

Organisation

du Noyau



Pr Gilson 🇫🇷 - ECUE 1

By Maxencéahle ✨

Coucou les P1, Je tenais déjà à vous féliciter d'être là à la Tut'Rentrée du S1, vous êtes les boss à commencer à travailler alors que la plupart de vos potes sont encore en vacances. Je sais que cette année fait peur, mais ne vous inquiétez pas, tout va bien. se passer! 🍪 Voici le premier cours de biologie cellulaire avec notre merveilleux Gigi 🇫🇷. Vous allez voir la biocell c'est LA meilleure matière de l'année. Travaillez la matière et elle vous le rendra pour l'examen. Si vous voyez cette police marquez en italique ce sont mes petites explications supplémentaires etc...

PLAN DU COURS

I - Notion de relation génotype-phénotype

- A. Étapes de l'expression génique
- B. Rappels de l'expression génique

II - Notion de régulation de l'expression des gènes

- A. Le contrôle proximal
- B. Le contrôle distal
- C. Le contrôle de la transcription par les insulateurs

III - Structure de la chromatine

- A. Le nucléosome
- B. La fibre nucléosomale
- C. Domaines et boucles
- D. L'hétérochromatine
- E. Corps nucléaires et territoires chromosomiques

I. Notion de relation génotype-phénotype

A. Étapes de l'expression génique

On appelle génome, **l'ensemble des séquences d'ADN présent dans les chromosomes** donc dans le noyau. On parle alors de **génotype**.

L'ADN s'exprime d'abord sous forme d'**ARN** par le processus de **transcription**. On appelle alors **transcriptome, l'ensemble des ARNs**

Remarque :

Il y a **un génome par cellule** ! Toutes les cellules n'ont **pas le même génome** du fait des **différentes mutations** qu'il peut y avoir. Mais dans l'ensemble, on considère qu'il y a "à peu près" le même génome dans nos cellules

PAR CONTRE, à partir du même génome, toutes les cellules ne disposent **pas du même transcriptome**. Il s'agit de l'**expression phénotypique du génome**.

Mais qu'est-ce que ça veut dire ce truc #jeunePlendétresse ??? En fait c'est tout simple, chaque cellule va transcrire son propre ADN pour en faire de l'ARN. Par exemple, certaines cellules vont transcrire le gène responsable de la couleur des yeux, alors que d'autres cellules ne le feront pas.

Certains ARNs, vont agir en tant qu'ARN (ex: ribozymes = catalyseur d'une réaction chimique), alors que certains **ARN vont se traduire en protéines**, ce sont les **ARN messagers** 🙄.

Comme on vient de le voir, toutes les cellules n'ont **pas le même transcriptome** donc n'ont pas le même **protéome = ensemble des protéines**

le "-ome" est utilisé en biologie pour décrire l'ensemble des molécules d'une cellule ou tissu. On peut maintenant avec la technologie connaître toutes les collections de ces molécules

Défini'TUT :

gène : unité fonctionnelle de l'ADN.

lipidome : ensemble des lipides

génom : ensemble des gènes

transcriptome : ensemble des ARN

métabolome : ensemble des métabolites

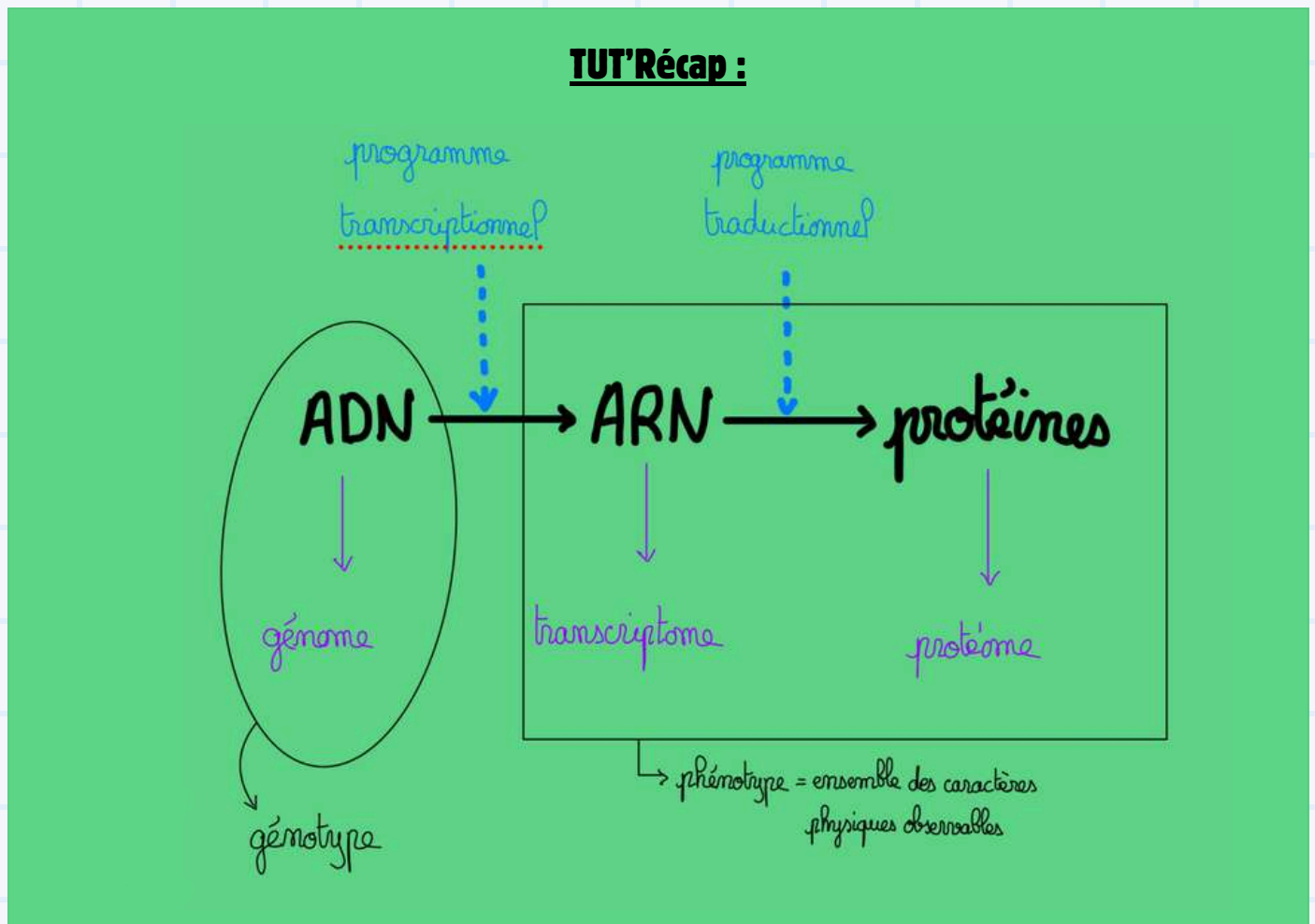
protéome : ensemble des protéines

Ainsi, on passe du génotype au phénotype par un **programme transcriptionnel** couplé à **programme traductionnel**. *Vous verrez ça en Biomol/Génétique ! Big up à Maïssa et Roxane*

En fait tout ça est **faux** ça ne se passe pas comme ça dans la nature (*merci Gigi 🇫🇷 de nous avoir expliqué tout ça mdrrrr mais apprenez 🙄*). En réalité ce n'est pas l'ADN seul qui définit le génotype mais l'**ADN associé à des protéines** aka la **chromatine** ✨.

