

LE RÔLE DES PROTÉINES BRCA1 ET BRCA2 DANS LA RÉPARATION DES ALTÉRATIONS MOLÉCULAIRES DE L'ADN

LUCIAN NEGURĂ^{1*}, ANCA-MIHAELA HUMĂ¹,
VLAD ARTENIE¹, EUGEN CARASEVICI²

Mots-cléf : BRCA1, BRCA2, lésions double brin (DSB), recombinaison homologue (HR), réparation ADN.

Résumé : Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont des suppresseurs tumoraux dont les phénotypes mutants prédisposent au cancer mammaire et ovarien. Ce sont des gènes nouveaux et peu d'informations concernant leurs fonctions ont été apportées par leur séquence. Cependant, de nombreuses études sur les protéines BRCA et leurs partenaires moléculaires ont montré l'implication dans une multitude de processus cellulaires fondamentaux, incluant la réponse cellulaire aux altérations de l'ADN. Nous présentons quelques unes des plus récentes connaissances dans ce domaine.

INTRODUCTION

Révéler les fonctions normales de BRCA1 et de BRCA2 est depuis plus de dix ans un problème fascinant pour les scientifiques. Par contraste avec la compréhension génétique très claire des gènes codant pour BRCA1 et BRCA2, les fonctions cellulaires normales de ces deux protéines se sont avérées difficiles à définir. Les recherches concernant les fonctions protéiques ont mis en évidence des interactions entre les protéines BRCA et un grand nombre d'autres protéines régulatrices. Jusqu'à l'heure actuelle, un nombre limité de fonctions cellulaires est clairement attribuable aux gènes BRCA:

- 1) On a pu constater que BRCA1 et BRCA2 sont nécessaires à un développement prolifératif normal lors de l'embryogenèse précoce, étant régulées en association avec prolifération cellulaire de l'épithélium mammaire durant la puberté, la gestation et la lactation. Ce rôle paraît assez paradoxal, étant donné que dans l'épithélium mammaire et ovarien adulte, la perte de BRCA1 ou de BRCA2 conduit à la tumorigenèse par prolifération cellulaire [Rajan, 1997].
- 2) Le domaine N-terminal en doigt RING (*RING finger domain*) de BRCA1, ainsi que les régions adjacentes, facilitent le transfert de l'ubiquitine vers les protéines cellulaires destinées à la dégradation [Lorick, 1999].
- 3) BRCA1 et BRCA2 jouent un rôle fondamental BRCA dans la régulation transcriptionnelle de certains gènes impliqués dans la réparation ADN, le cycle cellulaire et l'apoptose. BRCA1 forme un complexe avec la RNA polymérase II [Scully, 1997], alors que BRCA1 et BRCA2 interagissent toutes les deux avec des régulateurs transcriptionnels [Deng 2000].
- 4) Chose la plus importante, les deux protéines maintiennent la stabilité du génome [Welch, 2000] à travers leur implication dans la recombinaison homologue (*Homologous Recombination* – HR) et dans la réparation des lésions double brin (*Double Strand Breaks* – DSB) couplée à la transcription [Chen, 1998]. Ce rôle est suggéré en égale mesure par les interactions de BRCA1 et/ou BRCA2 avec d'autres protéines connues comme impliquées dans la réparation de l'ADN, et par la déficience de réparation associée aux défauts des points de contrôle du cycle cellulaire affichée par les cellules mutantes *BRCA1^{-/-}* et *BRCA2^{-/-}*.

Le but de notre travail consiste à essayer une synthèse intégrative des éléments démontrant les rôles de BRCA1 et de BRCA2 dans la réparation de l'ADN, ainsi que de cibler les questions fondamentales qui restent non élucidées à ce sujet.

