Mécanismes de survenue des anomalies chromosomiques de structure

JM DUPONT
Laboratoire de Cytogénétique
Groupe Hospitalier Cochin Saint Vincent de Paul
Université Paris Descartes - Faculté de Médecine
Paris

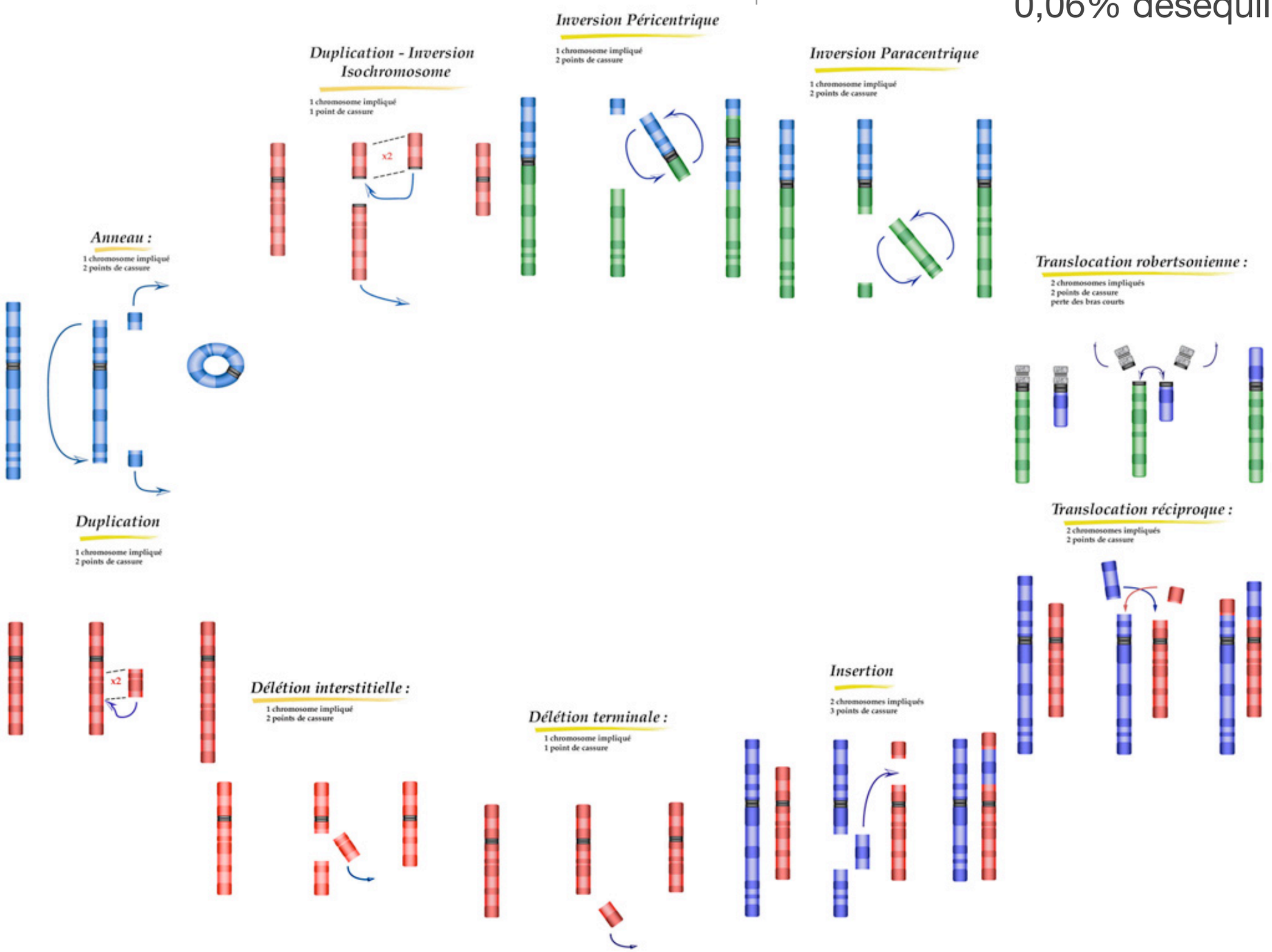
UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

FACULTÉ DE MÉDECINE PARIS DESCARTES

GROUPE HOSPITALIER COCHIN

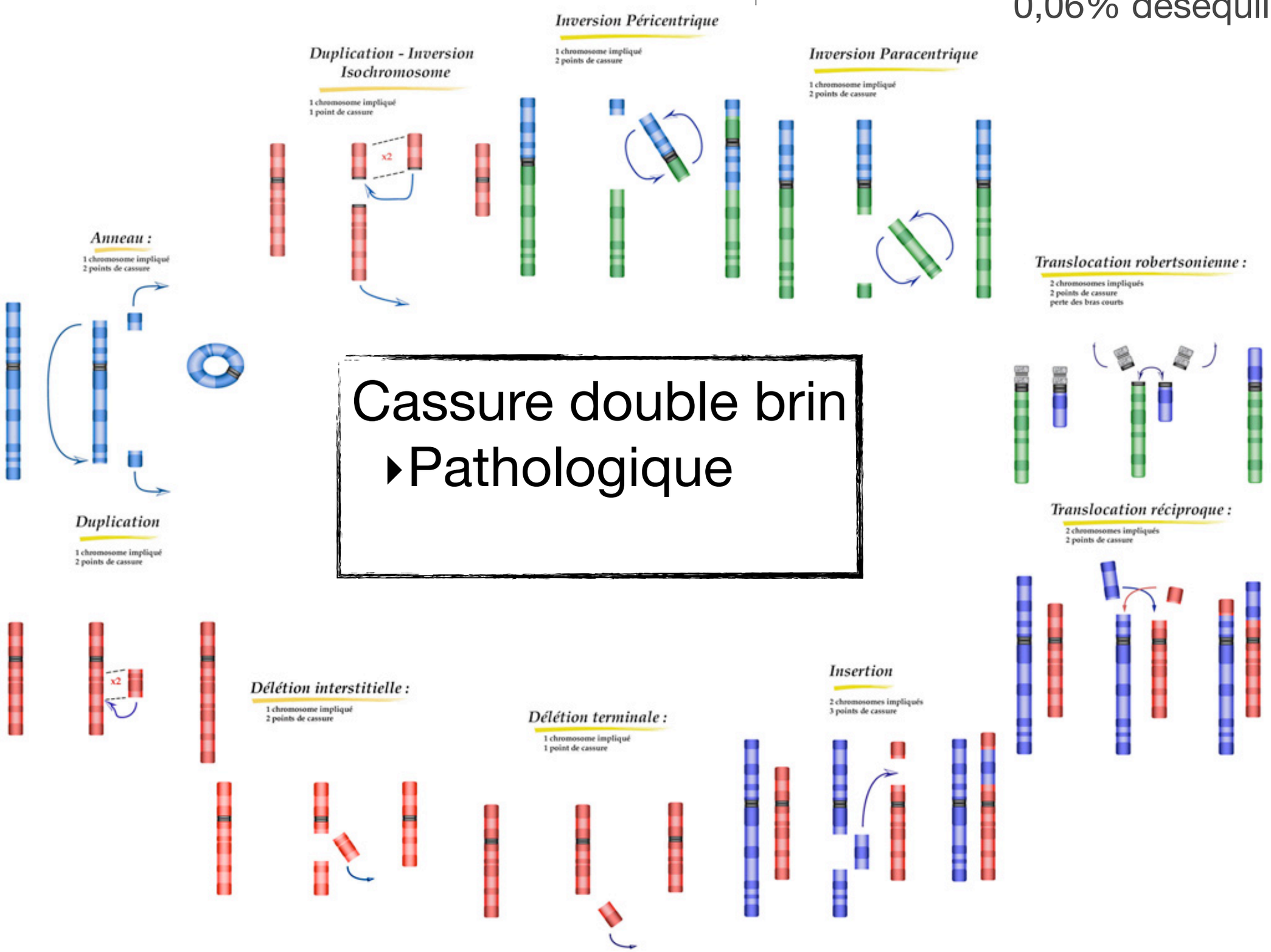
Anomalies de structure

Fréquence = 0,5% équilibrées
0,06% déséquilibrées



Anomalies de structure

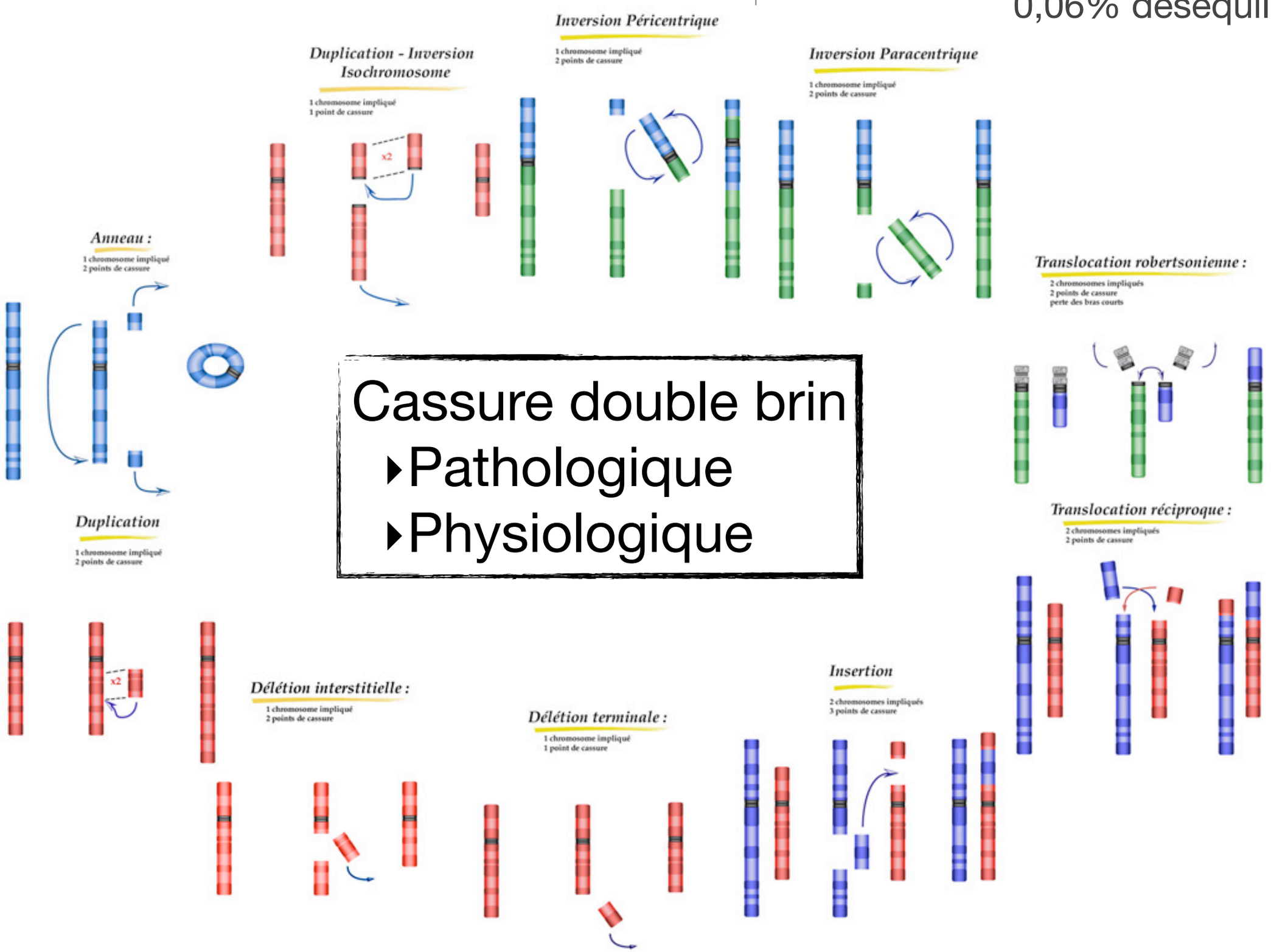
Fréquence = 0,5% équilibrées
0,06% déséquilibrées



Cassure double brin
- Pathologique

Anomalies de structure

Fréquence = 0,5% équilibrées
0,06% déséquilibrées

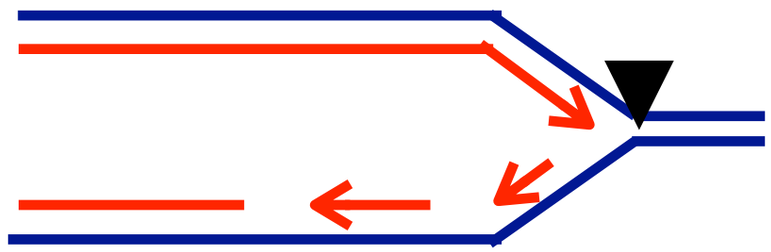


Cassure double brin

- Pathologique
- Physiologique

Cassures double-brin (CDB) pathologiques

- ≈ 10 CDB / j / cell
  - Stress réplicatif



  - O^{2-} provenant du métabolisme oxydatif -> radicaux hydroxyl (≈ 100/h/cell)
  - Radiations ionisantes
    - rayons γ, rayons X (≈ 300 Millions/personne/heure)
  - Erreur de processus enzymatiques normaux
    - Défaut de la Topoisomérase II (pas de ligation), action du complexe RAG en dehors de la région V(D)J
  - Stress mécanique

CDB physiologiques

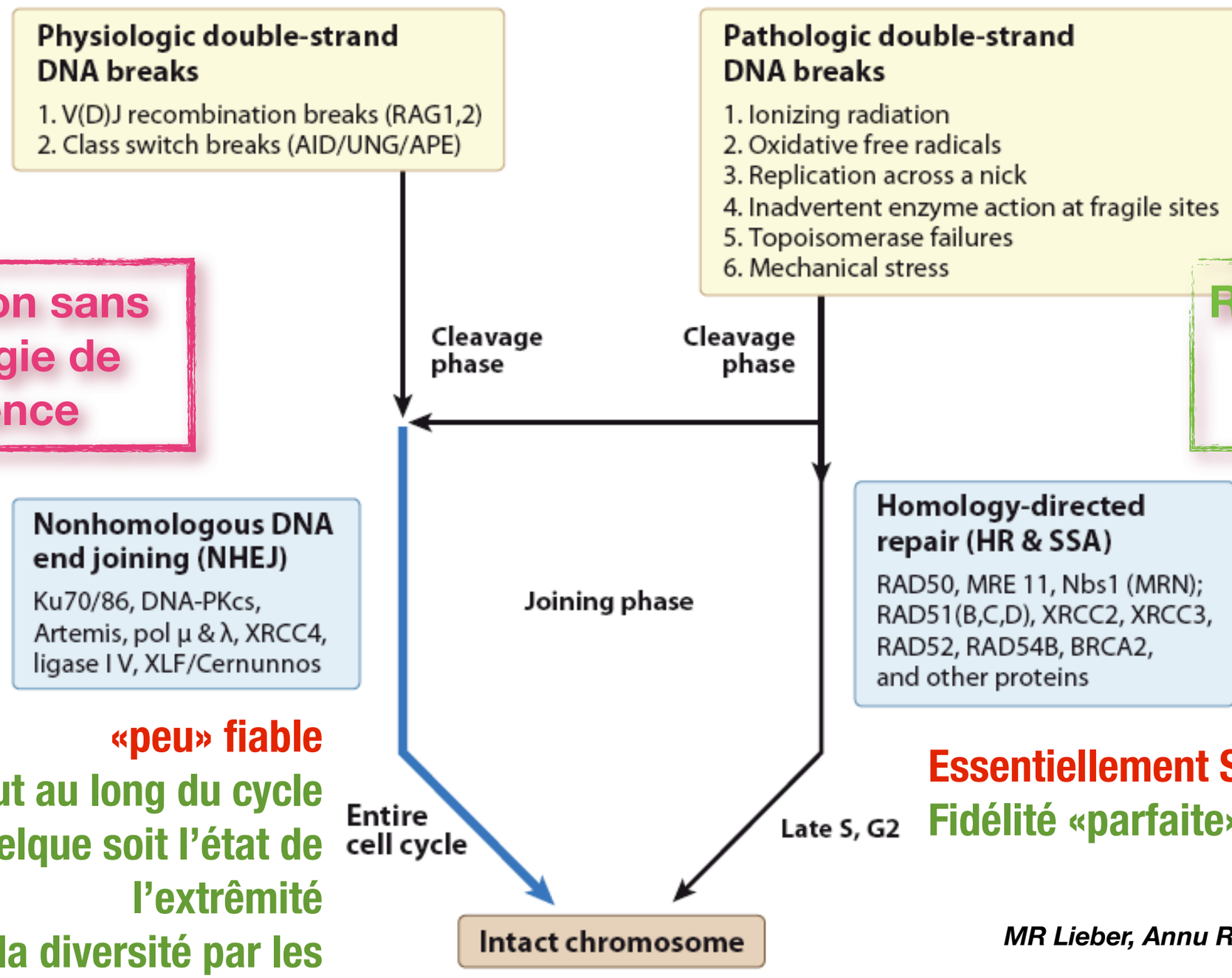
CDB physiologiques

- CDB méiotiques déclenchées par Spo11
  - Première étape de la recombinaison méiotique

CDB physiologiques

- CDB méiotiques déclenchées par Spo11
  - Première étape de la recombinaison méiotique
- CDB déclenché par le complexe RAG
  - Recombinaison V(D)J

Redondance des mécanismes de réparation



Réparation sans homologie de séquence

Réparation à partir d'une séquence homologue

«peu» fiable

Tout au long du cycle

Quelque soit l'état de l'extrêmité

Génère de la diversité par les réarrangements formés

Essentiellement S et G2

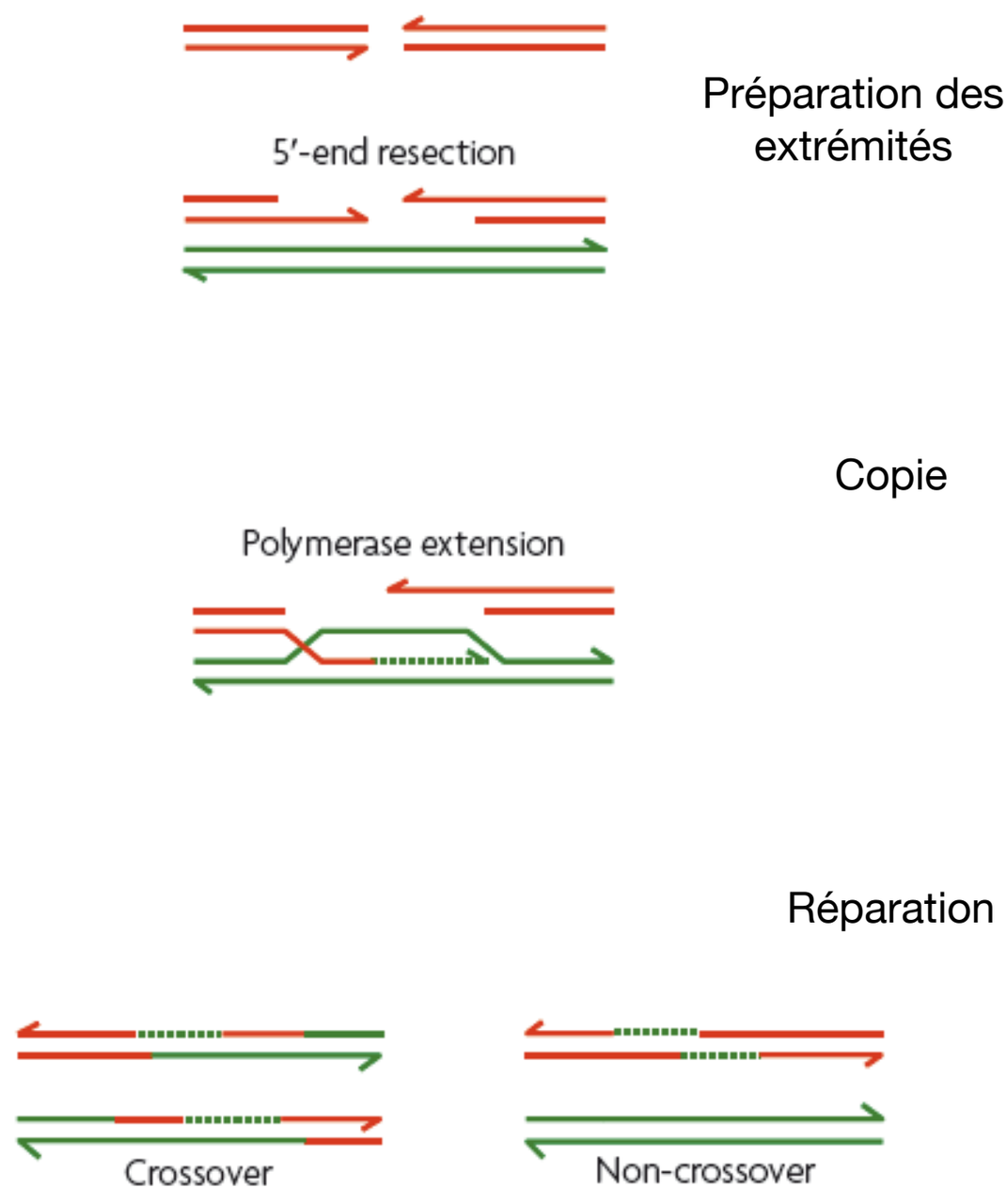
Fidélité «parfaite»

MR Lieber, Annu Rev Biochem, 2010-79;181

Réparation par recombinaison homologue

- Remplacement de la région lésée par une copie homologue

PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551



Réparation par recombinaison homologue

- Homologie de séquence
  - > 97% sur 50 - 300 pb

PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

EXO I + BLM
(Bloom)

Réparation par recombinaison homologue

PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

- Homologie de séquence
  - > 97% sur 50 - 300 pb

EXO I + BLM
(Bloom)

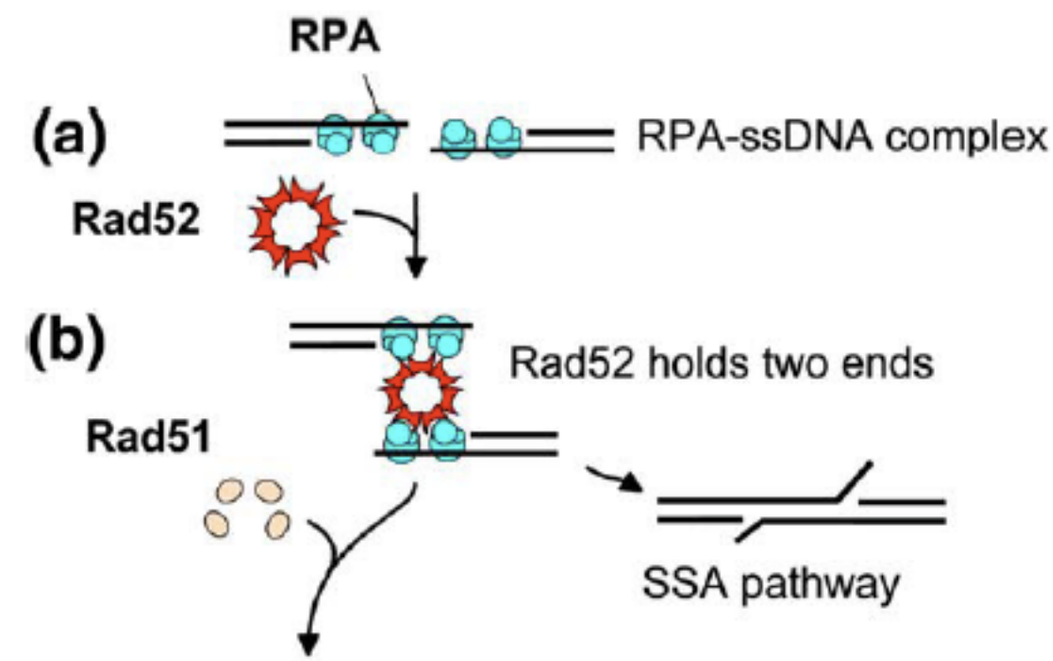
- Stabilisation de l'ADN simple brin
  - RPA, RAD52

