

# La polymérase dans tous ses états.

A la découverte d'une enzyme méconnue...



*Rafał Olbiński*

Dr. P. Beckers  
Service de Génétique  
Laboratoire de Biologie Moléculaire

# Le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère SARS-CoV2



Queen Of Hearts  
Alice In Wonderland

## En Chine

17 novembre 2019

Premier cas nouvelle pneumopathie détecté

## En Belgique

1<sup>er</sup> février 2020

10 belges rapatriés de Hubei (pneumopathie)

4 février 2020

1 personne rapatriée de Wuhan

11 février 2020

l'OMS nomme officiellement la maladie :

« maladie à coronavirus 2019 (Covid-19) »

Fin février 2020

la KUL (laboratoire de référence Coronavirus)

crée le 1<sup>er</sup> test « PCR »

Début mars 2020

le CHULiège crée son propre test « PCR »

Depuis, « PCR » est sur toutes les lèvres ...

## Triade bien connue...



ANALYSES	RESULTATS	Unités
<b>MICROBIOLOGIE</b>		
<b>FROTTIS NASAL</b>		
<b>DEPISTAGE COVID-19</b>		
RT-PCR COVID-19 urgente (GeneXpert)	ARN non détecté	
Gène E	0	cycles
Gène N	0	cycles

Menu **La Libre** Abonnez-vous

### Cacophonie à Zaventem: des passagers refusés à l'embarquement pour un problème d'appellation de test

Publié le 04-05-21 à 09h24 - Mis à jour le 04-05-21 à 09h24

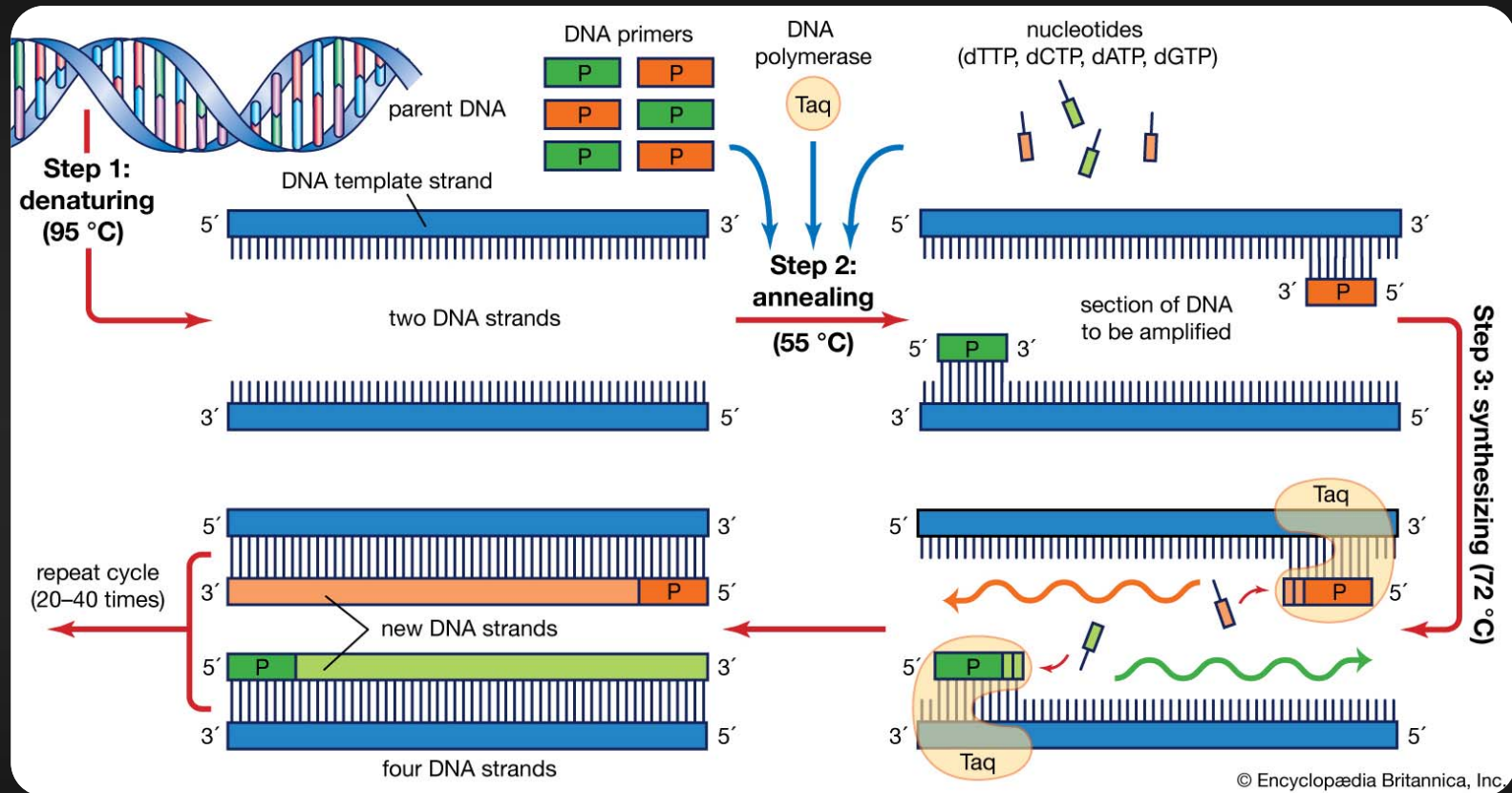
**L'appellation des différents tests de détection du coronavirus a entraîné une situation pour le moins cocasse, ce lundi, à l'aéroport de Zaventem.**

"On nous a refusé l'embarquement en nous disant que notre test était juste un 'PCR' et pas un 'PCR RT'", explique l'une des passagères lésées à nos confrères de LN24. "Personne ne savait quelle était la différence entre le PCR et le PCR RT, même pas les hôtesses", poursuit la voyageuse.

