

^.

FACULTE DE MEDECINE D'ALGER
MODULE DE GENETIQUE
Dr Boudiaf Benaferi R.

LES SYSTEMES DE REPARATION DE L'ADN

I / INTRODUCTION :

La réplication et la conservation de la structure primaire de l'ADN peuvent, dans certains cas, ne pas être parfaites.

La réparation vise soit à arranger des bases modifiées soit à remplacer des bases ou un nucléotide soit carrément un fragment d'acides nucléiques.

II/ LES AGENTS ALTERANTS :

Les lésions de l'ADN peuvent être causées par des agents physiques ou chimiques.

II.A. Agents physiques :

Les rayons UV, rayons X, la radioactivité,.....

exemple : une exposition au soleil (UV) entraîne l'apparition de dimères de thymine.

L'augmentation de la température entraîne des dépurations de l'ADN (perte de A ou G) et des désaminations des bases (C→U).

II.B. Agents chimiques :

► Peuvent être d'origine cellulaire comme la modification du pH et les oxydants.

► d'origine exogènes comme le Cisplatine, l'acridine, les hydrocarbures cycliques.

Remarque :

• En plus de ces agents, des erreurs peuvent se produire au cours même de la réplication, vu la vitesse de la réplication et le nombre important de nucléotides qui entrent en jeu. L'erreur de réplication est de 1 nucléotide / 10^7 .

III/ LES DIFFERENTS TYPES D'ALTERATIONS DE BASES :

La nature chimique des bases azotées est essentielle pour le message génétique. De nombreuses modifications de ces bases peuvent entraîner des mutations.

Parmi ces altérations :

• La désamination de l'adénine donne l'hypoxanthine qui est préférentiellement complémentaire à la cytosine. (schéma 1)

- La méthylation de la cytosine donne le 5-méthyl cytosine qui va se lier à l'adénine.
- Les analogues structuraux de bases, comme le 5-bromouracile qui s'hybride avec la guanine ou le 2-aminopurine qui se lie à la cytosine.(schéma 2)
- Certains agents chimiques réagissent avec les bases comme le 2-méthyl nitrosamine qui réagit avec les bases en ajoutant des radicaux (alkylation) ou en s'intercalant entre les bases au sein de la double hélice (bromure d'éthidium).

Les tableaux I et II résument les principales altérations de bases.

IV/ SYSTEME DE REPARATION DE L'ADN :

La fréquence des lésions de l'ADN est très élevée :

- Dépuration due à une température élevée : 5000 cellules/jour.
- Désamination : 100 cellules/jour.
- Dimérisation de thymines : 60 000 à 80 000 cellules par heure d'exposition au soleil.(schéma 3)

Les mécanismes de réparation étant très efficaces (99.9%), seul un nombre minime de lésions est transmis à la descendance.

exemple : une lésion par dimérisation de thymine sur un million est transmise à la descendance. La persistance de ces anomalies peut entraîner la mort de la cellule (par apoptose) ou sa cancérisation.

Plusieurs mécanismes rectifient les erreurs survenues sur l'ADN (et on en découvre de plus en plus !):

1- système de réparation sur épreuve :

In vitro, chez E.Coli, l'ADN polymérase introduit une base incorrecte par 10 000bases.

Cette enzyme a la possibilité de détecter les bases anormales, de les exciser grâce à son activité exonucléasique et de les remplacer par la base correcte.

c'est ce qu'on appelle « Système de réparation sur épreuve » ce qui signifie : réparation pendant de la réplication.

2-réparations directes :

Ce type de réparation met en jeu des enzymes spécifiques.

- La photoréactivation (plantes, bactéries et champignons) : Les dimères de thymines induits par les UV solaires sont monomérisés (réparés) par l'ADN PHOTOLYASE (enzyme de photoréactivation) en présence de la lumière visible.(shéma 4)

- Action de l'Alkyltransferase : s'il y a augmentation d'agents alkylants dans la cellule(alkylation des bases), l'alkyltransférase intervient pour éliminer l'alkylation.

