

Gestion INIS

Doc. Enreg. le 25/06/2000
N° TRNE.000.0.62.34

« Les effets des rayonnements sur la cellule vivante »

Point presse

le 17 juin 1999 - Villejuif

A l'occasion du COLLOQUE des 3R :

Réplication, Recombinaison, Réparation de l'ADN

ou encore L'ADN dans tous ses états

15-18 juin 1999

Contacts presse

CEA
Corinne Borel
☎ : 01 40 56 18 35
fax : 01 40 56 28 92
borel@portos.cea.fr

Institut Curie
Catherine Goupillon
☎ : 01 44 32 40 63
fax : 01 43 25 17 56
catherine.goupillon@curie.fr

CNRS
Thierry Pilorge
☎ : 01 44 96 40 26
fax : 01 44 96 49 19
thierry.pilorge@cnrs-dir.fr

**PLEASE BE AWARE THAT
ALL OF THE MISSING PAGES IN THIS DOCUMENT
WERE ORIGINALLY BLANK**



SOMMAIRE

Liste des intervenants

La radiobiologie en France

LADN

Les agressions de l'ADN

Les mécanismes de réparation de l'ADN

Efficacité des systèmes de réparation de l'ADN

Exposition aux UV et cancers

Le gène p53, gardien de l'intégrité du génome

« La prédisposition héréditaire au cancer du sein liée à BRCA1 et BRCA2 » (article de la revue *Medecine/Sciences* paru en janvier 99)

« Peut-on savoir si un cancer est dû à la radioactivité ? », (article de la revue *La Recherche* paru en avril 98)

Programme du colloque des 3R

Liste des intervenants

Evelyne Sage

*directeur de recherche au CNRS, unité mixte CNRS-Institut Curie
« Génotoxicologie et cycle cellulaire »*

Bernard Dutrillaux

*directeur de l'unité mixte CNRS-Institut Curie « Cytogénétique moléculaire et
oncologie »
chef du département de radiobiologie et de radiopathologie du CEA,
Fontenay-aux-Roses*

Serge Boiteux

*directeur de recherche au CNRS, unité mixte CEA-CNRS « Radiobiologie
moléculaire et cellulaire », CEA Fontenay-aux-Roses*

Bernard Lopez

*chargé de recherche au CNRS, unité mixte CEA-CNRS « Radiobiologie
moléculaire et cellulaire », CEA Fontenay-aux-Roses*

Thierry Soussi

*professeur à Paris VI, unité mixte CNRS-Institut Curie "Génotoxicologie et
modulation de l'expression génique »*

Jean Feunteun,

*directeur de recherches au CNRS, directeur du Laboratoire de génétique
oncologique, Institut Gustave Roussy (Villejuif)*



La radiobiologie en France

La radiobiologie s'attache à connaître les effets des rayonnements, ionisants en particulier, sur la matière vivante. Elle couvre de nombreux domaines allant du plus fondamental, comme la radiolyse de l'eau, constituant principal des organismes vivants, jusqu'aux données permettant d'établir les normes de radioprotection de la population.

Coordination des acteurs français de la radiobiologie

Les acteurs ont été longtemps très dispersés et sont aujourd'hui encore répartis au sein de plusieurs organismes et instituts de recherche ou universités. Les pouvoirs publics ont toutefois souhaité voir s'établir une coordination nationale, principalement menée par le CEA (Commissariat à l'Énergie Atomique).

Des actions concertées ont été lancées par le Ministère en charge de la recherche. Le CEA a créé en 1995 un département de radiobiologie, qui comprend maintenant une centaine de chercheurs, avec l'aide du CNRS, de l'INSERM et de l'INRA. L'Institut Curie a également soutenu cette activité en lançant un programme d'intérêt commun regroupant plusieurs équipes. Différentes équipes, notamment du CNRS, ont une activité se rattachant plus ou moins directement à la radiobiologie. Les plus importantes se situent à Strasbourg, Toulouse, Marseille et en région parisienne.

Des réunions scientifiques, comme les "3R", contribuent à sensibiliser les chercheurs et à faire naître le sentiment d'appartenir à une communauté où le fait de s'intéresser aux effets des rayonnements sous-entend des compétences et un intérêt pour les axes fondamentaux de la biologie moderne. Cette nouvelle orientation permet d'effacer l'image surannée qu'a pu avoir la radiobiologie, trop souvent restreinte à l'établissement de relations doses/effets. Cette discipline est aujourd'hui en étroite interaction avec les domaines majeurs de la biologie moléculaire et cellulaire, que sont l'étude des effets des stress oxydants, de la réparation de l'ADN, du contrôle du cycle cellulaire et des mécanismes de la mort cellulaire programmée.

Des enjeux importants en recherche fondamentale et appliquée

Les enjeux sont triples : faire progresser les connaissances fondamentales; préciser les risques de pathologies liés à l'exposition aux rayonnements et permettre à terme un établissement plus rationnel des normes de radioprotection.

La **recherche fondamentale** prend une grande place dans le colloque des "3R". La réparation de l'ADN lésé intervient au premier chef des thèmes abordés. La Recombinaison du matériel génétique est l'un des procédés permettant la Réparation de certaines lésions, et la Réplication

est un mécanisme fondamental de la vie cellulaire, intervenant au cours de la division cellulaire, et indissociable de la Réparation. Les rayonnements entraînant des lésions de l'ADN, ils sont, pour le radiobiologiste, un outil indispensable, précis, quantifiable et facilement manipulable pour étudier ces fonctions cellulaires, et leurs variations physiologiques ou pathologiques.

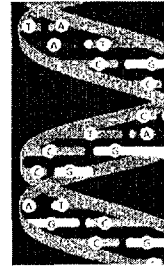
Les pathologies radio-induites méritent une attention particulière des chercheurs : comprendre par quels mécanismes une exposition aux rayonnements peut augmenter le risque de cancers 30 ans plus tard est un défi important. Il en est de même pour les malformations héréditaires. Leur réalité est souvent difficile à démontrer et la recherche de " signatures " de l'origine radio-induite de lésions de l'ADN aidera à les authentifier. Ce domaine peut bénéficier aujourd'hui des immenses progrès de la génétique humaine et de l'oncologie moléculaire.

Les normes de radioprotection sont largement basées sur l'effet biologique des faibles doses. Effet que personne n'a pu démontrer jusqu'ici. La tentation est donc grande de lancer des programmes sur l'effet des faibles doses. Il faut cependant y résister tant que l'effet de doses plus fortes n'est pas clairement établi, car l'effort que nécessiterait une telle recherche serait gigantesque et le succès non garanti. En revanche, la radiobiologie appliquée peut apporter des données expérimentales quantitatives sur les doses plus fortes servant de références objectives à l'estimation du risque encouru par l'exposition des populations.

En conclusion, la radiobiologie se situe maintenant comme une composante importante de la biologie moderne, dont il y a peu de doutes qu'elle va bientôt largement contribuer à alimenter les données fondamentales et appliquées. Elle pourra constituer un modèle pour l'étude de tous les génotoxiques autres que les rayonnements, dont on parle beaucoup moins, mais dont l'impact sanitaire est peut être beaucoup plus grand.



LADN



Un organisme est constitué de milliards de cellules, unités de base de quelques microns, agencées de façon à constituer les organes. Dans toute cellule est stocké environ un mètre d'Acide Désoxyribo Nucléique (ADN), qui se présente sous la forme d'une double hélice de polymères. L'ADN constitue le support de l'information génétique, codée par la succession de quatre bases azotées A, T, G et C (schéma). La molécule d'ADN contient toutes les informations nécessaires à la production des protéines dont les cellules vivantes ont besoin. Parmi les autres molécules indispensables à la vie, l'eau, solvant de toutes les molécules de la cellule, occupe une place particulière puisque chez l'homme elle représente soixante pour cent du poids corporel.

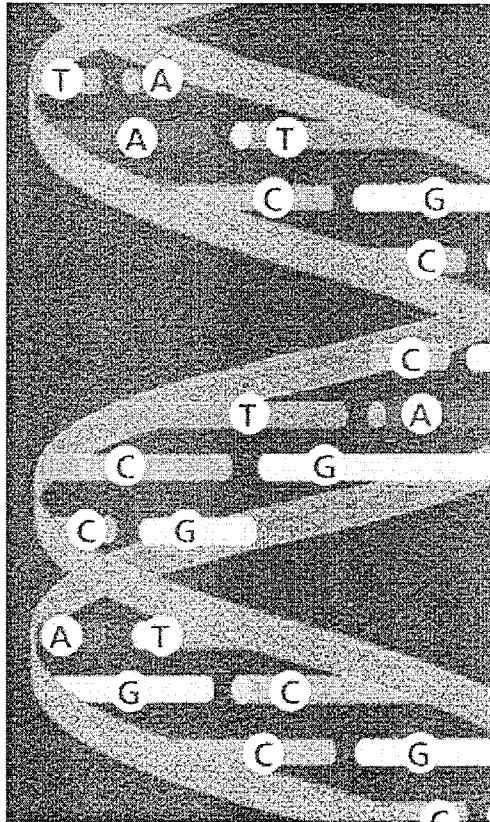
L'ADN est soumis à de multiples attaques inévitables, de la part du milieu intracellulaire et de l'environnement, qui provoquent la formation de plusieurs milliers de lésions par jour et par cellule. Des espèces réactives de l'oxygène, sous-produits de la respiration, sont susceptibles de générer des lésions dans l'ADN. La lumière solaire est en partie composée de radiations ultraviolettes qui altèrent l'ADN par action directe (UVB) ou indirecte (UVA) après excitation de photosensibilisateurs. L'ADN est également très sensible aux attaques des radiations ionisantes d'origine naturelle (radioactivité terrestre, rayonnements cosmiques) et artificielle (médecine et industrie nucléaires). Et pourtant le génome humain s'avère d'une **extrême stabilité** : moins d'une erreur pour 10^{10} nucléotides répliqués, soit moins d'une erreur par division cellulaire, par génome humain.