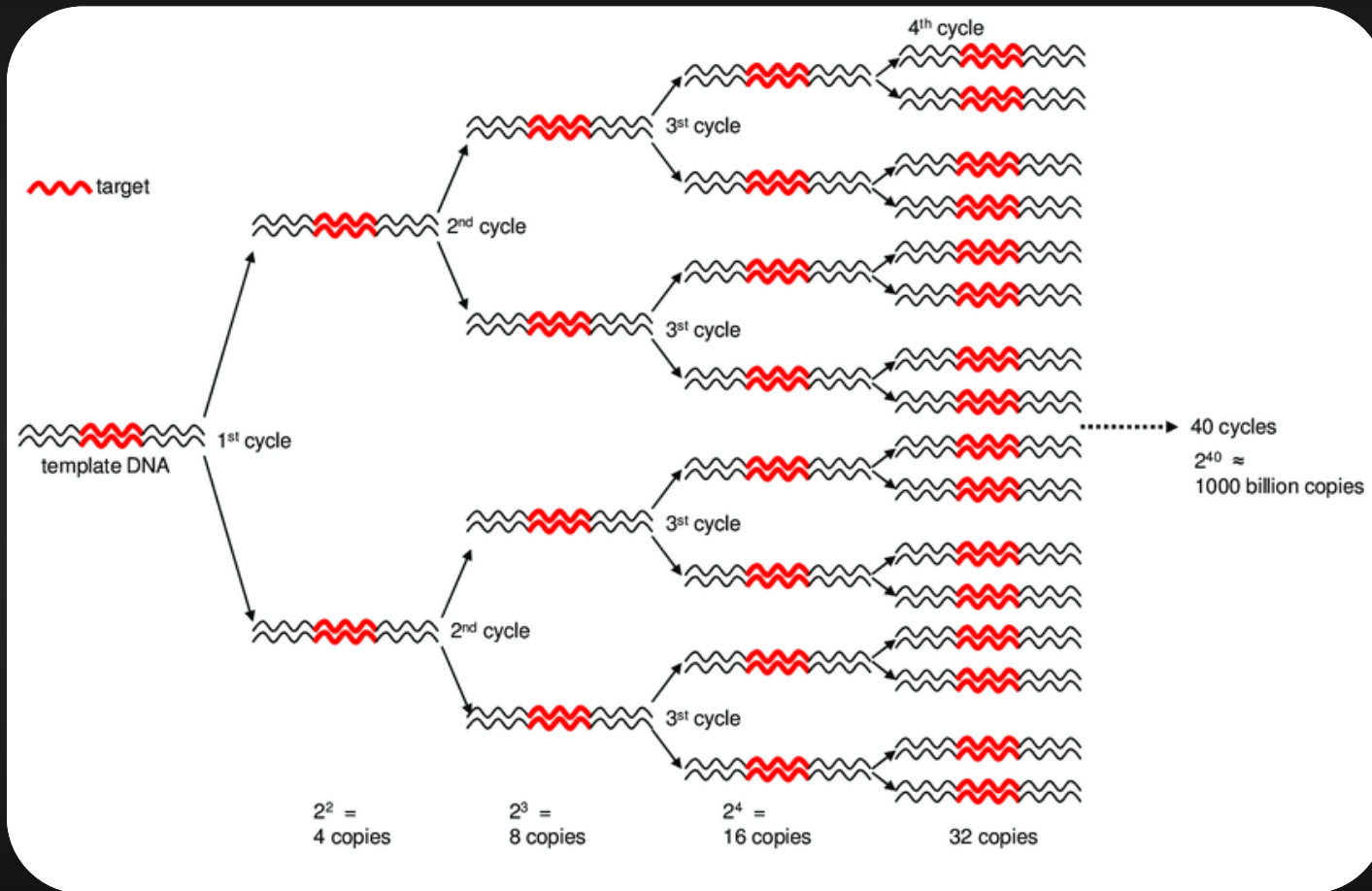


« Seulement si vous avez une photo... »  
François Damiens : le guichetier

# La Polymérase Chain Reaction (PCR)



# La Polymérase Chain Reaction (PCR)



# La Polymérase Chain Reaction (PCR)

- Suggérée par Har Gobind Khorana
  - Prix Nobel 1968
  - dans les années 1970s sans être finalisée
- 15 ans plus tard
- Conçue et mise en pratique par Kary Mullis et Michael Smith.
- Kary Bank Mullis
  - $\frac{1}{2}$  prix Nobel en 1993
  - contribution au développement de méthodes basées sur la chimie de l'ADN
- Michael Smith
  - $\frac{1}{2}$  prix Nobel en 1993
  - invention de la "polymerase chain reaction (PCR)" et ses contributions fondamentales dans l'étude des protéines.

