

Chapitre 3: Altérations et mécanismes de réparation du génom**e** bactérien

La **mutation** est une modification héritable de la séquence du génome d'un organisme. Ces évènements modifient la séquence d'ADN et ainsi le phénotype de l'individu.

Additions ou délétions de bases

- Les additions et les délétions de bases correspondent respectivement, comme leurs noms l'indiquent, à des ajouts ou pertes de bases. Si l'addition ou la délétion de nucléotides n'est pas un multiple de 3, il y aura décalage du cadre de lecture (*frame-shift*). En effet si l'addition ou la délétion est un multiple de 3 il y aura addition ou délétion d'acides aminés au niveau de la protéine finale.
- Le décalage du cadre de lecture peut entraîner des séquences d'acides aminés totalement différentes et des apparitions de codons stop.

Substitutions de bases

- Les substitutions de bases peuvent être de deux types : transition ou transversion de base.
- La **transition** correspond au remplacement d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine. Ainsi une paire de bases A-T est remplacée par une paire de bases G-C.
- La **transversion** correspond au remplacement d'une purine par une pyrimidine ou d'une pyrimidine par une purine.
- Les mutations entraînant le changement d'acides aminés sont des **mutations faux-sens**. Lorsque la mutation n'entraîne pas de modification d'acides aminés, et ceci dû à la redondance du code génétique en position 3, on parle de **mutation silencieuse**. Lorsque la substitution entraîne l'apparition d'un codon stop (UAA, UGA et UAG), la mutation est une **mutation non-sens**.

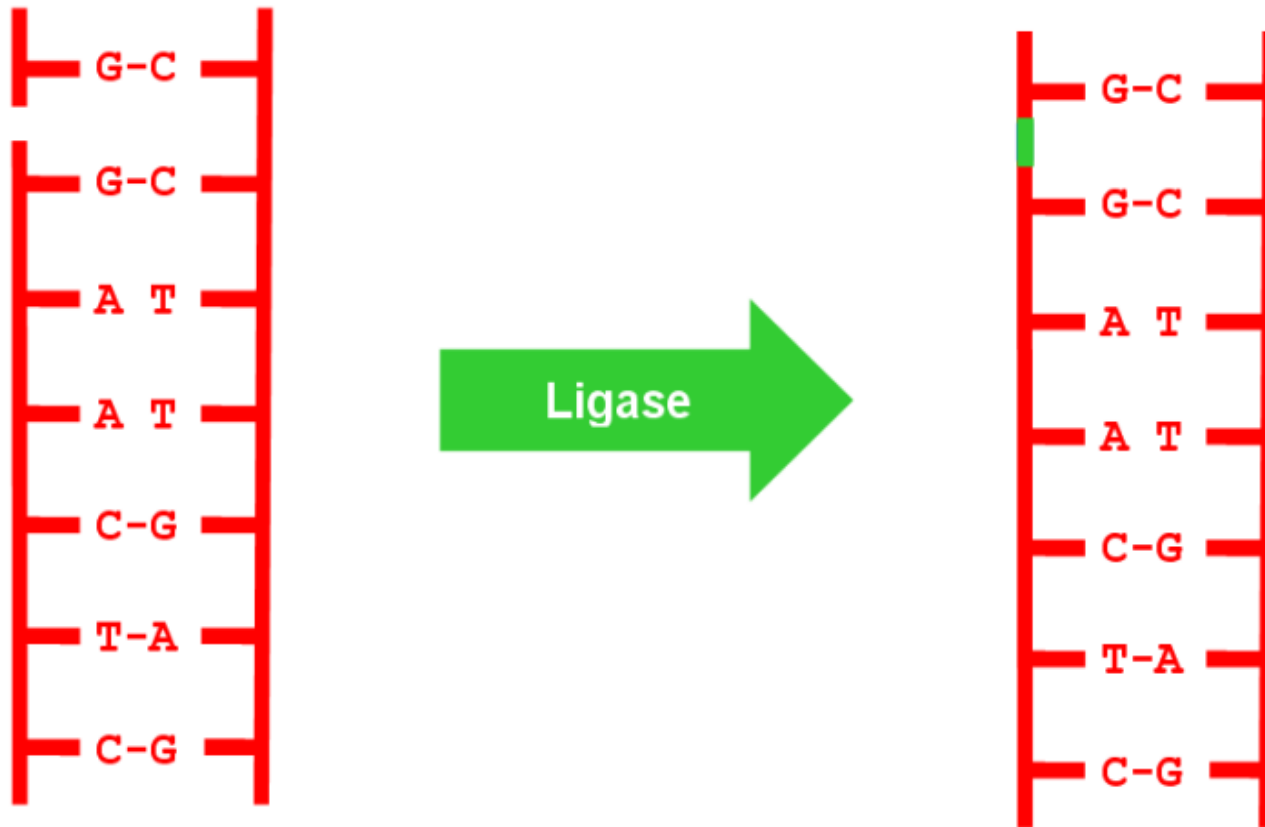
3.2. Mécanismes de réparation (E-Coli)

➤ a. Réparation par réversions des lésions

Ce type de réparation utilise très peu de protéines et restore immédiatement les liaisons.

