

Génétique

Introduction

- Le vivant est une machine (structure-fonction) programmée.
- Ce programme se maintient et l'information se transmet.
- Rappel : l'être vivant = système ouvert :

Chapitre 1 : La structure et la réplication de l'ADN

I. L'ADN : le matériel génétique

1. Introduction : exemple illustrant l'importance de l'ADN

- Donc, le vivant meurt, et pour assurer la survie de son espèce, il est obligé de se reproduire. Exemple : je prends une culture de bactéries.

- 1) On prend une boîte de pétri dans laquelle on a cultivé un certain nombre de bactéries : des E.Coli, par exemple.
- 2) Je transferts une partie de ces cellules dans différents milieux munis de substances différentes. Je prends par exemple de l'*érythrine* et j'observe qu'il n'y a pas de division.
- 3) Je peux recommencer avec d'autres individus de la même espèce et je peux observer qu'il y a cette fois-ci division. Les bactéries résistent et se multiplient : cela est probablement dû à une mutation.

→ Il existe des accidents de transmission = mutations.

2. La découverte de la transformation : Avery

- Parlons de l'expérience d'O. Avery. Notre homme travaillait sur des pneumocoques. Le phénotype = la virulence. Il y a 2 phénotypes :

- **Virulent** = smooth S (S_I, S_{II}, S_{III} = différentes souches)
- **Non virulent** = rough R

→ La structure de la paroi est différente.

- Il faut distinguer deux grands types de bactéries : les Gram+ et les Gram- :

- Son expérience consiste à mettre en évidence qu'il peut y avoir passage d'une information que possède une bactérie de phénotype S par exemple vers une bactérie de phénotype R. Il y a 4 étapes :

- 1) Il inocule des bactéries de phénotype S (S_{III}) à une souris : elle meurt (ce phénotype est protégée contre le système immunitaire de la souris par une capsule).
- 2) Il inocule des bactéries de phénotype R (R_{II}) à une souris : elle vit (ce phénotype ne développe pas de capsule et est donc inoffensive).
- 3) Il inocule des bactéries de phénotype S préalablement chauffées et tuées (lysées) par l'action de la chaleur : la souris vit.
- 4) Il inocule un mélange de bactéries de phénotype S lysées et de bactéries vivantes de phénotype R. La souris meurt. Dans un 2^{ème} temps, il prélève du sang de la souris et il peut observer des bactéries de phénotype S. Il y a donc eu un transfert d'information de S à R (un gène est passé de S à R = transfert de caractère).

- Notons que c'est Griffith (un officier anglais) qui fit l'expérience en 1^{er} et qui mit en évidence ce phénomène de transformation.

3. L'expérience de Hershey et Chase

- L'expérience de Hershey et Chase (1952) : démonstration que ce sont les acides nucléiques qui transmettent l'information et non les protéines. Cette expérience se fait avec l'aide de phages, d'E. Coli et de phosphore **32** et soufre **35** qui sont des marqueurs → voir le schéma du Campbell.

Notes :

- Les éléments radioactifs sont mis dans des substances assimilables (ex : sulfate d'ammonium) → on introduit dans la chaîne de fabrication un marquage métabolique.
- Toujours se mettre à la place de l'expérimentateur.
- Ne pas oublier de parler du mixer de cuisine.

- Voyons les différentes étapes :

- 1) On veut savoir ce que le phage injecte à E.Coli. Pour « voir » ce qu'ils injectent, il va falloir utiliser des **isotopes radioactifs**. On a les choix : soit de l'ADN, soit des protéines.
 → Dans un milieu on cultive des phages en présence de ^{35}S avec des E.Coli. Ce ^{35}S va s'incorporer dans leurs protéines.
 → Les phages sont cultivés en présence de phosphore radioactif (^{32}P) qui s'incorpore dans l'ADN.
- 2) Après un certain temps, on mélange (séparation des phages et des bactéries).
- 3) Une petite centrifugation → les bactéries forment un précipité, les phages forment le surnageant.
- 4) On regarde si le culot est radioactif ou non. S'il l'est : c'est bien l'ADN qui est passé du phage à la bactérie.

- Note : le ^{35}S et le ^{32}P sont mis dans le milieu de culture sous forme moléculaire. On aura des molécules nutritives assimilables par les bactéries pour fabriquer des protéines et de l'ADN (utilisé par le phage par détournement).

II. La structure de l'ADN

- En 1953, Watson et Crick mettent en évidence la forme hélicoïdale de l'ADN. Wilkins et Rosalind Franklin obtinrent une photo de l'ADN par diffraction de rayons X ce qui mit la puce à l'oreille à Watson et à Crick.
- W et C étudient les ponts H et essayent différentes associations. Ce qui leur plaît : une grande base + une petite base : les ponts H (interactions cognitives) une disposition régulière avec une distance qui est la même partout.
- Notons que Pauling publie une structure de l'ADN qui est fautive.
- Nous connaissons la règle de Chargaff : nbr de T = nbr de A et nbr de C = nbr de G (interaction entre les partenaires) = **Reconnaissance cognitive spécifique**.
- Les agencements des bases se font bien en tordant la molécule.
- L'ADN est constitué de 4 molécules élémentaires : les nucléotides.
- **Nucléotide** = un phosphate + un sucre + une base. Les noms complets des nucléotides sont :
 - Désoxyadénosine 5'-monophosphate (dAMP)
 - Désoxyguanosine 5'-monophosphate (dGMP)
 - Désoxycytidine 5'-monophosphate (dCMP)
 - Désoxythymidine 5'-monophosphate (dTMP)

Voilà le schéma de base d'un nucléotide :

- Nucléoside = base + désoxyribose.

- Il existe 2 types de bases :

- Puriques

- Pyrimidiques

1. La double hélice

- Chaque hélice de l'ADN est maintenue par des *liaisons phosphodiester*. Les 2 hélices sont maintenues ensemble par des *liaisons hydrogènes* résultant d'une différence d'électronégativité des molécules en question. Ces multiples ponts maintiennent l'édifice solidement. Rappel :

- Voici les différentes bases azotées :

- Les 2 hélices ont des sens opposés : elles sont anti-//. On a une hélice 5'→3' et une hélice 3'→5'. On parle d'un brin Watson et d'un brin Crick.
- Voilà comment nous devons savoir dessiner la molécule d'ADN :

→ L'hélice de W et C tourne vers la droite !

- **Notes diverses :**

- Le grand nombre de ponts hydrogènes maintenant le brin Crick et le brin Watson ensemble permet à cet édifice moléculaire d'être stable.
- Il y a aussi intervention de **forces d'interaction coplanaires**.
- En chauffant, on peut briser les ponts.