Réparation par recombinaison homologue

- Homologie de séquence
  - > 97% sur 50 - 300 pb
- Stabilisation de l'ADN simple brin
  - RPA, RAD52

PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

EXO I + BLM
(Bloom)

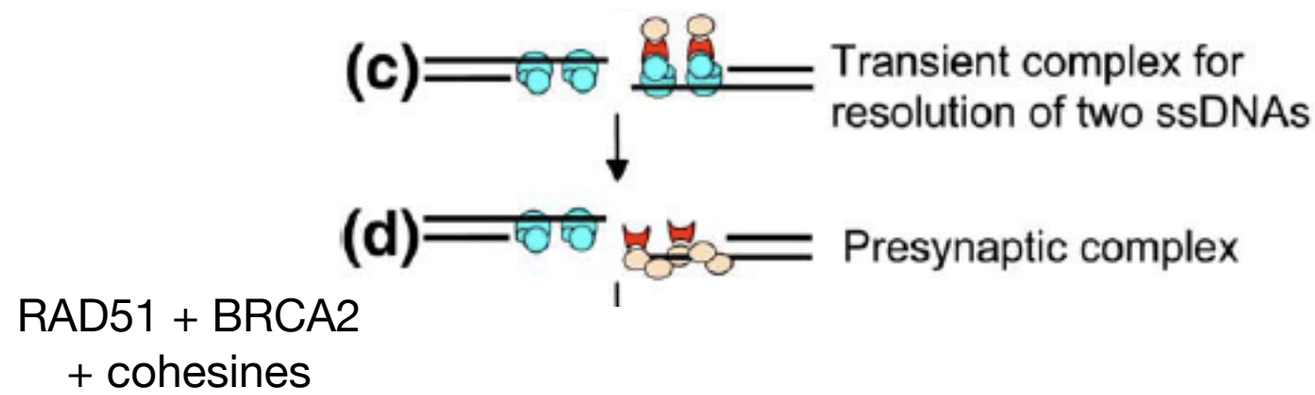


T Sugiyama et N Kantake, J Mpl Biol 2009-390;45

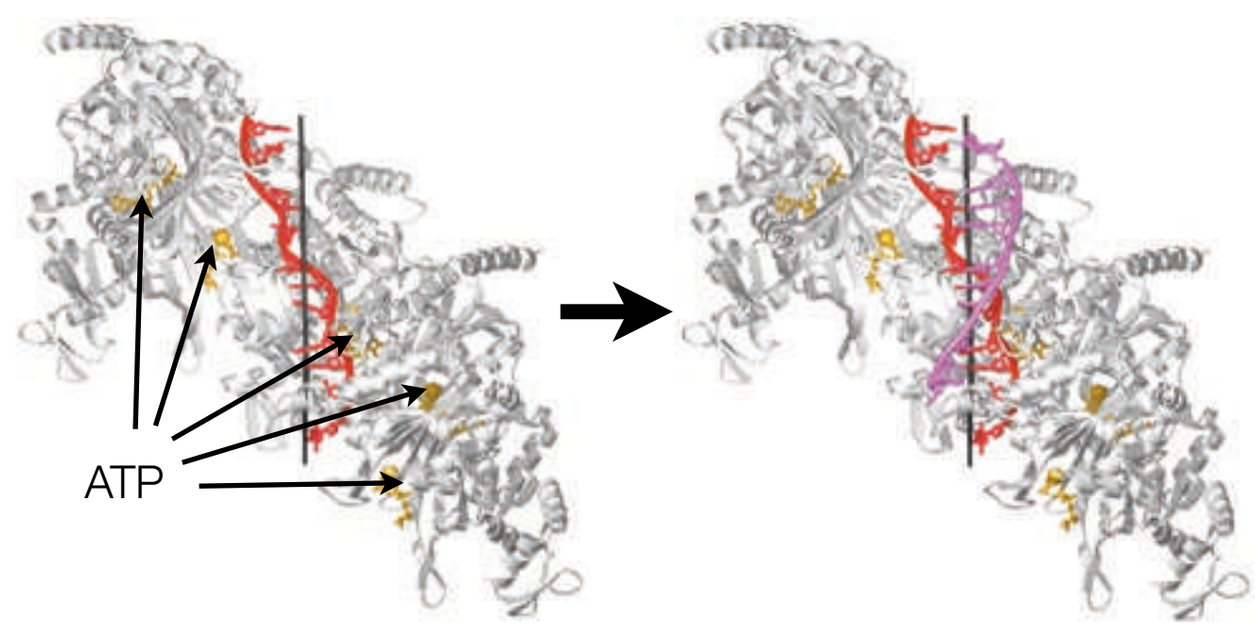
Réparation par recombinaison homologue

- Homologie de séquence
- Stabilisation de l'ADN simple brin
- Recherche d'homologie : Formation d'un nucléofilament
  - RAD51-ssDNA : défomation de l'ADN simple brin
  - Formation d'une synapse pour tester l'homologie

T Sugiyama et N Kantake, J Mpl Biol 2009-390;45



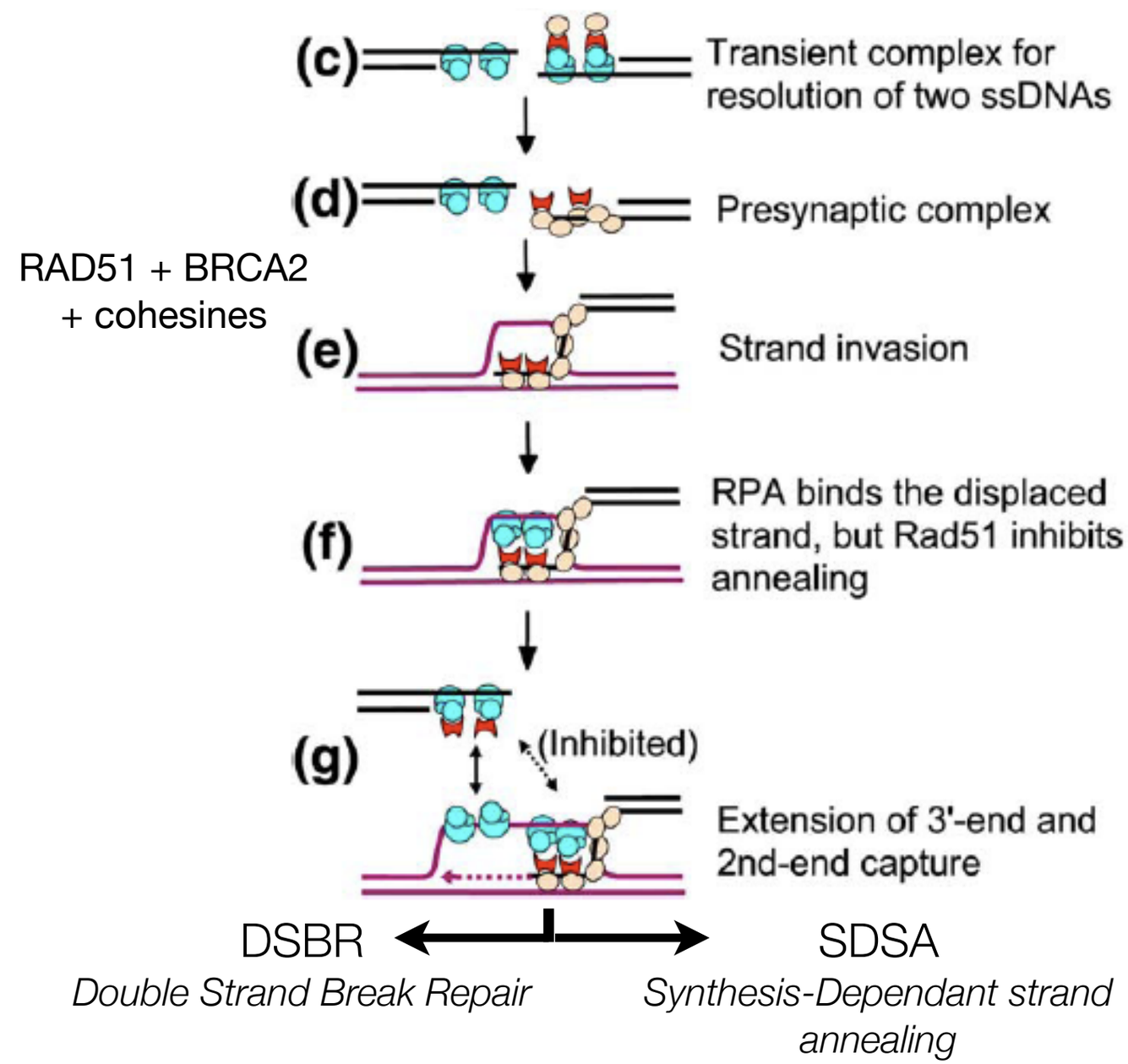
ME Moynahan, M Jasin, Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11;196



Réparation par recombinaison homologue

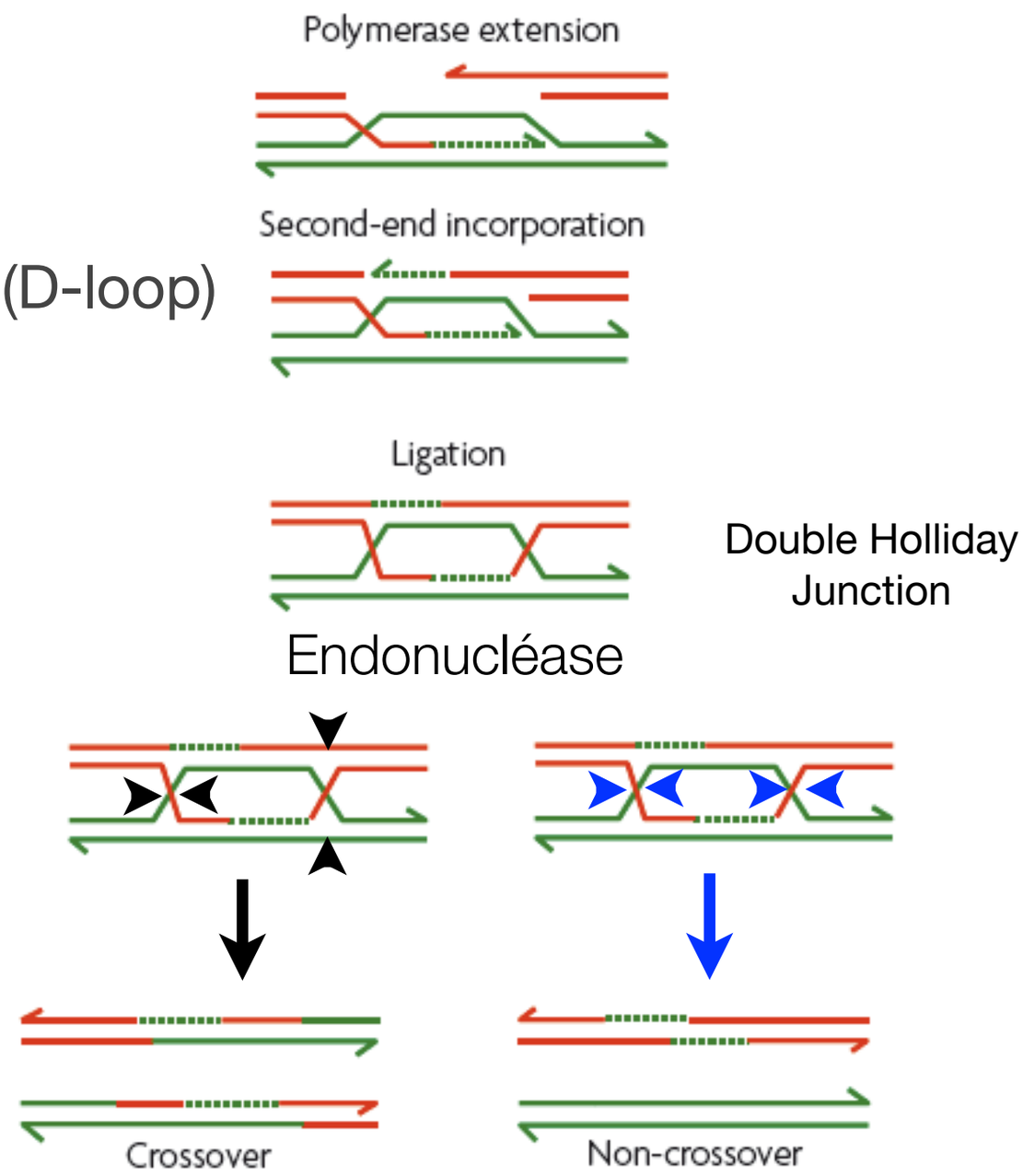
- Homologie de séquence
- Stabilisation de l'ADN simple brin
- Formation d'un nucléofilament, Recherche d'homologie
- Etape clé = invasion du brin homologue (D-loop) : RAD51

T Sugiyama et N Kantake, J Mpl Biol 2009-390;45



Réparation par recombinaison homologue : Crossing over / Conversion génique

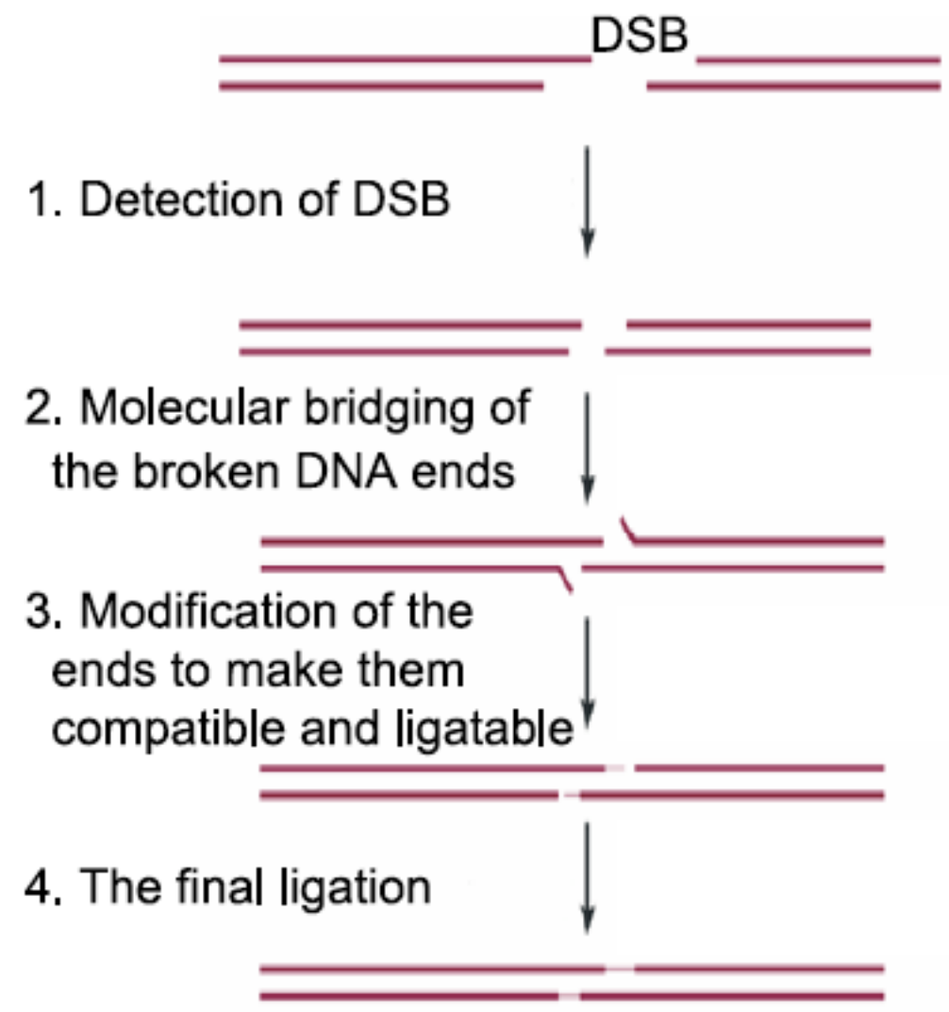
- Homologie de séquence
- Etape clé = invasion du brin homologue (D-loop)
- Résolution
  - DSBR (Holliday junction)
    - Crossing over
    - Conversion génique



PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

Réparation par fusion des extrémités

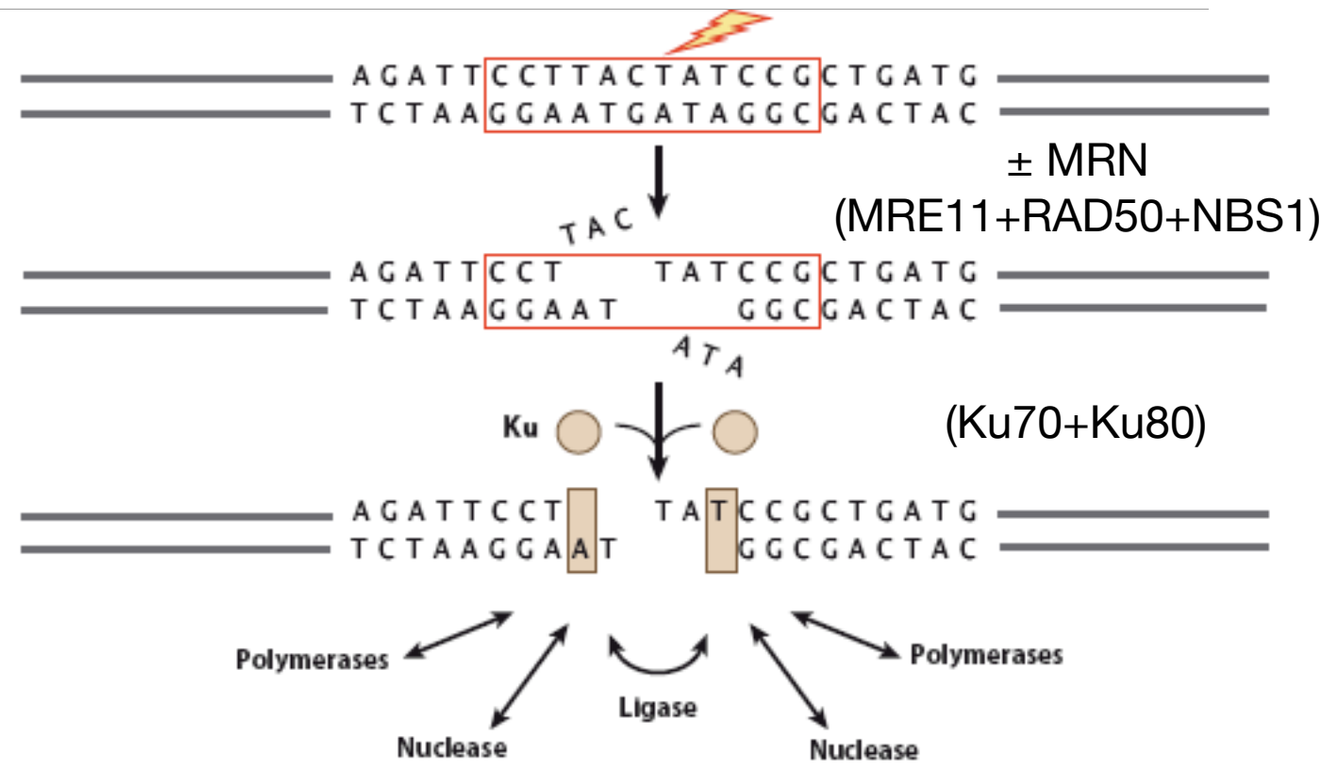
- NHEJ : Non Homologous End Joining
- Remaniement des extrémités
- Ligation directe



W Gu et al., PathoGenetics, 2008-I:4

Réparation par fusion des extrémités

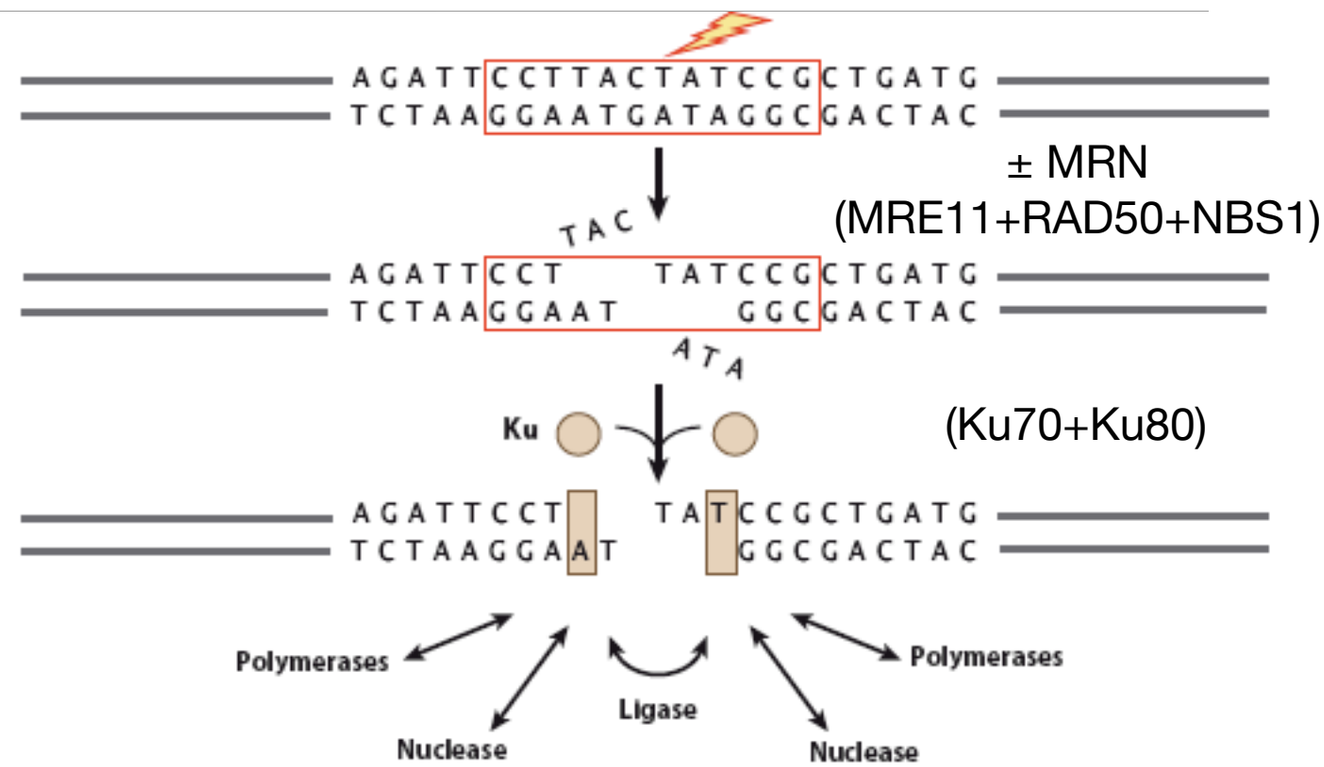
- Fixation du complexe Ku (Ku70+Ku80)
  - Facilite la fixation des autres enzymes



