La Réparation de l'ADN

Dr Alexandre JANIN Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – Hospices Civils de Lyon

> ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon Université Claude Bernard Lyon 1





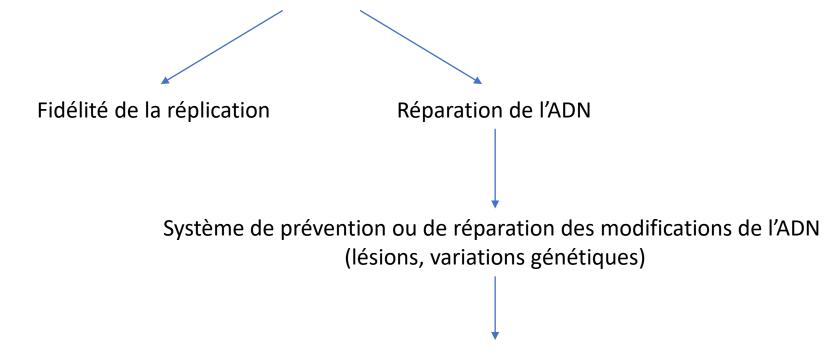
Plan

- 1. Définition et contexte général
- 2. Les variations de l'ADN
 - 2.1. Erreurs survenant pendant la réplication
 - 2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication
- 3. Correction des erreurs d'appariement survenant lors de la réplication
 - 3.1. Correction immédiate : fonction d'édition des ADN polymérases
 - 3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3
- 4. Correction des autres altérations de l'ADN
 - 4.1. Réparation directe/retour à l'état antérieur
 - 4.2. Réparation par excision/réparation
 - 4.3. Réparation des lésions non réparées par les systèmes précédents

1. Définition et contexte général



La survie à court terme d'une cellule dépend de la prévention des modifications de son ADN



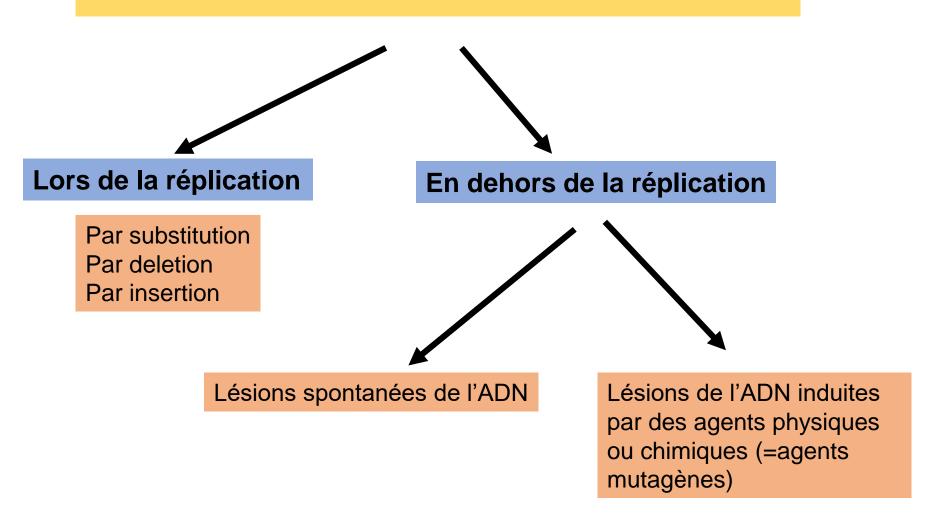
1 variation accidentelle sur 1000 entraine une variation permanente, les autres sont réparées

→ Taux de variations des génomes extrêmement bas

(environ 1 nucléotide modifié pour 109 nucléotides à chaque cycle de réplication (E. coli, nématode, Homme...)

De quel risque parle-t-on?

Variations et lésions de l'ADN

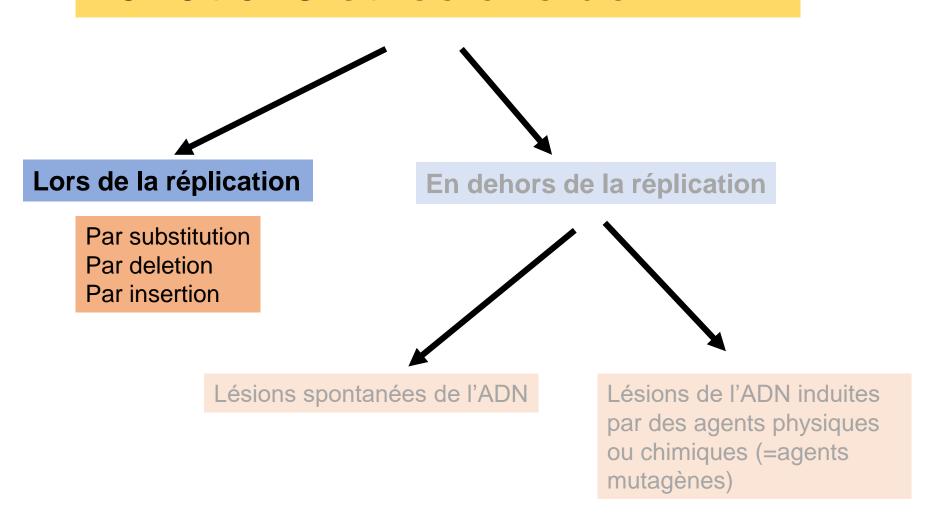


2. Les variations de l'ADN

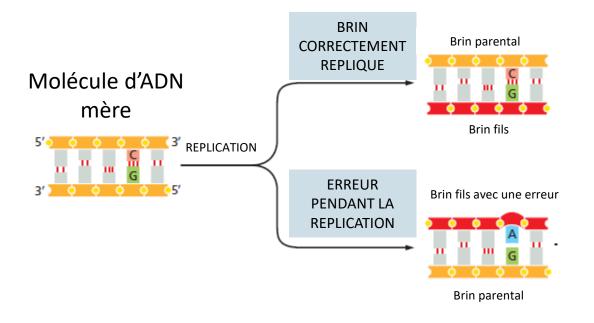
- 2.1. Erreurs survenant pendant la réplication
 - 2.1.1 Variations par substitutions
 - 2.1.2 Variations par délétion et insertion
- 2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication
 - 2.2.1. Les lésions spontanées
 - 2.2.1.1 Dépurination
 - 2.2.1.2 Désamination
 - 2.2.1.3 Bases altérées par oxydation
 - 2.2.2. Lésions induites par des agents mutagènes
 - 2.2.2.1 Incorporation d'analogues de bases
 - 2.2.2.2 Modification de bases
 - 2.2.2.3 Insertion/délétion de bases par des agents intercalants
 - 2.2.2.4 Lésions de bases

De quel risque parle-t-on?

