

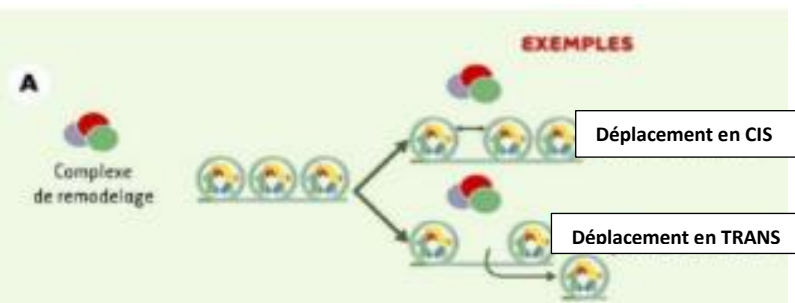
C/ Diversité des nucléosomes

La structure d'un nucléosome est commune et conservée (*rappel : un octamère d'histone + ADN de 146 pdb*). Cependant, il existe **quelques différences** qui sont très importantes dans l'expression des gènes.

1. Nous allons voir **3 façons** de modifier les nucléosomes :

1- Le complexe de remodelage

⇒ Permet de modifier la position des nucléosomes :



✓ Déplacement en CIS ☞ Le long du brin d'ADN

✓ Déplacement en TRANS ☞ Le nucléosome quitte le brin d'ADN pour aller sur une autre molécule d'ADN/ apport d'un nucléosome depuis l'extérieur

2- Les variants d'histones

Rappel : un octamère classique est constitué des protéines H2A, H2B, H3 et H4

⇒ Il existe des variants d'histones pour H2A, H2B, H3

☼ **H4** est codée par un seul gène : elle ne possède donc **pas de variants** !

⇒ Chaque variant a **une fonction particulière** par rapport à **certains domaines de chromatine**. Ces variants ont toujours la possibilité de se modifier *post traductionnellement*.

Exemple :

Variants de H2A	Variants de H3
<p>⇒ H2AX :</p> <p>H2AX ressemble à H2A en termes de séquence protéique mais les gènes sont différents. H2AX est impliqué dans la <u>reconnaissance et la réparation des morceaux d'ADN</u>.</p>	<p>⇒ CenpA :</p> <p>CenpA ressemble à l'histone H3 avec quelques petites différences. C'est une <u>protéine des centromères</u>. Donc les nucléosomes des centromères ont l'histone CenpA à la place de l'histone H3. Elle permet de former les kinétochores.</p>

3- Les modifications post traductionnelles des histones

⇒ Des modifications spécifiques peuvent avoir lieu après la traduction grâce à des enzymes **spécialisées** :

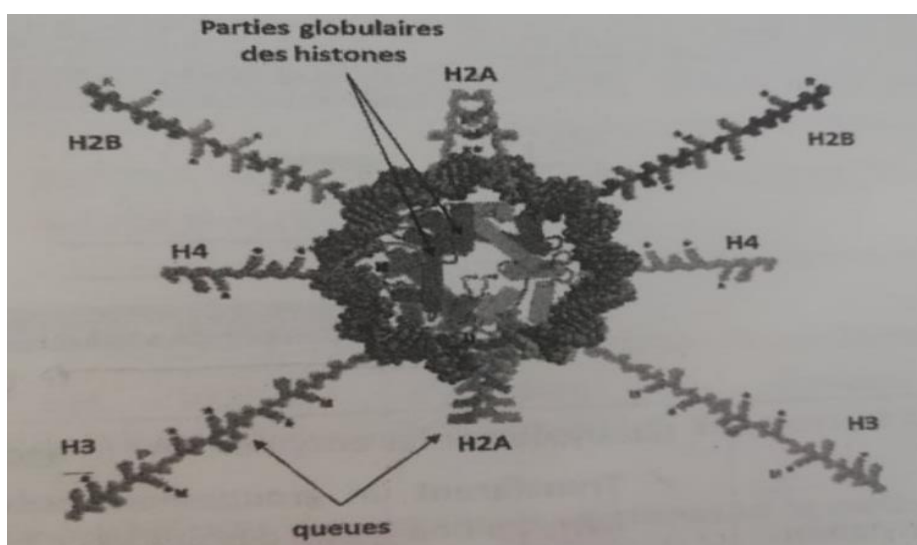
- Acétylation (en général les lysines)
- Phosphorylation (en général les sérines)
- Méthylation (en général les lysines/ arginines)
- Ubiquitinylation
- ADP-ribosylation

Ces modifications ont un sens fonctionnel particulier pour la cellule +++

2. Comment sont disposées les histones dans le nucléosome ?

Les histones sont constituées d'une partie **globulaire** (qui est **au centre**) et de **queues N-terminales** (projetées **vers la périphérie du nucléosome**). L'octamère d'histone va se disposer de façon à permettre sa modification post traductionnelle :

Partie globulaire centrale	Queues N-terminales périphériques
Elle possède de nombreux acides aminés basiques qui sont chargés positivement (surtout lysine et arginine). L'ADN étant chargé négativement , il va y avoir une forte interaction entre la partie globulaire et l'ADN. L'ADN va donc s'y entourer.	Les queues paraissent flexibles et sont dirigées vers l'extérieur . Elles sont chargées positivement (riches en AA basiques). Elles sont la cible de nombreuses modifications post traductionnelles et sont sensibles aux protéases.



