

**Traduction fonctionnelle du code histone :**

Chromatine de base = inhibitrice	Ouverture de la chromatine = transcription possible
Hypo acétylation de la chromatine	Hyper acétylation de la chromatine
Chromatine méthylée (++) en K9)	Chromatine méthylée en K4 (exception à la méthylation)

- Ces modifications sont alors **NECESSAIRES** à la transcription d'où le rôle de certaines enzymes Co activateurs (ex : HAT) ou Co répresseurs qui vont interagir avec des facteurs de transcription.
- Donc les facteurs de transcriptions ont une double action :
  - Favoriser la transcription par stabilisation du complexe d'initiation
  - Remodeler la chromatine

❖ Comment des histones acétylées vont induire la transcription ? Comment ce code histone est-il traduit ?

**MODIFICATION DE LA STRUCTURE DES NUCLÉOSOMES**

- ❖ D'une première manière par la modification de la structure des nucléosomes

**EX : ACÉTYLATION**

Hypoacétylation	Hyperacétylation
Transcription défavorisée	Transcription favorisée
L'ADN chargé négativement possède une interaction ionique avec le NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> des lysines des queues d'histones. Ce qui provoque l'indisponibilité de l'ADN puisque ce dernier interagit avec les lysines. On a donc une transcription qui est défavorisée	<b>L'acétylation</b> des lysines via une <b>HAT</b> va <b>neutraliser cette charge +</b> ce qui va empêcher les queues d'interagir avec l'ADN, on aura donc un nucléosome dans une <b>configuration beaucoup plus ouverte</b> , ce qui va permettre la transcription d'avoir lieu.

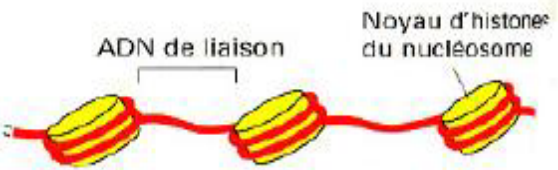
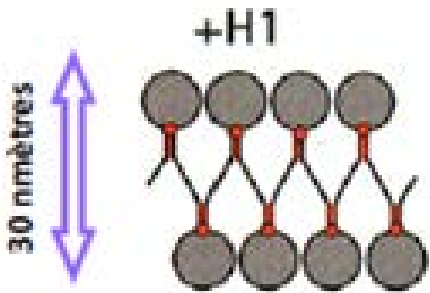
**RÉGULATION DES INTERACTIONS ENTRE LES QUEUES DES HISTONES ET DES PROTÉINES NON-HISTONES**

- ❖ En ce qui concerne le code histones on a deux catégories de protéines qui permettent l'organisation de l'expression des gènes :
- ♫ Les « writer » celles qui écrivent le code, responsable des modifications (ex : HAT, HDM...)
  - ♫ Les « readers » celles qui traduisent le code. (Ex ci-dessous)
  - ♫ Les « erasers » qui effacent le code

Lecteurs :	Ex:
Protéines à bromodomaine	Elles reconnaissent les lysines acétylés (régions hyper acétylés) pour ensuite recruter des FT qui stabilise les complexes d'initiation : ouverture de la chromatine et transcription permise.
Protéines à chromodomaines (ex : HP1, Polycomb)	Elles reconnaissent la modification d'histone H3 sur K9 et K27 : fermeture de la chromatine et inhibition de la transcription.
Protéines à domaine « 14-3-3 »	Elles reconnaissent la modification d'histone H3 sur Serine 10 phosphorylée : facilitant ainsi l'acétylation et l'activation des gènes en réponse au stress.
Protéines à domaine « Tudor » (ex : 53BP1)	Elles reconnaissent la modification d'histone H4 sur K20 méthylée : contrôle la réparation l'ADN. <b>Mode d'action :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• S'il n'y a pas de dommage à l'ADN : toutes les H4 K20 méthylée sont fixées par la protéine JMJD2A qui empêche la fixation de l'autre protéine 53BP1 impliquée dans la réparation.</li> <li>• Si l'ADN est cassé, un signal va activer des ubiquitine ligase qui vont aboutir à la dégradation de JMJD2A et ainsi les protéines Tudor pourront reconnaître la lésion et activer la réparation de l'ADN</li> </ul>

