

## L'entretien du DNA cellulaire

Walter G. Verly

---

**Citer ce document / Cite this document :**

Verly Walter G. L'entretien du DNA cellulaire. In: Bulletin de la Classe des sciences, tome 65, 1979. pp. 185-190;

doi : <https://doi.org/10.3406/barb.1979.58507>

[https://www.persee.fr/doc/barb\\_0001-4141\\_1979\\_num\\_65\\_1\\_58507](https://www.persee.fr/doc/barb_0001-4141_1979_num_65_1_58507)

---

Fichier pdf généré le 05/06/2020

## EXPOSÉ

### L'entretien du DNA cellulaire

par WALTER G. VERLY

Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Liège

Toutes les cellules disposent d'un service de maintenance qui surveille continuellement leur DNA afin d'éviter la dégradation progressive de l'information génétique inscrite dans cette macromolécule. La molécule de DNA n'est en effet pas stable; elle subit des altérations même en l'absence de toute agression venant du milieu où vivent les cellules.

Parmi les altérations spontanées que subissent les molécules de DNA, les principales sont la perte de bases et la désamination de certaines d'entre elles.

À 37°, la probabilité d'hydrolyse du lien glycosylique qui unit une purine au désoxyribose dans une chaîne de DNA est de  $10^{-7}$  heure<sup>-1</sup>. Le DNA d'une cellule diploïde de mammifère perd environ 10,000 purines par jour. La perte de pyrimidines est plus faible; elle est de quelques centaines pendant le même temps. La perte d'une base laisse un site AP (apurinique ou apyrimidinique) dans la molécule de DNA.

Parmi les désaminations spontanées, la plus fréquente est la désamination de la cytosine en uracile. Cette désamination est potentiellement mutagène puisque la base complémentaire de l'uracile (qui est l'adénine) est différente de celle de la cytosine (qui est la guanine). Deux réplifications consécutives de la molécule de DNA font apparaître, dans une des quatre molécules petites-filles, un couple T-A où primitivement se trouvait un couple C-G; ce changement de l'information génétique est une mutation. Les mutations sont héréditaires.

Mais les cellules disposent d'enzymes pour conserver une information génétique bien adaptée au milieu où elles vivent. Elles possèdent une

uracile DNA glycosylase qui enlève l'uracile, produit de la désamination de la cytosine, en laissant un site AP. L'activité de l'uracile DNA glycosylase est grande de sorte que l'effet mutagène de la désamination spontanée de la cytosine en uracile est pratiquement nul. Les sites AP, résultant de la perte spontanée de bases ou de l'enlèvement de bases modifiées par des DNA glycosylases, sont reconnus par des AP endodésoxyribonucléases. Ces enzymes coupent la chaîne sucrophosphate à côté des sites AP. Leur activité est très élevée de sorte que le DNA cellulaire ne contient jamais de sites AP intacts: les sites AP sont toujours associés à des cassures de la chaîne pylonucléotidique.

La réparation du DNA contenant des sites AP a été étudiée *in vitro* en se servant d'enzymes extraits de la bactérie *Escherichia coli*. L'incubation du DNA avec trois enzymes (AP endodésoxyribonucléase, DNA polymérase I et ligase) et les facteurs nécessaires à leur activité suffit pour faire disparaître les sites AP. Voici quelques détails sur cette réparation.

L'AP endodésoxyribonucléase majeure d'*Escherichia coli* porte le nom d'endonucléase VI; c'est aussi une exonucléase, connue depuis longtemps sous le nom d'exonucléase III, qui dégrade les chaînes polynucléotidiques dans le sens 3'-5'. Endonucléase VI et exonucléase III sont une seule et même protéine. L'enzyme reconnaît le site AP et, par son activité d'endonucléase VI, incise la chaîne polynucléotidique du côté 5' du site AP; ensuite, par son activité d'exonucléase III, il enlève quelques nucléotides dans le sens 3'-5' à partir de l'incision. L'intervention de l'endonucléase VI/exonucléase III laisse donc le site AP dans la molécule de DNA; le rôle de l'exonucléase III serait de transformer l'incision en une brèche plus large pour empêcher le troisième enzyme, la ligase, de la fermer et d'ainsi faire avorter la réparation. Après l'intervention de l'endonucléase VI/exonucléase III, le seul enzyme capable de prendre le relais est la DNA polymérase I. La DNA polymérase I est aussi un enzyme complexe puisque, en plus de son activité polymérasique qui lui permet d'élaborer des chaînes polynucléotidiques à partir de désoxynucléosides triphosphates, elle possède aussi deux activités exonucléasiques travaillant l'une dans le sens 3'-5' (mentionnée pour mémoire) et l'autre dans le sens 5'-3'. La DNA polymérase I s'attache à l'extrémité 3' de la brèche créée par l'exonucléase III et, utilisant la chaîne restée intacte comme matrice, elle refait le segment enlevé par l'exo-