MR Lieber, Annu Rev Biochem, 2010-79;181

Réparation par fusion des extrémités

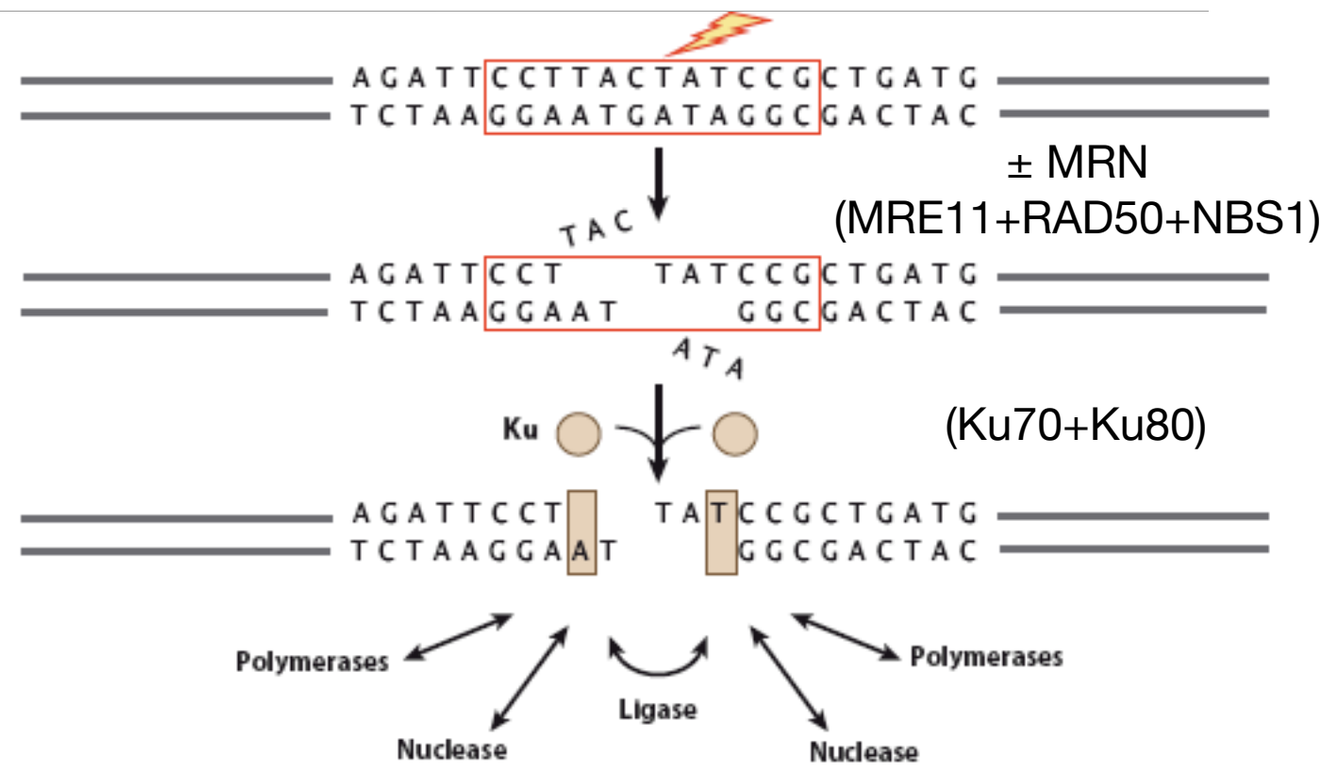
- Fixation du complexe Ku (Ku70+Ku80)
  - Facilite la fixation des autres enzymes
- Polymérases / nucléases / ligase
  - Action itérative dans n'importe quel ordre et indépendamment sur les deux extrêmités



MR Lieber, Annu Rev Biochem, 2010-79;181

Réparation par fusion des extrémités

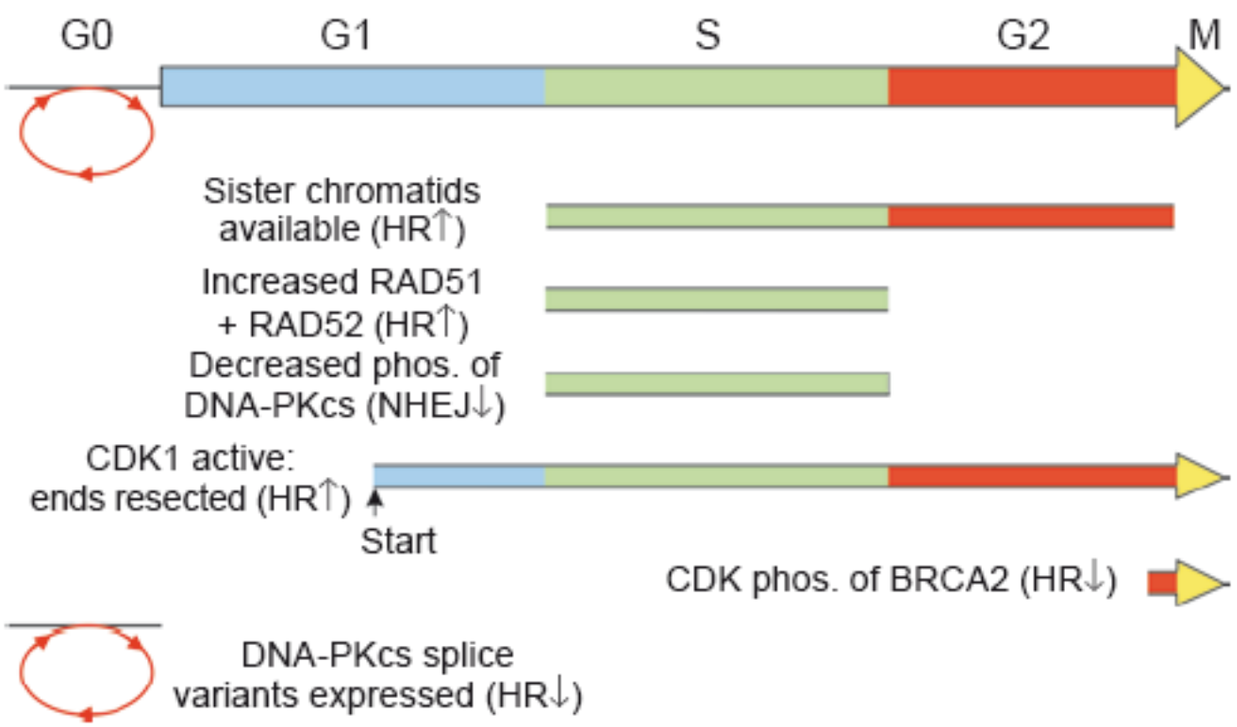
- Fixation du complexe Ku (Ku70+Ku80)
  - Facilite la fixation des autres enzymes
- Polymérases / nucléases / ligase
  - Action itérative dans n'importe quel ordre et indépendamment sur les deux extrêmités
- **«Cicatrice» au point de cassure**
  - Plusieurs résultats possibles pour un même point de cassure -> très flexible
  - Création de diversité (réarrangement V(D)J)



MR Lieber, Annu Rev Biochem, 2010-79;181

Choix du mécanisme de réparation

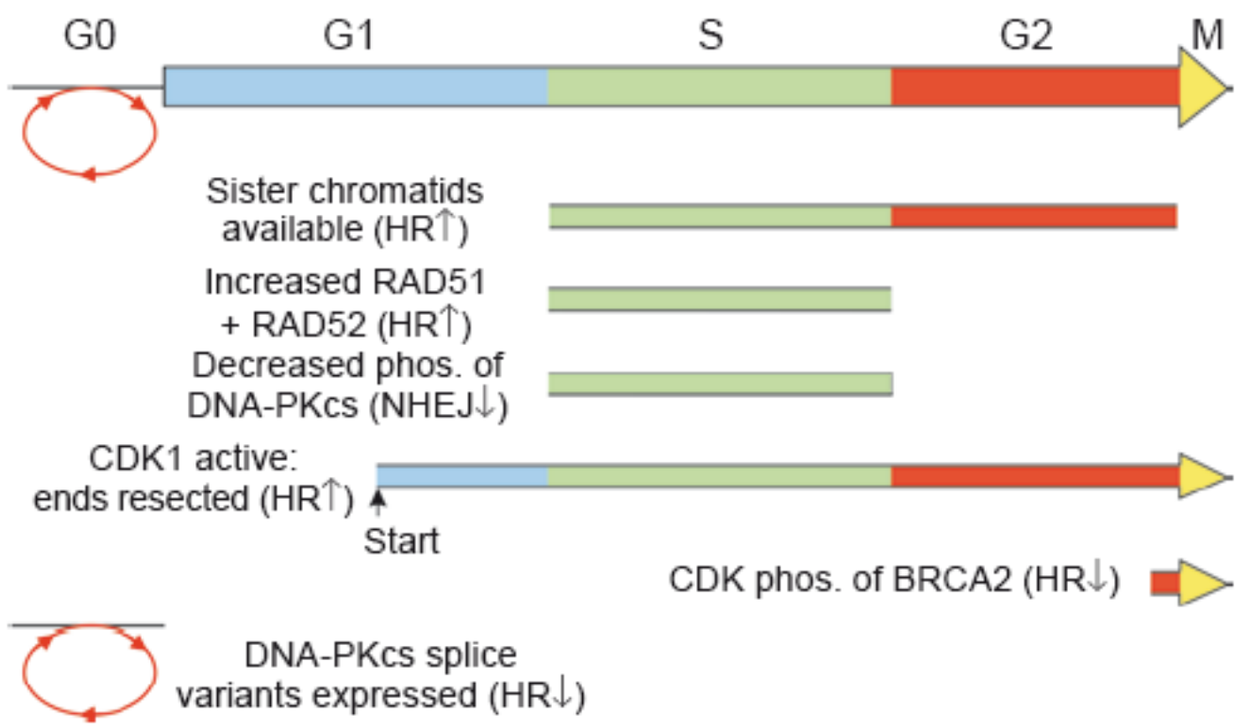
- Compétition entre HR et NHEJ
  - HR : S et G2
  - NHEJ : Tout le cycle mais essentiellement G0 et G1



M Shrivastav et al., Cell Res, 2008-18;134

Choix du mécanisme de réparation

- Compétition entre HR et NHEJ
  - HR : S et G2
  - NHEJ : Tout le cycle mais essentiellement G0 et G1
- Eléments de régulation
  - Partenaire disponible pour HR ++
  - Régulation au cours du cycle cellulaire
    - ex : activation CDK (Cycline Dependant Kinases) en fin de G1 indispensable à la formation d'ADN simple brin



M Shrivastav et al., Cell Res, 2008-18;134

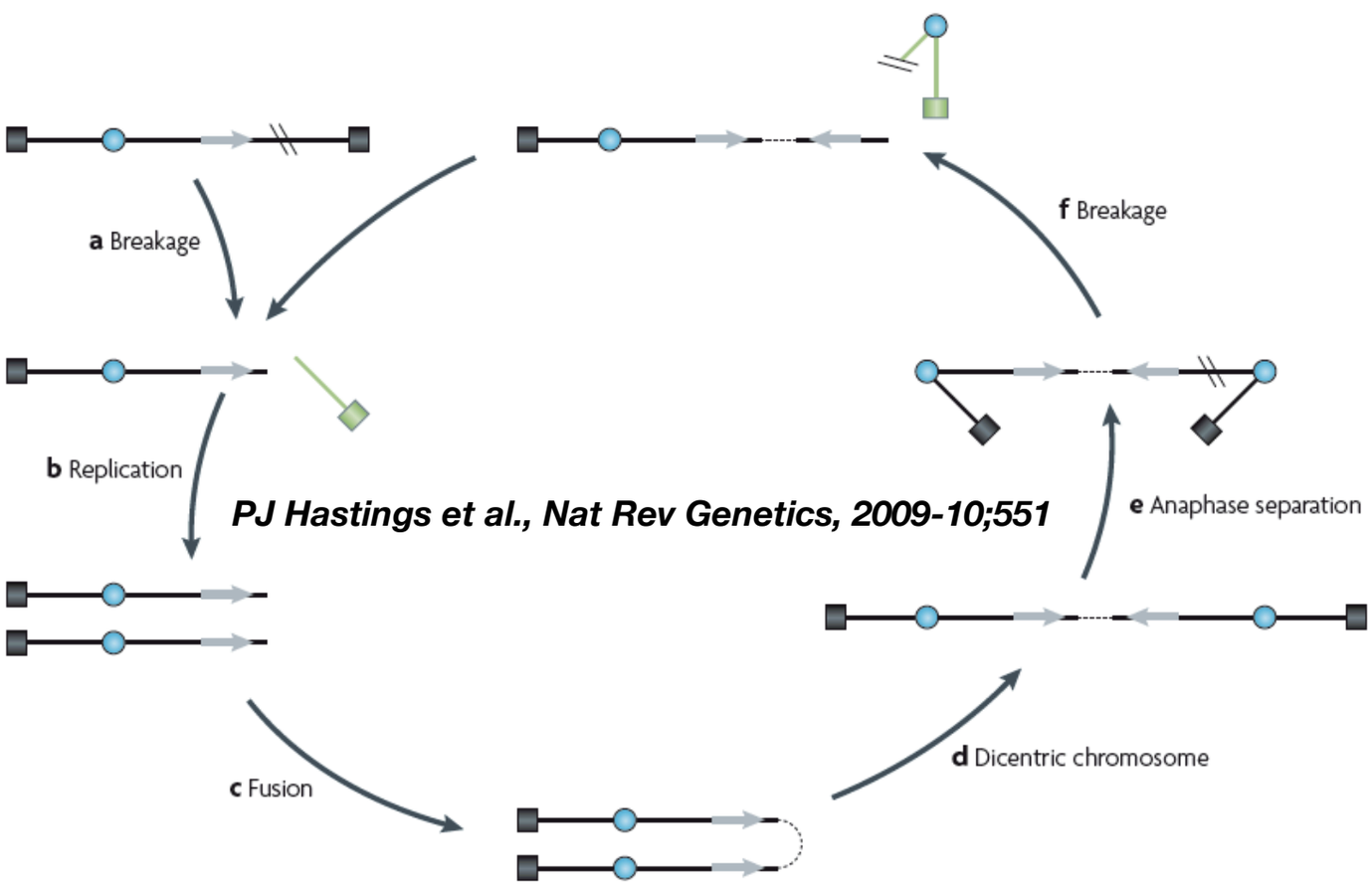
Et si il n’y a pas de 2e extrémité ?

Cassure télomérique

PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

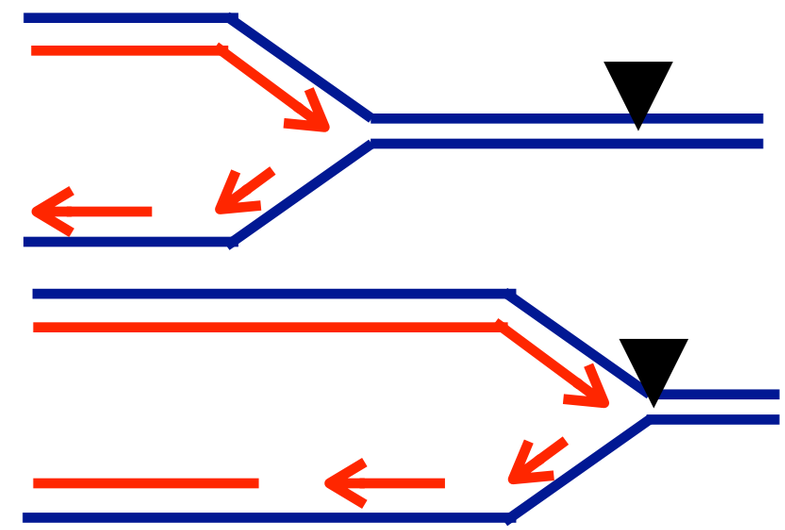
Et si il n'y a pas de 2e extrémité ?

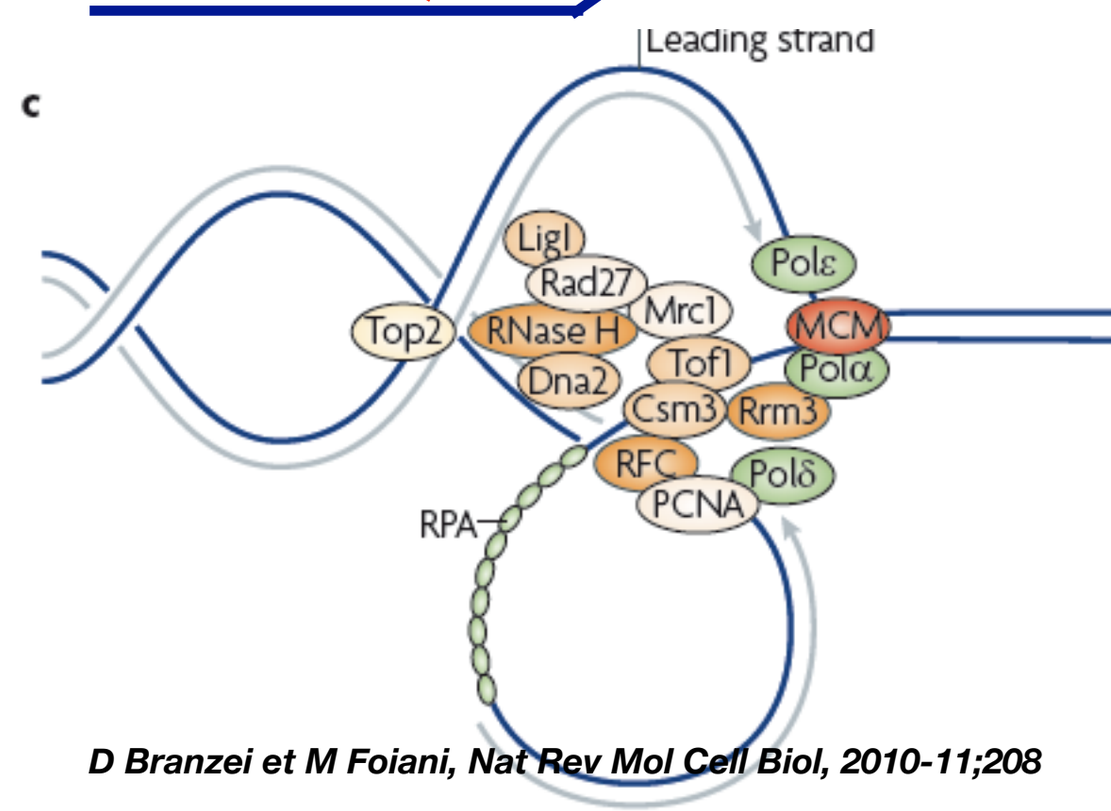
Cassure télomérique



PJ Hastings et al., Nat Rev Genetics, 2009-10;551

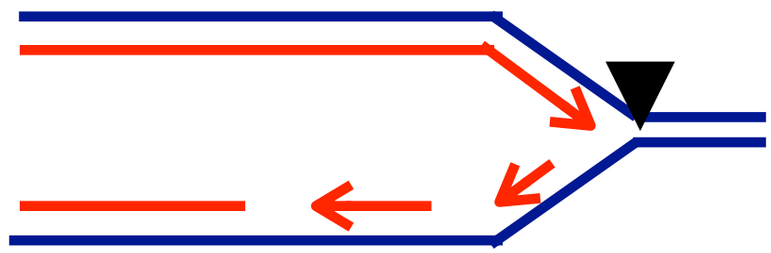
Arrêt de la réplication



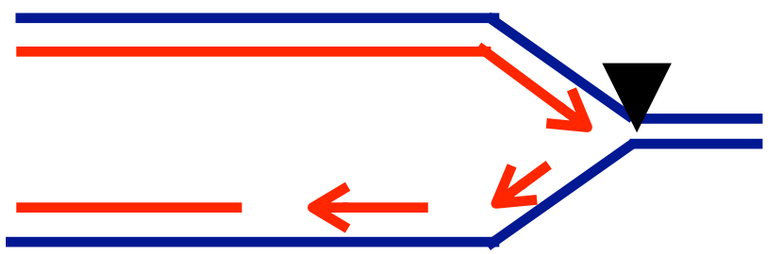


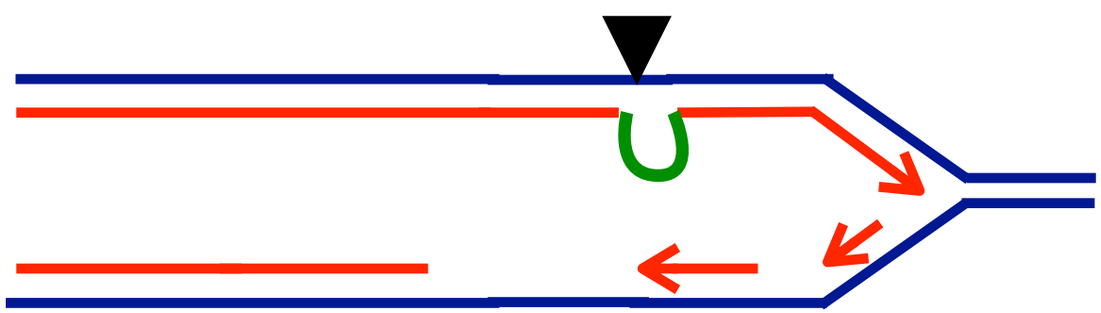
D Branzei et M Foiani, Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11;208

