

ANNEXE VII LA RÉPARATION DE L'ADN

L'ADN subit sans arrêt des lésions que les cellules doivent réparer au plus vite, sous peine de mourir ou de ne plus maîtriser leur prolifération. On estime à 100 000 le nombre de lésions infligées chaque jour aux chromosomes d'une cellule humaine. Les lésions sont de nature très diverse : cassures sb** ou db**, pontage entre les brins ou entre bases contiguës d'un même brin, modifications ou élimination de bases, etc. Certaines modifications sont spontanées, comme celle qui transforme par désamination oxydative la cytosine (C) en uracile (U). Mais des agents endogènes ou exogènes peuvent accroître leur fréquence. Parmi les premiers, il faut citer certains dérivés de l'oxygène, qui apparaissent dans les mitochondries et détériorent les bases de l'ADN ou provoquent des cassures db. Parmi les agents externes, il faut mentionner les rayons γ , X et UV, de nombreuses molécules présentes dans l'air ou dans les aliments. Les rayons γ et X induisent surtout des cassures sb ou db, tandis que les UV font apparaître des ponts entre bases d'un même brin ou des bases anormales.

Toutes les cellules possèdent plusieurs systèmes de réparation. Nous ne nous intéresserons ici qu'à trois mécanismes réparateurs, qui ont un rapport avec diverses maladies héréditaires se traduisant par un vieillissement accéléré du soma. Le premier mécanisme referme les cassures db. Il fait intervenir plusieurs protéines qui participent à d'autres processus importants, et en particulier à l'entretien des télomères. Le deuxième mécanisme, appelé **BER⁺** remplace les bases endommagées, ainsi que les uraciles qui apparaissent spontanément dans l'ADN. Le troisième élimine les dimères* entre deux bases pyrimidiques contiguës d'un même brin. Ces divers mécanismes ne peuvent agir que si l'ADN devient accessible aux enzymes réparateurs. Il semble que la chromatine* se désorganise au niveau de la lésion parce que les histones* se détachent de l'ADN. Elles seraient ensuite remises en place grâce à l'action de facteurs d'assemblage.

VII.A. RÉPARATION DES CASSURES DB

Ce mécanisme est vital pour les cellules parce qu'une seule cassure dans un seul chromosome peut les tuer. Les eucaryotes disposent de deux moyens pour réparer ce type de lésion : la recombinaison homologue (*annexe VI.B*) et le raboutage des extrémités, aussi appelé **NHEJ⁺**. Ce dernier système est utilisé de préférence par les cellules animales.

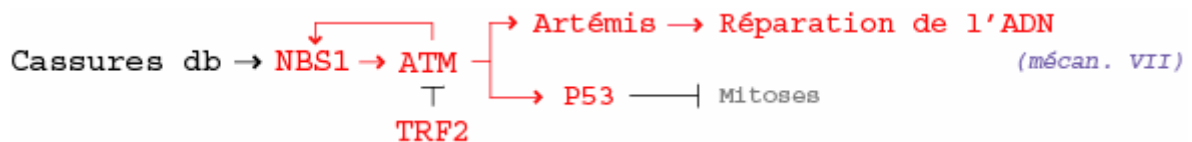
La recombinaison ne peut souder que des molécules d'ADN db présentant une homologie de séquence. Elle est assez lente à entrer en action. Elle a lieu pendant les phases S et G2 du cycle cellulaire, pendant lesquelles les cellules disposent d'une chromatide intacte qu'elles utilisent pour rétablir la continuité de l'autre.

Le système de raboutage des extrémités agit plus rapidement que la recombinaison et peut raccorder n'importe quelles molécules, mais il évite de réunir les extrémités des chromosomes, parce que celles-ci ont une organisation particulière. Contrairement à la recombinaison, le système agit pendant toutes les phases du cycle cellulaire.