Variations et lésions de l'ADN

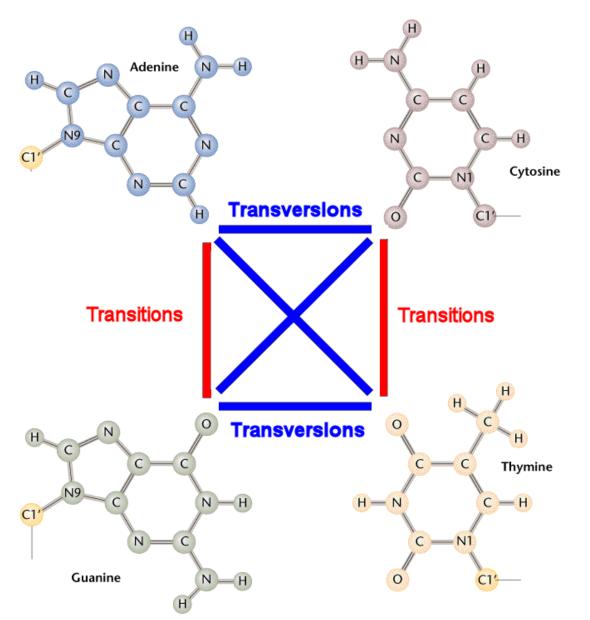


2.1. Erreurs survenant pendant la réplication2.1.1. Variations par substitutions



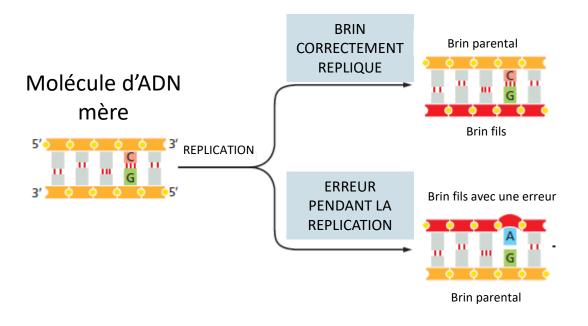
Liaison C/G changée en liaison A/G C substitué par A

Nomenclature des variations par substitutions



Substitution par transition		
Base pyrimidique substituée par une base pyrimidique	T remplacé par C C remplacé par T	
Base purique substituée par une base purique	A remplacé par G G remplacé par A	
Substitution par transversion		
Substitution par train	246121011	
Base purique substituée par une base pyrimidique	G remplacé par C ou T A remplacé par C ou T	

2.1. Erreurs survenant pendant la réplication2.1.1. Variations par substitutions



Liaison C/G changée en liaison A/G C substitué par A

Substitution par transversion

2.1. Erreurs survenant pendant la réplication

2.1.2. Variations par délétions ou insertions

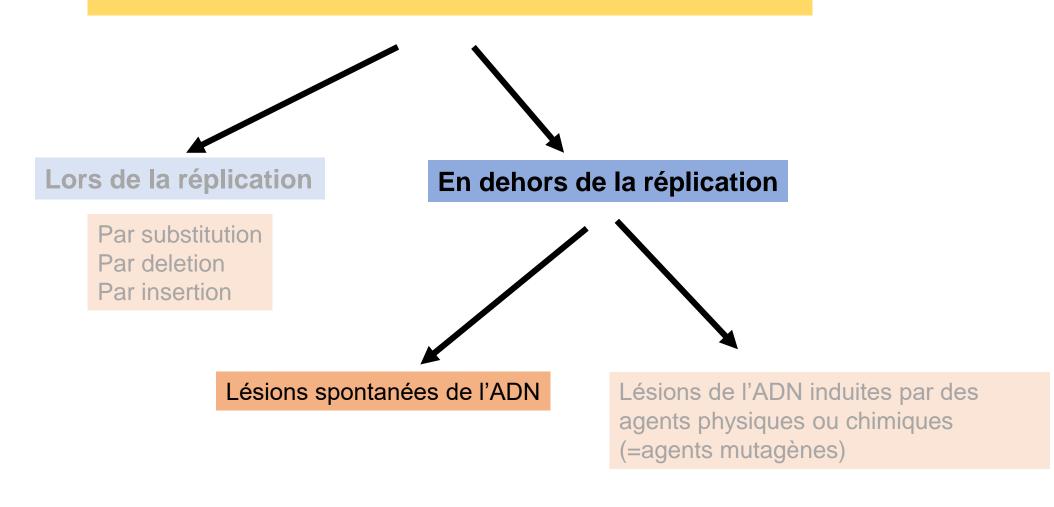
Délétions

5' ——CTTAGT ——3' Brin d'ADN parental Brin d'ADN fils néo-synthétisé

5' ——CTTAGT ——3' Brin d'ADN parental Brin d'ADN parental Brin d'ADN parental Brin d'ADN fils néo-synthétisé

De quel risque parle-t-on?

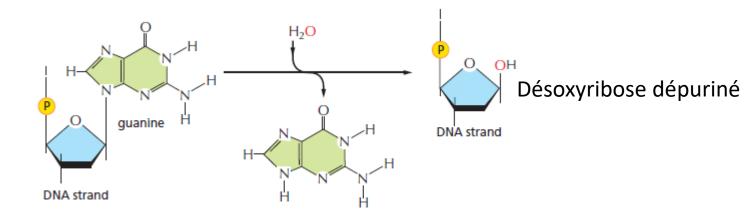
Variations et lésions de l'ADN



2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication 2.2.1. Lésions spontanées

2.2.1.1. La dépurination

Réaction spontanée

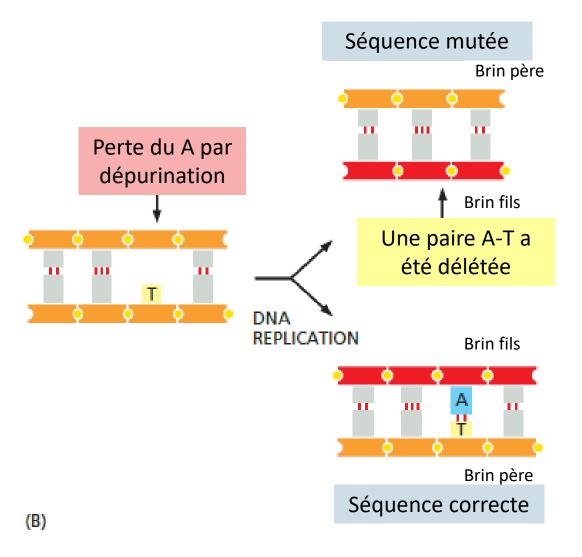


Elimination de la guanine ou de l'adénine de l'ADN

NB: Sites AP= sites abasiques = sites apuriniques/apuriques ou apyrimidiques

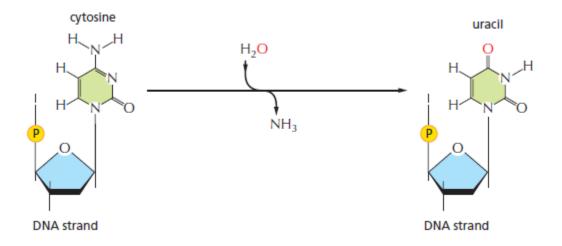
NB2: cellules de mammifères: 5 à 10 000 dépurinations chaque jour