LES CLEFS STRUCTURAUX DES FONCTIONS BIOLOGIQUES

Quoique les phénotypes des cancers mammaire et ovarien associés aux mutations de BRCA1 et de BRCA2 sont similaires, les deux gènes ne sont pas sensiblement apparentés par leurs séquences. Étant donné les importantes différences entre les structures primaires, une parallèle génomique entre BRCA1 et BRCA2 s'avère particulièrement frappante : les deux gènes sont très larges, s'étendant sur environ 80 kbases d'ADN génomique ; tous les deux possèdent des exons centraux extrêmement longs codant pour plus de 50% de la protéine ; et tous les deux codent pour de très grosses protéines, formées respectivement de 1863 et de 3418 acides aminés. La comparaison entre les séquences en acides aminés des deux protéines humaines avec leurs équivalentes murines indique une proportion d'identité d'environ 60% ; il faut cependant préciser que la plupart des gènes suppresseurs tumoraux sont beaucoup plus conservés entre les espèces que le sont BRCA1 et BRCA2.

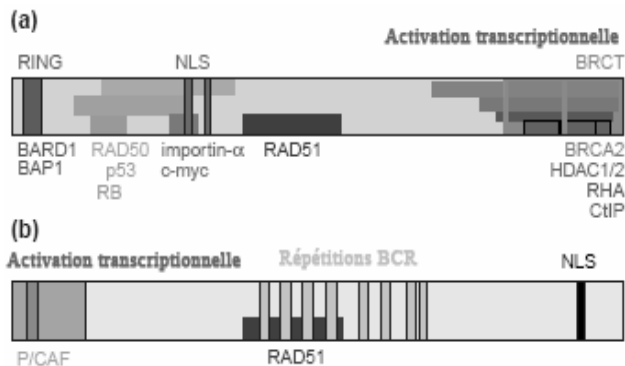


Figure 1. Caractéristiques structurales et fonctionnelles des protéines BRCA1(a) et BRCA2(b), concernant les domaines moléculaire interagissant avec des partenaires protéiques. BARD1 = Protéine 1 associée au domaine en doigt RING de BRCA1 ; BAP1 = Enzyme de déubiquitination associée à BRCA1 ; NLS = Signaux de localisation nucléaire se fixant à l'Importine γ ; RB = Protéine du rétinoblastome ; BRCT = Domaine C-terminal de BRCA1 ; HDAC $\frac{1}{2}$ = Histone désacétylase 1 et 2 ; RHA = ARN Hélicase A ; CtIP = Protéine interagissant avec CtBP (C-terminal Binding Protein) ; P/CAF = Facteur associé au complexe p300/CBP, qui possède une activité histone acétylase. [Welch, 2000].

Généralement dans les gènes nouveaux, les motifs séquentiels familiers donnent les premiers indices quant aux fonctions biologiques. Pour BRCA1 (Figure 1), le premier tel motif identifié et caractérisé a été le domaine en doigt RING comprenant les résidus 1-112 du côté N-terminal de la protéine. Les doigts RING sont des motifs à fixation par le zinc, définis par une succession conservée de résidus cystéine et histidine permettant des interactions protéine-protéine ou protéine-ADN. De nombreuses et diverses protéines formant des complexes macromoléculaires possèdent des domaines RING, certaines d'entre elles facilitant l'ubiquitination [Lorick, 1999]. Le domaine RING de BRCA1 et les domaines adjacents (les acides aminés 1-788) sont ubiquitinés *in vitro* en présence d'enzymes conjuguées à l'ubiquitine. Dans ce sens, le doigt RING de BRCA1 pourrait fonctionner avec, ou même comme une ligase ubiquitine-protéine, afin de diriger les protéines à dégrader vers le protéasome. La même région représente le site de dimérisation entre BRCA1 et BARD1 (BRCA1-associated RING domain 1), une autre protéine possédant un doigt RING du côté N-terminal. Ni les homodimères BRCA1 ou BARD1, ni le hétérodimère BRCA1-BARD1 ne présentent d'affinité pour les acides nucléiques [Meza, 1999]. Le domaine RING fixe également BAP1 (BRCA1-associated protein 1), une enzyme de déubiquitination. Il serait tentant d'imaginer que BAP puisse moduler en même temps l'ubiquitination d'autres protéines par BRCA1 et la dégradation ubiquitine-dépendante de BRCA1 elle-même.

