

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 entraîne une mutation permanente, les autres sont réparées

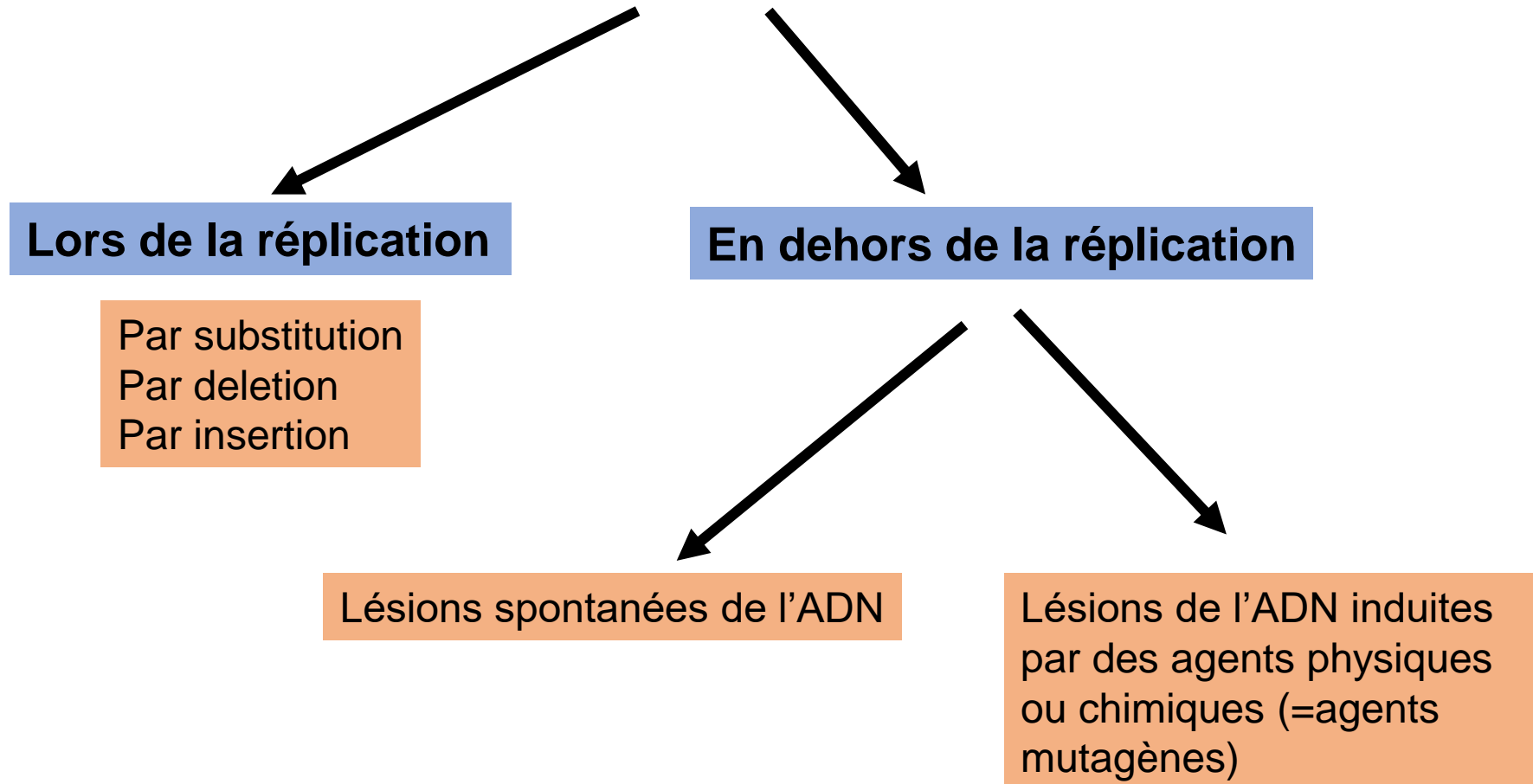
→ Taux de mutations des génomes extrêmement bas

(environ 1 nucléotide modifié pour 10^9 nucléotides à chaque cycle de réplication (*E. coli*, nématode, Homme...))



De quel risque parle-t-on ?

Mutations 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

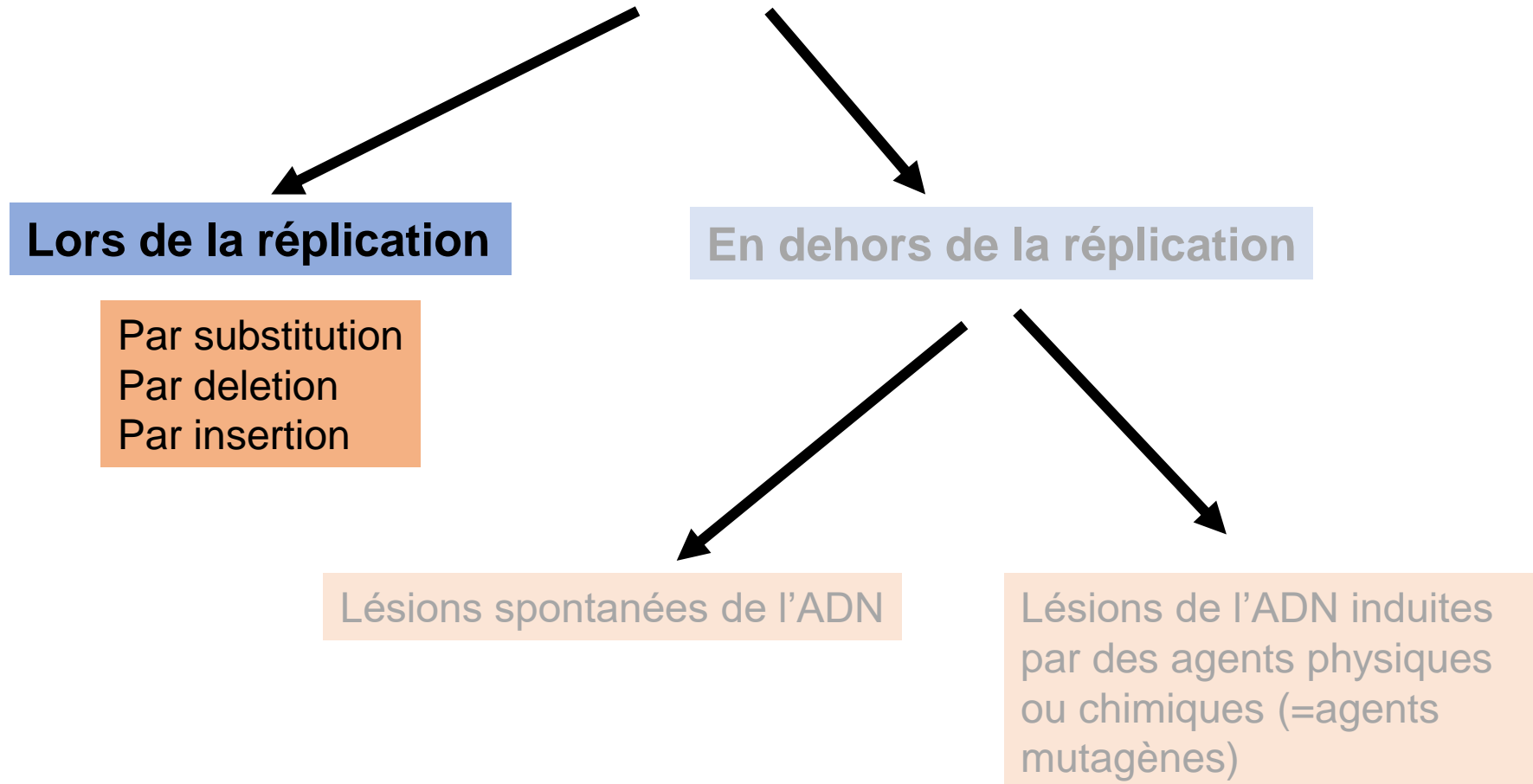
2.2.2.2 Modification de bases

2.2.2.3 Insertion/délétion de bases par des agents intercalants

2.2.2.4 Lésions de bases

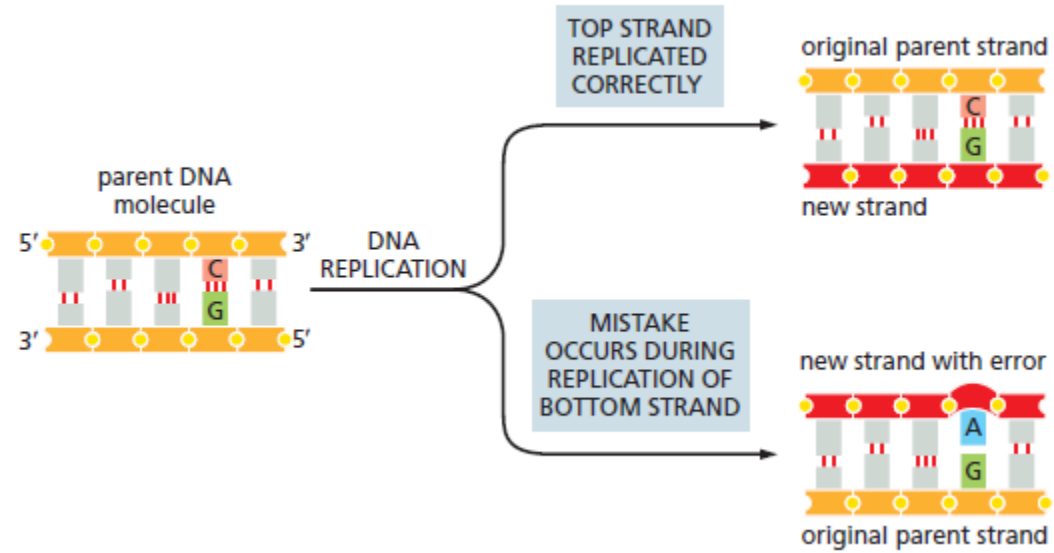
De quel risque parle-t-on ?

Mutations et lésions de l'ADN



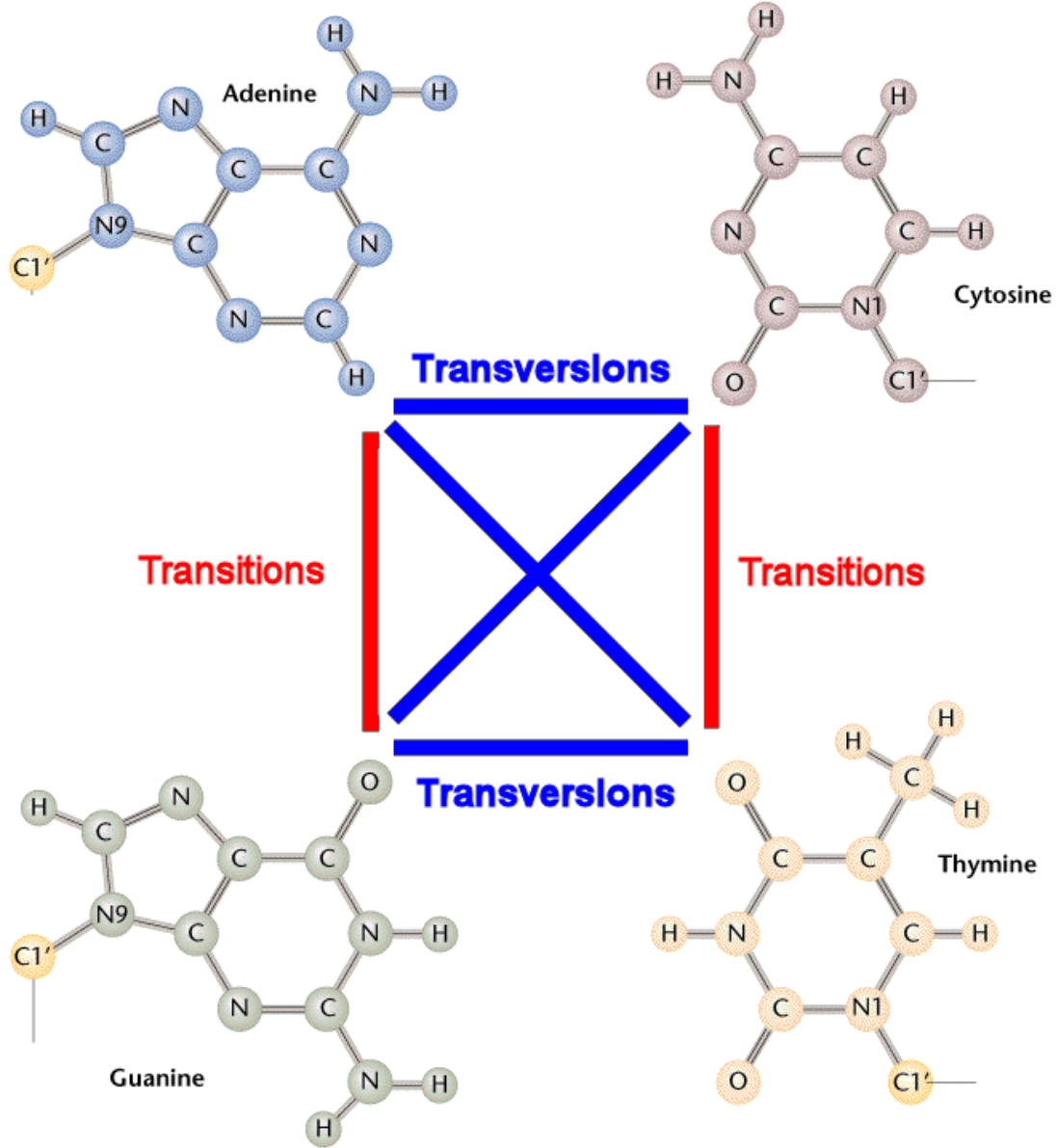
2.1. Erreurs survenant pendant la réplication