Conséquence des dépurinations



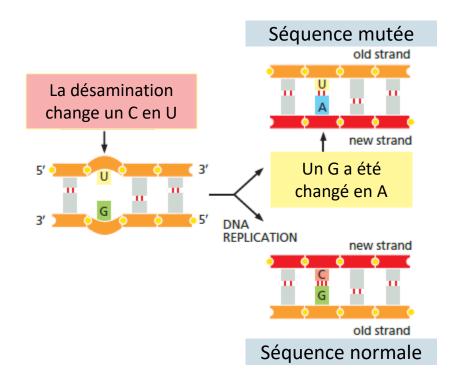
2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication 2.2.1. Lésions spontanées

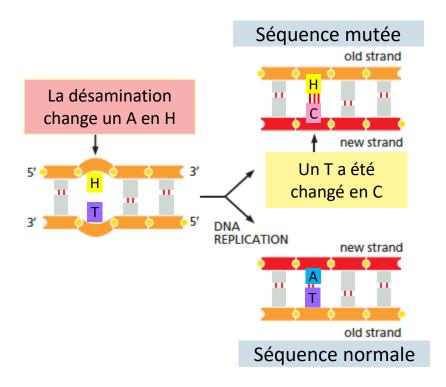
2.2.1.2. La désamination



Base naturelle de l'ADN	Base modifiée après désamination
Cytosine	Uracile
Adénine	Hypoxanthine
Guanine	Xanthine
Thymine	Pas de désamination

Conséquence des désaminations



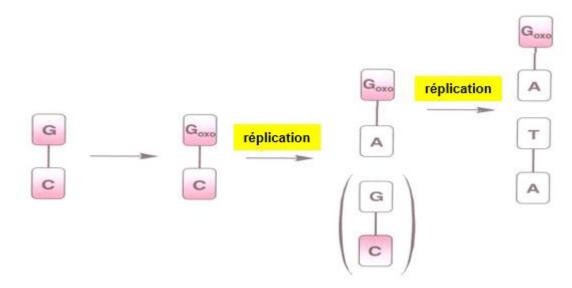


2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication 2.2.1. Lésions spontanées

2.2.1.3. Bases altérées par oxydation

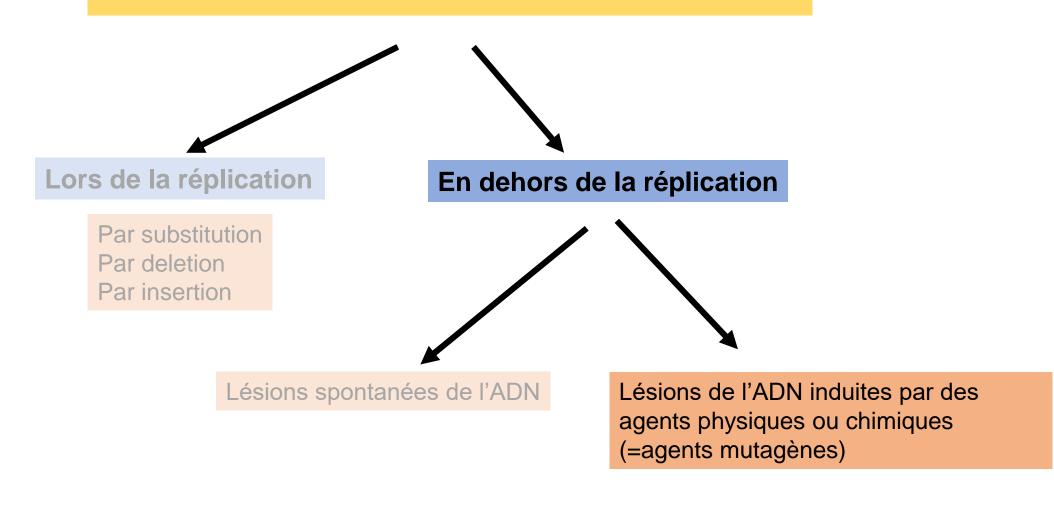
- Radicaux superoxydes O2•
- Radicaux hydroxyles OH •
- Peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Oxydation de la guanine en oxoguanine : remplacement d'un G/C en T/A après 2 réplications



De quel risque parle-t-on?

Variations et lésions de l'ADN



2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication 2.2.2. Lésions induites par des agents mutagènes

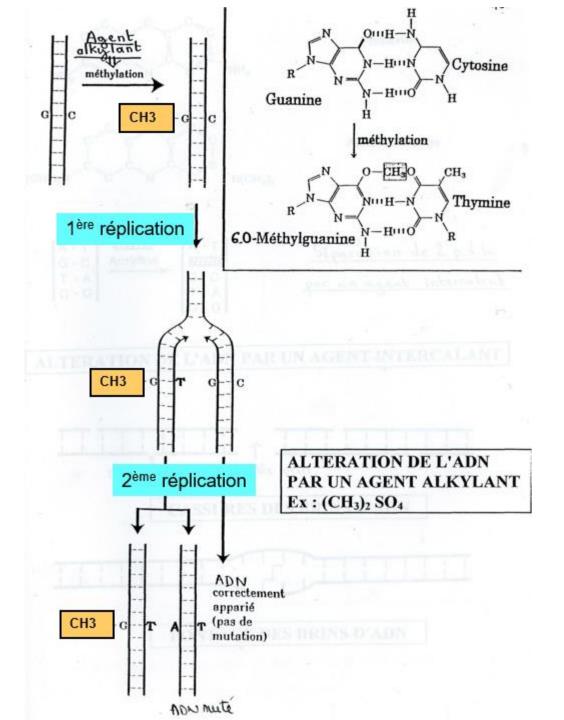
2.2.2.1. Incorporation d'analogues de bases

```
5 Bromo-uracile (5 BU) = analogue de la thymine
2 Aminopurine (2AP) = analogue de l'adénine
```

2.2.2. Modification de bases

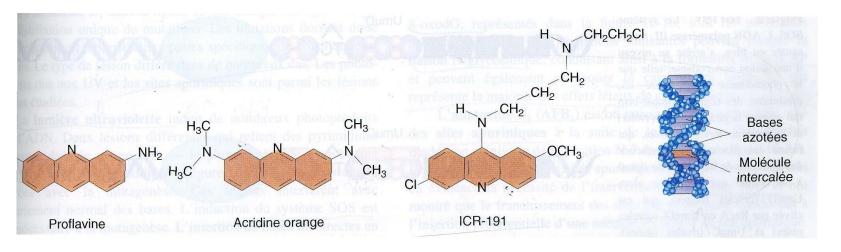
Agents alkylants:

Ethylmethane sulfate Nitrosoguanidine Dimethylsulfate Ex : action du diméthylsulfate



2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication 2.2.2. Lésions induites par des agents mutagènes

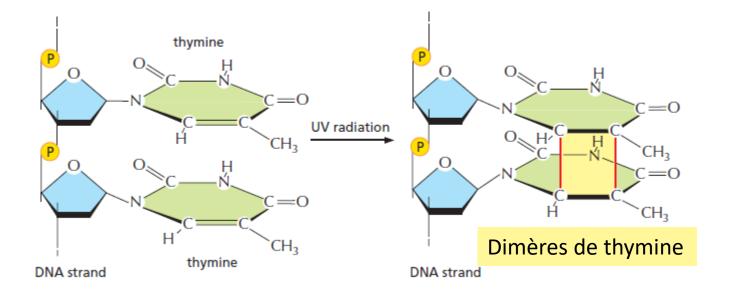
2.2.2.3. Insertion/délétion de bases par des agents intercalants



2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication2.2.2. Lésions induites par des agents mutagènes

2.2.2.4. Lésions de bases

Lumière ultra-violette (UV)



Radiations ionisantes : cassures simple brin ou double brin d'ADN Pontage de brins



3. Correction des erreurs d'appariement survenant lors de la réplication

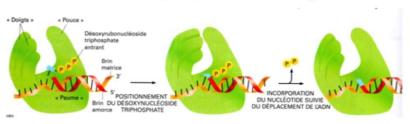
- 3.1. Correction immédiate : fonction d'édition des ADN polymérases
- 3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3

3. Correction des erreurs d'appariement survenant lors de la réplication

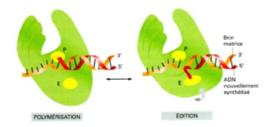
3.1. Correction immédiate : fonction d'édition des ADN polymérases

La haute fidélité de la réplication nécessite plusieurs mécanismes de vérification par l'ADN polymérase

- Première étape de vérification (avant addition covalente du nucléotide)
 - Transconformation de l'enzyme pour vérifier la géométrie de la pb

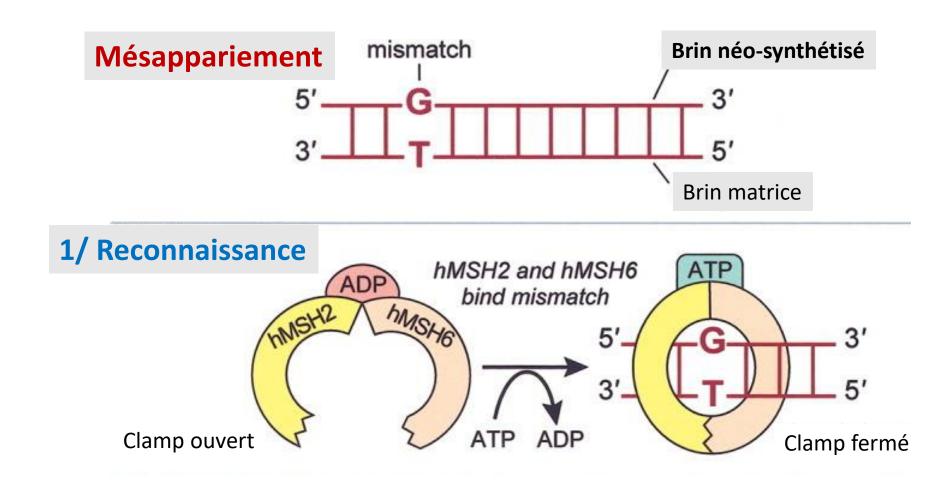


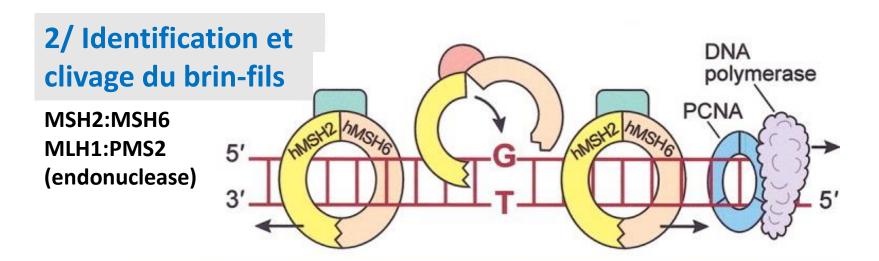
- Après addition covalente du nucléotide: Activité exonucléasique
 - □ Exonucléase 3' →5'
 - = fonction de correction ou d'« édition »
 - □ ↑ fidélité de la réplication.



3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3

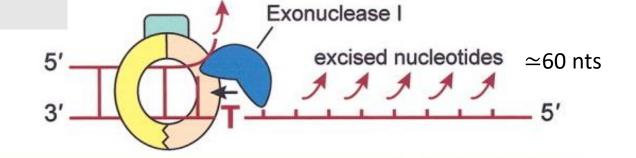
Système MMR : réparation des mésappariements





