

## La réplication de l'ADN chez l'euryarchaea Pyrococcus Abyssii : mise en place et dynamique du complexe



DNA replication occurs through a large protein complex assembly called replisome. An understanding of its structure and function requires its *in vitro* reassembly from individual subunits. In all living organisms, the elongation of a primed DNA template by DNA polymerase, with high processivity, requires the accessory protein DNA sliding clamp (PCNA) that is loaded onto DNA by the clamp loader (RF-C). Generally, the archaeal proteins involved in DNA replication are more similar to those of the higher organisms (Eukarya) rather than to those from Bacteria. This study has focussed on the PCNA loading mechanism and on the DNA synthesis in the hyperthermophilic Euryarchaea *Pyrococcus abyssi*. To investigate the importance of some protein-protein and protein-DNA interactions, mutants of PCNA and of the two DNA polymerases (Pol B and Pol D) have been made. PCNA has been shown to be able to load by itself on primed DNA; this loading is increased by the RF-C but also by the Pol B which stabilizes the clamp on primed DNA via an essential motif. On the other hand, on an RNA-primed heteroduplex, the complex PCNA/Pol B is destabilized in the presence of dNTPs. Moreover, Pol D has been shown to exhibit more than one PCNA interacting motif. In spite of this additional motif, Pol D is displaced from the PCNA by Pol B. These results, twinned to those previously obtained, are sufficient to draw up, for the Euryarchaea phylum, a molecular model of the replication fork. La réplication de l'ADN se fait par le biais d'un complexe protéique appelé réplisome. La compréhension des aspects structuraux et dynamiques nécessite sa reconstitution *in vitro* à partir des sous-unités individuelles. Chez tous les organismes vivants, la phase d'élongation de l'ADN, effectuée par les ADN polymérase, met en jeu un facteur de processivité (PCNA) qui est chargé sur l'ADN par un facteur de chargement (RF-C). Généralement, les protéines des archées, impliquées dans la réplication de l'ADN, ont plus de similitudes avec leurs homologues eucaryotes que bactériens. L'étude présentée ici a porté sur les mécanismes de chargement du PCNA et de synthèse d'ADN chez l'Euryarchaea hyperthermophile *Pyrococcus abyssi*. Afin de mieux cerner certaines interactions protéine-protéine et protéine-ADN, des versions mutantes du PCNA et des ADN polymérase (Pol B et Pol D) ont été produites. Il a été montré que le PCNA est capable de se charger spontanément sur l'ADN ; ce chargement est stimulé par le RF-C mais également par la Pol B qui stabilise son facteur de processivité par un motif essentiel. D'un autre côté, le complexe PCNA/Pol B est déstabilisé en présence d'ARN et de dNTPs. De plus, il a été montré que la Pol D présente plus d'un motif de liaison au PCNA. Malgré ce motif additionnel, la Pol D est déplacé du PCNA par la Pol B. Ces résultats, couplés à ceux précédemment obtenus, permettent de proposer un modèle moléculaire dynamique de la fourche de réplication pour le phylum Euryarchaea.

**Auteurs du document :** Rouillon, Christophe

**Obtenir le document :** Université de Rennes I

**Mots clés :** Pyrococcus, Archaea, DNA synthesis, Interaction, RP A, RF C, PCNA, DNA polymerase, DNA replication, Pyrococcus, Archée, Archaea, Synthèse d'ADN, Interaction, RP A, RF C, PCNA, ADN polymerase, Replication de l'ADN

**Thème (issu du Text Mining) :** BIOCHIMIE - CHIMIE

**Date :** 2006-06-19

**Format :** text/xml

**Langue :** Inconnu

**Droits d'utilisation :** info:eu-repo/semantics/openAccess, restricted use

**Télécharger les documents :** <http://archimer.ifremer.fr/doc/2006/these-2461.pdf>

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/2461/>

**Permalien :** <https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/la-replication-de-l-adn-chez-l-euryarchaea-pyrococcus-abyssi-mise-en-place-et-dynamique-du-complexe0>