2.1.1. Variations par substitutions



Liaison A/T 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

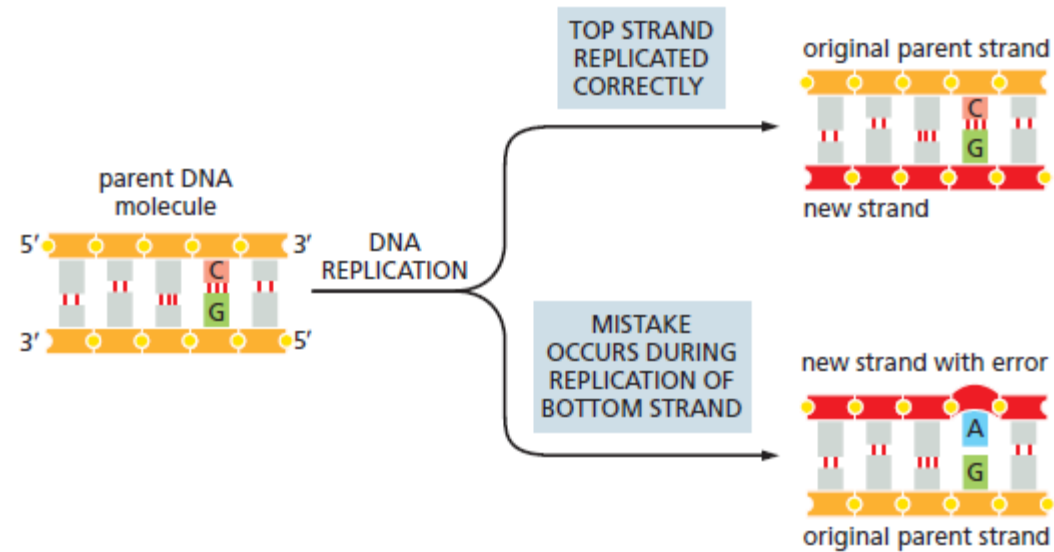
G remplacé par C ou T
A remplacé par C ou T

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 A/T 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

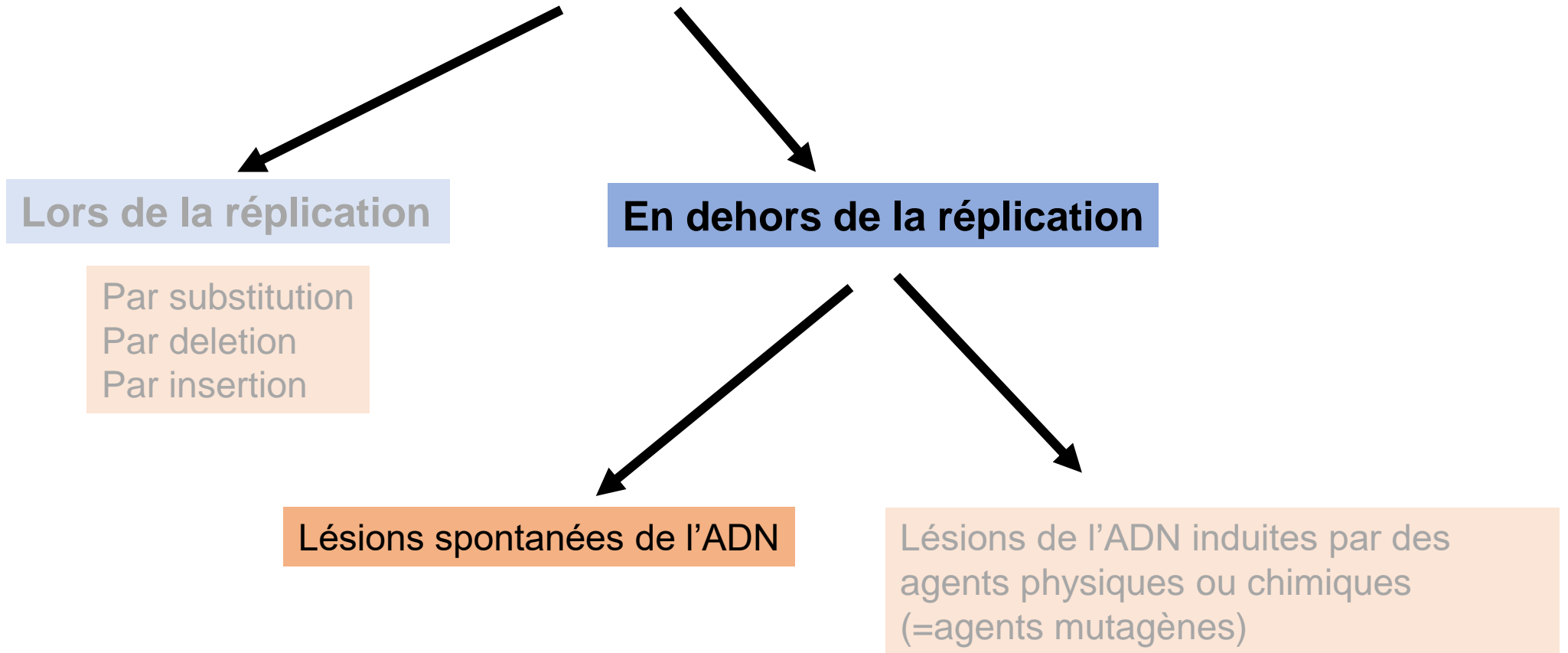
5' —————	C T T A G T	————— 3'	Brin d'ADN parental
3' —————	G A A - C A	————— 5'	Brin d'ADN fils néo-synthétisé

Insertions

5' —————	C T T A G T	————— 3'	Brin d'ADN parental
3' —————	G A A G T C A	————— 5'	Brin d'ADN fils néo-synthétisé

De quel risque parle-t-on ?

Mutations et lésions de l'ADN

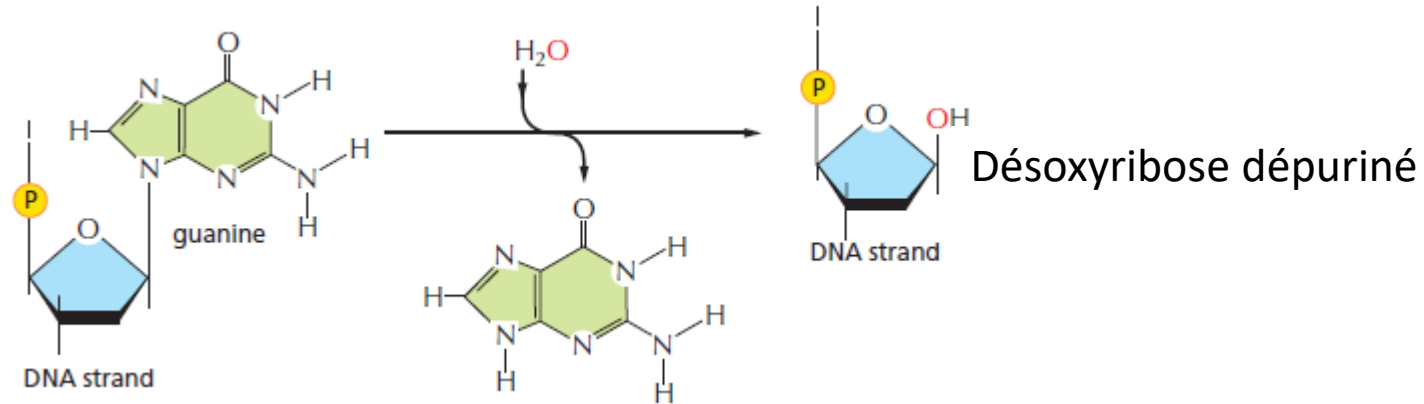


2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

2.2.1. Lésions spontanées

2.2.1.1. La dépurination

Réaction spontanée

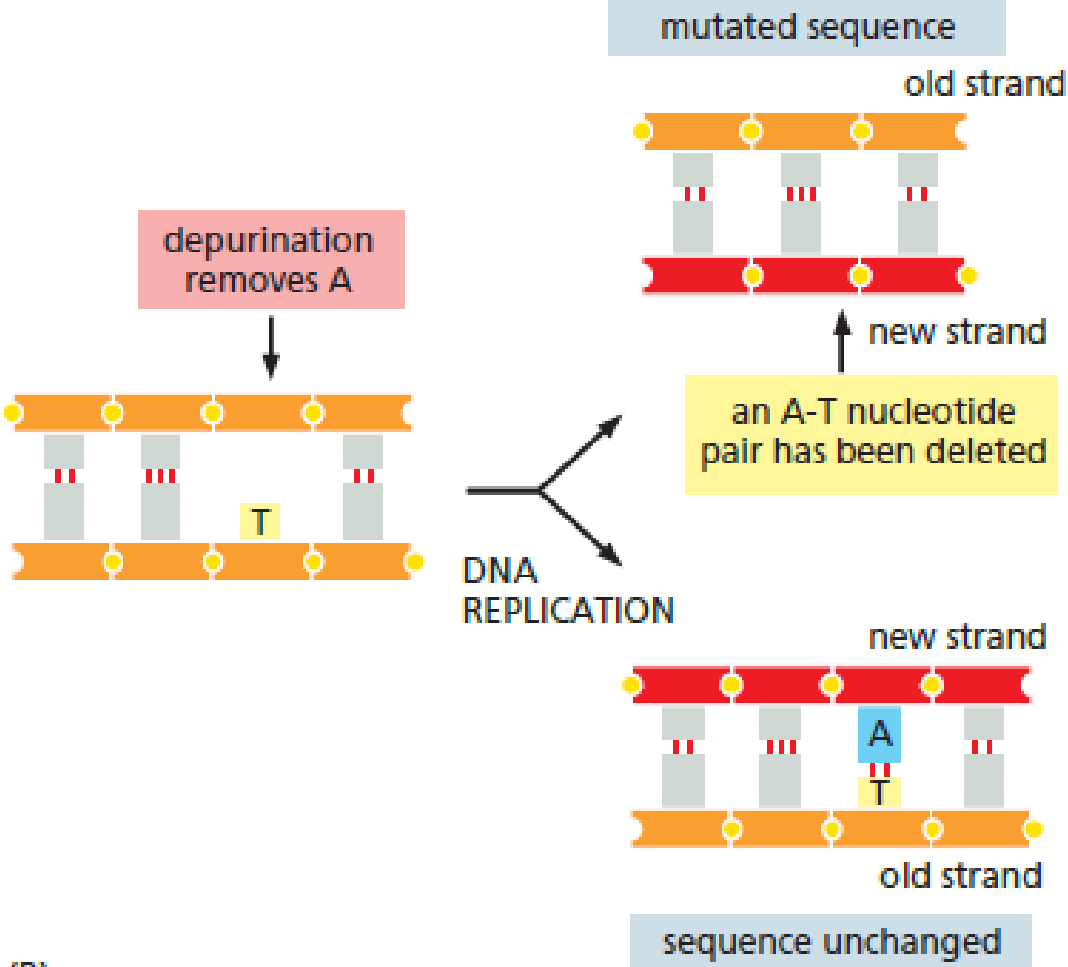


Elimination de la guanine ou de l'adénine de l'ADN

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

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

Conséquence des dépurinations

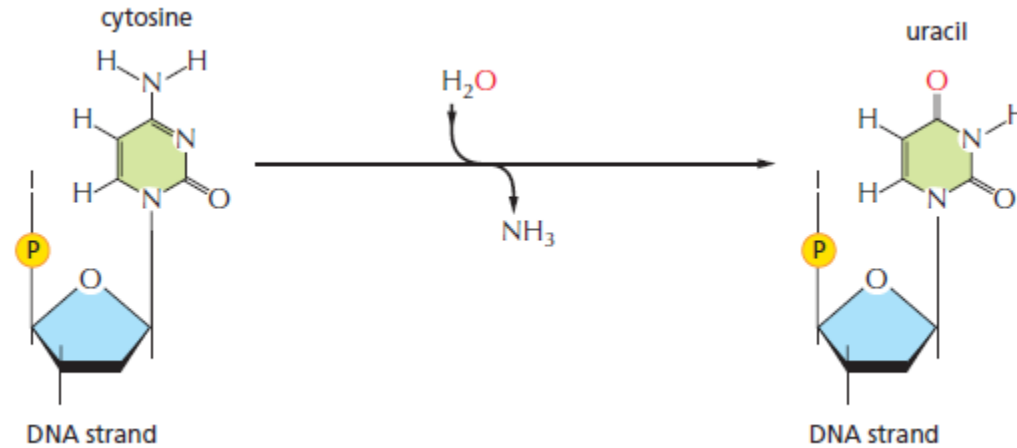


(B)

