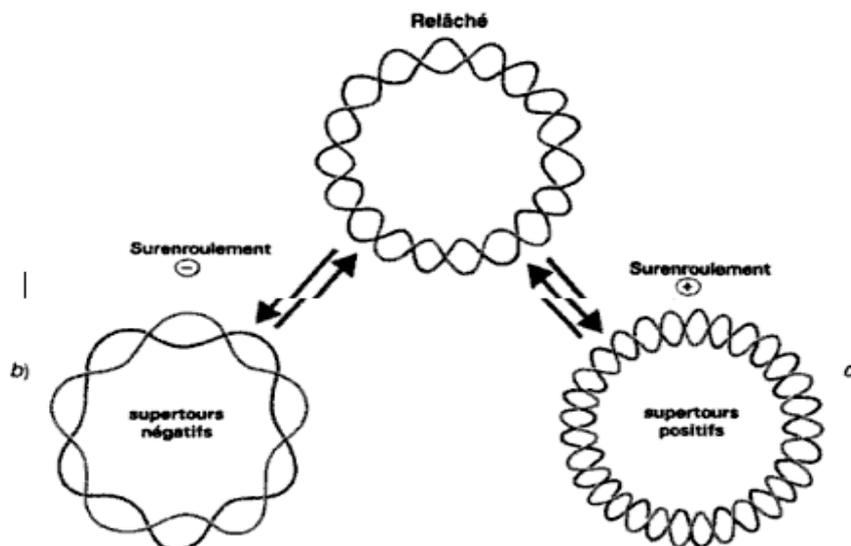


## Les formes de l'ADN

L'ADN de forme circulaire se trouve chez les bactéries et chez certains virus. Cet ADN est souvent double brin. Chez les eucaryotes, l'enroulement de l'ADN autour de protéines histones et son organisation, contribuent à circulariser l'ADN, dans ces organismes ( la circularité de l'ADN peut être donc considérée comme un fait universel et un attribut essentiel d'un ADN actif).

**Les topoisomères:** 2 ADN ayant exactement le même nombre de nucléotides et la même séquence de bases, mais différents entre eux par le nombre d'enlacement L ( le nombre de tours que fait l'un des brins autour de l'autre brin) sont appelées topoisomères.

- **L'état relâché:** la tension sur la double hélice est minimale.
- **L'état surenroulé:** l'axe de la double hélice peut s'enrouler sur lui-même en formant une superhélice. 2 formes de surenroulements sont théoriquement possibles:
  - Surenroulement positif: le nombre d'enlacement a été augmenté
  - Surenroulement négatif: le nombre d'enlacement a été diminué.



### Les topoisomères du DNA

- Forme relâchée.
- Forme surenroulée négativement.
- Forme surenroulée positivement.

La plupart des molécules d'ADN rencontrées dans la nature forment des surenroulements négatifs.

- Les formes de DNA surenroulées négativement présentent le double avantage d'être à la fois plus compactes, mais aussi plus accessibles aux enzymes de la transcription et de la réplication.

- La molécule d'ADN doit être accessible aux enzymes chargées de sa réplication. Or l'ADN en son état naturel est surenroulé, par conséquent, cet état doit être modifié pour laisser l'accès aux enzymes responsables de la réplication. Les enzymes qui assurent ces modifications sont les topoisomérases.

**Les topoisomérases:** sont des enzymes qui modifient le nb d'enlacement, elles sont donc capables d'introduire ou d'éliminer des supertours dans une double hélice d'ADN.

### **Les topoisomérases type I**

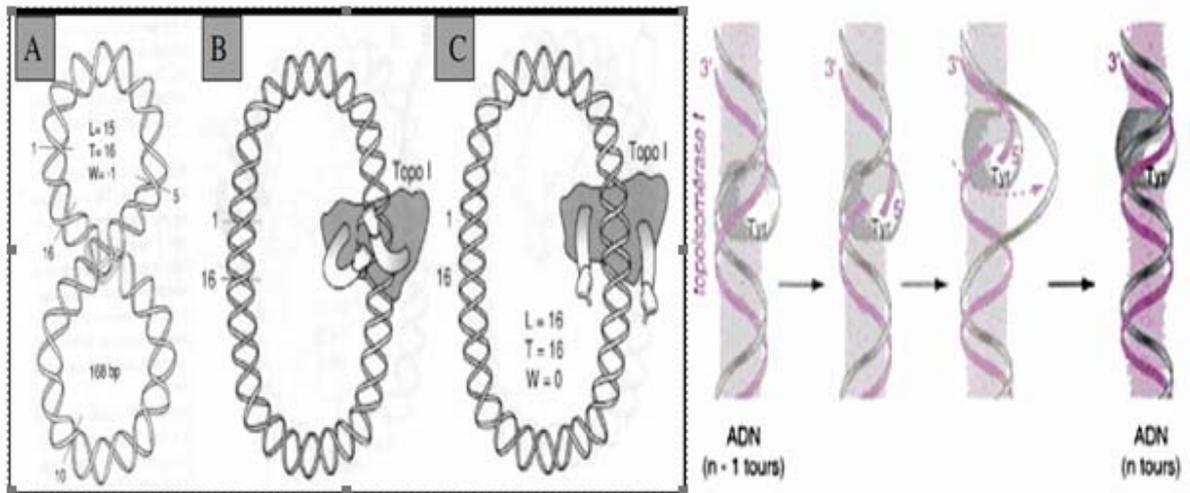
Une topoisomérase type I agit ainsi:

- Elle coupe un brin de l'ADN au niveau d'une liaison phosphodiester, libérant une extrémité 3' OH et une extrémité 5'P, cette dernière se lie à un résidu tyrosine de l'enzyme.

- Puis, elle fait passer l'autre brin par cette brèche

- Enfin, elle ligature le brin coupé en rétablissant la liaison phosphodiester d'origine (la double hélice étant alors réenroulée d'un tour)

Les topoisomérases type I catalysent la suppression des supertours négatifs.



$$L = T + W$$

L : le nombre de fois que le 1<sup>er</sup> brin traverse l'autre brin

**Tw (Twist):** ou torsion (T) correspond au nombre de tours d'hélice

**Wr (Writhe)** ou vrillage (W) définit l'état de surenroulement dans l'espace de la molécule d'ADN c'est-à-dire le nombre de fois où la double hélice se croise elle-même

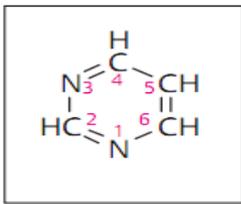
### Les topoisomérases type II (dont la gyrase bactérienne)

Une topoisomérase type II agit ainsi:

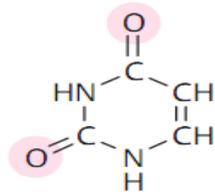
- Elle coupe les 2 brins d'un ADN circulaire
- Puis, elle fait passer le reste de la molécule par cette brèche
- Enfin, elle ligature des brins coupés.

La gyrase bactérienne catalyse l'addition des supertours négatifs dans l'ADN bactérien, et elle intervient dans la relaxation des supertours positifs.

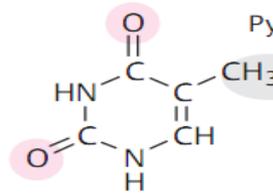
A. **Nucleic acid bases**



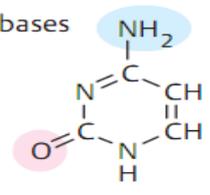
Pyrimidine



Uracil (Ura)

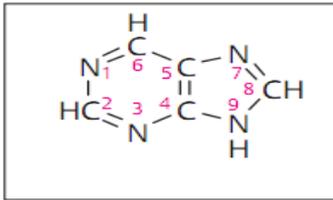


Thymine (Thy)

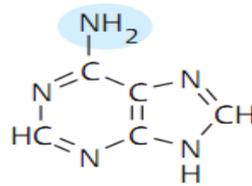


Cytosine (Cyt)

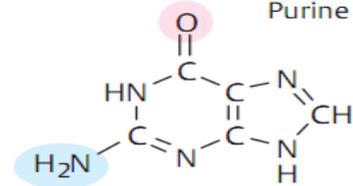
Pyrimidine bases



Purine

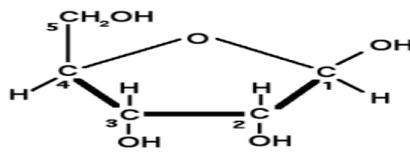


Adenine (Ade)

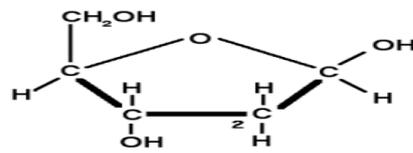


Guanine (Gua)