Cassure par arrêt de la réplication

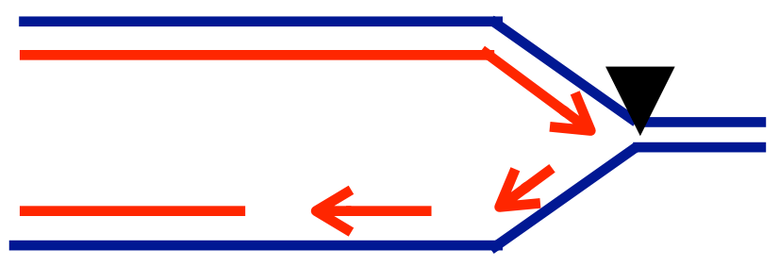


Translesion Polymerase

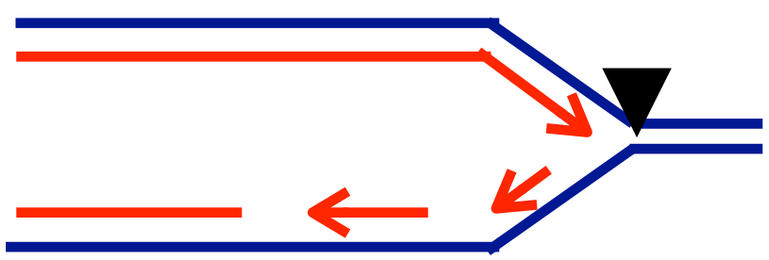


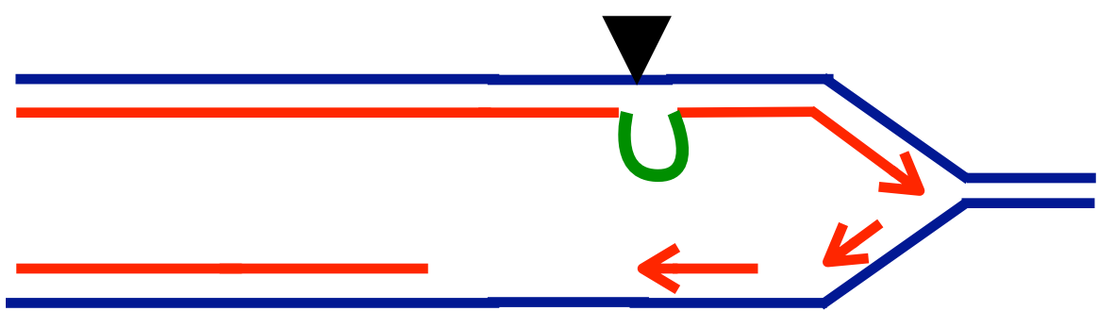


Cassure par arrêt de la réplication

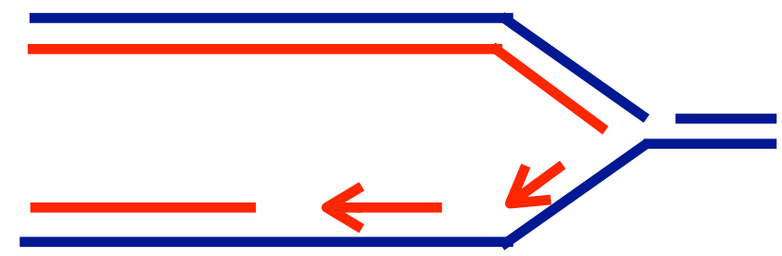


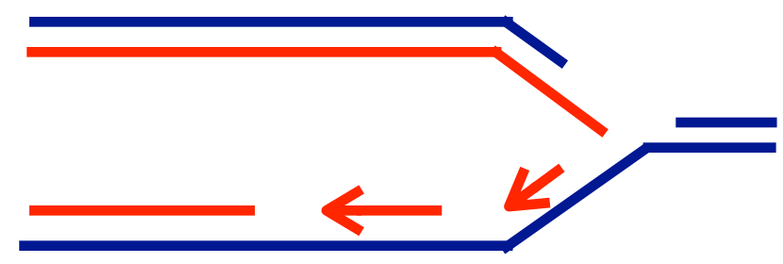
Translesion Polymerase



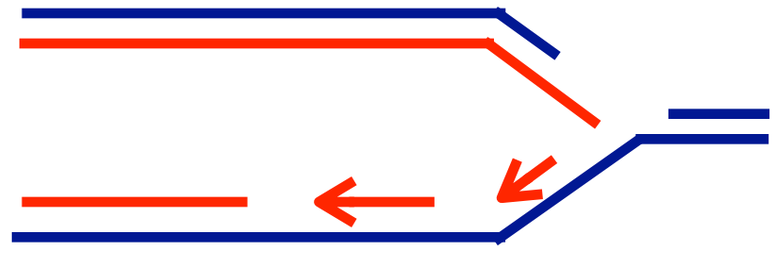


Template switch

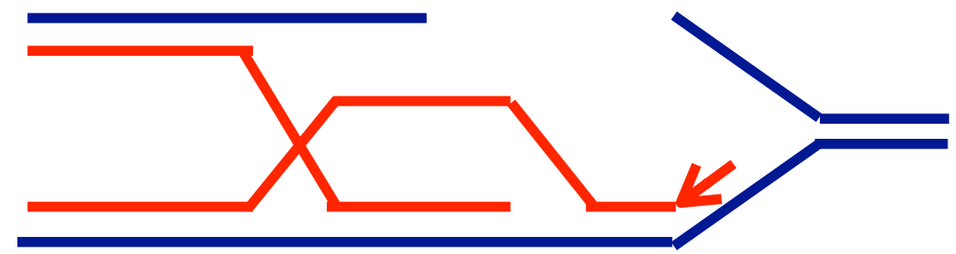


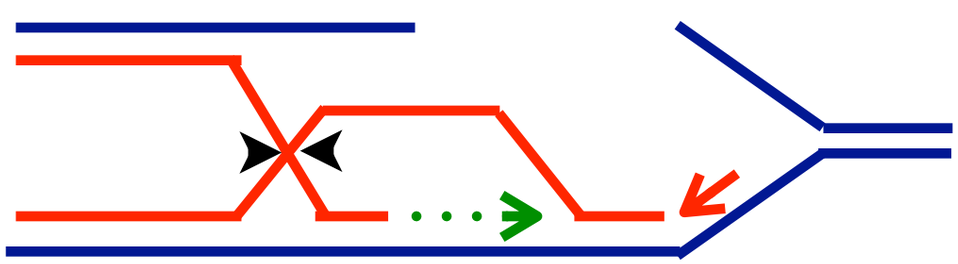


Template Switch

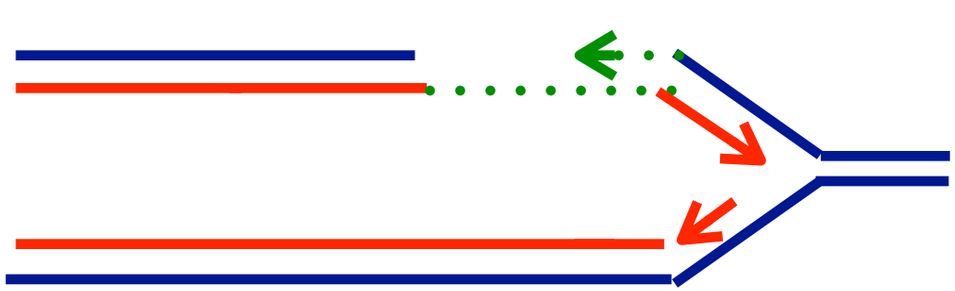


Break Induced Replication

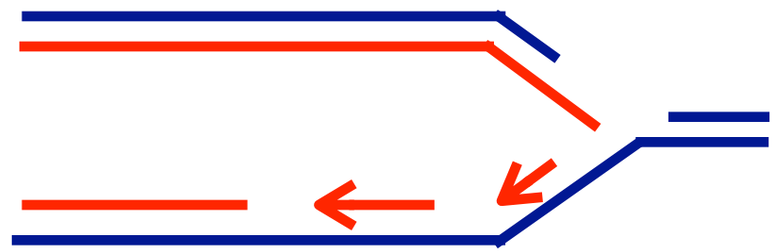




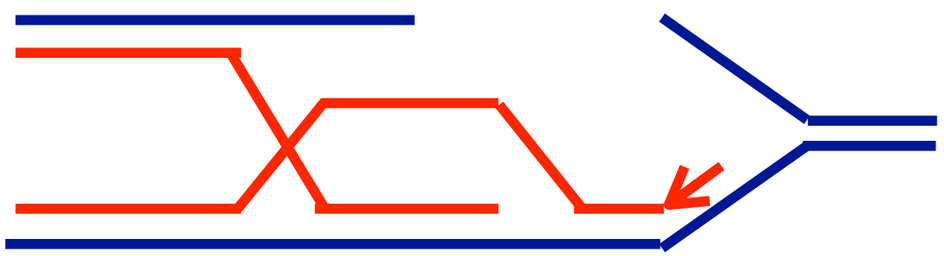
Hélicase (Bloom syndrom Protein) + topoisomérase

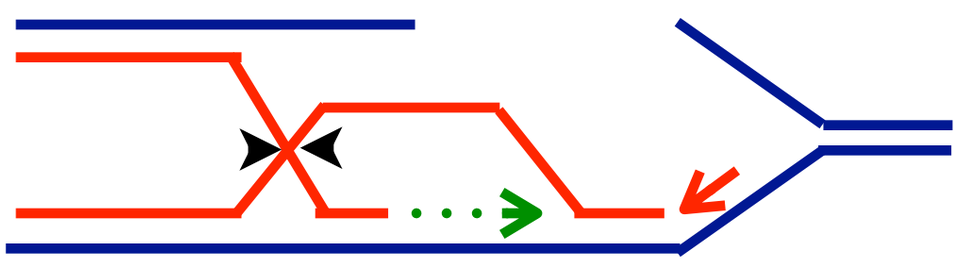


Template Switch

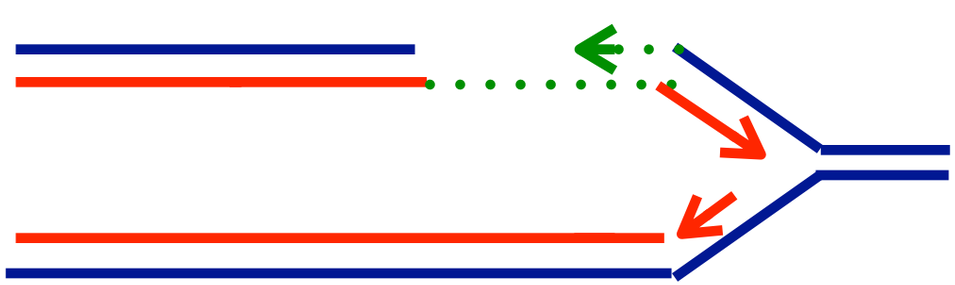


Break Induced Replication

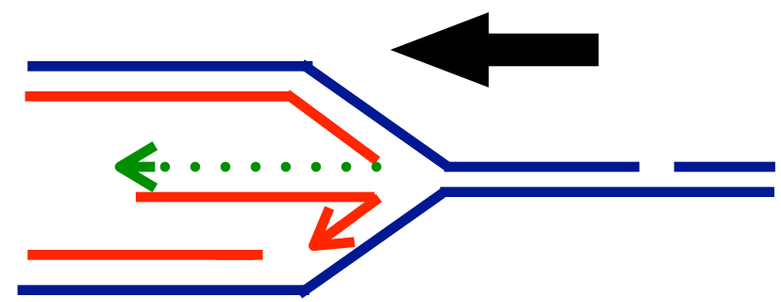


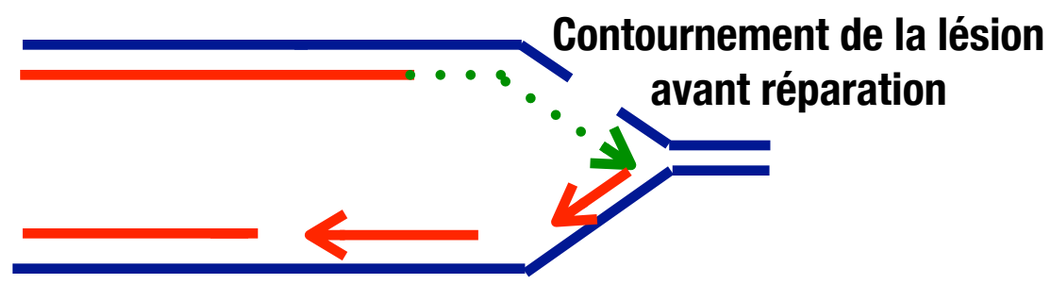


Hélicase (Bloom syndrom Protein) + topoisomérase

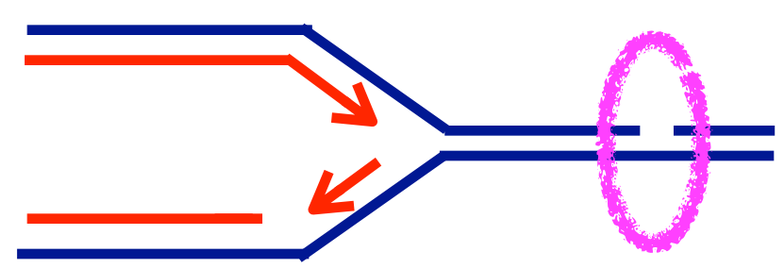


Régression de la fourche de réplication





Réparation de la lésion reprise de la réplication



Mécanismes de réparation

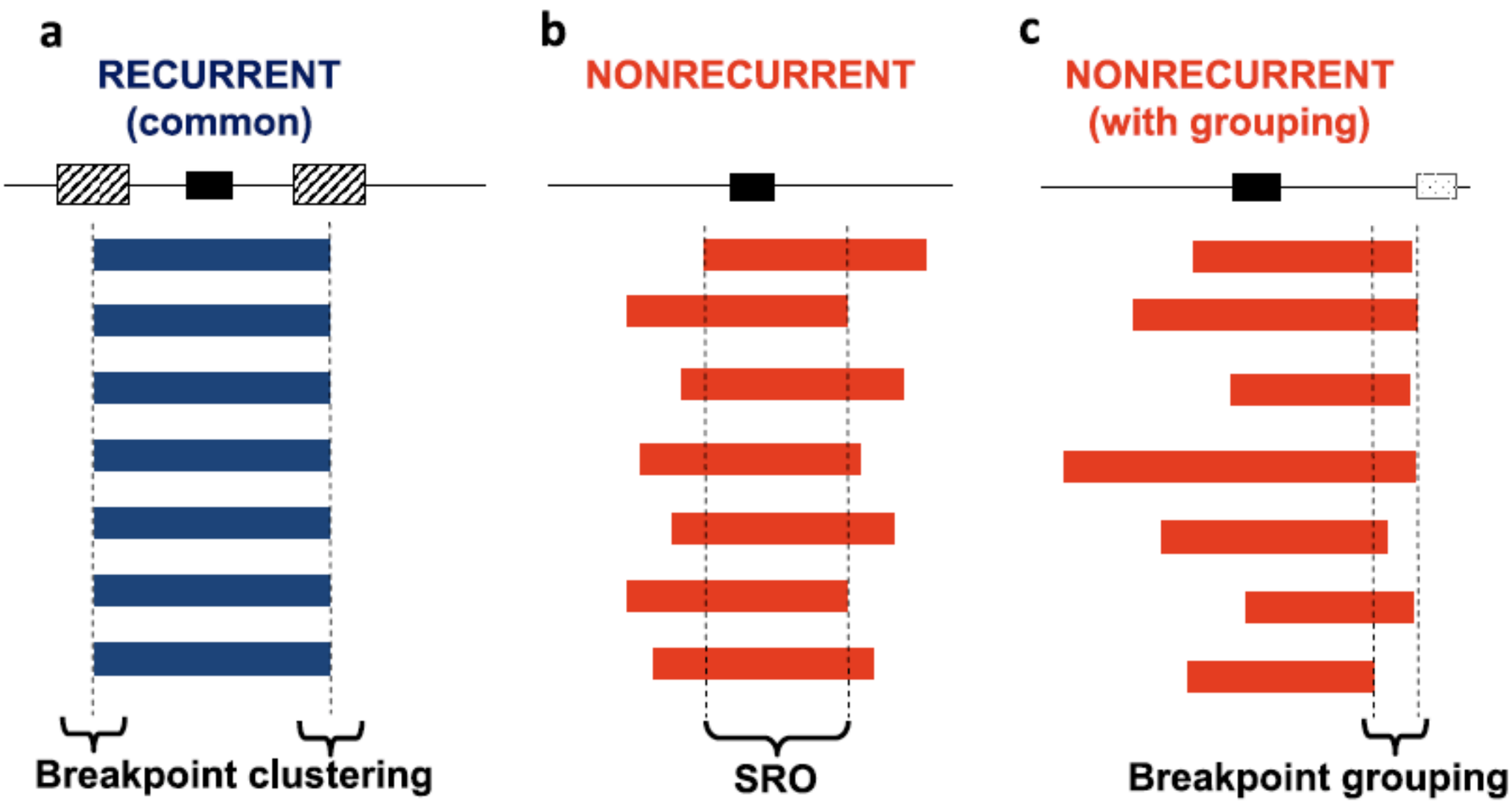
Avec recherche d'homologie

- Recombinaison homologue
- Break Induced Replication

Sans recherche d'homologie

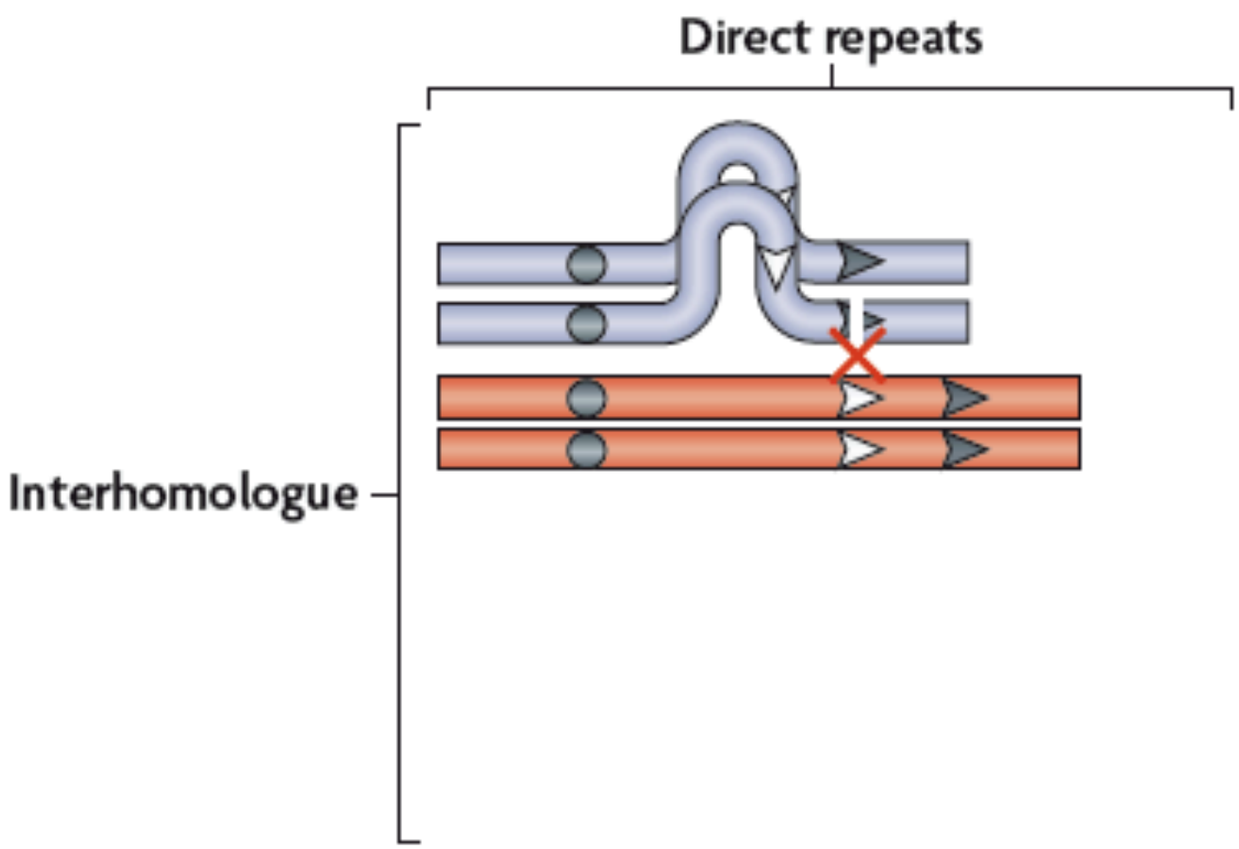
- NHEJ
- Régression de la fourche de réplication

Les Anomalies chromosomiques résultent d'une réparation anormale !



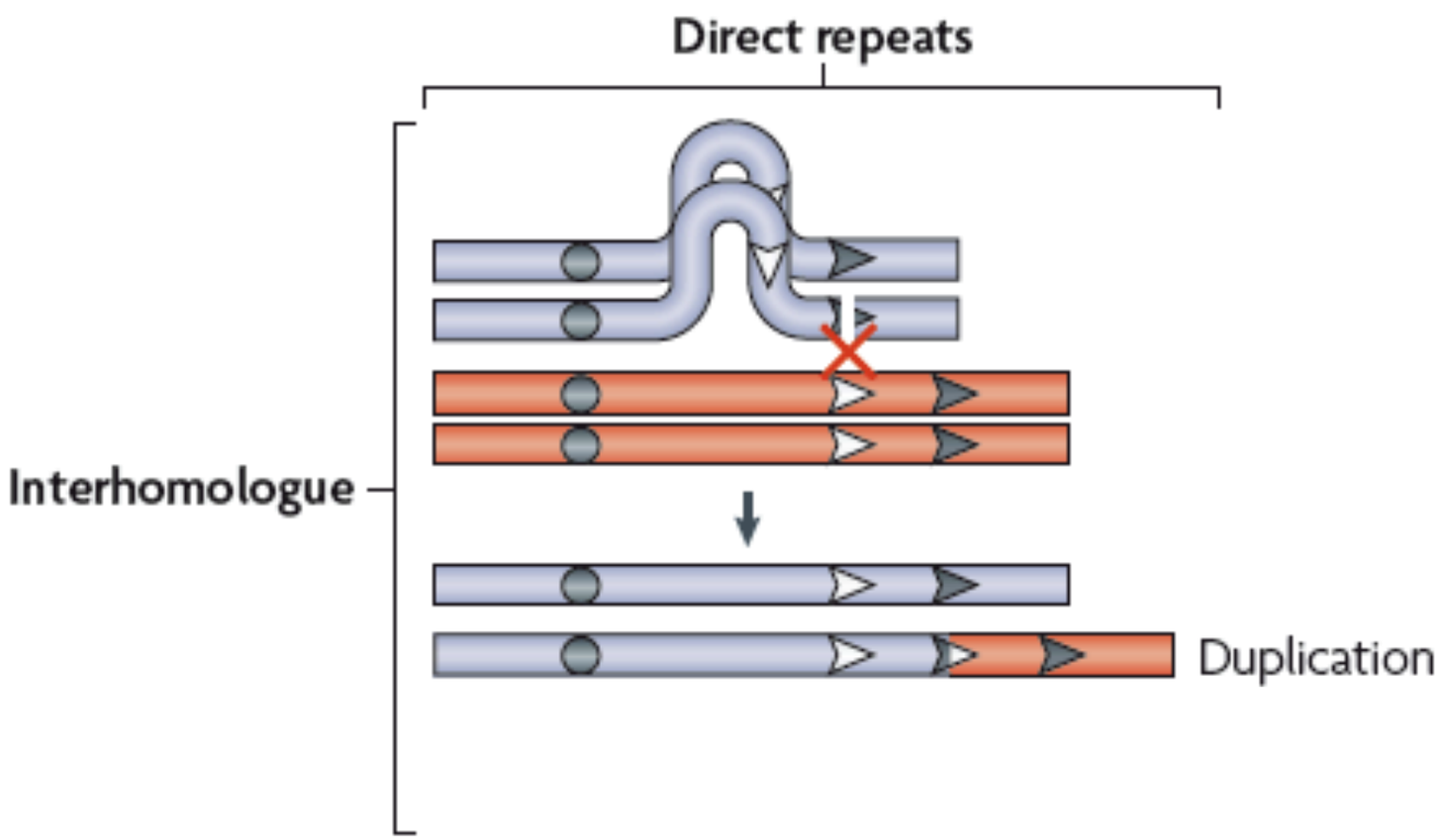
W Gu et al., PathoGenetics, 2008-I:4

Anomalies récurrentes : Recombinaison Homologue Non Allélique (NAHR : non allelic homologous recombination)