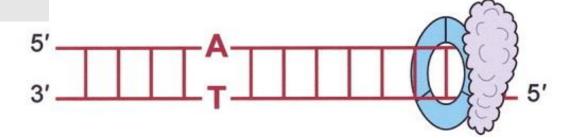
3/ Excision

(Hélicase ?) Exonucléase I



4/ Resynthèse

DNA Polymerase δ DNA Ligase I

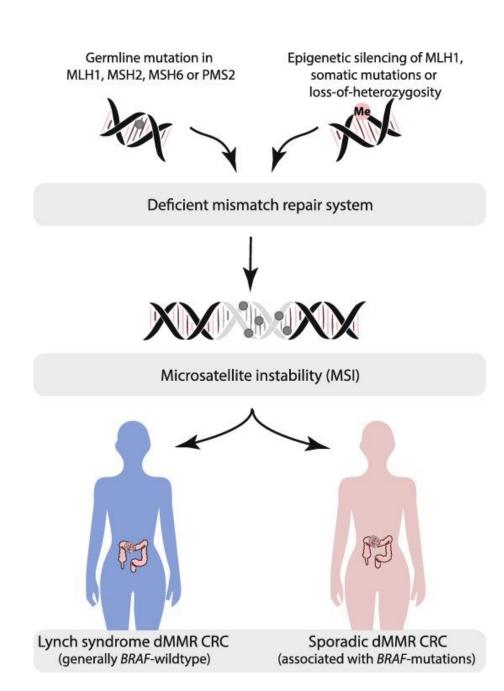


Déficience du système MMR

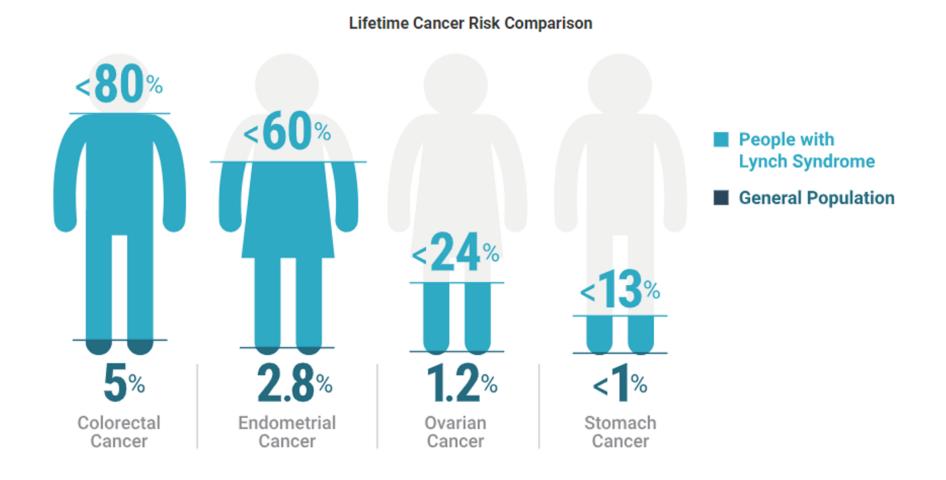
- Inactivation des gènes MMR
 - germinale

 → Syndrome de Lynch (héréditaire, autosomique dominant)
 - somatique

 cancers colorectaux sporadiques
- mutations inactivatrices, délétion, hyperméthylation



Déficience du système MMR : exemple du syndrome de Lyncj



4. Correction des autres altérations de l'ADN

- 4.1. Réparation directe/retour à l'état antérieur
- 4.2. Réparation par excision/réparation
 - 4.2.1. Réparation par excision-réparation de base (BER)
 - 4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)
- 4.3. Réparation des lésions non réparées par les systèmes précédents
 - 4.3.1. Contexte
 - 4.3.2. Détection et signalisation des cassures doubles brins
 - 4.3.3. Réparation par Jonction d'Extrémités Non Homologues (NHEJ)
 - 4.3.4. Réparation par Recombinaison Homologue (RH)

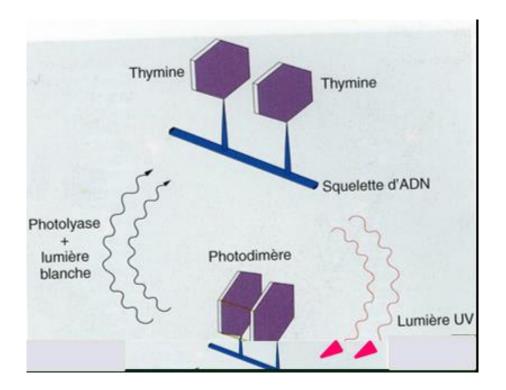
4. Correction des autres altérations de l'ADN

ADN endommagé arrêt du cycle cellulaire réparation avant nouvelle réplication

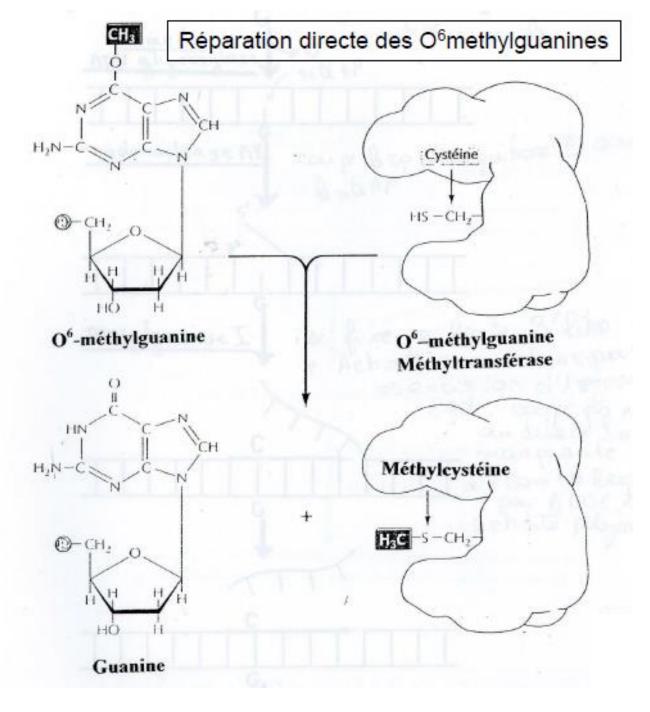
4.1. Réparation directe/retour à l'état antérieur

« Réservée » à des altérations spécifiques









4.2. Réparation par excision/réparation

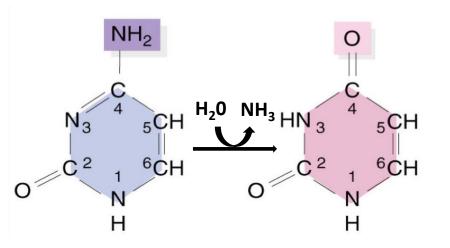
Pour lésions présentes sur 1 seul brin

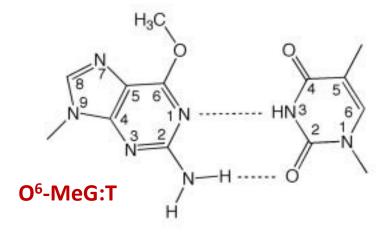
Mécanisme général

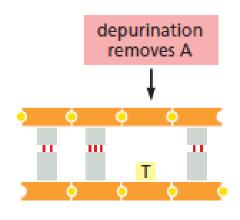
- Reconnaissance de la lésion
- Excision de la partie altérée
 Sur une base
 Sur plusieurs nucléotides
- Réparation par réplication (ADN polymérase + ligase)

