

**Module Génétique des Procaryotes**  
**Chapitre : Les Recombinaisons Génétiques**

## 1. Définition

La **recombinaison génétique** est un échange d'information **génétique** entre deux génomes différents ou bien entre deux chromosomes. Il s'agit en général d'un échange entre fragments d'ADN. Mais chez certains virus comme celui de la grippe, il s'agit d'échange d'ARN.

La recombinaison consiste en une coupure puis un attachement de l'ADN en une nouvelle combinaison. Ce phénomène peut se produire entre deux molécules d'ADN indépendantes ou entre deux segments d'une même molécule. Cette recombinaison peut survenir entre des séquences largement homologues entre elles, on parle alors de **recombinaison homologue** ; ou bien elle peut survenir entre des séquences spécifiques, relativement courtes et ayant une homologie limitée, c'est alors de la **recombinaison site-spécifique**.

## 2. Les différents types de recombinaison

### 2.1. La recombinaison homologue

Elle implique le transfert d'information génétique entre séquences homologues. La recombinaison homologue, dont les principales voies sont RecBCD et RecF, agit souvent comme mécanisme de réparation des bris qui se produisent dans l'ADN. RecBCD répare une rupture d'ADN double brin alors que RecF répare une rupture d'ADN simple brin. Des mutations qui inactivent ces gènes empêchent les cellules de recombiner mais ont aussi des effets dramatiques sur la réparation de l'ADN et la viabilité des cellules. La fonction première de ces protéines est en réalité la réparation de l'ADN. Par exemple, RecBCD, RecG et les protéines UVR permettent de refaire démarrer des fourches de réplication qui sont bloquées, et RecA gère la réparation par recombinaison. (Remarque : la recombinaison homologue est considérée comme un mécanisme de réparation)

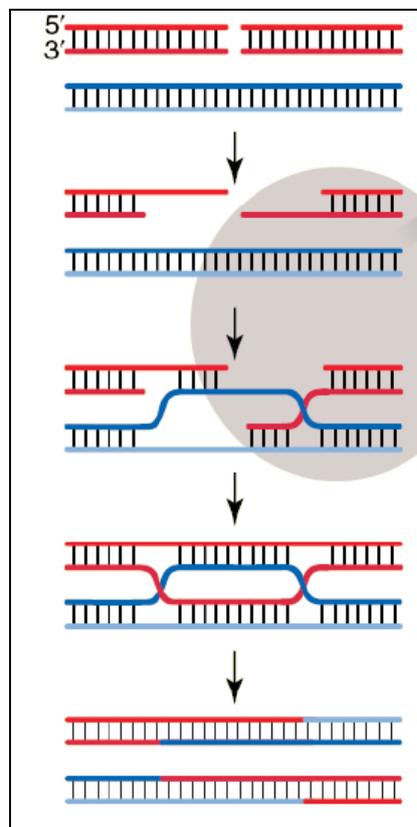
Les protéines qui tiennent le rôle principal dans ce processus de recombinaison sont appelées **les recombinases**. Elles sont présentes dans toutes les espèces, il s'agit de la protéine RecA chez la bactérie *Escherichia coli* et de Rad51 chez les eucaryotes.

- **La protéine Rec A :**

Les protéines recombinases de cette famille RecA/Rad51 sont composées d'environ 350 acides aminés en moyenne. Elles ont donc une taille similaire : le poids moléculaire de RecA est de 37,8 kDa et celui de la Rad51 humaine (notée hRad51) est de 36,9kDa. Elles sont composées de deux domaines : le domaine ATPase et un domaine de liaison à l'ADN.

La protéine recA a pour effet de dissocier les deux brins d'un ADN normal pour permettre l'excision d'une séquence destinée à compléter une brèche d'un ADN dont les deux brins sont lésés irréversiblement.

Le gène recA est réprimé par la protéine LexA, mais dès que le taux d'ADN simple brin augmente dans la cellule, le catabolisme de cette protéine LexA provoque l'expression de recA pour permettre la réparation des fragments d'ADN lésés.



