**Module :** Toxicogénétique L3 Biologie moléculaire

**Corrigé type**

/ Le mécanisme moléculaire de réparation des cassures d’ADN double brins par la recombinaison homologue :

Les cassures doubles chaines sont prises en charge par le complexe ‘MRE11/RAD50/NBS’ qui agit en tant qu’effecteur de la recombinaison réalisant la résection des extrémités des cassures doubles brins à l’aide de son activité. Les cassures sont ensuite maturées afin de générer les extrémités d’ADN simple brin qui initient les évènements de recombinaison. Les protéines ‘Rad52’ et ‘RPA’ se fixent sur les extrémités pour faciliter le recrutement de la protéine ‘RAD51’ en éliminant les structures secondaires de l’ADN. Une extrémité 3’ de la molécule lésée envahit la molécule duplexe homologue et s’apparie au brin matrice. La protéine RAD51 peut alors se fixer sur les extrémités d’ADN simples brins ainsi générés. Par la suite le processus synaptique se déroule en plusieurs étapes :

(i) recherche d’homologie entre l’ADN simple brin et le duplexe

(ii) l’appariement entre l’extrémité simple brin envahissante et le duplexe de l’ADN

(iii) l’échange de brins qui initie la formation de l’hétéroduplexe.

Sous le contrôle de BRCA1 et BRCA2, RAD51 recherche la séquence correspondante sur le chromosome homologue pour ensuite envahir l’autre brin. Cette invasion de brins est facilitée par la protéine Rad54 qui forme des enroulements négatifs au niveau du duplex qui facilite l’accès et l’invasion de brins. Pour aboutir à un échange de brins complet, l’hétéro-duplexe formé est étendu.

/ Le mécanisme moléculaire de réparation des cassures d’ADN double brins par la recombinaison non homologue :

L’hétérodimère ‘Ku70/80’ fixe les extrémités d’ADN double brin au niveau de la cassure. Ensuite, le complexe DNA-pkcs est recrutée et interagit avec l’ADN fixé à Ku pour former le complexe DNA-PK; Deux protéines DNA-PKcs, de part et d’autre de la cassure, en association avec Ku, assurent le maintien des extrémités dans une configuration permettant la maturation puis la ligation des extrémités d’ADN. Une fois activée, DNA-PKcs phosphoryle XRCC4 stimulant l’activité de ligation de XRCC4/Ligase IV. Le complexe XRCC4/Ligase IV associé à la protéine XLF assure l’alignement des deux extrémités d’ADN indispensable à la poursuite de la réaction. Les extrémités sont susceptibles d’être modifiées quelques peu (remplissage par des polymérases des extrémités) pour poursuivre les étapes de ligation.

/ La photo-réactivation

Il est à la fois le plus simple et sans doute le plus ancien des systèmes de réparation. Une simple enzyme peut dissocier la dimérisation (en cassant les liaisons covalentes) en présence de lumière.

L'enzyme est une photolyase ; elle est présente et fonctionnelle chez les procaryotes. Elle est également présente chez de nombreux eucaryotes, comme les levures, les plantes et la plupart des animaux. Elle n'est pas présente chez les mammifères placentaires, et donc chez l'homme, mais existe en revanche chez les mammifères marsupiaux.

De nombreux eucaryotes évolués possèdent de plus une protéine homologue appelée cryptochrome, dépourvue d'activité de réparation de l'ADN, qui est impliquée dans des activités régulatrices photosensibles comme celle influençant les rythmes circadiens.

La photolyase est une enzyme qui répare certains des dommages causés dans l'ADN par les ultraviolets et en particulier les dimères de thymine ou plus généralement de pyrimidine. La protéine agit sous l'action d'une lumière bleue ou UV proche, qui excite un cofacteur : la flavine réduite. Celle-ci peut alors transférer un électron au dimère de pyrimidines, ce qui entraîne la scission de ce dimère et la réparation de l'ADN. Ce mécanisme très rapide est encore mal connu mais il implique deux photo-réactions bien distinctes :

- La photo-activation sert à mettre le cofacteur FAD de l’enzyme sous la forme doublement réduite (FADH-) à partir de la forme semi-réduite (FADH°, un radical qui est assez stable dans la photolyase). Cette réaction peut être déclenchée par la lumière visible (jusqu’à 680 nm) absorbée par FADH°.

- La photo-réparation a lieu lorsque l’enzyme se lie à l’ADN qui porte un CPD (Cyclo-butane Pyrimidine Dimère : Liaisons covalentes entre 2 pyrimidines : généré par UV).

Cette réaction nécessite l’excitation du FADH- par un photon bleu ou proche UV.