



**UE de L3 - Biol303**

**Biologie moléculaire des génomes**

*Christian VÉLOT*  
*Généticien Moléculaire*

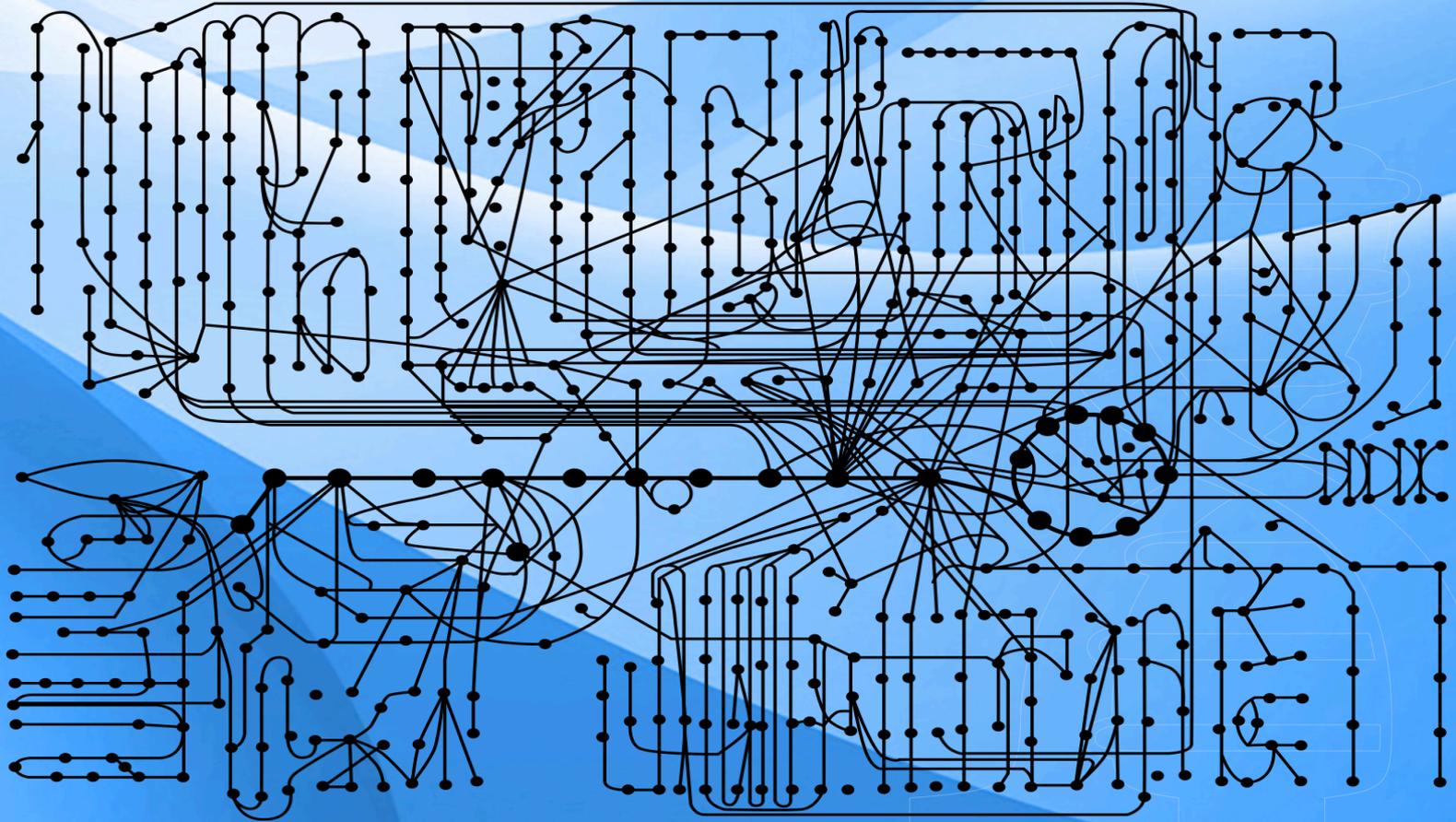
• **Université Paris Saclay, Centre scientifique d'Orsay** •

**Avenue Jean Perrin - Bât. 350 - RdC**

**Tél. : 01 69 15 82 95**

**Courriel : [christian.velot@universite-paris-saclay.fr](mailto:christian.velot@universite-paris-saclay.fr)**

# Le réseau métabolique

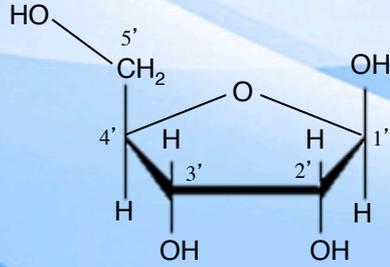




- **Rappels : structure des acides nucléiques** •
  - **Topologie de l'ADN circulaire** •
    - **Réplication** •

# Les constituants des acides nucléiques (ADN et ARN)

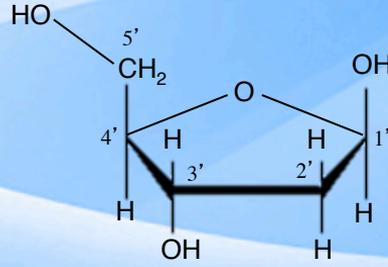
## Le sucre



Ribose

ARN

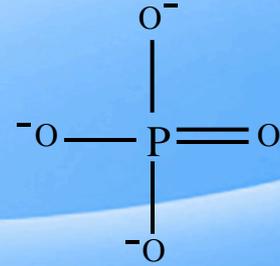
ou



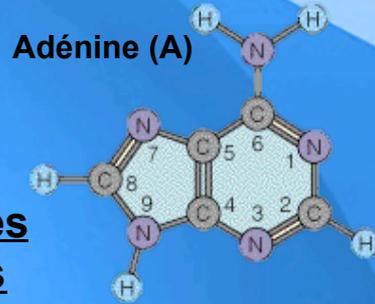
2' -Désoxyribose

ADN

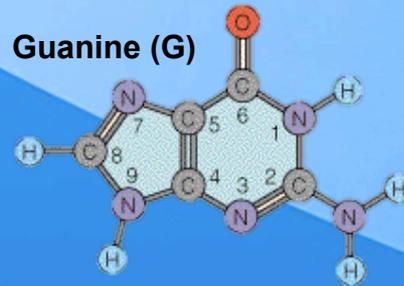
## Le phosphate



## Les puriques

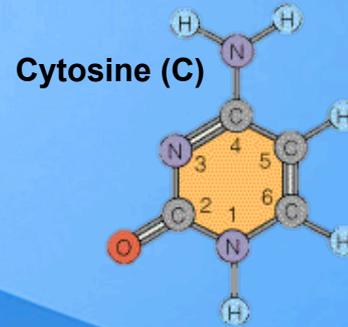


6-amino purine

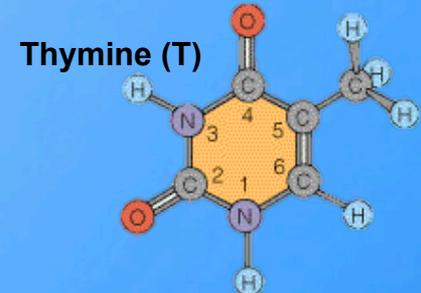


2-amino-6-ceto purine

## Les pyrimidiques



2-ceto-4-amino pyrimidine



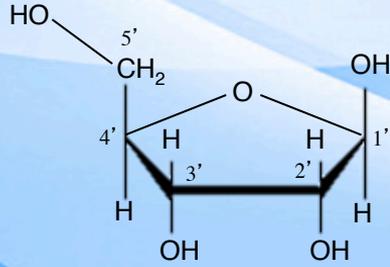
2,4 diceto-5-méthyl pyrimidine

## Les bases azotées

ADN

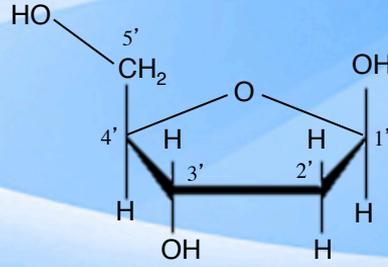
# Les constituants des acides nucléiques (ADN et ARN)

## Le sucre



Ribose

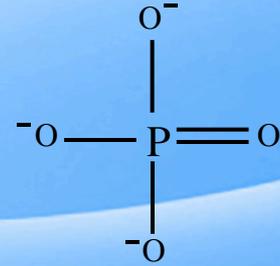
ARN



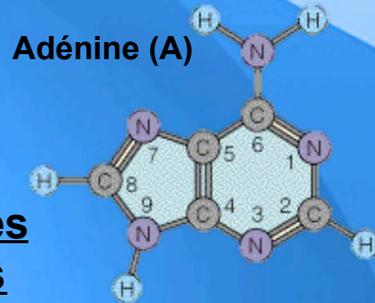
2' -Désoxyribose

ADN

## Le phosphate

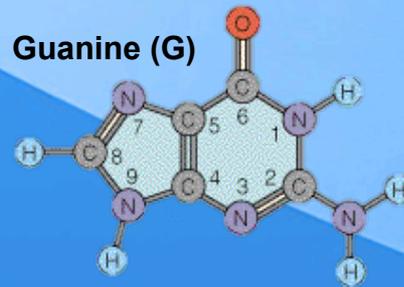


## Les puriques



Adénine (A)

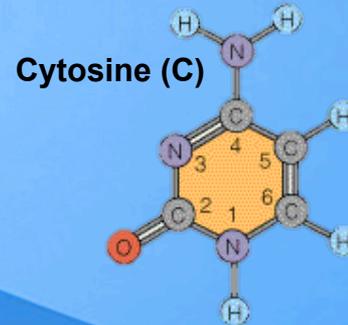
6-amino  
purine



Guanine (G)

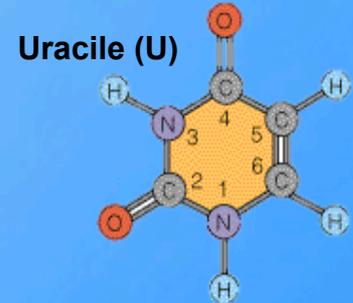
2-amino-6-ceto  
purine

## Les pyrimidiques



Cytosine (C)

2-ceto-4-amino  
pyrimidine



Uracile (U)

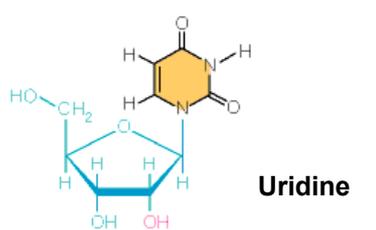
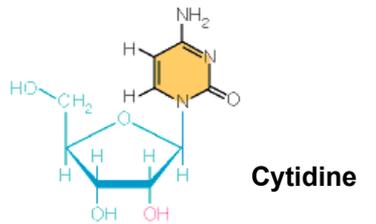
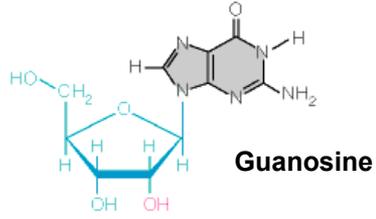
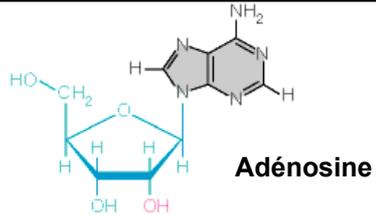
2,4 diceto  
pyrimidine

## Les bases azotées

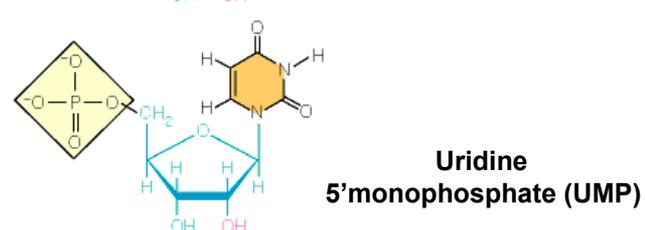
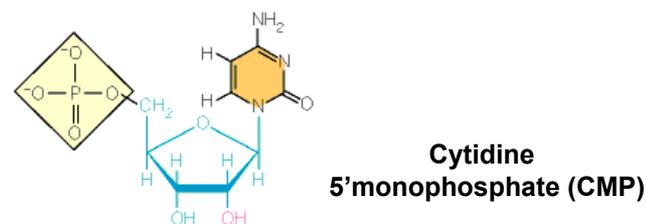
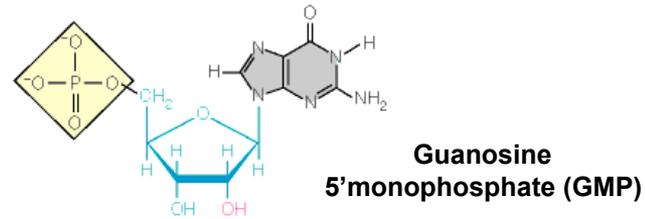
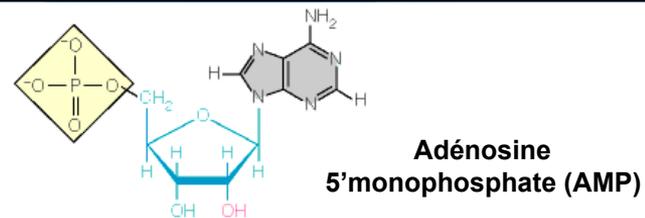
ARN

# Assemblage des constituants des acides nucléiques

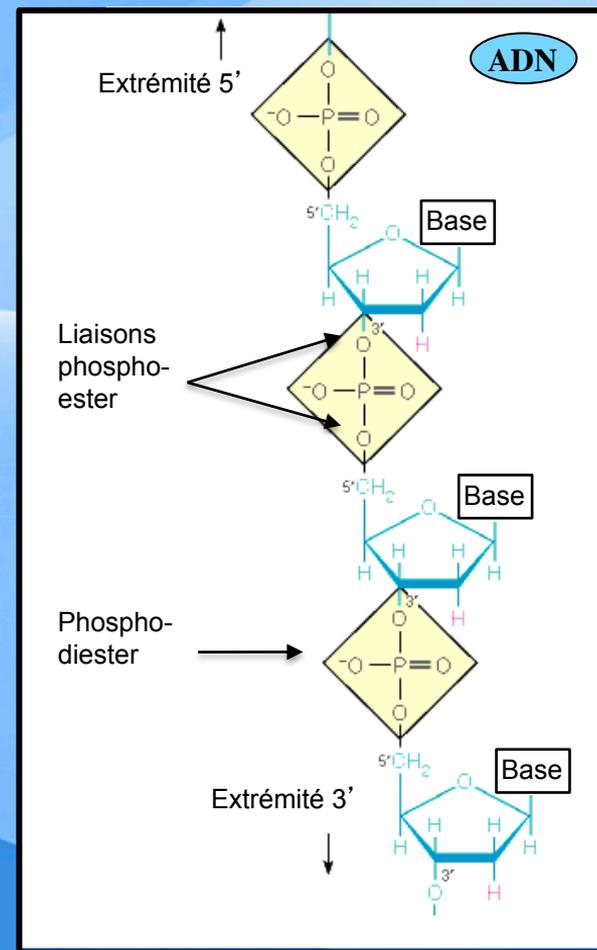
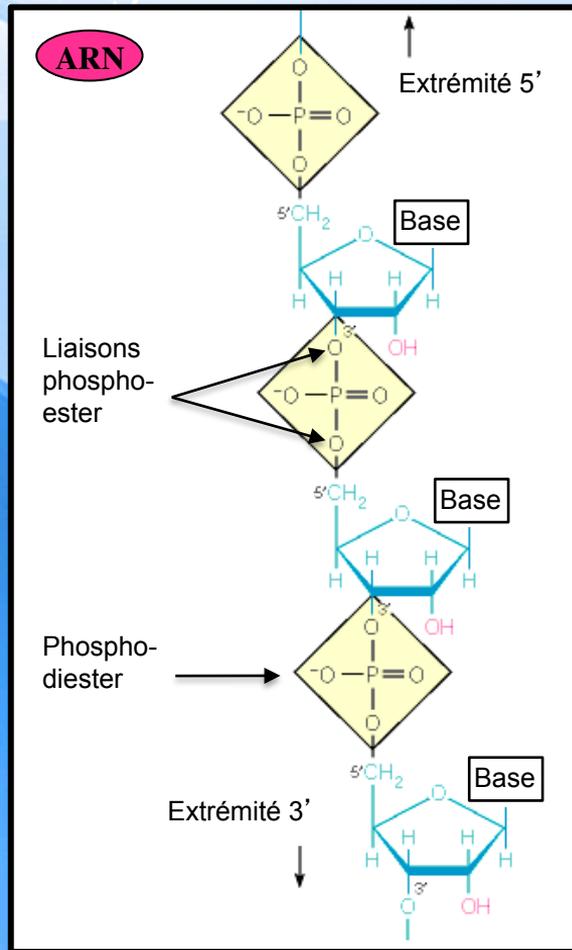
## NUCLEOSIDES



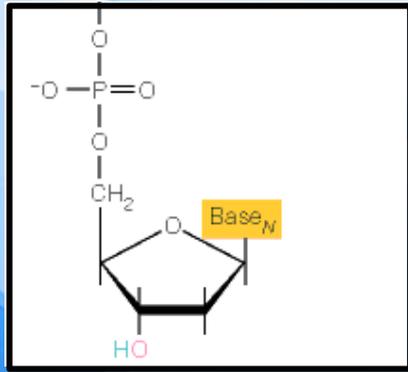
## NUCLEOTIDES



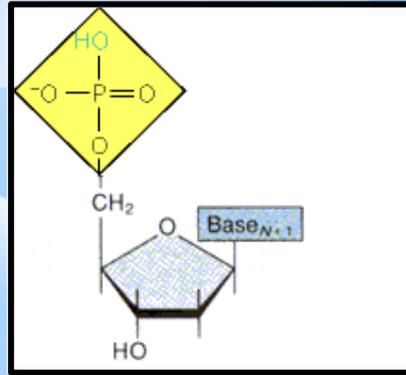
# Assemblage des constituants des acides nucléiques