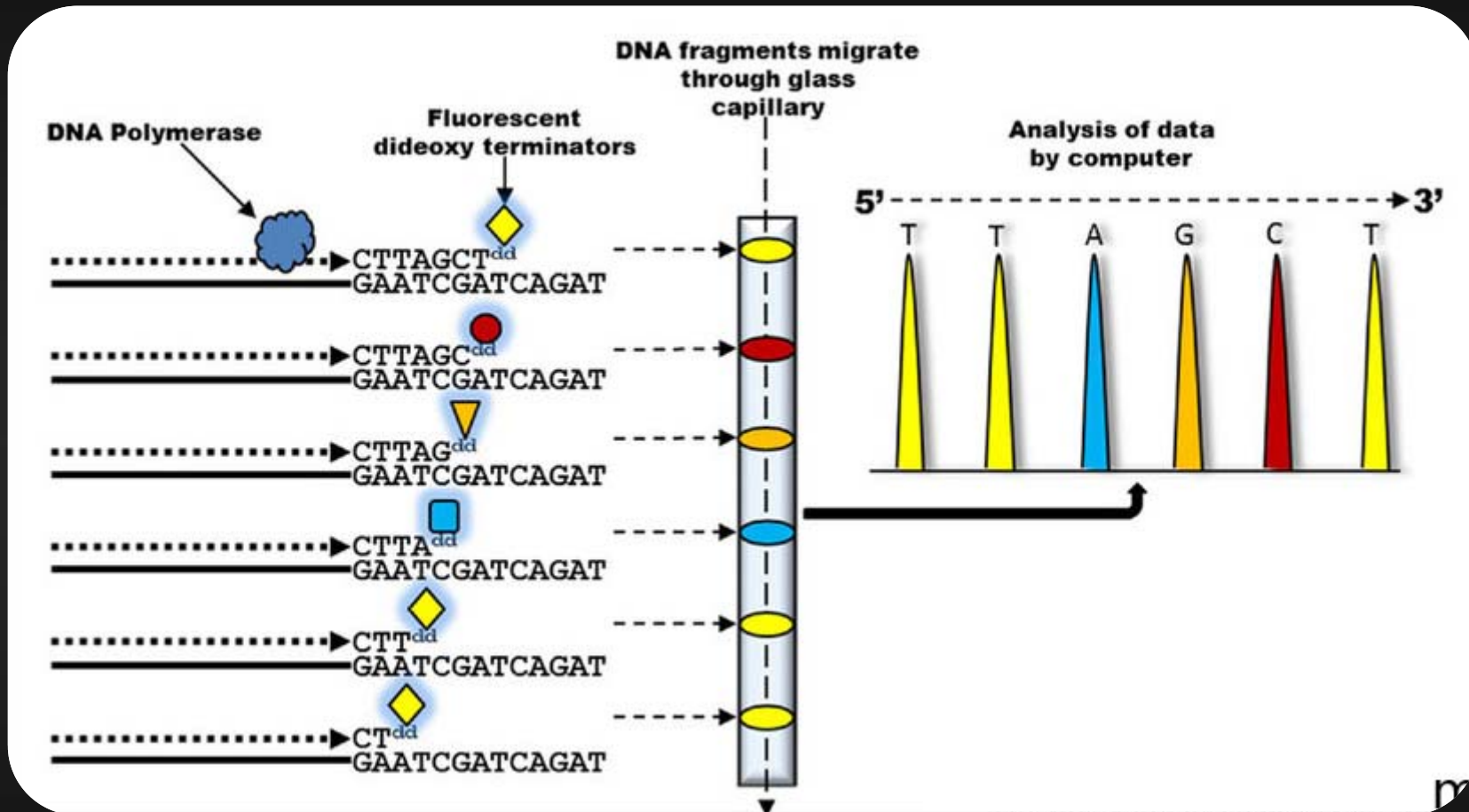


Kary Bank Mullis



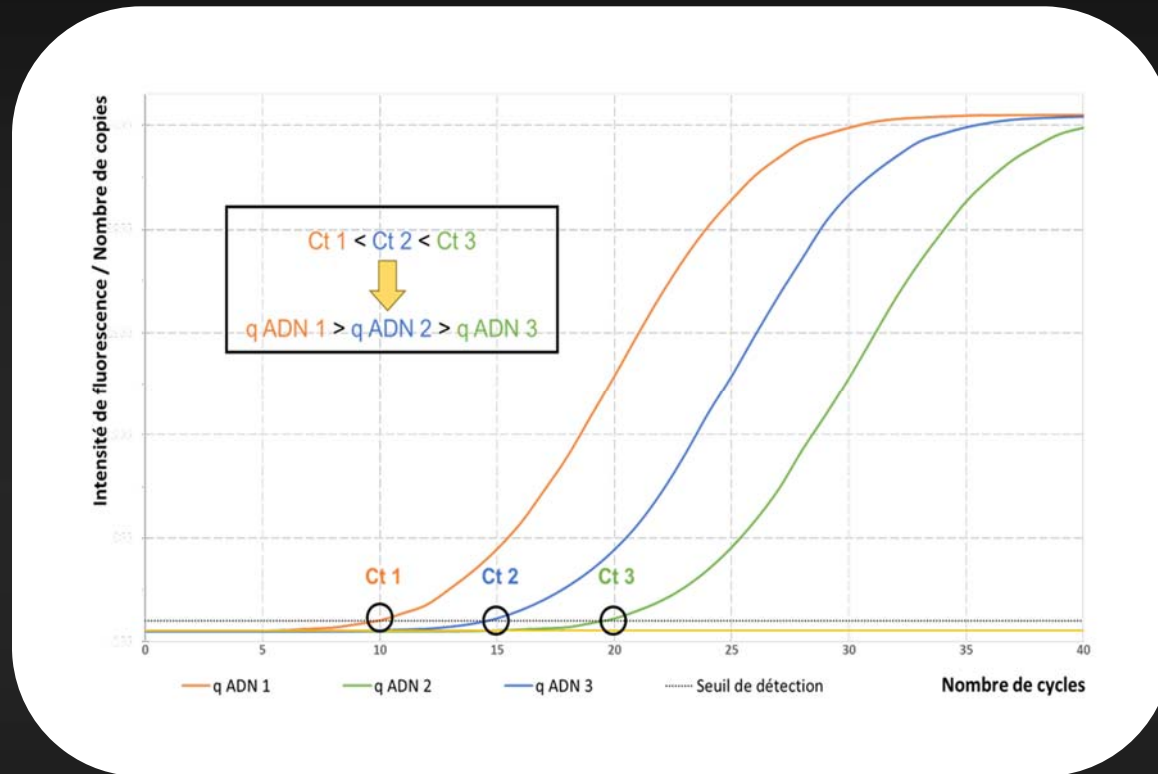
Michael Smith

# Séquençage de l'ADN



Séquençage de l'ADN  
Frederick Sanger - 1977

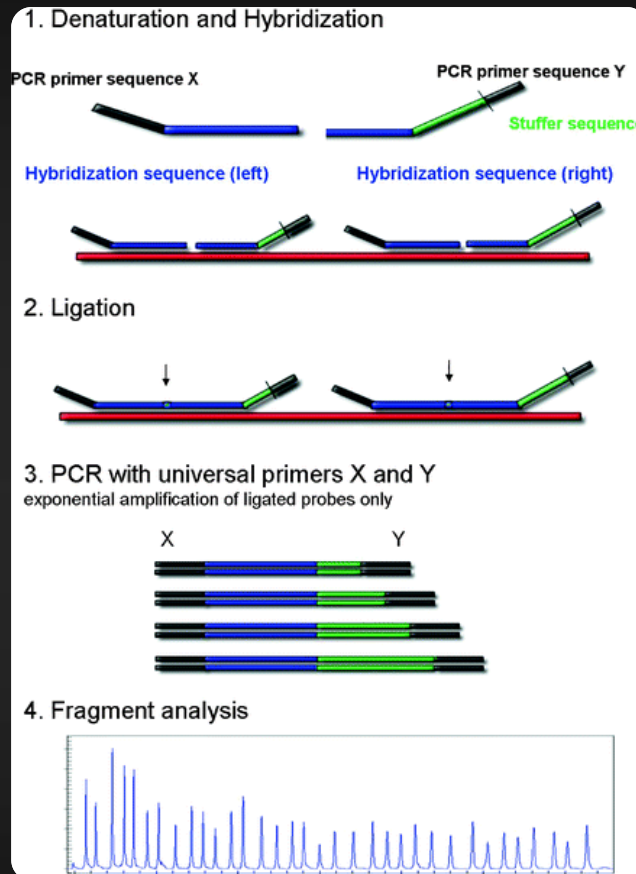
# Partout en Biologie Moléculaire



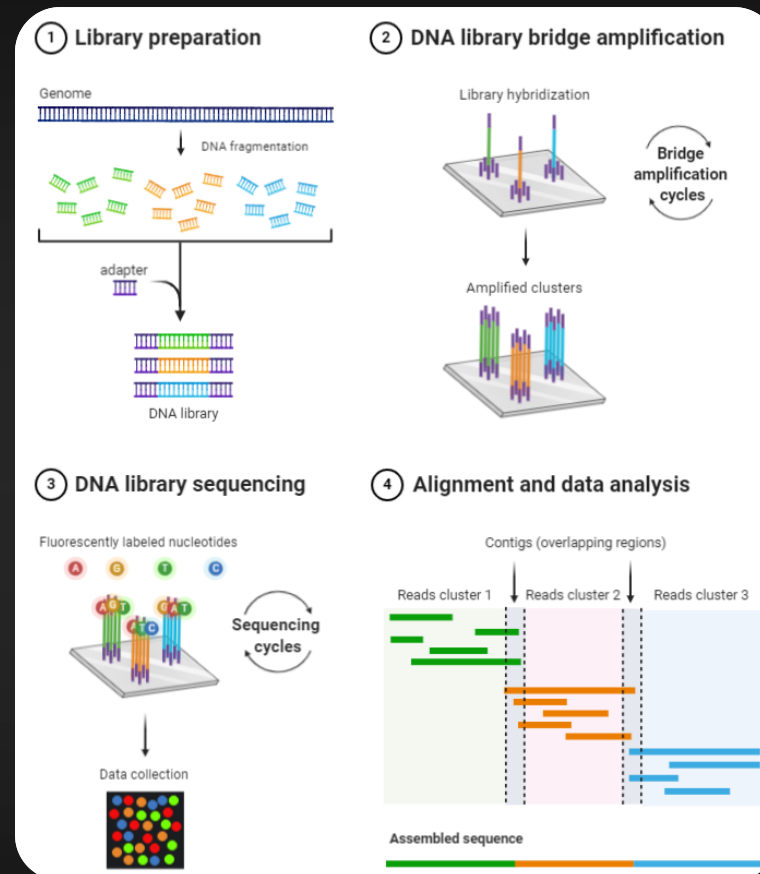
qPCR ou PCR en temps réel  
R. Higuchi - 1992



