

Chapitre 4 : Système SOS et mutagenèse

1. Définition du stress environnemental

Le stress peut être défini comme un ensemble de conditions provoquant des changements de processus physiologiques conduisant à une inhibition de croissance ou un dommage cellulaire. Ces changements imposent à la cellule de développer des mécanismes de résistance qui permettent la survie ou simplement une meilleure croissance.

Le stress environnemental peut toucher plusieurs éléments de la cellule bactérienne (l'enveloppe cellulaire, les constituants macromoléculaire et le cytoplasme) parmi les constituants macromoléculaire le patrimoine génétique est constamment menacé par les conditions environnementales agressives qui endommagent l'ADN. Ces dommages peuvent entraîner la mort de la cellule. Pour cette raison les bactéries ont adaptées un système C'est la mutagenèse

2. Le système SOS

En répliquant l'ADN, la polymérase fait des erreurs qui peuvent être effacées pendant ou bien immédiatement après le processus de réplication. La réparation des mésappariements est un processus efficace qui corrige l'erreur une fois la réplication faite.

Si le complexe de réplication (ADN poly + facteur de replication) arrive à une lésion avant qu'elle ne soit réparée, il, stoppe sa progression et se décroche de l'ADN. Le complexe va reprendre la synthèse du brin complémentaire à environ 1 kb en aval de la lésion. La structure formée est celle d'un ADN double brin présentant une discontinuité faite d'un simple brin.

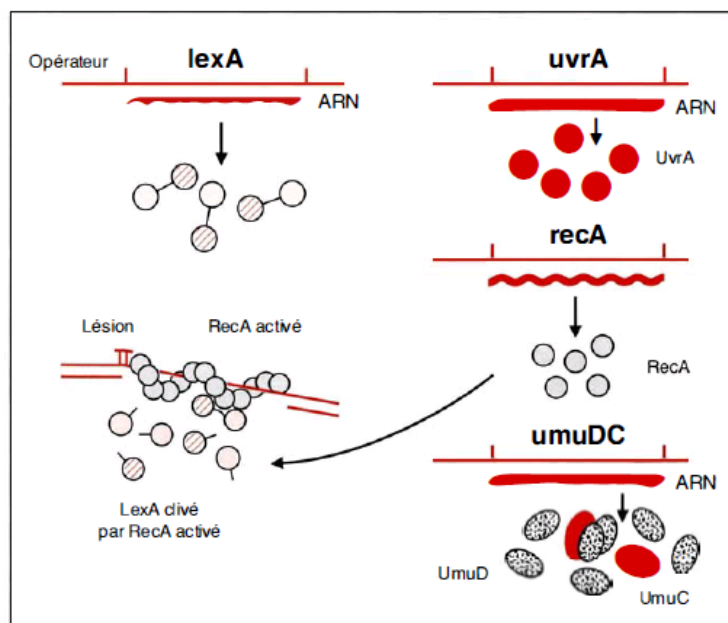


Figure 2. **Dérégulation des gènes SOS (état induit après lésions de l'ADN).** La protéine RecA forme un filament hélicoïdal sur l'ADN simple brin engendré par l'arrêt local de la réplication qui introduit une discontinuité dans la double hélice. Le répresseur LexA (haltères) s'attache au complexe ADN-simple brin-RecA sur lequel il est clivé. L'inactivation du répresseur LexA par clivage entraîne, entre autres : (1) la synthèse de la protéine UvrA (protéine impliquée dans la réparation par excision) ; (2) la synthèse de la protéine RecA (chapelet hélicoïdal) ; (3) la synthèse des protéines mutagènes UmuD (ellipsoïde tacheté) et UmuC (ellipsoïde rouge).

Le signal SOS

L'ADN simple brin formé attire la protéine RecA, qui s'active pour cliver le répresseur LexA (figure 1 et 2) et ainsi déclencher la série des trois processus de réparation et de mutagenèse.

Le complexe ADN simple brin-protéine RecA, en provoquant l'inactivation de la protéine LexA, constitue un signal SOS, inducteur des 20 gènes SOS (figure 2).

