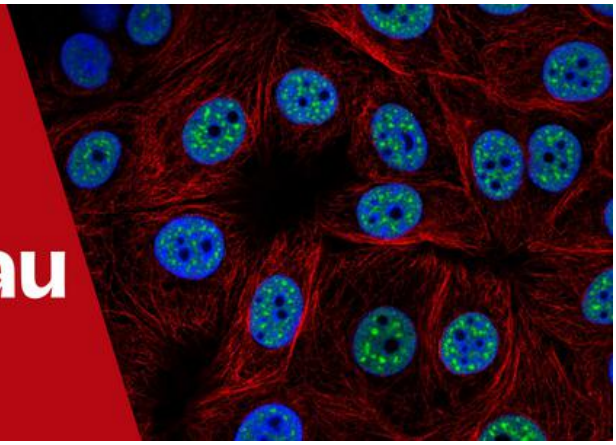
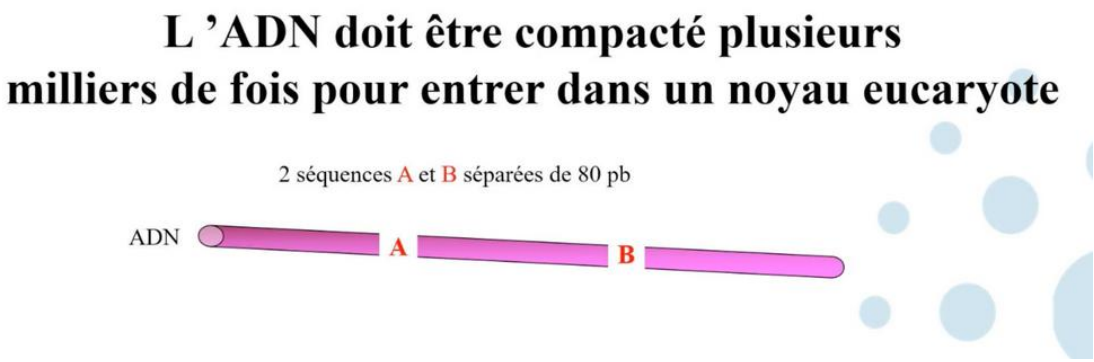
Organisation Fonctionelle du Noyau



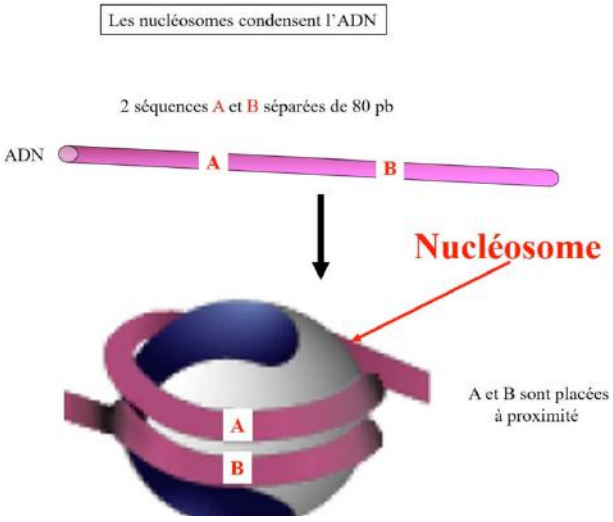
I - Structure de la chromatine



L'**ADN** fait à peu près **2m** dans un **noyau** qui fait **quelques microns** – on est obligés de le **condenser plusieurs milliers de fois** pour le faire rentrer dans le noyau.

On prend le cas de deux séquences A et B séparées de **80 pb** : il y a **plusieurs <u>niveaux de compaction</u>** qui s'effectueront en différentes étapes.

<u>1ère étape</u> : le Nucléosome



Si ces deux séquences sont distantes de **80 pb**, elles vont se retrouver **proches dans le génome** ce qui constitue une forme de **condensation** par association au **nucléosome** (ADN est enroulé 2 fois autour de celui-ci).

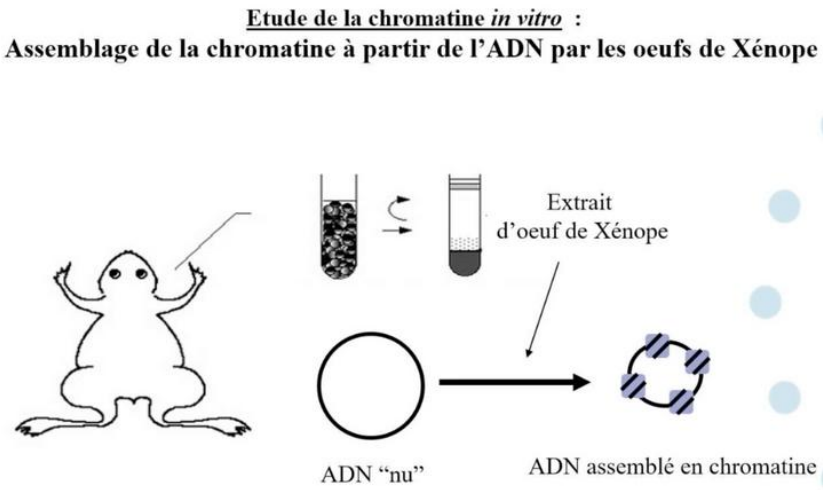
On estime une condensation d'un **facteur 7** sur l'ensemble du **génome**.

Ce n'est *que le début de la condensation*.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Pour comprendre cette structure, il faut l'étudier et donc la **reconstituer en laboratoire** :

Le système expérimental mis en œuvre : les **œufs de Xénope**

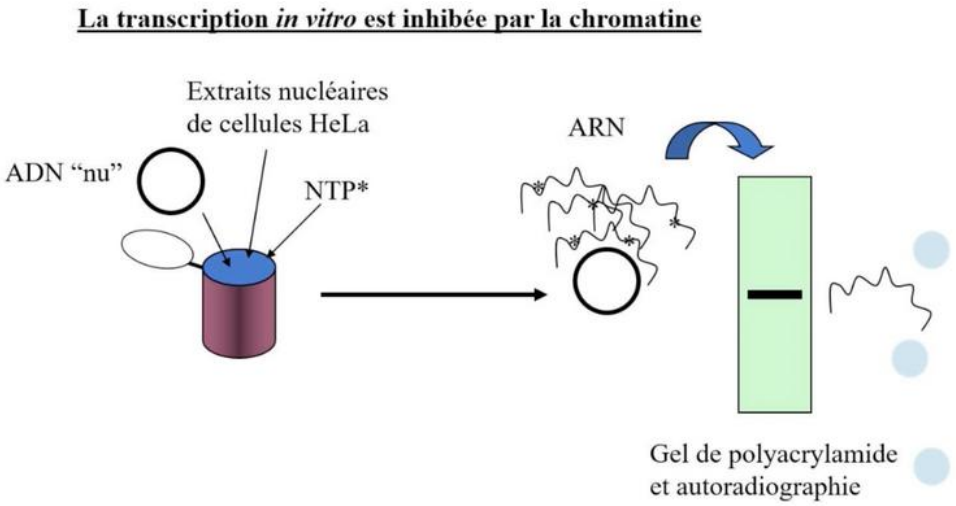


On les **centrifuge** pour obtenir un **concentrat** d'extrait d'œufs qui constitue une source incroyable d'**activités biologique** nécessaires à la production de chromatine.

Cet extrait d'oeuf, est mis en contact d'un **ADN nu** et il va s'associer en **chromatine**

C'est à partir de là que l'on peut étudier à la fois la **structure** et les **propriétés** de la chromatine

Expérience : Inhibition de la transcription in vitro par la chromatine



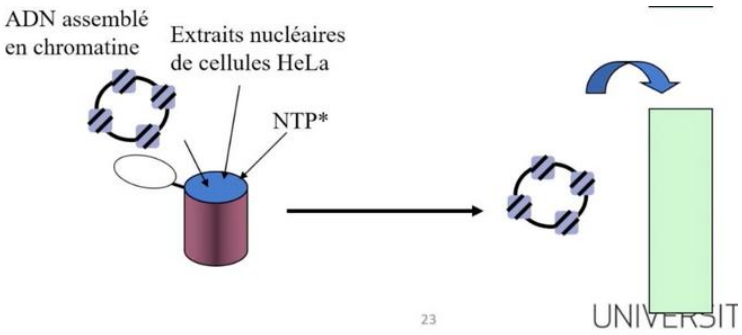
On part d'un **ADN nu** auquel on ajoute des des **extraits nucléaires** de cellules HeLa humaines dérivant de cancers (très utilisées) et on va premièrement lui demander s'il peut être **transcrit** . On obtient donc un **ARN**.

On utilise au cours de la transcription des **nucléotides isotopes radioactifs** (NTP*) pour pouvoir les suivre facilement par **autoradiographie** et on utilise technique du **gel polyacrylamide** (pas dénaturante dans ce cas, donc sans SDS).

L'**ARN** va migrer en fonction de sa **taille** et par **autoradiographie**, on visualise le produit de **transcription**

Conclusion : L'**ADN nu** à été transcrit en **ARN** donc *tout va bien*

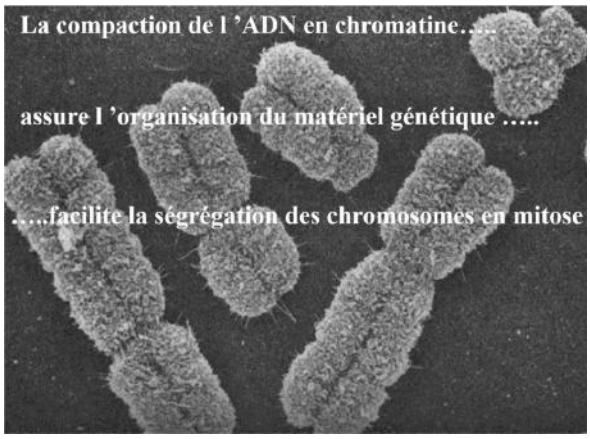
2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



MAIS si on refait la même expérience avec les **œufs de Xénope**, l'**ADN** est assemblé en **chromatine** et on ne voit **rien sur le gel** car il n'y a **pas eu de transcription** (quand l'ADN est sous forme de chromatine) La transcription ne s'effectue donc fait pas

Conclusion : La transcription *in vitro* est inhibée par la chromatine

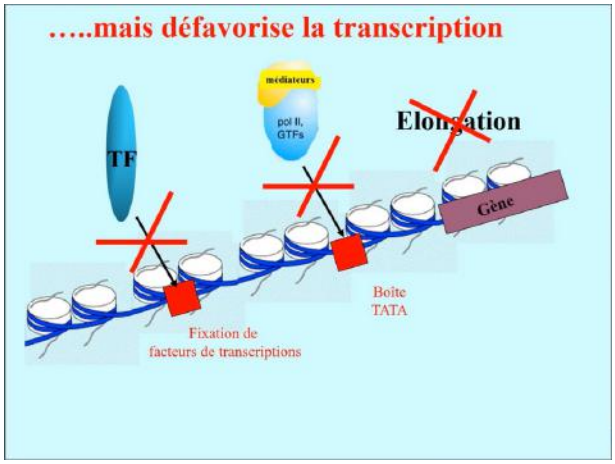
Embêtant car on sait qu'elle se réalise quand même **in vivo**, au sein de l'**organisme**. Alors c'est cette constatation qui a motivé des *travaux ultérieurs*…



Cette condensation de l'**ADN** en **chromatine** facilite la **ségrégation des chromosomes** en mitose, mais **défavorise la transcription**.

Mais comment ça se passe sachant que la transcription peut quand même s'effectuer ?

En effet, tous les **éléments de régulation** de l'**expression des gènes** (ARN polymérases, médiateurs, facteurs de transcriptions, etc.) ne pourront pas accéder à leur **site d'action** car l'ADN va être **masqué** par une **structure condensée de chromatine**. Ils doivent être **débloqués**.



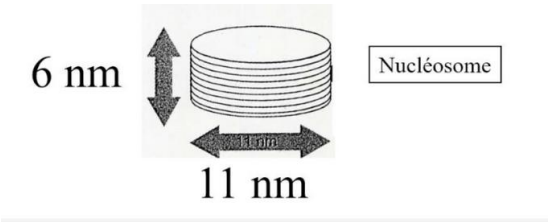
Nous allons donc voir, comment la cellule est capable de lever ces difficultés. Tout d'abord, il faut connaitre la structure du **nucléosome**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

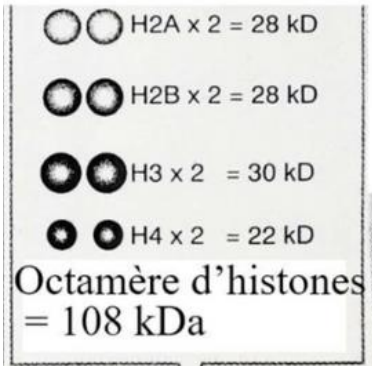
a) Le Nucléosome

Le premier niveau d'organisation de la **chromatine** c'est le **nucléosome** et son organisation spécifique le long de la molécule d'**ADN** : la **fibre nucléosomale**.

Structure et composition du nucléosome :

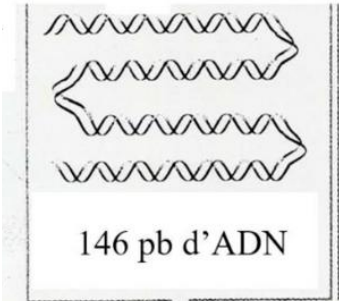


On peut assimiler le nucléosome à un **petit cylindre** de **6 nm** de hauteur pour **11 nm** de diamètre.



Un **nucléosome** est constitué de **4 paires de protéines** appelées **histones** (donc d'un **octamère d'histone** = **8 protéines histones**).

Les **histones** sont des petites protéines **basiques** (riches en **AA chargés positivement**) qui vont s'assembler les unes avec les autres et qui vont avoir pour propriété d'**enrouler l'ADN** (car l'ADN est **chargé négativement**).



Ces **8 protéines** sont regroupées en **4 dimères d'histone** :

2*H2A + 2*H2B + 2*H3 + 2*H4 +++

Au final, un **octamère d'histone** fait un poids moléculaire de **108 kDa** et permet d'enrouler **146 paires de base** (pdb) d'ADN qui font **2 fois le tour**.

La cellule synthétise les **constituants de base des nucléosomes** : ils ont des propriétés d'**autoassemblage**, mais on a besoin d'aide pour **augmenter l'efficacité de la réaction**: **rôle des chaperons +++**.

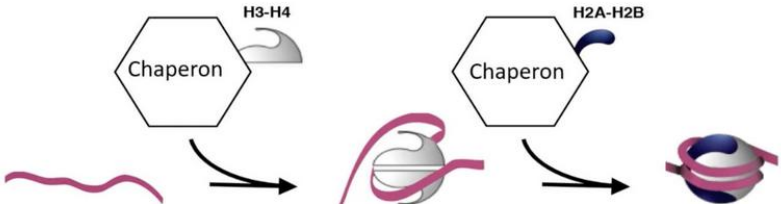
L'assemblage des histones :

L'association de l'**octamère d'histones** avec l'**ADN** se fait **spontanément**.
Mais, il existe quand même des **protéines** qui vont **faciliter** cet appariement.

