



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة
منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Microbiologie

قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

*Fonctionnement du système **NER** chez les bactéries*

Présenté par : KERROUR Ala Eddine Naoufel

Le : 12/06/2024

ZEGHIB Chaker Ahcen

Jury d'évaluation :

Président : Pr. ALATOU Radia (Professeur, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. ARABET Dallel (MCA, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur : Dr. LIFA Maroua (MCB, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2023 – 2024

Remerciements

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous tenons à remercier chaleureusement notre encadrante, Mme. ARABET Dallel, pour son soutien indéfectible, ses conseils avisés et sa patience tout au long de ce parcours. Votre expertise et vos encouragements ont été essentiels à l'aboutissement de ce travail.

Nous remercions également les membres du jury, Mme. Alatou Radia, et Mme. Lifa Maroua, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour leurs remarques constructives.

Un grand merci à nos amis, qui nous ont soutenus moralement et ont su nous offrir des moments de détente bienvenus.

Notre gratitude infinie va à nos familles, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. À nos parents, pour leur amour, leur soutien inconditionnel et leurs nombreux sacrifices qui nous ont permis de poursuivre nos rêves. À nos pères et nos mères, merci du fond du cœur. À nos frères et sœurs, merci pour votre présence constante et vos encouragements.

À tous, nous dédions ce mémoire avec une reconnaissance sincère et profonde.

Résumé

Le système de réparation par excision de nucléotides (NER) chez les bactéries est un mécanisme vital pour la maintenance de l'intégrité génomique. Il permet de détecter et réparer une grande variété de lésions de l'ADN causées par des agents mutagènes externes tels que les radiations UV et les produits chimiques toxiques. Le processus NER implique une série de réactions enzymatiques orchestrées par des complexes multiprotéiques incluant les protéines UvrA, UvrB, UvrC, et UvrD. Ce système est essentiel non seulement pour la survie des bactéries dans des environnements hostiles mais aussi pour leur adaptation et évolution. Deux sous-types du système NER existent : la réparation globale du génome (GG-NER) et la réparation couplée à la transcription (TC-NER), chacun jouant un rôle spécifique dans la réparation des dommages à l'ADN. Ce mémoire examine en détail le fonctionnement du NER, les rôles spécifiques des protéines impliquées, et compare les mécanismes NER entre les procaryotes et les eucaryotes.

Mots clés : Réparation par excision de nucléotides (NER), ADN, bactéries, Uvr A, Uvr B, Uvr C, Uvr D, GG-NER, TC-NER, mutagènes, intégrité génomique.

الملخص

يُعدّ نظام إصلاح النيوكليوتيدات بالاستئصال لدى البكتيريا آلية حاسمة للحفاظ على سلامة الحمض النووي. ويمكنه اكتشاف وإصلاح مجموعة واسعة من الأضرار التي يتعرض لها الحمض النووي الناجمة عن العوامل الخارجية المسببة للطفرات مثل الأشعة فوق البنفسجية والمواد الكيميائية السامة. وتتضمن عملية إصلاح الطفرات سلسلة من التفاعلات الأنزيمية التي تنظمها مجتمعات متعددة البروتينات بما في ذلك بروتينات UvrA و UvrB و UvrC و UvrD

هذا النظام ضروري ليس فقط للحفاظ على البكتيريا عندما تكون الظروف المحيطة غير مناسبة، بل يلعب أيضا دورا في تأقلمها وتطورها، ولكن أيضا لتكيفها وتطورها. ويوجد نوعان فرعيان من نظام إصلاح تلف الحمض النووي: الإصلاح على مستوى الجينوم (GG-NER) والإصلاح المقترن بالنسخ (TC-NER) ، ويلعب كل منهما دورًا محددًا في إصلاح تلف الحمض النووي. تبحث هذه الأطروحة بالتفصيل في كيفية عمل الإصلاح على مستوى الجينوم، والأدوار المحددة للبروتينات المعنية، وتقرن آليات الإصلاح على مستوى الجينوم بين بدائيات النوى وحقيقيات النوى

الكلمات المفتاحية: إصلاح الاستئصال النيوكليوتيد، البكتيريا، الحمض النووي، سلامة الجينوم، العوامل المطفرة

UvrD ، UvrC ، UvrB ، UvrA ، TC-NER ، GG-NER

Abstract

The nucleotide excision repair (NER) system in bacteria is a vital mechanism for maintaining genomic integrity. It allows the detection and repair of a wide variety of DNA lesions caused by external mutagenic agents such as UV radiation and toxic chemicals. The NER process involves a series of enzymatic reactions orchestrated by multiprotein complexes, including UvrA, UvrB, UvrC, and UvrD proteins. This system is essential not only for bacterial survival in hostile environments but also for their adaptation and evolution. Two subtypes of NER process exist: Global Genome Nucleotide Excision Repair (GG-NER) and Transcription-Coupled Nucleotide Excision Repair (TC-NER), each playing a specific role in DNA damage repair. This thesis provides a detailed examination of the NER function, the specific roles of the involved proteins, and compares the NER mechanisms between prokaryotes and eukaryotes.

Keywords: Nucleotide Excision Repair (NER), DNA, bacteria, UvrA, UvrB, UvrC, UvrD, GG-NER, TC-NER, mutagens, genomic integrity.

Symbole	Désignation
NER	<i>Nucleotide Excision Repair</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
UV	<i>Ultraviolet</i>
SSB	<i>Single Strand Break</i>
DSB	<i>Double Strand Break</i>
BER	<i>Base Excision Repair</i>
NHEJ	<i>Non-Homologous End Joining</i>
HR	<i>Homologous Recombination</i>
dNTP	Désoxyribonucléosides 5'-triphosphates
ORC	<i>Origin Recognition Complex</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SSBR	<i>Single Strand Break Repair</i>
DSBR	<i>Double Strand Break Repair</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
ARNm	ARN messenger
ARNt	ARN de transfert
Tus	<i>Termination Utilization Substance</i>
AP	<i>Apurinic/Apyrimidinic</i>

ATP	Adénosine triphosphate
Uvr	<i>Ultraviolet Resistance</i>
RNAPol	ARN polymérase (<i>RNA Polymerase</i>)
TRCF	<i>Transcription Repair Coupling Factor</i>
Mfd	<i>Mutation Frequency Decline</i>
GG-NER	<i>Global Genome Nucleotide Excision Repair</i>
TC-NER	<i>Transcription-Coupled Nucleotide Excision Repair</i>
NBD	<i>Nucleotide Binding Domains</i>
SOS	<i>Save Our Selves</i>
LigA	Ligase A
ADP	Adéonsine di-phosphate
TFIIH	<i>Transcription Factor II H</i>
XPC	<i>Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group C</i>
RAD23B	<i>RAD23 Homolog B</i>
DDB1	<i>Damage-Specific DNA Binding Protein 1</i>
DDB2	<i>Damage-Specific DNA Binding Protein 2</i>

UV-DDB	<i>UV-Damaged DNA Binding Protein</i>
XPB	<i>Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group B</i>
XPD	<i>Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group D</i>
XPA	<i>Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group A</i>
XPG	<i>Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group G</i>
ERCC1	<i>Excision Repair Cross-Complementation Group 1</i>

N° de figure	Titre	Page
Figure 1	Structures et classifications des bases nucléiques : Pyrimidines et Purine.....	3
Figure 2	La réplication semi-conservative de l'ADN.....	6
Figure 3	Schéma de la synthèse protéique bactérienne.....	9
Figure 4	Voies de réparation des lésions de l'ADN.....	12
Figure 5	Les voies de réparation par excision de nucléotides (NER).....	19
Figure 6	Représentation schématique des voies NER chez les procaryotes.....	20
Figure 7	Représentation schématique de l'intervention successive des protéines Uvr au moment de la réparation par le système NER.....	24

Titre
Résumé**Abstract****ملخص**

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Introduction.....	1

Chapitre 1 : L'acide désoxyribonucléique

1. Définition.....	3
2. Structure del'ADN.....	3
2.1. Les nucléotides.....	3
2.2. Les liaisons chimiques : la clé de la structure de l'ADN.....	3
2.3. La double hélice.....	4
2.4. Les dommages à l'ADN.....	4
2.5. Caractéristiques importantes de la structure de l'ADN.....	5
3. Rôle de l'ADN dans la transmission et l'expression de l'information génétique.....	5
3.1. Rôle de l'ADN dans la transmission de l'information génétique.....	5
3.1.1. Les étapes de réplication.....	7
3.2. Rôle de l'ADN dans l'expression génétique	8
3.2.1. La transcription.....	8
3.2.2. La traduction.....	9

Chapitre 2 : Les mutations et leurs conséquences

1. Définition.....	10
2. Les types de mutations.....	11
2.1. Les Cassures simple brin.....	12
2.1.1. La réparation des cassures simple brin.....	12
2.1.2. Comparaison entre BER et NER.....	13
2.2. Les cassures double brin.	14

2.2.1. La réparation des cassures double brin.....	15
3. Les conséquences des mutations.....	16

Chapitre 3 : Système NER chez les bactéries

1. Mécanisme générale du NER.....	18
1.1. Présentation du NER.....	18
1.2. Description générale des composants et du fonctionnement du NER.....	18
2. Les types du NER chez les bactéries.....	19
3. Rôle NER dans la survie des bactéries.....	21
4. Protéines clés du NER chez les bactéries.....	22
4.1. Description des fonctions des protéines principales.....	22
4.2. Rôles de POL I et Lig A dans la phase post-excisionnelle du NER.....	23
5. Comparaison du NER chez les eucaryotes et les procaryotes.....	24
Conclusion.....	26
Références bibliographiques	27

Introduction

La préservation de l'intégrité génomique est fondamentale pour la survie et l'évolution des organismes vivants. Toutefois, les mutations, qui sont des altérations durables de la séquence d'ADN, jouent un rôle crucial dans le processus d'évolution biologique. Elles peuvent se produire spontanément ou à la suite d'une exposition à des agents mutagènes et peuvent avoir des conséquences variées, allant de la neutralité à des effets bénéfiques ou délétères d'où la nécessité de les prendre en charge pour préserver l'intégrité cellulaire (**Kong *et al.*, 2012**). Ainsi, les cellules, aussi bien eucaryotes que procaryotes, ont développé des mécanismes de réparation d'ADN très efficaces et hautement régulés.

Chez les bactéries, le système de réparation par excision de nucléotides (NER) est l'un des mécanismes de réparation de l'ADN les plus polyvalents et essentiels. Ce système joue un rôle vital dans la réparation des dommages causés par des agents mutagènes tels que les radiations UV et les produits chimiques toxiques, contribuant ainsi à la résistance bactérienne aux environnements hostiles (**Grossman & Kovalsky, 2001 ; Nospikel, 2009**).

L'étude du fonctionnement du système de réparation NER chez les bactéries offre des perspectives importantes pour comprendre comment ces organismes maintiennent leur viabilité et s'adaptent aux changements environnementaux (**Grossman & Kovalsky, 2001**). L'objectif principal de ce mémoire est de fournir une analyse détaillée du système NER chez les bactéries. Pour ceci, notre manuscrit s'articule sur trois principaux chapitres :

Le chapitre 1 traite l'acide désoxyribonucléique (ADN), abordant sa structure, ses composants, et son rôle dans la transmission et l'expression de l'information génétique. Ce chapitre fournit le contexte nécessaire pour comprendre les bases moléculaires des mécanismes de réparation de l'ADN.

Le chapitre 2 examine les mutations de l'ADN et leurs conséquences. Il couvre les différents types de mutations, leurs causes, et leurs effets potentiels sur les organismes. Ce chapitre établit un lien entre les dommages à l'ADN et la nécessité de systèmes de réparation efficaces comme le système NER.

