

Université Mohamed Kheider –Biskra-
Faculté de sciences exactes et de sciences de la
nature et de la vie
Département de sciences de la nature et de la vie

Chapitre 02
Mutation et Mécanisme de
réparation de l'ADN

Réalisé par: Dr. Benabdallah F.

2-Mécanisme de réparation de l'ADN

Le nombre de lésion par jour et par cellule est compris entre **1000<lésions<1000000**.

À titre d'exemple, une cellule de mammifères perd spontanément environ 10.000 purines de son ADN dans une période cellulaire de 20 heures à 37 ° C.

Les mécanismes de réparation de l'ADN regroupent un ensemble de phénomènes que toute cellule (eucaryote ou procaryote) met en œuvre pour identifier (reconnaitre) et corriger les dommages de son ADN génomique.

La vitesse et le taux de réparation de l'ADN dépend de nombreux facteurs, comme le type de cellules, l'âge de la cellule et l'environnement extracellulaire.

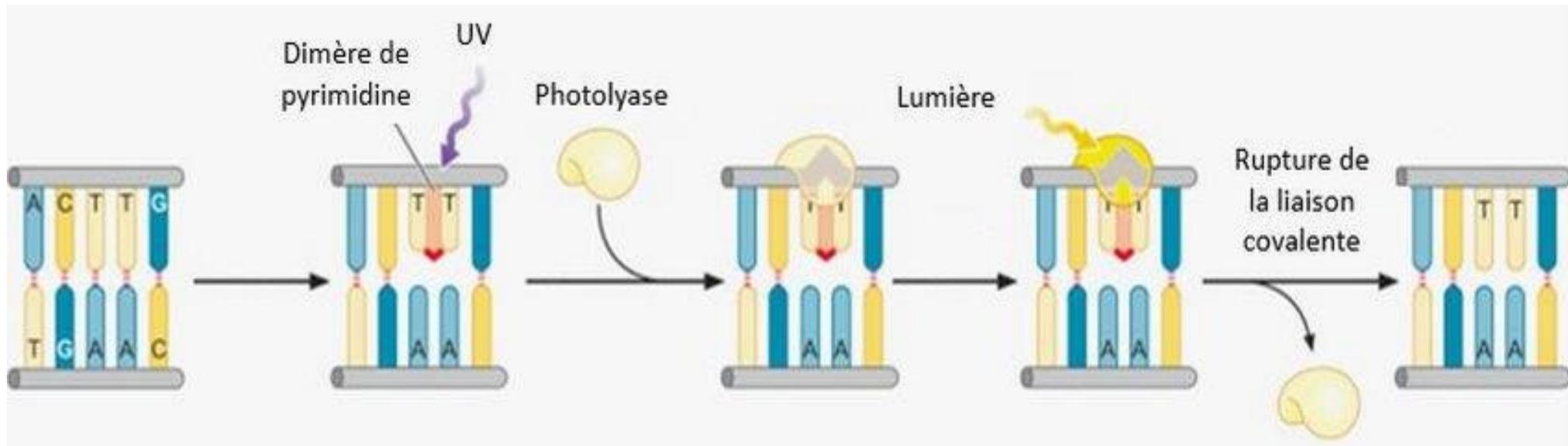
Une cellule qui a accumulé une grande quantité de dommage sur son ADN, ou une cellule qui n'est plus capable d'effectuer efficacement les réparations des dommages subis sur son ADN, peut entrer dans l'un des trois états suivants :

- un état de dormance irréversible, connu sous le nom de **sénescence**
- une **apoptose** ou mort cellulaire programmée
- **une division cellulaire non contrôlée** qui va conduire à la formation d'une tumeur cancéreuse.