Attention, ce ne sont pas des ~~enzymes~~ +++ ! Elles vont juste **faciliter** la réaction. Ces protéines sont appelées des **protéines "chaperon"**.

Les chaperons **guident les histones** pour permettre leur **assemblage mutuel**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



L'assemblage des nucléosomes est stimulé par des protéines "chaperon" qui intéragissent avec des dimères d'histone

Il existe un **ordre d'assemblage des histones** (ça ne se fait pas au hasard) :

1) Un premier chaperon est associé à un **hétérodimère H3/H4** qui enroule ensuite l'**ADN** (1 tour).

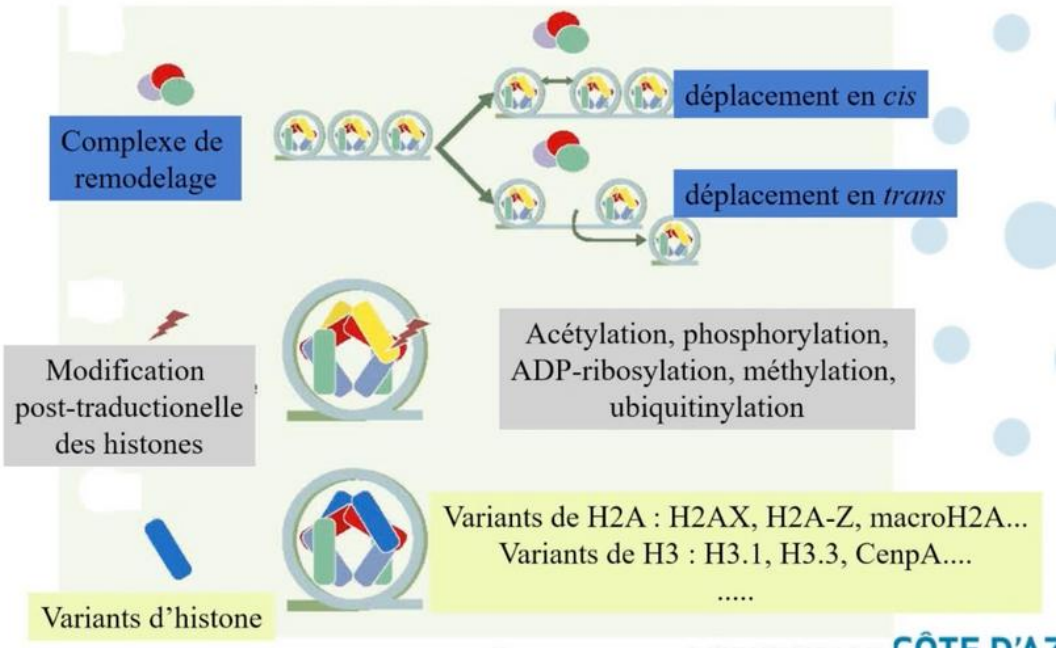
2) Ensuite, toujours à l'aide d'une protéine "chaperon", on aura l'assemblage de **H2A et H2B** à la structure précédemment formée **-> Nucléosome** (ADN enroulé 2 fois autour).

Recap : L'assemblage des **nucléosomes** est donc stimulé par des **protéines « chaperon »** qui interagissent avec des **dimères d'histone** dans un ordre **bien précis : H3/H4** puis **H2A/H2B**.

⚠ Les nucléosomes défavorisent la transcription (comme il constitue un niveau de compaction/condensation de l'ADN + 🦵 +)

Les nucléosomes ne sont pas tous identiques ! 🦵 + 🦵 On a une **structure nucléosomale commune** mais qui va présenter **plusieurs variants**. En effet, la cellule doit pouvoir **modifier/moduler** ces **nucléosomes** en fonction de ses **besoins** (*expression* ou *répression* des gènes).

Il existe **3 voies de modifications des nucléosomes** :

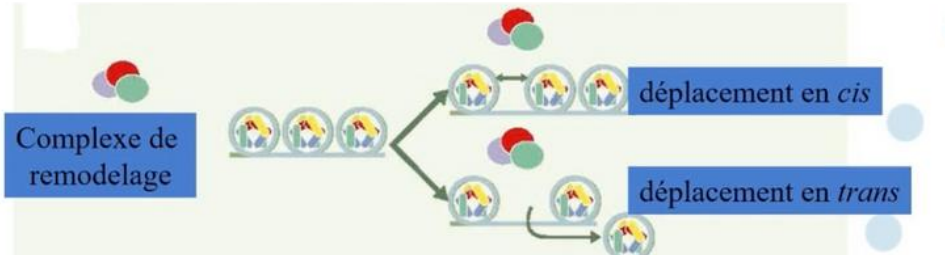


1 - Le complexe de remodelage

On peut d'abord modifier un nucléosome en **changeant sa position**, selon les **besoins de la cellule**. Par exemple, à certains endroits, il n'y aura **pas de nucléosomes** (comme on en a pas besoin).

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Il existe donc des **complexes protéiques** (= **complexe de remodelage**) qui vont, en fonction de la **localisation** dans le génome, choisir de déplacer **tel ou tel nucléosome**.



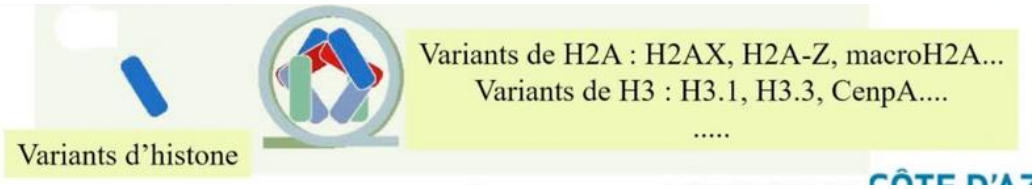
La position des **nucléosomes** peut être modifiée de **différentes façons** :

- Déplacement **en CIS (en haut)** = le **long** de la même molécule d'ADN.
- Déplacement **en TRANS (en bas)** = **éviction du nucléosome**, il quitte le brin d'ADN pour aller sur une autre molécule d'ADN

2 - Les variants d'histones

Rappel : un octamère classique est constitué des protéines **H2A, H2B, H3 et H4**. Il existe pleins de gènes codant pour **H2A**, pour **H2B** et pour **H3**.

Ces différents gènes vont donc coder pour **différentes histones** (compléxité d'organisation): ce sont des **variants d'histones** H2A, H2B, et H3 qui vont leur conférer une **propriété particulière**.



H4 est codée par un seul gène ++++ : elle ne possède donc pas de variant !

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

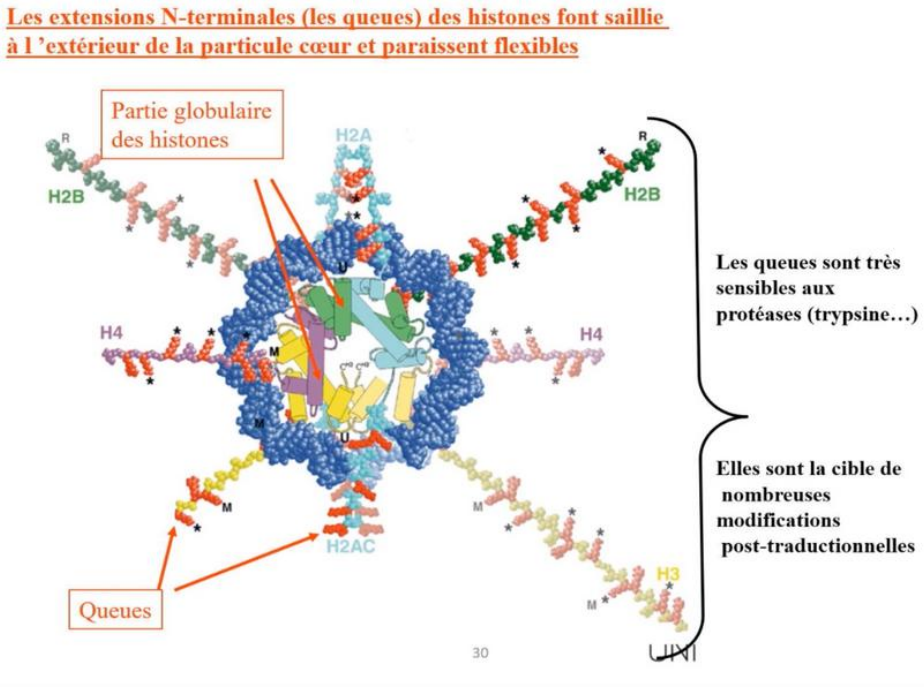
Exemple: **H2A** : H2AX, H2A-Z, macroH2A ... et **H3** : H3.1, H3.3, **CenpA** (HP mais il est notamment exprimé dans les kinétochores lors de la mitose) ...

Question : Comment sont disposées les histones au sein du nucléosome ?

Les histones sont constituées d'une **partie globulaire** (au centre) et d'une **queue N-terminale +** (projetée vers la périphérie), elle n'est pas inclue dans le **coeur du nucléosome** et sort entre les deux tours d'ADN. Elle se trouve donc en surface du nucléosome (Voir schéma à la page suivante)

C'est elles qui portent une série d'**informations** qui vont être interprétées par la cellule à travers une série de **modifications post- traductionnelles** qui vont affecter ces **queues d'histones**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



L'octamère d'histone va se disposer de façon à permettre sa **modification post traductionnelle** (les queues sont facilement accessibles) :

Sur ce schéma, on peut voir les **4 paires d'histones** formant le **nucléosome**. Les queues sont représentées sous forme de longues extrémités toutes droites car elles ne sont **pas assez structurées**. On distingue l'**ADN** (gros truc bleu épais qui forme une boucle au centre). En réalité, l'ADN fait 2 tours autour du nucléosome.

Les queues des histones sont par ailleurs **trés sensibles aux protéases** comme la **trypsine**, ce qui permet d'étudier le comportement des nucléosomes sans celle-ci .

Recap : Structure des histones

Parties globulaires centrales	Queues N-terminales périphériques
• Elles se regroupent au centre/coeur du nucléosome (cylindre sur le schéma) • Elles possèdent de nombreux acides aminés **basiques** qui sont **chargés positivement** (surtout **lysine** et **arginine**). • **L'ADN, acide,** étant **chargé négativement**, il va y avoir **une forte interaction** entre la partie globulaire et l'ADN. L'ADN va donc s'y **enrouler**.	• Elles ne sont **pas structurées**. • Elles passent entre les **2 tours d'ADN** pour être à l'extérieur. C'est la partie **exposée du nucléosome**. • Elles sont **chargées positivement** (riches en AA basiques). • Elles sont la cible de **nombreuses modifications post traductionnelles +++**. • Elles sont **sensibles aux protéases** (car elles sont exposées à l'extérieur du nucléosome et sont moins structurées). En laboratoire, on peut enlever ces extrémités grâce à l'action de **protéases**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

3 - Les modifications post-traductionnelles

Chaque nucléosome est **unique** car il possède des **modifications post-traductionnelles** différentes d'un nucléosome à l'autre.



Une protéine, après avoir été synthétisée par le ribosome peut subir des **modifications**.

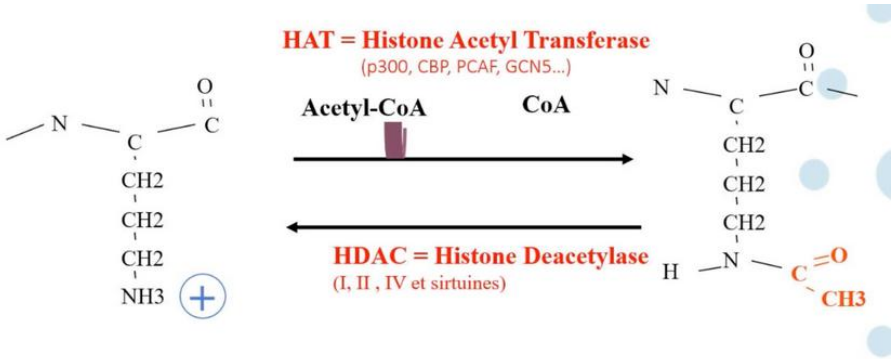
C'est le cas pour les histones où des modifications spécifiques peuvent avoir lieu après la **traduction dans le cytosol** (avant d'être réimportée dans le noyau) grâce à des **enzymes spécialisées** +🦵🦵🦵+.

Il en existe pleins de type. Parmi les plus importantes :

- **L'acétylation ++**
- **Méthylation ++**
- **Phosphorylation**
- ADP-ribosylation
- Ubiquitinylation

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

Exemple : Acétylation (sur les Lysines)



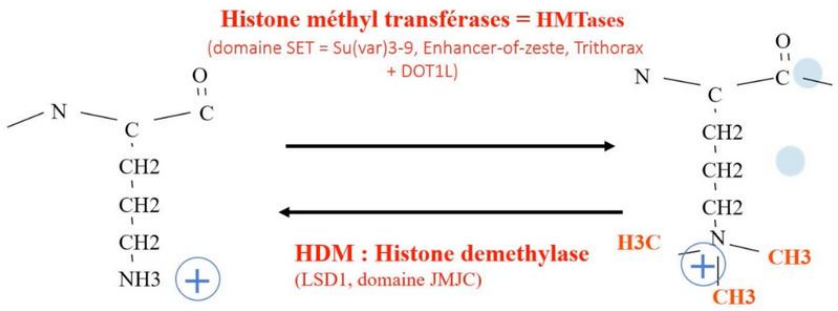
Les enzymes qui catalysent cette réaction s'appellent les **HAT** (= **Histone Acétyl Transférase**).

Le **co-facteur** (co-enzyme) qui lui est associé est l'**Acétyl-CoA**. Son groupement **acétyl** est transféré sur le groupement **NH3** des acide aminés basiques comme la **lysine**.

La **réaction inverse** est possible : on parle de **Désacétylation** catalysée par les **HDAC** (= Histone DeAcétylases) de différents types (I, II, IV et sirtuines)

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Exemple : Méthylation (sur les Lysines/Arginines)



Les enzymes qui catalysent cette réaction s'appellent les **HMT** (= **Histone Méthyl Transférase**).

La réaction inverse est possible, c'est la **Déméthylation** catalysée par les **HDM** (= Histone Demethylases) de différents types (LSD1, domaine JMJC)

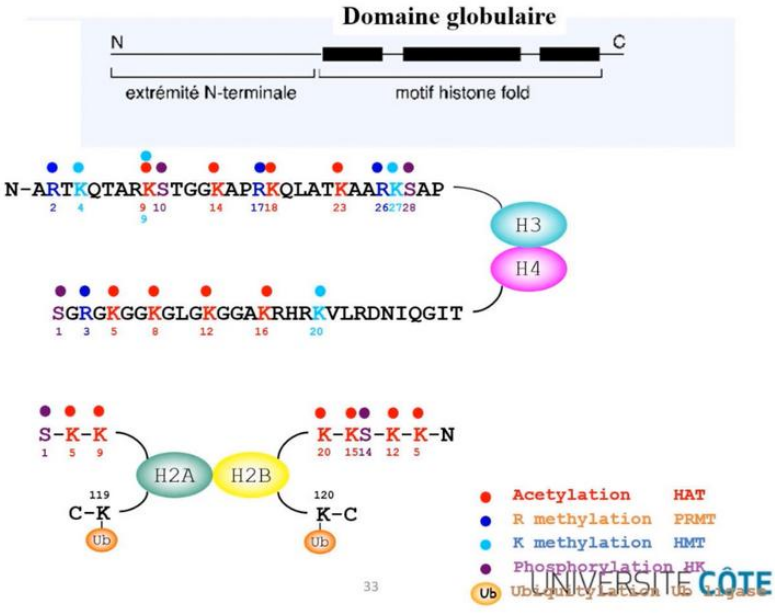
Partie HP: Je la laisse juste pour votre compréhension

Une lysine/arginine peut être **mono**, **di** ou **triméthylée** ce qui lui confère des propriétés différentes à chaque fois. Ainsi, Les HMTases sont de **plusieurs types** et ont chacune des **domaines** (position des lysines sur les histones) et des **actions spécifiques** (mono/di/triméthylation).