2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

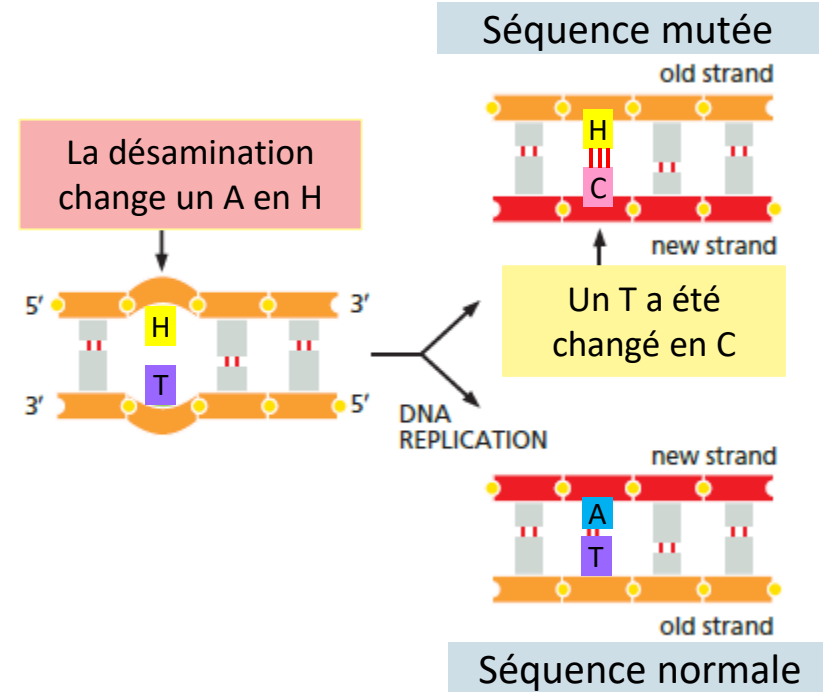
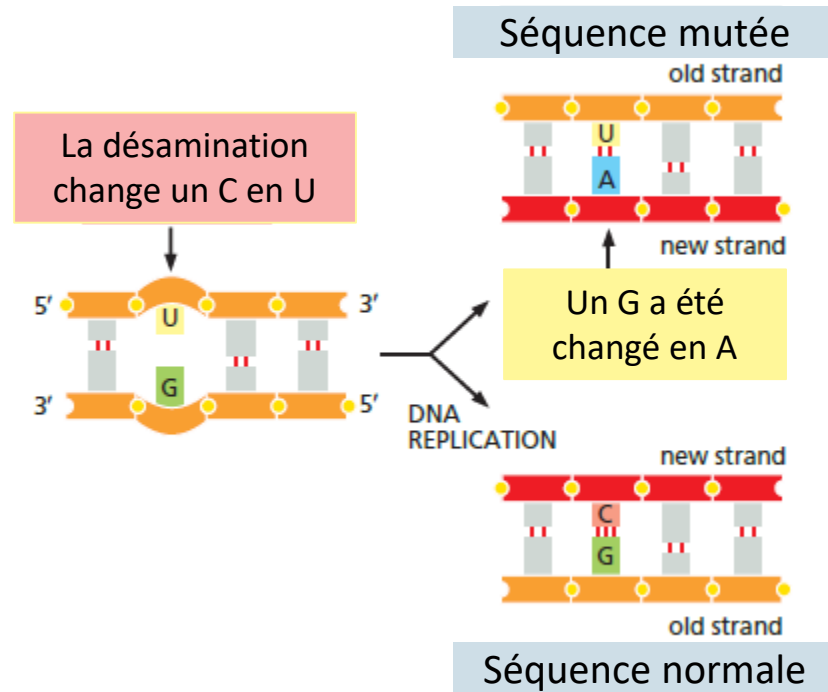
2.2.1. Lésions spontanées

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



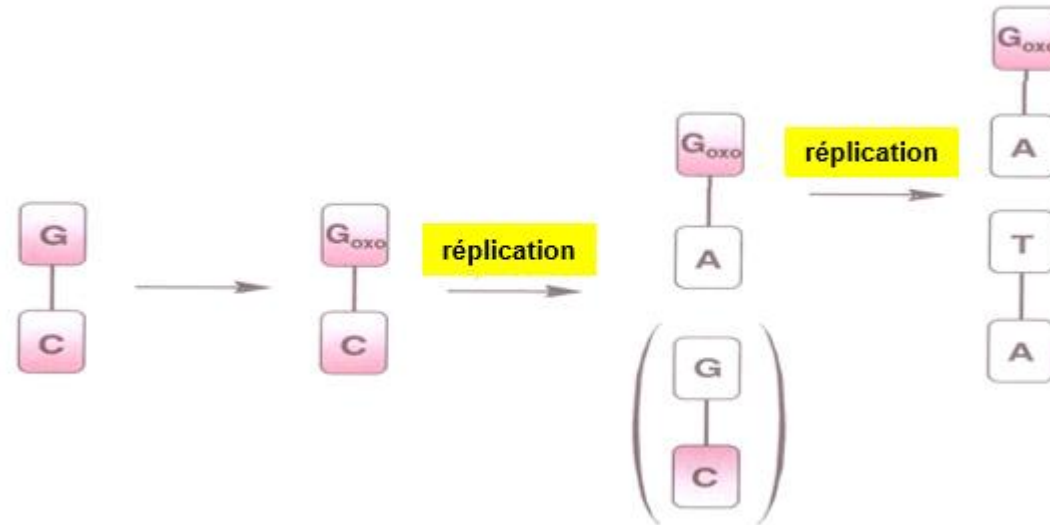
2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

2.2.1. Lésions spontanées

2.2.1.3. Bases altérées par oxydation

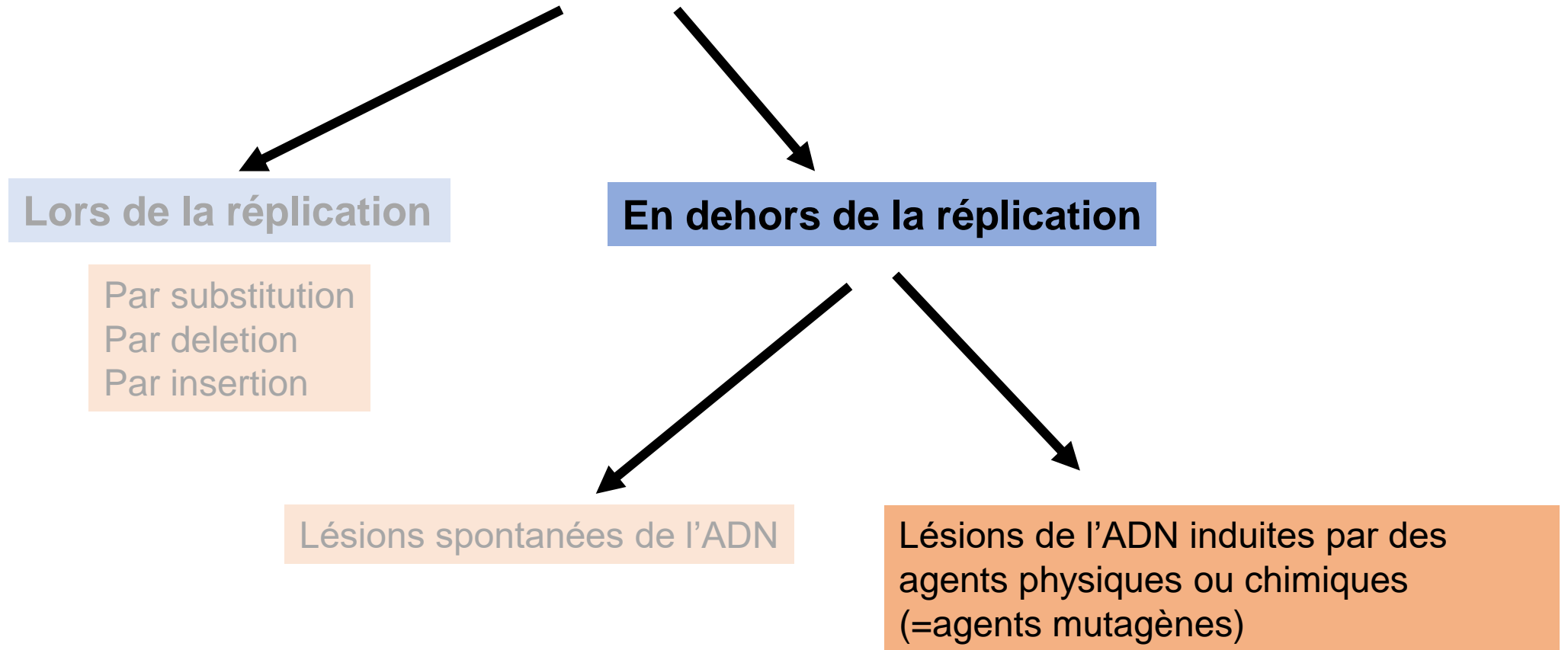
- Radicaux superoxydes $O_2\bullet$
- Radicaux hydroxyles $OH\bullet$
- Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

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



De quel risque parle-t-on ?

Mutations 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

2.2.2.2. Modification de bases

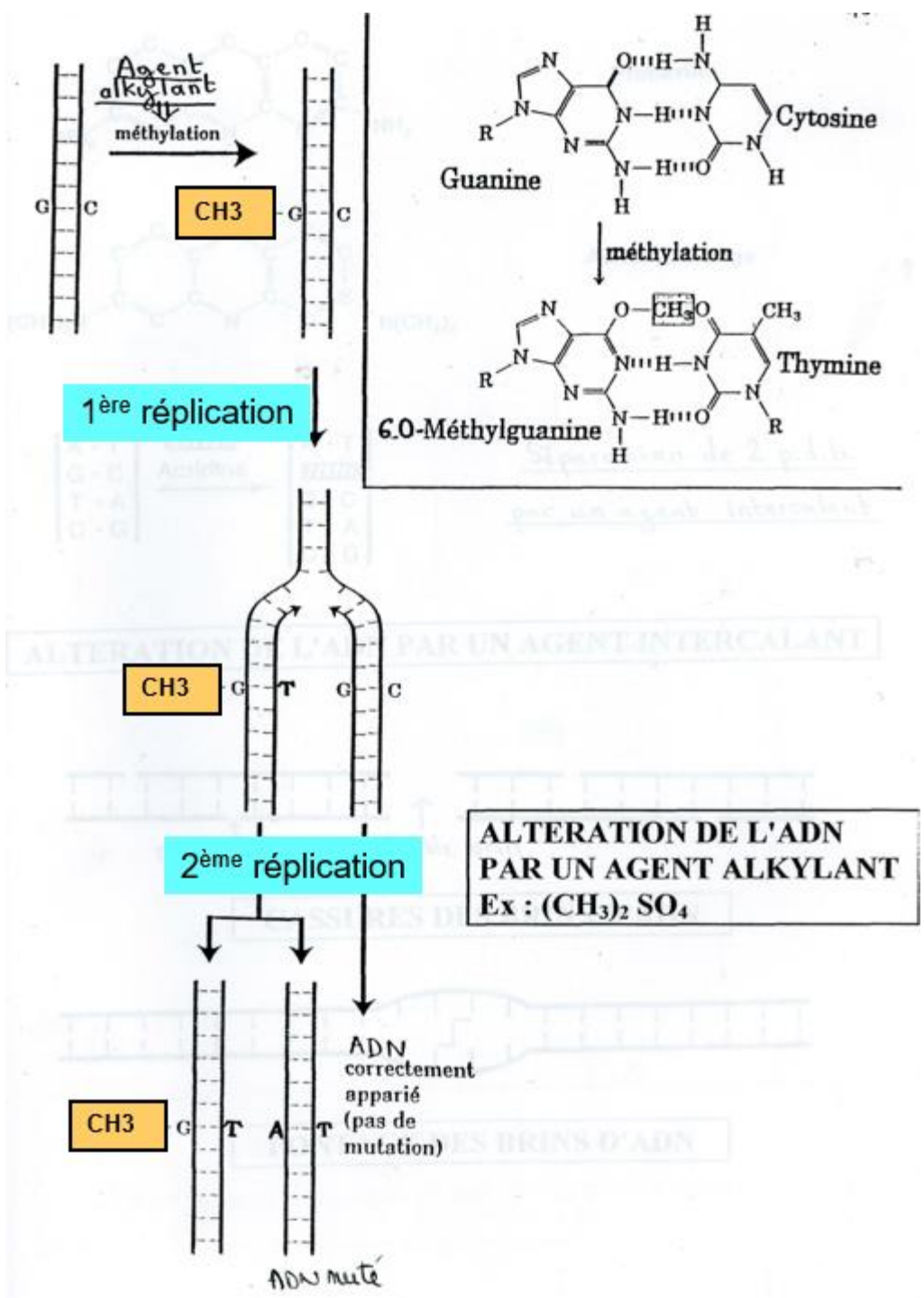
Agents alkylants:

Ethylmethane sulfate

Nitrosoguanidine

Dimethylsulfate

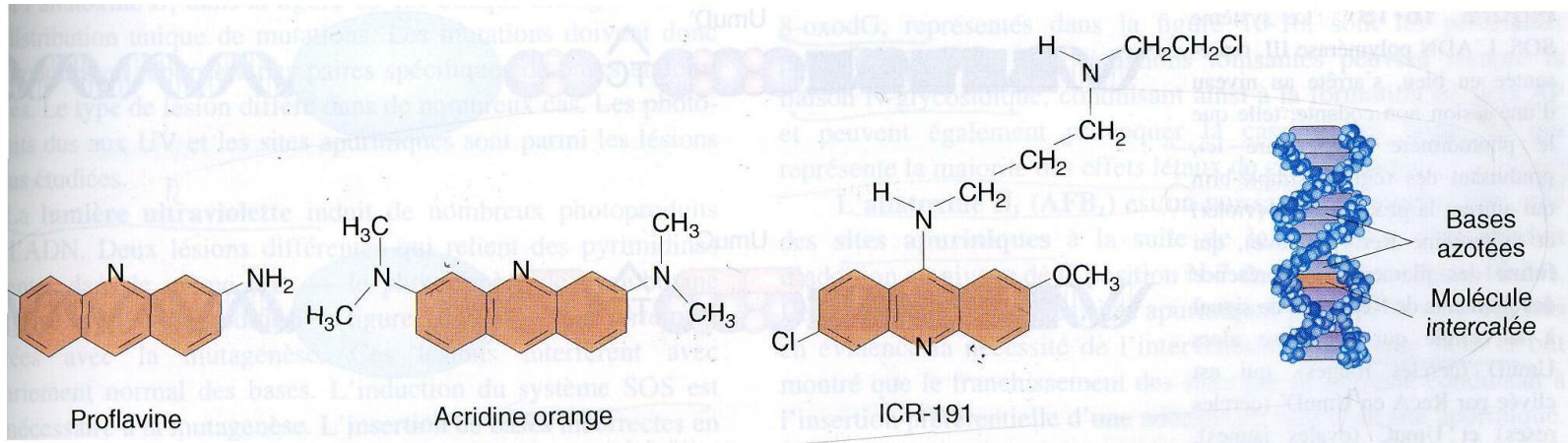
Ex : action du diméthylsulfate



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

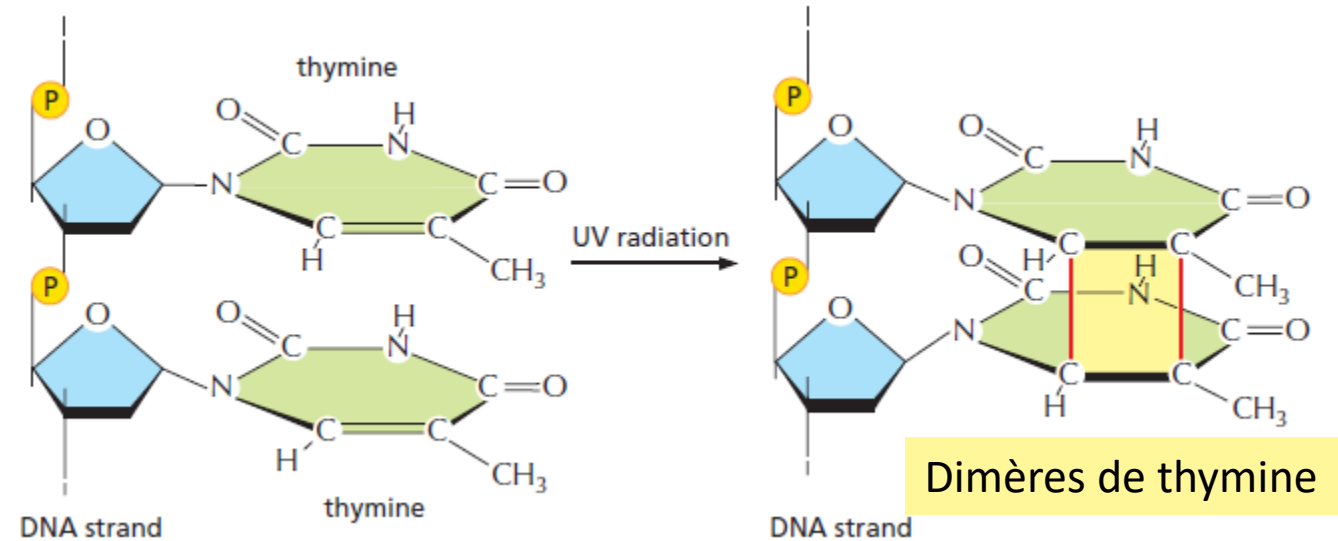


2.2. Erreurs survenant en dehors de la réplication

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

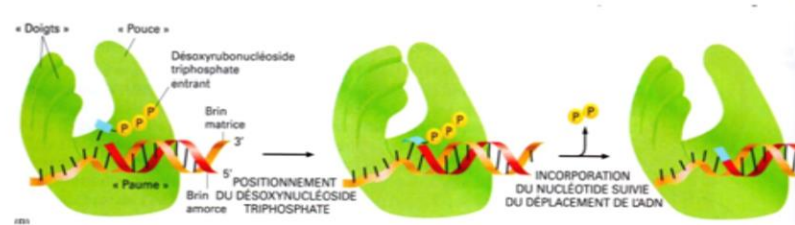
3. Correction des erreurs d'appariement survenant lors de la réplication

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

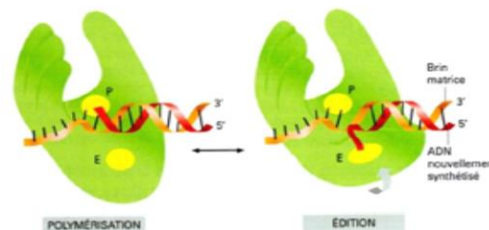
■ Première étape de vérification (avant addition covalente du nucléotide)

- 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

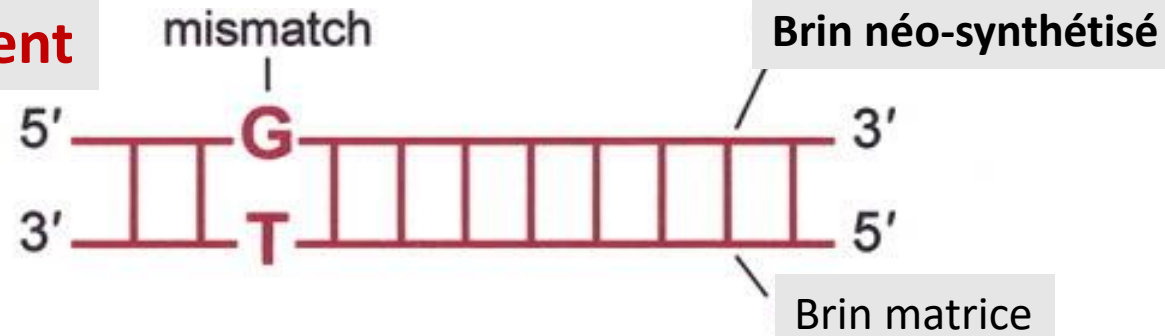


3.2. Système de réparation guidé par les groupes CH3

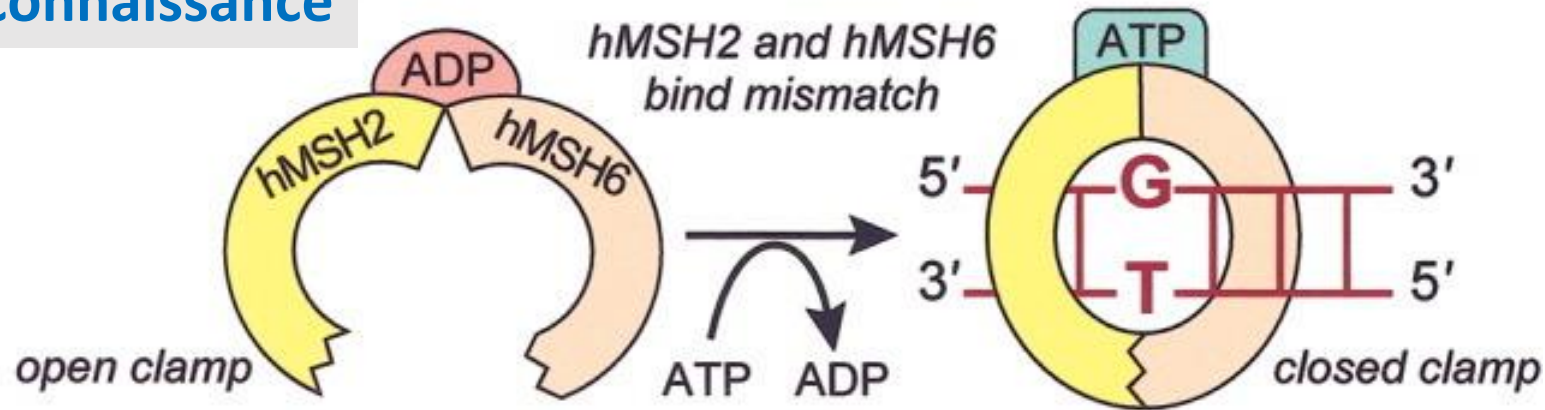
Système MMR : réparation des mésappariements

DNA MisMatch Repair ⇔ correction des erreurs répliquatives (phase S)

Mésappariement

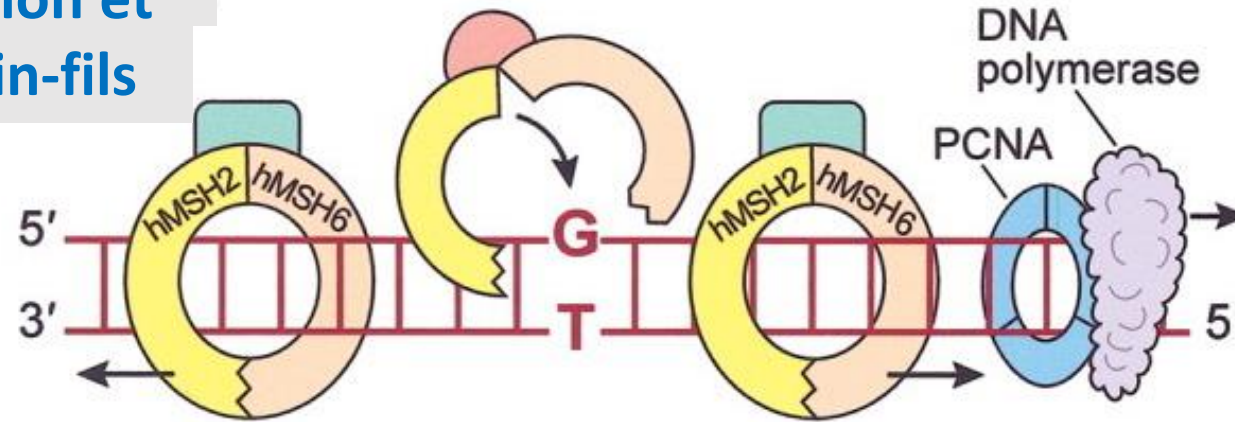


1/ Reconnaissance



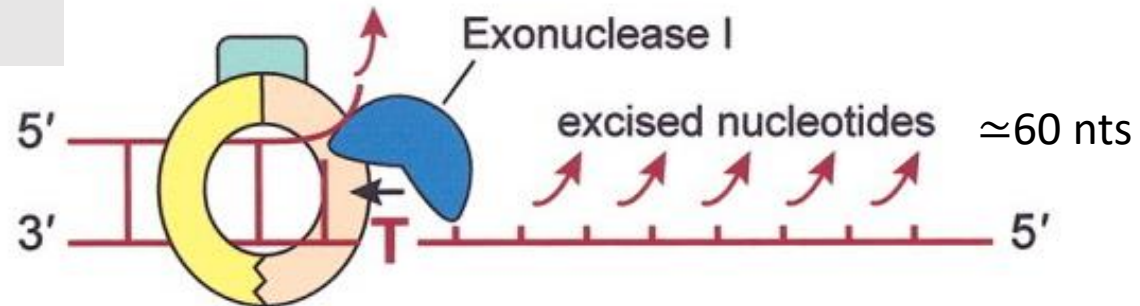
2/ Identification et clivage du brin-fils

MSH2:MSH6
MLH1:PMS2
(endonuclease)



