Faculté de médecine d'Alger

Enseignement de génétique 2ème année de Médecine

2020-2021

Les systèmes de réparation de l'ADN.

Pr Chikouche Ammar

Plan

- 1 Lésions ou dommages de l'ADN
  - 1.1 Lésions endogènes sans agents exogènes.
  - 1.2 Les différents agents mutagènes.
  - 1.3 Les différents types d'altérations de bases.
- 2 Utilité de la réparation des lésions de l'ADN.
- 3 Description des mécanismes de réparation de l'ADN chez les procaryotes et eucaryotes
  - 3.1 Système de réparation sur épreuve.
  - 3.2 Réparation par réversion des lésions.
  - 3.3 Réparation par excision de bases (système BER).
  - 3.4 Réparation par excision de nucléotides (système NER).
  - 3.5 Réparation d'une cassure du double brin d'ADN.
  - 3.6 Réparation par recombinaison.
  - 3.7 Réparation de mésappariements.

INTRODUCTION :

- La réplication et la conservation de la structure primaire de l'ADN peuvent, dans certains cas, ne pas être parfaites.

- La réparation vise soit à arranger des bases modifiées soit à remplacer des bases ou un nucléotide soit carrément un fragment d'acides nucléiques.

1. Lésions ou dommages de l'ADN

- Les lésions de l'ADN sont
  - soit endogènes sans agents exogènes,
  - soit provoquées par des agents pathogènes (ou mutagènes) qui peuvent être physiques ou chimiques.
- Les **agents mutagènes** sont des agents capables de produire des lésions de l'ADN par effet direct ou indirect.
- Les **agents mutagènes physiques** correspondent aux rayonnements X ou γ, aux rayonnements UV et à la chaleur.
- Les **agents mutagènes chimiques** sont essentiellement sous la forme de radicaux super-oxydes (O2-) qui peuvent oxyder de manière non catalytique les molécules biologiques et les engager dans des réactions chimiques incontrôlées.

1.1. Lésions endogènes sans agents exogènes

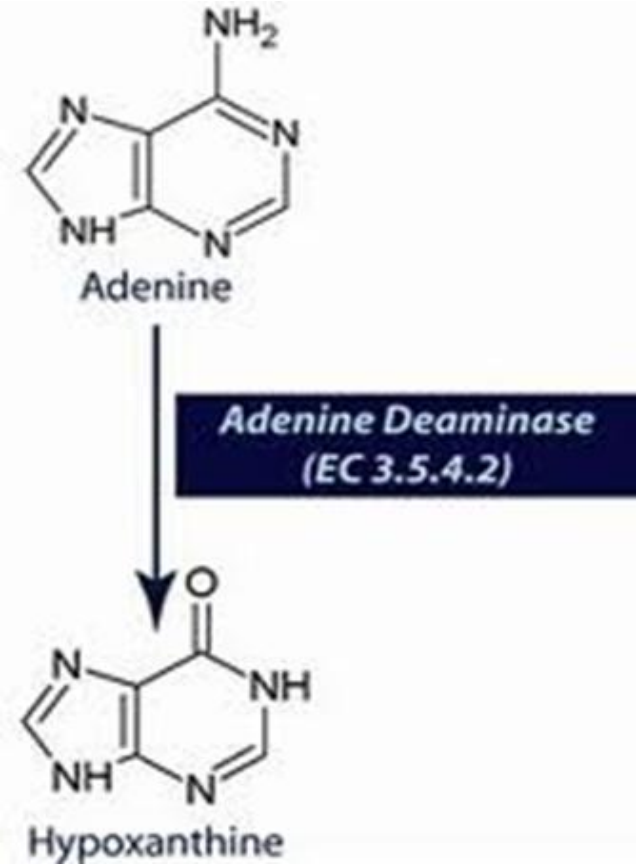
- Ces lésions ne sont pas soumises à des agents exogènes et sont ponctuelles.
- Au cours même de la réplication des erreurs peuvent se produire, vu la vitesse de la réplication et le nombre important de nucléotides qui entrent en jeu.
- L'erreur de réplication est de 1 nucléotide / 10^9.
- On observe :
- **Des mauvaises incorporations de bases :** association de l'adénine avec la cytosine et de la thymine avec la guanine…
- **Des dépurinations et dépyrimidations** qui correspondent à des pertes de bases par hydrolyse de la liaison β-N-glycosidique. Ces pertes sont spontanées à pH acide par rupture de la liaison N-glycosidique. Suite à ces pertes d'informations la polymérase ne sait pas quelle base incorporer, il y a ainsi formation d'un site AP.
- **Des désaminations** qui correspondent à des pertes de groupement amine sur les bases C, A et G. Les désaminations sont dues à des excès de chaleur. L'adénine est transformée en hypoxanthine, la guanine en xanthine et la 5-méthylcytosine en thymine.
- **Des erreurs de méthylations**, en effet les méthylations sont normales, participent à l'expression du gêne et se réalisent souvent au niveau des îlots CpG.