3- réparation des mésappariements :

Des mésappariements entre deux bases normales mais non complémentaires provoquent la formation d'une protubérance dirigée vers l'extérieur de l'hélice.

Cette protubérance est détectée pendant la phase S par la protéine Mut S. Ceci va permettre l'activation de la protéine Mut L qui va elle-même activer une autre protéine Mut H qui est une enzyme qui induit une coupure du brin d'ADN lésé en aval de la lésion.

Cette coupure est suivie de l'action d'une hélicase spécifique et d'une exonucléase. L'hélicase ouvre l'ADN en partant de l'incision d'aval vers la lésion et l'exonucléase digère le brin libéré puis une ADN polymérase remplace le brin digéré.

4- réparations par excision : schéma 5)

a- Excision d'une base (BER) :

Elle se déroule en cinq étapes successives :

- Une ADN-glycosylase reconnaît la base altérée et l'élimine par excision.
- Le site de l'ADN ainsi modifié devient un site AP (apurique ou apyrinique).
- Le brin d'ADN est interrompu au niveau de l'excision par une AP endonucléase qui appartient à un complexe enzymatique. Elle élimine par hydrolyse de la liaison phosphodiester le désoxyribose qui était lié à la base altérée.
- Une ADN polymérase (β) associe un nucléotide complémentaire du nucléotide qui était associé au nucléotide excisé.
- le nouveau nucléotide est lié au brin d'ADN modifié par l'action d'une ligase.

b- Excision de nucléotides : (schéma 6)

Elle se déroule en 3 étapes successives :

- Un complexe enzymatique comporte une EXONUCLEASE enlève un oligonucléotide (une dizaine de nucléotides) du brin à réparer.

Ce complexe nécessite les facteurs protéiques spécifiques. L'un d'eux est modifié ou manque dans le xeroderma pigmentosum.

- Les nucléotides manquants sont remplacés un par un par l'ADN polymérase qui utilise comme modèle le brin complémentaire.
- Une ligase assure la continuité du brin d'ADN.

c- réparation d'une cassure du double brin d'ADN: (schéma 7)

La réparation se fait :

- soit : les extrémités des deux brins cassés sont juxtaposées, rabotées puis liés. Au cours du phénomène, il y a perte de quelques nucléotides et la séquence d'origine de l'ADN n'est pas reconstituée Le plus souvent, cela est sans conséquent puisque cela survient dans les parties non codantes.
- soit : la séquence des deux brins cassés est reconstituée par copie de la région équivalente du chromosome homologue.

5- le système S.O.S :(tolérance des lésions ou réparation mutagène)

C'est un système mis en jeu quand tous les systèmes de réparation sont dépassés.

Quand l'ADN polymérase arrive à la zone mutée, elle va s'arrêter et ne pourra plus progresser normalement. La cellule (bactérie) sentant sa vie en danger « si la réplication s'arrête, le cycle cellulaire est interrompu », déclenche le système S.O.S : une protéine appelée Rec A va venir se lier à la partie de l'ADN (néoformé) qui ne peut plus progresser (monocaténaire) .

Ce complexe va désactiver une protéine Lex A (dont le rôle est de réprimer une vingtaine de gènes qui codent pour le système de réparation).

Quand la répression est levée, la vingtaine de protéines sont synthétisées et vont essayer de réparer la mutation pour permettre à l'ADN polymérase de continuer sa progression.

Mais dans ce système d'urgence, il arrive que ce ne soit pas le bon nucléotide qui soit intégré dans la région à réparer.

On parle alors de réparation mutagène.