2. Une vue tridimensionnelle de la double hélice

- En 3D, les bases constituent des structures relativement plates et s'empilent partiellement les unes sur les autres pour former la structure en torsade de la double hélice → cet **empilement accroît la stabilité de la molécule**.
- L'empilement des bases au sein de la double hélice aboutit à la formation de 2 sillons dans les squelettes sucre-phosphate : ce sont les **grands sillons** et les **petits sillons** (voir dessin plus haut).

- Notes : Dans les labos de biologie, si on veut neutraliser les charges - de l'ADN, on utilise du NaCl → plus j'ajoute du NaCl et plus je stabilise la molécule et plus la T° de fusion est élevée.

3. Conséquences de la structure de l'ADN

- La structure de cette molécule a toute son importance : elle suggère une **duplication** ou **réplication** car chaque base peut spécifier sa base complémentaire.
- Il existe un code génétique contenant l'information dite génétique : existence d'un **code génétique**.

III. La réplication de l'ADN

1. La réplication semi-conservative

- **Note Prior** : abus de langage → l'ADN ne se réplique pas, il contient l'information pour que la machinerie de la cellule le réplique.

- Voyons de quoi nous allons parler :

- Nous savons actuellement que la **réplication est semi-conservative** : la double hélice est une sorte de fermeture éclair pouvant s'ouvrir par l'action de différentes molécules. Chaque simple brin pourra ainsi servir de matrice à la formation de deux nouveaux simple-brins.

- Cependant, on n'a pas toujours pensé à ce modèle. 3 modèles ont ainsi été exposés :

- 1) Réplication semi-conservative
- 2) Conservative (une double hélice ancienne et une nouvelle)
- 3) Dispersive (des morceaux d'ancien et de nouvel ADN dans les 2 double-brins = mélange)

- Schéma des 3 modèles :

2. L'expérience de Meselson et Stahl

- En 1958, il fallut répondre à la question : **comment est distribué l'ADN ?**

- Pour se faire on va utiliser le marquage à l'aide d'isotopes (produit radioactif). En effet, les « buildings blocs » doivent avoir les mêmes propriétés chimiques et les isotopes c'est l'idéal car même nombre d'électron, nombre différent de protons.

- Voyons les différentes étapes de l'expérience :

- 1) Meselson et Stahl cultivèrent des E.Coli sur un milieu contenant l'isotope lourd de l'azote (^{15}N) au lieu de sa forme légère normale (^{14}N). Bien sûr, l'azote est incorporé dans des molécules assimilables par E. Coli tel que le *sulfate d'ammonium*.
- 2) Les cellules se divisent plusieurs fois : tout l'ADN de ces cellules est marqué à l'azote lourd (^{15}N). Schéma :

- 3) Les 2 scientifiques ont pris les cellules et cette fois-ci ils les ont mis en présence d'azote léger (^{14}N).
- 4) Comment voir maintenant où est l'azote lourd et l'azote léger : une bonne centrifugation. Schéma :

- J'ai 2 forces en présence :

- Une force d'entraînement (centrifuge)
- Force de freinage

→ Les 2 forces dépendent de la masse.

- Observation : ils observent de l'ADN dans toute la région du tube : l'ADN est en fait cassé : on a des morceaux d'ADN lourds et légers selon leur taille → **les masses différentes dues aux isotopes sont noyées**. Donc, ils doivent se faire quittes du problème de la taille. Ils vont alors jouer avec les **densités**. Schéma :

- Meselson et Stahl observèrent qu'une génération après le transfert des molécules lourdes sur le milieu au ^{14}N → formation d'une seule bande de densité intermédiaire.
- Après 2 générations dans le milieu au ^{14}N : formation de 2 bandes : une située à la position intermédiaire, l'autre à la position de la bande légère (on a un ADN hybride et un ADN léger) → élimination du modèle dispersif et prédictions exactes sur le modèle semi-conservateur. **Schéma et légende** :

- Note, lors de la formation des bandes : **l'ADN s'arrête à l'endroit du gradient où la force centrifuge compense exactement sa densité de flottaison.**

3. Niveaux de structure de l'ADN

- On plusieurs niveaux de structure de l'ADN :

- ⇒ Primaire = séquence
- ⇒ Secondaire = double hélice
- ⇒ D'ordre plus élevé = super hélice :

- Si je serre d'avantage la double hélice, les bases se rapprochent et le volume augmente. Il y a une augmentation de la tension. **Schéma** :

- Toute la chimie est perturbée car on s'écarte de l'équilibre. L'hélice n'aime pas ça et le tour qu'elle fait, c'est pour restaurer la direction de départ et la distance de 3,4 Å entre les bases.

- Si on tourne 2× → 2 super-tours, 3× → 3 super tours...

- Problème : si je desserre : j'écarte les bases. **Schéma** :

- **IMPORTANT** de tout cela : lors de la réplication, il y a formation d'un œil de réplication, les torsades se compriment : création de supers tours + qui s'emmêlent !!! Le super tour = réaction pour rétablir l'équilibre. **Schémas** :

- Si $L = 1$, c'est comme si on passait $1 \times$ dedans avec une aiguille.

- On a une jolie équation : $L = W + T$

→ W = super tours

→ T = tours ou twists

- Le nombre de L ne change pas.

- **Exemple** :

$$\diamond 20 = 0 + 20$$

$$\diamond 20 = 1 + 19$$

$$\diamond 20 = 2 + 18$$

- Si je retire un tour, il y a apparition d'un super tour de compensation.

- Si je veux vraiment changer L , il faut couper et ressouder ensuite = rôle des enzymes topoisomérases dont il y a 2 catégories :

❖ Type I : on coupe et on colle un brin

❖ Type II : on coupe et on colle 2 brins

- Le type II change le L du côté + et le type I du côté -.

- Lors de la réplication, il y aura création de supers tours +. Il y aura une tension, mais les topoisomérases sont là : créations de supers tours -.

- En fait, dans la nature on ne trouve que des topoisomérases de type II.

4. **Structure et fonction des chromosomes eucaryotiques**

- Le chromosome des eucaryotes = chromosome avec une structure complexe = ADN + protéines.

- Voici comment on dessine les chromosomes :

- **Mitose** : on part de 2 cellules haploïde : formation d'une cellule diploïde qui pourrait alors se diviser.