VII.B. LE SYSTÈME DE RABOUTAGE DES EXTRÉMITÉS

Avant que la réparation proprement dite ne commence, plusieurs événements se produisent dans les chromosomes au niveau des cassures db. Le plus rapide se déclenche dans les secondes qui suivent l'apparition des cassures, provoquées par exemple en exposant les cellules à des radiations ionisantes (X ou γ). De nombreuses molécules, dont la protéine TRF2**, initialement connue pour son interaction avec les télomères (*chapitre 2, section 2.6.1*), se fixent sur les chromosomes dans le voisinage immédiat des cassures db. Mais la protéine se détache rapidement des zones lésées. Dans les minutes qui suivent, une vaste région, couvrant plusieurs Mb**, est phosphorylée au niveau d'une histone mineure de la chromatine* (H2AX). La région ou foyer qui inclut l'histone phosphorylée (γ -H2AX) pourrait faciliter la fixation de certains constituants du système de réparation, tels que le complexe MRN**.

Les lésions entraîneraient aussi un changement de conformation dans la sous-unité NBS1 du complexe MRN**, ce qui aurait comme conséquence d'activer la kinase ATM**. Mais ce processus est inhibé par la protéine TRF2. La kinase ATM a de nombreuses cibles, parmi lesquelles figurent notamment la protéine NBS1**, la nucléase Artémis* et la protéine P53**. En phosphorylant la sous-unité NBS1 du complexe MRN, la kinase renforcerait l'activité de celui-ci, ainsi que la sienne propre. La phosphorylation de la nucléase Artémis* pourrait favoriser le processus de fusion entre les molécules d'ADN, en faisant disparaître les extrémités détériorées. Celle de la protéine P53 empêche la cellule de se diviser, ce qui lui donne le temps de réparer les lésions qu'a subies son ADN (*annexe XIII.A et B*). Les interactions principales entre les agents qui amorcent le processus de réparation peuvent être schématisées comme suit :



La réparation proprement dite fait intervenir de nombreux acteurs, et notamment deux complexes enzymatiques (MRN et XRCC4-ADN ligase IV*), un dimère de protéines sans activité catalytique (Ku70-Ku80**) et une kinase (DNA-PK**). Les trois dernières protéines forment un complexe qui régule l'activité de la kinase. Tous ces éléments sont capables de se lier à l'ADN au niveau des cassures db (*fig. VII.A*). Le complexe MRN a comme fonction essentielle de rapprocher les extrémités brisées de l'ADN. Son rôle serait structural, plutôt que catalytique, car l'activité de la protéine NBS1 en tant que nucléase (*annexe VI.A*) n'est pas indispensable pour que la réparation de l'ADN ait lieu. Le complexe favoriserait la fixation au niveau des extrémités jointes de l'ADN du trimère Ku70-Ku80-DNA-PK, puis du complexe XRCC4-ADN ligase IV, qui raccorde les molécules brisées.

