes sont souvent désignées comme les *lois de Chargaff* :

- La proportion de A est toujours égale à celle de T et la proportion de G toujours égale à celle de C, ou :  $A = T$  et  $G = C$
- Le rapport entre G-C et A-T diffère selon les espèces.

Les arguments en faveur du rôle de l'ADN comme source d'information héréditaire s'accumulant, les chercheurs ont commencé à rechercher comment une molécule d'apparence aussi simple pouvait supporter une fonction de codage aussi complexe.

### Les spectres de diffraction des rayons X de l'ADN

La technique de diffraction des rayons X donne des informations plus directes sur la structure potentielle de l'ADN. Dans cette technique, des cristaux d'une molécule sont bombardés par un faisceau de rayons X. Les rayons sont déviés (diffractés) par les molécules rencontrées et le spectre de diffraction est enregistré sur un film photographique. Les spectres de diffraction rappellent les rides produites par une pierre tombant dans une eau calme. L'analyse mathématique d'un spectre de diffraction peut donner des informations sur la structure tridimensionnelle de la molécule.

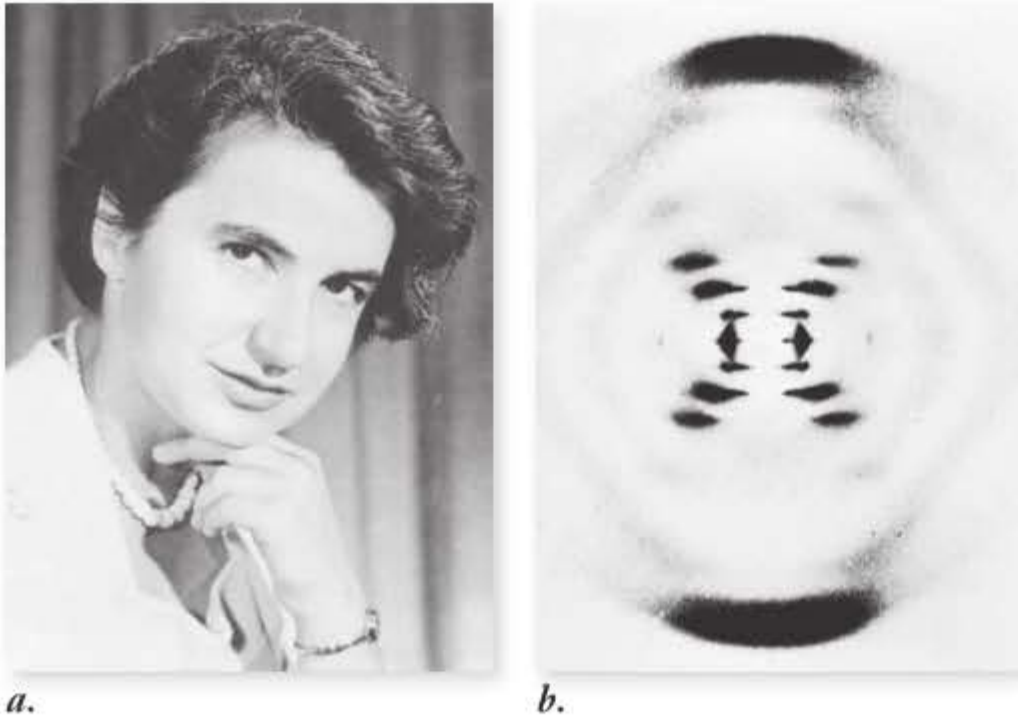
L'application de cette technique posait problème avec l'ADN parce que, en 1950, il n'était pas possible d'obtenir de véritables cristaux d'ADN naturel. Cependant, le chercheur britannique Maurice Wilkins avait réussi à préparer des fibres d'ADN orientées uniformément et, avec son étudiant Ray Gosling, il parvint à obtenir un premier résultat de diffraction brut à partir d'ADN naturel en 1950. Les premières photos en rayons X suggéraient que la molécule d'ADN avait une forme hélicoïdale.

La chimiste britannique Rosalind Franklin (figure 14.5a) a poursuivi ce travail et perfectionné la technique pour obtenir des figures plus « claires » des fibres d'ADN orientées. Les meilleures figures (figure 14.5b) confirmaient que l'ADN forme une hélice et permettaient de calculer les dimensions de la molécule, avec un diamètre d'environ 2 nm et une spire complète de 3,4 nm.

### Les formes tautomères des bases

Une donnée importante pour Watson et Crick était la forme des bases elles-mêmes. À cause de l'alternance des liaisons doubles et simples dans les bases, il existe en réalité un équilibre entre deux formes différentes en solution. Ces formes différentes sont en rapport avec les groupements céto ( $C=O$ ) ou éno ( $C-OH$ ) et amino ( $-NH_2$ ) ou imino ( $=NH$ ) liés aux bases. Ces formes structurales sont des *tautomères*.

Cette distinction est importante parce que les deux formes ont des liaisons hydrogène très différentes. Les formes prédominantes



**Figure 14.5** La diffraction des rayons X de Rosalind Franklin. *a.* Rosalind Franklin. *b.* Cette photographie illustrant la diffraction des rayons X par des fibres d'ADN, réalisée en 1953 par Rosalind Franklin, a été considérée comme montrant la structure hélicoïdale de l'ADN.

des bases possèdent les groupements céto et amino (voir figure 14.3), mais un texte de biochimie important de l'époque donnait en fait l'information contraire, et incorrecte. La légende dit que Watson eut connaissance des formes correctes alors qu'il déjeunait avec un ami biochimiste.

## Le modèle de Watson-Crick est en accord avec les données disponibles

Ayant eu fortuitement connaissance des résultats de Franklin avant leur publication en 1953, le chimiste américain James Watson et le biologiste moléculaire anglais Francis Crick, deux jeunes chercheurs de l'Université de Cambridge, eurent tôt fait de résoudre la structure probable de la molécule d'ADN (figure 14.6), et nous savons aujourd'hui qu'elle était fondamentalement exacte. De leur propre chef, Watson et Crick n'effectuèrent aucune expérience sur la structure de l'ADN ; mais ils édifièrent des modèles moléculaires précis en se basant sur les données disponibles.

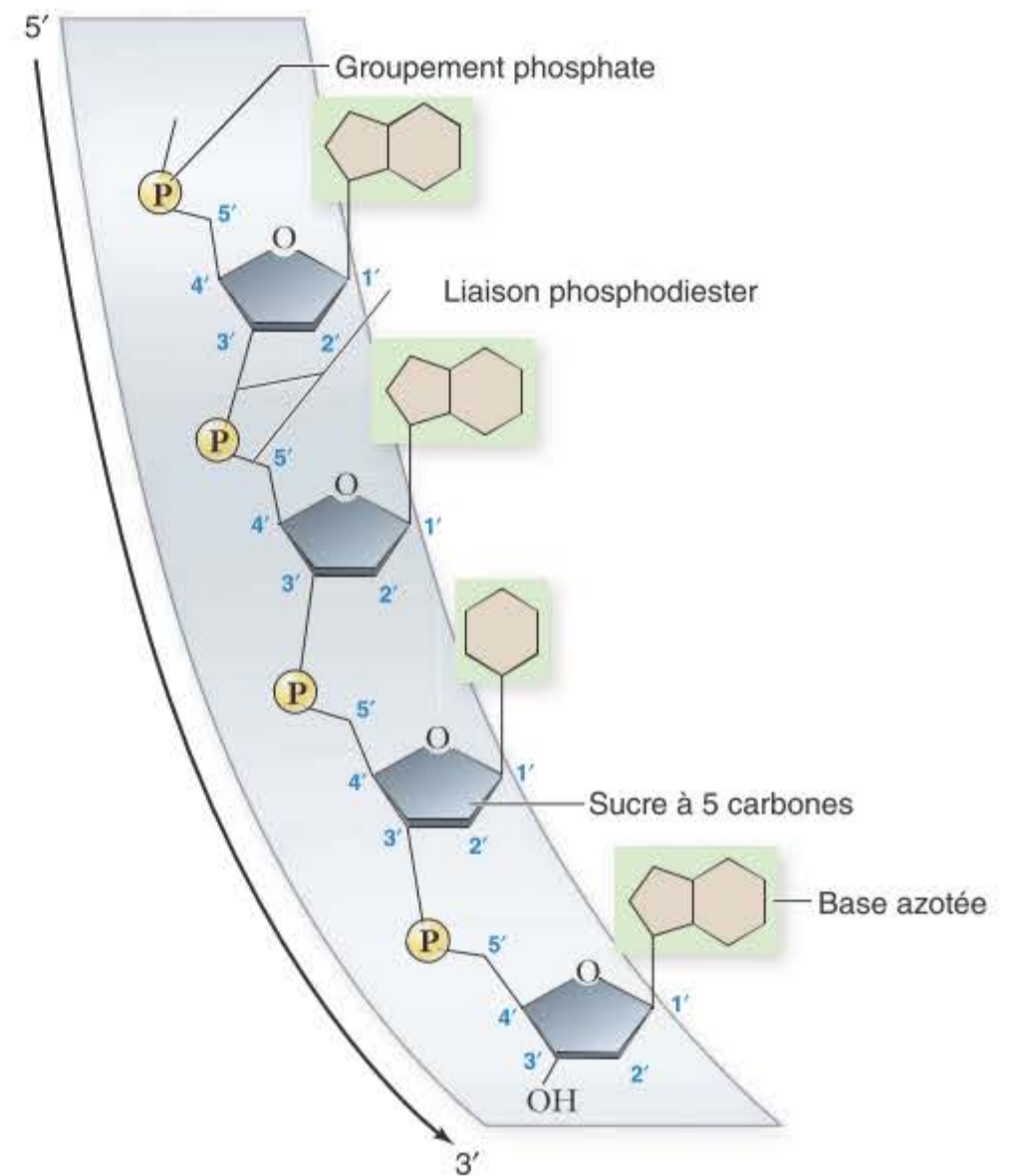
La clé de leur modèle était le fait qu'ils avaient compris que chaque molécule d'ADN est en réalité formée de *deux* chaînes de nucléotides entrelacées – la double hélice.

### L'épine dorsale phosphodiester

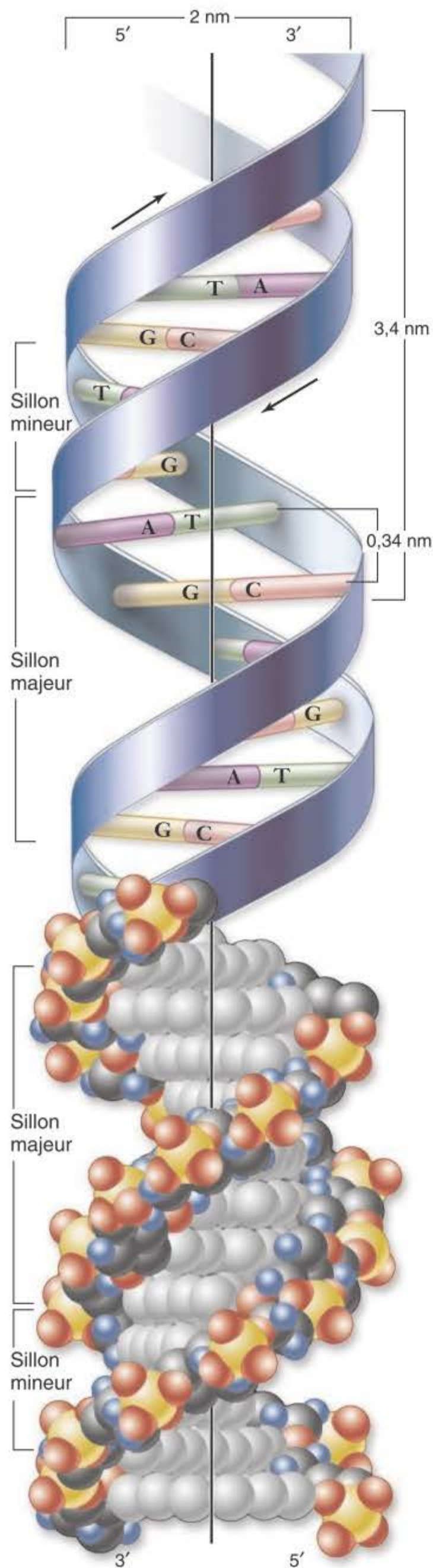
Comme nous l'avons déjà vu dans cette section, la double hélice est composée de longs polymères de nucléotides, chaque brin est formé d'une succession d'unités sucre et phosphate unies par des liaisons phosphodiester. Ces deux brins sont ensuite enroulés autour d'un axe commun et forment une double hélice (figure 14.7). On parle de l'*épine dorsale phosphodiester* de la molécule. Les deux brins de cette épine dorsale s'enroulent ensuite autour d'un axe commun et forment une double hélice (figure 14.8). On compare souvent cette hélice à un escalier en spirale dont les deux brins de la double hélice sont les rampes.



**Figure 14.6** La double hélice d'ADN. En 1953, James Watson (à gauche) et Francis Crick (à droite) ont découvert la structure de l'ADN en se basant sur les lois de Chargaff, la connaissance des formes tautomériques des bases et sur les expériences de diffraction de Franklin.



**Figure 14.7** Structure d'un brin isolé d'ADN. L'épine dorsale phosphodiester est formée d'une alternance de groupements sucre et phosphate. Les bases sont fixées à chaque sucre.



**Figure 14.8** La double hélice. Elle est représentée ici avec l'épine dorsale phosphodiester sous la forme d'un ruban au-dessus et d'un espace plein en dessous. Les bases sont à l'intérieur de l'hélice et elles y sont retenues par leur appariement. L'épine dorsale forme deux sillons, un majeur et un mineur.

### Complémentarité des bases

Watson et Crick supposaient que les deux brins sont maintenus par la formation de liaisons hydrogène entre leurs bases. Ces liaisons produiraient des **paires de bases** spécifiques : l'adénine (A) peut former deux liaisons hydrogène avec la thymine (T) et donner une paire de bases A-T, et la guanine (G) peut former trois liaisons hydrogène avec la cytosine (C) pour donner une paire de bases G-C (figure 14.9).

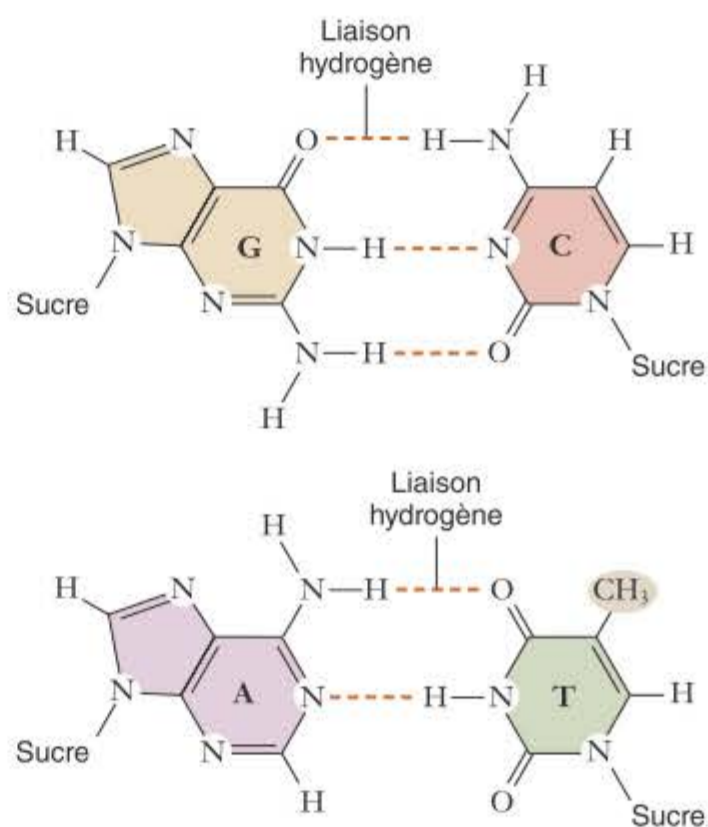
Il faut noter que, dans les deux cas, cette configuration réunit également une purine comportant deux cycles et une pyrimidine à un seul cycle, en sorte que le diamètre des deux paires de bases est identique. Les résultats de la diffraction des rayons X prévoient ce diamètre régulier.

Nous considérons cette disposition des bases comme *complémentaire*, ce qui signifie que, sans être identiques, chacun des deux brins peut servir à spécifier l'autre par l'appariement des bases. Si la séquence d'un brin est ATGC, la séquence complémentaire doit être TACG. Dans la suite de ce chapitre, nous verrons que cette caractéristique devient essentielle pour la réplication et l'expression de l'ADN.

Le modèle de Watson-Crick permettait d'expliquer les résultats de Chargaff : dans une double hélice, l'adénine forme deux liaisons hydrogène avec la thymine, mais elle ne peut former de liaisons hydrogène appropriées avec la cytosine. De même, la guanine formera trois liaisons hydrogène avec la cytosine, mais pas avec la thymine. En raison de cet appariement des bases, l'adénine et la thymine seront toujours présentes dans le même rapport dans toutes les molécules d'ADN, de même que la guanine et la cytosine.

