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**

Fidélité de la réplication

Réparation de l'ADN



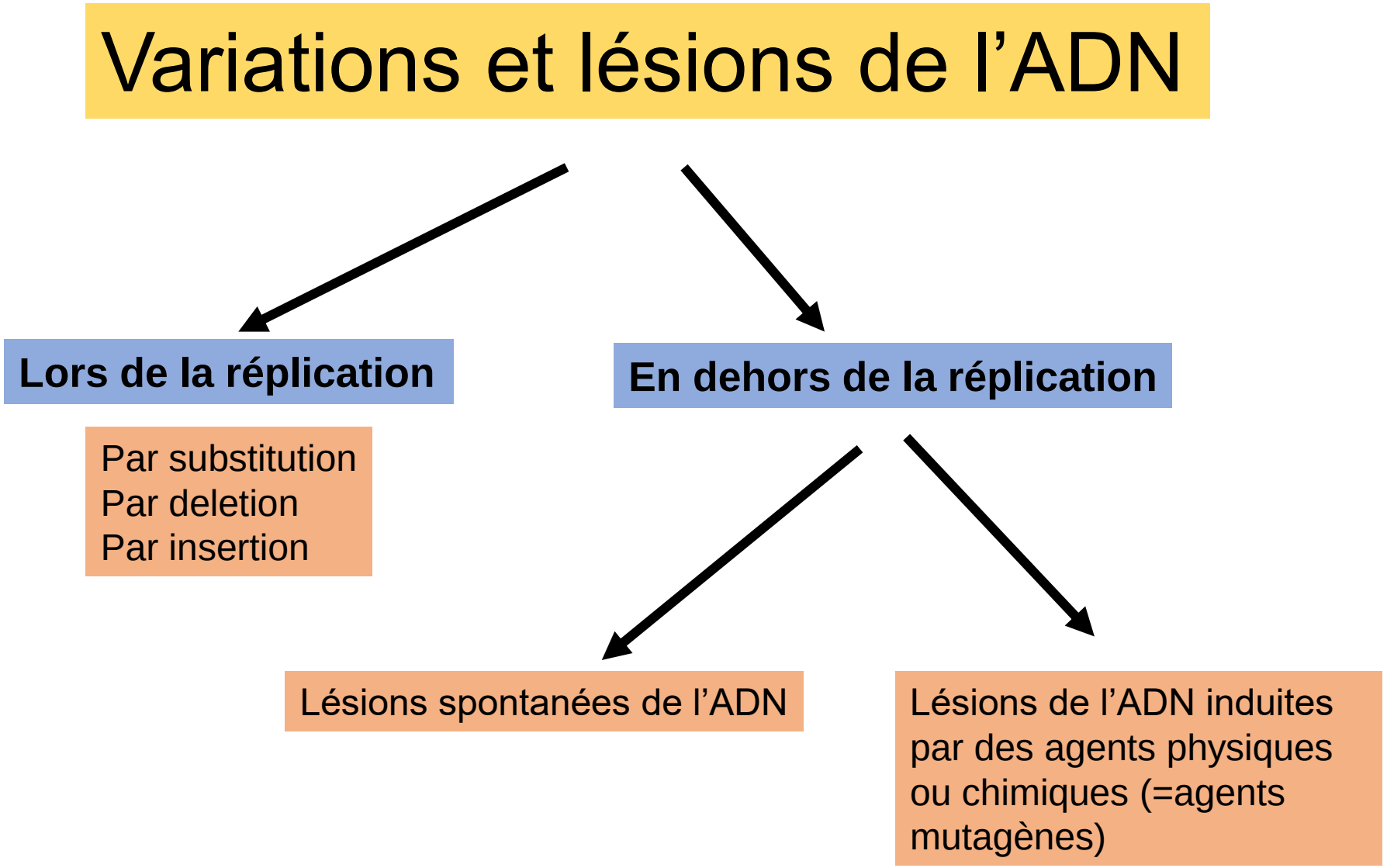
Système de prévention ou de réparation des modifications de l'ADN
(lésions, variations génétiques)

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 10^9 nucléotides à chaque cycle de réplication (*E. coli*, nématode, Homme…)

De quel risque parle-t-on ?



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

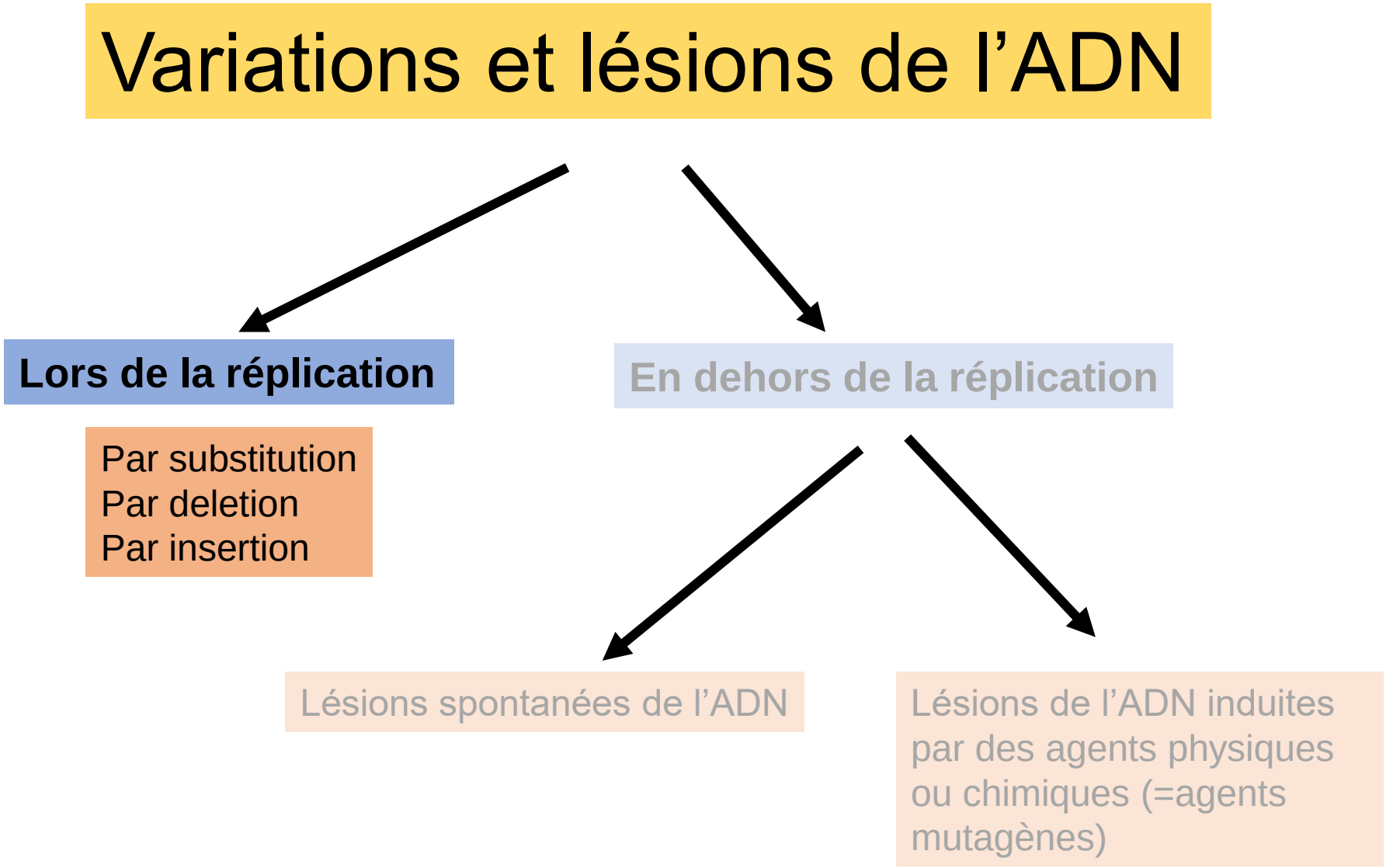
2.2.1. Les lésions spontanées

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

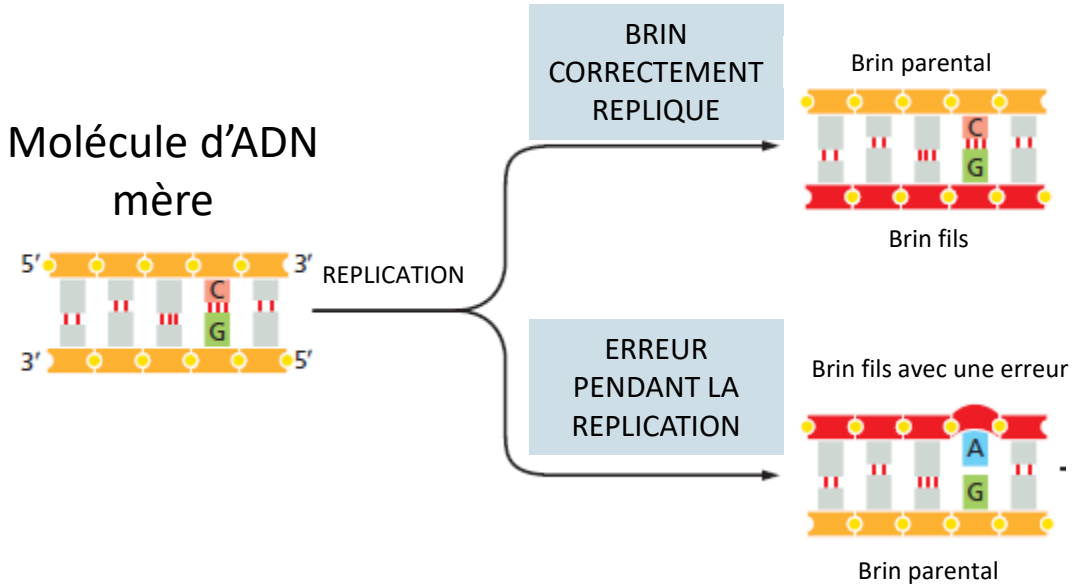
2.2.2.1 Incorporation d'analogues de bases
2.2.2.2 Modification de bases
2.2.2.3 Insertion/délétion de bases par des agents intercalants
2.2.2.4 Lésions de bases

De quel risque parle-t-on ?



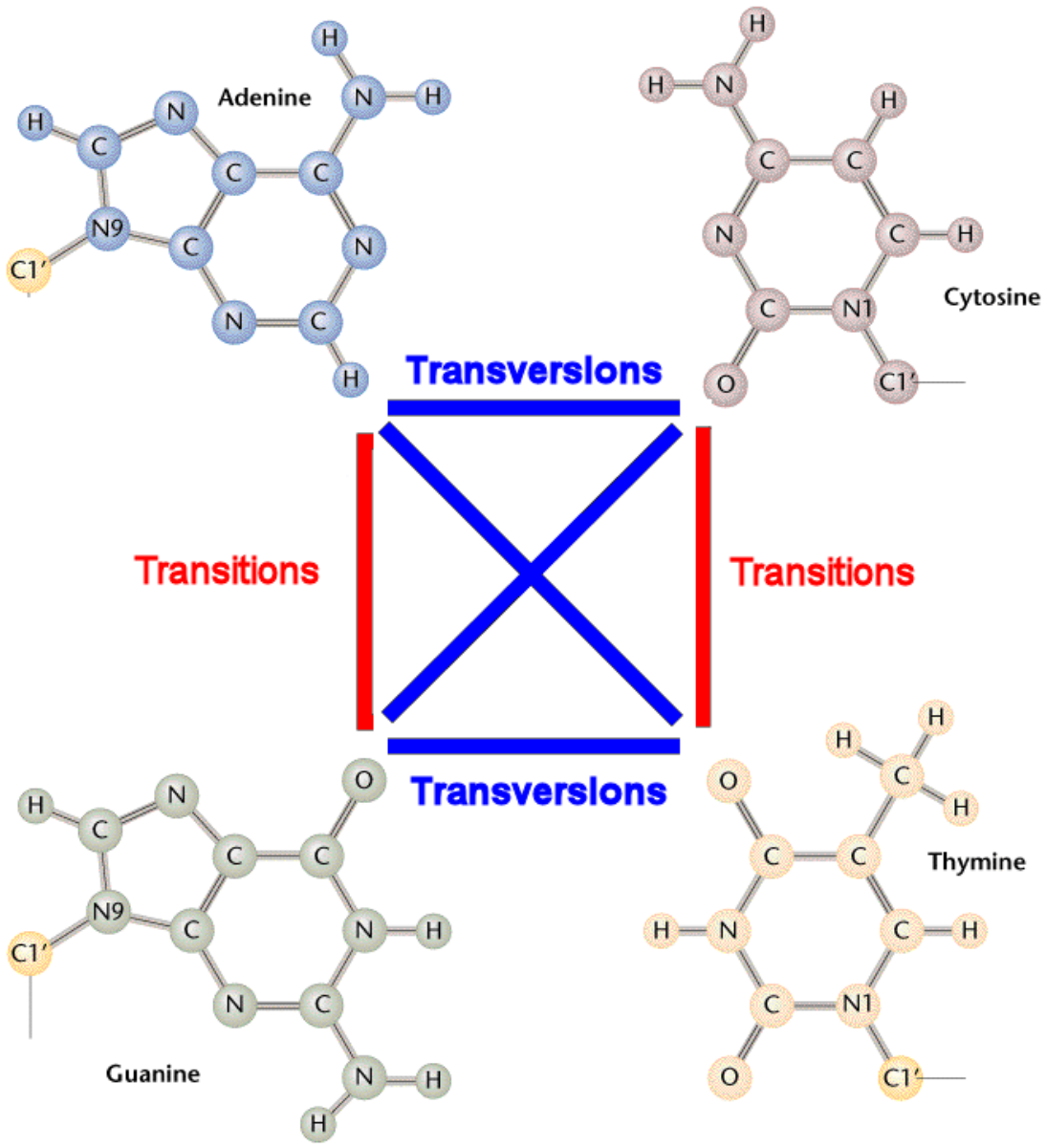
2.1. Erreurs survenant pendant la réplication