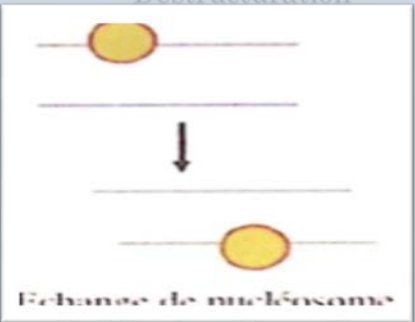
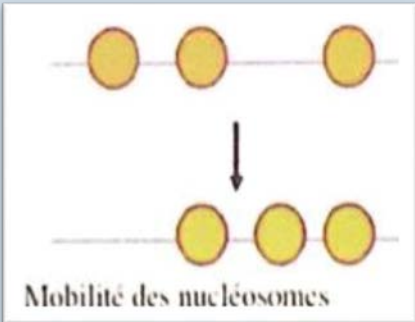
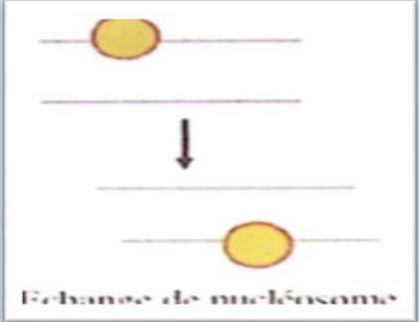
## E. LA FIBRE NUCLEOSOMALE

### 1. LA STRUCTURE

<b>FIBRE NUCLEOSOMALE DE PREMIER NIVEAU</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La fibre nucléosomale est formée d'une succession de nucléosomes.</li> <li>On l'assimile à un « collier de perles » où chaque perle est un nucléosome.</li> <li>Elle mesure environ 10-11 nm de diamètre.</li> <li>Elle peut être visualisée à l'aide du microscope à partir de chromatine isolée de la cellule.</li> </ul>	
<b>HISTONE H1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Une <b>cinquième histone (H1)</b> se place au niveau du pincement entre l'ADN entrant et l'ADN sortant de chaque nucléosome.</li> <li>Celui-ci permet de condenser la fibre de 11 nm en fibre de 30 nm (plus difficile à transcrire)</li> <li>H1 ne fait pas partie de l'octamère d'histone</li> </ul>	
<b>FIBRE DE DEUXIEME NIVEAU</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La fibre nucléosomique correspond à la compaction de la fibre nucléosomale. Elle mesure environ <b>30 nm de diamètre</b>.</li> </ul>	


### 2. LES FACTEURS DE REMODELAGE

- Au niveau des **promoteurs**, il faut souvent **remodeler la fibre des nucléosomes** pour permettre la **fixation de protéines régulatrices**, notamment les **facteurs de transcription**, car en présence des nucléosomes leur site est **inaccessible**.
- Le remodelage de la fibre nucléosome se fait grâce à des **facteurs de remodelage (FR)**, qui sont des grosses machines **très consommatrices d'énergie**, ils vont pousser les nucléosomes et rendre le site **accessible** aux protéines régulatrices.
- Il y a trois types de remodelages, ils sont tous **ATP-dépendants** :

<p>Déstructuration Déstructuration</p>  <p>Echancement de nucléosome</p>	<p>Mobilité des nucléosomes</p>  <p>Mobilité des nucléosomes</p>	<p>Échange de nucléosomes</p>  <p>Echancement de nucléosome</p>
<p>On modifie la <b>structure</b> du nucléosome en distordant la fibre, <b>sans changer sa position</b>, pour exposer un site de fixation à un FT.</p>	<p>Les FR poussent les nucléosomes laissant une <b>zone d'ADN nu</b>, ça augmente la mobilité des nucléosomes : déplacement en <b>cis</b>.</p>	<p>On échange deux nucléosomes d'une région d'ADN à une autre : déplacement en <b>trans</b>.</p>