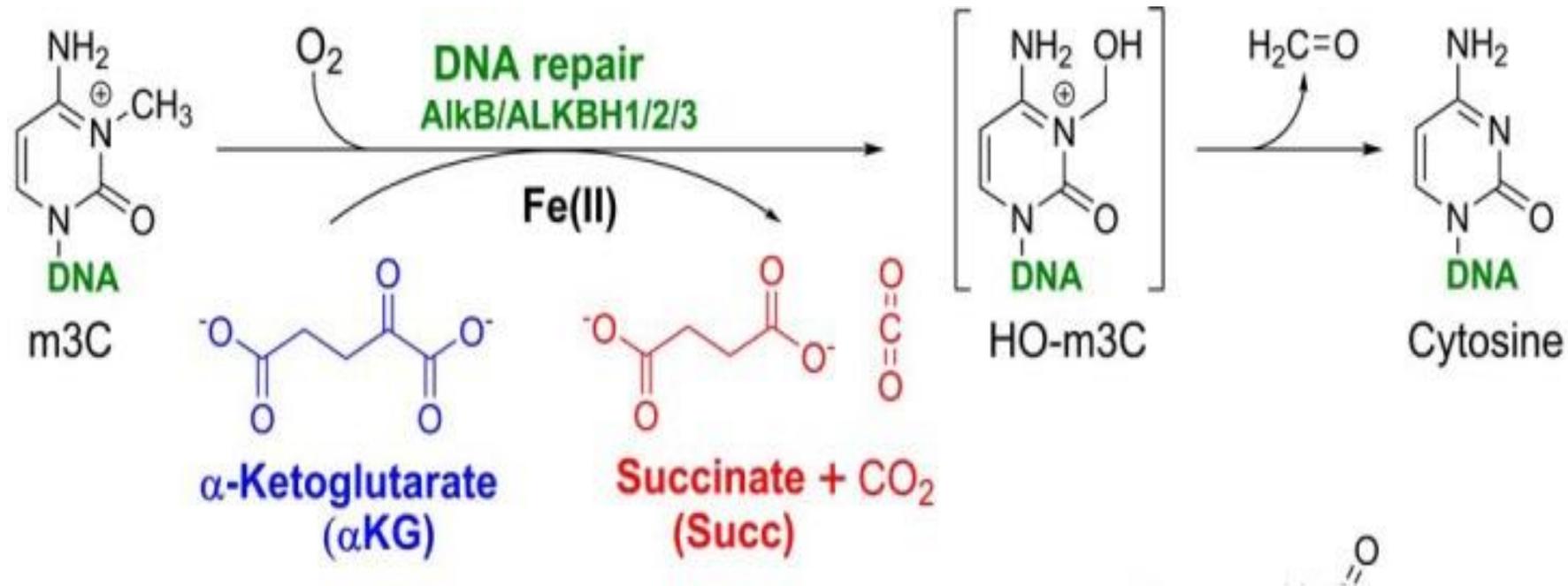
2-1 Réparation par Réversion directe (retour à l'état antérieur)

Les lésions de l'ADN (photolésions UV et bases alkylées) sont simplement reversés.

a) **La photoréactivation**: est un processus dépendant de la lumière utilisé par les bactéries pour inverser les dimères de pyrimidine formés par le rayonnement UV. L'enzyme **photolyase** se lie à un dimère de pyrimidine et catalyse une deuxième réaction photochimique (cette fois en utilisant la lumière visible) qui brise la liaison covalente et reforme les deux thymidines adjacentes dans l'ADN.



b) Désalkylation oxydative: Chez *E. coli*, et même chez les eucaryotes, les dioxygénases α -cétoglutarate-dépendantes (AlkB) hydroxylent le groupe alkyle de manière dépendante de l' α -cétoglutarate et du fer (II). Le groupe alkyle oxydé est libéré sous forme de formaldéhyde, laissant derrière lui la base d'origine.



Examples of oxidative dealkylation reactions catalyzed by AlkB family dioxygenases and their proposed mechanisms. HO-m3C is 3-hydroxymethylcytosine

2-2 Réparation par excision des bases par le système BER

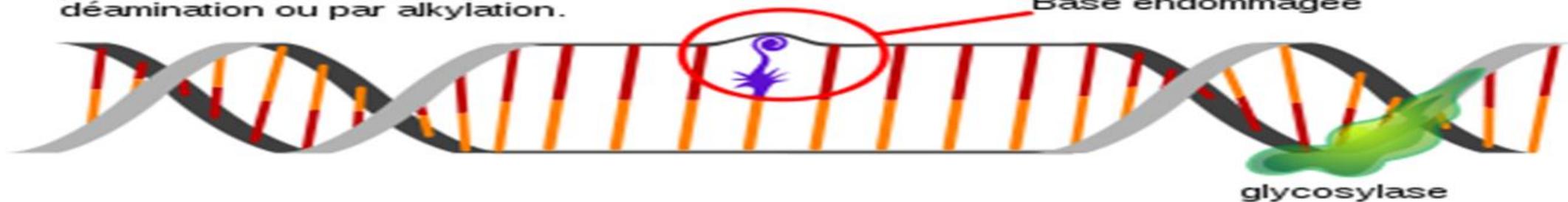
Ce système est impliqué dans la réparation de lésions telles que des dépurinations, des désaminations de cytosine ou des méthylations de l'ADN.

Ce processus met en jeu des **ADN glycosylases** qui clivent la liaison **N-glycosidique** unissant le désoxyribose et la base endommagée. Ceci crée un site AP (apurique ou apyrimidique), reconnu par une **AP-endonucléase**.