Le chapitre 3 se concentre spécifiquement sur le système NER chez les bactéries. Il détaille les mécanismes enzymatiques et les interactions protéiques impliquées dans la détection et la réparation des dommages à l'ADN. Les sous-types de NER, tels que la réparation globale du génome (GG-NER) et la réparation couplée à la transcription (TC-NER), sont également explorés. De plus, ce chapitre analyse les rôles spécifiques des protéines clés telles que UvrA, UvrB, UvrC, et UvrD, et compare les mécanismes de NER entre les bactéries et les eucaryotes, mettant en avant les similitudes et les différences.

Le manuscrit s'achève par une conclusion, mettant en lumière les points essentiels ressortis par cette étude et montrant l'importance vitale du système de réparation de l'ADN.

Chapitre 1
L'acide
désoxyribonucléique

1. Définition

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est la molécule qui porte l'information génétique de tous les organismes vivants, y compris les bactéries. Sa structure unique et complexe est à l'origine de la transmission et l'expression des gènes (Watson & Crick, 1953).

2. La structure de L'ADN

2.1 Les nucléotides

L'ADN est un polymère composé de monomères appelés nucléotides. Chaque nucléotide est constitué de trois éléments :

Un sucre : le désoxyribose dans l'ADN.

Un groupement phosphate.

Une base azotée : qui existe en quatre types - Adénine (A), Guanine (G), Cytosine (C) et Thymine (T) - qui se lient entre elles par des liaisons hydrogène selon la règle de complémentarité (A avec T et C avec G) (Figure 1) (Saenger, 1984).

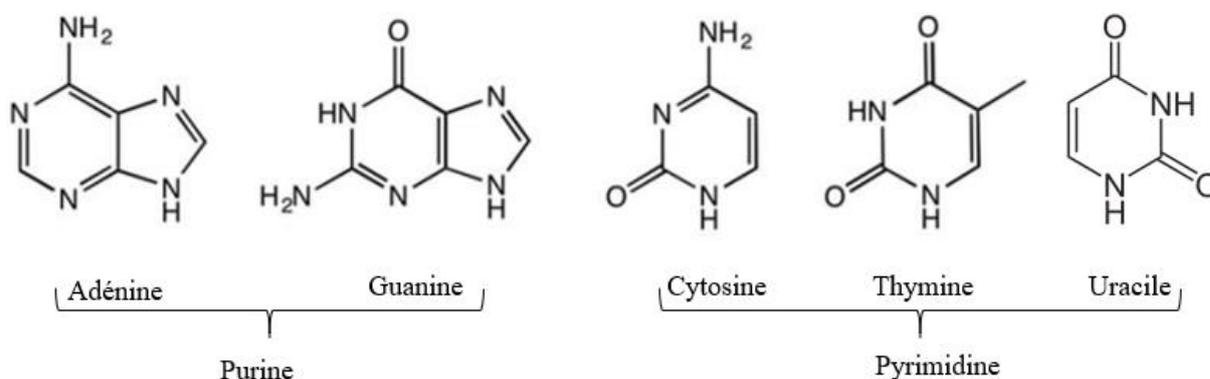


Figure 1 : Structures et classifications des bases nucléiques : Pyrimidines et Purines (Stojković & Fujimori, 2017)

2.2 Les liaisons chimiques : la clé de la structure de l'ADN

Les nucléotides servent de fondations fondamentales pour l'architecture des acides nucléiques, tels que l'ADN. Étant un long polymère, l'ADN est formé par la liaison covalente des sous-unités de nucléotides, où le groupement phosphate attaché au sucre désoxyribose du premier nucléotide se lie au groupement hydroxyle sur le sucre désoxyribose du nucléotide suivant, par une liaison phosphodiester.

En parallèle, les liaisons non covalentes sont essentielles pour la spécificité de l'appariement des bases et la réplication de l'ADN.

En effet, elles permettent une séparation et une réassociation relativement facile des brins d'ADN et sont d'une importance significative dans les domaines de la chimie, de la physique et en particulier dans le domaine des biodisciplines. Ces liaisons, telles que les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques, se forment entre différentes parties de la molécule d'ADN, influençant ainsi sa structure tridimensionnelle (**Cerný & Hobza, 2007**).

Ainsi, tant les liaisons covalentes que non covalentes sont essentielles à la structure et à la fonction de l'ADN, garantissant son intégrité et sa capacité à stocker et à transmettre l'information génétique (**Cooper, 2007**).

2.3 La double hélice

L'ADN adopte une structure en double hélice, une forme fondamentale assurant aussi bien sa fonction que sa protection. Dans cette structure, le squelette sucre-phosphate est exposé à l'extérieur de la molécule et les bases azotées sont positionnées à l'intérieur, de manière à former des liaisons hydrogène spécifiques entre les purines et les pyrimidines situées sur les brins antiparallèles (**Watson & Crick, 1953**).

La structure en double hélice de l'ADN est essentielle à sa capacité de réplication et de transmission de l'information génétique aux générations futures (**Uzman, 2003**). Elle est également l'un des moyens assurant sa protection. Cependant, des lésions et des erreurs peuvent toujours atteindre la molécule d'ADN et changer son expression voir même l'inhiber.

2.4 Les dommages à l'ADN

Les lésions de l'ADN sont l'un des principaux facteurs contribuant à l'émergence d'une série de maladies chez l'être humain et chez les bactéries. Elles peuvent être classées en deux grandes catégories, en fonction de leur origine et de leur localisation : les lésions endogènes et les lésions exogènes.

Les dommages endogènes sont principalement liés à l'interaction chimique de l'ADN à l'intérieur des cellules avec l'eau et les espèces réactives de l'oxygène (ROS *Reactive Oxygen Species*) : ils impliquent des réactions hydrolytiques et oxydatives.

La seconde catégorie, exogène, est provoquée suite à l'exposition à des agents environnementaux tels que les rayons solaires ultraviolets, les radiations ionisantes et les produits chimiques, dont le benzopyrène, les agents alkylants, les composés de platine et les psoralènes.

Ces agents environnementaux peuvent provoquer diverses formes de dommages à l'ADN, allant d'une lésion de base simple déformant l'hélice, des sites abasiques, des liaisons croisées, jusqu'à des ruptures de liaisons phosphodiester, touchant un seul brin (SSB pour *Single Strand Break*) ou les deux brins (DSB pour *Double Strand Break*) (Abbotts & Wilson 3rd, 2017; Chatterjee & Walker, 2017; Chistiakov *et al.*, 2008).

2.5 Les caractéristiques importantes de la structure de l'ADN

La structure de l'ADN présente plusieurs caractéristiques importantes qui contribuent à sa fonction biologique. Le diamètre de la double hélice est d'environ 2 nanomètres, ce qui lui confère une compacité significative tout en permettant l'accès des enzymes et des protéines nécessaires aux divers processus. La longueur d'un tour complet de l'hélice est d'environ 3,4 nanomètres, ce qui est essentiel pour la compacité de l'ADN dans le noyau cellulaire des eucaryotes et dans les cellules microscopiques des procaryotes. De plus, il y a environ 10 paires de bases par tour d'hélice, ce qui détermine la stabilité et la régularité de la structure. Enfin, le sens de l'enroulement de la double hélice est antiparallèle (les deux brins d'ADN s'enroulent en sens inverse) et dextrogyre, c'est-à-dire dans le sens des aiguilles d'une montre, ce qui a des implications importantes pour les processus de réplication et de transcription de l'ADN. Ces caractéristiques structurelles sont fondamentales pour la fonction de l'ADN en tant que support de l'information génétique et pour sa capacité à être transmis de manière fiable lors des processus cellulaires (Uzman, 2003).

3. Le rôle de l'ADN dans la transmission et l'expression de l'information génétique

La découverte de la nature et du rôle de l'ADN et des protéines a permis une nouvelle compréhension des phénomènes biologiques. En pratique, cependant, il existe une certaine tendance à associer le terme biologie moléculaire principalement à l'étude des gènes apparentés et à la régulation de leur conversion protéique. En fait, l'ADN est le support de l'information génétique héréditaire. Il contient les instructions nécessaires à la synthèse des protéines, qui sont les éléments constitutifs et les outils fonctionnels de la cellule (Raphaël & Coquoz, 2003).

3.1 Le rôle de l'ADN dans la transmission de l'information génétique

La réplication de l'ADN est un processus semi-conservatif dans lequel chaque brin parental sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire. L'enzyme centrale invoquée est l'ADN polymérase, qui catalyse l'assemblage des désoxyribonucléosides 5'-triphosphates (dNTP) pour former la chaîne d'ADN en croissance (Figure 2) (Cooper, 2007).

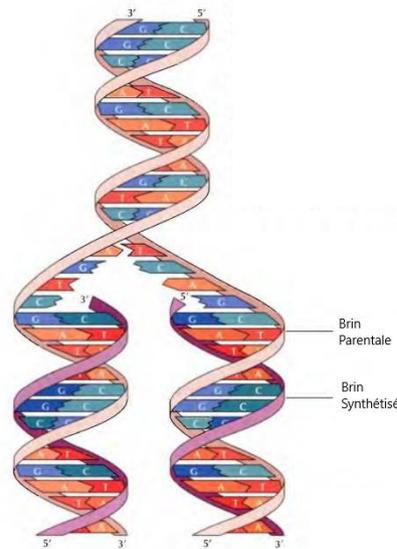


Figure 2 : La réplication semi-conservative de l'ADN (Cooper, 2007)

Néanmoins, la réplication de l'ADN est bien plus complexe qu'une simple réaction enzymatique. D'autres protéines interviennent telles que : les hélicases, les primases et les topoisomérases. De plus, un mécanisme initial de correction d'erreur est exclusivement assuré par l'ADN polymérase et joue un rôle primordial dans la fidélité de la transmission de l'information génétique (Cooper, 2007).

Pour comprendre pleinement la complexité de la réplication de l'ADN, il est essentiel de se pencher, même brièvement, sur les fonctions spécifiques de ces protéines - hélicases, primases, topoisomérases, et ADN polymérase - et leur contribution cruciale à la précision et l'efficacité de ce processus vital :

- **Les hélicases** déroulent l'hélice d'ADN pour permettre aux autres enzymes d'accéder aux brins d'ADN. Elles séparent les deux brins d'ADN, permettant ainsi à la machinerie de réplication de progresser le long de l'ADN (Kaguni, 2011).
- **Les primases** synthétisent de courtes séquences d'ARN appelées amorces, qui sont nécessaires pour initier la synthèse de l'ADN par l'ADN polymérase. Elles fournissent donc le point de départ pour la réplication de l'ADN (Frick & Richardson, 2001).
- **Les topoisomérases** aident à prévenir le surenroulement ou l'emmêlement de l'ADN qui résulte de son déroulement par les hélicases. Elles coupent temporairement les brins d'ADN pour permettre leur passage l'un autour de l'autre, puis les reconnectent, facilitant ainsi la progression de la réplication sans tension (Chen *et al.*, 2013).

- **L'ADN polymérase** joue un rôle crucial en ajoutant de nouveaux nucléotides aux amorces d'ARN pour synthétiser les nouveaux brins d'ADN. Sa capacité de correction d'erreurs assure la fidélité de la réplication, maintenant l'intégrité de l'information génétique (**Patel et al., 2011**).

3.1.1 Les étapes de réplication

Étape d'initiation

L'initiation de la réplication de l'ADN est un processus hautement régulé impliquant

- **Sélection de l'origine de réplication** : La première étape implique la reconnaissance des origines de réplication par le complexe protéique ORC (*Origin Recognition Complex*). Ce complexe identifie les séquences spécifiques d'origines de réplication et s'y lie pour initier le processus de réplication (**Parker et al., 2017**).

- **Recrutement de l'hélicase** : Une fois l'origine de réplication reconnue, l'hélicase est recrutée sur l'ADN à cet endroit spécifique. Cette étape critique nécessite l'hydrolyse de l'ATP, permettant à l'hélicase d'opérer la séparation des deux brins d'ADN. Cela forme une structure connue sous le nom de « fourche de réplication » (**Costa et al., 2013**).