### Configuration antiparallèle

On a déjà vu qu'un brin photodiester isolé possède une polarité intrinsèque : une de ses extrémités se termine par un - OH 3' et



**Figure 14.9** L'appariement des bases relie les deux brins. Les liaisons hydrogène entre A et T et entre G et C sont représentées par des traits interrompus. Ils forment les paires de bases AT et GC qui réunissent les deux brins. C'est toujours une association d'une purine et d'une pyrimidine et le diamètre de la double hélice reste ainsi constant.



**Analyse des données** Expliquez comment le modèle de Watson-Crick tient compte des données présentées dans le texte ?

l'autre par un  $-PO_4$  5'. Nous considérons donc que ce brin possède une polarité allant de 5' à 3' ou de 3' à 5'. Il existe deux moyens d'associer deux brins : avec la même polarité dans les deux (parallèle) ou avec une polarité opposée (antiparallèle). L'ADN bicaténaire natif a toujours une configuration antiparallèle, l'un des brins allant de 5' à 3' et l'autre de 3' à 5' (voir figure 14.8). Outre sa complémentarité, cette disposition a des conséquences importantes pour la réplication de l'ADN.

### La molécule d'ADN de Watson-Crick

Dans le modèle de Watson et Crick, chaque molécule d'ADN se compose de deux brins phosphodiester enroulés en hélice autour d'un axe commun, les bases étant orientées vers l'axe de l'hélice. La séquence des bases est complémentaire sur les deux brins, et les paires de bases ainsi formées unissent les deux brins. Chaque brin possède en outre une polarité, avec une extrémité 5' et une extrémité 3', et ils sont orientés dans des sens opposés (antiparallèles) (voir figures 14.8 et 14.9).

L'énergie d'une liaison hydrogène est faible, mais la somme des milliers, ou des millions de ces liaisons est à l'origine d'une molécule très stable. Cela signifie aussi que des régions de la molécule d'ADN peuvent être « ouvertes » sans affecter la stabilité de l'ensemble de la molécule, chose très importante pour son fonctionnement.

Le modèle de Watson-Crick donnait de l'ADN une structure raisonnable, mais les chercheurs devaient se poser d'autres questions sur sa réplication, étape cruciale de la division cellulaire, ainsi que sur la façon dont les cellules pouvaient réparer l'ADN endommagé ou modifié. Nous envisagerons ces questions dans la suite de ce chapitre. (Dans le chapitre 15, nous poursuivrons avec le code génétique et son rapport avec la synthèse des protéines).

#### Questions d'apprentissage 14.2

Chargaff a montré que, dans l'ADN, il y a autant d'adénine que de thymine et autant de guanine que de cytosine. Les travaux de diffraction des rayons X de Franklin et Wilkins ont indiqué que l'ADN formait une hélice. Watson et Crick ont construit un modèle comportant deux brins antiparallèles enroulés en hélice autour d'un axe commun. Les deux brins sont unis par des liaisons hydrogène entre les bases : l'adénine s'apparie à la thymine et la guanine à la cytosine. Les deux brins sont donc complémentaires.

- Pourquoi était-il essentiel de connaître la forme tautomérique des bases ?

## 14.3 Caractéristiques générales de la réplication de l'ADN

### Objectifs

1. Illustrer les produits de la réplication semi-conservative
2. Décrire les exigences de la réplication de l'ADN.

La réplication correcte de l'ADN avant la division cellulaire est fondamentale et cruciale. Les travaux ont montré que ce processus complexe exige la participation de nombreuses protéines cellulaires. Avant de pouvoir examiner ces détails, cependant, les généticiens devaient s'attaquer à certains mécanismes fondamentaux.

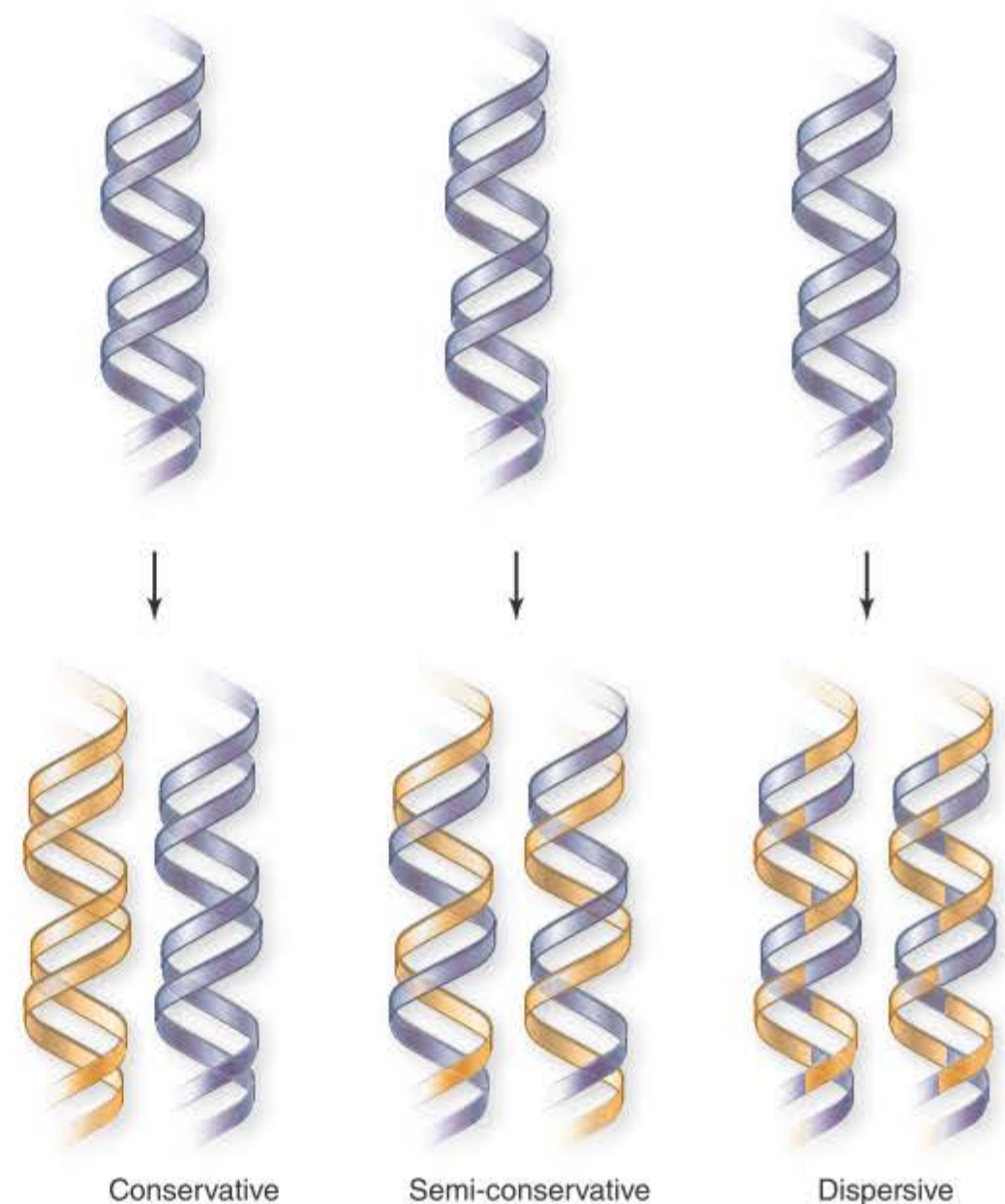
### Meselson et Stahl démontrent le mécanisme semi-conservatif

Le modèle de Watson-Crick suggéra aussitôt que la complémentarité était à la base de la reproduction de l'information génétique. La séquence des bases d'une chaîne de la molécule d'ADN peut être quelconque, mais elle détermine totalement la séquence de sa partenaire dans le duplex.

Lors de la réplication, la séquence des brins parentaux doit être dupliquée dans les brins fils. Il faut donc que l'hélice parentale à deux brins donne deux hélices et quatre brins. Les deux molécules filles se séparent ensuite au cours de la division cellulaire.

Trois types de réplication de l'ADN sont possibles (figure 14.10) :

1. Dans un *modèle conservatif*, les deux brins du duplex parental restent intacts (sont conservés) et les nouvelles copies d'ADN sont des molécules entièrement nouvelles. Leurs deux brins seraient des molécules nouvelles.



**Figure 14.10** Trois modèles possibles pour la réplication de l'ADN. Le modèle conservatif produit une molécule entièrement nouvelle et conserve l'ancienne. Le modèle semi-conservatif donne deux molécules hybrides avec un brin ancien et un nouveau. Le modèle dispersif produit des molécules hybrides dont tous les brins sont un mélange d'ancien et de nouveau.

2. Dans un *modèle semi-conservatif*, un brin du duplex parental reste intact ; un nouveau brin complémentaire est synthétisé pour chaque brin parental. Les duplex comprendraient un brin parental et un nouveau.
3. Dans un *modèle dispersif*, les copies d'ADN seraient des mélanges de brins parentaux et nouveaux ; après la réplication, le nouvel ADN serait donc dispersé dans les deux brins de chaque molécule fille.

Notez que ces trois modèles suggèrent des mécanismes généraux de réplication, sans préciser aucun détail du processus.

### L'expérience de Meselson-Stahl

Les trois hypothèses concernant la réplication de l'ADN furent testées en 1958 par Matthew Meselson et Franklin Stahl. Pour faire le choix entre ces modèles, ils marquèrent l'ADN, puis le suivirent pendant deux cycles de réplication (figure 14.11).

Le marquage utilisé par Meselson et Stahl n'était pas un isotope radioactif, mais un isotope lourd de l'azote, ( $^{15}\text{N}$ ). Les molécules contenant  $^{15}\text{N}$  sont plus denses que celles qui contiennent l'isotope commun  $^{14}\text{N}$ . On peut séparer des molécules de densités différentes par ultracentrifugation.

Des bactéries ont été cultivées dans un milieu contenant  $^{15}\text{N}$ , qui s'est incorporé aux bases de leur ADN. Après plusieurs générations, l'ADN de ces bactéries était plus dense que celui des bactéries cultivées sur un milieu contenant le  $^{14}\text{N}$  habituellement disponible. Meselson et Stahl transfèrent ensuite les bactéries du milieu  $^{15}\text{N}$  au milieu  $^{14}\text{N}$  et prélevèrent l'ADN à des intervalles de temps différents.

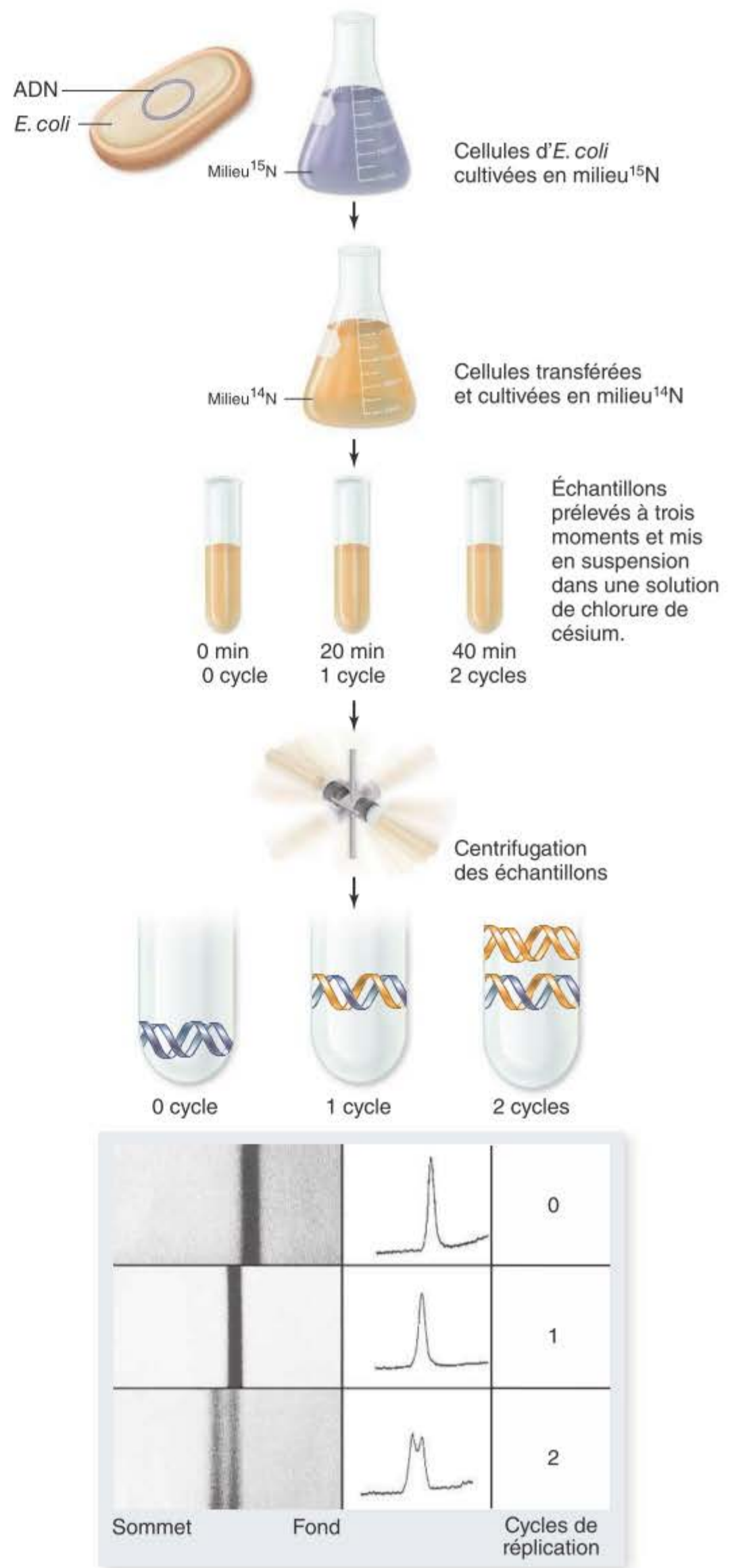
Pour chaque prélèvement, l'ADN fut dissous dans une solution contenant un sel dense, le chlorure de césium. La solution fut soumise à une ultracentrifugation à très grande vitesse. Les forces centrifuges très importantes entraînent une migration des ions césium vers le fond du tube de centrifugation, créant un gradient de concentration en césium, et donc de densité. Chaque brin d'ADN flotte ou s'enfonce dans le gradient jusqu'à atteindre une position où sa densité correspond exactement à celle du césium à cet endroit. Étant plus denses que les brins  $^{14}\text{N}$ , les brins  $^{15}\text{N}$  migrent plus bas dans le tube.

Tout l'ADN collecté immédiatement après le transfert des bactéries sur le nouveau milieu  $^{14}\text{N}$  avait la même densité que l'ADN  $^{15}\text{N}$  seul. Cependant, lorsque les bactéries avaient terminé un premier cycle de réplication de l'ADN dans le milieu  $^{14}\text{N}$ , la densité de leur ADN avait diminué jusqu'à une valeur intermédiaire entre celle de l'ADN  $^{14}\text{N}$  seul et l'ADN  $^{15}\text{N}$ . Après un second cycle de réplication, on observait deux classes de densité, l'une intermédiaire et l'autre égale à celle de l'ADN  $^{14}\text{N}$  (figure 14.11).

### Interprétation des résultats de Meselson-Stahl

Meselson et Stahl comparèrent les résultats de leurs expériences à ce que pouvaient prédire les trois modèles.

1. Le modèle conservatif n'était pas compatible avec les résultats parce que, après un cycle de réplication, on aurait dû observer deux classes de densité : les brins d'ADN auraient dû être entièrement lourds (parentaux) ou entièrement légers (fils). Ce modèle est rejeté.
2. Le modèle semi-conservatif est compatible avec toutes les observations : après un cycle de réplication, on doit s'attendre à



**Figure 14.11** Expérience de Meselson-Stahl. Les bactéries cultivées sur un milieu lourd à  $^{15}\text{N}$  sont transférées sur un milieu léger à  $^{14}\text{N}$  et cultivées pendant deux cycles de réplication. Des échantillons sont prélevés à des moments correspondant aux cycles de réplication zéro, un et deux et centrifugés en chlorure de césium pour former un gradient. Les résultats sont donnés en dessous avec une interprétation schématique de la réplication semi-conservative.

**Analyse de données** Quels seraient, selon vous, les produits d'un troisième cycle de réplication ?

une seule classe de densité parce que toutes les molécules d'ADN auraient un brin léger et un brin lourd. Après deux cycles de réplication, la moitié des molécules auraient deux brins légers et l'autre moitié un léger et un lourd – on observerait donc les deux densités. Les résultats confirment donc le modèle semi-conservatif.

- Le modèle dispersif était compatible avec les résultats du premier cycle de réplication car, dans ce modèle, toutes les hélices d'ADN devraient être des mélanges de 50 % de molécules légères (nouvelles) et 50 % de lourdes (anciennes). Mais, après deux cycles de réplication, le modèle dispersif ne donnerait encore qu'une seule densité ; les brins d'ADN seraient composés de 75 % de molécules légères et de 25 % de lourdes. On observe au contraire deux densités. Ce modèle est donc aussi rejeté.