Cette intégrité, nécessaire à la vie, est assurée par des protéines mettant en jeu des "**mécanismes de réparation de l'ADN**"; efficaces et fidèles. Ces protéines vont repérer et réparer les altérations diverses auxquelles est soumis l'ADN.

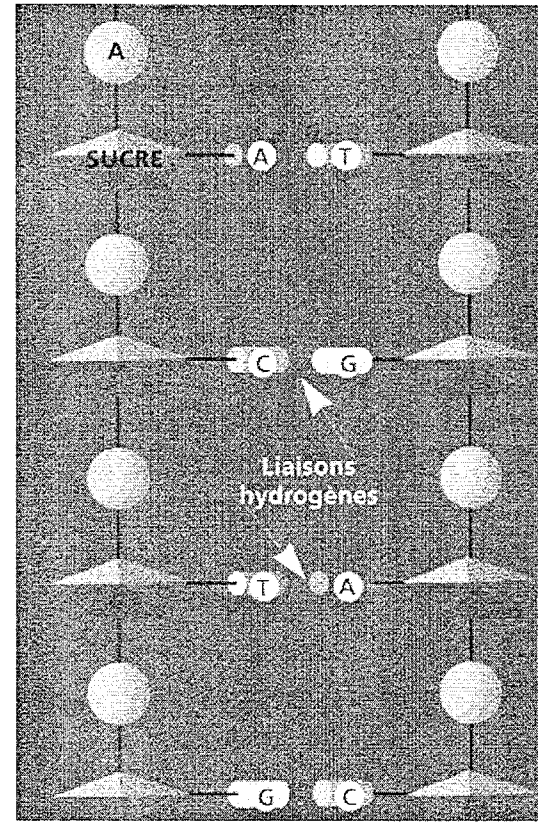
La déficience de ces mécanismes de réparation peut être à l'origine de syndromes extrêmement sévères chez l'homme, retards de croissance et dégénérescence du système nerveux. Les mécanismes de réparation de l'ADN jouent aussi un rôle essentiel dans la prévention ou le retard du processus de cancérogenèse. La détection de mutations dans des gènes de réparation, au sein de la population peut aider à définir des « populations à risques » pour lesquelles il conviendrait de s'exposer un minimum à certains agents de l'environnement naturel et/ou culturel.

Les laboratoires du CEA, du CNRS et de l'Institut Curie s'intéressent particulièrement à la compréhension de tous ces mécanismes de reconnaissance et de réparation de l'ADN, sur des cellules (levure, souris, homme) soumises aux rayonnements UV et ionisants.

La molécule d'ADN



la double hélice d'ADN



Christine Mathieu

les 2 brins d'ADN

FIGURE 1



Les agressions de l'ADN : ***L'oxygène, indispensable à la vie et pourtant un*** ***toxique puissant***

Le processus d'altération de l'ADN, qu'il s'agisse de la respiration même de la cellule, des rayonnements UV ou ionisants, de certains toxiques chimiques,..., correspond toujours au même principe de base : **la création, dans la cellule, d'espèces chimiques instables, mais très réactives qui oxydent la cellule.** Ces agents oxydants peuvent agir sur l'ADN selon deux processus différents :

- **soit directement sur l'ADN par ionisation** de cette molécule, ou encore sur les molécules d'eau liées à ce polymère biologique. Cet effet direct conduit à des modifications locales de la double hélice.

- **Soit indirectement par ionisation des molécules d'eau** présentes dans la cellule (on parle de radiolyse de l'eau). Créés au voisinage de l'ADN, des puissants réactifs chimiques de l'oxygène, des radicaux libres tel que le radical OH \cdot vont altérer le matériel génétique. Si ces espèces oxydantes sont très réactives, elles ont par contre une durée de vie très faible, et attaquent que leur environnement proche. **Elles peuvent soit modifier les bases de l'ADN, conduisant à des lésions, soit attaquer les sucres qui constituent le squelette de l'ADN et ainsi générer des cassures de la chaîne, cassure simple ou double brin.** D'autres altérations peuvent également se produire : création de pontages ADN-protéine ou de sites abasiques (perte de bases), etc...

Les mécanismes de réparation de l'ADN seront différents selon le type de lésion : modifications des bases, cassures,...

Les agressions que subit l'ADN

UV, Rayons X, gamma, ions lourds

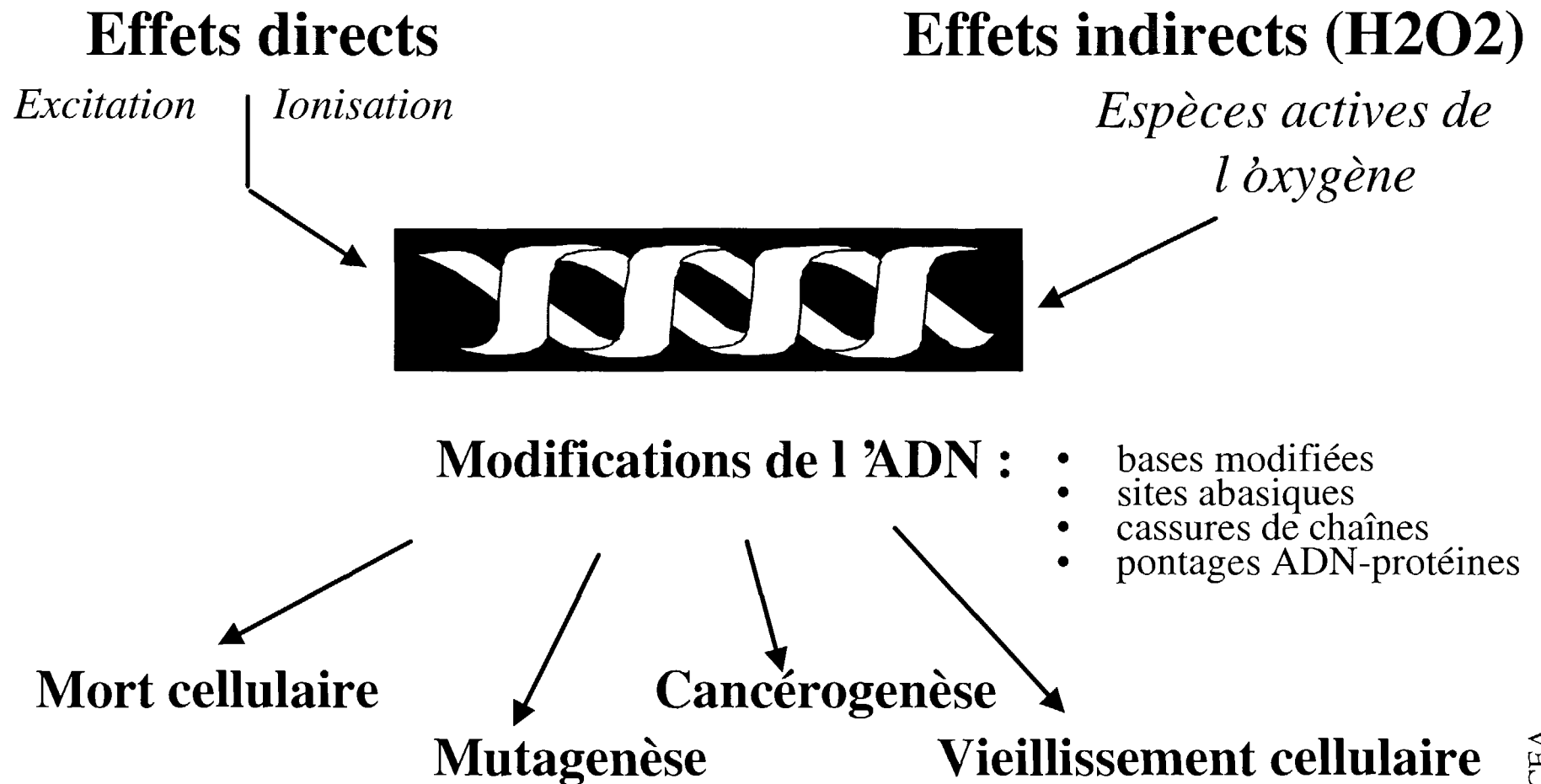


FIGURE 2



Mécanismes de réparation des lésions

Selon la quantité de lésions sur la chaîne d'ADN, le type de lésion (modification de la base, cassure simple, cassure double brin...), la cellule met en place des mécanismes de réparations qui s'avèrent plus ou moins efficaces.

La réparation par « **excision et resynthèse** » est la voie principale de réparation chez tous les organismes vivants. La Figure 3 présente schématiquement cette voie de réparation qui consiste à éliminer (excision) une lésion et à restituer l'information initiale (resynthèse). Ce mécanisme implique d'une part, l'existence d'« agents de reconnaissance » des lésions, les **enzymes de réparation**, qui coupent la séquence endommagée. D'autre part, la resynthèse rapide et fidèle du morceau excisé par la reproduction du modèle exact de l'autre brin (Figure 3). **L'existence et l'efficacité de tels mécanismes moléculaires expliquent comment l'ADN de la cellule, qui subit plusieurs milliers de modifications par jour, peut préserver l'intégrité du message génétique au cours du temps**. Il est important de noter que les mécanismes de réparation de l'ADN sont très semblables depuis les bactéries, organismes vivants les plus simples, jusqu'à l'homme. Cette communauté signifie que ces mécanismes sont apparus très tôt au cours de l'évolution et souligne leur nécessité dans un monde vivant qui utilise l'ADN pour stocker son message génétique.

Concernant les cassures proprement dites, **la coupure simple brin d'une molécule d'ADN est un événement fréquent dans la cellule puisque l'on estime qu'il s'en produit 150 000 /cellule/jour**.