### 3. LES FAMILLES DE REMODELAGE

- Il y a trois grandes familles d'**ATPase de remodelage** :

Noms de famille	Poids moléculaires	Nombres de peptides	Sous-unité ATPase ( <b>tous</b> )	Activité	Précision
SWI/SNF	2 MDa	11	SWI2/SNF2	Augmente l'accessibilité des nucléosomes	 <p>A l'échelle ce complexe serait aussi gros que ces 7 nucléosomes</p>
ISWI/NURF	500 KDa	4	ISWI1	Augmente la mobilité des nucléosomes (déplc, échange)	On a parfois la formation de sous-complexes
Mi2				Remodelage, désacétylase	

## D. BOUCLES ET DOMAINES

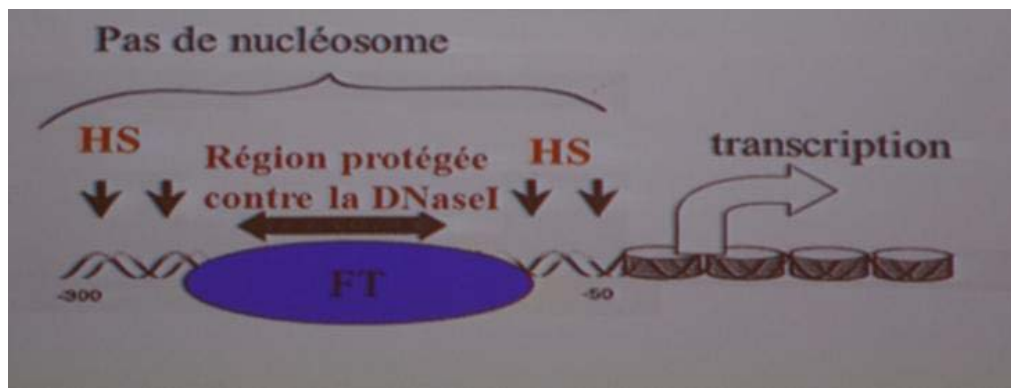
### 1. DNASE ET SITES HYPERSENSIBLES

- Pour expliquer toute la compaction de l'ADN, il faut parler des boucles et des domaines.
- La dynamique de boucles est très contrôlée par la cellule, elle a des interactions moléculaires très précises qu'on va étudier en se servant de la DNaseI.

	Nucléase micrococcalle	DNase I
Origine	Extracellulaire	Pancréatique
Périodicité de coupure	Dépend partielle/totale	10 pb
Coupe entre les nucléosomes	Oui	Oui
Coupe sur les nucléosomes	Non	Oui (sur petit sillon)
Coupe l'ADN en contact avec les histones sur les nucléosomes	Non	Non

- Cependant, le DNaseI ne peut couper sur les nucléosomes uniquement l'ADN qui est accessible (pas couplés aux histones), donc plus l'ADN est accessible plus on aura une sensibilité à la DNaseI.
- Donc les gènes transcrits sont plus sensibles à la DNaseI que les mêmes gènes non transcrits.
- Généralement on peut faire ça tout le long du génome, on peut définir des portions du génome qui sont sensibles à la DNaseI, ce qui veut dire qu'ils sont plutôt favorables à la transcription, et les gènes qui sont résistants à la DNaseI.