1.2. Les lésions provoquées par différents agents mutagènes.

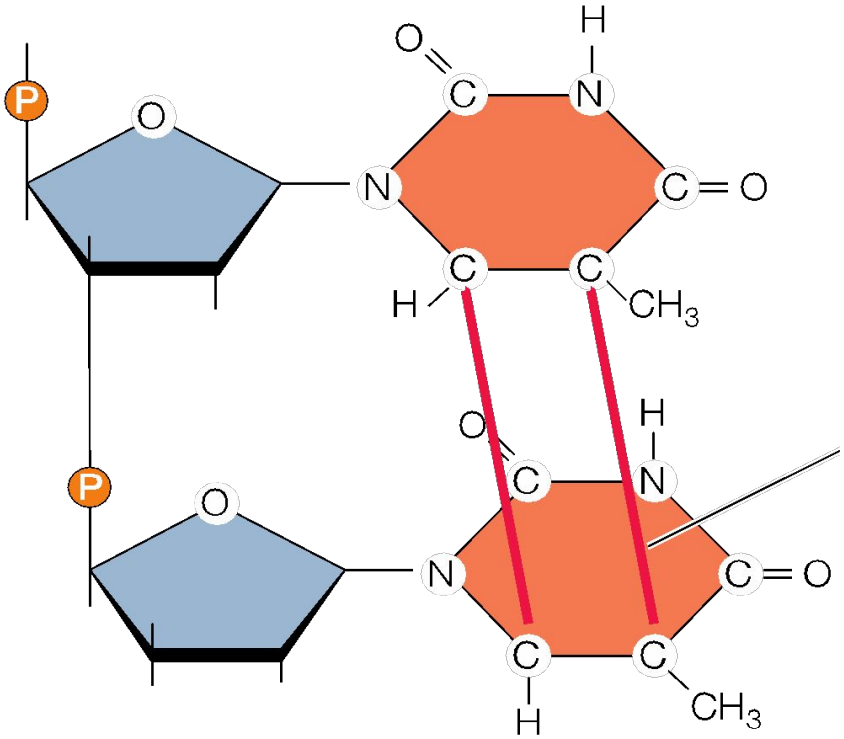
- Les lésions de l'ADN peuvent être causées par des agents physiques ou chimiques.
- **1.1.1. Agents physiques**
- Rayons UV: entrainent la **Formation de dimères de Thymine** (TpT) qui correspondent à la formation de liaisons covalentes entre deux Thymine. Ces dimères de Thymine créent des distorsions de l'hélice d'ADN.
- Rayonnements ionisants tels que rayons X et rayons γ: entrainent l'**Ionisation de bases et coupures simple ou double brin de l'ADN par rupture du D-ribose**.
- L'augmentation de la température entraîne des dépurination de l'ADN (perte de A ou G) et des désamination des bases (C⟶U).
- **1.1.2. Agents chimiques :**
- Peuvent être d'origine cellulaire comme la modification du PH et les oxydants (espèces réactives oxygénées ou ERO) . **Formation de lésions oxydatives** de bases
- ou d'origine exogènes : **Addition de molécules exogènes** qui créent également des distorsions de l'ADN. On compte les aflatoxines, les benzantracènes, les agents alkylants, les agents intercalants, le cis-platine …

1.3. Les differents types d'alterations de bases :

- La désamination de l'adénine donne l'hypoxantine qui est préférentiellement complémentaire à la cytosine.



