

La réplication de l'ADN

De la molécule au chromosome : assurer la transmission fidèle de l'information génétique

(Belin, Ed.2019,p.20)

1869

J.F. Miescher isole du noyau des cellules une substance appelée nucléine.

Années 1900

La nucléine est un mélange d'acide nucléique et de protéines.

Années 1920



P. Levene montre que l'acide nucléique, ou ADN, est constitué de quatre types de nucléotides différents.

Années 1930

T. Caspersson montre que l'ADN est associé aux chromosomes.

Modèle de Levene :

- 1 l'ADN est une succession de répétitions du même tétranucléotide

—A-T-C-G—A-T-C-G—A-T-C-G—

tétranucléotide

- 2 Dans les chromosomes, ce sont les protéines qui portent l'information génétique

1941



O. Avery montre que c'est l'ADN et **non les protéines** qui portent l'information génétique.

1950



F. Chargaff établit la proportion des différents nucléotides dans l'ADN :

- $A \approx T$ et $C \approx G$
- $\frac{A + T}{C + G} \approx 1$

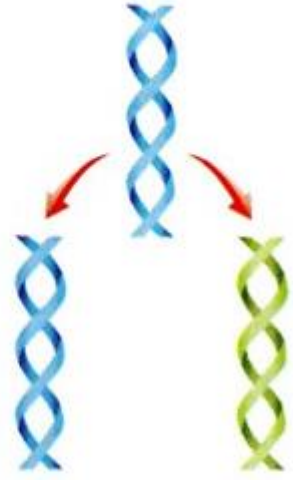
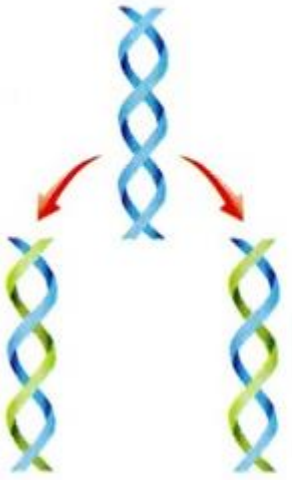

1953



J. Watson et F. Crick montrent que l'ADN a une structure en double hélice.

En 1958, Matthew Meselson et Franklin Stahl essayent de comprendre les modalités de la réplication de l'ADN.

Ces deux chercheurs veulent connaître le mécanisme qui permet de doubler la quantité d'ADN dans une cellule se préparant à se diviser tout en maintenant l'intégrité de l'information contenue dans la molécule d'ADN.

		
Modèle conservatif La double hélice parentale reste intacte et une seconde copie entièrement nouvelle est créée	Modèle semi-conservatif Les 2 brins de la double hélice parentale se séparent et chacun d'eux sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire	Modèle dispersif Chaque brin des deux nouvelles molécules d'ADN contiendrait un mélange de parties préexistantes et de parties nouvellement synthétisées

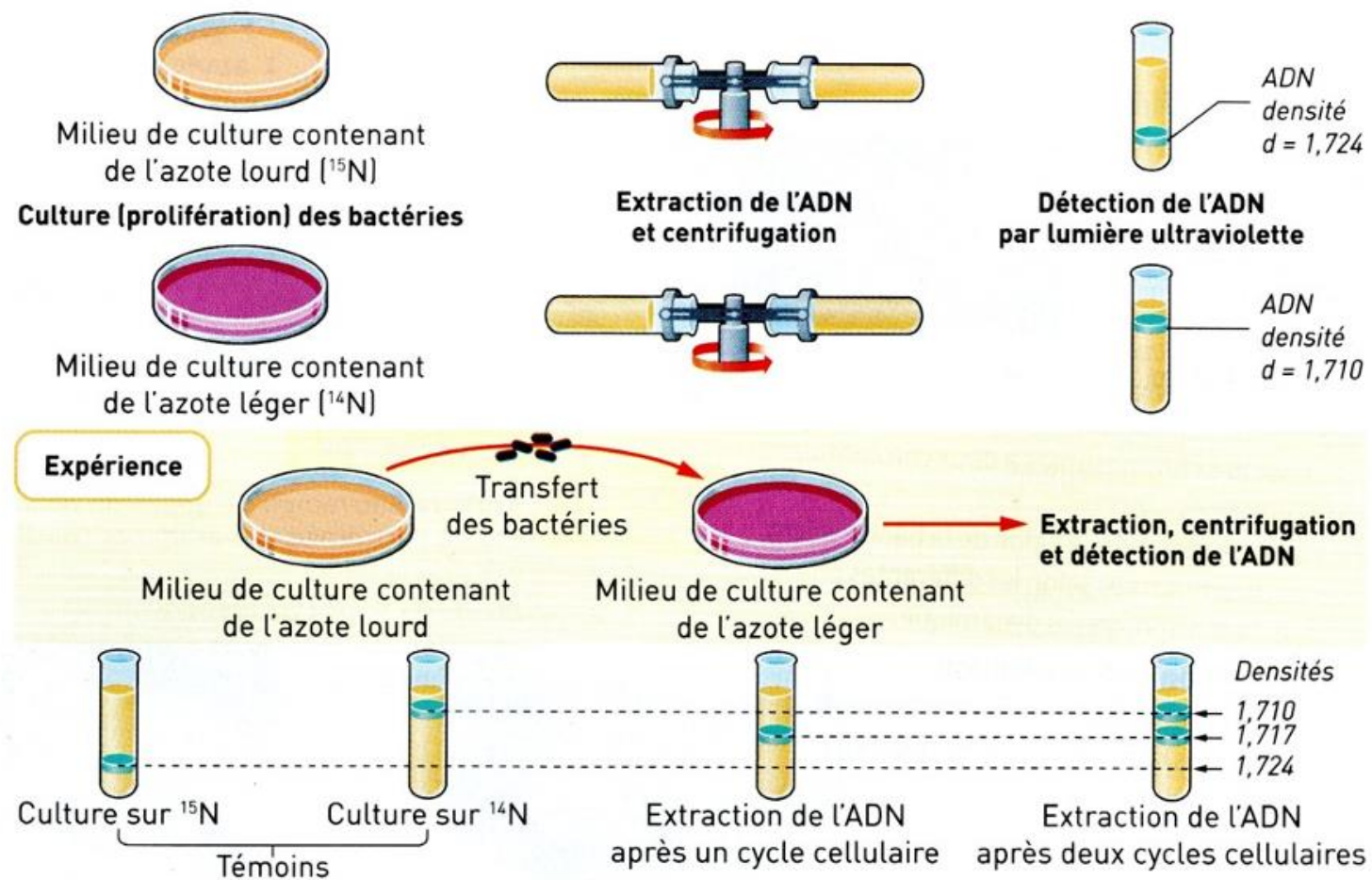
▲ **Les trois hypothèses formulées.**

Document 1a : les hypothèses de Meselson et Stahl sur la réplication de l'ADN

(Magnard, Fd 2019, p 24)

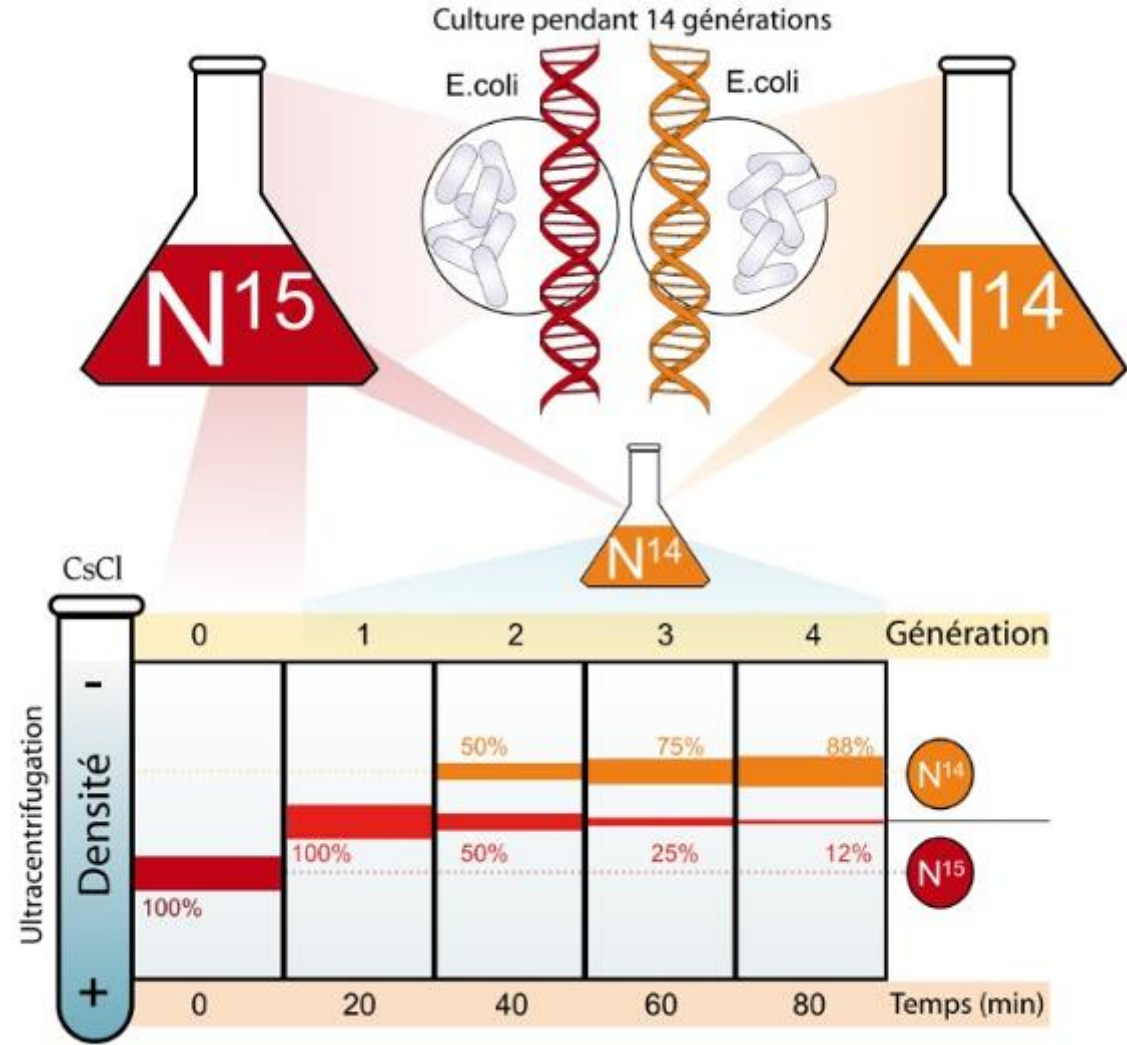
M. Meselson et F. Stahl réalisent une série d'expériences sur des bactéries, ils utilisent les isotopes lourd (^{15}N) et léger (^{14}N) de l'azote, atome présent dans les nucléotides.

