

# Réparation de l'ADN

## Généralités

### Premières notions

Pourquoi une réparation sophistiquée de l'ADN et pas de l'ARN ?

- ⇒ Dans une cellule somatique il n'y a que deux allèles (copies) d'un gène donné et qui se transmettent.
- ⇒ Alors que beaucoup de molécules d'ARN sont produites et ne se transmettent pas.

Taux d'erreurs dans un brin non corrigé : en moyenne entre  $10^{-4}$  à  $10^{-7}$

Après passage des systèmes de réparation : en moyenne  $10^{-9}$  (une base endommagée sur  $10^9$ )

# Les altérations de l'ADN

## Origine des altérations

Deux grands types d'altérations :

- Les altérations d'origine **endogène** : dues aux mécanismes de réplication ou aux réactions secondaires du métabolisme cellulaire.
- Les altérations d'origine **exogène** : dues à des agressions externes (UV, radiations, chaleur, fumée, toxiques alimentaires, etc...)

## Les erreurs induites au cours de la réplication

Elles sont dues au caractère imparfait de l'activité de correction des ADN polymérase (*endogène*).

- ⇒ En absence de réparation, les polymérase font en moyenne un taux d'erreur de  **$10^{-5}$**  (une base endommagée sur  $10^5$ )

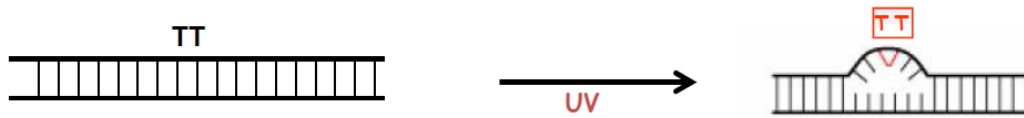
## Les erreurs survenant en dehors de la réplication

- Causes physiques

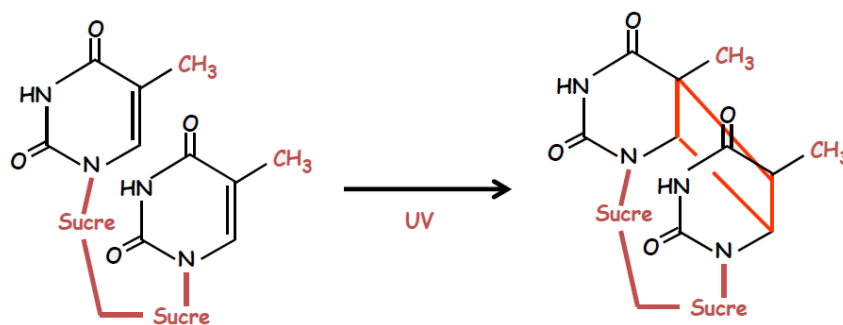
### Rayonnements électromagnétiques de type UV (exogène)

Exemple : dimères de thymine (voisines) dus à l'action des UV du soleil

Exposition forte aux UV : plusieurs milliers de dimères / cellule / heure.

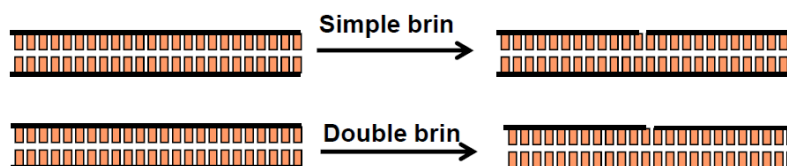


Structure des dimères de thymines voisines (même brin) par formation d'un cycle cyclobutane



### Rayonnements ionisants (radioactivité), rayons X (exogène)

Exemple : Cassures des brins dues aux rayonnements ionisants



### La chaleur (exogène)

Suspicion de cancers dus aux boissons trop chaudes.

- **Causes chimiques**

Agressions chimiques inhérentes au métabolisme de la cellule.

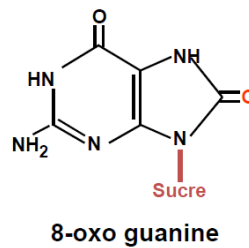
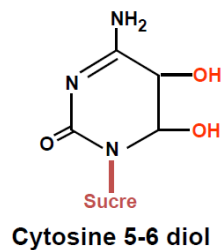
Effets secondaires des intermédiaires réactionnels du métabolisme (*endogène*).