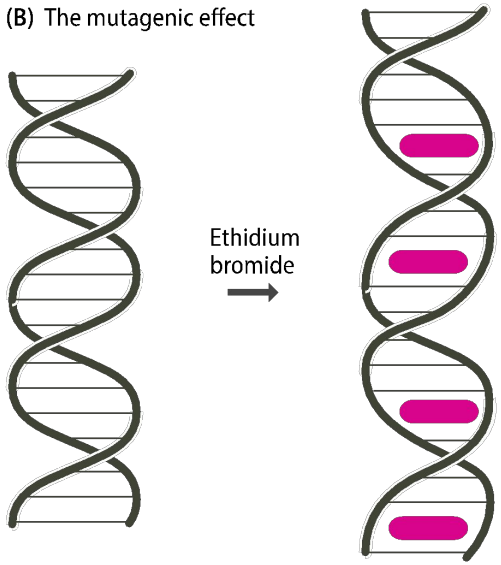
- Dimérisation de thymines

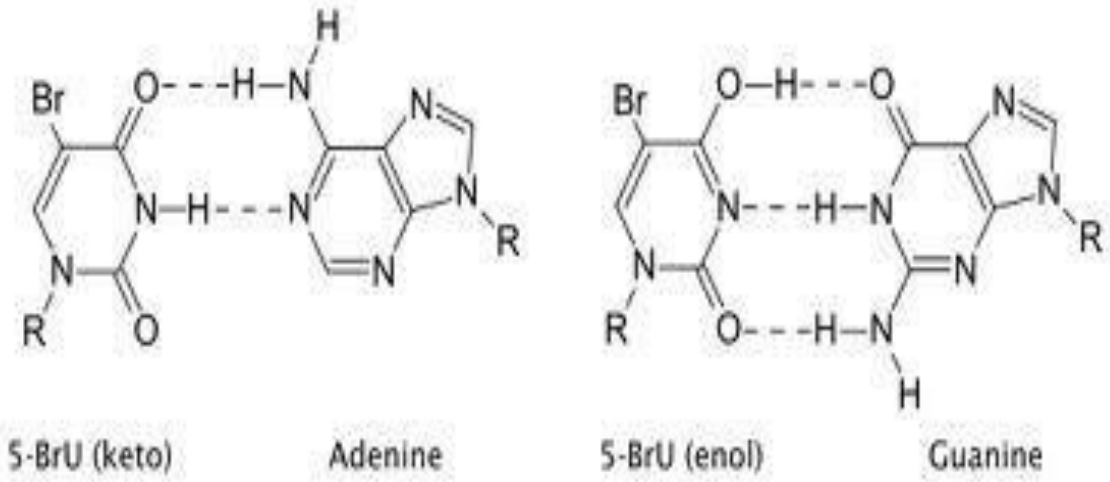


Thymine dimer

1.3. Les différents types d'altérations de bases :

- La méthylation de la cytosine donne le 5-méthyl cytosine qui va se lier à l'adénine.
- Les analogues structuraux de bases, comme le 5-bromouracile qui s'hybride avec la guanine ou à l'Adénine ou le 2-aminopurine qui se lie à la cytosine.
- Certains agents chimiques réagissent avec les bases en ajoutant des radicaux (alkylation) comme le 2-méthyl nitrosamine ou en s'intercalant entre les bases au sein de la double hélice comme le bromure d'éthidium.





PRINCIPALES ALTERATIONS DE L'ADN

Tableau 1: Modifications mineures
Alkylation d'une base (CH3) Hydratation de la cytosine (H2O) Méthylation non programmée (gène réprimé) Désamination de bases

Tableau 2: Modifications majeures	Agent causal
Pontage intrabrin : -dimérisation de 2 T -dimérisation de 2 G	UV, moutardes azotées, cisplatine, mitomycine C
Pontage interbrins entre bases opposées	Platine, mitomycine C, radiations ionisantes
Pontage ADN-proteine	Ellipticine, formol, alkylants, rayons X, UV
Insertion d'un adduit (produit intercalaire)	Acridine, bromure d'ethidium, alkylants, hydrocarbures cycliques, aminofluorène, RX
Cassure mono et double brin	RX, bléomycine
Substitution, insertion, délétion d'une base	Température, erreur de réplication
Incorporation d'analogue structural de base	BudR(5bromo uracile), analogue de l'acide folique