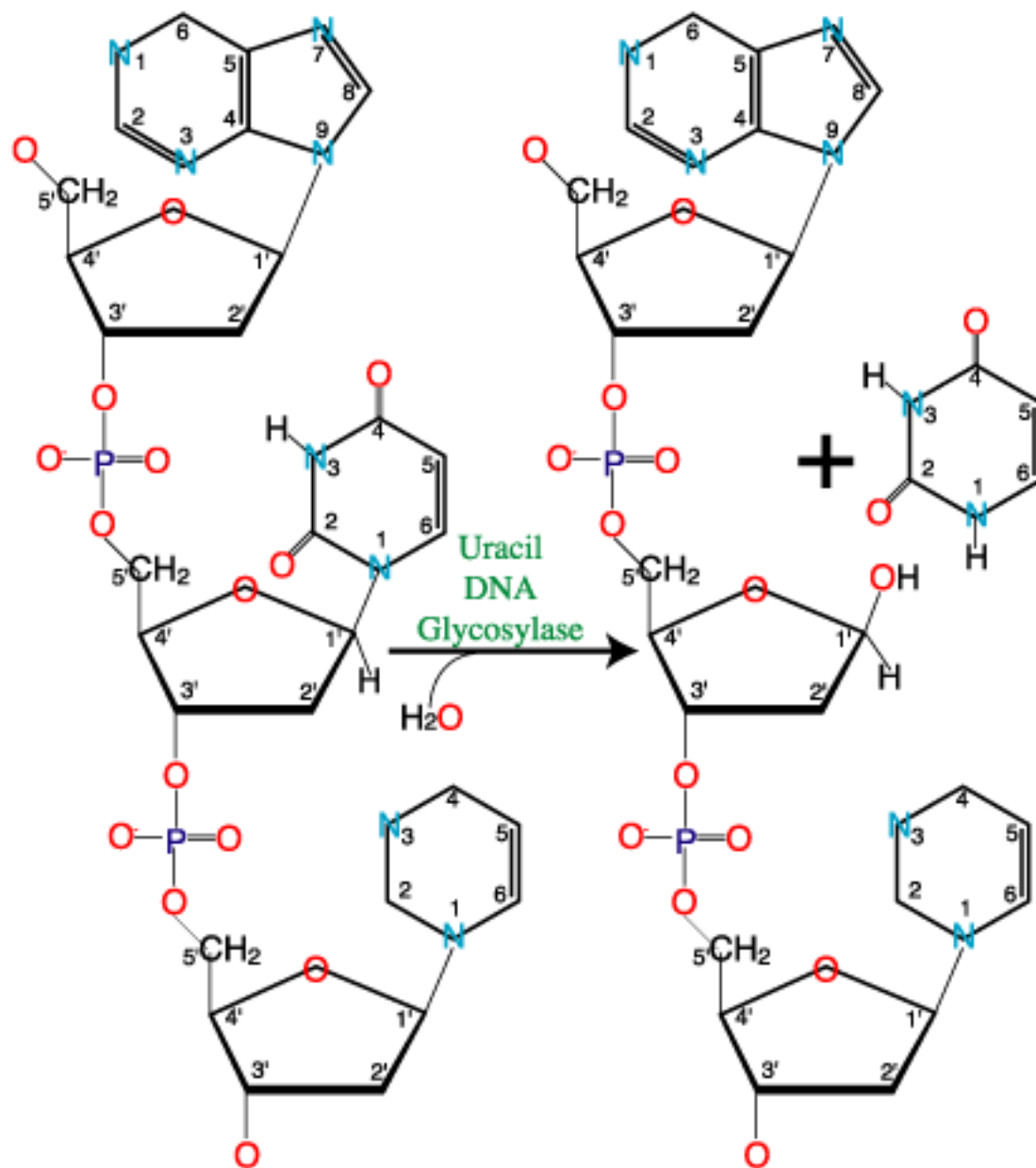
- **Photo-réactivation** : les photolyases sont des enzymes activées par l'énergie lumineuse et qui participent à la réparation de l'ADN par coupure des liaisons covalentes au niveau des dimères de thymine.
- **Réversion de dépurination par une purine insertase** : restore la liaison osidique, enzyme spécifique d'une base.

- **Réversion de coupure simple brin** : par une ADN ligase lorsqu'il n'y a pas de pertes de bases.



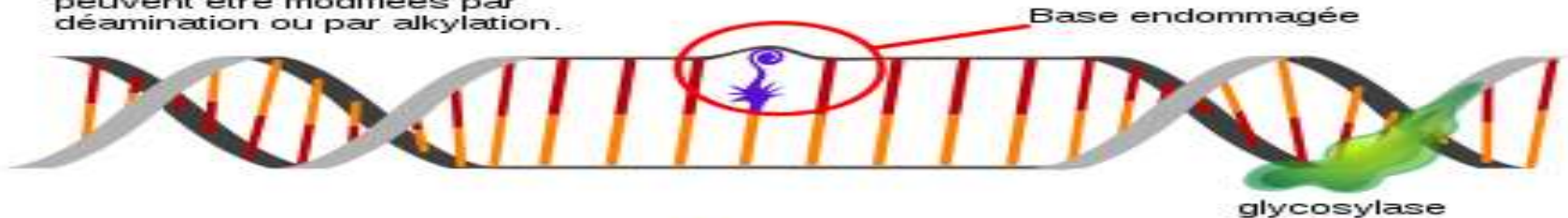
➤ B. Réparation par excision de base (système BER)

- Le mécanisme est impliqué dans les réparations de mutations endogènes jusqu'à 4 nucléotides. Le système BER permet l'élimination des bases anormales et la réparation du site AP.
- L'**ADN glycosylase** coupe la liaison N-glycosidique entre la base anormale et le désoxyribose, entraînant l'apparition d'un site AP. Il y a uniquement extraction de la base sans coupure de liaison phosphodiester. Il existe de nombreuses glycosylases dans la cellule, chacune reconnaît une (plusieurs) base(s) modifiées différentes.
- Une endonucléase 3'-5' coupe la liaison phosphodiester adjacente au site AP, l'ADN-polymérase I enlève le site AP et synthétise le morceau d'ADN manquant, puis l'ADN-ligase met en place la liaison Phosphodiester manquante.

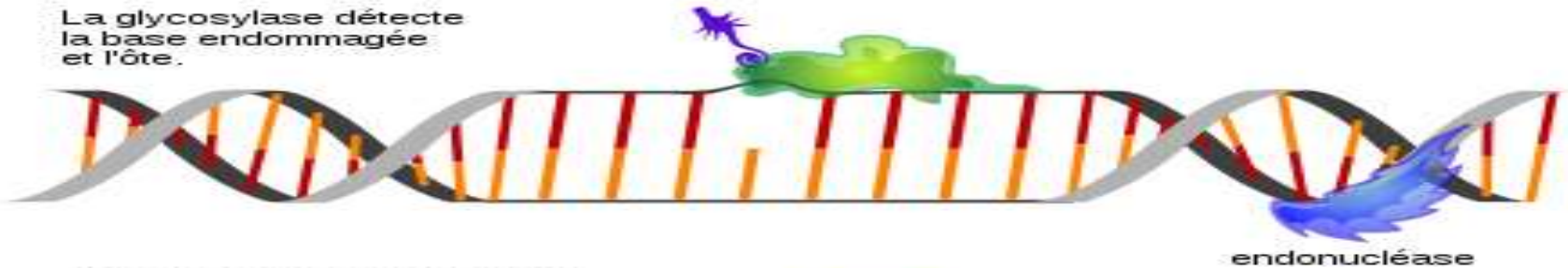


Base excision repair (BER)