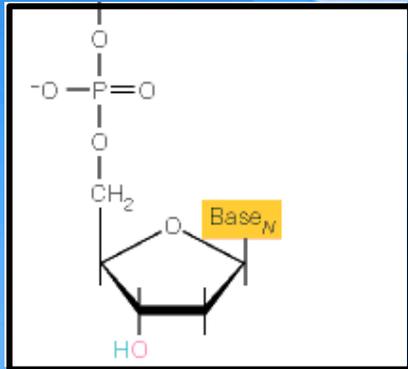
# Synthèse d'un polynucléotide



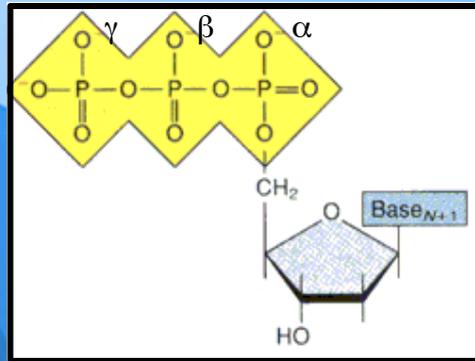
Polynucléotide  
avec  $N$  résidus



Déoxynucléoside  
monophosphate



Polynucléotide  
avec  $N$  résidus



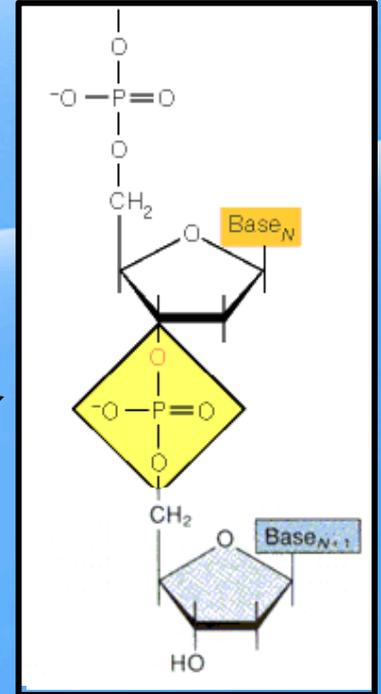
Déoxynucléoside  
triphosphate

$$c = b + a$$

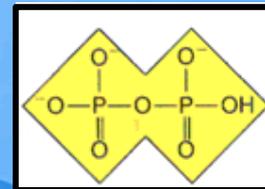
**a**  
+25 kJ/mol

**c**  
-6 kJ/mol

**b**  
-31 kJ/mol

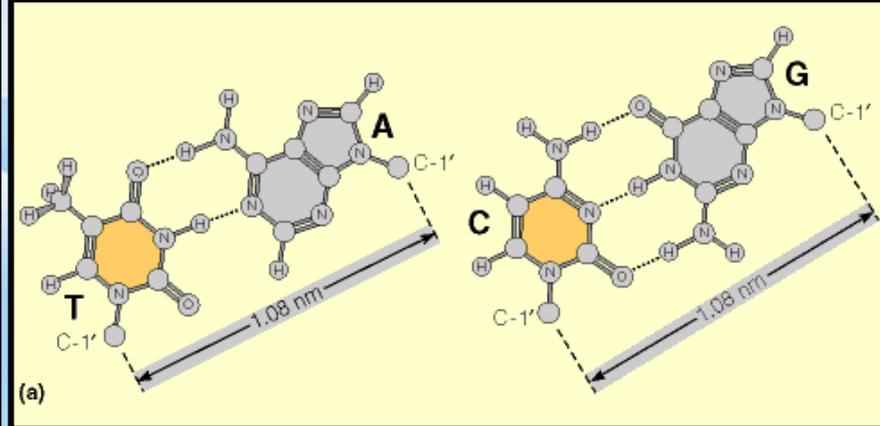
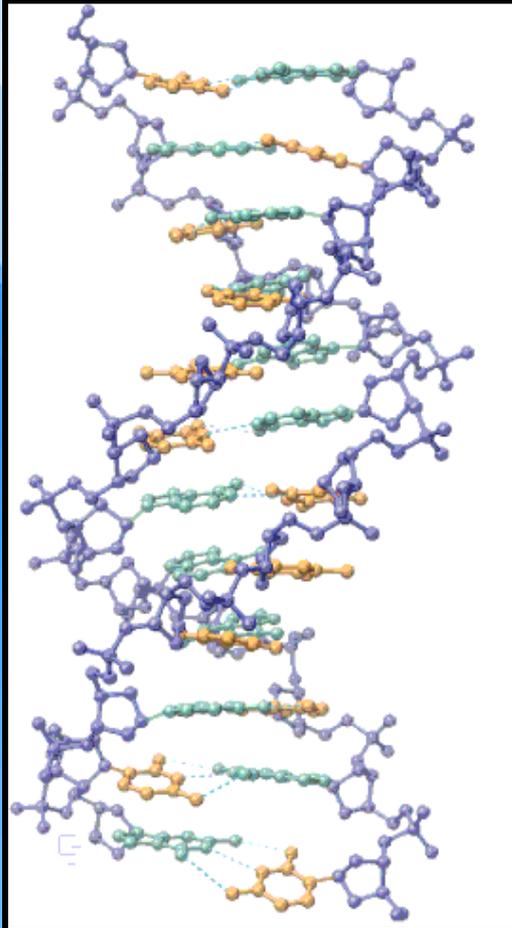


Polynucléotide  
avec  $N+1$  résidus



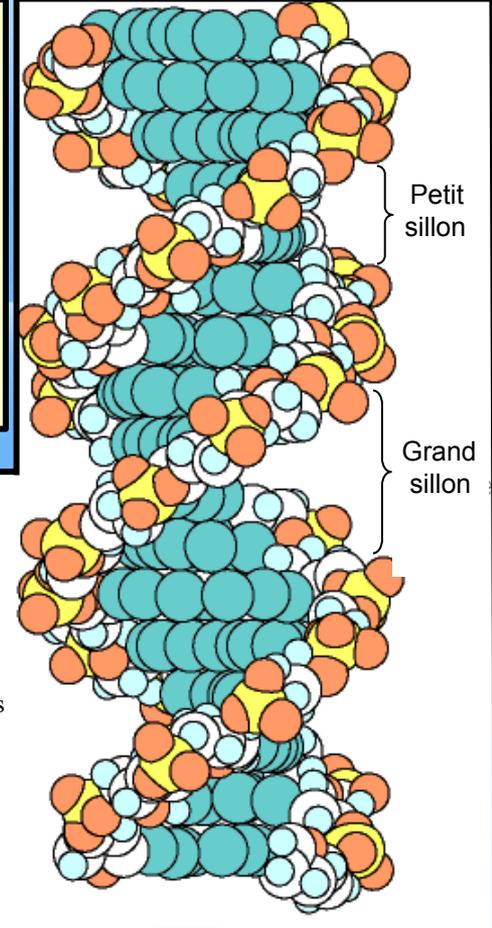
Pyrophosphate

# La double hélice d'ADN

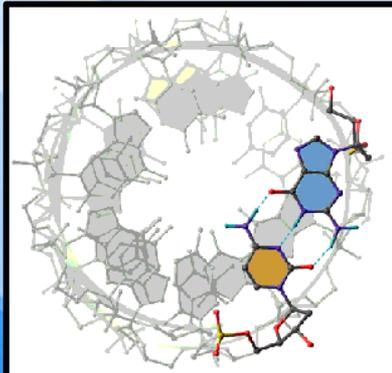


ADN B

- Atome
- H
  - O
  - C dans les sucres
  - C et N dans les bases
  - P

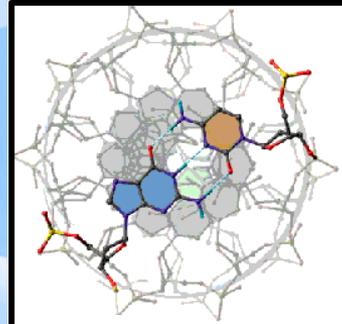


# La deux principales formes d'ADN double-brin

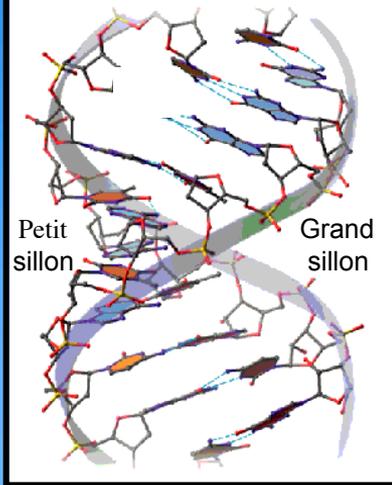


ADN A

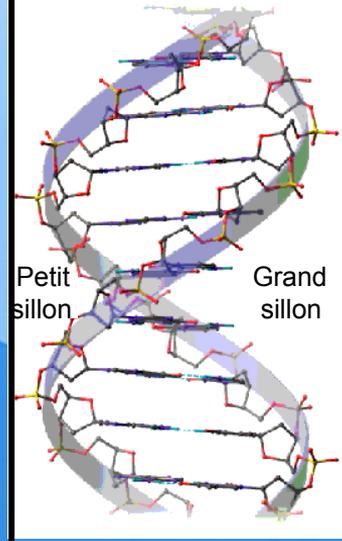
Vues d'une extrémité



ADN B



Vues de côté



## ADN A :

- Hélices droites
- Condition de faible humidité
- 11 résidus par tour
- Diamètre : 2,3 nm

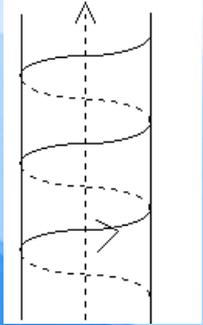
## ADN B (forme la plus répandue) :

- Hélices droites
- Condition de forte humidité
- 10,5 résidus par tour
- Diamètre : 2 nm

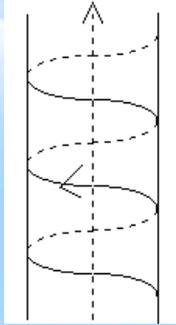
**Les doubles-hélices  
ARN-ADN et ARN-ARN  
sont exclusivement de forme A**

# Hélices droites et gauches

Hélice droite



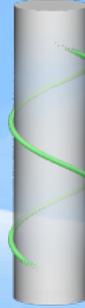
Hélice gauche



Hélice droite



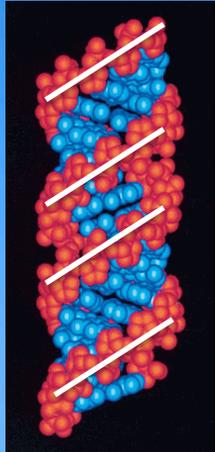
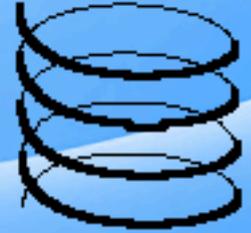
Hélice gauche



Hélice droite

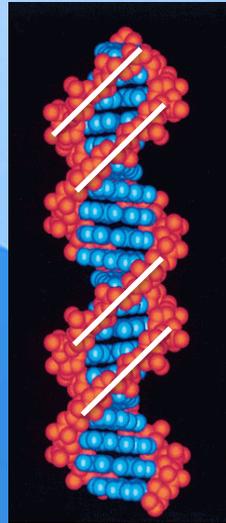


Hélice gauche



**ADN A**

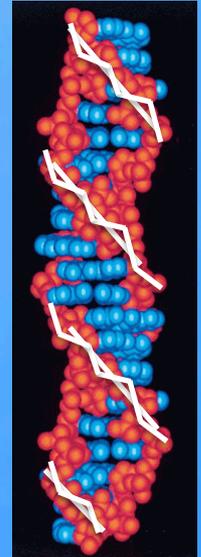
**Hélices droites**



**ADN B**

**ADN Z**

**Hélices gauches**



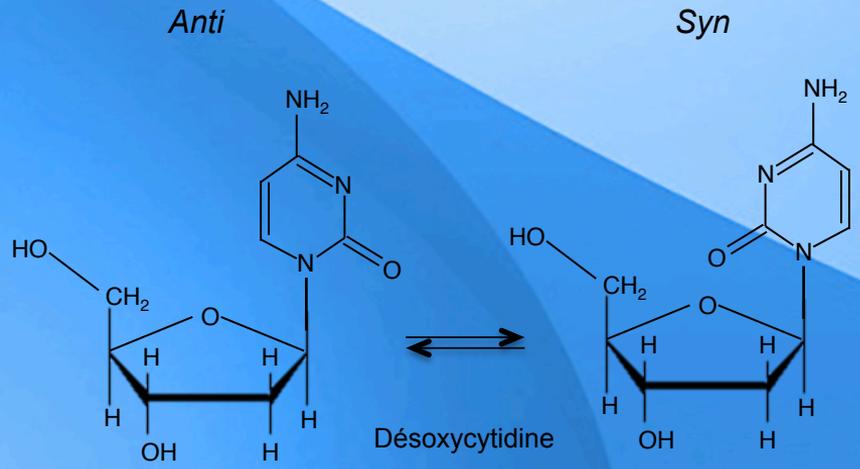
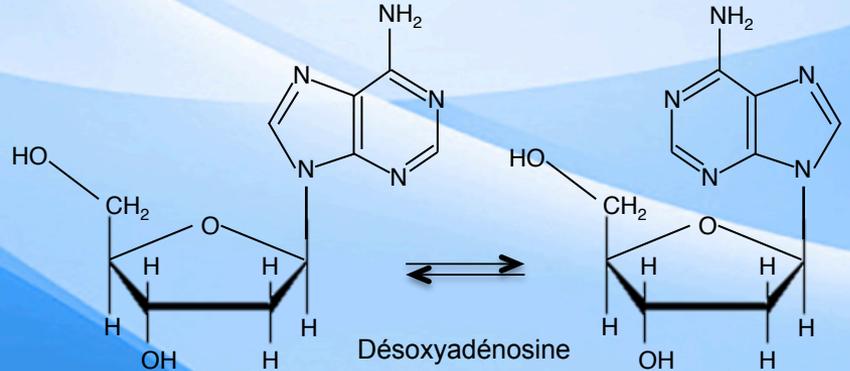
# ADN Z

On le trouve le plus souvent au niveau de séquences présentant une alternance de bases puriques et pyrimidiques :

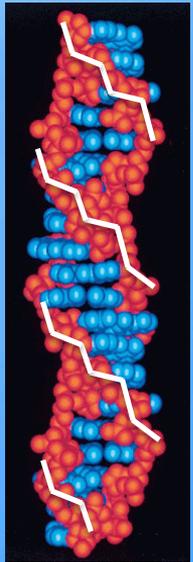
Exemple : CGCATGTATACGCACG  
GCGTACATATGCGTGC

ADNs A et B : toutes les bases sont dans l'orientation *anti*

ADN Z : - les bases pyrimidiques sont dans l'orientation *anti*  
- les bases puriques sont dans l'orientation *syn*



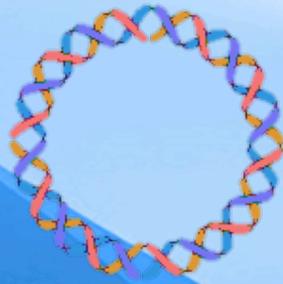
Aspect en Zig-Zag



- Hélices gauches
- 12 résidus par tour
- Diamètre : 1,8 nm

# Les molécules d'ADN circulaire : notion de surenroulement

➤ Cas de l'ADN chromosomique procaryote, de l'ADN mitochondrial, des plasmides



ADN circulaire  
relaxé

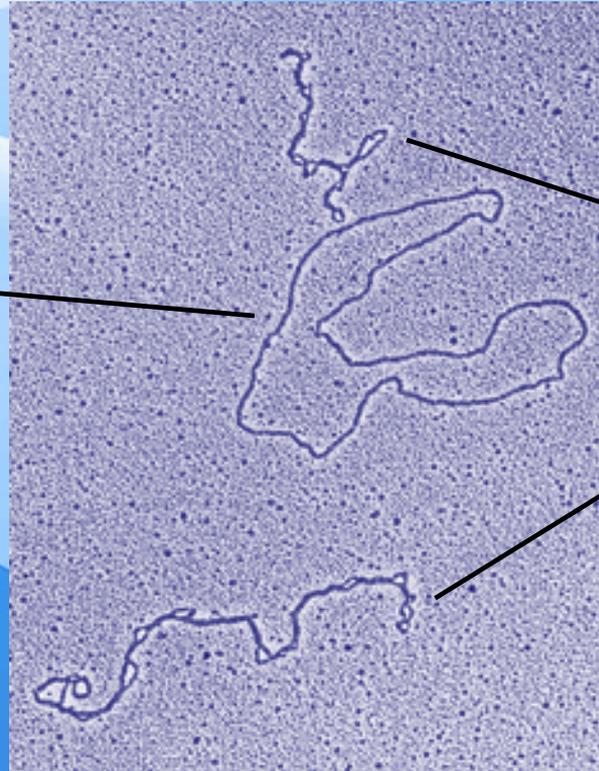
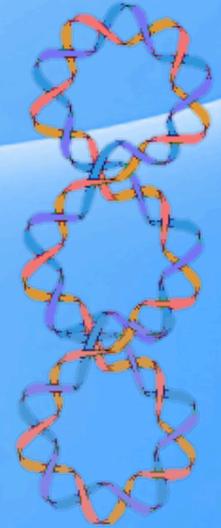
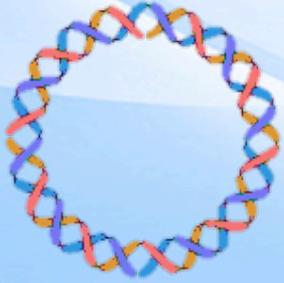


