

ORGANISATION DU NOYAU

La structure de la chromatine :

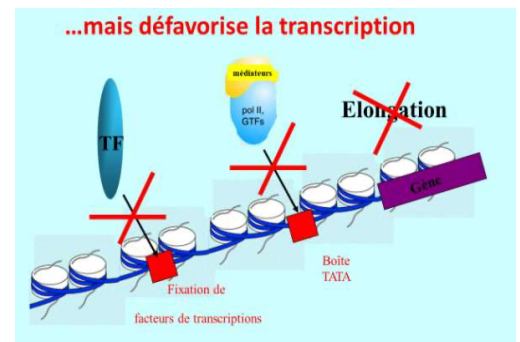
→ se décline sous différents niveaux d'organisation, certains simples (comme le nucléosome) et d'autres plus complexes (boucles, domaines, territoires...)

→ est dynamique car elle peut changer en fonction de son environnement ou de son état cellulaire (pas la même structure tout au long du cycle cellulaire)

Le niveau de **compaction** impacte les phénomènes cellulaires :

Plus la compaction est **importante** :

→ Plus ça **favorise** la **ségrégation** des gènes, c'est au cours de la division cellulaire (mitose) que le niveau maximum de compaction est atteint ++
→ Plus ça **défavorise** la **transcription** car l'ADN est masqué par une structure condensée de chromatine donc les éléments de régulation de l'expression des gènes (ARN polymérases, médiateurs, FT...) ne pourront **pas** accéder à leur **site d'action**.



I. LE NUCLÉOSOME

Premier niveau d'organisation de la chromatine : **Nucléosome**

Organisation spécifique le long de la molécule d'ADN : **Fibre nucléosomale** (deuxième niveau d'organisation, voir plus bas)

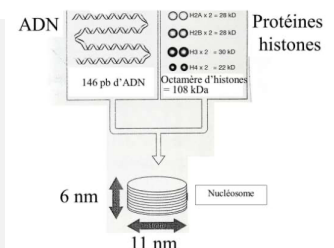
A. STRUCTURE DU NUCLÉOSOME

Fiche d'identité du nucléosome

Forme : Petit **cylindre** de 6 nm de hauteur pour 11 nm de diamètre

Composition : **4 paires** de protéines appelées histones

→ **Octamère** d'histones = **8** protéines d'histones qui sont regroupées en 4 dimères d'histones : **2*H2A + 2*H2B + 2*H3 + 2*H4** +++



GÉNÉRALITÉS DES HISTONES

Charge : Protéines **basiques**, riches en AA chargés **positivement**, qui vont s'assembler ensemble pour **enrouler** l'ADN, plus précisément, un octamère enroulé par **146/147 paires** de base d'ADN, soit **2 tours** d'ADN

NB : L'ADN est chargé **négativement**, il est donc fortement attiré vers l'histone (+), c'est pourquoi il s'enroule autour de lui

Poids moléculaire d'un octamère d'histones : 108 kDa

Nombre d'histones dans un noyau : 60 millions

La structure des protéines d'histones est très conservée au cours de l'évolution : on ne les retrouve pas dans les eubactéries mais on les retrouve chez les archaées (ancêtres). Malgré cette conservation, il existe quelques **différences** très importantes dans **l'expression** des gènes.

DISPOSITION DES HISTONES DANS LE NUCLÉOSOME

☀ La disposition se fait en fonction des modifications post-traductionnelles (voir plus bas ^^).

Partie globulaire centrale	Queues N-terminales périphériques
1) Au centre 2) Composés d'AA basiques chargés positivement (principalement de l'histone ou de l'arginine)	1) En périphérie , passage entre les 2 tours de l'ADN pour aller vers l'extérieur 2) Chargées positivement (riches en AA basiques) 3) Non structurées, partie exposée aux modifications (voir plus bas !!)

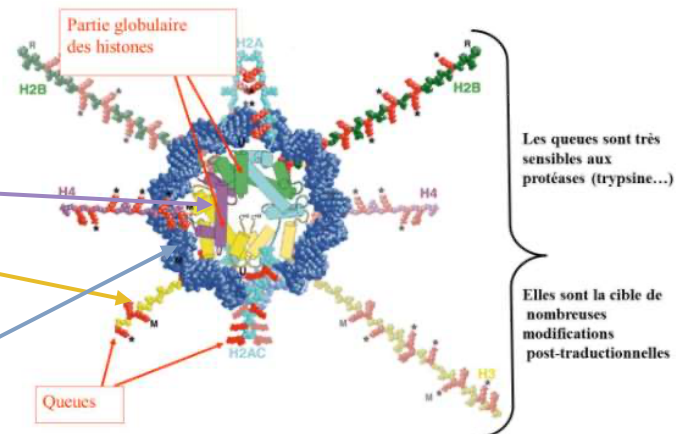
DESCRIPTION SCHÉMA

→ 4 paires d'histones

→ Partie **globulaire** : **cylindre** au centre

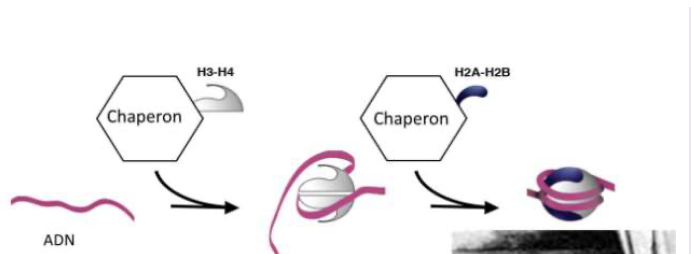
→ Queues des histones représentées par de longues **extrémités** toutes droites car elles ne sont pas structurées

→ **ADN** en bleu qui forme une boucle au centre



ASSEMBLAGE DES HISTONES

→ L'association de l'octamère d'histones avec l'ADN se fait spontanément.



PROTÉINES CHAPERONES

Définition : PAS des **enzymes** mais des protéines

Rôle : **Facilitent** et **guident** l'appariement entre l'octamère et l'ADN

Ordre d'assemblage des histones (PAS au hasard) :

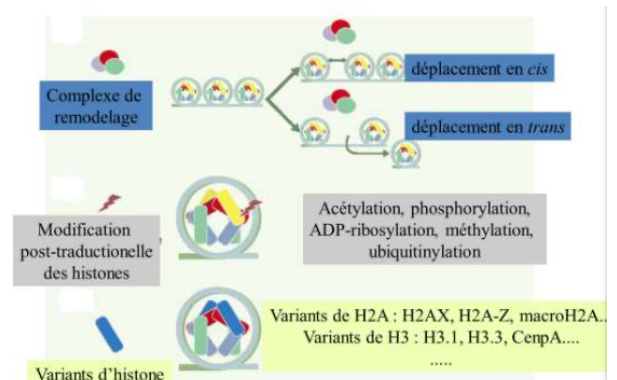
- 1) Association d'une protéine **chaperon** à **H3 et H4**
- 2) Formation d'un **hétérodimère H3/H4** sous l'aide la protéine chaperon
- 3) Formation d'un **hétérodimère H2A/H2B** sous l'aide la protéine chaperon
- 4) **Départ** des protéines chaperones

B. DIVERSITÉ DU NUCLÉOSOME

Les nucléosomes ne sont PAS tous identiques, tous uniques !
On retrouve une structure nucléosomale commune qui présente des différences.

Les nucléosomes vont être modifier en fonction des **besoins** de la cellule (expression ou répression des gènes) de **3** façons différentes :

- Complexe de remodelage
- Variants d'histones
- Modifications post-traductionnelles des histones

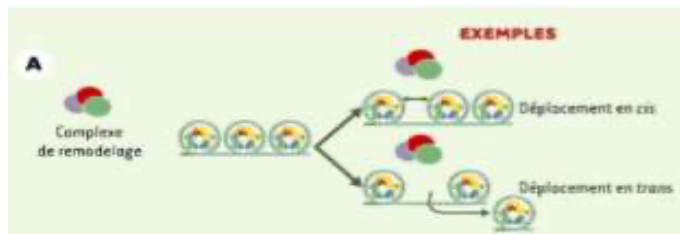


COMPLEXE DE REMODELAGE

Rôle : **Déplacer** un nucléosome en fonction de sa localisation (permet la diversité de position des nucléosomes)

Élément nécessaire : Consommation d'**ATP** (besoin d'énergie)

NB : On déplace les nucléosomes car on veut bloquer la transcription à un autre endroit et pas à l'endroit où le nucléosome est (il existe des endroits sans nucléosome).