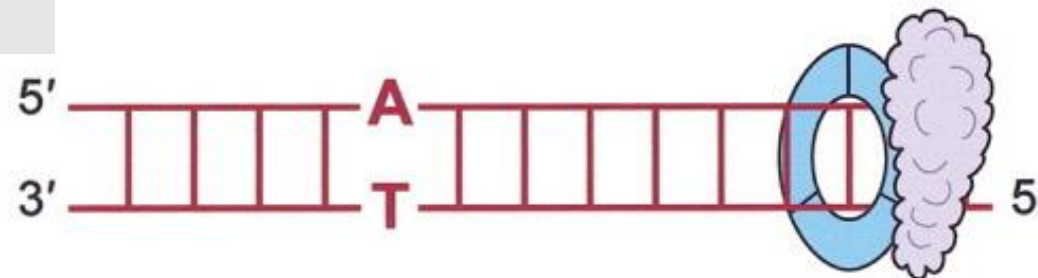
3/ Excision

(Hélicase ?)
Exonucléase I



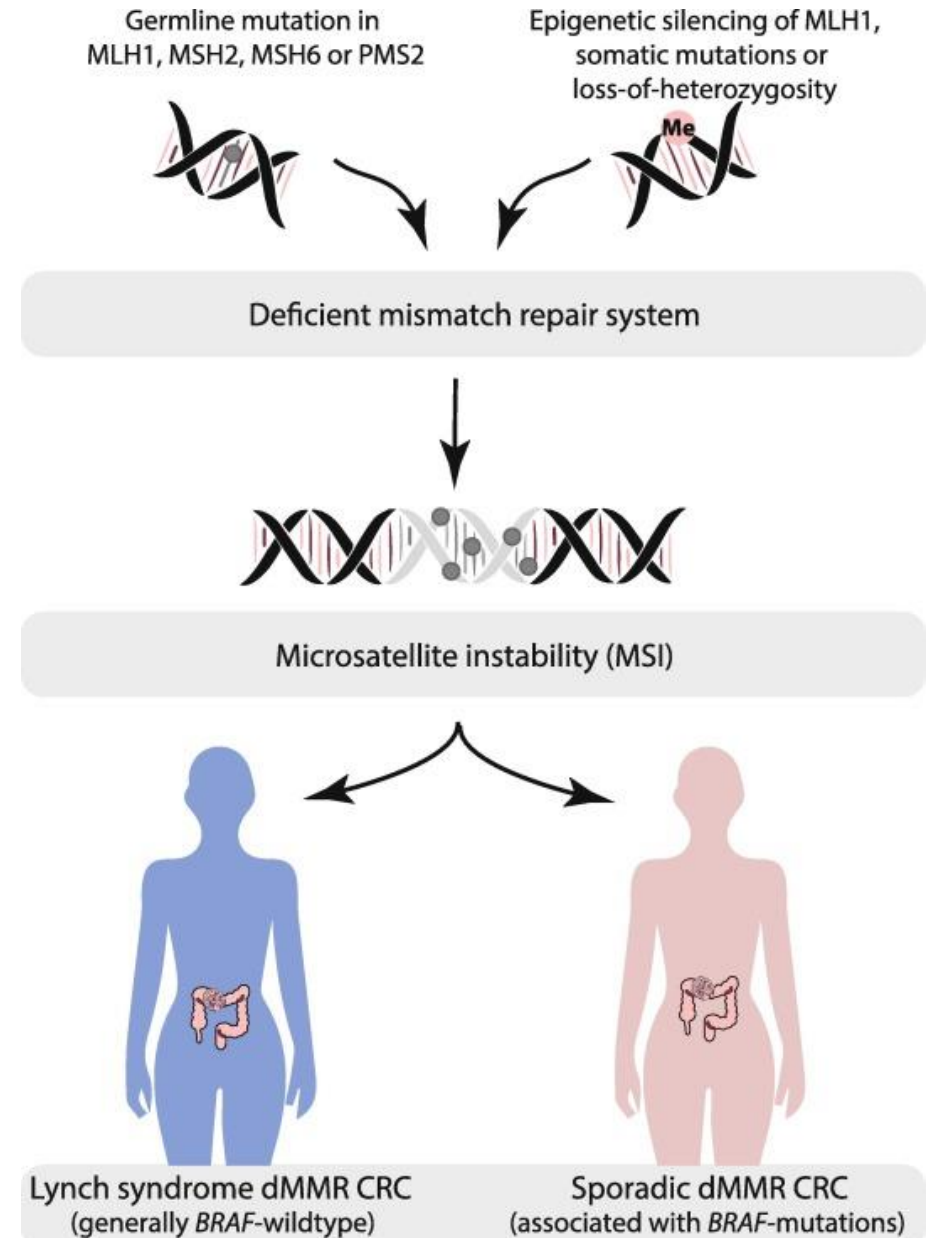
4/ Resynthèse

DNA Polymerase δ
DNA Ligase I

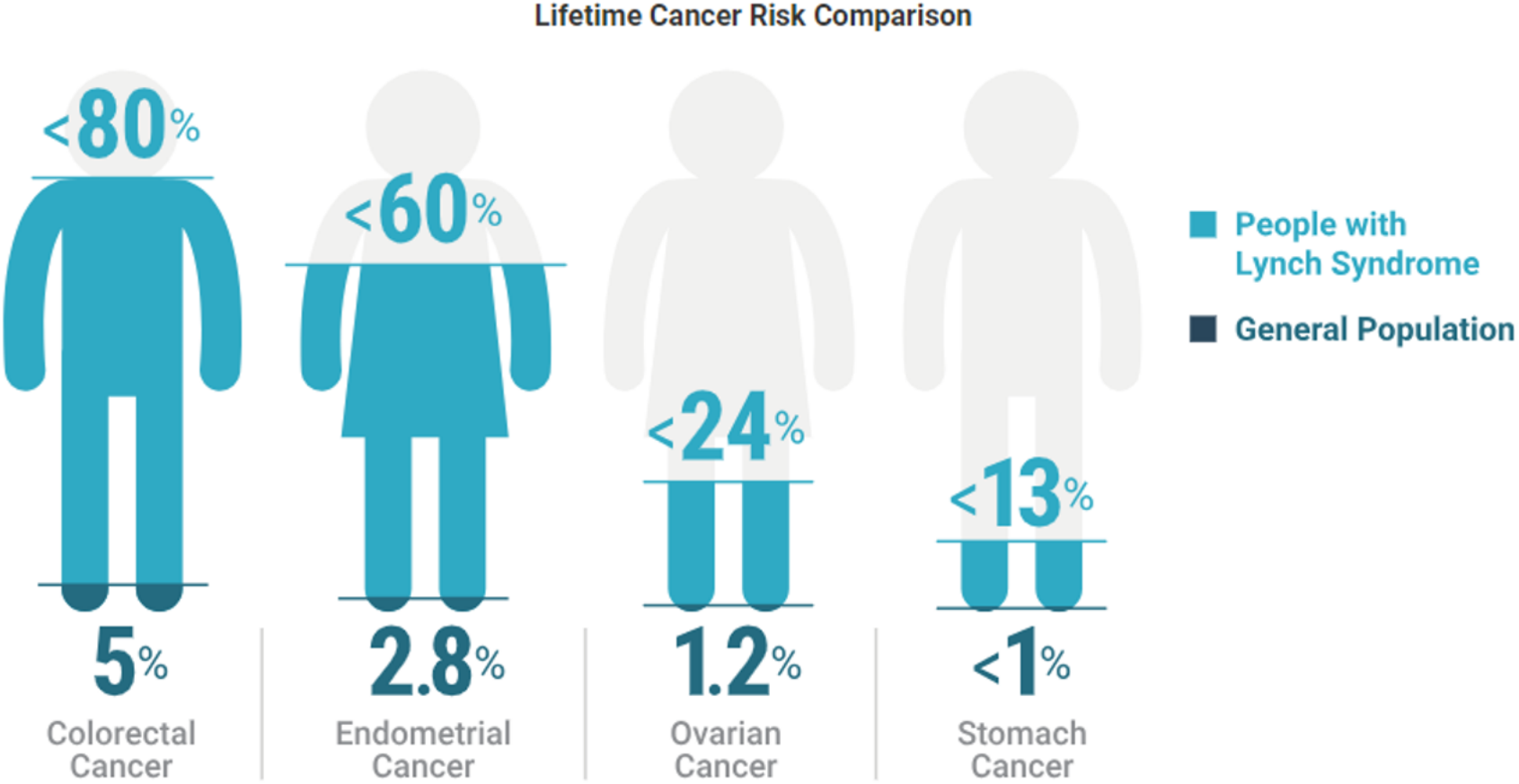


Déficiência du système MMR

- **Inactivation des gènes MMR**
 - **germinale** ⇒ **Syndrome de Lynch** (héréditaire, autosomique dominant)
 - **somatique** ⇒ **cancers colorectaux sporadiques**
- mutations inactivatrices, délétion, hyperméthylation



Déficiéncie du systéme 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)

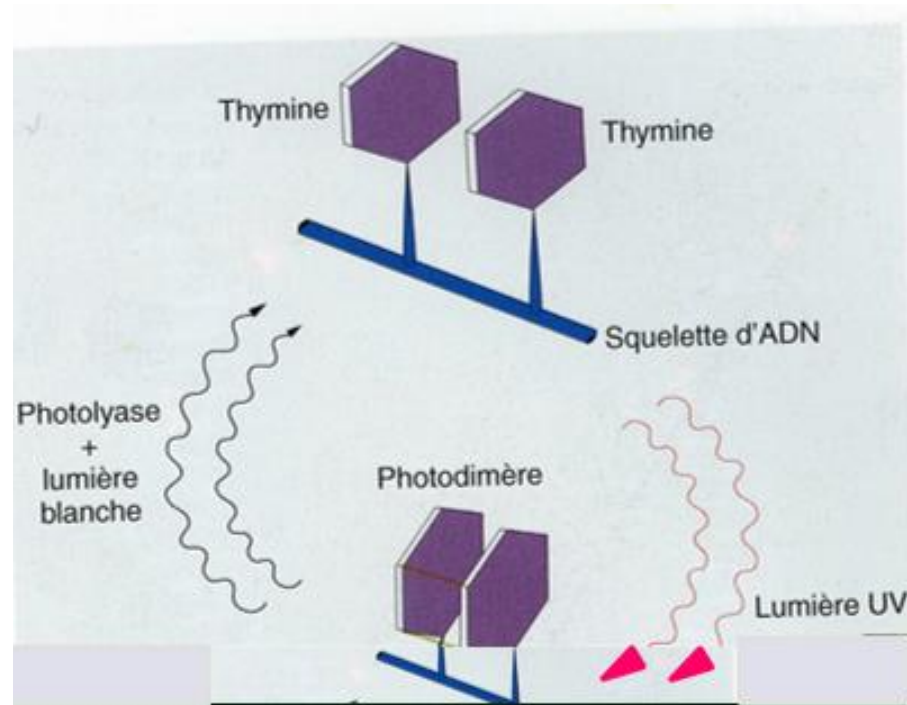
4. Correction des autres altérations de l'ADN

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

4.1. Réparation directe/retour à l'état antérieur

« Réserve » à des altérations spécifiques

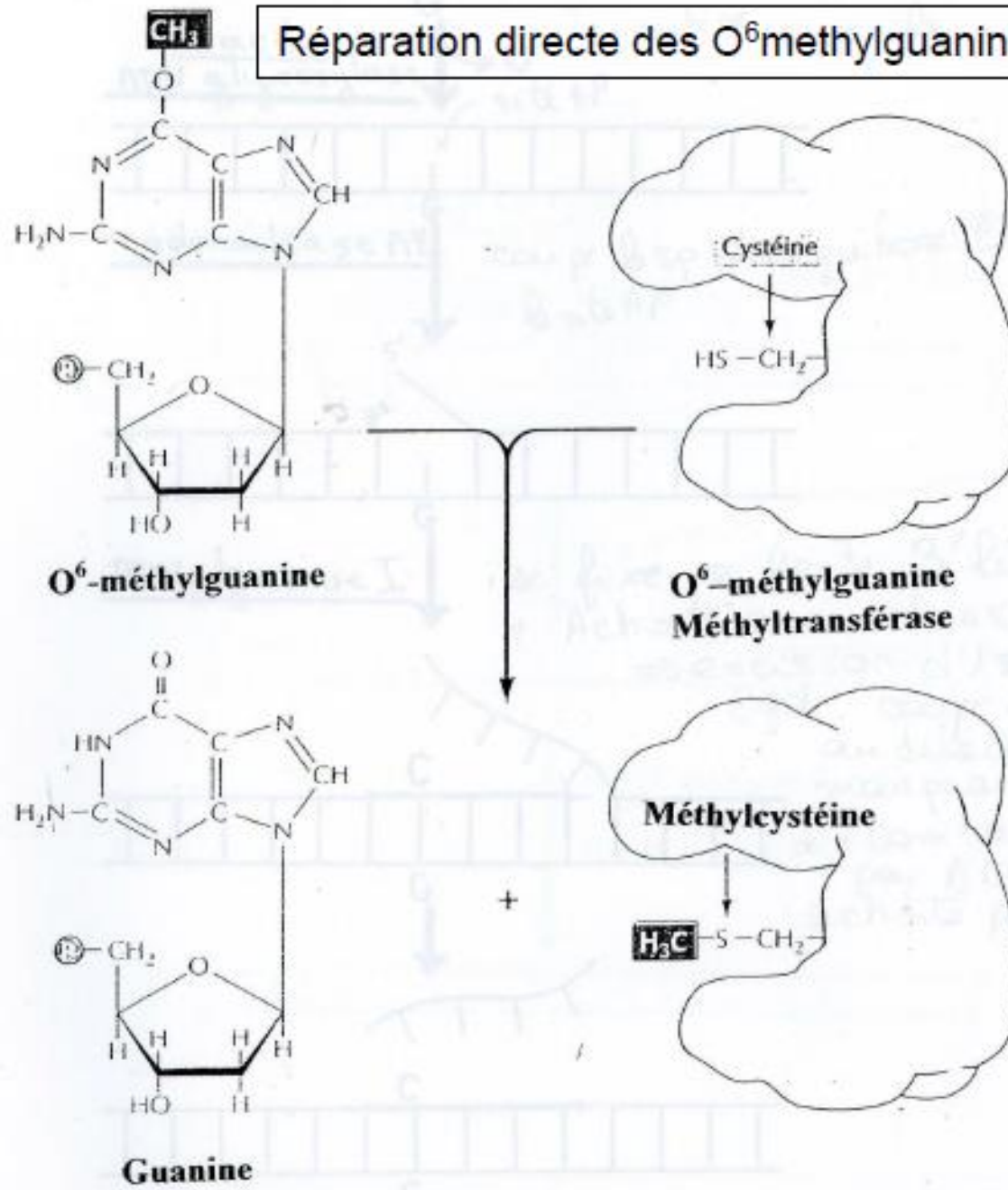
1 Photolyase



2

Alkyltransférases

Réparation directe des O⁶methylguanines



4.2. Réparation par excision/réparation

Pour lésions présentes sur 1 seul brin

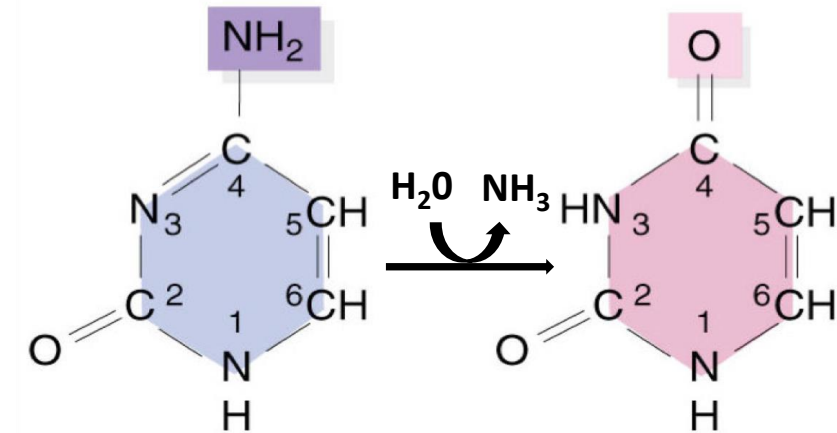
Mécanisme général

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

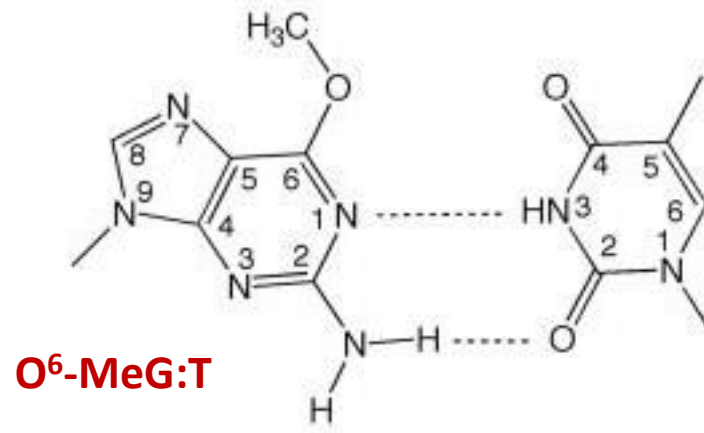
4.2. Réparation par excision/réparation

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

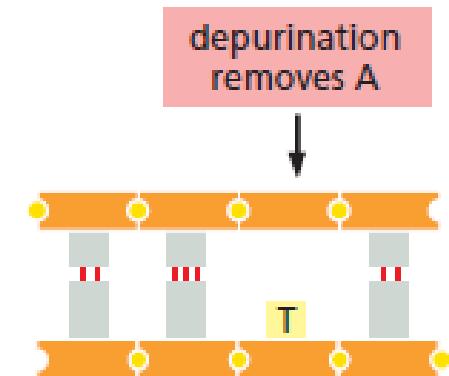
Correction des **modifications de bases** et des **cassures simple-brin**