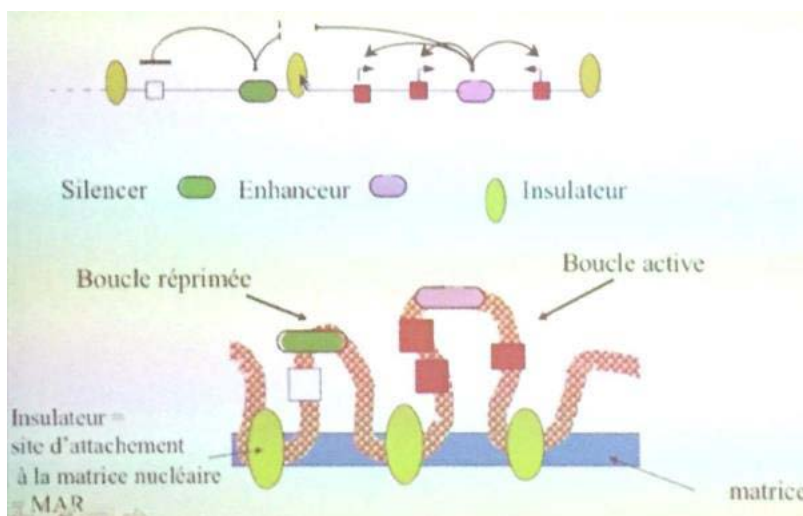
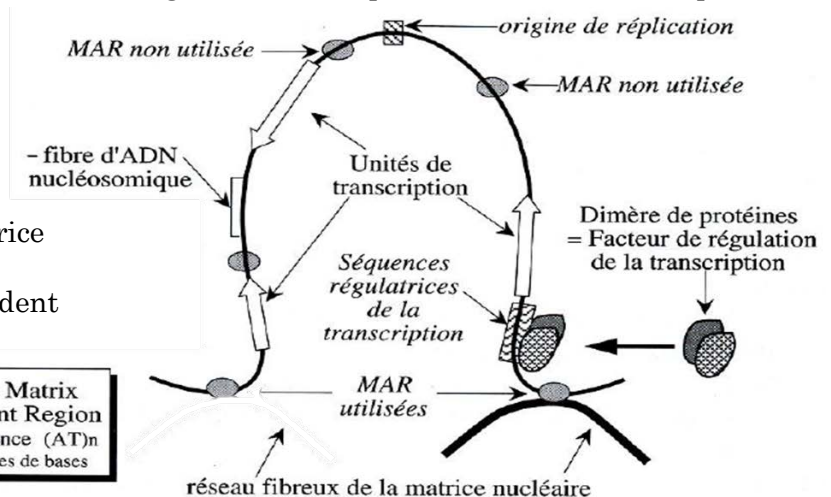
Type de gène :	Caractéristiques	Expression	Sensibilité à la DNaseI
Gène inactif	H3 méthylé en K9	Pas exprimé, associé à des marques de répression	Résistante à la DNaseI
Gène compétent	H3/H4 acétylé partiellement	Pas exprimé mais prêt à l'être si besoin	Sensible à la DNaseI
Gène actif	H3/H4 acétylé et H3 méthylé en K4	Exprimé. En cours de transcription	Sensible à la DNaseI + site hypersensible



Ce site hypersensible correspond aux régions régulatrices du gène (promoteur, insulateur..) où l'ADN est totalement libre pour permettre à la DNaseI de couper.  
De plus on a au centre de cette région un cœur protégé de la DNaseI qui correspond au facteur de transcription (fixé à l'ADN)

## 2. LES DOMAINES CO-REGULES

- Chez les gènes procaryotes on retrouve la notion d'opéron.
- Chez les gènes eucaryotes il n'y a pas d'opéron, chaque transcrit correspond à un gène et il peut y avoir des variantes, c'est pour ça qu'ici chaque gène est présenté comme une unité de transcription.
  - ✦ Les domaines de co-régulation correspondraient un peu actuellement aux opérons des procaryotes.
- Dans un même domaine, les gènes peuvent être co-régulés et ils s'exprimeront en même temps. C'est ce qu'on appelle les domaines de co-régulation.
- Dans le génome humain, la taille moyenne des domaines co-régulés est de 350 000 pb.
- Les fibres de nucléosomes sont organisées en boucles attachées à la matrice nucléaire.
- Ces domaines de co-régulation correspondent finalement à ces fameuses boucles : en termes de relation structure-fonction, les gènes co-régulés appartiennent à la même boucle.



➤ Au niveau des régions insulatrices il y a des sites d'attachement à la matrice nucléaire. Ce sont des éléments frontières qui séparent physiquement les boucles.