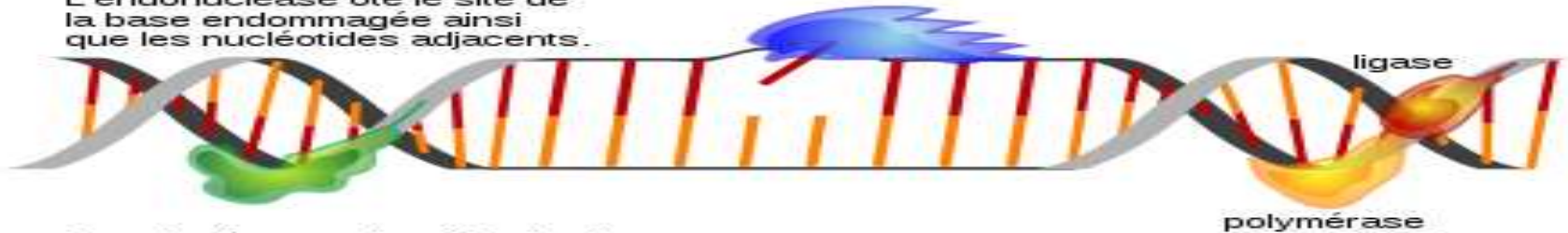
Les bases constituant l'ADN peuvent être modifiées par déamination ou par alkylation.



La glycosylase détecte la base endommagée et l'ôte.



L'endonucléase ôte le site de la base endommagée ainsi que les nucléotides adjacents.



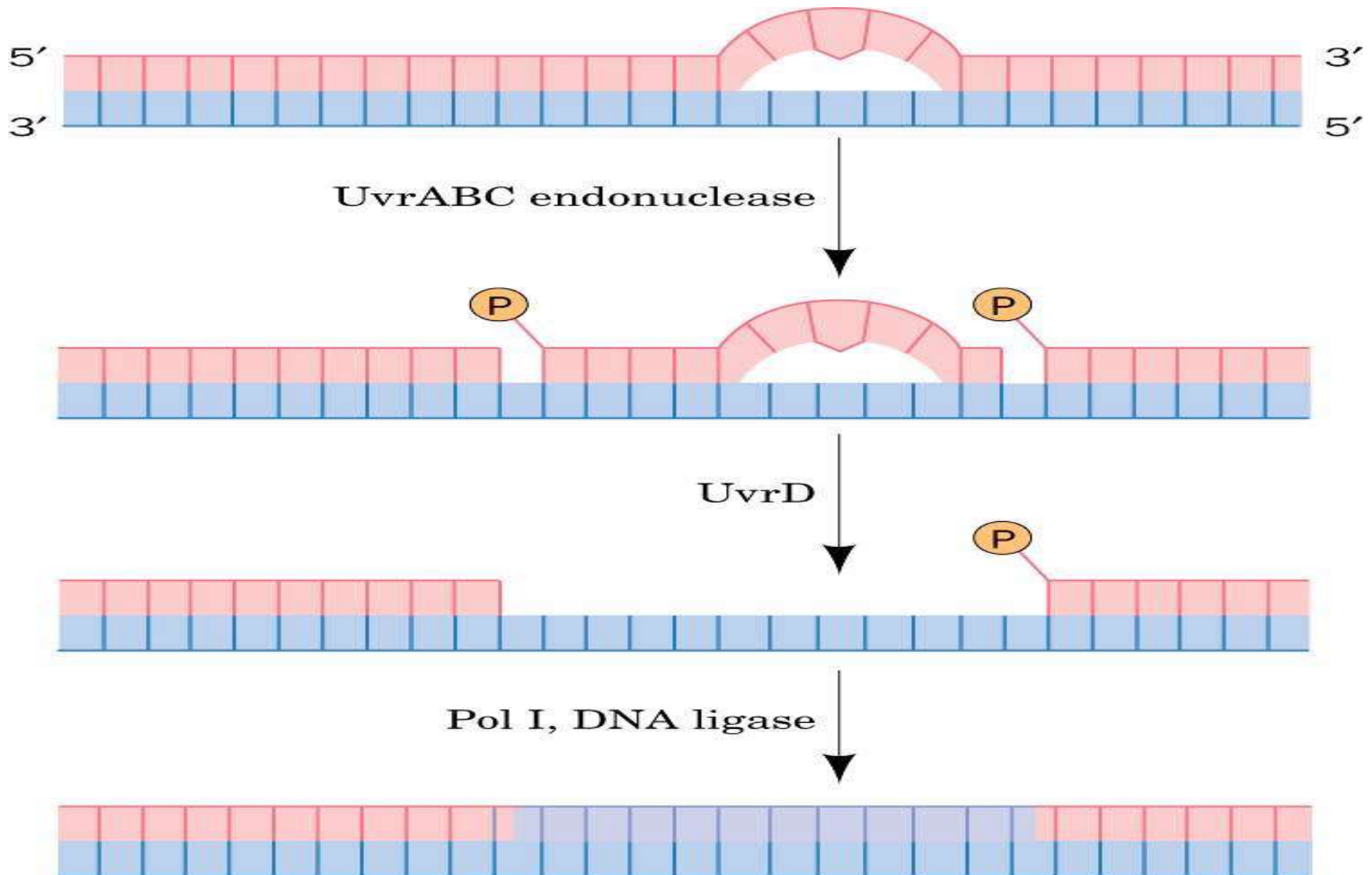
La polymérase polymérise les bases manquantes complémentaires de celles du brin opposé (en jaune). La ligase finit la réparation liant ces nouvelles bases à celle qui les suit.