Désamination oxydative
de cytosine en uracile
 \Rightarrow U:A



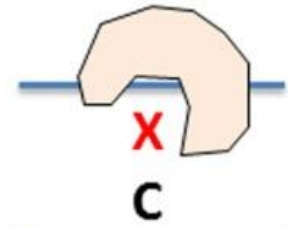
Méthylation de la guanine
 \Rightarrow meG:T



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

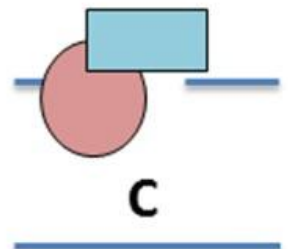
≠ selon type de dommage
Ex : Uracile ADN Glycosylase



(B) Création d'un site abasique (AP)



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

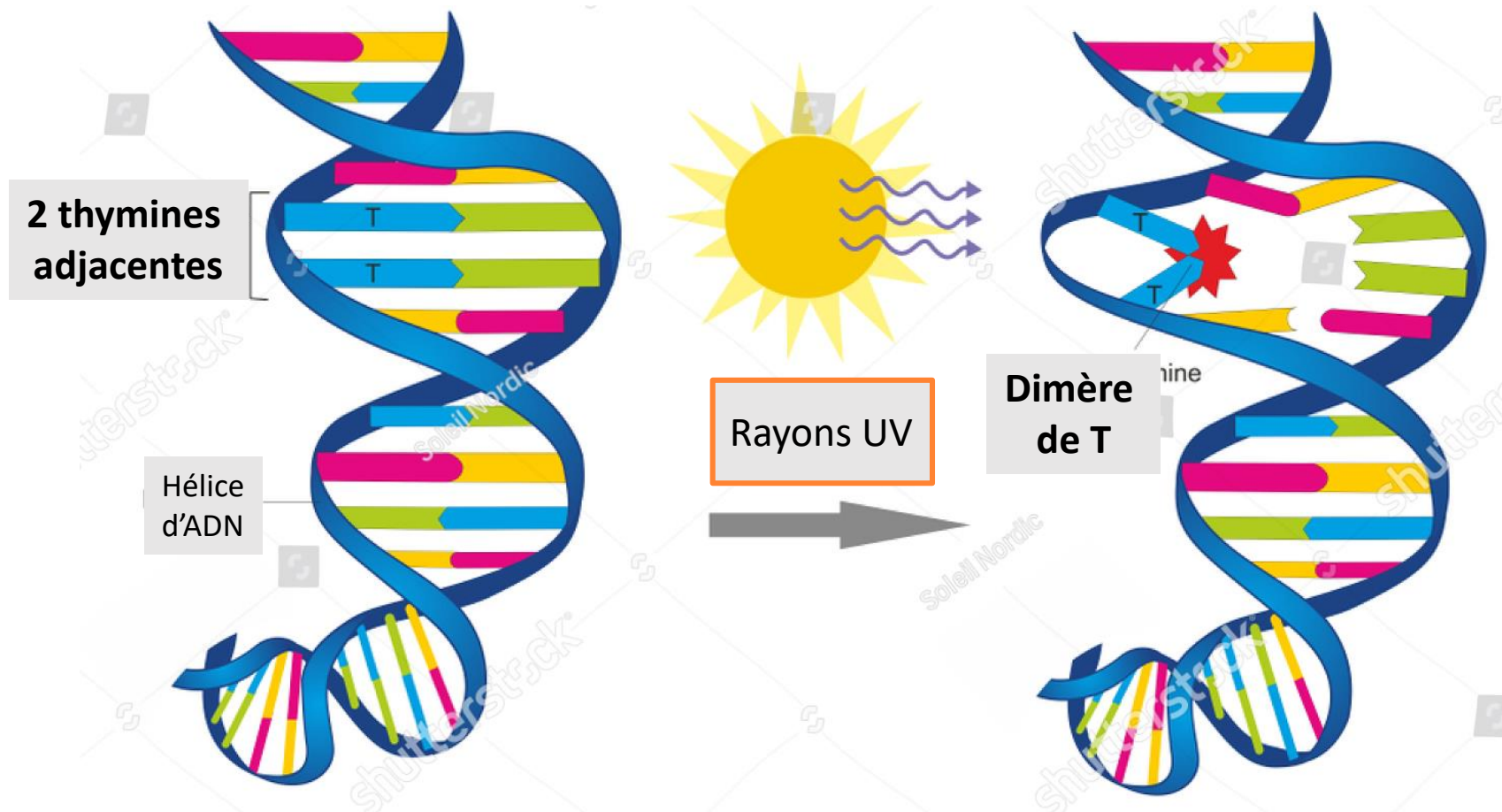


(D) Protection de la cassure simple brin et recrutement d'un complexe protéique incluant l'**ADN polymérase**

4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

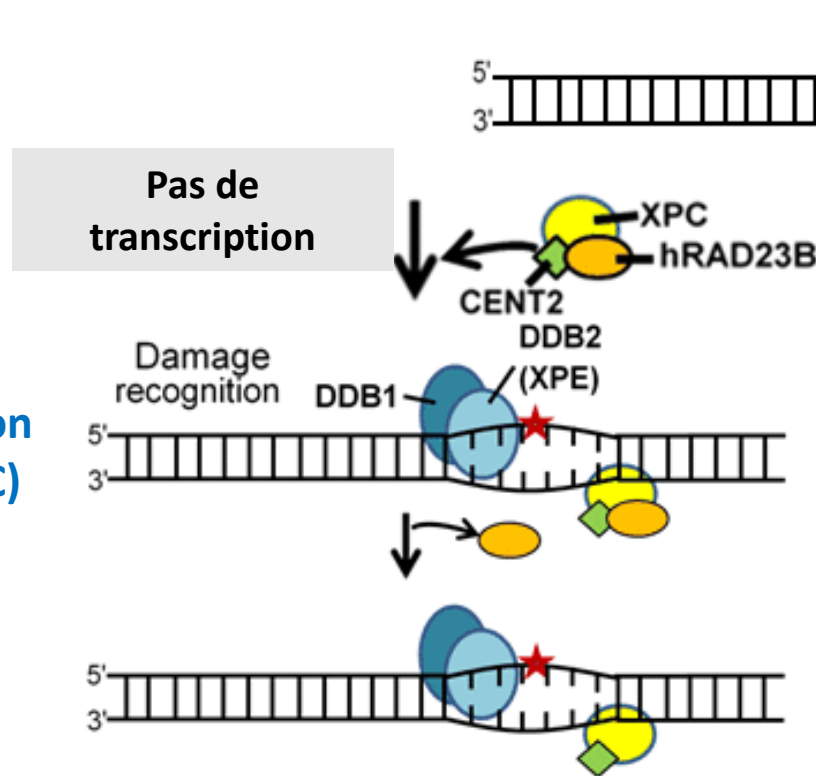
Correction de **liaisons plus volumineuses** (ex : réparation de pontages et adduits)



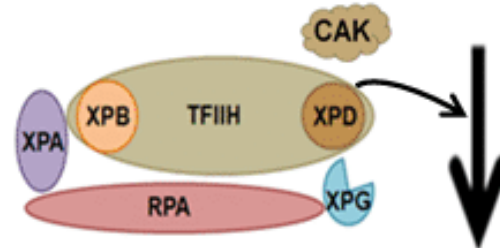
4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

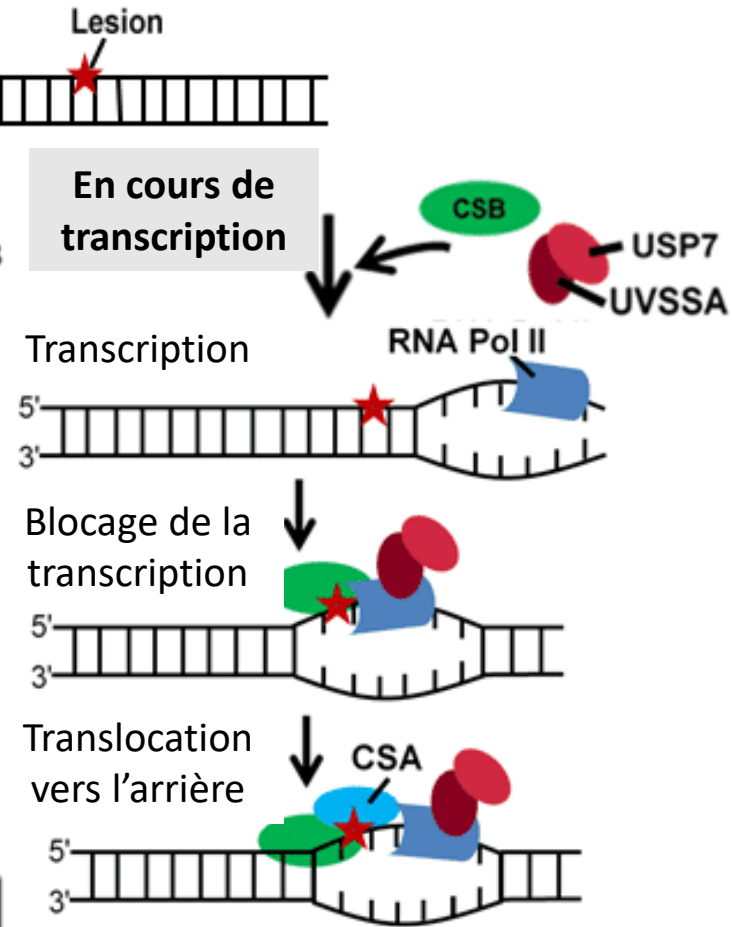
Reconnaissance de la lésion
(Complexe contenant XPC)



Recrutement du complexe
de réparation XP



En cours de transcription



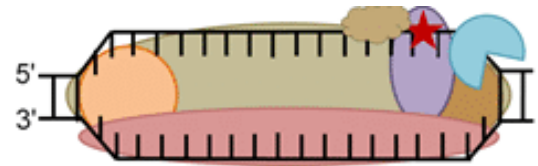
XPA et XPB : activité hélicase

4.2. Réparation par excision/réparation

4.2.2. Excision-réparation de plusieurs nucléotides (NER)

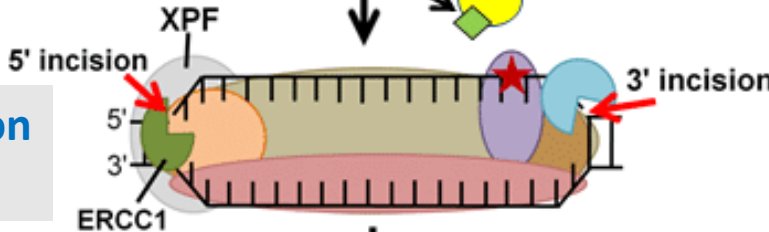
Réparation fidèle

Séparation des brins

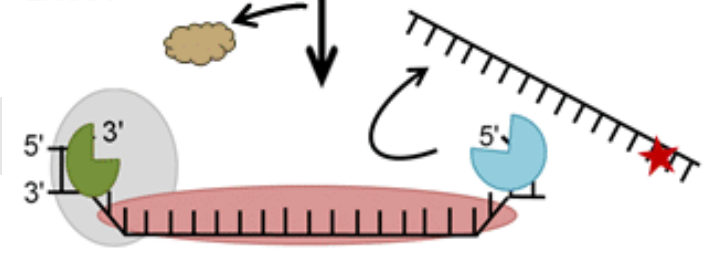


XPA et XPB : activité hélicase

Double incision (5' et 3')

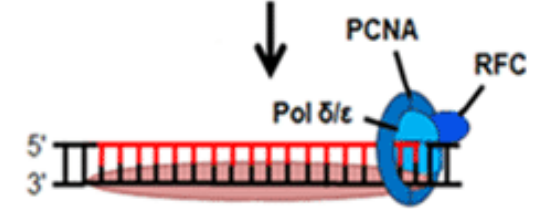


Excision

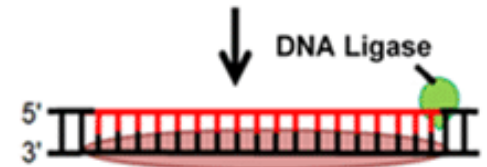


Excision : XPF-ERCC1 et XPG

Resynthèse



Ligation



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 oculaires, 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