Photo électronique montrant trois molécules  
d'ADN mitochondrial (16500 pb)



ADN circulaire  
surenroulé

# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie



**Molécule d'ADN circulaire = deux anneaux entrelacés**

La façon dont ces deux anneaux sont enlacés est quantifiée par « **Lk** » :  
**Lk** ("Linking number") = nombre d'enlacements

**Tw** ("Twisting number") = nombre de tours d'hélice

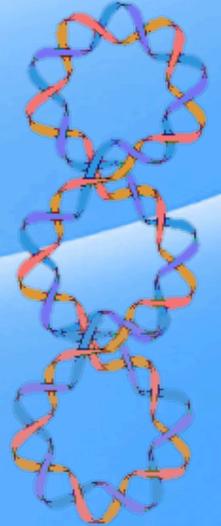
**Wr** ("Writhing number") = nombre de surenroulements (villages)

**Lk = Tw + Wr = Cste** (tant que les deux brins restent intacts = absence de cassure)

**Tw = N/h<sub>0</sub>** où  $\left\{ \begin{array}{l} \mathbf{N} = \text{Nombre de paires de base en double hélice} \\ \mathbf{h}_0 = \text{Nombre de paires de bases par tour d'hélice (pas de l'hélice)} \end{array} \right.$

**Tw > 0**

**Wr > 0 ou Wr < 0**



*N.B. : **Lk** et **Wr** : grandeurs spécifiques des molécules circulaires  
**Tw** : grandeur concernant aussi bien les molécules linéaires que les molécules circulaires*

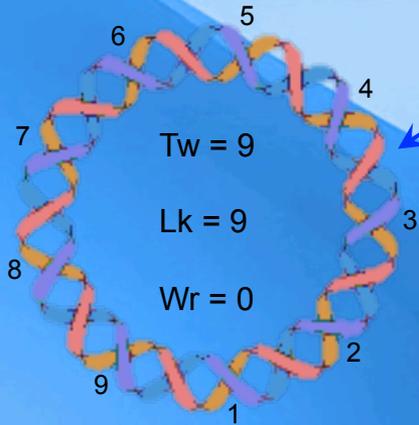
# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

$$Lk = Tw + Wr = Cste$$

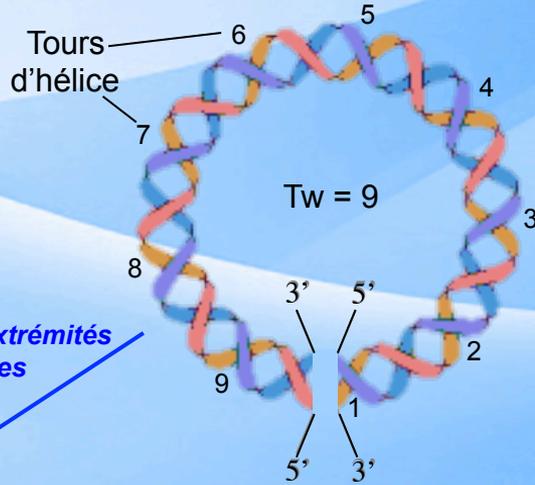
$$Tw = N/h_0$$

ADN double brin  
circulaire relaxé

$$h_0 = N/Tw = 95/9 = 10,55$$



Ligature des extrémités  
entre elles



ADN double brin linéaire  
de 95 pb (N=95)

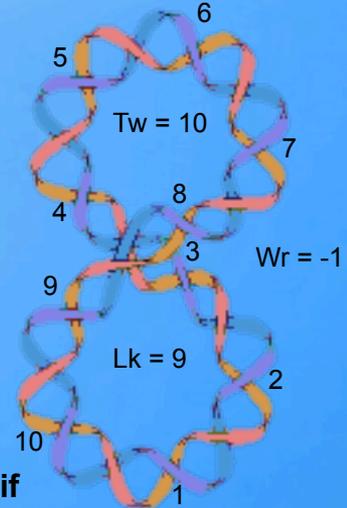
$$\Rightarrow h_0 = N/Tw = 95/9 = 10,55$$

$$Lk = Cste$$

Modification des conditions physicochimiques affectant  $h_0$

ADN double brin  
circulaire surenroulé

$$h_0' = N/Tw = 95/10 = 9,55$$



De façon générale : Si  $h_0' < h_0 \Rightarrow N/h_0' (Tw') > N/h_0 (Tw) \Rightarrow Wr < 0 \Rightarrow$  surenroulement négatif

Si  $h_0' > h_0 \Rightarrow N/h_0' (Tw') < N/h_0 (Tw) \Rightarrow Wr > 0 \Rightarrow$  surenroulement positif

# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

Topoisomères

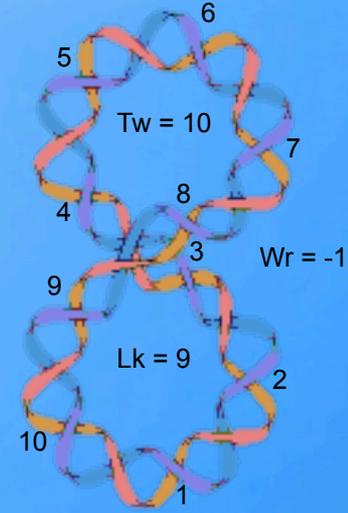
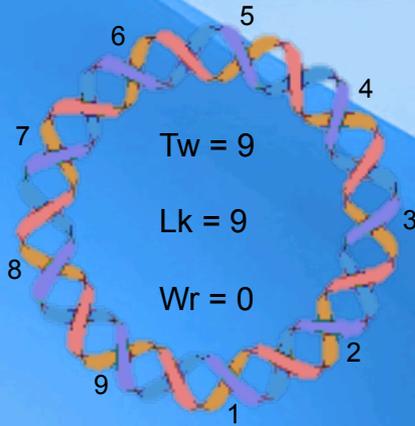
$$G_1 \cong G_2$$

$G_1$

$G_2$

1

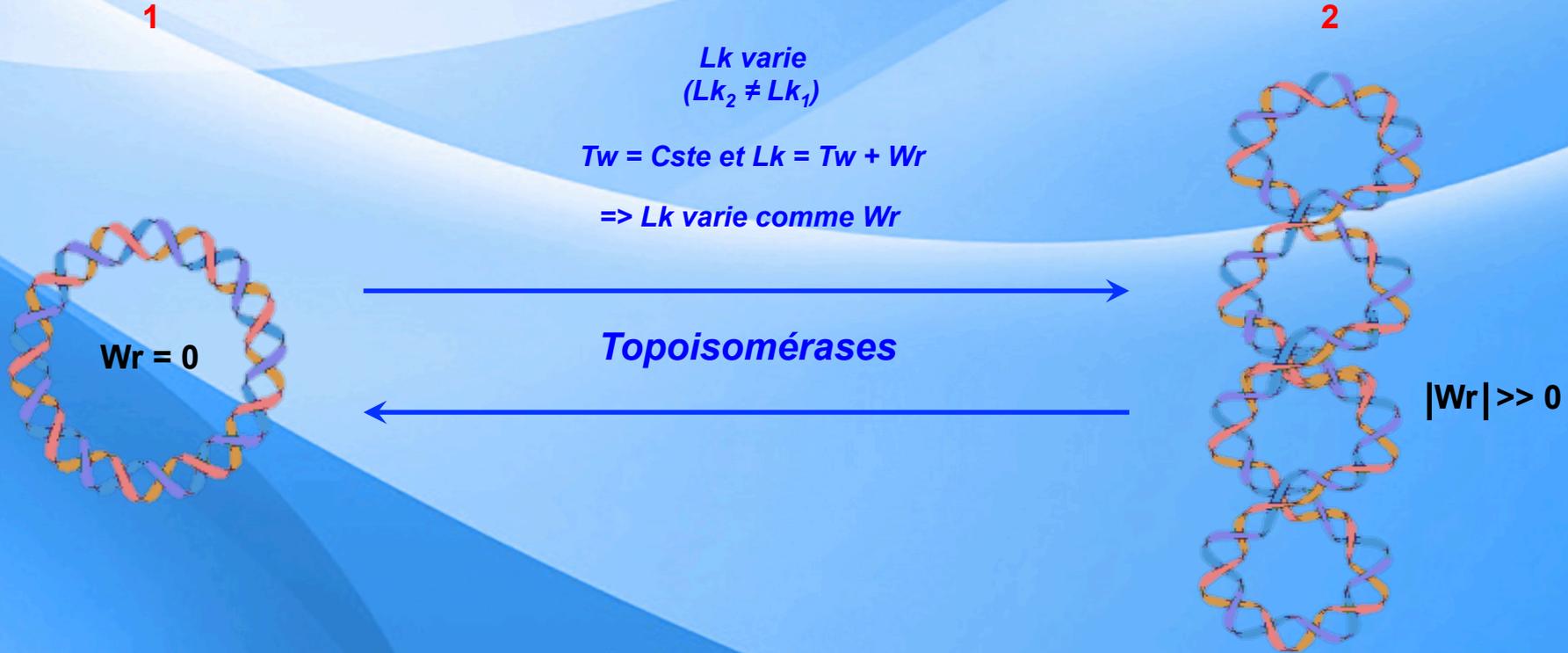
2



$$Lk = Cste$$

Modification des conditions physicochimiques affectant  $h_0$

# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

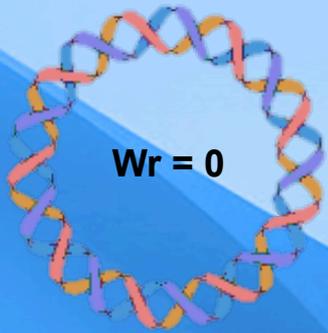


Si  $Wr_2 < 0 \Rightarrow Lk_2 < Lk_1 \Rightarrow$  La molécule 2 présente un défaut d'enlassement

Si  $Wr_2 > 0 \Rightarrow Lk_2 > Lk_1 \Rightarrow$  La molécule 2 présente un excès d'enlassement

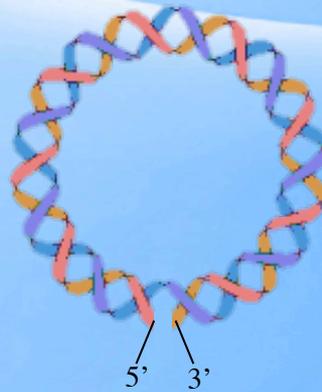
# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

1



$Lk$  varie  
( $Lk_2 \neq Lk_1$ )

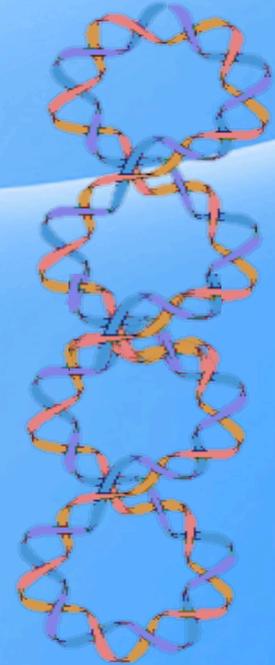
$Tw = Cste \Rightarrow Lk$  varie comme  $Wr$



**Topoisomérase I**



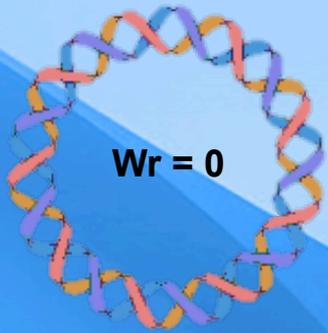
2



$|Wr| \gg 0$

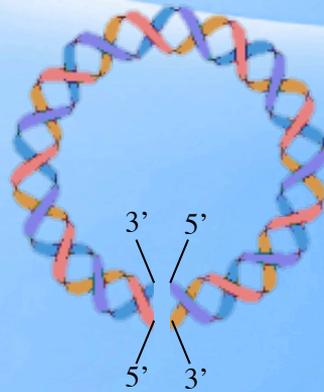
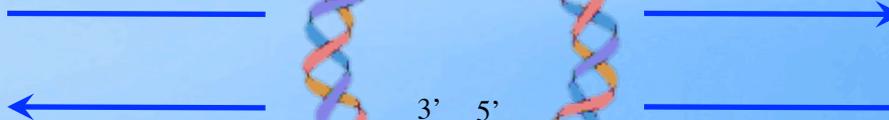
# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

1

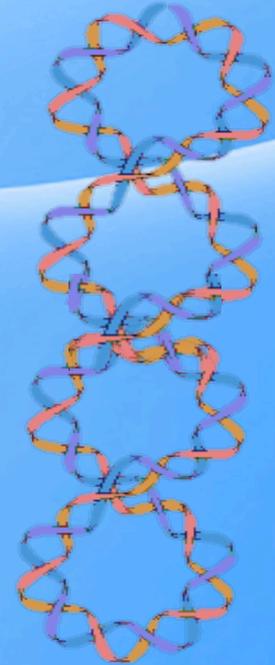


$Lk$  varie  
( $Lk_2 \neq Lk_1$ )

