

## Chapitre 03 : La réparation de l'ADN

Des enzymes de réparation de l'ADN, tels des ouvriers de maintenance, scrutent continuellement l'ADN sur toute sa longueur.

Ils veillent sur l'intégrité de l'ADN afin que toute l'information génétique soit sauvegardée. En effet, constamment :

- des cellules se divisent et, malgré la précision de l'ADN polymérase, quelques mésappariements se forment;
- des lésions de l'ADN se produisent, sous l'action de divers agents :
  - internes (radicaux libres) ou,
  - environnementaux (chaleur, ultraviolets, substances mutagènes).

Plusieurs mécanismes de réparation existent. Chacun est spécialisé dans la correction d'un type de dommage.

Quel que soit le mécanisme de réparation mis en jeu, la structure de l'ADN en deux brins complémentaires est mise à profit pour assurer une réparation correcte. En effet, le brin intact sert de matrice pour la réparation du brin endommagé, assurant une fidélité de la séquence réparée.

Trois mécanismes seront mis en jeu lorsqu'un seul brin est touché, selon la nature, l'importance et le mécanisme de la lésion.

En cas d'atteinte des deux brins localisé ou plus étendue, ce seront des mécanismes plus complexes ou n'assurant pas une réparation *ad integrum* qui seront mis en jeu.

### A. Les mécanismes de réparation des lésions d'un brin

#### 1. Correction des mésappariements produits lors de la réplication

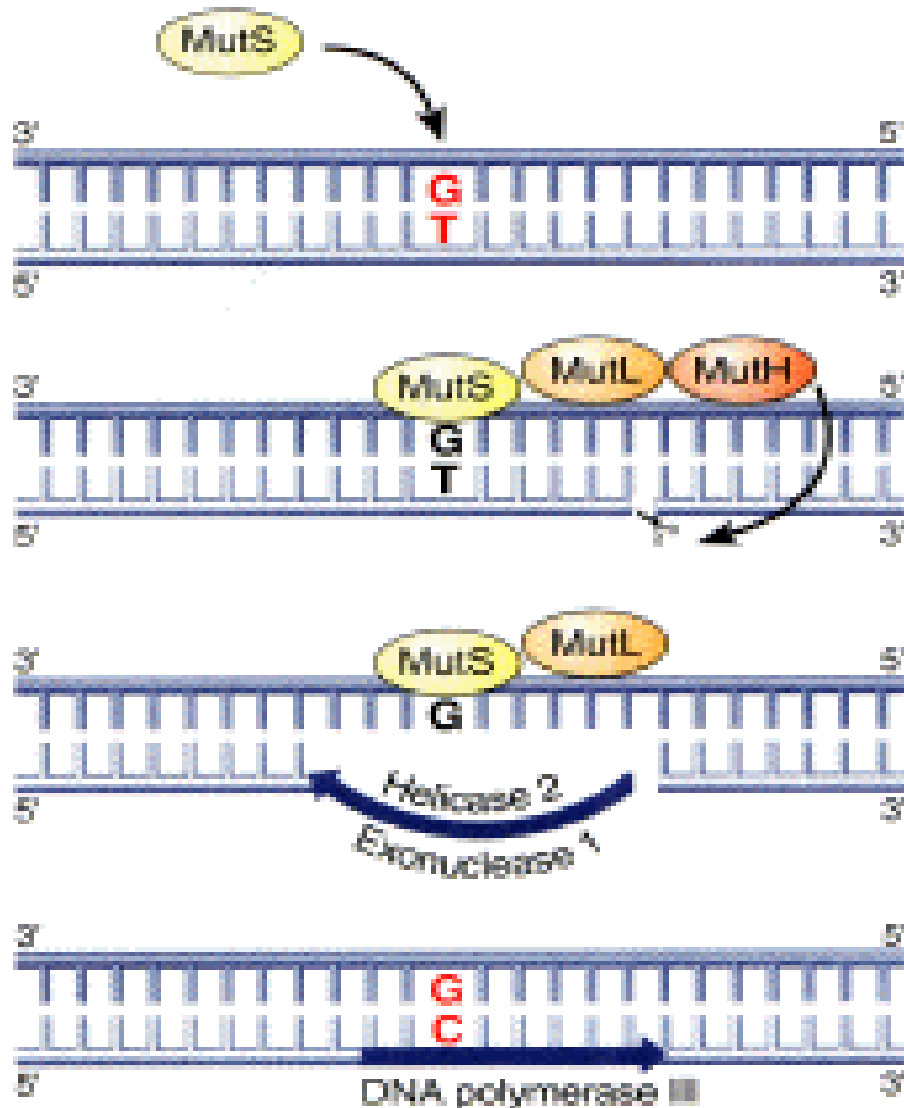
Quand un mésappariement (*mismatch*) a échappé à la fonction d'édition de l'ADN polymérase III, d'autres enzymes interviennent.