Dans des conditions optimales de croissance bactérienne, les gènes SOS sont réprimés, ils n'expriment pas, ou bien peu, les protéines pour lesquelles ils codent. Lorsque le répresseur LexA est clivé, les gènes SOS, impliqués dans les divers processus de réparation, sont exprimés avec une cinétique propre qui assure le déroulement séquentiel des processus.

La protéine RecA est activée non pas par une lésion spécifique mais par la discontinuité de la double hélice due à la présence d'une lésion.

La discontinuité de la double hélice avec la persistance d'un simple brin entraîne la mort du chromosome. Le processus de mutagenèse SOS est capable de restaurer la structure double brin de l'ADN.

Les fonctions SOS s'éteignent lorsque la réparation restaure la structure de la double hélice et fait ainsi disparaître le signal SOS.

3. Les processus de réparation SOS

Les trois systèmes de réparation SOS : excision, recombinaison, réplication infidèle, gouvernés par l'expression , entre autres, des gènes *uvrA*, *recA* , et *umu.DC* (figures 1 et 2) Ces gènes sont soumis à un régulateur commun, le répresseur LexA.

3.1.La réparation par excision de nucléotides (NER)

Tend à éliminer la lésion. Le processus excise 11 nucléotides sur le brin endommagé (cinq nucléotides en amont et cinq en aval du nucléotide endommagé) . Les 11 nucléotides sont resynthétisés par réplication locale par l'ADN PolI. L'efficacité de la réparation par excision n'est que de 85 % . Après la réparation par excision, il reste encore 15 % de lésions dans l'ADN.

3.2.La réparation par recombinaison

Corrige les lésions qui n'ont pu être excisées. Le principe de la réparation par recombinaison est simple : si une cellule possède un jeu de deux chromosomes, la probabilité qu'une lésion affecte précisément le même nucléotide sur chaque chromosome est extrêmement faible. La réparation par recombinaison consiste à prélever un brin d'ADN de la région non endommagée d'un chromosome homologue pour remplacer la portion de brin altéré. Le chromosome donneur est lui aussi restauré dans sa séquence originale par une simple resynthèse locale (figure3).