$Tw = Cste \Rightarrow Lk$  varie comme  $Wr$

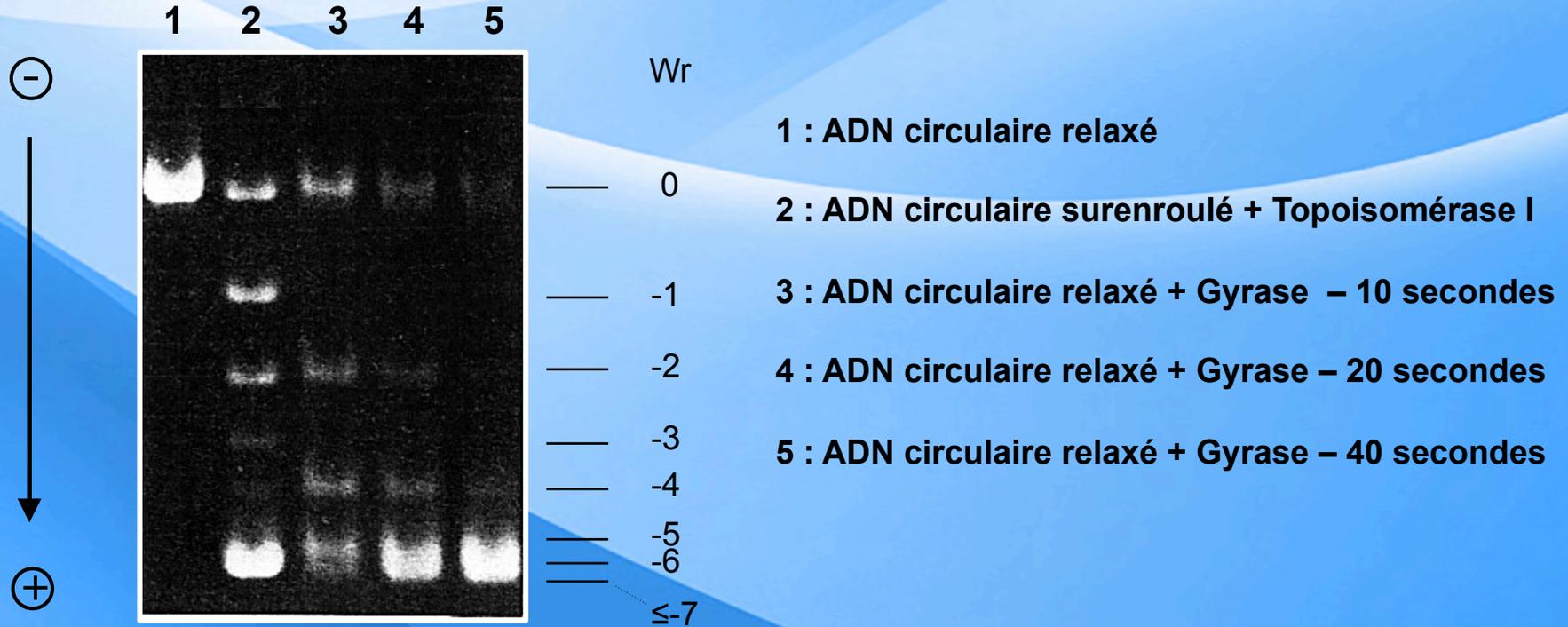


2

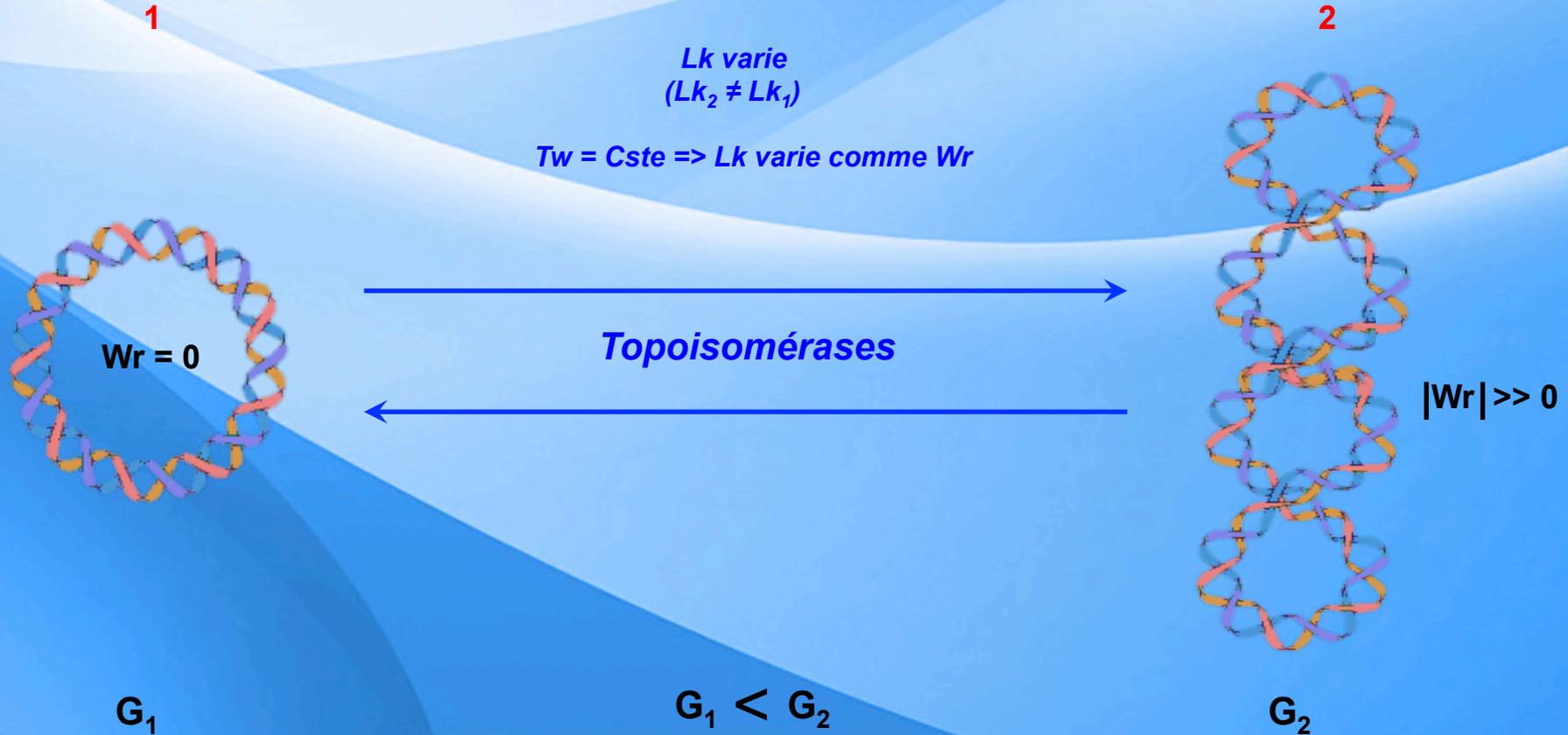


**Gyrase (Topoisomérase II)**

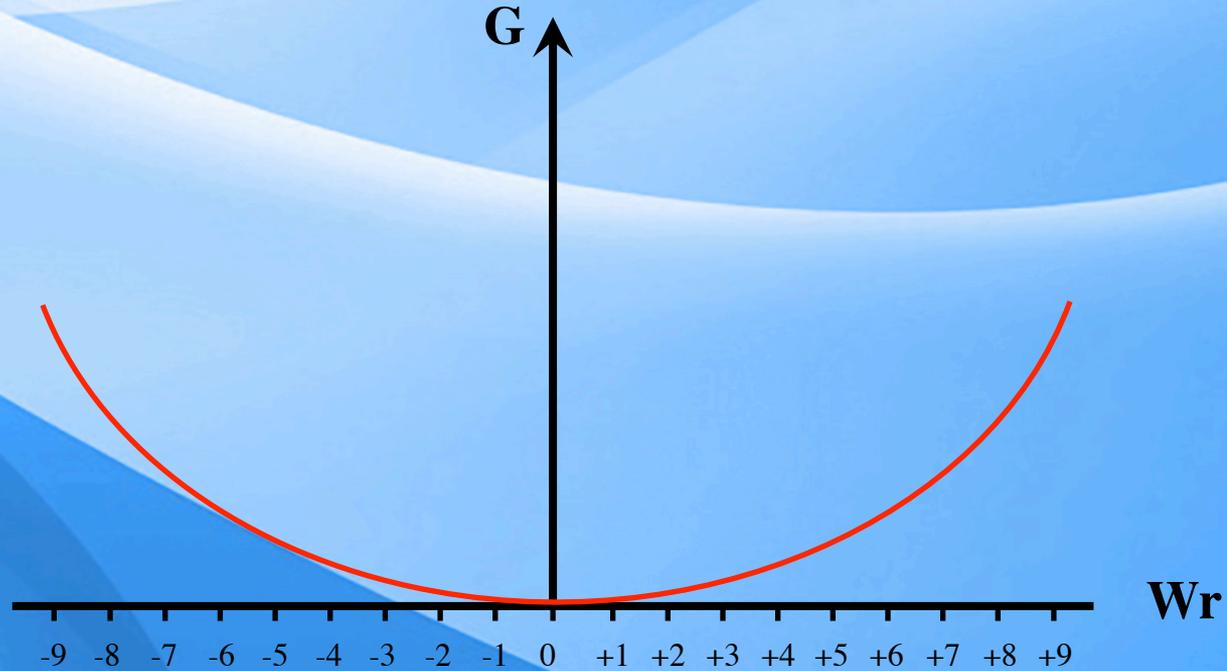
# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie



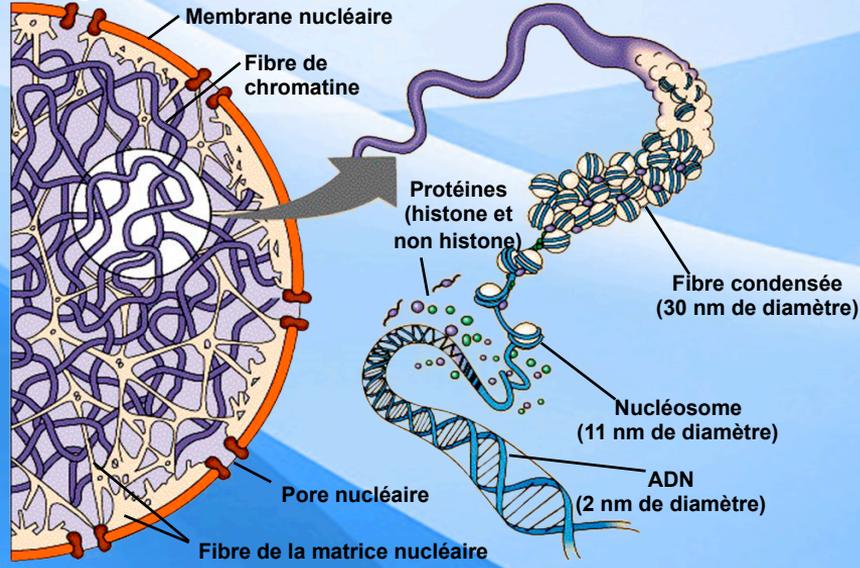
# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie



# Les molécules d'ADN circulaire : notions de topologie

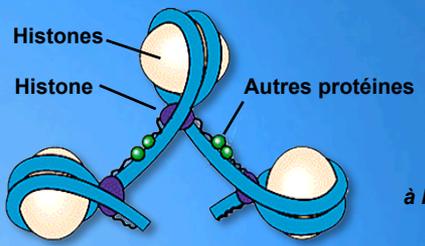
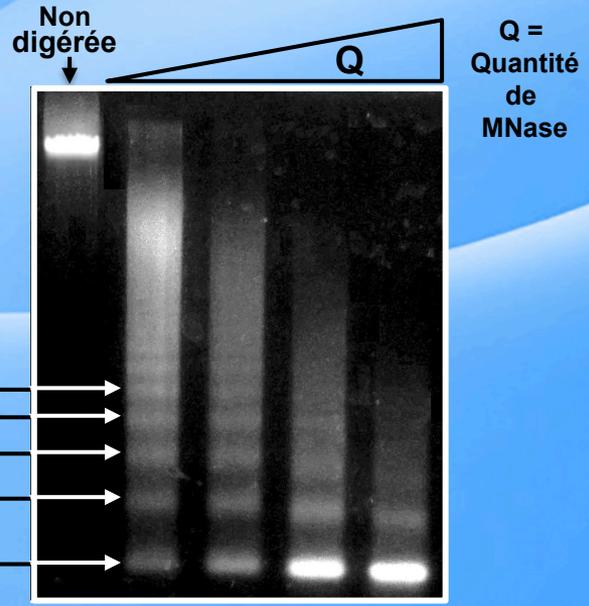


# Organisation de l'ADN des organismes eucaryotes : la chromatine

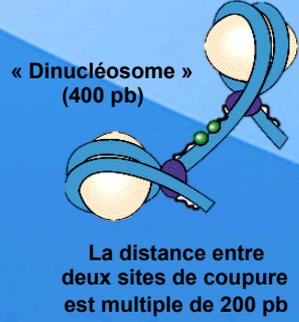


ADN correspondant à :

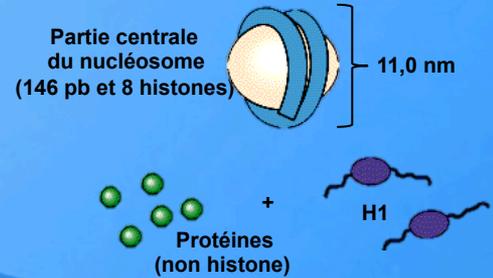
- Pentanucléosome (1000 pb)
- Tétranucléosome (800 pb)
- Trinucléosome (600 pb)
- Dinucléosome (400 pb)
- Mononucléosome (200 pb)



*Digestion ménagée à la MNase (endonucléase non spécifique)*

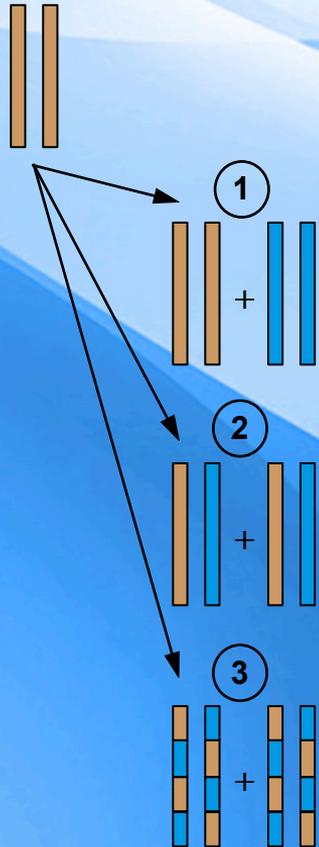


*Digestion prolongée à la MNase*

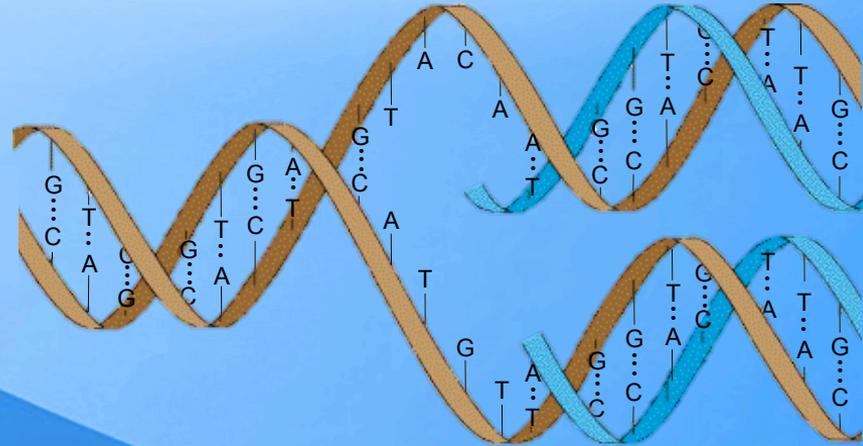


# La réplication de l'ADN : les différents modèles

ADN parental



- 1 Modèle conservatif
- 2 Modèle semi-conservatif
- 3 Modèle dispersif

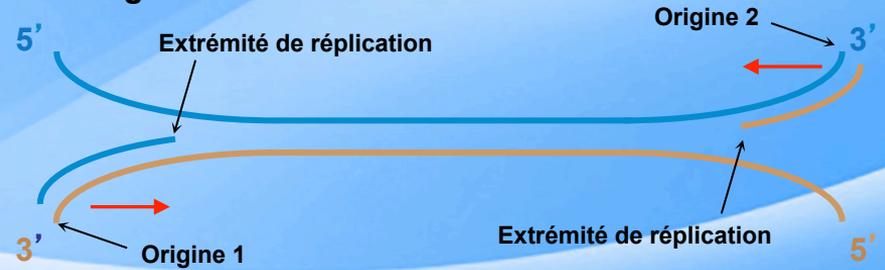


Meselson et Stahl (1958)

# Différents mécanismes de réplication semi-conservative

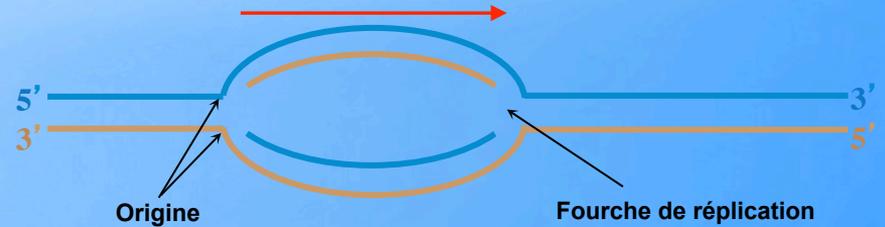
## 1) Réplication unidirectionnelle de chaque brin à partir de deux origines différentes

- 2 origines
- 2 extrémités de réplication



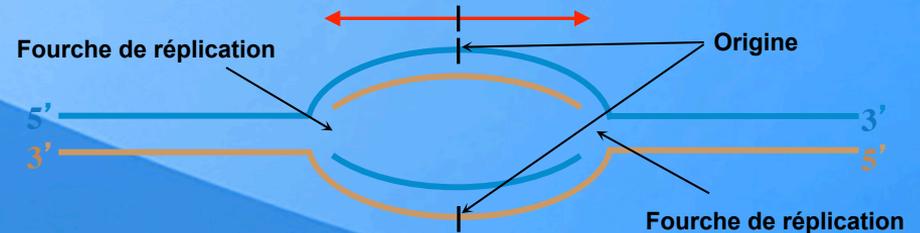
## 2) Réplication unidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 1 fourche de réplication



## 3) Réplication bidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 2 fourches de réplication



# Différents mécanismes de réplication semi-conservative

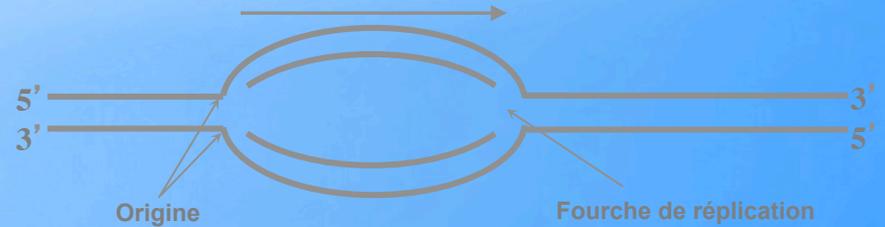
## 1) Réplication unidirectionnelle de chaque brin à partir de deux origines différentes

- 2 origines
- 2 extrémités de réplication



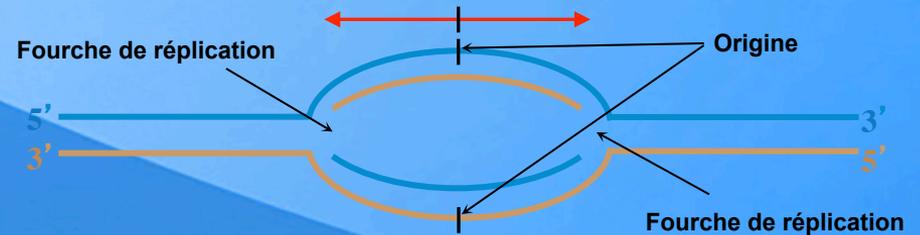
## 2) Réplication unidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 1 fourche de réplication