Ces protéines, identifiées tout d'abord chez les bactéries sont codées par les gènes *Mut*. La mutation de ces gènes augmente en effet la fréquence des mutations chez la bactérie.

Ces protéines :

- vérifient le brin néosynthétisé et uniquement lui car il n'est pas méthylé contrairement au brin parental;
- font une incision (action endonucléasique) à proximité du nucléotide mal apparié. L'incision est pratiquée en face d'un site méthylé du brin parental qui peut se trouver à droite ou à gauche du mésappariement.

- puis digèrent le brin néosynthétisé (action exonucléasique) depuis le site de coupure jusqu'au mésappariement inclus. Cette exonucléase est donc bidirectionnelle puisque, selon l'endroit de l'incision, elle agira de 5' vers 3' ou de 3' vers 5'.



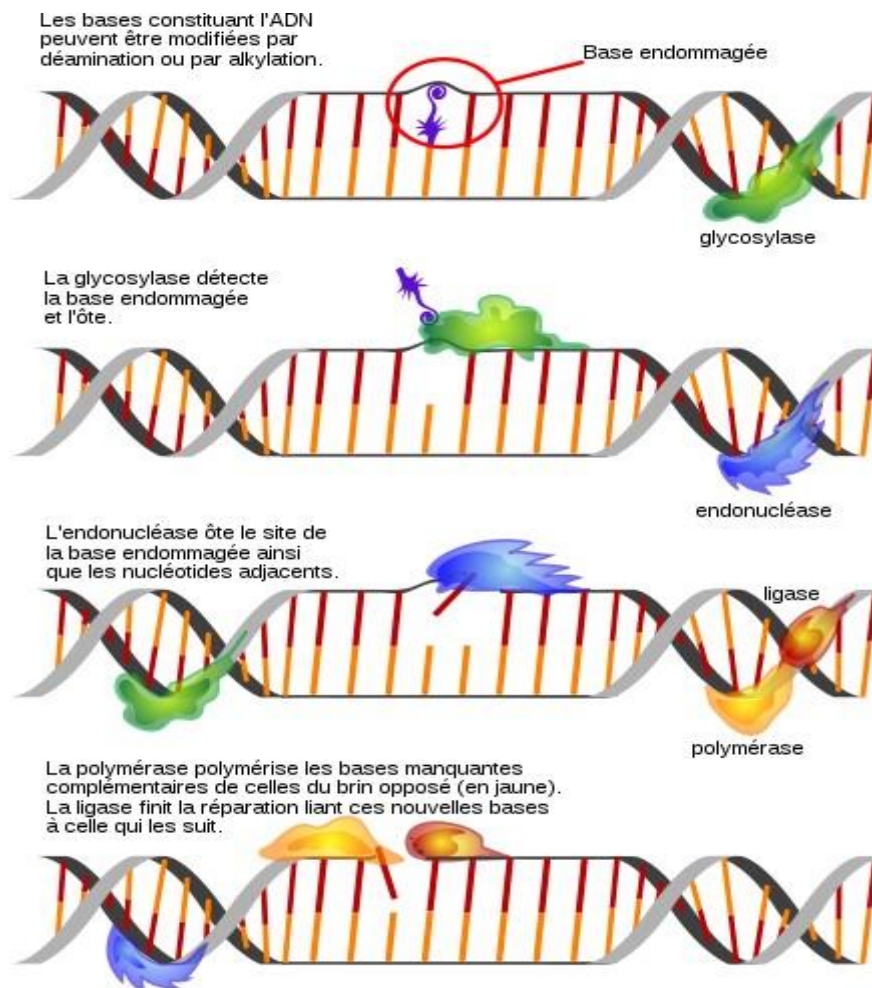
**Figure 1.** Correction des mésappariements produits lors de la réplication

L'ADN polymérase III fera ensuite une extension pour réparer la brèche, en prenant comme modèle le brin parental intact. Une ligase terminera le travail.

L'investissement pour corriger un mésappariement est donc énorme.