2.1.1. Variations par substitutions



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

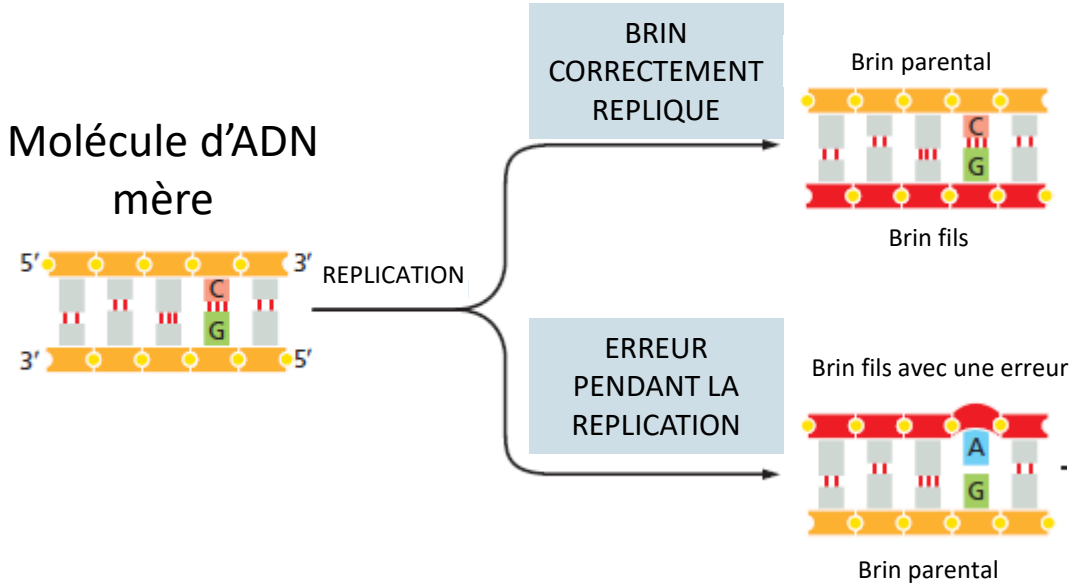
Nomenclature des variations par substitutions



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	
Base purique substituée par une base pyrimidique	G remplacé par C ou T A remplacé par C ou T
Base pyrimidique substituée par une base purique	T remplacé par A ou G C remplacé par A ou G

2.1. Erreurs survenant pendant la réplication

2.1.1. Variations par substitutions



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

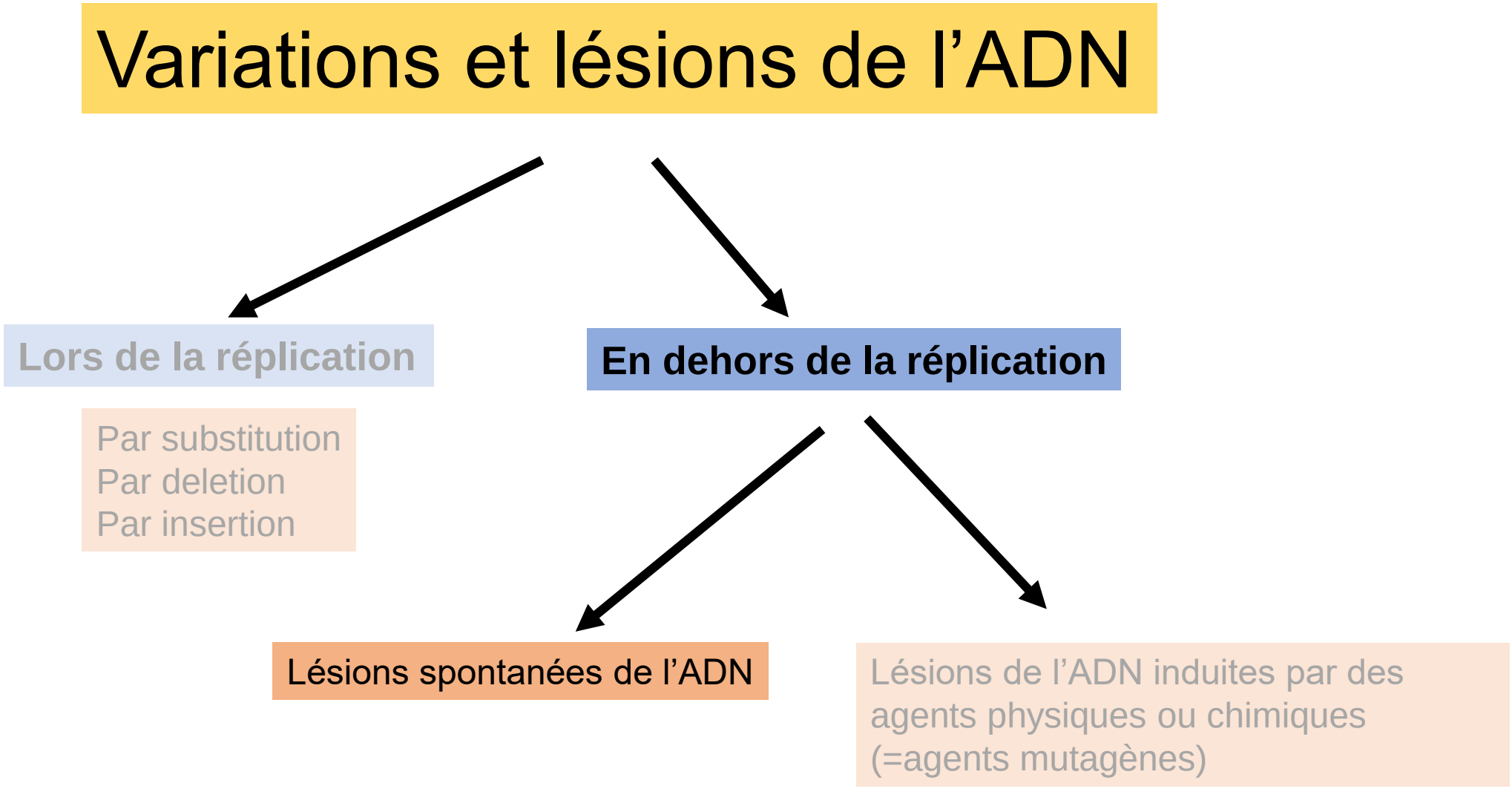
Substitution par transversion

2.1. Erreurs survenant pendant la réplication

2.1.2. Variations par délétions ou insertions



De quel risque parle-t-on ?