On ne parle plus de génome mais d'épigénom (=ensemble de l'ADN associé à des protéines).

De la même manière, toutes les cellules n'ont **pas le même épigénome** bien qu'elles aient le même génome (*on se rappelle qu'on considère que c'est le même, même si c'est pas vraiment le cas dans la réalité. Donc en QCM, on retient **le même***)



B. Rappels sur l'expression des gènes

Comme vu tout à l'heure, tous les gènes ne s'expriment pas, donc ils ne sont pas transcrits et donc, il y a différents transcriptomes en fonction du type cellulaire.

Il existe des gènes "ON" qui s'expriment, et "OFF" qui ne s'expriment pas. MAIS ATTENTION, s'ils sont OFF dans une cellule, ça ne veut pas dire qu'ils sont OFF dans d'autres cellules.

Lorsque les gènes sont "ON", ceux-ci vont être **transcrits en ARN** dans le noyau. Puis vont subir le **phénomène d'épissage** (= maturation qui consiste à couper l'ARN pour ne garder que les parties qui vont servir pour la traduction. *vous allez voir ça en biomol !!!!*)

#coucouuuuuuu la biomooooool)

Une fois l'épissage fini, il est transporté (l'ARN) par des pores nucléaires vers le cytosol, où il sera traduit en protéine.

un pore nucléaire est une sorte de pont/tunnel localisé sur le noyau et permet le passage de l'ARN dans le cytosol = cytoplasme sans organites (mitochondries...)

Focus sur gène ON et gène OFF :

TUT'Récap :

- gène ON = le gène s'exprime.
- gène OFF : le gène ne s'exprime pas

mnémo : pensez in english please ON/OFF = allumer/éteindre

Certains gènes sont ON et d'autres sont OFF, cela va dépendre du programme transcriptionnel qui est responsable du **transcriptome** (on l'a déjà vu plus haut)

⚠️ **IMPORTANT** ⚠️ : la décision pour une cellule d'activer ou pas ses gènes **ne dépend pas que d'elle**. En effet, elle se fait aider ! Soit par des signaux qui viennent de :

- l'extérieur de la cellule → signaux exogènes (*exo* = *extérieur*),
- l'intérieur de la cellule → signaux endogènes (*endo* = *intérieur*).

2 cas de figure :

1. Cas simple : Activation d'**un seul gène** dans la cellule → programme transcriptionnel ne dépend que d'un seul gène.

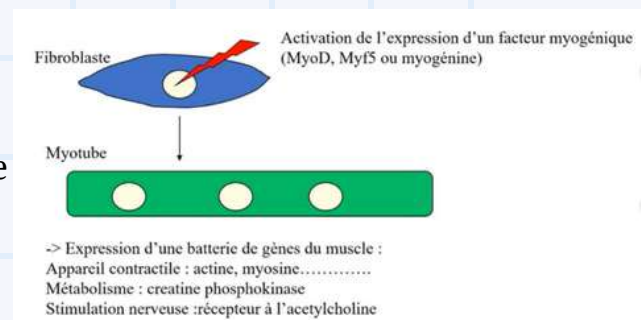
On utilise un fibroblaste [(=cellule de tissu conjonctif), (on s'en fout retenez juste que c'est une cellule, vous verrez ça au s2 avec l'histo ! #coucou l'histooooo big up à Janna et Marion)] sur lequel on **modifie l'expression d'une famille de gène** intervenant dans la différenciation musculaire. #gomuscu 🏆 (mais on ne peut pas dire que le fibroblaste est une cellule musculaire attention !)

En gros, dans un fibroblaste on va exprimer les gènes qui **permettent** à la cellule de se différencier en une cellule musculaire. **MAIS COMMENT ??????????**

Grâce à un **facteur myogénique** !! En activant ce facteur, le fibroblaste va se transformer en myotube = cellule musculaire

Que se passe-t-il au juste ? Le facteur myogénique va entraîner l'expression de notre famille de gène :

- appareil contractile : actine, myosine
- métabolisme : créatine phosphokinase
- stimulation nerveuse : récepteur à l'acétylcholine



2. Cas compliqué : la réalité : différenciation des cellules hématopoïétique

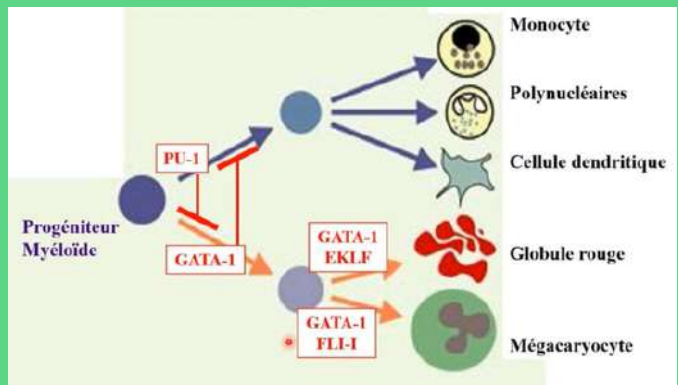
→ cellule hématopoïétique = cellule du sang → globule rouge

(ne prenez pas peur avec le paragraphe qui va suivre, il ne faut pas apprendre par cœur ce qui va suivre, juste comprendre le principe. Je vais noter ce que le prof dit et je vous ferez une explication simplifiée pour que vous compreniez)

Version prof : Prenons des progéniteurs myéloïdes, il y a une ressemblance et une utilisation entre **cellules souches** (CS) et **cellules progénitrices** (Pr). Les CS hématopoïétiques donnent des lignées différentes des Pr myéloïde. Ce qui est intéressant c'est qu'avant de donner des cellules totalement différenciées qui se trouveront dans la circulation sanguine, il va y avoir tout un chemin de programmations transcriptionnelles dépendant de facteurs de transcriptions uniques.

Explica'TUT :

En gros, les **CS hématopoïétiques** peuvent donner plusieurs types de progéniteurs dont les myéloïdes. On voit bien que lorsque l'on va avoir un **Pr myéloïde**, celui-ci peut se **différencier en deux types de cellules** en fonction de s'il exprime PU-1 ou GATA-1, et ces cellules vont pouvoir elles-mêmes donner



différentes cellules différenciées pour donner par exemple des globules rouges. On voit bien que ce sont les **facteurs de transcriptions** (PU-1 ou GATA-1...) qui vont **guider** vers la **différenciation finale**. Ça suit donc un chemin transcriptionnel !

À partir d'un progéniteur myéloïde, si on exprime le **facteur de transcription** :

→ PU-1 : la cellule se dirige vers la lignée monocyttaire (monocyte, polynucléaire et cellules dendritique)

→ GATA-1 : la cellule se dirige vers des cellules de lignée rouge (GR, mégacaryocyte)

⚠ Par contre, **si PU-1 est exprimé, il va inhiber GATA-1 et inversement**. On dit que PU-1 est activateur du gène de la lignée monocyttaire et inhibiteur du gène de la lignée rouge (pareillement pour GATA-1) ⚠

On voit aussi qu'il y a d'autres étapes de différenciation, donc on a une combinaison de facteurs de transcriptions qui aboutit à notre cellule totalement différenciée. Ainsi, si on obtient un monocyte, on parle de l'**histoire de la cellule souche** ✨

D'où l'importance de la **diversité des programmes transcriptionnels** dans la fonction des cellules et tissus

C'est l'action combinée de plusieurs gènes qui génère la diversité des programmes.