## 2. Réparation par excision d'une base anormale (Système BER)

Alors que le mécanisme précédent était mis en jeu après la réplication de l'ADN, ce deuxième mécanisme est lui plutôt mis en jeu après altération d'une base par des agents physiques ou chimiques. Au cours de l'activité d'une cellule, des produits oxydants ou des mutagènes peuvent entraîner, par exemple, la désamination d'une base. Des enzymes vont alors cibler la réparation au niveau d'une seule base.



**Figure 2.** Mécanisme de réparation par excision d'une base anormale

Ainsi, une cytosine méthylée peut, par désamination oxydative, donner de la thymine. La pb C/G devient donc T/G. Ce mésappariement T/G doit être corrigé :

- une glycosylase élimine le résidu T mal apparié;
- une endonuclease reconnaît le site abasique (apyrimidique), et coupe la liaison phosphodiester adjacente ;
- 'une ADN polymérase termine la réparation par une resynthèse sur une longueur de quelques nucléotides (bien qu'un seul, initialement, soit mal apparié) ;
- enfin, une ligase scelle.

### 3. Réparation par excision d'un oligonucléotide

Ce troisième mécanisme de réparation d'un brin lésé est mis en jeu lors de modifications plus importantes de l'ADN, lorsque se créent des liaisons covalentes entre bases (dimères de thymine)

Il existe des enzymes de réparation capables d'enlever la zone défectueuse produite par des agents physiques ou chimiques.

Le mécanisme de réparation comprend plusieurs étapes :

- reconnaissance de la distorsion locale de l'hélice ;
- séparation des deux brins par une hélicase;
- coupure par une excinuclease à quelques nucléotides de chaque côté de la lésion, avec départ du segment endommagé (d'une longueur d'environ 30 nt chez les eucaryotes);
- prolongement du brin d'ADN interrompu au bord de la lacune par une ADN polymérase qui procède à une copie complémentaire grâce à l'information contenue dans le brin intact ;
- soudure du prolongement à l'autre bord de la lacune par une ligase.