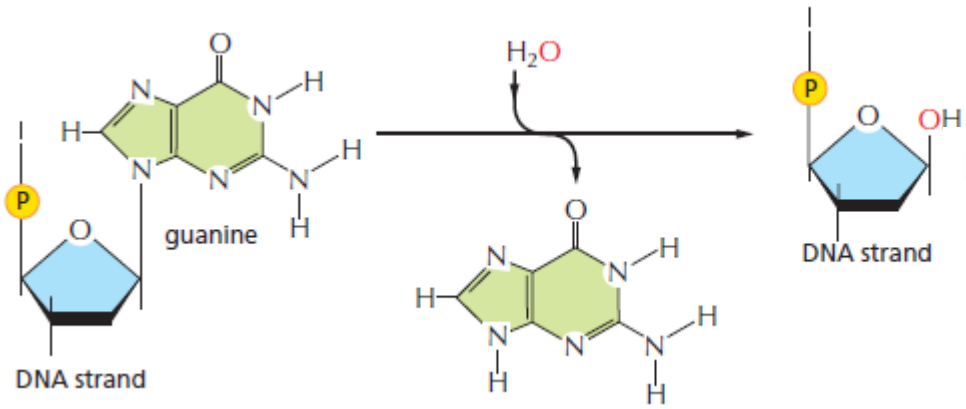


2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

2.2.1. Lésions spontanées

2.2.1.1. La dépurination

Réaction spontanée

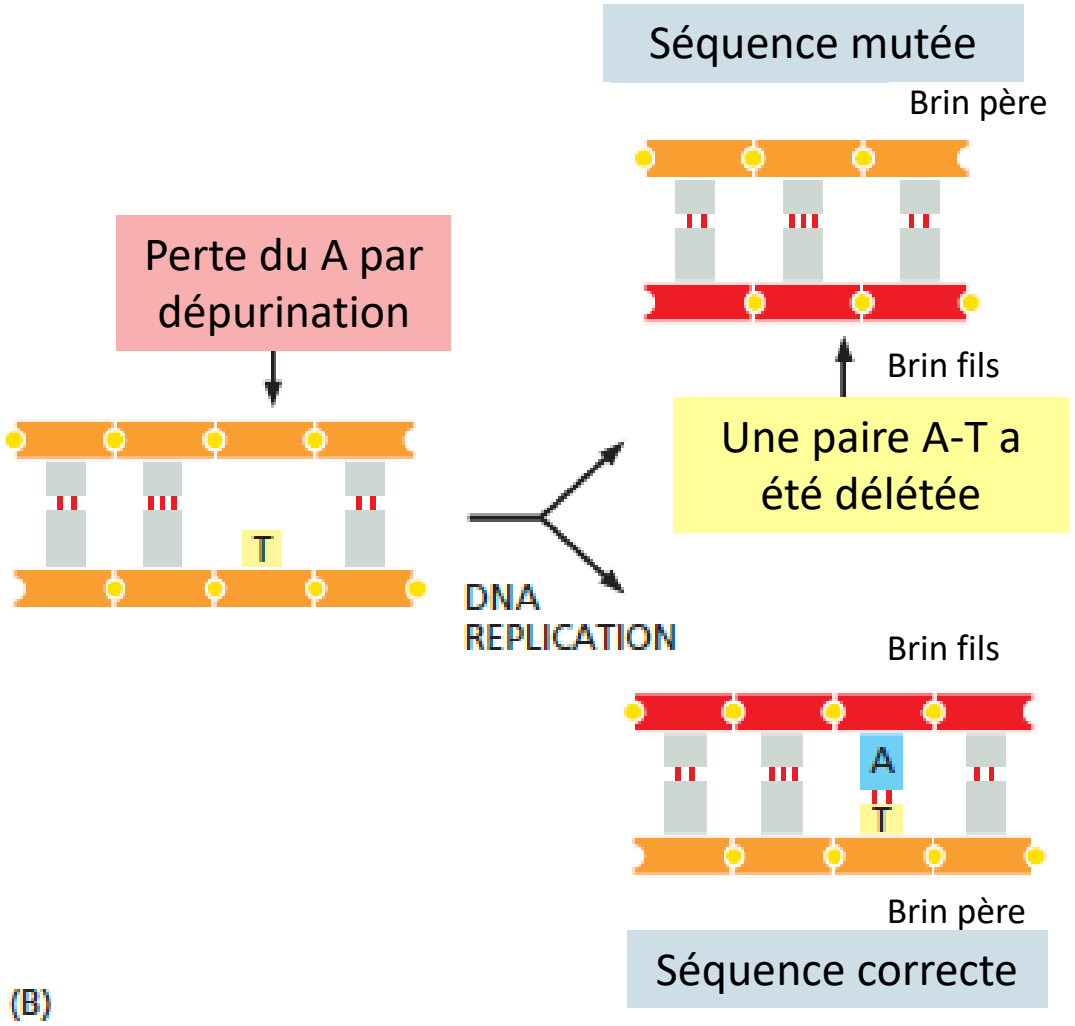


Désoxyribose dépuriné

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

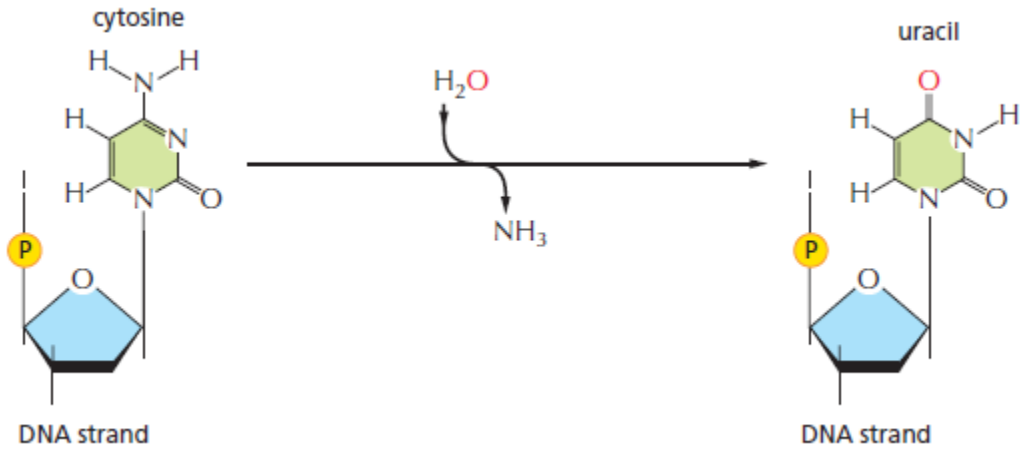
Conséquence des dépurinations



2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

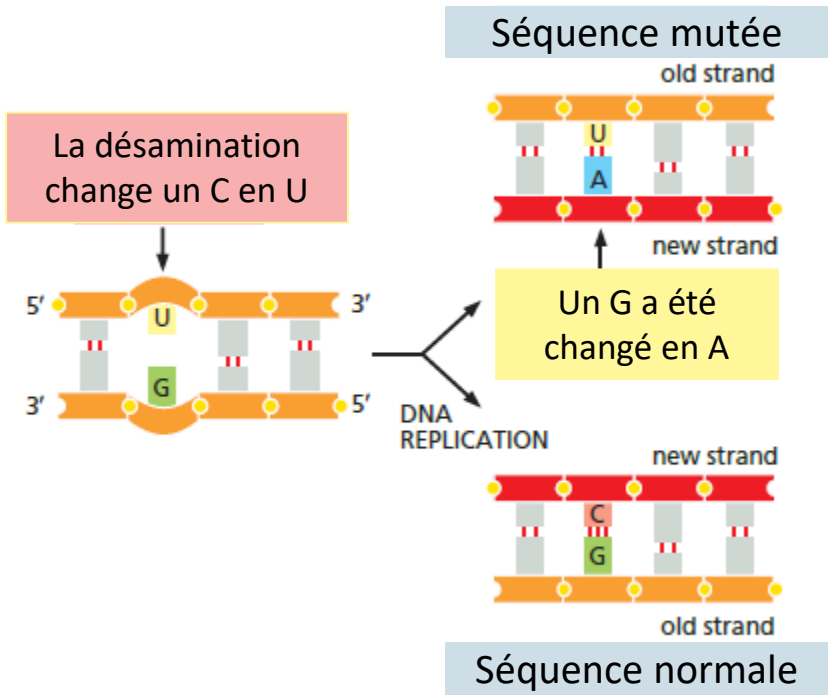
2.2.1. Lésions spontanées

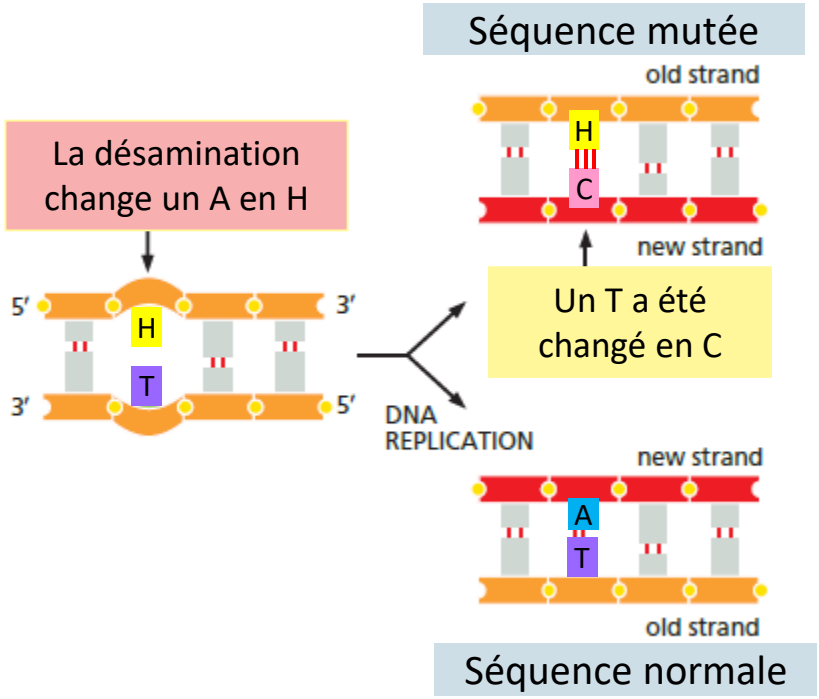
2.2.1.2. La désamination



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

Conséquence des désaminations





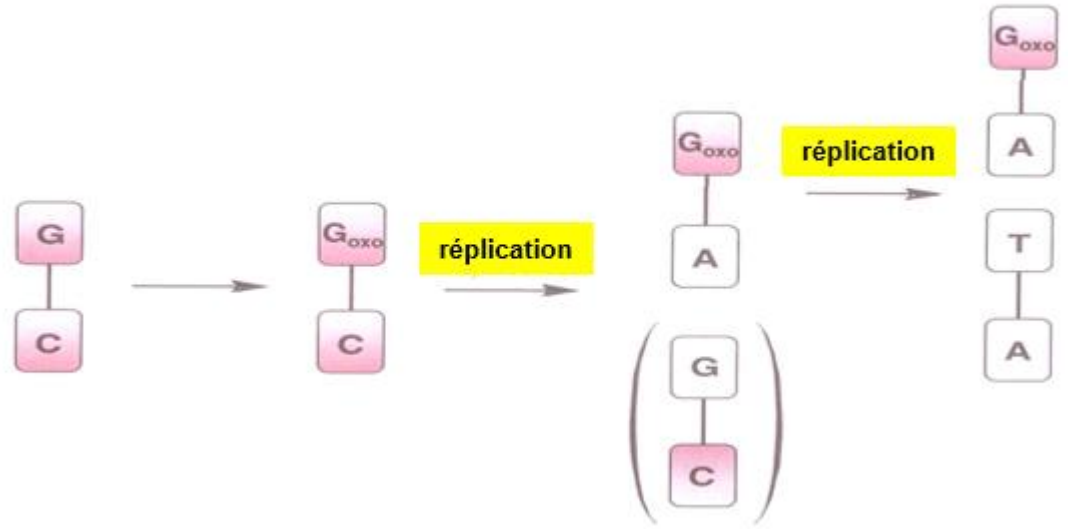
2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

2.2.1. Lésions spontanées

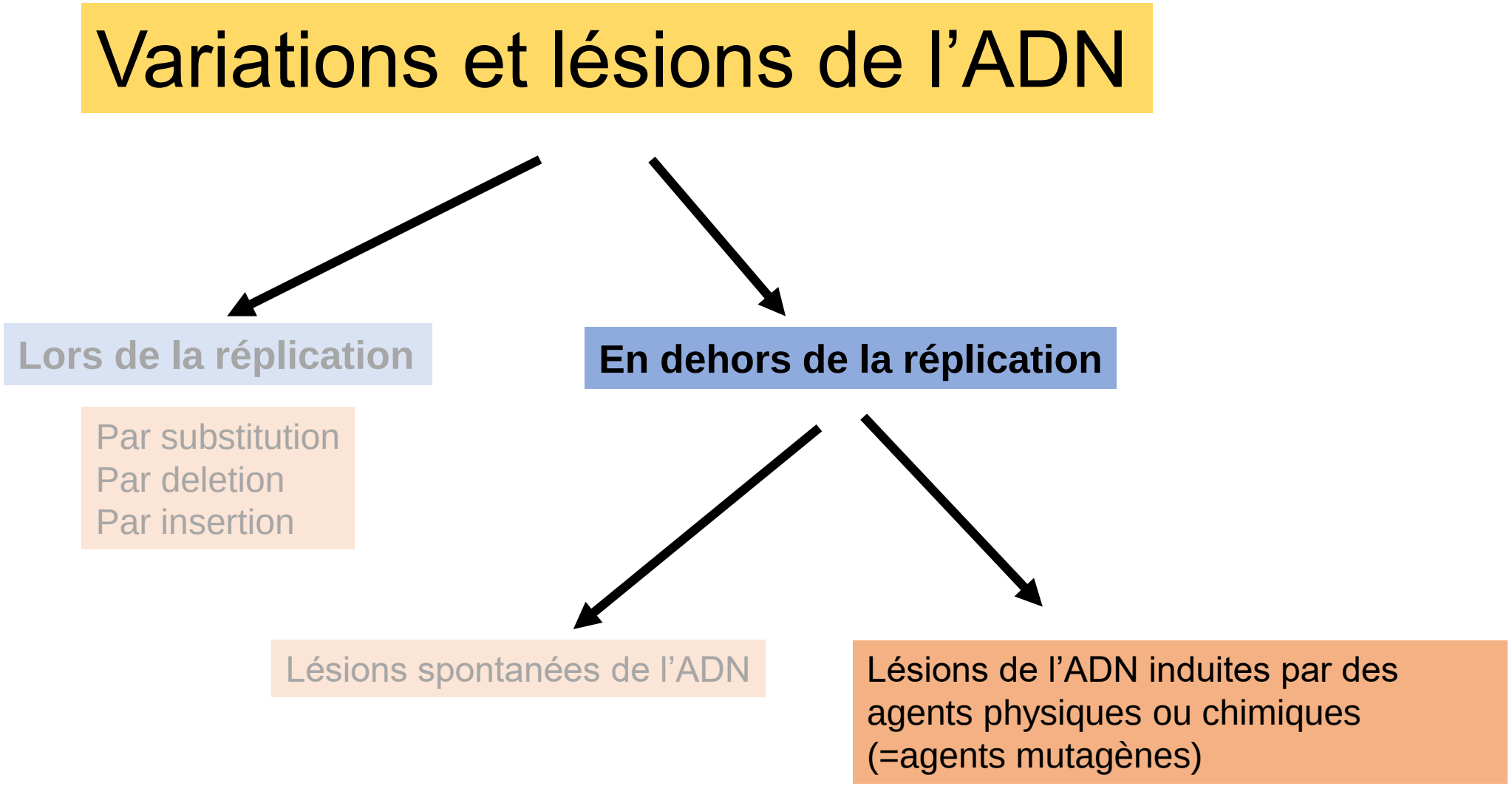
2.2.1.3. Bases altérées par oxydation

- Radicaux superoxydes O2●
- Radicaux hydroxyles OH ●
- Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

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



De quel risque parle-t-on ?



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

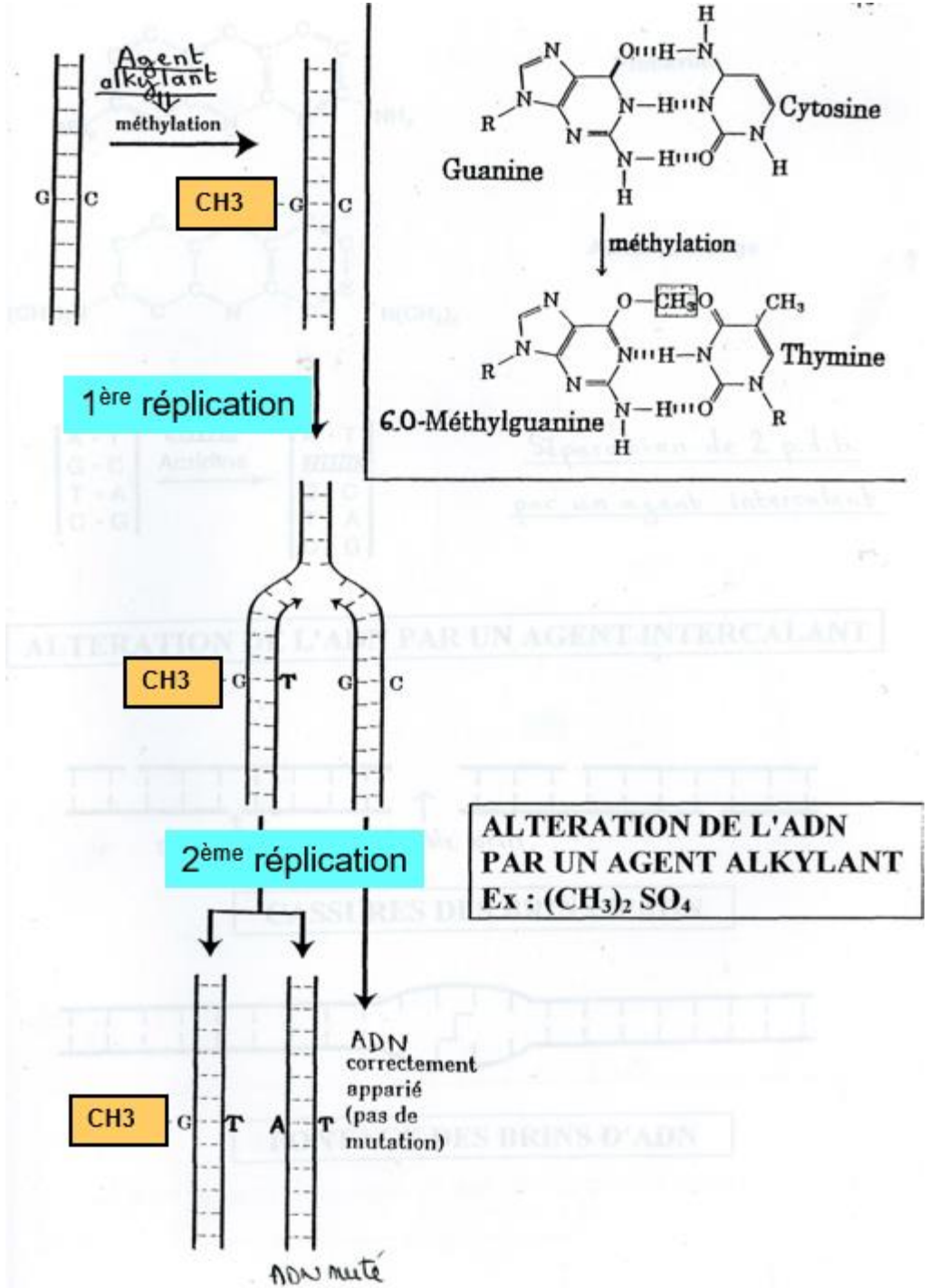
5 Bromo-uracile (5 BU) = analogue de la thymine
2 Aminopurine (2AP) = analogue de l'adénine