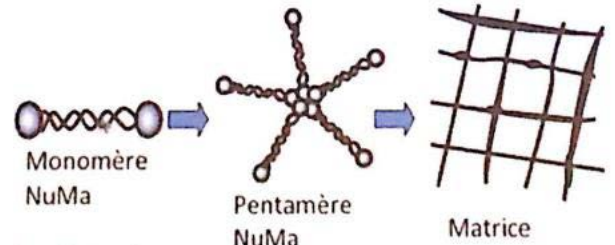
➤ Les domaines transcriptionnels (gènes actifs ou réprimés) correspondent aux boucles limitées par les insulateurs.

➤ Ainsi, il peut y avoir une boucle activée d'un côté et de l'autre une boucle réprimée, par les groupes enhanceur et silencer.



### 3. DOMAINE NUCLEAIRE

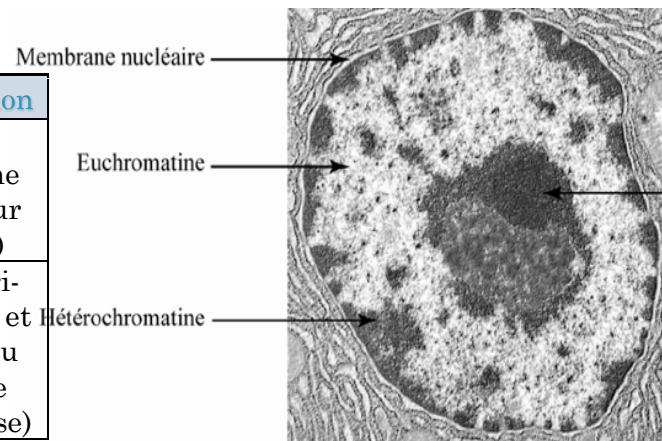
<p>La matrice nucléaire</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ C'est ce qui reste du matériel nucléaire, <b>composant insoluble du noyau</b>, après avoir extrait les nucléosomes et les autres protéines de structure (grâce à détergents, DNaseI ou concentrations salines)</li> <li>➤ Elle est composée de : <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Lamina nucléaire</li> <li>☞ <b>Réseau fibreux du nucléosquelette</b> : actine, lamine A/C, NuMa</li> <li>☞ Complexes nucléoprotéiques</li> </ul> </li> <li>➤ Importante pour la différenciation des cellules</li> </ul>
<p>La protéine NuMa</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) <b>Protéine allongée</b> sous forme de <b>monomère</b> avec une structure <b>fibreuse centrale et globulaire aux extrémités</b>.</li> <li>2) Elles vont spontanément s'organiser en <b>pentamères</b> qui vont s'associer entre eux pour former</li> <li>3) La <b>matrice</b> (quadrillage) et <b>interagir avec l'ADN</b>, puis être responsable en partie de l'attachement de l'ADN sur cette matrice.</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Elle intervient dans la formation de la matrice nucléaire</li> </ul>



### F. CHROMATINE HYPER-CONDENSE

➤ On distingue deux choses :

Chromatine	Condensation	Période	Localisation
Euchromatine	Variable	Selon le moment du cycle cellulaire	Plutôt homogène (Blanc sur l'image)
Hétérochromatine	Hypercondensée	Reste condensée pendant tout le cycle	Zone péri-nucléaire et autour du nucléole (noir dense)



### 1. EFFET DE POSITION

L'effet de position : Il y a effet de position quand l'activité d'un élément génétique dépend de son contexte chromosomique (càd de sa *localisation dans le noyau*).