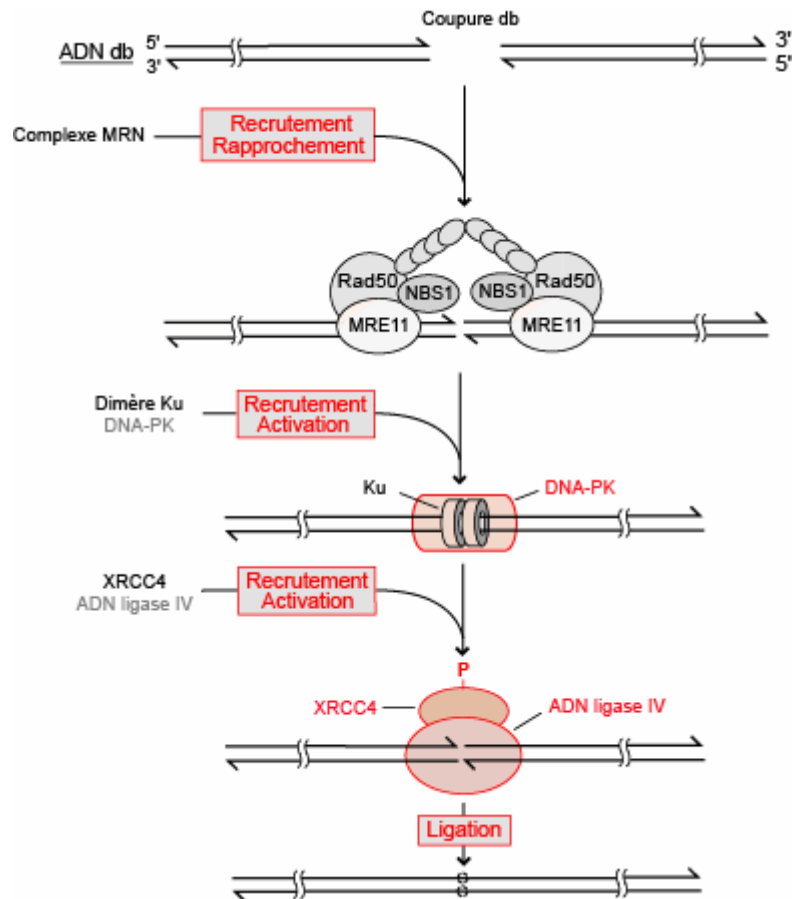


Fig. VII.A. Raboutage des extrémités libres de l'ADN.

La réparation des cassures db dans l'ADN mobilise en premier lieu le complexe MRN, qui comporte trois sous-unités (MRE11, Rad50 et NBS1). Deux protéines Rad50 se fixent aux extrémités libres de l'ADN. En se liant l'une à l'autre, elles créent un pont entre les extrémités et les rapprochent. Le complexe MRN favoriserait le recrutement au niveau de la jonction du dimère Ku70-Ku80, qui a la forme d'un anneau, ainsi que de la kinase DNA-PK. Les protéines Ku70, Ku80 et DNA-PK s'associent pour former un trimère, au sein duquel la kinase devient active. Celle-ci active à son tour en le phosphorylant le complexe XRCC4-ADN ligase IV, qui devient apte à catalyser la soudure entre les deux brins de chaque molécule d'ADN

VII.C. AUTRES ACTIVITÉS DES PROTÉINES PARTICIPANT À LA RÉPARATION

La plupart des éléments impliqués dans le processus de réparation participent également à l'entretien des télomères : le complexe MRN, le dimère Ku, les kinases DNA-PK** et ATM**, ainsi que la protéine TRF2. Le complexe MRN intervient aussi dans la recombinaison (*annexe VI.A*).

Les deux kinases contribuant à réparer l'ADN (DNA-PK et ATM) appartiennent à une famille de protéines de très grande taille, appelée PIKK⁺. Cette famille inclut aussi les kinases ATR** (*annexe XIII.A*), PI3K** (*annexe XXII.B*) et Tor** (*annexe XXII.E*). Ses membres contrôlent toutes sortes de processus (*tabl. VII*). En particulier, les kinases ATM et ATR empêchent les cellules de se diviser quand leur ADN a subi des lésions ou qu'elles sont soumises au stress que provoquent les dommages produits par divers agents, et notamment par les dérivés incomplètement réduits de l'oxygène (*mécan. VII*). La cellule répare les dégâts avant de recommencer à se diviser.

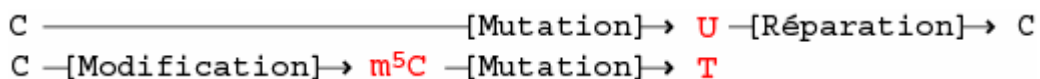
Tabl. VII. Quelques kinases de la famille PIKK

Nom	Propriétés	
	Nature de la cible	Processus contrôlé
DNA PK	Protéine	Réparation de l'ADN
ATM	Protéine	Réparation de l'ADN Prolifération cellulaire Entretien des télomères
ATR	Protéine	Prolifération cellulaire
PI3K	Lipide	Communication cellulaire
Tor	Protéine	Croissance cellulaire

VII.D. ÉLIMINATION DES BASES ANORMALES

L'uracile (U) n'est pas un constituant normal de l'ADN. Son équivalent est la thymine (T), qui se différencie par le fait qu'elle porte un groupement méthyle (-CH₃). Toutes les cellules considèrent l'uracile comme un élément étranger à leur ADN et le remplacent par la thymine, ce qui restaure l'intégrité du message génétique. L'uracile est d'abord détaché du reste du nucléotide. Une endonucléase coupe l'ADN du côté 5' par rapport au nucléotide amputé. L'ADN polymérase β* enlève celui-ci grâce à son activité d'exonucléase* 5' → 3' et le remplace par un désoxycytidylate. La coupure sb qui subsiste est finalement refermée par l'ADN ligase I*. Ce système de réparation élimine aussi les bases endommagées, en particulier par les radicaux* oxydants, telles que la 8-oxoguanine.

