

BIOSYNTHÈSE DES ACIDES

NUCLÉIQUES

RÉPLICATION ET TRANSCRIPTION

59379
200594
F. GROS

M. GRUNBERG-
MANAGO

Hermann
Paris



Collection
Méthodes

Ce livre traite principalement des mécanismes généraux de la réplication et de la transcription génétique (ADN et ARN polymérases ADN dépendantes). On y trouve également des développements concernant les répliques virales et la polynucléotide phosphorylase.

L'ensemble tente d'apporter des éclairages différents à un problème d'actualité en biologie et de répondre à certaines questions qu'il soulève à des degrés divers d'approfondissement.

Cette monographie est destinée aux étudiants de biologie des deuxième et troisième cycles, ainsi qu'aux chercheurs désireux d'acquérir des notions fondamentales touchant aux problèmes actuels de l'hérédité.

Directement issue de la réforme de l'enseignement, la collection *Méthodes* offre à l'étudiant et au chercheur des livres nouveaux.

Les auteurs de cette collection ont la double vocation de chercheurs et d'enseignants ; aussi leurs livres donnent-ils l'exposé le plus à jour des questions traitées, avec une présentation pédagogique expérimentée et attrayante. Cette synthèse permet au lecteur, dans chaque discipline et à chaque niveau, d'accéder aux stades les plus avancés de la connaissance en percevant l'ensemble du sujet de façon claire et en étant informé des développements en cours.

*Les méthodes sont les habitudes de l'esprit
et les économies de la mémoire.*

Rivarol



Hermann, éditeurs des sciences et des arts, 293 rue Lecourbe, 75015 Paris

Table



Préface

XIII

SYNTHÈSE DE L'ADN

I. Nature et diversité du matériel génétique dans le monde vivant	3
1. Rôle des acides nucléiques en tant que supports chimiques de l'hérédité	3
2. Nature chimique du matériel génétique chez les cellules et les virus	5
3. Modes de réplication	7
4. Rappel de certaines propriétés physiques et chimiques de l'ADN.	9
4.1. Propriétés chimiques	9
4.2. Propriétés physiques	11
4.3. Circularité de l'ADN	16
4.4. Hyperchromicité. Dénaturabilité	19
5. État d'association aux protéines. Infrastructure du matériel génétique composé d'ADN	21
II. Modalités de la réplication <i>in vivo</i> chez les procaryotes	27
1. Caractère semi-conservatif de la réplication	27
2. Caractère séquentiel de la réplication	38
2.1. Réplication séquentielle de deux régions distinctes de chromosome d' <i>E. coli</i>	38
2.2. Réplication séquentielle et unidirectionnelle du chromoïde de <i>B. subtilis</i>	41

VII

3. Réplication bidirectionnelle du chromosome d' <i>E. coli</i>	46
3.1. Cas de réplication chez les eucaryotes	49
III. Réplication de l'ADN <i>in vitro</i>	51
1. Caractéristiques générales de l'ADN polymérase I.....	51
2. Principaux types de réactions catalysées par l'ADN polymérase d' <i>E. coli</i>	53
3. Réactions de polymérisation	53
3.1. Copiage d'une matrice bicaténaire. Équation de réaction ..	53
3.2. Réaction limitée.....	55
3.3. Synthèse d'homo ou de copolymères en l'absence de matrice.	56
3.4. Synthèse d'acide polydésoxyribonucléiques en présence d'oligodésoxyribonucléotides. Synthèses répétitives	60
3.5. Synthèse de polymères mixtes en présence d'ions Mn^{++}	63
4. Réactions d'échange et de pyrophosphorolyse	65
5. Réactions d'hydrolyse	67
6. Purification de l'ADN polymérase. Propriétés générales de l'enzyme d' <i>E. coli</i>	67
6.1. Rôle des nucléases spécifiques dans le fonctionnement de l'ADN polymérase I d' <i>E. coli</i> . Effet activateur des 3'OH libres	69
6.2. Effets des groupes 3'OH libres dans l'activité de la polymérase	70
6.3. Études récentes sur l'ADN polymérase hautement purifiée. Site actif de l'enzyme. Interaction enzyme-substrats.....	73
6.4. Existence d'un récepteur actif unique sur l'enzyme purifié...	73
IV. Propriétés chimiques et physicochimiques du produit de réplication par l'enzyme de Kornberg	79
1. Preuves que la polymérase catalyse un copiage fidèle de l'ADN utilisé comme matrice	79
1.1. Propriétés physicochimiques	79
1.2. Arguments tirés d'études sur la composition du produit.....	80
1.3. Fréquences de dinucléotides dans le produit de la réaction .	81
1.4. Remplacement des substrats naturels par des analogues....	84
1.5. Cas du désoxy-UTP. Analogues de bases naturels dans les ADN de bactériophages	86
2. Variations dans la nature du produit formé en fonction de la structure physique de la matrice.....	87
2.1. Réplication d'un ADN à deux brins (sans régions monofilaires)	88
2.2. Réplication d'ADN ayant des structures partiellement ou totalement monofilaires	92