BRCA1 et BRCA2 contiennent toutes deux des régions présentant des séquences répétitives moyennement conservées. Les répétitions BRCT (BRCA1 C-terminal) du côté C-terminal de BRCA1 sont des motifs vaguement conservés qu'on retrouve dans 53BP1 (p53 binding protein 1) et dans d'autres protéines impliquées dans la réparation de l'ADN ou dans le métabolisme. Certains travaux suggèrent un rôle des BRCT dans l'interaction des partenaires hétérodimériques [Zhang, 1998].

L'exon 11 de BRCA2 inclut des répétitions BRC, consistant en huit copies d'une séquence de 30-80 acides aminés, conservées dans toutes les protéines BRCA2 des mammifères et qui interagissent avec Rad51 [Wong, 1997].

LE RÔLE DE BRCA1

Dans les cellules normales, la réponse aux lésions ADN inclut la détection de l'ADN altéré, la transduction des signaux d'altération, la relocation de la machinerie de réparation aux sites concernés, le processus de réparation effective et la coordination entre réparation et progression du cycle cellulaire. La première évidence suggérant le rôle de BRCA1 dans la réparation de l'ADN endommagé est issue de l'observation du fait que, en réponse aux lésions de l'ADN, la protéine BRCA1 est hyperphosphorylée et est localisée au niveau des fourches de réplication dont les sites sont marqués par les antigènes nucléaires de prolifération cellulaire (PCNA) [Scully, 1999]. Comme une réponse aux radiations ionisantes, BRCA1 sera fixée et phosphorylée par la kinase ATM (*ataxia-telangiectasia mutated kinase*) [Cortez, 1999] (Figure 2). La cible majeure de la phosphorylation par ATM suite aux radiations ionisantes est le résidu Ser1387 de BRCA1. Dans le cas des radiations ultraviolettes, prioritairement sera phosphorylé Ser1457, cette fois par la kinase ATR (ATM-related kinase) [Gatei, 2000]. La kinase contrôlant le passage G2/M dans le cycle cellulaire, protéine appelée CHK2, phosphoryle elle aussi BRCA1 au niveau Ser988, en réponse aux radiations ionisantes [Chaturvedi, 1999]. D'autres résidus BRCA1 sont également phosphorylés lors des altérations de l'ADN, comme par exemple Ser1423 ou Ser 1524 [Gatei, 2000]. Il devient ainsi évident que BRCA1 sera phosphorylé au niveau de multiples résidus lors des lésions de l'ADN. Cependant, la façon dont chaque type de phosphorylation affecte les fonctions de la protéine reste assez peu élucidée.

Les études ultérieures ont démontré l'implication de BRCA1 et de BRCA2 dans des complexes qui activent la réparation des lésions double brin (*Double Strand Breaks* – DSB) de l'ADN et qui initient la recombinaison homologue (*Homologous Recombination* – HR), reliant de cette façon la maintenance de l'intégrité génomique à la suppression tumorale. Aussi bien BRCA1 que BRCA2 co-localisent dans la formation de complexes avec Rad51 [Chen, 1998]. Les protéines eucaryotes Rad51, équivalentes des bactériennes RecA, sont nécessaires à la recombinaison durant la mitose et la méiose, et également pour la réparation par HR des DSB. Rad51 entoure l'ADN monocaténaire afin de former un filament nucléoprotéique qui envahit et s'apparie à sa région homologue dans le duplex ADN, et qui active par la suite l'échange des brins afin de générer un crossing-over entre les brins juxtaposés. La co-localisation des protéines BRCA avec Rad51 au niveau des sites de recombinaison ADN et de ceux induits par des altérations moléculaires suggère fortement que BRCA ont un double rôle, de détection et de réparation des DSB (Figure 2). Dans cet ordre d'idées, l'accumulation concentrée de Rad51 est réduite après un traitement aux agents endommageant l'ADN et est déficiente durant la réparation des DSB par HR dans les cellules déficientes en BRCA1 [Moynahan, 1999]. Quoique certaines études [Scully, 1997] avaient proposé une interaction entre Rad51 et la région codée par le coté 3' de l'exon 11 de BRCA1, les expériences d'accumulation suggèrent que BRCA1 ne régulerait pas directement Rad51, étant donné que les interactions entre BRCA1 et Rad51 sont indirectes et stœchiométriquement négligeables [Venkitaraman, 2001].