2.2.2.2. Modification de bases

Agents alkylants:

Ethylmethane sulfate
Nitrosoguanidine
Dimethylsulfate

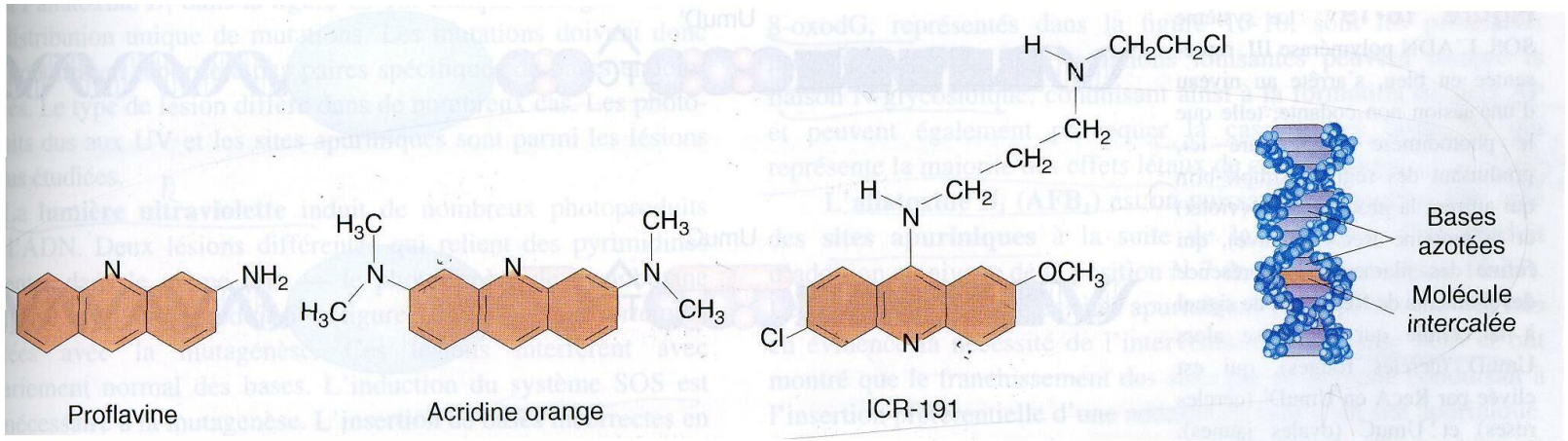
Ex : action du diméthylsulfate



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

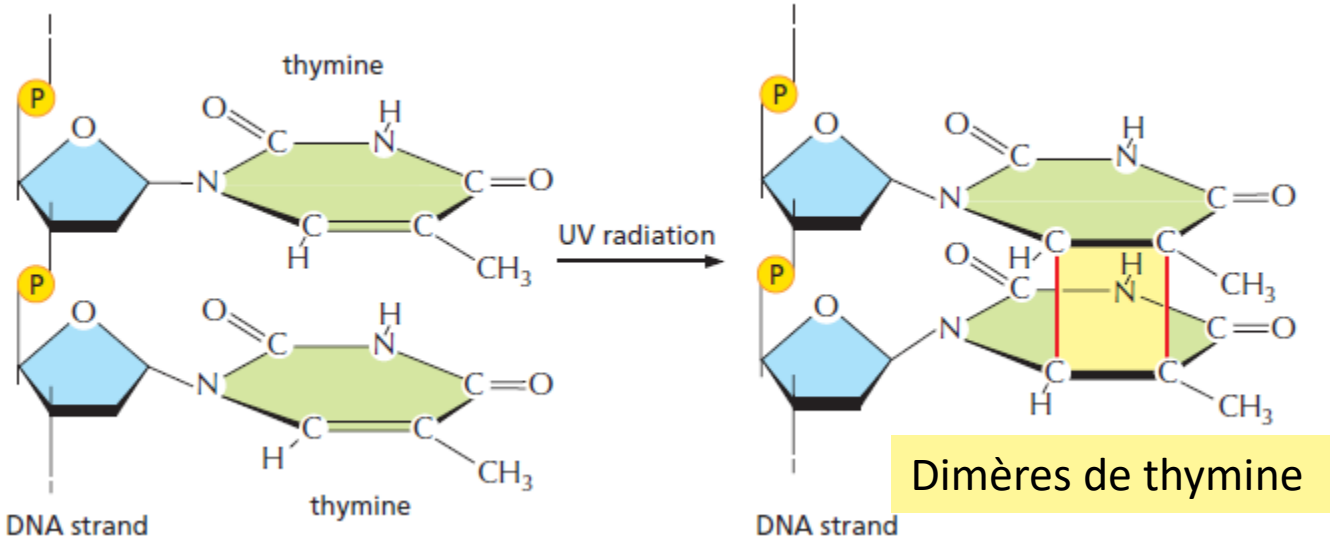


2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

2.2.2. 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

Blocage de la réplication

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

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

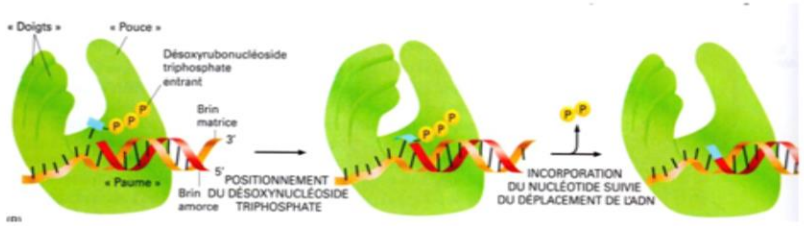
3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3

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

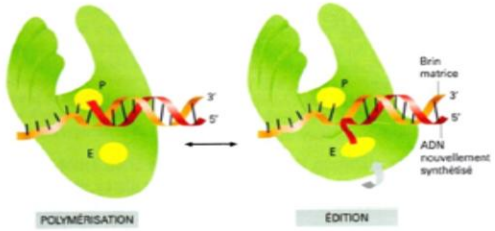
3.1. Correction immédiate : fonction d'édition des ADN polymérases

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



D'après Alberts , 5ème édition,2011

3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3

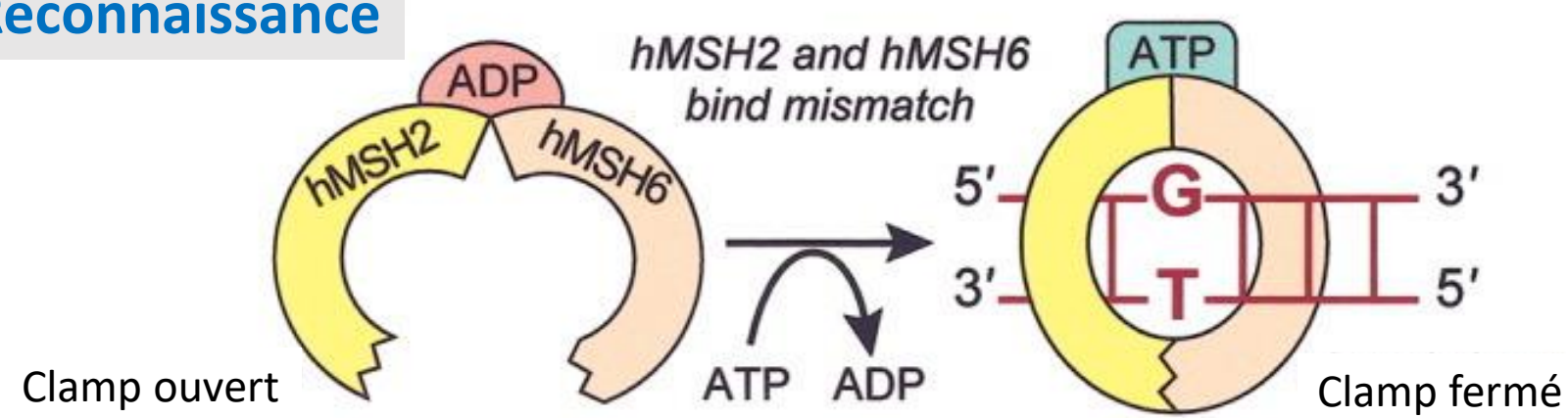
Système MMR : réparation des mésappariements

DNA MisMatch Repair ⇨ correction des erreurs réplicatives (phase S)

Mésappariement



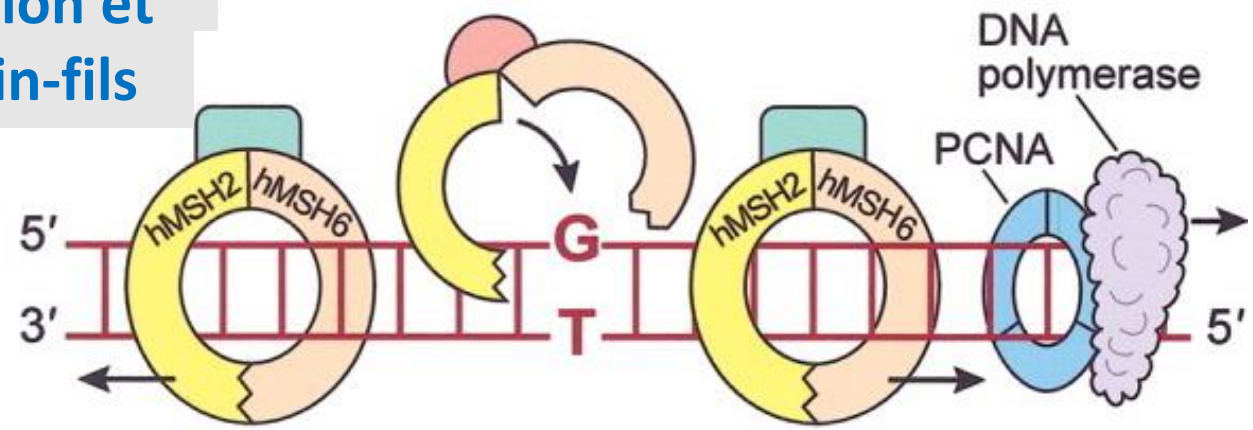
1/ Reconnaissance



https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.22023

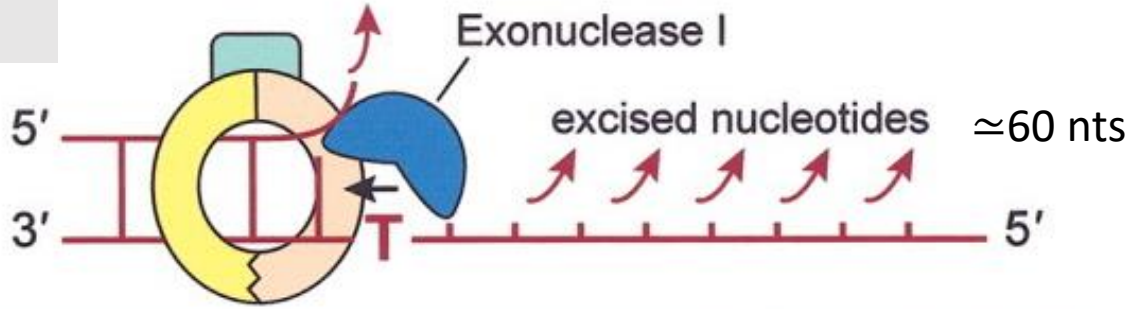
2/ Identification et clivage du brin-fils

MSH2:MSH6
MLH1:PMS2
(endonuclease)