# Partout en Biologie Moléculaire

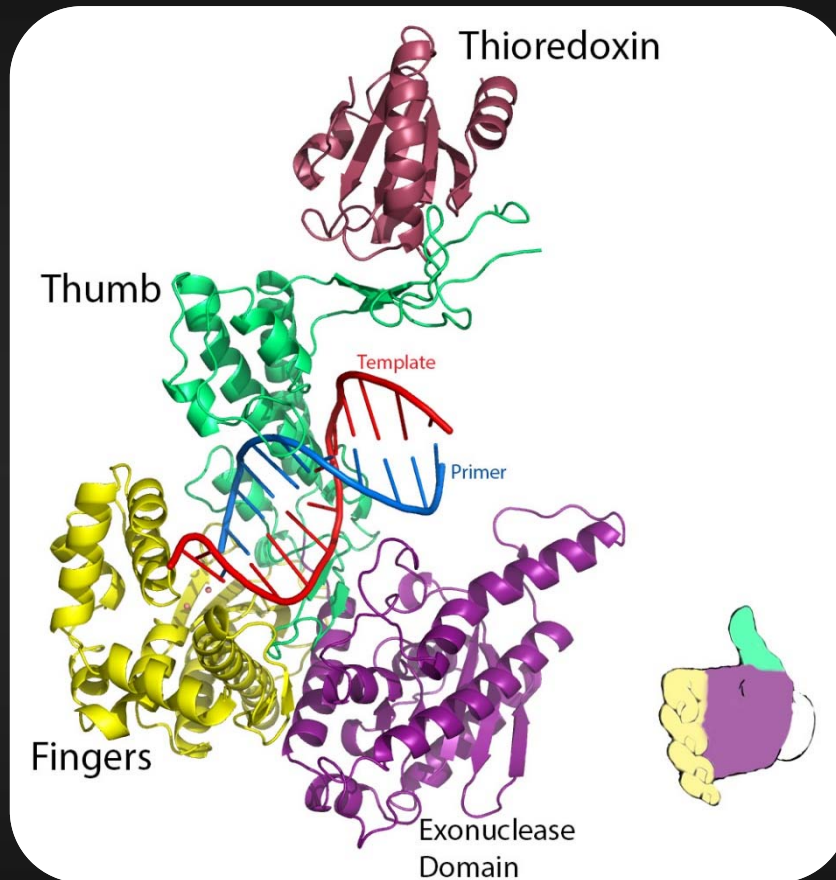


MLPA  
Jan P. Schouten 2002



NGS  
2005

# Une polymérase ?

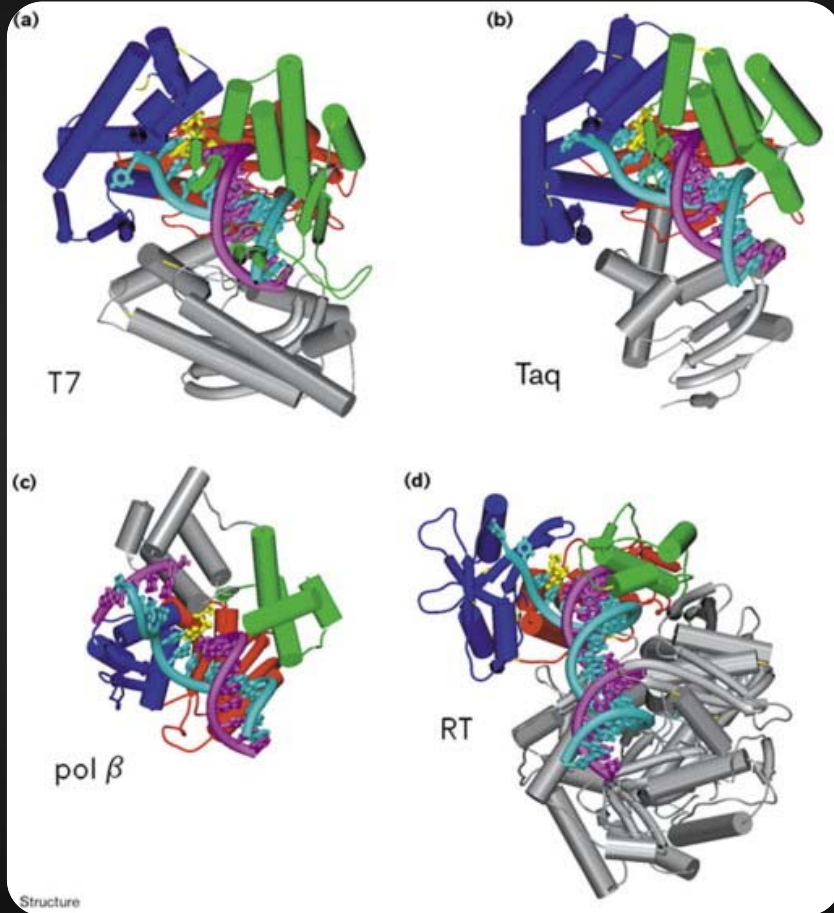


Structure du complexe de réplication



Rafał Olbiński

# Non, des PolyméraseS !



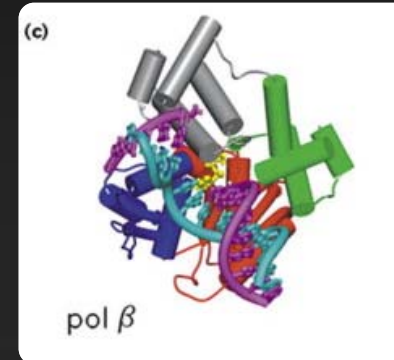
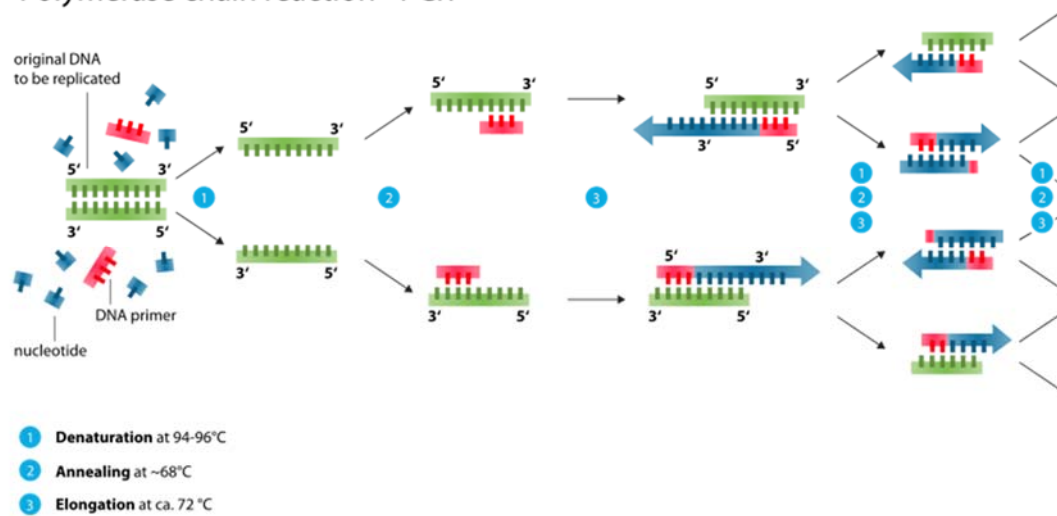
4 représentations de polyméraseS



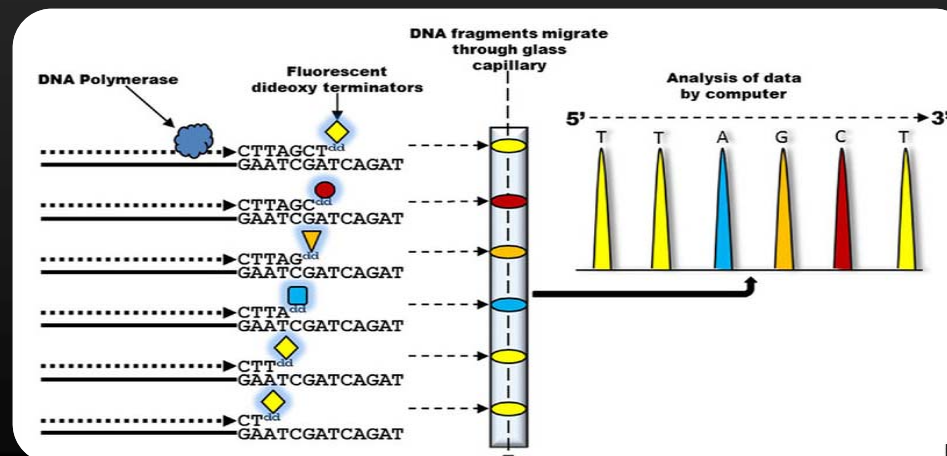
Rafał Olbiński

# Les débuts du séquençage...

## Polymerase chain reaction - PCR



Sanger - 1977



# La découverte de la 1<sup>er</sup> Polymérase

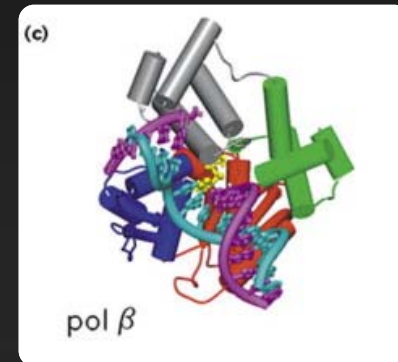
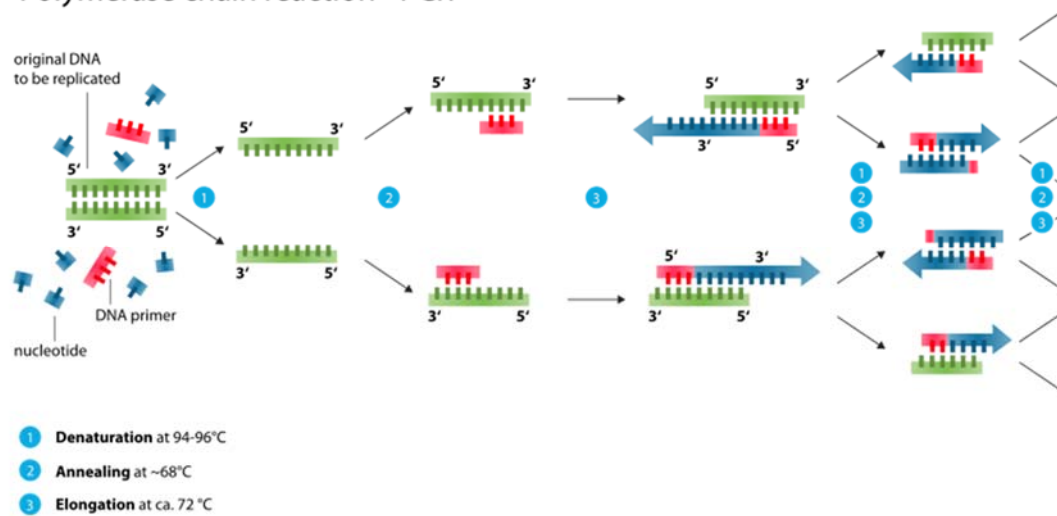
- Arthur Kornberg
  - Biochimiste américain
  - Prix Nobel de physiologie ou de médecine en 1959
  - Découverte des "mécanismes de la synthèse biologique de l'acide désoxyribonucléique (ADN).
  - En 1956, a isolé la première enzyme polymérisant l'ADN, maintenant connue sous le nom d'ADN polymérase I