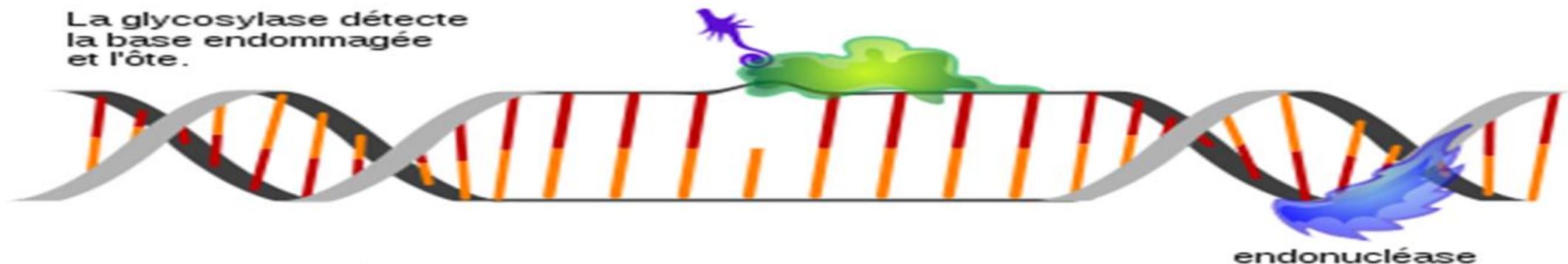
Cette dernière coupe la liaison phosphodiester du côté 5' de la lésion. Il s'ensuit l'excision du désoxyribose phosphate et de quelques nucléotides adjacents et la synthèse du fragment manquant.

Les bases constituant l'ADN peuvent être modifiées par déamination ou par alkylation.

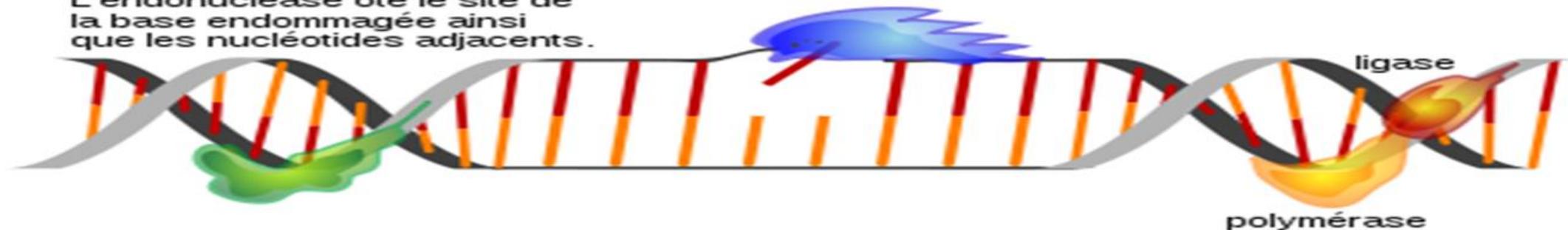
Base endommagée



La glycosylase détecte la base endommagée et l'ôte.



L'endonucléase ôte le site de la base endommagée ainsi que les nucléotides adjacents.



La polymérase polymérise les bases manquantes complémentaires de celles du brin opposé (en jaune). La ligase finit la réparation liant ces nouvelles bases à celle qui les suit.