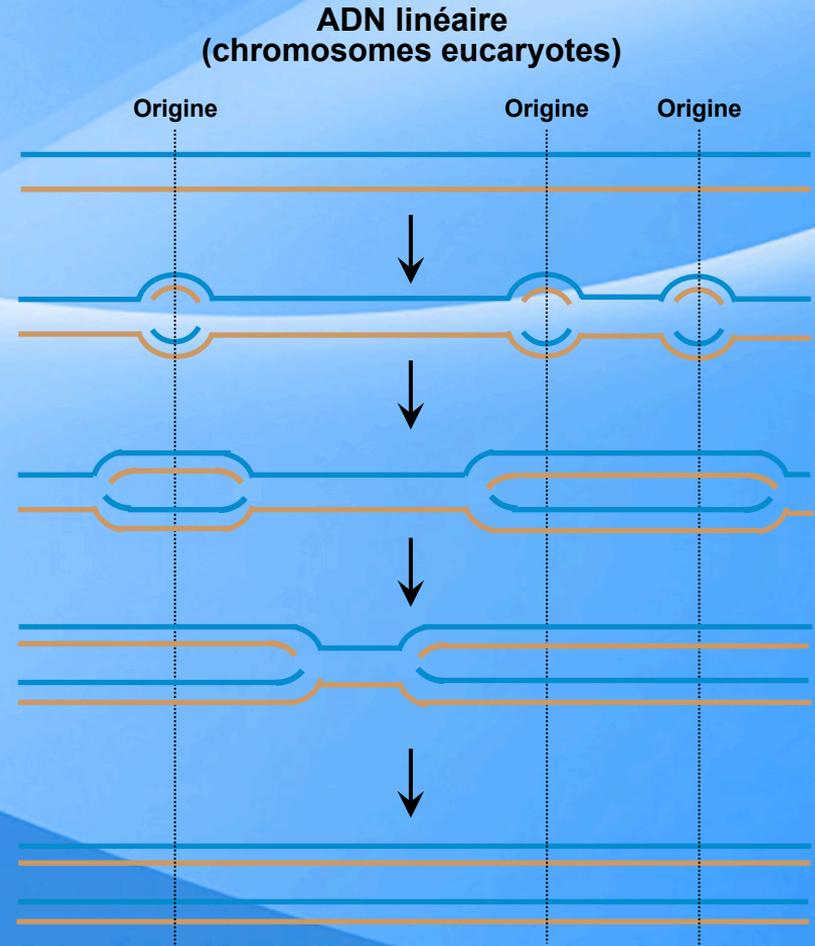
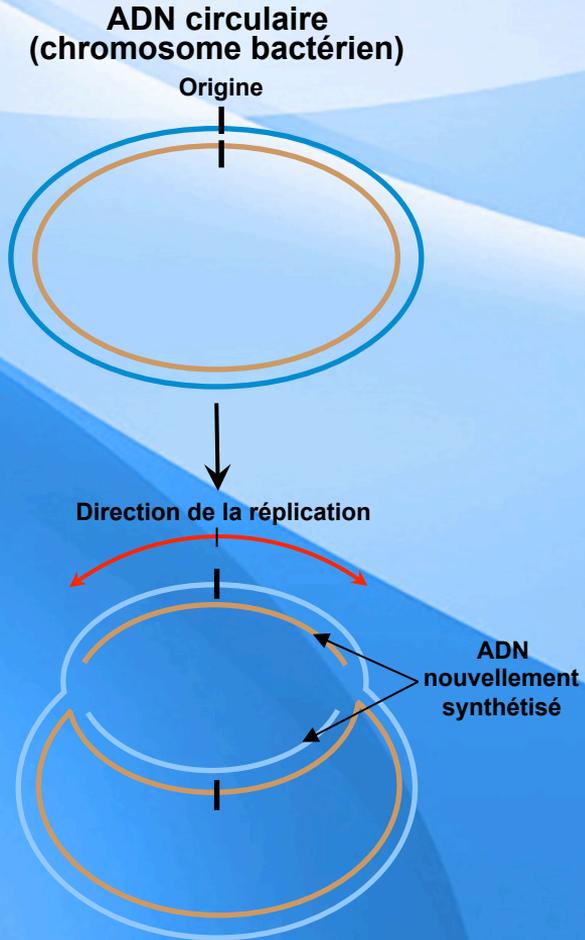


## 3) Réplication bidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 2 fourches de réplication



# Réplication bi-directionnelle : la plus répandue



# Différents mécanismes de réplication semi-conservative

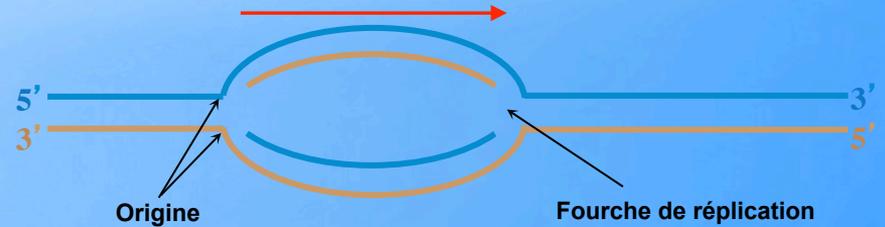
## 1) Réplication unidirectionnelle de chaque brin à partir de deux origines différentes

- 2 origines
- 2 extrémités de réplication



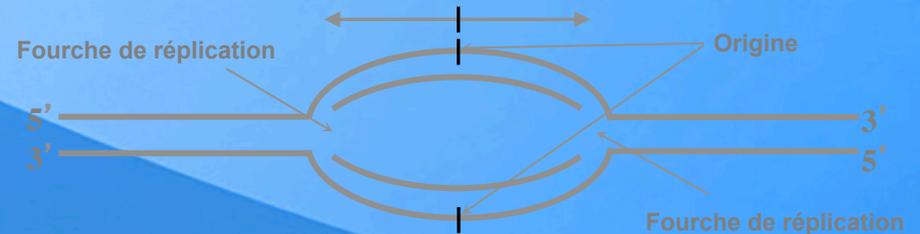
## 2) Réplication unidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 1 fourche de réplication

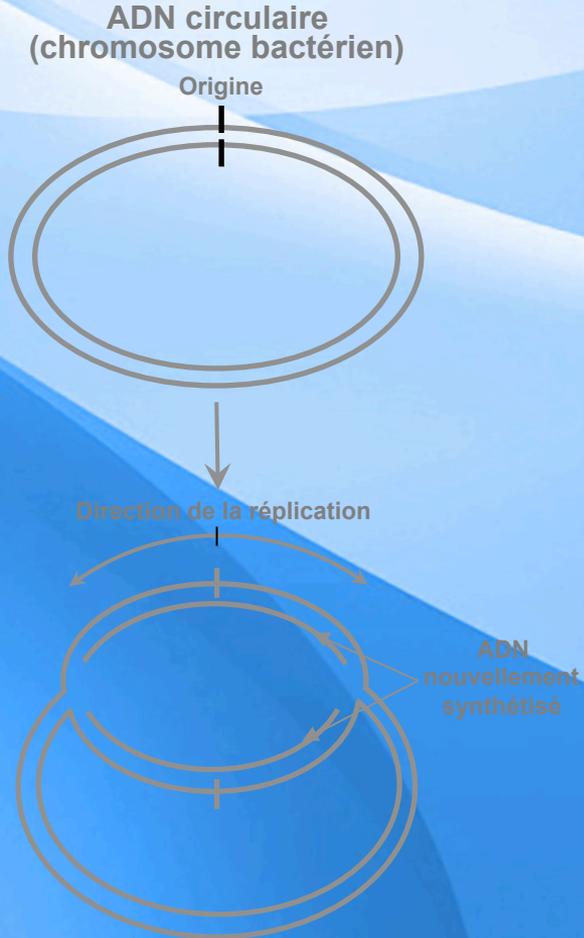


## 3) Réplication bidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

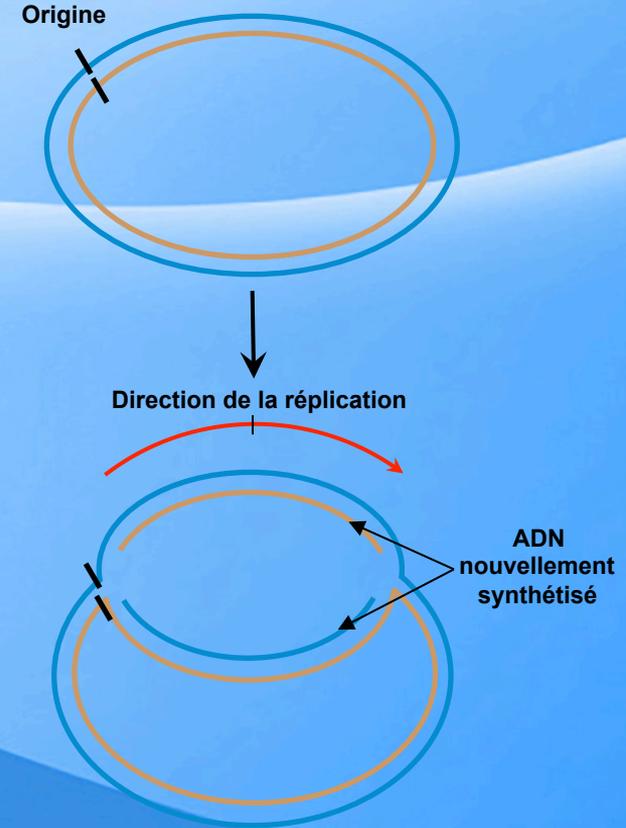
- 1 origine
- 2 fourches de réplication



# Réplication unidirectionnelle à partir d'une même origine



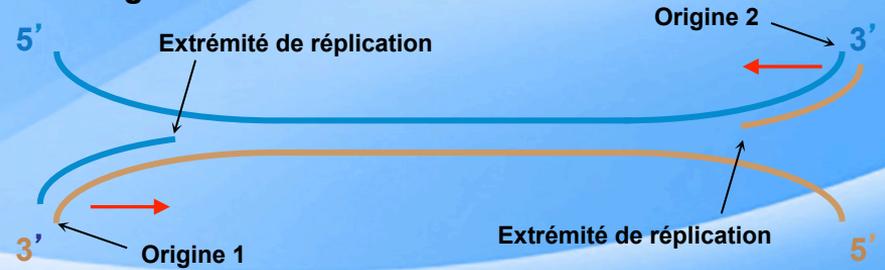
## Certains plasmides bactériens



# Différents mécanismes de réplication semi-conservative

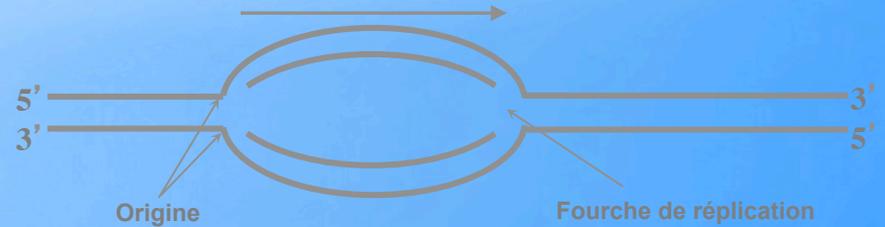
## 1) Réplication unidirectionnelle de chaque brin à partir de deux origines différentes

- 2 origines
- 2 extrémités de réplication



## 2) Réplication unidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 1 fourche de réplication



## 3) Réplication bidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 2 fourches de réplication



# Réplication unidirectionnelle à partir d'une origine par brin

ADN linéaire de certains virus et ADN mitochondrial

Cas de l'ADN mitochondrial

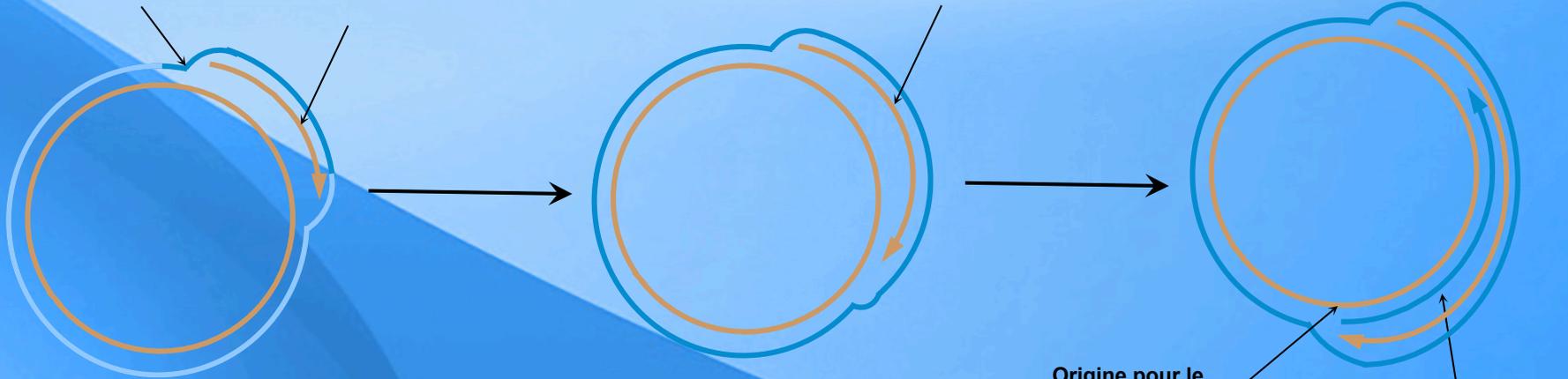
Origine pour le  
nouveau brin marron  
(origine de réplication  
du brin bleu)

Nouveau brin marron

Nouveau brin marron

Origine pour le  
nouveau brin bleu  
(origine de réplication  
du brin marron)

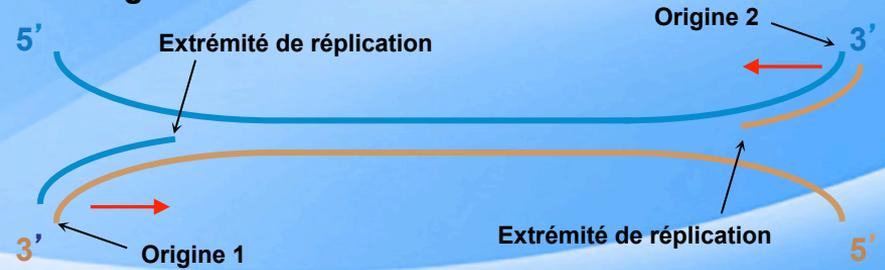
Nouveau brin bleu



# Différents mécanismes de réplication semi-conservative

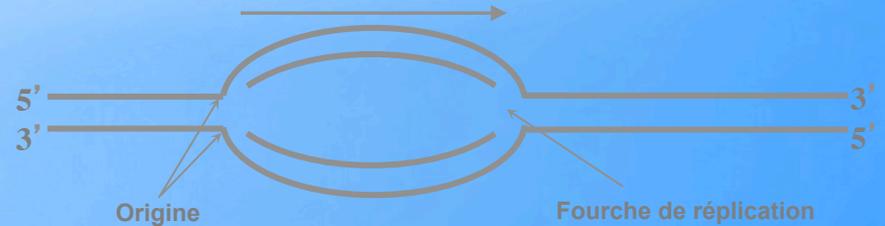
## 1) Réplication unidirectionnelle de chaque brin à partir de deux origines différentes

- 2 origines
- 2 extrémités de réplication



## 2) Réplication unidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 1 fourche de réplication

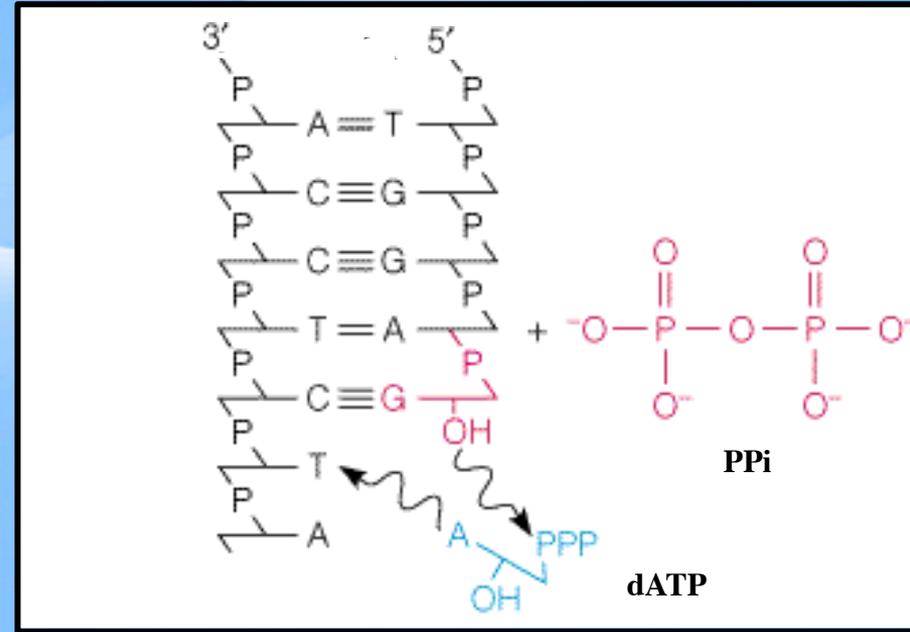
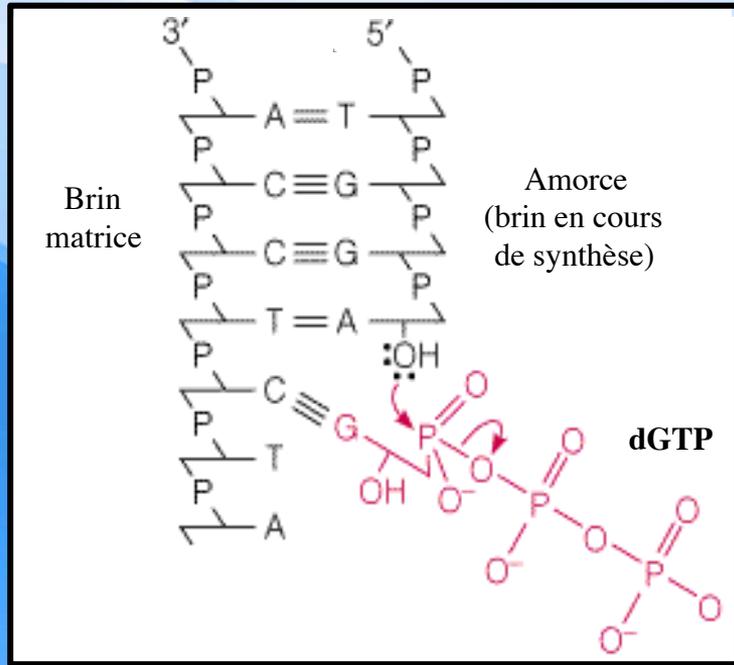