VARIATION DES DÉPLACEMENTS

- En **CIS** (haut sur le schéma) = le **long** du même brin de l'ADN
- En **TRANS** (bas sur le schéma) = **départ** du nucléosome du brin d'ADN initial pour rejoindre une **autre** molécule d'ADN (apport d'un nucléosome depuis l'**extérieur**)

VARIANTS D'HISTONES

→ Il existe **pleins** de gènes codant pour **H2A, H2B et H3 ++**

→ Ces différents gènes vont donc coder pour différentes histones correspondant aux variants d'histones H2A, H2B et H3.

→ Chaque variant a une fonction / propriété **particulière** par rapport à certains domaines de chromatine. Ces variants ont toujours la possibilité de se modifier **post-traditionnellement**.

RAPPEL :

Octamère classique :
H2A + H2B + H3 + H4

⚠ H4 est codée par un **seul gène**, on ne retrouve **PAS** de variant +++

Variant de H2A	Variant de H3
H2AX	H3.1
H2A-Z	H3.3
MacroH2A	CenpA +++ <u>Définition</u> : Variant de H3 spécialisé dans le centromère <u>Rôle</u> : Au niveau des kinétochores lors de la mitose → Les nucléosomes des centromères ont l'histone CenpA à la place de l'histone H3

MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DES HISTONES

Après la synthèse par le ribosome, la protéine peut subir des modifications. Pour les histones, les modifications spécifiques peuvent se dérouler après la traduction dans le cytosol (avant de revenir dans le noyau) ou directement au niveau du noyau si les enzymes sont présentes. On retrouve comme modifications :

→ Acétylation ++ → Phosphorylation → Ubiquitylation
→ Méthylation ++ → ADP-ribosylation

C. CODE HISTONE

Le code **histone** est :

→ Lié à la diversité des **modifications** post-traductionnelles des histones

→ Facilement **modifiable**

→ Se rajoute au code **génétique** (ADN : ATCG)

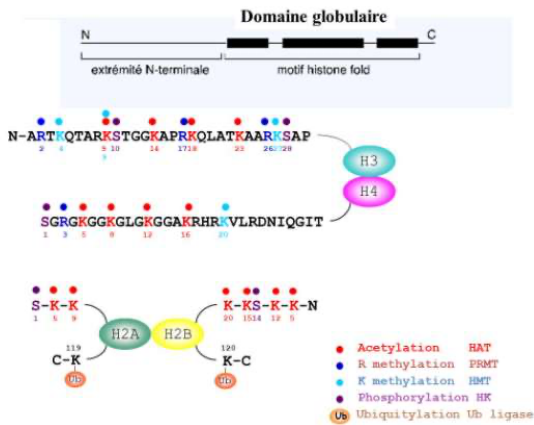
Le code **génétique** est le **même** pour toutes les cellules mais le code **histone** est **variable** en fonction du **type cellulaire +++**

Le code **épigénétique** :

→ Se superpose au code **génétique**

→ Correspond aux **modifications** post-traductionnelles + utilisation de différents **variants** d'histones

SCHEMA



On retrouve des queues N-terminales composées de différents AA. Les petits points à côté des AA correspondent aux modifications potentielles. Certains AA ne présentent pas de petits points car **toutes** les histones ne sont **pas modifiables**, et certaines modifications sont **alternatives**.

Exemple :

Lysine 9 de l'histone 3 (notation : H3K9) présente 2 petits points qui correspondent soit à une méthylation soit à une acétylation (PAS les 2 en même temps !)

Les modifications post-traductionnelles confèrent un extraordinaire combinatoire ++

LECTURE DU CODE DES HISTONES

Les modifications post-traductionnelles qui se trouvent généralement sur les queues des histones vont être lues spécifiquement par des **protéines particulières** qui vont réguler l'expression des gènes :

→ Protéines **non-histones**, **activateurs** ou **répresseurs** de la transcription (permettent différentes actions)

Modifications post-traductionnelles	Reconnue par	Actions
Lysines acétylées	Protéines à bromodomaines	Recrutement de facteurs de transcription pour les zones hyperacétylées
H3K9 et H3K27 méthylées	Protéines à chromodomaines : → HP1 reconnaît les histones méthylées en K9 → Polycomb pour K27	Lorsqu'on méthyle K9 ou K27, on forme de l'hétérochromatine (rôle de HP1)
H3S10 (sérine 10) phosphorylées	Protéines à domaine « 14-3-3 »	Facilite l'acétylation et l'activation de l'expression des gènes en réponse au stress
<i>Non-dit</i> : H4K20 diméthylée (H4K20me2)	Protéines à domaine Tudor	Rôle dans la réparation de l'ADN

NB : C'est un tableau bien relou mais il ne faut pas retenir chaque détail, le prof dit qu'il faut retenir la phrase juste avant le tableau.

Il existe une importante **relation** entre la **structure** de la chromatine et **l'expression** des gènes ++

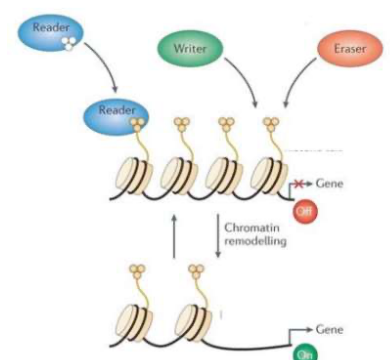
3 catégories de protéines permettent **l'organisation** de l'expression des gènes :

« **Writer** » celles qui **écrivent** le code, responsable des **modifications** car parfois elles font des erreurs (ex : enzymes de type HAT, HDM...)

« **Readers** » celles qui **lisent** le code (ex : protéines à domaine tudor, chromodomaine...)

« **Erasers** » celles qui **effacent** le code (ex : déméthylase)

Modèle général de la fonction du code histone



TRADUCTION FONCTIONNELLE DU CODE DES HISTONES ++

L'activation ou l'inactivation des gènes est liée aux modifications **post-traductionnelles**.

⚠ C'est lié au **type** de modifications et à sa **localisation** (On remarque qu'une méthylation en H3K4 n'a pas le même effet qu'une méthylation en H3K9) ++

Chromatine HYPER acétylée	→ Transcription active
Chromatine HYPO acétylée	→ Transcription inactive
Chromatine méthylée	En K4 (Lysine 4/ Histone H3) → Transcription active En K9 (Lysine 9/ Histone H3) → Transcription inactive

D. MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DES HISTONES

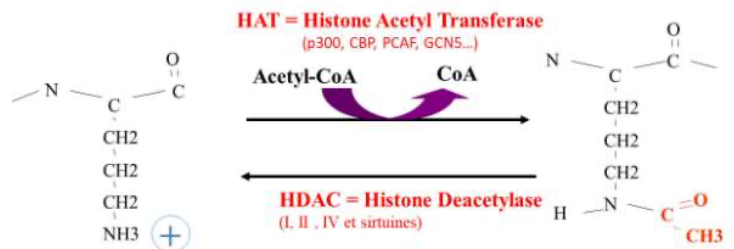
Les modifications des histones sont contrôlées par des enzymes spécialisées qui peuvent notamment être des co-activateurs ou des co-represseurs en interagissant avec les facteurs de transcriptions.

1. ACÉTYLATION SUR LES LYSINES

Enzymes catalysant la réaction : **HAT** (Histone Acétyl Transférase)

Activité des HAT : **Co-activateurs** car ils **favorisent** la transcription en modifiant la structure locale de la chromatine, permettant son **accessibilité** aux éléments de transcription

Co-facteur : **Acétyl-coA**



Les exemples ne sont pas à retenir par cœur !

EXEMPLE : On voit sur l'image du-dessus que l'acétyl-CoA est donneur de son groupement acétyl qui va être transféré sur la lysine qui possède une chaîne latérale avec un NH_3^+ (à gauche). À l'inverse, HDAC enlève ce groupement acétyl.