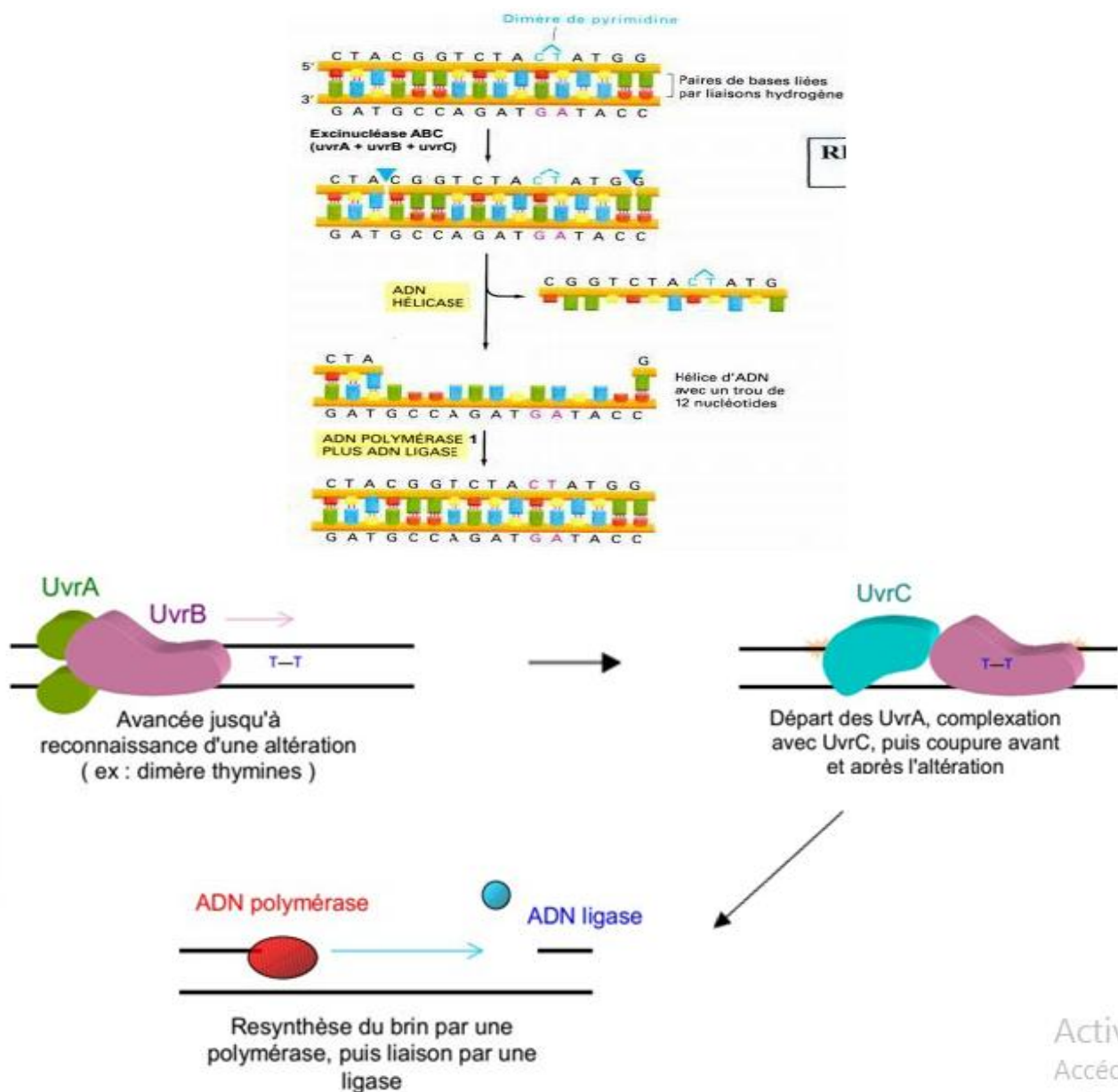


Figure 3. Mécanisme de réparation par excision du nucléotide (système NER)

## B. Réparations des lésions simultanées des deux brins

Parfois la situation est critique :

- le brin parental contient un dimère de thymine ;
- le brin fils contient une lacune.

L'information sur un court fragment d'ADN est donc totalement perdue pour chacun des deux brins.

Cette situation est le plus souvent rencontrée après la réplication, lors d'une anomalie répllicative majeure qui va conduire le système de réparation avec les enzymes d'excision-resynthèse à être débordé. Il se produira alors une brèche appelée « lacune post-répllicative ». Elle se rencontre aussi en dehors de la réplication, après dommages induits par des radiations ionisantes ou des agents oxydants.

### 1. La liaison non homologue des extrémités

L'existence d'une brèche sur les deux brins peut être réparée *a minima* par simple ligation entre les extrémités de chacun des brins.

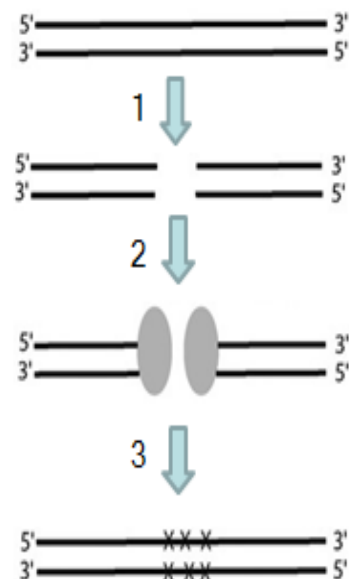
Cette réparation de fortune, qui ne restitue pas la séquence parentale *ad integrum*, est assez fréquente chez les eucaryotes supérieurs car le risque de changement du phénotype après une telle réparation est minime.

En effet, un faible pourcentage du génome porte les informations quantitatives et qualitatives de l'expression des protéines.

1) l'existence d'une brèche sur les deux brins d'ADN peut être réparée *a minima* par une simple ligation.

2) Fixation de protéines spécifiques permettant de limiter la dégradation des nucléotides puis fixation de protéines permettant le pontage des extrémités.

3) Ligation des extrémités par des ligases après alignement des séquences (cette réparation ne restitue pas la séquence parentale *ad integrum* « réparation intégrale »)



**Figure 4.** Mécanisme de réparation par liaison non homologue des extrémités

## 2. La réparation de la brèche par recombinaison homologue

Un autre mécanisme, appelé recombinaison homologue, a surtout été décrit chez les procaryotes, mais existe aussi chez les eucaryotes. Plus compliqué dans son mécanisme, il permet la restitution *ad integrum* de la séquence, malgré la perte d'information sur les deux brins. Ce mécanisme tire profit :

- de l'existence d'une deuxième molécule d'ADN identique lors de la réplication ou ;
- en dehors d'elle, de l'existence d'un deuxième chromosome contenant une molécule d'ADN intacte et identique à la séquence manquante, pour réparer l'altération.