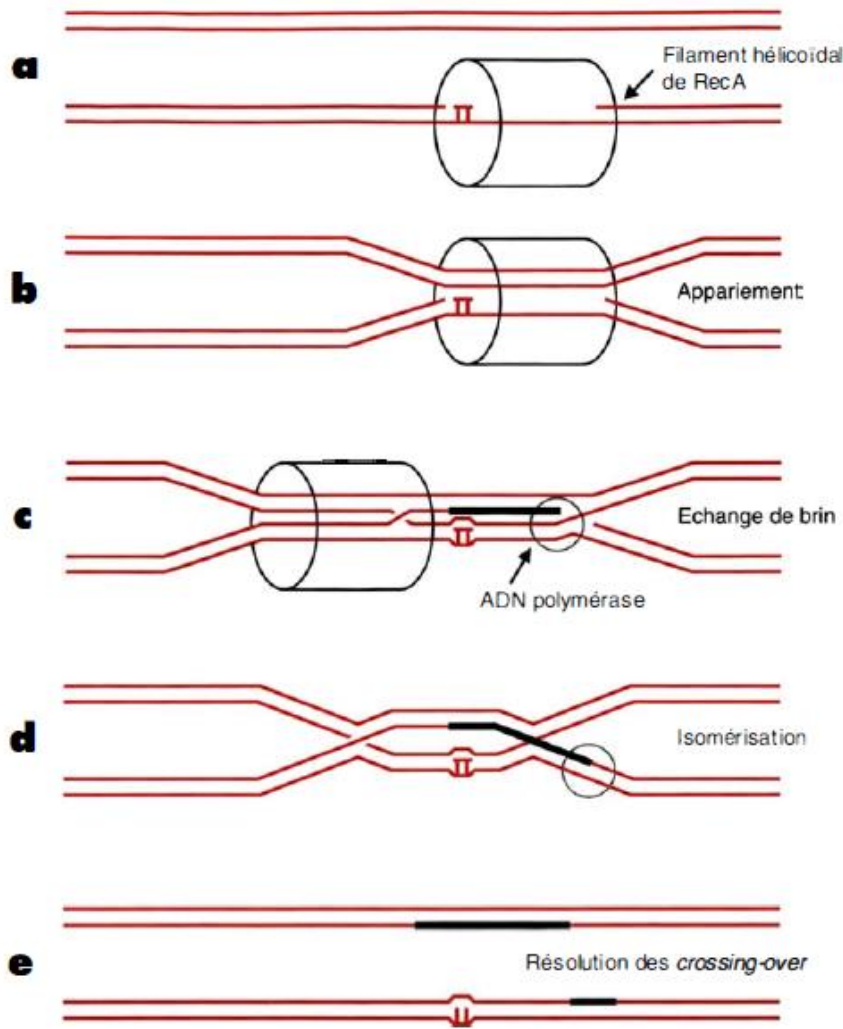


Figure 3. Réparation par recombinaison. La lésion de l'ADN est représentée par un dimère de thymine qui peut entrer dans un processus de recombinaison réparateur. A droite du dimère de thymine (a) se forme une discontinuité dans la double hélice par arrêt de la réplication du brin fils ; la protéine RecA forme un filament protecteur de l'ADN simple-brin (cylindre) et favorise l'accolement d'un brin opposé pour restaurer la double hélice (b). Il y a synthèse en trans pour remplacer le brin emprunté (c). Il se forme une jonction de Holliday (d) qui est résolue en (e). La coupure de la jonction aboutit à rétablir la structure normale de l'ADN. On voit les portions d'ADN échangées et resynthétisées (traits épais).

Il faut noter qu'après la réparation par recombinaison, un seul brin sur quatre reste porteur de lésion. Il n'y a pas de risque de perte d'information car, dans la double hélice endommagée, le brin sain pourra être dupliqué, il sera conforme à la séquence d'ADN originale.

La réparation par recombinaison a une efficacité qui se situe entre 50 et 65 %. Après le passage de deux processus de réparation par excision et par recombinaison, il reste environ 5 à 7 % de lésions non réparées .

Il faut souligner que l'excision et la recombinaison sont deux processus de réparation fidèles qui n'introduisent pas de mutations dans l'ADN.

3.3. La mutagenèse ou la réparation translésionnelle (TLS) ou la réplication fautive

Il existe des situations où le NER et la recombinaison homologe échouent à réparer les lésions de l'ADN et, en dernier recours, la réplication est reprise à une fourche bloquée, mais à un prix: la mutagenèse. La mutagenèse est une réponse SOS médiée par les ADN polymérases qui produisent des mutations. Cette voie a donc été appelée réplication ou synthèse translésionnelle (TLS), réparation à risque d'erreur, mutagenèse SOS.

La TLS est responsable de la forte augmentation des mutations dans le génome bactérien. Les mutations qui se produisent peuvent tuer de nombreuses cellules. Cependant, la réplication est redémarrée avec succès et les cellules «chanceuses» survivent.

Le composant principal de la réaction TLS est une ADN polymérase, qui est un produit des gènes *umuD* et *umuC* appelée pol V. L'activité de la pol V nécessite trois protéines: UmuC, UmuD' (une forme plus courte d'UmuD) et RecA.

Les étapes de la TLS

- UmuD est autoclivé en UmuD'. (par interaction avec le filament de nucléoprotéine hélicoidale RecA/ADNsb)
- Deux des molécules umuD' actives forment l'ADN PolV en complexe avec UmuC (UmuD'₂C).
- L'activité de pol V nécessite la dissociation locale des monomères RecA de l'ADN pour permettre une liaison appropriée de pol V à l'ADN
- Après l'assemblage de pol V, la synthèse de l'ADN commence et, lorsqu'elle rencontre la lésion, pol V met n'importe quelle base nucléique en face de la lésion résiduelle. La réplication fidèle est alors temporairement suspendue pour restaurer le chromosome.
- Une fois la lésion contournée, la pol V se dissocie de l'ADN et la pol III prend le relais et reprend la réplication

La réplication fautive répare 50 % des lésions qui ont échappé à la réparation par excision et par recombinaison .