**Figure 1 : Mécanisme de la recombinaison homologue**

- **Mécanisme de recombinaison naturelle ou homologue : Exemple de la transformation bactérienne**

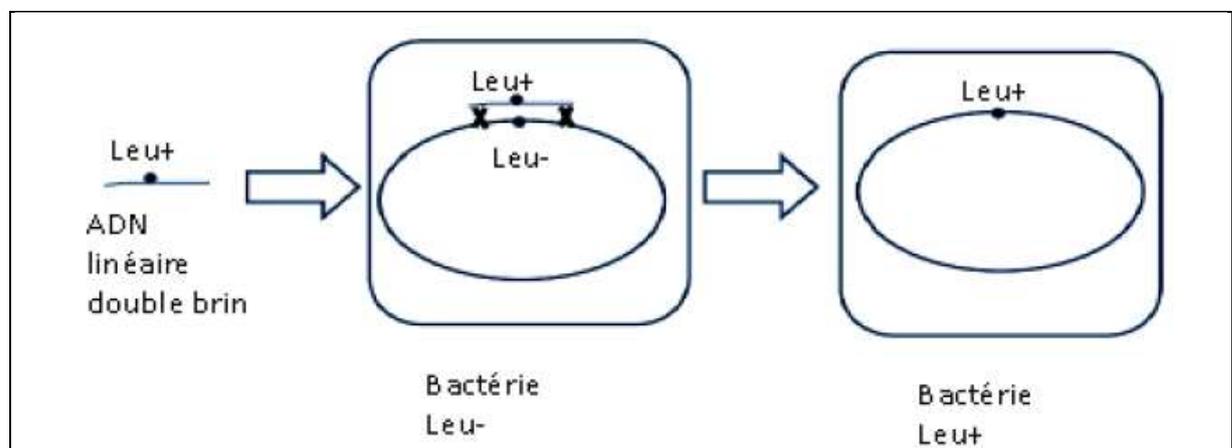
Après sa pénétration à l'intérieur de la cellule réceptrice, l'ADN simple brin va pouvoir être intégré au génome de la cellule par les mécanismes de recombinaison. Il s'agit ici d'une

recombinaison qui va se faire avec le génome de la cellule receveuse, il y a donc bien intégration au génome, mais une recombinaison qui va se faire qu'avec l'un des monobrins du double brin de l'ADN génomique. C'est une **recombinaison homologue non réciproque**, il n'y a pas échange du double brin, mais essentiellement **perte d'un monobrin remplacé par le monobrin de l'exogène**. Il doit probablement y avoir une homologie de séquence à cet endroit, de façon à ce que le brin exogène s'intègre.

Quand il y a de l'ADN double brin dans le milieu extérieur, ce n'est pas l'ADN double brin qui est absorbé et qui va entraîner une recombinaison, c'est un double brin qui va être transformé en monobrin. Ce monobrin va être intégré pour former un **ADN hétéroduplex**. Ce n'est que lorsque la bactérie va se diviser qu'une moitié va acquérir une propriété et l'autre pas.

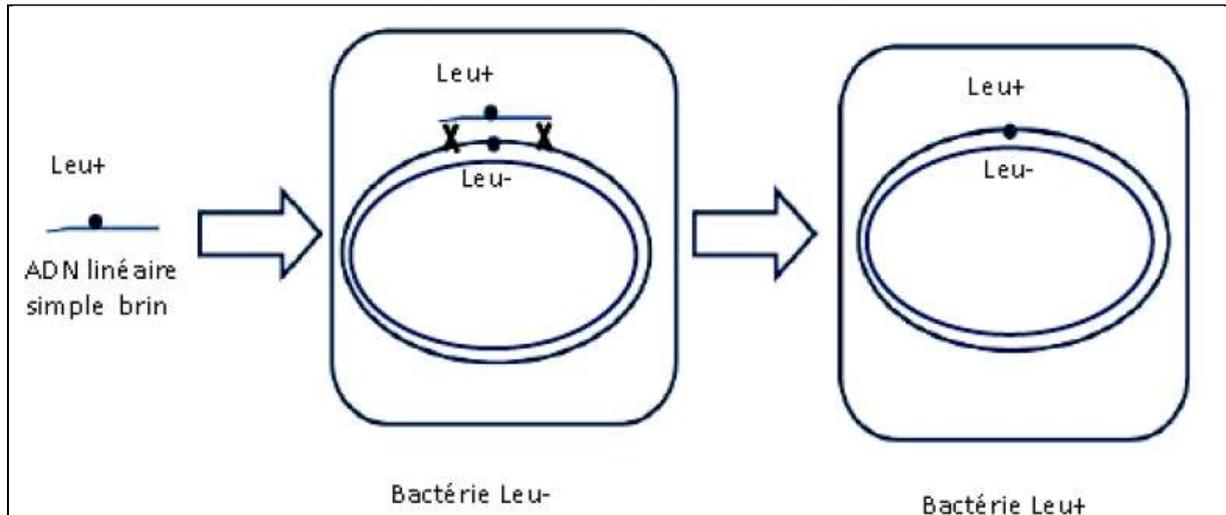
Dans les autres mécanismes qui vont permettre aux bactéries d'acquérir du matériel génétique, d'autres recombinaisons vont également être utilisées. Ces mécanismes de recombinaisons permettent aux bactéries qui ne font pas de méiose de pouvoir combiner leur matériel génétique (allèles) avec de l'ADN provenant du milieu extérieur.