En fait c'est encore plus compliqué que ça (*vous inquiétez pas c'est pas si dur que ça vous allez tout comprendre après !*). Pour que le **gène s'exprime ou ne s'exprime pas**, ça ne va pas dépendre que des facteurs de transcription, mais aussi de la structure de la chromatine !

TUT'Rappel :

chromatine = ADN + protéines

Le gène s'exprime lorsque la **chromatine** est **ouverte** et le gène ne s'exprime pas lorsqu'elle est **fermée**. Donc quand c'est ouvert, c'est accessible aux facteurs de transcription, et quand c'est fermée, c'est inaccessible aux facteurs de transcription.

On comprend donc que ce n'est pas le génome qui **joue un rôle dans l'expression des gènes** mais de l'**épigénome** (ensemble ADN + protéines) !

On a donc la différence entre phénomènes génétiques et épigénétiques !! :

- si un signal modifie l'expression d'un gène = le signal active le gène mais une fois qu'il disparaît le gène n'est plus actif/ne s'exprime plus, alors on parle de **régulation génétique**

- si un signal exogène à la cellule active le gène en ON ou OFF, mais qu'une fois le signal retiré, les gènes continuent d'être ON ou OFF, alors on parle de **régulation épigénétique** (*pourquoi ? parce que dans ce cas-là, la chromatine joue un rôle #ferméeoupas*)

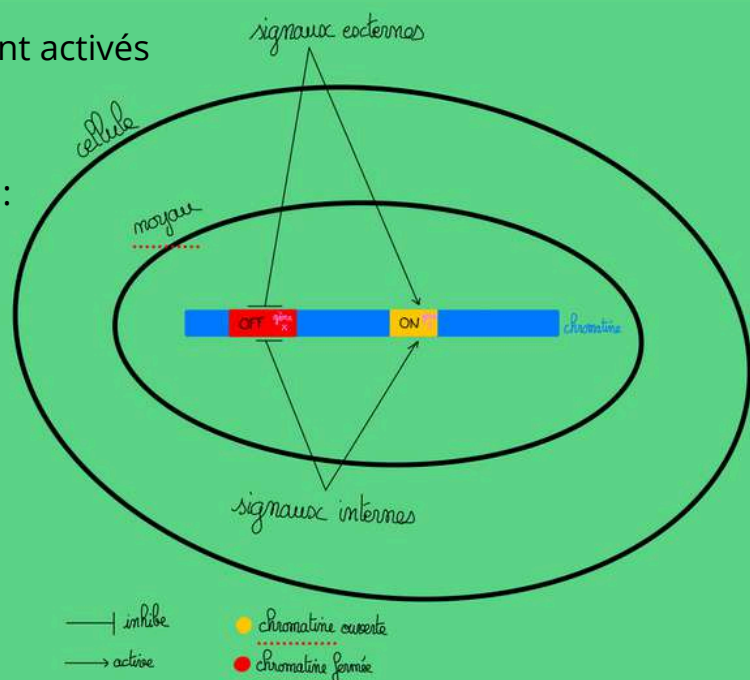
TUT'Récap :

Le gène **s'exprime** quand :

- les facteurs de transcription sont activés
- la chromatine est ouverte

Le gène **ne s'exprime pas** quand :

- les facteurs de transcription sont réprimés (inactifs)
- la chromatine est fermée



II. Notion de régulation de l'expression des gènes

Ok la team, petite partie hyper cool en vrai, prenez bien le temps de comprendre et après c'est comme une lettre à la poste !

Un gène **ne s'exprime pas seul**. Un gène (= séquence d'ADN) peut être traduit en protéine (avec les gènes codants) mais pas toujours (gènes non codants). Un gène donne une information génétique sous forme d'ADN puis d'ARN donnant une protéine. Tout ça ce sont des gènes.

*En fait pour qu'un gène s'exprime, ça va dépendre de petites séquences qui sont en amont du gène qui vont réguler son expression. On parle de **contrôle proximal** et **distal** !*

A. Le contrôle proximal

Les gènes pour pouvoir être transcrits, ont **besoin d'un promoteur**. Un promoteur c'est juste un endroit avant le début du gène qui va permettre à l'ARNpolymérase de se fixer pour commencer la transcription. On retrouve au niveau du promoteur des séquences qui vont émettre des signaux pour attirer l'ARNpolymérase. La **séquence promotrice** qui attire l'ARNpolymérase s'appelle **TATA box** (boîte TATA). **IMPORTANT à retenir ça peut tomber à l'examen !**

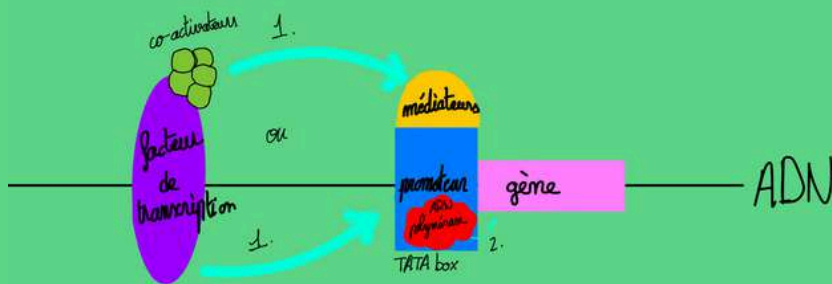
Mais l'ARN polymérase n'est pas stable quand elle est seule, elle a besoin d'un complexe pour qu'elle puisse faire son travail. Ces sont les **facteurs de transcriptions** qui vont l'aider ! Ces facteurs de transcriptions agissent différemment. En fait, ils interagissent avec l'ADN en amont du promoteur et vont stabiliser soit **directement** l'ARNpolymérase, soit grâce à des **co-activateurs**.

COMMENT ÇA SE PASSE ??? En fait les **co-activateurs** sont des protéines qui se fixent sur le **facteur de transcription** et font une sorte de **pont stabilisateur** avec les sous unités de l'**ARNpolymérase**, ou avec des **médiateurs** qui sont fixés à , appelé complexe médiateurs (no panique je vous fais un schéma après)

C'est ça le **contrôle proximal** ! Mais l'expression du gène ne dépend pas que de ça (on oublie pas le contrôle distal)

contrôle proximal

TUT'Récap :



Promoteur = origine et début de la transcription

B. Le contrôle distal

Le contrôle distal est caractérisé par **deux éléments** :

- les **enhancers** : permettent l'activation du gène
- les **silencers** : permettent la répression du gène

Contrairement au contrôle proximal avec le promoteur et tout le tralala (*tralalelo tralala*), le contrôle distal (avec enhancers et silencers) sont de position variable par rapport au gène (en amont ou en aval). En fait, ils agissent à distance, leur action est **orientation indépendante** (*en gros, ils agissent de tous les côtés, de partout*)

La plupart du temps, enhancers et silencers sont en **CIS** (= portés par la même molécule d'ADN) mais parfois ils sont en **TRANS** (=portés par deux molécules d'ADN différentes). On appelle ce phénomène, le **phénomène de transvection**, on l'observe très bien chez les drosophiles mais pas de preuves chez les humains.

Ils sont associés à des protéines, souvent les mêmes facteurs de transcription que le contrôle proximal, car souvent l'action des enhancers/silencers se fait en boucle dans l'ADN. Il y a donc une rencontre dans l'espace entre enhancers/silencers et chromatine.