2. DÉACÉTYLATION

Enzymes catalysant la réaction : **HDAC** (Histone Acétyl Transférase), il existe plusieurs types de HDAC en fonction de la localisation, de la fonction, du type cellulaire

Activité des HAT : **Co-represseurs** car ils **défavorisent** la transcription en modifiant localement la structure de la chromatine qui devient **moins accessible** aux éléments de la transcription.

EXEMPLE : Les sirtuines correspondent à une catégorie particulière qui joue un rôle dans le phénomène de vieillissement. Les sirtuines utilisent le NAD comme coenzyme.

Il existe également une importante **relation** entre la **structure** de la chromatine (expression des gènes) et le **métabolisme énergétique** car l'Acétyl-CoA et le NAD sont des produits du métabolismes. Quand on modifie le métabolisme, on modifie la chromatine ++

3. MÉTHYLATION SUR LES LYSINES ET ARGININES

Enzymes catalysant la réaction : **HMT = HMTases** (Histone Méthyl Transférase), il en existe **plusieurs** types qui ont chacune des **domaines** (positions des lysines sur les histones) et des **actions** spécifiques (mono, di, tri).

Il est possible de passer d'**aucune** modification à **3** méthylations. Une lysine peut donc être :

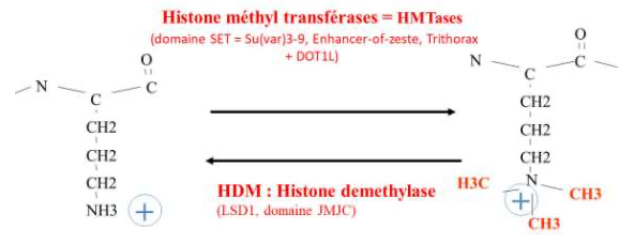
→ **Mono**-méthylée

→ **Di**-méthylée

→ **Tri**-méthylée

En fonction de son niveau de méthylation et la position de la lysine, on retrouve des **propriétés/fonctions différentes** de l'histone et l'enzyme utilisée sera différente.

4. **DÉMÉTHYLATION** : Catalysée par les enzymes **HDM** (Histone DéMéthylases)



La méthylation des lysines des histones et la méthylation de l'ADN sont 2 choses bien distinctes +++

☀ RAPPEL :

Acétylation et déacétylation : LYSINE ++

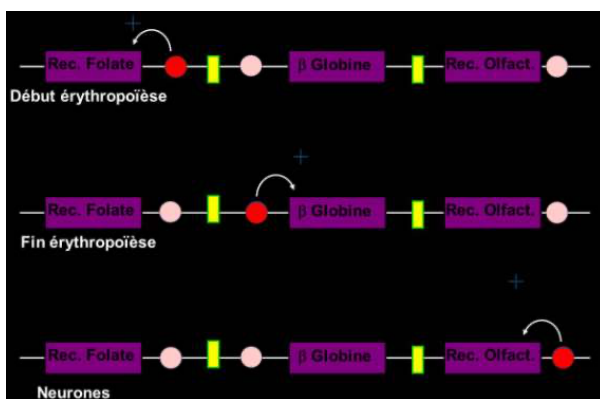
Méthylation et déméthylation : LYSINE + ARGININE ++

☀ RAPPEL :

Acétylation : chromatine active

Méthylation : chromatine active pour K4 et

E. EXEMPLE



DESCRIPTION DU SCHEMA

Des éléments de régulation à distance sont présents pour réguler l'expression des gènes en fonction de la spécificité des tissus :

→ Rectangle : **insulateurs**

→ Ronds : **enhancers**

On étudie une région d'un chromosome composé de 3 gènes :

→ Gène du récepteur **folate**

→ Gène codant pour la **béta globine**

→ Gène codant pour un **récepteur olfactif**

N.B. : Ces 3 gènes ne s'expriment pas dans les mêmes cellules !!

Il existe des techniques expérimentales pour déterminer le niveau d'acétylation des histones. Sur l'expérience, la **quantité** d'histones H3 acétylées est représentée par le trait rouge : + le trait monte en **ordonnée**, + on a un **enrichissement** en acétylation.

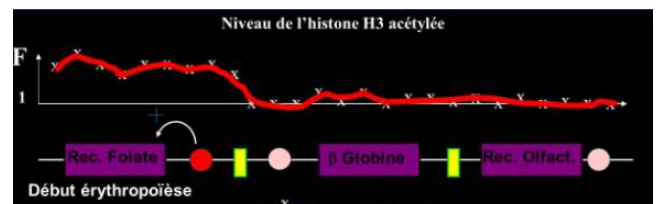
1. AU DÉBUT DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Éléments nécessaires : Récepteur **folate** qui est exprimé par l'enhancer

→ Beaucoup **d'enrichissement** au niveau de récepteur folate avec beaucoup d'histones H3 **acétylées**

Éléments NON nécessaires : Gène **béta globine** et encore moins du récepteur **olfactif** qui sont tous les 2 **réprimés** grâce à la présence de l'insulateur qui empêche l'action de l'enhancer

→ **Pas** beaucoup d'enrichissement car non exprimés



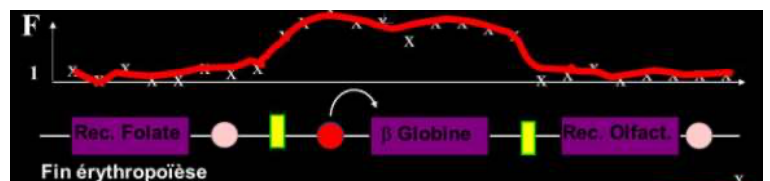
2. À LA FIN DE L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Éléments nécessaires : Gène **béta globine**

→ Gène exprimé au niveau duquel on retrouve un **enrichissement** avec beaucoup d'histone H3 **acétylées**

Éléments NON nécessaires : Récepteur **folate** ni du récepteur **olfactif** (qui n'a rien à voir avec l'érythropoïèse, c'est pourquoi il est réprimé dans ce type de tissu)

→ Tous les 2 réprimés donc **sans** enrichissement (perte de l'enrichissement qu'on avait initialement au niveau du récepteur folate)



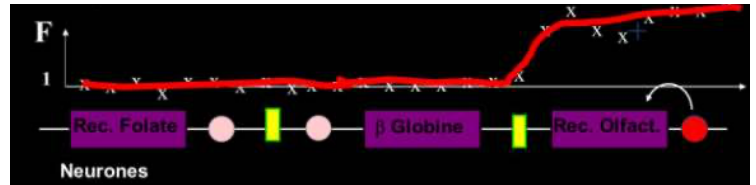
3. DANS UN NEURONE

Éléments nécessaires : Gène du récepteur **olfactif**, utile pour le **neurone**

→ **Enrichissement** au niveau de ce gène avec des histones acétylées

Éléments **NON** nécessaires : **L'érythropoïèse** ne sert strictement à **rien**, donc les gènes qui participent à ce phénomène (folate, bêta globine) sont **réprimés**

→ Aucun enrichissement au niveau de ces 2 gènes



L'**acétylation en H3** est en général associée à une transcription **active** du gène +

Il existe une relation entre les modifications **post-traductionnelles** et le niveau de **transcription** des gènes +

II. LA FIBRE NUCLÉOSOMALE

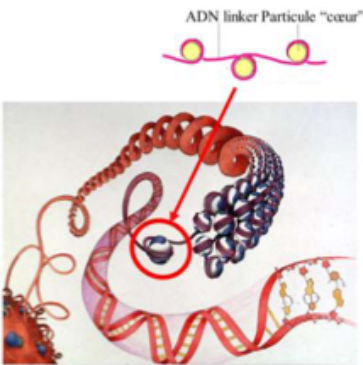
Niveau d'organisation supérieur de l'ADN : **Fibre nucléosomale**

→ C'est un **assemblage** de **nucléosomes** les uns à côté des autres.

→ Il existe 2 niveaux d'organisation de cette fibre.