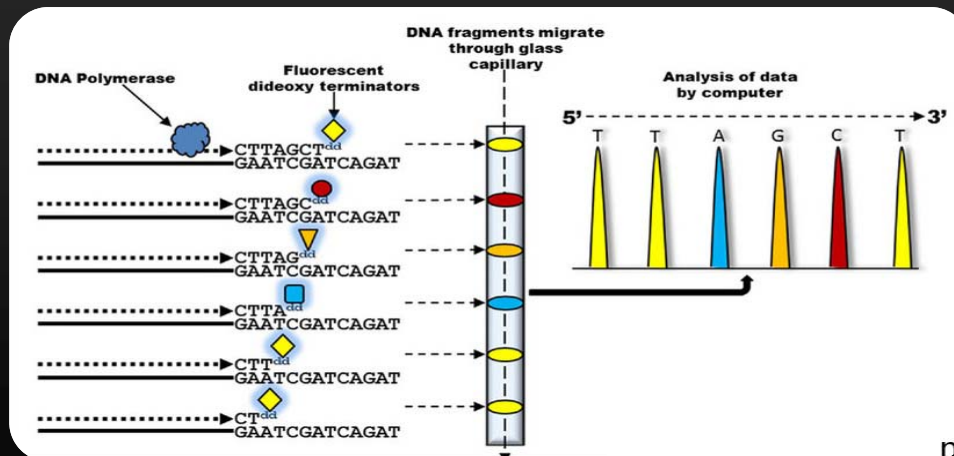
Arthur Kornberg

# Les débuts du séquençage...

## Polymerase chain reaction - PCR



1977



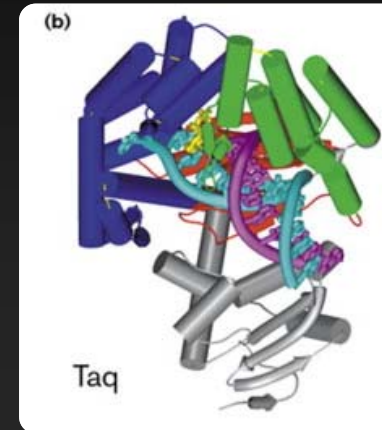
Polymérase dénaturée à chaque cycle

# Découverte de la Taq Polymérase

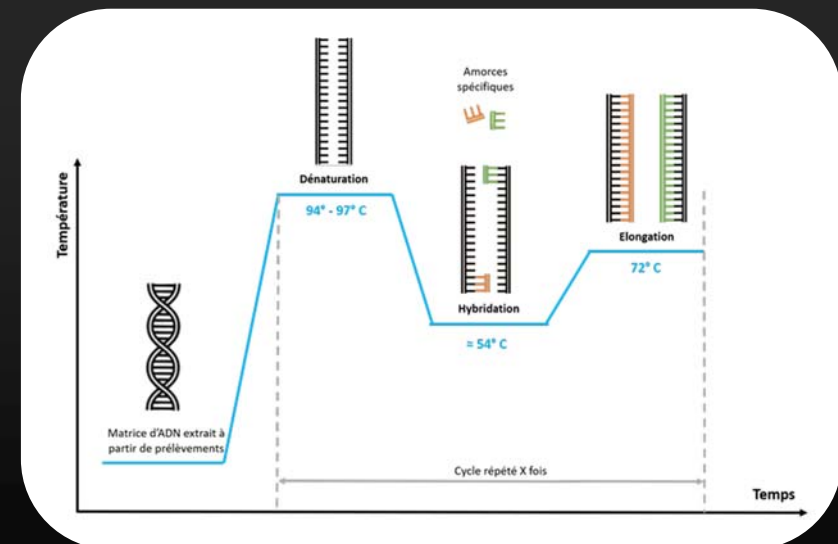
Kary Bank Mullis et Michael Smith ont mis en place l'industrialisation du processus

Taq polymérase

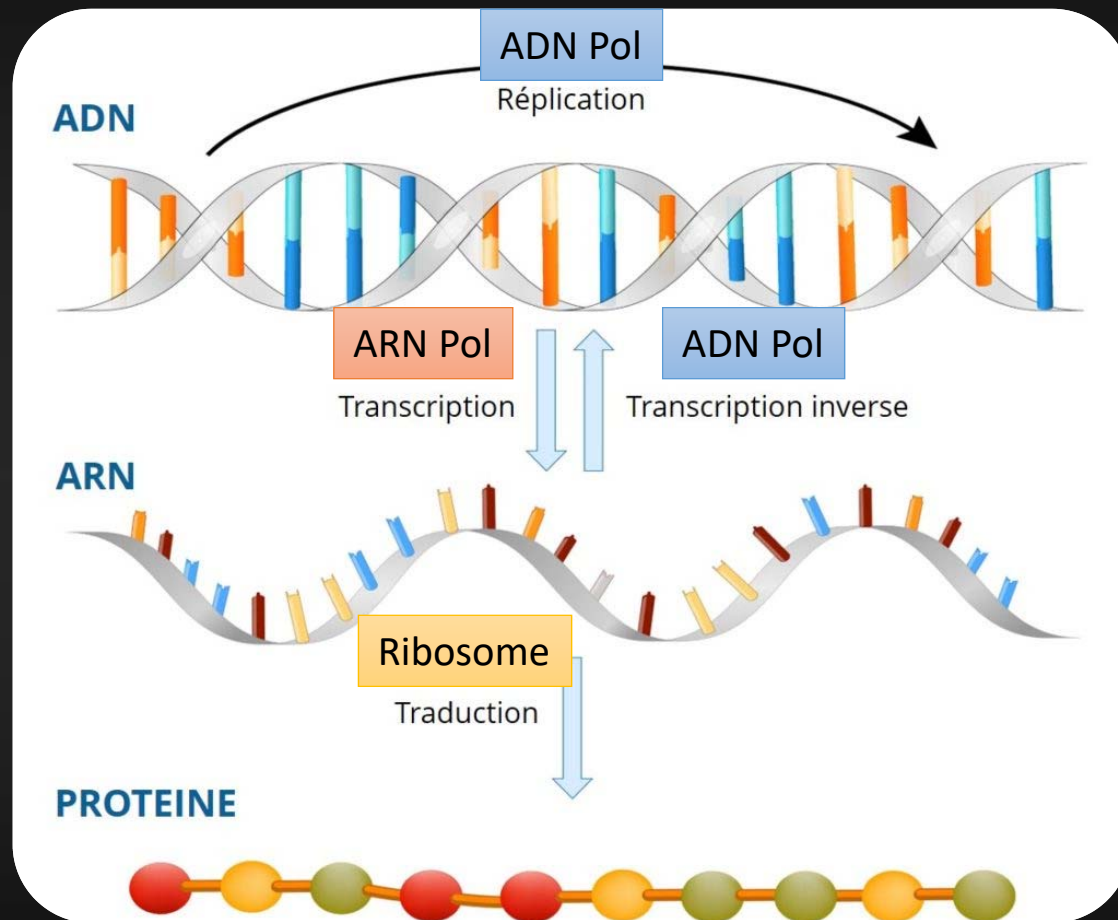
- ADN polymérase thermostable
- Micro-organisme « *Thermus aquaticus* »
- Isolée à l'origine par Chien et al. en 1976
- Température optimale d'activité 75-80 °C
- Elle peut répliquer un brin d'ADN de 1 000 paires de bases < 10 secondes à 72 °C
- Tout écart par rapport à la plage de température optimale inhibe la vitesse d'extension de l'enzyme



1989



# Différentes polymérases ADN/ARN





# Caractéristiques majeures

	ADN polymérase	ARN polymérase
Définition	synthétise ADN	synthétise ARN
Mécanisme	réplication - synthèse d'ADN	transcription - synthèse d'ARN
Brins	ADN double brin	ARN simple brin
Amorce	réplication est initié par une amorce d'ARN courte	pas besoin d'amorce
Base	Désoxyribose Thymine	Ribose Uracile
Fonctionnalité	polymérisation et relecture	polymérisation
Vitesse	<b>1000 nucléotides par seconde</b>	<b>40 à 80 nucléotides par seconde</b>

# ADN polymérase VS ARN polymérase

## ADN POLYMERASE

Procaryotes :

5 types, Pol I à V

Eucaryotes :

16 types, Pol  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ...