4.2. Réparation par excision/réparation4.2.1. Réparation par excision-réparation de base (BER)

Correction des modifications de bases et des cassures simple-brin





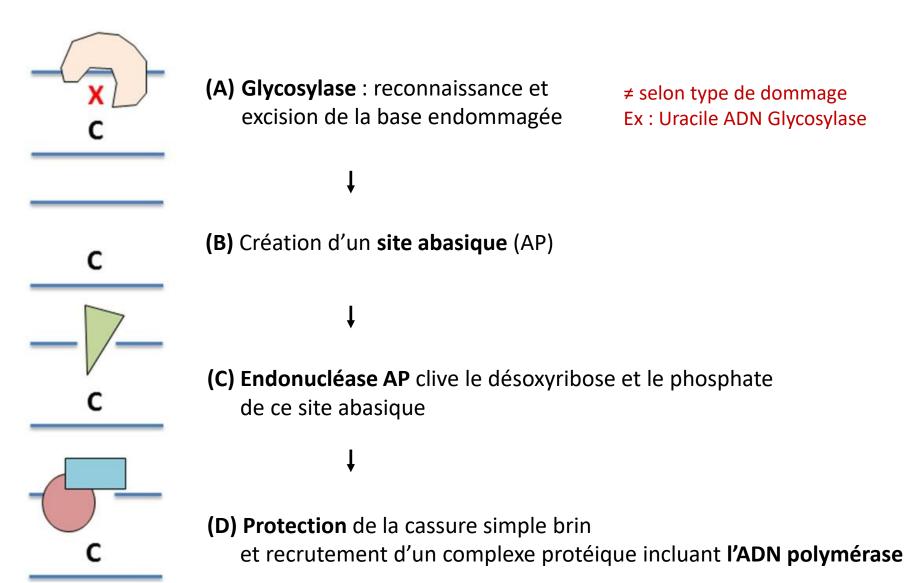


Méthylation de la guanine

Dépurination

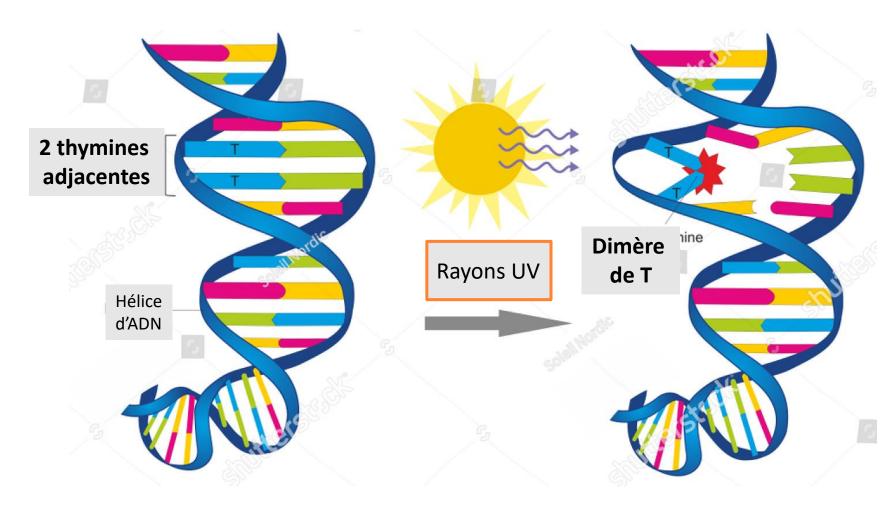
4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.1. Réparation par excision-réparation de base (BER)

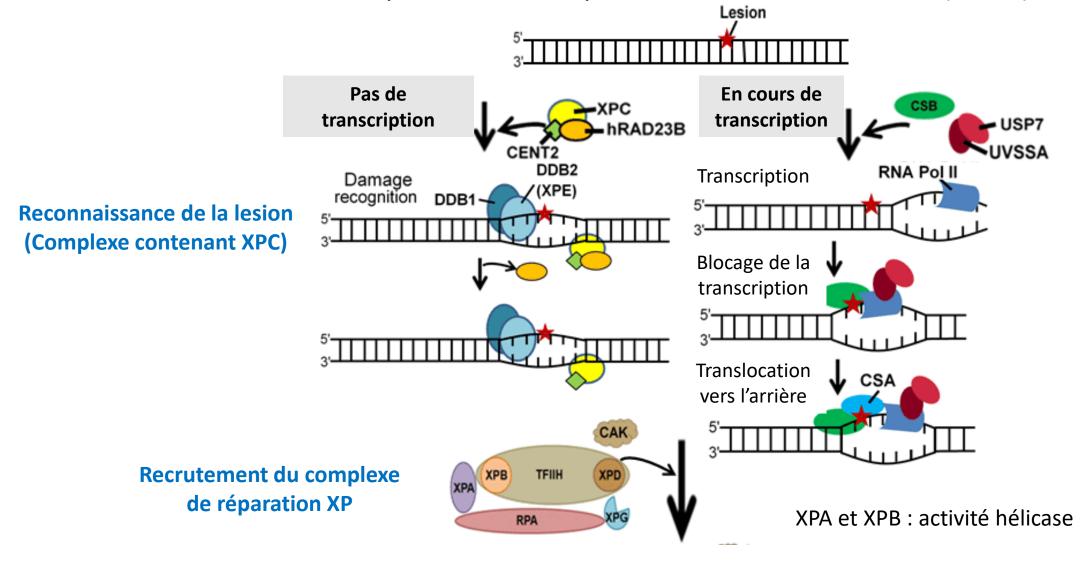


4.2. Réparation par excision/réparation4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

Correction de liaisons plus volumineuses (ex : réparation de pontages et adduits)

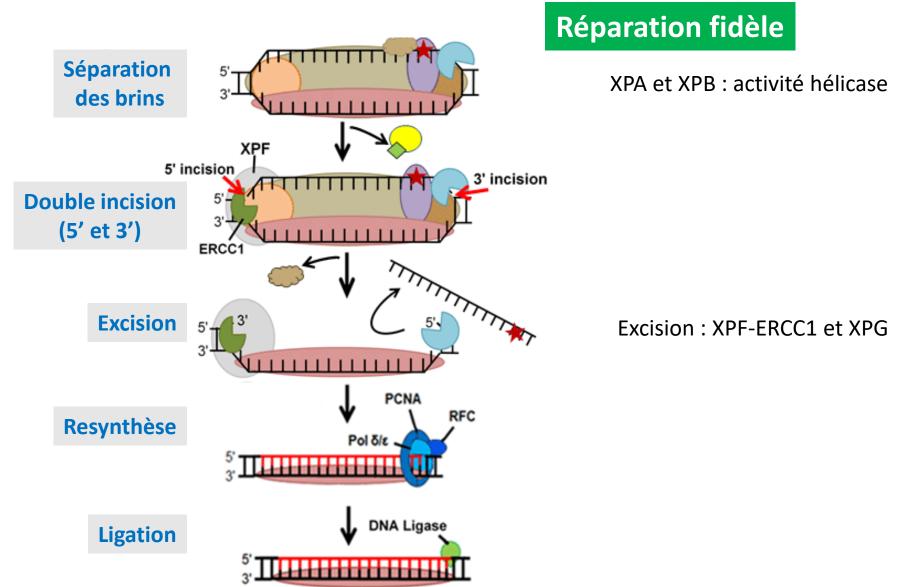


4.2. Réparation par excision/réparation4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)



4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)



Déficit de la voie NER



Xeroderma Pigmentosum "maladie des enfants de la lune"