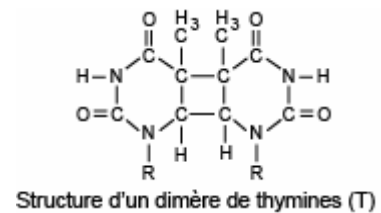
Chez les mammifères, certaines cytosines sont modifiées en 5-méthylcytosines (m⁵C). Cette modification, dite épigénétique, a lieu chaque fois que l'ADN a été répliqué. Elle ne concerne que les cytosines situées en position 5' par rapport à une guanine, donc incluses dans de courts palindromes CG/CG. Comme la cytosine, la 5-méthylcytosine est une base fragile. Elle se convertit spontanément en thymine, qui n'est pas reconnue comme un élément étranger par le système de réparation de l'ADN. Contrairement à la mutation C → U, la mutation m⁵C → T ne peut pas être corrigée :



De ce fait, les dinucléotides CG/CG ont tendance à se convertir spontanément en TG/CA. Cela explique pourquoi leur fréquence dans l'ADN des mammifères est largement inférieure à celle des 15 autres dinucléotides (AG/CT, TG/CA, GG/CC, AA/TT, TA/TA, etc.). Les dinucléotides CG/CG ne sont présents à la fréquence normale (± 6,25 %) que dans des régions particulières de l'ADN, appelés îlots CG. Ces îlots se trouvent à l'intérieur des gènes ou dans leur voisinage immédiat et jouent un rôle dans la régulation de leur activité. La fragilité de la cytosine incluse dans les palindromes CG/CG explique en partie la récurrence de la mutation C → T qui altère le gène *LMNA*** chez la plupart des malades souffrant du syndrome de Hutchinson-Gilford ([annexe XVIII.D](#)).

VII.E. ÉLIMINATION DES DIMÈRES PYRIMIDIQUES

L'exposition des cellules aux rayons UV entraîne l'établissement de liaisons covalentes entre bases pyrimidiques contiguës (T ou C) d'un même brin de l'ADN (*annexe VII.E*). Les noyaux cyclobutane ainsi formés déforment la double hélice, bloquant ainsi la réplication et la transcription de l'ADN. Ils doivent être éliminés rapidement, sous peine de conséquences très graves pour les cellules.



Une maladie héréditaire (la xérodermie pigmentée) est causée par une déficience dans un des systèmes servant à éliminer les dimères pyrimidiques. Ce syndrome se traduit par une sensibilité excessive aux rayons UV du soleil. Dès le plus jeune âge, les patients présentent des altérations de la peau, se traduisant d'abord par une pigmentation en taches, puis par l'apparition de tumeurs (mélanomes), qui évoluent rapidement en cancer généralisé. La xérodermie pigmentaire est due à une mutation récessive dans un des gènes dont les produits gouvernent le processus de réparation. Ces gènes sont au nombre de huit. Ils ont été identifiés grâce à des expériences de génétique somatique menées sur des cellules provenant de différents malades (*annexe XII*). Huit groupes de complémentation (XPA à XPG et XPV) ont été définis. Ils correspondent à autant de protéines qui participent aux étapes initiales du processus de réparation (*fig. VII.B*).