D'autres études ont montré que BRCA1 co-localise et co-immunoprécipite avec la protéine Rad50 (protéine participant à la reconfiguration structurale de la chromatine), ensemble avec les partenaires de cette dernière, Mre11 et NBS1 [Wang, 2000]. Il semblerait que BRCA1 fonctionne comme un régulateur du complexe Rad50-Mre11-NBS1 (complexe R/M/N) [Wu, 2000], dont l'implication dans les réparations des DSB, dans la configuration de la chromatine et dans la

maintenance des télomères est certaine. Ni la formation proprement dite du complexe, ni l'association de BRCA1 à ce dernier, ne varient en réponse aux lésions ADN. L'explication se trouve plutôt dans la répartition nucléaire du complexe lors des altérations, avec formation de foyers dépendants des radiations ionisantes [Zhong, 1999]. Mre11 possède une activité nucléasique, par laquelle elle coupe les extrémités franches des DSB afin de générer des simples brins d'ADN [Haber, 1998]. BRCA1 se fixe directement sur l'ADN et inhibe la respectueuse activité de Mre11, en régulant la longueur et la persistance des simples brins ADN générés aux sites des lésions [Paull, 2001] (Figure 2). Puisque l'ADN simple brin est un substrat pour la réparation de l'ADN par HR, BRCA1 pourrait ainsi jouer un rôle essentiel dans la réparation par HR des DSB, en inactivant Mre11. Comme une confirmation, HR est déficiente dans les cellules déficientes en BRCA1 [Moynahan, 1999]. Alternativement, BRCA1 pourrait faciliter la réparation des DSB par son recrutement direct d'activités de remodelage de la chromatine [Hu, 1999]. L'interaction de BRCA1 avec le complexe R/M/N s'est avérée également nécessaire dans la réparation des DSB par ligation non-homologue (non-homologous end-joining process, NHEJ) [Zhong, 2002].

Des études plus récentes [Ye, 2001 ; Celeste, 2002] ont montré le fait que, en réponse aux altérations moléculaires de l'ADN, BRCA1 co-localise avec la protéine histonique H2AX, sous sa forme phosphorylée (γ -H2AX). Les DSB provoquent une réponse moléculaire extensive au niveau de la chromatine, démontrée par la phosphorylation du résidu Ser139 du côté C-terminal de H2AX [Rogakou, 1999]. Cet événement s'étend sur plusieurs milliers de bases autour d'une DSB à travers la signalisation de lésions AD. γ -H2AX forme des foyers discrets de concentration 10 minutes après une altération de l'ADN, alors que BRCA1 est détectable au niveau de ces foyers après un intervalle de 30 minutes [Paull, 2000]. Ce qui est très important, dans les cellules déficientes en H2AX, BRCA1 n'est pas capable de former seule des foyers induits par les lésions au niveau de l'ADN, ce qui suggère qu'au moins une partie de la réponse BRCA1 aux DSB a lieu au niveau de la chromatine [Celeste, 2002]. Le recrutement forcé de BRCA1 dans la chromatine provoque la phosphorylation de H2AX par co-localisation avec BRCA1, dans une manière indépendante des lésions ADN. Par conséquent, BRCA1 semblerait recruter les kinases responsables de la phosphorylation de H2AX au niveau des sites de lésion et aux foyers nucléaires de réparation [Ye, 2001].

Une autre étude [Foray, 2002] a révélé que BRCA1 contribuerait à la régulation de l'activité de la protéine c-Abl. La tyrosine kinase c-Abl est exprimée de façon ubiquitaire, étant localisée en égale mesure dans le cytoplasme et dans le noyau. La c-Abl nucléaire est activée par divers agents génotoxiques et induit l'apoptose à travers les protéines p73 ou Rad9. c-Abl est également impliquée dans la régulation de la transcription et dans la réparation de l'ADN. BRCA1 et c-Abl forment un complexe dont l'exposition aux radiations ionisantes provoque la disruption Atm dépendante qui coïncide avec l'activation de l'activité kinase de c-Abl [Foray, 2002]. La perte de BRCA1 se traduit par une significative élévation de l'activité kinase de c-Abl, fait suggérant l'implication de BRCA1 dans le contrôle d'une telle activité.