- Oxydations
- Alkylations
- Désaminations oxydatives

**Oxydations diverses** (plus de 100 connues) dues à l'action des espèces oxygénées réactives suivantes :

- Anion supéroxyde  $O_2^{\bullet -}$
- Radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$
- Péroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$
- Produits de peroxydation lipidique

Deux exemples de bases oxydées

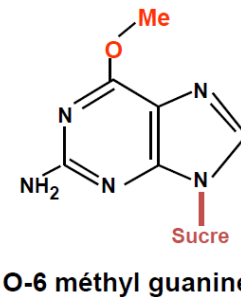


Remarque : les radicaux libres peuvent aussi provoquer des cassures de brin

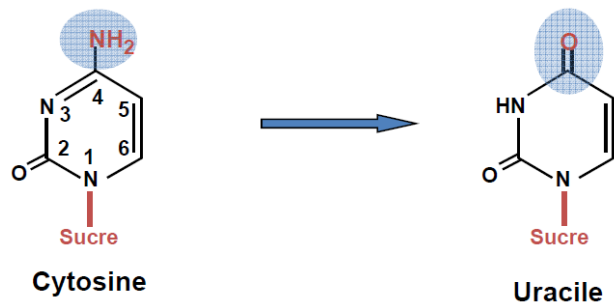
**Alkylations** (ex : les méthylations)

Exemple d'une base méthylée

On la retrouve dans les traitements chimiothérapeutiques.

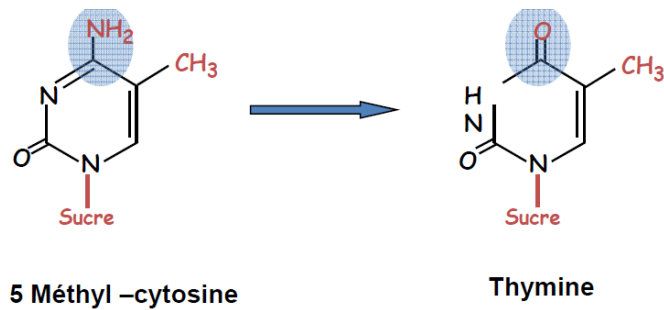


## Les désaminations oxydatives



Habituellement l'uracile se trouve dans l'ARN !!!

U est une base généralement **anormale** de l'ADN : elle est facilement reconnue et généralement réparée.



Les 5 méthyl-cytosines se trouvent sur les motifs CpG méthylés.

T est une base **normale** de l'ADN :

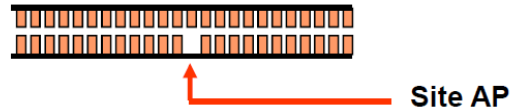
- ⇒ La réparation sera un petit peu moins efficace
- ⇒ Diminution de la densité des motifs CpG au cours de l'évolution (si non réparation)

### Rupture spontanée de certaines liaisons (endogène)

La coupure de la liaison entre base et sucre conduit à des sites « abasiques » : **AP** (apuriques ou apyrimidiques).

C'est la dépurination qui prédomine (au total 10 000 sites /24h/cellule).

#### Base manquante



La présence d'un site AP rend l'ADN plus fragile : favorise les cassures simples brin au niveau de ce trou.

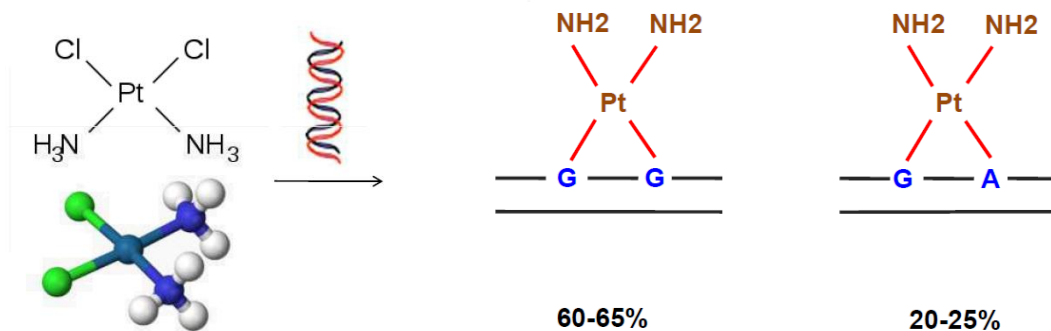
### Agressions chimiques externes (exogène)