2. Utilité de la réparation des lésions de l'ADN.

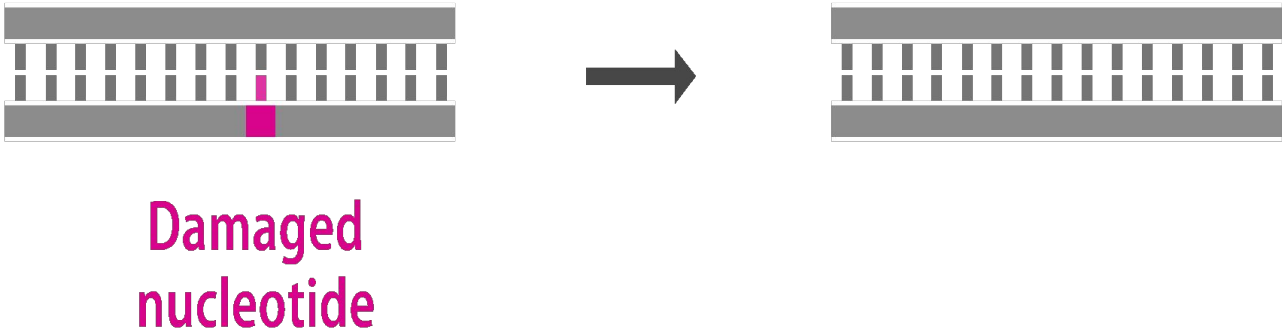
- La fréquence des lésions de l'ADN est très élevée :
- • Dépurination due à une température élevée : 5000 cellules/jour.
- • Désamination : 100 cellules/jour.
- • Dimérisation de thymines : 60 000 à 80 000 cellules par heure d'exposition au soleil.
- Les mécanismes de réparation étant très efficaces (99.9%), seul un nombre minime de lésions est transmis à la descendance.
- Exemple : une lésion par dimérisation de thymine sur un million est transmise à la descendance. La persistance de ces anomalies peut entraîner la mort de la cellule (par apoptose) ou sa cancérisation.
- Face aux différents dommages de l'ADN, la cellule a dû mettre en place deux types de protection: les mécanismes de sauvegarde (transformation de substances dégradantes en molécules inoffensives) et les mécanismes de réparation de l'ADN.
- Plusieurs mécanismes rectifient les erreurs survenues sur l'ADN:
- Après réparation il y aura une mutation pour 10^9 nucléotides. Les mécanismes de réparation sont de différents types et permettent tous tant que possible de rétablir la viabilité d'une cellule.

3. Les systèmes de réparations de l'ADN

- 3.1 Système de réparation sur épreuve
- 3.2 Réparation par réversion des lésions.
- 3.3 Réparation par excision de bases (système BER).
- 3.4 Réparation par excision de nucléotides (système NER).
- 3.5 Réparation d'une cassure du double brin d'ADN
- 3.6 Réparation par recombinaison.
- 3.7 Réparation de mésappariements.

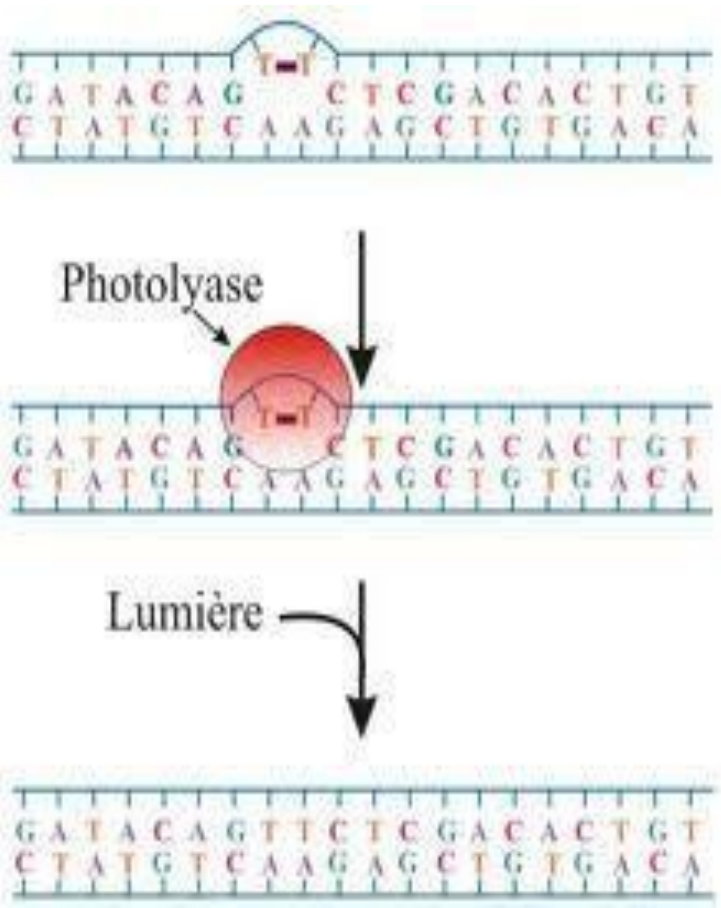
3. 1- Système de réparation sur épreuve :

- In vitro, chez E.Coli, l'ADN polymérase introduit une base incorrecte par 10 000 bases.
- Cette enzyme a la possibilité de détecter la base anormale, de l'exciser grâce à son activité exonucléasique et de la remplacer par la base correcte.
- C'est ce qu'on appelle « Système de réparation sur épreuve » ce qui signifie : réparation pendant la réplication.