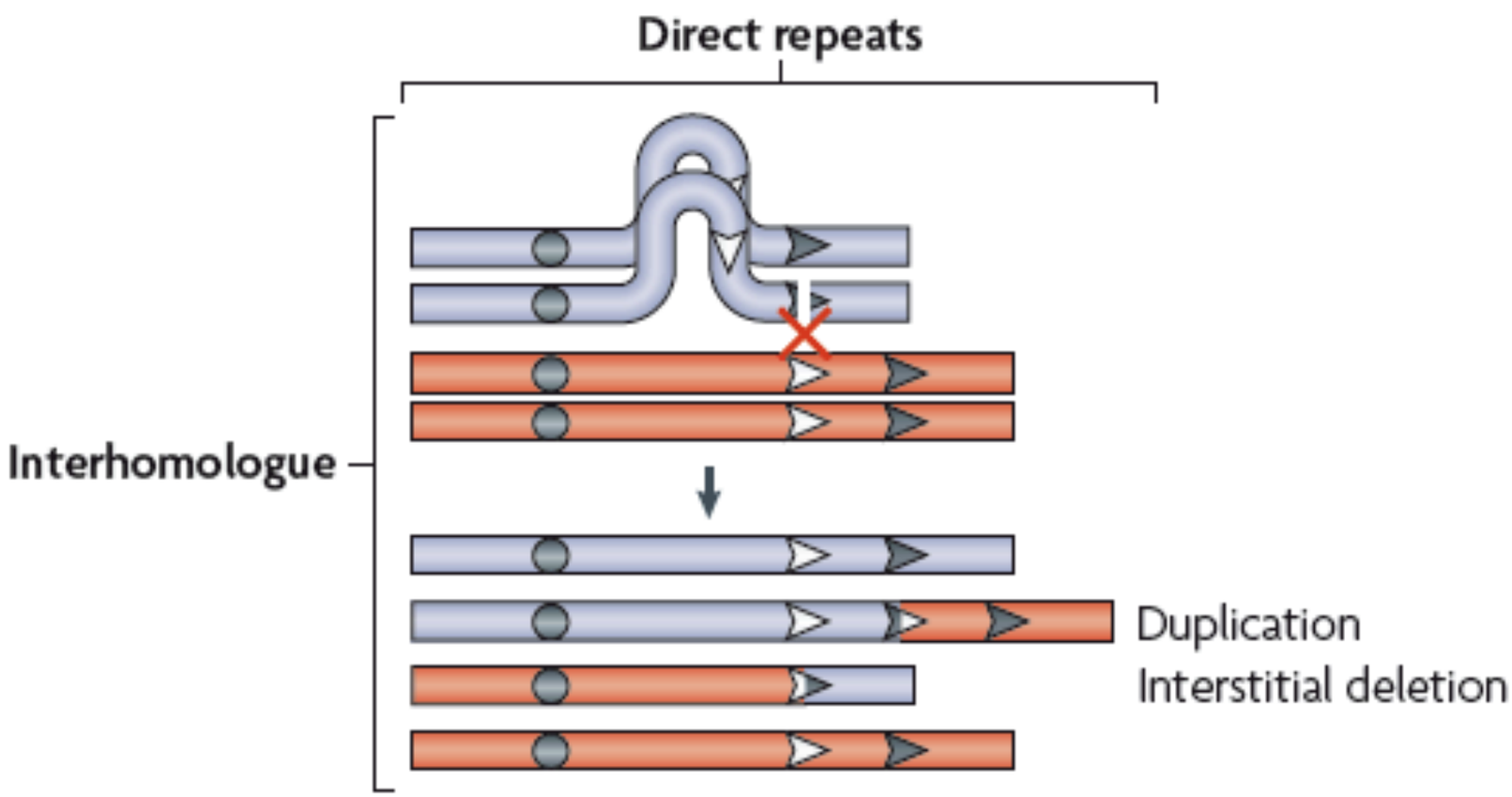
M Sasaki et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11:182

Anomalies récurrentes : Recombinaison Homologue Non Allélique (NAHR : non allelic homologous recombination)



M Sasaki et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11:182

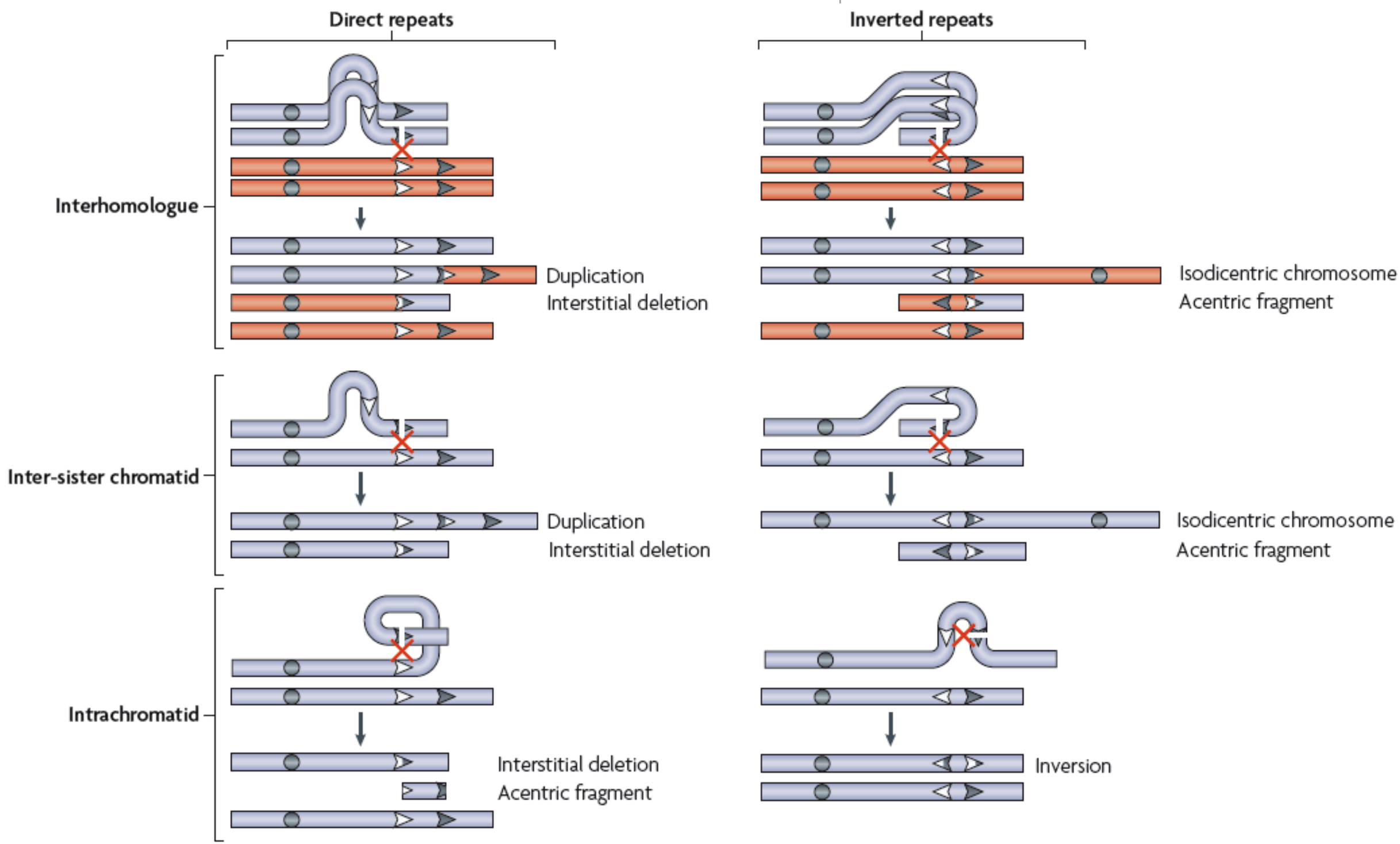
Anomalies récurrentes : Recombinaison Homologue Non Allélique (NAHR : non allelic homologous recombination)



M Sasaki et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11:182

Anomalies récurrentes : NAHR

2 fois plus de délétions que de duplications !

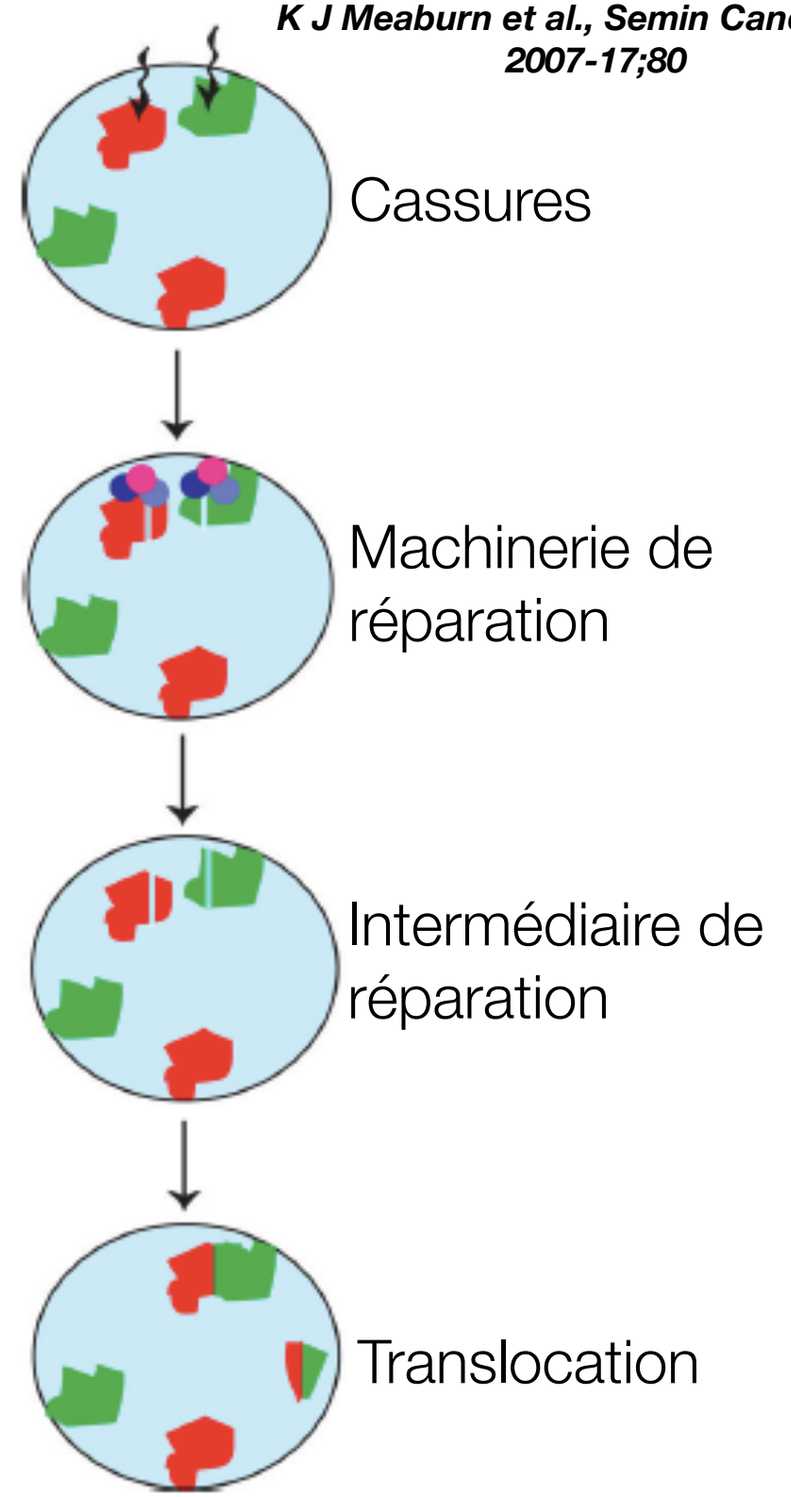


M Sasaki et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2010-11:182

Anomalies non récurrentes : NHEJ / BFB

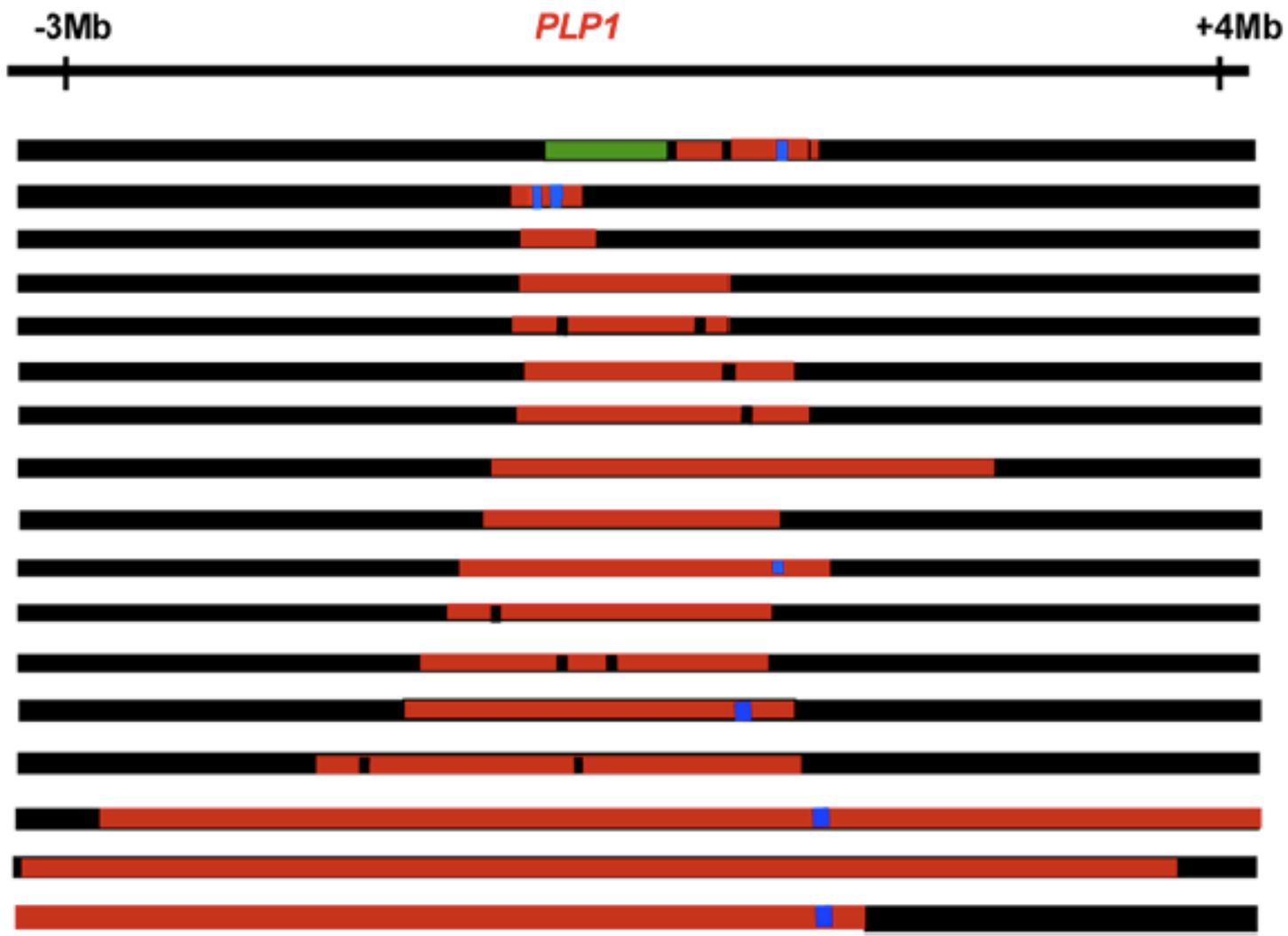
- Organisation du génome dans le noyau

K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80



Quid des anomalies complexes ?

- Pelizaeus-Merzbacher
  - Liée à l'X, gène PLP1 Proteolipid Protein 1
  - Non récurrente

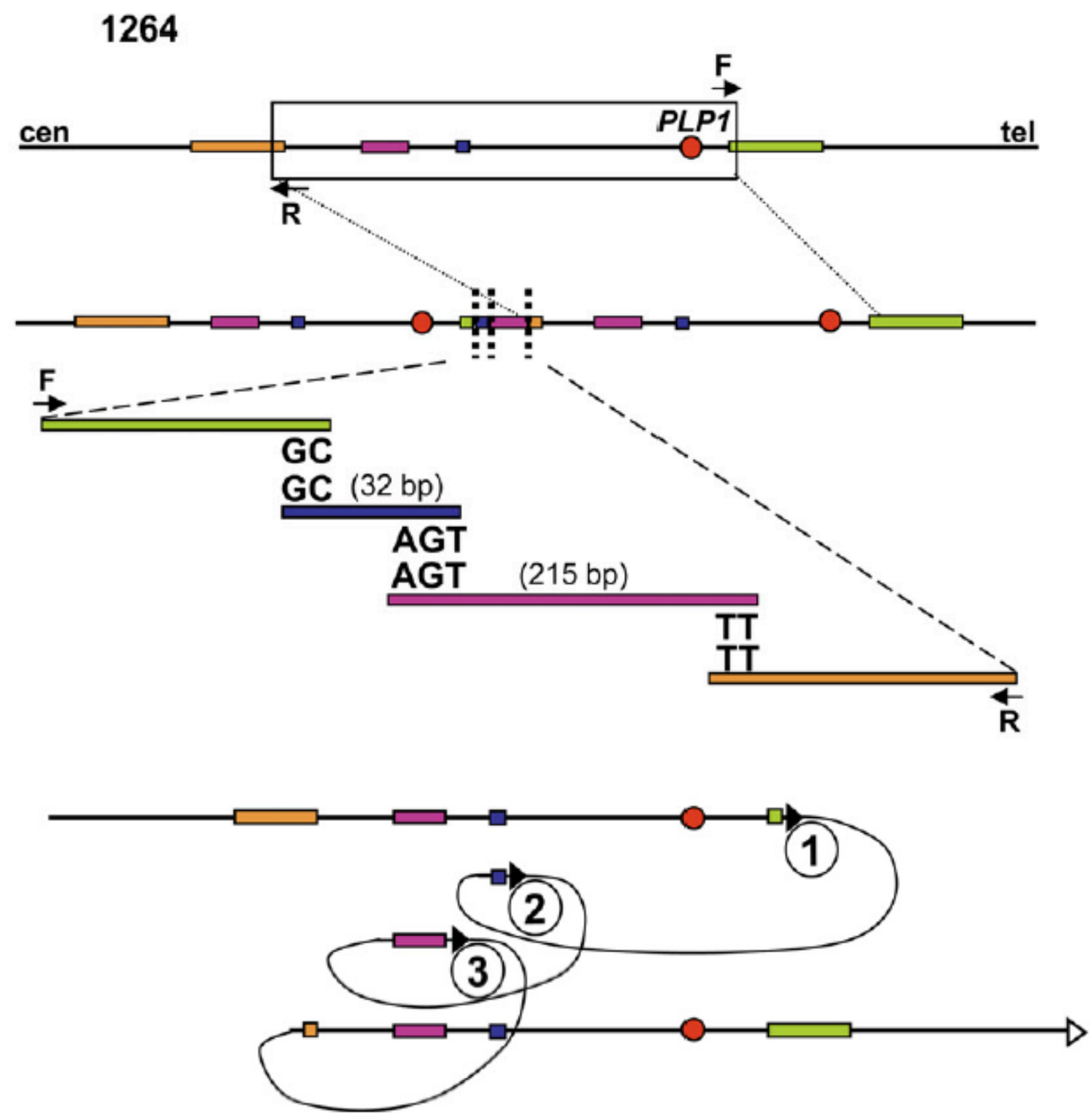


Duplication
Délétion
Triplication
Diploïdie

P J Hastings et al., PLoS Genetics, 2009-5:e1000327

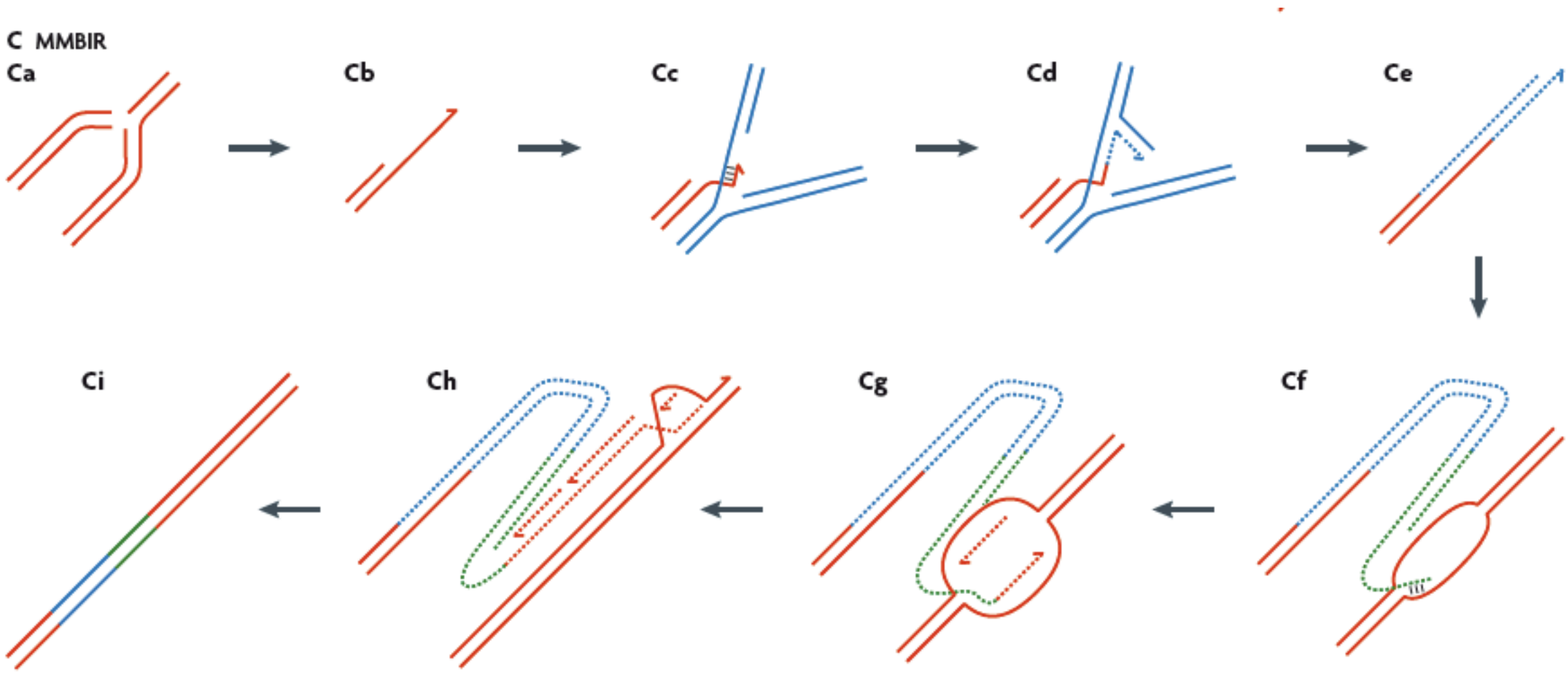
Clonage des points de cassure

- Réarrangement complexe
  - Zones tripliquées au sein de zones dupliquées
  - Zones non dupliquées intercalées
- Microhomologies aux points de cassure



J A Lee et al., Cell, 2007-131:1235

Erreurs de réplication : FoSTeS / MMBIR



P J Hastings et al., Nat Review Genetics, 2009-10:551

Facteurs favorisants les réarrangements

Architecture du génome / structure de la chromatine

Organisation du noyau

Echec des processus de réparation

Stress cellulaire

R-S Mani & A M Chnnaiyan., Nature Rev Genetics 2010-11;819

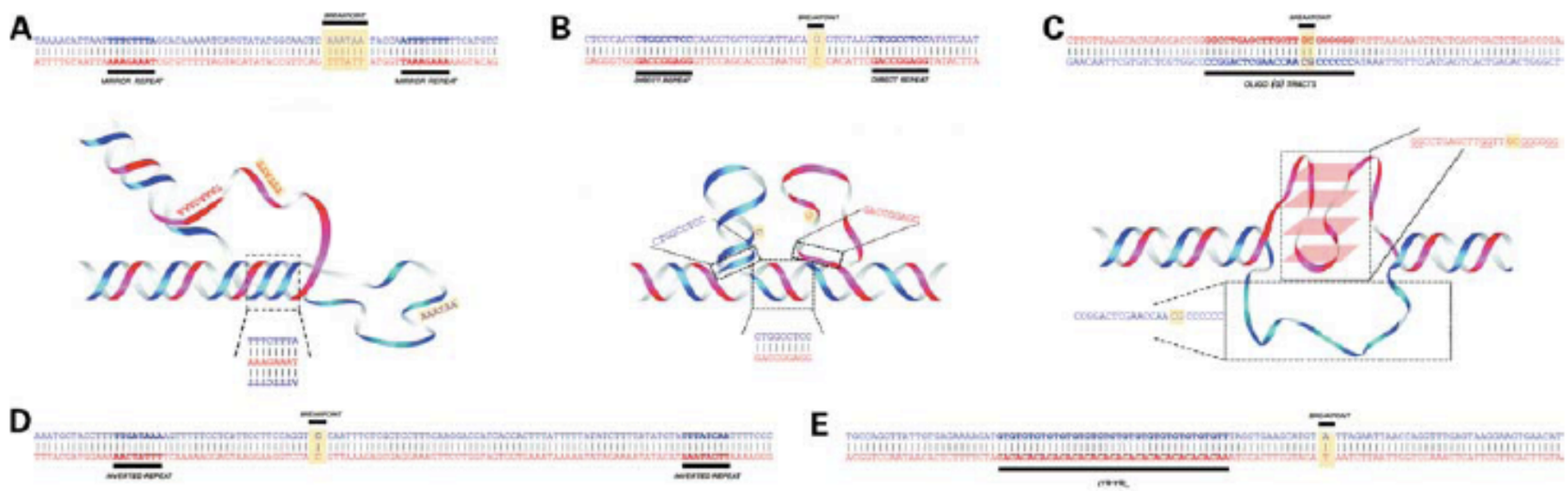
Facteurs favorisants les réarrangements

- Augmentation de la fréquence des cassures
- Proximité spatiale des molécules d’ADN
- Anomalie de la réparation

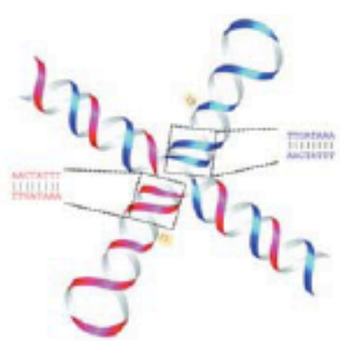
Augmentation de la fréquence des cassures : ADN non B, séquences répétées, inversées, palindromes...