Purine bases

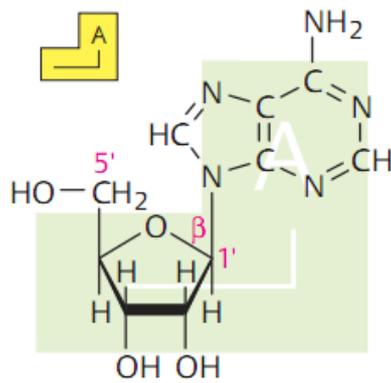


$\beta$ -D-Ribose

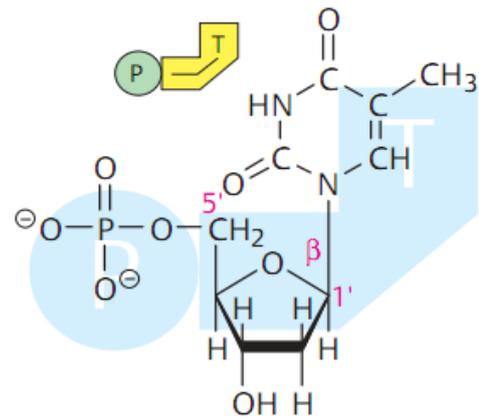


2-déoxy- $\beta$ -D-Ribose

B. **Nucleosides, nucleotides**