Et regroupées en 6 familles :

A, B, C, X, Y, RT

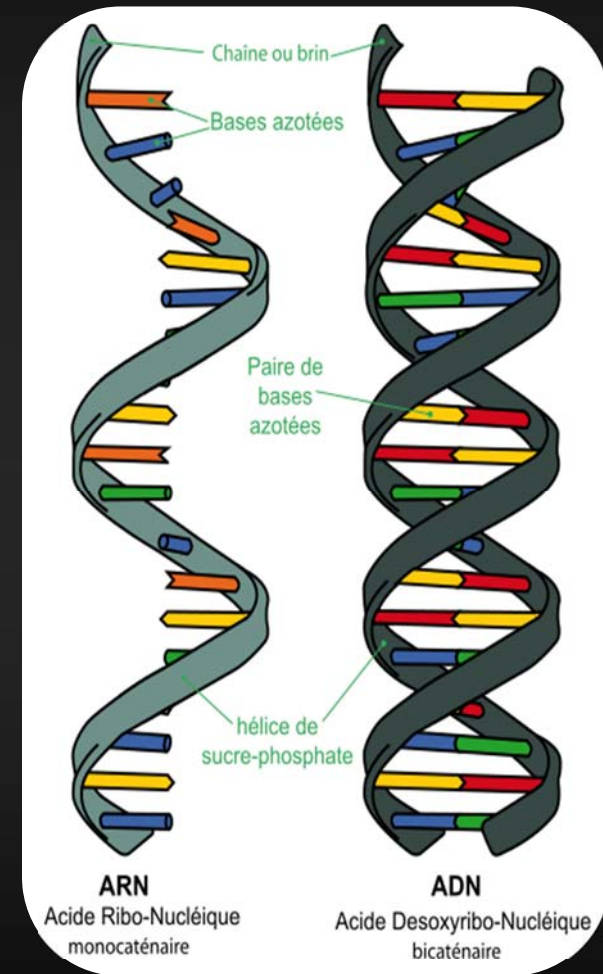
## ARN POLYMERASE

Procaryotes :

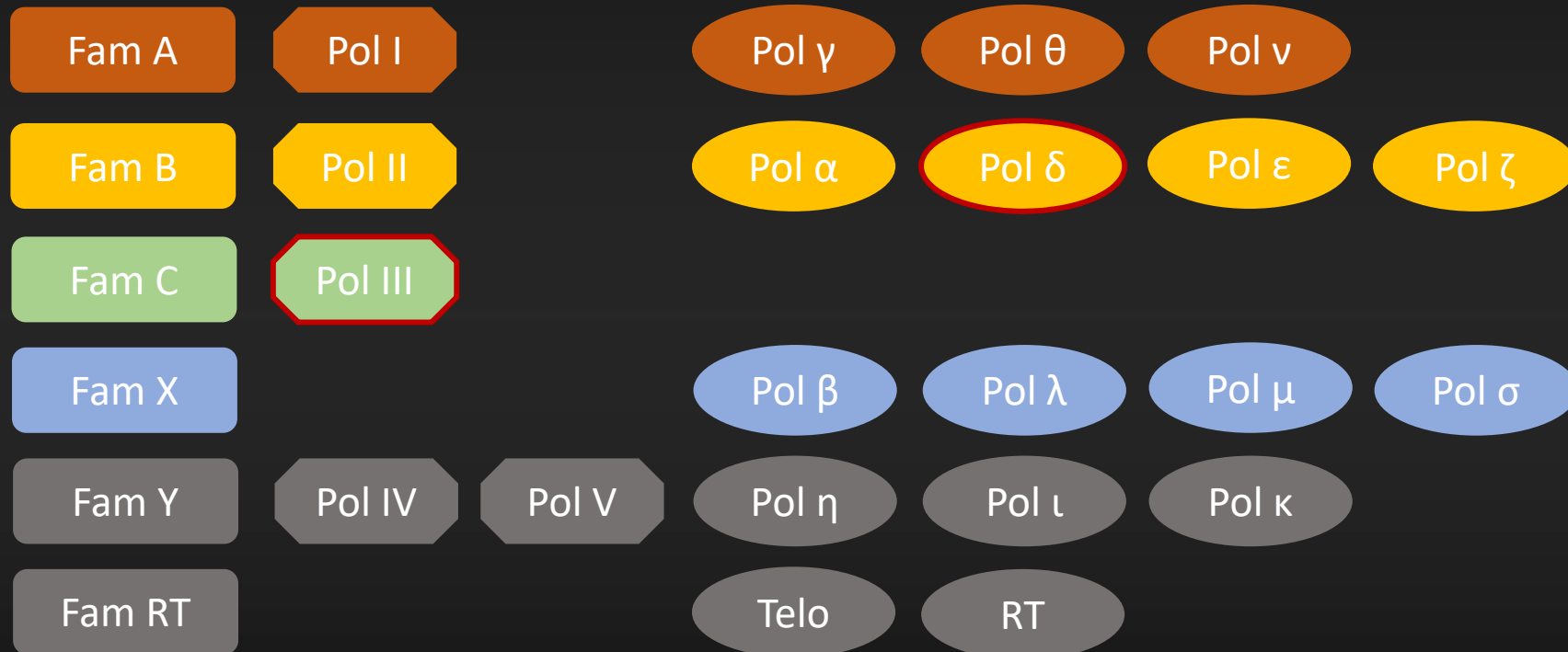
1 type,  $\alpha_2\beta\beta'\omega$

Eucaryotes :

5 types, de I à V



# ADN PolyméraseS



ADN polyméraseS spécialisées :