Ainsi, ils peuvent différencier une molécule d'ADN lourde (densité = 1,724) de la molécule d'ADN légère ($d = 1,71$) selon l'isotope incorporé en les plaçant dans une solution de chlorure de césium de densité moyenne ($d = 1,72$).



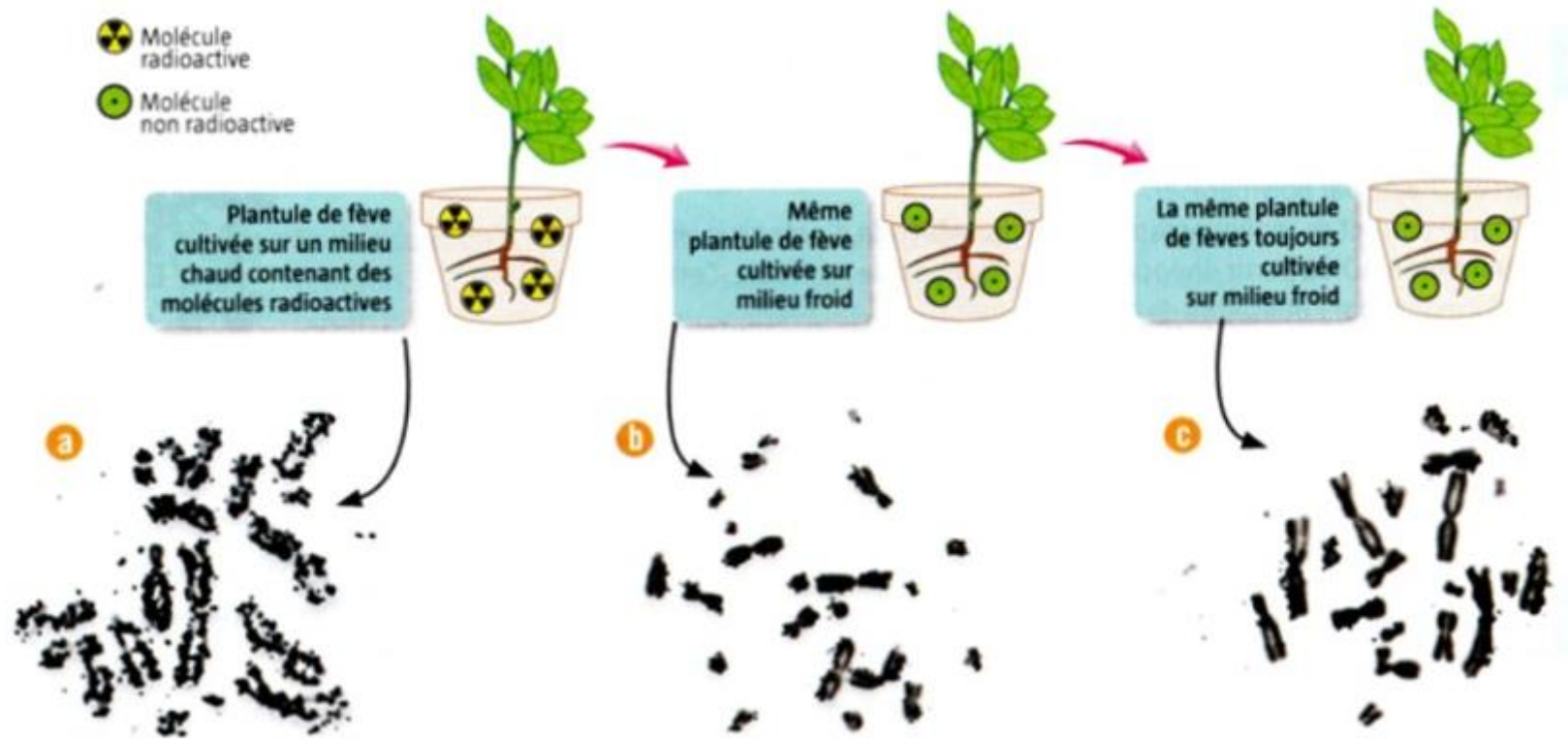
Document 1b : les expériences de Meselson et Stahl

(Magnard, Ed.2019, p.24)



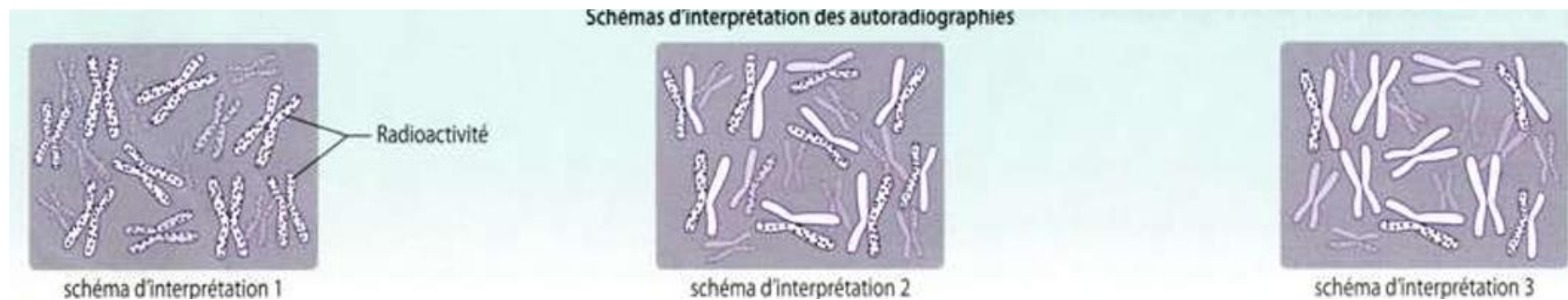
Document 2 : résultats des expériences de Meselson et Stahl

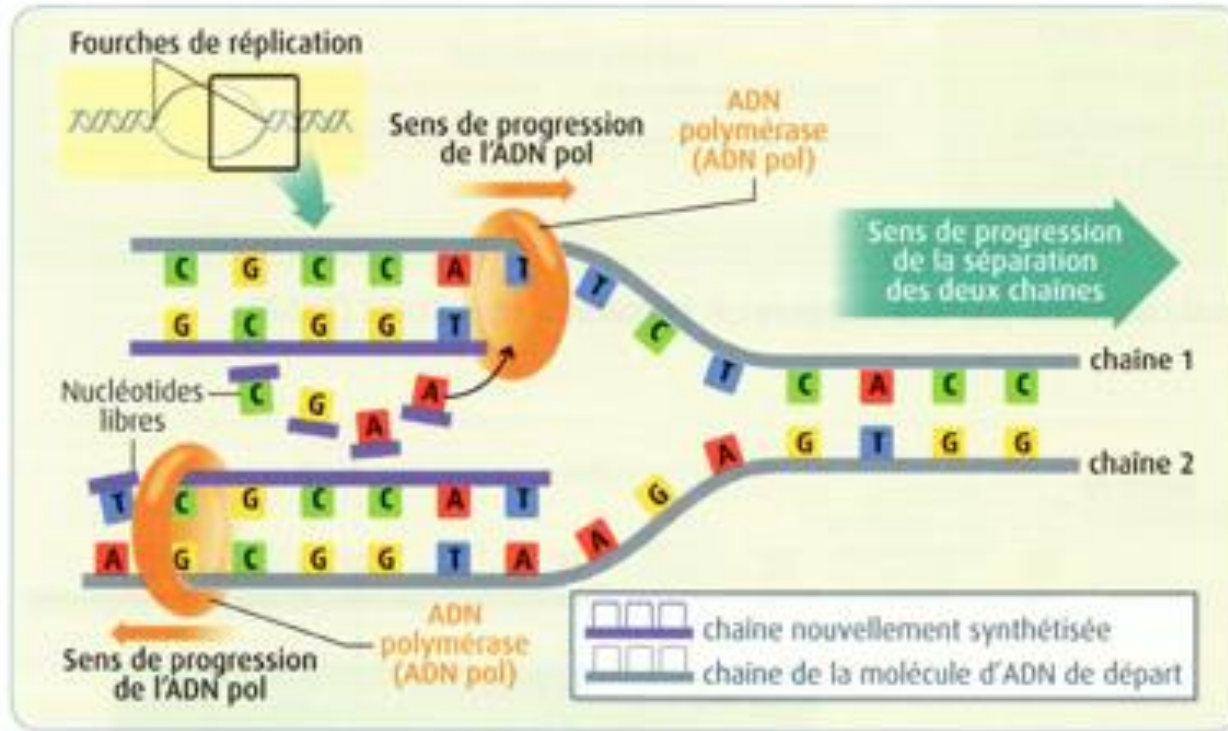
Meselson-stahl diagramme d'expérience ([DameDeChapeaux](#))



Document 3 : Expérience de Taylor, Wood et Hughes (1957)

(Magnard, Ed.2019, p.25)





1 Action de l'ADN polymérase au niveau d'une fourche de réplication. Les deux chaînes de la double hélice sont séparées. Une enzyme, l'ADN polymérase, positionne en face de chaque nucléotide d'un brin de la molécule d'ADN à répliquer, le nucléotide complémentaire. Puis, elle permet d'établir une liaison covalente entre ce nouveau nucléotide et le nucléotide précédent sur le brin d'ADN en cours de synthèse. Les deux molécules d'ADN synthétisées ont ainsi la même séquence que la molécule de départ. Les deux cellules issues de la mitose sont donc génétiquement identiques à la cellule-mère dont elles sont issues. Elles forment des clones.

Origine et intérêt de la PCR :

Source chaude dans le parc national de Yellowstone aux États-Unis.