A. PREMIER NIVEAU

FIBRE DE 11 NM



⊗ Association de nucléosomes (eux formés par un enroulement de l'ADN autour des octamères d'histones)

⌵ **ADN linker / de liaison** : ADN reliant 2 nucléosomes voisins

⌵ **Fibre** : cylindre de **11 nm** de diamètre (correspondant au diamètre du nucléosomes)

⊗ Ressemble à un collier de **perles**

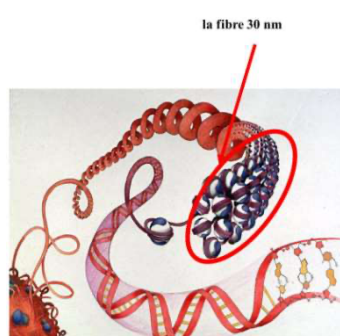
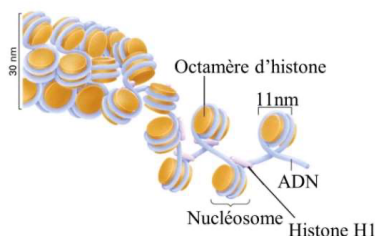
⊗ Correspond à une conformation **ouverte** de l'ADN ++

B. DEUXIÈME NIVEAU

On passe du premier au deuxième niveau grâce à **H1** qui permet une transition conformationnelle vers une structure de 30 nm. L'histone 1 se met au croisement des molécules d'ADN à l'**entrée** et à la **sortie** du nucléosome. Cette fixation va entraîner une compaction de la fibre nucléosomale en fibre de 30 nm.

L'histone H1 condense la fibre 11nm en fibre 30 nm

FIBRE DE 30 NM



⌵ **Fibre de 30 nm** de diamètre qui correspond à un peu moins de **3** nucléosomes = **solénoïde**

⌵ Structure encore plus **condensée**

⊗ Correspond à une conformation **fermée** de l'ADN ++

H1 ne fait pas partie de l'octamère d'histones du nucléosome (H2A + H2B + H3 + H4) +++

Ces différents niveaux **d'organisation** correspondent à différents **niveaux d'accessibilité** des éléments de régulation de l'expression des gènes. Moins c'est condensé, plus c'est accessible ++

C. REMODELAGE DE LA FIBRE NUCLÉOSOMALE

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

FACTEURS DE REMODELAGE (FR) (= COMPLEXE DE REMODELAGE)

→ Grosses **machines** très consommatrices d'**énergie**

→ Rendent l'ADN **accessible** aux **FT** (qui ont besoin de place pour se fixer) et pour la **transcription**

→ Ils agissent sur la **structure** et la **mobilité** des nucléosomes en utilisant l'ATP. Ils sont capables de créer localement des zones **sans** nucléosomes (en les déplaçant grâce à leur domaine ATPase qui va hydrolyser l'ATP en ADP) pour permettre aux FT de se placer.

Au niveau des régions **promotrices**, on a très souvent un ADN **dépourvu** de nucléosomes.

III. BOUCLES ET DOMAINES

3^{ème} niveau d'organisation de l'ADN : Boucles et domaines

NB : Niveau moins bien défini par rapport à la grande précision du nucléosome car c'est une structure plus complexe à étudier expérimentalement

A. NIVEAUX D'ACTIVITÉ DES GÈNES

Simplification : Un gène est soit ON soit OFF

En fonction de l'état d'ouverture de la chromatine, on va définir des régions sensibles ou non à la DNase1 (Gigi n'explique pas vraiment ce que c'est, mais une explication a été rajouté).



DNASE1

Rôle : **Couper** l'ADN qui entoure les nucléosomes (tous les **10pdb**) de manière très **régulière** 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 10pdb)

L'activité de la DNase1 est **augmentée** lorsque l'ADN n'est **pas** associé au nucléosome (ADN linker), car plus la chromatine est compactée, moins bien la DNase1 pourra couper. On peut utiliser cette nucléase pour déterminer le niveau de compaction de la chromatine.

1) Cas du gène **OFF**

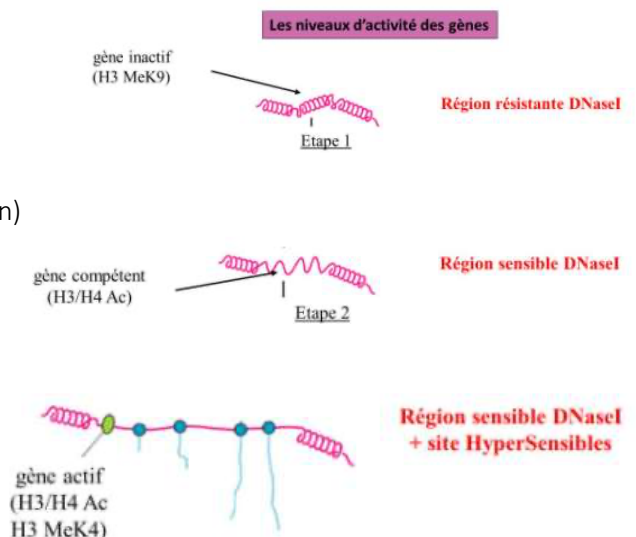
- Lié à une transcription **inactive** due à une **méthylation H3K9**
- Gène très **condensé**
- Cette région est **résistante** à la DNase1.

2) Cas du gène **compétant** (gène entre l'activation et l'inactivation)

- Chromatine ouverte mais non transcrite
- Principalement des **acétylations**
- Cette région est **sensible** à la DNase1.

3) Cas du gène **ON**

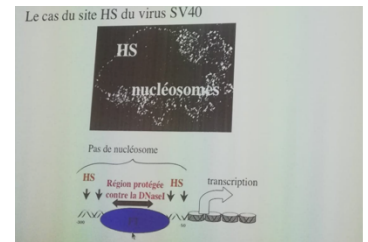
- Lié à une transcription **active**
- Présence d'une **acétylation** + une **méthylation H3K4**
- Cette région est **sensible** à la DNase1 et comporte des sites **hypersensibles** (HS) au niveau d'une gène transcrit



B. EXPLICATION DES SITES HYPERSENSIBLES À LA DNASE1

Ces zones / domaines **hypersensibles** :

- Correspondent à des éléments **promoteurs** donc à des régions de **régulation**
- Sont des zones **dépourvues** de nucléosomes (donc plus accessible)
- Sont la traduction expérimentale de l'action des facteurs de remodelage
- Sont très **sensibles** à la DNase1. Mais certaines zones sont **protégées** et donc **non** dégradées par la DNase1 grâce à la **fixation** d'un FT

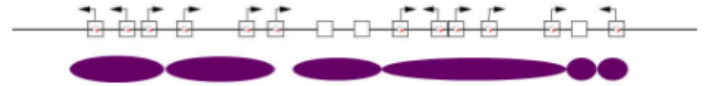


C. DOMAINES CO-RÉGULÉS

Les gènes sont **transcrits** de manière **indépendantes**, mais ils peuvent être **co-régulés** ++

On parle de domaines de co-régulation car ça se passe au sein d'un même domaine. Cette co-régulation varie en fonction des signaux endogènes ou exogènes. Par exemple, les insulateurs protègent un certain nombre de gènes de l'action des enhancers et silencers.

Dans le génome humain, la taille moyenne des domaines co-régulés est de 350 000 pdb ++



Cette co-régulation n'est pas expliquée exclusivement par les modifications post-traductionnelles des histones, mais elle est liée aussi à l'existence d'un niveau d'organisation de la chromatine.

DESCRIPTION SCHÉMA

→ En bleu : Matrice nucléaire

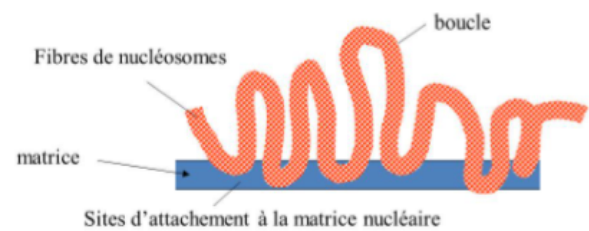
→ En orange : Fibre nucléosomale

DESCRIPTION DE LA VUE EN ME

→ Chromosome métaphasique

→ Au centre, en foncé : Matrice, partie fibreuse

→ En gris, tout autour : Boucles d'ADN



MODÈLES EN BOUCLE

C'est une **matrice** sur laquelle l'ADN (donc la fibre nucléosomale) va **s'accrocher** et former des **boucles**, en sachant qu'une boucle correspond à un **domaine**.