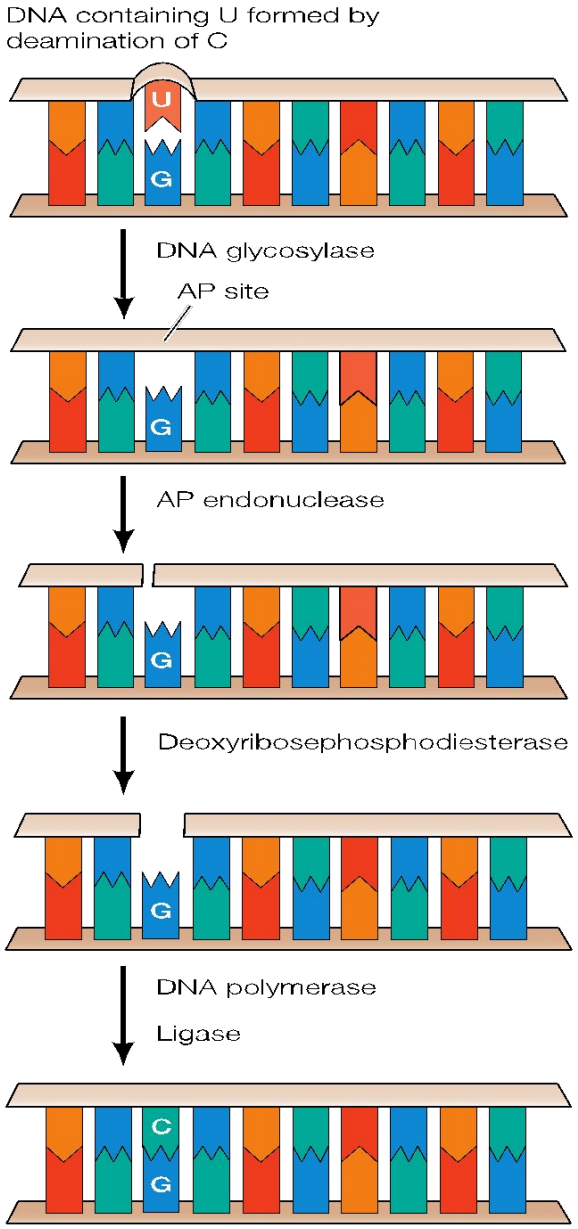
3.2- Réparation par réversion des lésions.

- Ce type de réparation utilise très peu de protéines (enzymes spécifiques) et restore immédiatement les liaisons (réparation directe).
- **Photo-réactivation :** les photolyases sont des enzymes activées par l'énergie lumineuse et qui participent à la réparation de l'ADN par coupure des liaisons covalentes au niveau des dimères de thymine.
- **Réversion de coupure simple brin :** par une ADN ligase lorsqu'il n'y a pas de pertes de bases.
- **Réversion de dépurination par une purine insertase :** restore la liaison osidique, enzyme spécifique d'une base.
- **Action de l'Alkyltransferase : qui** intervient s'il y a augmentation d'agents alkylants dans la cellule pour éliminer l'alkylation des bases.



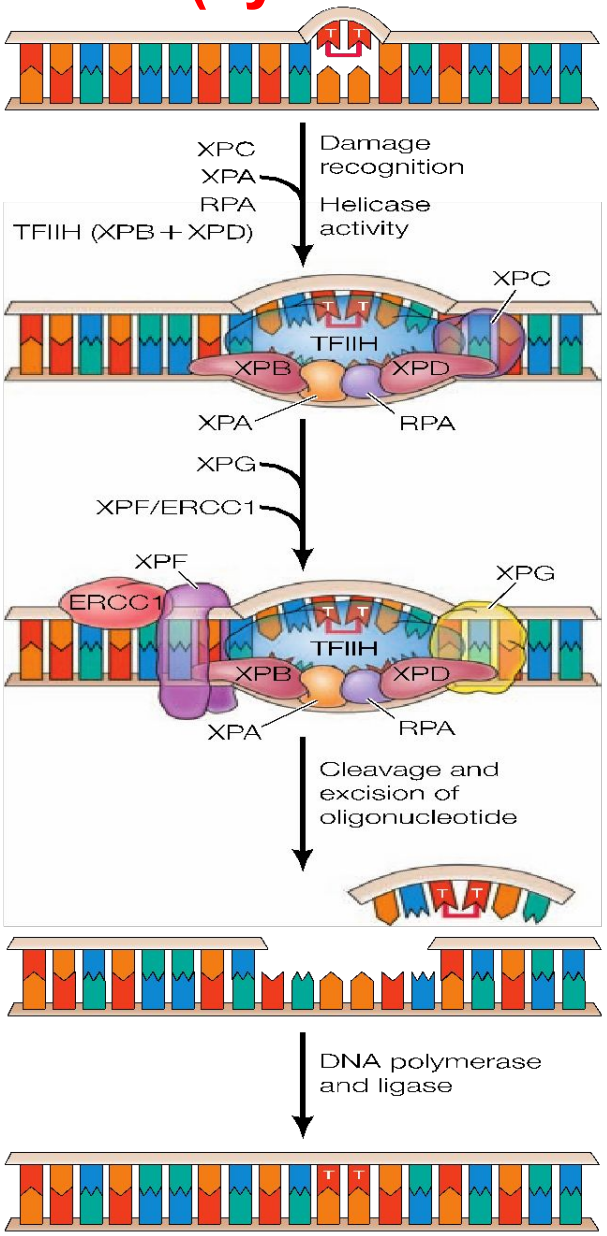
3.3- Réparation par excision de bases (système BER).