Si la cellule ne se divise pas et si la coupure n'affecte qu'un seul brin de l'ADN, une succession d'enzymes « de réparation » se mettent en place pour reformer le brin coupé. Si la division des cellules est trop rapide, **la cellule peut ralentir son cycle**, voire même le bloquer. Grâce à l'interruption du cycle cellulaire, les différents systèmes de réparation peuvent avoir le temps nécessaire pour restaurer avec plus ou moins de fidélité l'intégrité du patrimoine génétique avant l'étape cruciale de la réplication de l'ADN.

La réparation d'une cassure peut également se produire par la recombinaison de l'ADN endommagé avec une autre molécule d'ADN, conduisant à une **modification du génome**. Ces modifications du patrimoine génétique peuvent avoir des conséquences dramatiques (activation d'oncogènes qui aboutissent à un développement tumoral ou inactivation de gènes protecteurs tels que des gènes suppresseurs de tumeurs (p53, BRCA1 et 2)). Notons que la cellule peut également tirer profit de ces processus, et délibérément provoquer des cassures double chaîne de l'ADN et de la recombinaison, afin de générer de la **diversité génétique**, véritable atout pour la cellule.

Si la réparation est inefficace face à des dommages de l'ADN trop importants, la cellule entre en **apoptose**, c'est le **suicide cellulaire**. Cette mort programmée élimine de l'organisme les cellules potentiellement mutées, et **permet donc d'éviter la prolifération de cellules anormales potentiellement cancéreuses**.

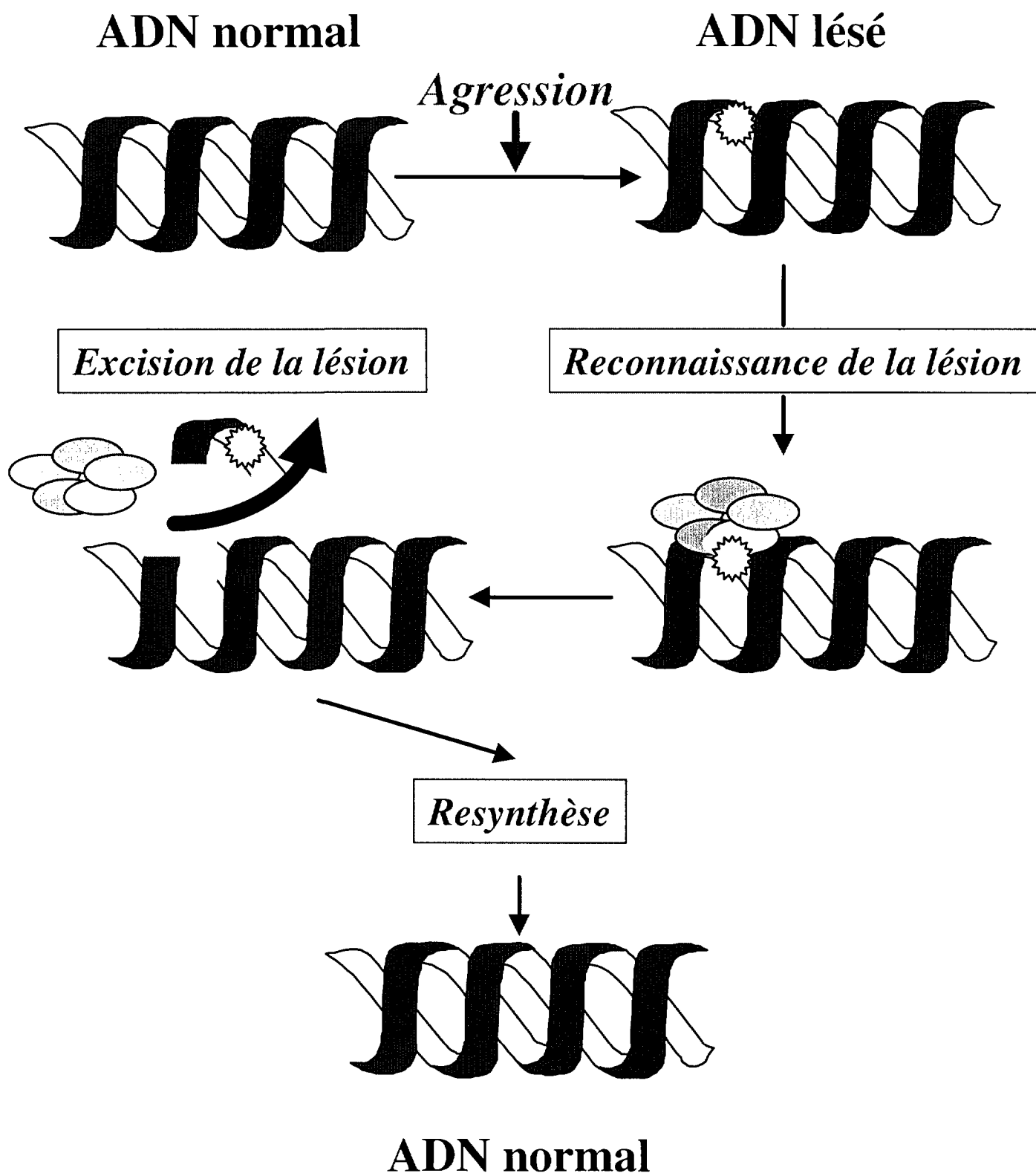


FIGURE 3

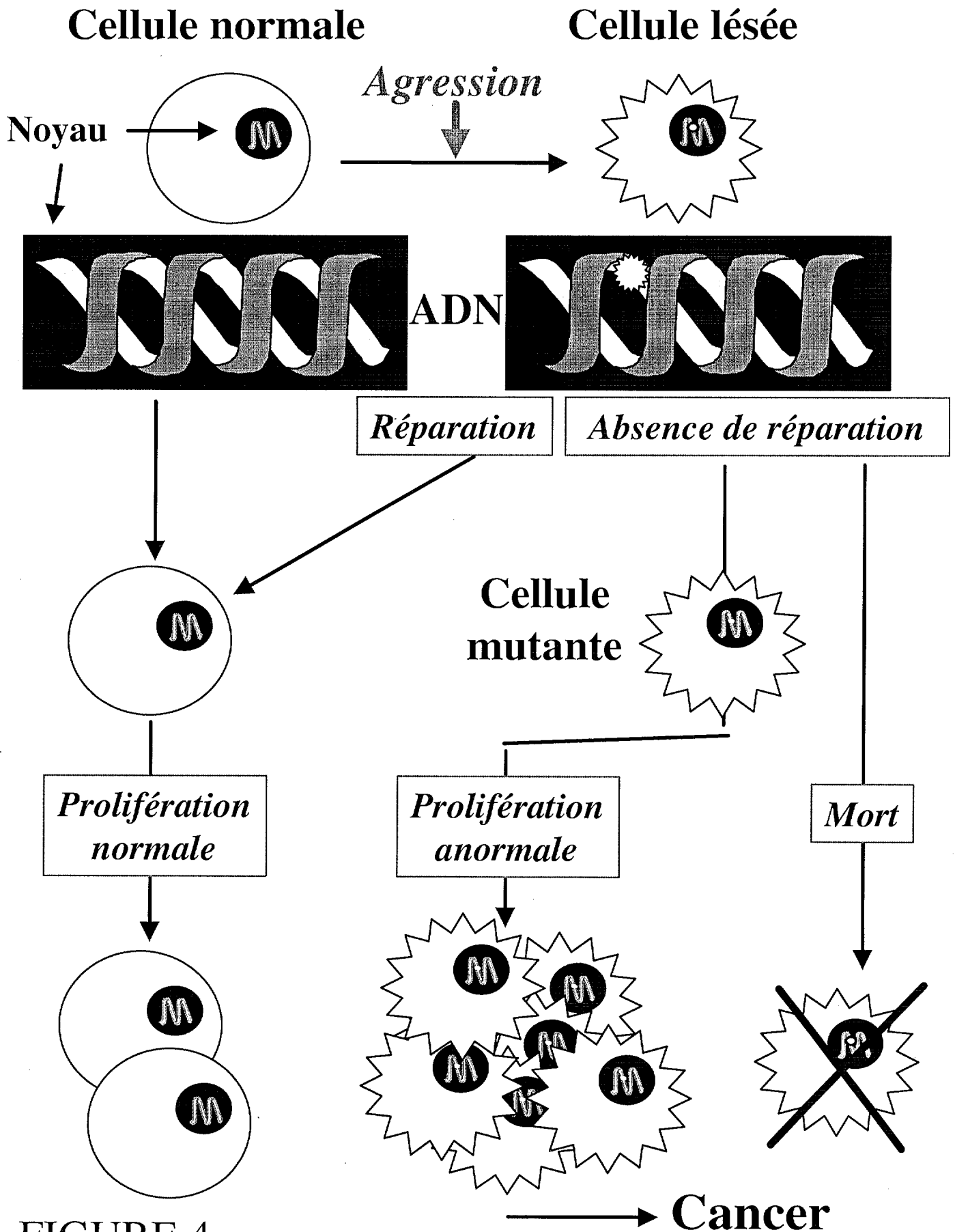


FIGURE 4

Un exemple de réparation de l'ADN : Le gène *OGG1*, « pompier » du génome

Le nombre des gènes qui sont directement impliqués dans la réparation de l'ADN chez les mammifères pourrait être de l'ordre de plusieurs dizaines. Dans le cas de la réparation par excision et resynthèse, la variété réside principalement dans l'étape initiale de reconnaissance des différentes lésions. **Malgré l'extraordinaire diversité des lésions générées dans l'ADN, la cellule utilise un nombre restreint de protéines : la plupart des protéines de réparation reconnaissent plusieurs lésions dans l'ADN.** Parmi les lésions mutagènes majeures, figure la 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-OxoG), due à une oxydation d'une des bases de l'ADN (la base G) lors d'une exposition aux espèces réactives de l'oxygène venant de la respiration et/ou d'une exposition à une source de radiations ionisantes. Cette modification de l'ADN, provoque des mutations qui correspondent au remplacement d'une paire G-C par une paire T-A. Les laboratoires mixtes CEA-CNRS du département de radiobiologie et radiopathologie au CEA/Fontenay-aux-Roses se sont particulièrement intéressés à la réparation de cette lésion. Des expériences ont été menées d'abord sur le gène *OGG1*, codeur de la protéine réparatrice de cette lésion chez la levure de boulanger (*S.cerevisiae*). L'inactivation du gène *OGG1* de levure favorise l'instabilité génétique, caractérisée par une fréquence de mutations spontanées 200 fois supérieure à celle observée dans une levure ayant cette fonction de réparation. En 1997, le clonage du gène *OGG1* chez l'homme et la souris a été réalisé dans les laboratoires du CEA, afin d'élucider son rôle biologique chez l'homme et la souris. Les études ont montré que le gène *OGG1* est présent dans tous les tissus en particulier dans le noyau des cellules où est localisé l'ADN.