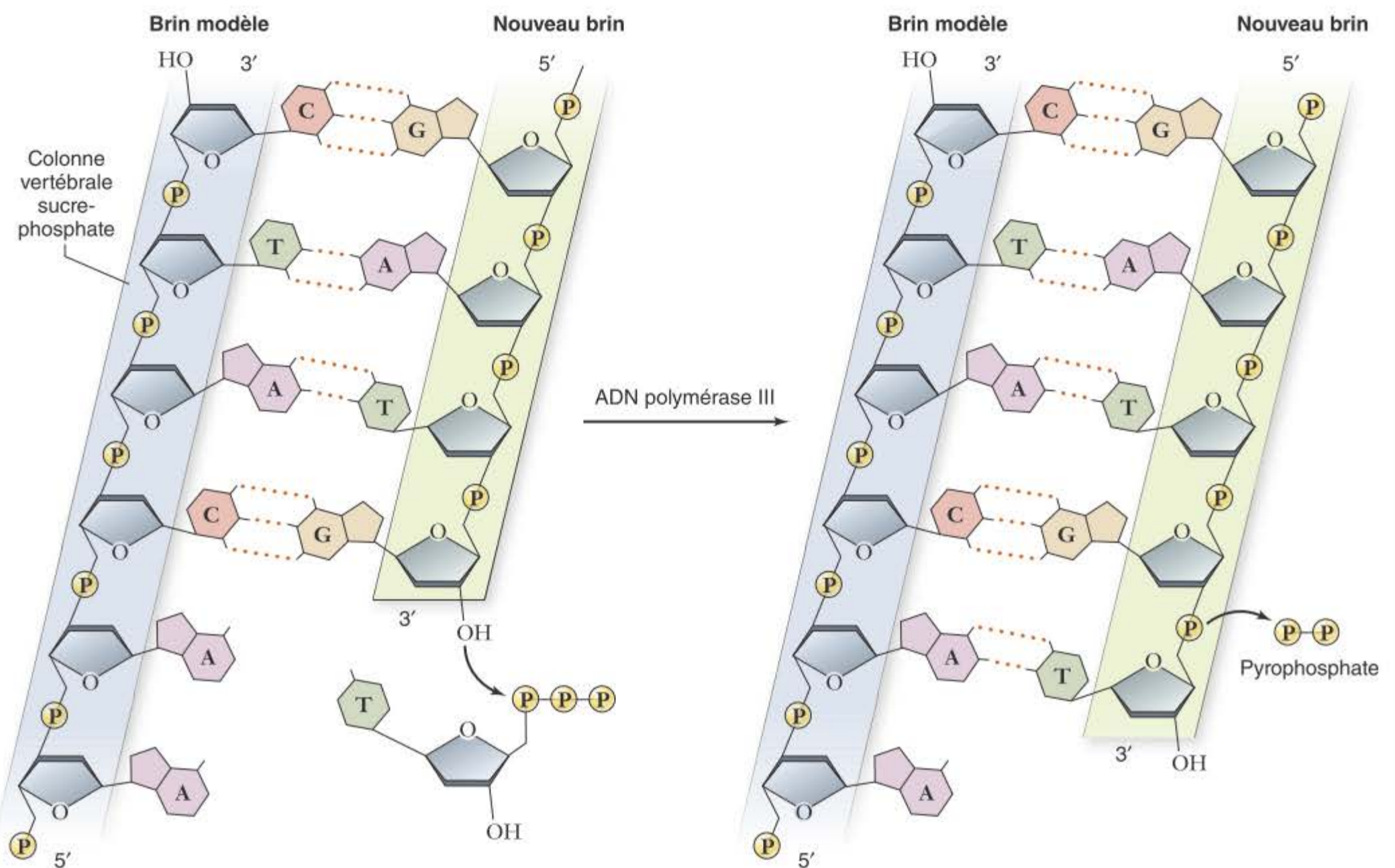
Le mécanisme de base de la réplication de l'ADN est semi-conservatif. Au niveau le plus simple, donc, l'ADN se réplique par ouverture de l'hélice d'ADN et synthèse de copies des deux brins, aboutissant à deux hélices filles possédant chacune un brin ancien et un nouveau.

## La réplication de l'ADN requiert un modèle, des nucléotides et une enzyme, une polymérase

La réplication a besoin de trois choses : quelque chose à copier, quelque chose pour faire la copie et des matières premières pour la copie. Les molécules d'ADN parentales servent de modèle, des enzymes réalisent les copies et les matières premières sont les nucléoside triphosphates.

On peut supposer que le mécanisme de réplication comporte une origine quand ce processus démarre, une partie médiane quand la plupart des matières premières ont été ajoutées et une fin quand le processus est terminé. Nous parlons d'*initiation*, d'*élongation* et de *terminaison* pour décrire un processus biochimique. Bien que cela paraisse exagérément simplifié, des fonctions distinctes sont en général nécessaires pour l'initiation et la terminaison sans l'être pour l'élongation.

Plusieurs enzymes collaborent à l'assemblage d'un nouveau brin, mais l'enzyme qui fait effectivement correspondre les bases de l'ADN existant et les nucléotides correspondants, puis lie entre eux les nucléotides pour faire le nouveau brin est l'**ADN polymérase** (figure 14.12). Toutes les ADN polymérases étudiées possèdent en commun plusieurs caractéristiques.

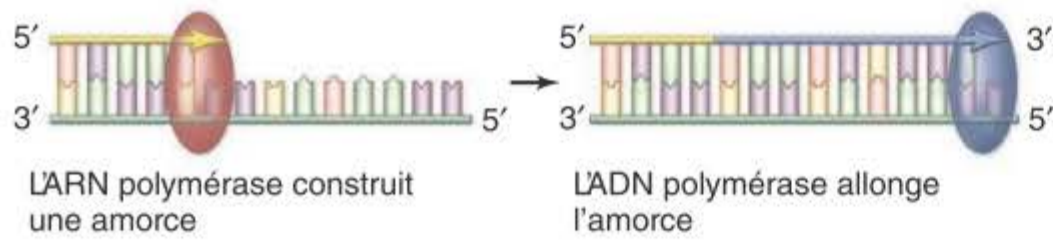


**Figure 14.12 Fonctionnement des ADN polymérases.** Les ADN polymérases ajoutent des nucléotides à l'extrémité 3' d'une chaîne en croissance. Le nucléotide ajouté dépend de la base présente sur le brin modèle. Chaque nouvelle base doit être complémentaire de celle du brin modèle. Pendant l'addition de chaque nouveau nucléoside triphosphate, deux de ses phosphates sont enlevés sous la forme de pyrophosphate.



**Pourquoi** pensez-vous qu'il est important que l'épine dorsale sucre-phosphate de l'ADN soit maintenue par des liaisons covalentes et les ponts entre les deux brins par des liaisons hydrogène?

Toutes ajoutent les nouvelles bases à l'extrémité 3' des brins préexistants. La synthèse progresse donc dans le sens 5' vers 3' en allongeant un brin apparié par ses bases à un modèle. Toutes les ADN polymérases ont aussi besoin d'une *amorce* pour entamer la synthèse ; elles ne peuvent démarrer sans un brin d'ARN ou d'ADN apparié au modèle. Les ARN polymérases n'ont pas cette exigence et synthétisent généralement les amorces.



### Questions d'apprentissage 14.3

Meselson et Stahl ont montré que le mécanisme de base de la réplication est semi-conservatif : chaque nouvelle molécule d'ADN est composée d'un brin ancien et d'un nouveau. La réplication requiert un modèle à copier, des nucléoside triphosphates comme matière première et une enzyme, l'ADN polymérase. Les ADN polymérases synthétisent l'ADN dans le sens 5'-3' à partir d'une amorce, généralement de l'ARN.

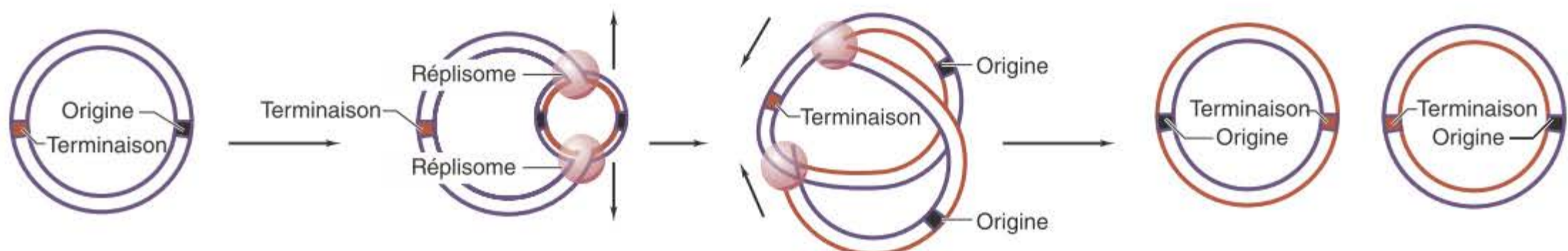
- Dans l'expérience de Meselson-Stahl, quels seraient les résultats si l'ADN était dénaturé avant l'ultracentrifugation ?

## 14.4 La réplication chez les procaryotes

### Objectifs

1. Décrire le fonctionnement des ADN polymérases d'*E. coli*.
2. Expliquer pourquoi la réplication est discontinue dans un brin.
3. Représenter les activités se déroulant à la fourche de réplication.

Pour donner une image plus précise de la réplication, nous approfondirons d'abord la réplication des procaryotes en prenant *E. coli* comme modèle. Nous pourrions ensuite voir les différences entre la réplication des eucaryotes et celle des procaryotes.



**Figure 14.13** La réplication est bidirectionnelle à partir d'une origine unique. La réplication débute à partir d'une origine unique. Deux réplisomes distincts sont chargés à l'origine et entament la synthèse dans des directions opposées sur le chromosome. Ils continuent ainsi jusqu'à un site unique de terminaison.

## L'origine de la réplication est unique chez les procaryotes

Chez *E. coli*, la réplication débute à un site spécifique, l'origine (*OriC*) et se termine à un autre site spécifique, le terminus. La séquence d'*OriC* se compose de nucléotides répétés qui s'unissent à une protéine initiatrice et d'une séquence riche en A-T capable de s'ouvrir facilement lors de l'initiation de la réplication (les paires de bases A-T n'ont que deux liaisons hydrogène, alors qu'il y en a trois dans les paires G-C.)

Après l'initiation, la réplication se poursuit dans les deux sens à partir de cette origine unique jusqu'à l'unique terminus (figure 14.13). On parle de **réplicon** pour désigner l'ADN contrôlé par une origine. Dans ce cas, le chromosome et l'origine forment un seul réplicon.

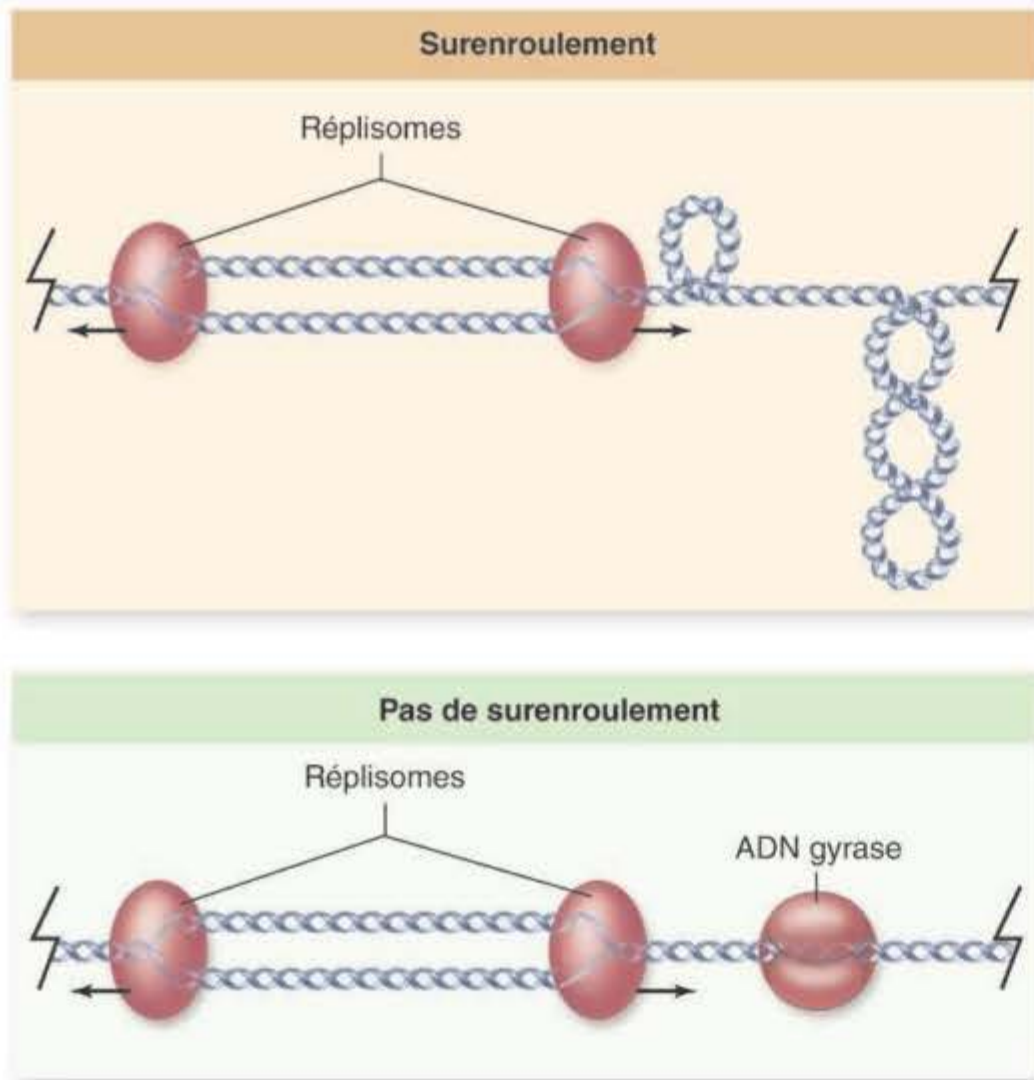
## *E. coli* possède au moins trois ADN polymérases différentes

Comme on l'a vu dans la section 14.3, les ADN polymérases sont un groupe d'enzymes utilisant un modèle d'ADN pour synthétiser un nouveau brin complémentaire. La première ADN polymérase isolée chez *E. coli* fut appelée **ADN polymérase I (Pol I)**. À l'origine, les chercheurs pensaient que cette polymérase était suffisante pour assurer la réplication de l'ADN. Par la suite, on a isolé un mutant dépourvu de l'activité Pol I, mais encore capable de répliquer son chromosome. Deux autres polymérases furent isolées de cette souche d'*E. coli*, l'**ADN polymérase II (Pol II)** et l'**ADN polymérase III (Pol III)**. Comme toutes les ADN polymérases connues, ces trois enzymes ne synthétisent les brins polynucléotidiques que dans le sens 5'-3' et ont besoin d'une amorce.

Outre qu'elles peuvent ajouter des nucléotides à un brin d'ADN en croissance, certaines polymérases peuvent encore retirer des nucléotides, fonctionner comme nucléases. Les enzymes fonctionnant comme nucléases sont classées comme **endonucléases** (elles coupent l'ADN de l'intérieur) ou **exonucléases** (elles grignotent une extrémité de l'ADN). Les ADN Pol I, Pol II et Pol III ont une activité d'exonucléase 3'-5' utilisée pour la correction des épreuves, parce qu'elle permet à l'enzyme d'éliminer une base mal appariée. L'ADN Pol I possède également une activité d'exonucléase 5'-3' qui peut servir à l'élimination des amorces d'ARN.

Les trois polymérases jouent des rôles différents dans la réplication. L'ADN Pol III est la principale enzyme de réplication ; elle est responsable de la synthèse de la plus grande partie de l'ADN. L'ADN Pol I agit sur le brin retardé pour éliminer l'amorce et la remplacer par de l'ADN. Pol II ne semble pas intervenir dans la réplication, mais dans les processus de réparation de l'ADN.

Pendant de nombreuses années, on a pensé qu'il n'existait pas d'autres ADN polymérases dans *E. coli*, mais on en a identifié plusieurs autres. On connaît actuellement cinq polymérases, mais elles n'interviennent pas toutes dans la réplication de l'ADN.



**Figure 14.14** Le déroulement de l'hélice provoque une tension de torsion. Si les extrémités d'une molécule linéaire d'ADN sont soumises à une contrainte, comme c'est le cas dans la cellule, le déroulement de l'hélice produit une tension de torsion. Il peut en résulter un enroulement supplémentaire de la double hélice (surenroulement). L'ADN gyrase est une enzyme capable de supprimer le surenroulement.