- **Recombinaison homologue réciproque (ADN double brin linéaire) (Exemple la pénétration de l'ADN double brin par transduction)**



Donc une bactérie se retrouve en présence d'un fragment d'ADN qui porte la séquence qui permet de coder pour la synthèse de la leucine et vous avez une autre bactérie qui elle est leu- (c'est-à-dire qu'elle ne possède pas cette capacité). Il va pouvoir y avoir un échange réciproque, c'est-à-dire la partie leu- du génome va être remplacée par la région leu+. Donc une bactérie qui était phénotypiquement leu- et génotypiquement leu- qui va devenir une bactérie leu+. Elle va acquérir une nouvelle capacité notamment à produire de la leucine pour ses propres besoins.

## - Recombinaison homologue non réciproque (ADN simple brin linéaire)



Ce mécanisme intervient dans le cas où une bactérie va récupérer de l'ADN dans le milieu extérieur et que cet ADN va être intégré sous forme d'ADN linéaire **simple brin** (exemple : **la transformation bactérienne**).

Une bactérie arrive à absorber de l'ADN linéaire simple brin, toujours avec un fragment homologue. Toujours par des mécanismes de recombinaison homologue mais cette fois si il va y avoir possibilité d'échange non pas **d'un double brin** mais **d'un monobrin**. Ce qui fait que la bactérie formée est phénotypiquement leu+ sachant qu'elle était leu- au départ. Mais ici le caractère n'est pas fixé, c'est-à-dire que quand il y a un échange d'un monobrin, il y a du leu- et leu+, et ça potentiellement en ne sait pas ce que ça va donner.

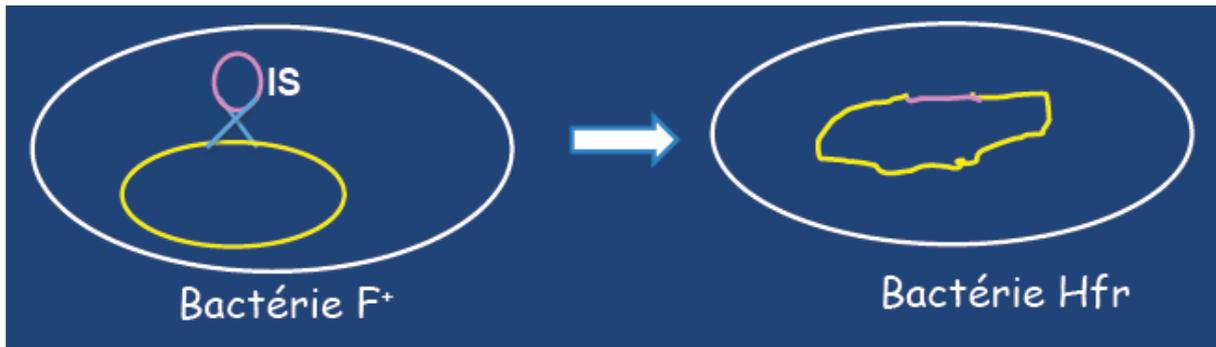
Ce n'est que lorsque cette bactérie va se diviser qu'il y aura une cellule fille leu+ et l'autre cellule fille va devenir leu-. Donc le nouveau caractère va concerner qu'une moitié de la population.

### 2.2. La recombinaison site spécifique

La recombinaison site spécifique est une réaction qui implique des séquences spécifiques. En fait, l'événement d'échange de brin se produit entre des segments qui n'ont qu'une homologie de séquence limitée. Cette recombinaison localisée passe par des mécanismes de recombinaison **simple ou double** qui utilise **obligatoirement des ADN double brin circulaires**.