Donc selon le **nombre de méthylation**, et selon la **position de la lysine méthylée**, l'**enzyme** utilisée sera différente et la **fonction de l'histone** sera différente également.

⚠ La méthylation des lysines des histones et la méthylation de l'ADN (ilôts CpG cf. biomol) sont deux choses bien distinctes ++

Le code histone :



La **diversité** des modifications post traductionnelles et l'existence de variant des histones constituent un code : le **code histone caractéristiques des eucaryotes** 🦵+🦵

Celui-ci se rajoute au code génétique, et il est **facilement modifiable** (contrairement au code génétique qui est le même pour tout les types cellulaire)

Sur ce schéma on peut voir des **queues N-terminales**. Ces queues sont composées de différents acides aminés.

A côté de chacun des AA, les petits points représentent toutes les **modifications** qu'il est possible de faire. Toutes les histones ne sont pas forcément **modifiées**, et certaines modifications sont **alternatives**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Par exemple, sur la lysine en position 9 de l'histone 3 (H3K9) on voit qu'il y a 2 petits points qui correspondent soit à une **acétylation** soit à une **méthylation** (on ne peut pas avoir les deux en même temps).

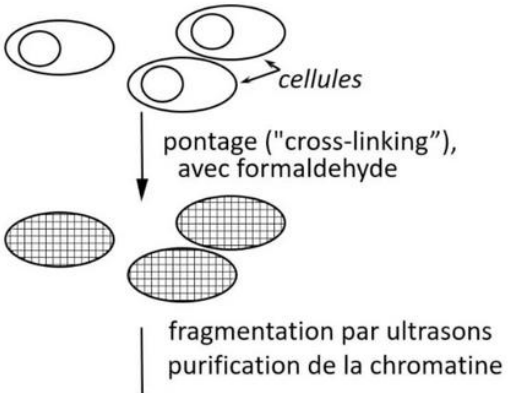


En fonction du type de **combinatoire de modifications**, exposées à la **surface du nucléosome**, on a une **information** que la cellule est capable de **décoder**, d'où le nom de **code histone**.

Si le **code génétique** correspond à la séquence des nucléotides, il ne constitue pas en revanche le seul **déterminant de l'expression de l'information génétique**, car à ce code génétique se superpose un "*surcode*", **le code des histones** puisque ce sont les protéines qui sont *intimement liées a l'ADN*. Le couplage de ces 2 codes va constituer les informations principales décryptées par la cellule afin d'**exprimer** (**ON**) ou de **réprimer** un gène (**OFF**)

Le code histone est étudier aussi pour voir comment il peut servir pour développer de nouveaux agents thérapeutiques... **-> L'immunoprécipitation = IP (ChIP)**

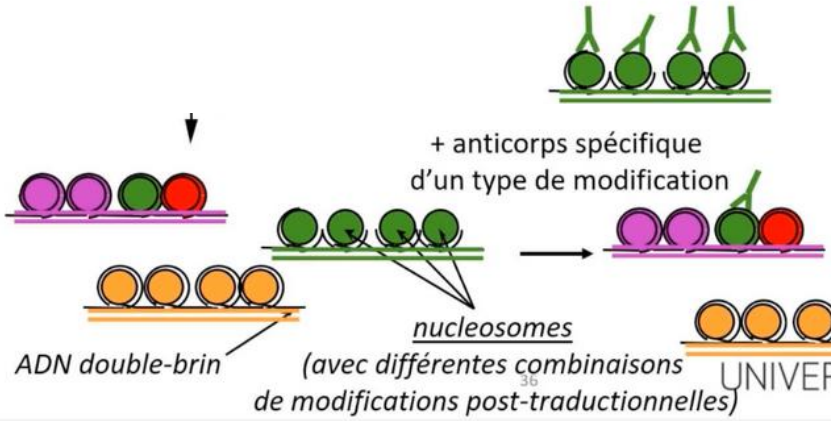
Objectif : Étudier le **code histone de la chromatine** et donc les **modifications de la queue N-terminale des histones +** 🧦 **+**. Il faut avoir des **agents spécifiques** pour le lire expérimentalement



1. On **fige** la cellule dans un état par pontage/crossing (entre ADN et prot et entre protéines) grâce au **formaldéhyde** (afin de faciliter la purification des facteurs sans dénaturation au cours de l'isolatio)

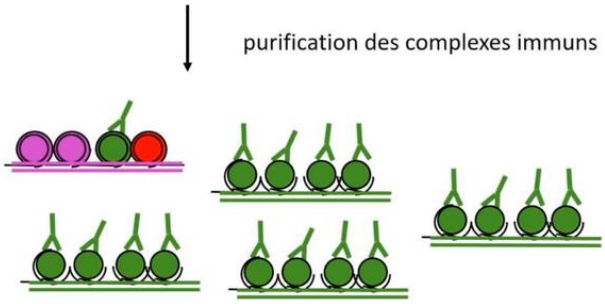
2. On prépare ensuite des extraits de ces cellules **Crosslinké** par **fragmentation** via **ultrasons** et **purification** de la chromatine

On veut savoir la **couleur du nucléosome** par production d'**anticorps spécifiques** d'un type de **modification post- traductionnelle des histones +++**



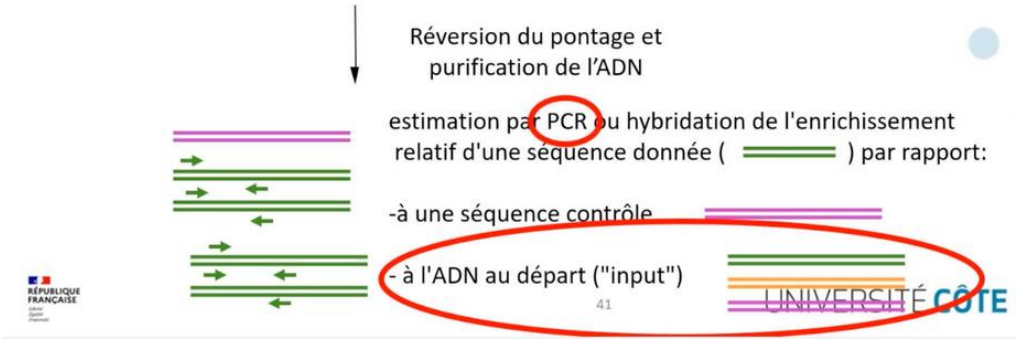
3. On incube les fragments de chromatine avec ces **Anticorps = AC** (ici exemple d'AC qui reconnaissent les modifications des nucléosomes verts)

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



4. On **enrichit** (augmente) ensuite les fragments de chromatine contenant cette **modification** (ici vert) reconnues par nos **AC spécifique** par **purification du complexe immun.**

On ne visualise cependant toujours pas ces **fragments de chomatine** et leur **proportion** par rapport au reste de la chromatine = il faut donc calculer un **degré/facteur d'enrichissement** afin de donner une réponse sur la présence de cette modification sur telle ou telle séquence d'ADN.



5. On va donc **renverser** le pontage (sinon les fragments ne seront pas analysable) et purifier simplement la partie **ADN** (surtout le vert) = ADN associé à la chromatine qui porte cette modification.

Il existe tout un ensemble de méthodes pour "*compter*" le nombre de molécules d'**ADN vert**.

Ici on s'intéresse à la la technique par **PCR**. On amplifie une séquence d'**intérêt** d'ADN (ex: Promoteur d'un gène) et on fait pareil avec une séquence **contrôle** et pour l'ADN de départ avant immunoprécipitation = l'**Input**

Cette PCR peut être rendue **quantitative**, pour être comparée à la PCR, à l' amplification de fragments verts mais présents dans l'**ensemble des fragments de chromatine du départ**.

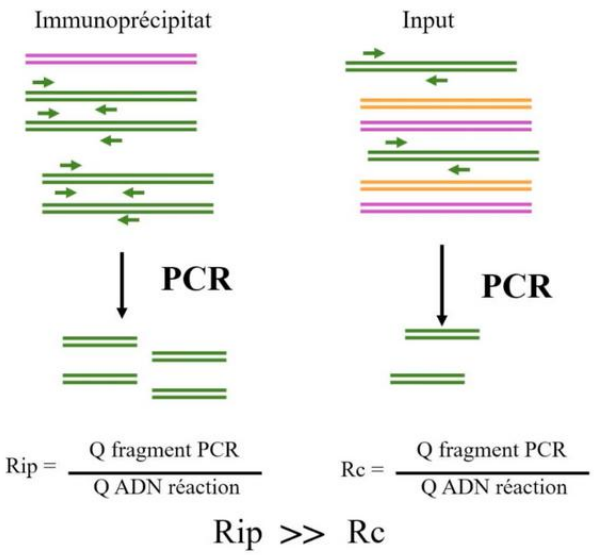
On a deux **réactions** à étudier :

- L'I**mmunoprécipitat** (= la Solution Test fixées par les AC spécifiques)

- l'**Input** (= La situation de départ, avant **IP**)

On a par **PCR**, l'estimation de la quantité de ces fragments de **l'immunoprécipitat** par rapport à la **quantité de l'ADN de la réaction,** par un premier facteur = **Rip**

Et un 2e facteur qui est le **facteur contrôle** pour **l'input** = **Rc**



2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Rip >> Rc

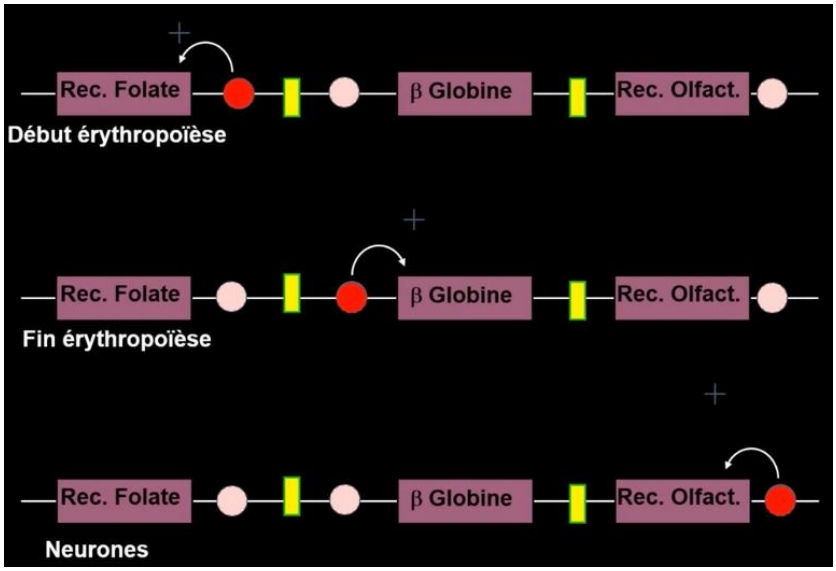
Si le facteur IP = **Rip** (de l'immunoprécipitation) est **très largement supérieur** au fragment contrôle = **Rc** ça veut dire qu'on a **enrichissement de ce fragment vert** = donc dans les cellules de départ on avait dans les **séquences** du promoteur du gène qui nous intéresse, un enrichissement de la modification post-traductionelle verte reconnue par l'AC qu'on avait utilisé.

On définit alors un **Facteur d'Enrichissement** :

$$F = \text{Facteur d'enrichissement} = \frac{Rip}{Rc}$$

43

Exemple : L'**Érythropoïèse** (Processus de formation des Globules Rouges)



Sur ce schéma, on voit des éléments régulations à **distance** pour réguler de manière **tissulaire spécifique** l'expression des gènes. Les rectangles sont des **insulateurs** et les ronds sont des **enhancers** (on les verra plus tard).

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

- Le gène du récepteur folate,
- Le gène codant pour la béta globine,
- Le gène codant pour un récepteur olfactif

On étudie la structure de la chromatine dans ces trois régions, dans 3 conditions :

- **Au début de l'érythropoïèse** : on a besoin du **récepteur folate** donc il est exprimé par l'**enhancer**. Mais nous n'avons pas besoin du ~~**gène béta globine**~~, et encore moins du ~~**récepteur olfactif**~~. Ces deux gènes sont donc réprimés grâce à la présence de l'**insulateur** qui empêche l'action de l'enhancer.

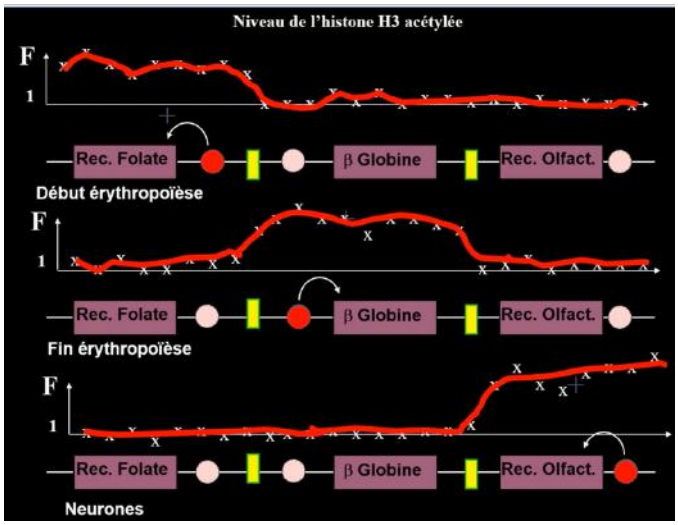
- A **la fin de l'érythropoïèse** : On a plus besoin du ~~**récepteur folate**~~ (qui est **réprimé**) mais on a besoin du gène **béta globine** (qui est alors exprimé par l'**enhancer**). Le ~~**récepteur olfactif**~~ n'a rien à voir avec l'érythropoïèse, donc il est réprimé dans ce type tissulaire.

- **Dans un neurone** : L'~~**érythropoïèse**~~ ne sert absolument à rien. Les ~~**gènes de l'érythropoïèse**~~ sont donc **réprimés** contrairement au gène du **récepteur olfactif** qui est utile pour le neurone.

⚠ Ces **3 gènes** ne s'expriment donc **PAS dans les mêmes cellules** !

On effectue ensuite notre démarche **d'IP** et on utilise ensuite toute une série d'amorces **PCR** pour naviguer dans ce génome. *Qu'observe t-on ?*

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



Nous voyons ici que la quantité d'**histones H3 acétylées** est représenté par le trait rouge (plus le trait monte en ordonné, plus on a d'**enrichissement en acétylation = Facteur F d'enrichissement**).

- **Au début de l'érythropoïèse** : On trouve qu'il y a beaucoup plus d'**enrichissement** au niveau du gène qui est exprimé (gène du Rc.folate) qu'au niveau des 2 autres gènes. Au niveau du **récepteur folate**, il y a beaucoup d'**histones H3 acétylées** au **début de l'érythropoïèse**.