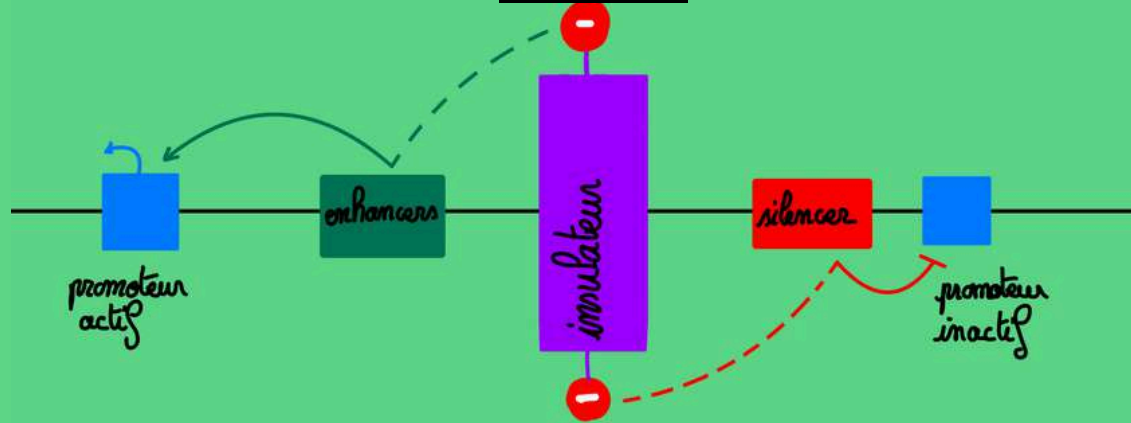
Comme ils agissent à distance; d'autres éléments vont intervenir pour éviter une **cacophonie génétique**. En effet enhancers/silencers émettent des signaux de tous les côtés, mais comment faire pour éviter d'activer tous les gènes ? GRÂCE AUX **INSULATEURS** ! Les insulateurs sont des **éléments régulateurs** limitant le champ d'action des enhancers/silencers.

C. Le contrôle de la transcription par les insulateurs

insulateurs = petites séquences d'ADN empêchant l'activation ou la répression des gènes sans toucher à la fonction des enhancers/silencers (*en gros un insulateur c'est comme un gros mur qui bloque tout*)

C'est tout simple, le **promoteur** qui active le gène, est sous la dépendance des enhancers et silencers ! Donc enhancers → promoteur actif, silencer → promoteur inactif

Le tutorat est GRATUIT ! Toute vente ou reproduction est INTERDITE 🚫

TUT'Récap :

On voit bien qu'enhancers/silencers agissent de tous les côtés, mais sont **bloqués par l'insulateur** d'un côté. Ça permet d'éviter la cacophonie génétique = que tous les gènes s'expriment ou sont réprimés. De plus, on voit bien que l'**insulateur ne bloque pas leur action mais empêche leur orientation.**

TUT'Récap :

Un gène **s'exprime** en fonction :

- de son **promoteur** (contrôle proximal)
- de son **environnement** (facteurs de transcription, chromatine ouverte/fermée)
- des **enhancers/silencers** (contrôle distal)

L'ensemble est limité par des séquences insulatrices (=élément frontière), créant ainsi des domaines de co-expression des gènes

III. Structure de la chromatine

TUT'Rappel :

chromatine = ADN + protéines

Informa'TUT : 🙌

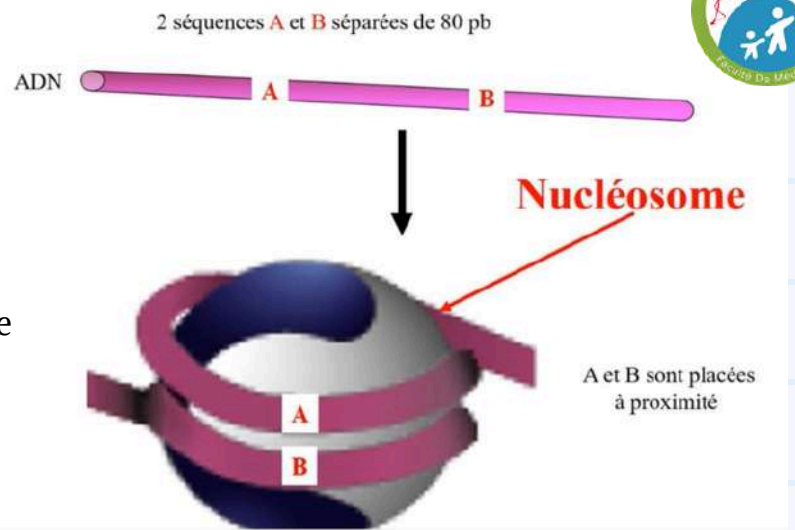
Si on aligne l'ADN d'une cellule en entier bout à bout, il mesure à peu près **2 mètres !!!!!** On comprends donc que l'ADN doit être **EXTRÊMEMENT compacté** pour rentrer dans le noyau d'une cellule. Il est écrasé/compacté plusieurs milliers de fois pour rentrer 🤯

Prenons deux séquences A et B, séparées par 80 paires de bases, il va y avoir **plusieurs niveaux de compaction** pour que ses deux séquences, et plus généralement l'ADN **rentrent dans le noyau**.

On voit bien sur l'image que ces deux séquences sont proches l'une de l'autre dans le nucléosome !

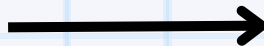
Mais Maxou c'est quoi un nucléosome ? 🤔 Un nucléosome est le premier niveau de compaction de l'ADN, il comprend de l'ADN

(heureusement mdr) et des protéines (c'est un outil mystère qui nous servira plus tard 🐭😄)



On estime une condensation de l'ADN d'un **facteur 7** sur l'ensemble du génome, mais ce n'est que le début de la compaction !

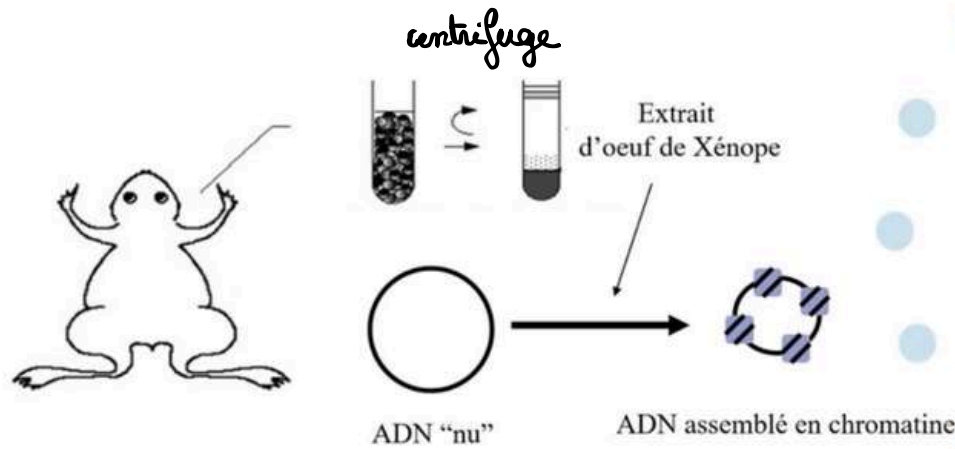
En gros, si vous avez pas trop compris, le nucléosome faut le voir comme un rouleau de PQ, le PQ c'est l'ADN, et il s'enroule autour du carton pour que ça soit moins gros, que si le PQ était déroulé



Expérience au laboratoire :

On utilise des œufs de xénope (grenouille 🐸). On **centrifuge** les œufs pour obtenir un concentrat d'extraits d'œufs qui constitue une source d'activités biologiques nécessaires à la production de chromatine. L'extrait d'œuf obtenu va être mis en contact avec de l'**ADN nu**, et cet ADN nu va s'associer en chromatine. Ainsi on peut l'étudier !