Imaginons qu'une anomalie sur un brin parental (dimère de thymine sur le brin 1) ait produit une lacune post-réplivative sur le brin fils 1. Le mécanisme de recombinaison homologue permettra de prendre le fragment d'ADN du brin parental 2 homologue et combler la lacune du brin fils 1.

Au cours de cette réparation, il y aura un échange entre deux segments homologues d'ADN (le 2<sup>e</sup> brin parental et le 1<sup>er</sup> brin fils dans cet exemple).

Il ne s'agit donc pas d'une réparation au sens strict du terme, puisque cette recombinaison produit maintenant une nouvelle brèche sur le 2<sup>e</sup> brin parental de l'ADN.

Mais ce mécanisme est quand même intéressant. Dans la première situation, on avait :

- zéro information sur deux, d'un côté ;
- deux informations sur deux, de l'autre.

Après recombinaison homologue, on a maintenant :

- une information sur deux d'un côté (une information perdue à cause du dimère de thymine);
- une information sur deux de l'autre (une information perdue à cause d'une brèche).

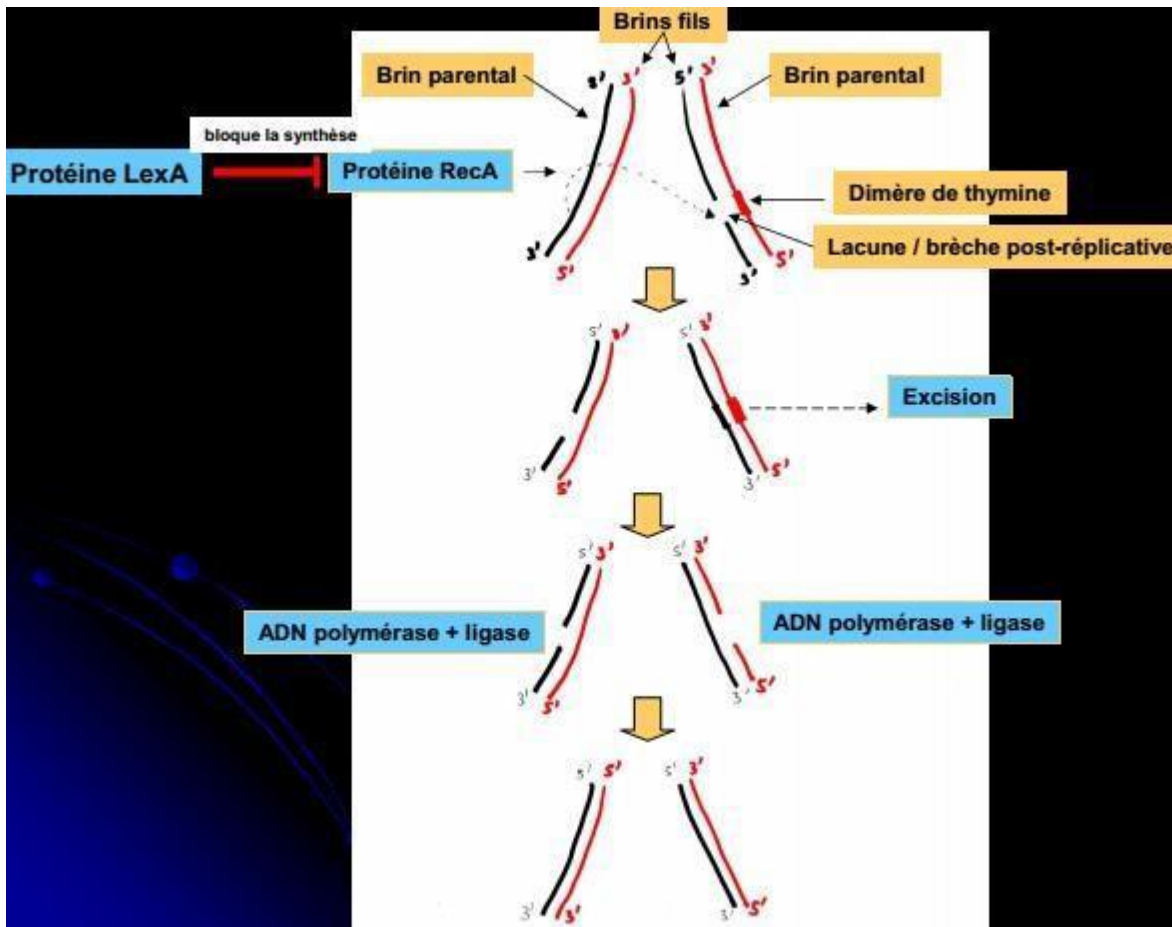
Cette recombinaison homologue est assurée par des protéines spécifiques. Chez la bactérie, il s'agit la protéine RecA (Rec pour recombinaison). Des équivalents existent chez les eucaryotes.