- **Synthèse des amorces d'ARN** : La primase synthétise de courtes séquences d'ARN appelées amorces, qui fournissent un point de départ pour l'ADN polymérase. Cette étape est cruciale pour initier la synthèse de l'ADN sur les modèles de brins simples résultant de l'activité de l'hélicase (**Mitkova et al., 2003**).

Étape d'élongation

L'élongation, phase centrale de la réplication de l'ADN, implique une série de processus hautement coordonnés assurés par les polymérases d'ADN. Ces enzymes ajoutent des nucléotides complémentaires aux brins matrices, en se conformant à des mécanismes distincts pour les deux brins d'ADN en réplication.

- **Synthèse du brin conducteur** : La polymérase d'ADN avance de manière continue le long du brin matrice (3'-5'), ajoutant des nucléotides en suivant la direction de la fourche de réplication (**Sporbert et al., 2005**).

- **Synthèse du brin retardataire** : La complexité de réplication de ce brin est due à sa nature antiparallèle. Ceci nécessite la production de segments d'ADN, appelés fragments d'Okazaki, synthétisés grâce à l'intervention de la primase pour la création des amorces et de

la polymérase d'ADN pour l'élongation (Maga *et al.*, 2001).

Étape de terminaison

La réplication de l'ADN prend fin lorsque deux fourches de réplication se rencontrent ou atteignent des séquences spécifiques d'ADN appelées séquences terminatrices. À ce stade, plusieurs protéines interviennent pour désassembler les machines de réplication, séparer les molécules d'ADN répliquées, et résoudre les structures d'ADN restantes telles que les boucles ou les hélices. Parmi ces protéines clés impliqués :

- **Tus Proteins (*Termination Utilization Substance*)** : Ces protéines se lient aux séquences terminatrices et agissent comme des barrières pour les fourches de réplication, empêchant leur progression ultérieure (Hill & Marians, 1990).
- **Topoisomérases** : Après l'arrêt de la réplication, ces enzymes aident à démêler et à séparer les molécules d'ADN entrelacées, assurant que les deux hélices d'ADN filles sont correctement isolées l'une de l'autre (Wang, 2002).
- **Ligases** : Elles interviennent pour joindre les segments d'ADN nouvellement synthétisés, assurant une continuité sans faille de la molécule d'ADN (Martin & MacNeill, 2002).

3.2 Le rôle de l'ADN dans l'expression de l'information génétique

Pour accomplir son rôle crucial de stockage de l'information, l'ADN doit faire bien plus que simplement se répliquer avant chaque division cellulaire, comme nous l'avons décrit précédemment. Il doit également mettre cette information à profit, en l'utilisant pour diriger la synthèse d'autres molécules essentielles au fonctionnement de la machinerie cellulaire (Uzman, 2003).

Ce processus, connu sous le nom du « dogme central » et formulé par Francis Crick en 1957, décrit le flux unidirectionnel de l'information génétique de l'ADN vers l'ARN (ARN polymérase), et finalement vers les protéines (Cobb, 2017).

3.2.1 La transcription

Au cours du processus de transcription, des séquences d'ADN spécifiques se comportent en tant que modèle pour la synthèse de brins d'ARN, un polymère extrêmement apparenté mais distinct de l'ADN. L'ARN se dissocie de l'ADN sur quelques points-clés de sa structure chimique : il est créé de ribose au lieu de désoxyribose, et l'Uracile (U) remplace la Thymine (T) dans la

composition des nucléotides. Ces bases de l'ARN s'apparient avec les quatre bases de l'ADN complémentaires : Thymine, Adénine, Cytosine et Guanine, conduisant à la synthèse d'un brin d'ARN complémentaire au modèle d'ADN. Ainsi, la transcription accomplit une tâche essentielle Dans l'expression génique (Milligan *et al.*, 1987; Saecker *et al.*, 2011).

3.2.2. La traduction

Le processus de traduction du code génétique est l'un des plus importants et les plus énergivores de la vie. Les ribosomes sont responsables de cette opération, qui implique la lecture du message codé dans l'ARN messager (ARNm) et la synthèse des protéines par polymérisation séquentielle des acides aminés transportés par les ARN de transfert (ARNt), sous la forme d'aminoacyl-ARNt (ce compartiment est en réalité le véritable précurseur de la synthèse protéique) (Wilson & Nierhaus, 2007).

La traduction s'effectue en quatre étapes majeures (Figure 3) :

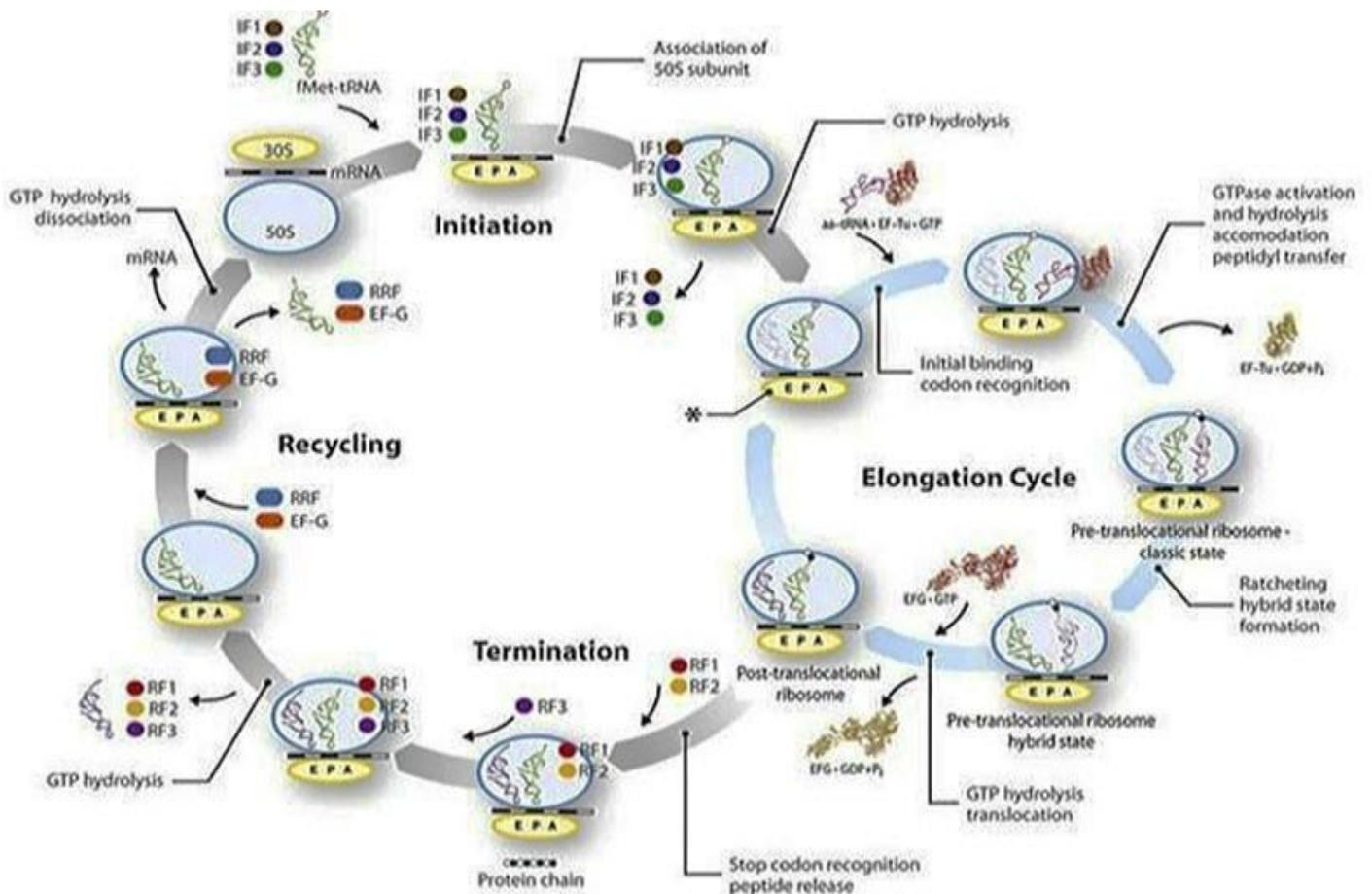


Figure 3 : Schéma de la synthèse protéique bactérienne (Agirrezabala & Frank, 2010)

L'ADN, malgré ses mécanismes de protection et ses systèmes de réparation cellulaire, demeure tout de même sensible aux mutations. Ces altérations qu'on a déjà mentionnées, peuvent résulter d'erreurs de réplication ou d'agressions environnementales externes, remettant en cause l'intégrité de la séquence génomique et pouvant avoir un impact sur la viabilité et l'évolution de l'organisme (**Tomasetti *et al.*, 2017**).

Chapitre 2
Les mutations de
l'ADN et leurs
conséquences

Les mutations, qui sont des altérations durables de la séquence d'ADN, sont d'une importance capitale dans le processus d'évolution biologique et peuvent potentiellement être associées à l'apparition de maladies dans certains cas (**Kong *et al.*, 2012**).

1. Définition

Une mutation peut être définie comme le changement permanent de la séquence d'ADN héréditaire de l'organisme, influençant sa structure et son expression (**Cooper *et al.*, 2011**). Cette modification peut se produire de deux façons : soit spontanément, ou à la suite d'une exposition à un agent dit mutagène. Chacune d'entre elles est engendrée par des mécanismes spécifiques et se distingue par des conséquences particulières.

- **Mutations spontanées**

Les mutations spontanées, comme leur nom l'indique, sont celles qui se produisent de manière aléatoire. Elles peuvent résulter d'une erreur de réplication de l'ADN, d'une réparation imparfaite de ce dernier, ou même suite à une réaction chimique inadéquate comme la désamination (**Duncan & Miller, 1980; Sargentini & Smith, 1985**). Ramel (1989) souligne que, bien que la nature des mutations spontanées puisse être de forme diverse, elles occupent une position prépondérante dans l'évolution et la diversité biologique puisqu'elles introduisent de nouvelles variations génétiques dans la population.

- **Mutations induites**

Les mutations induites sont causées par des facteurs externes tels que les radiations, les produits chimiques mutagènes et certains virus. Ces agents peuvent endommager directement l'ADN ou interférer avec les mécanismes de réplication et de réparation de ce dernier, augmentant ainsi le taux de mutations. Par exemple, les radiations ionisantes et certains produits chimiques induisent des cassures de brins d'ADN ou des modifications de bases nucléotidiques, entraînant des mutations significatives (**Lee *et al.*, 2019; Vogel & Motulsky, 1997**).

Les mutations peuvent présenter une gravité variable, allant de légère à modérée, en fonction de leur emplacement spécifique dans le génome.

2. Les types de mutations

Les types de mutations incluent :

- **Substitutions de paires de bases** : Remplacement d'une paire de bases par une autre, pouvant entraîner des mutations silencieuses, des mutations faux-sens, ou des mutations non-sens (**Gorlov *et al.*, 2006**) .
- **Insertions et délétion** : Additions ou suppressions d'un ou plusieurs nucléotides, conduisant à un décalage du cadre de lecture, et cela peut même impliquer le squelette (**Loewe *et al.*, 2006**).
- **Inversions** : Renversement de l'ordre des nucléotides dans un segment de l'ADN (**Ohta, 1973**).
- **Transposition** : Déplacement d'une portion d'ADN d'un chromosome à un autre (**Hershberg, 2015**).

Outre les mutations les plus courantes, telles que les substitutions de bases ou les insertions/délétions, les cassures de l'ADN représentent une forme d'altération génétique d'une grande importance. Les cassures simple brin (SSB *Single Strand Break*) et double brin (DSB *Double Strand Break*) peuvent être causées par certains stress physiques et chimiques, y compris l'exposition aux radiations et aux autres mutagènes (**Jackson, 2002**).