## 3) Réplication bidirectionnelle des deux brins à partir d'une même origine

- 1 origine
- 2 fourches de réplication



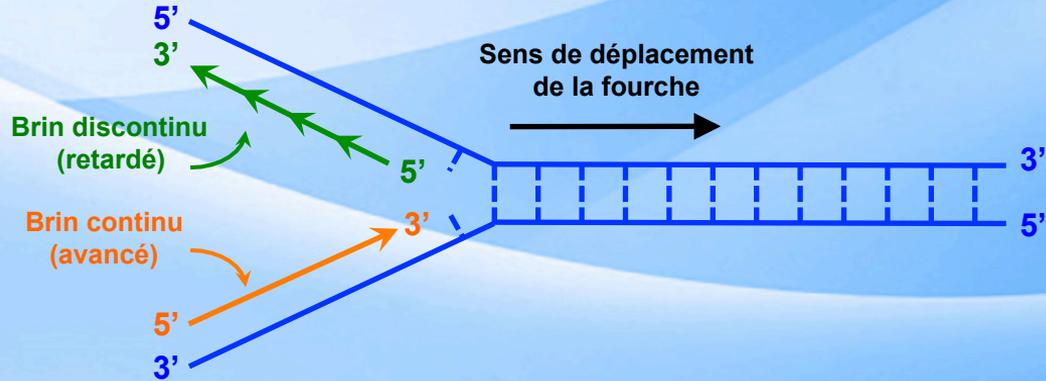
# Réaction catalysée par l'ADN polymérase



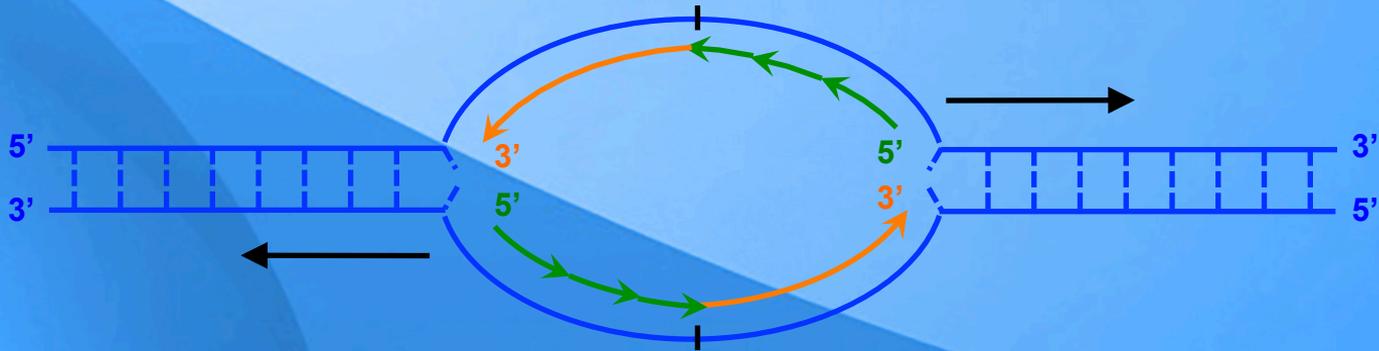
**Les ADN (et ARN) polymérases synthétisent de 5' vers 3'**

**=> Le brin matrice est lu de 3' vers 5'**

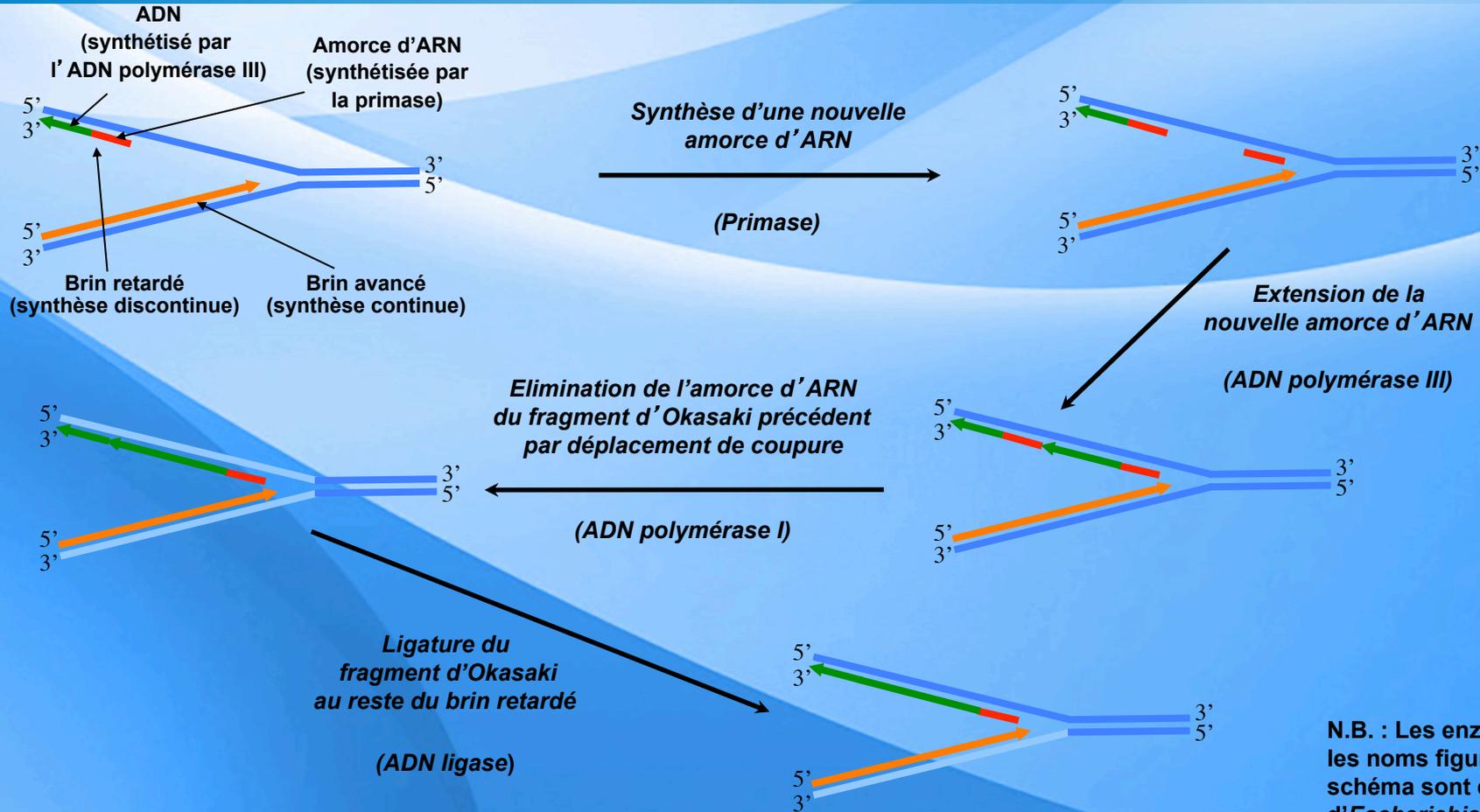
# La fourche de réplication



Les deux brins d'un duplex d'ADN étant anti-parallèles, leur réplication simultanée au niveau d'une même fourche de réplication implique que l'un d'eux soit synthétisé de façon discontinue

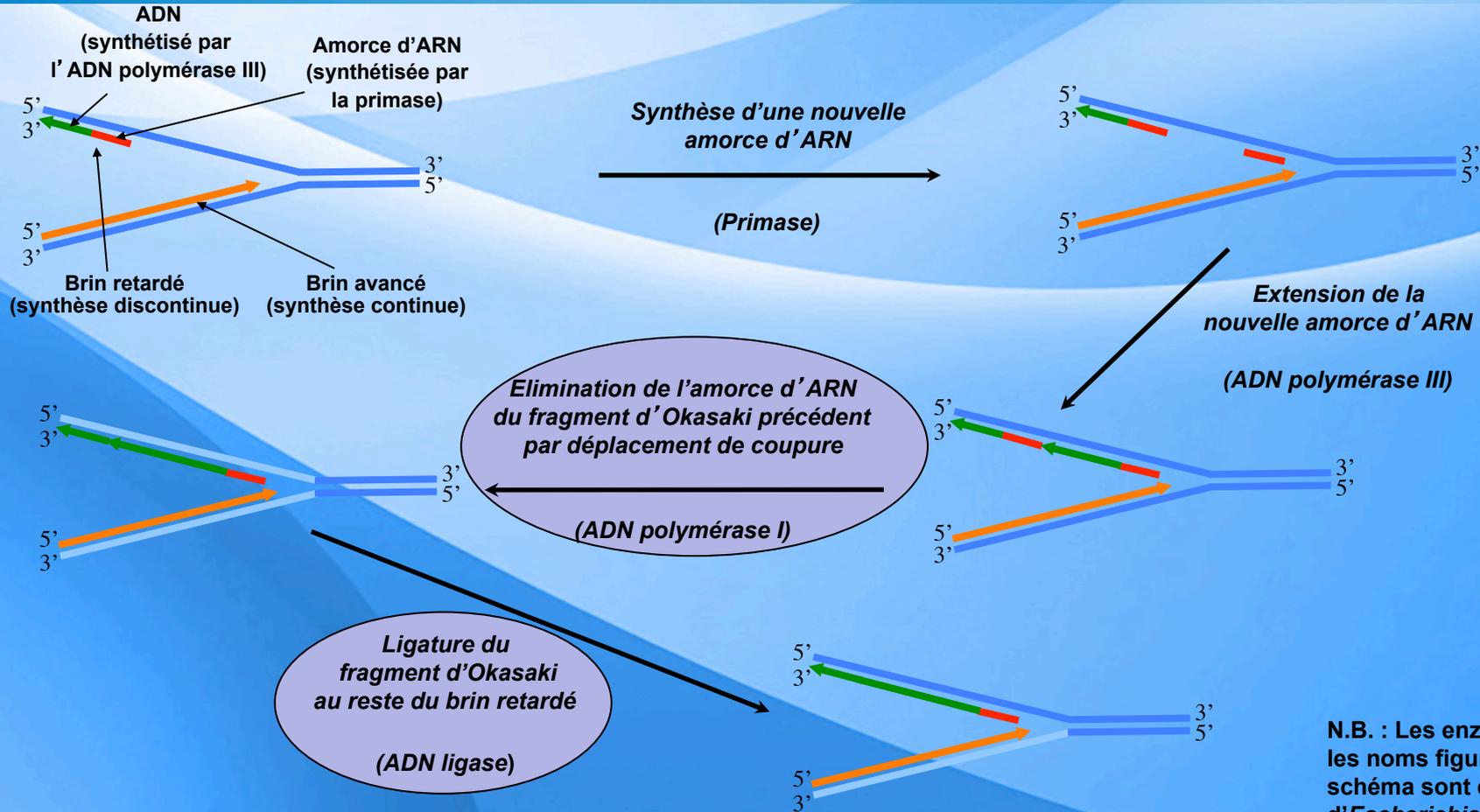


# Le modèle d'Okasaki



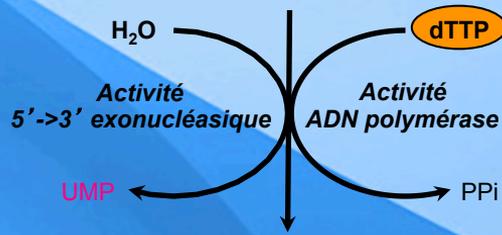
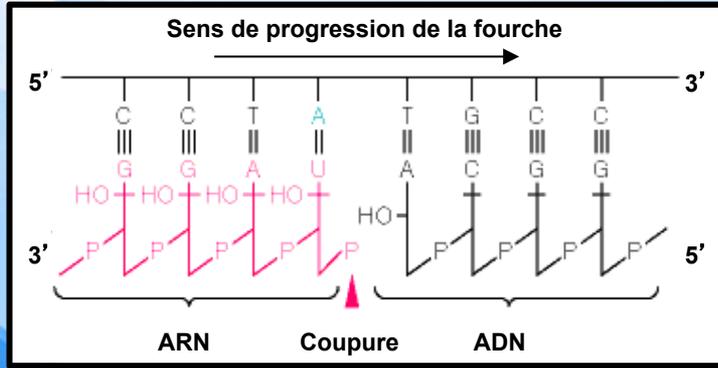
N.B. : Les enzymes dont les noms figurent sur ce schéma sont celles d'*Escherichia coli*.

# Le modèle d'Okasaki

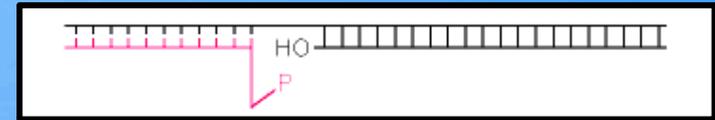
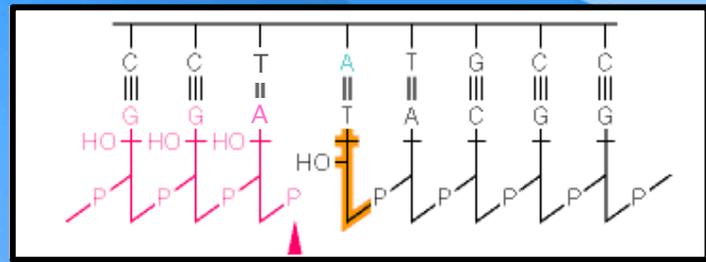
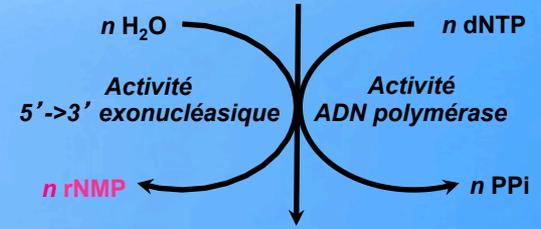


N.B. : Les enzymes dont les noms figurent sur ce schéma sont celles d'*Escherichia coli*.

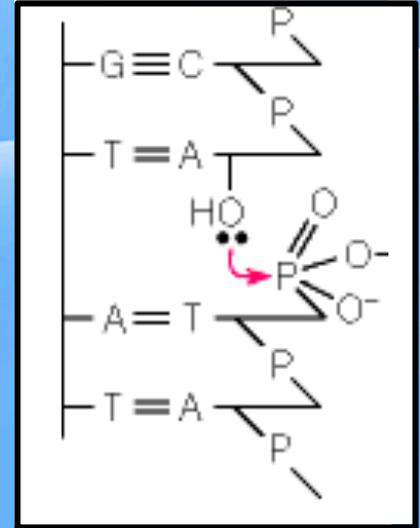
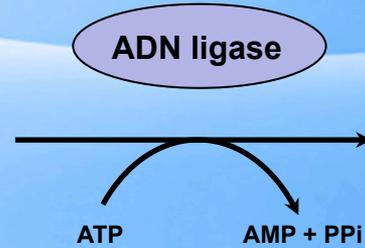
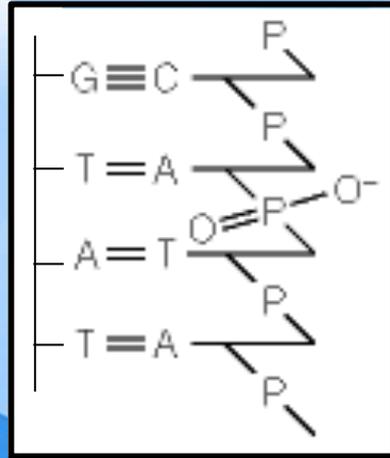
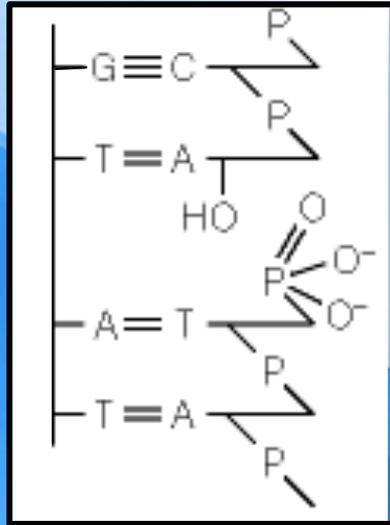
# Le modèle d'Okazaki