- Favorisent les cassures de l'ADN, Régions difficiles à répliquer
  - -> blocage de la fourche de réplication, exposition ADN simple brin = matrice pour FoSTeS

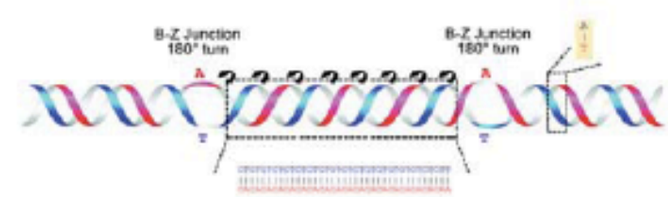
Triplex DNA **Epingle à cheveux** **Quadruplex DNA**



L Visser et al, Hum Mol Genet 2009-18;3579



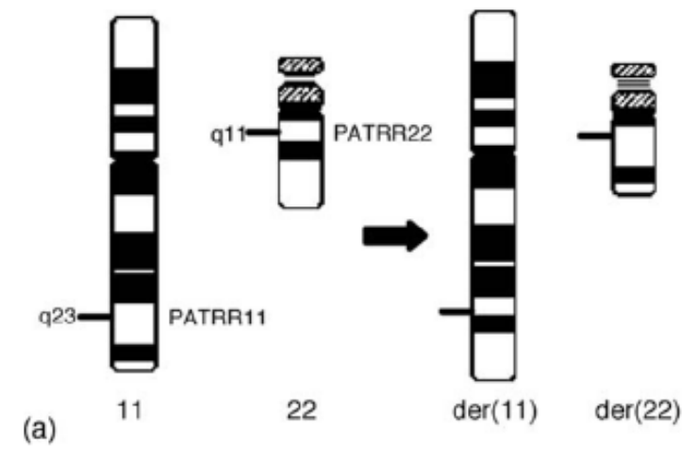
ADN Cruciforme

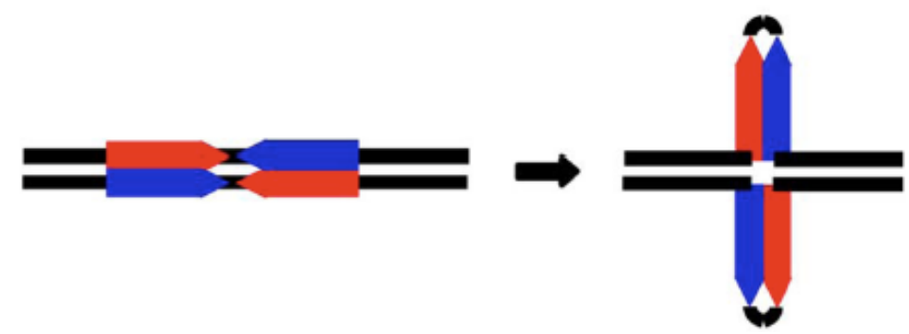


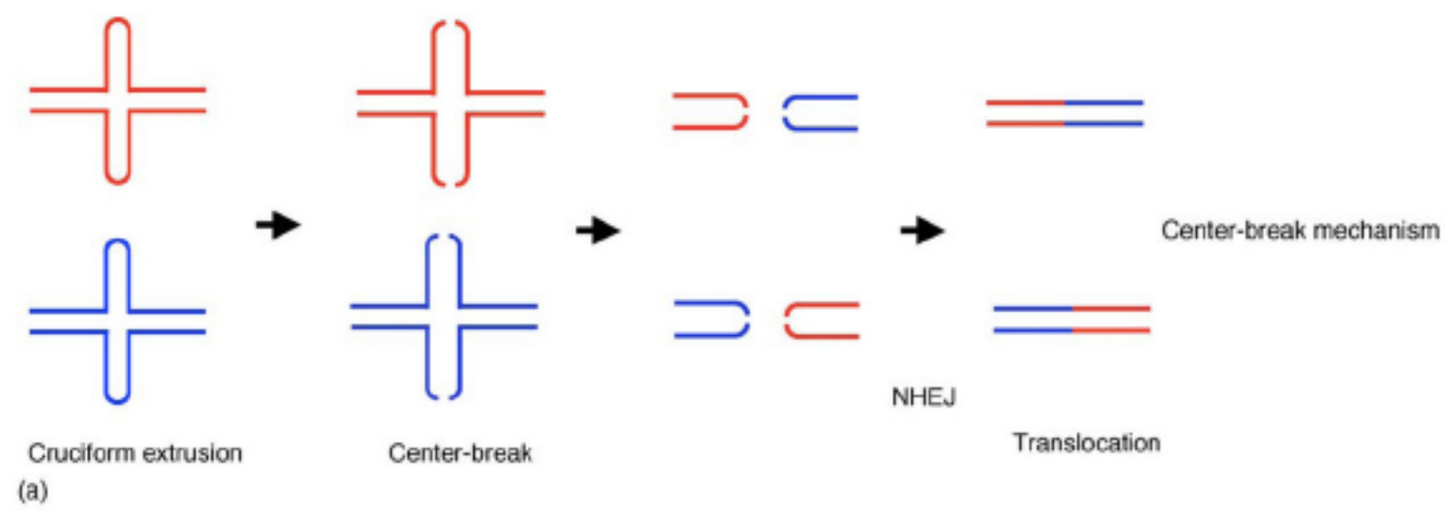
ADN Z lévogyre

Cas de la t(11;22)(q23;q11)

- Palindromes en 11q 23 et 22q11
  - ADN cruciforme
- Cassure double brin
  - Réplication ? Autre ?
- Réparation par NHEJ
  - Homologie qq nucléotides
  - petite délétion au point de cassure





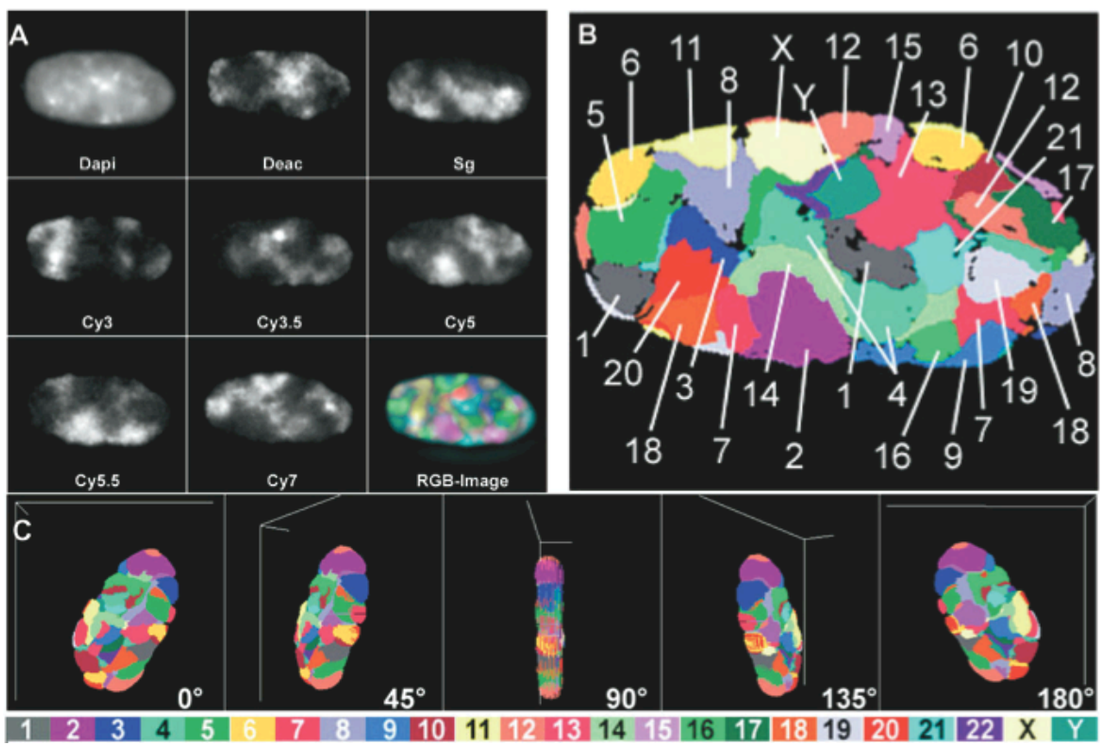


Facteurs favorisants les réarrangements

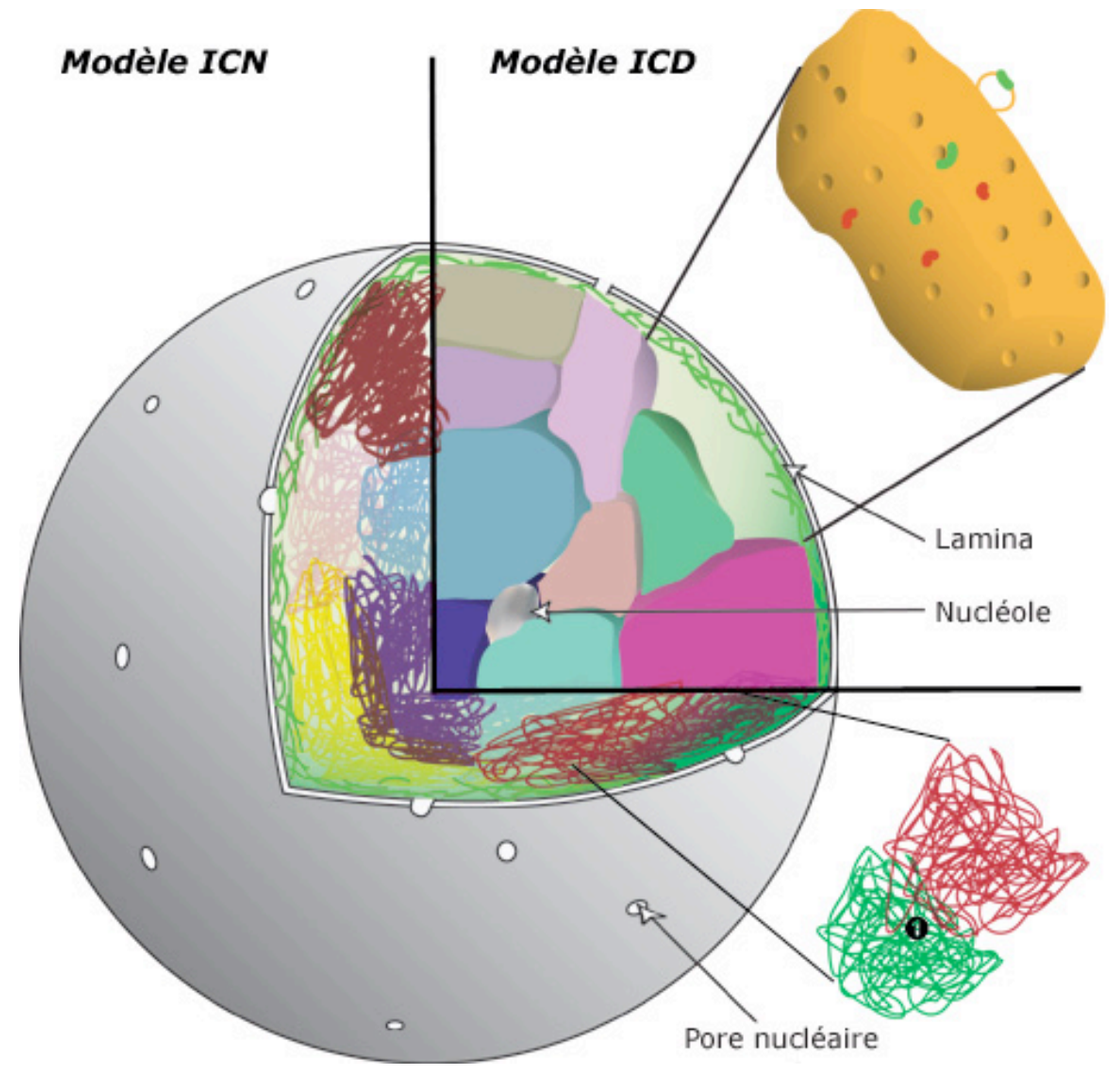
- Augmentation de la fréquence des cassures
- **Proximité spatiale des molécules d'ADN**
- Anomalie de la réparation

Proximité spatiale des molécules d'ADN

- Organisation du génome dans le noyau
  - Territoires chromosomiques



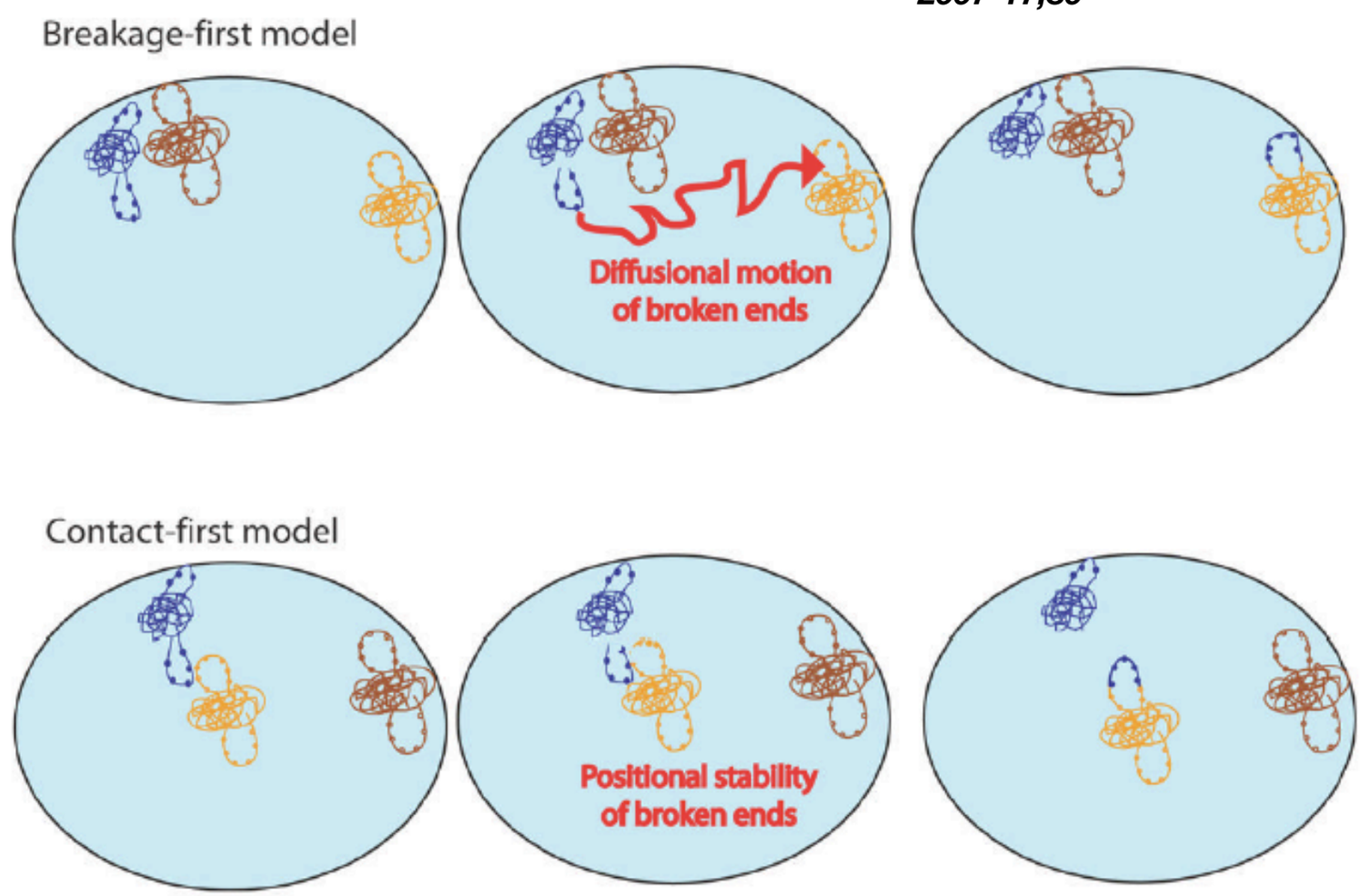
A Bolzer et al., PLoS Biol, 2005-3;826



Proximité spatiale des molécules d'ADN

- Organisation du génome dans le noyau
  - Territoires chromosomiques
  - Juxtapositions de séquences éloignées

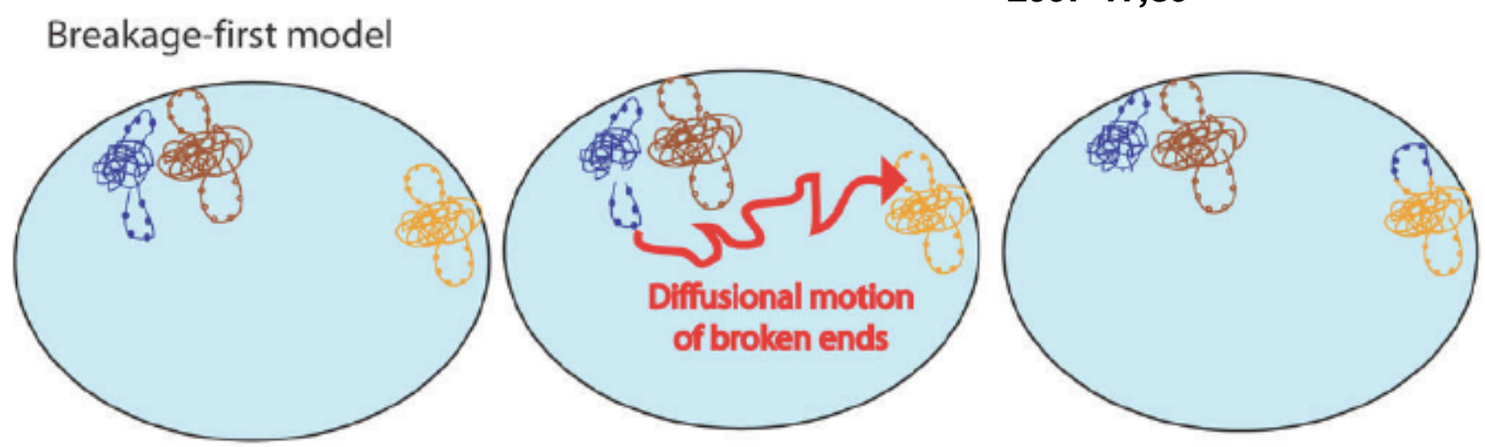
K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80

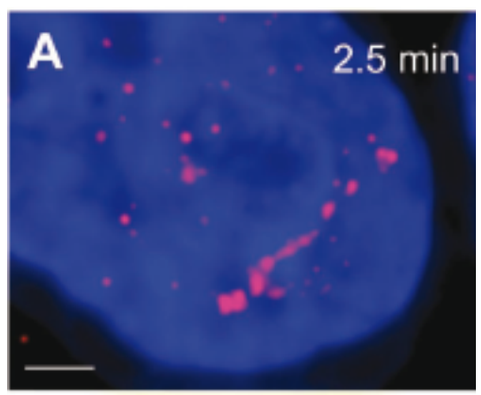


Breakage-first model

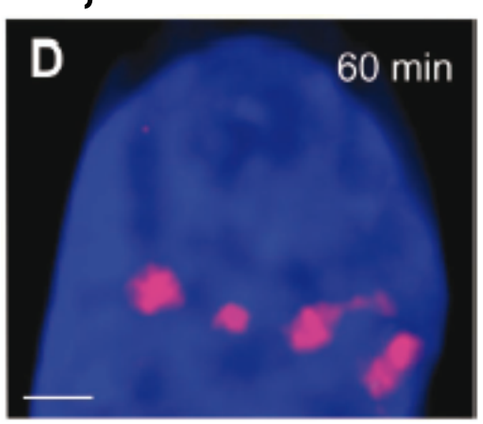
- Mobilité des fragments cassés

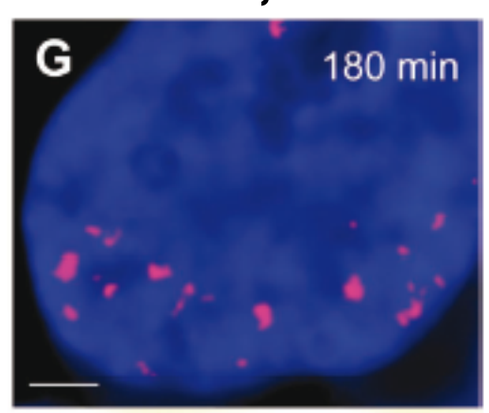
K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80





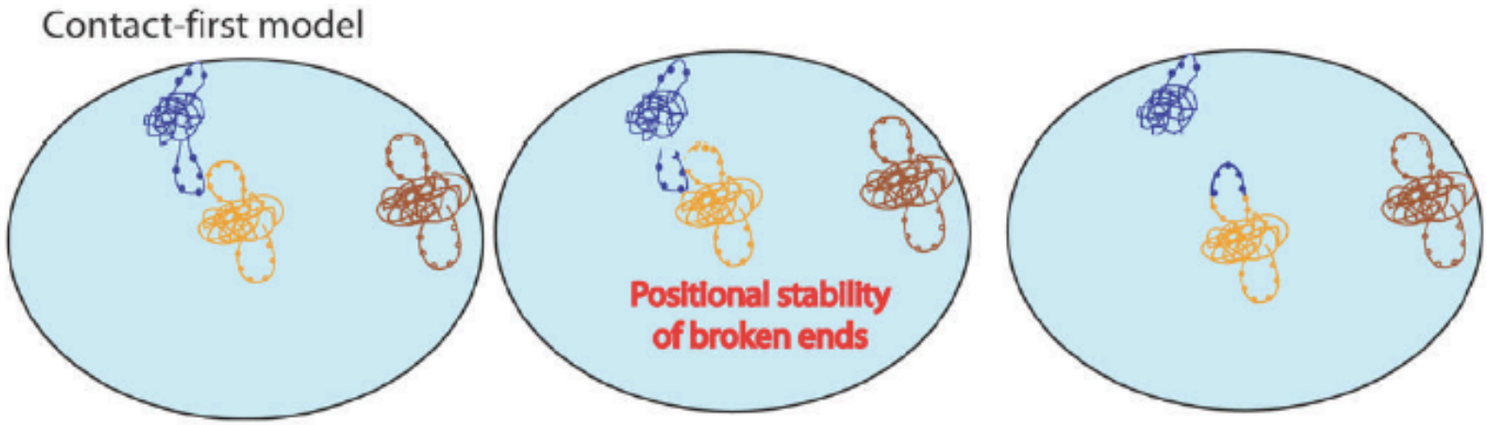
G1, RAD51- *JA Aten et al., Science 2004-303;92* **G2, RAD51+**