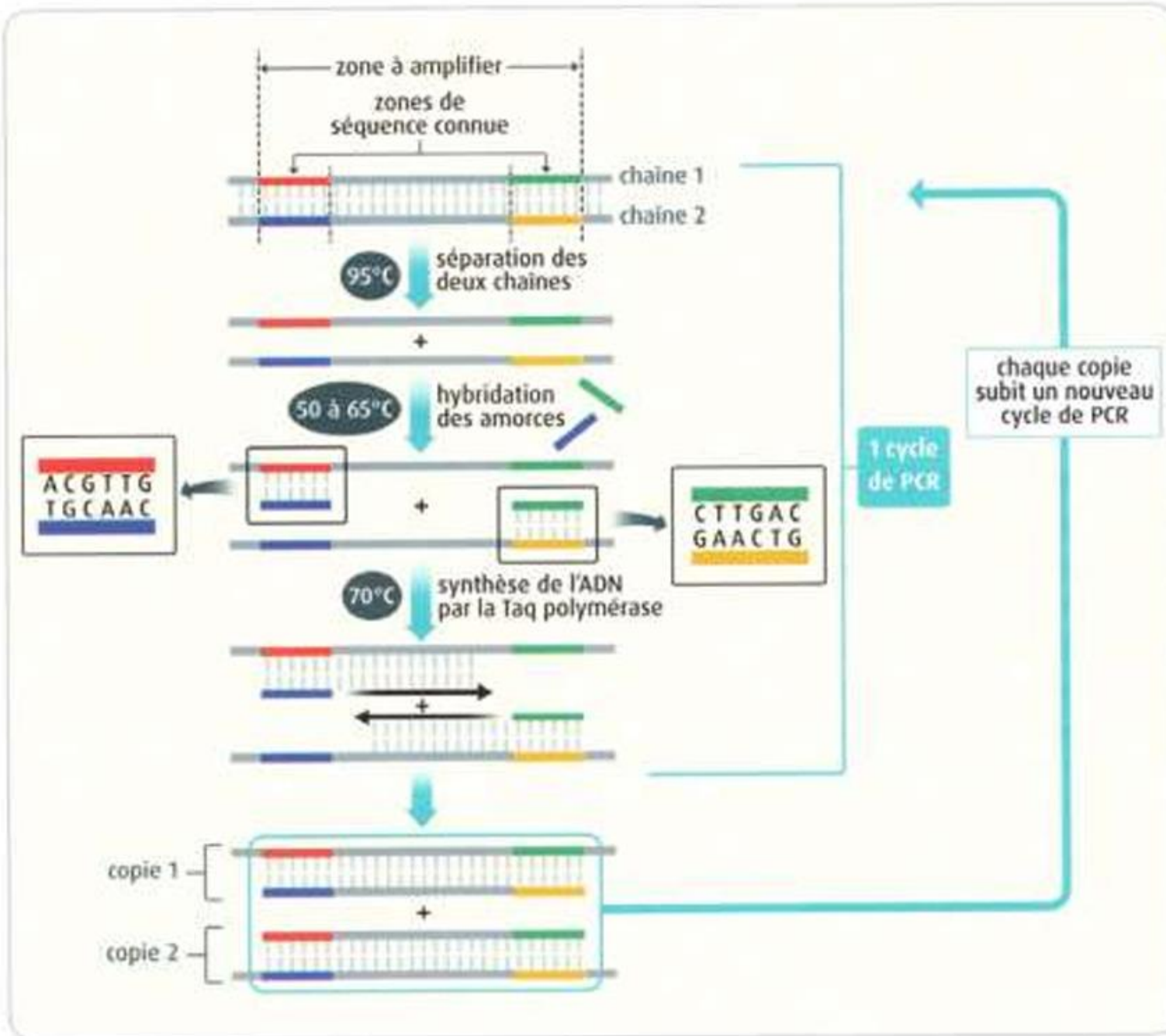
C'est là, dans des eaux à plus de 70 °C, qu'a été isolée la bactérie *Thermus aquaticus*. En 1976, des scientifiques ont isolé son ADN polymérase: la Taq polymérase.

Alors que l'ADN polymérase de la plupart des êtres vivants est détruite au-dessus de 45 °C environ,

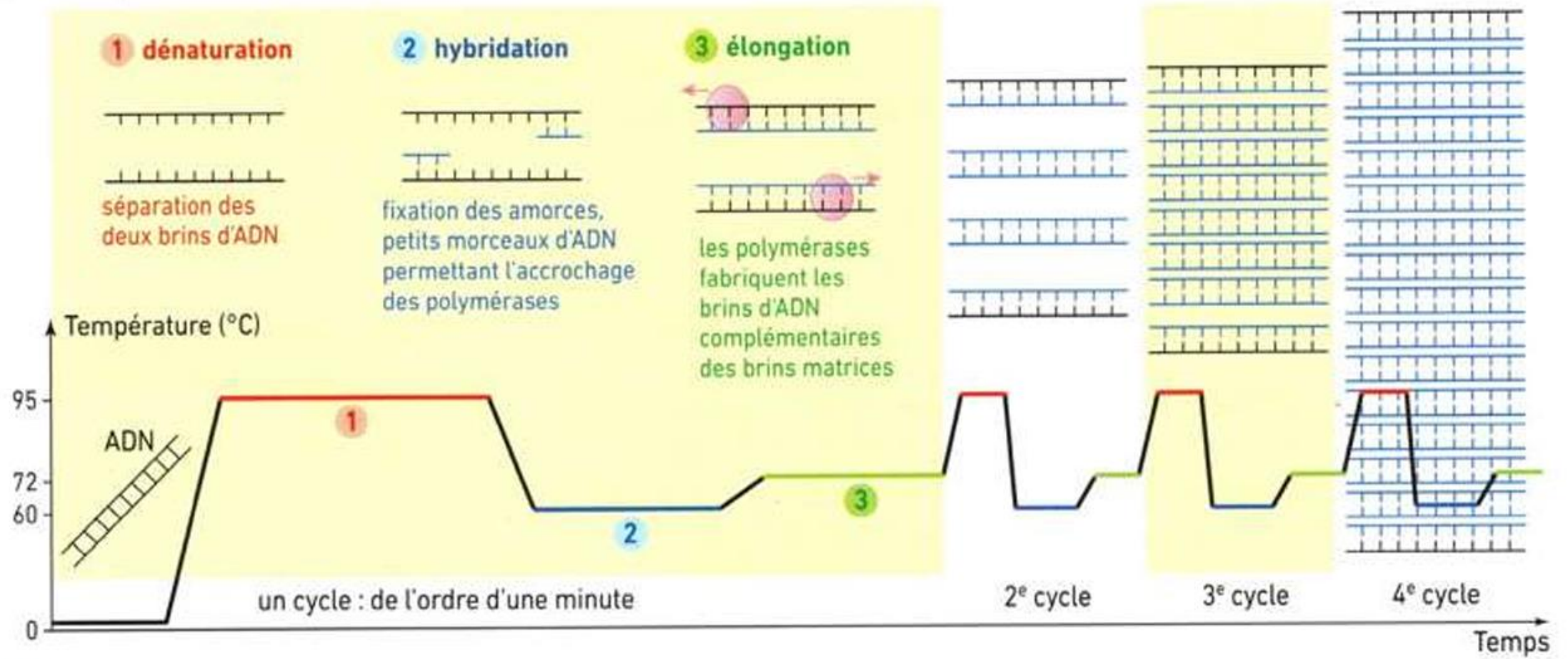
la Taq polymérase supporte une température de 100 °C. La découverte de cette enzyme a permis, à la fin des années 1980, la mise au point d'une technique qui a révolutionné la biologie: la PCR (*Polymerase Chain Reaction*).



(Belin, Ed.2019, p.25)



Le principe de la PCR. La PCR est fondée sur le fait qu'au-delà d'une certaine température, qui dépend notamment de la longueur de la molécule, les deux chaînes de l'ADN se séparent. Si la température diminue, elles s'associent à nouveau. Une PCR comprend de 10 à 30 cycles. Pour amplifier la séquence d'ADN, on utilise des fragments d'ADN dont la séquence est connue : les amorces. Elles permettent de délimiter la zone amplifiée et elles sont indispensables à la polymérase pour commencer la synthèse. Cette « photocopieuse » à ADN permet d'obtenir un grand nombre de copies de la portion d'ADN comprise entre les amorces. Elle est utilisée en routine dans les laboratoires de biologie et de police scientifique.



■ Représentation schématique simplifiée des opérations se déroulant pendant la PCR (seul le premier cycle est détaillé).

(Bordas, Ed.2019,p.46)

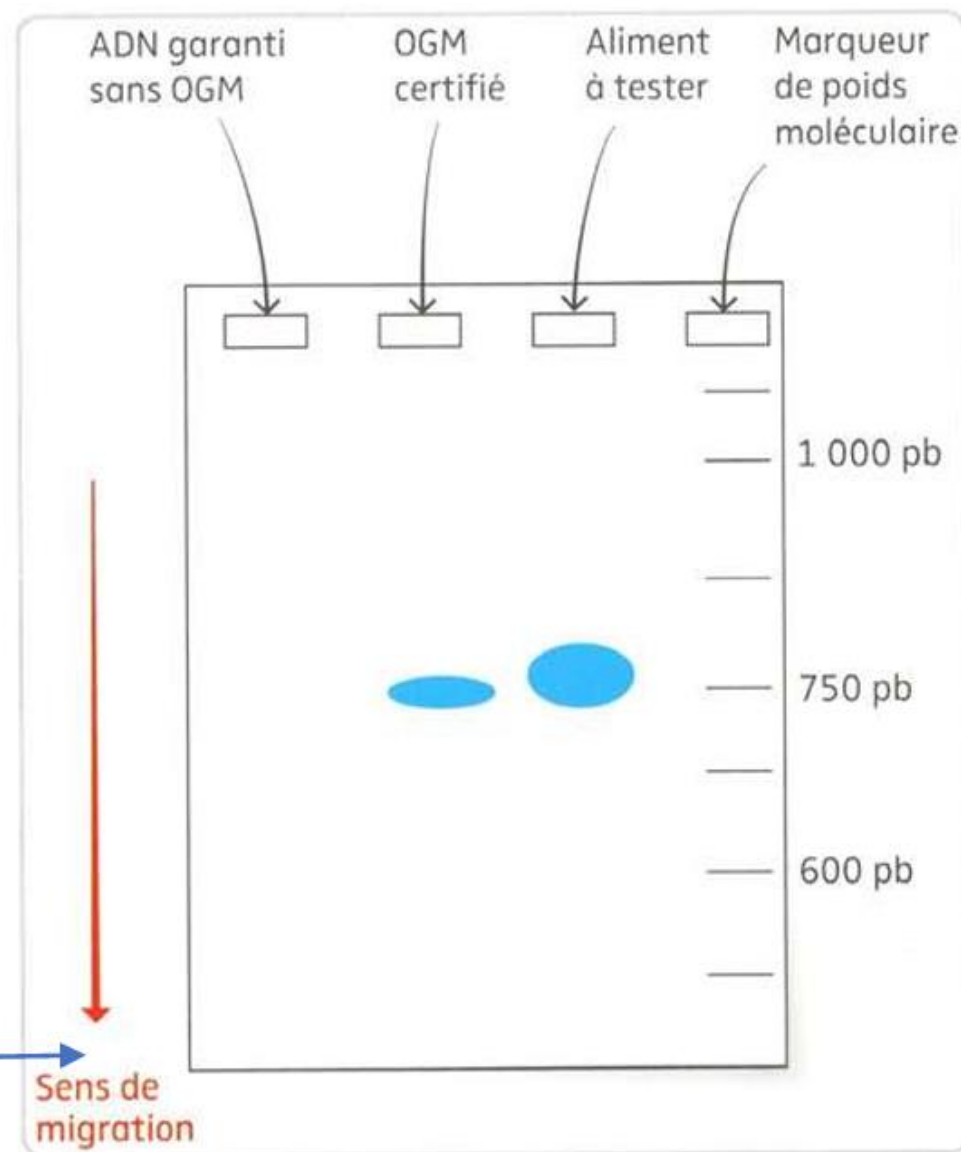
Les OGM : des organismes très courants en agronomie.

