

GÉNÉTIQUE

Réparer quoi qu'il arrive !

Polypeptides

Enchaînement de 10 à 100 acides aminés

Trichothiodystrophie

Maladie génétique rare qui affecte le système de réparation de l'ADN entraînant une photosensibilité accrue.

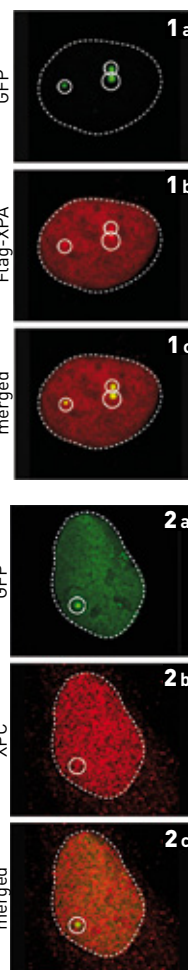
Xeroderma pigmentosum

Aussi connue sous le nom des « enfants de la Lune », cette pathologie touche le système de réparation de l'ADN. La photosensibilité excessive et les troubles oculaires occasionnés exposent les patients à un risque élevé de cancer de la peau ou des yeux.

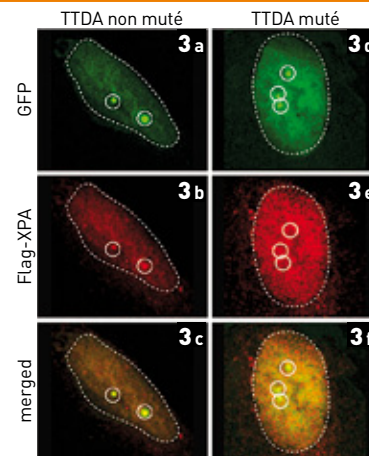
Syndrome de Cockayne

Dû à une mutation génétique héréditaire, il se caractérise par une photosensibilité, un retard de croissance, un vieillissement et un décès prématurés.

Bien qu'il soit toujours à l'abri dans le noyau de nos cellules, notre ADN peut être endommagé par des facteurs environnementaux chimiques ou physiques (comme les rayons ultraviolets du soleil). L'organisme a donc mis en place des moyens efficaces de protection et de réparation de la double hélice. Le système NER (pour *nucleotide excision repair*) est l'un d'entre eux. Son fonctionnement : détecter les lésions dans le génome, ouvrir la molécule d'ADN à l'endroit concerné, enlever la lésion, puis la remplacer par une séquence d'ADN réparée. Toutes ces étapes font intervenir plus de 20 polypeptides (☞) qui s'agencent selon un ordre séquentiel précis : XPC, qui reconnaît l'anomalie, puis TFIIH (contenant XPB, XPD et TTDA) qui ouvre la molécule d'ADN, puis XPA, XPF... « C'est essentiel de comprendre les bases moléculaires de la construction de ce mécanisme de réparation », souligne Frédéric Coin (☞), de l'IGBMC à Strasbourg. Pour cela, son équipe a tenté de forcer la formation du complexe de NER en l'absence de lésion, afin d'observer si le processus pouvait se dérouler sur un ADN non endommagé. Et ô surprise ! Les étapes de NER restent inchangées et se déroulent de manière ordonnée, comme en cas de lésion. Du moins,



c'est ce que révèle les images ci-contre, où l'apparition de spots verts et rouges traduit la présence respective de XPB (photo 1 a) et XPA (photo 1 b), grâce au marquage par immunofluorescence. Quant à la présence de spots jaunes (marquage Merged), elle confirme leur colocalisation et donc le recrutement de XPA par XPB (photo 1 c). Résultat : l'ordre d'assemblage des polypeptides du système de réparation NER a bel et bien été respecté. Mais comment les chercheurs ont-ils fait ? En détournant le système lactose Opérateur-lactose Répresseur (LacO-LacR) utilisé par les bactéries pour réguler l'expression de leurs gènes. Tandis que la protéine LacR est attachée au polypeptide XPB de NER, la séquence LacO est introduite dans le génome. La formation du complexe LacO-LacR permet alors de fixer artificiellement XPB à l'ADN (spots verts, photo 2 a), en l'absence de lésions et donc sans XPC, puisqu'en amont dans l'ordre d'assemblage : l'absence de spot rouge (photo 2 b) confirme que XPC n'est pas recruté et l'absence de spot jaune que ces deux polypeptides ne sont pas présents au même endroit (photo 2 c). Et cette astuce leur a également permis de mieux comprendre les défauts moléculaires associés à une maladie génétique rare, la trichothiodystrophie (☞), qui touche précisément le système



NER en raison d'une mutation de la sous-unité TTDA, appartenant comme XPB au complexe TFIIH. Les chercheurs ont ainsi utilisé le système LacO-LacR pour fixer la version mutée de TTDA dans le génome (photos 3, colonne de droite), afin d'observer l'assemblage des protéines suivantes de NER. Et ils ont mis en évidence un défaut de recrutement de XPA, traduit par l'absence de spot rouge (photo 3 e) et de spot jaune (photo 3 f), en tant qu'indice de colocalisation avec XPB (spots verts, photo 3 d). Conséquence : la formation du système de réparation est incomplète et la réparation de l'ADN serait nettement moins efficace chez les patients. À l'inverse, lorsque le TTDA n'est pas muté, l'assemblage se déroule sans accro, XPB et XPA étant visibles ensemble (spots jaunes photo 3 c) et séparément (spots rouges et verts, photos 3 a et 3 b). Cette méthodologie innovante peut maintenant être étendue à d'autres mutations responsables d'altérations du mécanisme de réparation de l'ADN, ce qui offre de belles perspectives pour la compréhension de plusieurs maladies génétiques rares, comme le *xeroderma pigmentosum* (☞) ou le syndrome de Cockayne (☞). ■

Jean Fauquet

☞ Frédéric Coin : unité 964 Inserm/ CNRS - Université de Strasbourg, Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, équipe Expression et réparation du génome

☞ S. Ziani et al. *The Journal of Cell Biology*, 25 août 2014 [en ligne] doi : 10.1038/jcb.201403096