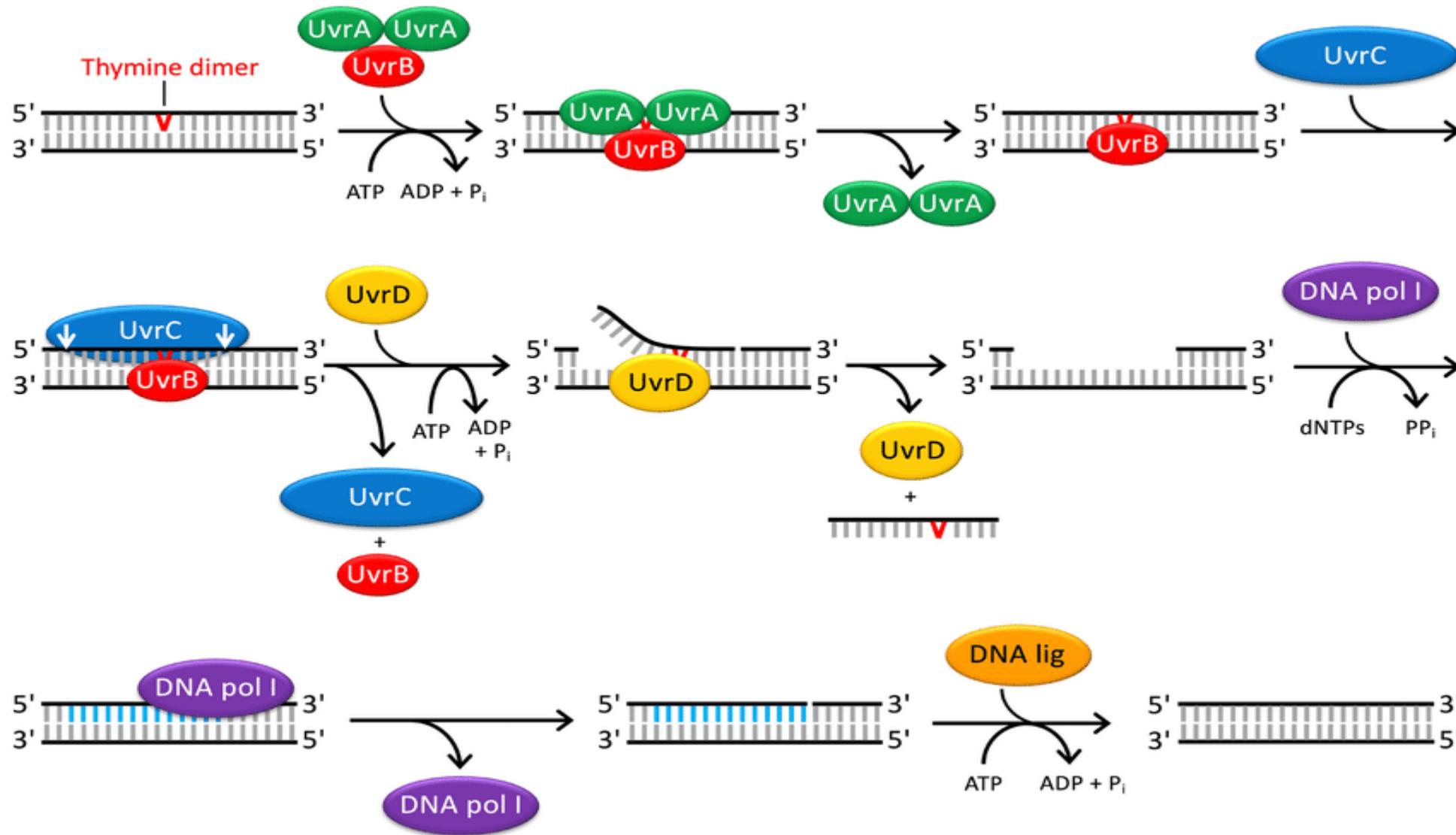
2-3 Excision des nucléotides par le système NER

Les enzymes qui catalysant ce processus sont **les excinucléases UvrABC** et **l'hélicase UvrD** chez *E. coli*.

Le complexe UvrABC reconnaît les distorsions structurelles induites par des dommages dans l'ADN, telles que les dimères de pyrimidine.

Il coupe ensuite au niveau des deux côtés du segment endommagé.

Ensuite, l'UvrD (également appelée hélicase II), déroule l'ADN, libérant ainsi l'oligonucléotide endommagé. Cela laisse des lacunes au niveau de l'ADN qui seront copier par **l'ADN polymérase** et le coller par **l'ADN ligase**.



Recognition and repair of damaged DNA by the UvrABC system of *E. coli* .

2-4 Réparation des mésappariements (MMR)

Il est utilisé pour réparer les erreurs qui se produisent lors **de la réplication de l'ADN**.

L'**ADN polymérase III** permet d'incorporer le faux nucléotide environ **une fois sur 10^8 pb** synthétisés dans *E. coli*.