- **Nitrosamines** : retrouvés dans la fumée, la nourriture
- **Aflatoxines** (aspergillus) : retrouvées dans la nourriture qui a été stockée
- **Benzo (a) pyrène** : retrouvé dans les grillades, la fumée de cigarette

### Adduits intrabrins dus à l'utilisation du cis-platine

Cis platine utilisé en chimiothérapie anticancéreuse (blocage de la répliation de l'ADN)

Fixation sur N<sup>7</sup> des purines



## Conséquences des altérations

### ⇒ **Blocage de la transcription**

Va induire une réparation couplée à la transcription (**TCR**) qui réparera préférentiellement les gènes transcrits.

### ⇒ **Blocage de la réplication**

Certaines polymérase spéciales (eucaryotes) vont intervenir et passer « **par-dessus** » certaines erreurs pour débloquer la réplication.

## Vue d'ensemble des stratégies de réparation

### Réparation directe des bases (sans action de la polymérase)

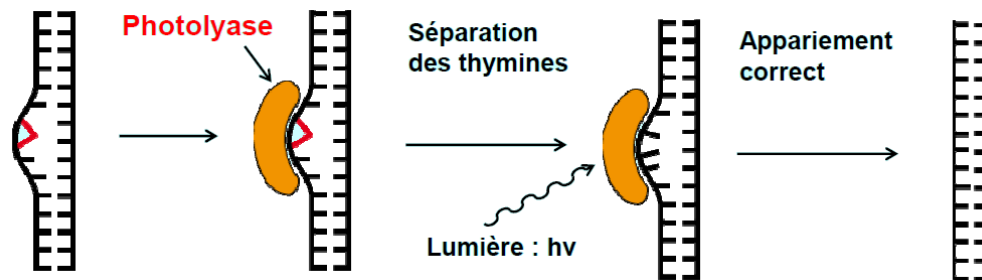
Concerne certaines modifications très particulières des bases :

- Dimères de thymine (procaryotes)
- Certaines alkylations (ex : O<sup>6</sup> méthyl guanine)

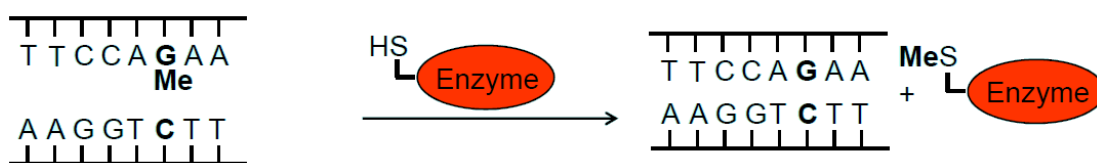
Ces mécanismes sont limités à quelques altérations bien précises.

### Exemples

Une partie des dimères de thymine sont réparés directement par photoréactivation (**procaryotes uniquement**).



Réparation par la O<sup>6</sup>-méthyl guanine méthyl transférase, MGMT (**pro et eucaryote**)

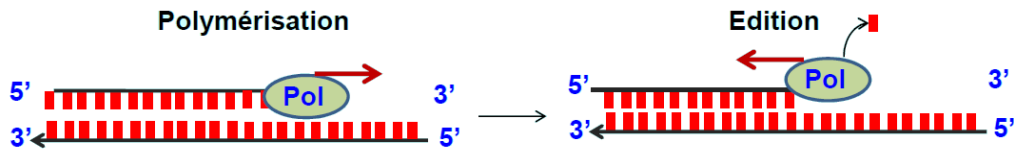




## Erreurs produites par les polymérase durant la réplication

### Fonction « d'édition » des polymérase

Si un mauvais nucléotide s'incorpore à la chaîne, la polymérase recule et utilise son activité exonucléase de 3' vers 5' pour le retirer (hydrolyse).



Chez Coli, les trois polymérase (Pol I, II, III) possèdent cette fonction de correction. Cette activité de correction fait passer le taux d'erreur de  $10^{-5}$  à  $10^{-7}$ .