- Ce mécanisme est présent chez les procaryotes et les eucaryotes et essentiellement impliqué dans les réparations de mutations endogènes jusqu'à 4 nucléotides.
- Elle se déroule en différentes étapes successives :
- Une ADN-glycosylase reconnaît la base altérée (l'uracile (U) formée par désamination de la cytosine (C) et se trouvant donc en face d'une guanine (G) dans le brin complémentaire de l'ADN) et l'élimine par excision.
- Le site de l'ADN ainsi modifié devient un site AP (apurique ou apyrimidique).
- Le brin d'ADN est interrompu au niveau de l'excision par une AP endonucléase qui appartient à un complexe enzymatique. Elle élimine par hydrolyse de la liaison phosphodiester, le désoxyribose qui était lié à la base altérée.
- Une ADN polymérase (β) associe un nucléotide complémentaire du nucléotide qui était associé au nucléotique excisé.
- Le nouveau nucléotide est lié au brin d'ADN modifié par l'action d'une ligase.



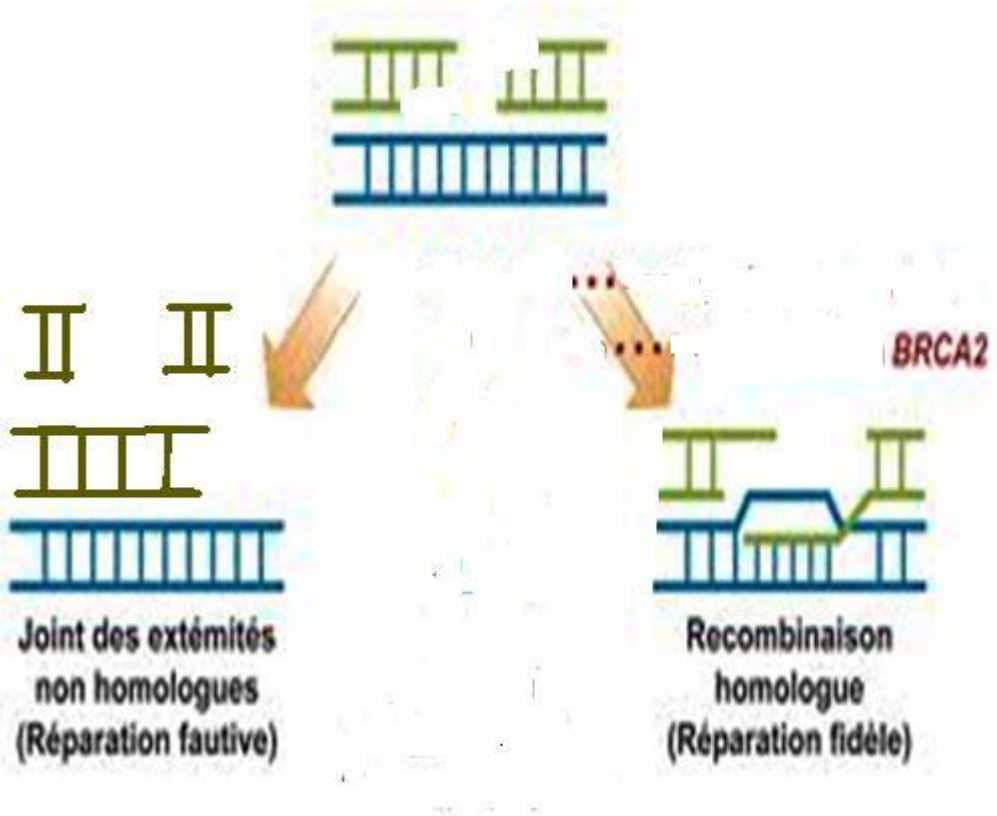
3.4- Réparation par excision de nucléotides (système NER).