- **Méiose** : on part d'une cellule diploïde : formation de 4 cellules haploïde génétiquement différentes. Note, on doit écrire un crossing-over comme ceci :

- Au départ, on pensait que les protéines formaient un manchon autour de l'ADN. Par la suite, on a vu que c'était le contraire :

- Toutes les 200 pbb on a un enroulement de l'ADN autour de protéine ultra conservée : les histones.
- Il y a différents types d'histones : H₁, H_{2A}, H_{2B}, H₂, H₄.
- Les **histones** sont des **protéines basiques positives**.
- Nucléosome = octaèdre de protéine autour duquel on a un enroulement de l'ADN.
- Les nucléosomes ne sont pas utiles qu'à gagner de la place, mais ils peuvent aussi influencer l'expression des gènes.

- **Rem :**

- En réalité, on a 92 molécules d'ADN dans nos cellules (2×46).
- H1 intervient peut-être dans la condensation de l'ADN comme « petit clip ».
- L'ADN peut bouger sur le nucléosome.

5. Cairns : la fourche de réplication

- Notre ami veut voir le processus de réplication.
- Il utilise l'électromicroscopie : on veut voir les différences entre l'ADN néoformé et l'ADN parental.
- Pour cela, il utilise des isotopes radioactifs (instables).
- Les rayonnements bêta émis par les isotopes viennent frapper les plaques photographiques, ce qui entraîne une précipitation des cristaux d'argent.
- Il veut retrouver cette radioactivité dans l'ADN néoformé.
- Il utilise des E.Coli pour analyser l'ADN :

- Voyons les différentes étapes :

1) On cultive des bactéries dans un milieu de culture et on ajoute des nucléophiles marqués.

→ **Autoradiography**

→ On prend du *tritium* (isotope de H = hydrogène lourd) car celui-ci n'envoie pas des rayonnements trop énergétiques.

La question est : « où le mettre ? » → on prend de la thymine tritiée (en effet, si on prenait une autre base, l'ARN serait aussi contaminé et ça ne nous intéresse pas).

2) On pose la boîte dans un cristalliseur avec un détergent qui diffuse et dissout les lipides de la membrane plasmique. La membrane est fracturée : l'ADN sort de la boîte en douceur.

3) On fait des trous dans la « boîte ».

4) Au fond de la boîte, il reste un double brin d'ADN. On l'étale et on l'expose pendant plusieurs heures : précipitation des grains d'argent à proximité à cause des rayonnements émis par le tritium. Tout ceci se fait en chambre noire. L'image donne un **chromosome circulaire**.

- Voici des schémas montrant ce qui se passe au niveau de l'ADN au cours de cette splendide expérience :

- Ainsi, ces chercheurs faisaient l'hypothèse du **modèle semi-conservatif** et ils ont fait des expériences montrant que leur modèle allait dans le bon sens.
- Cependant, tout ce qui a été dit n'est pas tout à fait vrai et pas tout à fait précis. En effet, le bon sens nous indique que séparer Watson et Crick implique l'apparition de **super enroulement +** : tirer les deux « lèvres » devient alors très dur ! Ce problème peut être résolu :

- 1) Des enzymes, les topoisomérases vont couper l'ADN un très grand nombre de fois pour éviter ces super enroulements +.
- 2) Autre problème : la scissiparité dure 20 minutes : on a environ 10 000 nœuds par minutes : on imagine la rapidité des réactions « contres nœuds ».
- 3) Autre problème : les scientifiques comme Cairns ont été confronté à un problème majeur : comment être sûr du sens réel d'une réplication puisque l'on n'a pas de film !? On introduit alors un traceur comme pour les avions au défilé : à $t = 0$ je mets un peu de marqueur, à $t = 2$ je mets une dose plus forte... Si le modèle est bidirectionnel, voilà ce que je dois observer :

- Un autre problème : y-a-t'il plusieurs séquences ORI (origine de réplication) et si oui est-ce toujours la même ? Oui, il n'y en a qu'une et c'est toujours la même.
- Le modèle de Cairns est appelé **modèle en piège à loups**.

Notes :

- Ce qu'on appelle la mitose (division de cellules eucaryotes) est relativement bien contrôlé. Il y a différents points de contrôle. La réplication se fait de manière très ordonnée.
- Lors de la scissiparité, on peut avoir plusieurs réplication qui se suivent comme l'illustre ce schéma :

→ Quand n'on a pas encore de division proprement dite, on peut déjà observer une deuxième réplication : des gènes seront présents en 1 exemplaire, d'autres en 2, d'autres en 4.

6. L'expérience de Taylor : l'autoradiographie

- Voici les différentes étapes :

- 1) Il met de la **thymine tritiée** dans un milieu de culture dans lequel baignent des cellules végétales. Ce milieu de culture permet une bonne division des cellules végétales. Il laisse ces cellules subir la mitose afin que la thymine tritiée soit incorporée dans l'ADN.

- 2) Il lava par la suite les extrémités des morceaux de racines et les transferts dans une solution sans thymine tritiée (thymine normale). Il met de la **colchine** qui est ajoutée lors de la 1^{ère} division. Notons que cette substance est un puissant antimitotique. Conséquence : **toutes les cellules seront bloquées en métaphase :**

La localisation du ³H peut ainsi être déterminée par autoradiographie : on a une belle photo.

IV. Le mécanisme de la réplication : l'enzymologie de réplication

- La réplication est un processus très complexe qui fait intervenir de nombreux composants différents. Jetons un coup d'œil sur la réplication de l'ADN d'E.Coli qui est la mieux connue.

1. Les ADN polymérases

- à la fin des années 50, Arthur Kornberg identifie et purifie la 1^{ère} ADN polymérase, l'enzyme qui catalyse la réaction de réplication :

- Il existe chez E.Coli 3 types d'ADN polymérase :

1) ADN polymérase I qui possède 2 activités essentielles :

- Propriété de polymérisation : catalyse la croissance de la chaîne dans le sens 5' → 3'
- Activité exonucléasique 3' → 5' qui enlève les bases mal appariées
- Activité exonucléasique 5' → 3' qui dégrade l'ADN double brin

2) ADN polymérase II : on ne connaît pas bien sa fonction.

3) ADN polymérase III : peut achever la réplication

2. Les origines de réplication chez les procaryotes

- La réplication débute chez E.Coli à partir d'une seule **origine** fixe et procède ensuite de manière bidirectionnelle : les fourches migrant vers les 2 extrémités du fragment en cours de réplication pour se terminer au niveau d'un site appelé **site de terminaison**.

- L'origine unique de réplication est appelée : *oriC*.