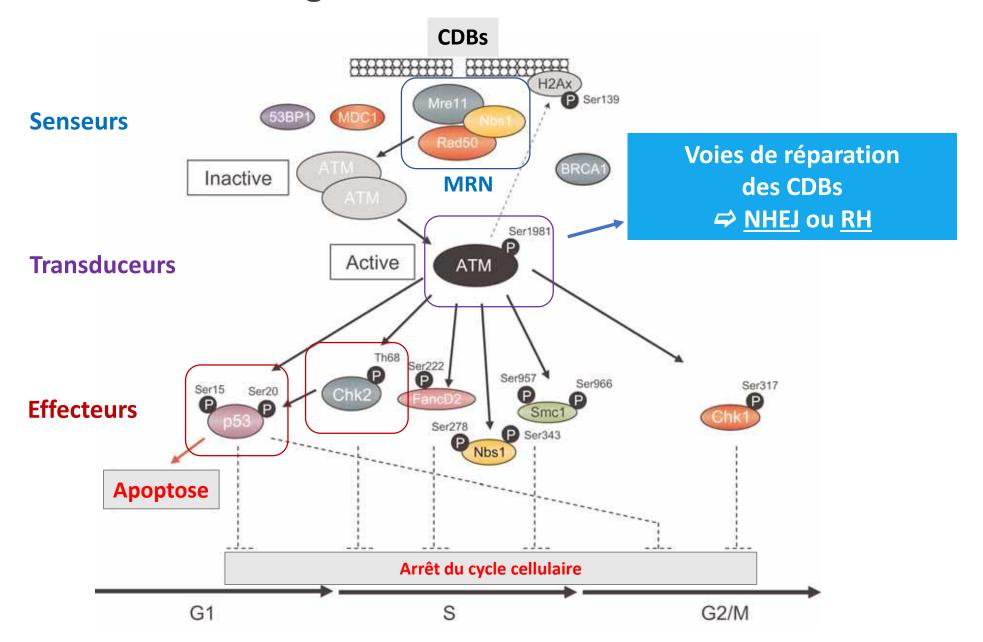
- Autosomique récessive, liée à l'inactivation des gènes XP
 ➡ Non réparation des dommages liés aux UV
- Troubles cutanés et occulaires, risque accru de cancer, perte d'audition, troubles neurologiques...

4.3. Réparation des lésions non réparées par les systèmes précédents

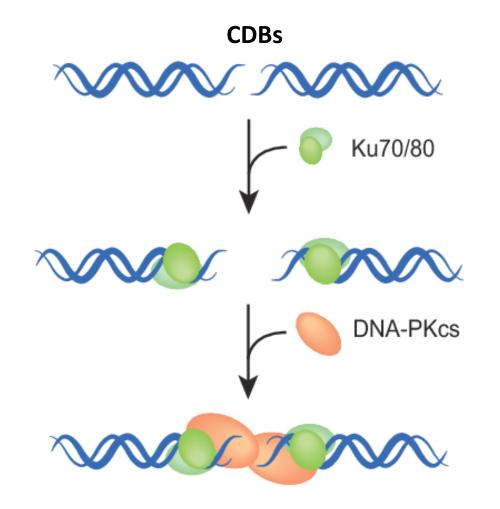
4.3.1. Contexte

Lésion majeure de l'ADN ou lésion double brin Système par excision de nt débordé Pas de réparation avant réplication « Lacune » ou « brèche » post-réplicative Réparation par Jonction d'Extrémités Non Homologues (NHEJ) ou Recombinaison Homologue (RH)

4.3.2. Détection et signalisation des cassures doubles brins



4.3.3. Réparation par Jonction d'Extrémités Non Homologues (NHEJ)

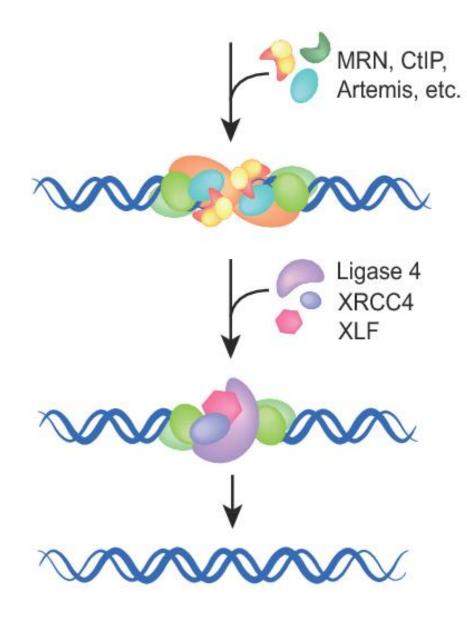


Reconnaissance des extrémités par **Ku70/80**

Recrutement de **DNA-PKcs** (sous-unite catalytique de la DNA-PK)

Formation de l'holoenzyme DNA-PK
Autophosphorylation
Libération des extrémités

4.3.3. Réparation par Jonction d'Extrémités Non Homologues (NHEJ)



Recrutement de polymerases, nucléases...