➤ **C. Réparation par excision de nucléotides** **(système NER)**

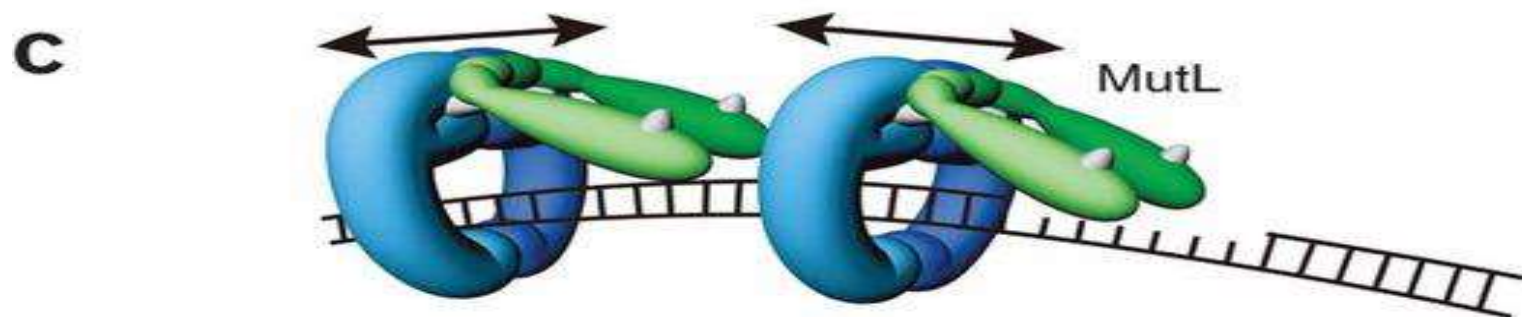
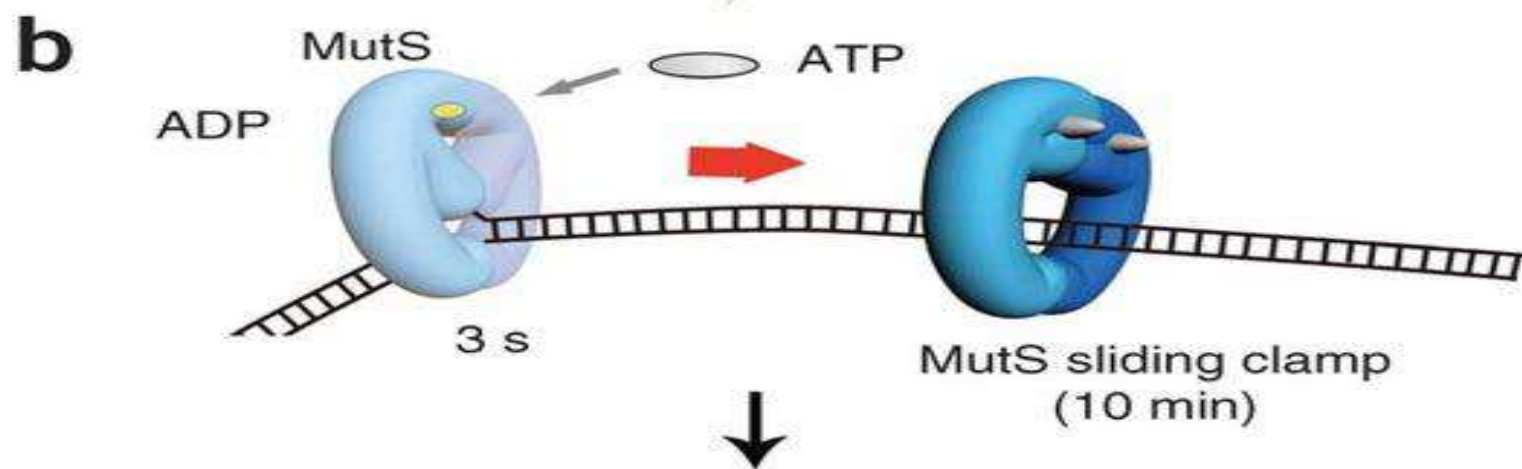
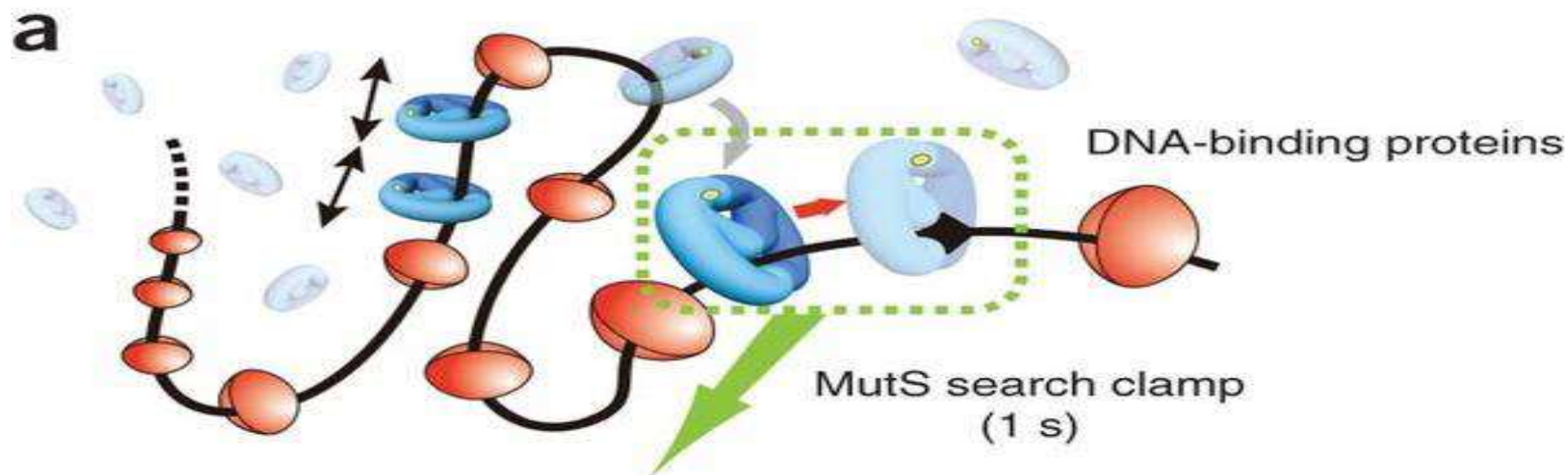
- Ce mécanisme permet la réparation de plusieurs nucléotides. Il prend également en compte une endonucléase 3'-5', l'ADN-polymérase I et l'ADN-ligase.
- Le système NER correspond au mécanisme de réparation par les UV (UVr). Le complexe UVr A, B, C, D reconnaît les distorsions de l'ADN.