### L'ouverture de la torsade d'ADN exige de l'énergie et provoque une tension de torsion

Bien que certaines ADN polymérase puissent ouvrir la torsade d'ADN pendant la synthèse, la réplication est plus efficace si l'hélice est déroulée en amont de la polymérase. Une enzyme capable d'ouvrir la torsade est appelée **helicase**. Ce processus demande de l'énergie sous la forme d'ATP : il permet d'ouvrir progressivement l'ADN et de former des

brins simples. Ces brins simples sont instables parce que les bases hydrophobes sont ainsi exposées à l'eau. Les cellules résolvent ce problème grâce à une protéine, la protéine de fixation aux brins monocaténaire (SSB, pour *single-strand-binding*) qui tapisse les brins découverts.

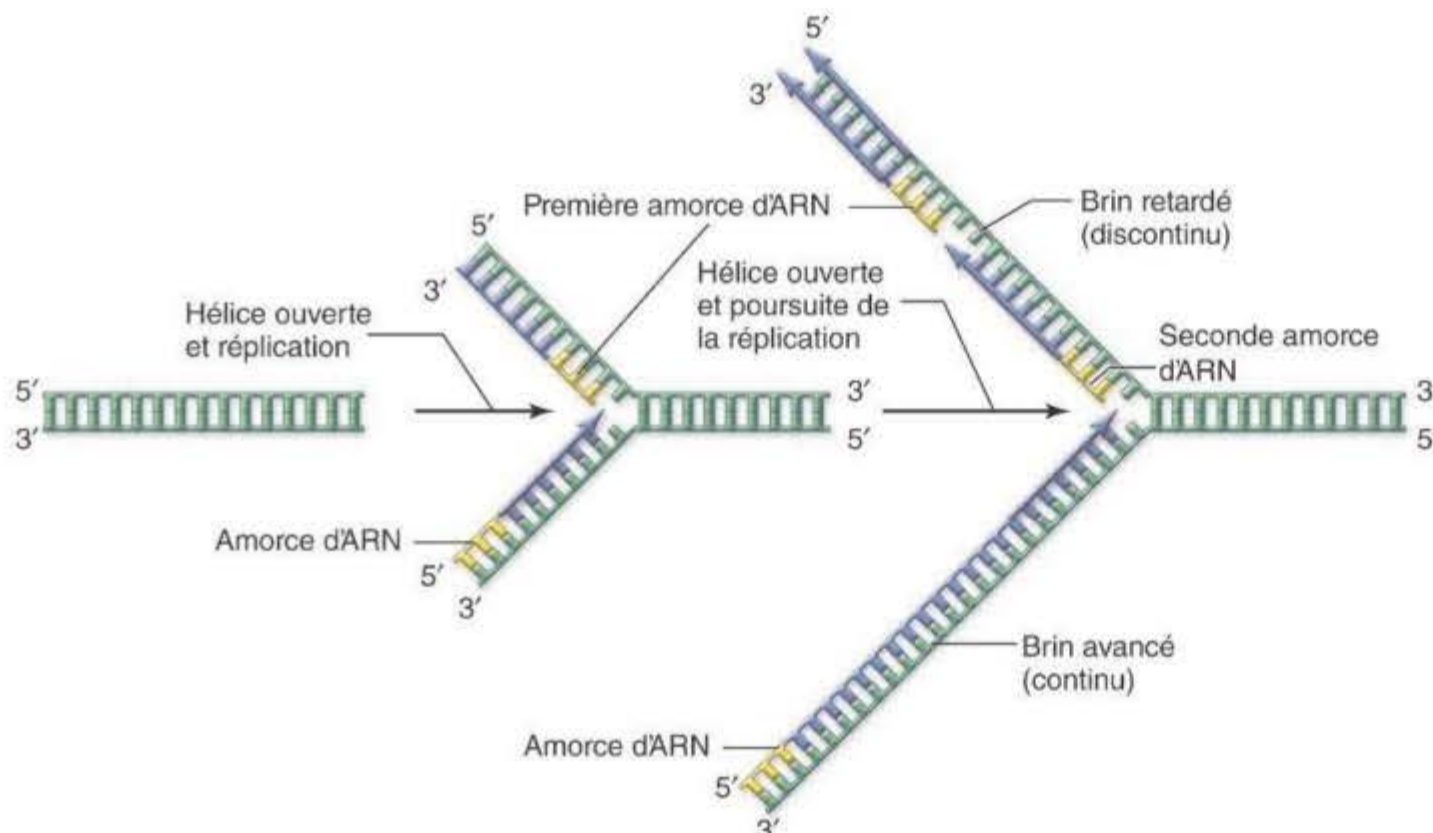
Le déroulement des deux brins entraîne une tension de torsion. Imaginez deux rubans de caoutchouc enroulés l'un autour de l'autre. Que se passe-t-il si vous les déroulez ? Les rubans, déjà enroulés, s'enrouleront encore plus. Quand il s'agit d'une molécule d'ADN, on parle de **surenroulement** (figure 14.14). La *topologie* est la branche des mathématiques qui étudie comment les formes s'enroulent dans l'espace : nous décrirons donc cet enroulement de la double hélice comme le *statut topologique* de l'ADN. Cet état montre comment la double hélice elle-même s'enroule dans l'espace. Vous avez déjà vu un exemple de cet enroulement avec l'ADN entourant les histones dans les nucléosomes des chromosomes eucaryotes (voir chapitre 10).

Les enzymes qui modifient le statut topologique de l'ADN sont des **topoisomérases**. Elles éliminent la tension de torsion provoquée par le déroulement et empêchent ce surenroulement. L'**ADN gyrase** est la topoisomérase impliquée dans la réplication de l'ADN (voir figure 14.14).

### La réplication est semi-discontinue

On a déjà vu que l'ADN est antiparallèle – un des brins court dans le sens 3'-5' et le brin complémentaire dans le sens 5'-3'. La nature antiparallèle de l'ADN et la nature des polymérase entraînent des contraintes pour la réplication. Les polymérase ne pouvant synthétiser l'ADN que dans un sens, et les deux brins allant dans des sens différents, les polymérase doivent synthétiser l'ADN dans des directions opposées sur les deux brins (figure 14.15).

La nécessité pour les ADN polymérase de disposer d'une amorce signifie que, sur un des brins, l'amorce doit être installée quand l'hélice est ouverte (voir figure 14.15). Cela signifie qu'un brin peut être synthétisé de façon continue, mais l'autre de façon discontinue, avec de multiples amorces et l'assemblage de courts segments d'ADN. Le brin continu est appelé **brin avancé** et celui qui est discontinu est le **brin retardé**. Les fragments d'ADN synthétisés sur le brin retardé portent le nom de **fragments d'Okazaki**, en l'honneur de celui qui fut le premier à prouver expérimentalement la synthèse discontinue. Nous verrons que cela nécessite encore plus d'activité enzymatique sur le brin retardé.



**Figure 14.15** La réplication est semi-continue. La synthèse 5'-3' par la polymérase et la nature antiparallèle de l'ADN signifient qu'un seul brin, le brin avancé, peut être synthétisé de façon continue. L'autre, le brin retardé, doit être construit par morceaux, chacun avec son amorce.

## La synthèse se déroule à la fourche de réplication

L'ouverture partielle de l'hélice d'ADN et la séparation des deux brins donne l'apparence d'une fourche : on parle de la **fourche de réplication**. Toutes les activités enzymatiques dont nous avons parlé et quelques autres se situent à ce niveau (tableau 14.1). La synthèse se déroule cependant différemment sur le brin avancé et sur le brin retardé.

### L'amorce

Les amorces nécessaires aux ADN polymérase pendant la réplication sont synthétisées par une enzyme, l'*ADN primase*. Cette enzyme est une ARN polymérase qui synthétise de courts morceaux d'ARN longs de 10-20 pb (paires de bases) fonctionnant comme amorces pour l'ADN polymérase. Par la suite, l'amorce d'ARN est éliminée et remplacée par de l'ADN.

### Synthèse du brin avancé

La synthèse est relativement simple sur le brin avancé. Il suffit d'une seule amorce, puis le brin peut s'allonger indéfiniment par l'action de l'ADN Pol III. Si l'enzyme reste fixée au modèle, elle peut synthétiser tout le chromosome circulaire d'*E. coli*.

La faculté, pour une polymérase, de rester fixée au modèle, est sa *progressivité*. Pol III est une grosse enzyme formée de multiples sous-unités, sa progressivité est attribuable à l'une de ces sous-unités, la *sous-unité β* (figure 14.16a).

La sous-unité  $\beta$  est faite de deux chaînes protéiques identiques formant un anneau. Cet anneau peut être chargé sur le modèle comme une pince pour maintenir l'enzyme Pol III sur l'ADN (figure 14.16a). C'est pourquoi cette structure est appelée la « pince coulissante », et la même structure se retrouve dans les polymérase des eucaryotes. Pour que la pince fonctionne, elle doit s'ouvrir puis se refermer autour de l'ADN. Une protéine formée de nombreuses sous-unités, le chargeur de pince, accomplit cette tâche. On retrouve aussi cette fonction chez les eucaryotes.

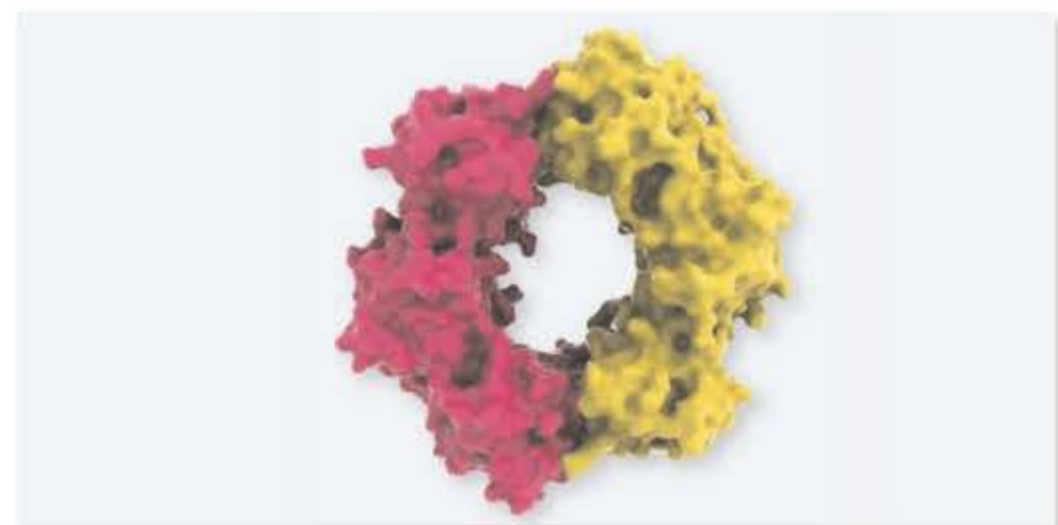
### Synthèse du brin retardé

La synthèse étant discontinue sur le brin retardé, la réplication de ce brin implique des étapes plus nombreuses. Il faut une primase pour synthétiser l'amorce de chaque fragment d'Okazaki, puis tous ces fragments doivent être éliminés et remplacés par l'ADN. Enfin, les fragments doivent être soudés.

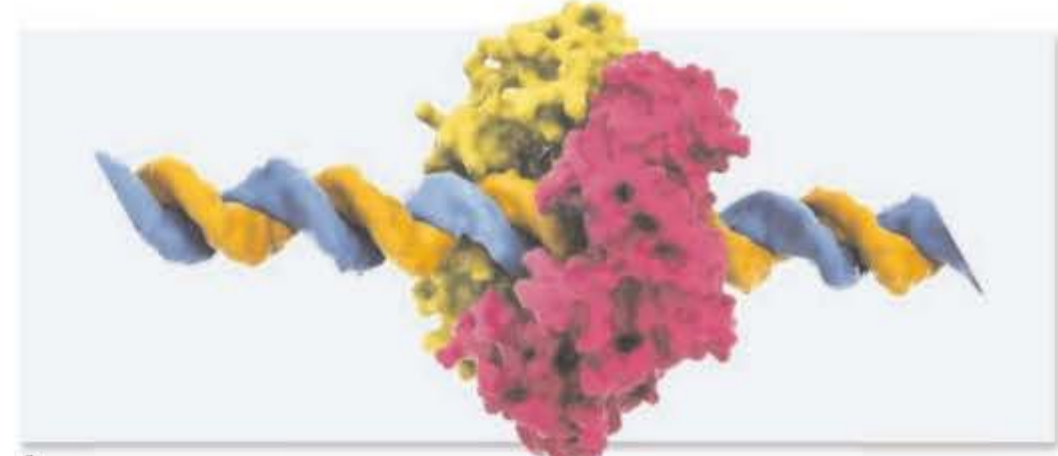
Comme pour le brin avancé, l'ADN Pol III synthétise les fragments d'Okazaki eux-mêmes, mais les amorces sont éliminées et remplacées par de l'ADN grâce à l'ADN Pol I. Par son activité d'exonucléase 5'-3', Pol III peut éliminer les amorces, puis les remplacer grâce à son activité de polymérase 5'-3'. Elle allonge le fragment d'Okazaki derrière elle et élimine l'amorce d'ARN à l'avant.

Il ne reste qu'une liaison phosphodiester à effectuer, là où se termine la synthèse par Pol I. C'est le fait de l'ADN ligase, qui scelle cette « encoche » et rassemble finalement les fragments d'Okazaki en brins complets. Toute cette activité sur le brin retardé est résumée à la figure 14.17.

TABLEAU 14.1		Enzymes d' <i>E. coli</i> utilisées pour la réplication de l'ADN	
Protéine	Rôle	Taille (kDa)	Molécules par cellule
Hélicase	Déroule la double hélice	300	20
Primase	Synthétise les amorces d'ARN	60	50
Protéine de fixation aux brins monocaténares	Stabilise les régions monocaténares	74	300
ADN gyrase	Réduit la tension due à la torsion	400	250
ADN polymérase III	Synthétise l'ADN	≈900	20
ADN polymérase I	Élimine l'amorce et comble les vides	103	300
ADN ligase	Réunit les extrémités des segments d'ADN; répare l'ADN	74	300

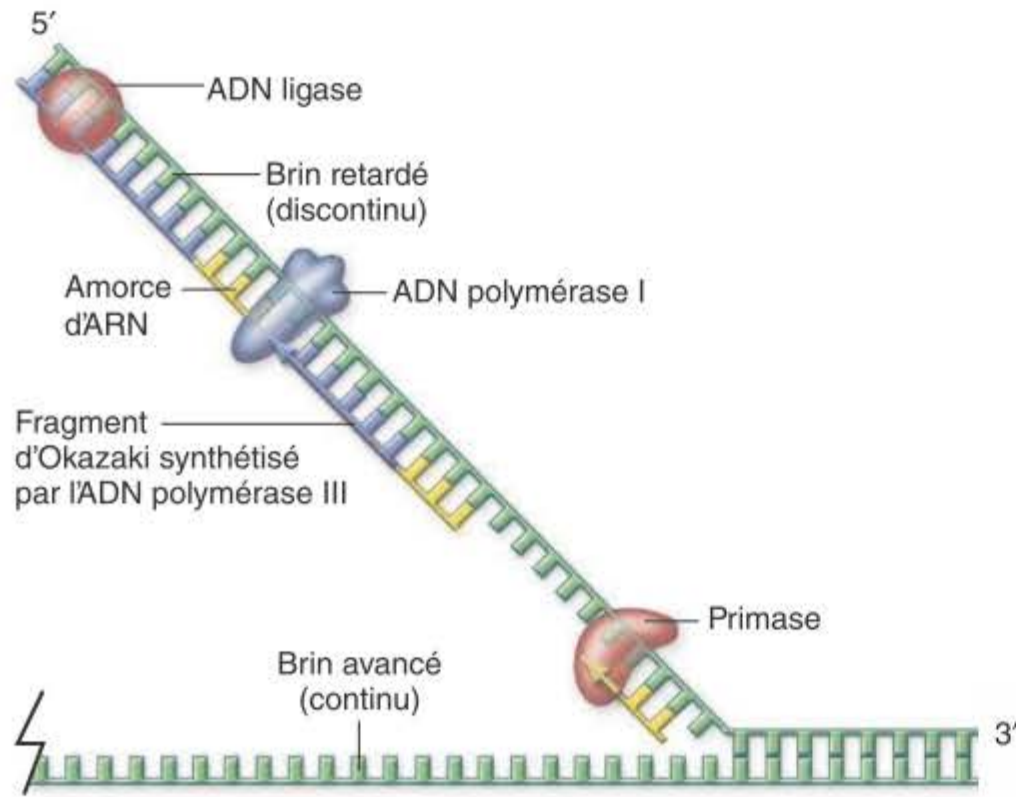


a.



b.

**Figure 14.16** La pince coulissante de l'ADN polymérase. *a.* La sous-unité  $\alpha$  forme un anneau entourant l'ADN. *b.* La sous-unité  $\beta$  est représentée fixée à l'ADN. Cela forme une « pince coulissante » qui maintient la polymérase attachée au modèle.



**Figure 14.17 Synthèse sur le brin retardé.** La primase synthétise les amorces nécessaires à l'ADN polymérase III (non représentée). Ces amorces sont éliminées par l'activité d'endonucléase 5'-3' de la polymérase I, qui allonge ensuite le fragment d'Okazaki précédent pour remplacer l'ARN. L'espace situé entre les fragments d'Okazaki après l'élimination de l'amorce est fermé par l'ADN ligase.

