

ANNEXE VI

MÉCANISME DE LA RECOMBINAISON HOMOLOGUE

Réduite à l'essentiel, la recombinaison apparaît comme un processus très simple, puisqu'elle consiste à couper, puis à raccorder deux molécules d'ADN de séquence identique ou similaire.

C'est un processus universel, mis en œuvre aussi bien par les bactéries que par les eucaryotes. Chez les animaux, la recombinaison est associée à la méiose, qui prépare la formation des gamètes. Elle entraîne un échange de matériel génétique entre deux chromosomes homologues et contribue au brassage de gènes qui a lieu lors de la reproduction sexuée.

VI.A. MÉCANISME DE LA RECOMBINAISON MÉIOTIQUE

Le mécanisme de la recombinaison est mieux connu chez la levure que chez les eucaryotes dits supérieurs. Trois modèles successifs ont été proposés pour décrire le phénomène. Tous font intervenir une structure particulière, appelée jonction de Holliday, d'après le nom du chercheur qui a pressenti son existence en 1964. Les deux modèles les plus récents font appel à deux jonctions de Holliday et à un processus de réparation de l'ADN dans l'intervalle compris entre les jonctions.

Pendant la prophase de la méiose, les chromosomes homologues sont dédoublés en deux chromatides et associés par paires au sein de complexes de nature protéique associant quatre molécules d'ADN. Les molécules sont disposées en registre, c'est-à-dire de manière que les séquences homologues soient placées côte à côte.

La recombinaison se fait entre deux chromatides appartenant à des paires différentes (*fig. VI.A*). Elle commence par une coupure créée par le produit du gène *spo11⁺*, initialement caractérisé chez la levure. Les brins coupés sont raccourcis par l'exonucléase* *MRE11^{**}*, l'un des trois éléments constitutifs du complexe *MRN^{**}*, ce qui dégage deux extrémités 3' saillantes. L'une de ces extrémités envahit la molécule homologue en déplaçant le brin de même polarité tout en s'appariant avec l'autre. L'invasion est rendue possible grâce à une série de protéines, dont *BRCA1^{**}*, *BRCA2*, *Rad51^{**}*, *DMC1^{**}* et *RPA⁺*. Cette dernière se lie à l'ADN et le protège. Chaque borne de la région envahie constitue l'amorce d'une jonction de Holliday. Les bornes peuvent coulisser dans un sens ou dans l'autre, donc accroître ou diminuer la distance entre les jonctions. Cette migration est facilitée par la protéine *Rad54*. Les brèches apparues sur les brins raccourcis sont ensuite comblées par des enzymes de réparation, dont il est question ailleurs (*chapitre 2, section 2.4.1*). Un complexe appelé résolvas*, qui inclut notamment les protéines *Rad51C* et *XRCC3^{**}*, supprime les jonctions de Holliday en coupant deux brins de même polarité appartenant aux deux molécules. Si les quatre coupures affectent deux paires de brins différents, les deux molécules d'ADN se raccordent l'une à l'autre et la recombinaison devient effective (*fig. VI.A*). Mais si les mêmes brins sont coupés deux fois, la recombinaison échoue, parce que les molécules ne se raccordent pas. Toutefois, la séquence nucléotidique de la zone comprise entre les jonctions de Holliday peut être modifiée, du fait que la molécule coupée s'est réparée en copiant la séquence de l'autre molécule, qui n'était pas nécessairement identique. Ce phénomène est appelé conversion.