Excision repair (NER)

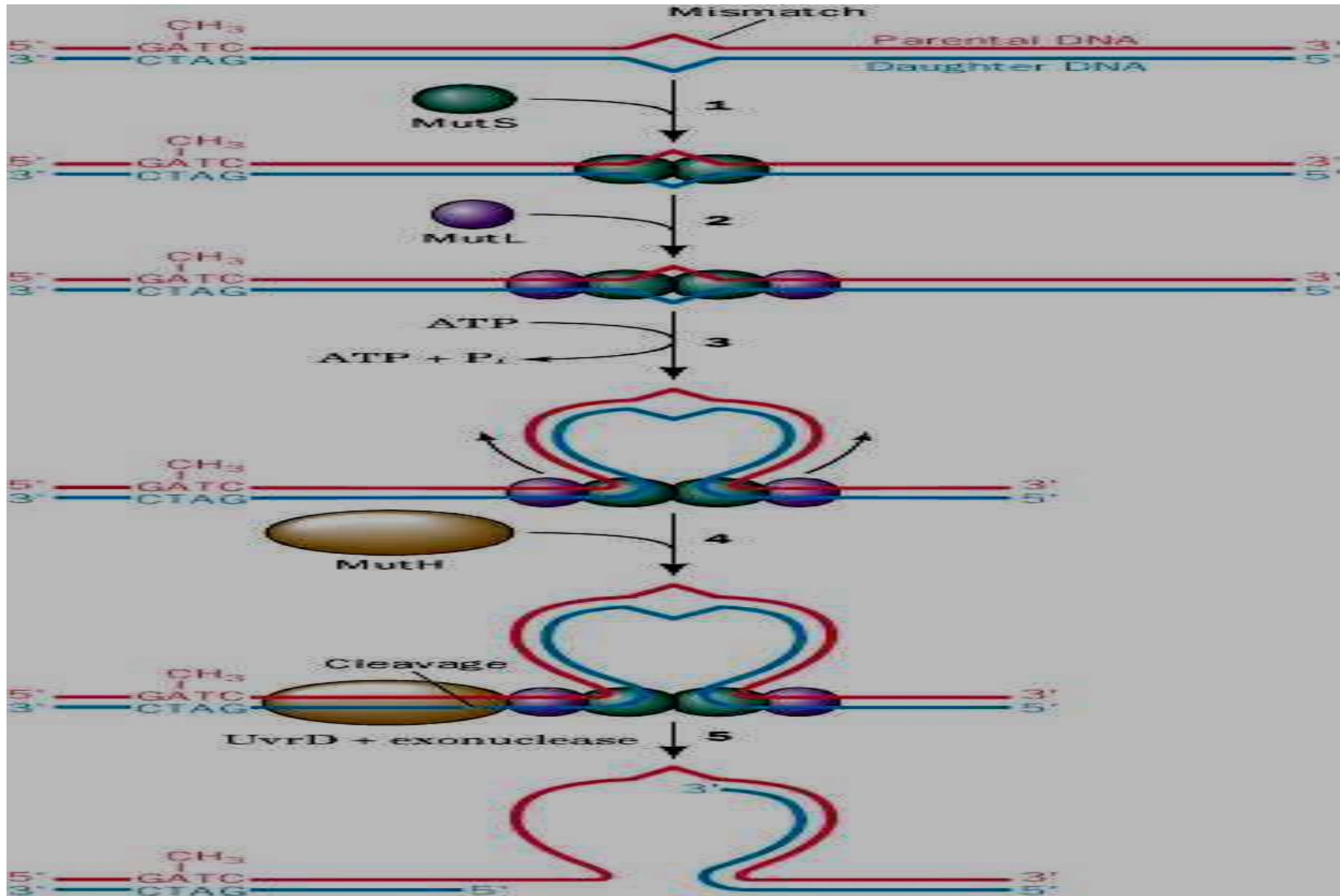


➤ Réparation de mésappariements par le système Mut HLS

- Ce mécanisme est post-réplicatif. Il permet la réparation des erreurs d'appariement entre les chaînes d'ADN après la réplication ainsi que les petites délétions ou additions. Le mécanisme Mut HLS nécessite la reconnaissance du brin néosynthétisé de l'ADN grâce aux méthylations des adénines du brin anciennement synthétisé de l'ADN, ceci permettant la distinction entre les deux brins. Une endonucléase rompt ensuite le brin néosynthétisé et la partie portant la lésion est éliminée.
- Mut S reconnaît le mésappariement, Mut L se lie et active Mut H et Mut H est une endonucléase qui coupe en aval de l'erreur du mésappariement. Il y a ensuite action d'une exonucléase et d'une Hélicase, puis de l'ADN-polymérase I et finalement de la ligase.



