

TD Biologie Moléculaire : Mutations et Réparation de l'ADN / Code génétique

La polymérisation de l'ADN s'effectue avec une extrême fidélité, moins d'une erreur pour 10^9 nucléotides ajoutés (1 sur 1 milliard). Cette fidélité est due non seulement à la spécificité d'appariement des Bases AT et GC mais aussi à la propriété de la correction d'épreuves de l'ADN polymérase III (au moment de la réplication), cette activité 3'-->5' exonucléase permet à l'enzyme d'éliminer tout nouveau nucléotide qui présenterait un mésappariement de bases.

Les mutations

Les mutations correspondent à des erreurs de copie des bases puriques ou pyrimidiques qui se produisent lors de la réplication de l'ADN. Ces mutations spontanées lors de la réplication sont très faibles grâce à l'activité de correction des ADN polymérases. Il existe cependant des agents qui vont augmenter le taux d'erreurs, appelés agents mutagènes.

Les différents types de mutations:

-Les mutations ponctuelles (des substitutions): Il s'agit du changement d'une base par une autre (point mutation)

.Transition: une base purique (ou pyrimidique) remplace une autre

.Transversion: une base purique remplace une base pyrimidique, ou inversement.

-Les mutations de grande ampleur : par insertion /délétion : délétion (des oublis), insertion (des ajouts)

Les agents mutagènes

Agents chimiques

Ces agents peuvent produire des modifications chimiques sur certaines bases (désamination de la cytosine en uracile $\text{NH}_2 \rightarrow \text{OH}$)

L'action de l'acide nitreux qui provoque la désamination de l'adénine, ce qui forme de l'hypoxantine (H) apparié avec la cytosine. La paire initiale A-T est donc remplacée par une paire H-C puis GC.

Les radicaux libres

Ions superoxydes (H_2O_2), radicaux hydroxides...

Oxyder G en oxo-guanine qui peut s'apparier avec A ou bien C.

G-C --> Oxo-G-C, après réplication : Oxo-G-A --> T-A

Agents intercalant

Ces composés peuvent se glisser entre les plans des bases de l'ADN et provoquer des délétions ou des insertions (Bromure d'ethidium, proflavine...)

Agents analogues de bases

5-bromo-uracile qui se comporte comme la T et s'apparie donc avec le A; mais l'équilibre de tautomerisation la transforme en forme énol, qui a la réplication suivante:

S'apparie avec G, puis elle-même avec C.

T-A --> C-G

Agents physiques

Les radiations (rayons X, UV qui sont absorbés par l'ADN, notamment au niveau des bases pyrimidiques)

Réparation

Réparation directe

Il existe des enzymes capables de reconnaître les bases modifiées, de retirer ces modifications et de revenir à des bases normales. La guanine peut être transformée en O⁶-methylguanine (par des agents alkylants) elle peut s'apparier par erreur avec la thymine. La réparation de cette méthylation s'effectue de manière directe (sans coupure de l'ADN) par O⁶-methylguanine méthyltransférase, qui transfère le groupement en question de la base vers un de ces acides aminés.

La photoréactivation: qui répare les dimères pyrimidiques produit par les radiations UV. L'ADN photolyase induite par la lumière visible répare les dimères pyrimidiques en cassant les liens qui se forment lors de la dimérisation.

Réparation par excision

La réparation des dimères pyrimidiques (dimères de thymine) peut s'effectuer par un système de réparation spécifique (nucleotide excision repair). L'enzyme UvrABC (chez *E. coli*) peut reconnaître la déformation de l'ADN provoquée par le dimère de thymine et coupe l'ADN en amont ou en aval de celui-ci. L'ADN polymérase comble l'espace manquant selon le modèle du brin parental. La ligase relie le fragment réparé et le reste de l'ADN.

Réparation des mésappariements (Mismatch Repair)

Ce système corrige les erreurs introduites durant la réplication de l'ADN et qui n'ont pas été corrigées par l'activité de l'ADN polymérase. La réparation de ce défaut nécessite la reconnaissance à la fois du brin parental et du brin néoformé. Chez *E. coli*, le brin parental est facilement identifié puisqu'il est marqué avec des adénines méthylées. Le brin naissant porteur de l'erreur est ainsi reconnu puis coupé et le fragment d'ADN incorrect est ensuite éliminé. Il est ensuite remplacé grâce à l'action combinée de plusieurs protéines (Mut H, Mut S, Mut L, SSB, exonulase I, ADN polymérase III et Ligase).

Réparation par recombinaison

Il arrive qu'au moment de la duplication de l'ADN la fourche de réplication rencontre sur un des brins matrice une lésion ancienne qui n'a pas pu être réparée (dimère de thymine...). L'information génétique est donc perdue puisque les deux brins parentaux sont déjà séparés. Chez *E. coli*, RecA est la protéine qui assure la réparation par recombinaison. Elle va utiliser la deuxième hélice d'ADN intacte pour reconstituer celle qui est lésée et combler la lacune sur le brin fils en face du dimère de thymine. Ceci crée donc une lacune située cette fois sur le brin parental de l'autre double hélice, mais qui possède un brin fils normal, à partir duquel une polymérase pourra combler la lacune. Sur l'autre double hélice, les systèmes d'excision-resynthèse pourront enlever le dimère de thymine et combler la lacune car le brin fils est redevenu normal.