#### **Exemple 1 : intégration du facteur F dans les cellules Hfr (Haute fréquence de recombinaison)**

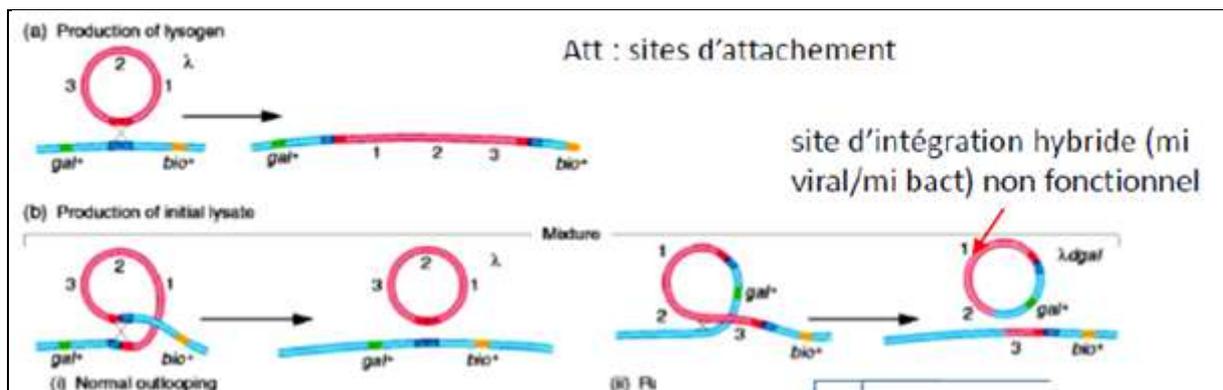
Grace à la présence des séquences IS (Insertion séquences) le facteur F peut s'intégrer dans le chromosome d'une bactérie F<sup>+</sup>, appelés épisomes, donc leur réplication est sous le contrôle du chromosome. En effet, les séquences de plasmide F ont des séquences homologues sur le chromosome. L'insertion se fait par recombinaison site spécifique.



**Figure : Intégration du facteur F sur le chromosome bactérien**

### Exemple 2 : Intégration du phage $\lambda$ au locus attB bactérien

Un autre mécanisme, **plus fréquent**, est le mécanisme de transduction spécialisée, réalisée par les **phages tempérés**. Ils possèdent dans leur génome des sites particuliers d'intégration, qui sont des **sites d'attachement dits Att (viral ou bactérien), ou sites donneurs**, qui sont **capables de s'associer à des sites receveurs particuliers au niveau du génome des bactéries**.