Le gène *OGG1* pourrait potentiellement être un des " pompiers du génome " en assurant l'élimination de la 8-OxoG , une lésion mutagène majeure de l'ADN . En conséquence, la perte de *OGG1* pourrait favoriser la formation de mutations et accélérer la cancérogenèse dans les organes cibles. Afin de valider cette hypothèse, les chercheurs ont étudié la « qualité » du gène *OGG1* dans des tumeurs cancéreuses humaines du rein et du poumon. Les résultats indiquent que dans le cancer du rein, représentant environ 15% des tumeurs analysées, présente une mutation dans le gène *OGG1*. Ces données encore préliminaires, suggèrent une corrélation entre le cancer du rein et l'inactivation du gène *OGG1*. Si cette corrélation se confirme, les chercheurs envisagent d'étudier le rôle de *OGG1* au cours de la cancérogenèse induite par les radiations ionisantes chez l'animal. A long terme, le statut du gène *OGG1* pourrait être étudié au sein de l'ensemble de la population afin de définir d'éventuelles « populations à risque » (prédisposition aux cancers radioinduits) à l'égard de l'irradiation et à l'exposition à des agents génotoxiques agissant par oxydation de l'ADN.

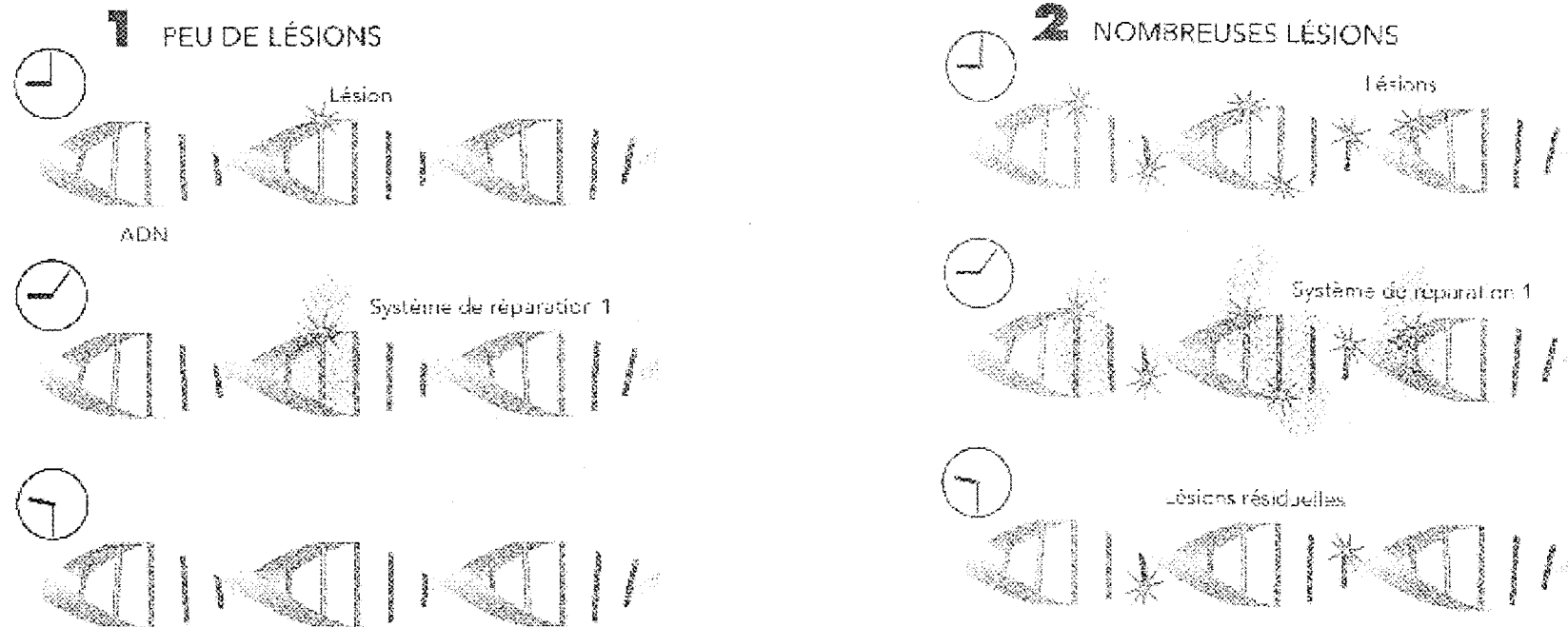
Efficacité des systèmes de réparation : *tout est une question de dose.*

Par nature même la cellule naît, se transforme et meurt. Les mécanismes vitaux peuvent eux-mêmes, paradoxe, s'avérer toxiques : ainsi la respiration cellulaire produit-elle des espèces actives de l'oxygène, très agressives envers l'ADN. Les agressions extérieures, UV, agents toxiques chimiques, radioactivité s'ajoutent aux agents endogènes de la cellule. Pour toutes ces lésions, les mêmes mécanismes de réparation entrent en jeu. Si la cellule possède une grande capacité à réparer l'ADN, selon le type et l'intensité de l'agression extérieure reçue, cette réparation sera plus ou moins efficace. Ainsi, les lésions de l'ADN générées par l'irradiation par des rayons X ou gamma sont déterminées par **la dose reçue**, et la capacité d'élimination de ces lésions dépend du **stade de division auquel se trouve la cellule au moment de l'irradiation**, de **l'intervalle de temps disponible pour que la réparation s'accomplisse** et du **type de réparation mis en jeu**.

Compte tenu des connaissances actuelles, il est très difficile de définir une dose de rayonnement minimale en dessous de laquelle on peut affirmer que toutes les lésions sont réparées. Cette limite dépend beaucoup de **l'efficacité des gènes réparateurs, qui varie d'un individu à l'autre.**

Autrement dit, nous ne sommes pas égaux devant les agressions (il existe par exemple des peaux plus fragiles que d'autres au soleil). Il est donc important de pouvoir définir les « populations à risques » pour tel ou tel agents de l'environnement naturel et/ou culturel.

Efficacité des systèmes de réparation



P. Poisson

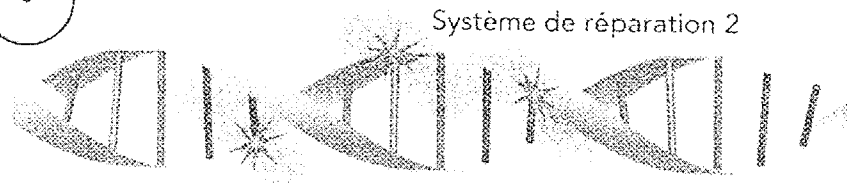
1. Les enzymes de réparation ont le temps de réparer la lésion unique avant que la cellule ne duplique l'ADN et ne se divise

2. Les enzymes de réparation sont en quantité insuffisante pour réparer, au cours du même laps de temps que sur le schéma 1, la totalité des lésions de l'ADN. Il reste des lésions.

FIGURE 5 A

Efficacité des systèmes de réparation

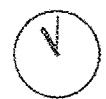
3 DEVENIR DE L'ADN APRÈS UN GRAND NOMBRE DE LÉSIONS RÉSIDUELLES



La présence de lésions résiduelles fait agir en cascade d'autres enzymes de réparation

P. Poisson

L'efficacité des systèmes de réparation est évaluée après une réplication :

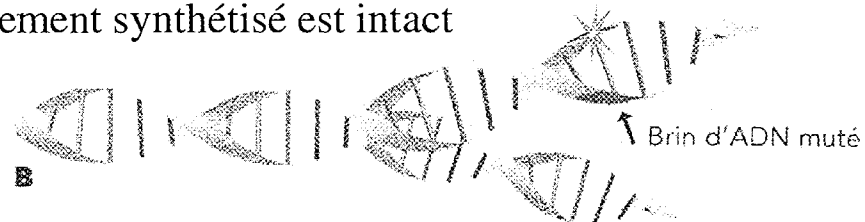


Une réplication plus tard

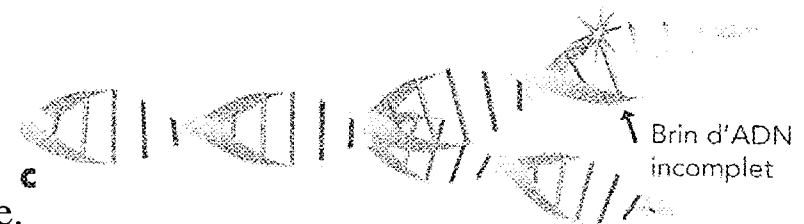


A. La réparation est complète et le brin nouvellement synthétisé est intact

B. La réparation est « fautive ». Le brin néosynthétisé est porteur d'une mutation



C. La réparation incomplète n'a pas permis la synthèse d'un fragment d'ADN en face de la lésion : c'est une délétion
La lésion non réparée peut aussi entraîner la mort de la cellule.