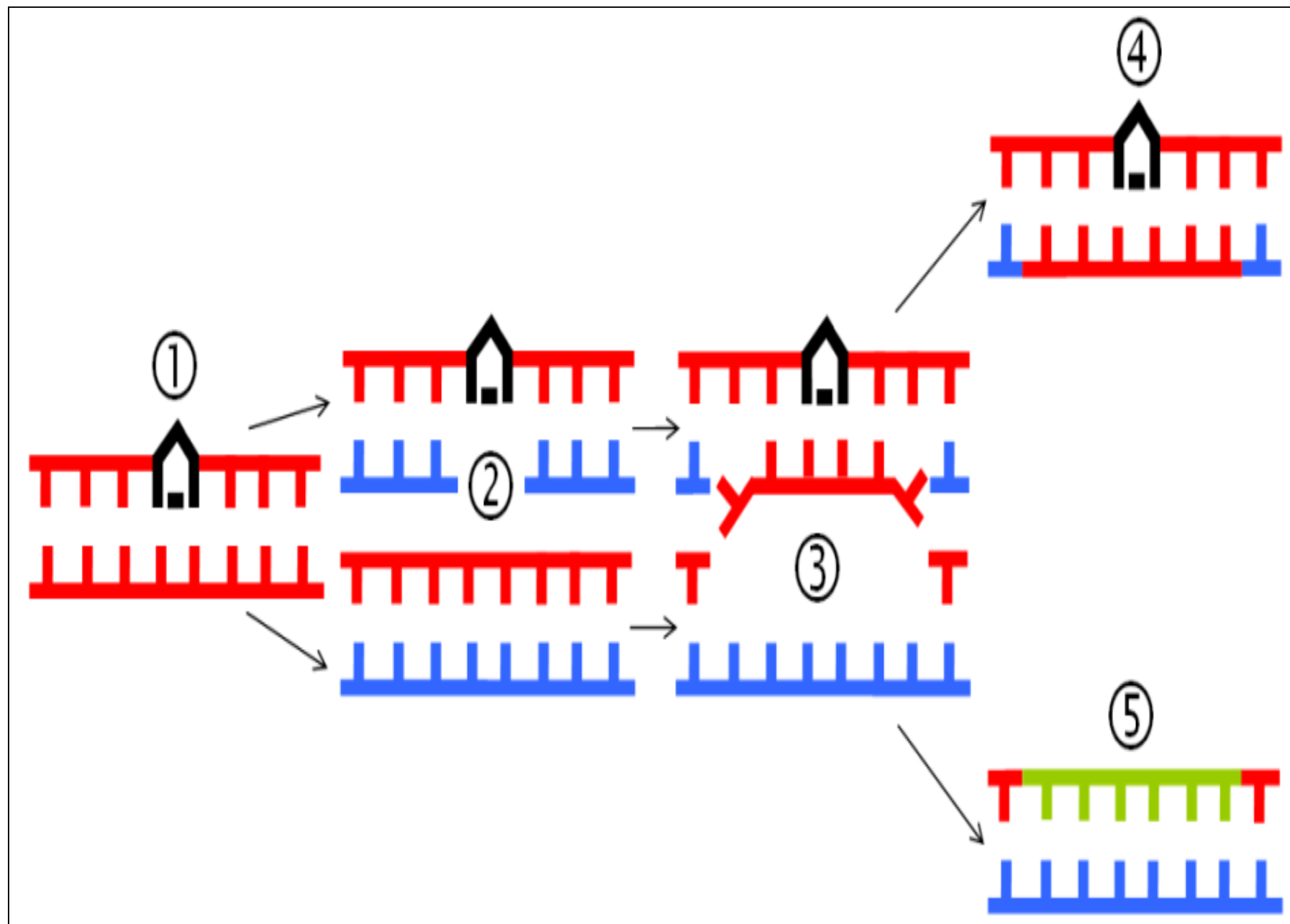
Mismatch repair (MMR)



➤ **D. Réparation par recombinaison**

Tout le système décrit jusqu'ici utilise pour la réparation l'information contenu sur le brin complémentaire. Il arrive cependant qu'au moment de la réplication, la polymérase rencontre sur un des brins matrice une lésion ancienne qui n'a pas été réparé (un dimère de T). Dans ce cas, l'information génétique utile pour l'information est absente puisque les deux brins parentaux sont déjà séparés, ce qui conduit au blocage de la réplication :

- après quelque seconde, il y a reprise de la réplication par un nouveau démarrage au delà de la lésion.
- Il y a alors recombinaison : un segment d'ADN issu du brin parental correctement répliqué est transféré en face de l'ADN simple brin formé (implication de la protéine RepA)
- Le segment contenant la lésion est éliminé par une endonucléase.
- La synthèse des fragments manquant est effectuée par l'ADN poll grâce aux matrices complémentaires
- Les fragments sont reliés par la ligase



➤ **D. Le système SOS**

Il est mis en œuvre chez les bactéries quand les dommages causés à l'ADN sont très importants. Il s'agit donc d'un système de survie d'urgence. Il est qualifié de mutagène car il permet des mutations imparfaites.

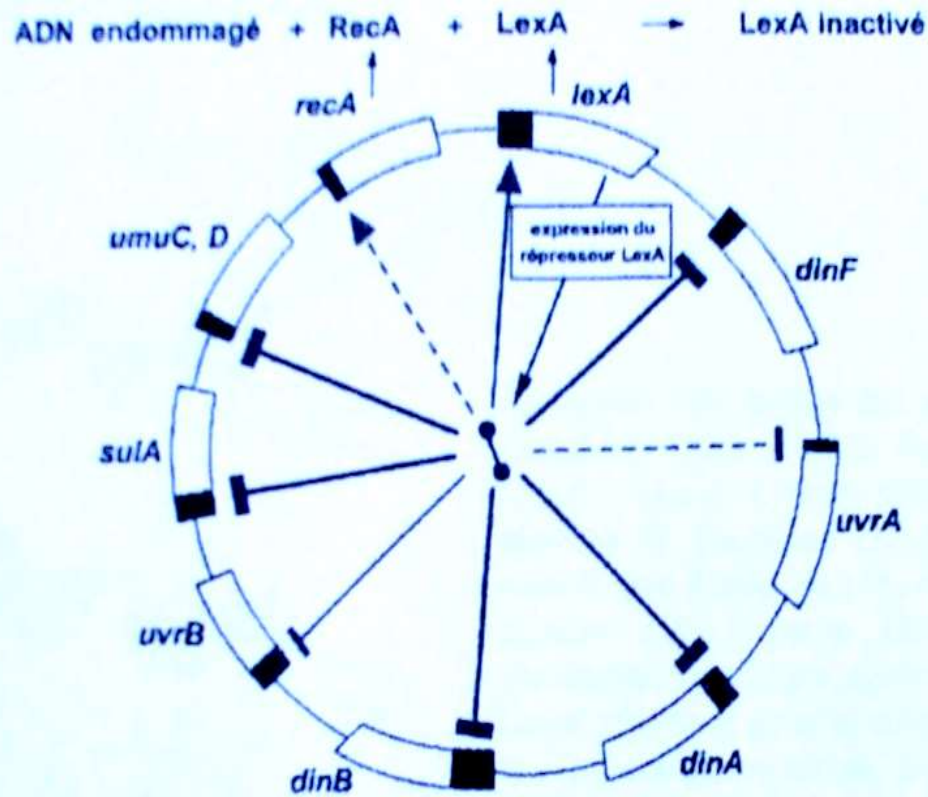
Déclenchement du système

Lorsque les lésions sont graves et nombreuses, la synthèse de l'ADN est stoppée, ce qui provoque l'apparition de zones monocaténaires. Ces zones sont reconnues par l'enzyme de réparation et recombinaison RecA qui agit :

- d'une part en assurant les événements de recombinaison
- d'autre part en hydrolysant par une activité protéolytique la protéine LexA, qui est un répresseur des gènes SOS.