Contact-first model

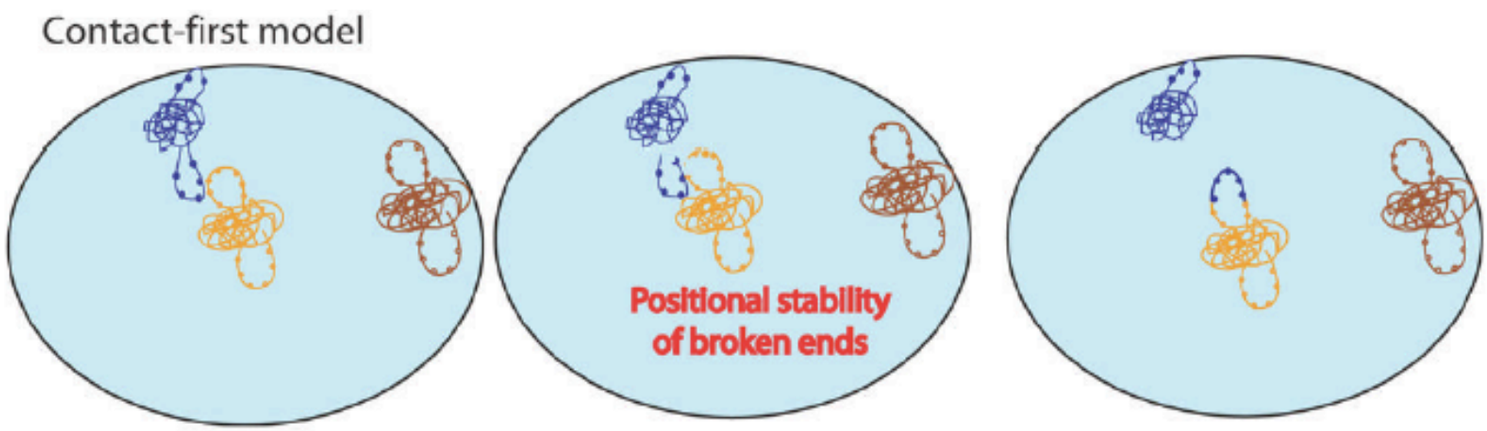
K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80

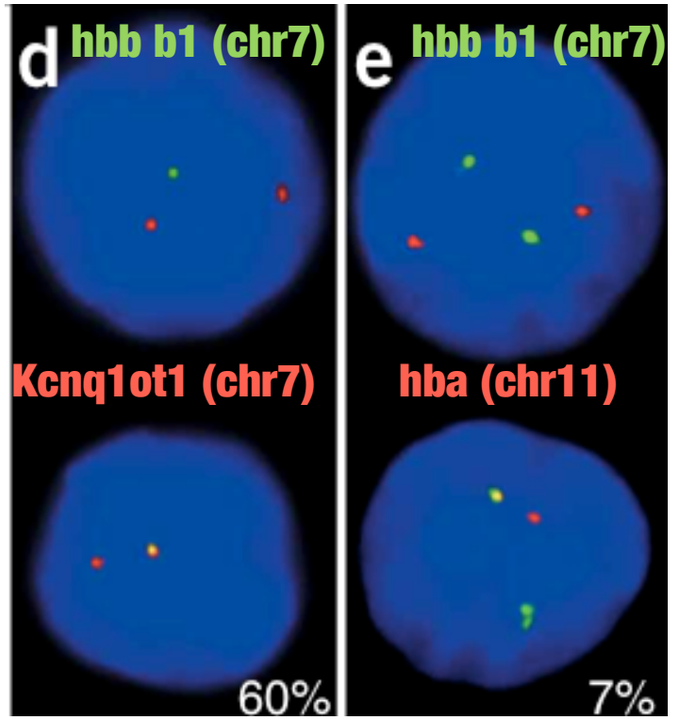


Contact-first model

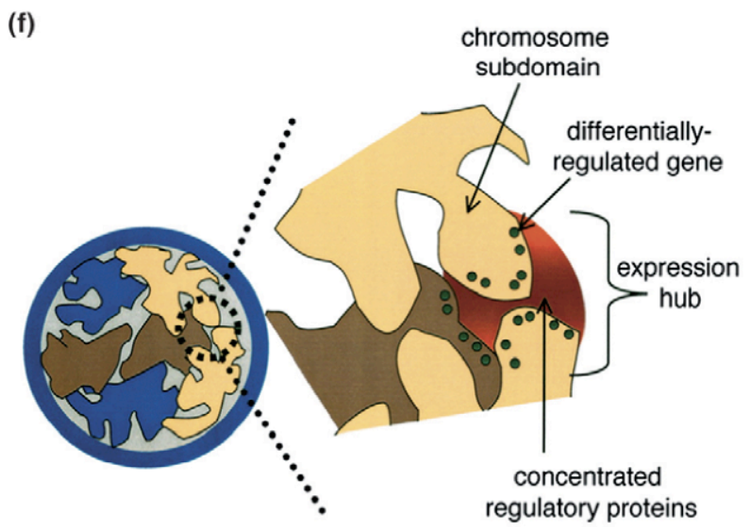
- Association fonctionnelle de séquences éloignées

K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80





CS Osborne et al., Nature Genetics, 2004-36;1065

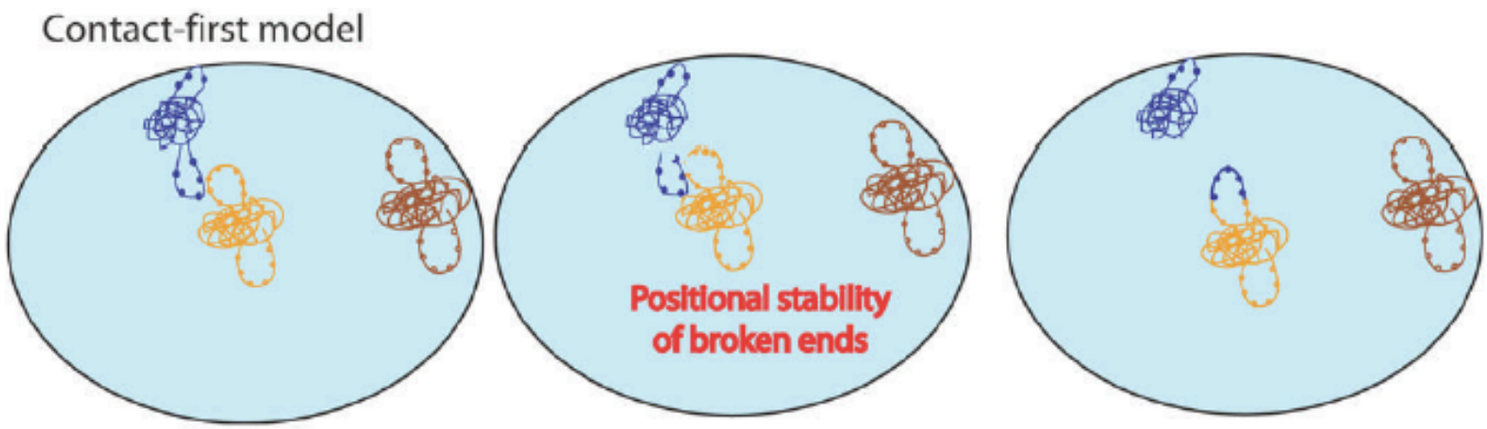


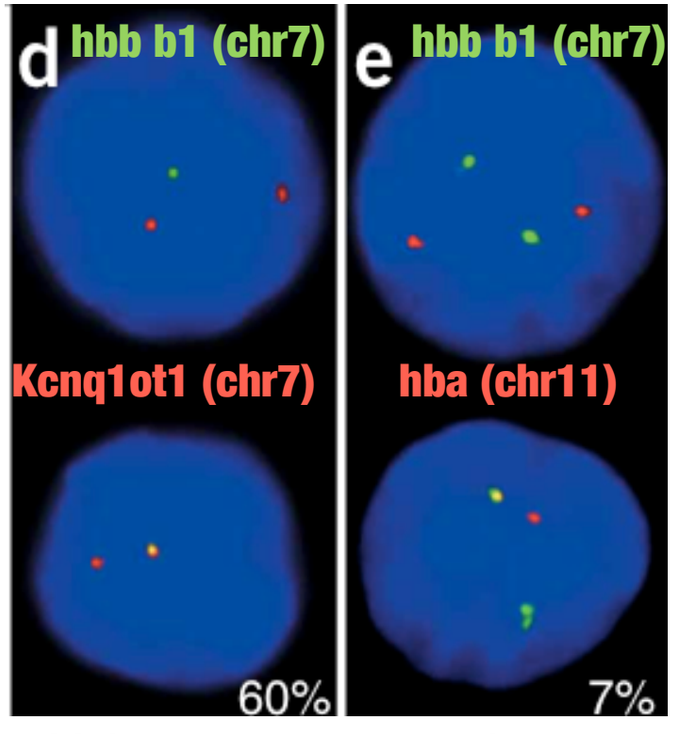
T Cremer et al., Curr Opinion Cell Biol, 2006-18;307

Contact-first model

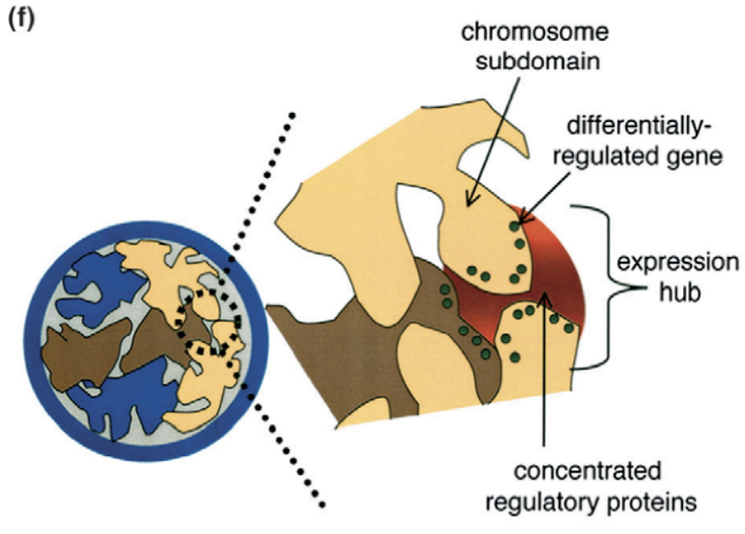
- Association fonctionnelle de séquences éloignées
- Corrélation entre volume de recouvrement et fréquence des translocations

K J Meaburn et al., Semin Cancer Biol 2007-17;80

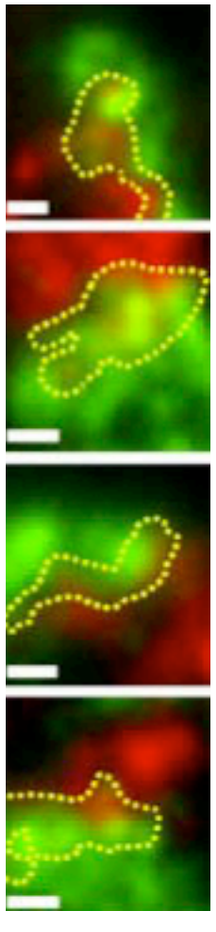


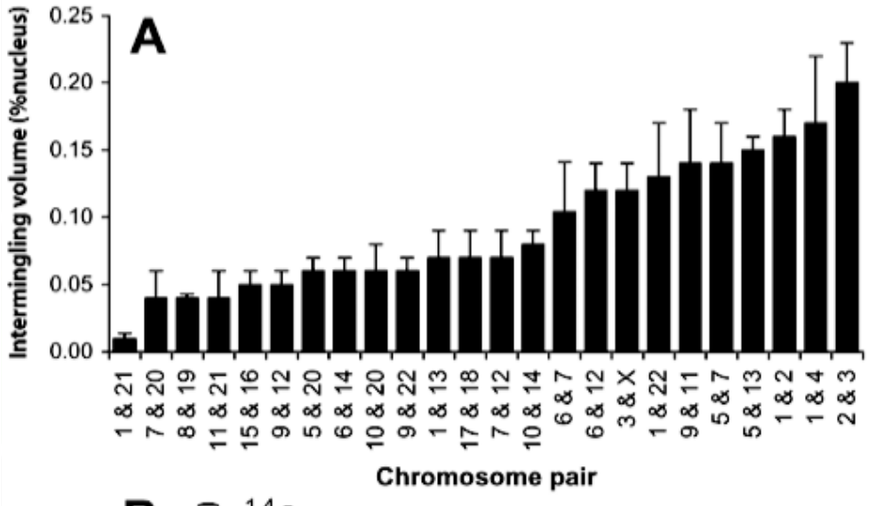


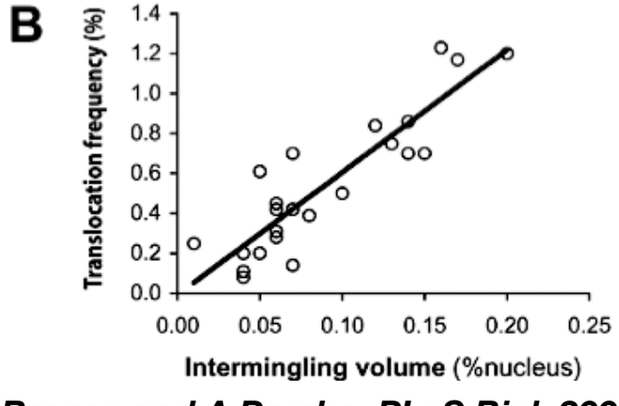
CS Osborne et al., Nature Genetics, 2004-36;1065



T Cremer et al., Curr Opinion Cell Biol, 2006-18;307







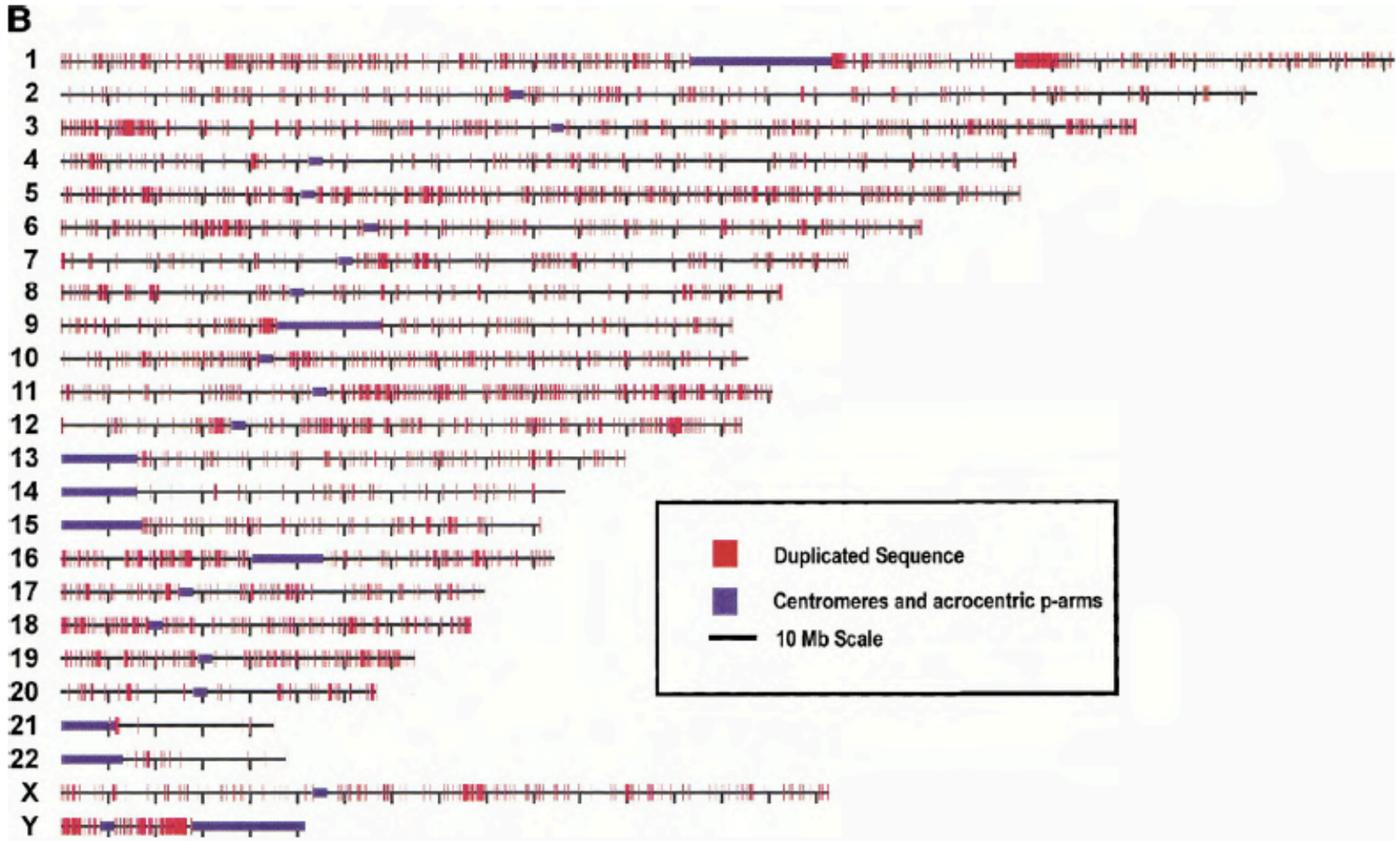
MR Branco and A Pombo, PLoS Biol, 2006-4;e138

Facteurs favorisants les réarrangements

- Augmentation de la fréquence des cassures
- Proximité spatiale des molécules d'ADN
- **Anomalie de la réparation**

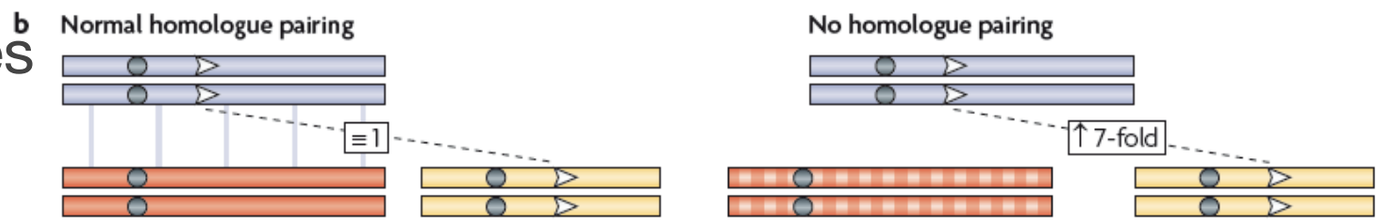
Architecture du génome : les LCR

- LCR -> NAHR, anomalies récurrentes
  - ≈ 13% du génome
  - > 95 - 97% homologie
  - 50 - 300 pb



Architecture du génome : les LCR

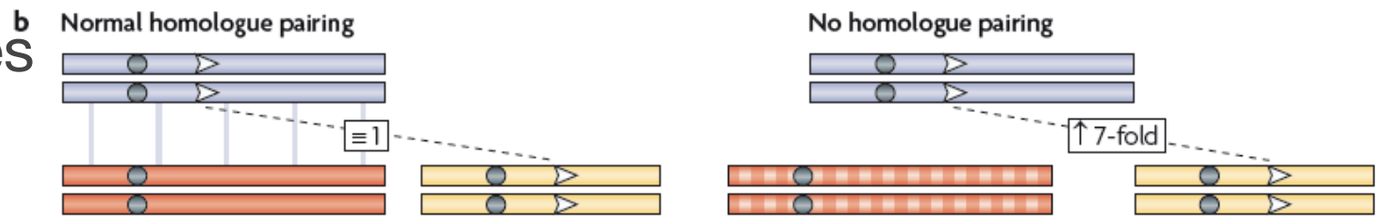
- LCR -> NAHR, anomalies récurrentes
  - ≈ 13% du génome
  - > 95 - 97% homologie
  - 50 - 300 pb
- Fréquence NAHR fonction de
  - Taille des duplicons



M Sasaki et al., Nat Review Mol Cell Biol 2010-11;182

Architecture du génome : les LCR

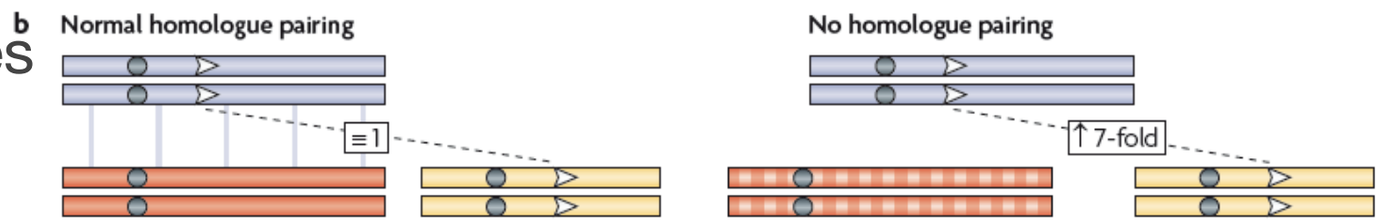
- LCR -> NAHR, anomalies récurrentes
  - ≈ 13% du génome
  - > 95 - 97% homologie
  - 50 - 300 pb
- Fréquence NAHR fonction de
  - Taille des duplicons
- Facteurs protecteurs
  - Inhibition des cassures au niveau des séquences répétées
  - Utilisation préférentielle de l'homologue