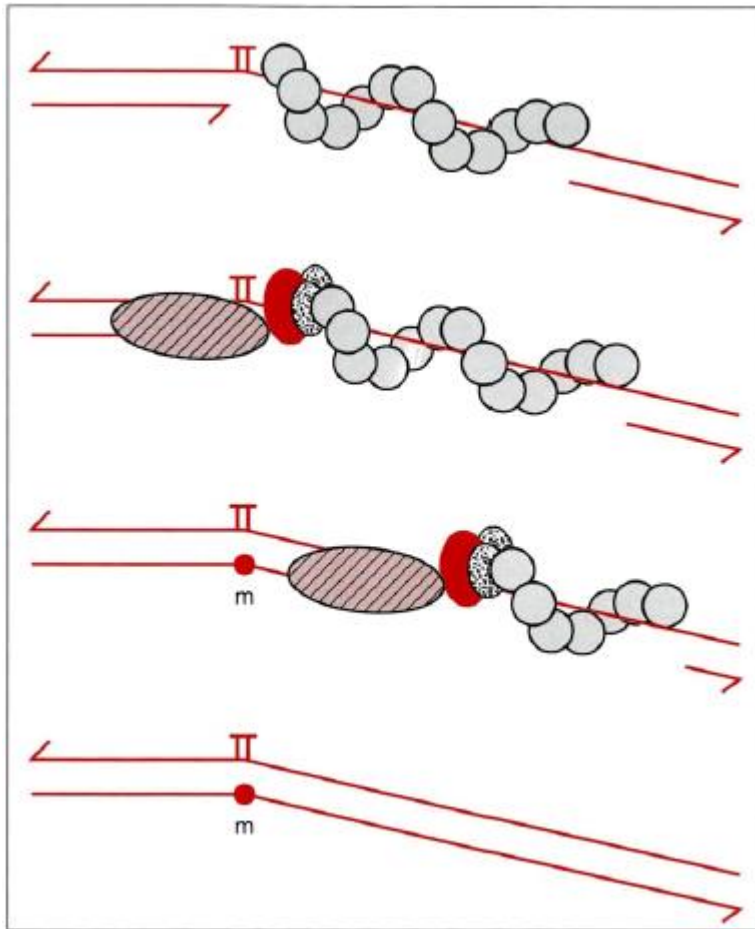


Figure 4. Réparation fautive induite. L 'ADN simple brin enrobé par la protéine RecA peut entrer dans un processus de réplication fautive après la réparation par recombinaison. Pour cela, il faut que le complexe UmuD'2C soit formé après clivage de la protéine UmuD en UmuD' (en rouge UmuC et en blanc tacheté 2 molécule de UmuD'). Alors se déroulent les processus suivants : le complexe UmuD'2C agit vers la droite en repoussant le filament de RecA qui se raccourcit, pour lui permettre de franchir la lésion. Le symbole " m " désigne la mutation produite, l'ADN-polymérase III est indiquée par un ovale rose.

Chronologie des trois processus de réparation

Si tous les gènes SOS sont réprimés par le répresseur LexA, comment peut on obtenir des processus successifs de réparation ?

La cinétique des trois processus de réparation décrits plus haut est fondée sur l'affinité différente du répresseur LexA pour chacun des promoteurs des gènes SOS. Si les promoteurs des gènes qui gouvernent la réparation par excision, uvrA par exemple, ont une affinité moins grande pour le répresseur LexA, il est clair qu'une diminution minime du répresseur LexA va produire une dérépression rapide. C 'est pourquoi la réparation par excision (NER) va être la plus précoce et durer 20 minutes après

l'apparition des lésions. La réparation par recombinaison nécessite un niveau élevé de la protéine RecA, qui est atteint au bout de 40 minutes. RecA a le temps de former de longs filaments entourant le simple brin produit par la discontinuité de la réplication . La réparation par réplication par mutagénèse va être la dernière à être mise en œuvre car elle nécessite, dans un premier temps, une synthèse élevée de protéines UmuD et UmuC.

Dans un deuxième temps, la protéine RecA doit effectuer la maturation de la protéine UmuD en UmuD' pour donner le complexe mutagène UmuD'2C. Le temps nécessaire à la synthèse et à la maturation du complexe UmuD'2C est de 60 minutes.