Tdt

Rev1

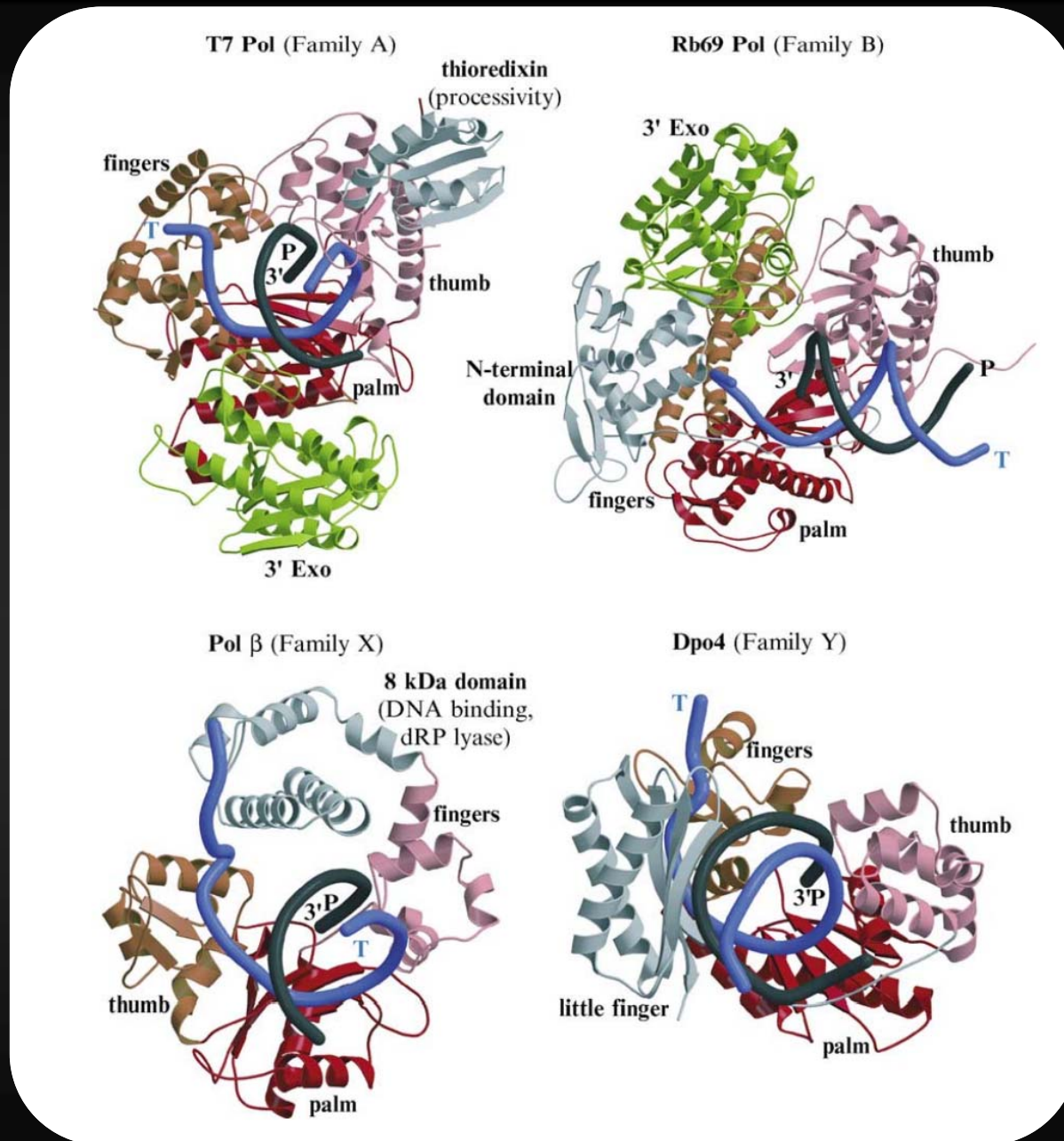


Illustration de différentes familles d'ADN polymérase

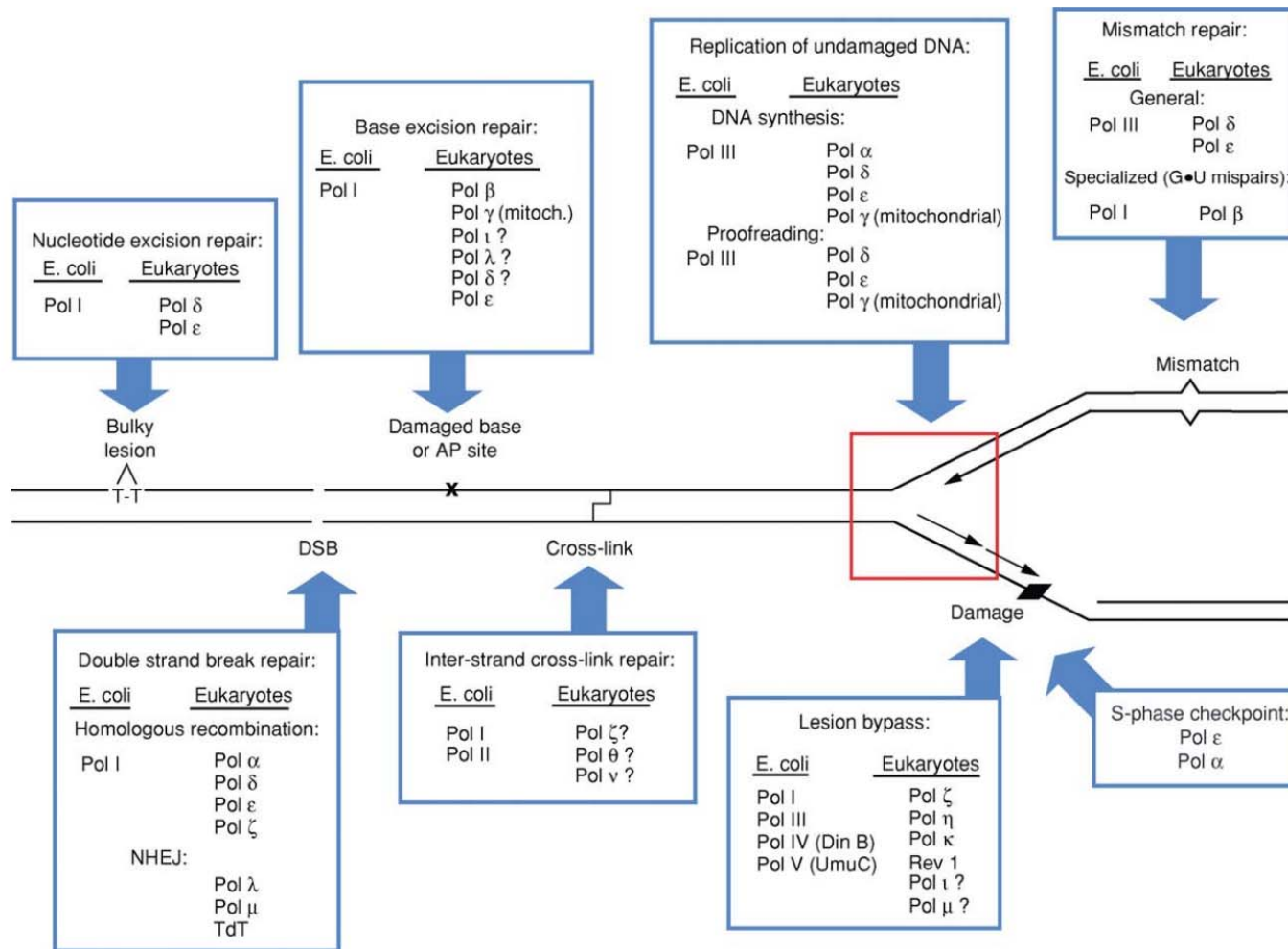
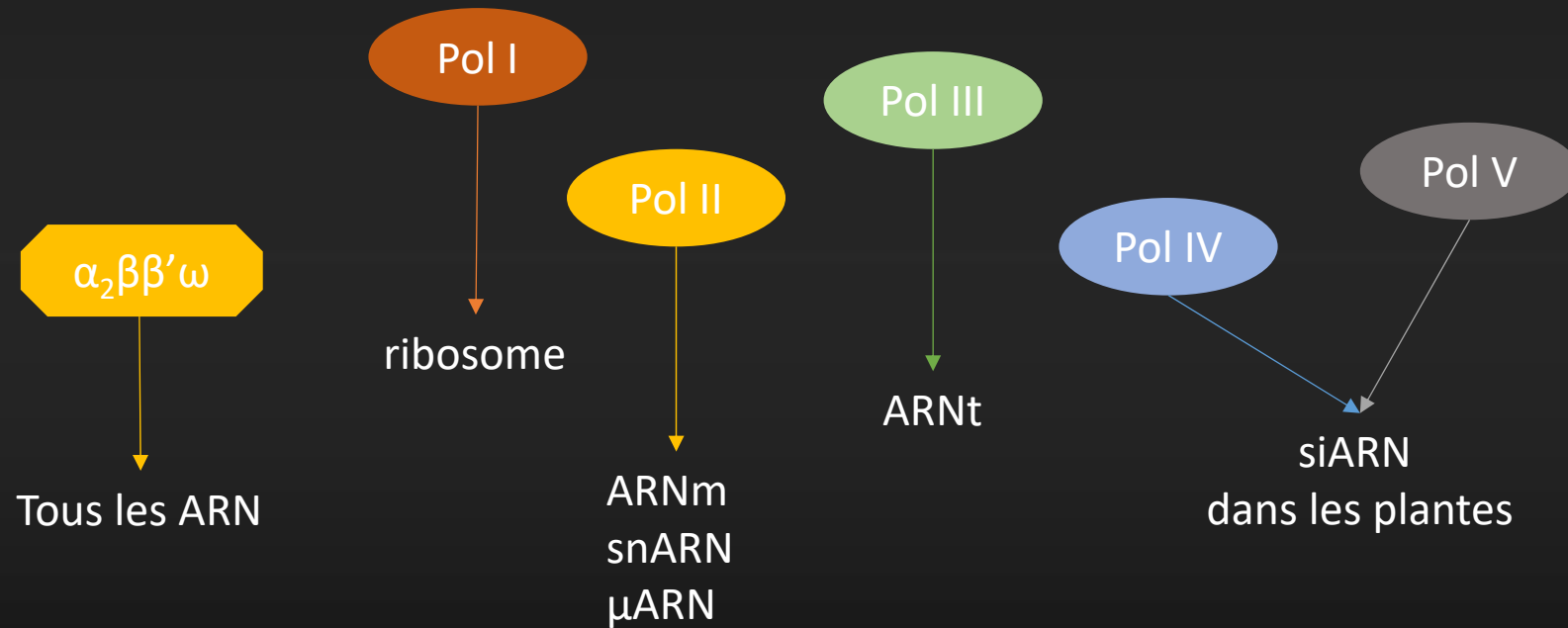


FIG. 4. DNA polymerases involved in DNA repair and replication. See text for description.