V. Considérations sur le mécanisme de la réplication <i>in vivo</i>. Rôle et propriétés des ligases. Données récentes sur un mutant polymérase négatif. Nouvelles ADN polymérases.....	103
1. Schéma d'action de l'ADN polymérase au cours de la réplication <i>in vivo</i> — réplication discontinue	104
1.1. Cas de la réplication des bactériophages à ADN.....	106
1.2. Arguments en faveur de l'intervention des ligases dans la réplication.....	107
1.3. Propriétés des polynucléotides ligases	113
1.4. Mesure d'activité	113
1.5. Mécanisme d'action	116
2. Données récentes sur le mécanisme de la réplication chez les procaryotes. Découverte de mutants ADN polymérase négatifs...	117
2.1. Enquête d'une véritable ADN réplique	118
2.2. Conclusions des études génétiques sur les mutants ADN ts « le complexe de réplication »	118
2.3. Mécanismes biochimiques de l'initiation — synthèse d'ARN en tant que processus d'amorçage de la réplication	127
VI. Facteurs intervenant dans les mécanismes régulateurs de la réplication	133
1. Réplicon.....	133
1.1. Contrôle de la réplication des réplicons	135
1.2. Déclenchement spécifique de la copie d'un réplicon	136
1.3. Ségrégation du matériel répliqué	137
VII. ADN-polymérases virales: transcriptases réverses.....	141
1. Découverte	142
2. Caractéristiques de l'ADN produit	145
3. Spécificité de l'enzyme pour les différentes matrices.....	147
3.1. Matrice ADN-ARN	147
3.2. Activité des ADN-polymérases testées avec des polymères synthétiques	147
4. Purification des polymérases virales	152
5. Caractéristiques des réactions catalysées par les enzymes purifiés ..	152
6. Mécanisme de réplication	160
7. La transcriptase réverse est-elle spécifiquement virale?	164
8. Quel serait le rôle de la transcriptase réverse dans les cellules normales	167

SYNTHÈSE DE L'ARN

I.	Polynucléotide phosphorylase	175
1.	Principales réactions catalysées	175
2.	Spécificité de l'enzyme	176
3.	Essais enzymatiques	179
4.	Sources d'enzymes	180
5.	Variations de la polynucléotide phosphorylase	180
6.	Stabilité thermique	182
7.	Purification	183
8.	Poids moléculaire	183
9.	Structure de l'enzyme	183
10.	Interaction de la PNPase avec les polynucléotides. Mécanisme d'action de l'enzyme	188
10.1.	Phosphorolyse. Mécanisme d'attaque progressive.....	188
10.2.	Mécanisme progressif de l'élongation	194
10.3.	Isolement d'un complexe enzyme-ARN	197
11.	Cinétique de la polymérisation. La phase de latence	198
12.	Réaction d'initiation (ou synthèse <i>de novo</i>)	199
13.	Conséquences cinétiques des dégradations de la polynucléotide phosphorylase	201
13.1.	Enzyme d' <i>E. coli</i>	201
13.2.	Enzyme de <i>M. luteus</i>	201
14.	Enzymes isolés de mutants d' <i>E. coli</i> et enzyme de <i>C. perfringens</i>	204
15.	Rôle physiologique.....	205
16.	Utilisations pratiques de la polynucléotide phosphorylase	205
16.1.	Préparation de polynucléotides synthétiques	205
16.2.	Détermination de séquences d'oligonucléotides	206
16.3.	Étude de la structure des polynucléotides	206
II.	Différents types de gènes. Les unités de transcription. Mise en évidence des ARN messagers	211
1.	Existence de divers secteurs génétiques dans l'ADN	211
2.	Les ARN messagers	216
2.1.	Mise en évidence des ARN messagers	216

III. Propriétés générales des ARN messagers bactériens	225
1. Messagers, produits de transcription des gènes de structure. Hétérogénéité de taille, dimensions moléculaires.....	225
1.1. Composition.....	227
1.2. Hybridation moléculaire	230
1.3. Caractère monofilaire des messagers	231
1.4. ARN messagers, matrices des protéines spécifiques	234
1.5. Attachement aux ribosomes	234
1.6. Instabilité métabolique des ARN messagers bactériens	238
IV. Principales réactions catalysées par l'ARN polymérase ADN dépendante. Propriétés de l'enzyme. Nature des produits	249
1. Purification et propriétés de l'ARN polymérase bactérienne ADN dépendante	250
2. Propriétés physico-chimiques de l'ARN polymérase	251
3. Cas des ARN polymérases animales	254
4. Types de réactions catalysées par l'ARN polymérase <i>in vitro</i>	256
5. Transcription d'ADN natif <i>in vitro</i> . Caractéristiques générales....	258
5.1. Facteurs requis. Réversibilité	258
6. Invariance de l'ADN transcrit <i>in vitro</i> . Caractère « conservatif » de la transcription	259
7. Transcription asymétrique	262
8. Transcription d'un ADN à une seule chaîne	265
9. Fidélité de copiage	266
V. Les étapes principales de la transcription	271
1. Attachement	271
2. Préinitiation.....	274
3. Initiation ou insertion des ribonucléotides puriques en position 5'.	279
3.1. Nature probable des promoteurs	281
3.2. Devenir du facteur sigma après l'initiation	283
3.3. Le contrôle positif de l'expression génétique au niveau de la transcription	284
3.4. Contrôle des fonctions « tardives » chez les bactériophages de série T	285
3.5. Propriétés de facteur sigma du phage T ₄	288
3.6. Modification du « core » de l'ARN polymérase après infection	288
3.7. Modification des systèmes de transcription au cours de la sporulation chez les bactéries	288
3.8. Cas du bactériophage T ₇	289

4. Élongation des chaînes	290
4.1. Cinétique de croissance des chaînes	292
4.2. Inhibiteurs agissant sur l'étape d'élongation	294
4.3. Détachement des chaînes	294
4.4. Découverte du facteur de terminaison ou facteur Rho	296
VI. Réplication de l'ARN viral	303
1. Réplication de l'ARN <i>in vivo</i>	306
2. Réplication de l'ARN <i>in vitro</i>	308
3. Structure de la Q β -réplicase	311
4. Spécificité de la Q β -réplicase pour une matrice d'ARN	318
5. Facteurs de la cellule-hôte	319
6. Modèle de la réplication	320
<i>Index</i>	327