3. Les origines de réplication chez les eucaryotes

- Chez les eucaryotes, c'est plus complexes : la réplication a lieu à partir d'**origines multiples**.

- De nombreuses expériences tentent à prouver que la réplication chez les eucaryotes semble commencer simultanément à plusieurs endroits de ces chromosomes.

- Chez l'homme on estime à plus de 10 000 le nombre de fourches de réplication simultanées.

4. L'amorçage de la synthèse de l'ADN

- Avant de commencer la réplication de l'ADN, une étape préliminaire s'impose : **l'initiation**.
- C'est l'**ADN primase** qui synthétise une amorce d'ARN complémentaire d'une région spécifique du chromosome. L'ADN polymérase peut poursuivre la réplication.

5. Le brin précoce et le brin tardif

- L'ADN polymérase synthétise du nouvel ADN dans le sens 5'→3' et se déplace dans le sens 3'→5' le long du brin matrice.
- Un des brins est synthétisé de manière continue (**brin précoce**) tandis que l'autre brin est synthétisé de manière discontinue (**brin tardif**).
- Les fragments d'Okazaki seront « soudés » par l'**ADN ligase** qui catalyse la formation d'une **liaison phosphodiester** entre le **groupement 5'-phosphate** d'un nucléotide fixé par une liaison hydrogène et un **groupement OH** adjacent.
- Mais ces notions seront complétées plus tard.

6. Les hélicases et les topoisomérases

- Les hélicases sont des enzymes qui rompent les liaisons qui maintiennent ensemble les 2 brins W et C de la double hélice.
- C'est l'hydrolyse de l'ATP qui fournit l'énergie de la réaction.
- Mais si le brin W est séparé du brin C, les liaisons H pourrait se reformer et refermer la molécule → des **protéines SSB** (single-stranded binding) vont venir se fixer à l'ADN simple brin et le maintenir ouvert.
- **Rappel** : si on prend de l'ADN et que l'on ouvre celui-ci en agrandissant peu à peu l'œil : formation progressive de **supertour +**. Ces **supertours** peuvent être éliminés grâce aux **topoisomérases** (un exemple est l'**ADN girase** : c'est elle qui va supprimer les supertours +).
- Les isomérases peuvent induire ou défaire des nœuds ou des liaisons dans une chaîne d'ADN.

7. La correction par les exonucléases

- L'ADN polymérase I et III possèdent aussi une activité exonucléique 3'→5' qui joue le rôle de « correcteur d'épreuve » en recherchant les bases mal appariées insérées par erreur au cours de la polymérisation et en les excisant.

8. Les problèmes de la réplication (concerne surtout l'enzymologie)

1) *Progression physique et chimique incompatible ?*

- Schéma :

- La polymérase est une enzyme qui polymérise l'ADN en catalysant des liens covalent, nous le savions déjà. Voilà encore un schéma :

- Un nucléotide à la fois est ajouté et toutes les polymérases sont capables de faire le lien ester entre 2 nucléotides, mais toujours du côté 3' OH en synthétisant de 5' en 3'.

Donc : l'ADN polymérase lit dans le sens 3'→5' et synthétise dans le sens 5'→3' (on dit aussi qu'elle allonge une extrémité OH).

- Rappelons-nous de l'image obtenue par Cairns :

→ On pourrait ce dire en voyant cette image que l'arrangement se fait dans le même sens. C'est faux.

- Il nous faut présenter le modèle d'Okazaki :

→ Dans un 1^{er} temps, voilà ce qui est proposé :

→ On le voit, notre polymérase saute comme une puce. Ce modèle ne semble pas correct. Voilà le modèle du replisome :

→ Formation d'une boucle et « changement de raille » pour l'ADN polymérase.

2) L'amorçage et le désamorçage est nécessaire pour l'ADN polymérase.

- Nous l'avons déjà dit, l'ADN polymérase ne peut pas amorcer la réplication. Mais une autre enzyme est là : l'ADN primase.

- Ce morceau d'ARN sera par la suite enlevé par la polymérase I car rappelons que cette enzymes a 3 activités catalytiques différentes :

- Propriété de polymérisation : catalyse la croissance de la chaîne dans le sens 5'→3'
- Activité exonucléasique 3'→5' qui enlève les bases mal appariées
- Activité exonucléasiques 5'→3' qui dégrade l'ADN double brin et peut éliminer les amorces d'ARN et combler les brèches avec de l'ADN

- Cependant, il manquera toujours un **lien phosphodiester** : c'est aux **ligases** de la créer.

- Rappelons que lorsque l'ADN polymérase allonge de 5'→3', elle va mettre n'importe quel nucléotide : bon, ok, pas bon, zut, pas bon, zut, bon, ok...

- N'oublions pas que si des enzymes telles que l'ADN polymérase ont des fonctions si vastes, c'est essentiellement dû au fait qu'elles possèdent plusieurs **domaines catalytiques**.

3) Enroulement

- On le sait, l'**hélicase** désapparie les bases. Pour évite que le brin W ne se relie avec des ponts H au brin W : protéines SSB qui vont maintenir la double hélice ouverte :

- Les topoisomérases (dont les **gyrases** = **topoisomérases II**) vont agir sur les supertours + créés. Les **gyrases** vont désenrouler l'ADN à une vitesse folle ! Et ceci en coupant, collant...

4) Fidélité : 1 erreur sur un milliard

- L'ADN polymérase a 4 substrats (A,T,C,G) et elle les reconnaît tous. Mais parfois, il y a une erreur et l'ADN n'est pas bien formé. L'erreur va être reconnue par l'enzyme qui va prendre l'option : activité exonucléasique 3'→5'.

→ Voir autres notes plus haut.

9. Synthèse sur le rôle des différents partenaires

- Polymérase (I, II, III):
 - Allongement 5'→3'
 - Activité exonucléasique 3'→5'
 - Activité exonucléasique 5'→3'
- Polymérise, désamorce, corrige
- Primase : amorce
- Ligase : lie les fragments d'Okazaki
- Hélicase : déroule l'ADN
- SSB : protéines maintenant l'ADN monocaténaire
- Topoisomérase II (gyrase) : élimine les supertours +

V. Appendices

1. Différents types de réplication

a. *Le chromosome circulaire*

- On distingue 2 types de réplication pour ce qui est du chromosome circulaire :

⇒ **Téta** → chez Coli

⇒ **Sigma** ou « rolling circle » → chez les phages

- L'ADN polymérase allonge du sens 5' vers le sens 3'. Ici, on a un événement pas très couteux (nick), et on tourne. Schémas :

- A côté de cela, on a aussi la réplication en **sigma** dont la grande caractéristique, c'est que l'origine de réplication ne sert qu'une fois pour plusieurs réplications.