- Un phénomène **génétique** de choix pour étudier la chromatine hyper-condensée.
- En anglais : PEV (position effect variegation)

- Issues des recherches sur la couleur des yeux des drosophiles (Cf ; cours)
- Un gène va s'exprimer ou non selon son contexte chromosomique.
- On parle donc de **variégation** car l'effet n'est **pas absolu** : certaines cellules résistent
- Ce phénotype de variégation d'un gène devient une expression **phénotypique en fonction de l'hétérochromatine**

- **De plus**, quand on change un gène de place, on change sa logique d'organisation et de régulation.
- **On a deux types de modulations :**

	Favorise l'hétérochromatine	Favorise ouverture de chromatine	Exemples de protéines impliquées
GENE Su(Var)	☑ Inactive le gène		Protéines de l'hétérochromatine : HP1, HD, Su-Var3-9
GENE En(Var)		☑ Restaure le phénotype sauvage	Protéines de l'euchromatine : FT, HAT, Set1
Mutant Su(Var)		☑ Restaure le phénotype sauvage	
Mutant En(Var)	☑ Inactive le gène		

☞ *Su(Var) = Suppresseurs de variegation / En(Var) = enhancer de variégation*

## 2. MECANISMES MOLECULAIRE

Comment un gène va-t-il être inactiver en étant placé dans de l'hétérochromatine (PEV) ?

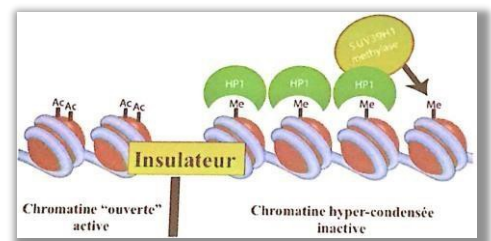
☞ C'est grâce à l'action centrale de la protéine HP1, une protéine motrice de la propagation de l'hétérochromatine.

⇒ Ex de modifications sur l'histone H3 :

1. Histone Désacétylase (HD) protéine de l'hétérochromatine va désacétyler lysines 9 et 14 des queues H3.
2. Su(Var)3-9 protéine de l'hétérochromatine va méthyler la lysine 9.
3. HP1 : va reconnaître la méthylation de H3 K9 et vient se fixer dessus. En interagissant avec Su(var)3-9, la protéine HP1 va continuer à se propager aux nucléosomes adjacents.

Est-ce que cette propagation est infinie dans tout le noyau ?

☞ Non, cette réaction en chaîne est l'auto-propagation d'HP1 et donc de l'hétérochromatine jusqu'à un insulateur. Ils limitent la propagation de la chromatine hyper condensée. Ils agissent comme des frontières qui vont empêcher cette propagation, c'est un phénomène de régulation très important.



## 3. FACTEURS DE TRANSCRIPTION

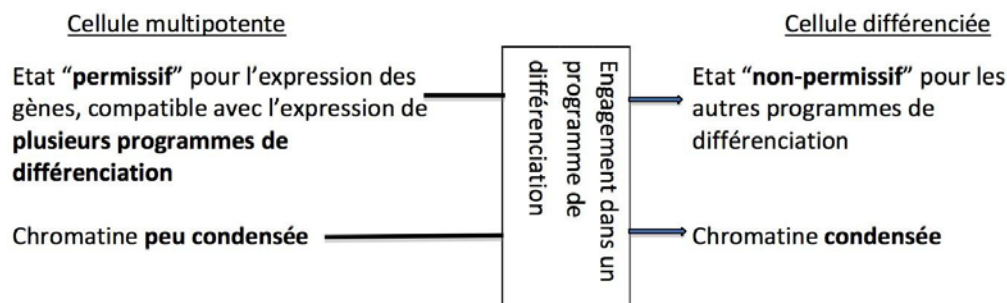
- En dehors de leur rôle dans l'activation proximale du promoteur et de régulation distale, ils ont aussi un **rôle** au niveau de l'**organisation tri-dimensionnelle de la chromatine**.