Un ensemble imbriqué de mécanismes de surveillance du génome contrebalance collectivement les conséquences des agressions génomiques, notamment la réparation par excision de bases (BER) et la réparation par excision de nucléotides (NER), toutes deux dédiées à l'élimination des lésions simple brin (**Essers *et al.*, 2006**). Par ailleurs, les mécanismes de réparation des cassures double brin (DSB), tels que la jonction des extrémités non homologues (NHEJ) et la recombinaison homologe (HR), sont utilisés pour réparer les cassures double-brins (Figure 4) (**Pitcher *et al.*, 2005**).

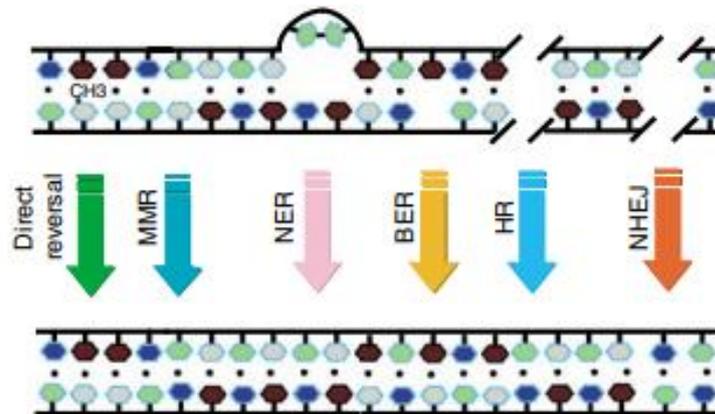


Figure 4 : Les voies de réparation des lésions de l'ADN (Hakem, 2008)

2.1 Les Cassures Simple Brin

Les cassures simple brin de l'ADN sont la forme la plus courante de dommage observé et leur réparation est essentielle pour le maintien de la stabilité génomique.

Les cassures simple brin (SSB), comme leur nom l'indique, sont une discontinuité d'un des deux brins de la double hélice d'ADN, souvent associée à la perte d'un ou plusieurs nucléotides et aux dommages des terminaux 5' ou 3' du point de rupture. Ces types de dommages constituent une menace sérieuse pour la stabilité du génome et la survie cellulaire. Si elles ne sont pas corrigées rapidement après leur apparition ou si leur élimination est mal coordonnée, elles peuvent bloquer des processus tels que la transcription et la réplication, et se convertir en des cassures double-brins de l'ADN (DSB) clastogènes et/ou létales (Caldecott, 2008).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) endogènes sont la cause principale des cassures simple brins. Ces cassures sont beaucoup plus fréquentes, avec une fréquence de trois ordres de grandeur supérieure à celle des cassures doubles brin.

Les cassures simple brin (SSB) peuvent résulter soit de la dégradation des sucres oxydés, soit d'un sous-produit de la réparation des bases de l'ADN lors de la réparation des bases oxydées, des sites abasiques ou d'autres bases endommagées ou modifiées (Caldecott, 2008).

2.1.1 La réparation des cassures simple brin

Les SSB sont réparées par un processus global de réparation des cassures simple brin extrêmement efficace et rapide, connu sous le nom de *Single-Strand Break Repair* (SSBR). Ce processus comprend les quatre étapes principales suivantes (Caldecott, 2014):

- **La détection de la SSB** : La cellule localise la cassure dans le brin d'ADN.

- **La modification des extrémités de l'ADN :** Les extrémités sont traitées par des enzymes afin d'être réparées.
- **Le comblement des trous dans l'ADN :** Les ADN polymérase comblent le trou en insérant les nucléotides appropriés complémentaires au brin intact.
- **La ligation de l'ADN :** La cassure est scellée par l'ADN ligase, ce qui rétablit l'intégrité de l'ADN.

La principale méthode pour traiter ces ruptures est la réparation par excision de base (BER), qui ciblent les changements plus petits et subtils tels que les bases oxydées. Le BER suit le même processus de réparation en quatre étapes : détection, traitement des extrémités, comblement des lacunes et ligature, chacune d'entre elles étant conçue pour traiter les lésions non déformantes (**Dianov & Lindahl, 1994**).

À l'inverse, la réparation par excision des nucléotides (NER) vise les lésions plus visibles, qui déforment l'hélice, causées par la lumière UV et les facteurs environnementaux. Le système NER utilise un processus similaire en quatre étapes : reconnaissance, excision, synthèse et ligature, mais il adapte chaque étape pour gérer les lésions plus volumineuses qui altèrent la structure (**McGregor, 2014**).

Bien que les deux voies exécutent les mêmes étapes fondamentales, celles-ci procèdent différemment, ce qui reflète leurs rôles spécialisés dans la défense cellulaire contre différents types de dommages génétiques (**Schaich & Van Houten, 2021**).

2.1.2 Comparaison entre BER et NER

- **La détection de la SSB**

BER : Cible les petites lésions des bases qui ne déforment pas l'hélice. La détection des dommages dans le BER est principalement facilitée par les glycosylases de l'ADN, qui reconnaissent et éliminent les bases endommagées, créant ainsi un site abasique.

NER : Se concentre sur les lésions volumineuses qui déforment l'hélice, telles que les dimères de pyrimidine formés par la lumière UV. La détection des dommages implique un complexe de protéines qui reconnaissent la distorsion de l'hélice d'ADN et vérifient la présence de dommages (**Schaich & Van Houten, 2021**).

- **La modification des extrémités de l'ADN**

BER : Après l'élimination de la base endommagée et la formation d'un site abasique, une endonucléase AP clive le squelette phosphodiester à cet endroit pour créer une cassure simple brin. Cette étape prépare l'ADN à la synthèse en fournissant une extrémité 3'-OH propre.

NER : Implique l'excision d'un oligonucléotide court qui contient la lésion. Des endonucléases spécifiques effectuent des incisions doubles de part et d'autre de la lésion, éliminant environ 24 à 32 nucléotides, y compris la lésion, et créant ainsi une brèche dans l'ADN (**Schaich & Van Houten, 2021**).

- **Le comblement des trous dans l'ADN**

BER : Lors de la réparation par excision de base (BER), une ADN polymérase insère un ou plusieurs nucléotides dans l'espace, selon qu'il s'agit d'un BER à patch court (insertion d'un seul nucléotide) ou à patch long (insertion de plusieurs nucléotides).

NER : Une ADN polymérase comble le vide laissé par l'oligonucléotide éliminé, en synthétisant une nouvelle portion d'ADN en utilisant le brin complémentaire non endommagé comme modèle. La nouvelle séquence peut être longue de plusieurs dizaines de nucléotides (**Schaich & Van Houten, 2021**).

- **La ligation de l'ADN**

BER et NER : L'étape finale du BER et du NER est similaire, impliquant une ADN ligase qui scelle le vide dans le squelette de l'ADN, achevant la réparation et ramenant l'ADN à son état intact (**Schaich & Van Houten, 2021**).

2.2 Les Cassures Double Brin

Les cassures double-brin (DSB) constituent la forme la plus dangereuse des dommages causés à l'ADN notamment car elles résultent de l'accumulation de cassures simple brin et de facteurs endogènes et exogènes. Si elles ne sont pas réparées, les DSB peuvent entraîner la mort cellulaire (**Pitcher et al., 2005**).

Une cassure double brin (DSB) de l'ADN se produit lorsque les deux brins complémentaires de la double hélice d'ADN se cassent en même temps à des endroits

suffisamment proches pour que l'appariement des bases et la structure de la chromatine soient incapables de maintenir l'alignement des extrémités de l'ADN (**Jackson, 2002**).

2.2.1 La réparation des cassures double brin

Les cellules ont développé deux voies principales pour réparer ces lésions : la recombinaison homologue (HR) et la jonction non homologue (NHEJ).

La voie HR utilise une séquence d'ADN intacte homologue au site DSB pour orienter la réparation et restaurer précisément la structure et la séquence de l'ADN.

En revanche, la voie NHEJ nécessite un appariement minimal des bases à la jonction. Les extrémités de l'ADN sont rapprochées et ligaturées directement sans avoir besoin d'une matrice. Ce mécanisme est sujet à des erreurs génétiques comme la délétion ou l'insertion d'un ou de plusieurs nucléotides (**Pitcher *et al.*, 2005**).

- **Recombinaison Homologue (HR)**

La HR répare une cassure dans une molécule d'ADN en utilisant une deuxième molécule homologue comme modèle pour la synthèse et la réparation de l'ADN endommagé, ce qui permet de récupérer l'information codante perdue au niveau du site de la cassure.

Bien que la HR ait le potentiel d'être une voie très précise et efficace de réparation des cassures génétiques chez les procaryotes, elle ne semble pas jouer un rôle majeur dans la réparation des cassures génétiques induites par les radiations chez les eucaryotes supérieurs, (**Hu, 2004**).

La HR est considérée comme une méthode plus spécifique pour réparer les DSB, car des séquences homologues sont utilisées pour initier la synthèse de réparation aux extrémités cassées du génome. Lorsque la correction est entièrement homologue, elle peut atteindre une précision totale (**Camenisch & Naegeli, 2009; Shrivastav *et al.*, 2008**).

- **La jonction d'extrémités d'ADN non homologues (NHEJ)**

Contrairement à la plupart des autres voies de réparation et de recombinaison de l'ADN, la jonction d'extrémités d'ADN non homologues (NHEJ) a évolué chez les procaryotes et les eucaryotes en raison de la flexibilité mécanique, de la sensibilité enzymatique et du traitement répétitif pour réparer les extrémités double brin de nombreux substrats d'ADN lors des cassures (DSB) (**Lieber, 2010**).

Les eucaryotes utilisent un grand nombre de facteurs pour réparer les cassures du NHEJ. En revanche, le complexe bactérien NHEJ est un système à deux composants qui, bien que relativement simple, possède toutes les activités de reconnaissance des cassures, de traitement final et de ligature nécessaires pour faciliter la tâche complexe de réparation des cassures génétiques (**Pitcher et al., 2007**).

Chez les eucaryotes, la première étape du NHEJ implique la reconnaissance des DSB par les hétérodimères Ku. Par la suite, la protéine Ku liée à l'ADN recrute l'ADN-PK_{CS} et pénètre dans le duplex via une rotation hélicoïdale, laissant l'ADN-PK_{CS} près des terminaisons de l'acide nucléique. Le rôle de l'ADN-PK_{CS} n'est pas entièrement compris, mais il est déjà clair que l'activité protéine kinase de cette sous-unité, en particulier sa réaction d'autophosphorylation, est nécessaire pour assurer une association réversible avec les extrémités de l'ADN et garantir une activité NHEJ efficace (**Camenisch & Naegeli, 2009**).

Il était largement admis que la voie de réparation NHEJ était absente chez les organismes procaryotes et archéens. Les cellules procaryotes reposent principalement sur une forme plus simple de réparation des cassures génétiques appelée recombinaison homologue (HR) ou réparation par recombinaison. Ce processus utilise une région homologue de l'ADN comme modèle pour réparer la cassure, garantissant ainsi une réparation précise (**Pitcher et al., 2007**).

3. Les conséquences des mutations

Les mutations génétiques ont une variété de conséquences qui dépendent du type de mutation, de son emplacement dans le génome et du rôle fonctionnel du gène affecté, variant d'effets minimes à significatifs sur l'organisme (**Domingo et al., 2019**).

- **Aucun Effet (Mutations Silencieuses)** : Beaucoup de mutations sont silencieuses, ce qui signifie qu'elles n'entraînent aucun changement dans la fonction de la protéine produite. Cela peut se produire par exemple si la mutation se situe dans une région non codante de l'ADN (**Czech et al., 2010**).
- **Effets Bénéfiques (Mutations Avantageuses)** : Certaines mutations peuvent conférer un avantage adaptatif à l'organisme. Ce type de mutation peut être sélectionné positivement dans certains environnements (**Imhof & Schlötterer, 2001**).