→ Le nick casse un lien phosphodiester. Il n'y a pas besoin de *primase*, il suffit qu'une *endonucléase* effectue un nick pour amorcer la réplication.

→ Formation d'un *concatémère* : fabrication de plusieurs génomes successifs grâce à un seul nick.

Schéma :

b. Réplication linéaire

- Voilà quelques schémas représentant une suite de réplifications linéaires :

→ On a un raccourcissement de + en + important.

- Les solutions :

❖ Répétitions directes

→ Aux extrémités de l'ADN, on trouve des séquences qui se répètent, de l'ADN **non-codant** en fait. Mais bon, le raccourcissement s'opère quand même.

❖ Activité de la télomérase

- Depuis 5 ans, on a découvert l'activité d'une enzyme fantastique : la **télomérase**. Cette enzyme est composée d'ARN et d'une **structure protéique** évidemment. Son activité dépend de ces 2 composants.
- **Activité** : elle va rajouter des nucléotides grâce au fait qu'elle porte l'**anti-complémentarité** en elle grâce à l'ARN.
- Exemple : Dolly → on pense qu'elle est morte prématurément car l'activité de la télomérase était trop faible et ses télomères étaient donc forts raccourcis.
- En fait, on a 2 problèmes :
 - ⇒ **Cancer** : les télomérases rallongent trop
 - ⇒ **Vieillesse** : les télomérases ne rajoutent pas assez.

2. Les sondes nucléiques

- Les sondes nucléiques sont un diagnostic puissant : elle permet de détecter l'agencement de nucléotides complémentaires.
- Voici les différentes étapes :

1) J'ai de l'ADN bactérien que je mets en présence d'**endonucléases**. Ces enzymes vont « nicker » mon ADN → L'endonucléase coupe aléatoirement à certains endroits. Attention, je n'en mets pas trop et pas trop longtemps sinon je casse tout l'ADN = **endonucléolyse ménagée**. Schéma :

2) Je rajoute de l'ADN polymérase I et des **dNTP*** (nucléotides radioactifs). Mais notre Poly I n'est pas vraiment une Poly I : on utilise des **fragments de Klenow** = polymérase modifiée. Schéma :

- 3) On chauffe et on obtient une multitude de petits fragments W et C qui seront + ou - chauds (radioactifs).
- 4) On met cet ensemble de molécules sur une lame de verre qui contient de l'ADN. On peut voir apparaître des endroits radioactifs : présence par exemple de notre gène préféré.

Chapitre 2 : Variations

I. Origines moléculaire des mutations géniques

- **Mutation** = changement, altération dans la séquence d'ADN.

→ On peut classer ces changements -> en effet, il existe une échelle.

- En général, un **gène muté** est **moins efficace** que le **gène non-muté**, mais parfois, les mutations donnent un avantage sélectif aux descendants.

→ Une **mutation** peut permettre la **variabilité génétique** au sein d'une espèce et peut, avec le temps, donner une autre espèce.

- Il s'agit de bien faire la distinction entre :

- **Mutations spontanées** = mutations se produisant naturellement dans toutes les cellules
- **Mutations induites** = mutations apparaissant lorsqu'un organisme est exposé à un agent mutagène.

1. Mutations

a. Substitution : changement d'un nucléotide par un autre

1. Définitions

- Il y a différents types de mutations :

- Les **transitions**. Les mutations par transition consistent en un remplacement d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine

- Les **transversions**. Les mutations par transversion consistent en un remplacement d'une purine par une pyrimidine ou d'une pyrimidine par une purine. Oui, cela est aussi possible comme l'ont montré des études de diffractions de rayons X

- On distingue aussi :

- Des **mutations non-sens** = sans importance
- Des **mutations faux-sens** = grave

→ Ces notions sont revues par la suite.

2. Rappels : le code génétique

- Il nous faut rappeler ce qu'est le **code génétique**.

- **Code génétique = table sur papier.**

- On peut dire qu'il y a 2 « sous-codes » :

- ADN
- ARN

- On sait qu'il y a **4 lettres (ATGC) pour 20 aa**. Cela pose un problème :

$$\Rightarrow 4 \text{ lettres prises } 2 \text{ à } 2 : C^2_4 = 16 \text{ aa}$$

$$\Rightarrow 4 \text{ lettres prises } 3 \text{ à } 3 : C^3_4 = 64 \text{ aa}$$

- Il a fallu 10 ans et 2 Nobels pour savoir la signification des codons.

→ **Exemple** :

- UUU = Phe
- UUA = Leu
- ...

- Pour **découvrir le code**, une expérience importante a été faite, voici les **étapes** :

- 1) Les biologistes de l'époque ont demandé aux chimistes de fabriquer un poly-U (UUUUU) → ARNm synthétique
- 2) On va « donner » ces séquences aux ribosomes de cellules appelées *réticulocytes* (= précurseurs des GR).
- 3) Par la suite, on va casser les cellules. On fait une centrifugation. Les ribosomes ayant fabriquées des protéines, on va analyser l'échantillon pour retrouver les protéines en question.
- 4) **Problème** : comment reconnaître les bonnes protéines dans un fouillis de protéines ? L'expérience ne fonctionnera qu'avec des aa*
- 5) Les fragments poly-u seront traduits, on retrouvera un polypeptide fait d'aa* = Phe (phénine)
- 6) Mais, la présence de messagers divers empêche la fiabilité totale de notre expérience → Utilisation de *RNAase de micrococcus Ca⁺⁺ dépendante* qui va démolir l'ARNm, sauf le reste qui est plus robuste.
- 7) Cette enzyme va être désactivée en utilisant de l'**EDTA** (= agent chélateur, attrapeur d'ions). L'enzyme ne marchera plus car plus de Ca⁺⁺.
- 8) Après avoir incubé à 37°C, on met un type de **aa*** dans chaque tube. On précipite les protéines fabriquées par poly-u à l'aide d'un acide fort. Si le tube avec l'**aa*₁₇** est radioactif, on sait que **uuu = aa₁₇ = Phe**. Schéma :

- A la suite de leur expérience, les scientifiques n'ont pas trouvés 3 des codons :

- UAA
- UAG
- UGA

→ *Codons stop*.