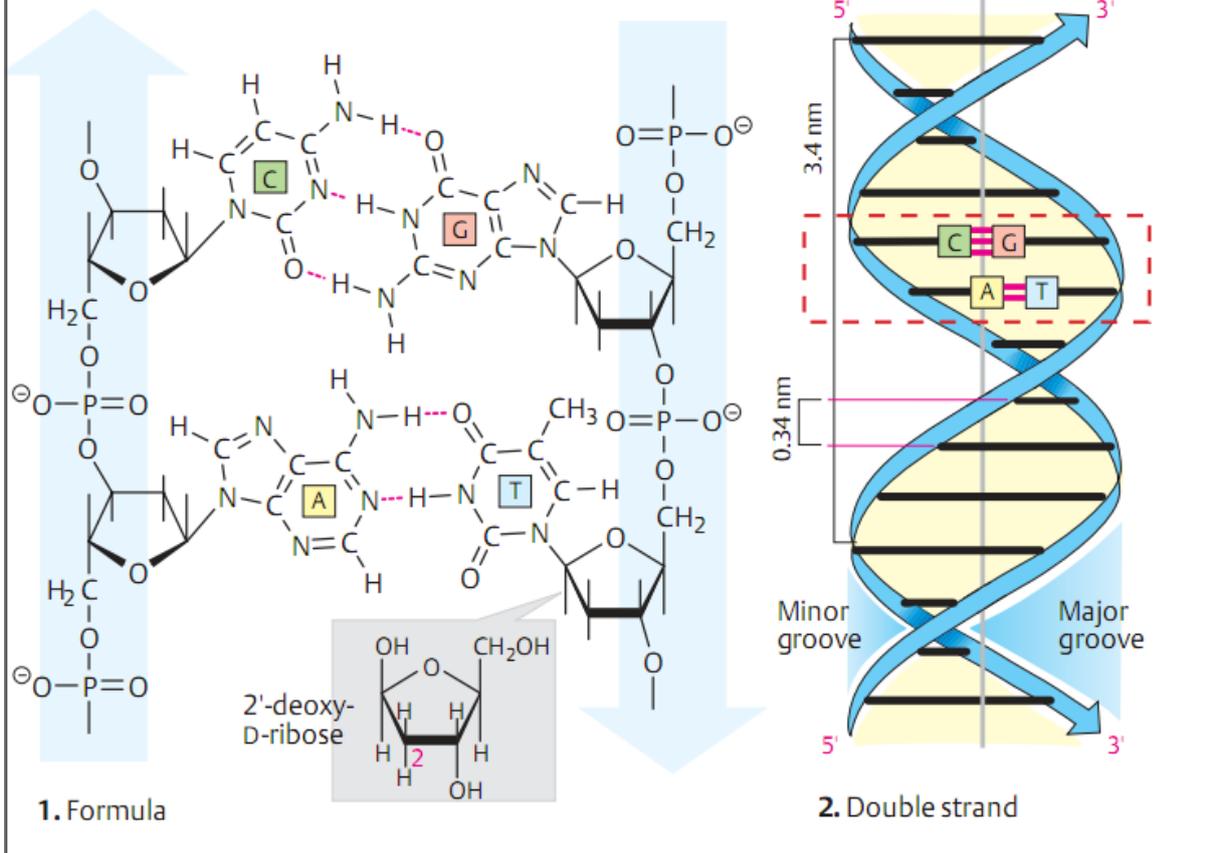


1. Adenosine (Ado)

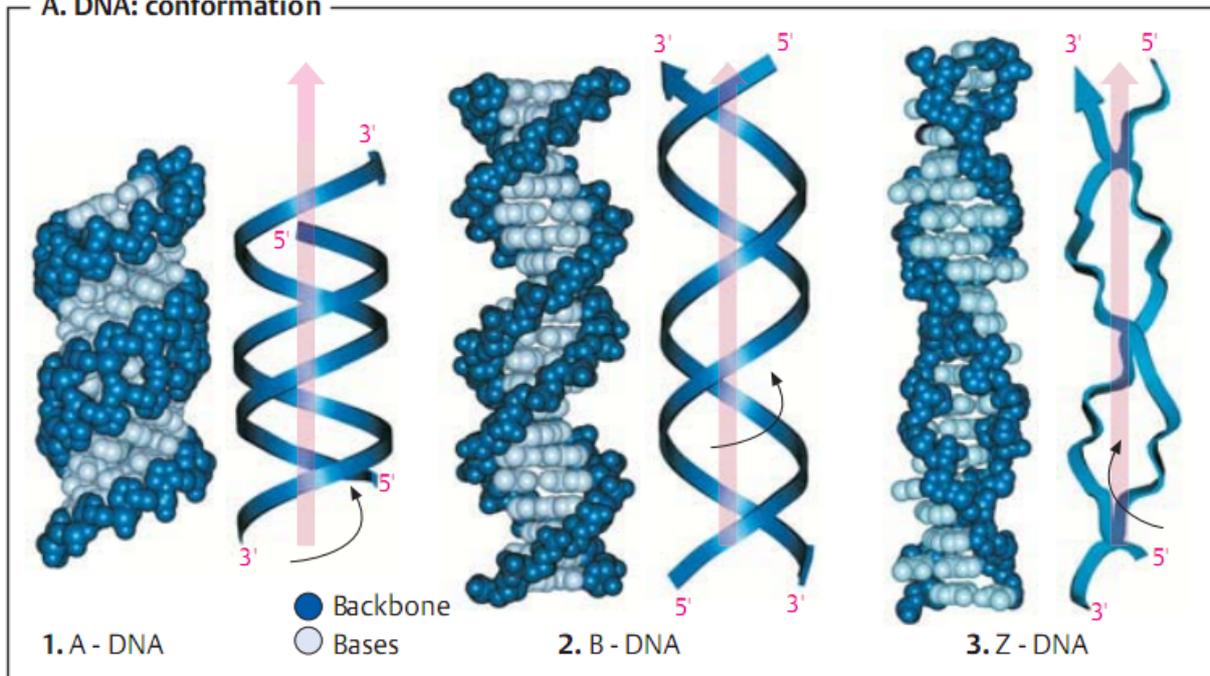


2. 2'-Deoxythymidine 5'-monophosphate (dtMP)