Un OGM est un organisme dont le patrimoine génétique a été modifié par transgénèse, c'est-à-dire par l'ajout d'un ou plusieurs gènes permettant à l'organisme d'acquérir de nouvelles caractéristiques (par exemple, le gène de résistance à un herbicide ou à un parasite). Ces gènes ajoutés sont appelés des transgènes et ont des séquences différentes de l'ADN de l'organisme receveur.

PRINCIPE

- ▶ On se propose de détecter la présence d'un transgène connu de 750 pb permettant une résistance à un antibiotique chez les plantes.
- 1 Extraire l'ADN de l'aliment dans lequel on recherche la présence du transgène.
- 2 Réaliser une PCR de cet ADN en utilisant des amorces spécifiques du transgène.
- 3 Réaliser l'électrophorèse des fragments clonés par PCR et les comparer à des témoins positif et négatif.

(Nathan, Ed.2019,p.50)



Résultats de l'électrophorèse

La détection d'une mutation par PCR

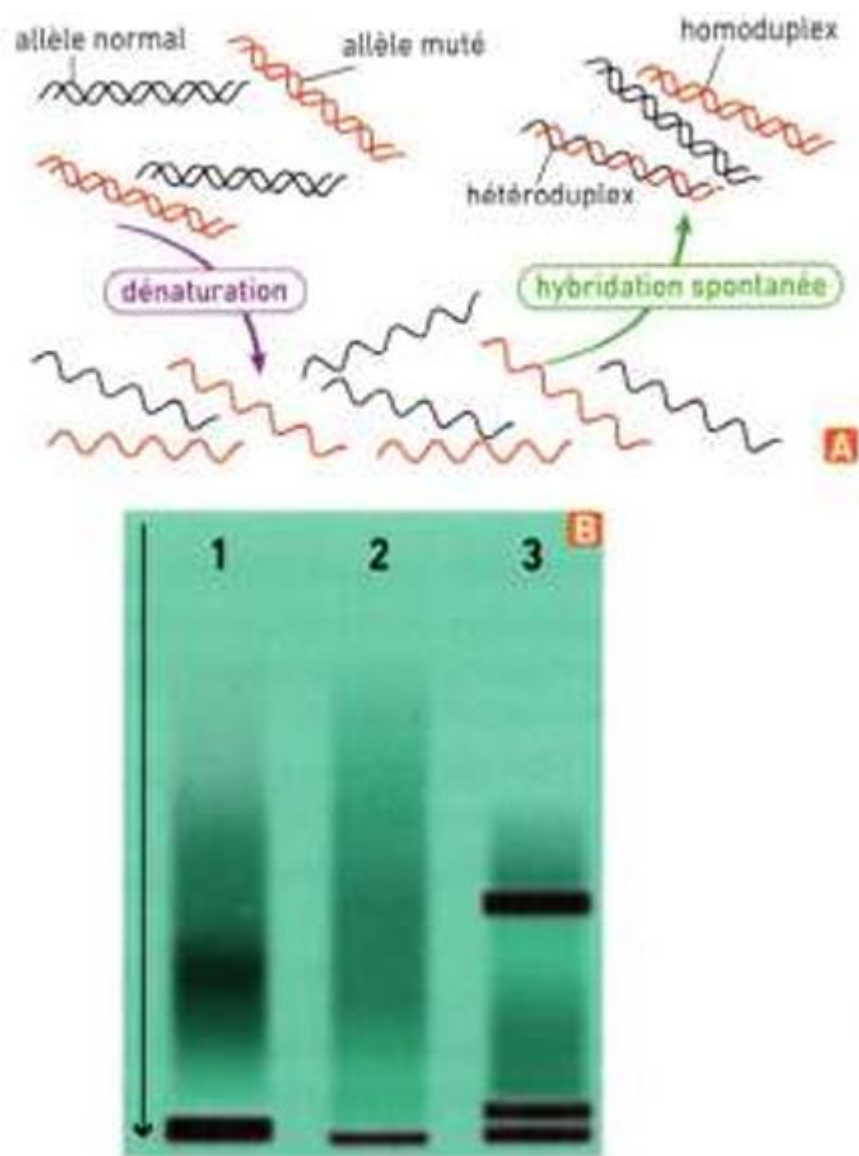
La mucoviscidose* est une maladie génétique grave due à une mutation d'un gène bien identifié ; cette mutation correspond à une délétion de trois nucléotides successifs. Un test génétique a été mis au point permettant de détecter si l'ADN d'un individu est porteur ou non de cette mutation :

- on commence par amplifier par PCR le fragment d'ADN qui contient la séquence génétique concernée ;
- les fragments d'ADN amplifiés sont ensuite dénaturés, c'est-à-dire soumis à un traitement qui sépare les deux brins de chaque molécule. Il se reforme ensuite des molécules double brin par hybridation spontanée. Il peut alors se former des molécules d'ADN associant deux brins strictement complémentaires : c'est ce qu'on appelle des homoduplex. Mais il peut également se former des molécules d'ADN constituées d'un brin portant la mutation et d'un brin ne portant pas la mutation : ce sont des hétéroduplex (A).

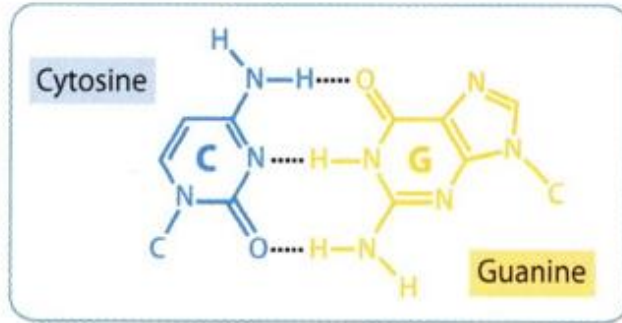
Par électrophorèse, on peut facilement distinguer les homoduplex des hétéroduplex, car ces derniers migrent nettement moins vite (B).

Trois cas sont possibles :

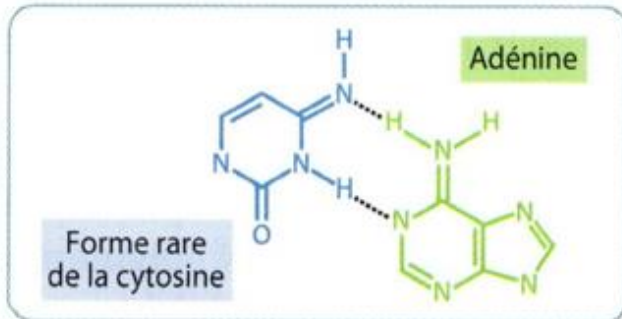
- 1 : individu homozygote portant l'allèle normal ;
- 2 : individu homozygote portant l'allèle muté ;
- 3 : individu hétérozygote.



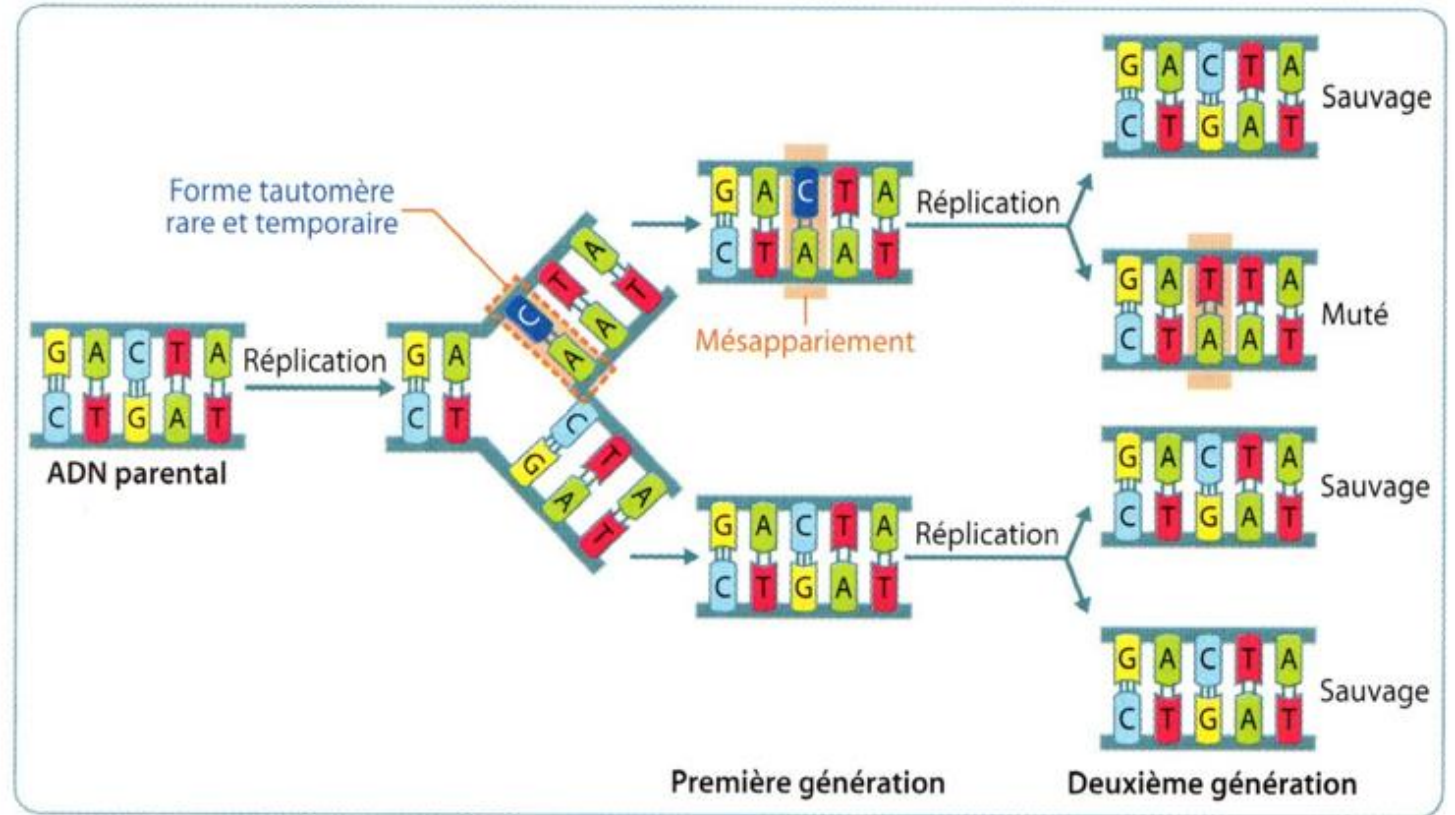
Mutations de l'ADN et variabilité génétique



