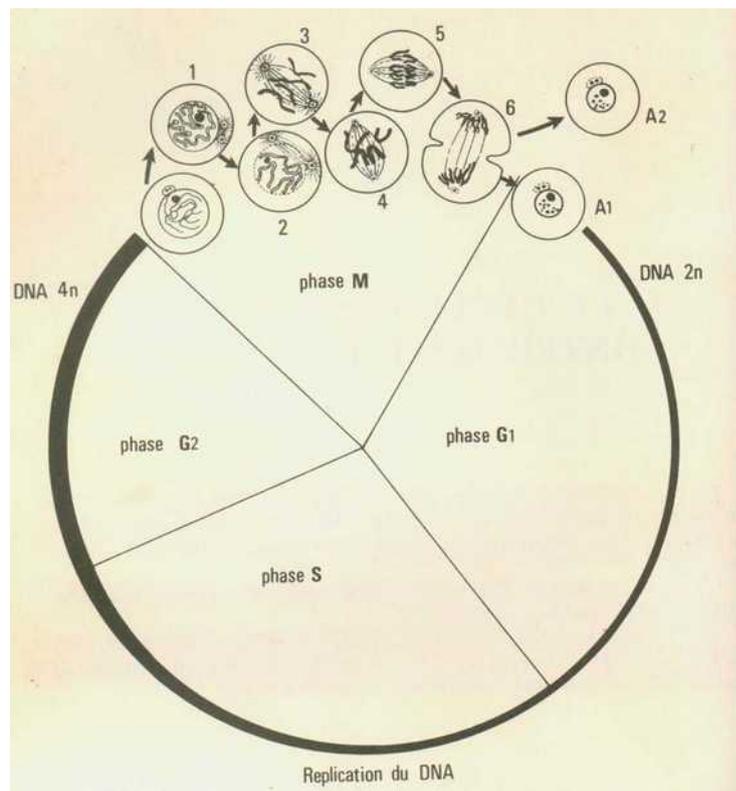


VI. Cycle cellulaire (Interphase et mitose)

Objectifs du cours : être capable de :

- décrire les différentes étapes du cycle cellulaire
- décrire la réplication de l'ADN dans les cellules procaryotes et eucaryotes
- décrire le mécanisme de la transcription de l'ADN

Les cellules passent par des alternances de mitoses et de phase intermitotique appelée interphase. Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation par division de la cellule mère et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles.



1. L'interphase.

La plus grande partie du cycle cellulaire est occupée par l'interphase, période comprise entre la fin d'une division et le début de la suivante ; le noyau est alors mécaniquement inactif. L'interphase se décompose en une phase G1, une phase S et une phase G2.

1.1. Phase G1

La phase G1 succède immédiatement à une mitose. Sa durée est variable en fonction de la nature de la cellule étudiée (en général 5 à 10h chez les mammifères). Il n'y a pas de synthèse d'ADN au cours de cette phase période de présynthèse ou de préduplication (2n chromosomes). La phase G1 est la phase de croissance cytoplasmique. Elle est caractérisée par la synthèse des protéines.

1.2. Phase S

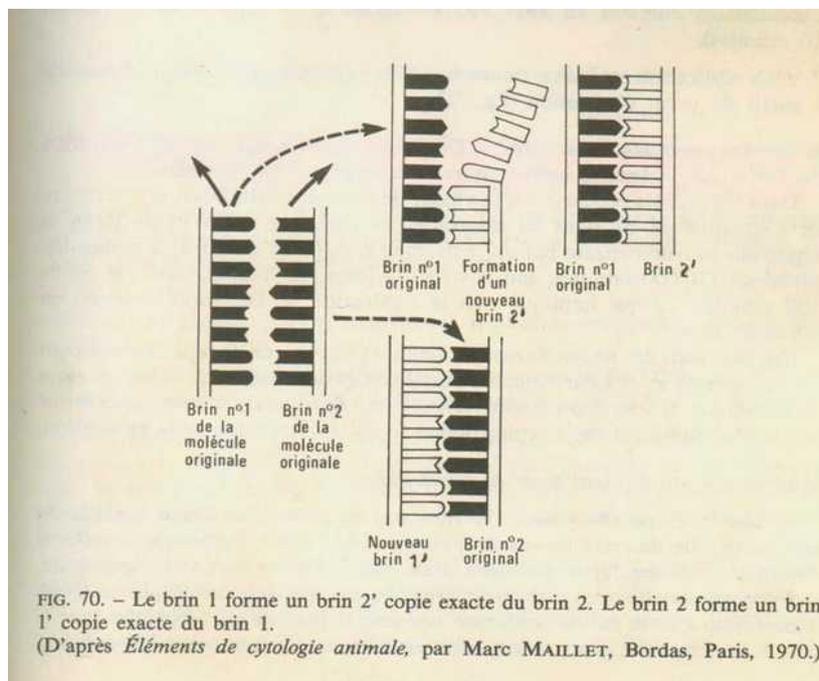
La durée de cette phase est relativement constante (6 à 8h). Elle est caractérisée par la réplication de la totalité de l'ADN nucléaire: la quantité d'ADN double au cours de cette phase ($4n$).

a. Réplication de l'ADN dans les cellules procaryotes

- La réplication est semi-conservatrice, chaque chromosome aurait un brin parental et un brin nouvellement synthétisé (voir schéma). Mise en évidence par expérience de MESELSON et STAHL.