Le pool des protéines REC A présentes dans la cellule est contrôlé par un inhibiteur LEX A qui est le répresseur de REC A. Cet inhibiteur bloque la synthèse de protéines REC A et régule donc le nombre de protéines présentes dans la cellule.

Il faut ensuite l'intervention d'autres enzymes, les enzymes d'excision-resynthèse qui :

- sur un brin élimineront le dimère de thymine;
- et sur l'autre brin combleront la brèche.

A chaque fois la copie pourra se faire grâce à l'information contenue sur le brin opposé. Finalement les ligases souderont les fragments d'ADN à lier.



**Figure 5.** Mécanisme de réparation par recombinaison homologue

### 3. Le système SOS

Lorsque les dommages de l'ADN sont trop grands, la réplication s'arrête et le risque est la mort cellulaire.

Pour éviter cette mort, un ultime mécanisme est déclenché, c'est le système SOS. Ce mécanisme, qui implique les protéines RecA et LexA, permet à la réplication de se poursuivre et aux réparations de se faire, mais souvent au prix d'erreurs réplcatives et donc d'un taux de mutations important.

#### a. RecA et LexA

Dans les bactéries, les phénomènes de recombinaison homologue sont rares en conditions normales et la quantité de protéine RecA est donc faible. Ceci est dû à la répression de son expression par le répresseur LexA.

RecA est une protéine remarquable qui possède des propriétés de recombinaison homologue mais aussi une propriété protéolytique, ou plus exactement une propriété coprotéase. En effet, une fois activée RecA est capable de couper et inactiver son répresseur LexA.

## b. Proteolyse de LexA

Un des témoins des dommages de l'ADN est l'accumulation d'ADN simple brin. Cet ADN simple brin active la fonction proteolytique de RecA.

Cette activation de RecA initie la réponse au véritable signal de détresse que lance la cellule. La protéine RecA provoque alors la protéolyse de son répresseur : la protéine LexA qui se coupe en deux fragments.

Le nombre de molécules de protéine RecA augmente donc aussitôt, ce qui permet d'effectuer les recombinaisons nécessaires.

## c. Les erreurs réplcatives

La fidélité de la réplication est diminuée au cours de la réponse SOS qui introduit un nombre d'erreurs non négligeable. Mais cette réparation SOS évite le blocage de la synthèse d'ADN et de ce fait sauve la cellule de la mort, entraînant cependant des mutations qui seront le prix à payer pour survivre. On peut supposer que si ce système est inductible et non constitutif, c'est que la bactérie y fait appel en dernier recours, préférant d'abord utiliser les systèmes de réparation sans erreurs tant qu'ils ne sont pas débordés. Ces « erreurs » peuvent toutefois être bénéfiques, en agissant dans le sens de l'évolution, alors que ces bactéries étaient en train de connaître un état de stress.

Il est étonnant de constater que, dans ce cas, les mutations sont finalement une conséquence indirecte de l'altération de l'ADN : ce ne sont pas les ultraviolets qui ont provoqué directement la mutation, mais le système de réparation (enclin aux erreurs).