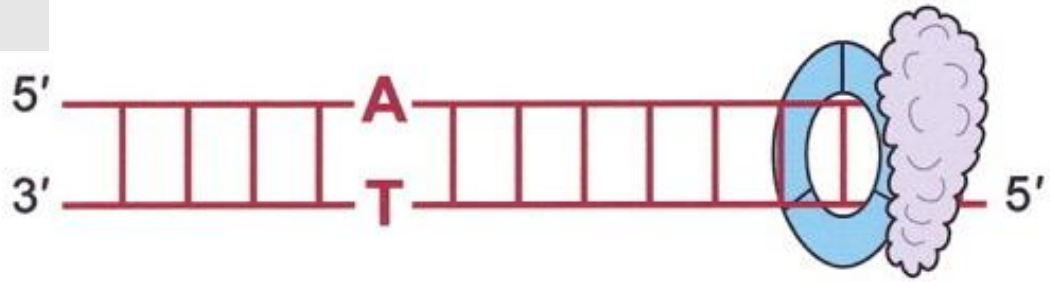
3/ Excision

(Hélicase ?)
Exonucléase I



4/ Resynthèse

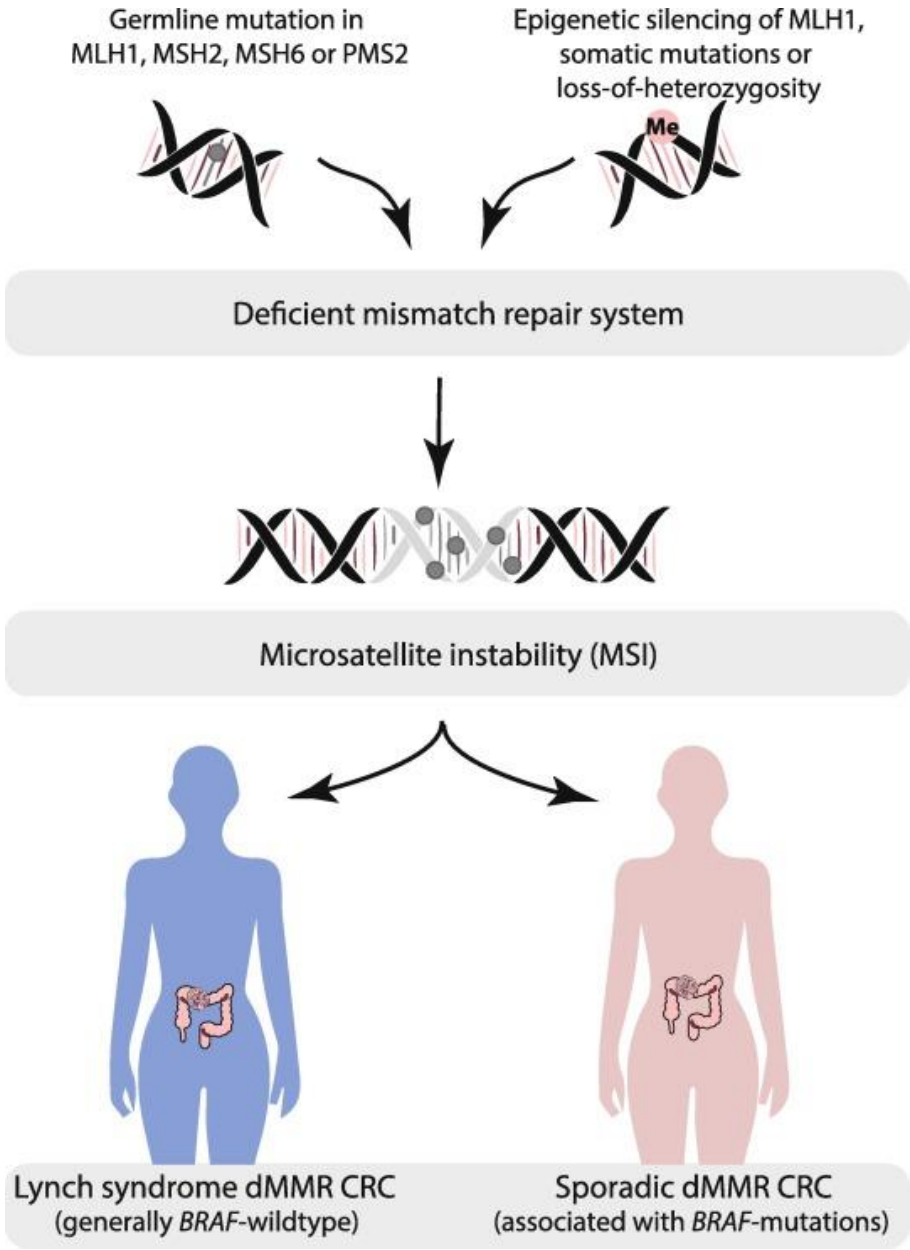
DNA Polymerase δ
DNA Ligase I



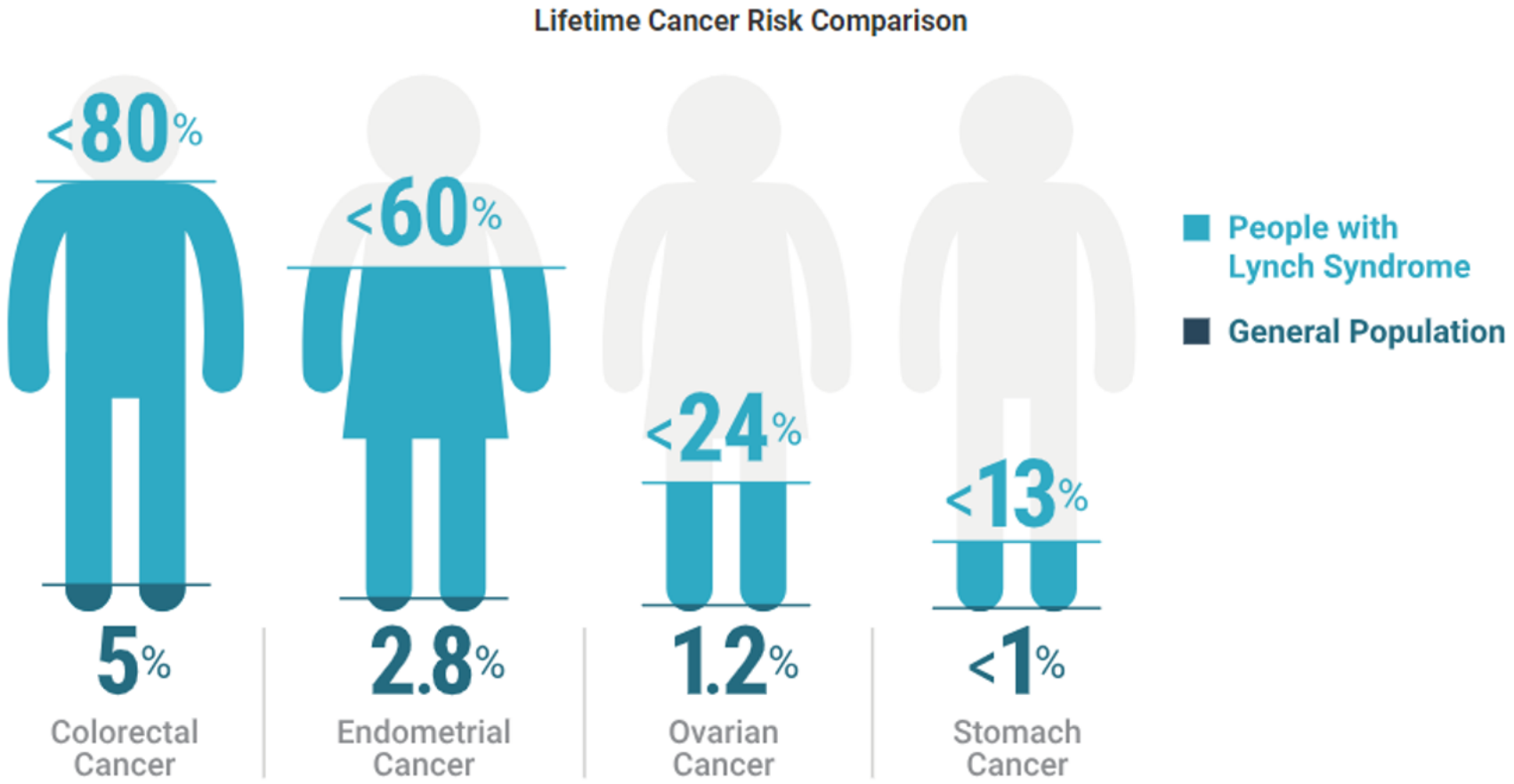
Déficience du système MMR

- **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 Lynch



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)

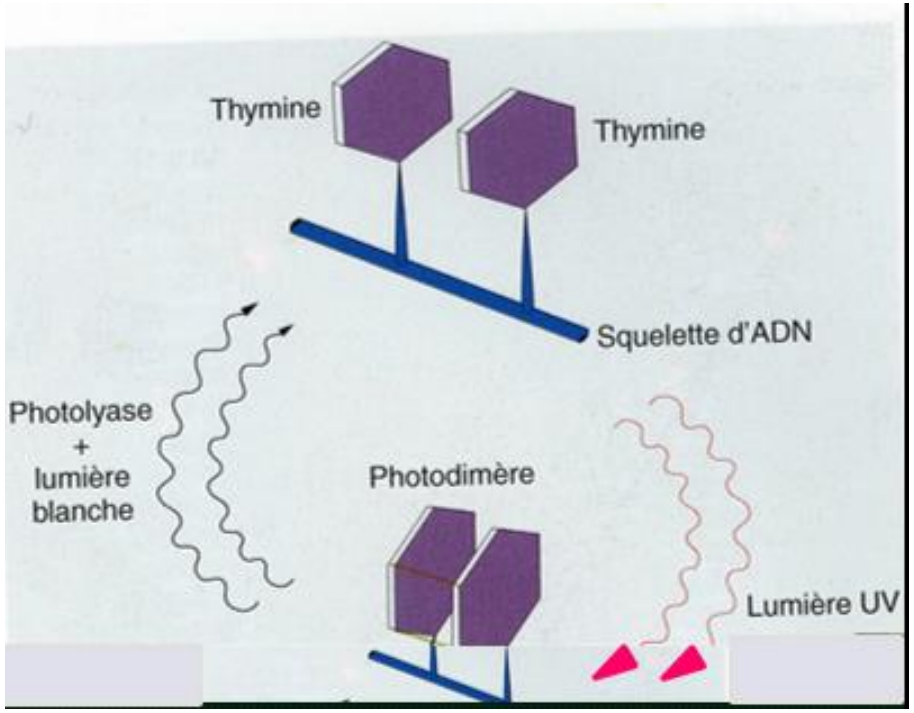
4. Correction des autres altérations de l'ADN

ADN endommagé ➡ arrêt du cycle cellulaire ➡ réparation avant nouvelle réplication

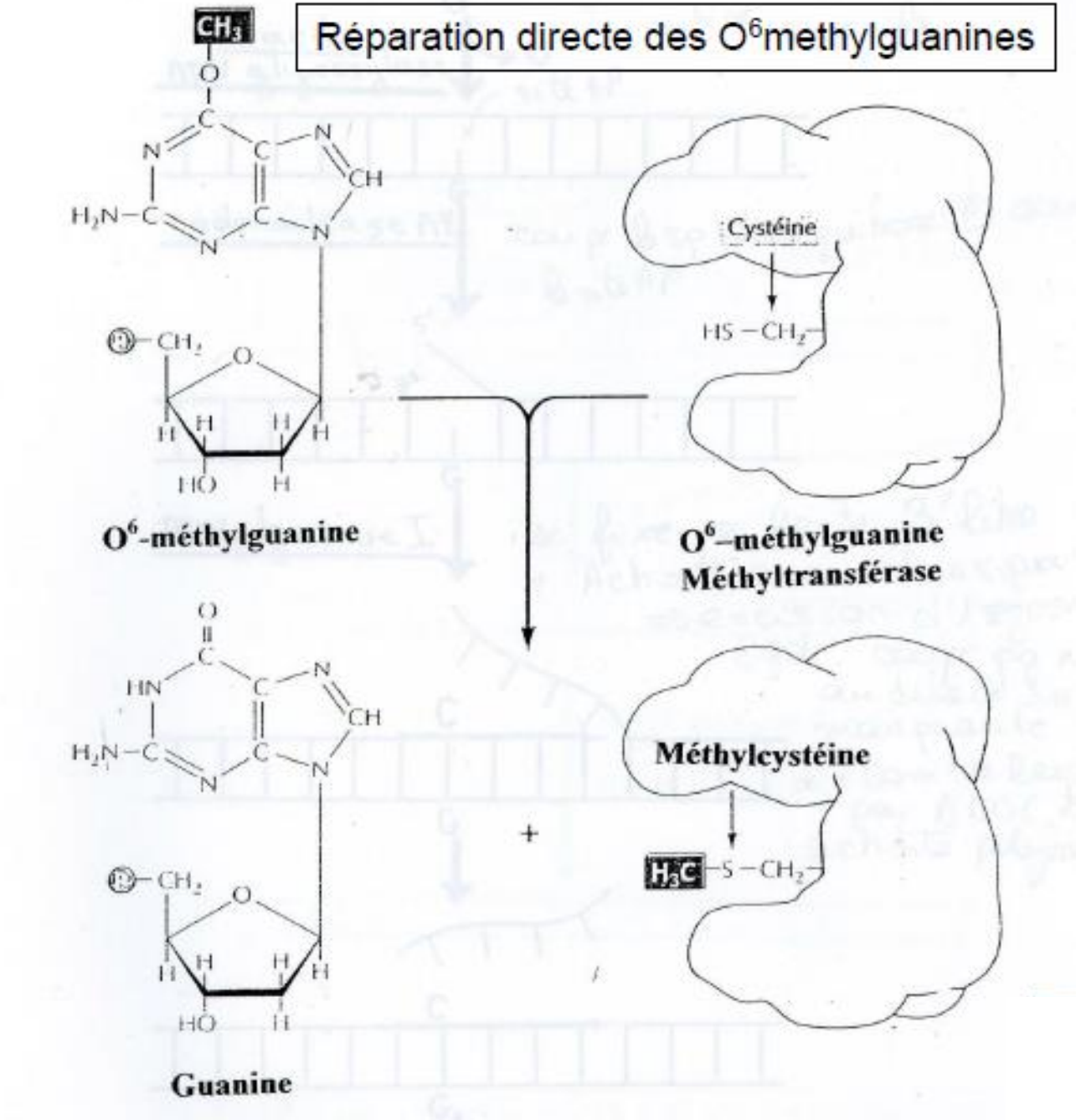
4.1. Réparation directe/retour à l'état antérieur