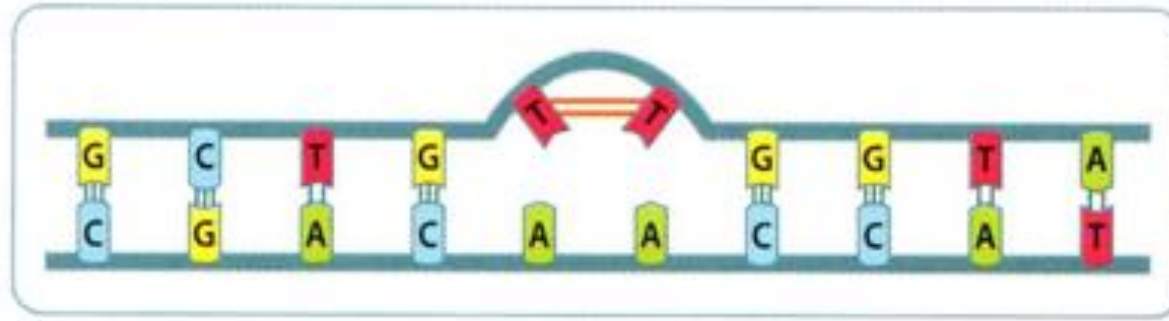
a. Complémentarité entre la cytosine et la guanine



b. Complémentarité entre la forme tautomère de la cytosine et l'adénine



c. Conséquences de l'apparition d'une forme tautomère



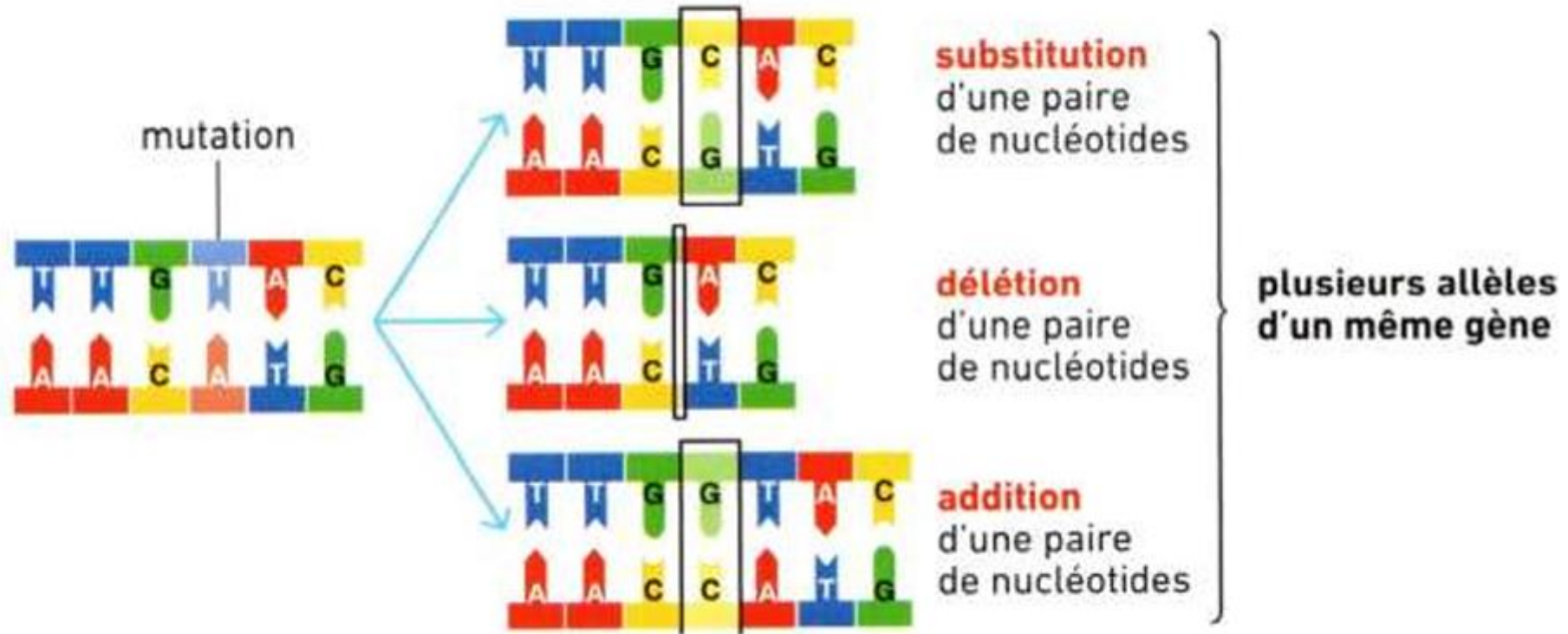
Schématisation d'un dimère de thymine

Le rayonnement UV peut aussi induire des modifications de l'ADN avec la formation de dimères de thymines par établissement d'une liaison chimique entre les deux bases de deux thymines adjacentes sur le même brin. Un dimère de thymine provoque l'incorporation d'une guanine à la place de deux adénines lors de la réplication.

Altération de l'ADN par les rayonnements UV

(Hachette, Ed.2019,p.35)

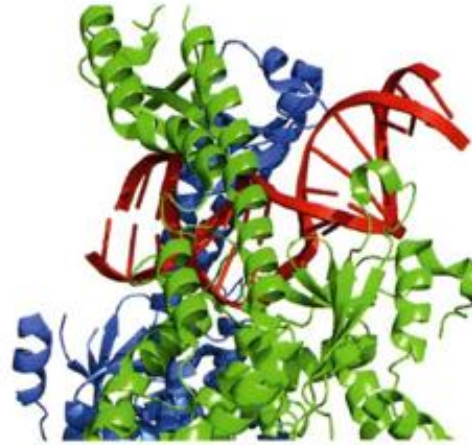
Les mutations sont à l'origine de la diversité des allèles



(Bordas, Ed.2019, p.57)

Le système de correction des mésappariements ou MMR (pour « MisMatch Repair ») répare des mésappariements présents dans une molécule d'ADN en dehors des périodes de réplication. Il agit en quatre étapes :

1. Reconnaissance d'un mésappariement sur le brin néosynthétisé d'une molécule d'ADN par la protéine MUT S ;
2. Formation d'un complexe de trois protéines (MUT S, MUT L et MUT H), qui reconnaît le brin néosynthétisé et le coupe de part et d'autre du nucléotide mal apparié ;
3. Départ de la portion coupée du brin contenant le nucléotide mal apparié ;
4. Re-synthèse de la portion du brin manquant par une ADN polymérase.

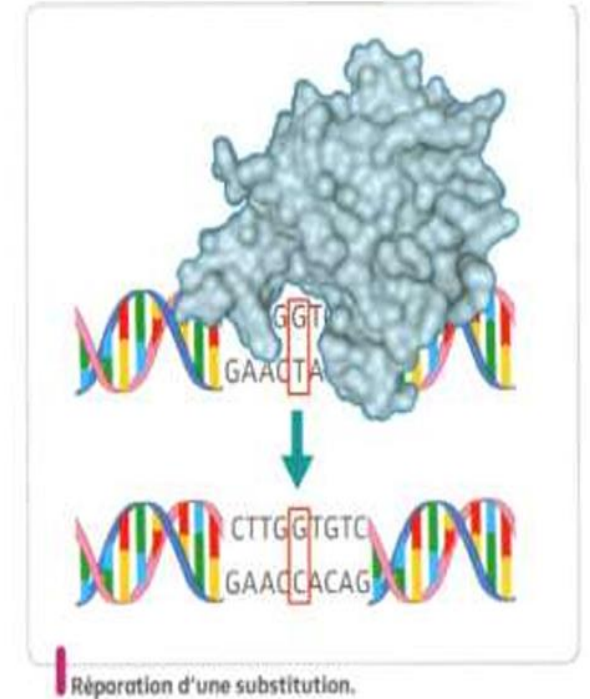


Zoom sur la modélisation moléculaire de la reconnaissance par la protéine MUT S (en vert et bleu) d'un mésappariement présent dans une molécule d'ADN (en rouge)