Non dernièrement, BRCA1 s'est avérée impliquée également dans les points de contrôle du cycle cellulaire, ainsi que dans l'activation transcriptionnelle de certains gènes de réponse aux lésions ADN. BRCA1 se dissocie de son partenaire moléculaire CtIP [Li, 1999], une protéine dont la fonction n'est pas encore connue et qui s'associe au répresseur transcriptionnel CtBP (protéine fixant le côté C-terminal de BRCA1). La dissociation de CtIP de BRCA1 pourrait permettre à cette dernière d'activer la transcription d'autres gènes. Un exemple dans ce sens est le gène GADD45, dont la synthèse est régulée suite à une surexpression de BRCA1.

Tous ces résultats suggèrent un moyen par lequel BRCA1 affecterait la réponse cellulaire aux lésions de l'ADN, distinctement d'un rôle directe dans la réparation de l'ADN ou d'un rôle dans les points de contrôle du cycle cellulaire.

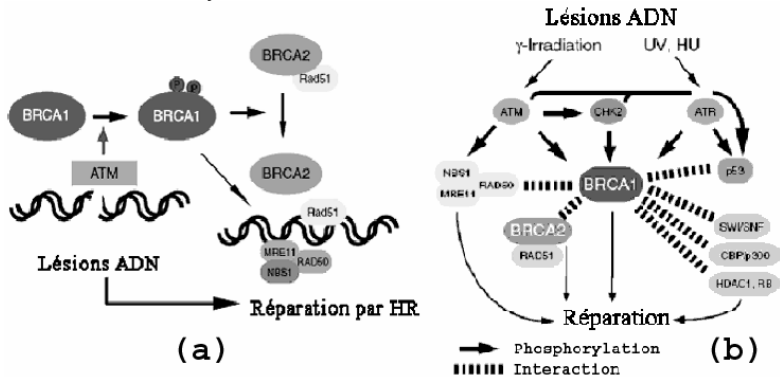


Figure 2. Un modèle du rôle joué par les protéines BRCA dans la réponse aux lésions ADN [Yoshida, 2004]. (a) Suite aux DSB, BRCA1 est phosphorylé par ATM. La forme phosphorylée de BRCA1 active la réparation de l'ADN par HR, en coopération avec BRCA2 et Rad51. BRCA1 recrute également le complexe Rad50-Mre11-NBS1 au niveau des sites d'altération ADN. (b) Quelques partenaires moléculaires de BRCA1

LE RÔLE DE BRCA2

Les rôles joués par BRCA1 et BRCA2 dans la réparation des DSB par HR semblent différents. Les résultats disponibles [Yu, 2000 ; Moynahan, 2001] indiqueraient un rôle plus directe joué par BRCA2. Les cellules déficientes en BRCA2 présentent une sensibilité plus élevée aux radiations ionisantes, indicative d'un défaut dans la réparation des DSB, alors que les points de contrôle du cycle cellulaire et la réponse apoptotique aux altérations ADN restent quant à elles intactes. En outre, les cellules déficientes en BRCA2 accumulent durant la culture les cassures chromosomiques et les échanges mitotiques aberrants. Des phénotypes similaires sont observés chez les cellules déficientes en Rad51, ce qui représente une évidence génétique du rôle fondamental joué par les interactions BRCA2-Rad51 pour la maintenance de la division cellulaire et de la stabilité structurale chromosomique. Du point de vue physiologique, les interactions entre BRCA2 et Rad51 s'effectueraient au niveau des domaines répétitifs BCR, ainsi qu'au niveau d'un autre domaine distinct situé du côté C-terminal de BRCA2 (Figure 1). Ces interactions augmenteraient l'efficacité de la formation de filaments nucléoprotéiques par recrutement de multiples sous unités de Rad51. L'activité de Rad51 dans la formation des filaments est augmentée en présence de la protéine de réplication A, de Rad52 et de l'hétérodimère Rad55/Rad57. Des études récentes ont montré que BRCA2 régule la localisation intracellulaire et les fonctions de Rad51 [Davies, 2001]. Dans les cellules déficientes en BRCA2, le transport nucléaire de Rad51 est amoindri, suggérant que BRCA2 aurait le rôle de transporteur de Rad51, à partir du site de synthèse protéique jusque celui de la lésion ADN (Figure 2). Ces résultats in vitro mènent à l'hypothèse que BRCA2 joue un rôle essentiel dans la réparation des DSB in vivo. Le modèle le plus probable à l'heure actuelle [Venkitaraman, 2002] argumente que le complexe BRCA2-Rad51 existerait in vivo sous deux formes : une forme inactive qui prévient la fixation de Rad51 sur l'ADN double brin, et une forme active, dans lequel Rad51 réalise des