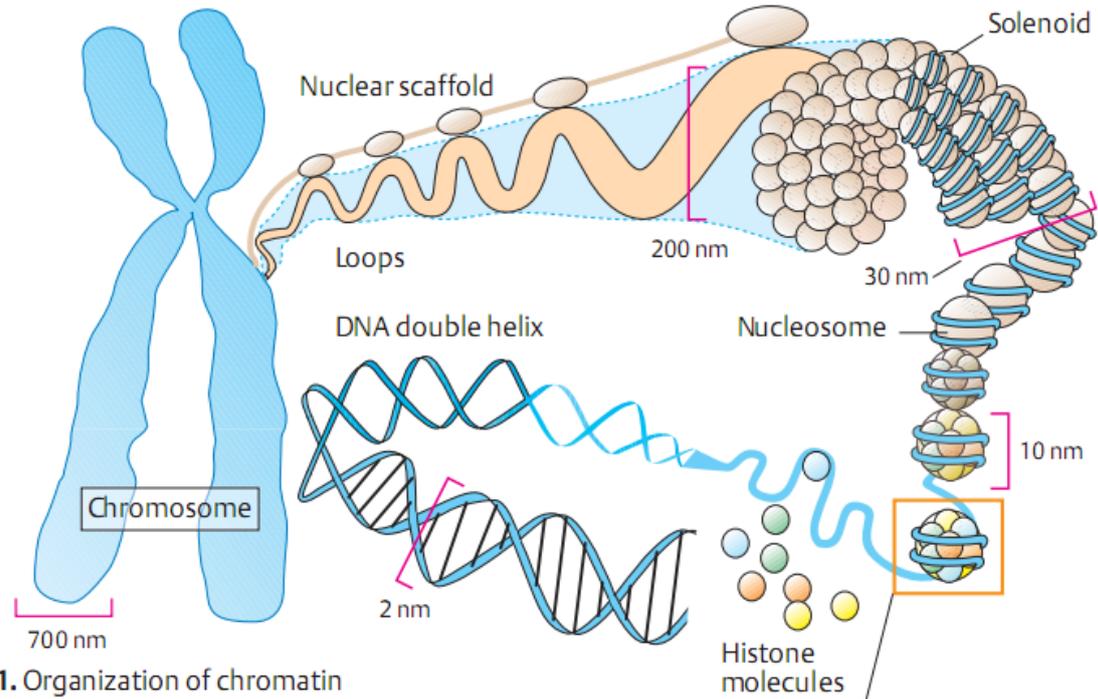
### A. DNA: structure



### A. DNA: conformation



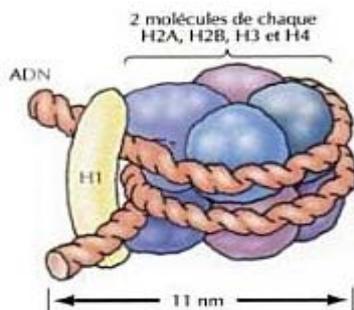
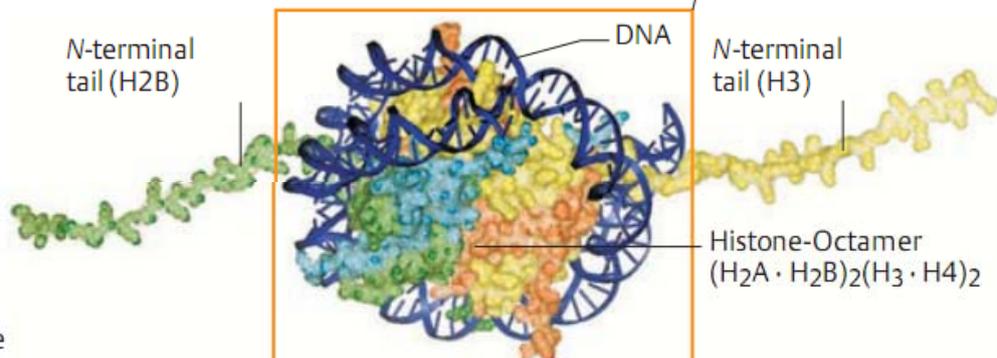
## A. Chromatin



### 1. Organization of chromatin

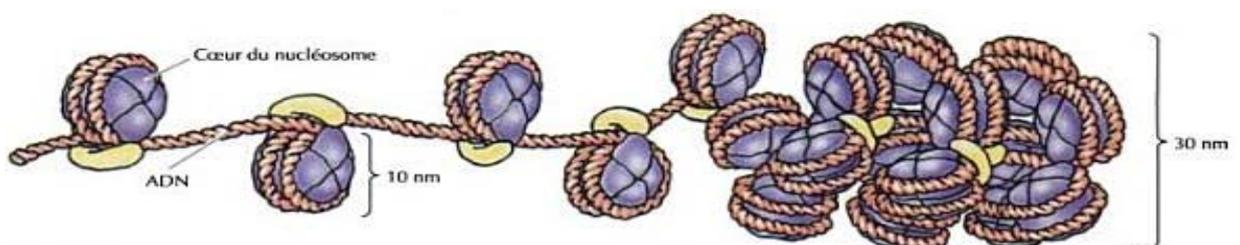
- H2A
- H2B
- H3
- H4

### 2. Nucleosome



### Structure du chromatosome

Le chromatosome comporte deux tours complets de brin d'ADN maintenus en place une molécules d'histone H1 (histone de liaison)



## La réplication du DNA chez les procaryotes

La réplication de DNA commence au niveau d'un site spécifique (unique); le site OriC (origine de réplication chez E.coli).

**OriC**: est une séquence de 245 pb qui contient une série de 3 séquences en tandem quasiment identiques de 13 nucléotides et 4 sites (de 9pb) de liaison pour la protéine dna A (une protéine de l'initiation de la réplication appelée initiateur).

- lorsqu'une protéine **dnaA** se fixe sur l'un des 4 segments mères; 20 à 40 autres molécules de la protéines dnaA lient et recouvrent toute la région OriC (cette protéine se lie à OriC de façon coopérative); le processus d'assemblage est facilité par la présence d'une protéine de type histone); le complexe final ressemble à un nucléosome.

- la présence de ce complexe entraîne en présence d'ATP l'ouverture de la double hélice faisant apparaître les ébauches de 2 fourches de réplication.

- puis la protéine **dnaB**, protéine hexamérique à activité hélicase se lie à chaque ébauche de fourche de réplication.

- une protéine dnaC est indispensable à cette étape.

- l'activité hélicase (dnaB), sépare l'ADN double brins en ADN simple brin, 2 ATP consommés par séparation d'une paire de base.

- au fur et à mesure de la progression de chaque fourche de réplication, le dénouement de l'ADN par l'hélicase introduit devant la fourche des supertours positifs qui sont annulés par les supertours négatifs introduits par l'ADN gyrase (**TOPO II**).

Les brins séparés de l'ADN sont stabilisés sous forme simple brin grâce à la fixation des protéines appelés ssb ( protéine fixant l'ADN simple brin). ces protéines **ssb** empêchent l'ADN de se reappairier, elles empêchent également qu'une chaîne se replie sur elle même, en formant une boucle.