Exposition aux UV et Cancers

Le rôle du rayonnement solaire dans les cancers de la peau, suspecté dès la fin du siècle dernier, a été confirmé par des observations cliniques, des études épidémiologiques et des expérimentations sur l'animal. C'est plus particulièrement aux radiations ultraviolettes que l'on a attribué les effets cancérigènes du soleil.

État des connaissances : composition et variations du spectre solaire

Le spectre des radiations solaires se décompose en fonction des longueurs d'onde : les **radiations ultraviolettes (UV)** classées elles-mêmes en **UVC** (190-280 nanomètres), **UVB** (280-320 nanomètres), **UVA** (320-400 nanomètres), la **lumière visible** et l'**infrarouge**. Ces deux dernières composantes représentent près de 95% des radiations qui atteignent la surface de la terre.

L'atmosphère terrestre soumet le rayonnement solaire à une filtration sélective qui contribue à modifier la quantité et la qualité des radiations UV qui atteignent le sol. Ainsi, les UVC, les plus destructeurs pour les êtres vivants, sont totalement éliminés du rayonnement solaire lors de leur passage à travers l'atmosphère. Il en va de même pour les UVB de courte longueur d'onde (inférieures à 295 nanomètres) qui sont absorbés, entre autres, par la couche d'ozone¹. Il semble que les variations de la couverture nuageuse jouent cependant un rôle beaucoup plus important sur le rayonnement solaire que celles de la couche d'ozone, les nuages atténuant autant les UVA que les UVB.

Le spectre et l'intensité du rayonnement UV terrestre varient avec l'angle d'inclinaison du soleil et dépendent donc de l'heure, des saisons et de la latitude. Plus le soleil est élevé dans le ciel, moindre est l'épaisseur de l'atmosphère traversée et de la couche d'ozone. De même, l'intensité du rayonnement UV solaire augmente avec l'altitude.

Notre exposition au soleil peut par ailleurs être accrue par la réflexion du rayonnement par la surface de la terre. Si en général tout au plus 10% du rayonnement est réfléchi, cela atteint 15-30% pour le sable sec et 80-90% pour la neige. Le passage du soleil à l'ombre fait également varier le rapport UVB/UVA du rayonnement solaire qui nous atteint.

On comprend donc que, **suivant les conditions de l'environnement, la qualité du rayonnement ultraviolet (rapport UVB/UVA) qui touche un individu peut fluctuer de manière importante.**

Par conséquent, il convient de **définir le rôle exact de chacune des deux composantes, radiations UVA et UVB, dans les effets biologiques du rayonnement solaire.**

¹ Dès 1935, le Professeur R. Latarjet publiait les premiers calculs faisant apparaître une influence des variations de l'ozone atmosphérique sur l'activité biologique du rayonnement solaire (réf. 1), alors qu'il n'était pas encore question des méfaits de la pollution sur la couche d'ozone.

Effets des UV sur l'ADN

Les UVA comme les UVB provoquent des lésions dans l'ADN

Les cancers de la peau sont en progression constante depuis quelques années. L'usage répandu des lampes solaires UVA et l'exposition prolongée au soleil, en conjonction avec l'amenuisement de la couche o3zone, sont une source de préoccupation en santé publique.

Cancers de la peau

Mélanome malin

Considéré comme le plus redoutable des cancers de la peau, sa fréquence augmente de 6 à 8% par an. On estime à environ 6 000 le nombre de nouveaux cas par an en France. Particulièrement fréquent chez les sujets à peau claire, le mélanome malin présente une évolution rapide. Il se développe aux dépens des cellules productrices de mélanine. Dans 15 à 20% des cas, il apparaît au niveau d'un grain de beauté et peut générer des métastases dans l'organisme. Dans 8 à 10% des cas, la maladie est familiale. Même si plusieurs protocoles d'immunothérapie offrent de nouveaux espoirs, le seul traitement efficace à ce jour est la chirurgie.

Cancers épithéliaux

Ils représentent environ 500 000 nouveaux cas par an en France.

Epithéliomas basocellulaires

Relativement fréquents et d'évolution lente, ces cancers apparaissent plus particulièrement sur le visage, l'arrête du nez, le cuir chevelu et les oreilles. Un traitement, le plus souvent chirurgical, permet de guérir quasiment tous les cas.

Epithéliomas spinocellulaires

De localisation sensiblement identique mais trois fois moins fréquents que les précédents, ils sont infiniment plus redoutables et peuvent dans 20% des cas donner naissance à des métastases. Le traitement plus complexe fait appel à la chirurgie, à la radiothérapie, voire à la chimiothérapie.

Il a été démontré que les UVB provoquent des lésions dans l'ADN. Si elles ne sont pas éliminées par les systèmes de réparation de l'ADN, ces photolésions engendrent des mutations qui sont transmises aux cellules filles. Ces mutations peuvent, lorsqu'elles affectent les gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, participer au processus de genèse des cancers.

Les UVA constituent plus de 90% de l'énergie ultraviolette solaire et pénètrent plus efficacement que les UVB dans les couches basales de l'épiderme où la cancérogénèse a son origine.

Jusqu'à ces dernières années, on pensait que les UVA agissaient en induisant la formation de radicaux libres qui provoquent la formation de dommages oxydatifs de l'ADN.

De nouveaux travaux (réf. 9, sous presse) menés par le groupe d'Evelyne Sage (UMR 2027 CNRS/Institut Curie "Génotoxicologie et cycle cellulaire") en collaboration avec l'équipe de Jean Cadet (Département de recherche fondamentale sur la matière condensée, CEA Grenoble) montrent en effet que les radicaux libres sont induits en plus grande quantité après UVA qu'après irradiation d'UVB ou de lumière solaire simulée (0,3% UVB + 5,1% UVA + 31,9% infrarouge + 62,7% visible). Mais ces **derniers travaux montrent surtout que les UVA entraînent le même type de photolésions que les UVB**. Certes, les UVA produisent 1000 fois moins de photolésions que les UVB, mais il ne faut pas oublier, d'une part, que l'organisme est exposé à environ 100 fois plus d'UVA que d'UVB, et, d'autre part, que les UVA pénètrent beaucoup plus efficacement jusqu'à la couche basale de l'épiderme où se forment les tumeurs de la peau, dont les mélanomes.

Mutations : un rôle non négligeable pour les UVA

Plusieurs gènes mutés

p53 : Le gène le plus fréquemment muté dans tous les cancers et dans la moitié des cancers de la peau non-mélaniques. Gardien du génome, p53 est capable d'arrêter le cycle cellulaire pour permettre la réparation et d'orienter la cellule vers l'apoptose (mort cellulaire) si elle est trop endommagée. Lorsque p53 est muté, les cellules très endommagées ne meurent pas et continuent à se diviser avec de nombreuses erreurs dans l'ADN. Les mutations de ce gène induites par les UV sont très précoces : elles surviennent avant même l'apparition du cancer et on les retrouve dans des lésions précancéreuses latentes. Les mutations de p53 concernent les cancers épithéliaux (baso et spino-cellulaires).

p16 : La mutation du gène p16 est le deuxième événement retrouvé dans les cancers cutanés. Ce gène est impliqué dans le mélanome familial (10% des cas de mélanomes) et joue un rôle important dans les autres tumeurs de la peau, notamment dans les épithéliomas spinocellulaires.

Patched : Ce gène du développement est impliqué dans une maladie génétique prédisposant aux cancers de la peau : la nævomatose basocellulaire ou syndrome de Gorlin. Les sujets porteurs d'une altération de ce gène présentent une hypersensibilité aux radiations ionisantes, des prédispositions à développer des épithéliomas basocellulaires multiples ainsi que d'autres tumeurs et des anomalies du développement.

Si l'on connaît le rôle majeur des UVB solaires dans l'induction de mutations à l'origine des tumeurs de la peau, on cherche par ailleurs à connaître la contribution des UVA.

L'équipe d'Evelyne Sage a entrepris, en collaboration avec une équipe canadienne de Montréal, l'étude de la spécificité des mutations induites par les UVB, les UVA et la lumière solaire simulée (LSS).

Dans les cellules de rongeurs en culture capables de réparer l'ADN normalement, un type de mutations représentatif des UVA a été mis en évidence (environ 1/3 des mutations induites par UVA), que l'on ne retrouve pas pour les UVB, mais qui est présent dans le cas de la lumière solaire simulée (environ 1/4 des mutations induites par LSS). Même si les autres mutations sont assez similaires à celles induites par les UVB, **on retrouve bien la trace des UVA dans les mutations générées par la lumière solaire simulée.**

L'équipe de Alain Sarasin (Laboratoire de génétique moléculaire CNRS/Institut de recherche sur le cancer, Villejuif) a obtenu dans les cellules humaines en culture des résultats qui vont dans le même sens. (réf. 8)

L'usage accru et non-contrôlé des lampes UVA dans les salons de bronzage ou l'utilisation de crèmes solaires qui ne comportent pas toujours de filtres UVA fait croître de manière importante l'exposition de certains individus aux UVA, à une dose suffisante pour induire des mutations dans le génome.

Si au niveau des cancers épithéliaux, la signature UVA n'a pas encore été observée, il ne faut pas oublier que le développement accru des salons « UVA » et l'usage des filtres UVA datent d'une dizaine d'années, période inférieure au temps de

latence nécessaire pour l'apparition des cancers. Pour les raisons invoquées précédemment, il n'est pas exclu de voir apparaître la trace des UVA dans les cancers de la peau d'ici une dizaine d'années.