♥ Exemple de l'acétylation (sur les Lysines)

ACETYLATION

- ⇒ Les enzymes qui catalysent cette réaction s'appellent les **HAT** (= Histone Acétyl Transférase)
- ⇒ Le co-facteur qui lui est associé est l'**Acétyl-CoA**

DEACETYLATION

- ⇒ La **réaction inverse** est possible : on parle de déacétylation catalysée par les **HDAC** (= Histone DeAcétylases).
- ⇒ Il existe **4 types d'enzymes** permettant la suppression du groupement acétyl : **HDAC I, II, IV, et les sirtuines**
- ⇒ Les sirtuines utilisent le **NAD** comme coenzyme. Elles relient la structure de la chromatine avec l'état métabolique de la cellule.

🌟 Les HAT et les HDAC sont en interaction avec les facteurs de transcription :

- ⇒ Les co-activateurs présentent une activité **HAT**
- ⇒ Les co-répresseurs présentent une activité **HDAC**

⇒ Les facteurs de transcriptions :

Ils ne sont pas là uniquement pour stabiliser le complexe d'initiation. Ils interviennent aussi pour **modifier l'environnement de la chromatine et le rendre accessible aux HAT/HDAC**.

Les facteurs de transcriptions ont donc plusieurs rôles :

- Le remodelage de la chromatine
- La diversité des nucléosomes
- La stabilisation du complexe d'initiation

♥ Exemple de la méthylation (sur les Lysines ou les Arginines) :

METHYLATION

- ⇒ Catalysée par les enzymes **HMT** (=Histone Méthyl Transférases)
- ⇒ La **méthylation des lysines des histones** et la **méthylation de l'ADN** sont deux choses bien distinctes ++
- ⇒ On peut passer d'aucune modification à 3 méthylations. Chacune des 3 méthylations nécessite alors sa propre HMTase spécifique ☞ **1 HMTase pour chaque méthylation**

DEMETHYLATION

- ⇒ Catalysée par les enzymes **HDM** (=Histone DéMéthylases)

3. Le code Histone

La diversité des **modifications post traductionnelles des histones** constitue un code : **le code histone**.

- Celui-ci se rajoute au code génétique (= ADN)
- Il est facilement modifiable

Les **modifications post-traductionnelles + l'utilisation de différents variants d'histones** constituent un code qui se superpose au code génétique = **le code épigénétique** (vous allez avoir 2h de cours sur l'épigénétique pour bien comprendre ce que c'est, ne vous inquiétez pas les ptits bbs)

⇒ Tous ces codes donnent des informations supplémentaires à la cellule sur son programme d'expression et **de transcription de gènes++**.

🌟* **Le code génétique est le même pour toutes les cellules mais le code histone est variable en fonction du type cellulaire.** 🌟*

4. La technique Chip

La technique d'immunoprécipitation de chromatine (=Chip) nous permet d'étudier les modifications de la queue N-term des histones ♥

Etape 1 : Pontage ou « cross-linking » avec du formaldéhyde	On cherche à « attacher » les histones à l'ADN. Pour cela, on va créer des pontages (=liaisons covalentes) entre les histones et l'ADN. ⇒ Correspond à une fixation des cellules (=les cellules sont tuées et maintenues dans l'état où elles sont au moment du traitement)
Etape 2 : Fragmentation par ultrasons (=sonification) et purification de la chromatine	La sonification permet la fragmentation de l'intégralité de la chromatine par des ultrasons . En gros, on va « casser » l'ADN pour obtenir pleins de fragments d'ADN et d'histones (qui comportent les modifications à étudier) <i>On peut également utiliser :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Des enzymes de restrictions - Ou une nucléase micrococcale
Etape 3 : Immunoprécipitation : ajout d'Ac	D'abord, on va utiliser des anticorps spécifiques du type de modification que l'on recherche . Les Ac vont alors se fixer sur les nucléosomes qui portent cette modification.
Etape 4 : Suite de l'immunoprécipitation : purification des complexes immuns	Après avoir ajouté nos Ac, on réalise une purification des complexes immuns (=Ac+chromatine) avec les modifications recherchées). On se débarrasse de tout ce qui ne possède pas la modification recherchée.
Etape 5 : Réversion du pontage	On va détruire les liaisons covalentes qui l'on avait précédemment créé. Ensuite, on va purifier l'ADN en <u>se débarrassant des histones</u> . A partir de là, on va pouvoir étudier les séquences de l'ADN

Etape 6 : Etude des séquences d'ADN

Estimation par **PCR** ou **hybridation (FISH)** de l'enrichissement relatif d'une séquence donnée par rapport à l'input (=ADN de départ).