Les domaines de co-régulation correspondent à ces boucles : en termes de relation structure-fonction, les gènes co-régulés appartiennent à la **même** boucle.

MATRICE NUCLÉAIRE

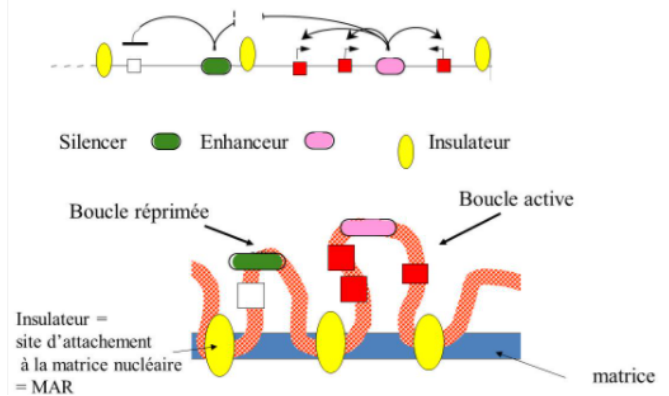
Formée de différentes protéines essentielles pour la régulation de l'expression des gènes, par exemple :

- Lamina nucléaire (filament intermédiaire)
- Protéines du nucléosquelette : actine, lamine A/C, NuMa
- Complexes nucléoprotéiques

Sur la figure, on passe d'une régulation à 1 dimension à une régulation à 2 dimensions grâce aux boucles.

Les régions **insulatrices** (ovales jaunes) sont des éléments **frontières** qui séparent physiquement les boucles. C'est au niveau des insulateurs, qu'on retrouve les **attachements** de l'ADN à la matrice.

Ces insulateurs **protègent** les gènes des éléments **silencers** ou **enhancers** présents dans les boucles d'à côté. Il peut y avoir une boucle activée par un enhancer d'un côté et de l'autre une boucle réprimée par un silencer.



Les sites **d'accrochage** de la chromatine à la matrice correspondent donc à des **insulateurs** +

Les **domaines transcriptionnels** (gènes actifs ou réprimés) correspondent aux **boucles** limitées par les insulateurs + L'organisation fonctionnelle d'expression des gènes a donc pour support une organisation **structurale particulière**

Mini récap' : Nucléosome < Fibre Nucléosomale 1^{ère} niveau < FN 2^{ème} niveau < Boucles et domaines

IV. HÉTÉROCHROMATINE

A. DESCRIPTION DE L'HÉTÉROCHROMATINE

La chromatine est présente sous différents niveaux de condensation au sein du noyau. L'état du cycle cellulaire (comme la mitose ou l'expression des gènes) est un facteur jouant sur sa condensation.

Fiche d'identité de l'hétérochromatine

Définition : Forme **extrême** de chromatine hyper-condensée

Niveau de condensation en fonction du cycle : Régions très condensées de manière permanente, tout au long du cycle, mais condensation extrême en **début de mitose** pour permettre de ségréger le matériel génétique (mais certaines portions du chromosome sont déjà hyper-condensées et ne se condensent pas plus durant la mitose)

Activité des gènes : Très **peu** ou **pas** actifs (car plus c'est condensé, moins c'est accessible pour les éléments permettant la transcription...)

📍 **Localisation de l'hétérochromatine** : Essentiellement au niveau de l'enveloppe nucléaire, tapissant sa face, en contact direct avec la lamine des filaments intermédiaires

🔬 **Microscopie** : Facilement visible en **ME** dans les noyaux interphasiques

🔬 **En coloration DAPI** : Très **dense**

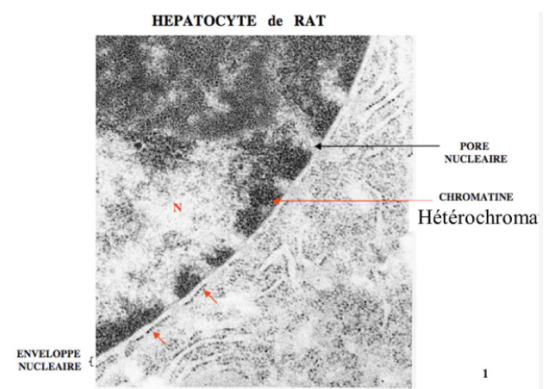
→ Ce sont des zones importantes pour l'**organisation** globale du noyau.

B. OBSERVATION AU MICROSCOPE

1) Image d'un hépatocyte de rat en ME

→ Cadran de noyau : Partie gauche un peu sombre avec des zones délimitées par une double membrane de l'enveloppe nucléaire

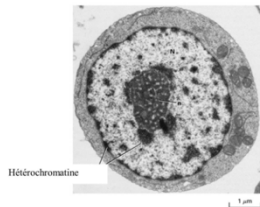
→ REG et ribosomes (certains libres, d'autres associés à la membrane externe de l'enveloppe nucléaire) : à droite avec les flèches qui montrent des ribosomes



(Toujours sur l'image du rat)

→ Hétérochromatine : zones noires (= zones extrêmement denses aux électrons) à l'intérieur du noyau avec une coloration particulière

NB : Entre les domaines d'hétérochromatine, il existe des canaux qui correspondent à une interruption de la double membrane qui correspond aux pores nucléaires. Ces zones qui permettent l'échange dans les 2 sens entre le noyau et le cytoplasme.



2) Image en ME

→ Visualisation de l'ensemble des zones d'hétérochromatine sur l'ensemble d'un noyau. L'hétérochromatine est essentiellement liée à la membrane, et des zones d'hétérochromatine sont attachées au nucléole, au centre.

C. EFFET DE POSITION

Les niveaux d'organisation de l'hétérochromatine sont importants. Il n'est pour autant pas facile d'organiser ces niveaux supérieurs de condensation mais un processus génétique a beaucoup aidé les chercheurs à comprendre les facteurs qui interviennent dans cette hétérochromatine et sa fonction : c'est l'effet de position.

Effet de position : En génétique, c'est quand l'activité d'un gène dépend de son contexte chromosomique

💡 Exercice d'imagination (osef) :

Un gène, qui possède un contrôle proximal et distal se trouve à un endroit d'un chromosome. En fonction de ses éléments de régulations et dans un type cellulaire particulier, il va s'exprimer d'une certaine façon. Maintenant, si on prend ce même gène, avec ces éléments de régulations (ça peut donc correspondre à une grande partie du chromosome) et qu'on le place sur une autre portion du chromosome, il va s'exprimer différemment (dans la grande majorité des cas).

D. ÉTUDE D'UNE EXPÉRIENCE HISTORIQUE

Au cours de la première moitié du 20^{ème} siècle, (aucune interprétation moléculaire des phénomènes génétiques n'est pour le moment faite) un outil de choix était les mouches, notamment les drosophiles (vraiment trop bo ;)). Dans les années 30, la radioactivité était connue, et c'était une méthode de choix pour les généticiens qui obtenaient des mutants grâce aux radiations.

++ Les généticiens de la drosophile ont l'habitude d'appeler les gènes comme le phénotype muté (ils aiment se compliquer la vie ouïoui) ++

GÈNE ÉTUDIÉ : Gène White

→ **Sauvage** = Normal : Code pour les yeux **rouges**

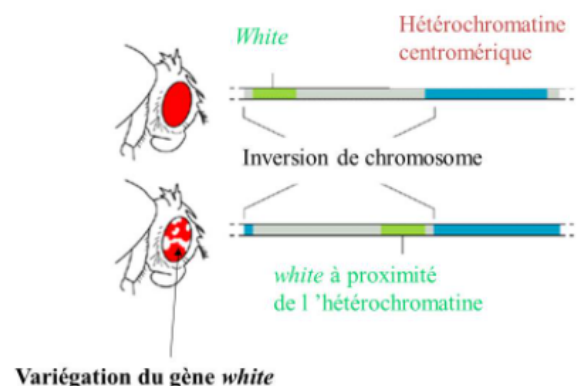
→ **Muté** : Code pour les yeux **blancs** (d'où son nom)

1) Quand tout va bien : Non muté, sauvage, normal

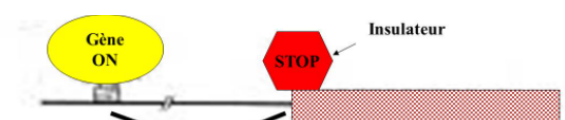
Phénotype : Yeux **rouges**

Explication : En situation normale, la drosophile présente une **protéine** qui détermine la couleur rouge.