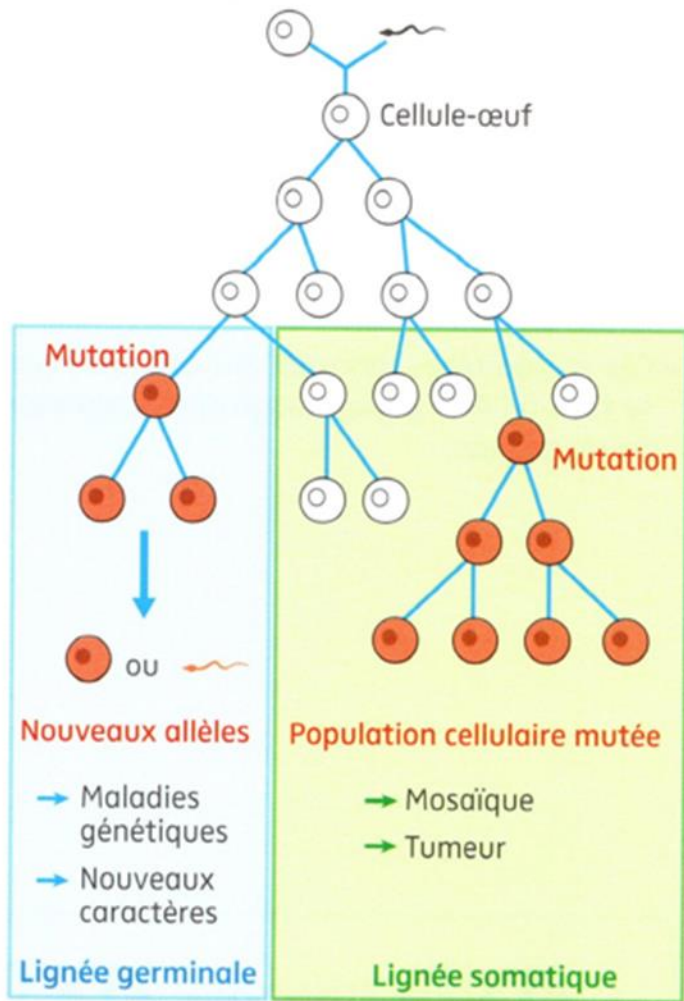
Source : *Nature*, 407 (2000)

Mutations et réparation

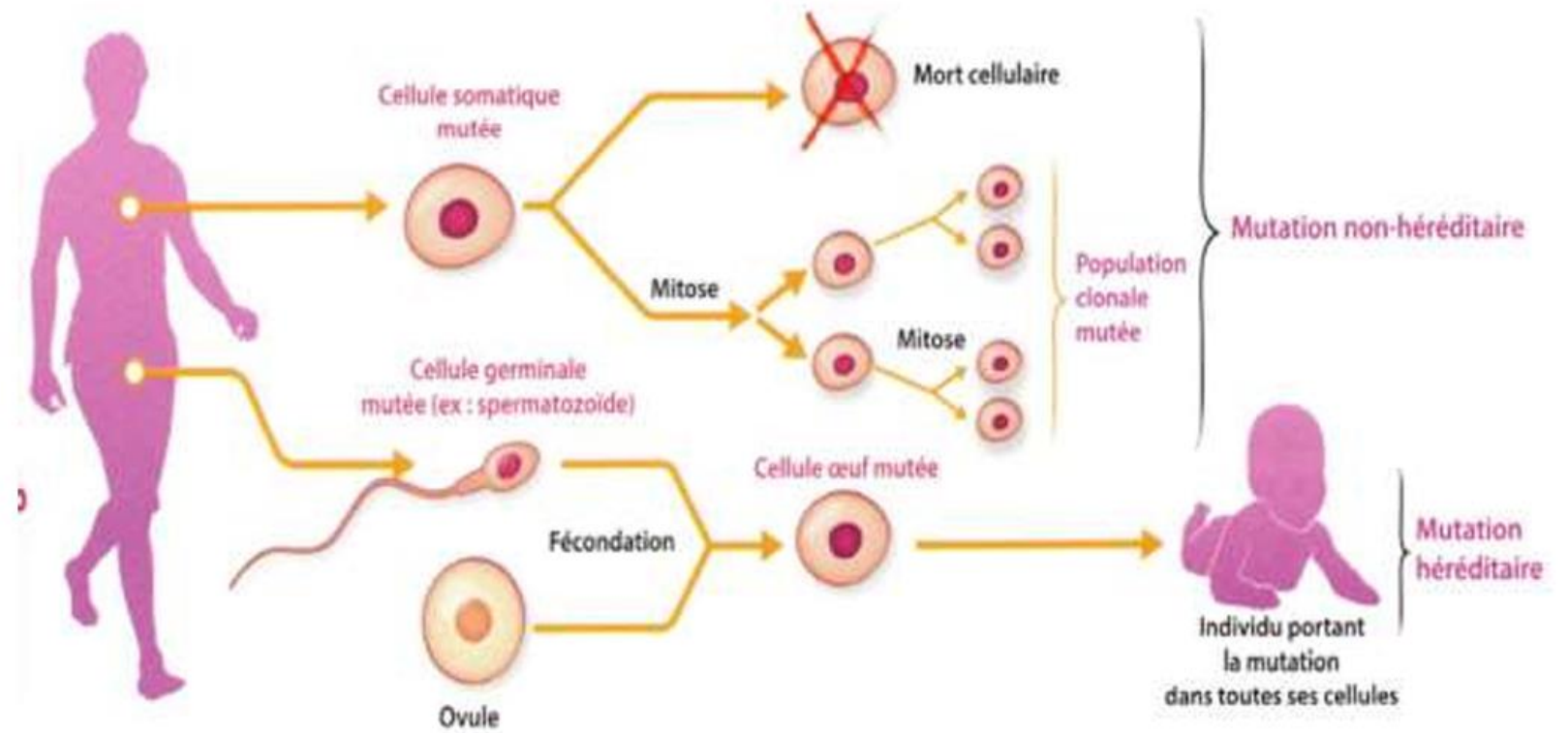
- Le taux d'erreur global lors de la réplication de l'ADN et de la division cellulaire est de l'ordre de 10^{-9} (1 nucléotide erroné pour 10^9 copiés). On estime par ailleurs que l'ADN d'une cellule subit jusqu'à 10^6 dommages moléculaires par jour. Or, le taux final de mutation est bien inférieur. Il existe donc, dans les cellules, des mécanismes de réparation de l'ADN.
- Ces mécanismes reposent sur des enzymes capables de se fixer à l'ADN endommagé et de catalyser les réactions de réparation.



(Nathan, Ed. 2019, p. 73)

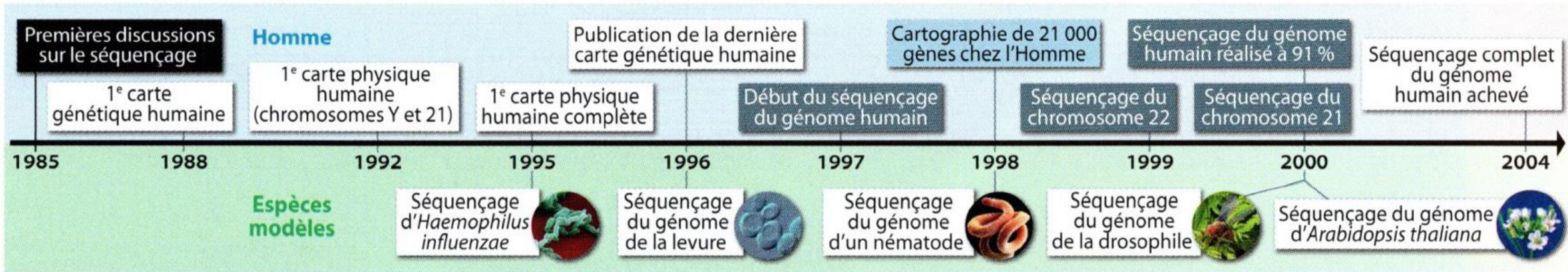


(Nathan, Ed.2019,p.74)

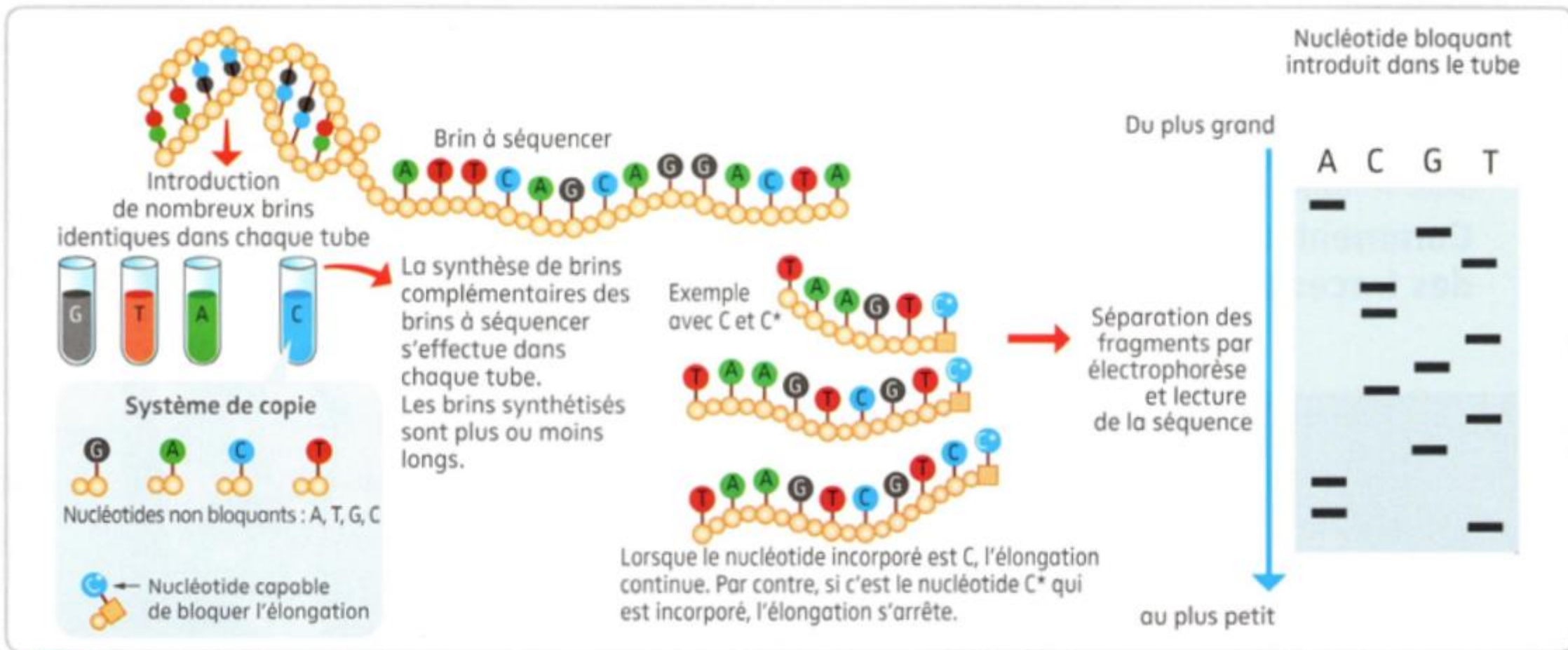


(Hachette, Ed.2019,p.41)