⇒ **Enrichissement F :**

On compare la quantité relative de la modification

recherchée présente dans l'**ADN de départ** (=input/**R_c**) avec celle présente dans l'**immunoprécipitat** (=R_{ip}).

$$F = \frac{RIP}{RC} = \frac{Q \text{ frag PCR} / Q \text{ ADN react}}{Q \text{ frag PCR} / Q \text{ ADN react}}$$

∞ **R_C** = quantité relative de fragment PCR (avec modif) issus de l'input/ sur la quantité d'ADN de la réaction (l'input ou ADN de départ)

∞ **R_{IP}** = quantité relative de fragment PCR (avec la modif) issus de l'immunoprécipitat/sur quantité d'ADN de la réaction (immunoprécipitat)

► Si **R_{ip} >> R_c** = enrichissement de l'ADN correspondant à une association de l'ADN à ces histones comportant la modification post-traductionnelle voulu. (si **R_{ip} = R_c**, pas d'enrichissement)

Exemple d'application : **Chip et acétylation de l'histone H3**

Nous voulons donc savoir s'il existe une **augmentation** (ou non) de l'**acétylation de l'histone H3** en fonction de l'expression d'un gène.

⇒ Après **réalisation de l'expérience**, nous constatons que lorsque la modification est présente en grande quantité, le gène est **actif**. (...essayez de deviner la suite du coup 😊)

Déduction :

L'**acétylation de H3** est en général associée à une **activation de l'ADN** et à une **transcription active** du gène.

5. Traduction fonctionnelle du code des histones

Chromatine **HYPERacétylée**

Transcription active

★ **Rappel :** Les lysines (K) sont chargées positivement et interagissent avec l'ADN chargé négativement (=configuration **fermée**).

★ Lors des acétylations, on **neutralise la charge positive** de la queue, cette dernière ne peut plus interagir avec l'ADN = il n'y a **plus de compaction** = configuration **ouverte** (euchromatine)

	★ De plus, les charges négatives résultantes repoussent les nucléosomes entre eux , permettant de rendre accessible l'ADN linker ++
Chromatine HYPO acétylée	Transcription inactive
Chromatine méthylée	⇒ en K4 (Lysine 4/Histone H3) = Transcription active ⇒ en K9 (Lysine 9/Histone H3) = Transcription inactive

A retenir ++++

★ Dans les zones **d'euchromatine** on retrouve donc :

- ♥ Des gènes **actifs** ➡ **Acétylation + H3K4 méthylé**
- ♥ Des gènes **compétents** ➡ **Acétylation**

★ Dans les zones **d'hétérochromatine** on retrouve :

- ♥ Des gènes **inactifs** ➡ **H3K9 méthylé**

♥ En ce qui concerne le code histone on a trois catégories de protéines qui permettent l'organisation de l'expression des gènes :

- Les « writers » celles qui **écrivent le code**, responsables des modifications. (ex : HAT, HDM...)
- Les « readers » celles qui **traduisent le code**. (Ex ci-dessous)
- Les « erasers » qui **effacent le code**.

♥ **Les modifications des histones vont donc être lues par des protéines particulières** : des **protéines non histones**, **activateurs ou répresseurs** de la transcription, reconnaissent spécifiquement les modifications post-traductionnelles des histones.

Modification post traductionnelle	Reconnue par	Actions
Lysines acétylées	Des protéines à bromodomaines	Recrutement <u>de facteurs de transcription</u> pour les zones hyperacétylées
H3K9 et H3K27 méthylées	Des protéines à chromodomaines : ⇒ HP1 pour K9 ⇒ Polycomb pour K27	HP1 (qui reconnaît les histones méthylées en K9) forme l'hétérochromatine . ⇒ Lorsque l'on <u>méthyle en K9 ou K27</u> , on forme de l' hétérochromatine
H3S10 (sérine 10) phosphorylées	Des protéines à domaine « 14-3-3 »	Facilite l'acétylation et l'activation de l'expression des gènes en réponse au <u>stress</u>

H4K20 <u>diméthylée</u> (H4K20me2)	Des protéines à domaine Tudor (si seulement ... ☹)	Rôle dans la réparation de l'ADN
------------------------------------	---	---