Schéma explicatif : On retrouve le gène **White ON** puis l'**insulateur** puis l'**hétérochromatine**. L'insulateur qui se trouve entre les deux joue le rôle de **barrière** et empêche donc l'hétérochromatine de se **propager** et de **réprimer** l'expression des gènes



Variation du gène white



2) Mutation

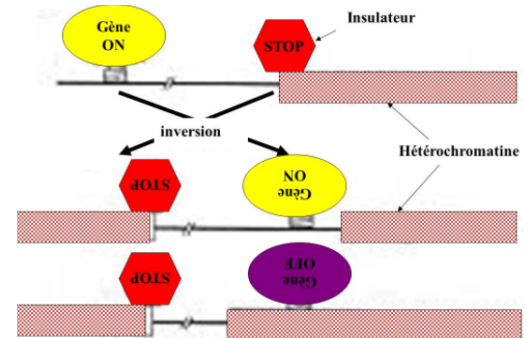
Phénotype : Yeux **blancs**

Explication : Quand le gène qui code pour la couleur rouge n'est **pas présent**, les drosophiles ont les yeux blancs.

3) Variéation du gène White +

Phénotype : Entre les 2 avec des zones **blanches** et **rouges**

Explication : Le gène White est normalement localisé à l'**extrémité** du gène X de la drosophile (puisque quand c'est normal on a l'organisation suivante : gène White - insulateur - hétérochromatine). Dans ces mutants particuliers, grâce à des techniques de cartographies génétique, on sait que le gène White est toujours **présent**, qu'il n'est **pas** muté, mais il a changé de **contexte chromosomique**.



Le gène White subit une **inversion** sur le chromosome par radiation, ce qui change l'organisation car il se retrouve à **proximité** du **centromère** qui est une grande région **d'hétérochromatine** : insulateur - gène White - hétérochromatine. L'insulateur ne s'interpose plus entre les 2 donc ne joue plus le rôle de barrière et l'hétérochromatine peut donc se propager et réprimer le gène.

→ Gène White toujours **ON** (yeux **rouges**) : **Pas** de propagation de l'hétérochromatine malgré la proximité entre les deux (décision prise au cours du développement dans certaines cellules)

→ Gène White **OFF** (yeux **blancs**) : **Propagation** de l'hétérochromatine qui **réprime** l'expression du gène White dans certaines cellules

L'effet **variégué** est lié à cette propagation **aléatoire**, c'est pourquoi certaines cellules sont blanches et d'autres rouges. Malgré des éléments de régulation, le gène White peut être réprimé à proximité d'une zone d'hétérochromatine. C'est lié à l'effet de position aussi appelé **PEV** (Position Effect Variegation)

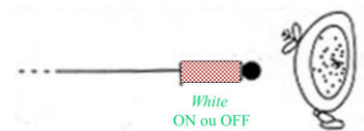
N.B (OSEEF) : Ça a permis aux chercheurs de sélectionner des nouveaux mutants qui vont moduler cet effet de mutation et ces mutants devraient nous communiquer des informations sur les gènes responsables de cette forme hypercondensée de la chromatine qu'est l'hétérochromatine.

MUTATIONS SECONDAIRES

SCHEMA :

Le blanc sur le schéma correspond au dans la réalité, et le noir au
Condition initiale : On part d'un œil « variégué »

PEV normal



1) Gène suppresseur de variéation Su(var) +

→ **Sauvage** :

- **Favorise** la variéation et encourage l'**hétérochromatine**

- Phénotype **muté** : Yeux **blancs**

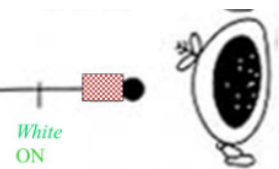
→ **Muté** (porte le nom de sa mutation : suppression) :

- **Empêche** la variéation et encourage l'**euchromatine**

- Phénotype sauvage : Yeux **rouges**

- Mutation perte de fonction

Mutants suppresseurs = Su(var)
= suppressor of variegation



Dans les mutations Su(var) qui sont des gènes de l'hétérochromatine, on retrouve des enzymes qui vont triméthyliser la lysine 9 (comme Su(var)3-9, des histones désacétylés, des protéines de lecture de K9 triméthyls avec les chromodomains comme la protéine HP1.

2) Gène En(var) +

→ Sauvage :

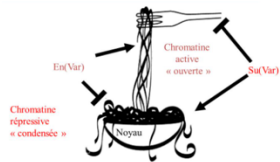
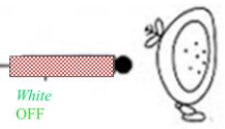
- Empêche la variégation et encourage l'euchromatine
- Phenotype sauvage : Yeux rouges

→ Muté :

- Favorise (augmente) la variégation et encourage l'hétérochromatine
- Phenotype muté : Yeux blancs

Les protéines En(var) sont des protéines qui contribuent à l'expression des gènes comme des facteurs de transcription, des histones acétyltransférases...

Mutants de renforcement =
En(var)
= enhancer of variegation



Imaginez (là aussi ossez) que votre noyau soit un plat de spaghettis, c'est un peu compliqué à manger comme ça, il vous faut une fourchette (honte à ceux qui coupent leur spaghettis !!) pour démêler ce plat de spaghettis, c'est ce que font les gènes En(var) (car ils donnent de l'euchromatine) tandis que les gènes Su(var) vont contribuer rendre les spaghettis compacts et indigestes (favorisent l'hétérochromatine).

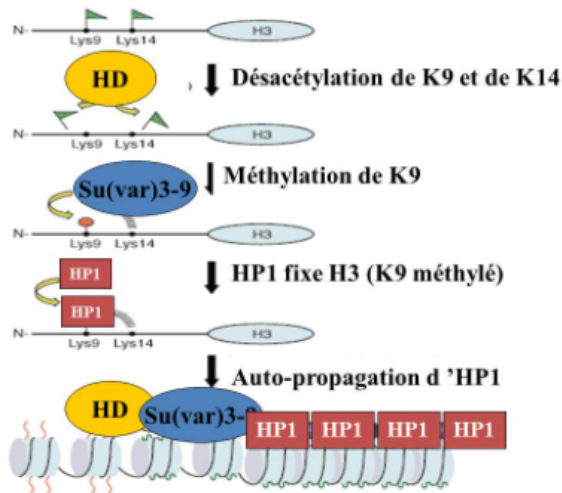
E. RÉPARTITION ENTRE LES 2 DOMAINES

DESCRIPTION SCHÉMA :

→ En bas : Portion de chromatine avec des fibres nucléosomales et des nucléosomes

→ Partie droite : Hypercondensée associée à HP1

→ Partie gauche : Moins condensée, plus ouverte donc plus susceptible d'avoir des gènes transcrits



Au niveau de l'histone H3, on retrouve une suite de réactions :

1) Désacétylations de K9 et K14

2) Méthylation de K9 de H3 par la protéine Su(var) 3-9

3) Une fois méthylée, la lysine H3 sert de site de fixation pour les protéines à chromodomaine dans la protéine HP1. En effet, HP1 attire d'autres protéines Su(var) 3-9

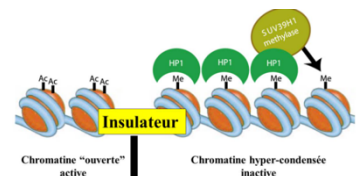
4) Auto-propagation de HP1 (et des autres protéines) en bas de droite à gauche par l'action combinée de l'histone désacétylase et de Su(var) 3-9

Les insulateurs à la base des boucles vont empêcher cette propagation de cette action combinée d'HD-Su(var) 3-9 et d'HP1. Cette barrière permet d'avoir des domaines de chromatine ouverte quand tout se passe bien.