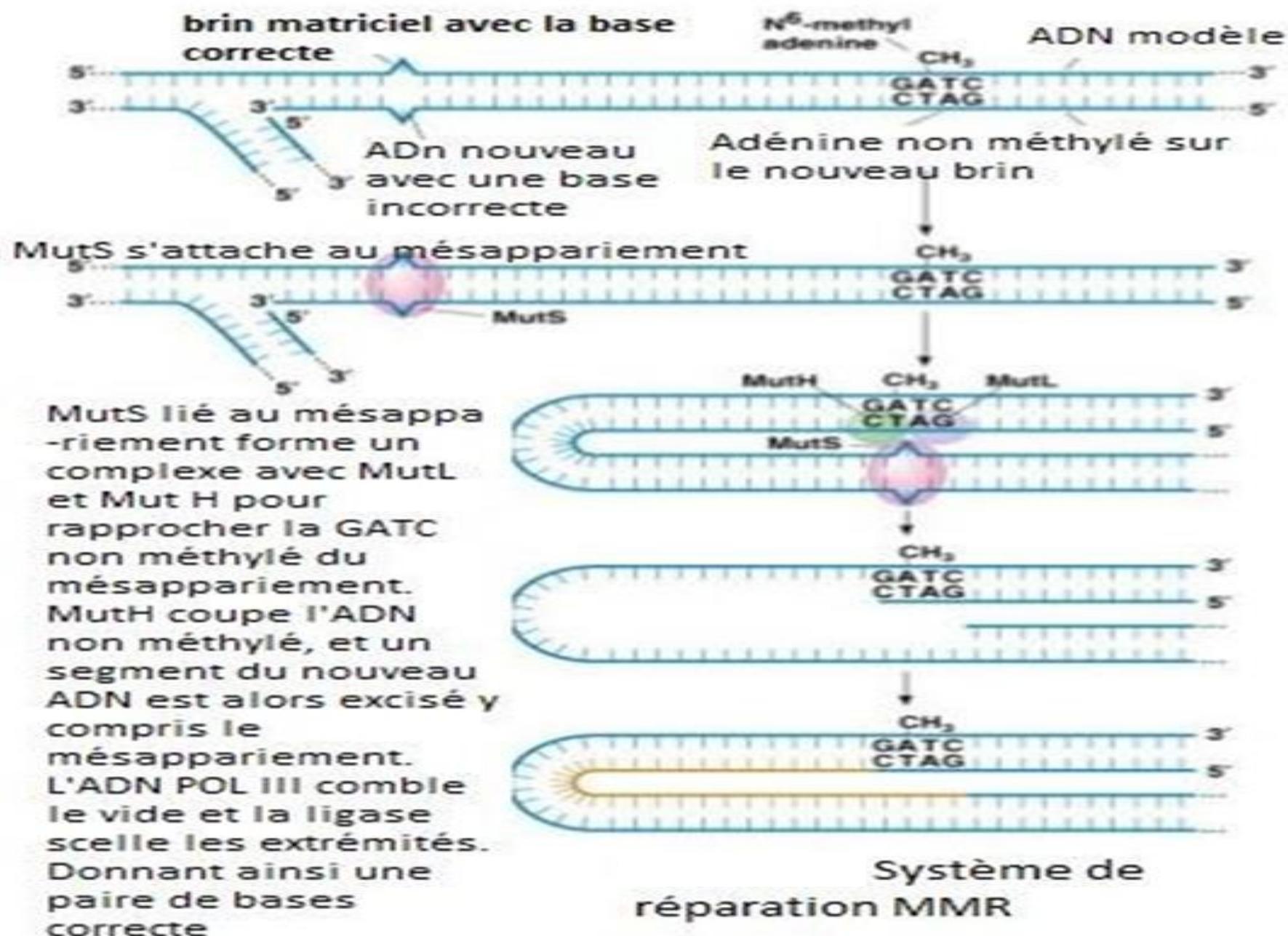
Le **complexe enzymatique MutH-MutL-MutS**, ou **MutHLS**, catalyse la réparation des mésappariements chez *E. coli*.

Le mésappariement est repéré par la protéine **Mut S**, stabilisée sur la lésion par la protéine **Mut L**.

La double hélice d'ADN est ouverte au niveau de la lésion par l'hélicase Mut U. L'endonucléase Mut H repère alors un site hémiméthylé GATC (un marqueur pour le brin parental), proche de la lésion et coupe le brin nouvellement synthétisé dans la séquence GATC non méthylée.

L'ADN endommagé est dégradé et la lacune réparée par l'ADN polymérase I et l'ADN ligase.

Chez les Eucaryotes, notamment chez l'Homme, il existe un système équivalent, mettant en jeu les protéines MSH2, MLH1 et MSH6 dont les gènes sont mutés dans le cancer du colon non polyposique.



2-6 Réparation des lésions de doubles brins

Deux mécanismes complètement différents opèrent pour corriger ces lésions létales : NHEJ (non-homologous end joining) et la recombinaison homologue:

2-6-1 Mécanisme de NHEJ

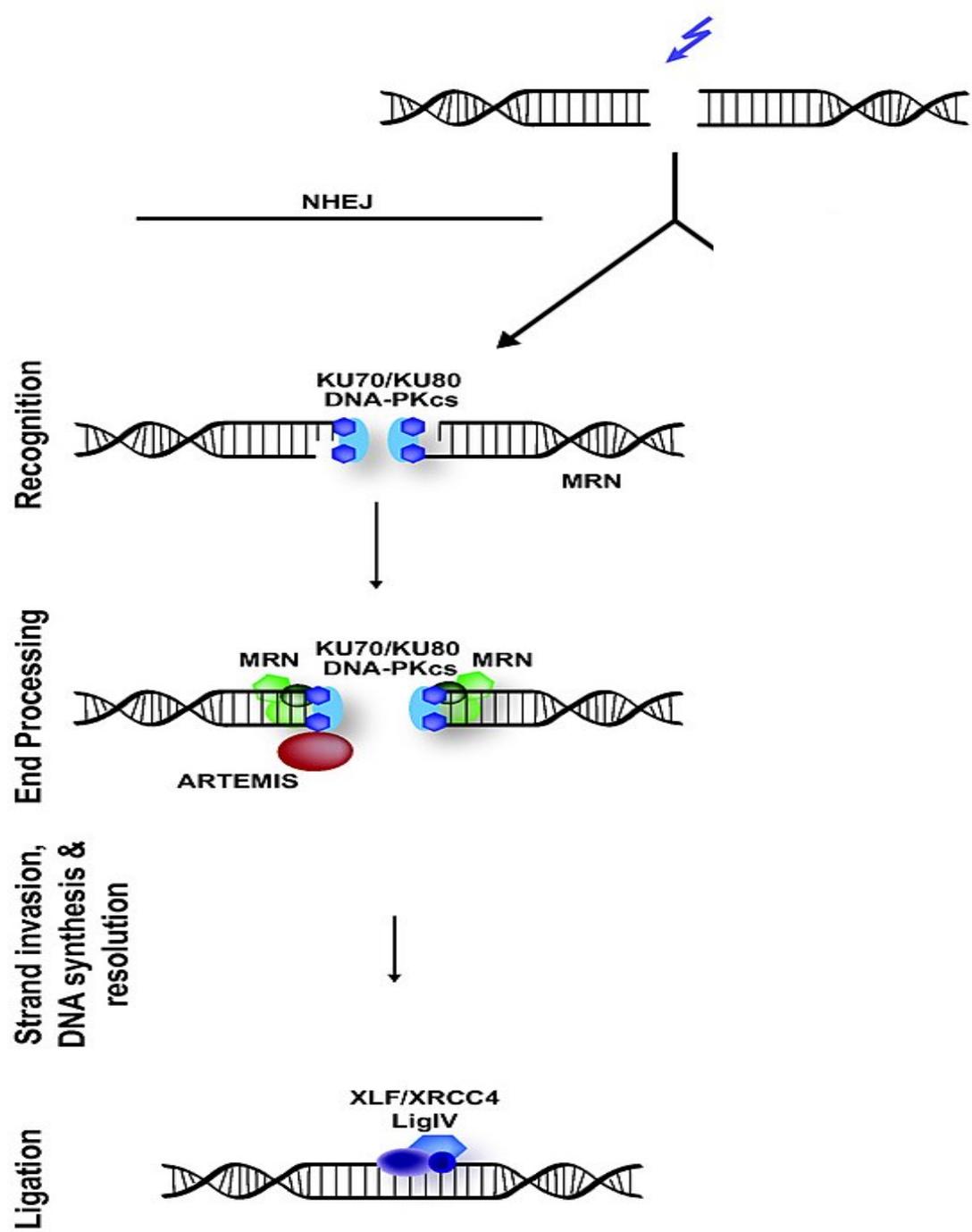
1) Les lésions (cassures) de doubles brins sont d'abord reconnues par l'hétérodimère Ku70-Ku80 (Ku), qui agit comme une protéine de chargement vers laquelle d'autres protéines NHEJ peuvent être recrutées.

2) Une résection des extrémités implique la dégradation de régions courtes de 5' ou 3' par une activité d'une nucléase pour générer de petites régions de microhomologie (≤ 4 nucléotides) entre les brins qui peuvent faciliter la jonction des extrémités.

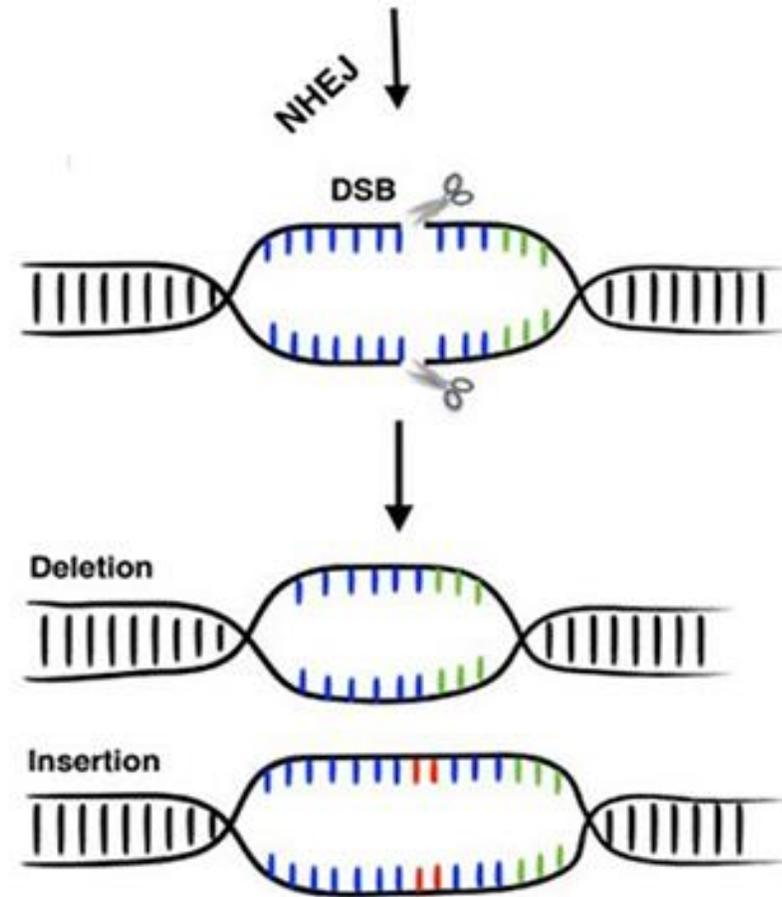
3) Les polymérases peuvent incorporer soit des dNTP, soit des rNTP.