## RECAP :

Type de gène :	Caractéristiques	Expression	Sensibilité à la DNaseI	Chromatine	Génome
Gène inactif	H3 méthylé en K9	Pas exprimé, associé à des marques de répression	Résistante à la DNaseI	Dense	90% du génome
Gène compétent	H3/H4 acétylé partiellement	Pas exprimé mais prêt à l'être si besoin	Sensible à la DNaseI sans site hypersensible	Fibre de 30nm Condensation intermédiaire	
Gène actif	H3/H4 acétylé et H3 méthylé en K4	Exprimé. En cours de transcription	Sensible à la DNaseI + site hypersensible	Fibre de 11nm Condensation faible	10% du génome

## 4. FACTEURS DE TRANSCRIPTION

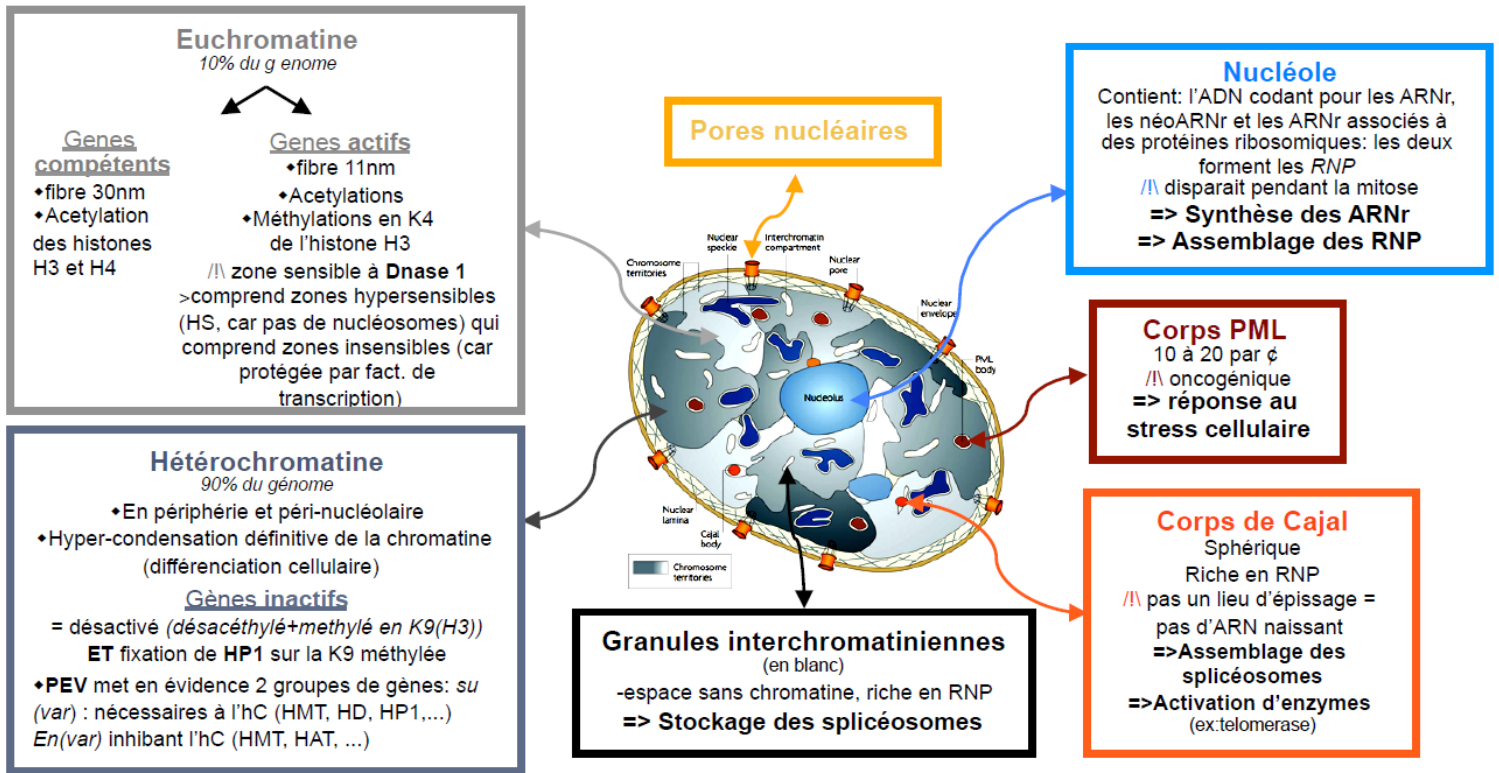
- On a une variation de la condensation en fonction du stade de différenciation de la cellule :