Le passage du modèle animal à l'homme nécessite cependant quelques études supplémentaires. Par exemple l'importance de la mélanogenèse comme système de défense contre les effets cancérigènes des UV reste à préciser².

En conclusion, les résultats actuels, sans être une preuve absolue du rôle des UVA en cancérogénèse cutanée, constituent une mise en garde contre l'usage abusif des UVA (réf. 2 à 6).

² Les données préliminaires de la littérature scientifique suggèrent que le bronzage n'est que peu, voire pas du tout, protecteur.

Evaluer la sensibilité des individus au soleil

L'organisme a la capacité de réparer l'ADN lésé par le rayonnement solaire ou par d'autres agents physiques ou chimiques. C'est une fonction normale et essentielle au maintien de l'intégrité du génome.

Chez l'homme, on connaît trois maladies génétiques qui entraînent une très grande sensibilité au soleil. Les cellules des sujets atteints sont déficientes en réparation des lésions de l'ADN induites par les UV. Dans le *Xeroderma pigmentosum* (XP), les malades développent des cancers de la peau des zones exposées à une fréquence 2000 fois supérieure à la normale (suivant les cas, 95 à 50% des lésions UV ne sont pas éliminées de leurs cellules). En revanche, dans le syndrome de Cockayne (CS) et la Trichothiodystrophie (TTD) il n'y a pas développement des cancers de la peau.

Le test des comètes

Ce test utilise des fibroblastes de peau en culture, obtenus à partir d'individus normaux pour la réparation et de patients atteints de maladie de la réparation (XP ou TTD).

Les cellules sont irradiées aux UVB ou aux UVA. Après passage dans un champ électrique, les cellules normales développent des images en queue de comète (d'où le nom du test), qui mettent à jour les cassures de l'ADN consécutives à une étape de la réparation (incision des photolésions). En revanche, les cellules appartenant à un malade ayant une anomalie de la réparation ne montrent pas ces images en comètes : elles sont incapables d'accomplir cette étape d'incision.

Divers paramètres physiques de la comète (telle la longueur de la queue de la comète) permettent ainsi d'apprécier l'efficacité de la réparation.

L'unité d'Ethel Moustacchi (UMR 218 CNRS/Institut Curie) a développé une méthode, le **test des comètes**, pour étudier la capacité de réparation des individus (réf. 7).

La différence de réparation après UVB pour deux classes extrêmes de cellules, l'une déficiente (ce l'unités malades) l'autre non (cellules normales), doit permettre d'**utiliser ce test comme diagnostic pour étudier la réponse individuelle aux UVB et en conséquence évaluer la sensibilité des individus au soleil.**

Il présente l'avantage d'être beaucoup plus simple et rapide que les tests préexistants.

Références bibliographiques

1. Influence des variations de l'ozone atmosphérique sur l'activité biologique du rayonnement solaire.
Latarjet, R. (1935)
Revue d'optique, 14, 398-414.
2. Ozone, Sun, Cancer : Molecular and cellular mechanisms, Prevention.
Dubertret L., Santus R. & Morlière P., éditeurs (1995)
Editions INSERM (Paris).
3. Can we predict solar ultraviolet radiation as the causal event in human tumours by analysing the mutation spectra of the p53 gene.
Dumaz N., Sary A., Soussi T., Daya-Grosjean L. & Sarasin A. (1994)
J. Photochem., 307, 375-386
4. A role for ultraviolet A in solar mutagenesis.
Drobetsky E., Turcotte J. & Chateauneuf A. (1995)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 2350-2354.
5. Mutagenic specificity of solar UV light in nucleotide excision repair-deficient rodent cells.
Sage E., Lamolet B., Brulay E., Moustacchi E., Chateauneuf A. & Drobetsky E. (1996)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 176-180.
6. Un rôle pour les UVA dans les dommages solaires causés par l'ADN
Sage E., Moustacchi E. (1996)
Médecine/Sciences, 12, 806-807
7. Use of the alkaline comet assay to detect DNA repair deficiencies in human fibroblasts exposed to UVC, UVB, UVA and g-rays.
Alapetite C., Wachter T., Sage E. & Moustacchi E. (1996)
Int. J. Radiat. Biol., 69, 359-369.
8. Deleterious effects of ultraviolet A radiation in human cells.
Sary A., Robert C., Sarasin A. (1997)
Mutation Research, 283, 1-8.
9. Oxidation of guanine in cellular DNA by solar UV radiation : biological role.
Douki T., Perdiz D., Grof P., Kuluncsics Z., Moustacchi E., Cadet J., Sage E. (1999)
Photochemistry and Photobiology, 70, sous presse

Le gène p53, gardien de l'intégrité du génome

Les gènes font l'objet d'agressions incessantes entre autres sous l'action de radiations ionisantes ou d'agents toxiques. Pour y remédier, il existe dans la cellule des mécanismes chargés d'éliminer ces altérations.

On sait depuis 1991 que la mise en oeuvre de ces mécanismes réparateurs est contrôlée par la protéine p53, produit du gène du même nom, qui est en quelque sorte la "gardienne de l'intégrité du patrimoine génétique" de la cellule¹. En revanche, lorsque la protéine p53 est altérée, les mutations s'accumulent dans les cellules qui se développent de façon anarchique et deviennent cancéreuses. Ces mutations sont parmi les altérations génétiques les plus communes dans les cancers humains, et, en 1989, il a été montré que p53 est altéré dans 50% des cancers humains.

On a par ailleurs découvert (Pr Thierry Soussi, 1991) que les patients ayant une altération du gène p53 dans leur tumeur développent des anticorps sériques contre p53. Il est donc possible de connaître le statut du gène chez un patient par simple prise de sang. Ce dosage, extrêmement spécifique et aujourd'hui commercialisé par des sociétés pharmaceutiques, a ainsi permis de montrer que la présence des anticorps contre p53 est associée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein et les cancers ORL.

En 1994, l'équipe du Pr Thierry Soussi a découvert que ces anticorps pouvaient être détectés plusieurs années avant la manifestation clinique du cancer chez des personnes à risque de cancers et plus particulièrement les gros fumeurs. Confirmée par plusieurs équipes internationales, cette découverte a permis de mettre au point une méthode diagnostique fiable.

Les chercheurs de l'Institut Curie ont par ailleurs montré qu'il existe une relation directe entre exposition à un carcinogène et mutation du gène p53. En effet l'analyse du profil des mutations du gène p53 indique très souvent le type de carcinogène auquel un patient a été exposé. Ainsi, le type de mutation d'un patient atteint par un cancer du côlon est totalement différent de celui d'un patient fumeur ayant un cancer du poumon. Suite à cette découverte, l'analyse des mutations du gène p53 est utilisée comme sonde pour évaluer l'exposition à divers carcinogènes.

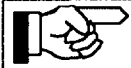
L'ensemble de ces données est compilées dans une base de données à l'Institut Curie et disponible sur son site Internet (<http://perso.curie.fr/Thierry.Soussi/>).

La restauration des fonctions normales de la protéine p53 constitue une voie de recherche cruciale dans le traitement des cancers et fait l'objet de travaux au sein du laboratoire du Pr Soussi.

¹ David Lane, professeur d'oncologie moléculaire (Université de Dundee, Grande-Bretagne) a reçu le Prix Européen Yvette Mayent-Institut Curie 1994 (1 million de francs) pour la découverte du rôle de la protéine p53 "gardienne de l'intégrité du patrimoine génétique".

Le gène p53

Le gène p53 est un gène suppresseur de tumeur, même si son mode d'action diffère un peu de l'archétype "gène suppresseur de tumeur" que représente le gène rétinoblastome RB1 ¹.



Dans la plupart des cas, il s'agit de mutations ponctuelles faux sens localisées dans la protéine au niveau de domaines conservés au cours de l'évolution (domaines II à V), entre les acides aminés 120 et 250.

Répartition des mutations du gène p53.

La majorité des mutations sont regroupées dans la région centrale de la p53. Elles sont plus particulièrement regroupées dans quatre régions hot-spot qui colocalisent avec quatre des cinq domaines hautement conservés au cours de l'évolution (70% des mutations sont regroupés les 76 acides aminés qui composent ces domaines). Quatre acides aminés (les codons 175, 248, 249 et 273) correspondent à 28% des mutations. L'analyse de la répartition des mutations dans divers types de cancers fait apparaître des biais particuliers dans plusieurs types de cancer: i) dans le cancer du poumon aucune mutation n'affecte le codon 175 et un nombre important de mutations sont concentrées dans la région 151-159. ii) dans les hépatocarcinomes et dans des cancers pulmonaires liés à l'exposition au radon ou à l'aflatoxine B1, plus de 80% des mutations sont regroupées au niveau du codon 249. Nous verrons plus loin que ces biais sont dus à l'implication de divers carcinogènes.

Mutations p53 et exposition à des carcinogènes chimiques.

L'analyse du type de mutations dans différents types de tumeurs permet de définir des spectres de mutations selon les cancers étudiés. De façon générale, il existe deux types d'altérations génétiques, les altérations d'origine endogène résultant d'erreurs se produisant durant les divers processus biologiques liés au métabolisme de l'ADN et les altérations d'origine exogène impliquant des facteurs environnementaux. La localisation et la nature des substitutions issues de ces deux types d'altérations sont différents. Il est donc possible d'utiliser les spectres de ces mutations pour étudier l'étiologie d'un cancer.