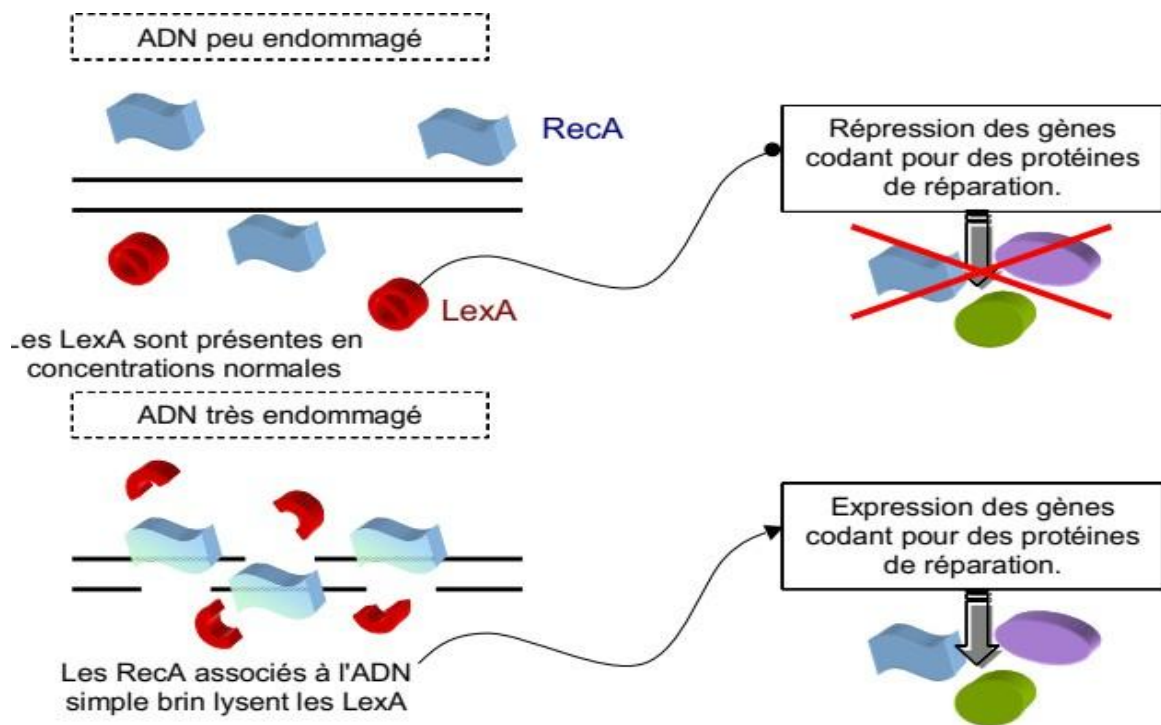


Figure 6. Système SOS



## **V. La recombinaison homologue**

La recombinaison homologue survient au cours de la division cellulaire et en particulier lors de la méiose. Nous avons vu plus haut son rôle dans la réparation des lésions double brin de l'ADN.

En pratique, elle a trois fonctions:

- assurer la réparation des lésions graves d'ADN (cassures double brin, pontages entre les deux brins ou double lésion);
- permettre la ségrégation des chromosomes ;
- contribuer à la diversité de l'espèce (échanges d'ADN)

La recombinaison homologue peut toucher n'importe quel segment d'ADN. Elle conduit à l'échange de matériel entre deux molécules d'ADN de séquence homologue.

Cet échange nécessite donc la proximité de deux molécules d'ADN homologues, une situation qui est permise :

- lors de la réplication de l'ADN ;
- et surtout chez les eucaryotes, et en particulier les mammifères, lors de la méiose du fait de l'existence de  $2n$  chromosomes.

### **A. le mécanisme de recombinaison homologue**

On a longtemps cru que la recombinaison entre deux séquences homologues nécessitait la rupture d'un seul brin sur l'une des molécules d'ADN. On sait aujourd'hui qu'il faut la coupure des deux brins d'une des molécules d'ADN par une endonucléase pour initier cette recombinaison.

Une exonucléase 5' vers 3' digère ensuite les deux extrémités 5' libre au niveau de la coupure. Ceci conduit les deux extrémités 3' correspondantes sur les brins complémentaires à devenir simples brins (on dit extrémités 3' sortantes).

Ces extrémités 3' sortantes vont alors s'hybrider avec leurs séquences homologues sur la deuxième molécule d'ADN, créant ainsi une molécule d'ADN hybride.

Cette association entre les quatre brins des deux molécules d'ADN est coordonnée par la protéine RecA chez les procaryotes ou ses nombreux équivalents chez les eucaryotes, comme la protéine Rad51.

De nombreuses protéines accessoires à cette recombinase existent chez les eucaryotes, comme les protéines Brcal et Brca2, dont les altérations sont associées au cancer du sein. Le point de jonction entre les quatre brins d'ADN est appelé jonction de Holliday.