- La réparation de l'excision des nucléotides dans les cellules de mammifères.
- Des dommages à l'ADN (par exemple, un dimère de thymine) sont reconnus par XPC, suivis de la liaison de XPA, RPA et TFIIH, qui contient les hélicases XPB et XPD.
- Après le déroulement de l'ADN par XPB et XPD, les endonucléases XPG et XPF / ERCC1 sont recrutées et l'ADN est clivé, excisant l'oligonucléotide endommagé.
- L'espace résultant est rempli par l'ADN polymérase et scellé par la ligase.
- Ce système NER nécessite ces facteurs protéiques spécifiques.
- L'un de ces facteurs est modifié ou manque dans le xeroderma pigmentosum (enfants de la lune).



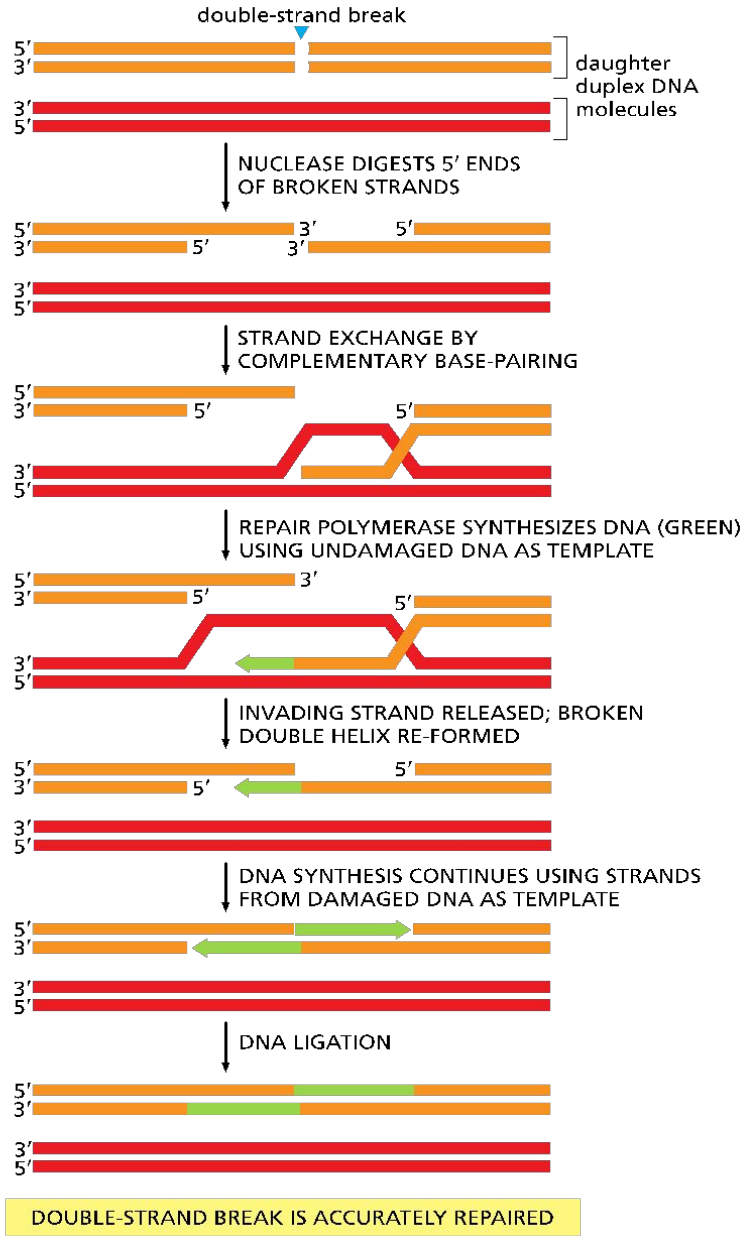
3.5- Réparation d'une cassure du double brin d'ADN

- La réparation se fait :
- soit : les extrémités des deux brins cassés sont juxtaposées, rabotées puis liés. Au cours du phénomène, il y a perte de quelques nucléotides et la séquence d'origine de l'ADN n'est pas reconstituée. Le plus souvent, cela est sans conséquent puisque cela survient dans les parties non codantes.
- soit : la séquence des deux brins cassés est reconstituée par copie de la région équivalente du chromosome homologue.