- **Maladies Génétiques** : De nombreuses maladies sont causées par des mutations dans des gènes spécifiques (**Veltman & Brunner, 2012**) comme :
 - **Syndrome de Bloom** : Chez les eucaryotes, des mutations dans le gène *BLM*, un homologue de la famille des hélicases RECQ, provoquent le syndrome de Bloom, caractérisé par une prédisposition élevée aux cancers et un vieillissement prématuré (**Kusano et al., 1999**).
 - **Instabilité des Microsatellites** : Chez les procaryotes et les eucaryotes, les répétitions de microsatellites peuvent causer une instabilité génomique. Par exemple, des mutations dans les gènes de réparation de l'ADN comme *MSH2* et *MLH1* chez les humains entraînent une instabilité des microsatellites et sont liées à divers cancers (**Strand et al., 1995**).
 - **Mutation dans les Enzymes de Méthylation de l'ARN** : Des mutations dans les enzymes de méthylation de l'ARN, présentes aussi bien chez les eucaryotes que chez les procaryotes, peuvent entraîner des maladies génétiques. Chez les eucaryotes, ces mutations peuvent perturber les processus cellulaires fondamentaux et conduire à des maladies, tandis que chez les procaryotes, la perte de méthylation de l'ARN peut être bénéfique, en particulier sous pression antibiotique (**Stojković & Fujimori, 2017**).
- **Mutations Létales** : Certaines mutations peuvent être tellement préjudiciables au développement ou à la fonction vitale qu'elles conduisent à la mort de l'organisme (**Papaioannou & Behringer, 2012**).
- **Variabilité Génétique D'un point de vue évolutif** : les mutations sont une source essentielle de variabilité génétique, qui sert de matériau pour la sélection naturelle. Sans mutations, l'évolution serait impossible. La variabilité génétique induite par les mutations permet aux populations de s'adapter à des environnements changeants et peut conduire à l'émergence de nouvelles espèces (**Caporale, 2003; Hershberg, 2015**).

Les mutations, qu'elles soient dues à des facteurs environnementaux ou à des erreurs de réplication, menacent la fidélité génétique. Chez les procaryotes, le système de réparation par excision de nucléotides (NER) joue un rôle crucial en reconnaissant et en excisant efficacement un large éventail de lésions de l'ADN, protégeant ainsi le génome des dommages potentiels et préservant les fonctions cellulaires (**Friedberg, 1996**).

Chapitre 3
Systeme NER chez
les bactéries

Les bactéries sont fréquemment exposées à divers agents mutagènes tels que les radiations ultraviolettes (UV) et les produits chimiques toxiques, qui peuvent endommager leur ADN. La réparation par excision de nucléotides (NER) est importante pour ces organismes car elle permet la détection et la réparation efficaces de ces lésions, préservant ainsi l'intégrité génomique et la viabilité cellulaire. En assurant la réparation des dommages à l'ADN, le système NER joue un rôle vital dans la résistance des bactéries aux environnements extrêmes et contribue à leur adaptation et à leur évolution continues (**Grossman & Kovalsky, 2001; Nospikel, 2009**).

1. Mécanisme général du système NER

1.1 Présentation du NER

La réparation par excision de nucléotides (NER) est un processus clé de réparation de l'ADN chez les bactéries. Ce mécanisme est connu pour sa capacité à détecter et à réparer une grande variété de lésions de l'ADN, ce qui en fait un des systèmes de réparation les plus polyvalents et les plus cruciaux pour la survie des bactéries dans des environnements souvent difficiles (**Grossman & Kovalsky, 2001**).

1.2. Description générale des composants et du fonctionnement du NER

Le NER implique une série de réactions enzymatiques coordonnées par des complexes multiprotéiques. Le processus de réparation de l'ADN par le NER suit plusieurs étapes distinctes :

- 1. Détection des dommages :** Les protéines de réparation forment des assemblages macromoléculaires pour localiser et initier la réparation des dommages, en utilisant des réarrangements nucléoprotéiques alimentés par l'hydrolyse de l'ATP (**Kisker *et al.*, 2013**).
- 2. Incision :** L'ADN est incisé de chaque côté du dommage par des nucléases spécifiques (**Kisker *et al.*, 2013**).
- 3. Excision :** Le fragment endommagé est excisé et éliminé (**Kisker *et al.*, 2013**).
- 4. Synthèse de réparation :** Une nouvelle séquence d'ADN est synthétisée pour combler le vide laissé par l'excision en utilisant le brin complémentaire non endommagé comme modèle (**Kisker *et al.*, 2013**).
- 5. Ligation :** Les nouveaux brins d'ADN sont ligaturés pour restaurer l'intégrité de la molécule d'ADN (**Kisker *et al.*, 2013**).

Les principaux composants impliqués dans ce processus chez les bactéries comprennent les protéines UvrA, UvrB, UvrC et UvrD. UvrA et UvrB forment un complexe pour détecter les dommages. En effet, alors que la protéine UvrC réalise les incisions, UvrD aide à dérouler l'ADN pour permettre l'excision du fragment endommagé (Figure 5) (Kisker *et al.*, 2013).

L'abréviation " Uvr " pour "Ultraviolet Resistance " provient du rôle de ces protéines dans la réparation des dommages causés par les ultraviolets (UV) sur l'ADN, une fonction initialement étudiée chez *Escherichia coli* (Thomas *et al.*, 1985).

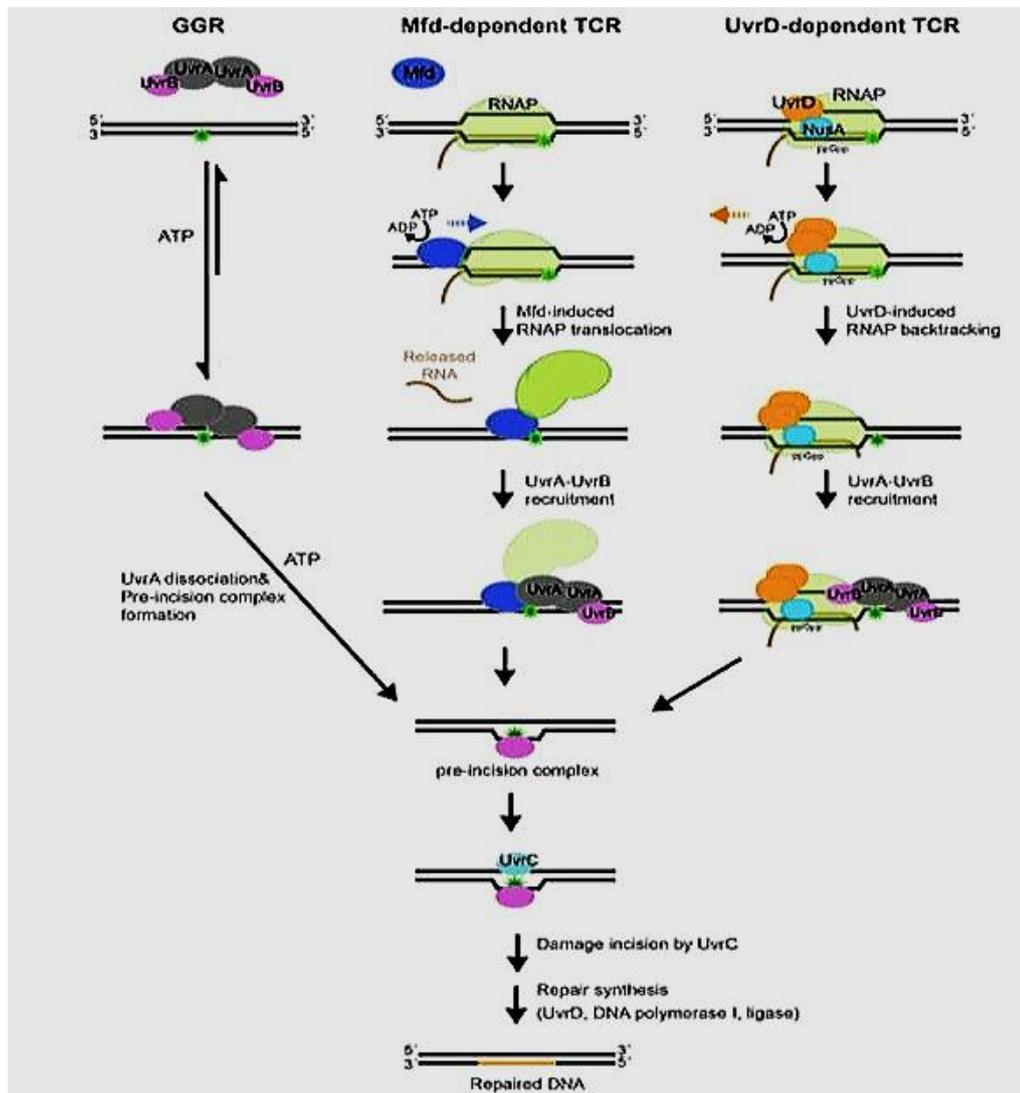


Figure 5 : Les voies de réparation par excision de nucléotides (NER)
(Kraithong *et al.*, 2021)

2. Les types de NER chez les bactéries : GG-NER et TC-NER

La réparation de l'ADN par le NER est initiée par deux voies principales chez les procaryotes (Figure 6).

2.1. Réparation globale du génome (GG-NER) : La GG-NER (*Global Genome Nucleotide Excision Repair*) est responsable de la réparation des dommages sur l'ensemble du génome, y compris les régions non transcrites. Ce sous-type de NER assure la surveillance et la correction des dommages causés par des agents externes tels que les radiations UV, qui induisent la formation de dimères de pyrimidine.

Le système GG-NER est crucial pour maintenir la stabilité génomique globale et permet aux bactéries de survivre dans des environnements hostiles (**Nouspikel, 2009**).

2.2. Réparation couplée à la transcription (TC-NER) : La TC-NER est spécifiquement associée à la transcription. Elle intervient préférentiellement à la suite de dommages affectants les brins transcrits de gènes actifs. Lorsqu'une lésion d'ADN bloque la progression de l'ARN polymérase, une protéine de couplage à la réparation transcriptionnelle (TRCF (*Transcription Repair Coupling Factor*)), également connue sous le nom de Mfd (*Mutation Frequency Decline*), déloge l'ARN polymérase et recrute les composants du système NER pour réparer la lésion. Ce mécanisme assure la réparation rapide des gènes en cours de transcription, ce qui est essentiel pour la survie cellulaire et l'efficacité transcriptionnelle sous des conditions de stress (**Jaciuk et al., 2020**).

La réparation de l'ADN par le biais du système NER est initiée par deux voies principales chez les procaryotes. Premièrement, l'UvrA agit en collaboration avec l'UvrB pour détecter les dommages. De plus, si le dommage est rencontré pour la première fois par l'ARN polymérase (RNAPol) bloquée sur le site du dommage, l'action du facteur de couplage de réparation de la transcription est nécessaire pour libérer le RNA Pol bloqué et recruter la machinerie UvrAB pour l'endommager. Les étapes suivantes du processus sont les mêmes. La lésion se propage de la protéine UvrA à la protéine UvrB, ce qui sépare les deux brins d'ADN pour examiner l'emplacement de la lésion, déclenchant ainsi la libération d'UvrA. La protéine UvrB constitue un support solide pour l'arrivée de l'UvrC sur l'ADN. L'UvrC contient deux domaines nucléases capables de cliver 8 nucléotides en 5' et 4 à 5 nucléotides en 3' du phosphodiester de la clé endommagée (**Kisker et al., 2013**).