Etude de la chromatine *in vitro* :
Assemblage de la chromatine à partir de l'ADN par les oeufs de Xénope



On réalise maintenant une expérience pour voir si la transcription se fait lorsque l'on a de la chromatine.

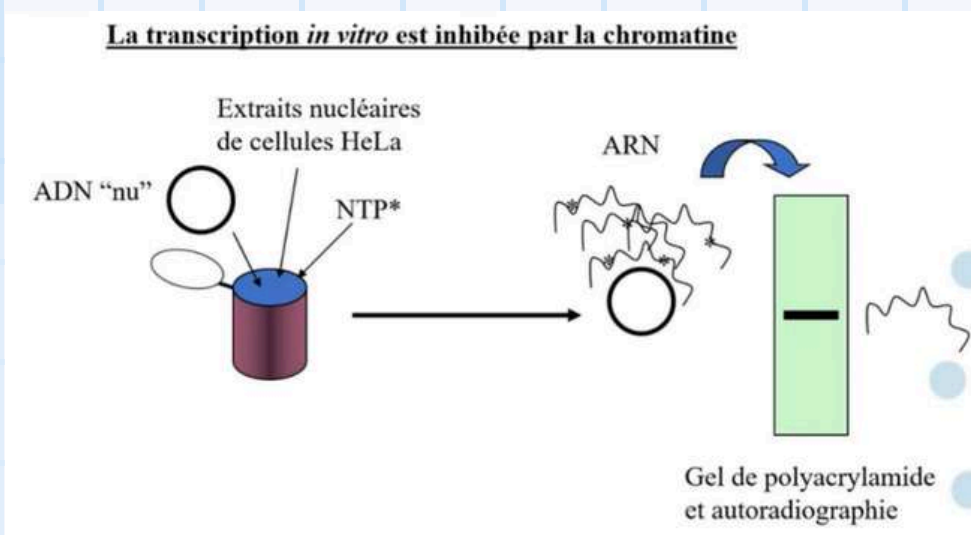
On utilise pour cela un **ADN nu** provenant de cellules cancéreuses humaines, on donne des nucléotides isotopes radioactifs pour la transcription afin de les observer facilement + on utilise du gel polyarylamide.

L'ARN va migrer en fonction de sa taille et grâce à l'autoradiographie, on pourra visualiser si l'ADN a été transcrit.

→ Conclusion : **ADN nu a été transcrit en ARN !**

PAR CONTRE, si on refait la même expérience mais cette fois avec les œufs de xénope, l'**ADN est assemblé en chromatine** donc on ne voit rien sur le gel (*logique l'ADN est associé à des protéines donc ça fait un gros patté*) car il n'y a pas eu de transcription

→ Conclusion : **l'ADN ne se transcrit pas** lorsqu'il est sous forme de chromatine !



Mais on a un problème... parce que dans l'expérience on voit que l'ADN ne se transcrit que s'il est nu (pas sous forme de chromatine). Or, on a vu que dans nos cellules l'ADN est sous forme de chromatine, donc techniquement ce serait impossible... *Comment ça se passe alors ?*

Ce qu'il faut savoir c'est que cette chromatine est très importante puisqu'elle permet la bonne ségrégation des gènes lors de la mitose (*en gros ça permet aux gènes de pas se perdre dans les cellules*), mais on a vu qu'elle est embêtante pour la transcription.

C'est embêtant parce que lorsque l'ADN est sous forme de chromatine, tous les éléments de la transcription (ARNpolymérase, facteurs de transcription...) ne pourra **pas se fixer sur l'ADN**.

Faut voir ça comme une feuille de papier. Quand tu prends ta feuille pour écrire, elle est toute plate, tu peux donc poser ton stylo et commencer à écrire. Mais si ta feuille est en boule, ton stylo pourra pas se poser et t'arriveras pas à écrire. Et bah c'est pareil, ta feuille c'est l'ADN et le stylo c'est l'ARNpolymérase.

TUT'Récap :

Chromatine = structure condensée →
transcription impossible

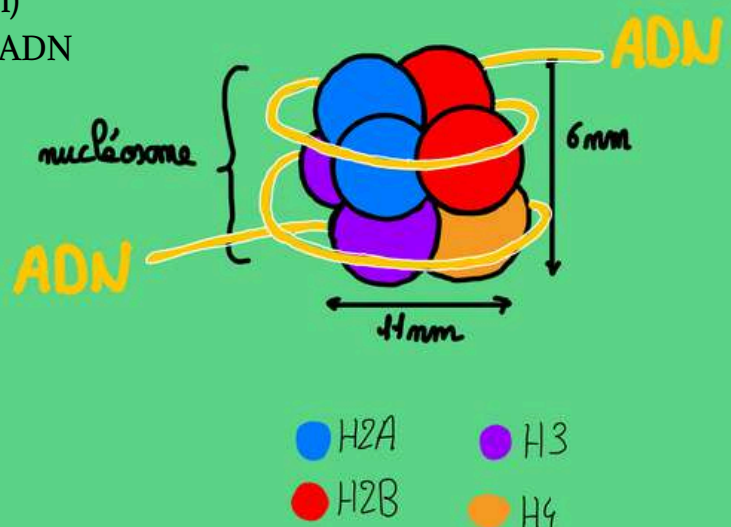
Du coup, comment ça se passe dans la cellule pour faire la transcription ? pour cela il nous faut connaître la structure du nucléosome.

A. Le nucléosome

Le premier niveau d'organisation de la chromatine, c'est le nucléosome.

Informa'TUT :

- nucléosome = petit cylindre : 6nm de hauteur et 11nm de largeur
- nucléosome constitué de 4 paires de protéines (=histones), un nucléosome correspond à un **octamère** d'histone = 8 histones
- les histones sont des petites protéines **basiques** (riches en acides aminés chargés positivement), ils s'associent ensemble et s'enroulent autour de l'ADN (chargés négativement) (Rappel : acide = négatif, basique = positif)
- 8 protéines regroupés en 4 dimères d'histones : 2x H2A + 2x H2B + 2x H3 + 2x H4 +++
- octamère d'histone = 108 kDa (kilo Dalton)
permet d'enrouler 146 paires de base → l'ADN s'enroule 2x autour d'un nucléosome
- l'ADN qui relie 2 nucléosomes voisins est appelé **ADN linker** ou **ADN de liaison** ce qui constitue une conformation ouverte de l'ADN (car entre 2 nucléosomes il n'y a que de l'ADN, donc libre)



C'est la cellule qui va produire les histones, et ceux-ci ont des **propriétés d'auto-assemblage** (=s'assemblent seuls), mais pour augmenter l'efficacité on a ce qu'on appelle des chaperons

L'assemblage des histones : en fait nos histones (H2A, H2B, H3, H4) s'assemblent **spontanément**, mais les chaperons (qui sont des protéines) vont **faciliter l'appariement**. On les appelle donc des **protéines chaperones**.

Elles guident simplement les histones pour permettre l'assemblage en octamère.

ATTENTION, il y a un ordre d'**assemblage bien précis** entre histones :

1. d'abord un premier chaperon associe un hétérodimère H3 et H4
2. Puis un deuxième chaperon assemble H2A et H2B

Les nucléosomes ne sont pas tous identiques ! Il existe une **structure nucléosomale commune** mais chaque nucléosome présente des petites variations.