Les mutations endogènes

L'analyse de tous les événements mutationnels qui affectent le gène p53 montrent que 55% sont des transitions G:C->A:T. 47 % d'entre elles affectent un dinucléotide CpG. Il est bien connu que la désamination spontanée de la 5-méthylcytosine au niveau de ces dinucléotides peut être une source importante de ce type de transition. En fait, les trois codons hot spot 175, 248 et 273 contiennent un tel dinucléotide. Plus de 90% des événements mutationnels au niveau de ces codons sont compatibles avec un phénomène de désamination. Cette observation est confirmée par diverses études montrant que les codons 248 et 273 sont méthylés in vivo. L'analyse des événements mutationnels dans des cancers tels que le cancer du colon, les hémopathies malignes ou les cancers du cerveau (cancer qui sont connus pour ne pas être liés à des carcinogènes exogènes) montre que le taux de mutations au niveau de dinucléotide CpG est très élevé suggérant ainsi que la plupart des mutations qui altèrent le gène p53 dans ces cancer sont dues à des processus endogène liés à la désamination de la 5-méthylcytosine.

¹Greenblatt, et al. (1994) Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. Cancer Res 54: 4855-4878.

Hépatocarcinomes et Aflatoxine B1

En 1990 deux rapports faisaient état de mutations du gène p53 dans des hépatocarcinomes (HCC) avec une prédominance de transversion GC->TA au niveau de la troisième base du codon 249 de la p53 (Arg -> Ser). Dans un cas, la série de patient provenait du Mozambique tandis que la seconde provenait de la province de Qidong en Chine. Ces deux régions sont connues pour la consommation de nourriture contaminée par le champignon *Aspergillus Flavus* qui est producteur d'Aflatoxine B1. Il s'agit d'un carcinogène hépatique très puissant ayant un rôle important dans la genèse des HCC et qui agirait de façon synergique avec le virus de l'hépatite B. Une étude d'épidémiologie effectuée à l'échelon mondial a montré que la mutation au niveau du codon 249 est strictement spécifique des pays dont la nourriture est contaminée par l'aflatoxine B1. Au Mozambique, pays ayant un taux élevé de contamination en Aflatoxine B1 plus de 50% des mutations ont été retrouvées au niveau du codon 249 tandis qu'au Transkei qui est limitrophe du Mozambique (et où le taux d'infection chronique par le HBV est similaire) le taux de mutation au niveau du codon 249 est inférieur à 10%. En fait, dans les pays sans contamination (Europe et Etats Unies compris), le taux de mutation p53 dans les HCC est faible.

Il a été montré *in vitro* et *in vivo* que ce phénomène est dû à une très grande sensibilité du codon 249 à l'action de l'aflatoxine B1. Cette observation, liée au fait que cette mutation est très délétère pour la fonction de la p53 explique l'existence de ce hot spot de mutation.

Cancers cutanés et rayon ultraviolet

Brash et al. ² ont montré une prédominance de mutations C->T au niveau de dimères de pyrimidine dans les cancers spinocellulaires cutanés. Or, il est bien connu que les rayons ultra violets, agents étiologiques impliqués dans la majorité des cancers cutanés, agissent directement sur ces dimères de pyrimidines. Particulièrement caractéristiques de l'action des UV, sont les changements de bases CC->TT qui ont été observés dans la série de Brash et al. mais aussi dans d'autres séries de cancers cutanés tels que les cancers basocellulaires de la peau. Dans le cas des patients atteints de déficit génétique de la réparation tel que le Xeroderma Pigmentosum (XP), le phénotype est beaucoup plus important. La totalité des mutations des cancers cutanés est localisée sur des dimères de pyrimidines et 55% d'entre elles sont des mutations en tandem CC->TT. Ce type de mutation n'est que très rarement retrouvé dans les cancers internes (moins de 1%). Dans le cas des tumeurs cutanées de patients atteints de XP, plus de 95% des mutations sont localisé sur le brin non codant du gène p53 alors que dans les autres tumeurs cutanées ou dans les cancers internes, on n'observe pas de biais particulier. Ce résultat suggère donc une réparation préférentielle du brin codant. En effet, cette observation a été confirmée expérimentalement par Tornaletti et Pfeifer ³ qui ont montré que la vitesse de réparation des dimères de pyrimidine était très variable au niveau du gène p53, avec une vitesse particulièrement lente au niveau des codons retrouvé fréquemment mutés dans les cancers de la peau.

L'ensemble de ces résultats (prédominance des lésions CC->TT sur le brin non codant) a pu être confirmé expérimentalement dans des modèles d'animaux porteurs de tumeurs induites par des rayons UV.

²Brash, et al. (1991) A Role for sunlight in skin cancer - UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 10124-10128, Jonason, et al. (1996) Frequent clones of p53-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 14025-14029.

³Tornaletti, et al. (1994) Mapping of UV photoproducts along the human p53 gene. *DNA Damage* 726: 324-326.

Cancers broncho-pulmonaires et tabac

L'analyse des événements mutationnels qui altèrent le gène p53 dans le cancer du poumon est tout à fait exemplaire. Ces mutations sont très fréquentes dans les cancers du poumon avec une minorité de transition (moins que dans les autres cancers) et une majorité de transversion G:C->T:A. De plus, la plupart des guanines mutées sont sur le brin non codant du gène. Cette observation est tout à fait en accord avec l'intervention de carcinogènes exogènes tel que le benzo(a)pyrene provenant de la fumée de cigarette et l'observation que le brin non codant est moins bien réparé.

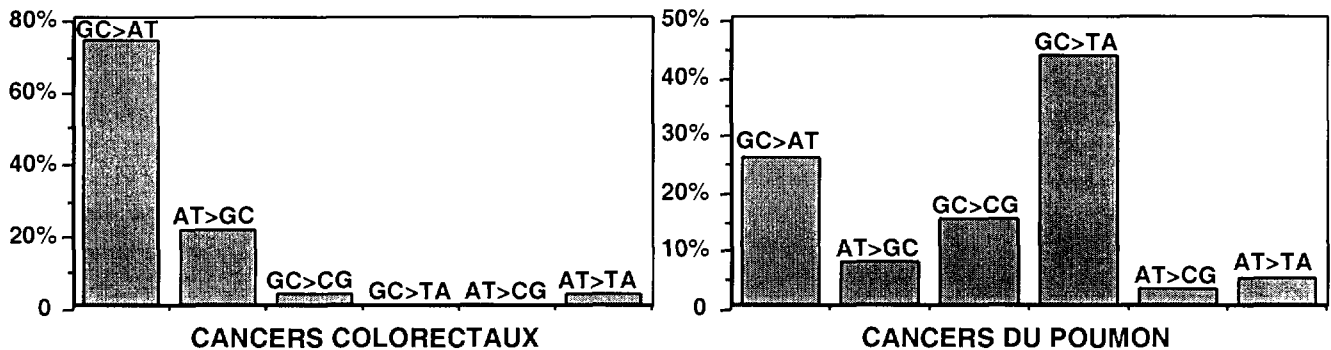


FIGURE 2: Répartition des événements mutationnels modifiant le gène p53 dans les cancers du poumon et du colon. D'après Caron de Fromental and Soussi 1992.

Une nouvelle région de la p53 (domaine A' en référence à Nigro et al., 1989) a été identifiée. Il s'agit d'un hot spot de mutations spécifique des cancers bronchiques. Il contient le codon 157 qui est une cible préférentielle du benzo(a)pyrène⁴.

Récemment, une étude portant sur des patients atteints de cancers bronchiques chez des mineurs de radons, a fait apparaître un hot spot de mutation au niveau du codon 249 (16 mutations sur 29). L'événement mutationnel est différent de celui observé dans les HCC car il touche la seconde base du codon 249 (AGG ->ATG). Ce résultat suggère que le radon pourrait être responsable de cette signature particulière car cet événement mutationnel n'est retrouvé dans moins de 1% des autres cancers pulmonaires. Néanmoins, ce résultat est à prendre avec précautions et certains auteurs ont suggéré que cette mutation pourrait être due à une mycotoxine synthétisée par un champignon qui est fréquemment retrouvé dans les bronches des mineurs de radons

⁴Denissenko, et al. (1998) Slow repair of bulky DNA adducts along the nontranscribed strand of the human p53 gene may explain the strand bias of transversion mutations in cancers. *Oncogene* 16: 1241-1247.

Le gène p53 : un modèle pour l'épidémiologie moléculaire ?

Afin d'utiliser un gène particulier pour l'étude de l'origine des processus mutagènes dans la population humaine, celui-ci devra posséder des propriétés particulières: Il devra être muté dans un grand nombre de type de cancers et ii) la fréquence des mutations devra être élevée. iii) le gène devra être altéré essentiellement par mutations ponctuelles et iv) l'analyse moléculaire du gène doit être relativement aisée (gène de petite taille). Pour l'instant ces caractéristiques peuvent être retrouvées dans deux gènes, à savoir l'oncogène Ha-ras et le gène p53. L'un des inconvénients du gène ras, est le faible nombre de codons (3) qui peuvent être la cible des mutations. Pour le gène p53, plus de 100 codons sur les 393 peuvent être modifiés. De plus le gène p53 est altéré dans plus de 50% des cancers. Il est donc possible d'entreprendre des études d'épidémiologie moléculaire dans le but de rechercher des signatures spécifiques de certains carcinogènes et démontrer leur implication dans l'apparition du phénomène néoplasique.

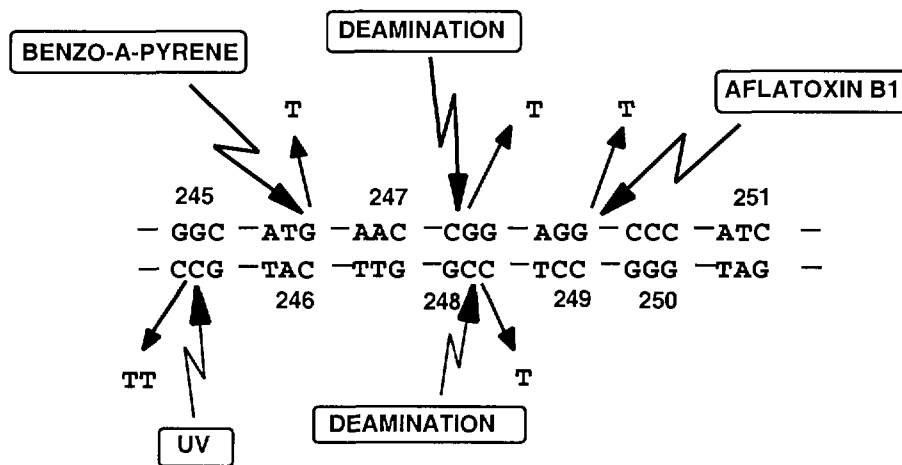


Figure 3: relation entre mutation du gène p53 et exposition à des carcinogènes.