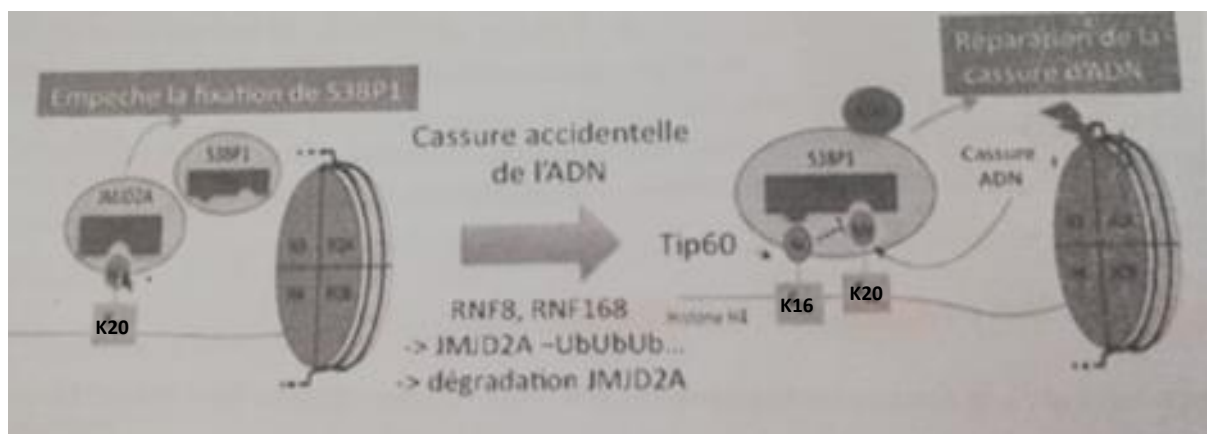
⇒ Mode d'action des protéines à domaine Tudor :

Il y a **2 protéines** qui se fixent sur **H4K20 méthylée**, de manière **EXCLUSIVE !** (c'est-à-dire que si l'une se fixe, l'autre ne peut pas s'y fixer) :

- **JMJD2A**
- **53BP1**

La fixation mutuellement exclusive des protéines à domaine Tudor (**JMJD2A** et **53BP1**) détermine la réparation des cassures de l'ADN.

① En absence de dommage de l'ADN	<p>⇒ H4K20me2 est reconnue par la protéine JMJD2A (grâce à son domaine Tudor)</p> <p>⇒ Empêche la fixation de 53BP1</p>
② En cas de cassure accidentelle de l'ADN	<p>⇒ Activation des ubiquitine ligases (RNF8 et RNF168) :</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Poly-ubiquitination et <u>dégradation de JMJD2A</u> <p>⇒ 53BP1 peut alors interagir avec les H4K20me2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Déclenchement des mécanismes de réparation de l'ADN <p>⇒ <u>MAIS</u> la fixation de 53BP1 <u>peut-être inhibée</u> par une <u>acétylation de H4K16</u> grâce à une <u>HAT nommée Tip 60</u></p>



D/ La fibre nucléosomale

Nous allons voir un nouveau **niveau d'organisation de l'ADN** : la **fibre nucléosomale** correspond à un **assemblage de nucléosomes** les uns à côté des autres.

Il existe 2 niveaux d'organisation de la fibre nucléosomale :

La transition de la fibre de 11 nm à la fibre de 30 nm se fait par l'histone H1

→ Premier niveau : La fibre de 11 nm	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Formé par un enroulement de l'ADN autour des octamères d'histones ✓ Ressemble à un collier de perles ✓ Fibre de 11 nm de diamètre (diamètre du nucléosome) ✓ L'ADN qui <u>relie 2 nucléosomes voisins</u> est appelé ADN de liaison/linker <p>♥ Correspond à une conformation ouverte de l'ADN</p>
→ Deuxième niveau : la fibre de 30 nm	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Fibre de 30 nm de diamètre qui correspond à un peu moins de 3 nucléosomes = le solénoïde ✓ La protéine H1 permet une <u>transition conformationnelle</u> vers une structure de 30 nm. <p>☛ H1 ne fait pas partie de l'octamère d'histones du nucléosome ☛</p> <p>♥ Correspond à une conformation fermée de l'ADN</p>

Remodelage de la fibre nucléosomale

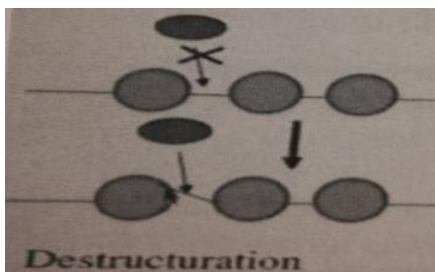
Au niveau des promoteurs, il faut souvent **remodeler la fibre des nucléosomes** pour permettre la fixation des protéines régulatrices.

Ce sont les **facteurs de remodelage (FR)**, des grosses machines très consommatrices d'énergie, qui rendent l'ADN **accessible**.

Ils vont être capable de créer localement des zones **sans nucléosome** (en les déplaçant grâce à de l'**ATP**) pour permettre aux facteurs de transcription de se placer.

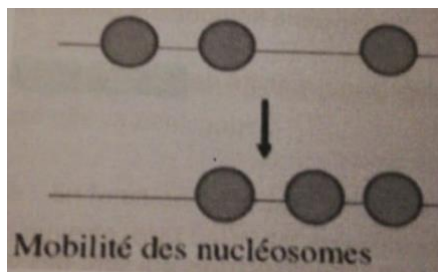
♥ Il existe 3 grands types de remodelage ATP dépendant :

Déstructuration



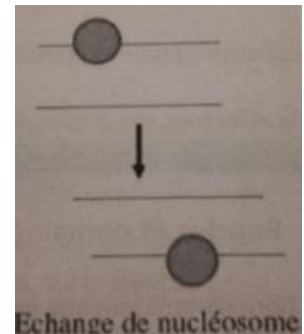
On modifie **la structure** du nucléosome en distordant la fibre, **sans changer sa position**, pour **exposer** un site de fixation à un FT

Mobilité des nucléosomes en cis



Les FR poussent les nucléosomes laissant une zone d'ADN nu, ça augmente la mobilité des nucléosomes : **déplacement en cis**.