En effet, la cellule peut modifier/moduler le nucléosome selon ses besoins (expression/répression des gènes).

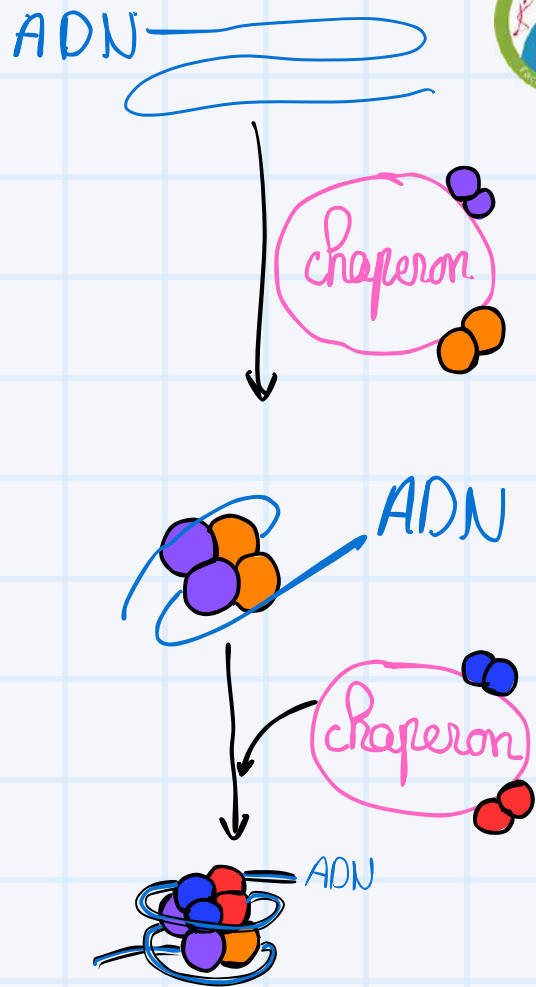
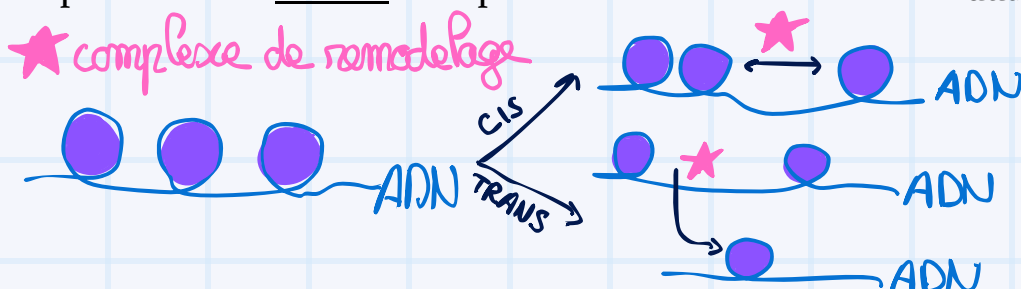
Comment la cellule va pouvoir modifier ses nucléosomes ? Il y a 3 voies possibles pour modifier les nucléosomes !

1. Le complexe de remodelage

On peut modifier un nucléosome en changeant sa **position** (si on veut par exemple exprimer un gène, mais qu'il y a un nucléosome au niveau du gène, on le **déplace** pour que le gène soit "nu") Il y a donc des complexes protéiques = complexe de remodelage qui vont pouvoir déplacer un/plusieurs nucléosome selon les besoins.

On peut **modifier la position** des nucléosomes de différentes façon :

- déplacement en CIS → déplacement du nucléosome sur le **même brin d'ADN**
- déplacement en TRANS → déplacement du nucléosome sur l'**autre brin d'ADN**



2. Les variants d'histones

TUT'Rappel :

Un octamère est constitué de 8 histones : 2 H2A, 2 H2B, 2 H3, 2 H4

Il existe pleins de gènes codants pour H2A, H2B et pour H3. Qui dit plusieurs gènes, dit **plusieurs variants**, On aura donc des propriétés particulières pour chaque H2A, H2B et H3.

⚠ ATTENTION ⚠ : H4 n'est codé que par **un seul gène**, elle ne possède pas de variants

Chaque variant a une **fonction particulière** par rapport à certains domaines de chromatine. Ces variants ont toujours la possibilité de se **modifier post-traductionnellement** (=après la traduction de l'ARN en protéine). Ces modifications ont un sens spécifique pour la cellule.

Exemple de variants : H2AX, H2AZ, macroH2A, H3.1, H3.3, CenpA

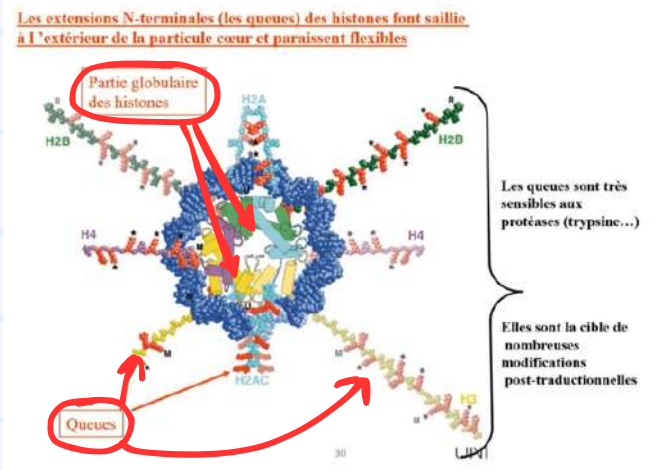
Comment les histones sont disposés dans le nucléosome au juste ????? Moi je le sais évidemment mais vous dans l'ignorance la plus totale vous ne savez pas 😊

Les histones sont constitués d'une partie **globulaire** (au centre) et une **queue N-terminale** (en périphérie). Les queues sortent entre les deux tours d'ADN donc sont en surface du nucléosome. Ce sont elles qui vont être modifiées post-traductionnellement et qui portent les informations qui vont être interprétées par la cellule.

L'octamère d'histones se positionne de façon à permettre sa modification en orientant les queues vers la **périphérie**, en dehors du cœur nucléosomal.

On voit bien l'ADN qui entoure les tête globulaire et les queues qui sortent dans le périphérie

Les queues sont très **sensibles aux protéases** comme la trypsine, on utilise la trypsine pour étudier le comportement des nucléosomes sans les queues.
une protéase est une enzyme qui dégrade les protéines



TUT'Récap :

Têtes globulaires centrales	Queues N-terminale périphériques
<ul style="list-style-type: none"> • se regroupent au centre • possèdent de nombreux acides aminés basiques (chargés positivement → lysine, arginine) <p>→ l'ADN étant négatif (acide), il y a une forte interaction entre têtes et ADN (il s'y enroule autour)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • ne sont pas structurées • passent entre les 2 tours d'ADN • sont exposées à l'extérieur du nucléosome • possèdent de nombreux acides aminés basiques (chargés positivement) • sont la cible des modifications post-traductionnelles • sensibles aux protéases (car à l'extérieur et non structurées)

3. Les modifications post-traductionnelles

Chaque nucléosome est **unique** (*comme toi petite Pl*) car comme on l'a dit, les nucléosomes ont des modifications post-traductionnelles différentes.