PRINCIPALES ALTERATIONS DE L'ADN(tableaux I et II)

MODIFICATIONS MINEURES
ALKYLATION D'UNE BASE (CH ₃) HYDRATATION DE LA CYTOSINE(H ₂ O) METHYLATION NON PROGRAMMEE (gène réprimé) DESAMINATION DE BASES

Tableau I

MODIFICATIONS MAJEURES	
PONTAGE INTRABRIN -dimérisation de 2 T -dimérisation de 2 G	UV, moutardes azotées, cisplatine, mitomycine C
PONTAGE INTERBRINS entre bases opposées	Platine, mitomycine C, radiations ionisantes
PONTAGE ADN-PROTEINE	Ellipticine, formol, alkylants, rayons X, UV
INSERTION D'UN ADDUIT (produit intercalaire)	Acridine, bromure d'ethidium , alkylants, hydrocarbures cycliques, aminofluorène, RX
CASSURE MONO ET DOUBLE BRIN	RX, bléomycine
SUBSTITUTION, INSERTION, DELETION D'UNE BASE	Température, erreur de réplication
INCORPORATION D'ANALOGUE STRUCTURAL DE BASE	BudR(5bromo uracile), analogue de l'acide folique

Tableau II



Schéma 1

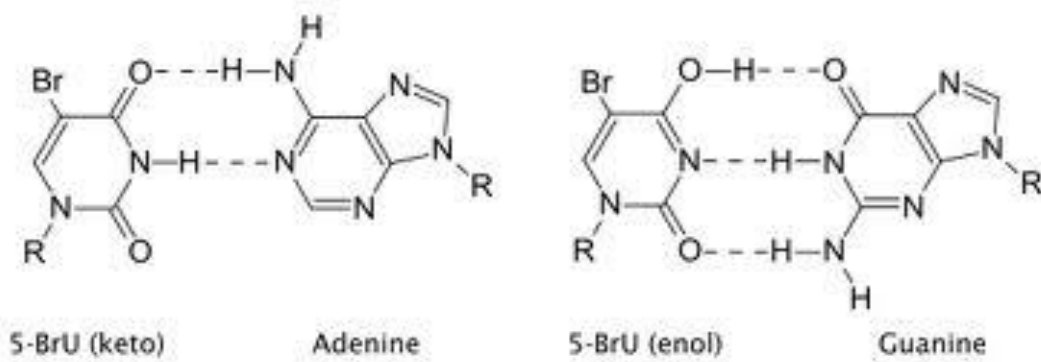


Schéma 2

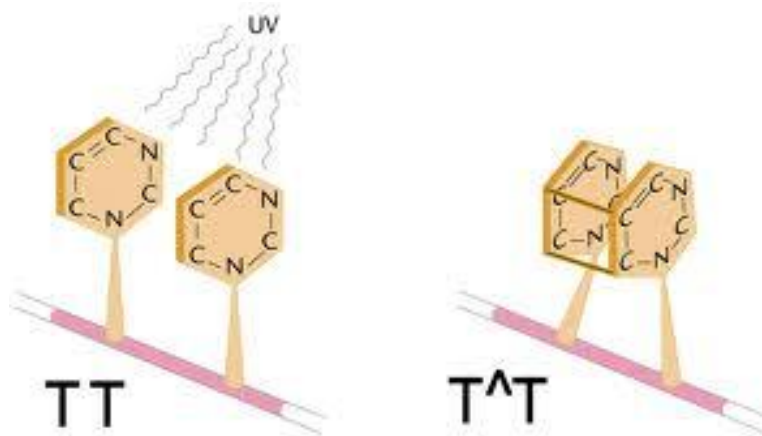


Schéma 3

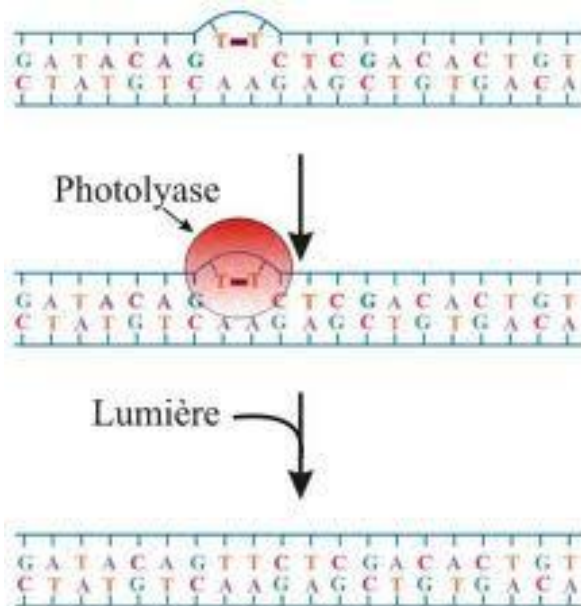


Schéma 4

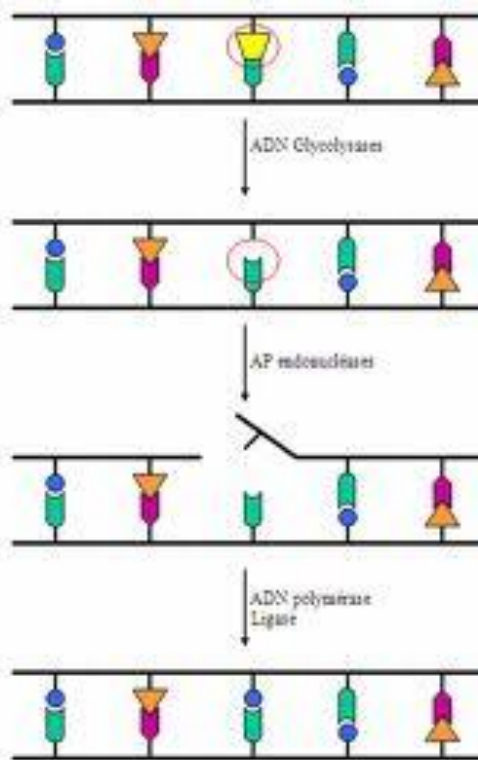


Schéma 5

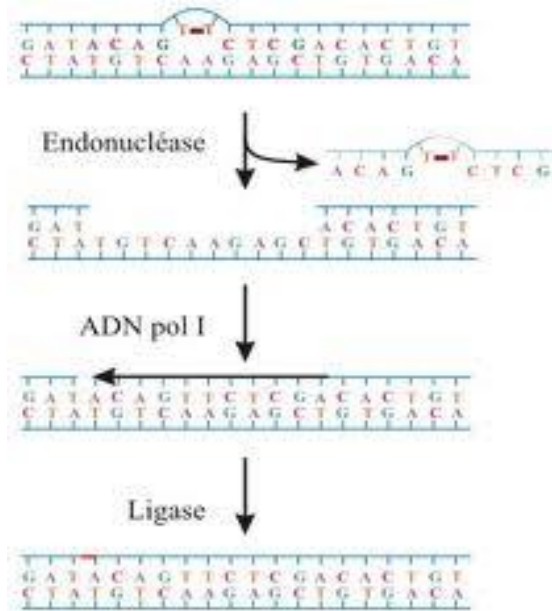


Schéma 6

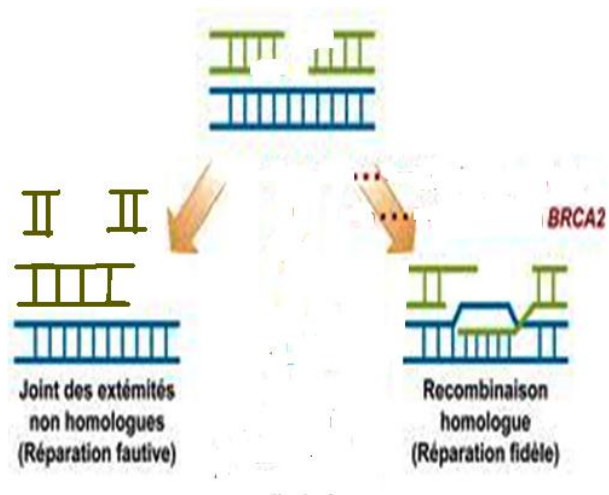


Schéma 7