- A **la fin de l'érythropoïèse** : On découvre alors qu'il y a beaucoup d'**enrichissement** au niveau du **gène béta globine**. Cependant, il n'y a plus d'**enrichissement** au niveau du **récepteur folate**. Au niveau du gène béta globine, il y a beaucoup d'**histone H3 acétylées** en **fin d'érythropoïèse**.

- **Dans un neurone** : c'est le même principe : au niveau du **récepteur olfactif** il y a un **enrichissement d'histones acétylées** contrairement aux 2 autres gènes qui ne sont **pas exprimé**, et où il n'y a **pas d'enrichissement**.

Ces résultats suggèrent donc que **les modifications post traductionnelles des histones régulent l'expression des gènes 🦵++🦵.**

On peut établir des **règles générales** qui vont nous permettre d'appréhender l'**activation** ou l'**inactivation** d'un gène en fonction de sa **modification post-traductionnelle +++** :

À apprendre par ❤️

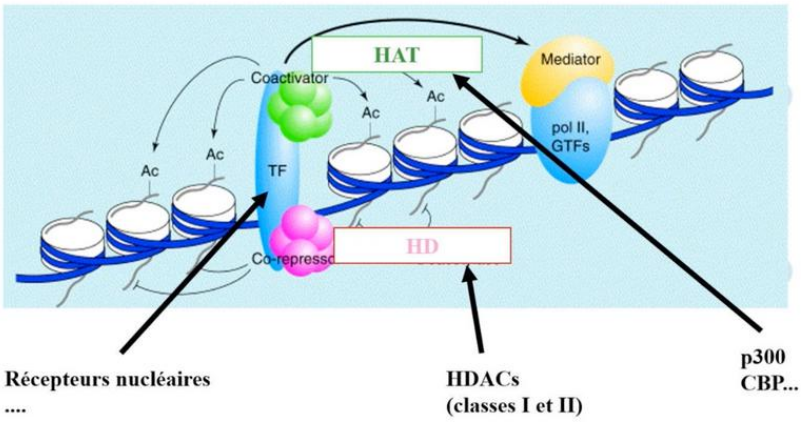
Transcription active	**Transcription inactive**
Chromatine **hyper**acétylée	Chromatine **hypo**acétylée
Chromatine **méthylée en K4** (Lysine 4/Histone H3)	Chromatine **méthylée en K9** (Lysine 9/Histone H3)

⚠ La méthylation ne conduit pas toujours à l'inactivation d'un gène, cela dépend de l'acide aminé affecté (c'est le cas pour K9 mais pas K4) 🦵🦵🦵

Il y a donc une relation entre les modifications post-traductionnelles des histones et l'expression génique = niveau de transcription des gènes.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Revenons donc maintenant à nos **nucléosomes** :



Pour que nos **nucléosomes** soient compatible avec l'**expression génique et la transcription,** il faut qu'ils soient modifiés d'une certaine façon

-> C'est justement le rôle des facteurs de transcription qui s'associent à des co-activateurs / co-répresseurs qui portent ces activités de modification des histones et de modification de la structure chromatinienne 🦵+🦵.

Les protéines **HAT** et les **HDAC** agissent souvent ainsi en tant que **Co-activateurs** ou **Co-répresseurs** en interagissant avec les **facteurs de transcription +🦵+** :

- Les **co-activateurs** présentent une activité **HAT** : ils **favorisent la transcription** en **modifiant la structure locale de la chromatine +++ (par ajout de charge (-) induisant une répulsion électrostatique🦵)** , permettant son **accessibilité aux éléments de transcription**.

- Les **co-répresseurs** présentent une activité **HDAC** : ils **défavorisent la transcription** en **modifiant localement la structure de la chromatine** qui devient **moins accessible aux éléments de transcriptions**.

Mais comment cette information est lue par la cellule ? On sait que le le code génétique est lue et traduit par le ribosome mais qu'en est-il du code histone ? Comment est-il traduit ?

-> Ce sont des protéines présentes dans le noyau qui vont reconnaitre spécifiquement ces modifications et les interpréter. C'est donc en régulant les interactions entre les queues des histones et ces protéines, non-histone, que le code histone pourra être traduit ++ . Les modifications post-traductionnelles des histones peuvent donc réguler les interactions entre nucléosomes et certaine catégories de protéines 🦵🦵🦵.

Modifications post-traductionelles	Reconnue par	Actions
Lysine **acétylée**	Des protéines à **bromodomaines**	Recrutement de **facteurs de transcriptions** pour les **zones hyperacétylées**
H3K9 et H3K27 **méthylés**	Des protéines à **chromodomaines** **HP1** pour **K9** **Polycomb** pour **K27**	**HP1** forme l'**hétérochromatine**. La **méthylation** en **K9** ou **K27** induit la **formation d'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 **stress**
H4K20 **diméthylée**	Des protéines à domaine **Tudor**	**Réparation de l'ADN**

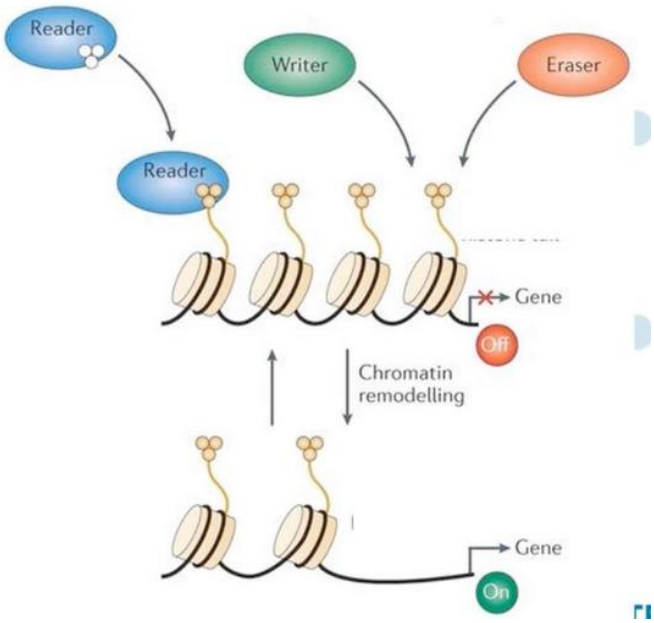
2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

On se trouve donc dans ces systèmes plutôt complexe mais qui ont tous, au final, la même **logique** :

On a trois catégories de protéines qui permettent l'**organisation de l'expression des gènes +++** :

- Les **« writers »** celles qui **écrivent le code, responsable des modifications**. (Ex : enzymes de type HAT, HDM...)
- Les **« readers »** celles qui **lisent le code**. (Ex : protéines à domaine tudor, chromodomaine...)
- Les **« erasers »** qui **effacent le code**, réaction reverse. (Ex : déméthylase...)

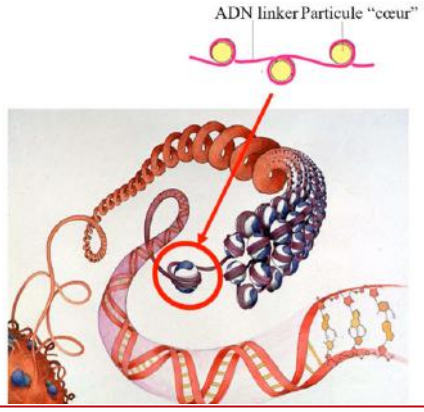
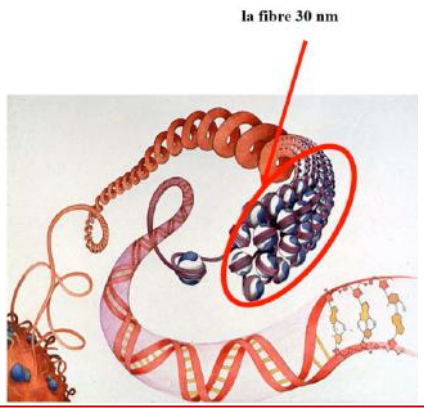
Modèle général de la fonction du code histone



C'est l'ensemble de ces catégories de **protéines de fonctions,** qui fait que localement la séquence promotrice d'un gène va être **acétylée**, et éventuellement soumise au remodelage de la chromatine afin de permettre au gène d'**être activée** sous la forme **ON**

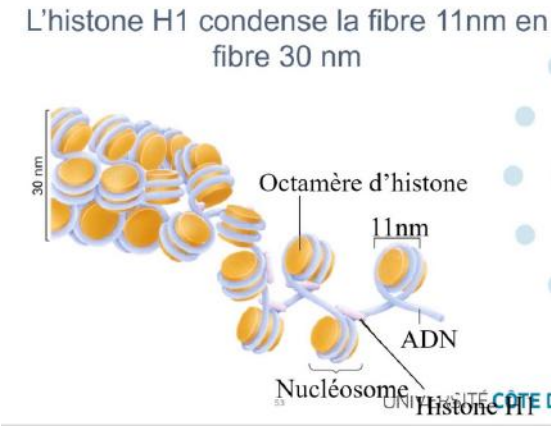
b) La Fibre Nucléosomale

Nous allons voir un nouveau niveau d'**organisation supérieur 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** :

Fibre de 11 nm : FIbre nucléosomale	Fibre de 30 nm : Solénoïde
	
• Ce premier niveau correspond au **nucléosomes** (vu précédemment) et à leur assemblage en une **structure en collier de perles de 11 nm de diamètre**. • Cet assemblage est assuré par l'**ADN Linker** reliant **2 nucléosomes voisins**, ce qui constitue une **conformation ouverte de l'ADN ++**	• **Niveau de condensation supérieur** : Le **solénoïde** constitue une fibre de **30 nm** correspondant à **un peu moins de 3 nucléosomes** • L'**histone H1 +++** permet la **transition conformationnelle** de la fibre nucléosomale vers ce solénoïde = **conformation FERMÉE de l'ADN ++**

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

La transition entre la fibre 11nm et 30nm fait intervenir une **autre histone** : **H1 ++**



⚠ **L'Histone H1 ne fait pas partie de l'octamère d'histone du nucléosome 🦵🦵🦵 (H2A, H2B, H3 et H4)**

Cette fibre peut être soumise à d'autres **modifications locales** :

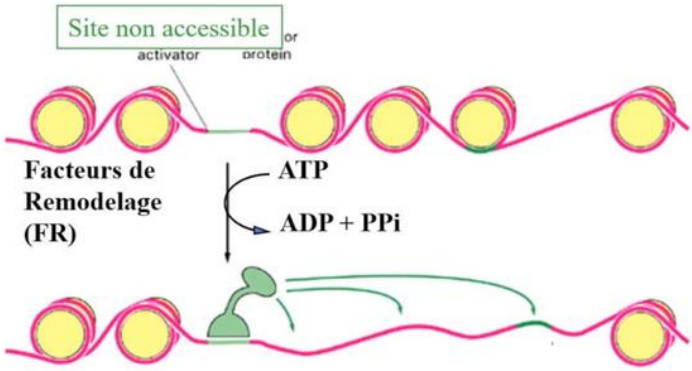
➜ **Remodelage de la fibre nucléosomale :**

Au niveau des **promoteurs**, il faut souvent **remodeler la fibre des nucléosomes** pour permettre la fixation de **protéines régulatrices** (par exemple les **facteurs de transcription** qui ont besoin d'avoir de la place pour se fixer).

On a besoin d'enzymes, de **facteurs de remodelage (FR) +++** , des grosses machines **très consommatrices d'énergie**, qui rendent l'ADN accessible aux **facteurs de transcriptions (FT)** et donc d'**énergie** également issue de l'**hydrolyse de l'ATP**.

Ils vont être capables de créer localement des **zones sans nucléosomes** (en les déplaçant grâce à leur domaine ATPase qui va hydrolyser l'ATP) pour permettre au **FT de se placer**.

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

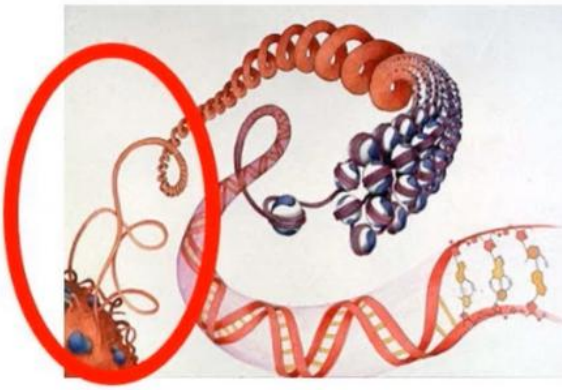


Ici on voit une séquence **promotrice** avec un site d'activation de la transcription qui est **coincé entre les nucléosomes** donc **inactif** du fait de cet **chromatine répressive**.

Et si les **facteurs de remodelage** agissent à cet endroit, ils créent une **petite séquence d'ADN nu +** qui **facilite la fixation du FT** et l'**activation de la transcription**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

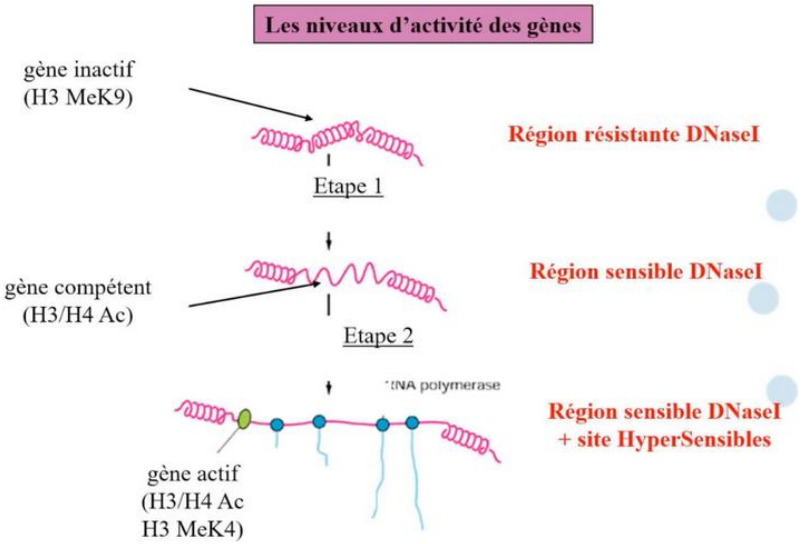
c) Domaines et Boucles



On passe encore à un autre niveau : la **fibre chromatinienne** va s'organiser en **boucles** et **domaines**. Nous voyons sur ce schéma que c'est un niveau **moins bien défini** (contrairement à la grande précision du nucléosome) car c'est une structure **plus complexe à étudier expérimentalement** (comme le **solénoïde**).

➜ **Les niveaux d'activités des gènes :**

À chacun de ces niveaux de **structure de la chromatine** correspond des niveaux d'**expression**, de **transcription des gènes** correspondants.