### La terminaison

La terminaison se situe à un site spécifique localisé à peu près à l'opposé d'*oriC* sur le chromosome circulaire. Les derniers stades de la réplication produisent deux molécules filles entremêlées comme deux

**?** **Question** Quel est le rôle de l'ADN ligase ? Qu'advierait-il de la réplication de l'ADN dans la cellule si cette enzyme ne fonctionnait pas ?

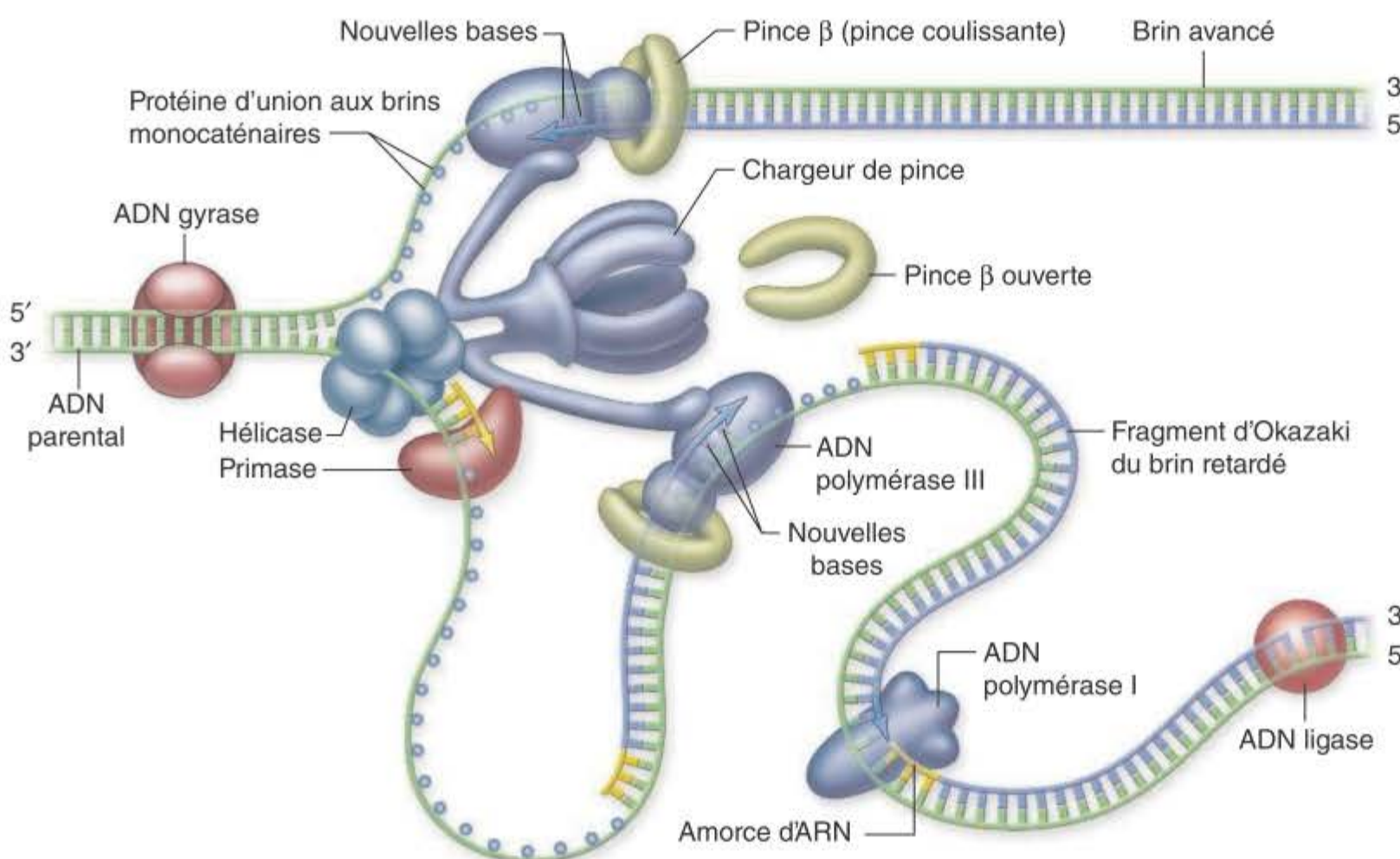
maillons d'une chaîne. Ces molécules sont libérées par la même enzyme qui a éliminé la contrainte de torsion à la fourche de réplication – l'ADN gyrase.

### Le réplisome rassemble toutes les enzymes nécessaires à la réplication

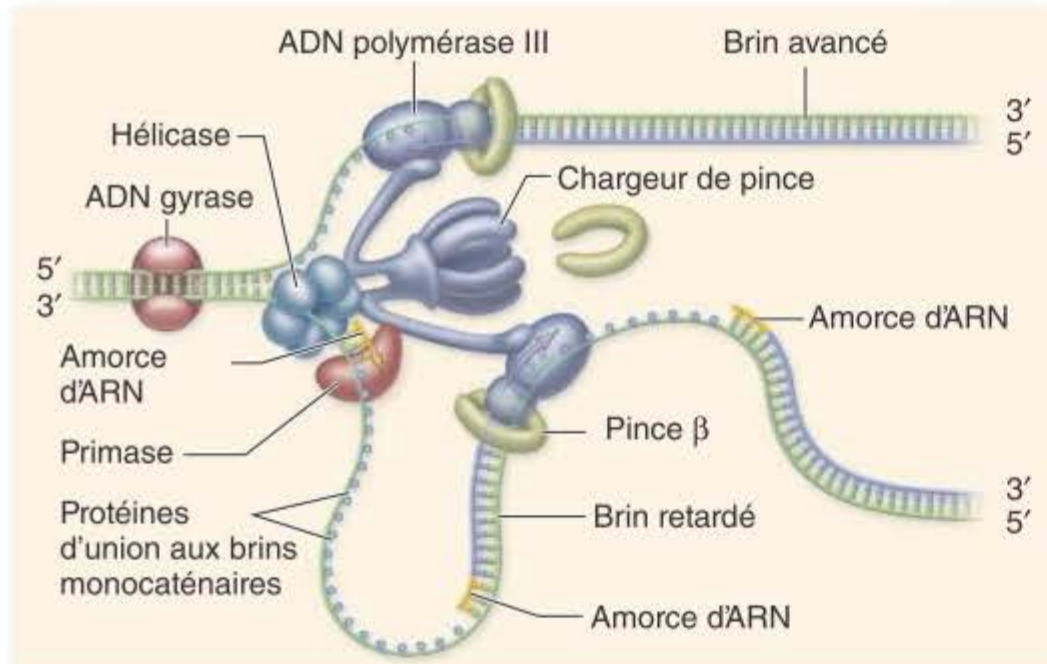
Les enzymes intervenant dans la réplication de l'ADN forment un ensemble macromoléculaire, le **réplisome**. Cet ensemble représente l'« organite de réplication », comme le ribosome est l'organite de la synthèse protéique. Le réplisome se compose de deux parties principales : le *primosome* et un complexe de deux ADN Pol III, une pour chaque brin. Le primosome comprend la primase et l'hélicase, ainsi que plusieurs protéines accessoires.

Bien que nous parlions d'un brin retardé, les deux enzymes Pol III du réplisome fonctionnent simultanément sur les deux brins. Comment les deux brins peuvent-ils être synthétisés dans le même sens alors qu'ils sont antiparallèles ? Le meilleur schéma implique la formation d'une boucle par le brin retardé, permettant aux deux polymérases d'avancer dans le même sens (figure 14.18)

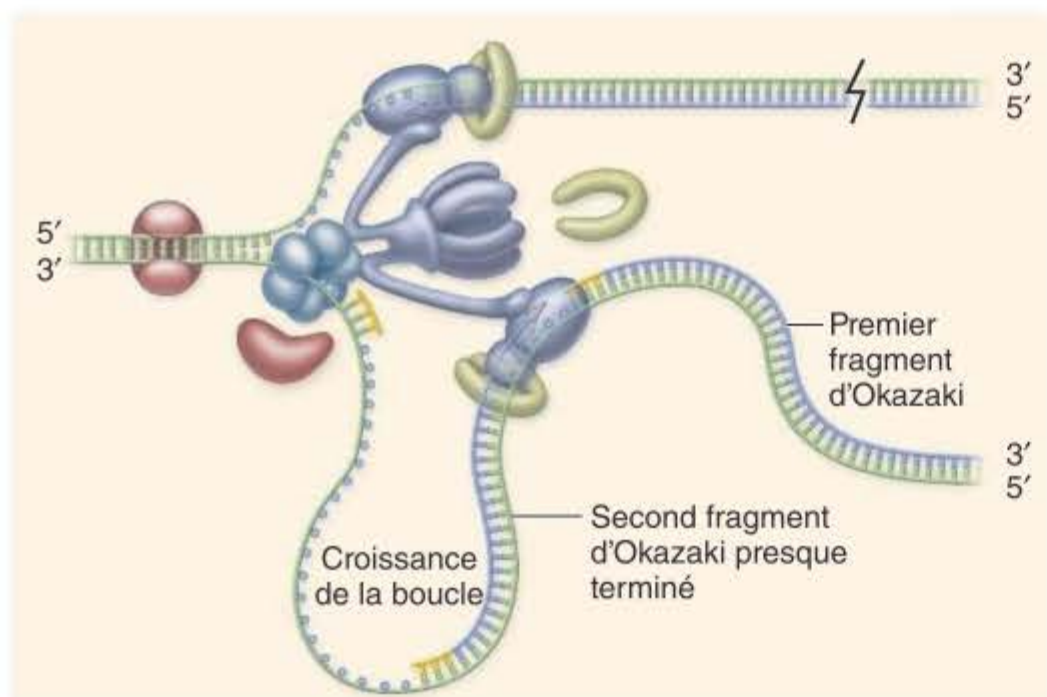
Les deux complexes Pol III comprennent deux sous-unités du noyau de synthèse, chacune avec sa propre sous-unité  $\beta$ . Tout le complexe du réplisome est maintenu par plusieurs protéines, dont le chargeur



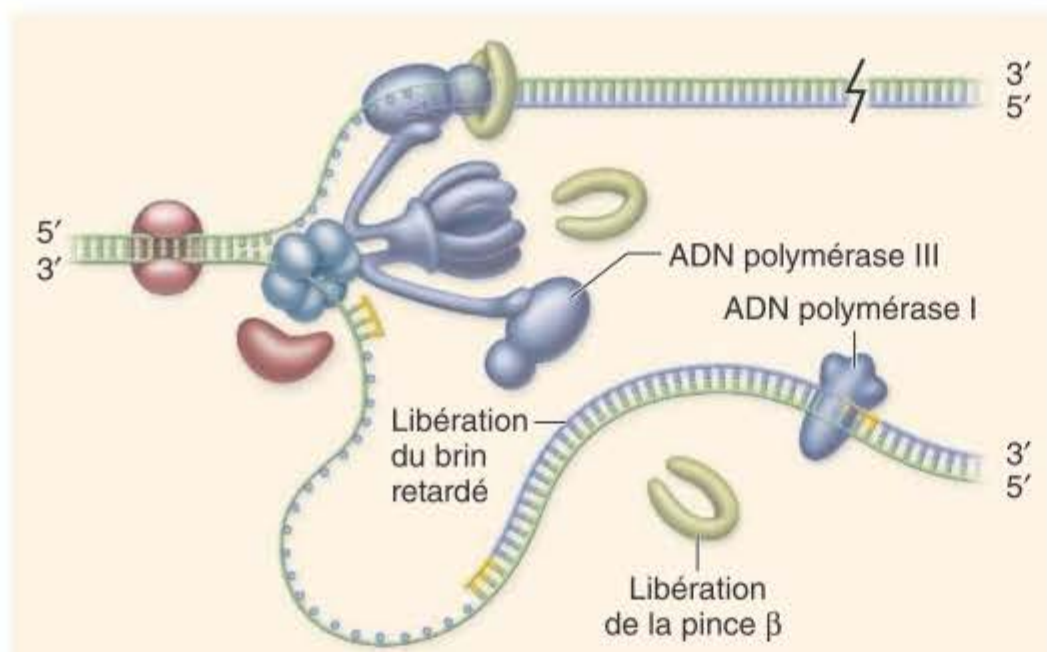
**Figure 14.18 La fourche de réplication.** Schéma de la structure de la fourche de réplication avec deux polymérases III réunies par un grand complexe de protéines accessoires. Celui-ci comprend le « chargeur de pince », qui charge périodiquement la sous-unité de la pince coulissante sur le brin retardé. Sur ce brin, la polymérase III se libère de temps en temps de son modèle et s'y réassocie avec la pince. La boucle du brin retardé permet aux deux polymérases de se déplacer dans le même sens alors que l'ADN est antiparallèle. La primase, qui synthétise les amorces pour les fragments du brin retardé, et l'hélicase, sont aussi associées au complexe. La polymérase I élimine les amorces et la ligase joint les fragments.



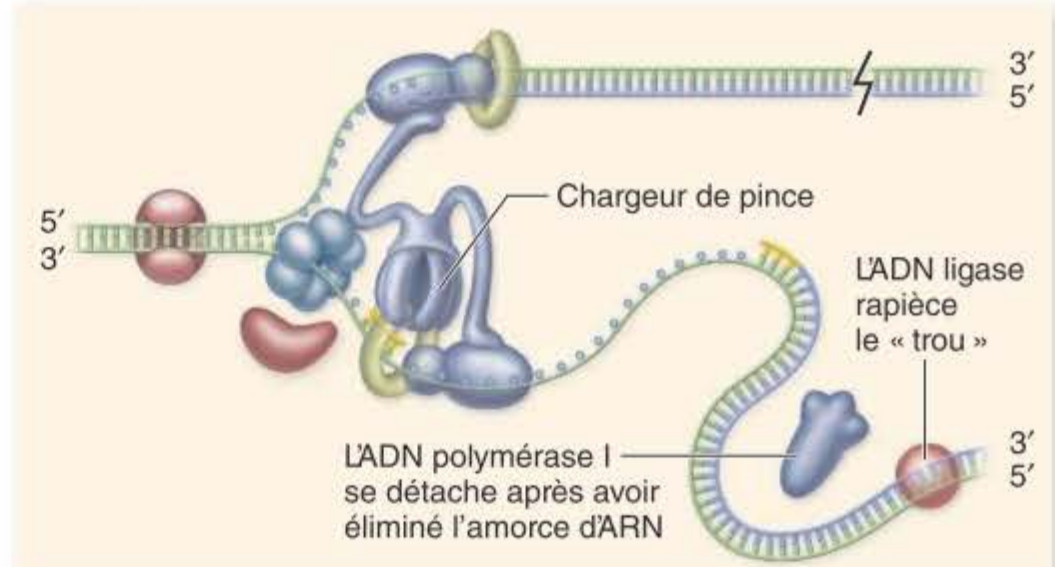
1. Une ADN polymérase III fonctionne sur chaque brin. La primase synthétise de nouvelles amorces pour le brin retardé.



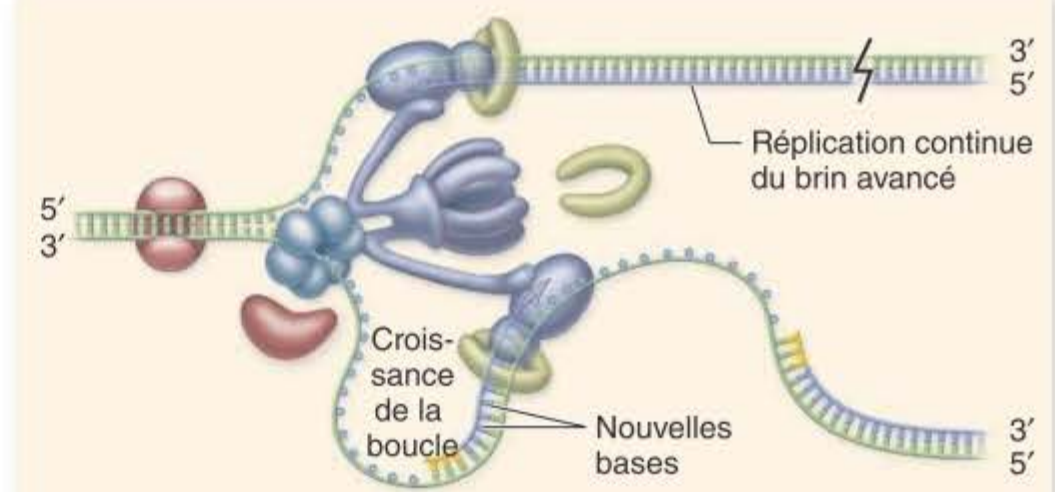
2. La « boucle » du brin retardé modèle permet la réplication 5'-3' dans les deux brins, le complexe allant vers la gauche.



3. Quand la polymérase III du brin retardé atteint le fragment précédent, elle libère la pince  $\beta$  et le brin modèle. L'ADN polymérase I se fixe pour éliminer l'amorce.