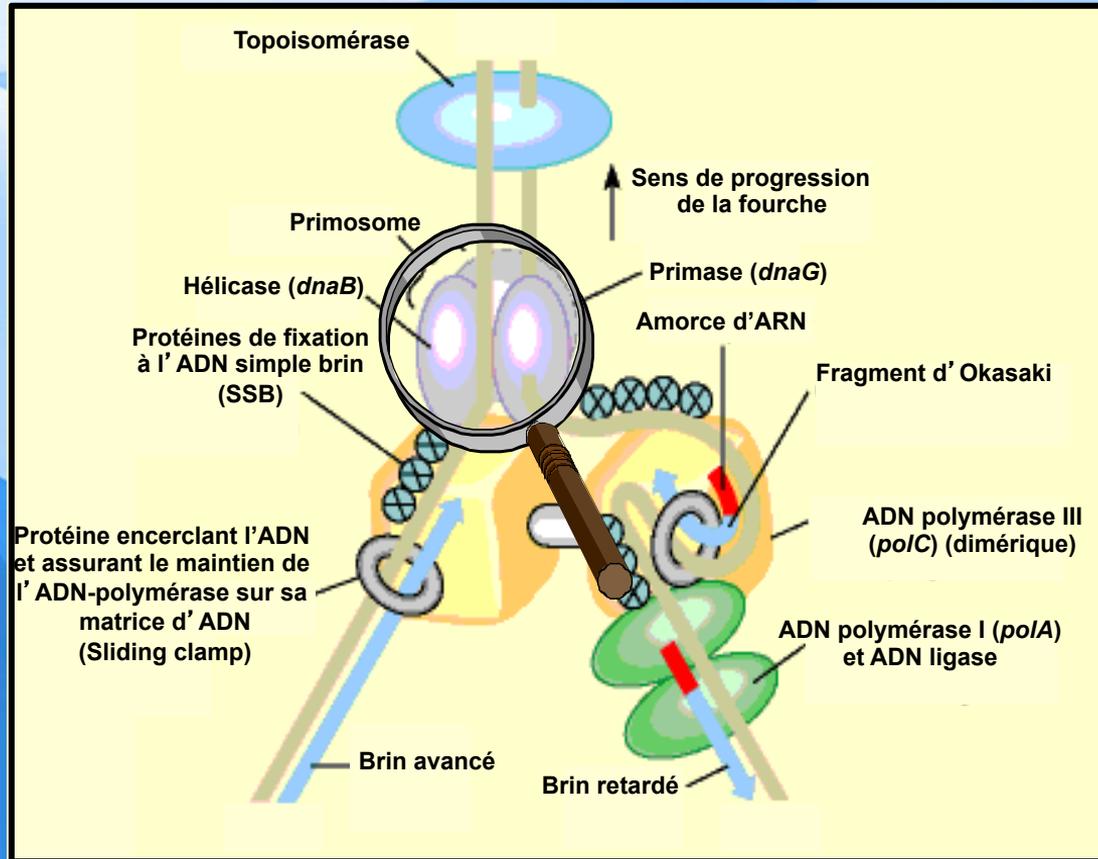
ADN polymérase I



# Le modèle d'Okasaki

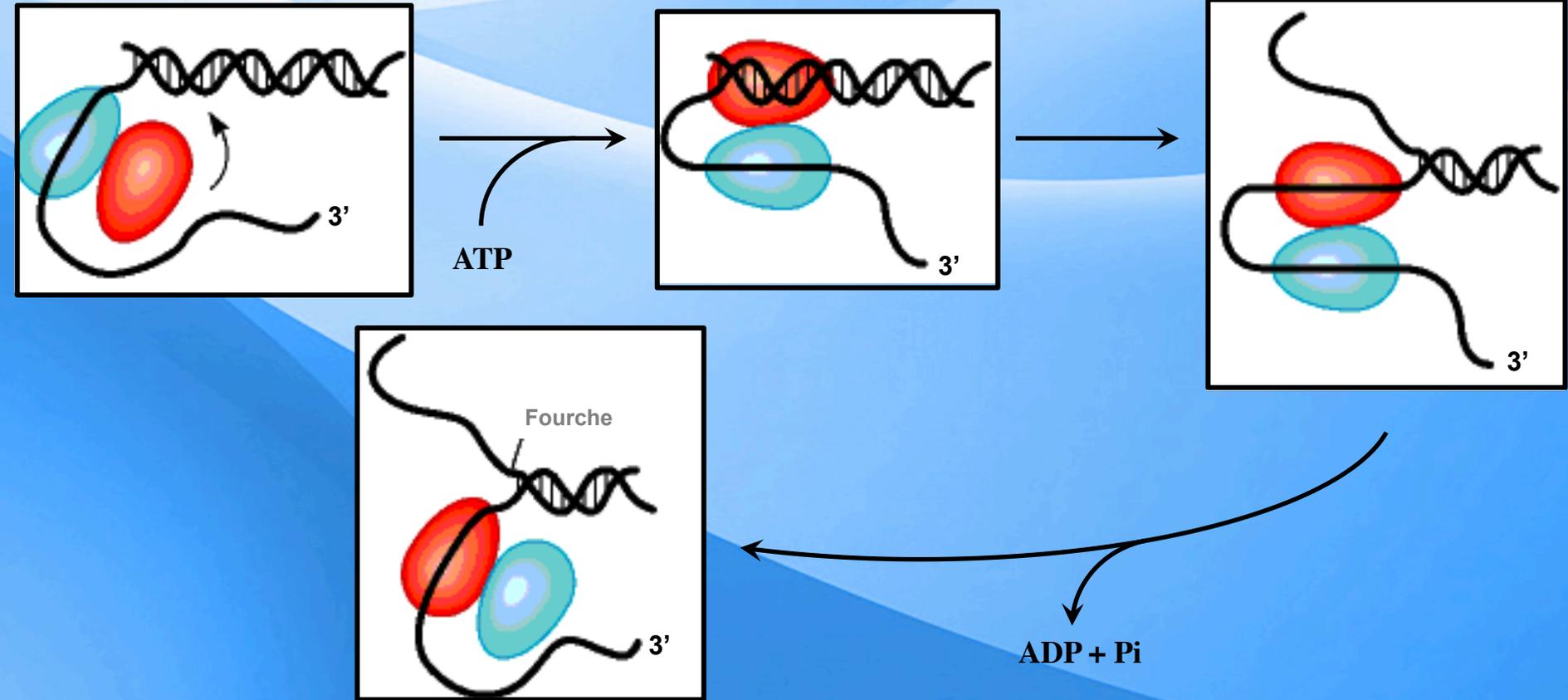


# Représentation schématique de la fourche de réplication

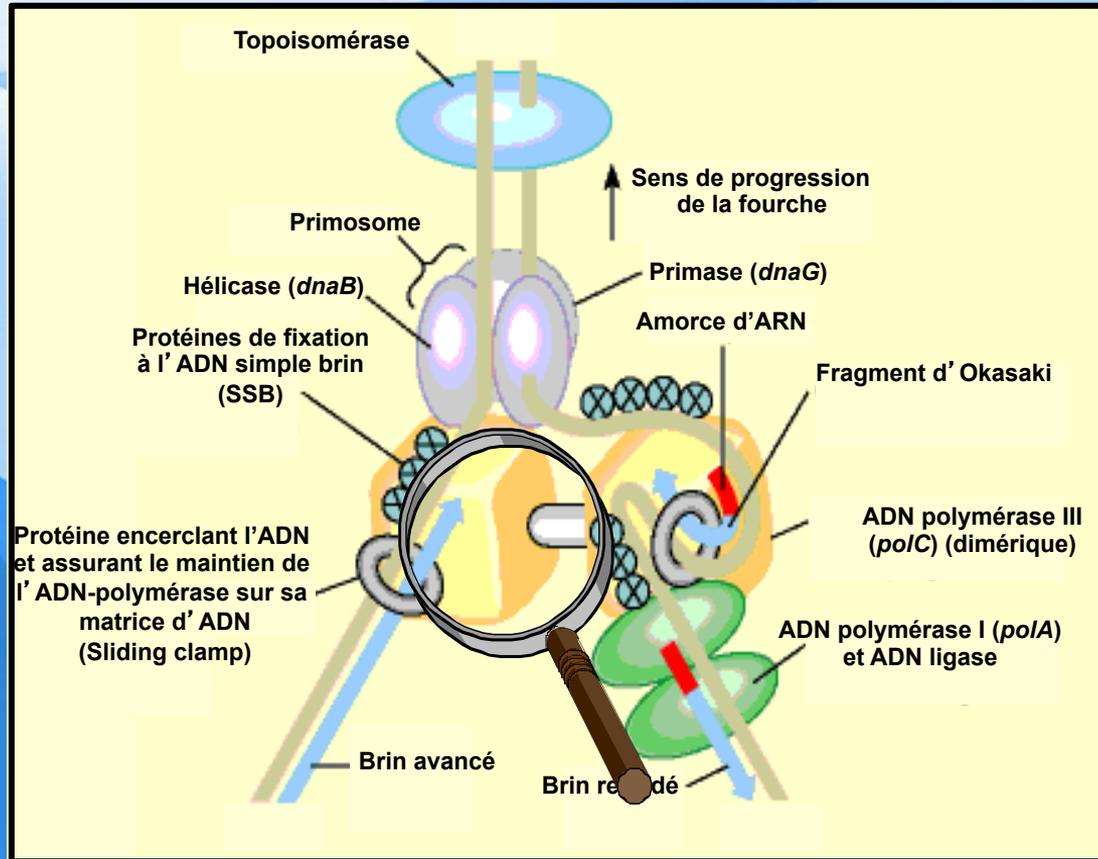


# Modèle d'action de l'hélicase Rep de *E. coli*

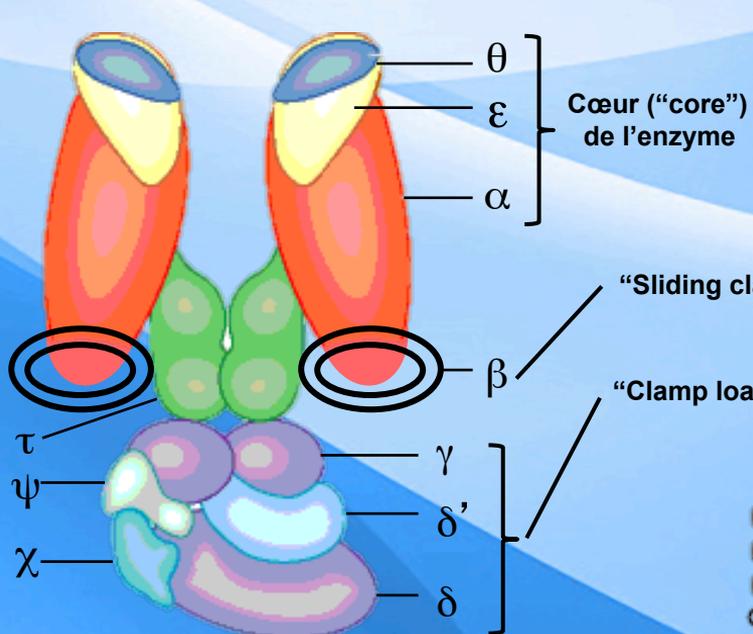
Contrairement à DnaB (hexamérique), Rep est dimérique



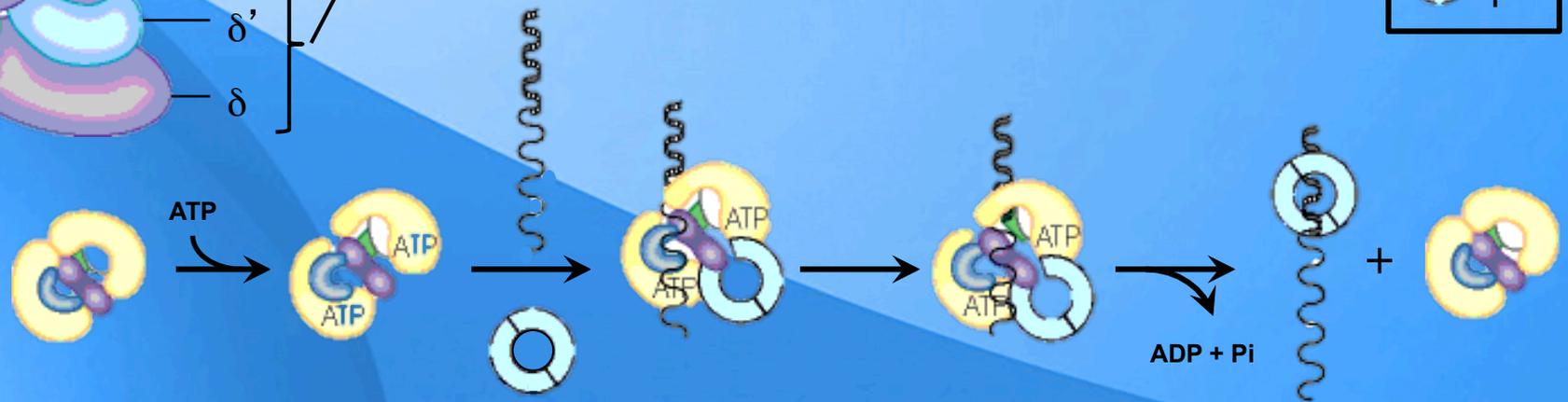
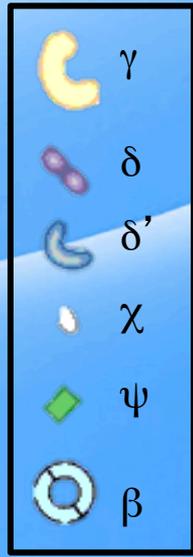
# Représentation schématique de la fourche de réplication



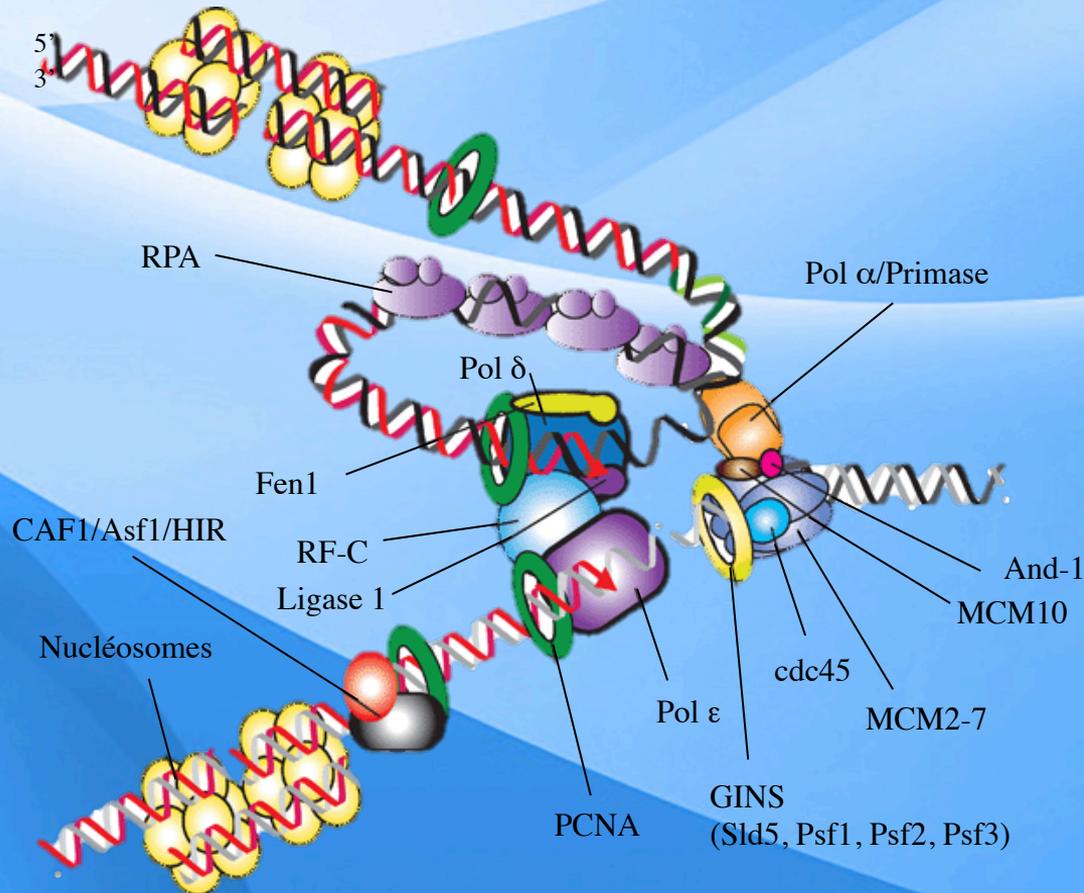
# Holoenzyme ADN polymérase III de *E. coli*



- α : Activité polymérase (produit de *polC*)
- ε : Activité 3'→5' exonucléasique
- θ : Stimule l'activité de relecture de ε
- τ : Protéine de dimérisation