Echanger 2 nucléosomes en trans



On **échange** 2 nucléosomes d'une région d'ADN à une autre : **déplacement en trans**.

♥ Il existe 3 grandes familles d'ATPases de remodelage :

Nom de famille	Poids moléculaire	Nombres de peptides	Sous-unité ATPase (tous)	Activité	Précision
SWI/SNF	2 MDa	11	SWI2/SNF2	Augmente l'accessibilité des nucléosomes, agit uniquement sur le nucléosome central	A l'échelle, ce complexe serait aussi gros que ces 7 nucléosomes , une sorte de soucoupe qui atterrit sur 7 nucléosomes
ISWI/NURF	500 KDa	4	ISWI1	Augmente la mobilité des nucléosomes (déplacement, échange)	On a parfois la formation de sous-complexes
Mi2/NURD				Remodelage, désacétylase	Répression de la transcription

E/ Boucles et domaines

On passe encore à un autre niveau : la fibre chromatinienne va s'organiser en **boucles et domaines**.

Nous allons voir comment étudier les structures d'ordres supérieurs

1. DNase et sites hypersensibles

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 l'endonucléase pancréatique : la **DNaseI**.

A propos de la DNase 1 :

Elle coupe très régulièrement l'ADN **entourant le nucléosome** (toutes les 10 pdb) car le **petit sillon** de l'ADN est **exposé à la surface du nucléosome** à chaque tour d'hélice (chaque tour d'hélice est espacé de 10 pdb)

L'activité de la DNase 1 sera fortement augmentée lorsque l'ADN n'est pas associé au nucléosome (**ADN linker**)

Plus la chromatine est compactée, **moins bien la DNase1 pourra couper**

⇒ On va donc utiliser cette nucléase pour sonder le niveau de compaction de la chromatine

⇒ La chromatine des gènes transcrits (actifs) est plus sensible à la DNase 1 que celle des gènes non transcrits

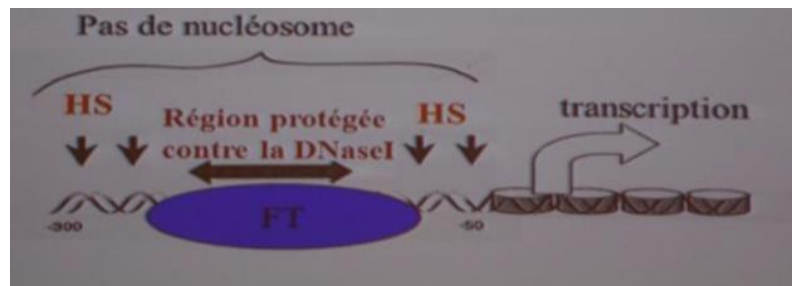
Petit tableau récap de la différence entre la nucléase micrococcale et la DNase 1 :

	Nucléase micrococcale	DNase1
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

♥ On a trouvé dans des domaines sensibles à la DNase 1, des zones encore plus sensibles à la DNase1 : **ce sont les zones hypersensibles (HS)**

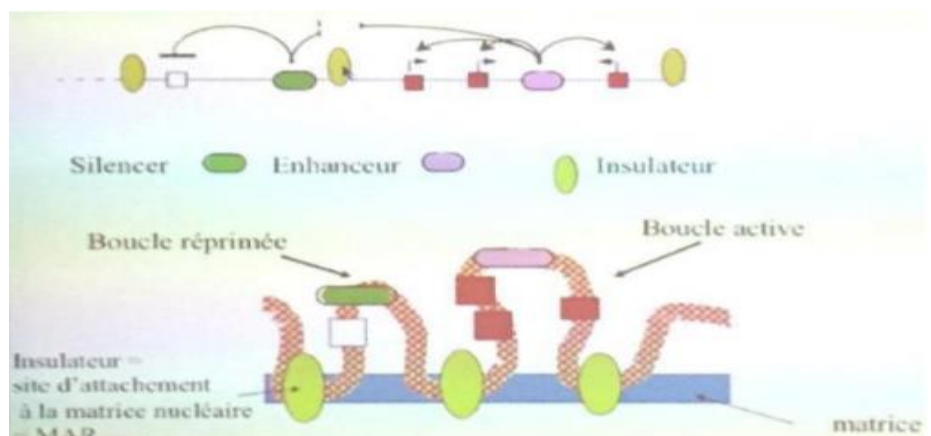
Ces zones hypersensibles sont souvent situées en 5' des gènes :

- Ils correspondent alors à des éléments promoteurs
- Ce sont des zones dépourvues de nucléosomes
- Au sein de ces sites, certaines zones sont **protégées** contre la DNase 1 par la fixation d'un facteur de transcription



