

# TD génotoxicologie

1.0



Dr Soraya Bendimerad

Maître Assistante Classe B

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

FACULTE SNV/STU

UNIVERSITE ABOU BAKER BELKAID TLEMCEN

TD GENOTOXICOLOGIE/L3 GENETIQUE

*sorayabenmokhtar@yahoo.fr*

# Table des matières



<b>Objectifs</b>	3
<b>I - chapitre 2. TD2 Altérations et Mécanismes de réparation de l'ADN</b>	4
1. INTRODUCTION .....	4
2. MÉCANISMES DE RÉPARATION DE L'ADN .....	5
2.1. Définition .....	5
2.2. 1. Correction immédiate : .....	5
2.3. 2. Réparation directe par retour à l'état antérieur .....	6
2.4. 3. Lésions de l'ADN par les UV et réparation NER (Nuclotide Excision Repair) .....	6
2.5. 4. Réparation de la désamination spontanée de la cytosine en uracile BER (Base Excision Repair) .....	7
2.6. 5. Réparation des Cassures double brin d'ADN DSB (double strand break) .....	7
2.7. 6. Le système SOS .....	8
<b>Abréviations</b>	9
<b>Bibliographie</b>	10

# Objectifs

- La génotoxicologie met en œuvre les interactions de l'ADN avec divers agents génotoxiques.
  - les lésions induites sur l'ADN.
    - les mécanismes de restaurations de l'intégrité du génome.
      - les notions de biosécurité au laboratoire



## 2. MÉCANISMES DE RÉPARATION DE L'ADN

### 2.1. Définition

#### Remarque

La correction de l'ADN se fait dans le sens 5'-3'

La signalisation des dommages de l'ADN\* aboutit à un arrêt transitoire du cycle cellulaire (checkpoint) afin de permettre la réparation avant les phases du cycle cellulaire.

Des défauts dans la signalisation et la réparation des dommages sont associés au développement d'instabilité génétique et de cancer montrant l'existence d'un réseau vigilant de surveillance des dommages de l'ADN.

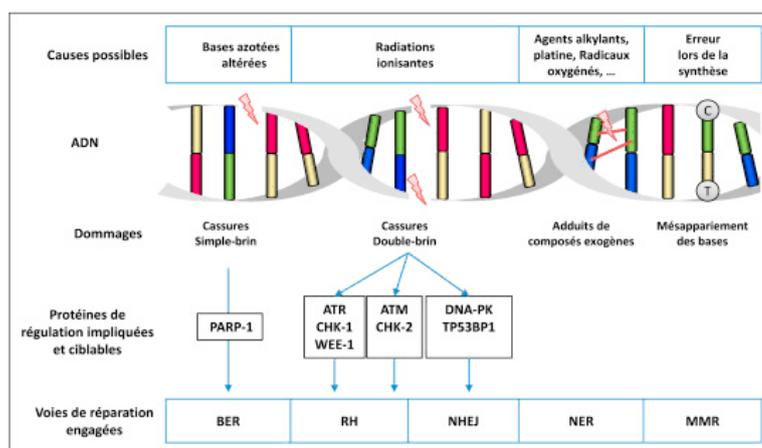


Figure 2. Mécanismes de réparation de l'ADN

### 2.2. 1. Correction immédiate :

1- La fonction exonucléasique de l'ADN\* polymérase, en cas de reconnaissance d'un mésappariement diminue le taux d'erreurs de 2 log (10<sup>5</sup> à 10<sup>7</sup>).

2- Le système MMR (Methyl Mismatch Repair) est un système de réparation permettant la correction d'un mésappariement oublié par la fonction d'édition. Grâce à ce système, on aboutit à un taux d'erreur de 1 pour 10<sup>9</sup> bases.

- Chez les procaryotes, le système de réparation repère la méthylation des adénines des séquences GATC et fait intervenir les enzymes MUT.

- Chez les eucaryotes, le système repère la méthylation des cytosines des séquences CG et fait intervenir les enzymes hMSH, hMLH, hPMS.

Ce système doit agir dans le laps de temps où la méthylation du brin fils n'est pas encore effectuée.

Pathologie liée à MMR\*

Dans certaines formes familiales du cancer du colon, comme le syndrome du cancer colique familial (syndrome de Lynch), il y a une inactivation ou altération de ce système au niveau génique.