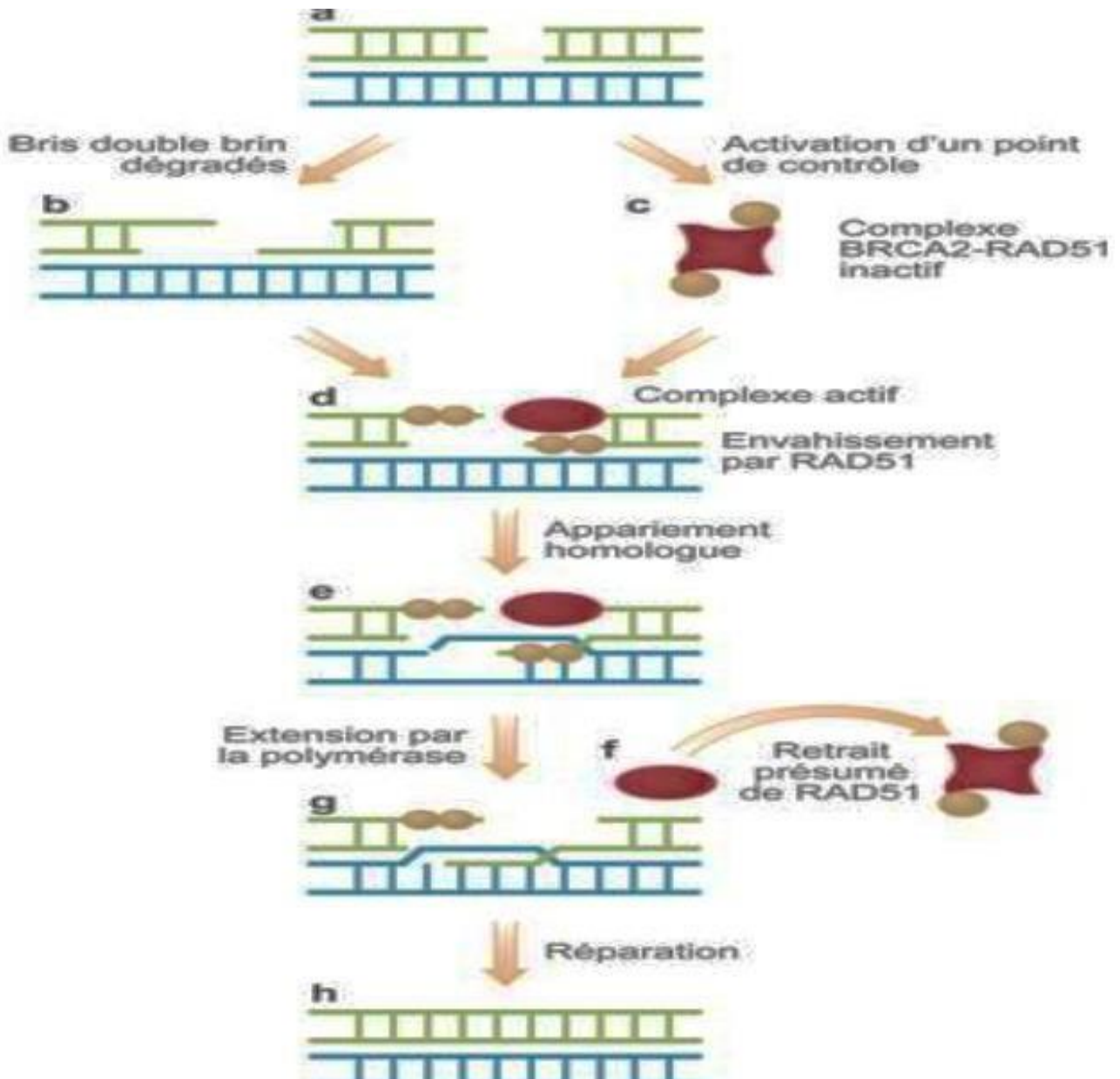
### **B. Crossing over et conversion génique**

L'étape suivante consiste en une courte synthèse d'ADN pour combler les séquences manquantes, puis la coupure et la religation des brins pour reformer deux molécules d'ADN intactes, sans insertion ni délétion du moindre nucléotide.

Cependant et selon la nature de la coupure, on obtiendra :

- soit un réarrangement simple ;
  - soit un réarrangement avec enjambement des deux molécules d'ADN (classique crossing over).
- En cas de réarrangement simple, la région digérée puis reconstruite peut conduire à une conversion génique, si elle intéresse un gène. Ainsi les deux chromosomes maternel et paternel auront une courte région, contenant un gène dont les deux allèles seront identiques et proviendront d'un seul des deux chromosomes.

En résumé, la recombinaison homologue est un mécanisme complexe d'échange de matériel entre deux molécules d'ADN homologues, qui peut conduire à des conversions géniques ou des *crossing over* entre chromosomes. Ce mécanisme cellulaire est mis à profit pour modifier les gènes dans le génome des cellules ou animaux de laboratoire.



**Figure 7.** Mécanisme de la recombinaison homologue