filaments nucléoprotéiques qui seront transférés par BRCA2 aux sites de lésion de l'ADN (Figure 2 ?3). La transition de l'état inactif vers l'état actif est probablement due à des modifications post-traductionnelles, par exemple à des phosphorylations causées par l'altération de l'ADN, ce qui provoque des modifications structurales substantielles au sein du complexe BRCA2-Rad51, ce qui provoque le relâchement de Rad51. La question si ce modèle in vitro est relevant sur les fonctions cellulaires de la protéine BRCA2 reste encore à élucider, dans un premier pas par la caractérisation structurale et stoechiométrique du complexe BRCA2-Rad51.

CONCLUSIONS

BRCA1 et BRCA2 maintiennent probablement l'intégrité et la stabilité du génome en interagissant avec des enzymes clé impliquées dans la réparation de l'ADN (Figure 3). Pour ces raisons, les mutations provoquant une disfonctionnement de BRCA1 ou de BRCA2 pourraient conduire à une diminution générale de la capacité cellulaire à réparer son ADN endommagé, ce qui provoquerait l'augmentation des mutations somatiques, la ségrégation chromosomique anormale et l'aneuploïdie.

Quelques questions restent néanmoins difficiles à élucider complètement. Pourquoi des gènes exprimés de façon ubiquitaire et qui participent à des processus universels conduisent, lorsqu'ils sont mutés, au cancer mammaire et ovarien spécifiquement ? Pourquoi les mêmes gènes s'avèrent nécessaires pour la prolifération embryonnaire et pour la suppression tumorale ? La grande taille des protéines BRCA représente un vrai challenge pour ceux qui essayent de comprendre toutes leurs fonctions. Jusqu'à ce jour, des rôles dans la réparation de l'ADN et dans la régulation transcriptionnelle ont été proposés. Les travaux à venir devront élucider l'intervention exacte dans la régulation de gènes cibles et dans l'interaction avec tous les partenaires protéiques, afin de comprendre les lois multifonctionnelles des BRCA, sources évidentes de la spécificité tissulaire dans la prédisposition au cancer.

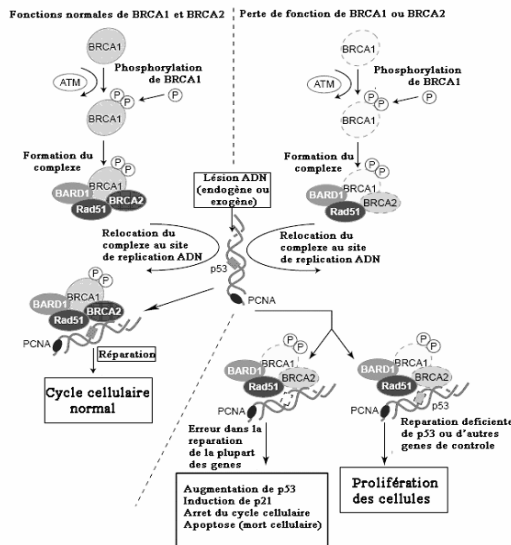


Figure 3. Un possible modèle de l'implication de BRCA1 et BRCA2 dans la réparation de l'ADN [Welch, 2000]