À apprendre par ❤️

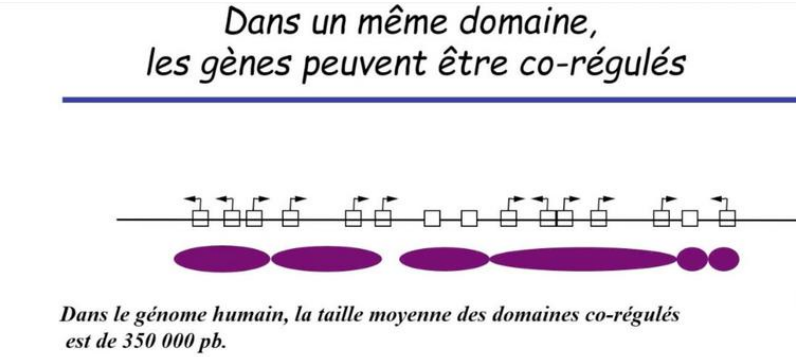
- Au niveau d'un **gène OFF** à **transcription inactive**, on va retrouver surtout une **métylation H3K9** induisant une **condensation de la chromatine**. Cette région sera **experimentalement résistante à la DNase1 car trop condensée** 🦵+🦵.

- Au niveau d'un **gène compétent** (c'est à dire qu'il est entre l'**activation** et l'**inactivation**, **la chromatine est ouverte mais elle n'est PAS transcrite**), on va retrouver plutôt des **acétylations H3/H4**. Cette région est **sensible à la DNase1 +++**. On change sa composition en nucléosomes à **H3/H4 acétylées (Ac) ++** 🦵+🦵.

- Au niveau d'un **gène ON** (**transcriptionnellement actif**), on va retrouver une **acétylation** + une **méthylation H3K4 +++ (c'est vraiment la méthylation de H3/H4 qui déclenche l'activation du gène)**. Cette région est **sensible à la DNase1 ++** et comporte des sites **hypersensibles** 🦵+🦵 **(ex : enhancer** 🦵**)**

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

➜ Les Domaines CO-régulés :

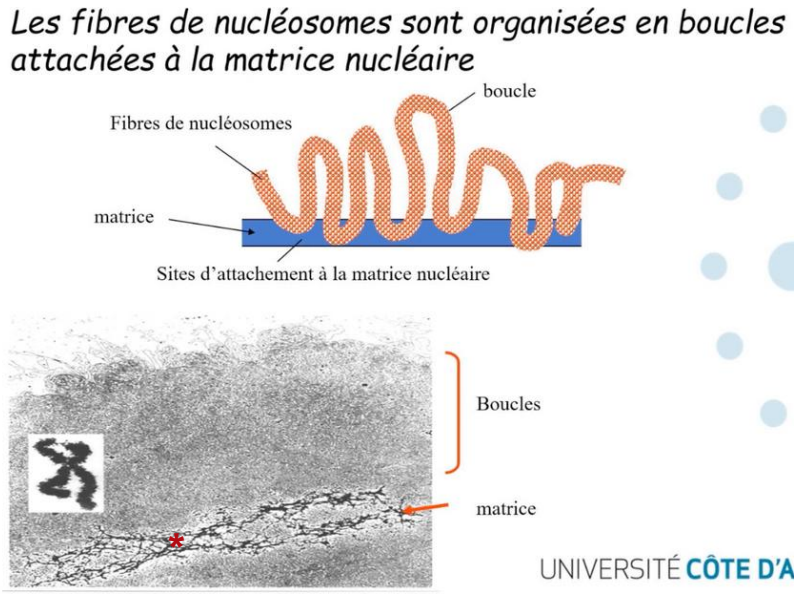


Dans un domaine **donné**, les gènes peuvent être **co-régulés** (co-**exprimés**/**réprimés**) = c'est ce qu'on appelle les **domaines de co-régulation +++**.

En effet, les **gènes ne sont PAS régulés de manières indépendantes ! +++.** Par exemple, les **insulateurs** protègent un certain nombre de **gènes** de l'action des **enhancers/silencers**.

Donc même si les gènes sont **transcrits de manière indépendante**, ils peuvent être **co-régulés +++.** Dans le génome humain la **taille moyenne** des domaines co-régulés est de **350 000 pdb**

Ça veut dire qu'il doit y avoir un **niveau d'organisation** qui fait que ces domaines ont leur **structure propre**. Elle à été découverte après une **expérience historique** des années **80** .



*** Chromosome Métaphasique**

On observe ici un chromosome.

Hypothèse : Il doit y avoir des structures au-delà du nucléosome, des ***super-structures*** de la chromatine qui sont indépendant du nucléosome pour pouvoir **condenser** et rendre **tout le matériel génétique fonctionnel.**

Alors le chercheur, pour valider cette hypothèse, à retirer tout les **nucléosomes** afin de potentiellement observer ces autres niveau de structuration.

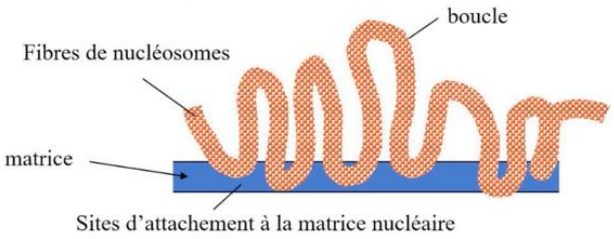
Il à donc pris des **chromosomes métaphasiques** dont il a essayé d'enlever les histones dans des conditions expérimentales particulières.

En ME, nous observons donc un **K métaphasique**. On voit très bien cette partie **fibreuse** qui correspond à la **matrice** = **Chromosome** (au centre, foncé) et les **boucles d'ADN** (en gris, tout autour). Finalement, ces **boucles d'ADN émanent de la matrice centrale +++**.

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

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

On sait maintenant que ça se passe comme ça aussi en **interphase** : on a donc une structure **fibreuse dans le noyau** = **Matrice Nucléaire** qui va posséder des **sites d'attachement** auquel la chromatine va s'attacher afin de former des **boucles**.



Sur le schéma, nous voyons la **fibre nucléosomale** en **rouge** et la **matrice nucléaire** en **bleu**. On voit très bien que la **fibre nucléosomale forme des boucles en venant se rattacher à la matrice +++**.

Le modèle en boucle est donc une **matrice** sur laquelle l'**ADN va s'accrocher** et former des **boucles** ➜ une **boucle** = un **domaine de co-régulation**. Cela forme donc une structure **au-delà du nucléosome**.

On connait aujourd'hui un certain nombre de facteurs qui interviennent dans la structuration de la matrice nucléaire, qui n'est **PAS unique** mais **complexe**, **diverse**, **dépendante** des cellules et qui aura toujours comme propriété d'**organiser le génome en boucles de chromatines :**

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

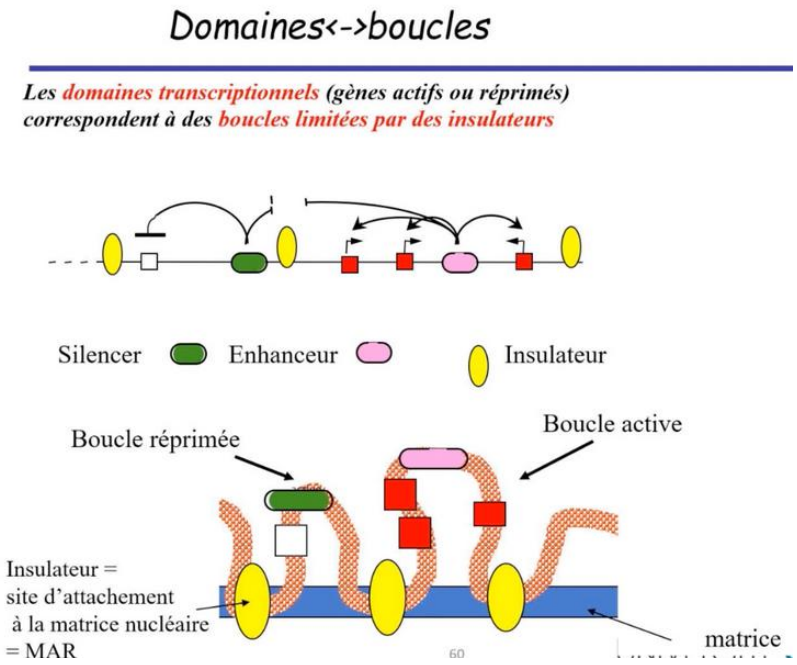
➜ **Ces différentes protéines sont essentiels à la régulation de l'expression des gènes**

Interessons-nous maintenant à la chromatine **fonctionnelle** (avec ses **élements de controles distaux** : **enhancer**, **silencer**, **insulateurs ++++**)

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

La **matrice** isole des **domaines** qui correspondent aux **boucles**. Chaque **boucle** correspond à des gènes qui sont soit **exprimés** soit **réprimés** du fait de leur proximité avec des éléments **enhancers** ou **silencers**.

Au niveau des régions **insulatrices** (forme ovale jaune sur le schéma) il y a des **sites d'attachement à la matrice nucléaire** = **MAR** (Matrix Attachement Regions). Ce sont des **éléments frontières** qui séparent physiquement les boucles.



2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

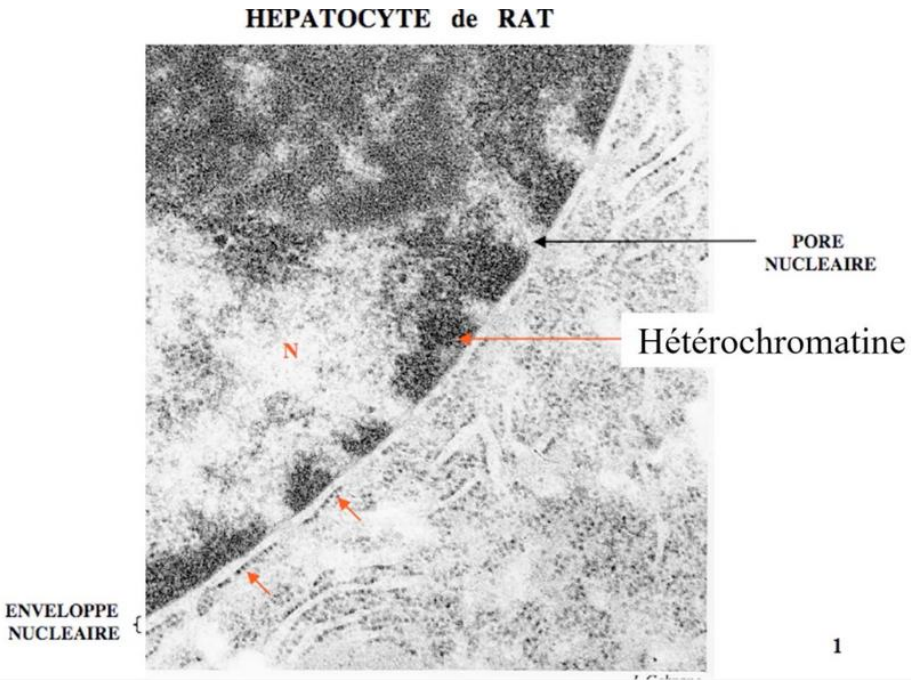
Les sites d'accrochage de la chromatine à la matrice correspondent donc à des insulateurs +++.

Ces **insulateurs** vont protéger les gènes des éléments **silencers** ou **enhancers** présents dans les **boucles** d'à côté et **segmenter les chromosomes en domaines indépendants de régulation de la transcription**

Donc les **domaines transcriptionnels** (gènes actifs ou réprimés) correspondent aux **boucles limitées par les insulateurs +++**. Ainsi, il peut y avoir une **boucle activée** par un **enhancer** d'un côté et de l'autre une **boucle réprimée**, par un **silencer**.

d) L'hétérochromatine

La **chromatine** correspond à **différents niveaux de condensation** de l'ADN dans le **noyau**. C'est lié à l'état du **cycle cellulaire** comme la **mitose** et aussi à l'**expression des gènes**. Certaines régions de nos chromosomes sont particulièrement plus **condensées** que d'autres régions de manière permanente. Ces régions particulières dont on a déjà parlé, en **DAPI** très dense, s'appelle l'**hétérochromatine**.



Voici une image en **ME** d'un **noyau d'hépatocyte de rat**, si vous regardez la partie gauche un peu sombre avec des zones délimitées par une double membrane, c'est un **cadran de noyau** ➜ La **double membrane de l'enveloppe nucléaire**.

A droite on reconnait le **REG** (Réticulum Endoplasmique Granuleux) avec les **ribosomes** qui sont **associés**, et certains **ribosomes libres**.

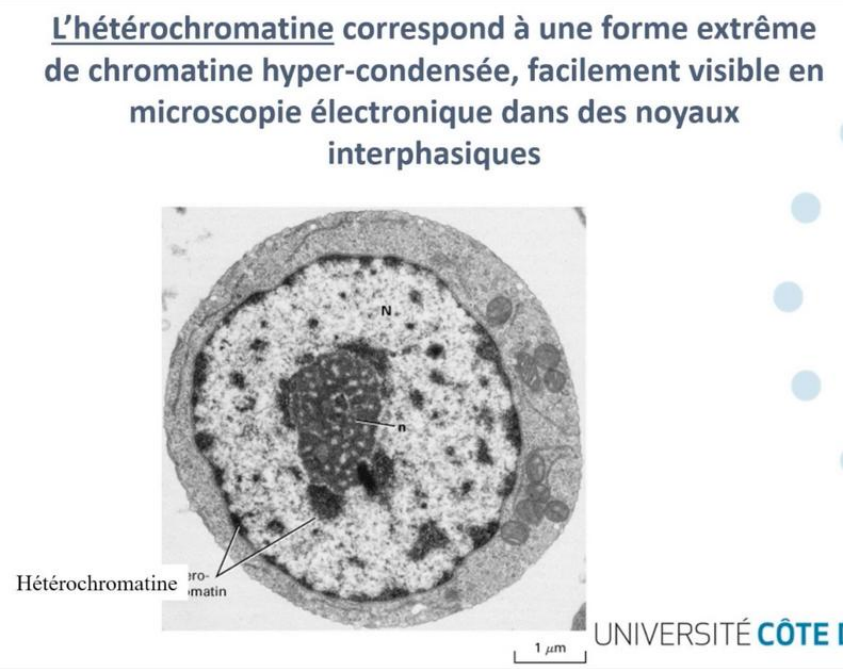
On voit la continuité entre l'**enveloppe nucléaire** et le **RE** et des petites flèches qui montrent certains **ribosomes** associés à la **membrane externe de l'enveloppe nucléaire**.

A l'intérieur du noyau, par une coloration particulière, on voit des zones **extrêmement denses aux électrons** et plus c'est condensé plus c'est **dense**. Les **zones noires** correspondent à l'**hétérochromatine**. Vous voyez très bien que cette hétérochromatine est essentiellement localisée sur l'**enveloppe nucléaire**, tapissant plus spécifiquement sa face, en contact direct avec la **lamine** des **filaments intermédiaires (pouvant s'associer à la chromatine ++)**.

On voit aussi qu'il y a des sortes de canaux entre ces domaines d'**hétérochromatine**, ils correspondent à une interruption de la **double membrane** et de **l'hétérochromatine** (discontinuité) ➜ Les **pores nucléaires**. Ces zones permettent l'échange dans les 2 sens entre le **noyau** et le **cytoplasme**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Sur cette image en ME, on voit les zones d'**hétérochromatine** sur l'ensemble du **noyau**, on voit le fait que l'hétérochromatine est essentiellement **liée à la membrane** et on voit au centre le **nucléole** qui est attaché à des **zones d'hétérochromatine**.