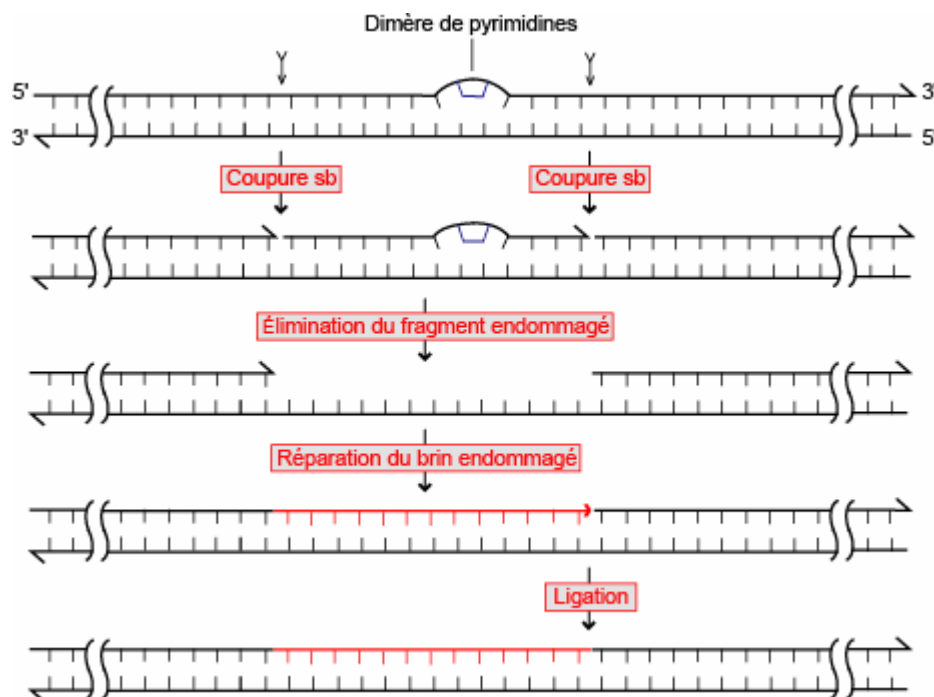


Fig. VII.B. Mode d'action du système XP.

Ce mécanisme de réparation comporte quatre étapes, dont les deux premières sont dirigées par les protéines XP : (1) création de deux coupures sb par deux endonucléases différentes, agissant de part et d'autre de la région déformée ; (2) élimination du fragment d'ADN incluant le dimère pyrimidique, grâce à deux hélicases qui déroulent la double hélice à ce niveau ; (3) comblement de la brèche ainsi ménagée par l'ADN polymérase β^* ; (4) fermeture de la coupure sb qui subsiste par l'ADN ligase I*.

Ce système présente une particularité intéressante : il élimine préférentiellement les dimères apparaissant sur le brin transcrit des gènes actifs, c'est-à-dire sur le brin antiparallèle par rapport à l'ARN. Une fois le brin réparé, la transcription redémarre, grâce à des complexes de protéines qui fonctionnent de manière défectueuse chez les malades souffrant du syndrome de Cockayne (*chapitre 2, section 2.8.9*).

SIGNIFICATION DES SIGLES ET ACRONYMES

***BER**. *Base Excision Repair*.

***NHEJ**. *Non Homologous End Joining*.

***PIKK**. *Phosphatidyl Inositol 3-Kinase-like Kinases*.

BIBLIOGRAPHIE

Abraham RT, Tibbets RS. Guiding ATM to broken DNA. *Science* 2005; **308**: 510-1.

Bird AP. CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature* 1986; **321**: 209-13.

Connelly JC, Leach DRF. Tethering on the brink: the evolutionary conserved Mre11-Rad50 complex. *Trends Biochem Sci* 2002; **27**: 410-8.

Doherty AJ, Jackson SP. How Ku makes end meet. *Curr Biol* 2001; **11**: R920-4.

Falck J, Coates J, Jackson SP. Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKs to sites of DNA damage. *Nature* 2005; **434**: 605-11.

Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nature Genet* 2001; **27**: 247-54.

Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, Franco S, Gostissa M, Alt FW. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell* 2005; **120**: 497-512.

Polo SE, Almouzni G. Dynamique de la chromatine lors de la réparation de l'ADN. *Med Sci* 2007 ; **23**: 29-31.

Riballo E, Kühne, Rief N, Doherty A *et al*. A pathway of double-strand break rejoining dependent upon ATM, Artemis, and proteins locating to γ -H2AX foci. *Mol Cell* 2004; **16**: 715-24.