Défini'TUT :

Modification post-traductionnelle : une protéine après avoir été synthétisée par le ribosome peut subir des modifications. On les appelle modifications post-traductionnelles

Ces modifications vont être effectuées par des enzymes spécialisées après la traduction dans le cytosol (une fois les modifications faites, les histones retournent dans le noyau). Il existe pleins de types d'enzymes ayant toute une fonction, on retrouve :

- **acétylation** +++++
- **méthylation** +++
- phosphorylation
- ADP-ribosylation
- ubiquitinylation

Explica'TUT :

en gros quand on dit acétylation, c'est que l'enzyme **ajoute des acétyles** sur les histones. Méthylation = **ajout** de groupe **méthyl**, phosphorylation = **ajout** de groupe phosphate...

Ces modifications ont un **rôle particulier** pour la fonction de la cellule +++++

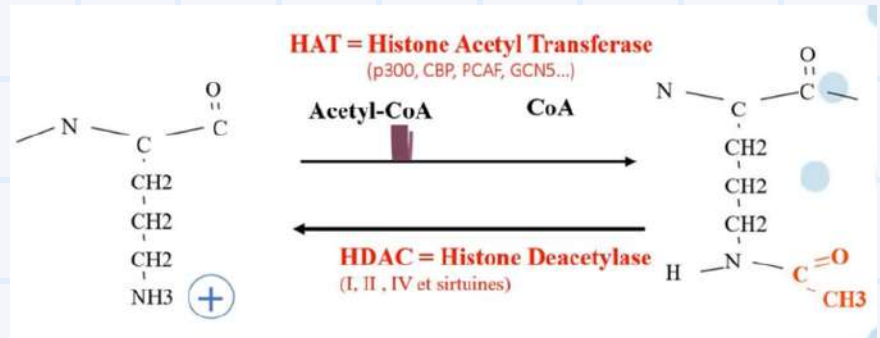
Exemple de l'acétylation (sur les lysines):

Acétylation : les **HAT** (=Histones Acetyl Transférase) sont les enzymes qui catalysent la réaction, elles sont associées à des co-enzymes (=co-facteur) qui sont l'**Acétyl-CoA**

Le tutorat est GRATUIT ! Toute vente ou reproduction est INTERDITE 🚫

Le groupement acétyl est **transféré sur le groupement NH₃ de la lysine** (localisé sur la queue N-terminale de l'histone. L'acétyl provient de l'Acétyl-CoA (le co-facteur)

Désacétylation = réaction inverse réalisée par **HDAC** (=Histone DésAcetyl Transférase). Elle va enlever l'acétyl. Il y a plusieurs HDAC en fonction de la localisation, fonction et type cellulaire.



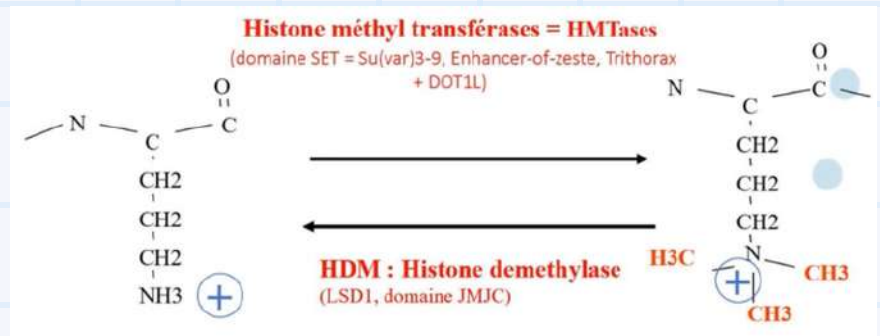
Exemple de la méthylation (sur lysine ou arginine):

Méthylation = les HMT (Histone Méthyl Transférase) catalysent la réaction, cette enzyme permet de **passer d'aucune méthylation à 3 méthylations** (*en gros soit il y en a pas, soit 1, soit 2, soit 3 sur la même lysine/arginine*). Ainsi, une lysine peut être mono, di ou tri-méthylées. Elle aura donc des propriétés différentes en fonction.

Les HMTases sont de plusieurs types et ont chacune des domaines (position des lysines sur les histones et des actions spécifiques (mono/di/tri-méthylation)

→ 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 aussi différente



⚠ La méthylation de la lysine des histones et la méthylation de l'ADN sont deux choses bien **distinctes** +++++ ⚠

Déméthylation = réaction **inverse**, catalysée par **HDM** (= Histone DéMéthylase)

COMMENT CES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES PEUVENT MODIFIER LA FONCTION DES HISTONES ?

→ **GRÂCE AU CODE HISTONE** (*c'est le même principe que le code génétique mais là c'est pour les histones !*)

Le code histone

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

Ce code :

- **se rajoute** au code génétique
- facilement **modifiable**

On voit ici les queues N-terminales, composées de différents acides aminés. Les points colorés au-dessus des acides aminés correspondent aux **modifications post-traductionnelles**.

Tous les histones ne sont **pas forcément modifiées**

et certaines modifications sont **alternatives**. Par exemple sur H3, à la position 9, il y a une Lysine, on voit deux modifications : soit une méthylation, soit une acétylation, on ne peut **pas avoir les deux !!!** (voir entouré).

Selon la modifications auxquelles sont exposées les queues à la périphérie de l'histone, on a une information que la cellule peut **décoder**, d'où "code" histone"

- **code histone = modifications post-traductionnelles + utilisation de différents variants d'histone**

ce code histone se superpose au code génétique

- **code génétique = informations nécessaires à la cellule pour exprimer tel gène (ON → AUG) ou réprimer tel gène (OFF → UAA)**

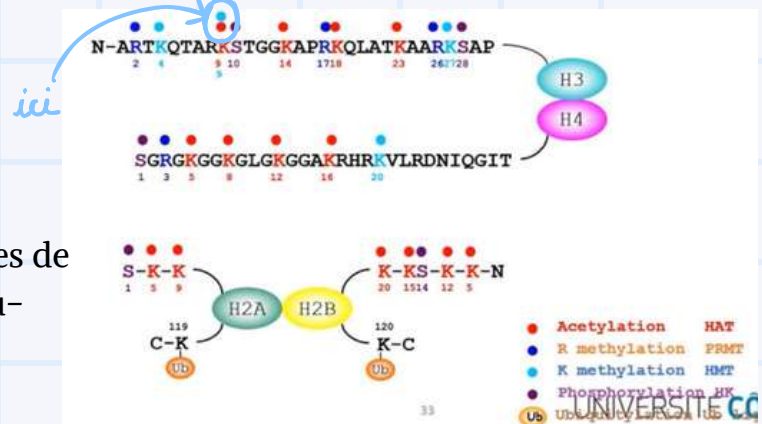
Ces codes communiquent des informations supplémentaires à la cellule sur son **programme d'expression** et de **transcription** des gènes.

Le code génétique est **universel** alors que le code histone est **variable** selon le type cellulaire.

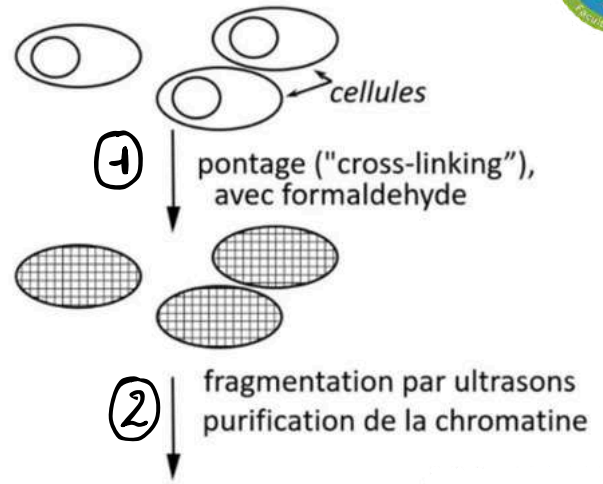
On étudie le code histone pour développer de nouveaux agents thérapeutiques.