- Parfois, la 3^{ème} lettre n'a pas ou peu d'importance car les **2 lettres importantes sont surtout les 2 premières**. On dit que le **code est dégénéré** → il y a différents moyens de dire la même chose.
- Le code génétique est **universel** → il vaut pour tous les êtres vivants.
- Le code est **redondant** → pour un aa, il y a parfois plusieurs codons : plusieurs codons font la même chose.
- **!!! Le code n'est pas ambigu** → s'il l'était, un codon donnerait des aa différents.
- Dans le code génétique, il y a des **règles du jeu** : elles sont **établies et ne peuvent changer** (sauf peut-être sur une autre planète).
- **Note** : si on regarde le code, on remarque une chose :

- ⇒ 1^{ère} colonne : les aa sont **apolaires**
- ⇒ 2^{ème} colonne : les aa sont **polaires** ou **neutres**
- ⇒ 3^{ème} et 4^{ème} colonne : les aa sont **neutres**

- La population d'ARNt dans nos cellules est spécifique aux cellules et à leur fonction → le taux de traduction varie selon les outils : ARNt...
- **Exemple** : j'ai 2 ARNm : lequel sera le plus vite traduit ? Cela varie des outils et entre autres du type d'ARNt disponible.
- **!!! Pas d'ARNt correspondant aux codons stop !!!**

3. **Mutations non-sens et faux-sens**

- Deux types de mutations :

- Mutation **non-sens** :

- ⇒ Mutations **rares**
- ⇒ Va en général être **grave** car la synthèse de la protéine va s'arrêter et donc la protéine ne va pas être produite
- ⇒ Parfois, un STOP tombe sur le dernier aa et donc la protéine va manquer d'un seul aa

- Mutation **faux-sens** :

- ⇒ Ici, ce sont les aa qui sont en jeux
- ⇒ Changement d'un aa par un autre aa
- ⇒ En moyenne, il existe **3 codons par aa** :

- ❖ Si on change la **1^{ère} base**, on reste dans la même colonne : mutation supportable

- ❖ Si on change la **2^{ème} base**, on change de colonne : **mutation insupportable** car il y a changement de propriétés

- ❖ Si on change la **3^{ème} base**, ça n'a pas encore trop d'importance (wobble = flottement autorisé par l'appariement des bases à l'une des extrémités du codon et de l'anticodon)

- ⇒ Certaines mutations faux-sens sont **silencieuses** : on change une lettre, mais l'aa est quand même le bon. **Exemple** : UUU → UUC = silencieuse car tjs Phé.

- ⇒ Certaines mutations faux-sens sont **importantes-graves** : on change la 2^{ème} base avec changement de colonne

→ **Voir tableau du code génétique et éventuellement le retaper en partie à l'exam en l'expliquant (colonnes...) :**

b. Addition/délétion

- On sait que la séquence d'ARN est un multiple de 3

→ Ça commence par AUG et se termine par un STOP = modification du cadre de lecture → phase ouverte de lecture = ORF (open reading fase)

- L'information est lue dans une phase à condition que le message soit lu à la bonne place

- Voyons différents cas :

- Si on ajoute/enlève 1 ou 2 nucléotides → **grave**, car on change toute la phase ouverte de lecture
- Si on ajoute/enlève 3 nucléotides → **pas grave**, car cela ne change pas la lecture (il manquera un aa)

- Rem : changer de phase amène souvent un STOP → la synthèse de la protéine s'arrête, et la mutation aussi.

- Illustrations :

2. Réversions

- Parfois, il peut y avoir une mutation d'une mutation → on peut alors revenir alors au départ = réversion. Petit exemple :

UUU → UUG → UUC → On revient au départ.

- Il peut y avoir des mutations d'un codon qui compense une autre mutation = mutation compensatoire.

→ Exemple N° 1 :

→ Exemple N° 2 : chez E. Coli : A = STOP → la protéine s'arrête

→ Suppression extragénique

→ Anticodon est sur l'ARNt qui amène l'aa et si le gène de l'ARNt est muté, il se met en face d'un codon (// si serrure changée → on change la clef)

- Quelques cas de figures au niveau des protéines :

→ Exemple :

- Si mutation dans A → A est déformé :

- Si mutation dans B → B est déformé :

- Mais si les 2 sont mutées :

3. Mutations sur les bases elles-mêmes

→ **!!!** Bien faire la distinction entre mutations spontanées et induites ainsi que mutations par transition et par transversion.

a. Enolisation : $O \rightarrow OH$

- Schéma général :

→ Quand T attrape un H : la forme émol (T) va s'apparier avec G au lieu de A :
= Mutation spontanée par transition.

- Ce n'est pas encore une vraie mutation, ce n'est que lorsqu'il y a réplication que cela le devient.

b. Fixation d'un brome en position 5 (= mutation induite)

- Le 5-bromouracile (5-BU) est un analogue de la thymine qui possède un brome (Br) en position C-5, à la place d'un groupement CH_3 présent dans la thymine.

- Puisque c'est un analogue de la thymine, il peut être incorporé par erreur dans l'ADN comme base.

- Voyons un peu ce qu'il se passe :

- 1) Dans son état normal, le 5-BU imite la thymine en s'appariant à l'adénine : pas de problème
- 2) Mais, la présence d'un atome de brome entraîne une redistribution fréquente des électrons : le 5-BU peut passer une partie de son existence dans sa forme ionisée rare → il va alors s'apparier avec la guanine et imiter la cytosine → il va induire des mutations lors de la réplication

→ 5-BU = Agent mutagène (5-Bromo-uracile)

→ Voir illustration du Griffiths.

c. *Désamination* (= mutation spontanée)

- S'il y a désamination de la cytosine (NH₂ s'en va), cela devient un uracile.

Schéma :

- Normalement cela devrait être une mutation, mais grâce à l'activité enzymatique de l'*Uracile DNA glycosylase* qui va hydrolyser U dès qu'il apparaît dans l'ADN cela ne sera plus un problème (excision laisse une brèche qui sera comblée).

- Note : s'il s'agit maintenant de la désamination de la 5-méthylcytosine produit de la thymine qui n'est pas reconnue, elle, par l'*uracil-ADN glycosylase* et n'est donc pas réparée. Schéma :

d. Les UV (= mutation induite)

→ Ils peuvent créer un lien covalent entre 2 thymines voisines = **dimérisation**.

- Quand la fourche de réplication arrive à cet endroit, la polymérase n'arrive pas à mettre quelque chose de convenable devant ces dimères car il y a une mauvaise exposition : cela va avoir un **effet mutagène**.