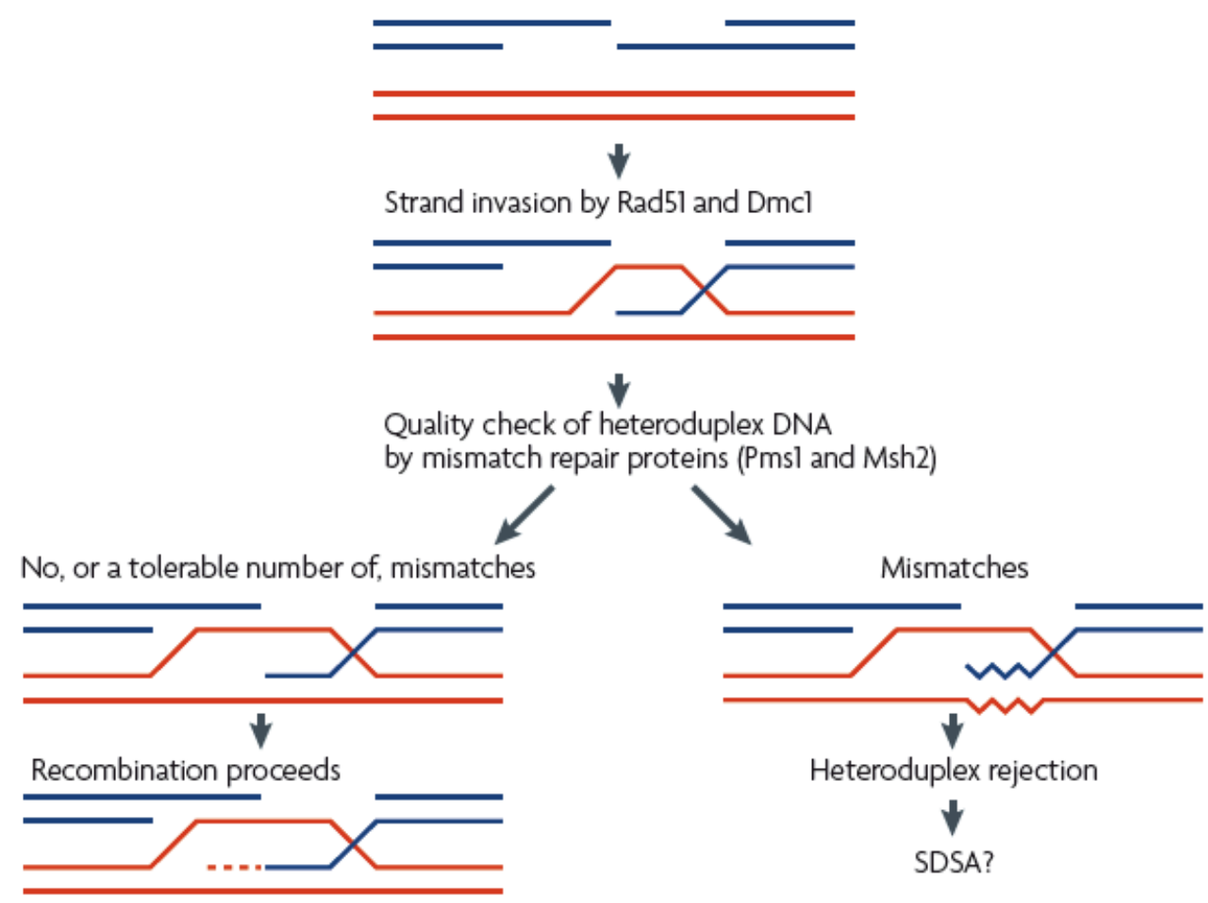
M Sasaki et al., Nat Review Mol Cell Biol 2010-11;182

Architecture du génome : les LCR

- LCR -> NAHR, anomalies récurrentes
  - ≈ 13% du génome
  - > 95 - 97% homologie
  - 50 - 300 pb
- Fréquence NAHR fonction de
  - Taille des duplicons
- Facteurs protecteurs
  - Inhibition des cassures au niveau des séquences répétées
  - Utilisation préférentielle de l'homologue
  - Contrôle de la qualité de l'homologie



M Sasaki et al., Nat Review Mol Cell Biol 2010-11;182



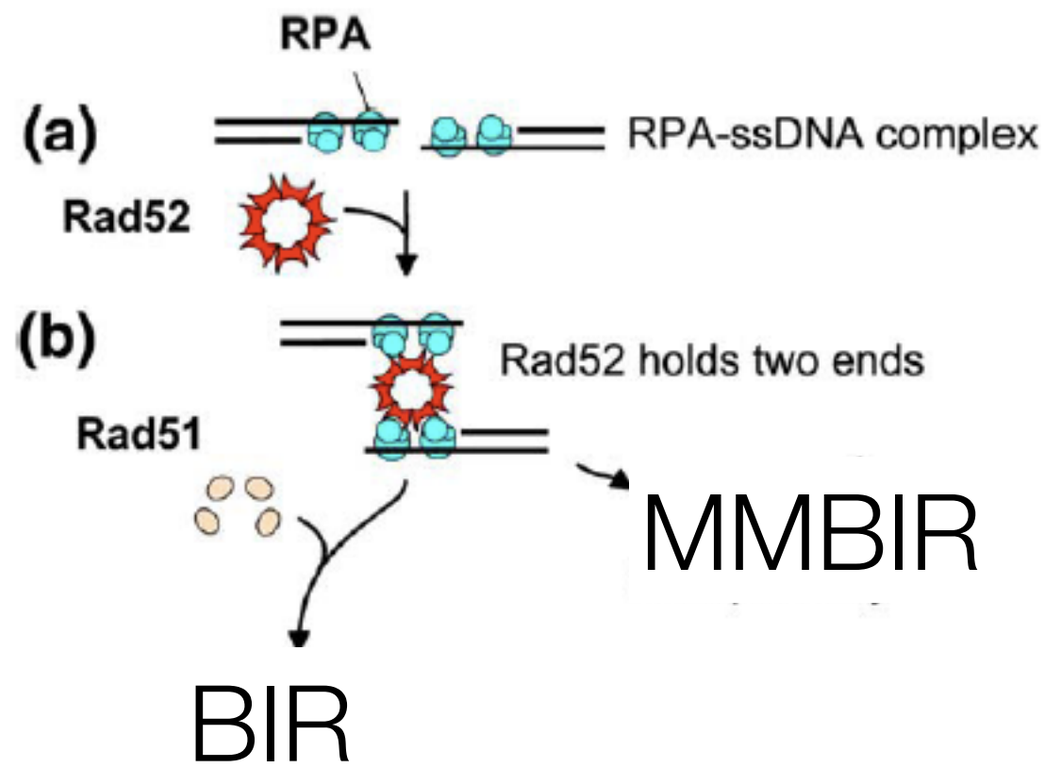
Echec des processus de réparation, effet du stress cellulaire

- Mutation des protéines de réparation,

- Stress cellulaire
  - Réduction RAD51

Echec des processus de réparation, effet du stress cellulaire

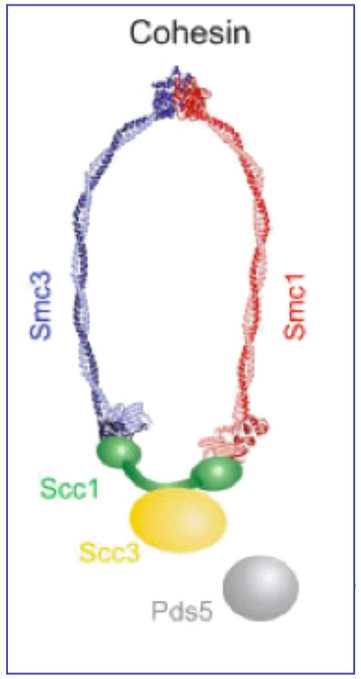
- Mutation des protéines de réparation,
- Stress cellulaire
  - Réduction RAD51
    - Favorise la réparation via MMBIR plutôt que BIR
    - Plus faible homologie tolérée

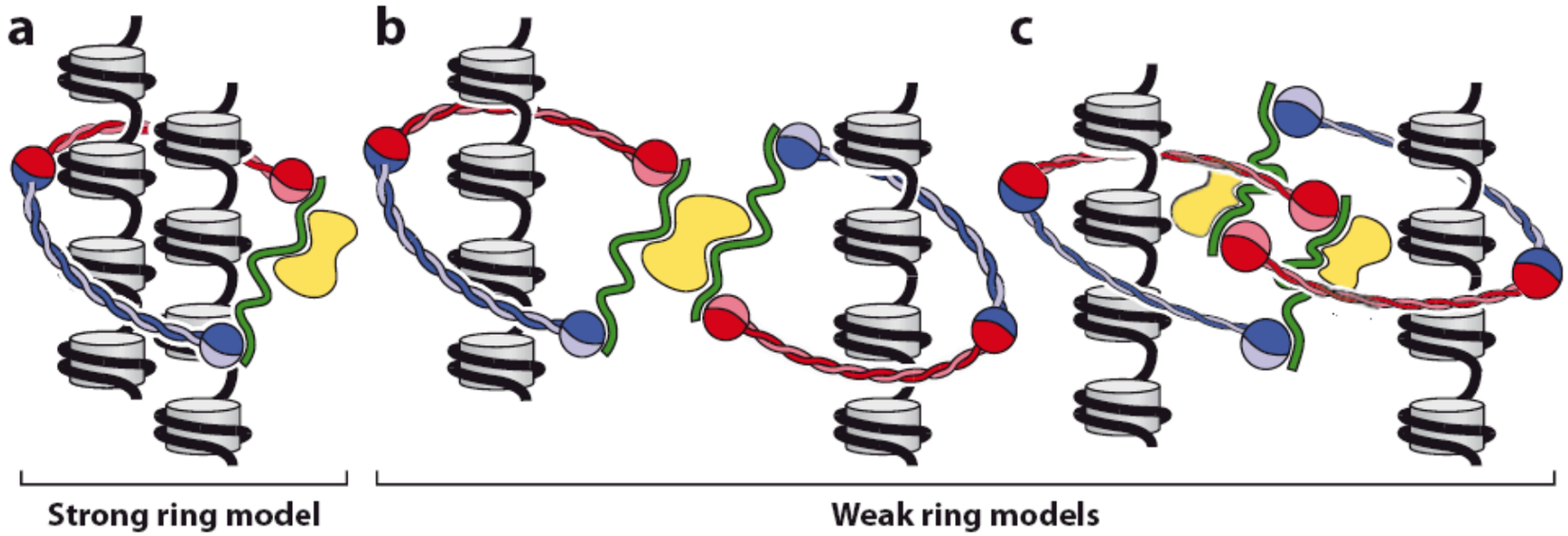


T Sugiyama et N Kantake, J Mpl Biol 2009-390;45

Echec des processus de réparation, effet du stress cellulaire

- Mutation des protéines de réparation,
- Stress cellulaire
  - Réduction RAD51
  - Déficit en cohésines

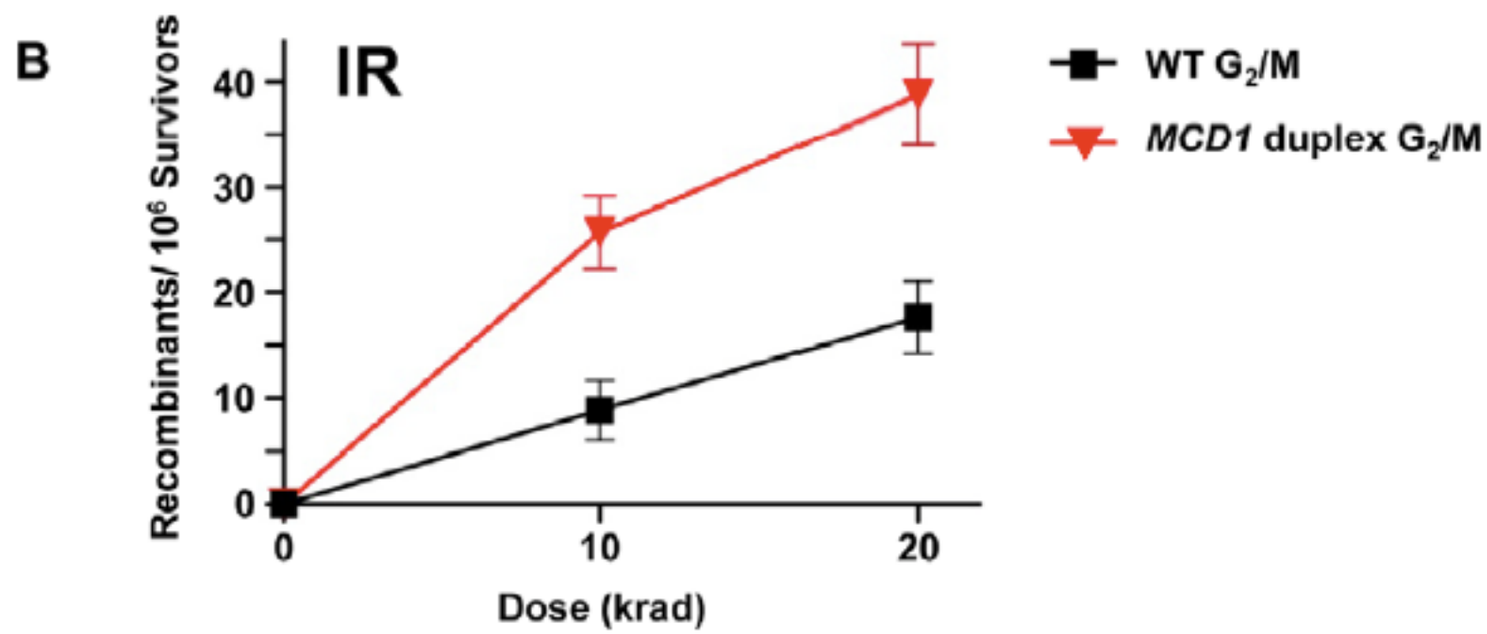




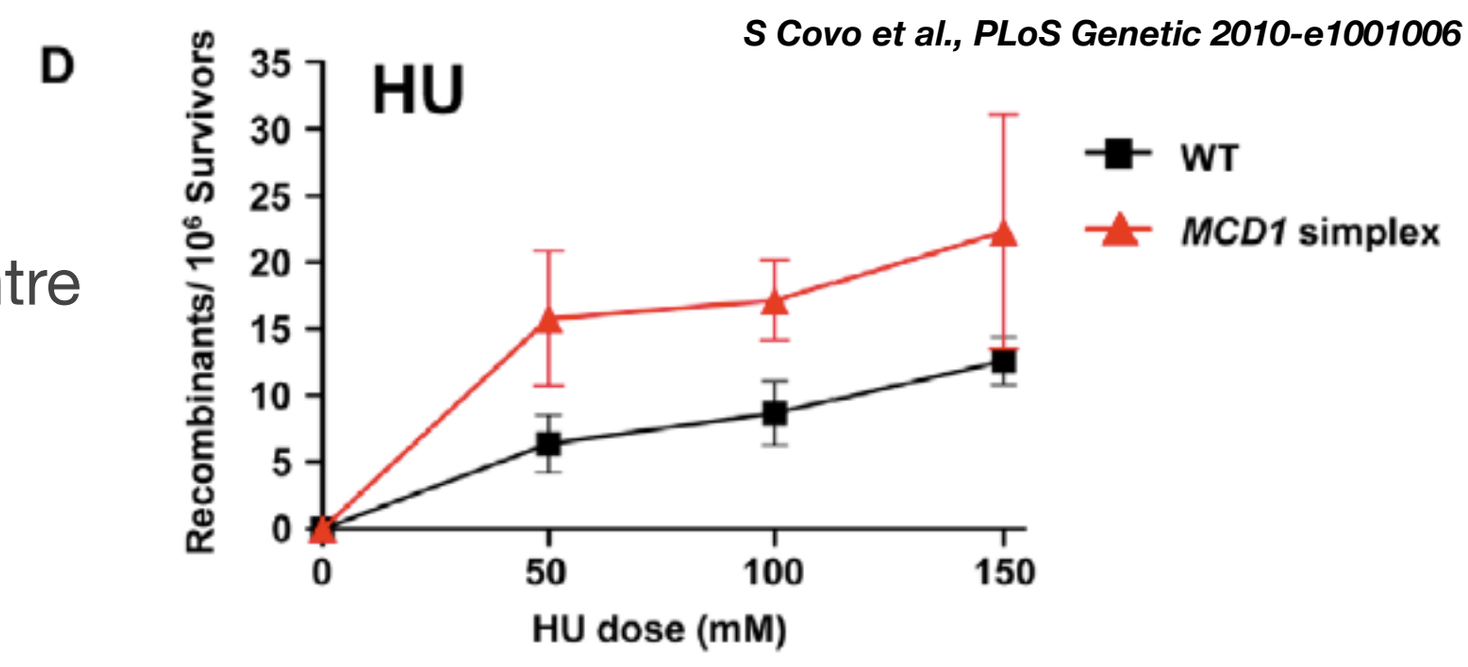
K Nasmyth, An Rev Genet, 2009

Rôle des cohésines : favorisent la recombinaison entre chromatides sœurs

- Mutation des protéines de réparation,
- Stress cellulaire
  - Réduction RAD51
  - Déficit en cohésines
    - Augmentation de la recombinaison entre homologues plutôt qu'entre chromatides sœurs

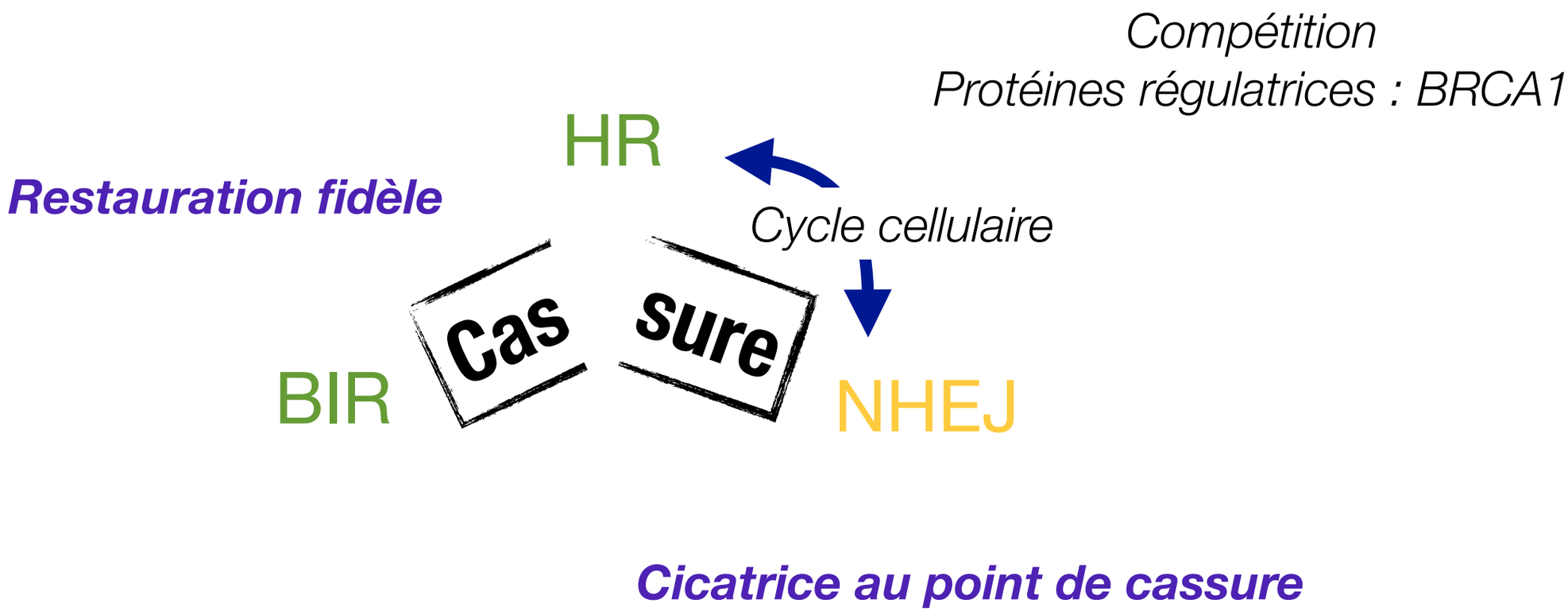


S Covo et al., PLoS Genetic 2010-e1001006



Conclusion

Conclusion


Compétition
Protéines régulatrices : BRCA1
HR
Restauration fidèle
Cycle cellulaire
Cas
sure
BIR
NHEJ
Cicatrice au point de cassure

Conclusion

Anomalies récurrentes
mais pas seulement (ALU, LINE …)

NAHR

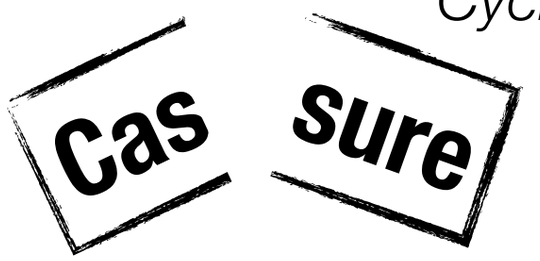
LCR

HR

Compétition
Protéines régulatrices : BRCA1

Restauration fidèle

Cycle cellulaire

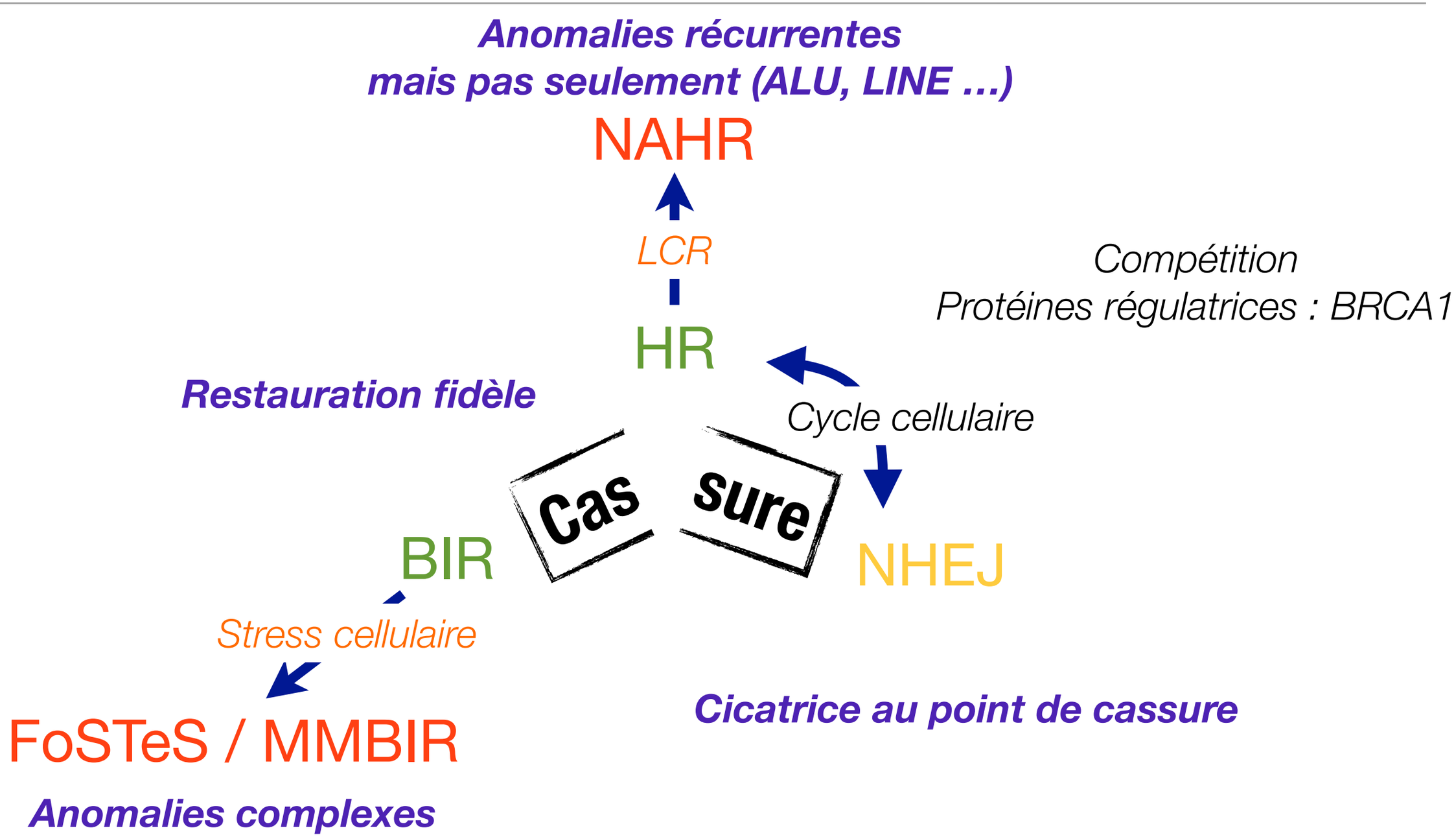


BIR

NHEJ

Cicatrice au point de cassure

Conclusion


Anomalies récurrentes
mais pas seulement (ALU, LINE …)
NAHR
LCR
HR
Compétition
Protéines régulatrices : BRCA1
Restauration fidèle
Cycle cellulaire
Cas
sure
BIR
NHEJ
Stress cellulaire
FoSTeS / MMBIR
Cicatrice au point de cassure
Anomalies complexes