4. Le chargeur de pince se fixe à la pince  $\beta$  et la place sur la polymérase III, créant une nouvelle boucle sur le brin retardé modèle. L'ADN ligase réunit les fragments après l'élimination de l'amorce par l'ADN polymérase I.



5. Quand la pince  $\beta$  est chargée, l'ADN polymérase III du brin retardé ajoute des bases au fragment d'Okazaki suivant.

de pince. Quand Pol III termine un fragment d'Okazaki, le chargeur de pince charge une sous-unité  $\beta$  sur le fragment suivant et transfère Pol III sur cette nouvelle sous-unité  $\beta$  (figure 14.18).

Selon les données actuelles, ce complexe de réplication est probablement stationnaire et le brin d'ADN s'y déplace comme un fil dans une machine à coudre : le complexe ne se déplace donc pas le long des brins d'ADN. Le complexe immobile expulse aussi le nouveau brin d'ADN synthétisé, ce qui peut favoriser la séparation des chromosomes. Ce mécanisme est résumé à la figure 14.19.

#### Questions d'apprentissage 14.4

*E. coli* possède trois ADN polymérases : ADN Pol I, II et III. La synthèse est discontinue sur un brin parce que l'ADN est antiparallèle, et les polymérases ne fonctionnent que dans le sens 5'-3'. La réplication s'effectue à la fourche de réplication, où les deux brins se séparent. À cet endroit se trouve un complexe volumineux, le réplisome, contenant l'ADN polymérase III, la primase, l'hélicase et d'autres protéines. Le brin retardé a besoin de l'ADN polymérase I pour éliminer les amorces et les remplacer par l'ADN, et de la ligase pour réunir les fragments d'Okazaki.

- Quelles sont les fonctions de nucléase des différentes polymérases utilisées pendant la réplication ?

**Figure 14.19 Synthèse de l'ADN par le réplisome.** La synthèse semi-continue de l'ADN est représentée d'après le schéma de la figure 14.18.

## 14.5 La réplication chez les eucaryotes

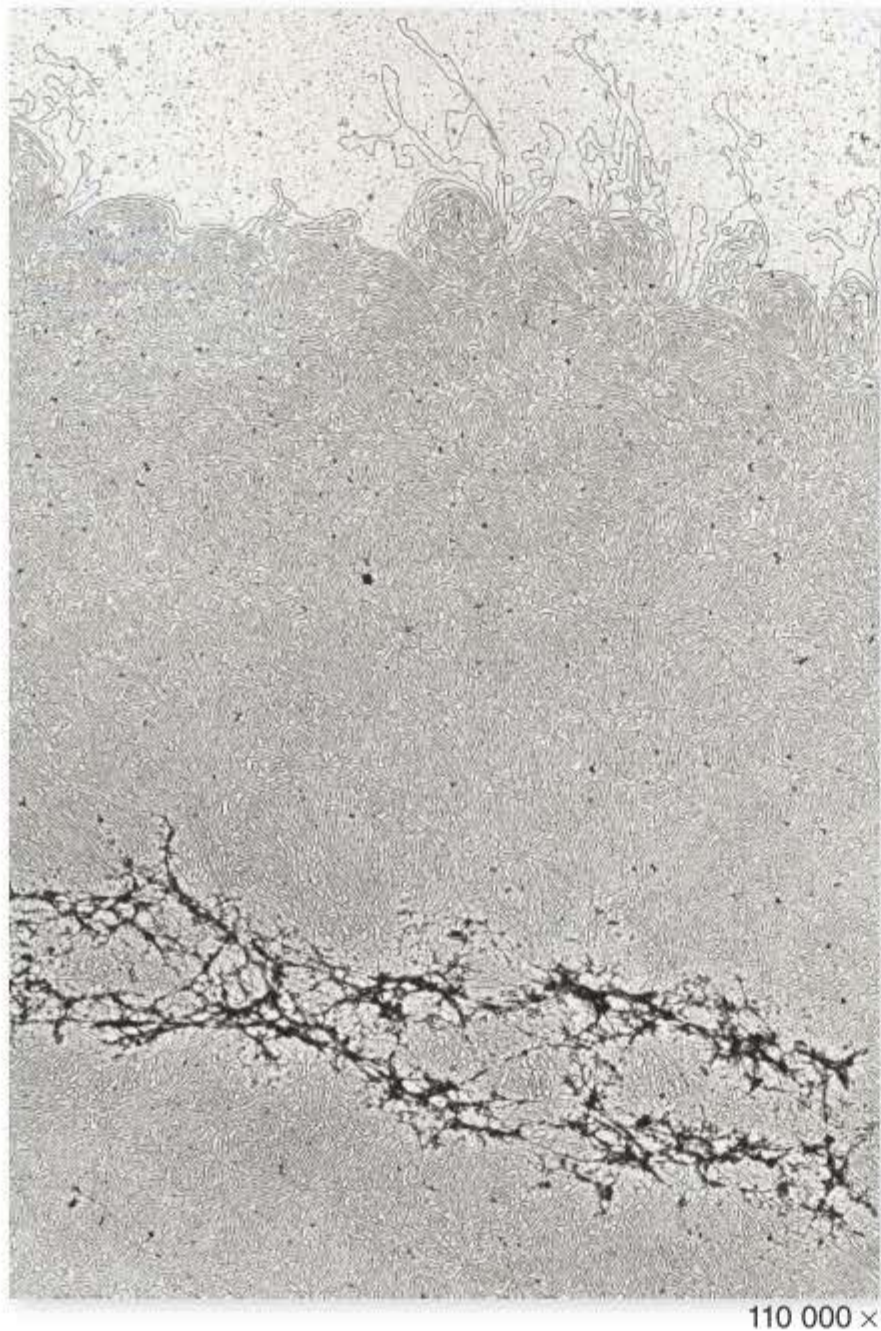
### Objectifs

1. Comparer la réplication des eucaryotes à celle des procaryotes.
2. Expliquer le rôle des télomérases.
3. Évaluer le rôle de la télomérase dans la division cellulaire.

Deux facteurs principaux compliquent la réplication des eucaryotes : la plus grande quantité d'ADN organisé en chromosomes multiples et la structure linéaire des chromosomes. Ce processus n'a besoin que de nouvelles activités enzymatiques pour prendre en compte les extrémités des chromosomes ; en dehors de cela, l'enzymologie est la même.

### La réplication des eucaryotes doit disposer d'origines multiples

La grande quantité d'ADN et la manière dont il est empaqueté représentent un problème pour les eucaryotes (figure 14.20). Ceux-ci possèdent en général de nombreux chromosomes, tous plus longs que celui



**Figure 14.20** L'ADN d'un chromosome humain. On a fait « exploser » ce chromosome en éliminant la plus grande partie des protéines qui l'emballaient. Les protéines résiduelles de l'échafaudage sont représentées par le matériel foncé dans le bas de la photomicrographie.

d'*E. coli*. Si chaque chromosome ne possédait qu'une seule origine, le temps nécessaire à la réplication serait prohibitif. Ce problème est résolu par l'utilisation de multiples origines de réplication dans chaque chromosome, donnant de multiples *réplicons*.

Les origines ne sont pas des séquences aussi spécifiques qu'*oriC* et leur reconnaissance semble dépendre de la structure de la chromatine tout autant que de la séquence. Le nombre d'origines utilisées peut aussi s'ajuster au cours du développement : de cette façon, un plus grand nombre d'origines sont activées quand les divisions doivent être rapides. Chaque origine ne doit servir qu'une fois par cycle cellulaire.

### L'enzymologie de la réplication des eucaryotes est plus complexe

Le système de réplication des eucaryotes est semblable à celui des bactéries, mais plus volumineux et plus complexe. Le stade d'initiation doit disposer de facteurs plus nombreux pour installer les complexes de l'hélicase et de la primase sur le modèle, puis pour charger la polymérase avec la pince coulissante.

La primase des eucaryotes est intéressante, parce qu'il s'agit d'un complexe réunissant une ARN polymérase et une ADN polymérase. Elle synthétise d'abord de courtes amorces d'ARN, puis les prolonge par de l'ADN pour donner l'amorce finale. La raison de cette complication supplémentaire n'est pas claire.

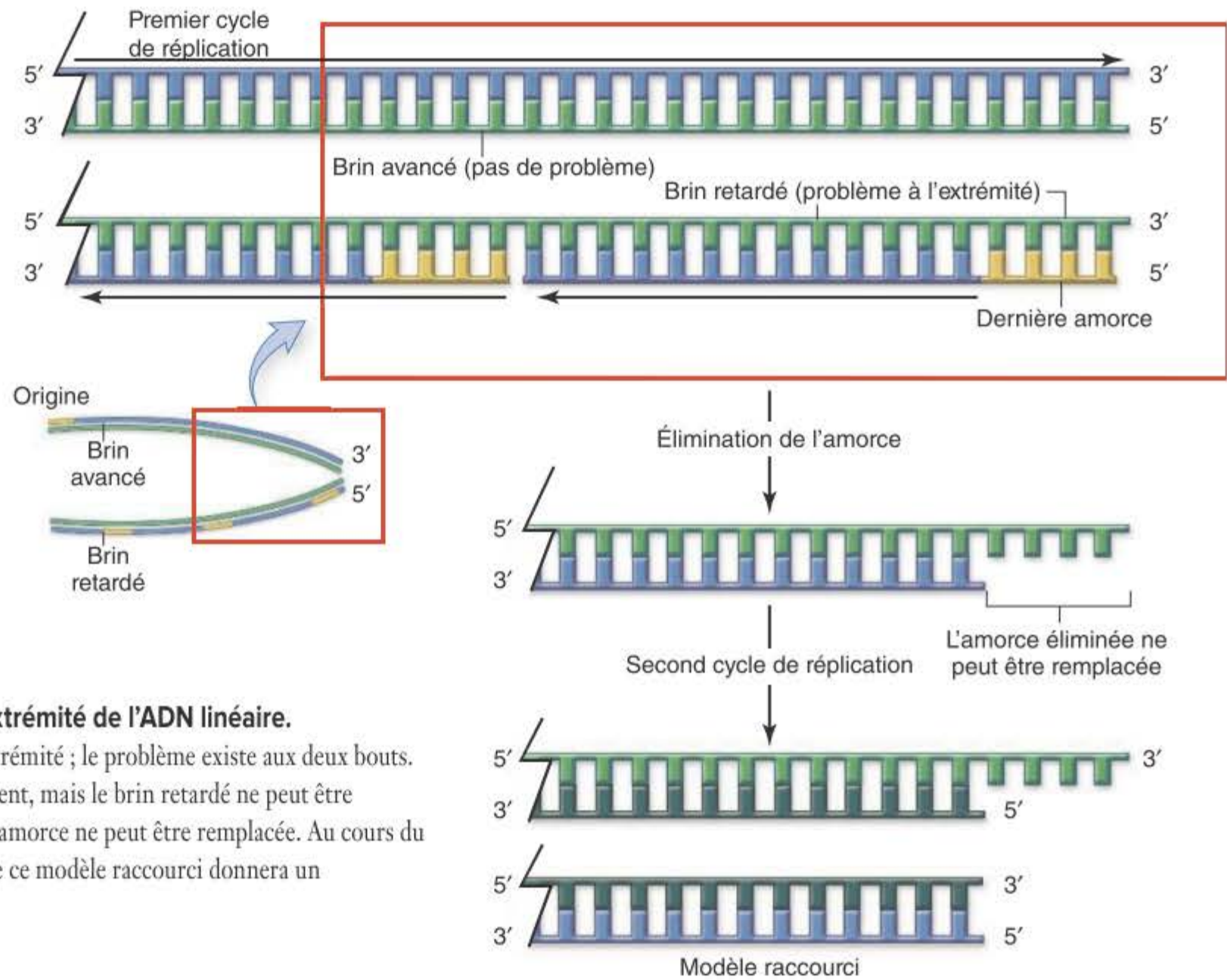
La principale polymérase de réplication elle-même est aussi un complexe de deux enzymes différentes fonctionnant ensemble. L'une est l'*ADN polymérase epsilon* (pol  $\epsilon$ ) et l'autre l'*ADN polymérase delta* (pol  $\delta$ ). La pince coulissante qui permet au complexe enzymatique de rester attaché au modèle s'appelle PCNA (pour *Proliferating Cell Nuclear Antigen*, antigène nucléaire de prolifération cellulaire). Ce nom peu courant rappelle que le PCNA a d'abord été identifié comme une protéine induisant la production d'un anticorps dans les cellules en prolifération (en division). Ce PCNA forme un trimère, mais sa structure est semblable à celle de la sous-unité  $\beta$  de la pince coulissante. Le chargeur de pinces est également semblable à celui des bactéries. Malgré une complexité accrue, le fonctionnement du réplisome est semblable à celui qui a été décrit à la section 14.4 pour *E. coli* et la fourche de réplication comprend essentiellement les mêmes composants.

### Les protéines de réplication des archées sont semblables à celles des eucaryotes

Malgré l'absence d'un noyau délimité par une membrane, les protéines de réplication des archées ressemblent plus à celles des eucaryotes qu'à celles des bactéries. La principale polymérase de réplication est la plus proche de la pol  $\delta$  eucaryote et la pince coulissante est semblable à la protéine PCNA. Le complexe de chargement de la pince est aussi plus proche de celui des eucaryotes que des bactéries. La conclusion la plus intéressante de tous ces faits est que les trois domaines du monde vivant fonctionnent de la même manière pour la réplication des chromosomes. Tous les trois assemblent des complexes protéiques semblables avec chargeur de pince, pince coulissante, deux polymérases, hélicase et primase à la fourche de réplication.

### Les chromosomes linéaires ont des extrémités spécialisées

Les **télomères** sont les structures spécialisées situées aux extrémités des chromosomes eucaryotes. Ces structures protègent les extrémités des



**Figure 14.21** Réplication de l'extrémité de l'ADN linéaire.

Pour simplifier, on n'a représenté qu'une extrémité ; le problème existe aux deux bouts. Le brin avancé peut se répliquer complètement, mais le brin retardé ne peut être terminé. Après son élimination, la dernière amorce ne peut être remplacée. Au cours du cycle de réplication suivant, la réplication de ce modèle raccourci donnera un chromosome plus court.

chromosomes des nucléases et maintiennent l'intégrité des chromosomes linéaires. Ces télomères sont formés de séquences d'ADN spécifiques, mais ils ne sont pas synthétisés par le complexe de réplication.

### Réplication des extrémités

La structure même d'un chromosome linéaire est une source de problèmes pour la cellule lors de la réplication des extrémités. Le problème découle du fait que les polymérase fonctionnent dans une direction, ainsi que de la nécessité d'une amorce.

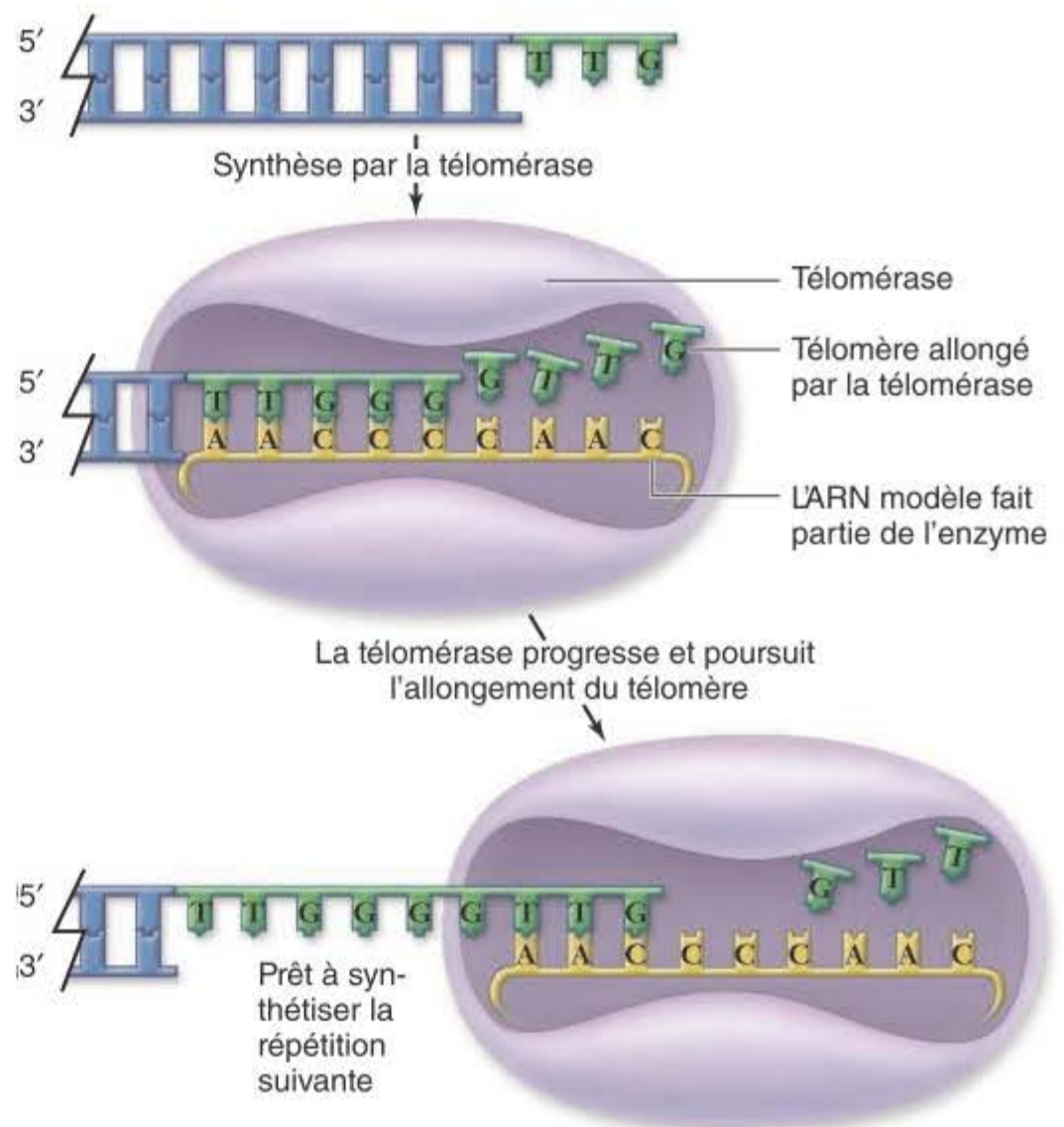
Prenez une molécule linéaire simple comme celle de la figure 14.21. La réplication à l'une des extrémités de chaque modèle est simple, c'est l'extrémité 5' des brins avancés. Quand la polymérase arrive à cette extrémité, fonctionnant dans le sens 5'-3', elle finit par quitter le modèle et s'arrête.