# ARN PolyméraseS



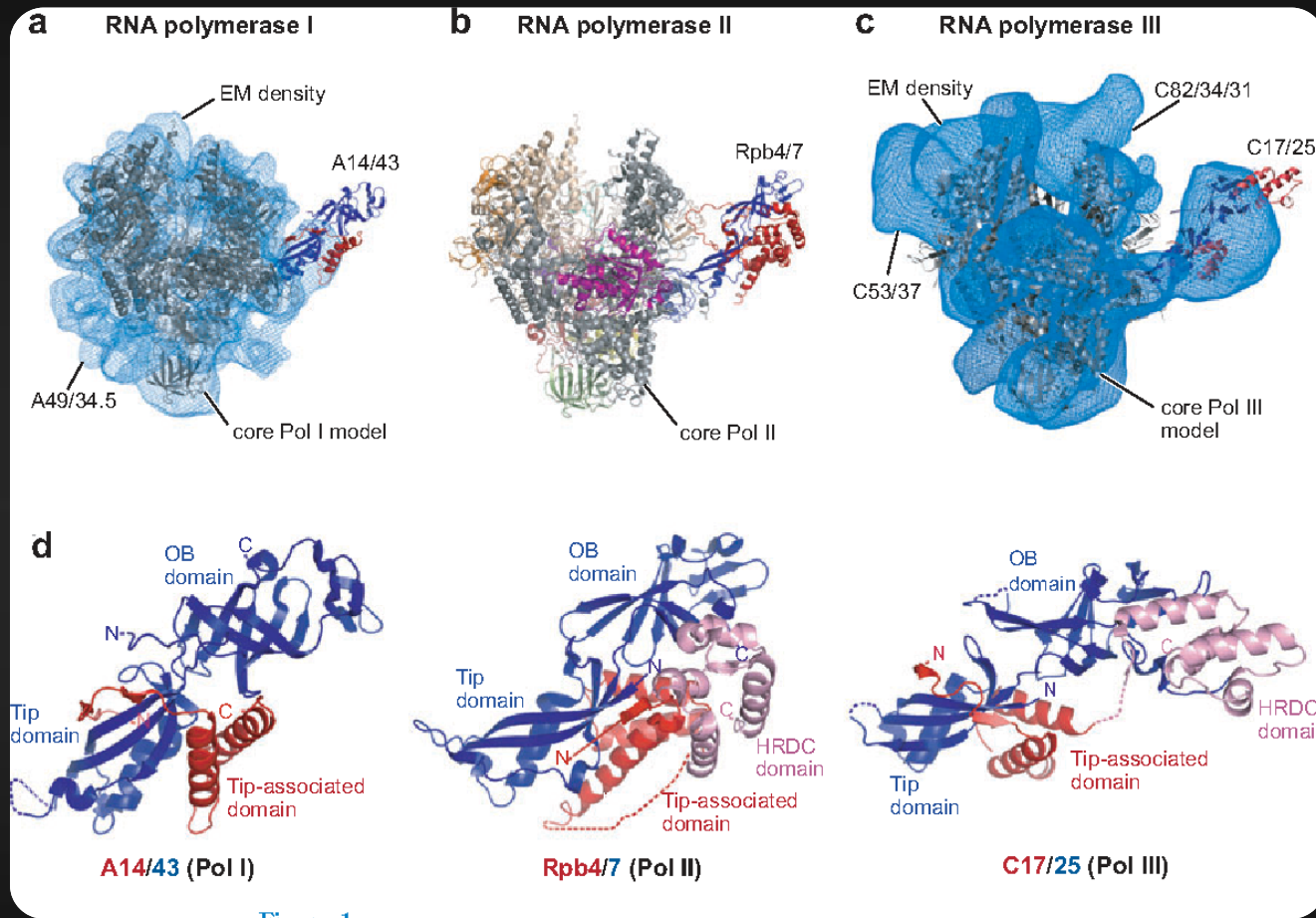
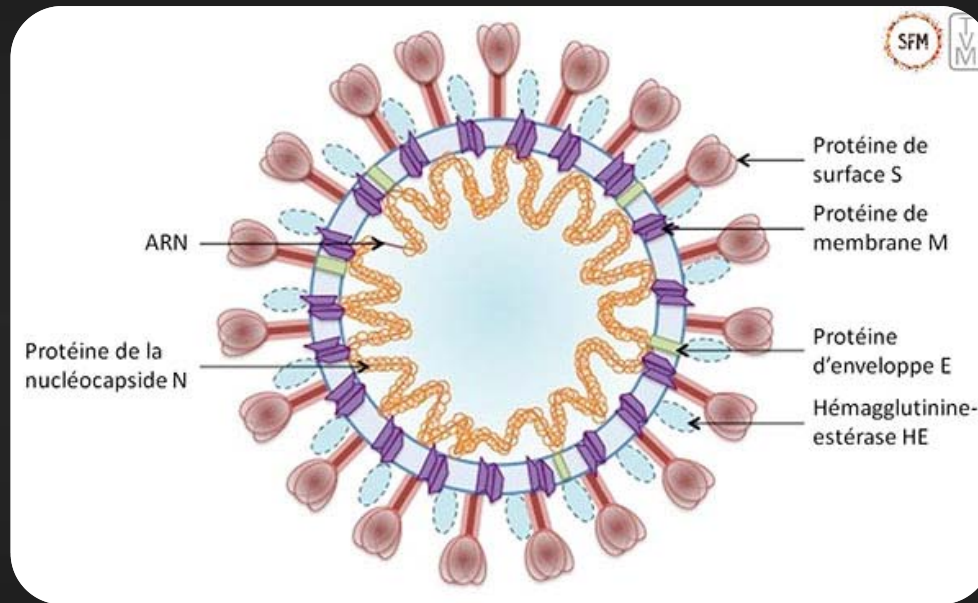


Illustration de différentes ARN polymérase

# SARS-CoV2



Queen Of Hearts  
Alice In Wonderland

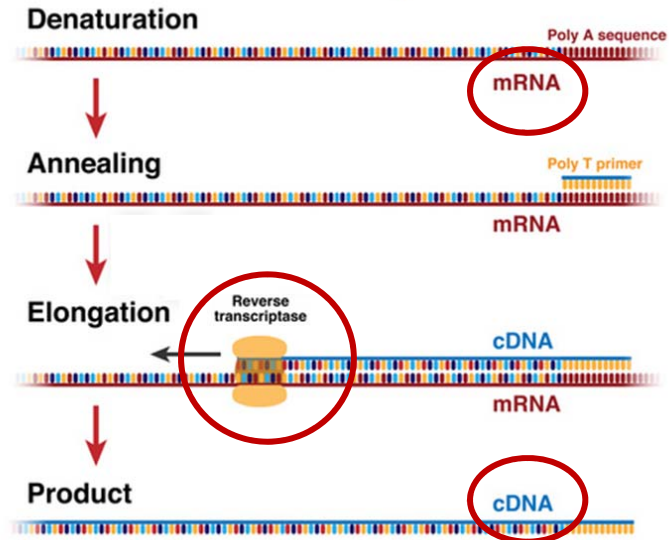


SARS cov2 est un virus à ARN

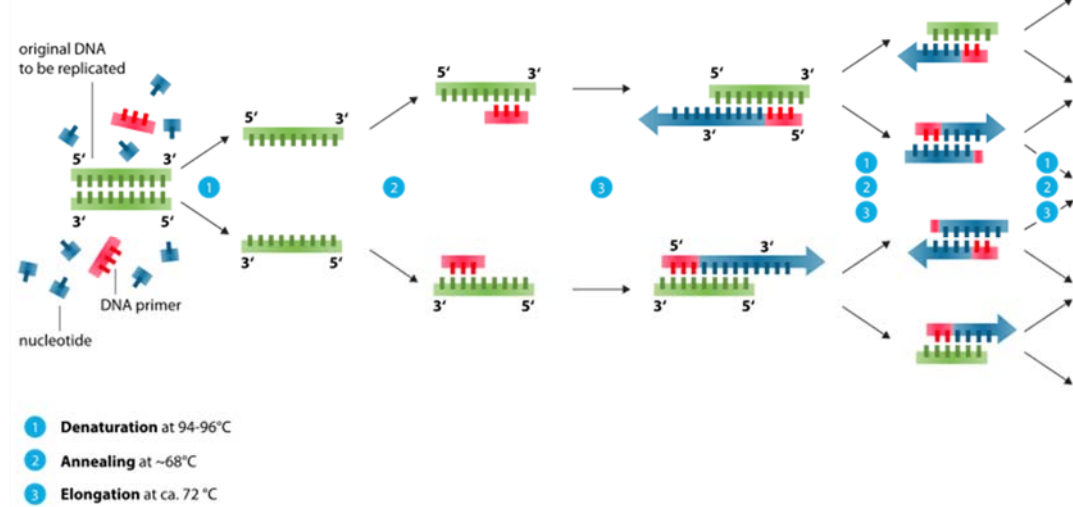


# RT-PCR = Reverse Transcription PCR

## Reverse Transcription PCR



## Polymerase chain reaction - PCR



« Tu as entendu ça Jean-Mi... »  
François Damiens : le guichetier

## Pourquoi la polymérase dans tous ses états ?

- Il s'agit d'un grand groupe d'enzymes différentes qui se complète encore actuellement.
- Présentes dans tout le monde du vivant.
- Souvent à tort rassemblées sous le terme générique de « polymérase ».
- Les actions de ces enzymes in vitro et in vivo dépendent de leur état : activées, inactivées, fonctionnelles ou dénaturées.
- Et de leurs états dépend le vivant dans son ensemble...

# Remerciements

Merci à tous pour votre attention



*Rafał Olbiński*

« Je ne suis rien, je le sais, mais je compose mon rien  
avec un petit morceau de tout. »

*Victor Hugo*