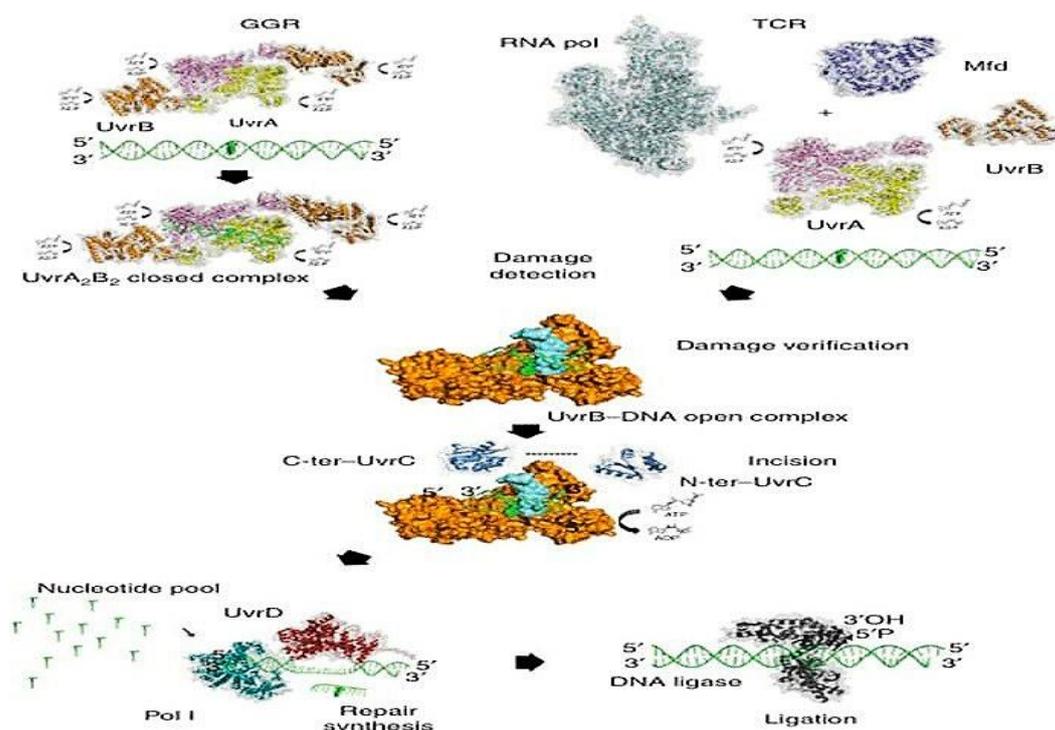


Figure 6 : Représentation schématique des voies NER chez les procaryotes

(Kisker *et al.*, 2013)

3. Rôle du NER dans la survie des bactéries

3.1. Impact sur la résistance aux agents mutagènes : Le NER joue un rôle essentiel dans la résistance bactérienne aux agents mutagènes en réparant les dommages à l'ADN qui, autrement, conduiraient à des mutations létales ou à une perte de fonction génétique. En réparant efficacement les lésions causées par des agents tels que les UV ou les produits chimiques toxiques, les bactéries peuvent maintenir leur viabilité et leur fonction biologique même sous des conditions environnementales défavorables (Nouspikel, 2009).

3.2. Contribution à l'adaptation et à l'évolution bactérienne : Le NER contribue également à l'adaptation et à l'évolution bactérienne en permettant aux bactéries de réparer les dommages à l'ADN, favorisant ainsi leur survie et leur reproduction dans des environnements changeants. Par exemple, les bactéries exposées à des niveaux élevés de radiations UV ou à des polluants chimiques peuvent utiliser le NER pour réparer les dommages causés à leur ADN, ce qui leur permet de s'adapter et d'évoluer dans ces environnements difficiles (McGregor, 2014).

Alors que nous avons exploré l'importance vitale du système NER pour la survie et l'adaptation bactérienne face aux dommages de l'ADN, il est maintenant essentiel d'examiner en profondeur le rôle des protéines clés qui orchestrent ce processus complexe.

Afin de saisir pleinement la robustesse et l'efficacité du mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER) chez les bactéries, il est crucial d'analyser en détail les rôles spécifiques des protéines clés impliquées ainsi que les différentes étapes de ce processus essentiel pour le maintien de l'intégrité génomique (**Jaciuk et al., 2020**).

4. Protéines clés du NER chez les bactéries

Le système NER chez les bactéries repose sur l'action coordonnée de plusieurs protéines essentielles : UvrA, UvrB, UvrC et UvrD. Ces protéines jouent chacune un rôle crucial dans les différentes étapes du processus de réparation. UvrA est impliquée dans la détection initiale des dommages, se liant aux sites endommagés de l'ADN. UvrB est ensuite recrutée pour vérifier et stabiliser la lésion. UvrC est responsable des incisions de l'ADN de chaque côté du dommage, tandis qu'UvrD, une hélicase, retire le fragment d'ADN endommagé en déroulant l'ADN (Figure 7) (**Springall et al., 2018**).

4.1. Description des fonctions des protéines Uvr :

UvrA :

UvrA est la première protéine à intervenir dans le processus NER en détectant les dommages à l'ADN. Cette protéine forme un dimère et se lie aux sites endommagés de l'ADN avec une affinité légèrement supérieure à celle des sites non endommagés. UvrA appartient à la super-famille des ATP-binding cassettes (ABC) et possède deux domaines de liaison à l'ATP (NBD-I et NBD-II) essentiels pour sa fonction. La liaison de l'ATP à UvrA favorise sa dimérisation, nécessaire pour la reconnaissance des dommages. UvrA induit une courbure de l'ADN d'environ 55 degrés et le dénature localement, facilitant ainsi l'accès des autres protéines du NER au site endommagé. Le gène *uvr A* fait partie des gènes SOS (*Save OurSelves*), qui sont induits par des agents causant des dommages à l'ADN. Le gène *uvr A* (2,82 kbp) code pour une protéine de 940 acides aminés (103 874 Da) et contient deux motifs de liaison à l'ATP, deux motifs de type zinc-finger, et un motif hélice-tour-hélice (**Houten, 2013**).

UvrB :

UvrB est recrutée par UvrA après la détection initiale des dommages. Elle possède une activité ATPase cryptique qui est activée lors de son interaction avec UvrA et l'ADN. UvrB est responsable de la vérification précise des dommages et de la stabilisation de la zone lésée. Elle forme un complexe stable avec l'ADN endommagé, souvent appelé complexe pré-incision.

UvrB contient plusieurs motifs hélicase et un motif β -hairpin qui jouent un rôle crucial dans la fixation et la déformation de l'ADN. Ce motif β -hairpin est essentiel pour la reconnaissance et la stabilisation des lésions, permettant à UvrB de distinguer les brins endommagés des brins non endommagés. Le gène *uvr B* est également un membre du régulon SOS et est inductible par les dommages à l'ADN. Il est transcrit à partir de deux promoteurs chevauchants, P1 et P2, et code pour une protéine de 673 acides aminés (76,6 kDa) (**Houten, 2013**).

UvrC :

UvrC est recrutée par UvrB au site des dommages et réalise les incisions de l'ADN de chaque côté de la lésion. UvrC contient deux domaines nucléase distincts responsables des coupures en 5' et en 3' du site endommagé. Le domaine N-terminal d'UvrC est responsable de l'incision en 3', tandis que le domaine C-terminal s'occupe de l'incision en 5'. UvrC forme un complexe avec UvrB et l'ADN endommagé, et ses activités nucléase sont essentielles pour l'excision du fragment d'ADN lésé. La spécificité de ces coupures dépend du contexte de la séquence d'ADN et du type de dommage présent (**Springall et al., 2018 ; Houten, 2013**).

UvrD :

UvrD, également connue sous le nom d'hélicase II, est une enzyme cruciale dans le processus post-excisionnel du NER. UvrD est une hélicase dépendante de l'ATP qui déroule l'ADN dans la direction 3' vers 5'. Après les incisions réalisées par UvrC, UvrD retire le fragment d'ADN endommagé, facilitant ainsi le remplacement de ce fragment par un nouvel ADN. De plus, UvrD aide à recycler les protéines UvrC, permettant leur dissociation du complexe d'ADN post-incisionnel (**Kisker et al., 2013**).

4.2. Rôles de Pol I et Lig A dans la phase post-excisionnelle du NER

Après l'excision du fragment d'ADN endommagé, l'ADN polymérase I (Pol I) entre en jeu pour synthétiser un nouveau brin d'ADN en utilisant le brin intact comme modèle. Pol I remplit le vide laissé par l'excision, ajoutant de nouveaux nucléotides pour reconstruire la séquence génétique d'origine. Enfin, la ligase (Lig A) scelle le brin d'ADN nouvellement synthétisé, rétablissant l'intégrité de la molécule d'ADN. Cette étape finale est cruciale pour compléter le processus de réparation et assurer la continuité de l'information génétique (Kisker *et al.*, 2013).

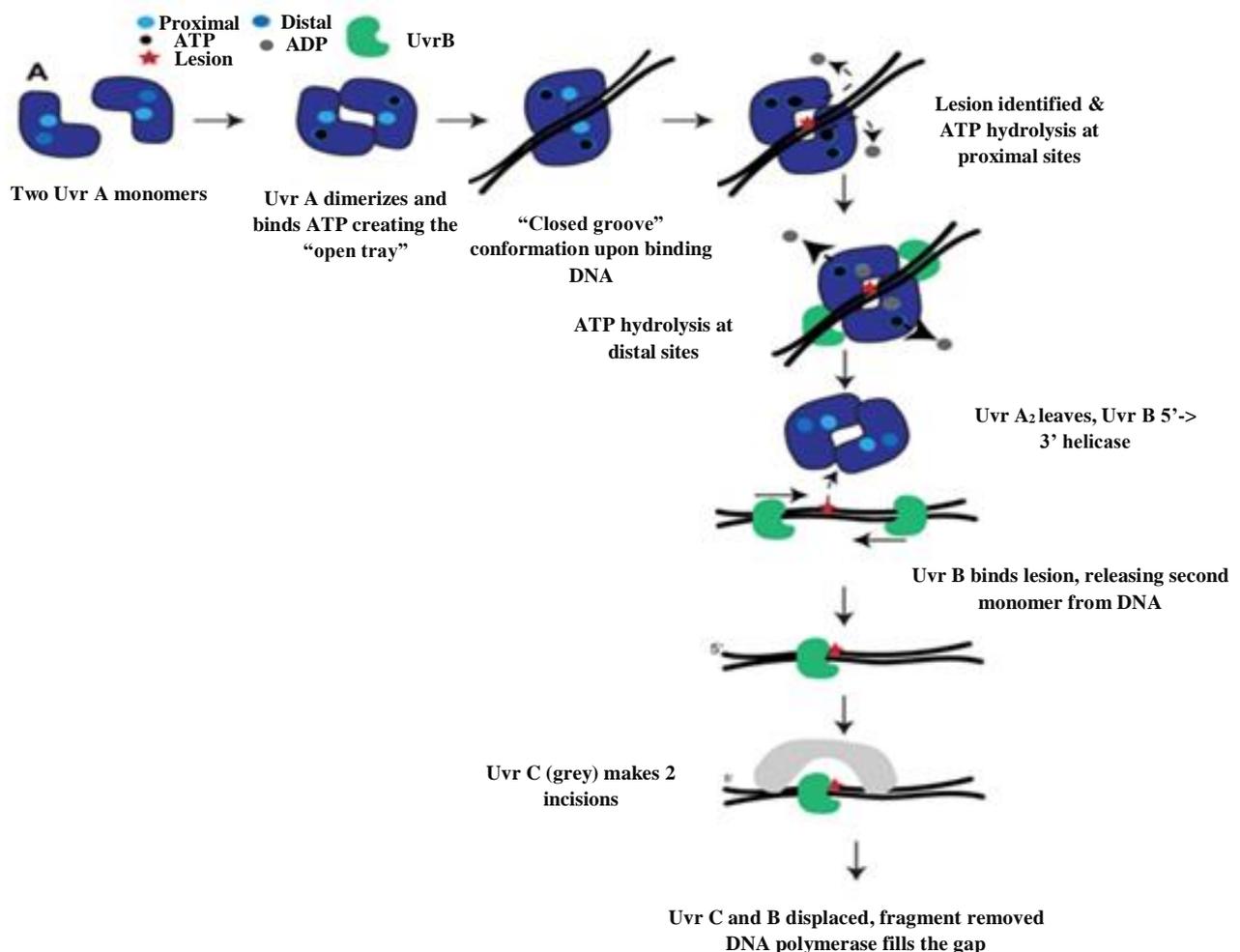


Figure 7 : Représentation schématisée de l'intervention successive des protéines Uvr au moment de la réparation par le système NER (Wozniak & Simmons, 2022)

5. Comparaison du NER chez les eucaryotes et les procaryotes

Les étapes de NER sont conservées entre les eucaryotes et les procaryotes, mais ils diffèrent en termes de complexité et de spécificité. Les bactéries utilisent principalement les protéines UvrA, UvrB, UvrC et UvrD, tandis que les eucaryotes emploient jusqu'à 30 protéines, reflétant l'organisation plus complexe de ces derniers. A ce jour, le rôle exact de chaque protéine n'a pas été entièrement déterminé, mais des schémas d'action généraux ont émergé (**Kisker *et al.*, 2013**).