2. Les domaines co régulés

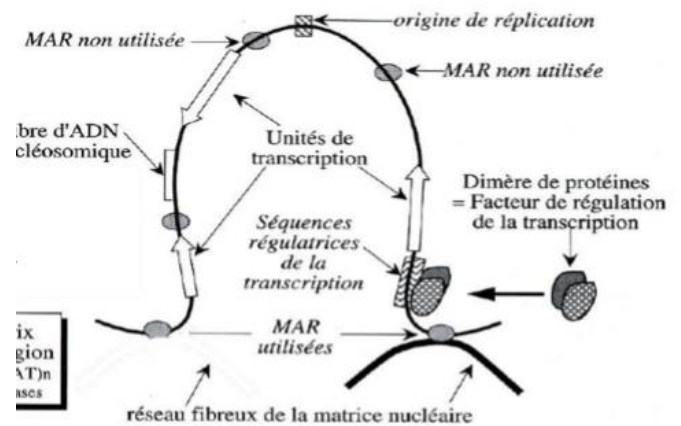
- Chez les gènes **procaryotes** on retrouve la notion d'opéron.
- Chez les gènes **eucaryotes** il n'y a pas d'opéron, chaque transcrit correspond à un gène et il peut y avoir des variantes, c'est pour ça qu'ici chaque gène est présenté comme une unité de transcription.
- Les domaines de co-régulation correspondraient un peu actuellement aux opérons des procaryotes.
- Dans un même domaine, **les gènes peuvent être co-régulés : 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** (forme ovale verte sur le schéma) 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 **enhancer et silencer**. (Une boucle activée = gènes actifs = influence d'un enhancer et inversement)



L'organisation fonctionnelle d'expression des gènes a donc pour support une organisation structurale particulière

3. Domaine nucléaire

Qu'est-ce que la matrice nucléaire ?

➤ C'est en quelque sorte le **cytosquelette du noyau**.

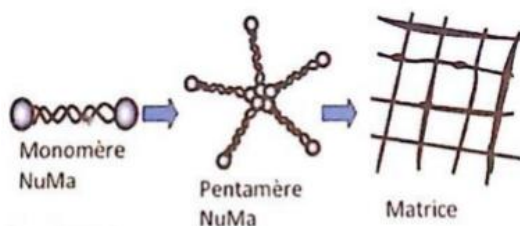
♥ La définition de la matrice nucléaire est aujourd'hui encore vague : C'est ce qui reste du matériel nucléaire, **composant insoluble du noyau**, après avoir :

- Subi une extraction des nucléosomes et les autres protéines de structure grâce à des détergents
- subi une digestion à la **DNase1**
- ou été exposé à des **concentrations salines** très importantes

➤ Elle est composée de :

- **Lamina nucléaire**
- **Réseau fibreux du nucléosquelette** : actine, lamine A/C,
- La protéine **NuMa** très importante
- Complexes nucléoprotéiques

La protéine NuMa



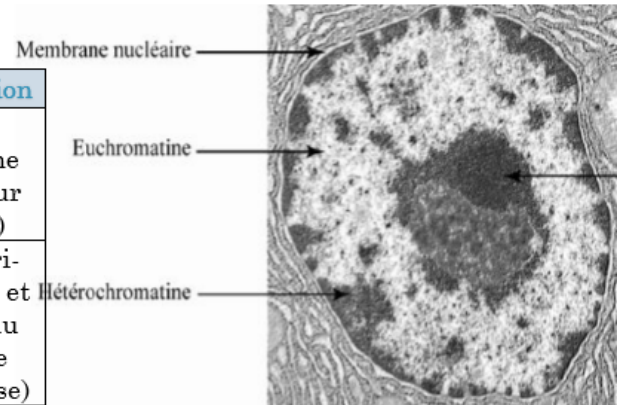
- 1) Protéine allongée sous forme de **monomère** avec une **structure fibreuse centrale** et **globulaire aux extrémités**.
- 2) Elles vont spontanément s'organiser en **pentamères** qui vont s'associer entre eux pour former une matrice
- 3) La matrice (quadrillage) interagit avec l'ADN, et est responsable en partie de l'attachement de l'ADN sur cette matrice.

➤ Elle intervient dans la formation de la matrice nucléaire. C'est une protéine du type **filament intermédiaire**. Elle est également importante pour la différenciation **des cellules**.

F/ Chromatine hyper condensée

➤ 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)



Au niveau de la localisation :

♥ On retrouve de **l'hétérochromatine** sur la face interne de la membrane nucléaire et autour du nucléole

⚡ Attention ⚡ Au niveau des **pores nucléaires** on retrouve plutôt **de l'euchromatine**

♥ On retrouve de **l'euchromatine** au niveau des **pores nucléaires** mais les gènes actifs sont majoritairement retrouvés au centre du noyau.

⚡ C'est au niveau des **zones d'hétérochromatine** que l'on peut retrouver un effet de position

1. Effet de position (PEV = Position Effect Variegation)

Def : 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).