- l'addition des nucléotides les uns aux autres, pour former un brin de DNA, se ferait grâce à une enzyme DNAPolymérase III, mais le DNA polymérase n'a aucun esprit d'initiative, elle ne sait pas commencer une chaîne, elle ne sait qu'allonger une chaîne de nucléotide.

- l'addition de **la protéine G (dnaG)** a activité primase complète le complexe d'initiation (hélicase-ADN).

- la primase est une ARN polymérase utilisée pour synthétiser de courtes séquences d'ARN qui servent d'amorces à la synthèse d'ADN.

- la primase est directement liée à l'hélicase pour former un primosome.

l'ADN polymérase contient 10 sous unités qui ont diverses fonctions au cours de la réplication.

- le coeur ou la partie centrale de **poly III** se compose de 3 sous unités où possède la

fonction polymérase. La sous unité  $\alpha$  a activité exonucléase, qui sert à éliminer les nucléotides incorporés par erreurs. la sous unité  $\beta$  est une protéine auxiliaire, qui stimule l'activité de correction de  $\beta$ . les autres sous unités modulent l'activité d'un centre de poly III.

- les nucléotides sont ajoutés par l'ADN poly III dans le sens 5'  $\rightarrow$  3' à chaque brin fils au cours d'élongation. En effet un problème se pose pour l'un des 2: comment la synthèse de ce brin peut-elle à la fois de produire dans le sens 5'  $\rightarrow$  3', sens de polymérisation de DNA tant en respectant le sens de propagation de la polymérase sur ce brin ( retardé).

- la réplication n'est pas identique entre les 2 brins, en effet sur l'un des 2 brins la réplication s'effectue de manière continue, on parle de brin avancé(précoce), alors que sur l'autre brin, elle s'effectue de manière discontinue, on parle de brin retardé (tardif).

Remarque : le brin parental matrice du brin retardé formerait une boucle autour d'une sous unité ADN polymérase III, donc l'addition des nucléotides en 3' dans le sens 5'  $\rightarrow$  3' pourrait se faire simultanément pour les 2 brins. de cette manière le brin retardé aura bien été synthétisé de manière antiparallèle au brin avancé et cependant dans la même direction.

l'ADN polymérase III se fixe à la fois sur le brin matrice du brin continu et sur le brin matrice du brin discontinu à l'extrémité 3' de chaque amorce.

- la sous unité  $\beta$  (de polyIII) forme un dimère  $\beta$  qui entoure l'ADN et maintient en place le noyau central de l'ADN polymérase en formant un anneau glissant sur l'ADN ( maintenant chaque sous unité sur son brin); donc la sous unité  $\beta$  est responsable de la grande processivité de l'ADN polymérase III ( c-à-d de sa capacité à polymériser plusieurs milliers de nucléotides sans se décrocher du brin matrice).

- l'ADN polymérase se déplace de façon continue le long de la matrice du brin précoce.

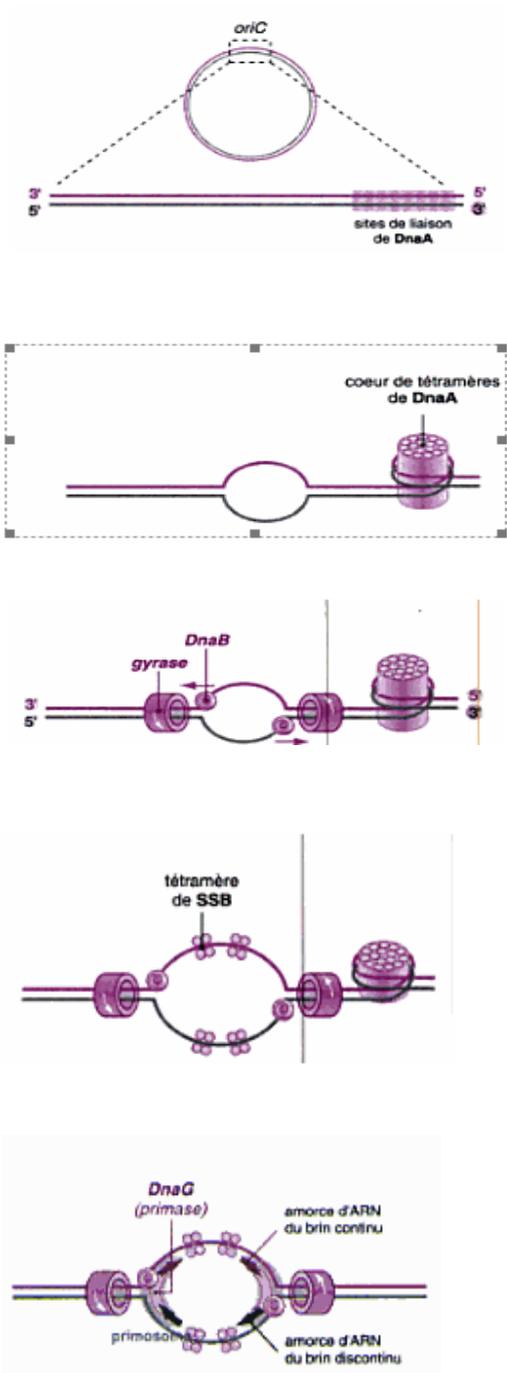
- sur le brin retardé l'ADN polymérase III ajoute un desoxyribonucléotide à l'extrémité 3' de l'amorce pour débiter la synthèse d'ADN et elle continuera d'allonger ce brin jusqu'à ce qu'elle atteigne l'amorce d'ARN suivante (fragments d'OKAZAKI). puis l'ADN polymérase se dissocie de la sous unité  $\beta$  ( le complexe responsable de la charge et la décharge de la sous unité  $\beta$ ), puis après déplacement relatif de l'enzyme (poly III), elle s'associe à la sous unité  $\beta$  et reprend ses travaux d'extension d'amorce, et ainsi de suite.