La détection des dommages est initiée par le complexe XPC-RAD23B. Dans le contexte des dommages à la chromatine et à l'ADN induits par les UV, ce processus est facilité par le complexe hétérodimère DDB1-DDB2 (UV-DDB), dont DDB2 est responsable de la fixation des lésions. Après cette étape, le facteur de transcription général TFIIH est recruté au niveau de la lésion par le complexe XPC-Rad23B. À l'intérieur de TFIIH, deux hélicases à polarité opposée, XPB et XPD, se chargent de fixer TFIIH au site de la lésion, poursuivant le déroulement de l'ADN et vérifiant les dommages. XPB est responsable de la première phase d'accrochage et XPD est responsable des deux dernières phases. Outre XPD, XPA serait également impliqué dans la vérification des dommages. Cependant, les actions détaillées qui ont conduit à la compromission de la vérification restent floues. La dernière étape est déclenchée par le recrutement des deux endonucléases XPG et XPFERCC1 (**Kuper & Kisker, 2012**).

Cette différence reflète les besoins évolutifs distincts et les environnements variés dans lesquels ces organismes vivent.

6. Si le NER n'existait pas, que serait devenu la cellule ?

Si le NER (réparation par excision de nucléotides) n'existait pas, les cellules seraient incapables de détecter et de réparer une grande variété de lésions de l'ADN, notamment celles causées par les radiations UV et les produits chimiques toxiques. Les mutations délétères résultantes mettraient souvent les cellules dans un état de stress, compromettant leur survie et leur fonctionnalité.

Sans le NER, les cellules perdraient un des mécanismes les plus efficaces qui lui permettent de préserver sa vie. En conséquence, les dommages à l'ADN s'accumuleraient, menant à une intégrité génomique compromise et à une fréquence élevée de mutations spontanées.

Les conséquences potentielles de l'absence de NER incluraient (**Arabet,2021**) :

- **Sénescence** : Les cellules endommagées pourraient entrer dans un état de dormance irréversible, empêchant toute division cellulaire future. Ce cas est particulièrement observé chez les bactéries.
- **Apoptose** : La cellule pourrait activer des mécanismes de « mort cellulaire programmée » pour se suicider et prévenir la propagation des dommages. Ce type de conséquence est surtout observé chez les eucaryotes.
- **Cancer** : L'incapacité à réparer l'ADN endommagé pourrait entraîner une division cellulaire incontrôlée, conduisant à la formation de tumeurs cancéreuses chez les organismes supérieurs.

Ainsi, sans le NER, la cellule serait vulnérable aux mutations délétères et incapable de maintenir son intégrité génomique, ce qui compromettrait gravement sa survie et son adaptation aux Milieux défavorables. Les mécanismes de réparation de l'ADN, comme le NER, sont donc essentiels pour préserver la viabilité cellulaire et la stabilité génétique.

Conclusion

Le système de réparation par excision de nucléotides (NER) chez les bactéries est un processus complexe et hautement efficace qui joue un rôle crucial dans la maintenance de l'intégrité génomique. En permettant la détection et la réparation des dommages à l'ADN, le NER est essentiel pour réparer les lésions de l'ADN et préserver la viabilité bactérienne, garantissant ainsi la capacité cellulaire à répondre aux défis environnementaux. Les protéines UvrA, UvrB, UvrC, et UvrD sont essentielles à ce processus, chacune ayant un rôle spécifique dans les différentes étapes de la réparation de l'ADN.

Les deux voies principales du NER, GG-NER et TC-NER, assurent respectivement, la réparation des dommages à travers le génome et, spécifiquement dans les gènes en cours de transcription, La compréhension approfondie du NER chez les bactéries non seulement éclaire les mécanismes de réparation de l'ADN mais offre également des implications potentielles pour le développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes.

En somme, ce mémoire a exploré les mécanismes détaillés du NER chez les bactéries, soulignant l'importance de ce système pour la survie et l'évolution bactériennes, et a comparé ces mécanismes avec ceux des eucaryotes pour fournir une vision complète et comparative de ce processus vital de réparation de l'ADN.

**Références
bibliographiques**

A

Abbotts, R., & Wilson 3rd, D. M. (2017). Coordination of DNA single strand break repair. *Free Radic. Biol. Med.*, *107*, 228–244. (consulté le 6 Mars 2024)

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.039>

Arabet, D (2021). Cours de plasticité : Chapitre 3 : Evolution des séquences génétiques (Réparation des mutations et transferts horizontaux). (P :15). Université Constantine 1 Frères Mentouri. (Consulté le 3 juin 2024)

Agirrezabala, X., & Frank, J. (2010). From DNA to proteins via the ribosome: Structural insights into the workings of the translation machinery. *Human Genomics*, *4*(4), 226. (consulté le 25 Mars 2024)..

DOI : <https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-4-226>

C

Caldecott, K. W. (2008). Single-strand break repair and genetic disease. *Nature Reviews Genetics*, *9*(8), 619–631. (consulté le 7 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/nrg2380>

Caldecott, K. W. (2014). DNA single-strand break repair. *Exp. Cell Res.*, *329*(1), 2–8. (consulté le 7 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.027>

Camenisch, U., & Naegeli, H. (2009). Role of DNA repair in the protection against genotoxic stress. In *Experientia Supplementum* (pp. 111–150). Birkhäuser Basel. (consulté le 11 Avril 2024).

DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8336-7_5

Caporale, L. H. (2003). Natural Selection and the Emergence of a Mutation Phenotype: An Update of the Evolutionary Synthesis Considering Mechanisms that Affect Genome Variation. *Annual Review of Microbiology*, *57*(1), 467–485. (consulté le 18 Avril 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090855>

Cerný, J., & Hobza, P. (2007). Non-covalent interactions in biomacromolecules. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9(39), 5291–5303. (consulté le 3 Mars 2024)

DOI : <https://doi.org/10.1039/b704781a>

Chatterjee, N., & Walker, G. C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ. Mol. Mutagen.*, 58(5), 235–263. (consulté le 7 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1002/em.22087>

Chen, S. H., Chan, N.-L., & Hsieh, T.-S. (2013). New mechanistic and functional insights into DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.*, 82(1), 139–170. (consulté le 13 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061809-100002>

Chistiakov, D. A., Voronova, N. V., & Chistiakov, P. A. (2008). Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. *Acta Oncol.*, 47(5), 809–824. (consulté le 7 Mars 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1080/02841860801885969>

Cobb, M. (2017). 60 years ago, Francis Crick changed the logic of biology. *PLOS Biology*, 15(9), e2003243-. (consulté le 20 Mars 2024).

Cooper, D. N., Bacolla, A., Férec, C., Vasquez, K. M., Kehrer-Sawatzki, H., & Chen, J.-M. (2011). On the sequence-directed nature of human gene mutation: The role of genomic architecture and the local DNA sequence environment in mediating gene mutations underlying human inherited disease. *Hum. Mutat.*, 32(10), 1075–1099. (consulté le 28 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1002/humu.21557>

Cooper, G. M. R. E. H. (2007). *The Cell: A Molecular Approach 4th Ed.* Sinauer Associates, Incorporated. (consulté le 3 Mars 2024).

URL: <https://books.google.ie/books?id=qULdzgEACAAJ>

Costa, A., Hood, I. V., & Berger, J. M. (2013). Mechanisms for initiating cellular DNA replication. *Annu. Rev. Biochem.*, 82(1), 25–54. (consulté le 15 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-052610-094414>

Czech, A., Fedyunin, I., Zhang, G., & Ignatova, Z. (2010). Silent mutations in sight: Co-variations in tRNA abundance as a key to unravel consequences of silent mutations. *Molecular BioSystems*, 6(10), 1767. (consulté le 13 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1039/c004796c>

D

Dianov, G., & Lindahl, T. (1994). Reconstitution of the DNA base excision-repair pathway. *Curr. Biol.*, 4(12), 1069–1076. (consulté le 8 Avril 2024).

DOI : [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00245-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00245-1)

Domingo, J., Baeza-Centurion, P., & Lehner, B. (2019). The Causes and Consequences of Genetic Interactions (Epistasis). *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 20(1), 433–460. (consulté le 13 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083118-014857>

Duncan, B. K., & Miller, J. H. (1980). Mutagenic deamination of cytosine residues in DNA. *Nature*, 287(5782), 560–561. (consulté le 1 Avril 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1038/287560a0>

E

Essers, J., Vermeulen, W., & Houtsmuller, A. B. (2006). DNA damage repair: Anytime, anywhere? *Curr. Opin. Cell Biol.*, 18(3), 240–246. (consulté le 4 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.03.004>

F

Frick, D. N., & Richardson, C. C. (2001). DNA primases. *Annu. Rev. Biochem.*, 70(1), 39–80. (consulté le 13 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.39>

Friedberg, E. C. (1996). Relationships between DNA repair and transcription. *Annu. Rev. Biochem.*, 65(1), 15–42. (consulté le 19 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.000311>

G

Gorlov, I. P., Kimmel, M., & Amos, C. I. (2006). Strength of the purifying selection against different categories of the point mutations in the coding regions of the human genome. *Human Molecular Genetics*, 15(7), 1143–1150. (consulté le 3 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl029>

Grossman, L., & Kovalsky, O. (2001). Nucleotide Excision Repair in Bacteria. In *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. (consulté le 20 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/npg.els.0000560>

H

Hakem, R. (2008). DNA-damage repair; the good, the bad, and the ugly. *The EMBO Journal*, 27(4), 589–605. (consulté le 6 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.15>

Hershberg, R. (2015). Mutation—The Engine of Evolution: Studying Mutation and Its Role in the Evolution of Bacteria: Figure 1. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(9), a018077. (consulté le 3 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018077>

Hill, T. M., & Marians, K. J. (1990). Escherichia coli Tus protein acts to arrest the progression of DNA replication forks in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87(7), 2481–2485. (consulté le 26 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1073/pnas.87.7.2481>

Houten, B. V. (2013). Nucleotide Excision Repair, Bacterial: The UvrABCD System. In *Encyclopedia of Biological Chemistry* (pp. 328–336). Elsevier. (consulté le 28 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00253-X>

Hu, J. J. (2004). Genetic Variations in DNA Repair. In L. C. Panasci & M. A. Alaoui-Jamali (Eds.), *DNA Repair in Cancer Therapy* (pp. 339–351). Humana Press. (consulté le 10 Avril 2024).