4) La ligase assurent la jonction covalente entre les segments.

D'autres enzymes peuvent intervenir dans ce mécanisme tel que la phosphodiésterase. L'absence d'un modèle pour NHEJ signifie qu'il est sujet aux erreurs.



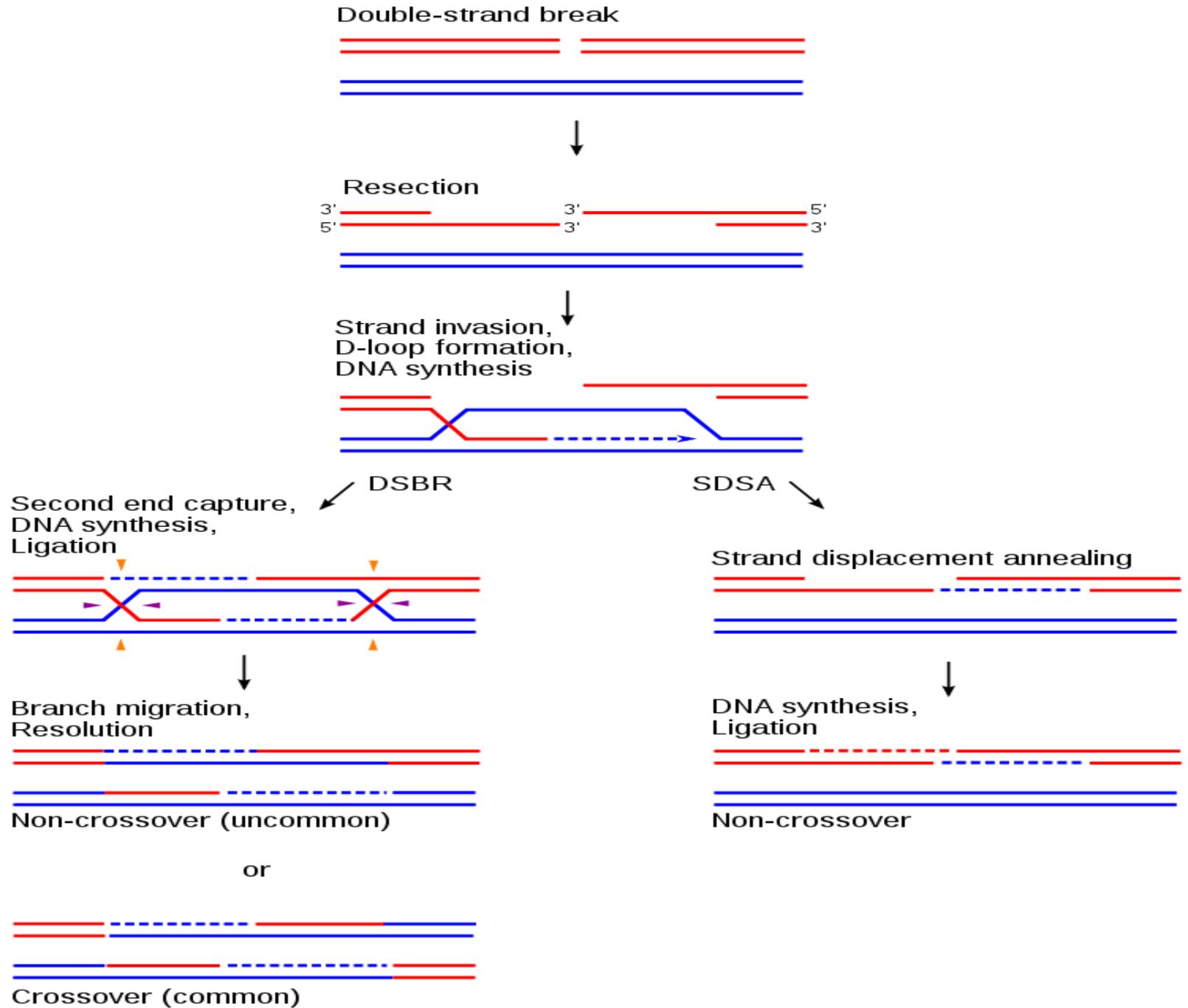
Conséquence d'une réparation non homologue



2-6-2 Réparation par recombinaison homologue

- 1) Une résection qui consiste à la dégradation d'un des deux bouts francs de la lésion double brin grâce à une activité nucléasique 5'-3' (avoir des bouts collants).
- 2) Formation des filaments de RPA puis Rad51 sur l'ADN simple brin: la protéine RPA se lie à l'ADN simple brin avec une affinité très élevée, cette étape **protège l'ADN de l'action des nucléases et évite la formation de structures secondaires.**
- 3) **Recherche d'homologie de séquence** sur l'ADN intacte (sur le chromosome homologue sain).
- 4) **Invasion du brin endommagé** dans le brin d'ADN intacte (effectué par les polymérase) et **formation de la boucle D.**
- 5) La boucle se dissocie et se réhybride avec l'ADN complémentaire, les lacunes sont ensuite comblées par l'ADN polymérase, en utilisant le bon modèle et les extrémités sont liées.