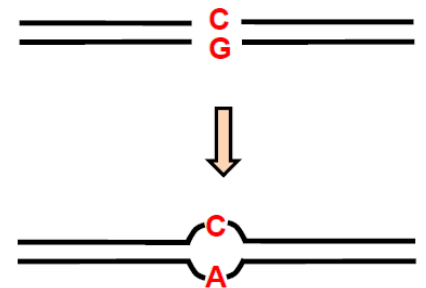
## Mécanismes de réparation des mésappariements (MMR)

**Mésappariements** : formés par deux nucléotides non complémentaires l'un en face de l'autre.

Mésappariements dus à :

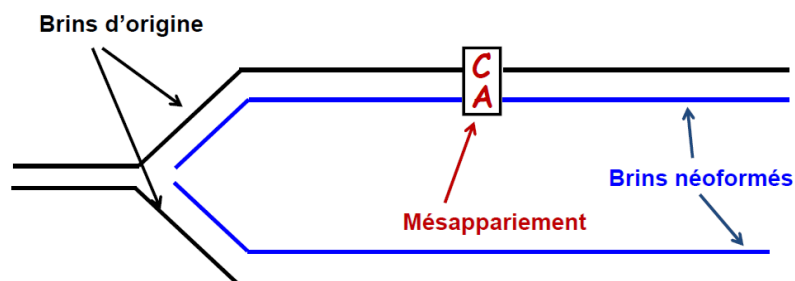
- Des erreurs de polymérase (juste après la réplication)
- Tautomères de bases (en cours de réplication)

⇒ **Réparation MMR**



Les mésappariements dus à des erreurs des polymérase qui n'ont pas été corrigées par la fonction d'édition subsistent après passage de la fourche de réplication.

**Problème de cette réparation** : le système MMR qui arrive sur place (après passage de la fourche de réplication) ne sait pas quel brin est porteur de la mauvaise base.



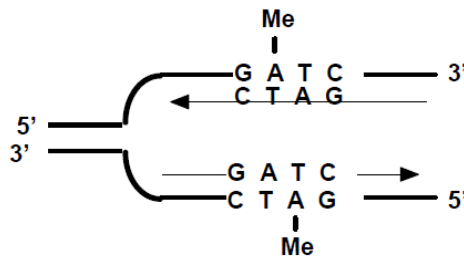
Des signaux de reconnaissance des brins vont permettre de distinguer le brin d'origine du brin néoformé.

## La réparation chez les procaryotes

Chez E. Coli, la Dam-méthylase (Désoxyadénosine méthylase) méthyle l'azote fixé sur le C6 des adénines du motif : **5'-GATC-3'**

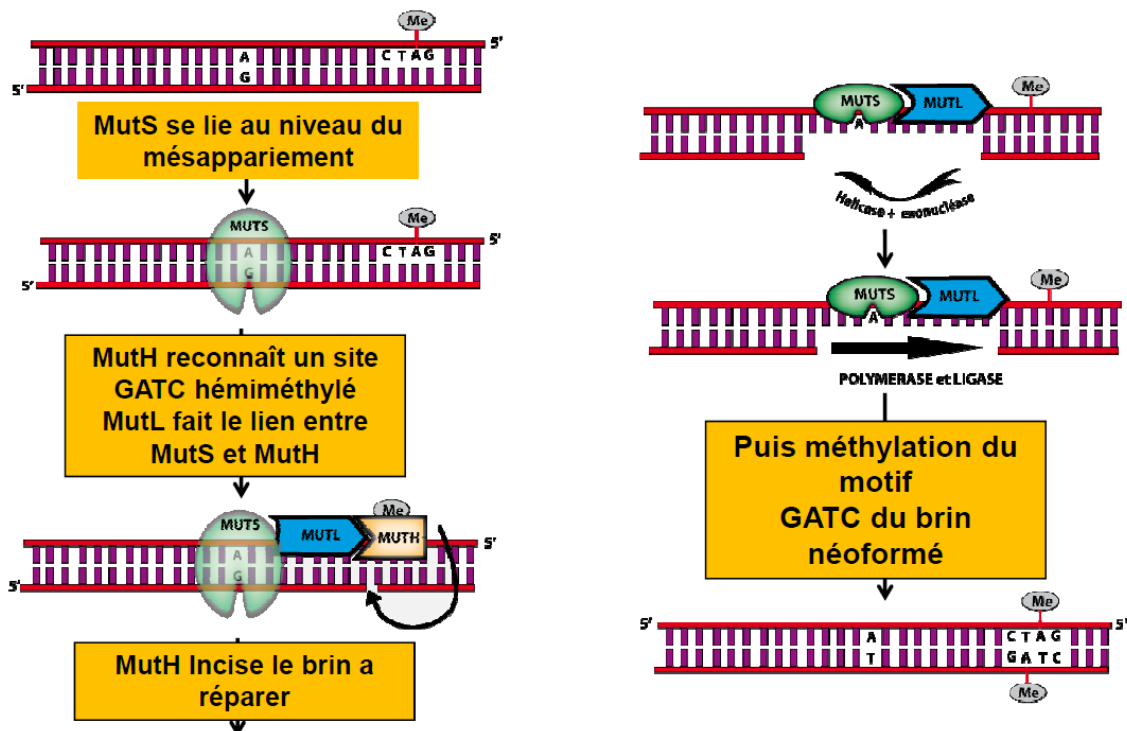
Au moment de la réplication, le brin matrice est déjà méthylé.