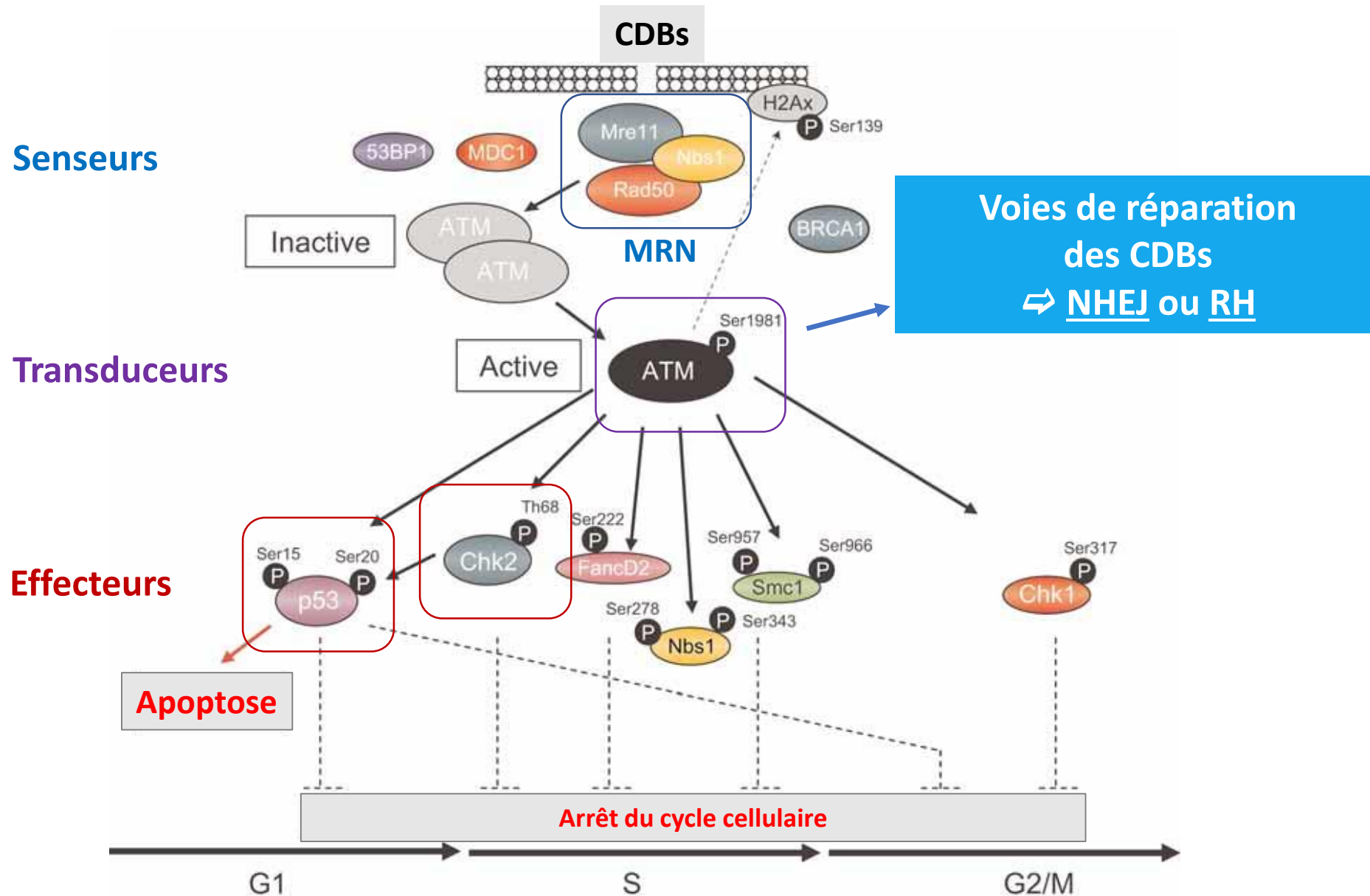


« Lacune » ou « brèche » post-réplivative

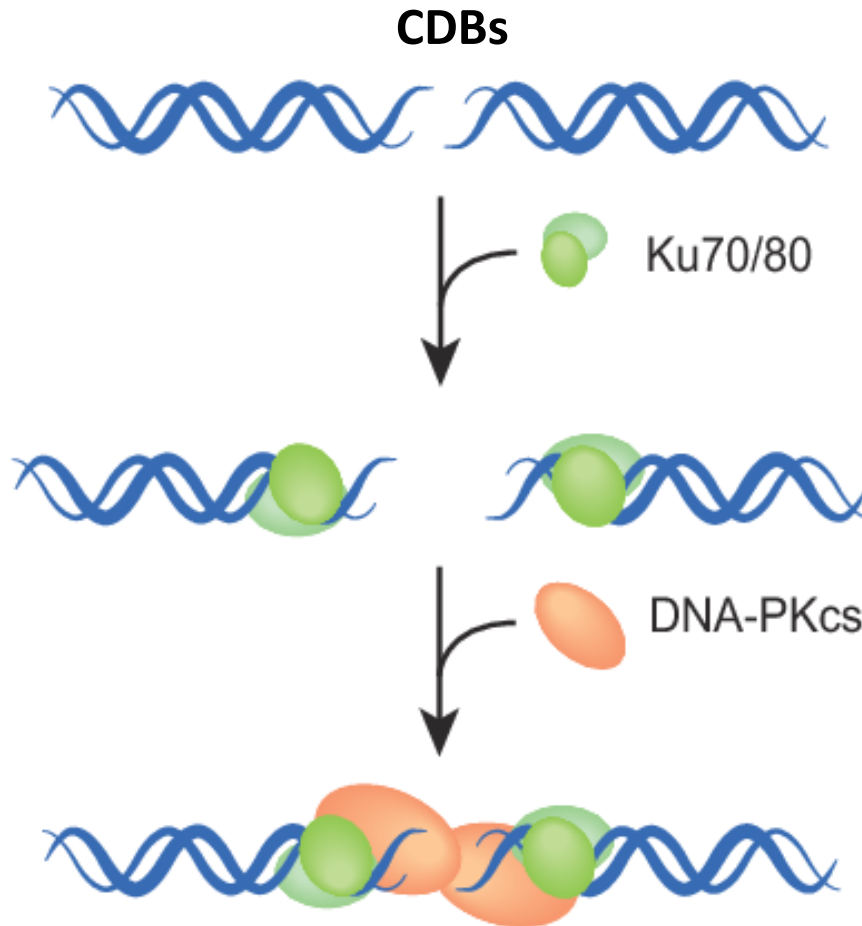


Réparation par Jonction d'Extrémités Non Homologues (NHEJ) ou Recombinaison Homologue (RH)

4.3.2. Détection et signalisation des cassures doubles brins



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

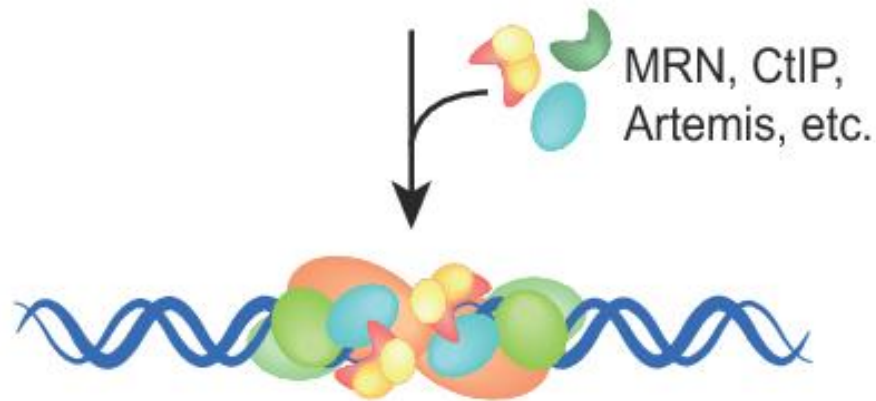


Reconnaissance des extrémités
par **Ku70/80**

Recrutement de **DNA-PKcs**

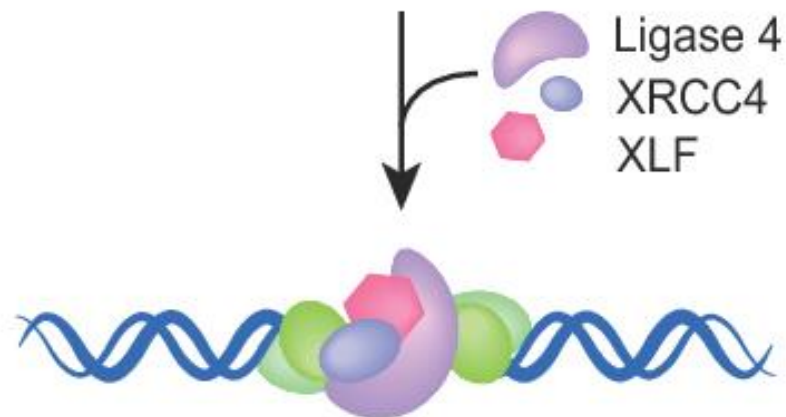
Formation de l'holoenzyme DNA-PK
Autophosphorylation
Libération des extrémités

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



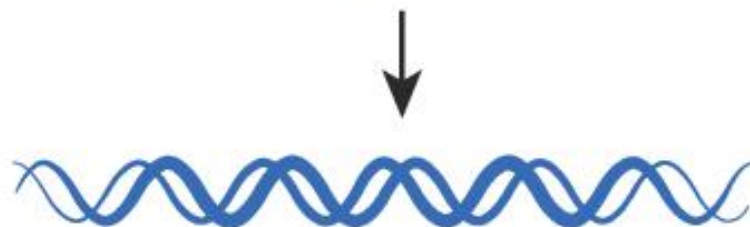
Recrutement de polymerases,
nucléases...