Par définition, l'**hétérochromatine correspond à une forme extrême de chromatine hyper-condensée (tout la chromatine est condensée mais celle-ci de façon encore plus importante), facilement visible en ME dans les noyaux interphasiques +++**.

Ce sont des zones de la cellule qui sont **condensées** tout au long du **cycle cellulaire.** On insiste sur le fait que la **chromatine** se condensait de manière extrêmement importante en **début de mitose**, pour permettre de **ségréger le matériel génétique** mais il y a certaines portions du chromosome qui sont déjà **hypercondensées** et qui ne se condensent **PAS plus** durant la **mitose**.

Ce sont les niveaux d'organisation de l'hétérochromatine qui sont vraiment importants, les gènes localisés dans cette hétérochromatine sont **très peu** ou **pas actifs** et ces zones sont importantes pour l'**organisation globale du noyau**.

Ça a été longtemps un sujet difficile à aborder car ce n'est pas facile d'organiser ces **niveaux supérieurs de condensation** et un processus génétique a beaucoup aidé les chercheurs à comprendre les **facteurs** qui interviennent dans cette **hétérochromatine** et sa **fonction** : c'est ce que l'on appelle l'**effet de position +++**.

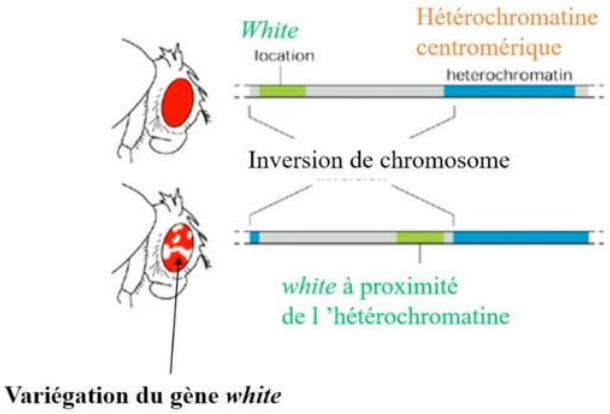
➜ **Effet de position** : En génétique, quand l'**activité d'un gène** dépend de son **contexte chromosomique** 🦵+🦵. Il as permis permis d'**étudier** et de **comprendre l'hétérochromatine**.

Imaginez un gène, il a un contrôle **proximal** et **distal**, vous le mettez à un **endroit du chromosome**, il va s'exprimer d'une certaine façon en fonction de ses **éléments de régulation** dans un type cellulaire particulier. Vous allez prendre tous ces éléments, ça peut être une très grande portion de chromosome, et vous allez le mettre dans une autre portion de chromosome et il s'exprimera **différemment**, dans la grande majorité des cas.

Il y a donc un autre **niveau** qui va déterminer l'**expression des gènes** c'est le **contexte chromosomique** qui définit l'**effet de position**. (il faut toujours penser à un gène dans une localisation particulière dans le noyau, pas seulement au gène tout court, parce que sa localisation va influencer son expression)

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Un Effet de position "Historique" = PEV = Position Effect Variegation :



Variégation du gène *white*

On a beaucoup appris en étudiant ces **effets de position** pour le **contexte chromosomique**, ce sont des expériences qui datent de la première moitité du 20ème siècle.

Un outil de choix était les **mouches**, notamment la **drosophile**. Les généticiens genèrent des mutants par **irradiation**.

Parmi les mutants obtenus, il y a en un particulier avec les yeux **variégués**, c'est à dire, aux yeux rouges mais possédant des **zones blanches**

Vous voyez une tête avec un **œil norma**l, c'est la drosophile **sauvage** qui a les yeux **rouges**.

Les généticiens de la drosophile ont donc observé un **phénotype particulier**, certains mutants où les yeux étaient avaient des **zones blanches et rouges** ils ont appelé ça une **variégation de l'expression du gène White +++**.

Le **gène White** est localisé à l'extrémité du **gène X de la drosophile**, ils se sont aperçus par des techniques de **cartographie génétique**, dans ces mutants **particuliers**, que le gène White est **toujours là**, **non muté** mais son contexte chromosomique à été modifié par une inversion de tout un bras du chromosome (par irradiation), et s'est retrouvé à proximité du **centromère** qui est une **grande région d'hétérochromatine**.

Les généticiens de la drosophile ont l'habitude d'appeler les **gènes** comme le **phénotype muté**. Quand vous n'avez pas le **gène** qui code pour la **couleur rouge**, vous avez des **yeux blancs**, et ce gène s'appelle donc **White**.

Le gène **White** code pour une **protéine** qui va déterminer la **couleur rouge des yeux de drosophile +++** (à bien comprendre). En conclusion, le gène **White** est réprimé bien qu'il ait **tous ses éléments de régulation** car il est à proximité d'une **zone d'hétérochromatine**.

Mais pas il n'est **PAS reprimé** dans *toutes les cellules*, alors que celle-ci possèdent l'**inversion**.

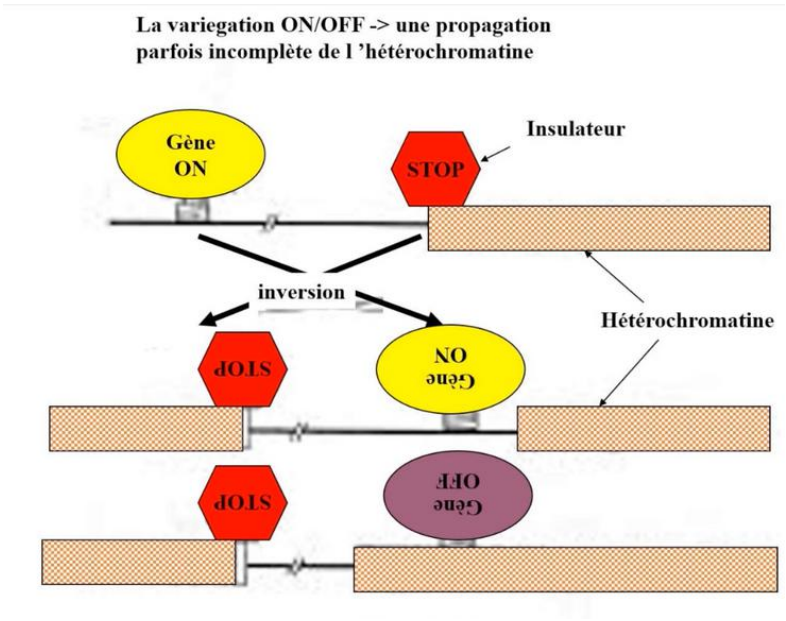
➜ **Il y'a une variégation des effets de position = PEV +++**

Il y'a sorte de balance entre des cellules **ON** et des cellules **OFF** pour un gène qui est toujours localisé de la **même façon**, ici de manière *"pathologique"*, à coté de l'**hétérochromatine centromérique**.

C'est une **observation capitale**, c'est ça l'effet de position qu'ils appellent le **PEV** (= Position Effet Variegation).

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Ce qui se passe c'est la chose suivante :



- En haut la situation **normale**, le **gène White ON**, et les **yeux rouges**. Il y a l'**hétérochromatine** avec l'**insulateur (STOP)** qui empêche cette **hétérochromatine** de se propager et donc de **réprimer l'expression des gènes ++**.

Quand vous **inversez** le chromosome, vous avez le **gène White** qui va se retrouver à proximité d'**hétérochromatine**. 2 situations sont alors possibles :

- Dans certaines cellules, le gène va toujours être **ON** bien qu'il soit à proximité d'**hétérochromatine** c'est-à-dire que l'hétérochromatine ne s'est **PAS propagée sur le gène**, il n'a pas **condensé** le **gène White** c'est une décision qui a été prise au cours du **développement** de certaines cellules des yeux.

- Dans d'autres cellules, comme l'**insulateur n'est pas là**, l'**hétérochromatine va se propager** et **réprimer l'expression du gène White**.

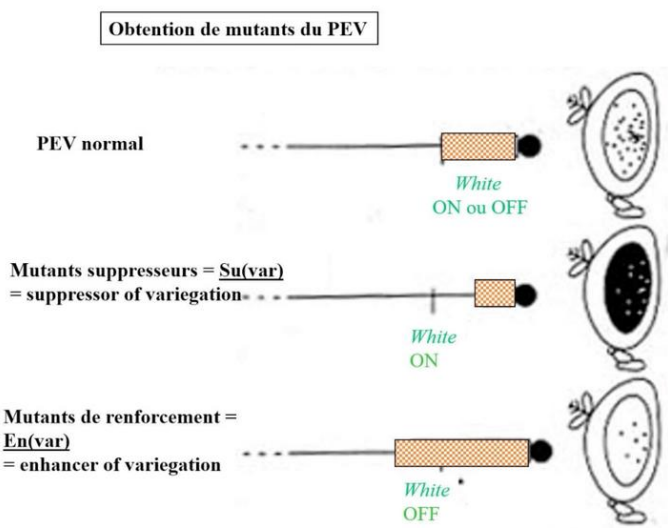
Les yeux vont être **blancs** et comme ce sont certaines cellules du même individu (et pas toutes) cela explique l'effet "**variégué**", de certaines cellules qui sont **blanches** ou **rouges**.

Sans rentrer dans les détails on peut faire des **mutations secondaires** :

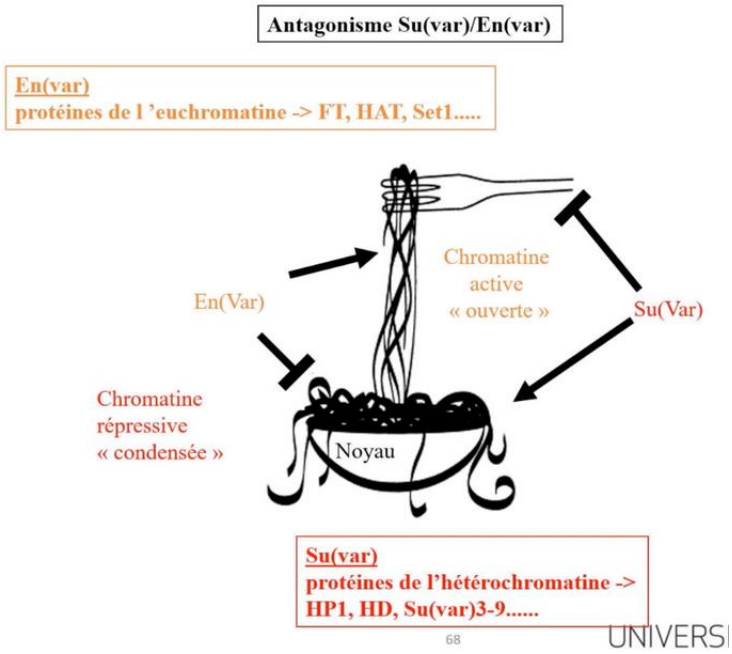
En haut vous avez un **oeil de drosophile**, le **noir** sur le schéma c'est **rouge** dans la réalité et le **blanc** c'est le **blanc**. Vous partez des yeux "**variégués**"

- Soit vous allez **supprimer la variégation** et revenir à un **œil rouge**, c'est un gène **supresseur de variégation** **Su(var)** dans ce cas ce sont des **mutations perte de fonction** qui vont affecter des éléments de l'**hétérochromatine**.

- Soit vous allez chercher des drosophiles encore **plus "variéguées"**, encore **plus blanches** ce sont les mutations **enhancer de variégation** **En(var)** qui vont définir des **gènes** qui vont favoriser l'**effet de l'hétérochromatine** et par conséquent la **répression génique**.



2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.



Imaginez que vos **Chromosomes** soient un plat de **spaghettis** et que votre noyau soit votre **assiette**.

Les spaghettis, au sein du noyau, sont complètement **entremêlés** (**hypercondensés** = **hétérochromatine**) c'est un peu compliqué à manger comme ça, il vous faut donc une **fourchette** pour démêler ce plat de **spaghettis**, et l'**ouvrir** et c'est exactement ce que font les **gènes En(var)** (**ouverture chromatine**) tandis que les **gènes Su(var)** (**fermeture chromatine**) vont contribuer à rendre les spaghettis **compactes** et **indigestes**.

Les protéines En(Var) et Su(var) vont contrôler l'état de condensation d'une structure hyper-condensée = l'hétérochromatine

Les **protéines Su(var)** correspondent à des **protéines de l'hétérochromatine** = **HP1**, **Su(var)3-9**, des **histones désacétylases**

Les **protéines En(var)** correspondent à des **protéines de l'euchromatine**, actives pour la **transcription** = **facteurs de transcription**, **HAT**, des **histones acétyltransférases**

Comment cette répartition entre les deux domaines se fait ?

Par l'intermédiaire de ces protéines modifiant la chromatine qui agissent de la façon suivante :

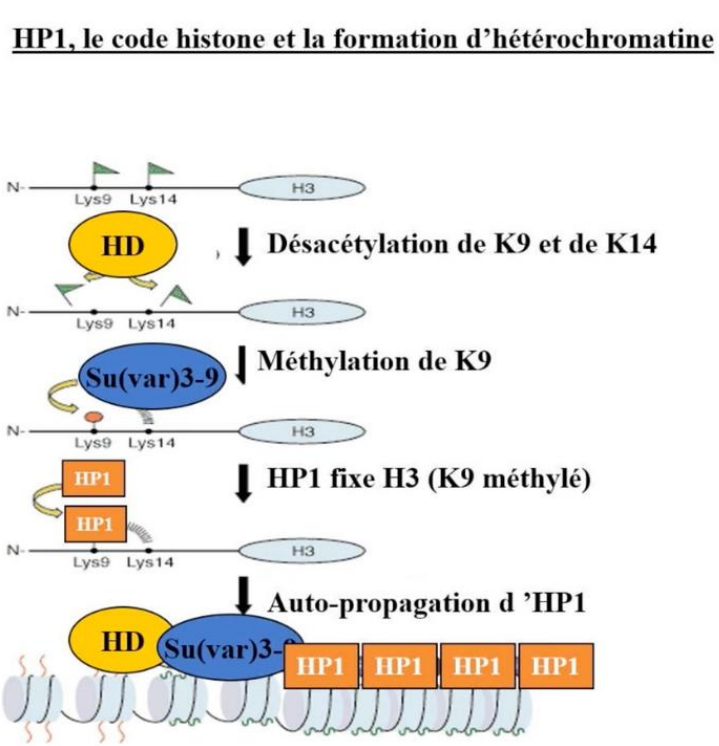
Au niveau de l'**histone H3** (initialement acétylée), il y a tout d'abord une **série de réactions**.

D'abord on a des **désacétylations** de **K9** et **K14** permettant ensuite la **méthylation de K9** de l'**histone H3** par une **protéine Su(var) 3-9 (=Méthylase)**.

Une fois que cette **lysine H3** est **méthylée** elle va servir de **site de fixation** pour les **protéines à chromodomaine**, notamment la protéine **HP1**, qui va donc s'y fixer et lire cette méthylation.

