

## THESE

Présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Paris-sud

Ecole doctorale : Gènes, Génome, Cellules

**Spécialité : Aspect Cellulaire et Moléculaire de la Biologie**

**par**

**Boubekeur SAIFI**

**Présentée publiquement : 28/09/2012**

# **Caractérisation de *cycC*, un nouveau gène impliqué dans le programme de réplication d'*Escherichia coli***

Membres du jury :

- Rapporteur : M. Pierre BREZELLE, Maître de Conférences UVSQ
- Rapporteur : M. Marc NADAL, Professeur UVSQ
- Président : M. Michael DUBOW, Professeur UPSud
- Examineur : Mme. Bénédicte MICHEL, Directeur de recherche du CNRS
- Examineur : Mme. Kathrin MARHEINEKE, Chargée de recherche, CNRS
- Directeur de Thèse : M. Jean-Luc FERAT, Maître de Conférences UVSQ

## Remerciements

*En premier lieu, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Jean-Luc FERAT pour m'avoir permis de réaliser mon rêve, et soutenu tout au long de ces années, surtout pendant les moments difficiles. Merci pour tes conseils, ta disponibilité et pour toutes ces discussions scientifiques qui m'ont tellement apportés. Il est très agréable et enrichissant de travailler à tes côtés.*

*J'adresse un chaleureux remerciement pour la fondation Dina Surdin et particulièrement à madame Yolande Surdin-Kerjan présidente de la fondation, d'avoir financé mes 4 années de thèse.*

*Je remercie également François MICHEL, pour m'avoir accueilli dans son équipe, et les membres de l'équipe, Maria COSTA, et Dario MONACHELLO, pour leur soutien d'une façon ou d'une autre.*

*Je voudrais remercier Pierre BREZELLEC, Michael DUBOW, Bénédicte MICHEL, Marc NADAL et Kathrin MARHEINEKE pour l'honneur qu'ils me font de juger ce travail.*

*C'est l'occasion aussi de remercier le directeur du CGM Frédéric BOCCARD de m'avoir accueilli au sien du CGM, ainsi que toutes les personnes du CGM, qui m'ont soutenues au cours de ces 4 années de thèse, en particulier Bénédicte MICHEL pour ses précieux avis et conseils.*

*Je tiens aussi à remercier toute ma famille et en particulier, mes parents, mes frères et ma sœur pour leurs encouragements tout au long de ma thèse. Mes pensées vont aussi à tout mes amis.*

# Sommaire

## I) Introduction

<b>I-1) Le cycle cellulaire bactérien.....</b>	<b>6</b>
I-1-1) Coordination de l'initiation de la réplication avec la croissance de la cellule.....	6
I-1-2) La division cellulaire est couplée avec la réplication du chromosome.....	7
<b>I-2) La réplication du chromosome d'<i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>8</b>
I-2-1) Le replisome.....	9
A) La polymérase.....	9
B) Les facteurs annexes .....	10
B-1) La protéine SSB.....	10
B-2) L'hélicase (DnaB).....	13
B-3) La primase (DnaG).....	14
I-2-2) Gestion de la topologie de l'ADN au cours du cycle cellulaire.....	15
I-2-3) Ségrégation des deux chromatides sœurs à la fin de la réplication.....	17
A) La décaténation de l'ADN.....	17
B) La recombinaison XerCD .....	17
I-2-4) Redémarrage des fourches de réplication qui sont avortées.....	17
I-2-5) La réponse SOS.....	21
<b>I-3) Initiation de la réplication.....</b>	<b>21</b>
I-3-1) Initiation à <i>oriC</i> .....	21
A) <i>oriC</i> .....	21
B) Ouverture de l'origine de réplication d'ADN par DnaA et facteurs annexes.....	23
I-3-2) Initiation de la réplication indépendante d' <i>oriC</i> .....	25
A) Initiation à <i>oriK</i> (cSDR).....	25
B) Initiation à <i>oriM</i> : induite dans la réponse SOS (iSDR).....	28
<b>I-4) Mode de contrôle de l'initiation de la réplication à <i>oriC</i> .....</b>	<b>30</b>
I-4-1) Séquestration de l'origine de réplication par SeqA.....	30
I-4-2) Titration de la protéine DnaA sur les sites <i>datA</i> .....	32

I-4-3) Inactivation de DnaA pendant la réplication (système RIDA).....	33
I-4-4) Mécanisme de contrôle de l'initiation de la réplication chez les autres organismes.....	34
A) Contrôle de l'initiation chez <i>Bacillus subtilis</i> .....	34
B) Contrôle de l'initiation chez <i>Caulobacter crescentus</i> .....	34
C) Contrôle de l'initiation chez les Eucaryotes .....	35
I-4-5) Contrôle d'initiation de la réplication par DnaC.....	38
<b>I-5) Contrôle des initiations de la réplication lorsque les fourches avortent.....</b>	<b>40</b>
<b>I-6) CycC un candidat dans le contrôle du cycle cellulaire .....</b>	<b>41</b>
<b>II) <u>Résultats</u></b>	
<b>II-1) Présentation de CycC.....</b>	<b>44</b>
<b>II – 2) CycC et les Topoisomérases de type II.....</b>	<b>46</b>
II-2-1) L'hypersensibilité d'un mutant $\Delta cycC$ résulte du ciblage de Topo IV.....	46
II-2-2) Topo IV est impliquée dans la relaxation de l'ADN devant la fourche de réplication.....	50
II-2-3) L'activité de décaténation de Topo IV n'est pas affectée dans un mutant $\Delta cycC$ .....	53
II-2-4) La topologie de l'ADN n'est pas affectée dans un mutant $\Delta cycC$ .....	56
II-2-5) CycC n'affecte pas la vitesse de réplication.....	58
<b>II -3) CycC et le redémarrage des fourches de replication.....</b>	<b>60</b>
II-3-1) La sensibilité des cellules $\Delta cycC$ à la Novobiocine est contexte génétique- dépendant.....	60
II-3-2) Réactivation des RF dans un mutant <i>dnaC2</i> à température non- permissive.....	62
II-3-3) CycC est nécessaire pour redémarrer les fourches dans un mutant <i>dnaC2</i> .....	66

<b>II –4) CycC et l’initiation de la réplication.....</b>	<b>68</b>
II-4-1) L’hypersensibilité des cellules $\Delta cycC$ résulte d’un plus grand nombre de collisions des RF dans des adduits ADN :: Topoisomerase.....	68
II-4-2) L’augmentation du nombre de collisions des RF dans les adduits ADN :: Topoisomérase II dans un mutant $\Delta cycC$ n’est pas associée à la surinitiation de la réplication.....	70
II-4-3) CycC affect un stade précoce de l’initiation de la réplication.....	75
II-4-4) Le complexe ouvert est déstabilisé dans un mutant $\Delta cycC$ .....	125
<b>II-5) CycC et HupA forment une cassette génétique.....</b>	<b>128</b>

### **III) Discussion et perspectives .**

III-1) Discussion.....	132
III-2) Modèle .....	135
III-3) Perspective .....	136

### **IV) Annexes ......139**

### **V) Références Bibliographique.....142**