- les amorces d'ARN sont éliminées et remplacées par de l'ADN par l'ADN poly I.

L'ADN poly I douée à la fois de propriété exonucléase 5'  $\rightarrow$  3' (qui servent à hydrolyser les amorces d'ARN) et de propriété polymérasique.

les activités ADN poly I s'exercent de sorte que l'enlèvement de l'amorce d'ARN par l'activité exonucléase s'accompagne de son remplacement, finalement les fragments d'ADN, libérés de

leurs amorces d'ARN et devenus contigus seront soudés les uns aux autres par une ligase.



La répliation du chromosome circulaire d'*E. coli*



## **Lésion et réparation de l'ADN**

L'ADN est sensible à des agressions soit chimiques soit physiques. Ces agressions peuvent entraîner la perte d'une base, mais aussi entraîner la rupture d'un brin ou des 2 brins d'ADN.

Devant une anomalie, la cellule peut suivre 2 grandes voies:

- subir l'apoptose.
- détecter et réparer l'erreur.

Si ces modifications n'étaient pas corrigées avec efficacité, elles donneraient naissance à des mutations, exemple: une mutation concernant une seule paire de nucléotides est responsable de la drépanocytose, l'hémoglobine drépanocytaire est moins stable que l'hémoglobine normale, et elle forme des précipités fibreux qui entraîne la forme caractéristique en croissant des globules rouges atteints.

### **Les agents mutagènes**

- les agents chimiques : ce sont par ex des substances chimiques qui peuvent désamminer la cytosine et transformer le NH<sub>2</sub> en OH donnant alors l'uracile.

Des substances chimiques qui perturbent la réplication en s'intercalant entre les 2 brins, ex: BET (bromure d'éthidium).

- Agents physiques: ce sont par ex. des radiations comme les rayons x ou les rayons uv.

L'énergie des radiations ultraviolettes est absorbée principalement au niveau des pyrimidines de l'ADN.

Ex: lorsque sur un brin d'ADN, existent 2 pyrimidines contiguës (en particulier 2 TT), ces bases sous l'influence des rayons UV, vont se lier par des liaisons covalentes, elles forment aussi un dimère. Ces dimères de thymine entraînant une distorsion locale sur l'ADN, l'ADN polymérase ne sachant pas recopier ces 2 T soudées, la réplication s'arrête. Heureusement des systèmes de réparation assurent la correction de toute ces modifications à 99.9%.

### **La réparation de l'ADN**

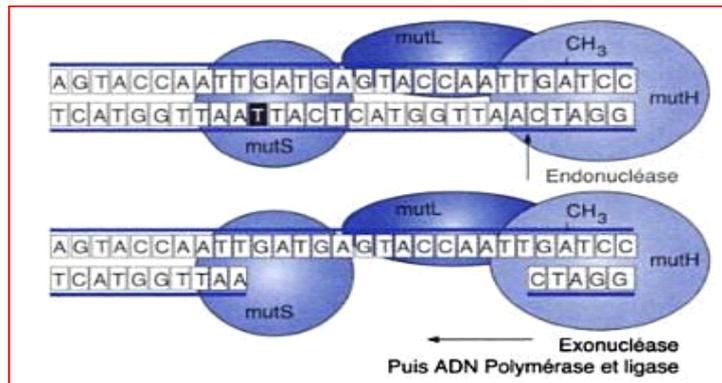
#### **1- Correction des mésappariements produits lors de la réplication**

Quand un mésappariement (mismatch) a échappé à la fonction d'édition de l'ADN polymérase III, d'autres enzymes interviennent.