La méthylation sur le brin néoformé s'effectuera avec un certain retard, ce qui, durant ce laps de temps permettra de distinguer les deux brins.

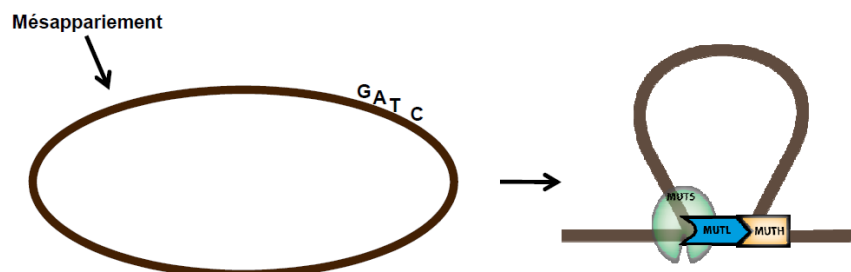


**MMR chez les eucaryotes** : Le système de reconnaissance serait basé sur la présence de « trous » (absence de liaison phosphodiester) sur le brin néoformé.

## Mécanisme de réparation MMR chez les procaryotes



Si le motif GATC est loin du mésappariement, l'ADN forme une boucle pour rapprocher MutS et MutH.



## Mécanismes de réparation par excision de base (BER)

Principe : protection des effets secondaires du métabolisme cellulaire.

Réparation de lésions simples des bases (sans déformation de l'ADN) :

- Oxydations
- Alkylations
- Désaminations
- Sites AP

Réparation des cassures simple brin (notamment dus aux sites AP)

⇒ **Réparation BER par excision de bases**

Création d'une brèche limitée à un ou plusieurs nucléotides dans l'ADN.

Réparation couplée ou non à la transcription.