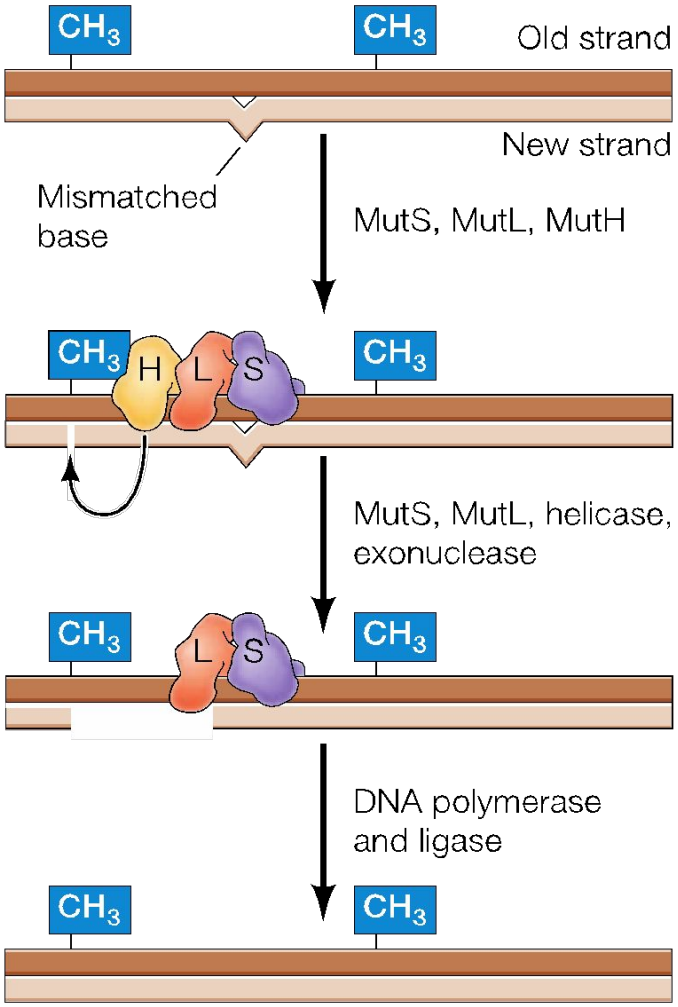
3.6- Réparation par recombinaison.

- La caractéristique clé de la recombinaison homologue (également connue sous le nom de recombinaison générale) est un échange de brins d'ADN entre une paire de séquences d'ADN duplex homologues, c'est-à-dire des segments de double hélice qui sont très similaires ou identiques en séquence nucléotidique.
- Cet échange permet à un tronçon d'ADN duplex d'agir comme modèle pour restaurer les informations perdues ou endommagées sur un deuxième tronçon d'ADN duplex.
- La recombinaison homologue peut réparer de nombreux types de dommages à l'ADN.



3.7- Réparation de mésappariements.

- Réparation de mésappariements chez E. coli
- Le système de réparation des mésappariements détecte et excise les bases mésappariées dans l'ADN nouvellement répliqué, qui se distingue du brin parental parce qu'il n'a pas encore été méthylé.
- MutS se lie à la base non appariée, suivi de MutL.
- La liaison de MutL active MutH, qui clive le brin non modifié en face d'un site de méthylation.
- MutS et MutL, conjointement avec une hélicase et une exonucléase, excisent ensuite la partie du brin non modifié qui contient le mésappariement.
- L'intervalle est ensuite rempli par l'ADN polymérase et scellé par la ligase.



Vue d'ensemble des mécanismes de réparation de l'ADN chez les procaryotes et eucaryotes :

Origines du dommage	RI RL endogènes Alkylants	UV Hydrocarbures polycycliques	RI RL Alkysants Cisplatine	Erreurs de réplication
Types de lésions	CSB Modifications de base Sites abasiques	Ponts intra-brins Adduits encombrants	CDB Ponts inter-brins	Mésappariements Insertion Délétion
Mécanismes de réparation	BER	NER	RH	MMR

RI : radiations ionisantes. RL : radicaux libres. CSB : cassures simple-brin. CDB : cassures double-brin. BER : Base Excision Repair. *NER :* Nucleotide Excision Repair. *MMR :* Mismatch Repair. *RH : recombinaison homologue.*