- En effet, chaque fois qu'elle met un nucléotide, elle consomme de l'ATP → différents essais vont être faits et elle va consommer de l'ATP pour rien :

- Elle perd son activité de « proof-reading » et passe au travers de ce dimère et devient « error prone » → elle met n'importe quoi
- Ses activités exo 3' et de fidélité sont perdues
- Apparition du cancer de la peau, de mélanomes

- Schéma :

e. Les colorants (= mutation induite)

- L'*acridine orange* ou le *bromure d'éthidium* sont des **agents intercalaires** qui peuvent venir s'insérer dans les manches de la double hélice.

→ Dans cette position, l'agent peut provoquer des insertions ou des délétions d'une seule paire de nucléotides.

-Très **cancérogène**, car cela va augmenter la distance entre les brins, changer la topologie de l'ADN et donc créer des super-enroulements +.

4. Test de Ames = test du pouvoir mutagène

- On l'a vu, beaucoup de produits sont mutagènes et risquent de provoquer des cancers. Pour mettre une molécule sur le marché, l'un des premiers tests que l'on fait passer à celle-ci est le test de Ames.

- Ce test fut conçu dans les années 70 par Bruce Ames qui travaillait sur *Salmonella typhimurum*. Ce test utilise 2 mutations responsables d'auxotrophie pour l'histidine qui réversent par différents mécanismes moléculaires.

- Voyons les différentes étapes :

- 1) Dans une éprouvette, je fais une culture de Salmonella auxotrophe pour l'histidine (incapable de fabriquer de l'histidine → bactéries His-)
- 2) On prend 2 boîtes de pétri = 2 milieux et on étalera notre culture sur des géloses nutritives :
 - a. Milieu n°1 : milieu complet additionné d'une petite quantité d'histidine
 - b. Milieu n°2 : milieu contenant la mutagène à tester et une petite quantité d'histidine
- 3) Incubation à 37°C
- 4) Si on compare nos 2 milieux de culture, on aura :
 - a. Milieu n°1 : Au début de l'incubation, les bactéries ont épuisé toute l'histidine → **Seules les révertants seront capables de pousser puisqu'ils auront retrouvé la capacité à fabriquer de l'histidine** (exemple : on a 3 colonies).
 - b. Milieu n°2 : Ici, les bactéries vont épuiser les petites réserves en histidine, mais si l'agent est mutagène → **apparitions de révertants induits par le mutagène (His +)** → on parle de réversion. On obtiendra un nombre de colonies important.

→ On peut comparer le nombre de colonies : si on a beaucoup de colonies dans le milieu 2, ça veut dire que l'agent est fortement mutagène et donc **cancérigène** (on dira qu'il a un fort pouvoir mutagène).

- Notons que dans le milieu n°1 apparaissent aussi des mutations au niveau de certaines bactéries puisque les bactéries peuvent muter avec une certaine probabilité et former des colonies plus résistantes.

- Notons que ce test ne marche pas toujours très bien → il n'est donc pas toujours fiable.

- Schéma :

II. Changements plus vastes : CO

1. Modèle de Streisinger

- Dans un 1^{er} temps, on a ceci :

- Dans un 2^{ème} temps, il se peut que ça casse, et on a ceci :

- Voyons les deux versions qui mènent à la formation d'un cadre de lecture :

1) Addition :

- ⇒ Durant la synthèse de l'ADN, le brin néo synthétisé glisse, formant à l'extérieur du brin une boucle composée d'une ou de plusieurs bases.
- ⇒ La boucle est stabilisée par l'appariement permis par l'unité de séquence répétitive (les bases A dans le cas de l'illustration).
- ⇒ Il y aura **addition** d'une paire de base A-T, au cycle suivant de réplication dans cet exemple. **Schéma** :

2) Délétion :

- ⇒ Si c'est la chaîne matrice qui glisse, alors, c'est une délétion qui se produira.
- ⇒ Ici, l'unité répétée est un dinucléotide CT.
- ⇒ Après le glissement, une délétion de 2 paires de bases (c-G et T-A) aura lieu à la réplication suivante. **Schéma** :

2. Modèle d'Holliday et ses variantes

a. *Holliday*

→ On a des transactions entre l'ADN, donc *crossing-over*.

- Voyons les éléments clés du modèle d'Holliday :

- 1) Formation d'ADN double brin hétérologue (hétéroduplex)
- 2) Création d'un pont croisé
- 3) Migration du pont croisé le long des 2 brins hétérologues = déplacement de la fourche
- 4) Existence d'une réparation des mésappariements
- 5) Résolution finale ou excision de la structure intermédiaire en différents types de molécules recombinantes

- Voyons les différentes étapes :

- 1) On a 2 doubles hélices **HOMOLOGUES**. **!!!** à bien distinguer d'où vient l'ADN du chromosome. **!!!** à la polarité → les hélices sont alignées de telle sorte que le brin du bas de la 1^{ère} hélice ait la même polarité que le brin du haut de la 2^{ème} hélice :

2) Avec une endonucléase, on « nick » l'ADN (coupure) :

3) Single strand invasion : les extrémités libres s'associent aux brins complémentaires dans la double hélice homologue :

4) La ligature crée des doubles hélices partiellement hétérologues = structure de Holliday :

5) Déplacement de la fourche :

6) Résolution peut se faire de deux façons :

→ Le modèle de Holliday donne une explication au mécanisme de CO. Il est basé sur la formation d'une connexion, d'une part entre 2 chromatides et la coupure de l'intermédiaire ainsi formé → différents types de molécules recombinantes.

b. Variante de Szostak

- Ce modèle implique des **cassures double-brin** pour initier la recombinaison. Les cassures sont élargies, formant des brèches, et la réparation de ces brèches double-brin conduit à la conversion des gènes. Très schématiquement, voilà comment ça se passe :

c. Variante de Meselson et Radding

- Voyons les différentes étapes mises en évidence par le modèle :

- 1) Un double brin est coupé au niveau de l'un des brins
- 2) L'ADN polymérase déplace un brin
- 3) Le simple brin résultant déplace sont équivalent dans l'homologue
- 4) Ce brin déplacé est digéré enzymatiquement
- 5) Une ligature complète la formation d'une jonction d'Holliday
- 6) Résolution de la jonction → comme le modèle de Holliday

- Petit schéma :

→ *En bref : un brin envahit l'autre molécule et un brin est remplacé*

d. Résumé

→ Holliday : le nické est donneur et receveur ; c'est réciproque.

→ Szostak : 2 nick, le nické est le receveur.

→ M er R : 1 nick et le nické est le receveur.