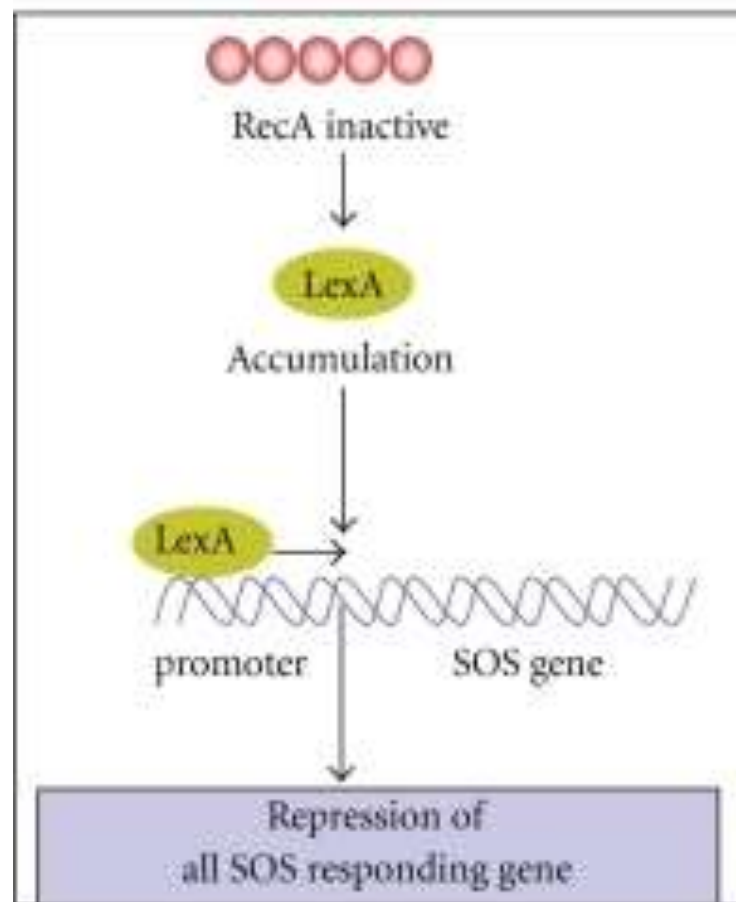
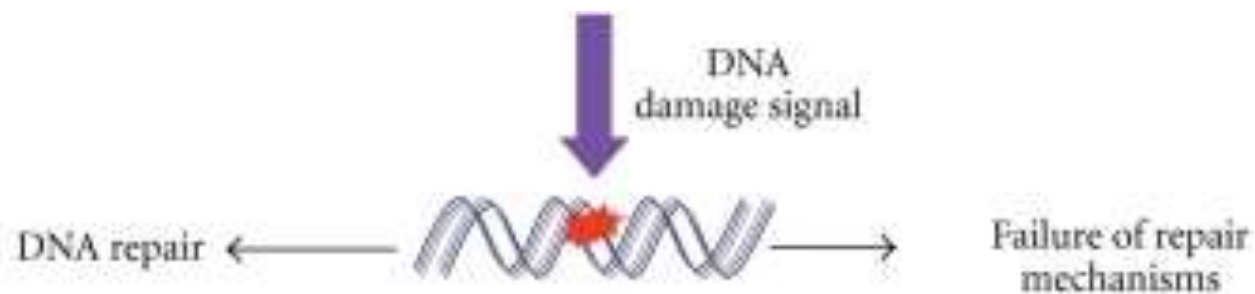
Cette enzyme induit donc l'expression d'une vingtaine de gènes impliquée dans la réparation de l'ADN.

Répression de l'expression des gènes SOS par LexA



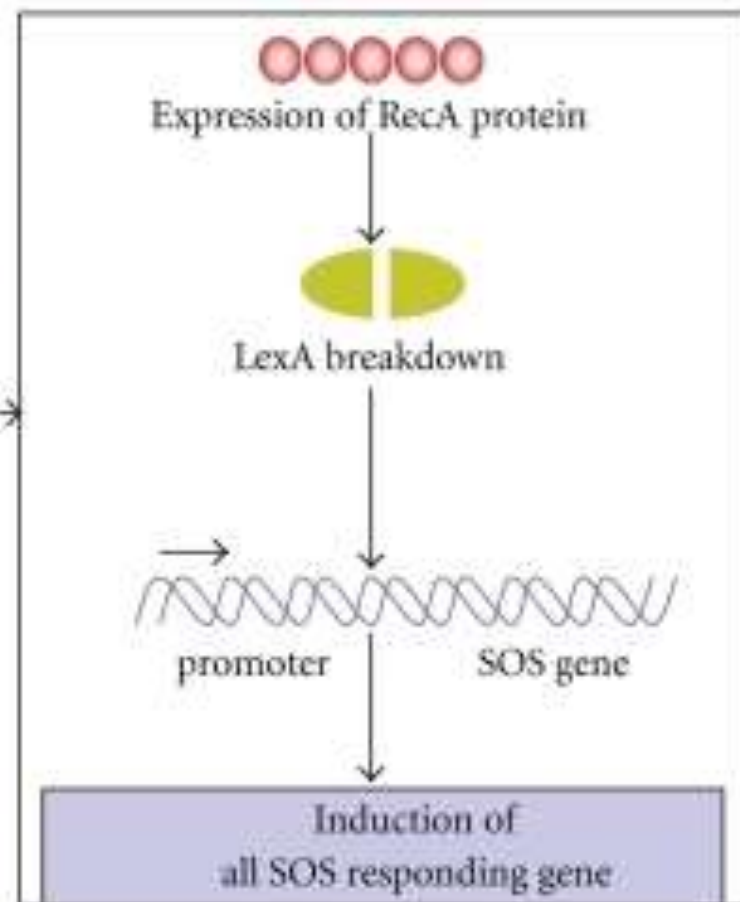
Dans des conditions optimales de croissance bactérienne, les gènes des systèmes réparateurs, dont les plus importants seulement sont représentés sur la figure, sont réprimés. Ils sont soumis à l'action répressive d'un régulateur commun, le répresseur LexA.

