

**BIOSYNTHÈSE DES  
ACIDES**

**NUCLÉIQUES**

**RÉPLICATION ET  
TRANSCRIPTION**

**F. GROS  
M. GRUNBERG-  
MANAGO**

*Hermann  
Paris*



*Collection  
M. Laodes*

# Table

Préface

XIII

## SYNTHÈSE DE L'ADN

<b>I. Nature et diversité du matériel génétique dans le monde vivant</b>	<b>3</b>
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
<b>II. Modalités de la réplication <i>in vivo</i> chez les procaryotes</b> .....	<b>27</b>
✧ 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

## BIOSYNTHESE DES ACIDES NUCLÉIQUES

3. Réplication bidirectionnelle du chromosome d' <i>E. coli</i> .....	46
3.1. Cas de réplication chez les eucaryotes .....	49
<b>III. Réplication de l'ADN <i>in vitro</i></b> .....	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'oligodesoxyribonucléotides. Synthèses réitératives .....	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
<b>IV. Propriétés chimiques et physicochimiques du produit de réplication par l'enzyme de Kornberg</b> .....	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

<b>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.....</b>	<b>103</b>
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 réplicase .....	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
<b>VI. Facteurs intervenant dans les mécanismes régulateurs de la réplication .....</b>	<b>133</b>
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
<b>VII. ADN-polymérases virales : transcriptases réverses.....</b>	<b>141</b>
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

<b>I.</b>	<b>Polynucléotide phosphorylase</b> .....	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
<b>II.</b>	<b>Différents types de gènes. Les unités de transcription. Mise en évidence des ARN messagers</b> .....	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

TABLE DES MATIÈRES

<b>I. Propriétés générales des ARN messagers bactériens</b> .....	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
<b>II. Principales réactions catalysées par l'ARN polymérase ADN dépendante. Propriétés de l'enzyme. Nature des produits</b> .....	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
<b>III. Les étapes principales de la transcription</b> .....	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 <sub>4</sub> .....	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 <sub>7</sub> .....	289

## BIOSYNTHÈSE DES ACIDES NUCLÉIQUES

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
<b>VI. Réplication de l'ARN viral .....</b>	<b>303</b>
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 $\beta$ -réplicase .....	311
4. Spécificité de la Q $\beta$ -réplicase pour une matrice d'ARN .....	318
5. Facteurs de la cellule-hôte .....	319
6. Modèle de la réplication .....	320
<i>Index</i> .....	327