- Il existe des hétéroduplex, des bulles dans l'ADN et celui-ci n'aime pas ça. A partir des hétéroduplex, on aura des homoduplex. La cellule reconstitue des duplexes parfaits = homoduplex par réplication.

III. Appendice

1. Restauration de l'homoduplex

- On sait que lorsque des crossing-over interviennent, il se forme des zones d'hétéroduplex :

- Zones où l'on a 2 informations génétiques
- Zones où W et C ne sont pas parfaitement anti-complémentaires
- La double hélice n'est pas parfaite
- Exemple de zones d'hétéroduplex :

- Les réparations tentent de rétablir les régions d'hétéroduplex en régions d'homoduplex. Et dans 50% des cas, il existe une conversion

2. Réparation

- Ce n'est pas neuf, certaines substances chimiques, la radioactivité, les rayons X et les UV sont susceptibles de modifier les nucléotides, ce qui a parfois des répercussions nocives sur l'information génétique.

- Heureusement, ses **changements sont normalement corrigés** → chaque cellule contient des enzymes capables d'assurer la « surveillance » et la répartition du matériel génétique.

- 3 mécanismes de réparation :

- Excision-réparation
- Recombinaison repair-gap
repair-Szostak
- SOS

a. *Excision-réparation*

- Nous connaissons par exemple 2 types de mismatch :

→ **Exemple 1** : une dimérisation par UV :

- 1) Un **dimère de thymine**, dû aux UV, déforme la molécule d'ADN
- 2) Une **endonucléase** va (Pd I) va couper le brin d'ADN endommagé à 2 endroits
- 3) L'**ADN poly** synthétise un fragment approprié
- 4) L'**ADN ligase** lie l'extrémité libre du fragment au brin subissant la correction.

→ **Exemple 2** : mésappariement G-T qui peut se produire à la suite d'une erreur de réplication

→ Résolution des problèmes par des endonucléases qui vont nicker.

b. Recombinaison repair - gap repair - Szostak

- Ces mécanismes sont surtout étudiés chez E.Coli, mais les mêmes types de mécanismes existent chez les mammifères :

- 1) Soit un **gap**, un trou dans la molécule d'ADN (accident de réplication → mismatch) : il y a une **perte d'information**, et pour la récupérer on fait appel à une autre molécule d'ADN :

- 2) Le brin homologue va servir de matrice: ADN polymérase recopie sur le brin homologue

- Note : chez Coli, ceci n'est possible que lors de la réplication :

c. *Réponse SOS*

1. La réparation par recombinaison

- Comme nous l'avons vu dans le système de Szostak, ou lors du modèle de Holliday, un brin d'ADN vient se marier avec un homologue. Cela est très utile lorsqu'il y a des lésions au niveau de l'ADN pour lesquelles il ne reste plus de matrice. Mais on peut se poser une question :

→ *Comment cela se fait cette réparation ?*

- Il existe en fait, des protéines = **protéines RecA qui vont se marier au simple brin et permettre une invasion efficace (= single strand invasion)**.

- Ces protéines vont être aidées par des **REC_{BCD}**

- **Rec** = complexe protéique qui a des fonctions d'enroulement, désenroulement, des activités multienzymatiques.

- Les protéines **REC_{BCD}** ont une activité :

- Héliase
(séparation des 2 brins)
- Endonucléase

- Voyons les différentes étapes menant au mariage avec son homologue :

1) On a un chromosome qui contient des **sites chi (X)** qui sont des **points de recombinaison** :

2) Le complexe **REC_{BCD}** **amorce la recombinaison** en s'insérant à l'extrémité libre et déroule progressivement la double hélice (grâce à son activité hélicase) :

3) Le complexes **REC_{BCD}** **génère des brins monocaténares dont le brin avec l'extrémité 3' est clivé par activité endonucléase** (rem : il y a formation de boucles, car REC_{BCD} lit plus vite qu'elle ne dégrade) :

- 4) Quand REC_{BCD} rencontre le site chi (X) \rightarrow l'interaction entre REC_{BCD} et X provoque une modification : l'activité endonucléase s'arrête sur 3', mais commence alors sur 5' :

- 5) REC_{BCD} reprend alors son activité hélicase : le processus génère alors une queue d'ADN monocaténaire où on retrouve maintenant chi (X) à l'extrémité 3' :

- 6) Le brin 3' va progressivement être occupé par des REC_A et vont réaliser ce que l'on appelle une **single strand invasion** \rightarrow REC_A va reconnaître le 3' nické et va se placer sur son extrémité

2. La réponse SOS

- Chez E.Coli, les lésions qui bloquent la réplication de l'ADN activent la **réponse SOS**.

\rightarrow Système complexe qui permet la restauration de la réplication.

- Voyons les grandes lignes de ce système de réparation :

- 1) Si on a une **brèche au niveau de l'ADN**, ou lorsque **2 bases d'une paire nucléotidique manquent ou sont altérées** = lésions graves \rightarrow la synthèse s'arrête
- 2) Mais arrive sur le devant de la scène la protéine **RecA** qui va se lier aux brèches, initier l'échange des brins, et en même temps acquérir une fonction protéolytique qui va détruire le répresseur **LexA**.

- 3) LexA empêchent les gènes menant à la réparation de l'ADN en codant des protéines assurant la réparation de l'ADN, de s'exprimer.
- 4) La **destruction de LexA** entraîne la production de molécules enzymatiques, **accélérant le processus de réplication et de réparation.**

- Schéma de l'action de LexA :

- Schéma de l'action de RecA : voir document de microbiologie.

- Donc → - RecA → + LexA

+ RecA → - Lex A

→ Système ON/OFF rapide → réponse SOS

- Dès que la réparation est faite, LexA apparaît et détruit RecA.

- Quelques remarques importantes :

▪ Poly V :

⇒ Produite en réponse au système SOS

⇒ A une activité TLS (translesion synthèse) :

❖ Elle fait la synthèse au-delà des lésions

❖ Elle est error prone → elle pass au-dessus des problèmes, des lésions, elle fait un peu n'importe quoi.

- Poly IV :

3. Application

a. Crossing-over

- Crossing-over → 2 régions homologues → fait réfléchir Holliday.
- Voyons quelques illustrations :

→ !!! Bien faire la distinction entre la distribution crossing-over et conversion.

b. Uniformisation et diversification d'allèles dans les familles multigéniques (par conversion génique)

- Crossing-over = échange réciproque.

- Conversion = transfert d'information directionnel

- Le CO inégal peut générer une expression ou une contraction :

→ Cela entraîne la création de familles multigéniques.