Maturation des extrémités



Recrutement du **complexe**
Ligase 4/XRCC4/XLF

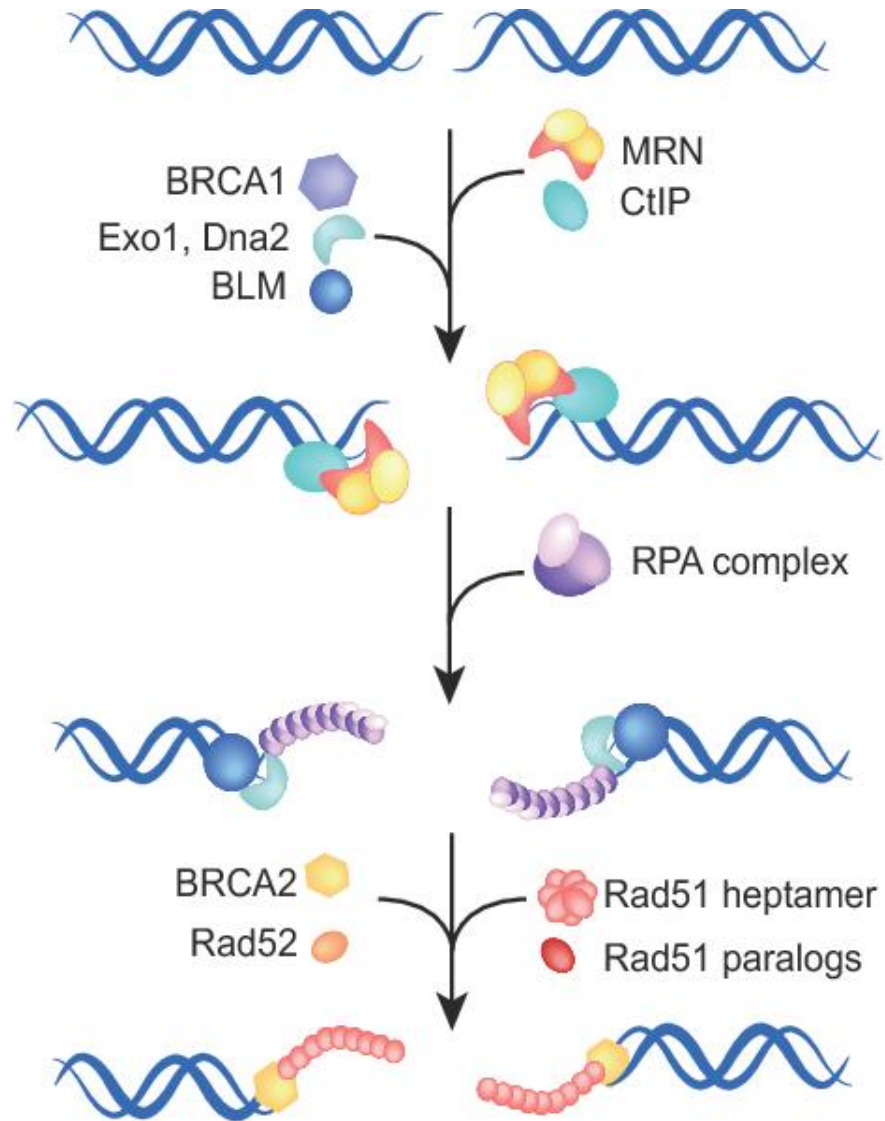
Ligation des extrémités



Cassure réparée MAIS
infidèle/perte de nucléotides

4.3.4. Réparation par Recombinaison Homologue (RH)

Réparation fidèle

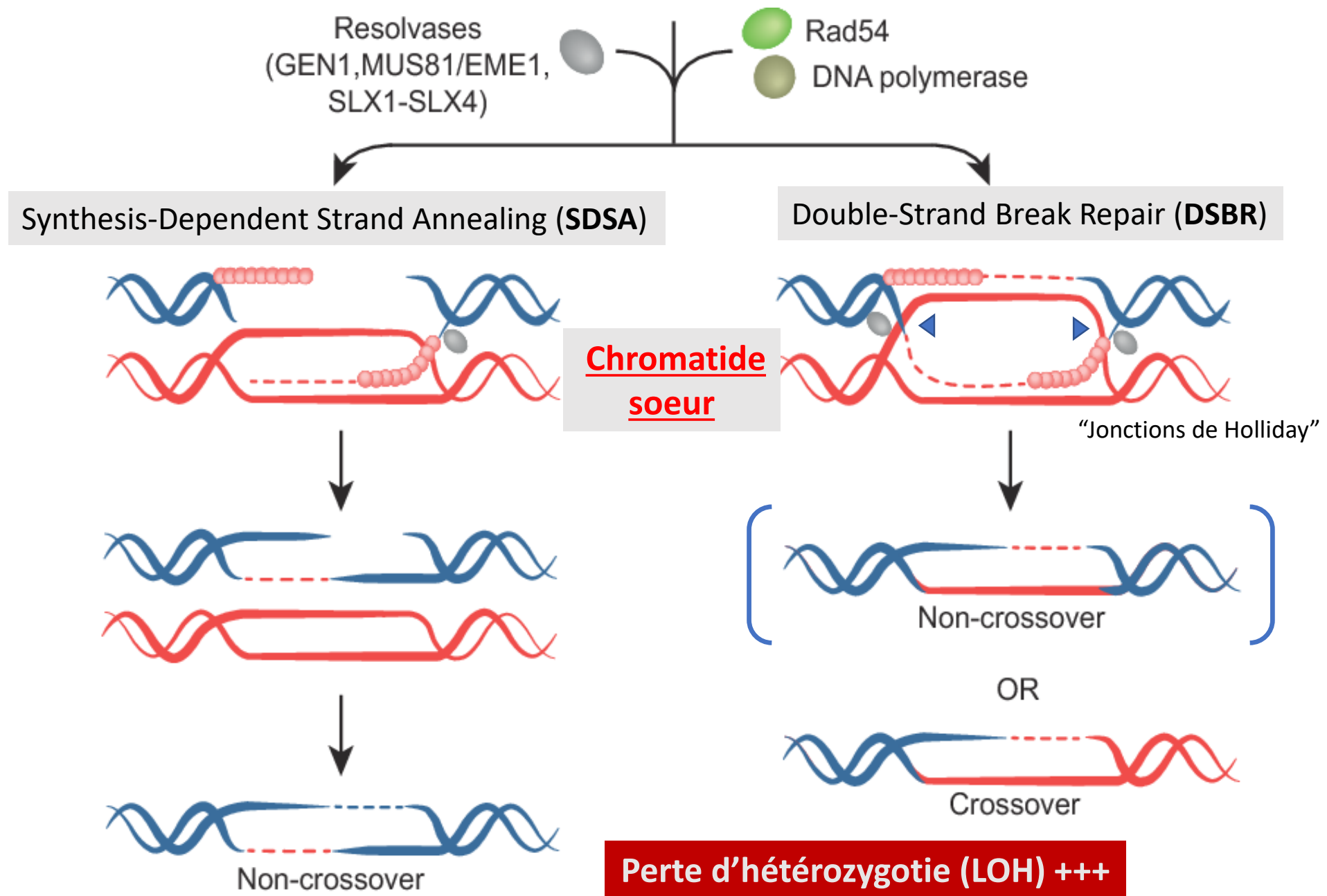


Résection ménagée des extrémités
⇒ extrémités 3' sortantes (ssDNA)

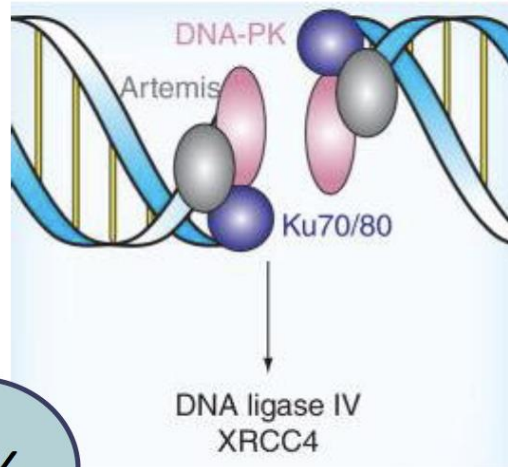
Protection par le complexe RPA
(replication protein A)

Recrutement de RAD51 par BRCA2
⇒ formation de nucléofilaments

Nucléofilaments RAD51 ⇔ Recherche d'HOMOLOGIE



Voie non homologue (c-NHEJ)



70%

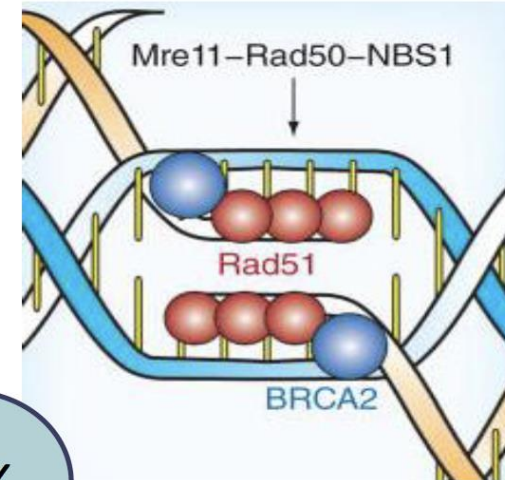
Phases G₀/G₁

Rapprochement d'extrémités lésées
Perte de matériel génétique

Infidèle

Protéines-clés : **DNA-PK**

Recombinaison homologue



30%

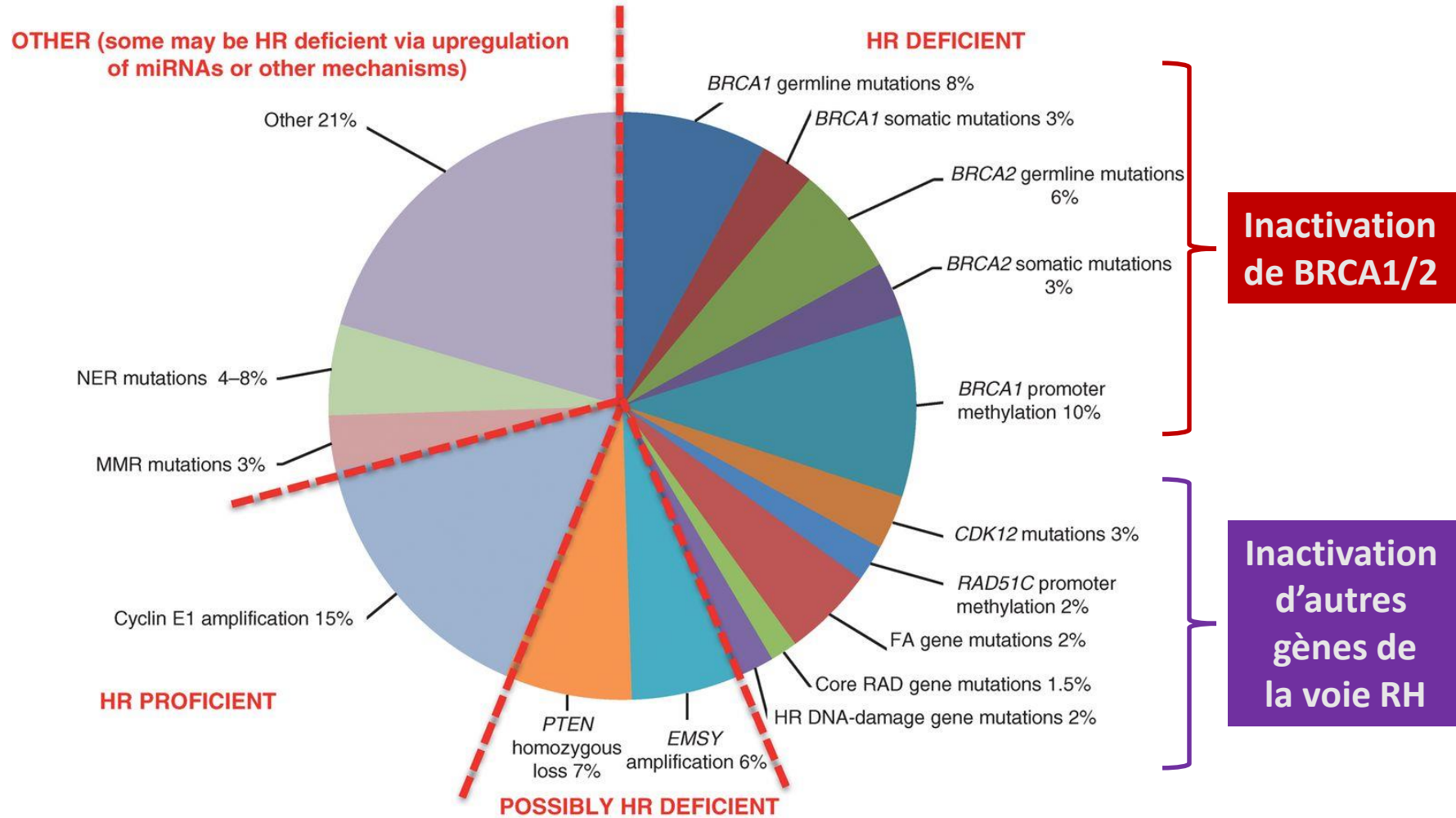
Phases S/G₂

Chromatide soeur non lésée

Fidèle/conservatrice

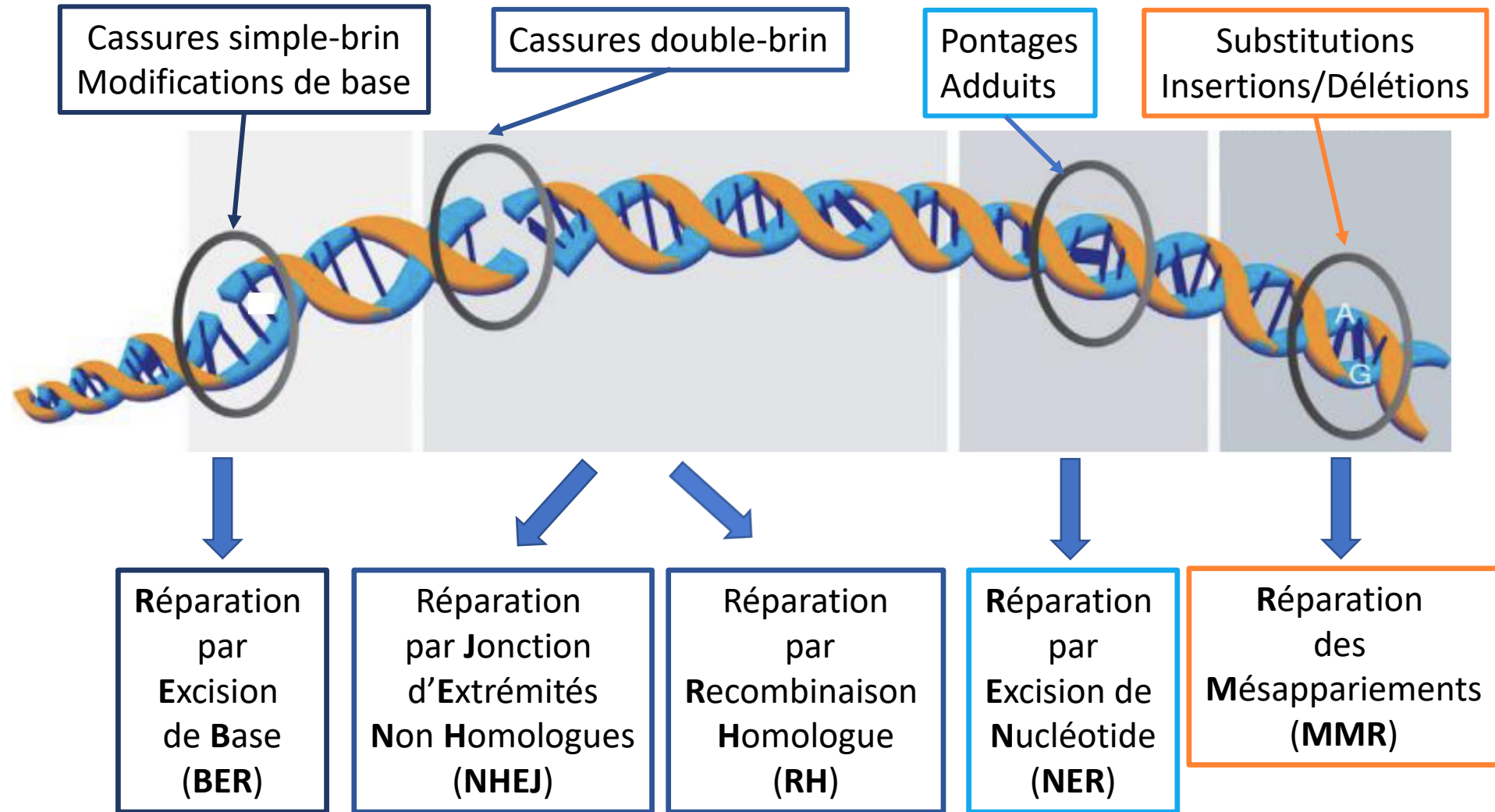
Protéines-clés : **RAD51, BRCA2**

Inactivation des gènes de la recombinaison homologue



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

Conclusion



- **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...