L'histoire humaine lue dans son génome

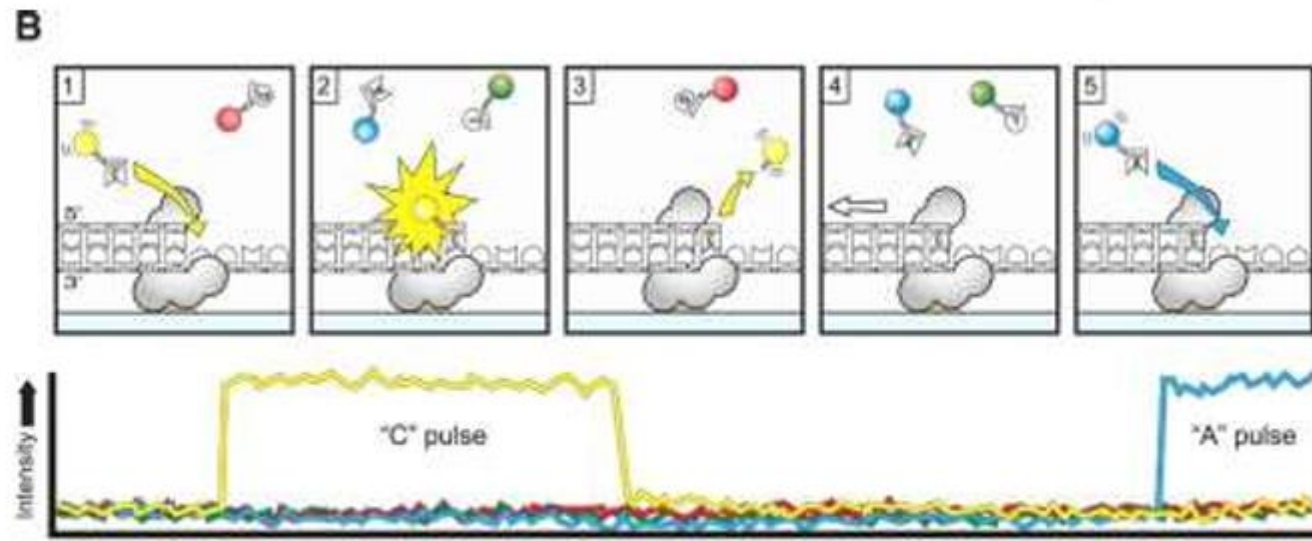
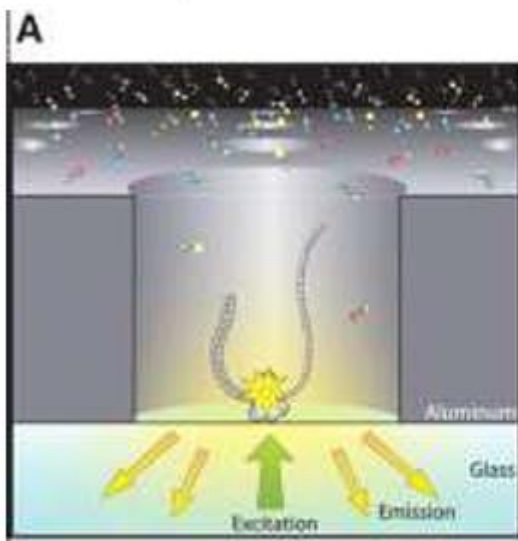


Source : *ipubli INSERM*, 17 (2001)

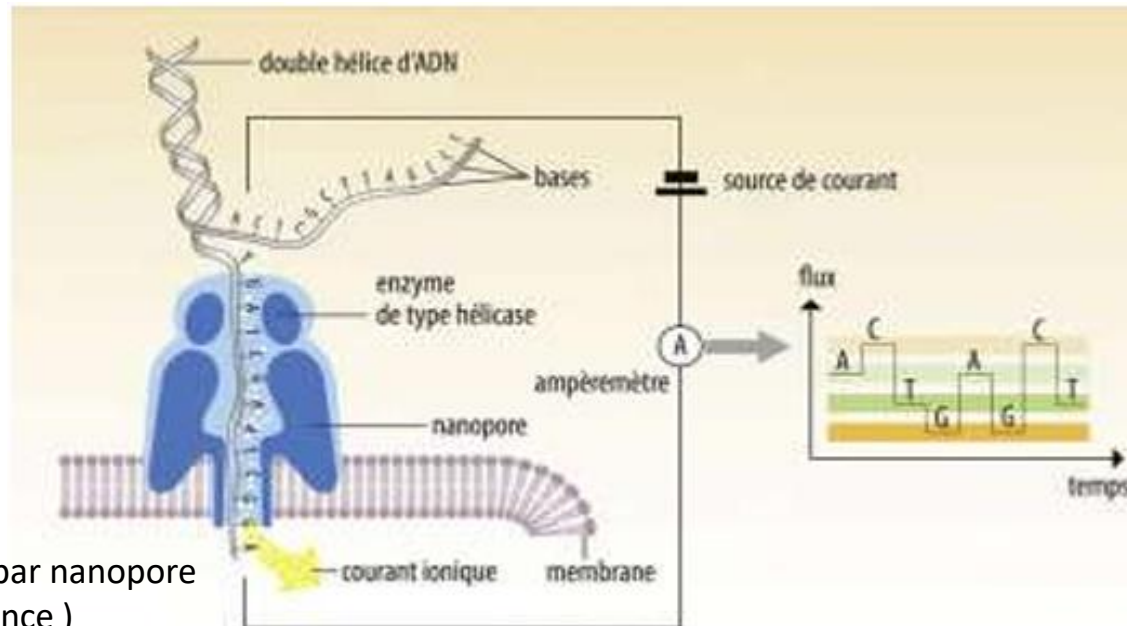


a La méthode de Sanger.

(Nathan, Ed.2019,p.84)

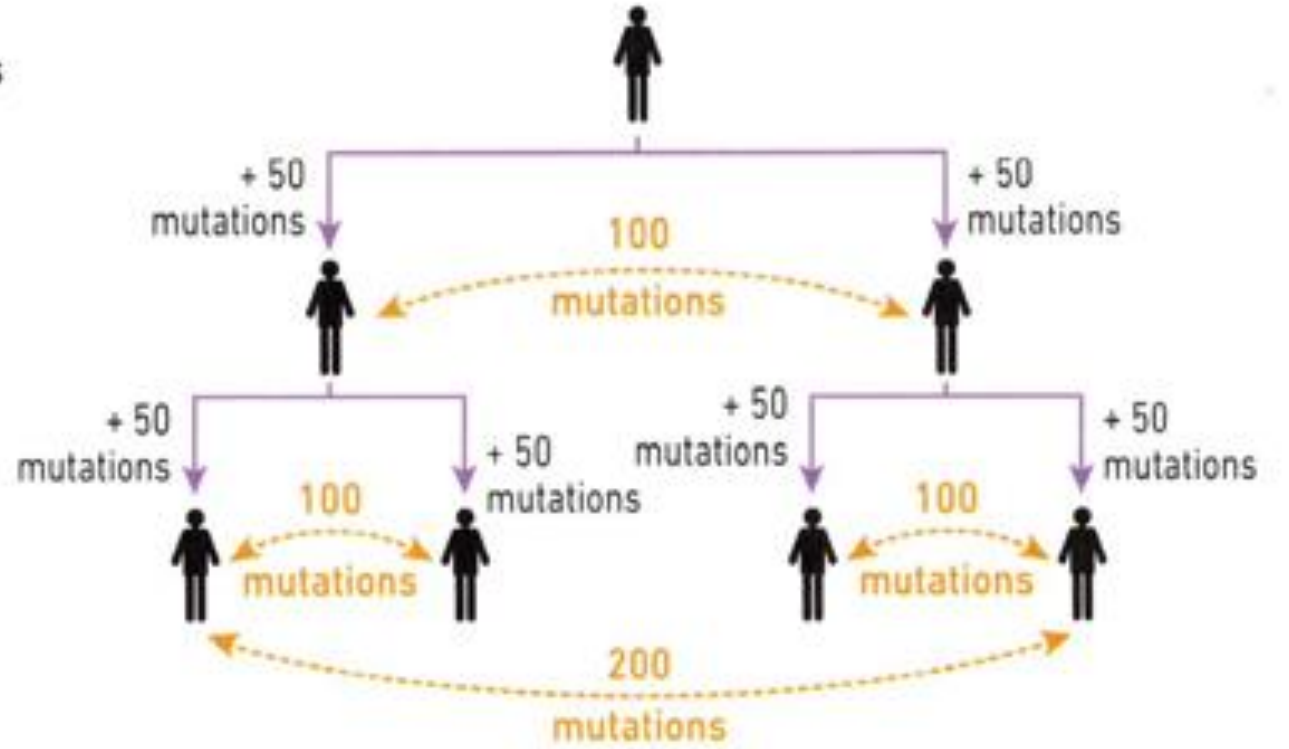
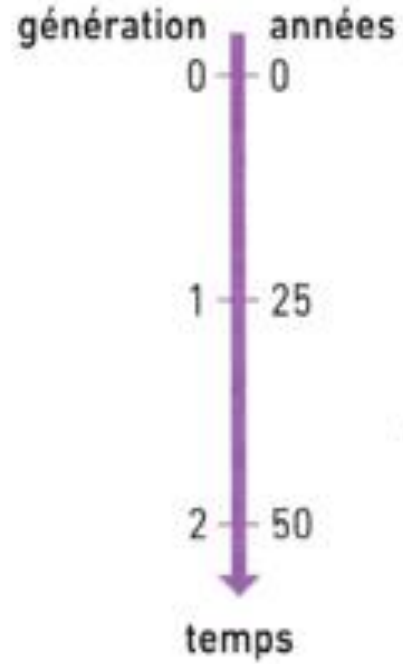
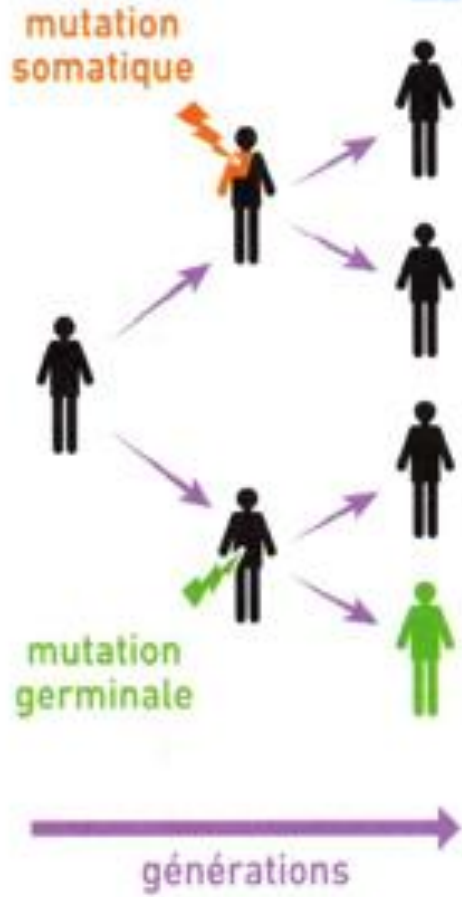