HP1 par elle- même va enfin attirer d'autres protéines **HP1** qui vont s'**auto-propager** en bas, de droite à gauche, par l'action combinée **de l'histone désacétylase HDAC** et de **Su(var) 3-9**

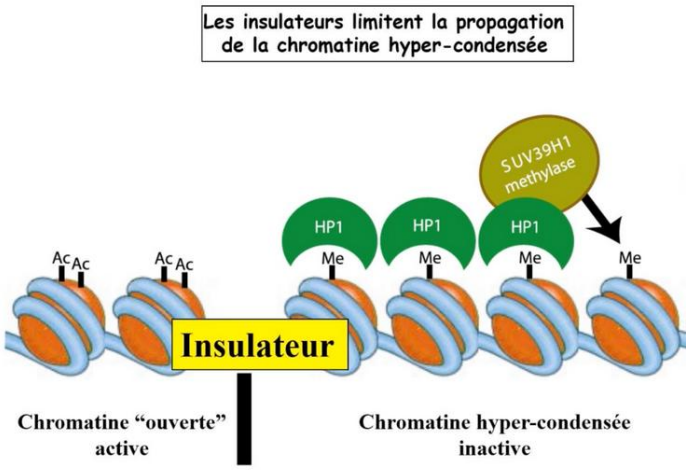
-> Propagation de l'hétérochromatine.



2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

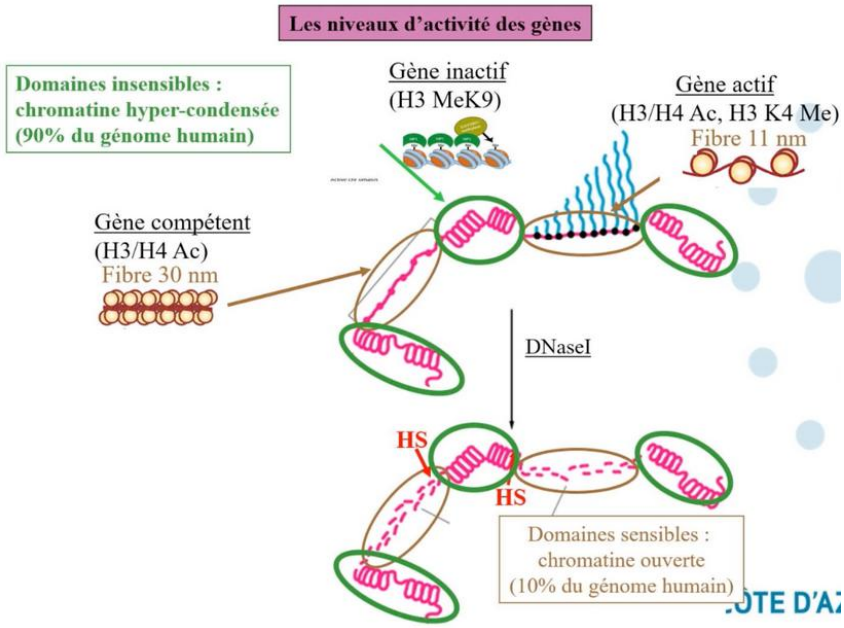
Dans le cas de l'effet de positions, il n'y a **PLUS d'insulateurs**, donc le gène White va être, pour certaines cellules, envahi par l'**hétérochromatine** qui va bloquer sa **transcription**.

Dans la vraie vie, on a une structure dans notre **génome** que l'on peut schématiser ainsi :



D'un côté la chromatine « ouverte » et de l'autre les insulateurs qui l'isolent de la chromatine hyper-condensée .

Faisons le lien maintenant avec les différentes **niveaux d'activités géniques** possibles :



Notre génome est donc composé d'une **série** de différents **domaines** :

- Des **Zones Inactives**, aux gènes **OFF**, qui sont **résistantes/insensibles à la DNAse1** et caractérisée par **K9 triméthylé** qui va être donc **hypercondensée**

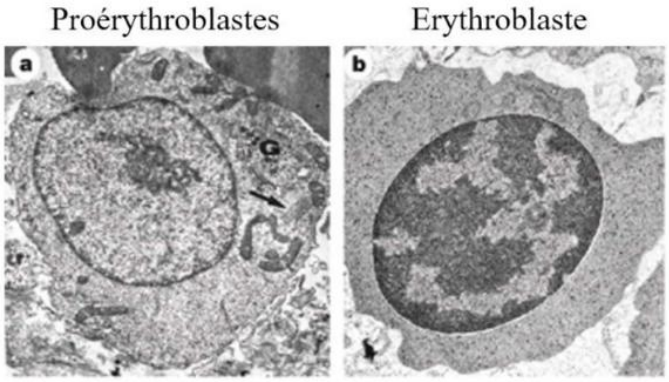
- Des **Zones Compétentes**, aux gènes **compétents**, associées à la fibre **30nm** avec des **histones H3/H4 acétylées**. On a **PAS encore transcrit le gène +++**

- Des **Zones Actives**, aux gènes **ON**, dont la **K4 de l'H3 est méthylée** en plus de posséder des **H3/H4 Ac +++**

On a donc pu superposé les **différents niveaux d'organisation de la chromatine** avec les **différents niveaux de compétence** et d'**activation transcriptionnelle** des gènes correspondants.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

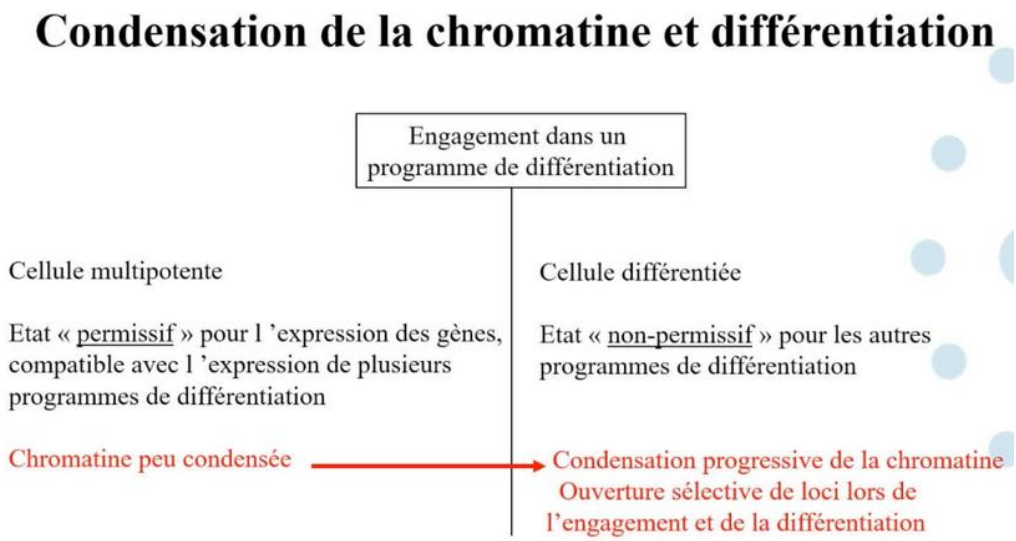
Tout cela joue un rôle très important dans la **différenciation cellulaire.** Au cours de la différentiation ces **profils chromatiniens de condensation** vont se **modifier** :



Nous nous intéressons au profil de condensation de la chromatine dans les **cellules hématopoïétiques** responsable de la synthèse des cellules sanguines.

Sur le **proérythroblaste** à gauche vous voyez que le **noyau en ME** est essentiellement **ouvert** alors que dans l'**érythroblaste**, à droite, il s'est largement **condensé**.

On part donc initialement d'un programme transcriptionnel relativement ouvert (cellules souches, progénitrices) qui va progressivement, au cours de la différenciation, se restreindre, pour finalement exprimer des gènes uniquement essentiels à la fonction cellulaire +++



C'est une **règle générale**, pour reprendre les notions de cellules souches, dans les cellules **multipotentes** on a donc un état **permissif** qui va permettre l'**expression de beaucoup de gènes compétents** pour éventuellement les **activer** en cas de demande de **différentiation**, 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 différentiation** 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 **différentiation** et on considère qu'une cellule **différenciée** dans le corps humain a à peu près **90% de sa chromatine** qui est **hypercondensée** laissant libres de s'exprimer les bons gènes **ouverts** sur **10% dans une cellule** qui est **différentiée de manière terminale**.

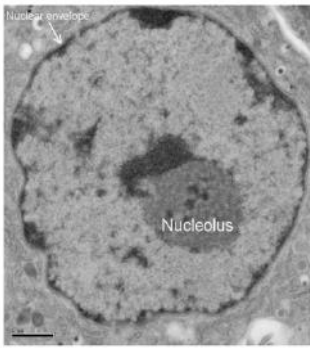
On rend donc **silencieux** tous les gènes qui servent à rien pour un type de cellule.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

e) Corps nucléaires et Territoires Chromosomiques

Un autre niveau d'organisation est constitué par les corps nucléaires et les territoires chromosomiques.

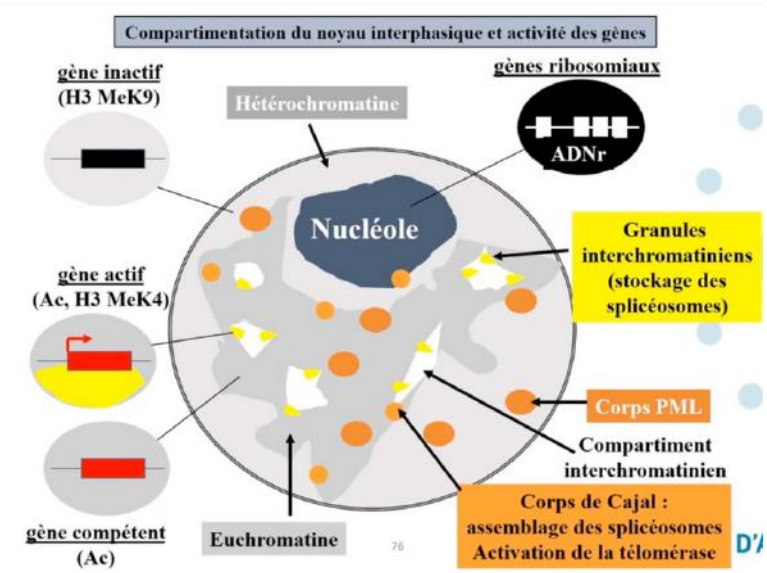
➜ **Les Corps nucléaires :**



Commencons par le **nucléole** : c'est une structure nucléaire **proéminente** qu'on voit facilement en microscopie conventionnelle ou à contraste de phase (ici ME), ce qui lui a valu son nom d'**organite** bien qu'il soit entouré d'**aucune membrane ++**.

Tout cela pose des questions **fonctionnelles** : *La localisation nucléaire d'un gène (actif, compétent ou inactif) est-elle importante pour son programme transcriptionnel ?*

Pour répondre à cette question il faut comprendre que le noyau n'est pas un "**sac**" où tout est mélangé de **manière indifférente** mais en réalité **extrêmement bien structuré**, où on retrouve :



- Le **nucléole** qui est le **centre de synthèse des pré-ribosomes**, c'est un **domaine nucléaire dynamique**, son activité reflète un **équilibre** entre le niveau de **synthèse des ARNs ribosomiques** directement lié à la **croissance** et à la **prolifération cellulaire**. La **petite** et la **grande sous-unité** du ribosome seront ensuite exportés vers le **cytosol** pour la traduction.

- L'**hétérochromatine** qui tapisse la partie **périphérique** du noyau

Les **corps nucléaires :**

- Les corps **PML**

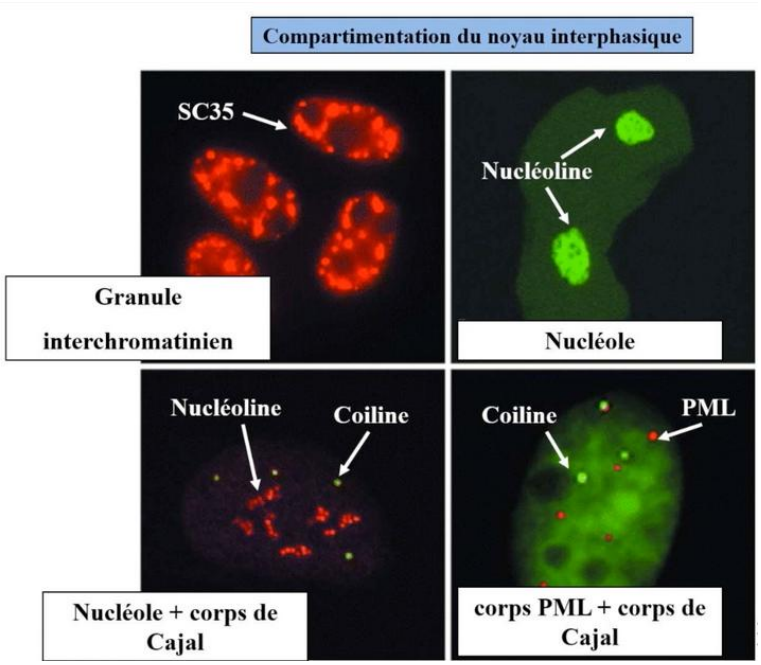
- Les **granules inter-chromatiniens** qui constituent des zones de **stockage** de **facteurs d'épissage** (les splicéosomes) (à coté d'eux se trouvent les gènes actifs et compténts)

- Les **Corps de Cajal** permettent l'assemblage des **splicéosomes** et l'activation d'**enzymes utilisant l'ARN** (comme la télomérase)

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

Les **gènes actifs** et **compétents** sont localisés à **proximité des granules inter-chromatiniens**, à la surface des zones **plus condensées d'hétérochromatine**

Pour chacun de ces **corps nucléaires**, on a des **marqueurs que l'on connait**. Voici quelques exemples en **microscopie** :

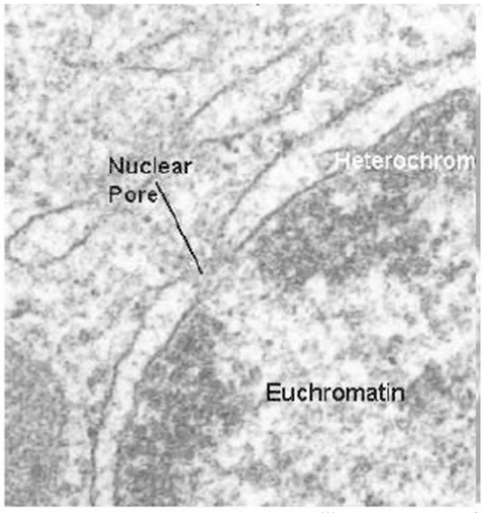


- On voit des **granules inter-chromatiniens** marqués par la protéine **riche en sérine et en arginine** : **SC35**
- Le **nucléole** qu'on peut caractériser en immunofluorescence grâce à la **nucléoline**
- Les corps de Cajal par la **coiline**
- Les corps de Cajal et les nucléoles/corps PML qu'on peut **co-visualiser** en fonction de anticorps qu'on utilise
- Les corps **PML** par la **protéine PML**

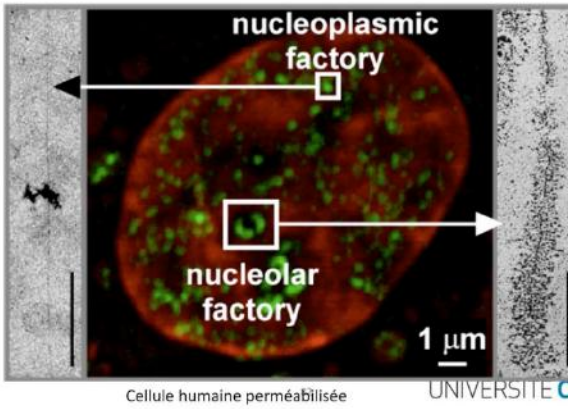
*Où se situent les gènes inactifs = l'**hétérochromatine** ?*

Vous avez un agrandissement en ME avec :

- La **Double enveloppe nucléaire**
- Le **Pore nucléaire**
- L'**euchromatine**
- L'**hétérochromatine ➜** Celle-ci s'interrompt au niveau du **pore nucléaire** la plupart des gènes inactifs sont localisés dans l'**hétérochromatine et plutôt en périphérie du noyau**.