nucléase III. Elle rencontre alors le site AP qu'elle excise dans un oligonucléotide par son activité d'exonucléase 5'-3'. L'exonucléase 5'-3' continue à dégrader la chaîne qui contenait le site AP un nucléotide à la fois tandis que la polymérase la refait immédiatement; on a, à ce moment, une cassure qui se déplace dans le sens 5'-3'. Lorsque la DNA polymérase I se détache de son substrat, le troisième enzyme, la ligase, referme la cassure.

Après intervention de ces trois enzymes, toute trace de lésion a disparu et le DNA est tel qu'il était avant la désamination ou la perte de la base. Au cours de la réparation, une vingtaine de nucléotides ont été remplacés dans la chaîne polynucléotidique qui avait été modifiée.

Cette nécessité d'entretenir continuellement son DNA a obligé la cellule à consentir à un certain nombre d'adaptations.

La première est d'utiliser dans le DNA la thymine plutôt que l'uracile comme base complémentaire de l'adénine. Il fallait, en effet, que les enzymes de la réparation puissent distinguer l'uracile, produit de la désamination de la cytosine, des bases normales du DNA puisque cette désamination est potentiellement mutagène. L'uracile DNA glycosylase enlève l'uracile, mais ne touche pas à la thymine (= 5-méthyluracile). L'effet mutagène de la désamination de la cytosine est ainsi pratiquement nul. Cette interprétation est soutenue par l'observation que les « hot spots » du gène *lacI* d'*Escherichia coli*, c'est-à-dire les points où se produisent de très fréquentes mutations spontanées, correspondent à des restes de 5-méthylcytosine. La désamination spontanée de la 5-méthylcytosine donne du 5-méthyluracile, c'est-à-dire de la thymine, que les enzymes de réparation sont incapables de distinguer des autres thymines. Les mutants d'*Escherichia coli* qui ne méthylent pas la cytosine n'ont pas ces « hot spots ».

Une autre conséquence inévitable de la présence des enzymes de réparation est le morcellement du DNA nouvellement synthétisé. Ce morcellement est dû à l'introduction d'uracile dans les chaînes polynucléotidiques au moment de leur synthèse; les cellules contiennent de la désoxyuridine triphosphate que la DNA polymérase utilise comme les autres désoxynucléosides triphosphates. Bien qu'il existe des mécanismes enzymatiques pour détruire la désoxyuridine triphosphate, sa concentration intracellulaire n'est pas nulle. L'uracile qui parvient à se glisser dans le DNA nouvellement synthétisé est

enlevé par l'uracile DNA glycosylase formant un site AP près duquel l'AP endodésoxyribonucléase coupe la chaîne polynucléotidique.

Lorsque le DNA est synthétisé *in vitro* dans un extrait cellulaire qui ne contient pas de désoxyuridine triphosphate, l'une des nouvelles chaînes, appelée leading strand, est élaborée de manière continue par la DNA polymérase qui travaille en se rapprochant de l'angle de la fourche de réplication; l'autre chaîne, appelée lagging strand, est élaborée par morceaux par la DNA polymérase qui travaille en s'écartant de l'angle de la fourche de réplication. Lorsqu'on introduit dans l'extrait, en plus des quatre désoxynucléosides triphosphates indispensables, de la désoxyuridine triphosphate, le leading strand est fragmenté et le morcellement du lagging strand est accru. Avec suffisamment de désoxyuridine triphosphate, les morceaux des deux chaînes ne peuvent plus être distingués par leur poids moléculaire, situation que l'on trouve *in vivo* dans les cellules. Il faut ajouter que les morceaux du DNA naissant sont soudés les uns aux autres en quelques secondes pour former les chaînes continues que l'on trouve en dehors des fourches de réplication.

Les études sur l'entretien des molécules de DNA ont été faites surtout en se servant de cellules bactériennes. Le DNA bactérien est presque nu de sorte que rien ne s'oppose à l'approche des enzymes qui l'utilisent comme substrat. La situation est beaucoup plus compliquée dans les cellules supérieures, appelées eucaryotes, comme les cellules de mammifères. Le DNA, qui se trouve principalement dans le noyau, fait partie d'une structure complexe, la chromatine, qui contient deux sortes de protéines, les histones et les non-histones. La chromatine déroulée se présente comme un chapelet constitué d'unités auxquelles on a donné le nom de nucléosomes. Chaque nucléosome comprend un grain (core) constitué d'un octamère d'histones autour duquel s'enroule le DNA et un segment entre deux grains (linker) formé de DNA entouré d'histones. La localisation des non-histones n'est pas connue. C'est le DNA qui assure la continuité de la chromatine dans chacun des chromosomes.