Mais, à l'autre bout des brins, l'extrémité 3' du brin retardé, l'élimination de la dernière amorce laisse un vide. Celui-ci ne peut recevoir une amorce et le complexe de polymérase ne peut terminer correctement cette extrémité. Cela devrait entraîner un raccourcissement graduel des chromosomes à chaque cycle de division cellulaire (figure 14.21).

### Rôle de la télomérase

Quand on a déchiffré la séquence des télomères, on a vu qu'ils sont formés de courtes séquences répétées d'ADN. Cette répétition s'explique facilement par leur synthèse. Ils sont synthétisés par une enzyme, la télomérase, qui utilise un ARN interne comme matrice au lieu de l'ADN lui-même (figure 14.22).

**Figure 14.22** Action de la télomérase. La télomérase contient un ARN interne utilisé par l'enzyme comme matrice pour allonger l'ADN de l'extrémité du chromosome. De multiples cycles de synthèse par la télomérase donnent des séquences répétées. Ce brin monocaténaire est complété par une synthèse normale l'utilisant comme matrice (non montré).



L'utilisation d'un modèle d'ARN interne permet la synthèse de courts segments d'ADN composés de séquences nucléotidiques répétées complémentaires de l'ARN de l'enzyme. L'autre brin de ces unités répétitives est synthétisé par le mécanisme de réplication habituel qui copie le brin produit par la télomérase.

### Télomérase, vieillissement et cancer

En l'absence d'une activité de télomérase, les extrémités des chromosomes se raccourcissent progressivement. Pendant le développement de l'embryon et l'enfance, chez les humains, la télomérase est très active, mais elle l'est moins dans la plupart des cellules de l'adulte. Les cellules qui doivent se diviser pour fonctionner, comme les lymphocytes, font exception. L'activité de télomérase est maintenue à un niveau peu élevé par un blocage de l'expression du gène codant cette enzyme.

On a prouvé le raccourcissement des chromosomes en l'absence de télomérase en produisant des souris sans activité de télomérase. Ces souris paraissent normales pendant six générations au maximum, mais la longueur des télomères diminue beaucoup et finalement, les descendants ne sont plus viables.

Cette observation montre une relation entre la sénescence (vieillesse) des cellules et la longueur des télomères. Les cellules normales ne subissent qu'un nombre spécifique de divisions en culture. Cette limite est au moins en partie liée à la longueur des télomères.

Cette relation entre la sénescence et la longueur des télomères a été confirmée par l'introduction expérimentale de la télomérase dans des fibroblastes en culture. La durée de vie de ces cellules a été allongée par rapport à celles qui n'ont pas reçu la télomérase. Il est intéressant de constater que ces cellules ne montrent pas de traces de malignité : l'activation de la télomérase seule n'induit donc pas la malignité des cellules.

On a cependant découvert une relation entre télomérase et cancer. Les cellules cancéreuses continuent à se diviser indéfiniment, et ce ne serait pas possible si leurs chromosomes se raccourcissaient sans cesse. Les cellules cancéreuses montrent généralement une activation de la télomérase leur permettant de conserver la longueur des télomères ; mais il est clair que ce n'est pas le seul facteur qui leur permet d'échapper aux contrôles de croissance normaux.



**Question** Quelle est l'influence de la structure des génomes eucaryotes sur la réplication ? Est-elle une source de problèmes qui ne se posent pas aux procaryotes ?

### Questions d'apprentissage 14.5

La réplication des eucaryotes est compliquée par la grande quantité d'ADN organisé en chromosomes et par la nature linéaire des chromosomes. Les eucaryotes répliquent une grande quantité d'ADN en peu de temps grâce à des origines de réplication multiples. Les chromosomes linéaires se terminent par des télomères dont la longueur est en rapport avec la capacité des cellules à se diviser. La télomérase synthétise les télomères. Elle est activée dans les cellules cancéreuses et allonge la capacité des cellules à se diviser.

- Quel pourrait être le résultat d'un raccourcissement anormal des télomères ou de l'absence d'activité de télomérase ?

## 14.6 Réparation de l'ADN

### Objectifs

1. Expliquer pourquoi la réparation de l'ADN est essentielle pour les cellules.
2. Décrire les différentes formes de réparation de l'ADN.

Nous avons déjà vu que beaucoup d'ADN polymérase ont une activité d'exonucléase 3'-5' permettant la « correction des épreuves » des bases ajoutées. La précision de la réplication est ainsi améliorée, mais il reste encore des erreurs. Sans mécanismes de correction, les cellules accumuleraient des erreurs à un niveau inacceptable, avec beaucoup de mutations néfastes ou létales. Il doit exister un équilibre entre l'induction d'une nouvelle diversité par mutation et les conséquences des mutations néfastes pour l'individu.

### Les cellules sont constamment exposées à des agents qui endommagent l'ADN

En plus des erreurs pendant la réplication, les cellules sont constamment exposées à des agents capables d'endommager l'ADN. Ce sont des radiations, comme les UV et les rayons X, et des substances chimiques de l'environnement. Les agents qui endommagent l'ADN peuvent provoquer des mutations, et tout agent qui augmente le nombre de mutations au-dessus du niveau de base est un **mutagène**.

Les organismes sont soumis à un nombre énorme d'agents potentiellement mutagènes. La lumière solaire elle-même est mutagène parce qu'elle inclut des radiations dans la gamme UV. L'ozone est normalement un écran pour les radiations UV dangereuses du soleil, mais il en reste. L'augmentation du cancer de la peau dans les régions de l'hémisphère sud situées en dessous d'un « trou d'ozone » saisonnier montre la relation entre la lumière solaire et les mutations.

Les organismes peuvent aussi rencontrer des mutagènes dans leur alimentation sous la forme de contaminants ou de produits végétaux naturels capables de s'attaquer à l'ADN. Quand on a utilisé un test simple de détection des mutagènes, le criblage des sources potentielles a montré une diversité stupéfiante de mutagènes dans l'environnement et dans les sources naturelles. C'est pour cela que les produits de consommation sont aujourd'hui testés afin de réduire la masse des mutagènes auxquels nous sommes exposés, mais nous ne pouvons échapper aux sources naturelles.

### L'ADN endommagé est réparé

Les cellules ne peuvent échapper à une exposition aux mutagènes, mais des systèmes ont évolué et leur permettent de réparer certains dégâts. Ces systèmes de réparation de l'ADN sont vitaux pour la poursuite de l'existence quand la cellule est autonome, un organisme unicellulaire, ou fait partie d'un organisme pluricellulaire complexe.

La multiplicité des systèmes de réparation découverts et étudiés montre l'importance de la réparation de l'ADN. Toutes les cellules étudiées ont de nombreux systèmes permettant de réparer l'ADN endommagé et de corriger les erreurs apparues pendant la réplication. Ces systèmes ne sont pas parfaits, mais ils réduisent à un niveau acceptable le

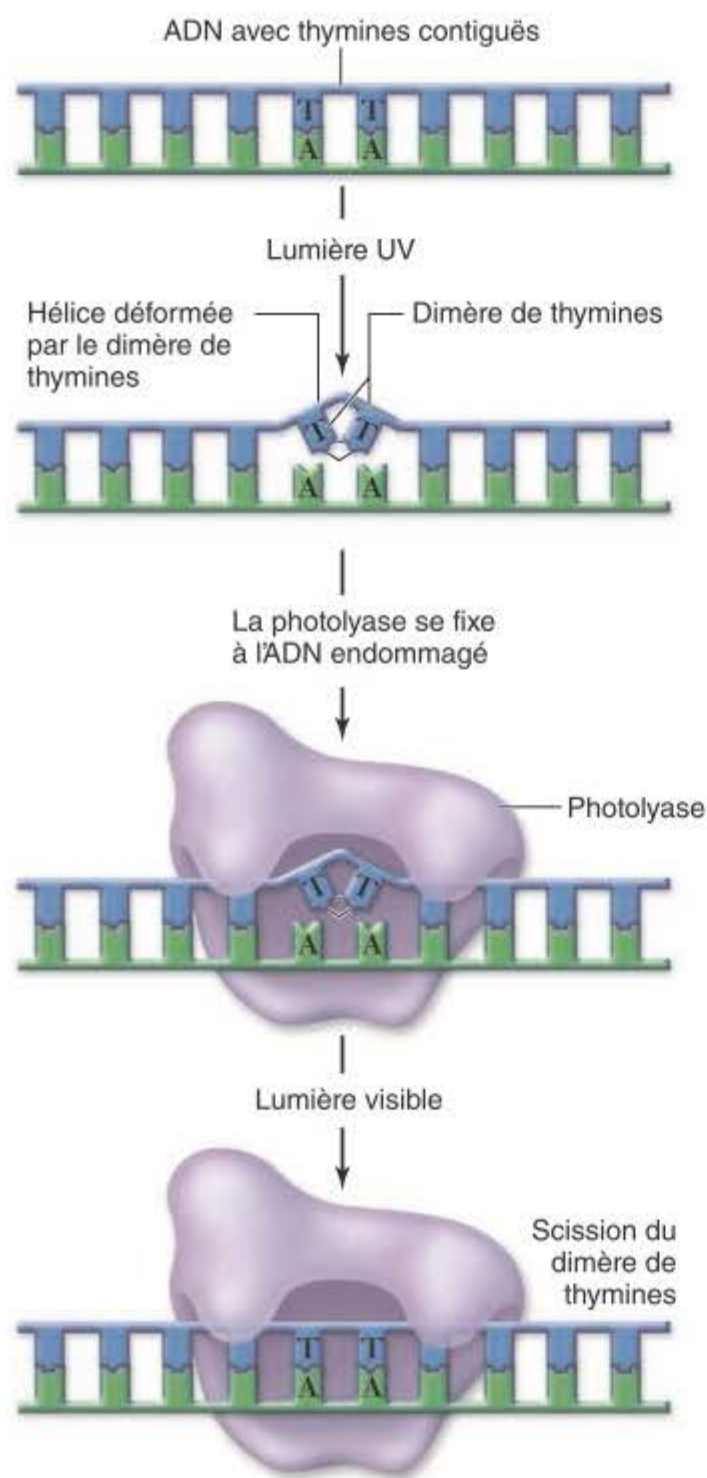
pois des mutations sur les organismes. Dans le reste de cette section, nous illustrerons la réparation de l'ADN en prenant deux exemples parmi ces multiples systèmes de réparation.

## La réparation peut être spécifique ou non spécifique

Les systèmes de réparation de l'ADN se répartissent en deux grandes catégories : spécifique et non spécifique. Les systèmes spécifiques ciblent un seul type de lésion de l'ADN et ne réparent que lui. Les formes non spécifiques de réparation utilisent un même mécanisme pour la réparation de nombreux types de lésions de l'ADN.

### La photoréparation : mécanisme spécifique de réparation

La photoréparation est spécifique pour tout dommage provoqué par l'effet de la lumière UV sur l'ADN. Le photoproduit le plus fréquent provient de la formation d'un dimère par deux thymines adjacentes (figure 14.23). Plusieurs mécanismes peuvent y remédier, comme la photoréparation par une enzyme appelée photolyase. Cette enzyme s'unit aux dimères de thymine, puis elle utilise l'énergie de la lumière visible pour les scinder et restaurer les thymines (figure 14.23).



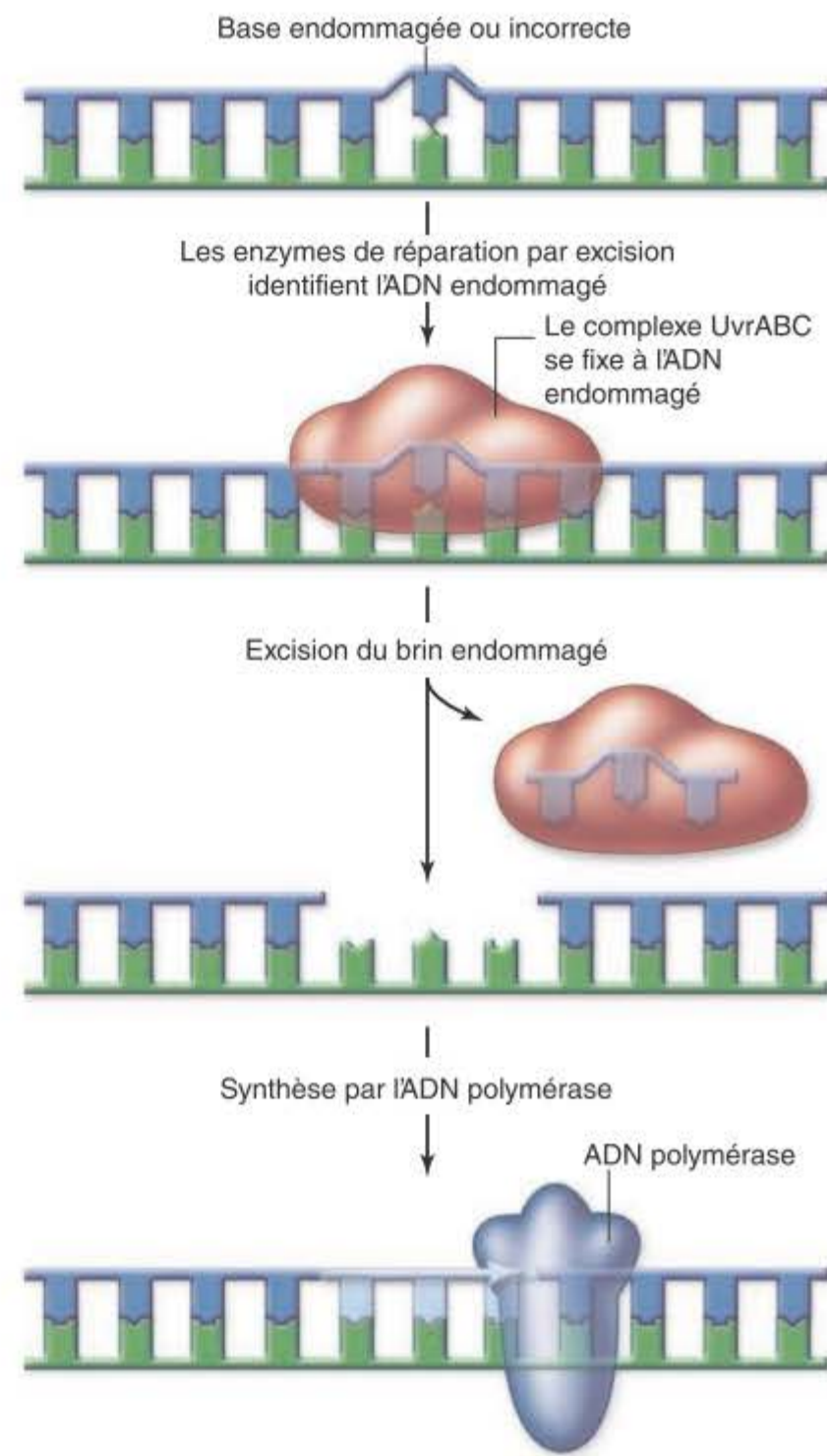
**Figure 14.23** Réparation d'un dimère de thymine par photoréparation. La lumière UV peut catalyser une réaction photochimique et produire une liaison covalente entre deux thymines voisines, créant ainsi un dimère de thymine. La photolyase identifie le dommage et s'unit au dimère de thymine. Cette enzyme absorbe la lumière visible et utilise son énergie pour scinder le dimère.