🔦 RAPPEL APPROFONDI :

Les 3 niveaux d'expression des gènes ON, OFF et compétent peuvent être décrits par l'organisation à la fois en termes de code génétique et de tridimensionnel de ces régions mais également de la sensibilité à la nucléase. Leurs caractéristiques sont les suivantes :

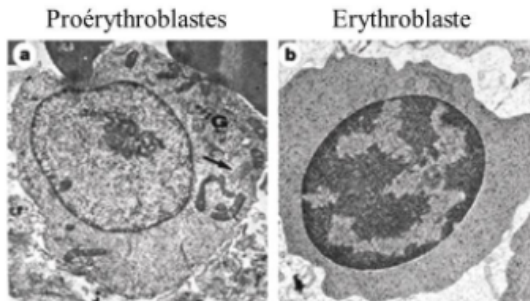
→ Gène transcrit, ON : H3 acétylé, K4 méthylé, c'est la fibre de 11nm



→ Gène inactif, OFF : K9 triméthylé qui est hypercondensé

→ Gène compétent, ouvert mais non transcrit : fibre de 30 nm, haut niveau d'acétylation avec des sensibilités différentielles à la DNaseI

F. NIVEAU DE COMPACTION AU COURS DE LA DIFFÉRENCIATION



Au cours de la différenciation, ces profils chromatinien de condensation vont se modifier.

Le noyau en ME du proérythroblaste (stade précoce de différenciation) est essentiellement ouvert.

Le noyau en ME de l'érythroblaste (stade de différenciation plus avancé) est largement condensé.

Dans les cellules multipotentes, on a un état **permissif** qui va permettre l'expression de beaucoup de gènes compétents pour éventuellement les activer en cas de demande de différenciation : c'est le propre des cellules **souches** et **progénitrices**.

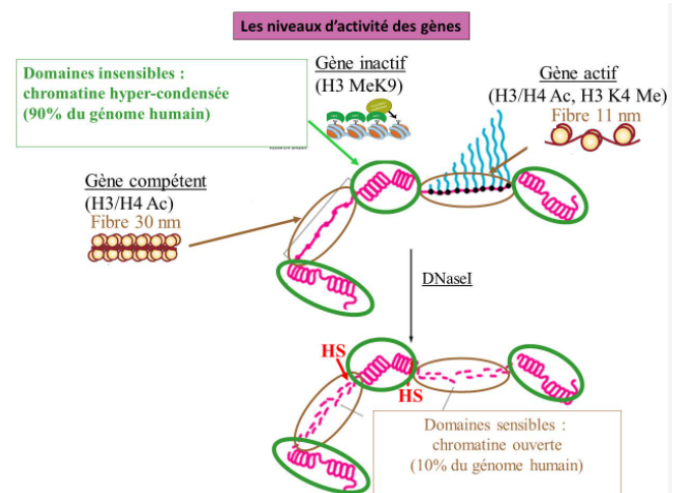
Tandis qu'au fur et à mesure de la condensation, la cellule va **restreindre** ses possibilités de différenciation et être de plus en plus dans un état **non permissif** sauf pour les gènes importants de la fonction **cellulaire** donnée.

Il va y avoir une **condensation progressive** de la chromatine et une **ouverture** sélective, lors de l'engagement et de la **différenciation**.

Une cellule différenciée (manière terminale) dans le corps humain a :

→ approximativement **90%** de sa chromatine **hypercondensée**

→ **10%** de gènes **libres** de s'exprimer



V. CORPS NUCLÉAIRES ET TERRITOIRES CHROMOSOMIQUES

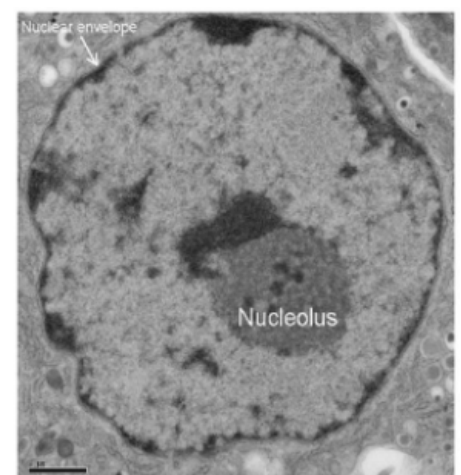
A. CORPS NUCLÉAIRES

Un autre niveau d'organisation correspond aux corps nucléaires et aux territoires chromosomiques. Le noyau est donc composé d'hétérochromatine d'euchromatine et d'éléments qui ne sont pas délimités par une membrane, comme le nucléole. On connaît maintenant cette organisation globale du noyau, l'ensemble des corps nucléaires qui est représenté de manière schématique.

→ Nucléole

→ Espace inter-chromatinien

→ Corps de Cajal



FICHE D'IDENTITÉ DU NUCLÉOLE

Définition : Structure / domaine **nucléaire** proéminente et **dynamique**, qui rentre dans la catégorie des **organites** malgré son **manque** de membrane

Observation : Facilement **visible** en microscopie conventionnelle ou à contraste de phase (d'où son appellation d'organite)

Localisation : à l'intérieur du noyau

Rôle : Centre de **synthèse** des **ribosomes**. Dans le nucléole, il existe une très forte concentration d'**ARN ribosomiques** qui correspond à des machineries sophistiquées impliquant un grand nombre d'ARNs qui vont servir de **guide** pour la **maturation** complète des ARNs ribosomiques.

L'activité du nucléole reflète un **équilibre** entre le niveau de **synthèse** des ARNs ribosomiques et la **croissance** et prolifération cellulaire :

→ Plus les cellules se **divisent** activement, plus leur nucléole est **gros**.

Nucléole et cycle cellulaire

Disparition du nucléole : **Avant** la division cellulaire parce qu'il n'y a **pas** de traduction pendant la **mitose**. La fabrication de ribosomes est **interrompue** pendant la mitose mais il existe une transmission ++

Apparition du nucléole : Juste après la **fin** de la **mitose**, son assemblage est un événement très **rapide**, très **précoce** quand les cellules rentrent en phase G1 après la phase M

Transmission du nucléole

Il existe une **mémoire** de la transmission des architectures de la machinerie nucléolaire aux cellules filles.

FICHE D'IDENTITÉ DE L'ESPACE INTER-CHROMATINIEN

Définition : Domaines où on trouve un **amas** de **granules inter-chromatiniennes** qui sont relativement **résistants** aux traitements par des **ribonucléases**. Ils peuvent être retrouvés dans des préparations de domaines de matrices nucléaires et de corps pelotonnés

Contenu des granules : **Facteurs d'épissages** comme les protéines riches en **sérine** et en **arginine** tels que la protéine C35 qui sont utilisées comme marqueur de ces granules

Dimension : 20 à 25 nm de diamètre, rond ou ovoïde

FICHE D'IDENTITÉ DES CORPS DE CAJAL

Dimension : Structures qui peuvent être associés au **nucléole**, sphériques de 0,3 à 0,5µ

Localisation : À l'**intérieur** du noyau, mais à l'extérieur du nucléole

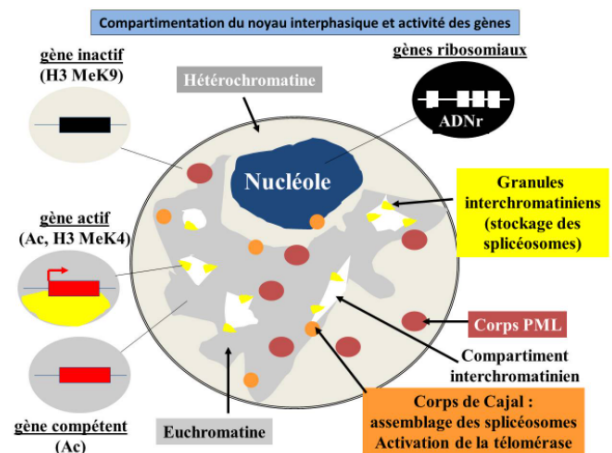
Détermination de la localisation : Grâce à des protéines spécifiques qui sont Coiline ou P80

N.B. (OSEF) : Ils sont abondants dans les tissus animaux en hibernation 🐻

CARACTÉRISTIQUES SIMILAIRES AUX 2

Les granules inter-chromatiniennes et les corps de Cajal aussi nommés corps pelotonnés (corps sous-nucléaires) sont riches en **ribonucléoprotéines** et sont observés le plus souvent **libres** dans le nucléoplasme.