DOI : https://doi.org/10.1007/978-1-59259-735-2_15

I

Imhof, M., & Schlötterer, C. (2001). Fitness effects of advantageous mutations in evolving *Escherichia coli* populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(3), 1113–1117. (consulté le 14 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1073/pnas.98.3.1113>

J

Jaciuk, M., Swuec, P., Gaur, V., Kasprzak, J. M., Renault, L., Dobrychłop, M., Nirwal, S., Bujnicki, J. M., Costa, A., & Nowotny, M. (2020). A combined structural and biochemical approach reveals translocation and stalling of UvrB on the DNA lesion as a mechanism of damage verification in bacterial nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst.)*, 85(102746), 102746. (consulté le 25 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102746>

Jackson, S. P. (2002). Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis*, 23(5), 687–696. (consulté le 4 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/carcin/23.5.687>

K

Kaguni, J. M. (2011). Replication initiation at the *Escherichia coli* chromosomal origin. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 15(5), 606–613. (consulté le 11 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.07.016>

Kisker, C., Kuper, J., & Van Houten, B. (2013). Prokaryotic nucleotide excision repair. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 5(3), a012591. (consulté le 22 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012591>

Kong, A., Frigge, M. L., Masson, G., Besenbacher, S., Sulem, P., Magnusson, G., Gudjonsson, S. A., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Jonasdottir, A., Wong, W. S. W., Sigurdsson, G., Walters, G. B., Steinberg, S., Helgason, H., Thorleifsson, G., Gudbjartsson, D. F., Helgason, A., Magnusson, O. Th., ... Stefansson, K. (2012). Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*, 488(7412), 471–475. (consulté le 28 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/nature11396>

Kraithong, T., Hartley, S., Jeruzalmi, D., & Pakotiprapha, D. (2021). A Peek Inside the Machines of Bacterial Nucleotide Excision Repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 952. (consulté le 23 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.3390/ijms22020952>

Kusano, K., Berres, M. E., & Engels, W. R. (1999). Evolution of the RECQ family of helicases: A drosophila homolog, Dmblm, is similar to the human bloom syndrome gene. *Genetics*, 151(3), 1027–1039. (consulté le 16 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/genetics/151.3.1027>

L

Lee, C.-L., Mowery, Y. M., Daniel, A. R., Zhang, D., Sibley, A. B., Delaney, J. R., Wisdom, A. J., Qin, X., Wang, X., Caraballo, I., Gresham, J., Luo, L., Van Mater, D., Owzar, K., & Kirsch, D. G. (2019). Mutational landscape in genetically engineered, carcinogen-induced, and radiation-induced mouse sarcoma. *JCI Insight*, 4(13), e128698. (consulté le 2 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128698>

Lieber, M. R. (2010). The Mechanism of Double-Strand DNA Break Repair by the Nonhomologous DNA End-Joining Pathway. *Annual Review of Biochemistry*, 79(1), 181–211. (consulté le 11 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.052308.093131>

Loewe, L., Charlesworth, B., Bartolomé, C., & Noël, V. (2006). Estimating Selection on Nonsynonymous Mutations. *Genetics*, *172*(2), 1079–1092. (consulté le 3 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1534/genetics.105.047217>

M

Maga, G., Villani, G., Tillement, V., Stucki, M., Locatelli, G. A., Frouin, I., Spadari, S., & Hübscher, U. (2001). Okazaki fragment processing: Modulation of the strand displacement activity of DNA polymerase delta by the concerted action of replication protein A, proliferating cell nuclear antigen, and flap endonuclease-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, *98*(25), 14298–14303. (consulté le 16 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1073/pnas.251193198>

Martin, I. V., & MacNeill, S. A. (2002). ATP-dependent DNA ligases. *Genome Biology*, *3*(4), reviews3005.1. (consulté le 19 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-4-reviews3005>

McGregor, W. G. (2014). Nucleotide Excision Repair. In *Encyclopedia of Cancer* (pp. 1–4). Springer Berlin Heidelberg. (consulté le 9 Avril 2024).

DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-27841-9_4171-3

Milligan, J. F., Groebe, D. R., Witherell, G. W., & Uhlenbeck, O. C. (1987). Oligoribonucleotide synthesis using T7 RNA polymerase and synthetic DNA templates. *Nucleic Acids Res.*, *15*(21), 8783–8798. (consulté le 22 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/nar/15.21.8783>

Mitkova, A. V., Khopde, S. M., & Biswas, S. B. (2003). Mechanism and Stoichiometry of Interaction of DnaG Primase with DnaB Helicase of *Escherichia coli* in RNA Primer Synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(52), 52253–52261. (consulté le 16 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1074/jbc.M308956200>

N

Nouspikel, T. (2009). DNA repair in mammalian cells: Nucleotide excision repair: Variations on versatility. *Cell. Mol. Life Sci.*, 66(6), 994–1009. (consulté le 20 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8737-y>

O

Ohta, T. (1973). Slightly Deleterious Mutant Substitutions in Evolution. *Nature*, 246(5428), 96–98. (consulté le 3 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/246096a0>

P

Papaoannou, V. E., & Behringer, R. R. (2012). Early Embryonic Lethality in Genetically Engineered Mice: Diagnosis and Phenotypic Analysis. *Veterinary Pathology*, 49(1), 64–70. (consulté le 17 Avril 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985810395725>

Parker, M. W., Botchan, M. R., & Berger, J. M. (2017). Mechanisms and regulation of DNA replication initiation in eukaryotes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 52(2), 107–144. (consulté le 28 Avril 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1080/10409238.2016.1274717> (consulté le 14 Mars 2024).

Patel, S. S., Pandey, M., & Nandakumar, D. (2011). Dynamic coupling between the motors of DNA replication: Hexameric helicase, DNA polymerase, and primase. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 15(5), 595–605. (consulté le 14 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.08.003>

Pitcher, R. S., Brissett, N. C., & Doherty, A. J. (2007). Nonhomologous End-Joining in Bacteria: A Microbial Perspective. *Annual Review of Microbiology*, 61(1), 259–282. (consulté le 12 Avril 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093354>

Pitcher, R. S., Wilson, T. E., & Doherty, A. J. (2005). New Insights into NHEJ Repair Processes in Prokaryotes. *Cell Cycle*, 4(5), 675–678. (consulté le 5 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.4161/cc.4.5.1676R>

Raphaël, C., & Coquoz, R. (2003). *Preuve par l'ADN : la génétique au service de la justice / Raphaël Coquoz*. Presses polytechniques et universitaires romandes. (consulté le 9 Mars 2024)

S

Saecker, R. M., Record Jr, M. T., & Dehaseth, P. L. (2011). Mechanism of bacterial transcription initiation: RNA polymerase—Promoter binding, isomerization to initiation-competent open complexes, and initiation of RNA synthesis. *J. Mol. Biol.*, 412(5), 754–771. (consulté le 23 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.01.018>

Saenger, W. (1984). Defining Terms for the Nucleic Acids. In W. Saenger (Ed.), *Principles of Nucleic Acid Structure* (pp. 9–28). Springer New York. (consulté le 30 Février 2024).

DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-5190-3_2

Sargentini, N. J., & Smith, K. C. (1985). Growth-medium-dependent repair of DNA single-strand and double-strand breaks in X-irradiated Escherichia coli. *Radiation Research*, 104(1), 109–115. (consulté le 28 Avril 2024).

Schaich, M. A., & Van Houten, B. (2021). Searching for DNA damage: Insights from single molecule analysis. *Front. Mol. Biosci.*, 8, 772877. (consulté le 9 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.772877>

Shrivastav, M., De Haro, L. P., & Nickoloff, J. A. (2008). Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice. *Cell Research*, 18(1), 134–147. (consulté le 29 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/cr.2007.111>

Sporbert, A., Domaing, P., Leonhardt, H., & Cardoso, M. C. (2005). PCNA acts as a stationary loading platform for transiently interacting Okazaki fragment maturation proteins. *Nucleic Acids Res.*, *33*(11), 3521–3528. (consulté le 15 Mai 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/nar/gki665>

Springall, L., Hughes, C. D., Simons, M., Azinas, S., Van Houten, B., & Kad, N. M. (2018). Recruitment of UvrBC complexes to UV-induced damage in the absence of UvrA increases cell survival. *Nucleic Acids Research*, *46*(3), 1256–1265. (consulté le 26 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1244>

Stojković, V., & Fujimori, D. G. (2017). Mutations in RNA methylating enzymes in disease. *Current Opinion in Chemical Biology*, *41*, 20–27. (consulté le 2 Mars 2024)

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.10.002>

Strand, M., Earley, M. C., Crouse, G. F., & Petes, T. D. (1995). Mutations in the MSH3 gene preferentially lead to deletions within tracts of simple repetitive DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *92*(22), 10418–10421. (consulté le 17 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1073/pnas.92.22.10418>

T

Thomas, D. C., Levy, M., & Sancar, A. (1985). Amplification and purification of UvrA, UvrB, and UvrC proteins of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, *260*(17), 9875–9883. (consulté le 23 Avril 2024).

DOI : [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)39318-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)39318-3)

Tomasetti, C., Li, L., & Vogelstein, B. (2017). Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, *355*(6331), 1330–1334. (consulté le 27 Mars 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1126/science.aaf9011>

U

Uzman, A. (2003). Molecular biology of the cell (4th ed.): Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 31(4), 212–214. (consulté le 5 Mars 2023).

DOI : <https://doi.org/10.1002/bmb.2003.494031049999>

V

Veltman, J. A., & Brunner, H. G. (2012). De novo mutations in human genetic disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(8), 565–575. (consulté le 15 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/nrg3241>

Vogel, F., & Motulsky, A. G. (1997). Mutation: Induction by Ionizing Radiation and Chemicals. In F. Vogel & A. G. Motulsky, *Human Genetics* (pp. 457–493). Springer Berlin Heidelberg. (consulté le 2 Avril 2024).

DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-662-03356-2_12

W

Wang, J. C. (2002). Cellular roles of DNA topoisomerases: A molecular perspective. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(6), 430–440. (consulté le 18 Mars 2024)

DOI : <https://doi.org/10.1038/nrm831>

WATSON, J. D., & CRICK, F. H. C. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171(4356), 737–738. (consulté le 30 Février 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1038/171737a0>

Wilson, D. N., & Nierhaus, K. H. (2007). The weird and wonderful world of bacterial ribosome regulation. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 42(3), 187–219. (consulté le 24 Mars 2024).

DOI: <https://doi.org/10.1080/10409230701360843>

Wozniak, K. J., & Simmons, L. A. (2022). Bacterial DNA excision repair pathways. *Nature Reviews Microbiology*, 20(8), 465–477. (consulté le 28 Avril 2024).

DOI : <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00694-0>

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : KERROUR Ala Eddine Naoufel
ZEGHIB Chaker Ahcen

Titre : *Fonctionnement du système NER chez les bactéries*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

Le système de réparation par excision de nucléotides (NER) chez les bactéries est un mécanisme vital pour la maintenance de l'intégrité génomique. Il permet de détecter et réparer une grande variété de lésions de l'ADN causées par des agents mutagènes externes tels que les radiations UV et les produits chimiques toxiques. Le processus NER implique une série de réactions enzymatiques orchestrées par des complexes multiprotéiques incluant les protéines UvrA, UvrB, UvrC, et UvrD. Ce système est essentiel non seulement pour la survie des bactéries dans des environnements hostiles mais aussi pour leur adaptation et évolution. Deux sous-types de NER existent : la réparation globale du génome (GG-NER) et la réparation couplée à la transcription (TC-NER), chacun jouant un rôle spécifique dans la réparation des dommages à l'ADN. Ce mémoire examine en détail le fonctionnement du NER, les rôles spécifiques des protéines impliquées, et compare les mécanismes NER entre les procaryotes et les eucaryotes.

Mots-clés : Mots clés : Réparation par excision de nucléotides (NER), ADN, bactéries, UvrA, UvrB, UvrC, UvrD, GG-NER, TC-NER, mutagènes, intégrité génomique.

Président du jury : Pr. ALATOU Radia (Professeur, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. ARABET Dallel (MCA, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : Dr. LIFA Maroua (MCB, Université Constantine 1 Frères Mentouri).