- La réplication est également orientée (expérience de CAVIN). La synthèse débute en un point particulier ou point d'initiation qui contient un gène initiateur (action par protéine). La zone de séparation des brins parentaux porte le nom d'œil de réplication.

- La réplication est bidirectionnelle, elle s'effectue dans les deux directions à partir du point d'initiation : fourche de réplication des régions actives. La déspiralisation des spires d'ADN se fait grâce à l'hélicase (10000 spires/30mn). La progression de l'œil de réplication grâce à un organe ou topo-isomérase.



b. Réplication de l'ADN dans les cellules eucaryotes.

La réplication dans les cellules eucaryotes est également semi-conservatrice, orientée et bidirectionnelle. Sa durée est de l'ordre de 400 mn et elle se fait en plusieurs sites: unités de réplifications ou réplicons, qui se reproduisent pour leur propre compte. Leur longueur serait comprise, chez les eucaryotes, entre 40 et 400 μm .

Le réplicon possède un système régulation autonome formé par le gène initiateur de la réplication et le point d'initiation de la réplication.

c. Enzymes intervenant dans la réplication.

Les ADN polymérases interviennent dans la séparation des deux brins l'un de l'autre et dans la réplication. Production in vitro à partir d'amorce et de précurseurs (20 fois plus)

Application PCR.

L'ADN polymérase III assure la réplication en se déplaçant de l'extrémité 3' vers l'extrémité 5' c'est à dire dans un seul sens (polarité de réplication). La synthèse se fait séparément sur chaque brin: d'abord sur le brin 1 (brin avancé) dans le sens 3'-5' sur une courte distance, puis sur le brin 2 (brin retardé) dans le sens 3'-5' (puisque brins antiparallèles); le brin retardé formant une boucle.

La molécule d'ADN polymérase lit les molécules d'ADN dans le sens 3'-5' et synthétise une molécule 5'-3' antiparallèle au brin précédent.

Polymérisation réaction entre 3'OH d'un brin en croissance et un nucléoside 5'Triphosphate (dNTP 4)

Une primase (ARN polymérase) se fixe sur le brin parental et élabore un fragment d'ARN (100 bases paires) qui amorce la duplication de l'ADN en jouant le rôle de matrice.

Une ligase: la molécule initiale d'ARN l'amorce est détruite par une endonucléase. Les yeux de réplication confluent et la molécule d'ADN est repliquée dans sa totalité.

- ADN polymérase I (Arthur Kornberg 1957): séparation des deux brins
- Réplication.
- ADN polymérase II
- ADN polymérase III 2 sous-unités catalytiques responsables du déplacement. Réplication.
- ADN ligase : assure la liaison 5'P - 3'OH
- ARN polymérase (primase).

Synthèse du brin avancé et du brin retardé par l'ADN polymérase III (dimère) selon le modèle de Kornberg 1988. La réplication est discontinue pour le brin retardé.

Mécanisme proposé pour la synthèse simultanée des deux brins d'ADN.

En résumé, lors de la réplication interviennent:

- hélicase et une protéine Single Standard DNA Binding SSB: protéine déstabilisant l'hélicase: qui permettent le déroulement de la double hélice.
- gyrase qui introduit des supertours négatifs.
- primase qui permet la synthèse d'amorces d'ARN.
- DNA polymérase III qui poursuit la synthèse de l'ADN sur l'amorce.
- DNA polymérase I qui hydrolyse les amorces et les remplace par de l'ADN.
- ligase qui relie les fragments d'ADN (fragments 5' d'Okasaki): liaison 5'P - 3'OH.
- désoxynucléosides Triphosphates (4) + Mg²⁺.

1.3. Phase G2

Plus courte d'une durée de 4 à 5 heures, elle débute dès que la réplication du DNA est achevée. Les synthèses de RNA persistent tandis que la quantité de DNA est double de celle observée au cours de la phase G1.

1.4. Transcription de l'ADN

Elle s'effectue pendant toutes les phases de l'interphase. La transcription du DNA correspond à la synthèse d'une molécule d'ARN à partir d'un seul brin d'ADN.