Dans ces cancers héréditaires du colon, il y a une mutation constitutionnelle au niveau des gènes MSH1 et 2. C'est un syndrome à transmission autosomique dominant, qui aboutit à un défaut de réparation de l'ADN. Cela représente environ 4% des cancers colorectaux diagnostiqués.<sup>13\*</sup>

## 2.3. 2. Réparation directe par retour à l'état antérieur

### Remarque

---

Il n'existe pas de photolyase chez l'homme.

La photolyase n'existe que chez certains organismes : elle est présente chez les bactéries, ou chez certains eucaryotes inférieurs (ex : la drosophile, les végétaux...).

La réparation des dimères de thymine se fait par un système multi-enzymatique nécessitant UV endonucléase en premier.

Ce mécanisme est associé à des altérations spécifiques où l'objectif général est d'inverser le mécanisme qui a conduit à l'altération de l'ADN. Voici les deux exemples les plus courants

#### a. Mécanisme faisant intervenir la photolyase

- La photolyase permet de réparer la lésion induite par la lumière UV\* (les dimères de thymines ou photodimères). Activée, elle se lie aux dimères de thymine pour le scinder afin de faire disparaître la liaison et revenir à deux thymines adjacentes.

#### b. Mécanisme faisant intervenir les alkyltransférases

- Les alkyltransférases vont avoir pour rôle de réparer les liaisons induites par les agents alkylants.

La formation de la O<sup>6</sup>-méthylguanine est une mutation qui peut se transmettre. La réparation se fait grâce à l'enzyme O<sup>6</sup>-méthylguanine méthyltransférase. Elle se lie et transporte le groupement méthyle au niveau d'une guanine interne à cette enzyme, où est localisé le site actif de l'enzyme. On a donc un retour à la guanine, et une dégradation du groupement méthyle.

## 2.4. 3. Lésions de l'ADN par les UV et réparation NER (Nuclotide Excision Repair)

Ces lésions peuvent être excisées et réparées. L'exposition des bactéries et des cellules cutanées aux rayons UV peut induire 2 résidus pyrimidiques successifs formant une base dimérique liée par covalence. La réplication complète de l'ADN nécessite la réparation et le retrait du dimère. La réparation s'effectue via un complexe multi enzymatique :

- 1- Une UV endonucléase coupe le brin lésé à l'extrémité 5' du dimère thymine.
- 2- L'ADN polymérase III ajoute les bases correctes à l'extrémité 3' et repousse le dimère.
- 3- Excision du fragment déficient par une endonucléase
- 4- Soudure des fragments correctement appariés par une ADN ligase

Cependant, un déficit d'UV endonucléase entraîne une maladie rare qui est xeroderma pigmentosum. Dans ce cas la peau est extrêmement sensible à la lumière solaire et devient sèche et mince. Les cellules prolifèrent anarchiquement suscitant un cancer de la peau. 10\*

## 2.5. 4.Réparation de la désamination spontanée de la cytosine en uracile BER(Base Excision Repair)

L'ADN peut subir une altération provoqué par l'instabilité chimique d'une base, la cytosine dans les systèmes aqueux. Par hydrolyse de groupement aminé les résidus C se convertissent en résidus uracile qui normalement absents dans l'ADN. Lors de la réplication du brin contenant l'uracile il ne peut pas s'apparier avec la guanine. L'uracile aura plutôt tendance à s'apparié avec un résidu adénine. Quand le nouveau brin d'ADN contenant le A sera répliqué il donnera un nouveau duplex ADN fils qui contiendra une paire A-T au lieu de G-C fournit par l'ADN parental non lésé.<sup>11\*</sup>

La réparation de ce type de lésion fait intervenir :

- 1-L'uracile DNA glycosidase retire par hydrolyse la base uracile du brin endommagé.
- 2-Le résidu désoxyribose phosphate restant est coupé par une endonuclease.
- 3- L'ADN polymérase III corrige en insérant l'unité cytosine phosphate correcte.
- 5- L'ADN ligase soude par covalence les fragments d'ADN.