# Représentation schématique de la fourche de réplication eucaryote



# Caractéristiques des ADN polymérases

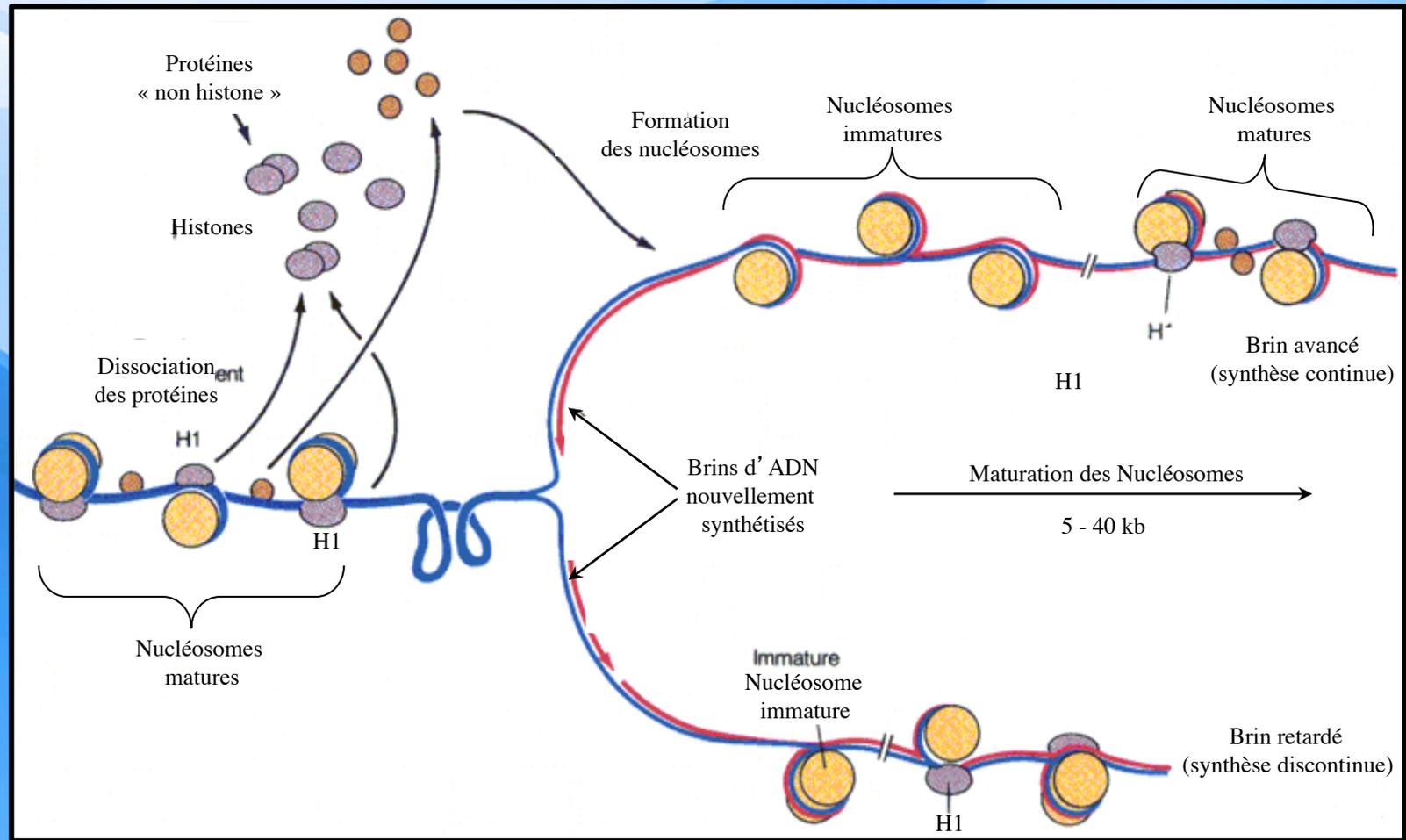
Caractéristique	Polymérase I	Polymérase II	Polymérase III
Gène de structure	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC</i>
Masse moléculaire (kDa)	103	90	130
Nombre de molécules /cellule	400	100	10
$V_{max}$ (nucléotides/seconde)	16-20	2-5	250-1000
Activité 3' exonucléasique	Oui	Oui	Non <sup>a</sup>
Activité 5' exonucléasique	Oui	Non	Non
Processivité	3-200	10.000	500.000
Fonction biologique	Elimination des amorces d'ARN, Réparation de l'ADN	Réparation de l'ADN ?	Elongation des brins avancé et retardé

**Chez *E. coli***

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
Compartiment cellulaire	Noyau	Noyau	Mitochondries	Noyau	Noyau
Association à la primase	Oui	Non	Non	Non	Non
Fonction biologique	Réplication du brin retardé	Réparation de l'ADN	Réplication de l'ADN mitochondrial	Réplication du brin retardé/avancé	Réplication
Nombre de sous-unités	4	1	4 (identiques)	2	?
Mr de la sous-unité catalytique (kDa)	160-185	40	125	125	210-230 ou 125-140
Processivité intrinsèque	Modérée	Basse	Haute	Basse	Haute
Processivité avec PCNA	Modérée	Basse	Haute	Haute	Haute
Activité 3' exonucléasique	Non	Non	Oui	Oui	Oui

**Chez les eucaryotes**

# Modèle pour la réplication de la chromatine



# Paramètres quantitatifs de la réplication

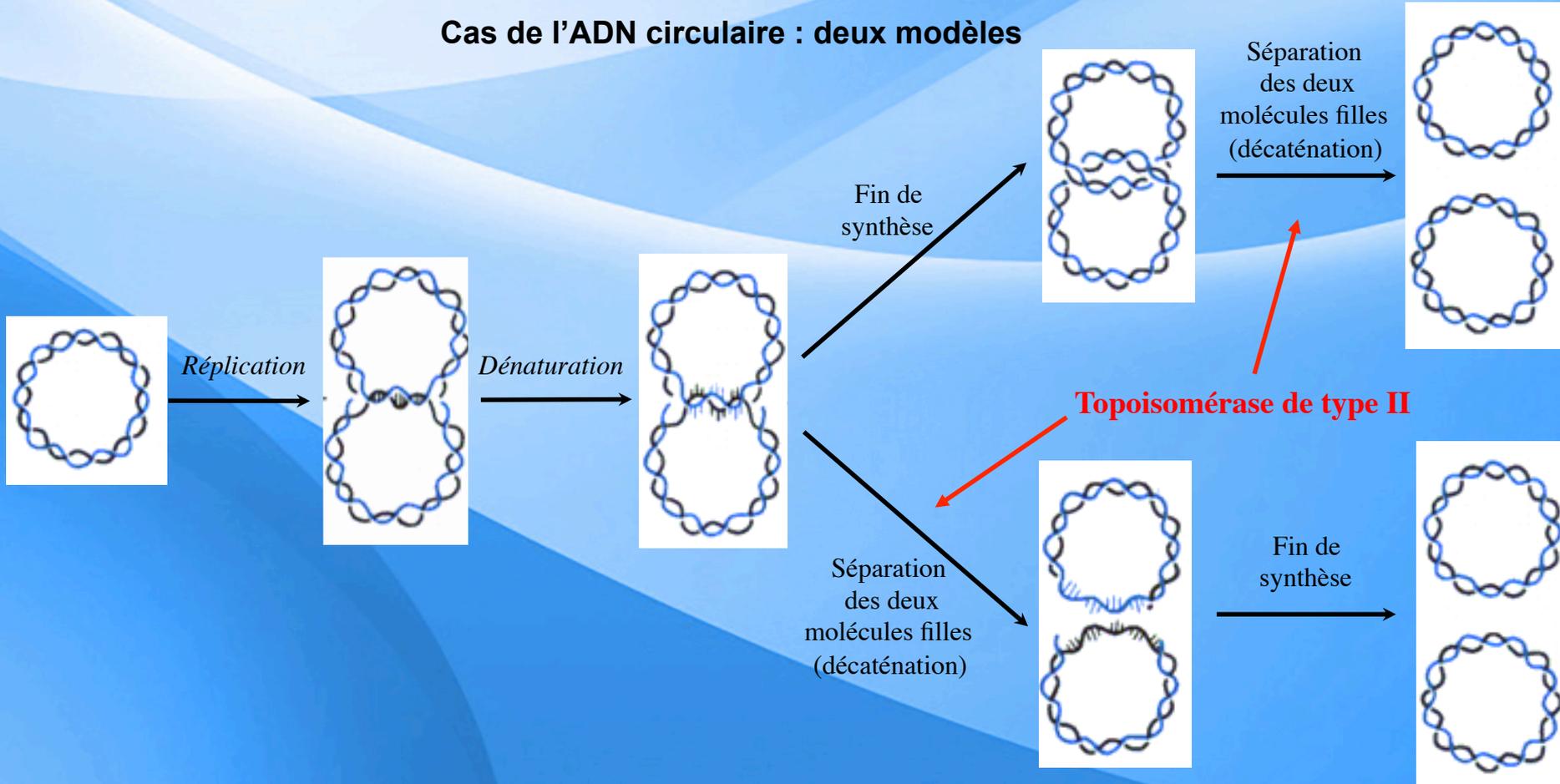
	<i>E. coli</i> <sup>a</sup>	Humain <sup>b</sup>
Contenu en ADN (nombre de pb par cellule)	3,9 X 10 <sup>6</sup>	3,4 X 10 <sup>9</sup>
Vitesse de progression de la fourche de réplication (um/min)	30	3
Vitesse de réplication (nucléotides/sec/fourche de réplication)	850	60-90
Nombre d'origines de réplication/cellule	1	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>
Temps requis pour la réplication totale du génome (heures)	0,33	8
Temps requis pour une division cellulaire complète (heures)	0,67	27

<sup>a</sup> Données pour *E. coli* cultivé dans les conditions optimales (milieu riche à 37°)

<sup>b</sup> Données pour cellules Hela (lignée cellulaire cancéreuse)

# Terminaison de la réplication

## Cas de l'ADN circulaire : deux modèles



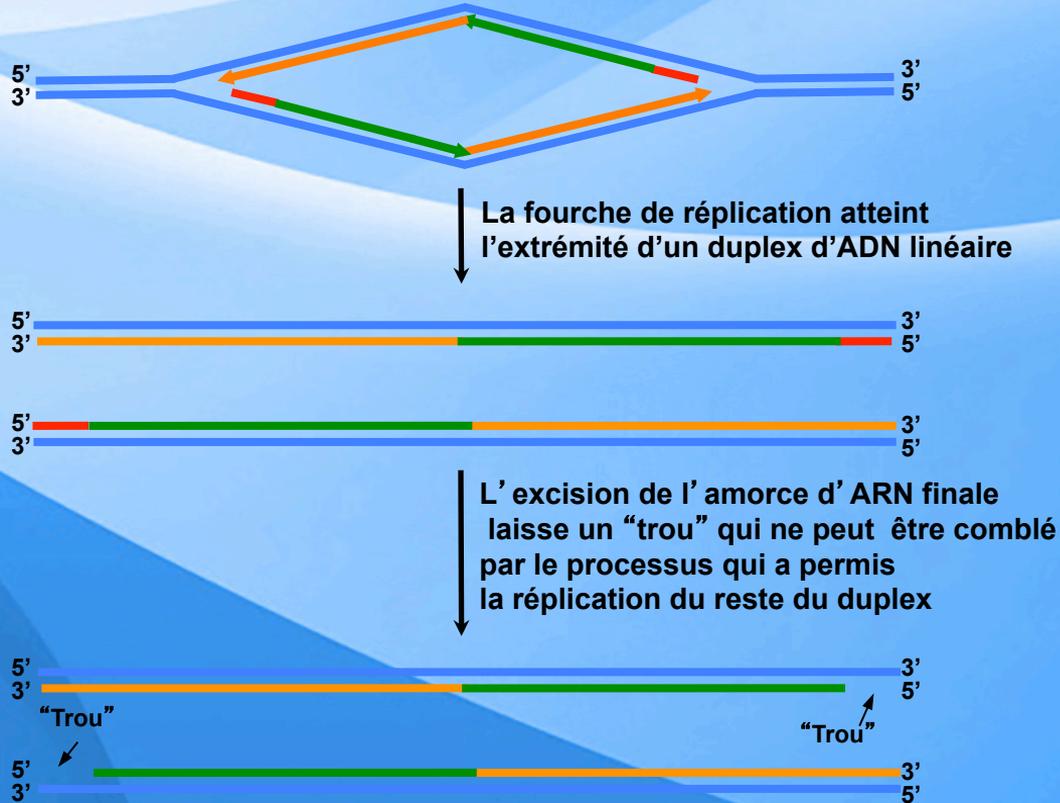
# Terminaison de la réplication

Cas de l'ADN linéaire (chez les eucaryotes : pourquoi la réplication des télomères pose problème ?)



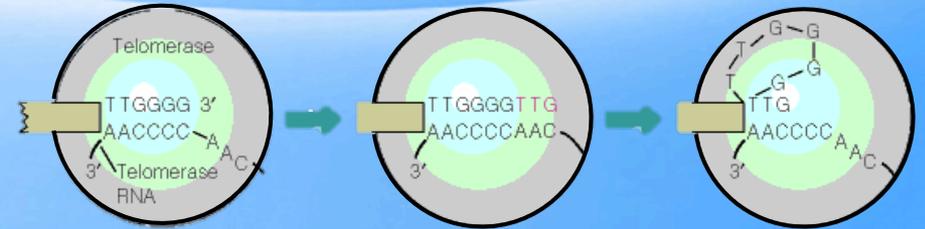
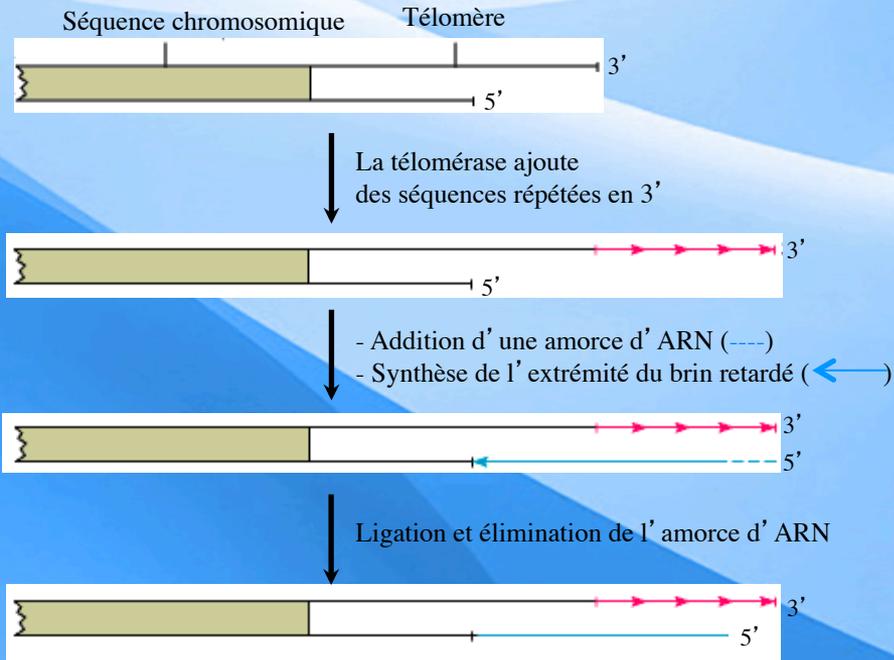
# Terminaison de la réplication

Cas de l'ADN linéaire (chez les eucaryotes : pourquoi la réplication des télomères pose problème ?)



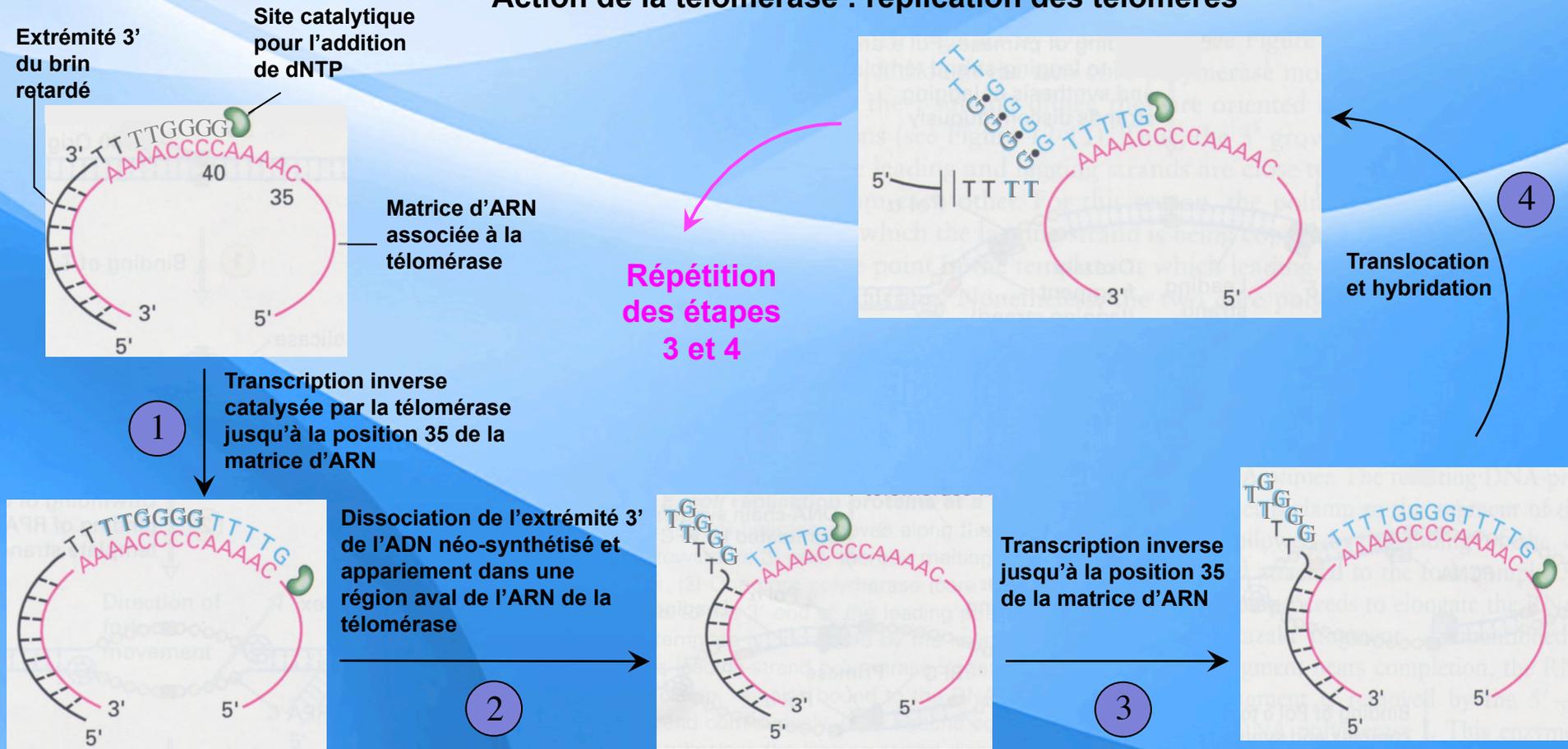
# Terminaison de la réplication

## Action de la télomérase : réplication des télomères



# Terminaison de la réplication

## Action de la télomérase : réplication des télomères



# Le réseau métabolique