1.4.1 Structure des acides ribonucléiques

L'ARN est un polynucléotide toujours monocaténaire. Les constituants de base des nucléotides sont les mêmes que ceux du DNA, à l'exception :

- du pentose qui est le ribose,
 - d'une base pyrimidique, l'uracile, qui remplace la thymine toujours absente de l'ARN.
- Structure primaire de l'ARN : la disposition des nucléotides de la chaîne de l'ARN est la même que celle de l'ADN.
- Unité de transcription :
Le brin d'ADN transcrit déterminé par le sens de déplacement de l'ARN polymérase. La synthèse ayant lieu dans le sens 5'- 3'
- Si l'ARN polymérase se déplace de gauche à droite synthétisant 5' - 3' c'est le brin 3'-5' qui sera copié c.à.d le brin supérieur.
- Par contre si elle se déplace de droite à gauche synthétisant 3'-5', c'est le brin inférieur qui sera copié.

N.B. L'ARNm est complémentaire et antiparallèle au brin transcrit (anti sens) d'où il est égal au 2^{ème} brin ADN "sens" non transcrit en polarité et en séquence de base exception faite pour l'uracile. La transcription est suivie de la traduction des ARNm.

1.4.2 Mécanisme de la transcription

C'est une enzyme, l'ARN polymérase-dépendante, qui assure la formation d'une molécule d'ARN par association des nucléotides dans un ordre prédéterminé par la molécule d'ADN

La transcription s'effectue en quatre étapes

- La reconnaissance du promoteur,
- le début de synthèse à partir du site d'initiation,
- la copie du gène,
- la fin de synthèse.

a) Reconnaissance du promoteur.

Le promoteur est une séquence spéciale de nucléotides localisés sur l'ADN au début du gène. L'ARN polymérase se fixe sur le promoteur grâce au polypeptide sigma.

b) Début de synthèse: Le site d'initiation ou site de départ de la transcription.

Le début de la synthèse de l'ARN se fait à partir d'un site physiquement différent du promoteur : C'est le site d'initiation. Dès que l'ARN polymérase est fixé sur ce site, le polypeptide se détache ; La polymérase assure seule la lecture et la synthèse.

* Il existe :

ARN polymérase I ou A : nucléaire pour biosynthèse des ARNr 28S et 18S
ARN polymérase II ou B : chromatiniennne - ARNm + Sn AR
ARN polymérase III ou C : chromatiniennne, pour petits RNA, 5S et 4S (ARNt)
Sn AR

c) Copie du gène:

L'ARN polymérase "lit" un brin de la molécule d'ARN en se déplaçant dans le sens 3'-5'. La molécule d'ARN est polarisée (comme l'ADN). La transcription de l'ADN en ARN nécessite la sélection des ribonucléotides complémentaires appropriés (les précurseurs ATP, GTP, CTP, UTP) et la formation de liaisons phosphodiester entre les ribonucléotides voisins au fur et à mesure que la molécule d'ARN se déplace le long du brin.

d) Fin de la synthèse.

La synthèse s'achève en certains sites de la molécule d'ARN ("signaux" de fin de lecture)

L'arrêt de la synthèse ne peut se faire qu'en présence d'une protéine d'un PM de 50.000d, le facteur ρ (rho). A la fin de la lecture, la molécule d'ARN se détache de la molécule d'ADN ainsi que l'ARN polymérase-DNA dépendante.

Virus à ARN

ARN (+)->chaîne complémentaire appelée (-) synthétisée par RNA replicase en utilisant (+) comme matrice. La chaîne (-) en son tour sert de matrice pour la synthèse d'un grand nombre de chaînes (+) qui servant de messagers vont permettre la formation des protéines virales.

En 1970 TEMIN et BALTIMORE ont mis en évidence la transcriptase reverse DNA polymérase.

ARN dépendante qui permet la synthèse d'ADNc sur une matrice d'ARN.

- Hybride DNA-RNA.
- Destruction du RNA matrice
- ADN polymerase synthétise la 2em chaîne ADN
- Double chaîne ADN-ADN.

1.4.3 Les produits de la transcription de l'ADN

La transcription de l'ADN aboutit à la formation de l'ARNm qui est une "copie" du gène, mais aussi de l'ARNr et de l'ARNt et de Sn ARN qui sont indispensables à la traduction de l'ARNm, mais qui ne peuvent eux-mêmes être traduits.

L'ARNm récemment synthétisé apparaît dans le noyau sous la forme de fibrilles périchromatiques.

1.4.4 Régulation du contrôle de la transcription

Les cellules règlent leur synthèse en fonction de leurs besoins et des variations du milieu ambiant. Cette adaptation nécessite un contrôle de l'activité des gènes, qui s'effectue soit par modification de l'aptitude de l'ARN polymerase à reconnaître le promoteur, soit par action sur un site voisin du promoteur dénommé.