### Réparation par excision de base (BER)

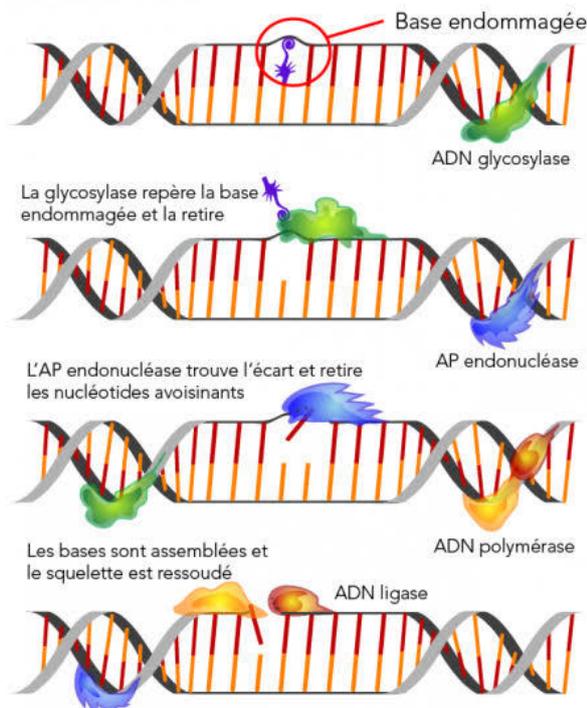


Figure 3. Réparation BER

## 2.6. 5.Réparation des Cassures double brin d'ADN DSB (double standard break)

Au cours de la duplication, l'arrêt prolongé des fourches de réplication conduit à la formation des cassures double brin de l'ADN.

Les cassures doubles brin peuvent être également utilisées par la cellule pour générer la variabilité génétique, permettant ainsi lors de la méiose la ségrégation réductionnelle des chromosomes et le brassage des allèles.<sup>3\*</sup>

Deux grands mécanismes entrent en compétition pour la réparation des cassures double brin :

1- La recombinaison homologue

Résection : un complexe protéique élimine à l'extrémité de la cassure quelques dizaines de nucléotides

2- Ligature des extrémités non homologues alternatives

-Une sur-expression d'oncogène telle que la kinase AKT ou le facteur antiapoptotique Bcl-2 conduit à une séquestration cytoplasmique de la protéine BRCA1 aboutissant à un défaut de la réparation des cassures double brin.

## 2.7. 6. Le système SOS

Cf. "réparation DSB"

C'est le dernier système pour tenter de réparer les dommages de l'ADN . Il se met en place lorsque les dommages dans l'ADN sont trop importants et les systèmes de recombinaison sont débordés. C'est un système de réparation par recombinaison homologue, sauf qu'il est inductible. Il active la deuxième fonction de la protéine REC A : son activité protéolytique. Cette activité aboutit à la dégradation de son propre répresseur LEX A. Il y a alors synthèse de protéines REC A et d'une vingtaine d'autres protéines issues des gènes SOS.

# Abréviations

**ADN** : Acide Desoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribo nucleique

**BER** : Base Excision REPAIR

**Cs** : Concentration seuil

**DL50** : Dose Létale 50

**DSB** : Double Standard Break

**LOEL** : Low Observed Effect Létal

**MMR** : Methyl Mismatch Repair

**NER** : Nucleotid Excision Repair

**NOEL** : Non Observed Effect Létal

**UV** : Ultrat Violet

# Bibliographie



Michel Schorderet et collaborateurs(1989) Toxicologie principes de base et récupération cliniques.p34-35

Riedl T, Hanaoka, F, Egly J.-M (2003). The comings and goings of nucleotide excision repair factors on damaged DNA. EMBO J. 22, 5293–5303.

Vilenchik M. M et Knudson A. G(2003). Endogenous DNA double-strand breaks: Production, fidelity of repair, and induction of cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 12871–12876.

Boland C. R et Goel A (2010). Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. Gastroenterology 138, 2073-2087.e3

lehniger principes de biochimie(1989). chapitre30 p913-944

guide pratique de toxicologie(2004)méthodologique des tests. p22

Cadet J et Wagner J. R (2013). DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. Cold Spring Harb. Perspect. Biol 5.

Rozman K, Klaassen CD(1996) Absorption, distribution and excretion of toxicants dans CD Klassen (rédacteur) casarett and Doull's Toxicology, the basis science of poisons, 5° Edition. Mc Graw-Hill, New York p50-87.

Brodeur J et Tardif F(1998) Excretion dans wexler Encyclopedia of toxicologie.V2p 585-588. Academic Press, San Diego.

guide pratique de toxicologie(2004)Fondement de la toxicologie. p08-11

guide pratique de toxicologie( 2004). p126

guide pratique de toxicologie(2004). composés aromatiques et nitrés. p124-125

guide pratique de toxicologie(2004)métaux p170-171