Ex: chez E.coli, les enzymes impliquées dans la réparation des mésappariements sont codées par les gènes Mut. Ces protéines vérifient le brin néosynthétisé et uniquement lui.

- Muts se fixe au mésappariement; MutH et MutL sont recrutés pour former un complexe.
- MutH (endonucléase) coupe le brin néosynthétisé (non méthylé); enfin une exonucléase ouvre la brèche qui est ensuite comblée par l'ADN poly et la ligase.

Remarque: l'incision (action endonucléasique) est pratiquée en face d'un site méthylé du brin parental.



### Correction des mésappariements produits lors de la réplication

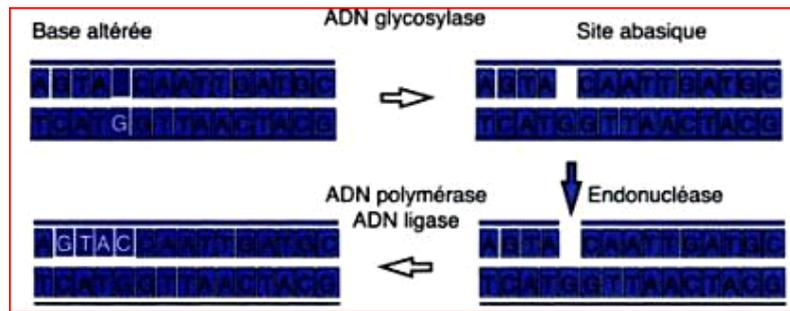
#### 2-Réparation par excision d'une base anormale

Ce mécanisme est mis en jeu lors d'une altération par des agents physiques ou chimiques

Ex: une cytosine méthylé peut par désamination oxydative donner de la thymine.

La pb CG devient donc TG, ce mésappariement TG doit être corrigé

- une glycosylase (spécifique de la base mutée) élimine le résidu T mal apparié
- une endonucléase reconnaît le site abasique et coupe la liaison phosphodiester adjacente.
- ADN poly et ligase.



**Mécanisme d'excision puis réparation d'une base anormale.**

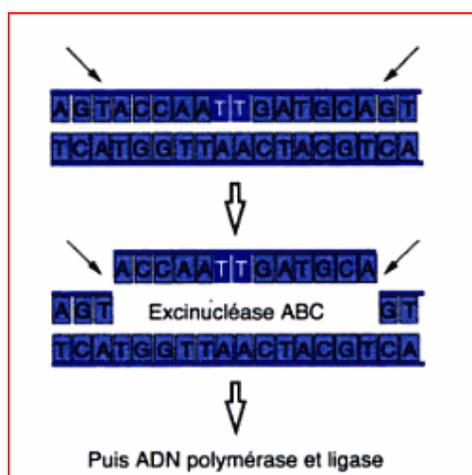
### 3- Réparation par excision d'un oligonucléotide (excision- resynthèse)

Ce mécanisme de réparation mis en jeu lors de modification plus importante d'ADN.

Ex: la formation des dimères de bases pyrimidiques (par les rayons UV).

Le mécanisme de réparation comprend plusieurs étapes:

- reconnaissance de la distorsion locale.
- séparation des 2 brins par une hélicase (structure ouverte au niveau de la lésion)
- coupure par une excinuécléase ( 2 incisions endonucléasiques) a quelques nucléotides de chaque coté de la lésion, avec départ de segment endommagé.
- prolongement du brin d'ADN polymérase ( grâce à l'information contenue dans le brin intact).
- une ligase terminera le travail.



**Réparation par excision d'un oligonucléotide.**

Si le système de réparation avec les enzymes d'excision resynthèse est débordé, l'ADN poly sautera la lésion ce qui produira une brèche appelée lacune post- réplivative.

### La réparation post- réplivative

- le brin parental contient un dimère de thymine
- le brin fils contient une lacune

L'information (sur un court fragment du DNA) est donc totalement perdue pour chacun des 2 brins, heureusement le 2<sup>ème</sup> brin parental et son brin fils sont proches et intacts.

- La protéine RecA (Rec: recombinaison) permet en effet une recombinaison c.-à-d. un échange entre 2 segments homologues de DNA (le 2<sup>ème</sup> brin parental et le 1<sup>er</sup> brin fils), mais cette recombinaison produit maintenant une nouvelle brèche sur le 2<sup>ème</sup> brin parental du DNA.

- Il faut ensuite l'intervention d'autre enzymes; les enzymes d'excision-resynthèse qui sur un brin élimineront le dimère de thymine et sur l'autre brin combleront la brèche (chaque fois la copie pourra se faire grâce à l'information contenue sur le brin opposé). Une ligase terminera le travail.