Réparation de dsADN le mécanisme: Recombinaison Homologue



2-7 Système SOS « Save Our Ship »

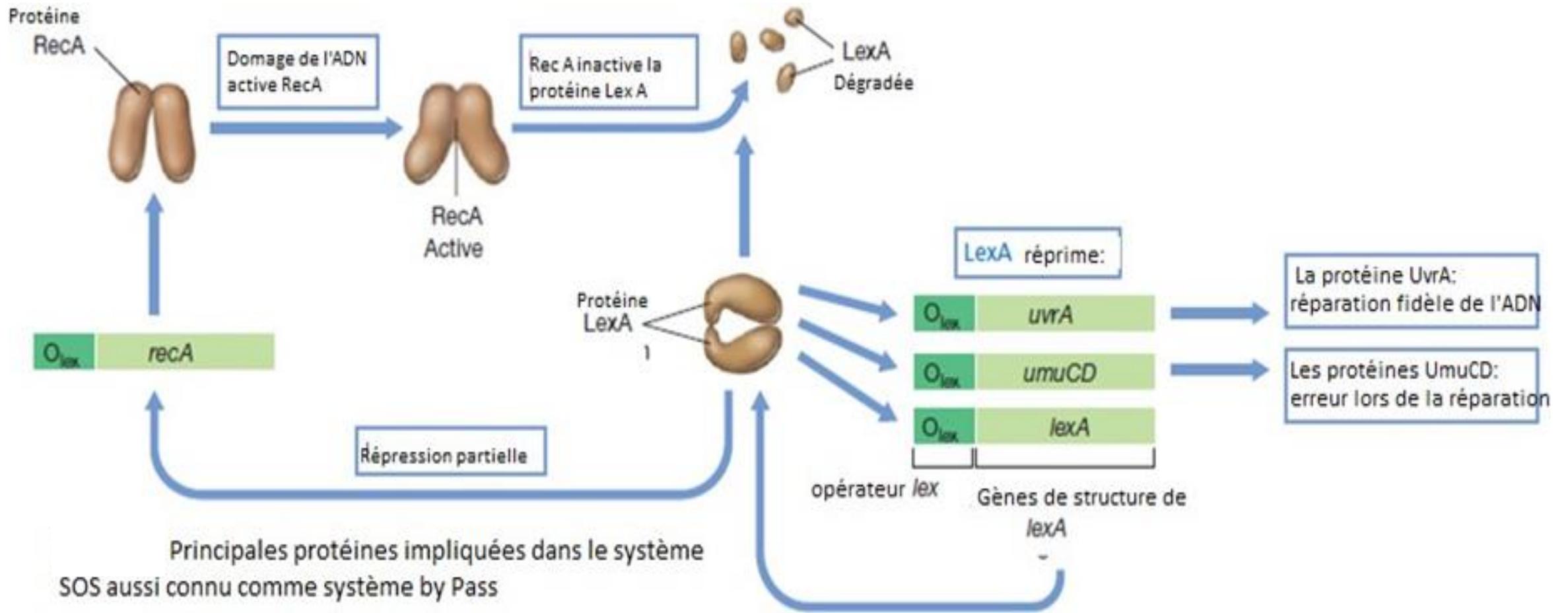
En présence d'un nombre de lésions important, il y a arrêt de **la réplication**, ce qui provoque l'apparition d'ADN monocaténaire. Les quantités croissantes d'ADN simple brin induisent des fonctions SOS, Ce système porte son nom car il apparaît comme un système de secours pour empêcher la mort cellulaire.

Les protéines clés de la réponse SOS sont **RecA et LexA**.

RecA se lie aux régions simple brin de l'ADN, ce qui forme un **filament ADN-Protéine** et son activité protéolytique est activée.

RecA dégrade le répresseur LexA, qui est un répresseur des gènes SOS, ce qui permet l'expression des gènes uvr dans un premier temps, puis **umuDC** dans un deuxième temps.

Les protéines UmuDC interagissent avec l'ADN polymérase et lui permettent de franchir les lésions en incorporant un nucléotide quelconque, ce qui introduit des mutations dans la molécule d'ADN nouvellement synthétisée.



RecA and LexA control the SOS response

Il est moins dangereux de combler le vide que de le laisser.