- 1) Une cellule qui sera plus proche de son état souche, va garder une certaine souplesse de son génome. **Elle a différents potentiels, elle peut être amenée à se différencier.**
  - 2) Puis au fur et à mesure de la différenciation, les gènes qui ne seront plus utilisés et qui pourront être condensés définitivement. Par soucis de « sécurité », l'hétérochromatine va augmenter. **La quantité de chromatine hyper-condensée augmente avec la différenciation.**
- ❖ Dans des cas **pathologiques de déprogrammation** qui se transforment **en cancer**. Une cellule différenciée va **se déprogrammer**, les **zones d'hétérochromatine sont en partie détruites**, ce qui va contribuer à la **dérégulation de la cellule** qui retourne à un **état de type progéniteur/souche**

## G. POSITIONNEMENT SPATIAL DES GENES

- La **compartimentation** à l'intérieur du noyau est importante dans **l'expression des gènes**.
- Tout ça on peut le visualiser en microscopie avec des **marqueurs** spécifiques de chaque élément :
- 👉 Les **granules interchromatiniens** sont marqués par **SC35** (rouge)
  - 👉 Le **nucléole** par la **nucléoline**
  - 👉 Les **corps de Cajal** par la **Coiline** (vert)
  - 👉 Les **corps PML** par la **protéine PML**
- On peut détecter en fluorescence et on a des endroits du noyau où on a des **gènes inactifs**, **plutôt au centre du noyau**.

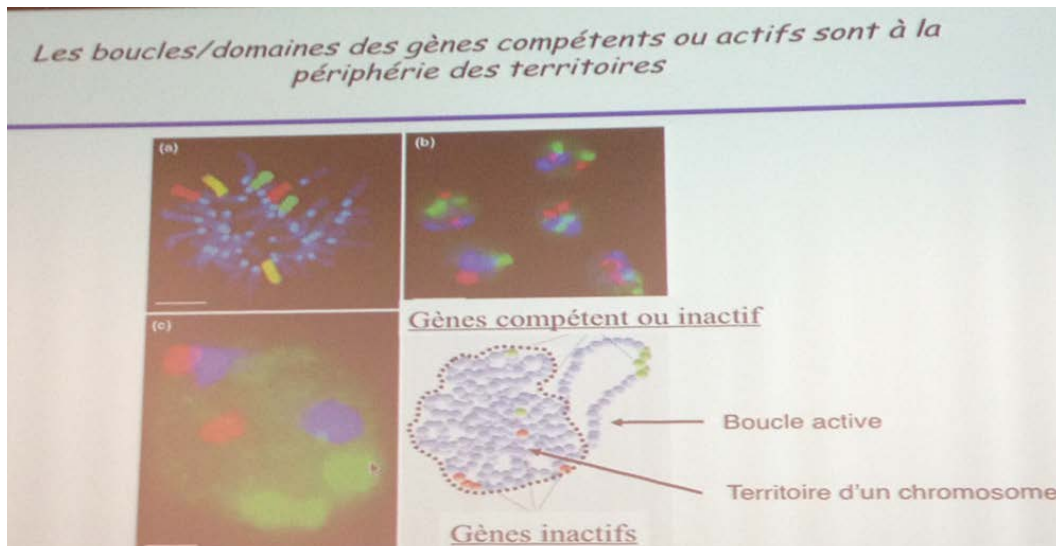


## H. TERRITOIRES DES CHROMOSOMES

Attention à ne pas confondre « où sont les gènes ? » et « où sont les K ? »

Est-ce que les chromosomes ont des territoires qui leurs sont réservés ?

- Réponse grâce à la technique d'hybridation in situ par des sondes spécifiques (FISH) des 3 homologues présentés



- En interphase, chaque chromosome occupe des positions bien distincte, c'est ce qu'on appelle le **territoire chromosomique**.
- Les **boucles actives** vont se retrouver la **surface** de ces territoires et au **centre** du territoire se sont vraiment les **gènes inactifs**.