Principe du séquençage "SMRT" A: schéma du puits enfermant la molécule d'ADN liée à la polymerase; B: incorporation des bases , illumination et detection du signal ZMW (<https://science.sciencemaq.org/content/323/5910/133>)



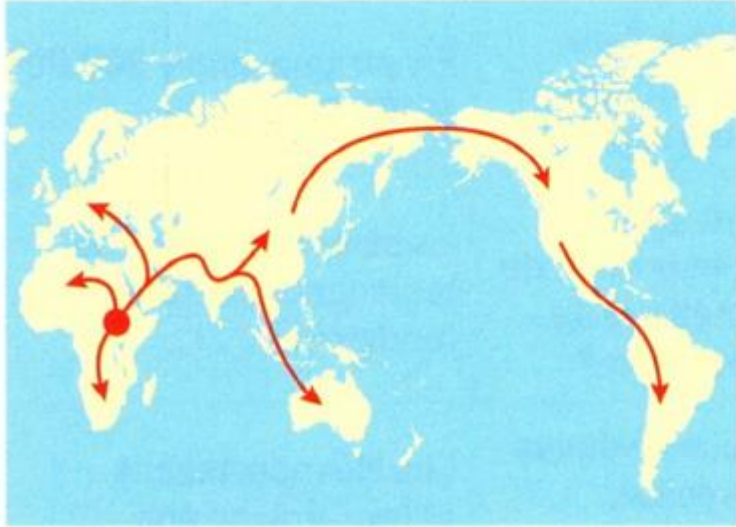
Séquençage de troisième génération par nanopore (Encyclopædia Universalis France)

La transmission des mutations et l'établissement de parentés

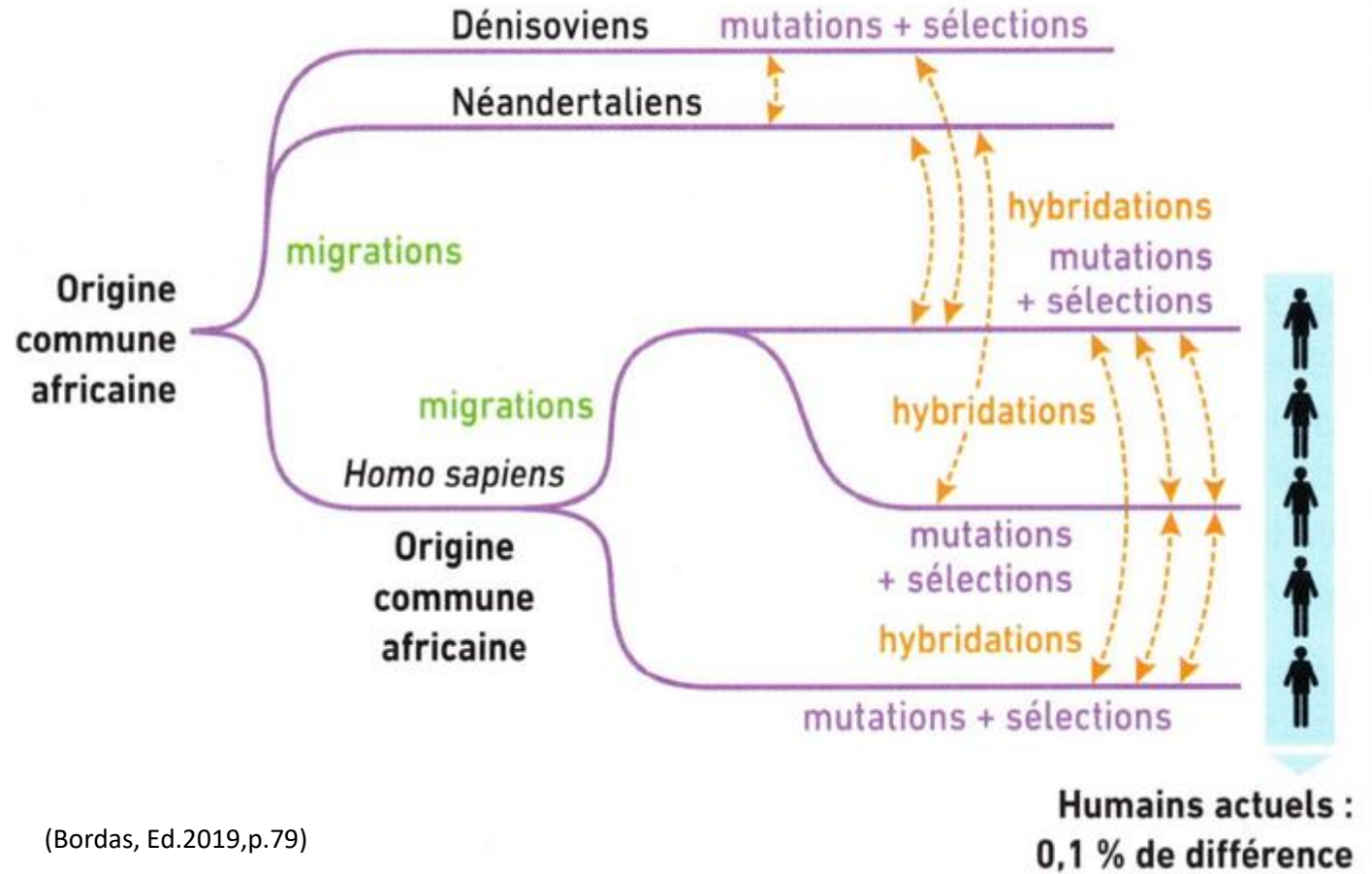


Le principe de l'horloge moléculaire

Le génome d'*Homo sapiens* révèle son origine et les étapes de son histoire

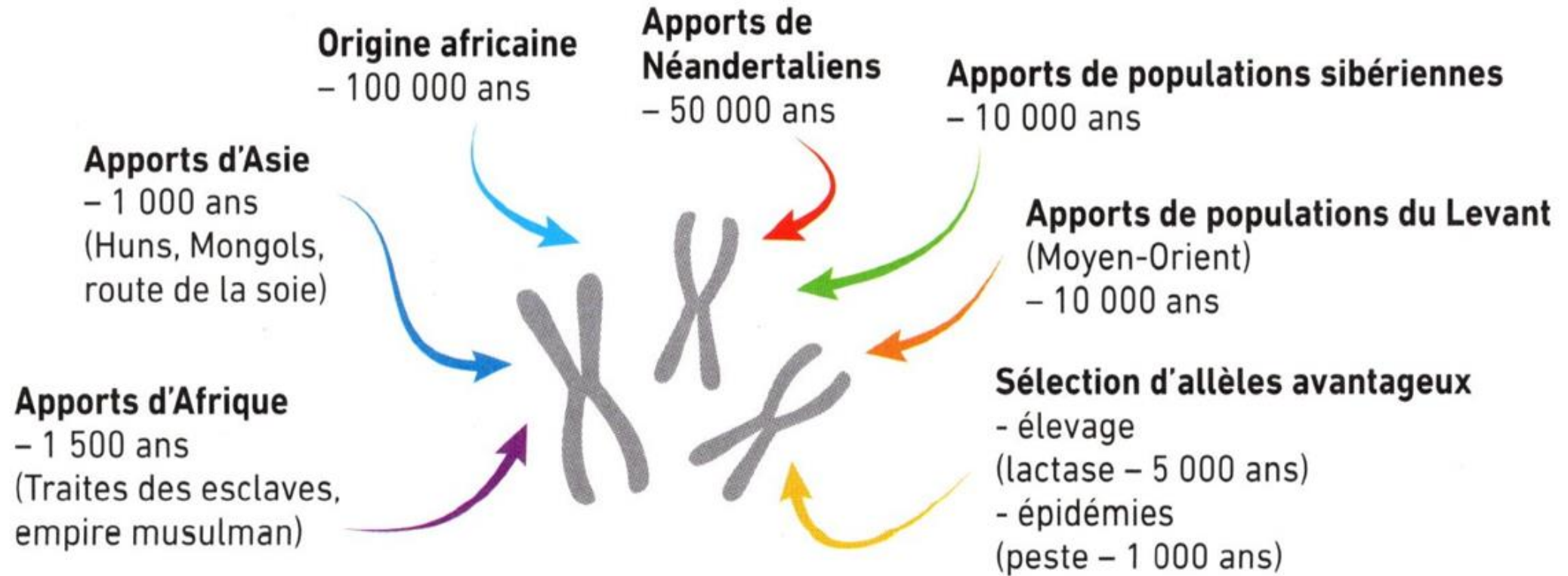


- **Origine d'*Homo sapiens* :**
il y a 200 000 ans, en Afrique
- **Migrations hors d'Afrique :**
à partir de - 100 000 ans environ



(Bordas, Ed.2019,p.79)

Le génome de chaque individu est une mosaïque qui garde les traces de son histoire



Exemple de quelques origines possibles des principales composantes d'un génome « Européen »