### Les glycosylases

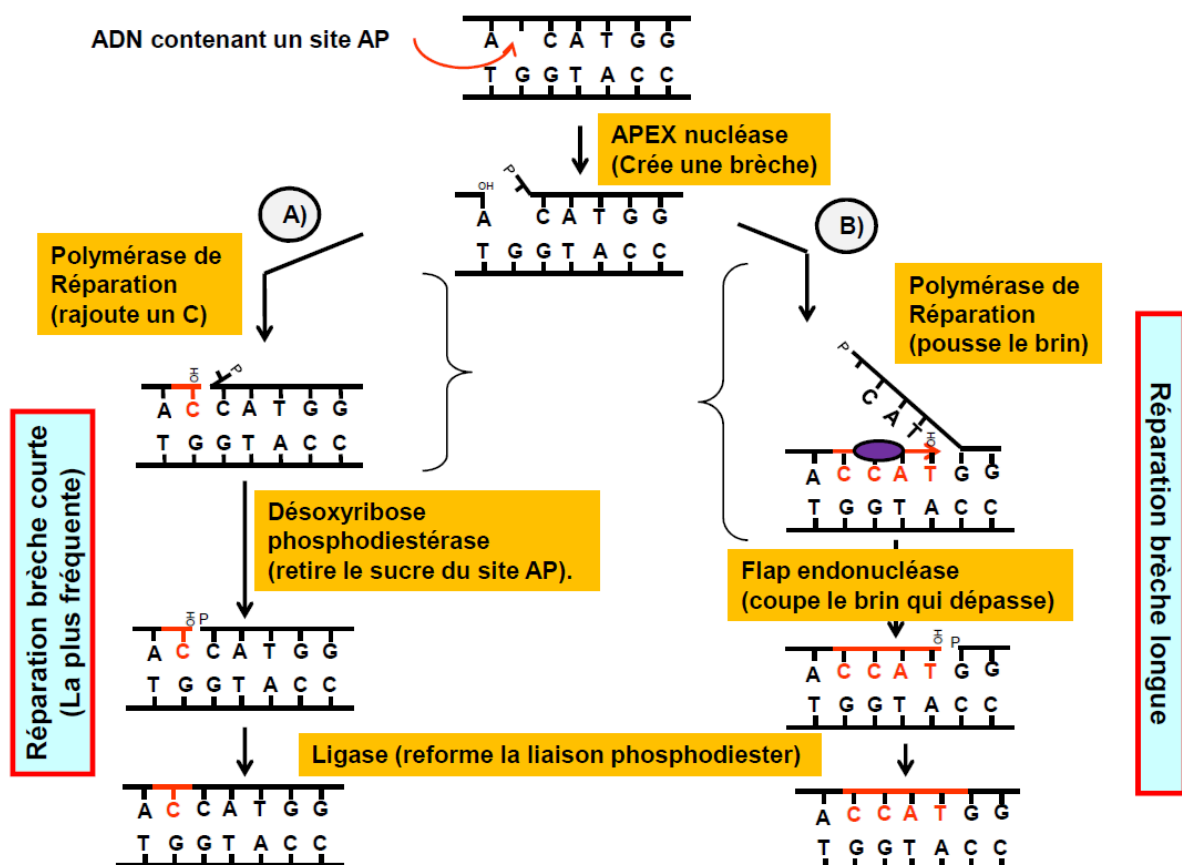
Enzymes qui vont reconnaître une base anormale (ex : uracile), l'extirper de la double hélice d'ADN en coupant la liaison entre une base de son sucre, créant un site AP (site apurique ou apyrimidique).

La présence du site AP va « attirer » le système BER de réparation.

### Mécanisme de réparation BER chez l'Homme

Le système brèche longue se met en route lorsque le système brèche courte subit une déficience (par exemple, lorsqu'il n'arrive pas à retirer le sucre).

Flap endonucléase : FEN 1



## Mécanismes de réparation par excision de nucléotides (NER)

Réparation de lésions volumineuses (déformation de l'ADN)

- Dimères de thymine (UV)
- Adduits intrabrinés (Cis platine)

⇒ **Réparation NER par excision de nucléotides**

Ici tout un morceau d'ADN sera retiré par une double incision.

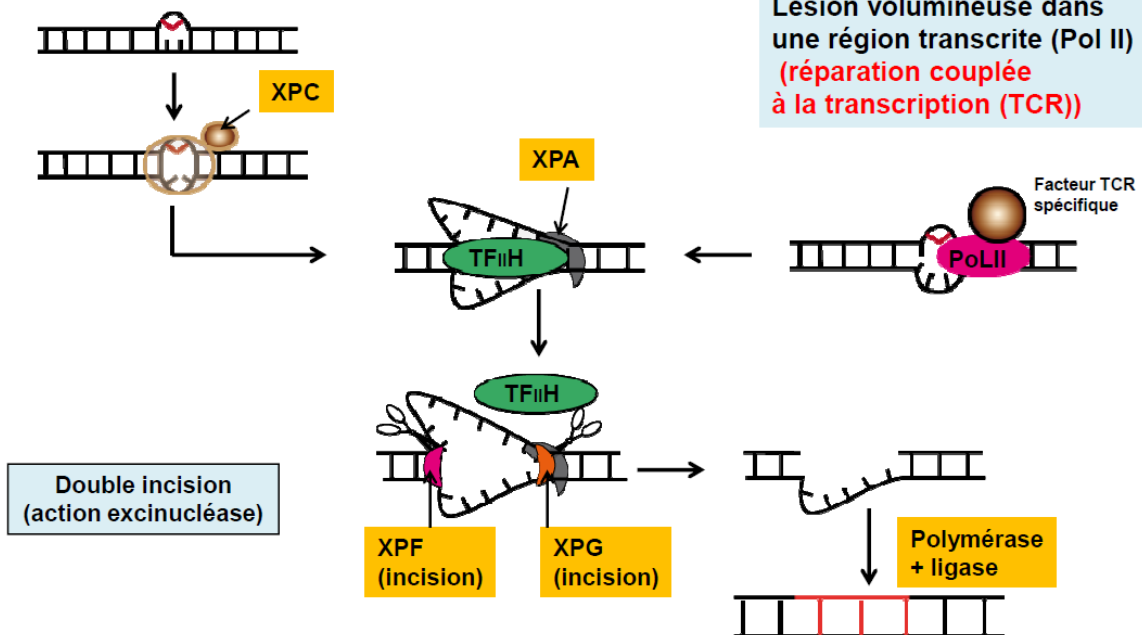
Réparation globale (GR) : sur des zones d'ADN quelconques.