Expression des gènes SOS (SOS repair)

L'arrêt de la réplication (quand les erreurs sont graves) provoque l'apparition d'ADN monocaténaire reconnu par l'enzyme de réparation RecA. Celle-ci opère en assurant des recombinaisons et en induisant l'autolyse du répresseur des gènes SOS, la protéine LexA. Cette enzyme induit ainsi l'expression des gènes SOS (recA, lexA, uvrA, uvrB, et d'autres gènes).

le code génétique

Les acides aminés sont codés par 64 triplets de bases appelés codons.

Codon = triplet de nucléotides (ex : AGC = Ser)

Chaque protéine est codée par un gène (ou plusieurs si la protéine est polymérique). L'unité de base des protéines est l'acide aminé. Chaque acide aminé est codé par un codon.

Propriétés du code génétique

➤ Dégénéré : Un acide aminé est codé par plusieurs codons

La plupart des acides aminés sont désignés par plus d'un codon (à l'exception de la méthionine et du tryptophane). La dégénérescence du code génétique aide à minimiser les effets des mutations. Le code d'initiation, qui code la méthionine, est AUG. Il y a trois codons stop : UAG, UGA et UAA.

Tableau 1 : le code génétique standard

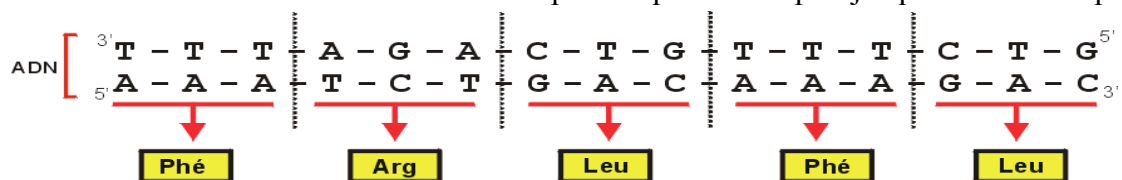
		Second nucleotide in codon													
First nucleotide in codon (5' end)	U	U			C			A			G			U	C
		UUU	Phe	F	UUU	Phe	F	UUU	Phe	F	UUU	Phe	F		
	C	UUC	Phe	F	UCC	Ser	S	UAC	Tyr	Y	UGC	Cys	C	A	G
		UUA	Leu	L	UCA	Ser	S	LAA	Termination		UGA	Termination			
		UUG	Leu	L	UCG	Ser	S	UAG	Termination		UGG	Trp	W		
	A	CUU	Leu	L	CCU	Pro	P	CAU	His	H	CGU	Arg	R	U	C
		CUC	Leu	L	CCC	Pro	P	CAC	His	H	CGC	Arg	R		
		CJA	Leu	L	CCA	Pro	P	CAA	Gln	Q	CGA	Arg	R		
	G	CUG	Leu	L	CCG	Pro	P	CAG	Gln	Q	CGG	Arg	R	U	C
		AJU	Ile	I	ACU	Thr	T	AAU	Asn	N	AGU	Ser	S		
		AJC	Ile	I	ACC	Thr	T	AAC	Asn	N	AGC	Ser	S		
	G	AJA	Ile	I	ACA	Thr	T	AAA	Lys	K	AGA	Arg	R	U	C
		AUG	Met	M	ACG	Thr	T	AAG	Lys	K	AGG	Arg	R		
		GUU	Val	V	GCU	Ala	A	CAU	Asp	D	GGU	Gly	G		
	G	GUC	Val	V	GCC	Ala	A	CAC	Asp	D	GGC	Gly	G	U	C
		GUA	Val	V	GCA	Ala	A	CAA	Glu	E	GGA	Gly	G		
		GUG	Val	V	GCG	Ala	A	CAG	Glu	E	GGG	Gly	G		

Codon

Three-letter and single-letter abbreviations

➤ Universel : Identique chez tous les êtres vivants (exception : ADN mitochondrial et certains organismes unicellulaires).

➤ Non chevauchant: Les codons sont lus en série depuis un point de départ jusqu'au codon stop



Phase de lecture

A partir d'une séquence quelconque, suivant la base choisie pour commencer un codon, il est possible de lire trois ensembles de codons. Chaque ensemble de codons est appelé une phase de lecture. C'est le codon d'initiation qui détermine la phase de lecture d'une séquence qui code une protéine. Les autres phases de lecture ont tendance à comporter des codons stop et elles ne sont pas utilisées. Une phase ouverte de lecture (Open Reading Frame : ORF) est une séquence de codons bornée par un codon start et un codon stop.

NB : Les mitochondries sont dotées d'un petit génome d'ADN qui contient environ 20 gènes pour lesquels on peut observer des déviations par rapport au code génétique standard.