*Où se situent les gènes actifs = l'**euchromatine** ?*



On les visualisent en **microscopie** en faisant des marquages avec des **précurseurs de la transcription** comme le **ribonucléotide UTP marqué** : **Br-UTP**.

On les visualise en **vert** (= les points clairs) vous voyez les **zones de transcription actives du génome**, ils sont plutôt localisés à l'**intérieur du noyau, vers le milieu** : en **périphérie d'une autre structure ➜** les **territoires chromosomiques**

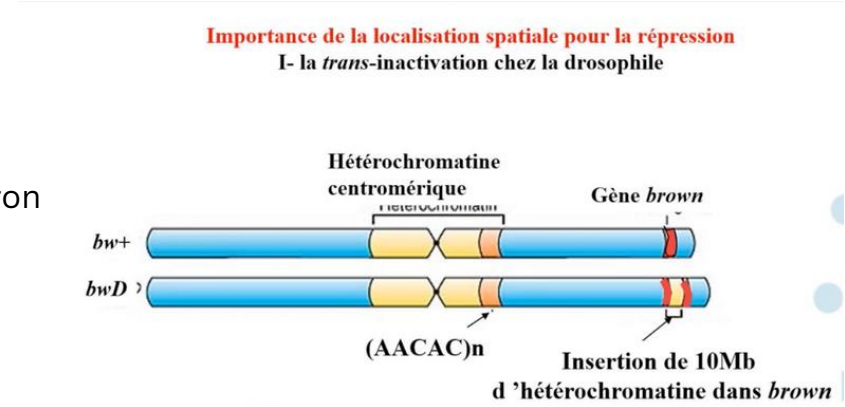
2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

L'hétérochromatine des gènes inactifs prédomine en périphérie du noyau tandis que l'euchromatine des gènes actifs prédomine au milieu/centre du noyau (cf Biomol)

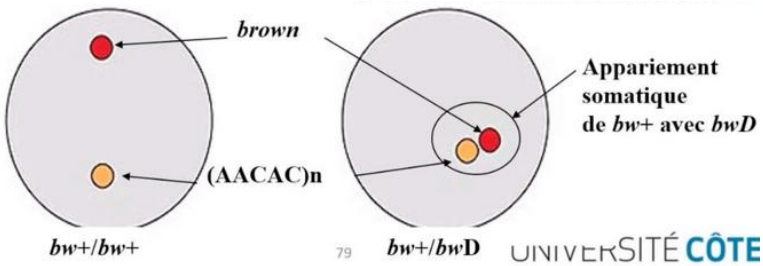
Plus tard, des expériences réalisée chez la **drosophile** ont permis de déterminer que la **position d'un gène dans le noyau**, **indépendamment de son contexte chromosomique**, est **essentielle pour son expression.** Ce concept est né de l'étude d'un **mutant repressif particulier** d'**effet de position chez la drosophile, d'un autre gène = gène brown** (= la couleur de la drosophile).

On a un gène qui est soumis à un **effet de position**, qui est donc **variégué**, mais qui est **dominant**.

Il s'agit dans ce cas là d'une **insertion** d'environ **10Mb d'hétérochromatine** provenant du centromère, qui du fait des **radiations**, a été inséré en **plein milieu du gène brown.**



On se trouve dans une **situtation d'héterozygotie** comme le gène brown de l'autre allèle est **parfaitement sauvage** (bw+), mais le phénotype est **mutant** (cf dominance).

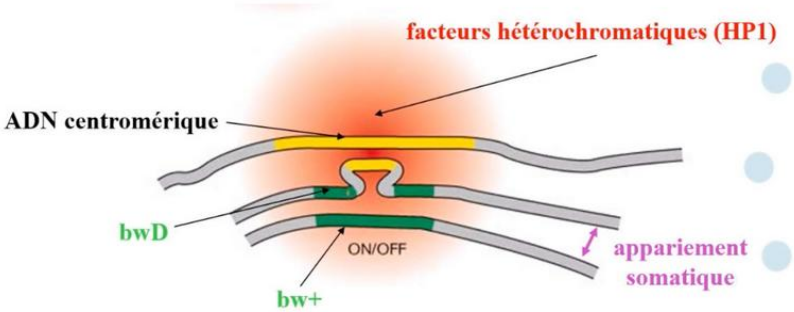


Les chercheurs ont effectué par microscopie des **marquages** de cellules de drosophile **sauvage parentale (bw+/bw+)** et avec **mutation dominante (bw+/bwD)**.

Ils ont fait un marqueur qui correspond à une séquence **centromérique** et au **gène brown**.

Dans une cellule normale, les deux gènes **brown+** sont localisés à **distance du centromère**
Alors que dans le mutant **BrownD**, même le **gène normal** va se trouver **associé à l'hétérochromatine**.

Explication :

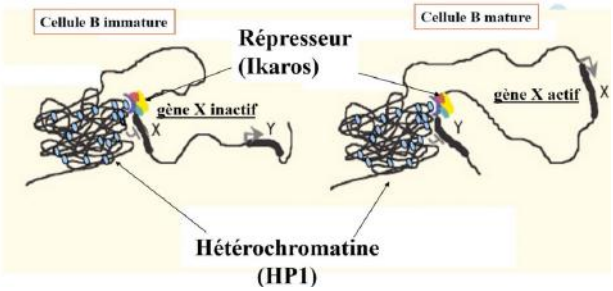


Du fait de l'**appariement somatique** des **deux Chromosomes homologues**, l'allèle **normal** va être **entrainé** par l'insertion de ces **10Mb** sur l'**autre allèle** vers l'**hétérochromatine**, donc ça veut dire que **même le gène normal s'exprime pas**, simplement parce que sa **localisation nucléaire** est modifiée du fait de l'**allèle mutant** qui l'a entrainer vers l'**hétérochromatine**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

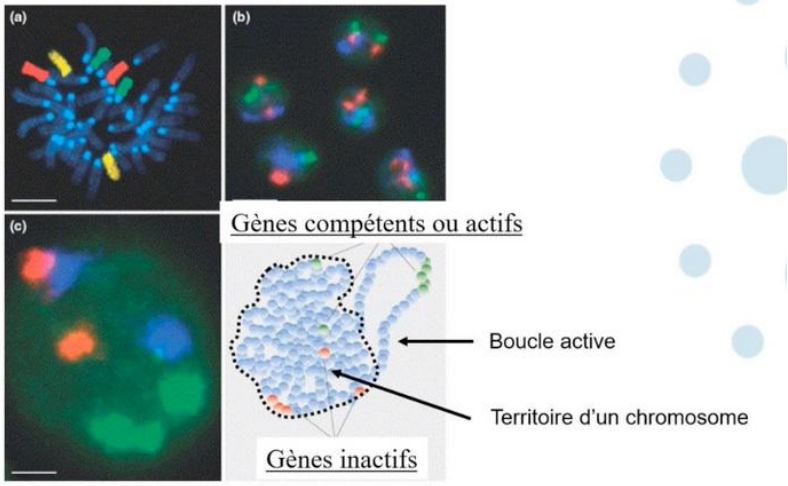
Le positionnement spatial d'un gène est une information de régulation essentielle à son expression. La régulation de l'expression des gènes ne s'effectue donc ~~PAS de manière identique~~ quel que soit leurs localisation dans le nucléoplasme

Ce concept né de la drosophile est **généralisable**. Par exemple, il à été montré depuis que le même phénomène de **répression** survenait pour des facteurs intervenant dans la **différenciation des lymphocytes** chez la souris et chez l'homme aussi = les **facteurs de la famille Ikaros** :



Au cours de la **maturation**, de la **différenciation** des **cellules B**, ces gènes **Ikaros** vont entrainer, de façon naturelle, les gènes **inactifs** vers l'**hétérochromatine** pour stabiliser cet état de **différenciation** et de **programme transcriptionnel**.

➜ **Les Territoires Chromosomiques :**



On a encore un **niveau supérieur** d'organisation des chromosomes que sont les **territoires chromosomiques**. On peut les mettre en évidence par **immunolocalisation** (FISH) dans le noyau

En effet, c'est ainsi qu'on peut repérer les **chromosomes** avec des **sondes flurorescentes spécifiques** et des **colorations** pour chacun des chromosomes ➜ **Chromosome Painting**

On peut les visualiser en **métaphase**, mais en **interphase** aussi car les chromosomes ne se **mélangent pas beaucoup**, et définissent autant de **territoires chromosomiques**.

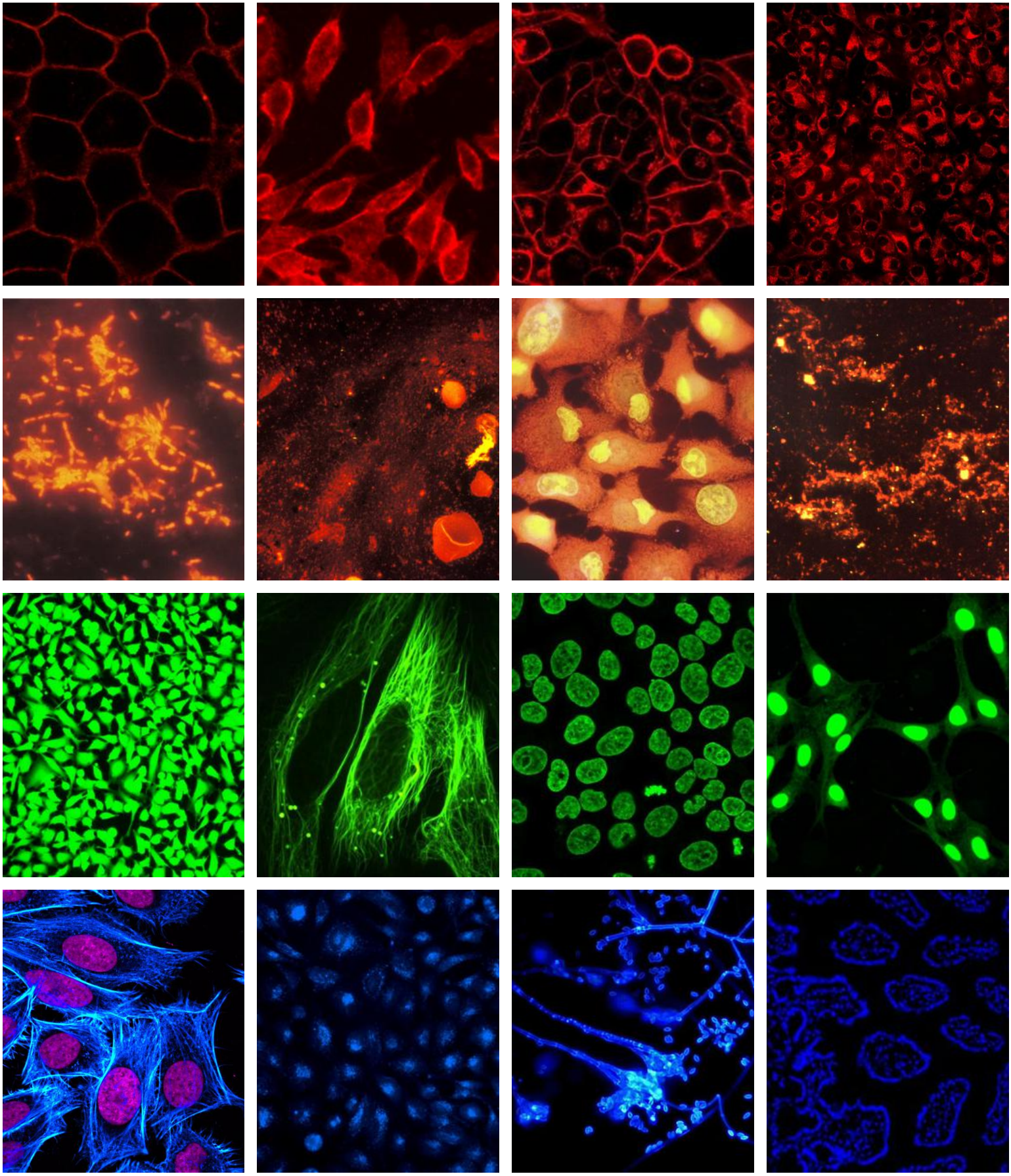
Chaque chromosome occupe un **espace défini même en interphase +++ = territoire Kique**
On est dans une cellule **diploïde** donc les tâches sont en **double** (= une tâche par chromosome).

Si on regarde en termes d'**organisation fonctionnelle**, on s'aperçoit que les **gènes inactifs (hétérochromatine)** sont plutôt localisés **à l'intérieur du territoire du K + ** en question. Le **gène actif** de ce **territoire chromosomique** va **sortir** et se retrouver à l'**extérieur du territoire** pour pouvoir être **transcrit activement**, c'est un processus **dynamique** : on va avoir une **boucle active**. Le gène va revenir à l'intérieur quand il sera **réprimé**.

2023-2024 Le tutorat est gratuit et à consommer sans modération. Toute reproduction ou vente est interdite.

DÉDIS TIME (LES #GIGIDIS) : EDITION BIOCELL IS RED

- **Un gros shout-out à toi, P1 intrépide, qui a terrassé la complexité du noyau! Mes vies, aujourd'hui est un jour bien spécial! J'ai concocté pour vous une sélection de clichés microscopiques à couper le souffle qui vous feront succomber au charme de la biologie cellulaire (je sais que c'est chiant juste après un cours mais c'est pas fini les dédis 😆) .**



MESSAGE DE FIN DE MES FICHES

Avant de partir, je voulais vous remercier du fond du coeur pour avoir parcouru ces fiches que j'ai minutieusement préparés.

Franchement, je me suis bien amusé avec les dédis, les erratas, les images pixelisées, et tout le bazar.

Surtout, rappelez-vous que la persévérance et le travail sont les clés de la réussite.

N'oubliez pas de prendre des pauses régulières pour vous ressourcer, et n'hésitez pas à solliciter vos parrains/marraines, tuteurs, famille ou amis si vous rencontrez des difficultés (pas seulement en ce qui concerne la médecine ou vos études hein 🤗) .

Les erreurs ne sont pas des échecs, mais plutôt des opportunités pour apprendre et grandir. Je vous souhaite à tous un succès retentissant dans vos études et dans votre vie personnelle.

Je suis heureux de vous avoir accompagné dans cette aventure et je suis sûr que vous avez acquis des nouvelles connaissances qui vous seront utiles au futur .

Soyez curieux, posez des questions, et partagez vos idées avec les autres.

Enfin, je vous encourage à continuer à explorer le monde qui vous entoure et à poursuivre vos passions. La vie est courte, alors profitez-en au maximum aussi (pas trop non plus 😆) et saisissez chaque instant tout en travaillant dur pour atteindre vos objectifs.

Merci encore et bon courage !