RÉFÉRENCES

1. Rajan J.V., Marquis S.T., Gardner H.P. and Chodosh L.A., 1997, Developmental expression of Brca2 colocalizes with Brca1 and is associated with proliferation and differentiation in multiple tissues. *Dev Biol*, **184**(2), 385-401.
2. Lorick K.L., Jensen J.P., Fang S., Ong A.M., Hatakeyama S. and Weissman A.M., 1999, RING fingers mediate ubiquitin-conjugating enzyme (E2)-dependent ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci USA*, **96**(20), 11364-11369.
3. Scully R., Chen J., Ochs R.L., Keegan K., Hoekstra M., Feunteun J. and Livingston D.M., 1997, Dynamic changes of BRCA1 subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell* 1997425-35.
4. Deng C.X. and Brodie S.G., 2000, Roles of BRCA1 and its interacting proteins. *Bioessays*, **22**(8), 728-737.
5. Welsh P.L., Owens K.N. and King M.-C., 2000, Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2. *Trends Genet*, **16**, 69-74.
6. Chen J., Silver D.P., Walpita D., Cantor S.B., Gazdar A.F., Tomlinson G., Couch F.J., Weber B.L., Ashley T., Livingston D.M. and Scully R., 1998, Stable Interaction between the Products of the *BRCA1* and *BRCA2* Tumor Suppressor Genes in Mitotic and Meiotic Cells. *Mol Cell*, **2**(3), 317-328.
7. Meza J.E., Brzovic P.S., King M.C. and Klevit R.E., 1999, Mapping the functional domains of BRCA1. Interaction of the ring finger domains of BRCA1 and BARD1. *J Biol Chem*, **274**(9), 5659-5665.
8. Zhang X., Morera S., Bates P.A., Whitehead P.C., Coffey A.I., Hainbucher K., Nash R.A., Sternberg M.J., Lindahl T. and Freemont P.S., 1998, Structure of an XRCC1 BRCT domain: a new protein-protein interaction module. *EMBO J*, **17**(21), 6404-6411.
9. Wong A.K., Pero R., Ormonde P.A., Tavtigian S.V. and Bartel P.L., 1997, RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene brca2. *J Biol Chem*, **272**(51), 31941-31944.
10. Scully R., Ganesan S., Vlasakova K., Chen J., Socolovski M. and Livingston D.M., 1999, Genetic analysis of BRCA1 function in a defined tumor cell line. *Mol Cell*, **4**(6), 1093-1099.
11. Cortez D., Wang Y., Qin J. and Elledge S.J., 1999, Requirement of ATM-Dependent Phosphorylation of Brca1 in the DNA Damage Response to Double-Strand Breaks. *Science*, **286**(5442), 1162-1166.
12. Gatei M., Scott S.P., Filippovitch I., Soronika N., Lavin M.F., Weber B. and Khanna K.K., 2000, Role for ATM in DNA Damage-induced Phosphorylation of BRCA1. *Cancer Res*, **60**, 3299-3304.
13. Chaturvedi P., Eng W.K., Zhu Y., Mattern M.R., Mishra R., Hurler M.R., Zhang X., Annan R.S., Lu Q., Faucette L.F., Scott G.F., Li X., Carr S.A., Johnson R.K., Winkler J.D. and Zhou B.B., 1999, Mammalian Chk2 is a downstream effector of the ATM-dependent DNA damage checkpoint pathway. *Oncogene*, **18**(28), 4047-4054.
14. Gatei M., Scott S.P., Filippovitch I., Soronika N., Lavin M.F., Weber B. and Khanna K.K., 2000, Role for ATM in DNA Damage-induced Phosphorylation of BRCA1. *Cancer Res*, **60**, 3299-3304.
15. Moynahan M.E., Chiu J.W., Koller B.H. and Jasin M., 1999, BRCA1 controls homology-directed DNA repair. *Mol Cell*, **4**, 511-518.
16. Scully R., Chen J., Ochs R.L., Keegan K., Hoekstra M., Feunteun J. and Livingston D.M., 1997, Dynamic changes of BRCA1 subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell* 1997425-35.
17. Venkitaraman A.R., 2001, Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage. *Journal of Cell Science*, **114**, 3591-3598.
18. Wang Y., Cortez D., Yazdi P., Neff N., Elledge S.J. and Qin J., 2000, BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. *Genes Dev*, **14**, 927-939.
19. Wu X., Petrini J.H., Heine W.F., Weaver D.T., Livingston D.M. and Chen J., 2000, Independence of R/M/N focus formation and the presence of intact BRCA1. *Science*, **289**(5476), 11-14.
20. Zhong Q., Chen C.-F., Li S., Chen Y., Wang C.-C., Xiao J., Chen P.-L., Sharp Z.D. and Lee W.H., 1999, Association of BRCA1 with the hRad50-hMre11-p95 Complex and the DNA Damage Response. *Science*, **285**(5428), 747-750.
21. Haber J.E., 1998, The many interfaces of Mre11. *Cell*, **95**(5), 583-586.
22. Paull T.T., Cortez D., Bowers B., Elledge S.J. and Gellert M., 2001, Direct DNA binding by Brca1. *Proc Natl Acad Sci USA*, **98**, 6086-6091.
23. Hu Y.F., Hao Z.L. and Li R., 1999, Chromatin remodeling and activation of chromosomal DNA replication by an acidic transcriptional activation domain from BRCA1. *Genes Dev*, **13**(6), 637-642.
24. Zhong Q., Chen C.F., Chen P.L. and Lee W.H., 2002, BRCA1 facilitates microhomology-mediated end joining of DNA double strand breaks. *J Biol Chem*, **277**(32), 28641-28647.
25. Ye Q., Hu Y.F., Zhong H., Nye A.C., Belmont A.S. and Li R., 2001, BRCA1-induced largescale chromatin unfolding and allele-specific effects of cancer-predisposing mutations. *J Cell Biol*, **155**, 911-921.
26. Celeste A. et al, 2002, Genomic instability in mice lacking histone H2AX. *Science*, **296**(5569), 922-927.
27. Rogakou E.P., Boon C., Redon C. and Bonner W.M., 1999, Megabase chromatin domains involved in DNA double-strand breaks *in vivo*. *J Cell Biol*, **146**, 905-916.