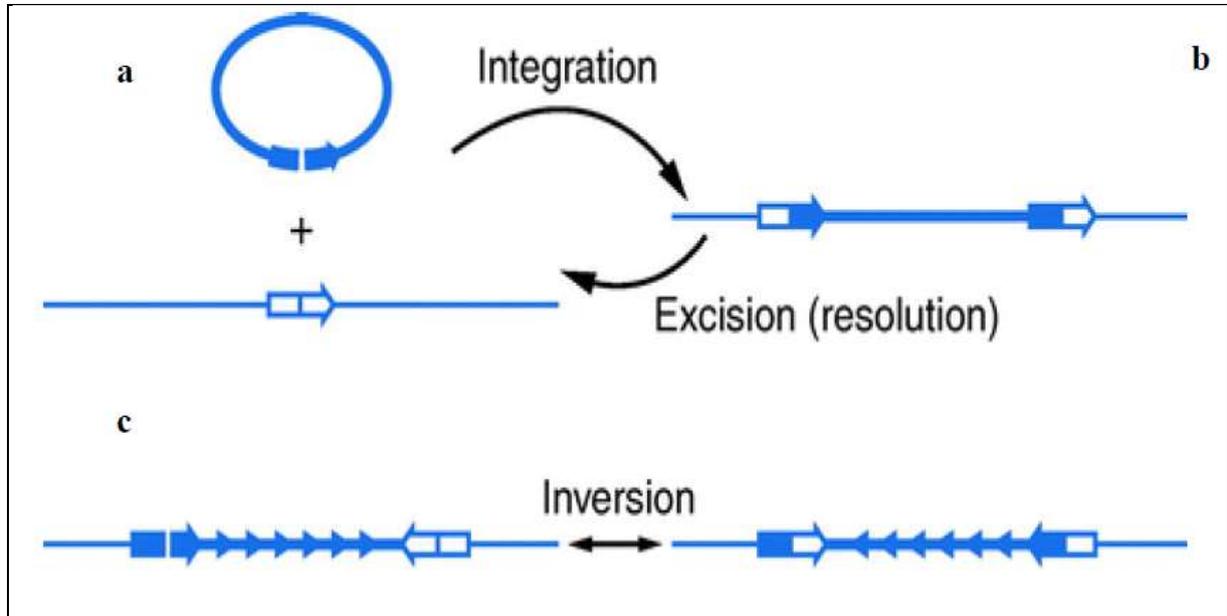


**Figure : Intégration du génome phagique sur le chromosome bactérien**

Dans la réaction de recombinaison site-spécifique, les recombinases effectuent des réarrangements de segments d'ADN en reconnaissant et en se liant à de courtes séquences (les sites de recombinaison) auxquelles elles procèdent d'abord au clivage du «squelette» de l'ADN (*backbone*) ; ensuite elles échangent les deux hélices d'ADN ainsi obtenues pour enfin rejoindre les brins d'ADN ensemble. Ces étapes se succèdent avec une conservation du lien phosphodiester et ne requièrent ni synthèse de nouvel ADN ni cofacteur de haute énergie.

L'issue de la réaction de recombinaison varie selon l'emplacement relatif et l'orientation des sites où le clivage et la religation se produisent mais aussi par la spécificité intrinsèque de

chaque système site-spécifique. Dépendamment de l'arrangement initial des sites de recombinaison, trois résultats sont possibles pour la recombinaison site-spécifique : l'intégration, l'excision ou l'inversion.



**Figure : Les trois issues possibles de la recombinaison site-spécifique. Les flèches montrent l'orientation des sites de recombinaison.**

L'intégration se produit par une recombinaison entre des sites provenant de molécules d'ADN séparées (au moins un des sites doit être dans un chromosome circulaire) et ayant une orientation définie. Lorsque les sites sont sur un même chromosome le résultat est déterminé par l'orientation relative. Ainsi, l'excision survient dans le cas d'une recombinaison où les sites sont orientés en tête-à-queue tandis que l'inversion survient lorsque les sites de recombinaison sont orientés en tête-à-tête (inversés).

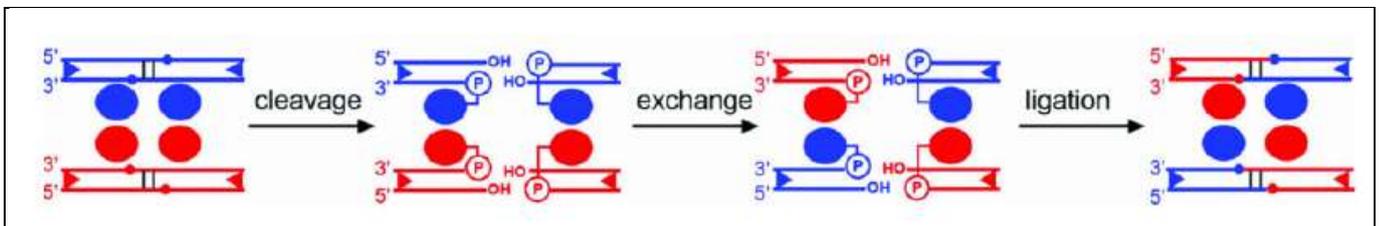
La recombinaison site-spécifique est avant tout la réponse à un besoin simple de physiquement joindre ou séparer des segments d'ADN. En plus de l'intégration de phages, de l'excision et de la résolution.

Malgré la variété de rôles que la recombinaison site-spécifique remplit et les nombreux systèmes identifiés jusqu'à maintenant, la comparaison des séquences d'acides aminés des recombinases indiquent que la vaste majorité d'entre elles se répartissent dans seulement deux catégories, celle des tyrosines recombinases (aussi appelée famille des  $\lambda$  intégrases) et des sérines recombinases.

### ➤ Les sérines recombinases

Ce groupe est plutôt hétérogène car les sérines recombinases peuvent être constituées de résidus de 180 à 800 acides aminés (aa) ayant parfois des variations rares en termes d'organisation des domaines. Parmi elles on trouve les invertases Gin du bactériophage Mu et Hin de *Salmonella sp.* et les résolvases TnpR de Tn3/γδ et d'autres transposons. Cette recombinase a un résidu de 183 aa dont environ 100 constituent le domaine catalytique en N-terminal, lié par une longue hélice α (36 aa) et un segment structuré (10 aa) à un domaine de liaison à l'ADN hélice-tour-hélice typique en C-terminal. Aussi, **la sérine nucléophile** est près du N-terminal (position 10) « au niveau du site catalytique). En effet, il était bien connu que les sérines recombinases introduisaient des **bris double-brins** (la coupure des quatre brins d'ADN se déroule en même temps par les quatre monomères de l'enzyme).