« Réservée » à des altérations spécifiques

① Photolyase



2 Alkyltransférases



4.2. Réparation par excision/réparation

Pour lésions présentes sur 1 seul brin

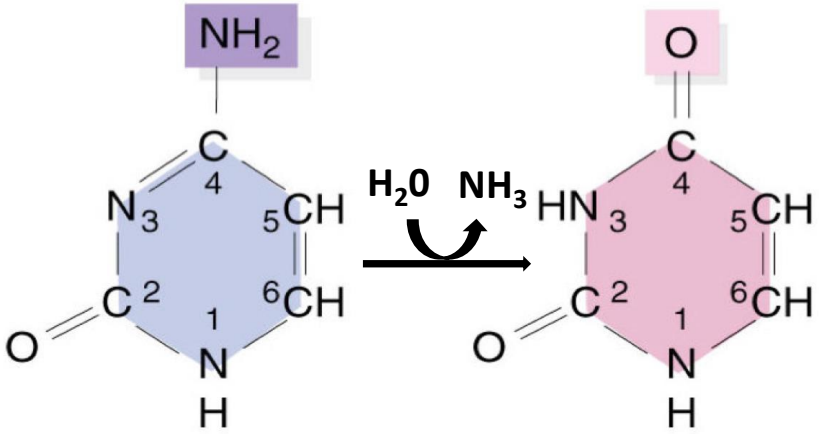
Mécanisme général

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

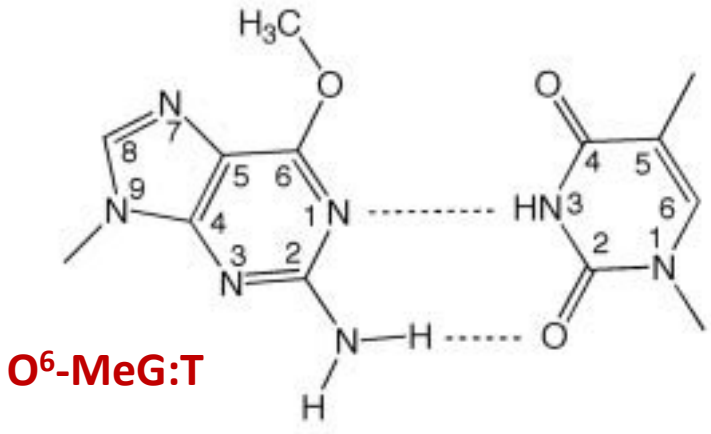
4.2. Réparation par excision/réparation

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

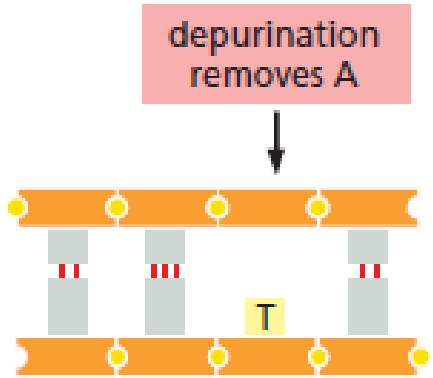
Correction des **modifications de bases** et des **cassures simple-brin**



Désamination oxydative
de cytosine en uracile
⇨ U:A



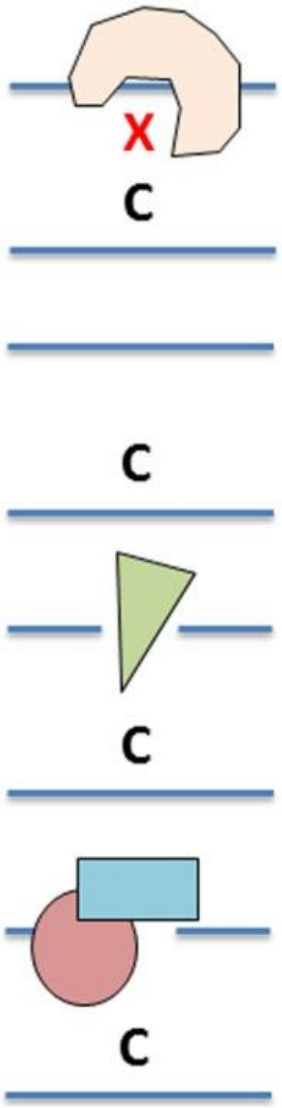
Méthylation de la guanine
⇨ meG:T



Dépurination

4.2. Réparation par excision/réparation

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



(A) Glycosylase : reconnaissance et excision de la base endommagée

≠ selon type de dommage
Ex : Uracile ADN Glycosylase

↓

(B) Création d'un **site abasique** (AP)

↓

(C) Endonucléase AP clive le désoxyribose et le phosphate de ce site abasique

↓

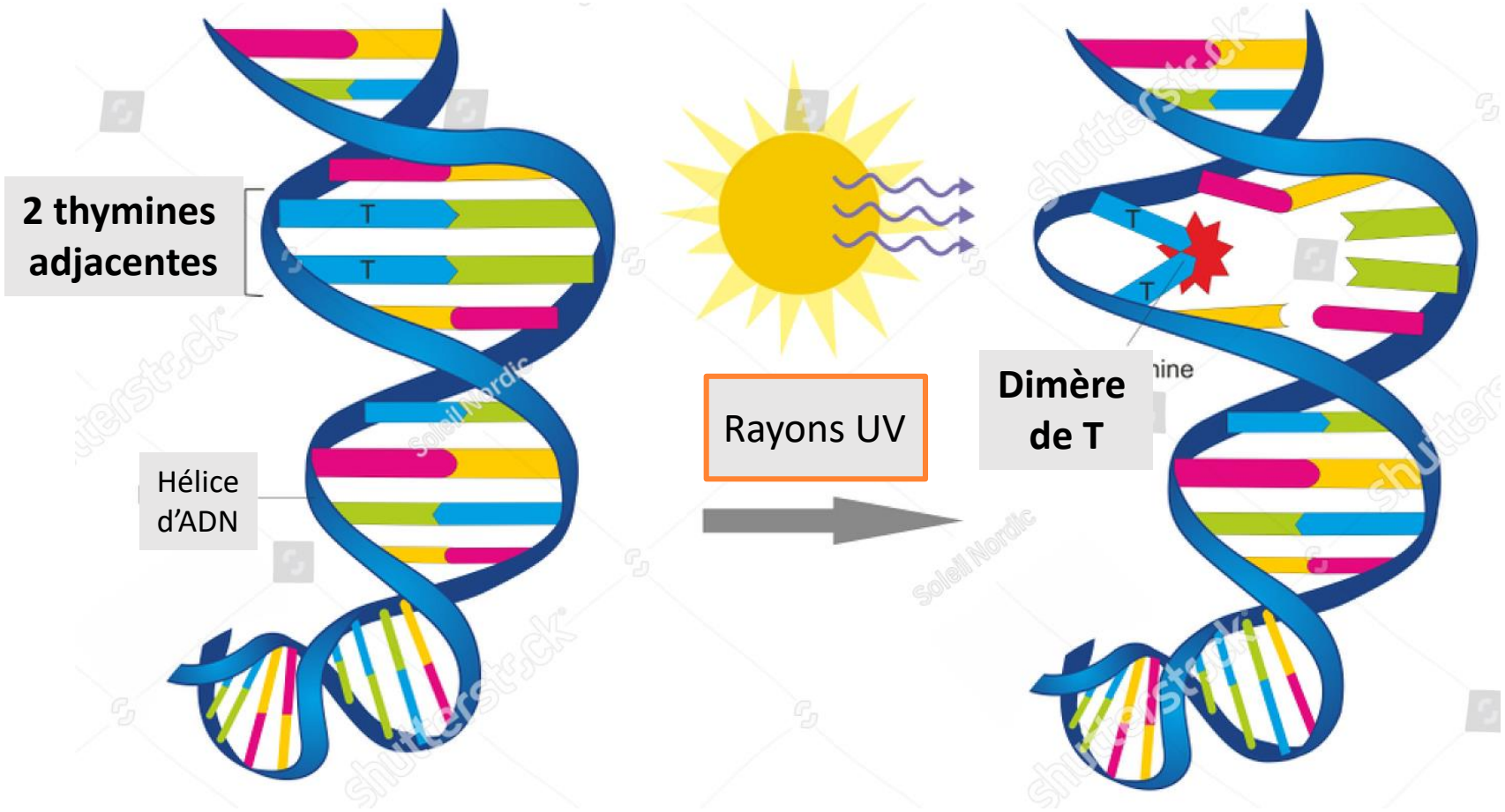
(D) Protection de la cassure simple brin et recrutement d'un complexe protéique incluant **l'ADN polymérase**

http://europepmc.org/article/PMC/4428371

4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

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

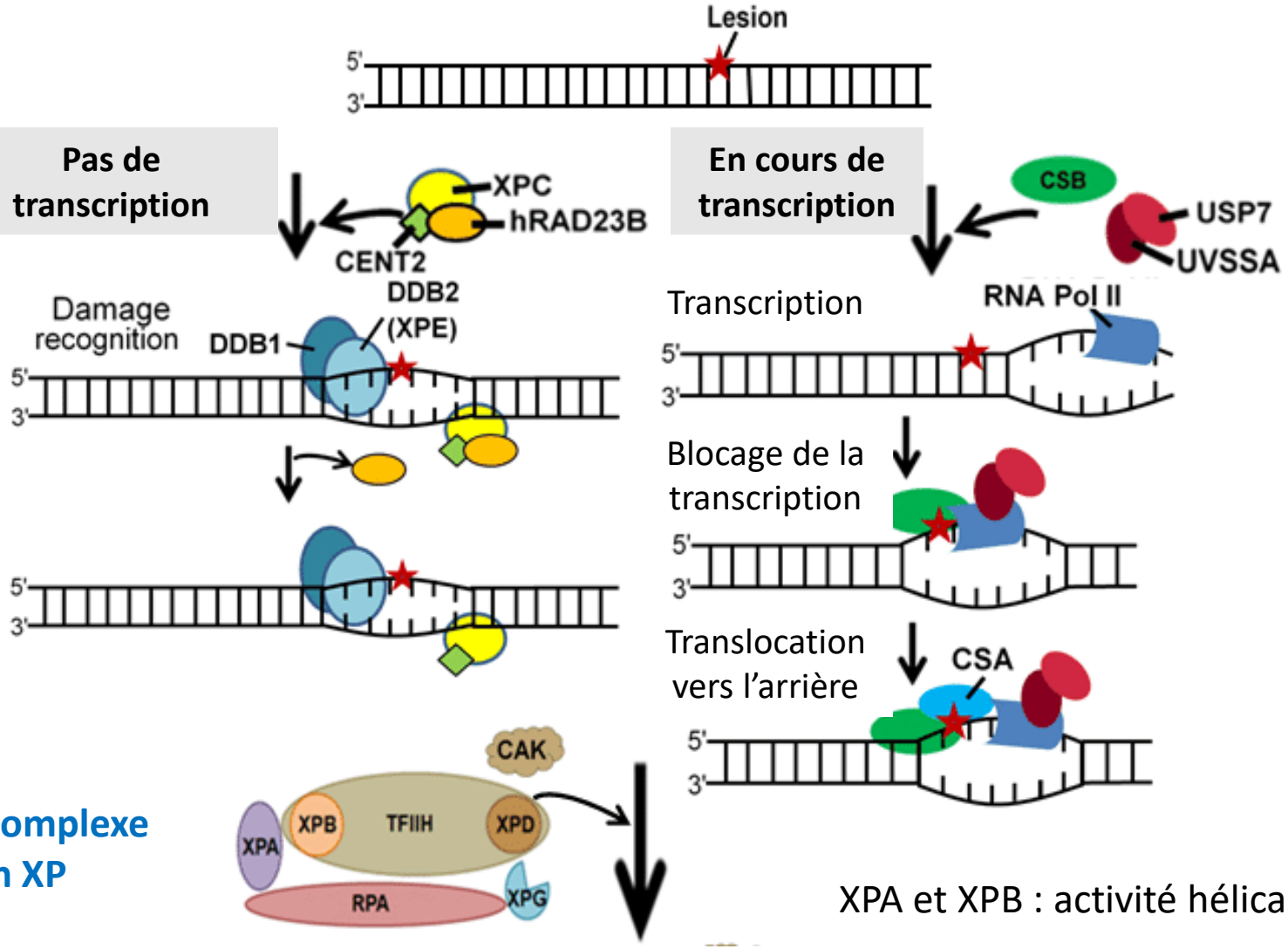


4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

Reconnaissance de la lesion (Complexe contenant XPC)

Recrutement du complexe de réparation XP



XPA et XPB : activité hélicase

10.3390/ijms21030870

4.2. Réparation par excision/réparation

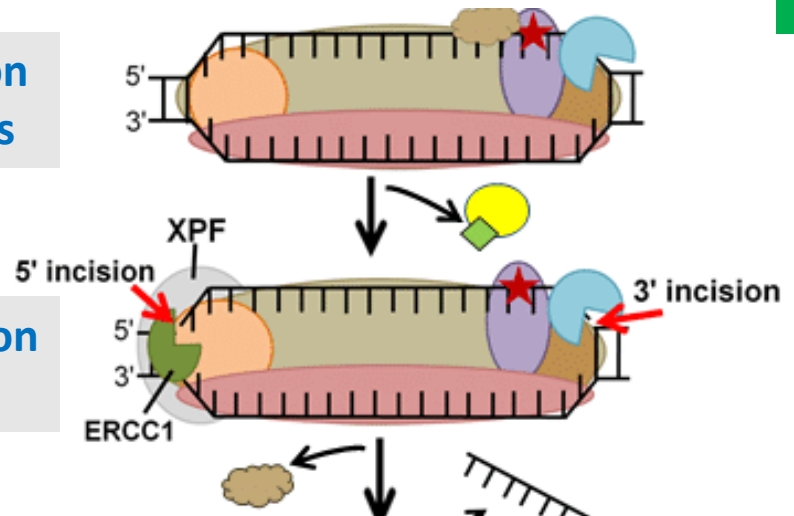
4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

Réparation fidèle

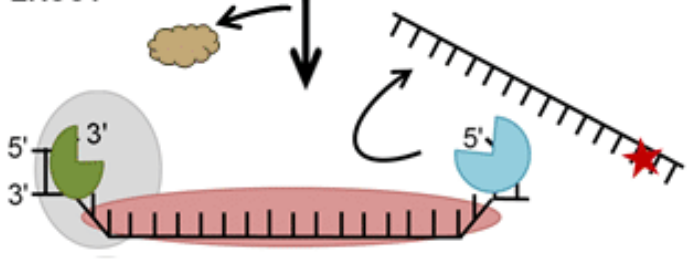
Séparation des brins

XPA et XPB : activité hélicase

Double incision (5’ et 3’)