Les travaux récents semblent indiquer que la réparation du DNA se fait au niveau des linkers. Les lésions du DNA des cores sont cependant réparées parce que les histones peuvent glisser par rapport au DNA.

Des enzymes de la réparation du DNA font partie des protéines non histoniques de la chromatine. C'est le cas de l'AP endodésoxyribonucléase. La chromatine n'exerce que peu d'activité sur un DNA étranger qui contient des sites AP. On révèle toutefois une activité très élevée sur ce substrat dans la fraction des non-histones obtenue par dissociation de la chromatine. Ceci suggère que l'enzyme engagé dans la chromatine est orienté pour travailler sur le DNA chromatinien.

Les autres compartiments cellulaires contiennent aussi des activités AP endodésoxyribonucléasiques, mais il s'agit d'entités moléculaires différentes de celle que l'on trouve dans la chromatine. Une hypothèse serait que les ribosomes synthétisent des précurseurs des enzymes de réparation qui doivent être modifiés avant de pouvoir pénétrer dans la chromatine et s'y orienter correctement pour travailler sur le DNA chromatinien.

Ces données encore préliminaires suggèrent que les déficiences héréditaires de la réparation du DNA des organismes supérieurs peuvent avoir des causes multiples. Elles pourraient dépendre non seulement d'une atteinte d'un enzyme de réparation, mais aussi des enzymes intervenant dans la maturation d'un précurseur, ou encore d'une protéine chromosomique indispensable à la fixation et à l'orientation correcte, dans la chromatine, de l'enzyme de réparation. On expliquerait ainsi les causes génétiques très diverses de maladies humaines comme le xeroderma pigmentosum et l'ataxie télangiectasie.

Dans cet exposé, la réparation du DNA a été placée dans le contexte de la nécessité de surveiller continuellement le DNA cellulaire qui se dégrade spontanément. Mais de nombreuses substances chimiques ou des agents physiques, comme les ultraviolets et les rayons X, endommagent aussi le DNA. La plupart des lésions produites, y compris celles qui sont potentiellement cancérigènes, sont réparées par des mécanismes analogues à ceux qui ont été présentés dans cette brève communication.

#### BIBLIOGRAPHIE

- COULONDRE, C., MILLER, J. H., FARABAUGH, P. J. et GILBERT, W., 1978. *Molecular basis of base substitution hot spots in Escherichia coli*. *Nature*, **274**, 775-780.
- GOSSARD, F. et VERLY, W. G., 1978. *Properties of the main endonuclease specific for apurinic sites of Escherichia coli (endonuclease VI). Mechanism of apurinic site excision from DNA*. *Eur. J. Biochem.*, **82**, 321-332.

- LINDAHL, T., LJUNGQUIST, S., SIEGERT, W., NYBERG, B. et SPERENS, B., 1977. *DNA glycosylases. Properties of uracil DNA glycosylase from Escherichia coli*. J. Biol. Chem., **252**, 3286-3294.
- OLIVERA, B. M., 1978. *DNA intermediates at the Escherichia coli replication fork: effect of dUTP*. Proc. Natl Acad. Sc. (US), **75**, 238-242.
- SMERDON, M. J. et LIEBERMAN, M. W., 1978. *Nucleosome rearrangement in human chromatin during UV-induced DNA repair synthesis*. Proc. Natl Acad. Sc. (US), **75**, 4238-4241.
- THIBODEAU, L. et VERLY, W. G., 1978. *Chromatin localization of the endonuclease specific for apurinic sites in Phaseolus multiflorus embryos*. J. Supramolecular Structure, suppl. 2, 57 (abs 126).
- VERLY, W. G., GOSSARD, F. et CRINE, P., 1974. *In vitro repair of apurinic sites in DNA*. Proc. Natl Acad. Sc. (US), **71**, 2273-2275.
- VERLY, W. G., PAQUETTE, Y. et THIBODEAU, L., 1973. *Nuclease for DNA apurinic sites may be involved in the maintenance of DNA in normal cells*. Nature, **244**, 67-69.
- VERLY, W. G. et THIBODEAU, L., 1979. *Carcinogenesis, DNA repair and chromatin*, dans « Chromatin Structure and Function » (éd. Nicolini, C.A.), Plenum Press, New York, and London, part B, 803-810.