⇒ Même si un gène a tous les éléments réunis pour s'exprimer (proximaux, distaux, code histone...) il ne va pas forcément s'exprimer : il faut qu'il soit dans un **emplacement permissif**.

⇒ L'effet de position a été étudié chez la drosophile (cf expérience ronéo) : on parle de **variégation**

(Pour comprendre le tableau, allez checker l'expérience sur la couleur des yeux des drosophiles)

	Favorise l'hétérochromatine	Favorise l'ouverture de la chromatine	Exemple 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. Mécanismes moléculaires

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

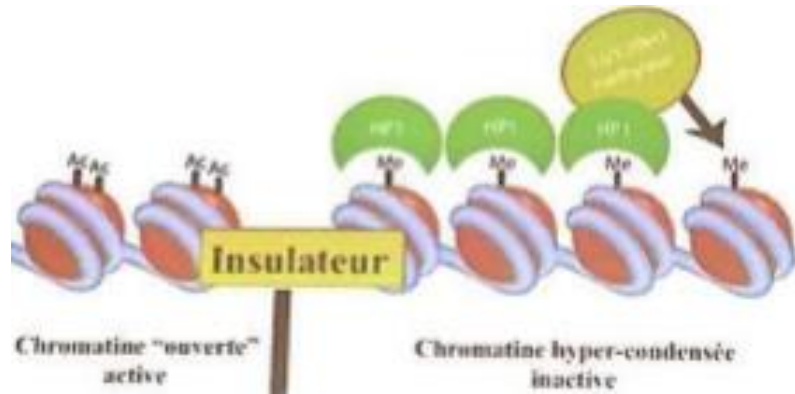
⇒ C'est grâce à l'action centrale de la **protéine HP1**, une **protéine motrice de la propagation de l'hétérochromatine**.

Ex de **modifications sur l'histone H3** :

- Histone Désacétylase** (HDAC) protéine de l'hétérochromatine va désacétyler lysines 9 et 14 des queues H3.
- Su(Var)3-9** protéine de l'hétérochromatine va méthyler la lysine 9.
- 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**.



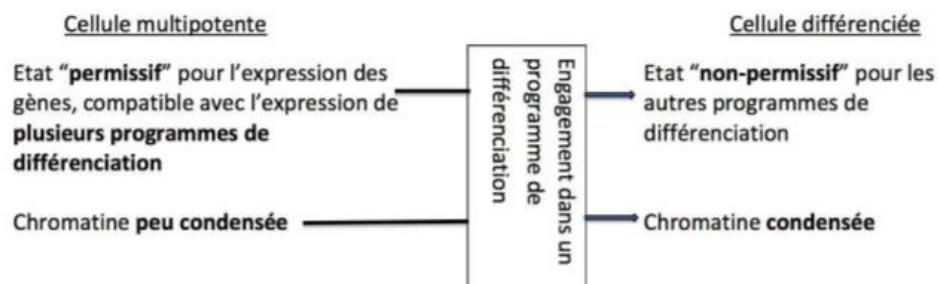
3. Chromatine et différenciation

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

- 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.
- 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**. ♥

❖ Il existe 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**



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

G/ Positionnement spatial des gènes

➤ La **compartimentation** à l'intérieur du noyau est importante dans l'expression des gènes.

Rappel : hétérochromatine (☞ contient les gènes **inactifs** / **périphérie** cellulaire sauf au niveau des pores) VS euchromatine (☞ contient les gènes **actifs** (à la surface de l'euchromatine) + **compétents** (à l'intérieur))