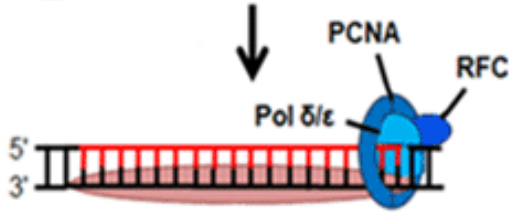


Excision

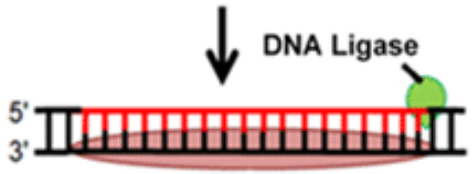


Excision : XPF-ERCC1 et XPG

Resynthèse



Ligation



10.3390/ijms21030870

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

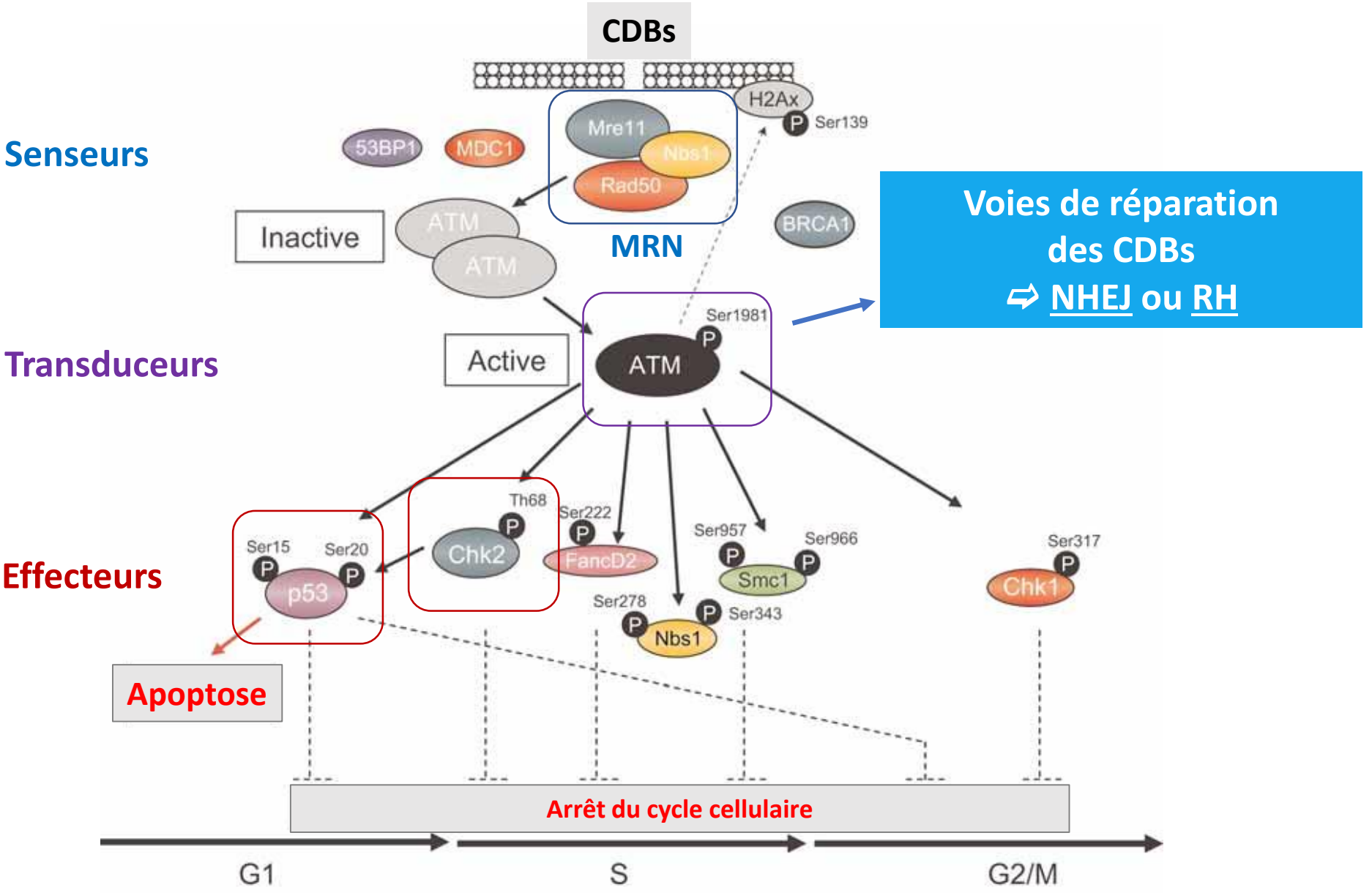
↓

« Lacune » ou « brèche » post-réplicative

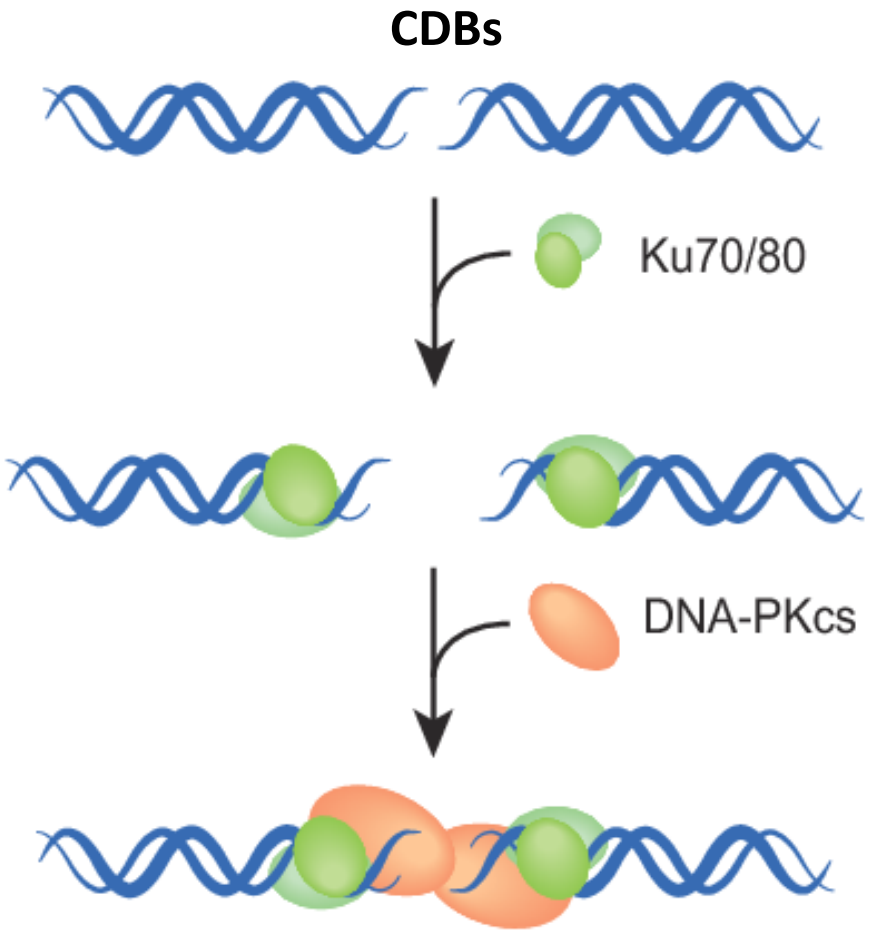
↓

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)

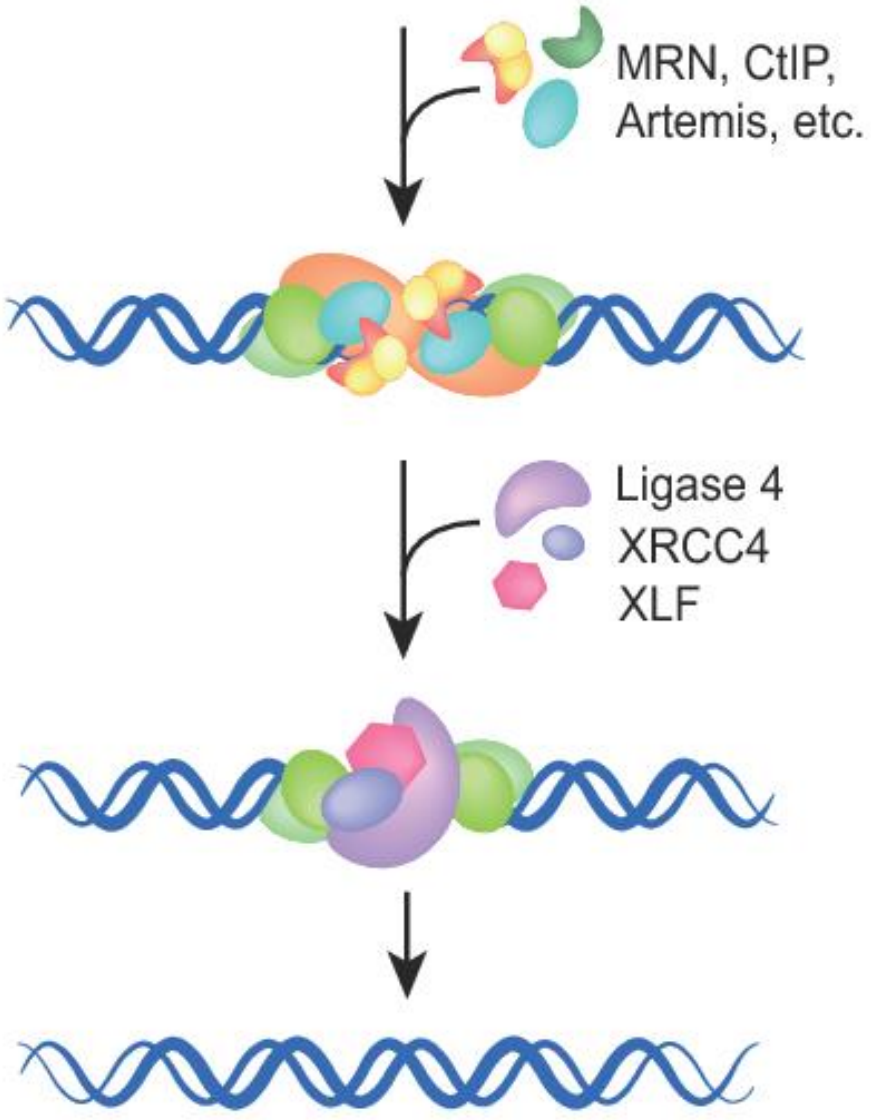


Reconnaissance des extrémités
par **Ku70/80**

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…

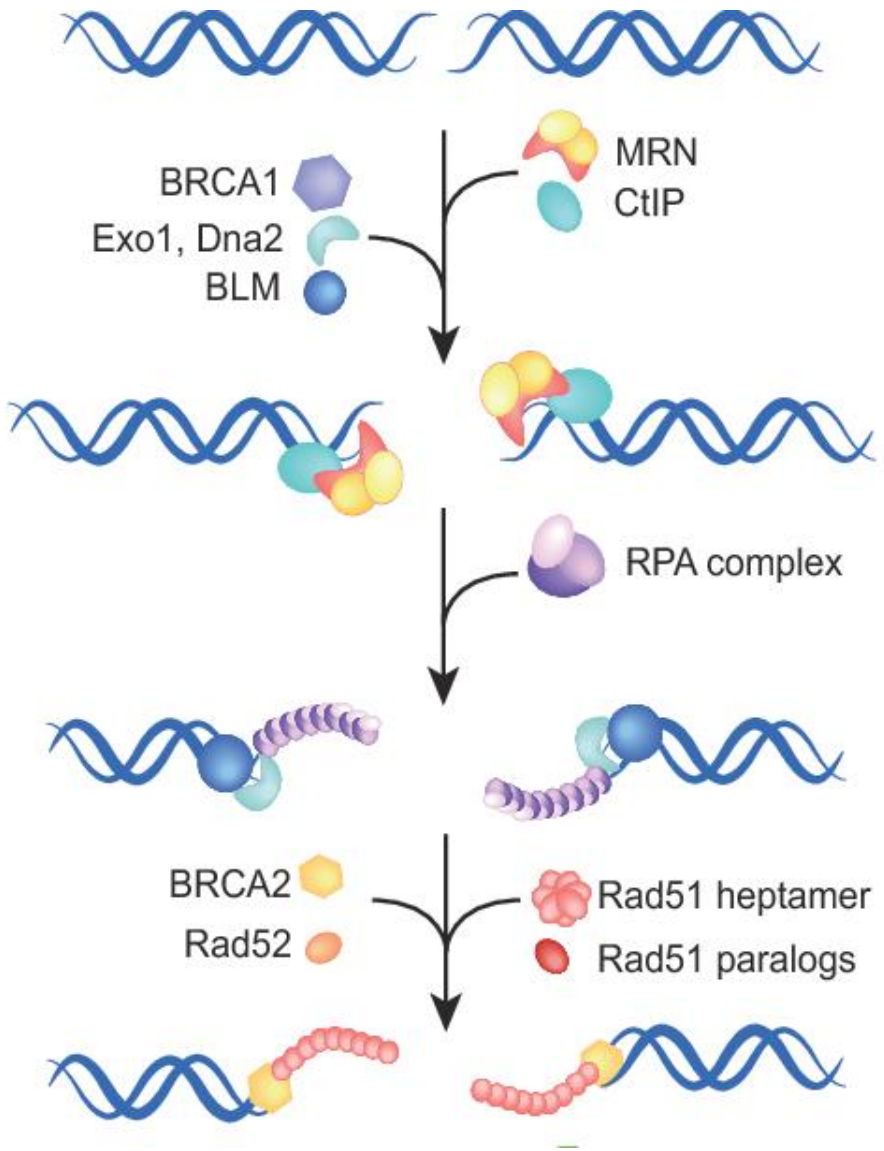
Maturation des extrémités

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)