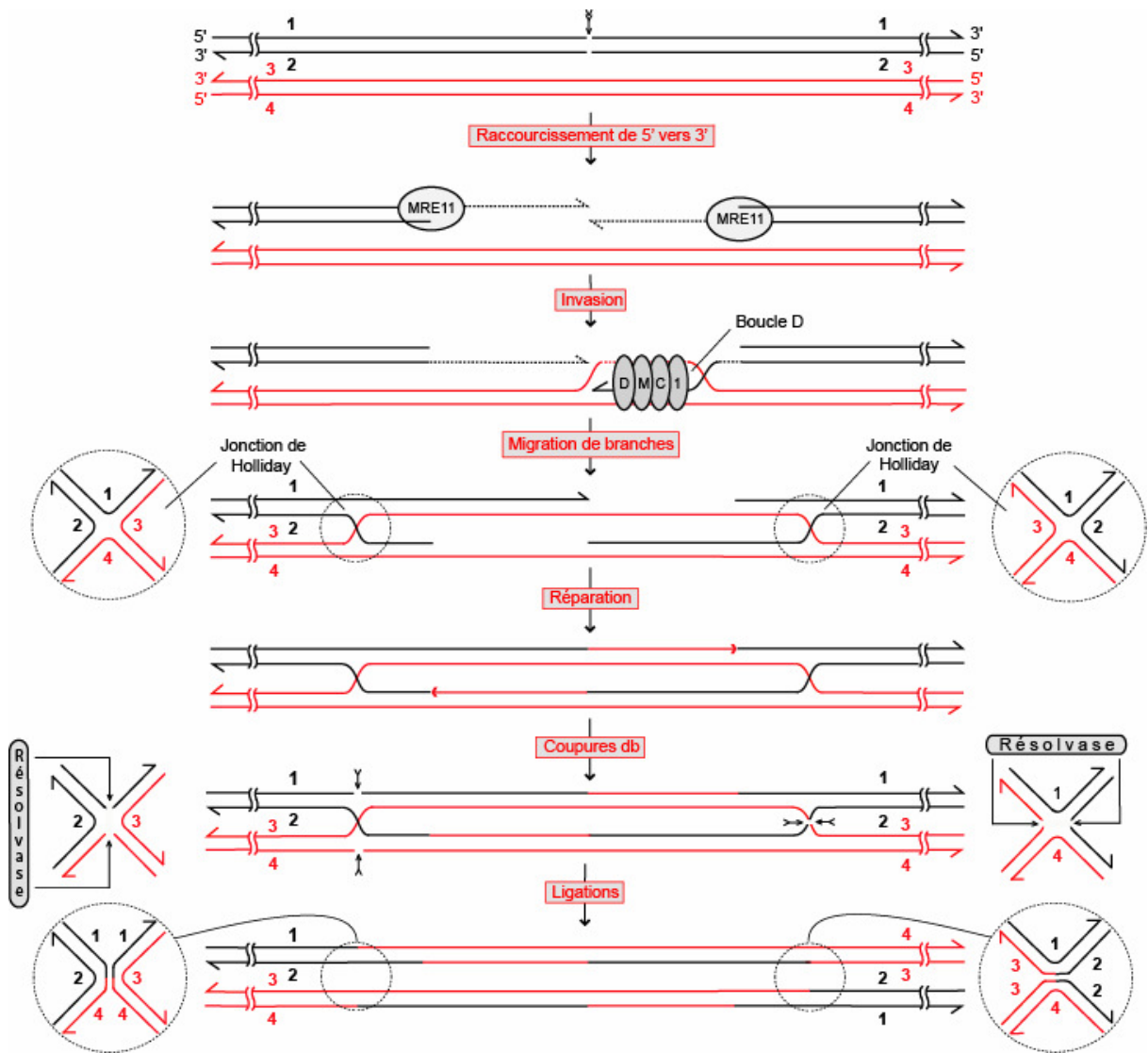


Fig. VI.A. Schéma simplifié de la recombinaison méiotique.

Le processus comporte de nombreuses étapes, franchies grâce à une série de protéines associées en complexes, dont trois (MRN, DMC1 et résolvasse) nous intéressent particulièrement, parce qu'ils jouent un rôle direct ou indirect dans les phénomènes de sénescence cellulaire. La recombinaison débute par une coupure db sur une des deux molécules (brins 1 et 2). Les brins se terminant en 5' sont raccourcis au niveau de la coupure par l'exonucléase MRE11, ce qui crée deux extrémités 3' saillantes. L'étape cruciale, facilitée notamment par la recombinase DMC1, conduit l'extrémité d'une molécule (2) à envahir l'autre molécule, pour édifier une structure à trois brins, appelée boucle de déplacement, ou boucle D. Celle-ci peut s'agrandir, par un phénomène appelé migration de branches, et former deux structures à quatre brins, que l'on appelle jonctions de Holliday, représentées ici sous deux aspects différents (croisés et décroisés). Chacune des molécules rétablit sa continuité en recopiant la séquence des brins restés intacts de l'autre molécule. L'étape suivante fait intervenir un complexe de protéines, dénommé résolvasse, qui résout les jonctions de Holliday en les coupant suivant deux orientations différentes. Les quatre coupures ainsi introduites sont finalement refermées par une ADN ligase**, si bien que le brin 1 se raccorde au brin 4 et le brin 2 au brin 3.