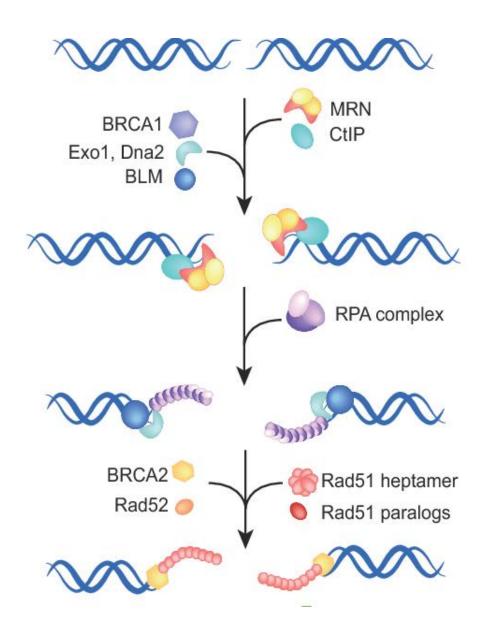
Maturation des extrémités

Recrutement du complexe Ligase 4/XRCC4/XLF

Ligation des extrémités

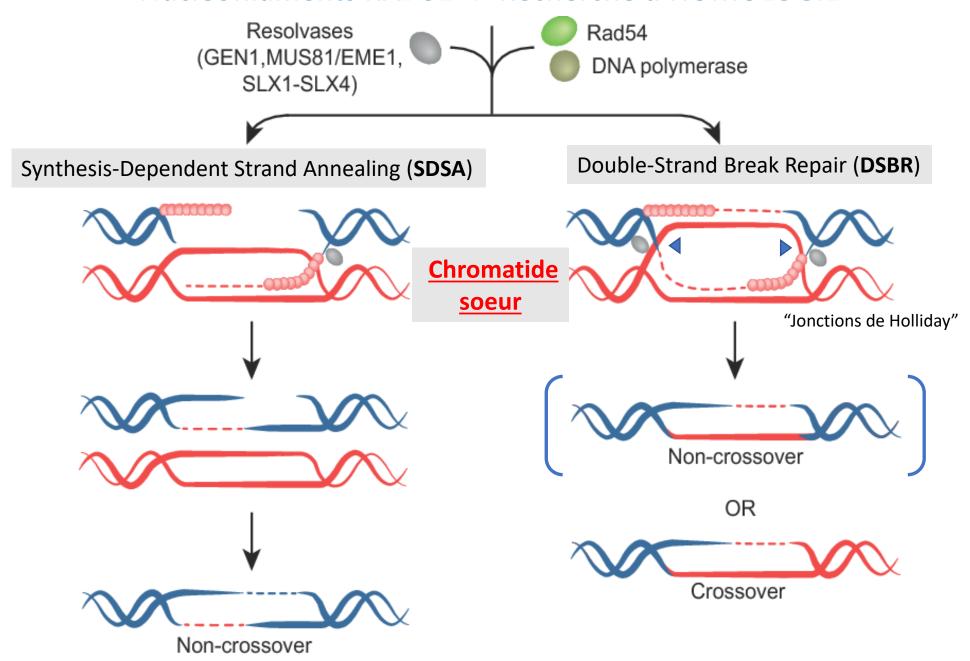
Cassure réparée MAIS infidèle/perte de nucléotides

4.3.4. Réparation par Recombinaison Homologue (RH)

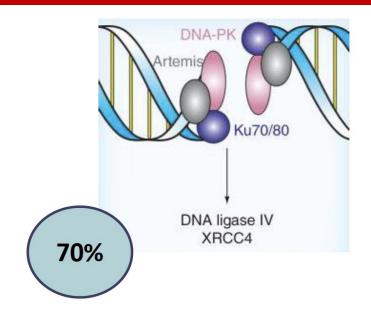


Réparation fidèle

Protection par le <u>complexe RPA</u> (replication protein A)



Voie non homologue (c-NHEJ)

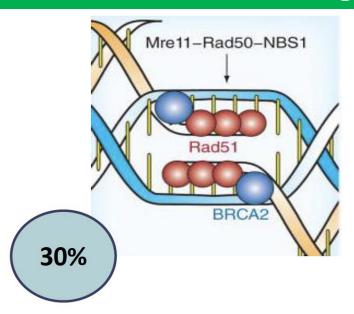


Phases G0/G1

Rapprochement d'extrémités lésées Perte de matériel génétique Infidèle

Protéines-clés: **DNA-PK**

Recombinaison homologue



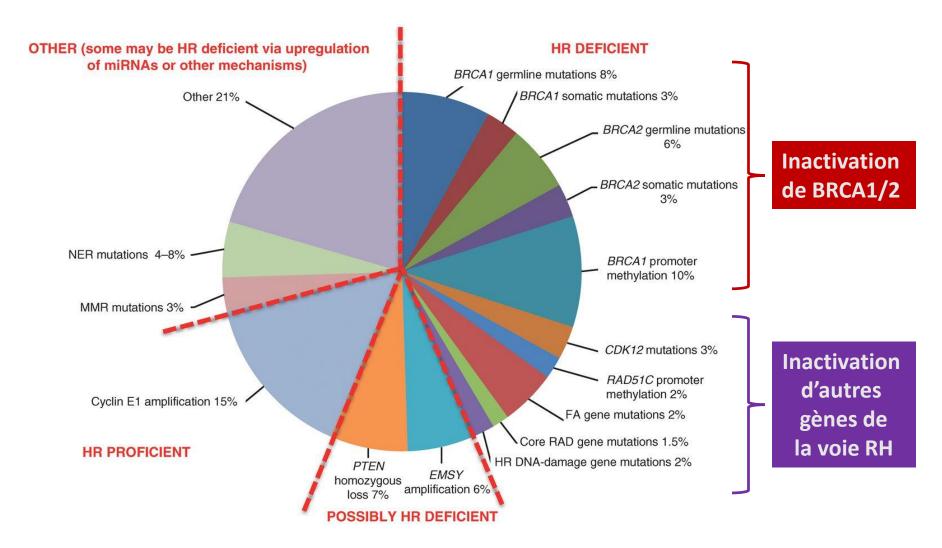
Phases S/G2

Chromatide soeur non lésée

Fidèle/conservatrice

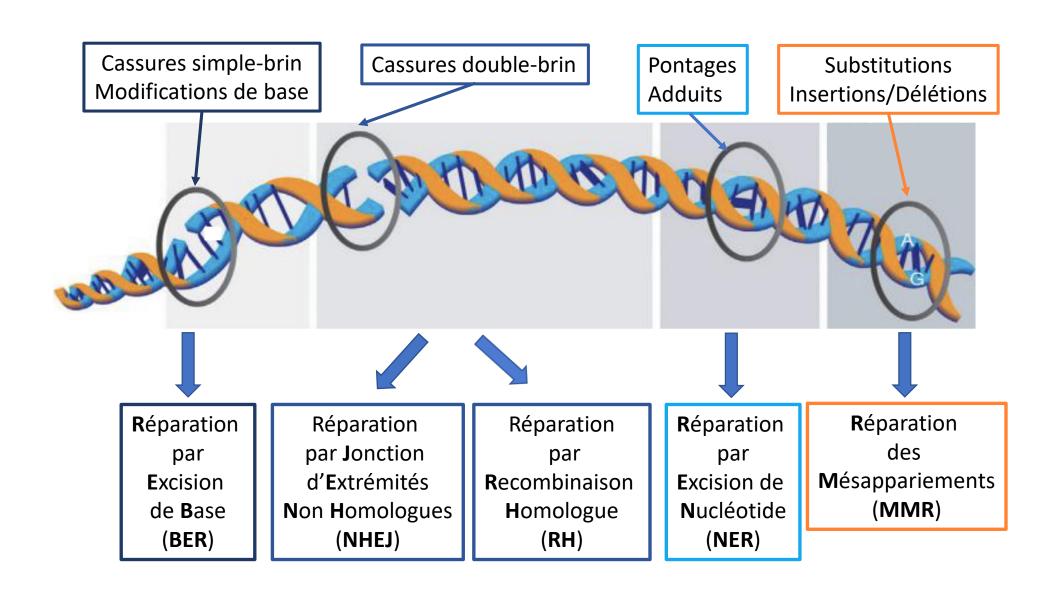
Protéines-clés: RAD51, BRCA2

Inactivation des gènes de la recombinaison homologue



Altérations tumorales dans les cancers de l'ovaire

Conclusion



A retenir

- Des mécanismes différents en fonction du type de lésion
 - Par excision : BER, NER et MMR
 - Pour les CDB: NHEJ peu fidèle vs recombinaison homologue

- Réparation fonctionnelle de l'ADN essentielle
 - Xeroderma pigmentosum, syndrome de Lynch, syndrome seinovaire...