⚠️ Ni les amas, ni les corps de Cajal **ne** sont des lieux de **transcription** bien qu'ils contiennent de l'ARN.



Ces 2 types de corps nucléaires jouent un **rôle** essentiel :

→ **Épissage** des gènes

→ **Stockage**, l'accumulation de **facteurs d'épissage** tels que les snRNA (ARN qui interviennent dans l'épissage)

→ **Assemblage** des machineries d'épissages que sont les spliceosomes

Les corps PML (Promyelocytic Leukemia osee dont la fonction est restée longtemps non connue) sont multifonctionnels et interviennent dans la sumoylation d'un certain nombre de protéines, c'est une modification post-traductionnelle, qui jouent un rôle régulateur dans les cellules dans la réponse au stress.

🔬 PATHO : La structure des corps peut être désorganisée dans certaines leucémies promyélocytiques.



EN MICROSCOPIE

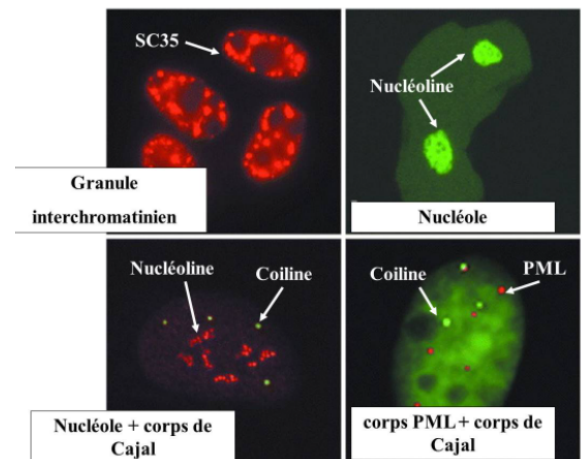
→ Granules inter-chromatiniennes marqués par la protéine riche en sérine et en arginine : SC35

→ Nucléole caractérisé en immunofluorescence grâce à la nucléoline

→ Corps de Cajal et nucléoles covisualisés en fonction d'anticorps

→ Corps de Cajal visualisés avec la Coiline et les corps PML visualisés avec la protéine PML

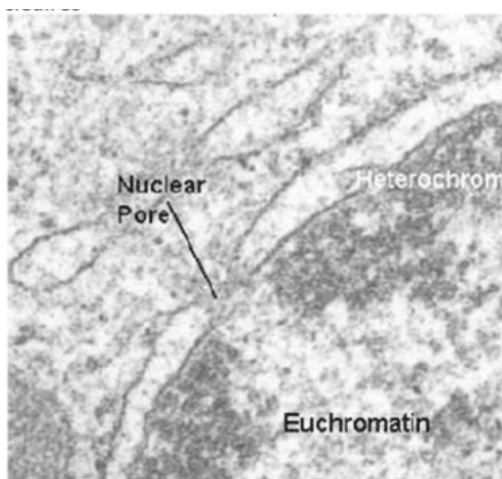
Pas de chevauchement en fonction de l'organisation fonctionnelle du noyau



B. LOCALISATION DES GÈNES INACTIFS

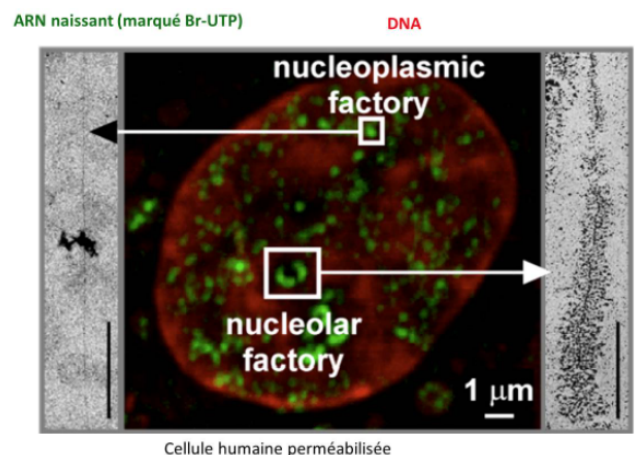
→ La plupart des gènes **inactifs** sont localisés dans l'**hétérochromatine** et plutôt en **périphérie** du noyau +
 ⚠ L'hétérochromatine se localise en **périphérie** du **noyau** mais au **centre** des **territoires chromosomiques** +++

En ME, on retrouve : la double enveloppe nucléaire, le pore nucléaire, l'euchromatine, l'hétérochromatine



C. LOCALISATION DES GÈNES ACTIFS

→ Les zones de transcriptions **actives** du génome et donc les gènes actifs se trouvent à l'**intérieur** du noyau +
 Les gènes actifs sont visibles en microscopie en faisant des marquages très localisés dans le temps avec des précurseurs de la transcription comme le ribonucléotide UTP marqué Br-UTP, ce qui est vert sur le dessin



D. TERRITOIRES CHROMOSOMIQUES

Les territoires chromosomiques sont un niveau supérieur d'organisation des chromosomes. Ils sont en lien avec la technique **FISH**. Cette technique permet grâce à des sondes et des colorations de **repérer** chaque chromosome.

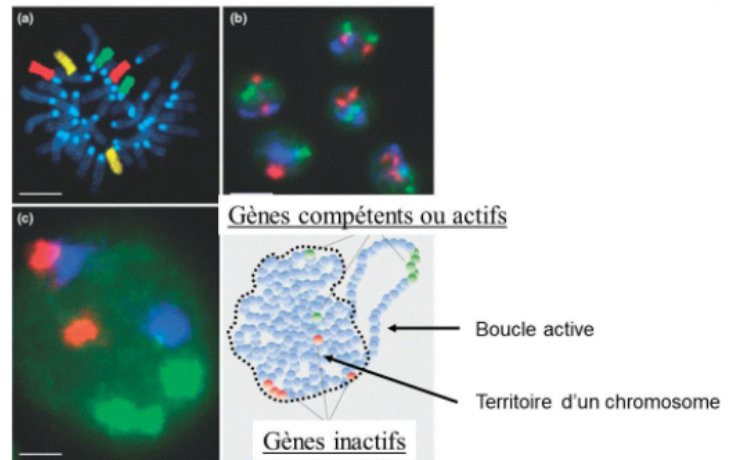
On peut les visualiser en métaphase et en interphase les chromosomes ne se mélangent pas beaucoup et définissent des territoires chromosomiques (TC).

On est dans une cellule diploïde, les tâches sont en double (chaque tâche correspond à un chromosome)

En termes d'**organisation** fonctionnelle :

→ Gènes **inactifs** plutôt à l'**intérieur** des TC

→ Gène **actif** de ce TC va **sortir** et se retrouver à l'extérieur du TC pour pouvoir être **transcrit** activement, c'est un processus **dynamique**. Le gène **revient** à l'**intérieur** du territoire quand il est réprimé



TELEMENT DE PLACE POUR LES DÉDIS !!!

Wooooow j'attendais la fin avec impatience car j'ai cru qu'elle ne viendrait jamais ! C'est un cours un peu plus long (pas qu'un peu, je sais...) que les autres, avec beaucoup de notions mais comme pour les autres, il ne faut pas avoir le moindre détails :)

Dédi à toutes les personnes qui utiliseront ma fiche parce que c'est grâce à vous que toutes ces heures passées devant mon ordinateur n'ont pas servi à rien en espérant qu'elle vous aide 💖

Dédi à toutes les personnes qui ont un taux de concentration aussi nul que le mien, et vous pouvez constater que même ça ne m'a pas empêché de passer en deuxième année. Donc ce qui est important de retenir, c'est que tout défaut est surmontable, si vous gardez votre motivation, si vous faites des sacrifices (RIP les séries que je n'ai pas pu regarder en P1), si vous avez des coups de mou (totalement normal), si vous conservez un nombre de sommeil convenable (super important, pas de 5h de sommeil votre cerveau ne peut pas bien travailler ensuite... au moins 7h30), si vous vous accrochez à votre rêve, on se reverra vite en P2 :)

Dédi à la Dynastie Biocell car c'est la meilleure des dynasties et la seule qui doit exister 🌿

Dédi à Gigi of course, car sans lui, on n'aurait pas ces merveilleux cours 🥰

Dédi au Tutorat Niçois :)