VI.B. LA RECOMBINAISON SOMATIQUE

La recombinaison n'est pas limitée aux cellules germinales. Elle peut également avoir lieu dans les cellules somatiques en interphase ou en mitose. Dans ce dernier cas, la recombinaison se traduit par un échange de matériel génétique entre chromatides sœurs. Elle peut être mise en évidence par des techniques de coloration particulières sur des chromosomes dont l'ADN a incorporé au cours de la phase de réplication préparatoire à la mitose des bases absorbant fortement les rayons UV.

La recombinaison somatique peut être préjudiciable. Pour conjurer les risques qu'elles encourent, les cellules eucaryotes réduisent par un facteur supérieur à 100 la fréquence des recombinaisons non méiotiques. Les hélicases* WRN** et BLM** pourraient jouer un rôle dans cette inhibition, en dissociant les structures recombinogènes (boucles D et jonctions de Holliday) et en favorisant la migration des branches (*fig. VI.A*).

La recombinaison tend à créer l'anarchie dans le génome des cellules somatiques. Elle peut notamment provoquer des délétions dans les chromosomes qui portent des répétitions directes, comme celles qui forment les organisateurs nucléolaires (*fig. VI.B*). La recombinaison peut être à l'origine d'autres remaniements chromosomiques, susceptibles de perturber le fonctionnement des cellules : amplification, inversion, translocation, perte d'hétérozygotie consécutive à l'élimination d'un allèle.

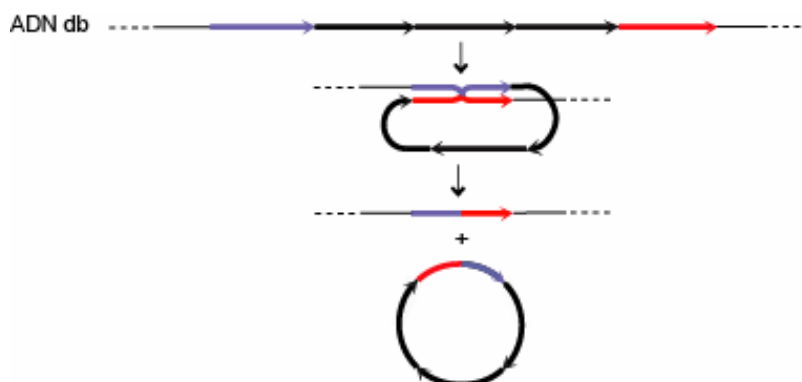


Fig. VI.B. Délétion causée par une recombinaison entre séquences d'ADN répétées.

Une recombinaison entre deux répétitions directes portées par l'ADN d'un même chromosome peut éliminer la région comprise entre les points de croisement, sous la forme d'une molécule circulaire.

Mais la recombinaison n'a pas que des inconvénients. Durant la phase G2 du cycle cellulaire, où les cellules contiennent deux copies de chaque molécule d'ADN (*annexe XII.A*), elle fournit un moyen de réparer les cassures db. La molécule intacte sert de modèle pour réparer la molécule endommagée, comme cela se produit au cours de la recombinaison méiotique (*fig. VI.A*). La recombinaison est également utile pour débloquer les fourches de réplication.

Les biologistes tirent profit de la recombinaison somatique pour invalider, c'est-à-dire rendre non fonctionnel tel ou tel gène, ce qui permet éventuellement de définir sa fonction (*annexe X*). La technique fonctionne bien chez la souris, parce que les cellules somatiques de cet animal ont un système de recombinaison assez efficace.

SIGNIFICATION DES SIGLES ET ACRONYMES

***RPA**. *Replication Protein A*.

***spo11**. *sporulation-deficient gene 11*.

BIBLIOGRAPHIE

Hion K. Homologous recombination. *Curr Biol* 2000; 10: R359-61.

Masson J-Y, West SC. The Rad51 and Dmc1 recombinases: non-identical twin relationship. *Trends Biochem Sci* 2001; **26**: 131-6.

Sauvageau S, Ploquin M, Masson J-Y. Exploring the multiple facets of the meiotic recombinase Dmc1. *BioEssays* 2004; **26**: 1151-5.