Réparation couplée à la transcription (TCR) : sur des zones d'ADN transcrites.

### Mécanisme de réparation NER chez l'Homme

Pol II recrute le facteur TCR spécifique

Lésion volumineuse dans une région non transcrite (**réparation globale (GR)**)

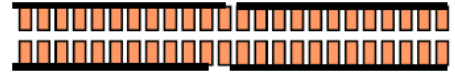


Ce système NER est le système majeur de **résistance aux chimiothérapies** qui utilisent le Cis platine.

## Mécanismes de réparation des cassures double brin

Réparation des cassures doubles brin dues aux :

- Rayonnements
- Agents anti tumeur
- Radicaux



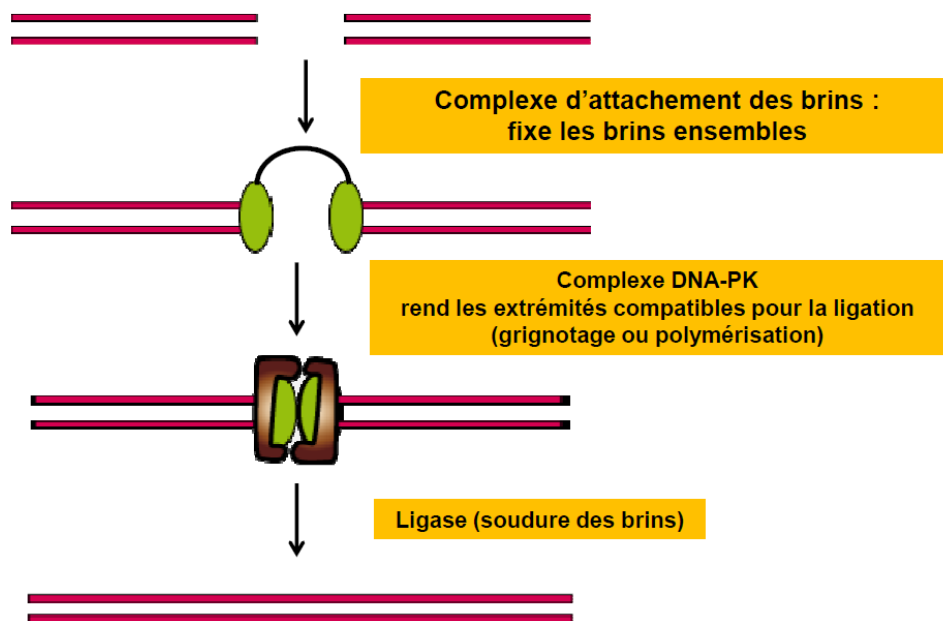
⇒ **Réparation NHEJ ou RH**

Ligation directe des brins ou recombinaison homologue

- **Réparation par ligation directe des brins (NHEJ)**

**DNA-PK** : protéine kinase dont l'activité est stimulée par l'ADN

Permet de faire une coupure nette lorsque celle-ci ne l'est pas (contrairement au schéma ci-dessous)