L'analyse génétique et biochimique a mis en évidence deux photolyases différentes qui identifient des photoproduits différents. D'un point de vue évolutif, ces enzymes semblent apparentées aux cryptochromes, protéines qui absorbent la lumière visible sans avoir d'activité de photolyase. Chez les mammifères, les cryptochromes font partie du mécanisme biochimique qui fait le lien entre les activités métaboliques et les cycles quotidiens lumière/obscurité.

On trouve la photoréparation dans toute une gamme d'organismes allant des bactéries aux mammifères. Les premières observations avaient montré que la peau humaine était susceptible de photoréparation, mais aucune activité n'a ensuite été décelée. Il semble maintenant que les mammifères placentaires ne possèdent aucune photolyase, en dépit de la présence de cryptochromes.

### La réparation par excision : un mécanisme non spécifique

La **réparation par excision** est une forme commune de réparation non spécifique. Dans ce système, une région endommagée est éliminée, excisée, puis remplacée par une synthèse d'ADN (figure 14.24). Chez *E. coli*, ce mécanisme est effectué par les protéines codées par les gènes *uvr A*, *B* et *C*. Bien que ces gènes aient été identifiés grâce à des mutations qui augmentaient la sensibilité des cellules aux UV (d'où « uvr » dans leur nom), leurs protéines peuvent agir sur les dégâts provoqués par d'autres mutagènes.



**Figure 14.24** Réparation par excision de l'ADN endommagé. L'ADN endommagé est identifié par le complexe Uvr, qui s'unit à la région endommagée et l'élimine. L'ADN polymérase remplace cette région. L'ADN ligase clôturé le processus (non montré).

La réparation par excision passe par trois étapes : (1) identification du dommage, (2) élimination de la région endommagée et (3) synthèse basée sur l'information du brin non endommagé servant de matrice (figure 14.24). Le complexe UvrABC effectue l'identification et l'excision. Ce complexe s'unit au brin endommagé, puis le coupe des deux côtés du dommage et l'élimine. Pendant la synthèse, l'ADN Pol I ou Pol II remplace le segment d'ADN endommagé. Il rétablit l'information d'origine sur le segment endommagé en se servant de l'information du brin complémentaire.

### Autres systèmes de réparation

Les cellules disposent d'autres formes de réparation non spécifique de deux types : sans erreur et avec une tendance à l'erreur. Un système avec tendance à l'erreur peut sembler étrange, mais on peut le considérer comme une ultime tentative pour permettre à une cellule d'échapper à des dommages tellement graves qu'elle a épuisé les systèmes sans erreur. En fait, chez *E. coli*, ce système fait partie de ce qu'on appelle la « réponse SOS ».

Les cellules peuvent aussi réparer les cassures de l'ADN. Ces systèmes utilisent des enzymes proches de celles qui interviennent dans la recombinaison en méiose (voir chapitre 11). On pense que la recombinaison utilise des enzymes qui ont évolué d'abord pour réparer l'ADN.

Le nombre de systèmes différents et la vaste gamme de dommages susceptibles d'être réparés illustre l'importance de conserver l'in-

tégrité du génome. Une réplication précise du génome est inutile si la cellule ne peut réparer les erreurs qui surviennent pendant ce processus et les dommages provenant de causes environnementales.

**?** **Question** Les cellules sont constamment exposées à des agents dangereux pour l'ADN, allant de la lumière UV aux sous-produits du métabolisme oxydatif. Comment la cellule s'en accommode-t-elle et que deviendrait-elle si elle ne pouvait le faire ?

### Questions d'apprentissage 14.6

La faculté de réparer l'ADN est essentielle parce que les erreurs à la réplication et la présence constante d'agents dangereux peuvent provoquer des mutations. Les cellules possèdent beaucoup de systèmes de réparation ; certains sont spécifiques d'un seul type de dommage, comme la photoréparation qui scinde les dimères de thymine provoqués par les UV. D'autres systèmes ne sont pas spécifiques, comme la réparation par excision, qui élimine et remplace les régions endommagées.

- Une cellule pourrait-elle survivre sans aucune forme de réparation de l'ADN ?

## Résumé

### 14.1 Nature du matériel génétique

**Griffith découvre la possibilité de transformer les cellules bactériennes.** *S. pneumoniae* non virulent a pu incorporer une substance inconnue d'une souche virulente et devenir virulent.

**Avery, MacLeod et McCarty identifient l'agent transformant.**

La substance transformante a été inactivée par les enzymes qui digèrent l'ADN, mais pas par celles qui digèrent les protéines.

**Hershey et Chase prouvent que le matériel génétique des phages est l'ADN.**

Le marquage radioactif a montré que l'agent infectant du phage n'est pas sa protéine, mais son ADN.

### 14.2 Structure de l'ADN

**On connaissait les composants de l'ADN, mais sa structure tridimensionnelle restait un mystère.**

Les nucléotides de l'ADN contiennent un désoxyribose et les bases adénine (A), guanine (G), cytosine (C) et thymine (T). Des liaisons phosphodiester se forment entre le phosphate 5' d'un nucléotide et l'hydroxyle 3' d'un autre (figure 14.4).

**Chargaff, Franklin et Wilkins ont obtenu des résultats sur la structure.**

Chargaff a trouvé des quantités égales d'adénine et de thymine, de cytosine et de guanine dans l'ADN. Les bases sont surtout représentées par les formes céto et

énol, qui forment des liaisons hydrogène. Les recherches de diffraction des rayons X de Franklin et Wilkins ont montré que la structure de l'ADN est hélicoïdale.

**Le modèle de Watson-Crick est en accord avec les données disponibles (figures 14.8 et 14.9).**

L'ADN consiste en deux brins polynucléotidiques antiparallèles enroulés en hélice autour d'un axe commun. Ces brins sont maintenus par des liaisons hydrogène formant des paires de bases spécifiques (A/T et G/C). Les deux brins sont complémentaires ; l'un des brins peut spécifier l'autre.

### 14.3 Caractéristiques générales de la réplication de l'ADN

**Meselson et Stahl démontrent le mécanisme semi-conservatif (figure 14.11).**

Dans la réplication semi-conservative, chaque brin de la molécule d'ADN spécifie la synthèse d'un nouveau brin. Meselson et Stahl l'ont montré en utilisant un isotope lourd d'azote et en séparant les produits de la réplication. La réplication produit deux nouvelles molécules composées chacune d'un brin nouveau et d'un ancien.

**La réplication de l'ADN requiert un modèle, des nucléotides et une enzyme, une polymérase.**

Toutes les nouvelles molécules d'ADN sont produites par une ADN polymérase qui copie un modèle. Toutes les polymérases connues synthétisent le nouvel ADN dans le sens 5'-3'. Ces enzymes ont aussi besoin d'une amorce. Les matériaux de construction utilisés à la réplication sont des désoxynucléotide triphosphates avec des liaisons à haute énergie ; ils ne demandent pas d'énergie supplémentaire.

## 14.4 La réplication chez les procaryotes

*L'origine de la réplication est unique chez les procaryotes.*

Chez *E. coli*, l'origine possède des séquences riches en AT qui s'ouvrent facilement. Le chromosome et son origine forment un réplicon.

**E. coli possède au moins trois ADN polymérases différentes.**

Certaines ADN polymérases peuvent aussi dégrader l'ADN à partir d'une extrémité : c'est une activité d'exonucléase. Pol I, II et III ont toutes une activité d'exonucléase 3'-5' capable d'éliminer les bases mal appariées. Pol I peut enlever les bases dans le sens 5'-3', ce qui est important pour éliminer les amorces d'ARN.

*L'ouverture de la torsade d'ADN exige de l'énergie et provoque une tension de torsion.*

L'ADN hélicase utilise l'énergie de l'ATP pour ouvrir la torsade d'ADN. La tension de torsion est éliminée par l'ADN gyrase.

*La réplication est semi-discontinue.*

La réplication est discontinue sur l'un des brins (figure 14.15). Le brin continu est le brin avancé, le discontinu est le brin retardé.

*La synthèse se déroule à la fourche de réplication.*

L'ouverture partielle d'un segment d'ADN donne deux régions monocaténaïres, la fourche de réplication. À cet endroit, la synthèse sur le brin avancé ne demande qu'une seule amorce et la polymérase reste fixée au modèle parce que la sous-unité  $\beta$  fonctionne comme une pince coulissante. Sur le brin retardé, l'ADN primase ajoute périodiquement des amorces et l'ADN Pol III synthétise les fragments d'Okazaki. L'ADN Pol I élimine les amorces et l'ADN ligase réunit les fragments.

*Le réplisome rassemble toutes les enzymes nécessaires à la réplication.*

Le réplisome se compose de deux exemplaires de Pol III, de l'ADN primase, de l'ADN hélicase et de plusieurs protéines accessoires. Il se déplace dans une direction en faisant une boucle dans le brin retardé, permettant la copie des brins modèles antiparallèles dans la même direction (figures 14.18 et 14.19).

## 14.5 La réplication chez les eucaryotes

*La réplication des eucaryotes doit disposer d'origines multiples.*

La grande taille et l'organisation des chromosomes eucaryotes supposent des origines de réplication multiples pour pouvoir répliquer l'ADN pendant le temps disponible au stade S.

*L'enzymologie de la réplication des eucaryotes est plus complexe.*

La primase des eucaryotes synthétise un court segment d'ARN puis elle passe à la synthèse de l'ADN. Cette amorce est allongée par la principale polymérase de réplication, qui est un complexe de deux enzymes. À l'origine, la pince coulissante a été identifiée comme une protéine produite par les cellules en prolifération et appelée PCNA.

*Les protéines de réplication des archées sont semblables à celles des eucaryotes.*

Les protéines de réplication des archées, y compris la pince coulissante, le chargeur de pince et les ADN polymérases, ressemblent plus à celles des eucaryotes qu'à celles des procaryotes.

*Les chromosomes linéaires ont des extrémités spécialisées.*

Les télomères sont les extrémités des chromosomes linéaires. Ils ne sont pas synthétisés par le complexe de réplication, mais par la télomérase. Celle-ci contient un ARN interne qui joue le rôle de matrice pour l'allongement de l'extrémité du chromosome. Les cellules adultes perdent leur activité de télomérase et le raccourcissement des télomères est en relation avec le vieillissement.

## 14.6 Réparation de l'ADN

*Les cellules sont constamment exposées à des agents qui endommagent l'ADN.*

Les erreurs de réplication et les dommages dus à des agents comme la lumière UV et les mutagènes chimiques peuvent induire des mutations.

*L'ADN endommagé est réparé.*

Sans les mécanismes de réparation, les cellules accumuleraient des mutations jusqu'à devenir inviabilés.

*La réparation peut être spécifique ou non spécifique.*

Les photolyases sont des enzymes qui utilisent la lumière visible pour scinder les dimères de thymine induits par les UV. Il existe deux types de cette enzyme spécifiques de sortes différentes de dommages. Les mammifères ne possèdent pas ces enzymes. La réparation par excision n'est pas spécifique. Chez les procaryotes, le système uvr peut éliminer une région endommagée de l'ADN.

## Questions

### COMPRÉHENSION

- Quelle est la découverte essentielle découlant des expériences de Griffith sur des bactéries pathogènes vivantes et tuées par la chaleur ?
  - Les bactéries lisses pouvaient tuer les souris.
  - Les bactéries rugueuses n'étaient pas létales.
  - L'ADN est le matériel génétique.
  - Le matériel génétique peut passer des bactéries mortes aux vivantes.
- Quel composant *ne* fait PAS partie de l'ADN ?
  - L'uracile (pyrimidine)
  - Des sucres à cinq carbones
  - L'adénine (purine)
  - Des groupements phosphate

- Chargaff a étudié la composition de l'ADN de diverses origines et trouvé que
  - le nombre de groupements phosphate égale toujours celui des sucres à cinq carbones.
  - les proportions de A et C sont égales, ainsi que celles de G et T.
  - les proportions de A et T sont égales, ainsi que celles de G et C.
  - les purines s'unissent aux pyrimidines.
- Les liaisons qui unissent deux brins complémentaires d'ADN sont
  - des liaisons hydrogène.
  - des liaisons peptidiques.
  - des liaisons ioniques.
  - des liaisons phosphodiester.

5. Le mécanisme de base de la réplication de l'ADN est semi-conservatif avec deux nouvelles molécules,
  - a. chacune avec de nouveaux brins.
  - b. une avec tous les nouveaux brins, l'autre avec tous les anciens.
  - c. chacune avec un nouveau brin et un ancien.
  - d. chacune avec un mélange de brins anciens et nouveaux.
6. Toutes les ADN polymérases ont une caractéristique en commun :
  - a. elles synthétisent l'ADN dans le sens 3'-5'.
  - b. elles synthétisent l'ADN dans le sens 5'-3'.
  - c. elles synthétisent l'ADN dans les deux sens en changeant de brin.
  - d. elles n'ont pas besoin d'amorce.
7. Parmi les propositions suivantes, laquelle *NE* fait *PAS* partie du modèle de Watson-Crick pour la structure de l'ADN ?
  - a. l'ADN se compose de deux brins.
  - b. les deux brins d'ADN sont orientés parallèlement (5'-3').
  - c. les purines s'unissent aux pyrimidines.
  - d. l'ADN forme une double hélice.
6. Pour être correcte, la réplication de l'ADN a besoin de ce qui suit, sauf
  - a. l'hélicase.
  - b. l'ADN primase.
  - c. l'endonucléase.
  - d. l'ADN ligase.
7. La synthèse des télomères
  - a. utilise l'ADN polymérase, mais sans la pince coulissante.
  - b. utilise les enzymes intervenant dans la réparation de l'ADN.
  - c. a besoin de la télomérase, mais pas d'une matrice.
  - d. a besoin de la télomérase, qui utilise un ARN interne comme matrice.
8. Quand on a isolé des mutations affectant la réplication de l'ADN, on en a trouvé de deux sortes. Dans les cultures non synchronisées (ne se divisant pas simultanément), certaines cessaient immédiatement de se répliquer, alors que les autres s'arrêtaient beaucoup plus progressivement. La première catégorie agit sur des fonctions au niveau de la fourche de réplication, comme la polymérase ou la primase. La seconde affecte des fonctions nécessaires à
  - a. l'allongement du brin retardé, mais pas du brin avancé.
  - b. l'allongement du brin avancé, mais pas du brin retardé.
  - c. l'initiation : les cellules se répliquent complètement, mais ne peuvent entamer un nouveau cycle.
  - d. le pince coulissante : son absence ralentit la polymérase.

## APPLICATIONS

1. Si un des brins d'ADN est 5'ATCGGTTAAGCGAGTCA3', le brin complémentaire devrait être :
  - a. 5'TAGCAATTCGCTCAGT3'.
  - b. 5'ACTGAGCGAATTGCTA3'.
  - c. 5'TGACTCGCTTAACGAT3'.
  - d. 5'ATCGTTAAGCGAGTCA3'.
2. Hershey et Chase ont utilisé le phosphore et le soufre radioactifs pour
  - a. marquer l'ADN et les protéines avec la même molécule.
  - b. marquer différemment l'ADN et les protéines.
  - c. identifier le principe transformant.
  - d. (b) et (c) sont exacts.
3. L'expérience de Meselson et Stahl utilisait un marquage par densité pour pouvoir
  - a. déterminer le sens de la réplication de l'ADN.
  - b. marquer différemment l'ADN et les protéines.
  - c. distinguer les brins nouveaux des anciens.
  - d. distinguer l'ADN répliqué et les amorces d'ARN.
4. La différence entre la synthèse des brins avancé et retardé est une conséquence
  - a. de la seule structure physique de l'ADN.
  - b. de la seule activité des ADN polymérases.
  - c. de la structure physique de l'ADN et de l'action de la polymérase.
  - d. de la plus grande taille du brin retardé.
5. L'absence d'activité d'ADN ligase à la réplication aurait surtout des conséquences pour
  - a. la synthèse sur le brin retardé par rapport au brin avancé.
  - b. la synthèse sur le brin avancé par rapport au brin retardé.
  - c. la synthèse de l'amorce par rapport à la synthèse de l'ADN lui-même.
  - d. la photoréparation par rapport à la réplication de l'ADN.

## RÉVISION

1. Le travail de Griffith a, pour la première fois, montré que l'ADN était le matériel génétique. Revoyez les quatre expériences schématisées à la figure 14.1. Donnez les résultats prévisibles des variantes suivantes de cette expérience classique.
  - a. Pathogène et non pathogène tués par la chaleur.
  - b. Pathogène tué par la chaleur et non pathogène vivant en présence d'une enzyme qui digère les protéines (protéase).
  - c. Pathogène tué par la chaleur et non pathogène vivant en présence d'une enzyme qui digère l'ADN (endonucléase).
2. Dans l'expérience de Meselson-stahl, on a effectué une expérience témoin pour montrer que les bandes hybrides après un cycle de réplication étaient en fait deux brins complets, un lourd et un léger. Avec le processus expérimental détaillé dans le texte, comment peut-on le montrer ?
3. Le fonctionnement des enzymes est extrêmement important pour la réplication de l'ADN. Quelle serait la conséquence de la perte d'activité des enzymes suivantes :
  - a. ADN gyrase
  - b. ADN polymérase III
  - c. ADN ligase
  - d. ADN polymérase I