La recombinase se lie au site I puis favorise la recombinaison en introduisant une coupure double-brin dans l'ADN au centre de chaque site. La sérine attaque les sites de recombinaison pour produire cette coupure qui lie de manière covalente les quatre sous-unités recombinases par un lien phosphosérine aux 4 extrémités 5' des brins brisés, ce qui libère les groupements OH en 3'. Par la suite, les extrémités sont échangées et il y a finalement une religation.



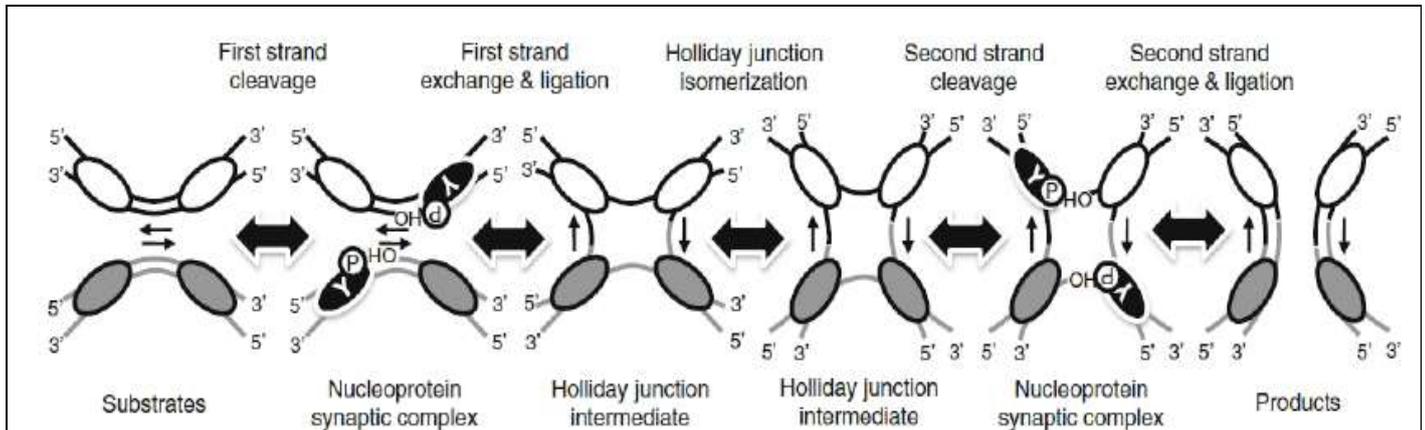
**Figure : Mécanisme typique de la sérine recombinase. Les lignes doubles en rouge et bleu représentent les deux copies du site I qui prennent part à la recombinaison. Les sous-unités de la recombinase sont dessinées en ovale. On suggère que l'étape d'«échange» se produit par rotation de sous-unité.**

### ➤ Les tyrosines recombinases

Cette famille est surtout largement répandue chez les bactéries mais elle est également représentée chez les *Archaea* et même chez les eucaryotes où on a décrit des exemples chez les Fungi et certaines familles de transposons. Comme le nom l'indique, **c'est une tyrosine qui constitue le domaine catalytique** de cette famille avec des motifs de séquence reconnaissables.

Parmi les tyrosines recombinases les plus étudiées on trouve  $\lambda$  Int et bien d'autres phage-intégrases, IntI, Cre, XerC/D, FimB FimE et Flp. Ces recombinases remplissent des fonctions d'intégration, d'excision ou d'inversion.

Dans tyrosines recombinase la coupure des quatre brins est assurée uniquement **par deux monomères**.



**Figure : Recombinaison site-spécifique par une tyrosine recombinase.**

Les ovaux blancs et gris représentent les molécules de recombinases qui sont liées à chaque substrat d'ADN. Dans le complexe synaptique nucléoprotéique, les recombinases formant une liaison covalente avec l'ADN sont en ovaux noirs et les flèches fines le long des brins du haut «top strands» indiquent le sens du site de recombinaison. Le mécanisme illustré ici est basé sur le mécanisme de la recombinaison médiée par l'intégrase du phage  $\lambda$  et les événements de recombinaison catalysés par d'autres tyrosines recombinases pourraient avoir quelques différences.

**Enseignante Responsable : Mme GHARZOULI FERTOUL. R**