28. Paull Y.T., Rogakou, E.P., Yamazaki V., Kirchgessner C.U., Gellert M. and Bonner W.M., 2000, A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. *Curr Biol*, **10(15)**, 886-895.
29. Foray N., Marot D., Randrianarison V., Venezia N.D., Picard D., Perricaudet M., Favaudon V. and Jeggo P., 2002, Constitutive association of BRCA1 and c-Abl and its ATM-dependent disruption after irradiation. *Mol Cell Biol* 2002, **22**, 4020–4032.
30. Li S., Chen P.L., Subramanian T., Chinnadurai C., Tomlinson G., Osborne C.K., Sharp Z.D. and Lee W.H., 1999, Binding of CtIP to the BRCT repeats of BRCA1 involved in the transcription regulation of p21 is disrupted upon DNA damage. *J Biol Chem*, **274(16)**, 11334-11338.
31. Yoshida K. and Miki Y., 2004, Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci*, **95(11)**, 866-871.
32. Yu V.P., Koehler M., Steinlein C., Schmid M., Hanakahi L.A., van Gool A.J., West S.C. and Venkitaraman A.R., 2000, Gross chromosomal rearrangements and genetic exchange between nonhomologous chromosomes following BRCA2 inactivation. *Genes Dev*, **14**, 1400–1406.
33. Moynahan M.E., Pierce A.J. and Jasin M., 2001, BRCA2 is required for homology-directed repair of chromosomal breaks. *Mol Cell*, **7**, 263–272.
34. Davies A.A., Masson J.Y., McIlwraith M.J., Stasiak A.Z., Stasiak A., Venkitaraman A.R. and West S.C., 2001, Role of BRCA2 in control of the RAD51 recombination and DNA repair protein. *Mol Cell*, **7**, 273–282.
35. Venkitaraman A.R., 2002, Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*, **108(2)**, 171-182.

1 - Université «Alexandru Ioan Cuza», Iași, Roumanie

2 - Université de Médecine et Pharmacie « Gr.T.Popa », Iași, Roumanie

* correspondance à adresser à : luciannegura@yahoo.fr