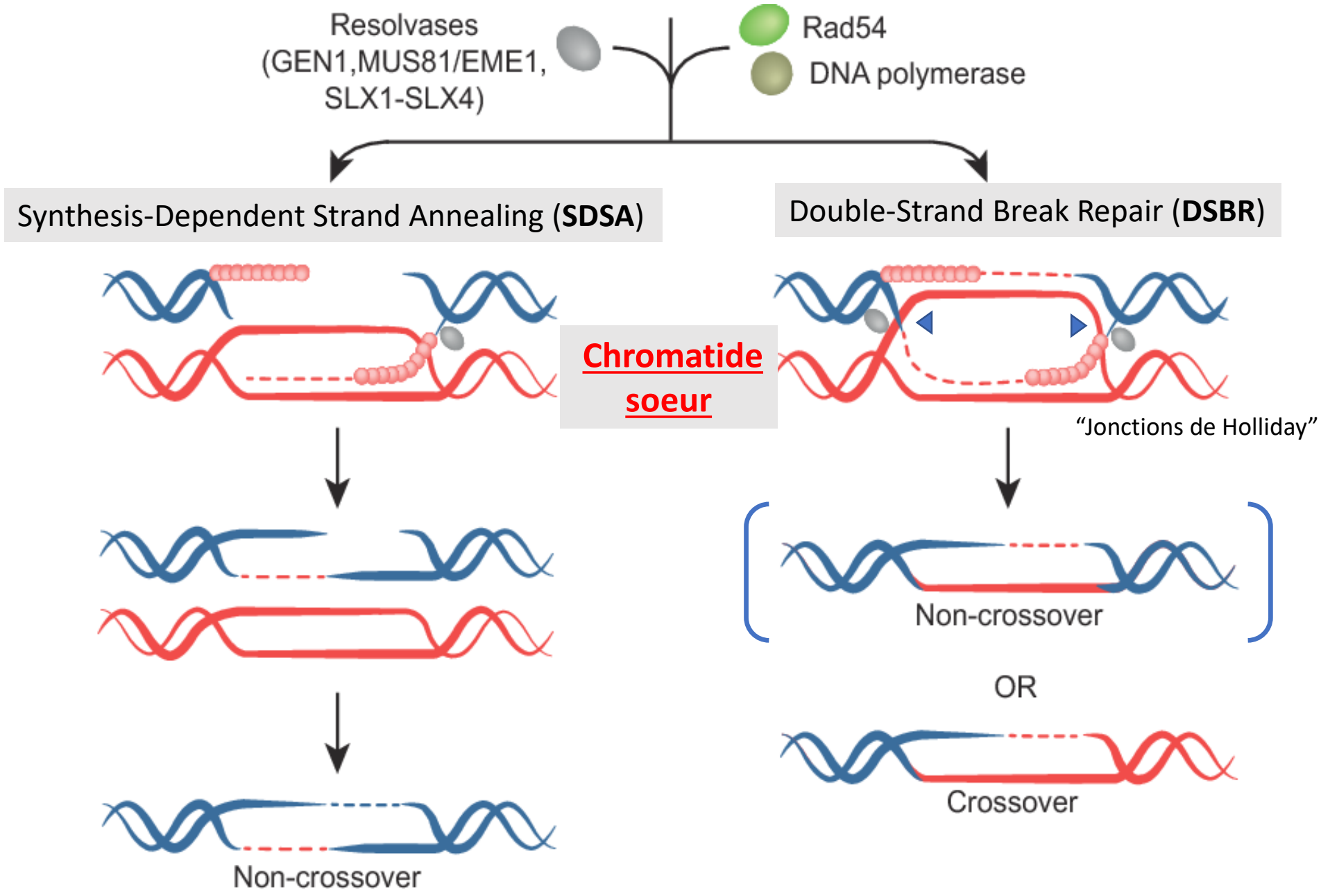
Réparation fidèle

Résection ménagée des extrémités par complexe MRN
⇨ extrémités 3' sortantes (ssDNA)

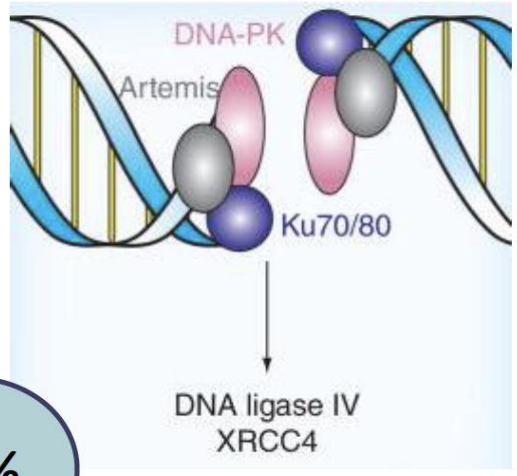
Protection par le complexe RPA
(replication protein A)

Recrutement de RAD51 par BRCA2
⇨ formation de nucléofilaments

Nucléofilaments RAD51 ⇨ Recherche d'HOMOLOGIE



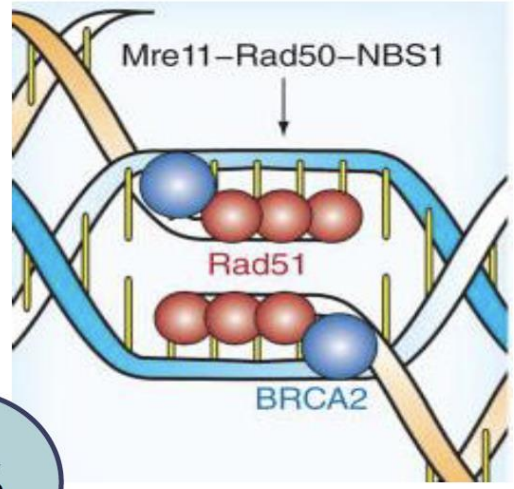
Voie non homologue (c-NHEJ)



70%

Phases G0/G1
Rapprochement d'extrémités lésées
Perte de matériel génétique
Infidèle
Protéines-clés : **DNA-PK**

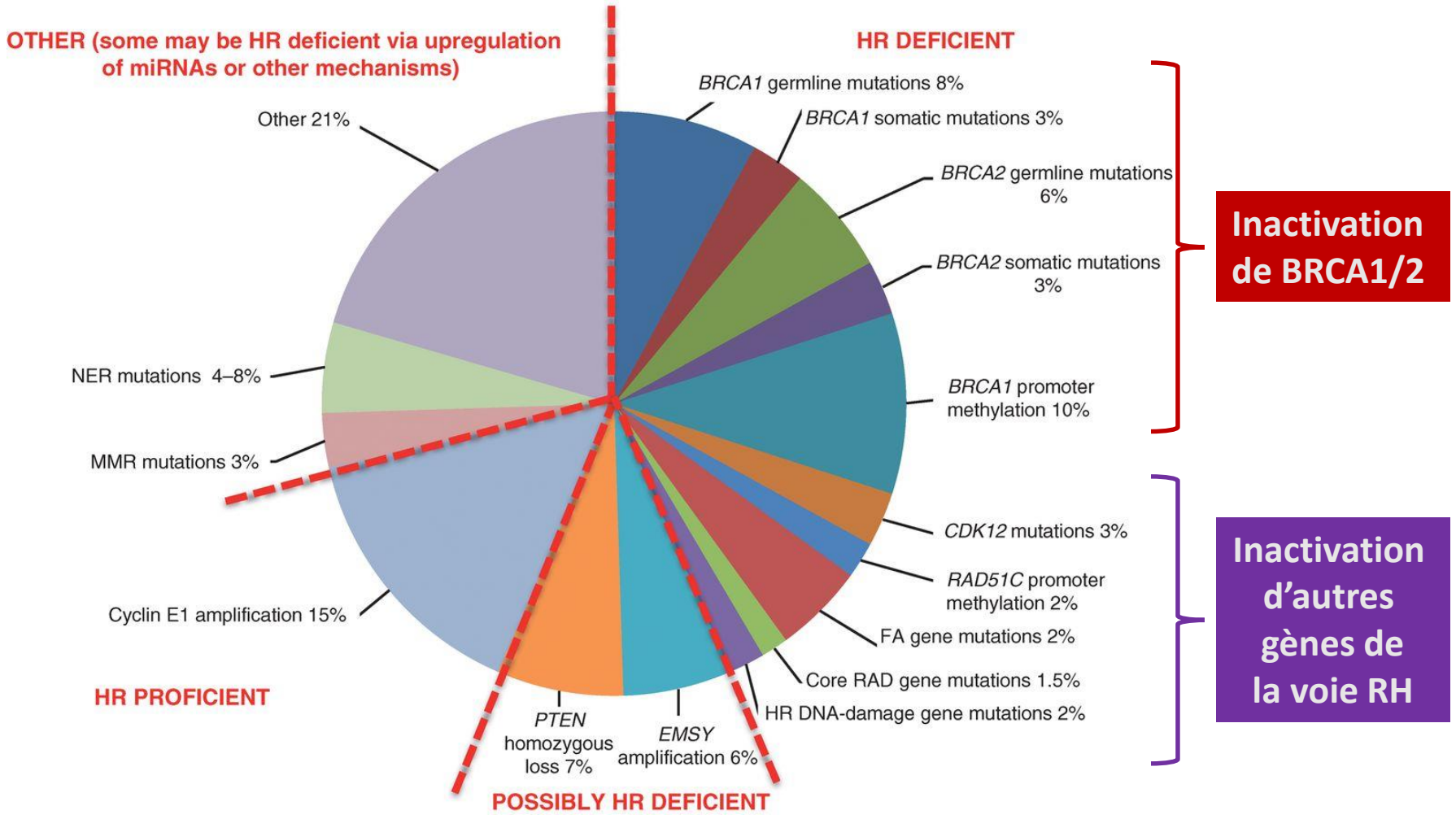
Recombinaison homologue



30%

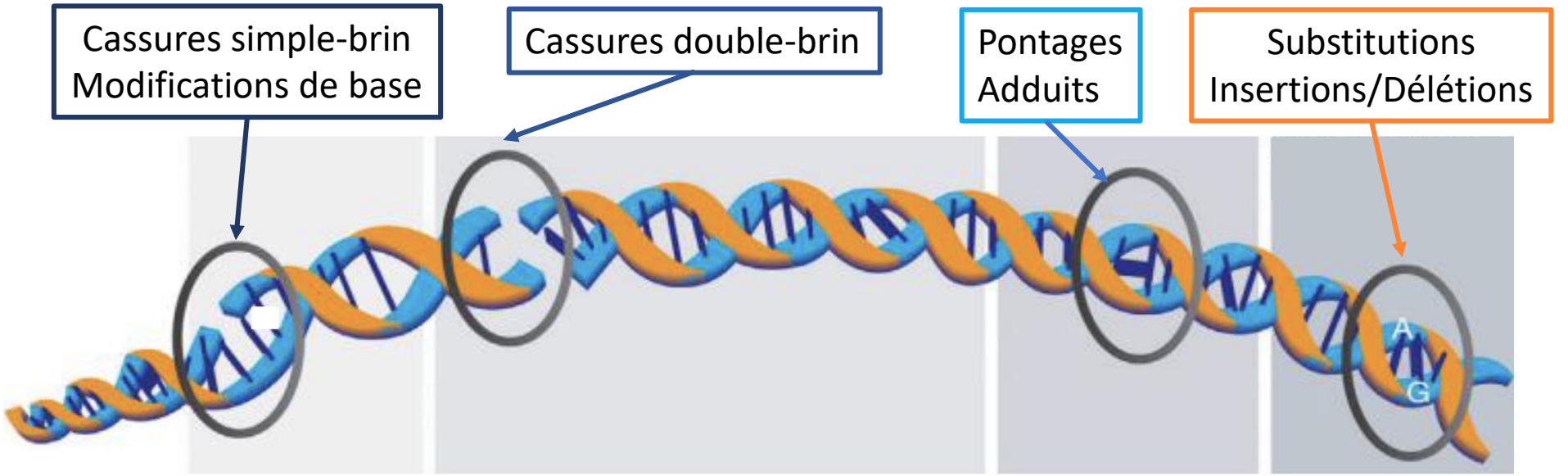
Phases S/G2
Chromatide soeur non lésée
Fidèle/conservatrice
Protéines-clés : **RAD51, BRCA2**

Inactivation des gènes de la recombinaison homologue



Altérations tumorales dans les **cancers de l'ovaire**

Conclusion



Réparation par **E**xcision de **B**ase (**BER**)

Réparation par **J**onction d'**E**xtrémités **N**on **H**omologues (**NHEJ**)

Réparation par **R**ecombinaison **H**omologue (**RH**)

Réparation par **E**xcision de **N**ucléotide (**NER**)

Réparation des **M**ésappariements (**MMR**)

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 sein-ovaire…