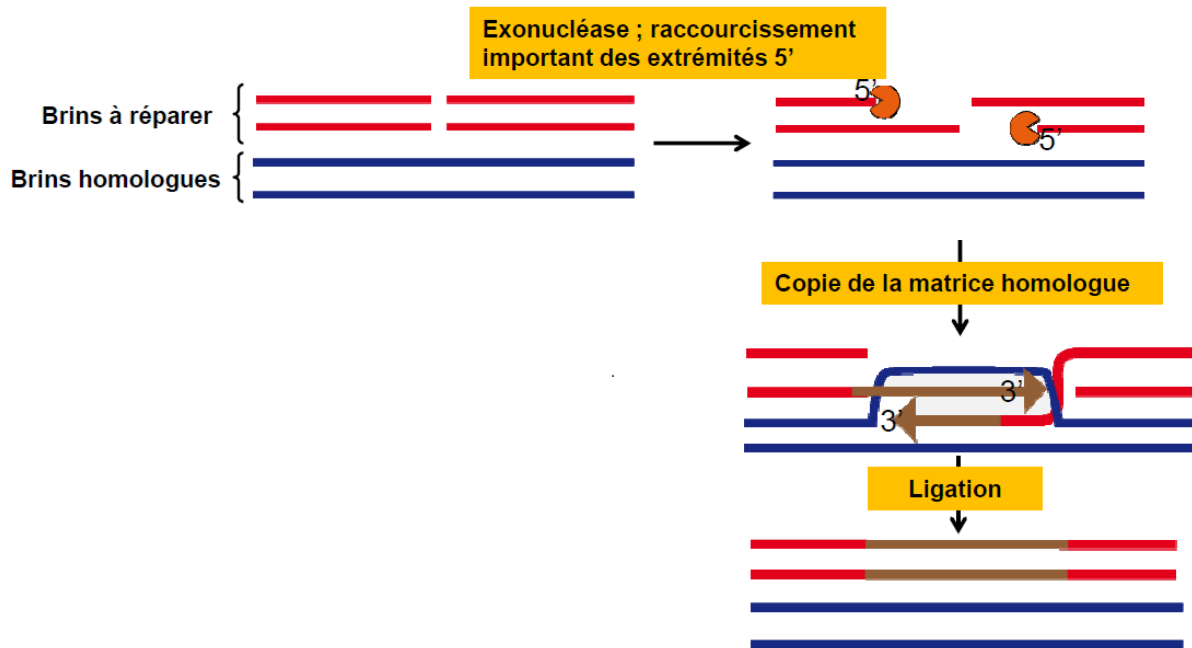


Système rapide, **prépondérant chez l'homme**, mais provoque parfois la perte de quelques nucléotides (manque de fidélité).

Il peut ressouder tout type de double brin quelque soit la cassure.

Fonctionne plutôt durant la phase G1 (en dehors de la réplication).

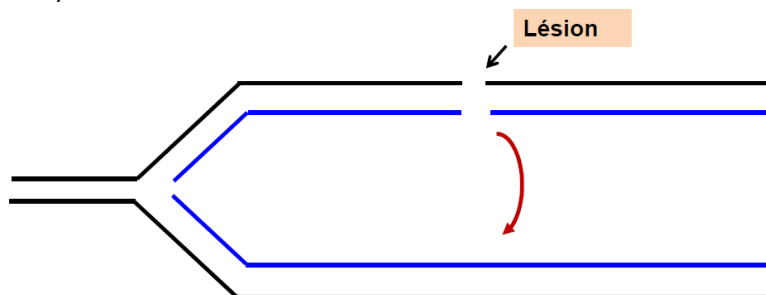
- Réparation par recombinaison homologue



Réparation majeure pour les cassures double brin chez les **procaryotes et la levure** juste après réplication.

Système lent mais en théorie ne génère pas de perte de nucléotides.

Mise en place surtout durant la phase S et G2 du cycle cellulaire (par exemple au niveau d'une fourche de réplication).



Recombinaison homologue avec le duplex intact qui servira de matrice « saine ».

## Maladies dues à un défaut de réparation

Deux maladies dont les effets sont assez différents et qui impliquent des gènes du NER.

### ▪ **Xeroderma Pigmentosum**

Défaut du NER (gènes XP) appelée autrefois maladie de la lune

- Hypersensibilité aux UV : création de dimères de thymines
- Cancers précoces de la peau (de l'ordre de 1000 fois plus fréquents)
- Vieillesse prématurée de la peau

### ▪ **Syndrome de Cockayne**

Variante de défauts des gènes XP

- Protéines en parties impliquées dans le « TCR »
- Effets surtout sur la croissance (retardée avec apparence de sénilité précoce)
- Absence de cancérisation excessive