L'ensemble de ces données fait donc apparaître que le gène p53 représente un très bon modèle d'étude des événements mutationnels modifiant le programme génétique de la cellule. Ces modifications sont le reflet direct de l'agent mutagène dont a été victime le gène p53: elles laissent des "signatures" sur l'ADN et il est possible d'associer à chacune d'entre elles un type précis de carcinogène⁵.

La base de donnée des mutations du gène p53

Depuis 1991, notre laboratoire a constitué une base de données des mutations du gène p53. Actuellement, cette base de donnée contient 9000 mutations provenant de plus 900 articles publiés ou de communications personnelles. Parallèlement, nous avons développé un outil de gestion et d'analyse de ces mutations que nous avons nommé UMD (Universal Mutation Database). Initialement développé pour p53, ce logiciel a pu être développé sous une forme universelle permettant ainsi le développement de bases de données pour tous les gènes dont la séquence est connue. Actuellement le logiciel UMD est utilisé pour de nombreux gènes.

⁵Soussi (1996) The p53 tumour suppressor gene: a model for molecular epidemiology of human cancer. Mol Med Today 2: 32-37.

Troisième Colloque des 3R

15-18 juin 1999

Programme scientifique

Mardi 15 juin

19:00-20:00 Conférence d'ouverture du congrès par **Axel Kahn**

«Génétique et Liberté».

20:00-22:00 Réception d'ouverture.

Mercredi 16 juin

09:00-09:35 **Jean Feunteun** : Le gène BRCA1 dans la réponse aux lésions génotoxiques.
Modérateur : M. Dutreix

09:35 Pablo Radicella : Mutations dans le gène *HOGG1* et leur association avec les tumeurs du rein.

09:50 Jean-Philippe Vit : Rôle du gène ATM dans la réponse apoptotique induite par les radiations ionisantes.

10:05 Lydia Riou : The relative expression of mutated XPB genes results in the Xeroderma pigmentosum/Cockayne's syndrome or trichothiodystrophy cellular phenotypes.

10:20 Alain Puisieux : *NFI*, cible privilégiée de la déficience du système de réparation des mésappariements de l'ADN ?

10:35 Christophe Cazaux : Augmentation du taux de l'ADN polymérase β dans les cellules : conséquences mutagènes.

10:50-11:20 Pause

11:20-11:55 **Jean-Claude Weill** : Hypermutation des gènes des immunoglobulines.
Modérateur : M. Mezzina

11:55 Philippe Bois : Instabilité spontanée et induite de la famille de répétition en tandem instable MMS10 dans le génome murin.

12:10 Julianne Smith : DNA end-joining : d'une cassure à l'autre.

12:25 Catherine Muller : Inhibition de l'activité de liaison de ku à l'ADN au cours de la différenciation granulocytaire des cellules myéloïdes.

12:40-14:00 Repas

14:00-16:00	Affiches	
16:00-16:30	Pause	
16:30-17:05	Gérard Pierron Modérateur : G. Baldacci	: Réplication des chromosomes eucaryotes : les <i>origines</i> de la controverse.
17:05	Agnès Cordonnier	: Réplication de molécules d'ADN endommagées dans des extraits de cellules de patients atteints par la maladie <i>Xeroderma pigmentosum</i> variant.
17:20	Didier Gasparutto	: Réparation et réplication <i>in vitro</i> de bases oxydées de l'ADN à l'aide d'oligonucléotides modifiés.
17:35	Patrick Hughes	: Isolement et identification de la troisième sous-unité de l'ADN polymérase delta de mammifère, par chromatographie d'affinité avec le PCNA d'extraits de cellules de souris FM3A.
17:50	Stéphane Marcand	: Régulation de l'élongation des télomères et réplication.
18:05	Marie-Agnès Petit	: PcrA, une hélicase de la famille de Rep et UvrD essentielle chez <i>Bacillus subtilis</i> .
18:20	François Cornet	: Contrôle des événements de recombinaison inter-chromosomiques chez <i>Escherichia coli</i> : mise en évidence du rôle de la polarisation fonctionnelle du chromosome dans la région de terminaison de la réplication.
18:35	Françoise Bernardi	: Régulation de l'expression de MCM3 d' <i>Arabidopsis thaliana</i> au cours du cycle cellulaire.

Jeudi 17 juin

09:00-09:35	Francis Fabre Modérateur : P. Bertrand	: Contrôle de la recombinaison homologue chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
09:35	Benoît Arcangioli	: Les 3R, au coeur du changement de type sexuel chez la levure <i>S. pombe</i> .
09:50	Christine Soustelle	: Rôle de la protéine RP-A dans la recombinaison méiotique chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
10:05	Christiane Gendrel	: Perturbation de la recombinaison méiotique par les séquences microsatellites dinucléotidiques d(CA/GT) _n chez <i>S. cerevisiae</i> .
10:20	Florence Couteau	: Ségrégation aléatoire des chromosomes dans les méiocytes d'un mutant <i>dmc1</i> d' <i>Arabidopsis thaliana</i> .

10:35	C. de la Roche Saint André	: Réparation des cassures double-brin d'ADN dans l'embryon de drosophile : augmentation de la recombinaison homologue par les rayons gamma.
10:50-11:20	Pause	
11:20	Jérôme Wagner Modérateur : J. Angulo	: <i>dinB</i> gene encodes a novel <i>Escherichia coli</i> DNA polymerase (DNA polIV) involved in mutagenesis.
11:35	Emmanuelle Gérard	: Effet des radiations gamma sur deux espèces d'archaea hyperthermophiles du genre <i>Pyrococcus</i> .
11:50	Isabelle Lucas	: Formation d'un nouveau type de jonction ADN-ADN dans des extraits d'oeufs de xénope lors de l'inhibition de la réplication.
12:05	Céline Giustranti	: Dommages de l'ADN induits par des particules de T.E.L. élevé. Conséquences mutagènes.
12:20	Miria Ricchetti	: Réparation par ADN mitochondriale des cassures double-brin chromosomiques chez la levure.
12:35	Anne-Cécile Déclais	: Utilisation d'un analogue fluorescent de l'adénine, la 2-aminopurine, pour étudier la déformation du coeur d'une jonction de Holliday au cours de la fixation de la résolvasse CCE1.

12:50-14:00	Repas	*****
14:00-16:00	Affiches	
16:00-16:30	Pause	
16:30-17:05	Thierry Soussi Modérateur : E. Sage	: Le gène suppresseur de tumeur p53 : faits, effets et méfaits.
17:05	Sandra Angèle	: Rôle du gène <i>ATM</i> dans le développement du cancer du sein et la radiosensibilité observée chez certaines patientes atteintes d'un cancer du sein.
17:20	Nancy Uhrhammer	: Absence de corrélation entre p53, ATM et la radiosensibilité de lignées cellulaires malignes.
17:35	Yannick Saintigny	: La protéine p53 agit sur la recombinaison homologue indépendamment de son rôle dans le contrôle du cycle cellulaire.
17:50	Karine Bishay	: L'expression de gènes impliqués dans le cycle cellulaire, la réparation ou l'apoptose, est-elle prédictive de la réponse de cellules humaines irradiées <i>in vitro</i> ?

- 18:05 Pingkun Zhou : The CDC16 gene required in mitosis progression is down regulated after ionizing radiation and possibly involved in the radioadaptive response.
- 18:20 Valérie Schreiber : PARP-2, une nouvelle poly(ADP-ribose) polymérase de mammifère stimulée par les dommages dans l'ADN.
- 18:35 M-Claude Marsolier : Multicopy suppressors of a *RAD53* lethal dominant mutant.

Vendredi 18 juin

09:00-09:35

Michel Perricaudet : Nouvelles thérapies géniques antitumorales.
Modérateur : S. Boiteux

- 09:35 Marc Lavigne : Terminaison centrale de synthèse du brin (+) chez VIH-1.
- 09:50 Olivier Garnier : Programmation épigénétique des réarrangements du génome somatique chez *Paramecium* : effets maternels homologie-dépendants.
- 10:05 Christophe Normand : Recherche et étude de domaines fonctionnels dans les extrémités de l'élément transposable bactérien IS911.
- 10:20 Annie Dary : Modulation de la recombinaison télomérique et subtélomérique chez la bactérie *Streptomyces ambofaciens*.
- 10:35 Guillaume Achaz : Analyse des duplications intrachromosomiques chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

10:50-11:20

Pause

11:20-11:55

Geneviève Almouzni : Assemblage de la chromatine et intégrité de l'information génétique.
Modérateur : B. Lopez

- 11:55 Angela Taddei : Duplication of heterochromatin at late replication foci.
- 12:10 Jérôme Maes : Dynamique de la structure chromatinienne des gènes des immunoglobulines au cours du développement des lymphocytes B.
- 12:25 Vera Schramke : Chromatine, télomères et réparation de l'ADN : de nouveaux liens fonction
- 12:40 Valérie Meniel : Photoréactivation des dimères de pyrimidine dans un gène nucléaire et mitochondrial au niveau du nucléotide chez *Saccharomyces cerevisiae*.

12:55

Giuseppe Villani Clôture du congrès.