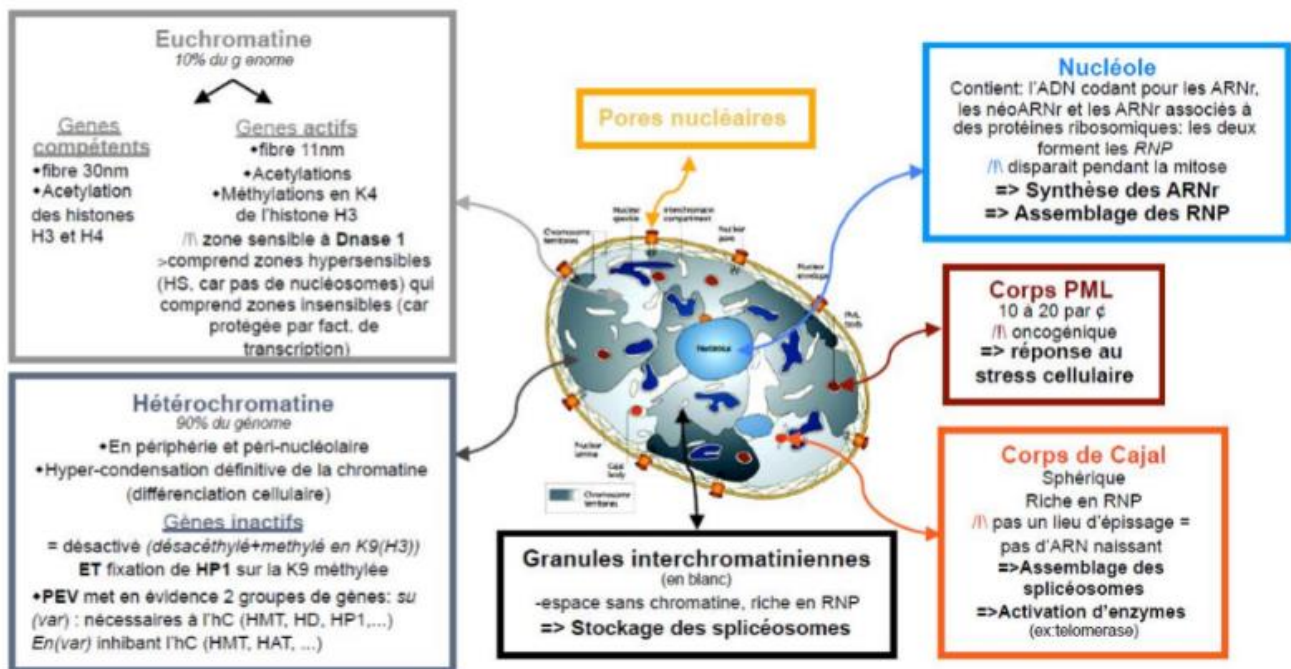
Le nucléole

- Structure dense et dynamique (visible en MO ou ME)
- **N'a pas** de membrane
- C'est une **usine à transcription** : lieu de synthèse des ARNr
- Il correspond à la plus forte concentration en ARN de la cellule
- Le nucléole contient uniquement les **ADN (ribosomiaux)** qui vont coder pour des ARN ribosomiaux

➤ 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 **Coïline** (vert)
- Les **corps PML** par la **protéine PML**

➤ On peut alors détecter la fluorescence : on a des endroits du noyau avec des gènes inactifs (plutôt au centre du noyau).



Importance de la localisation spatiale pour la répression

Phénomène de la trans-inactivation : (courage les chouchous, il faut bien se concentrer pour comprendre cette partie)

Expérience de trans activation chez la drosophile

Explication : Chez la drosophile, il existe **2 allèles du gène brown** (couleur de la petite mouche)

⇒ **Allèle normal** (sauvage) : **bw+**

⇒ **Allèle bwD** qui contient une **insertion de 10Mb d'hétérochromatine** à l'intérieur du gène

★ Dans les **cellules hétérozygote bw+/bwD** on note un **appariement somatique des allèles près d'une région centromérique**.

★ L'appariement somatique amène donc le gène **bw+** dans le **foyer d'hétérochromatine riche en HP1** : l'allèle **bw+** se retrouve dans un **environnement défavorable** à son expression ⇒ **il s'inactive**

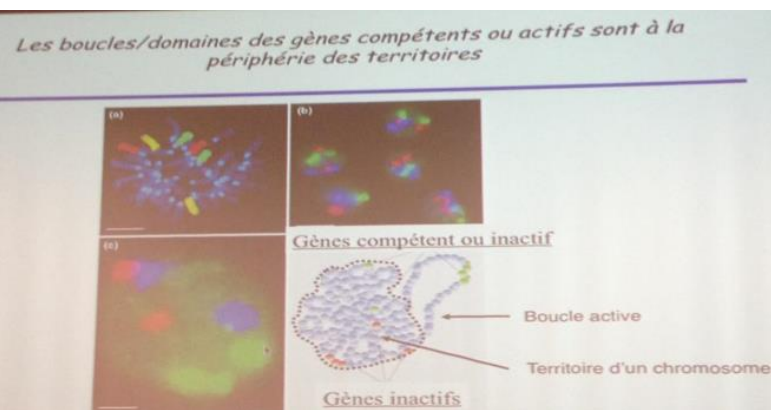
Si tu n'as pas compris j'te fais l'explication by titouf: En gros, les gènes *bw+* et *bwD* sont dans la région du **centromère** du chromosome (chacun sur un allèle différent). Comme ils sont dans le centromère, ils vont être grave proche l'un de l'autre. Et l'**hétérochromatine de bwD** va « **déteindre** » sur son pote *bw+* (qui est l'allèle sauvage codant pour la couleur brown). Du coup l'hétérochromatine de *bwD* va inactiver le gène *bw+*. On obtient donc une **répression en trans de bw+** (qui ne s'exprime plus) par de l'hétérochromatine.

⇒ Le positionnement spatial des gènes est une information régulatrice

H/ Territoire chromosomique

★ 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



Territoire chromosomique :

- En **interphase**, chaque chromosome occupe des **positions bien distinctes**, c'est ce qu'on appelle le territoire chromosomique.
- Les gènes inactifs : se situent au centre des territoires chromosomiques, principalement sous forme d'hétérochromatine
- Les boucles actives (contenant les gènes compétents ou actifs) vont se retrouver la surface de ces territoires et rejoignent les zones d'euchromatine.