- Le système SOS fonctionne comme un système de type opérateur, on se trouve face à deux états, qui utilisent ou non les protéines **Rec A** qui sont les protéines clé de la recombinaison procaryote :
- Un **état non induit**, sans Rec A, durant lequel **Lex A** se lie aux opérateurs en réprimant la synthèse des protéines impliquées dans la réponse SOS de la cellule, les gènes ne sont donc pas exprimés.
- Un **état induit**, avec Rec A qui est toujours présent dans la cellule mais en petites quantités. Lors d'une altération les protéines Rec A activent leurs propres synthèses en clivant les protéines Lex A qui inhibaient jusqu'alors la transcription des gènes du système SOS dont celui de Rec A.
- Les différents gènes participant au système SOS forment un **régulon** qui est un groupe de gènes dont l'expression est contrôlée par une même protéine.



DNA Pol. V/IV

A vertical blue oval with a dotted border, containing the text 'DNA Pol. V/IV'. An arrow points from this oval towards the right-hand diagram.



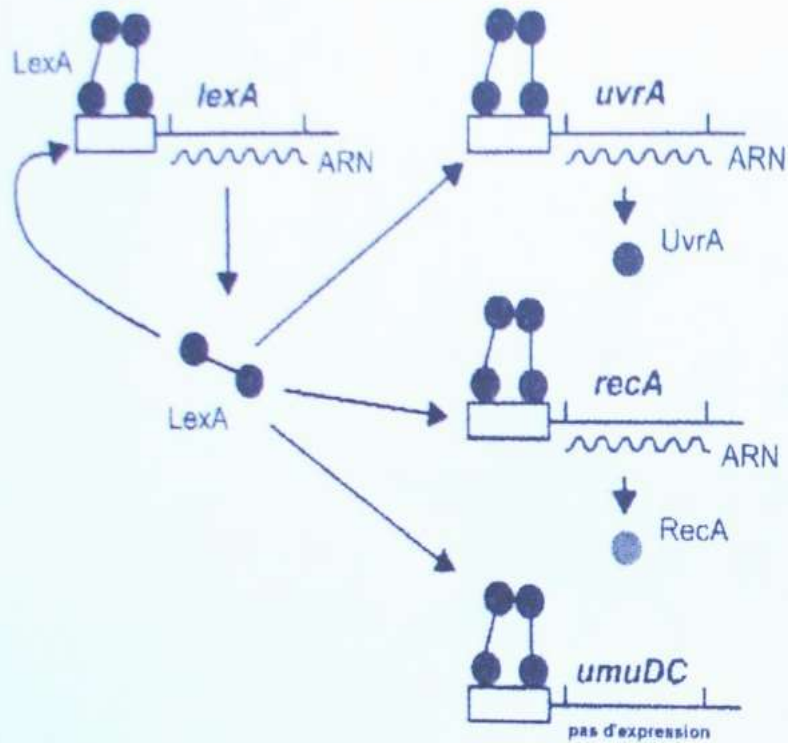
Mécanisme

Quand le système de réplication rencontre une zone non réparée, il est stoppé et redémarre plus loin. Une portion d'ADN simple brin se forme, ce qui recrute la protéine RecA, qui se dispose en hélice autour de la portion simple brin. Le répresseur LexA s'attache au complexe RecA-ADN simple brin, et est clivé. Le clivage entraîne son inactivation et crée un signal SOS, permettant l'expression d'une vingtaine de gènes.

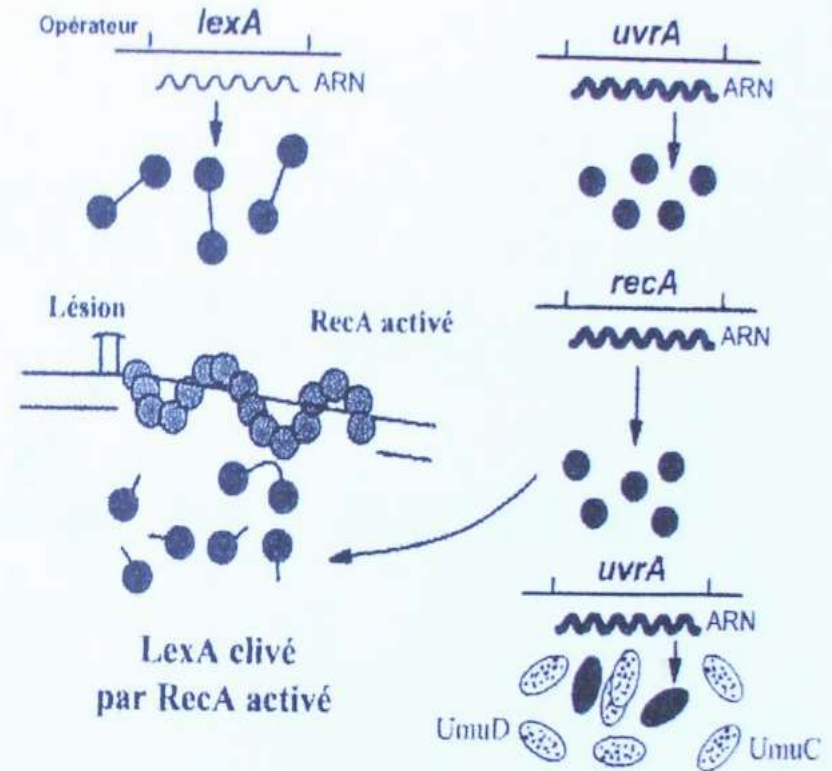
On observe entre autre :

- l'activation du gène UvrA, impliqué dans les mécanismes de réparation par excision
- la synthèse en grande quantité de RecA (induit sa propre expression)
- la synthèse des gènes UmuD et UmuC qui jouent un rôle important dans la mutagénèse SOS.

induction du système SOS par RecA



Situation physiologique : LexA , RecA et UvrA sont exprimées normalement à un faible niveau. La quantité de LexA disponible est suffisante pour réprimer complètement les autres gènes SOS.



Induction du système SOS : quand l'ADN est endommagé (rupture par les UV par exemple), la protéine RecA, en association avec de l'ADN simple brin, détruit le répresseur LexA. Cela permet la forte expression de *recA* et des autres gènes SOS, dont les produits sont nécessaires à la réparation de l'ADN.