Technique de l'immunoprécipitation de chromatine

But : étudier le code de la chromatine (mais il faut des agents spécifiques pour le lire)

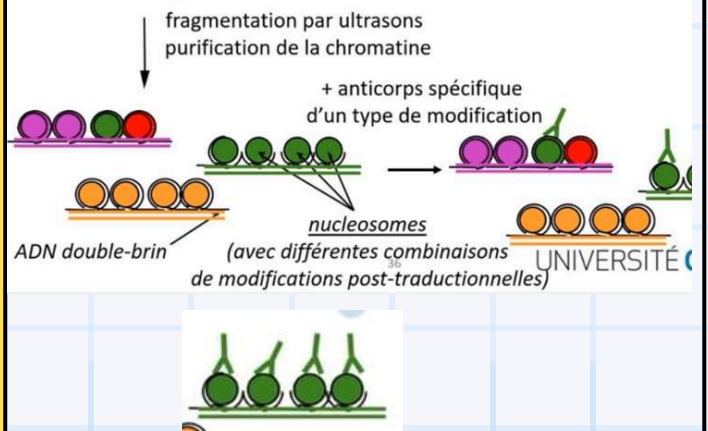


1. **figer la cellule** dans un état → pontage/crossing avec la foraldéhyde (entre ADN et protéines et entre protéines)
2. **préparation des extraits** par fragmentation par ultrasons et purification de la chromatine

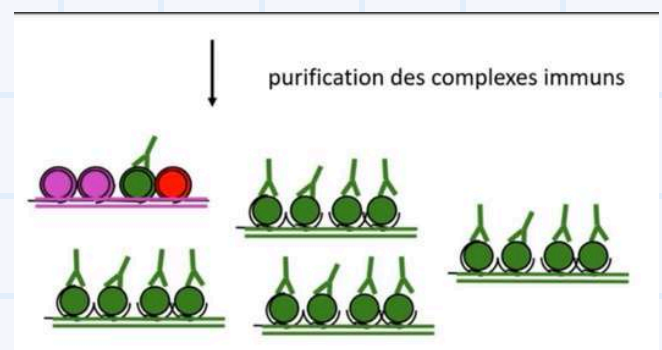


On veut connaître la couleur de nucléosome, on produit donc des **anticoprs spécifiques** d'un type de modification post-traductionnelles des histones (ex : anticorps spécifiques à la méthylation).

3. On **incube les fragments de chromatine avec ces anticorps**-> association d'anticorps reconnaissant des modifications de nucléosomes verts
4. On **augmente ensuite les fragments de chromatine** contenant ces modifications (ici vert) reconnues par les anticorps spécifiques par purification du complexe immun



Par contre on ne visualise toujours pas ces fragments de chromatine et leur proportion par rapport au reste de la chromatine → il faut alors **calculer le degré d'enrichissement** afin de donner une réponse sur la **présence de cette modification** sur telle ou telle séquence d'ADN





On va donc renverser le pontage et purifier simplement la partie ADN = 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 → on s'intéresse à la **technique PCR**. Ça consiste à amplifier la séquence d'intérêt d'ADN et on fait la même chose 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 de départ.

On a deux réactions à étudier :

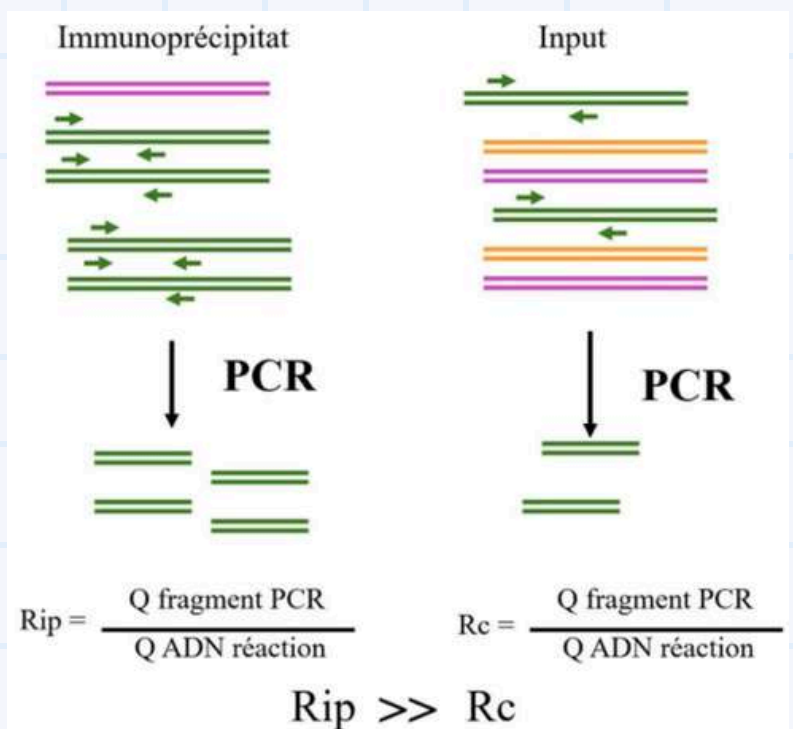
- l'**immunoprécipitat** → solution test fixée par les anticorps spécifiques
- l'**input** → solution de départ, **avant immunoprécipitation**

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 deuxième facteur qui est le facteur contrôle de l'input → **Rc**

Si le facteur Rip est très largement supérieur à Rc, alors il y a un

enrichissement de ce fragment vert → les cellules de départ avaient dans les séquences du promoteur du gène, un enrichissement de la modification post-traductionnelle verte reconnue par l'anticorps qu'on avait utilisé facteur d'enrichissement : $F = Rip / Rc$

Bon je pense que la plupart d'entre vous n'a rien compris mais ne vous inquiétez pas, je pense pas vraiment que le prof fera des QCMs dessus. Essayer quand même de comprendre, relire plusieurs fois. Maintenant on va voir un cas pratique de la vie réelle pour illustrer tout ça !



Exemple de l'érythropoïèse (=formation globules rouges):

On voit ici **3 gènes** avec des éléments de régulation à distance pour **réguler** de manière tissulaire spécifique **l'expression des gènes**.

rond = enhancer / rectangle = insulateur

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

- récepteur folate
- bêta globine
- récepteur olfactif

→ on étudie la structure de la chromatine dans ces 3 régions, dans 3 types cellulaires :

1. Au début de l'érythropoïèse : on a besoin du gène du **récepteur folate**. Il est donc **activé par l'enhancer** et comme il est inutile d'exprimer les gènes β -globine et récepteur olfactif, **l'insulateur bloque l'émission de l'enhancer**
2. À la fin de l'érythropoïèse : À présent on a besoin que du gène **β -globine**, donc l'enhancer **l'active** et les **insulateur bloque son émission** pour éviter d'exprimer les 2 autres gènes.
3. Dans un neurone : l'érythropoïèse ne sert à rien, les gènes de l'érythropoïèse sont réprimés grâce aux insulateurs, contrairement au gène du **récepteur olfactif**.

⚠ Ces gènes ne s'expriment pas dans les mêmes cellules ! ⚠

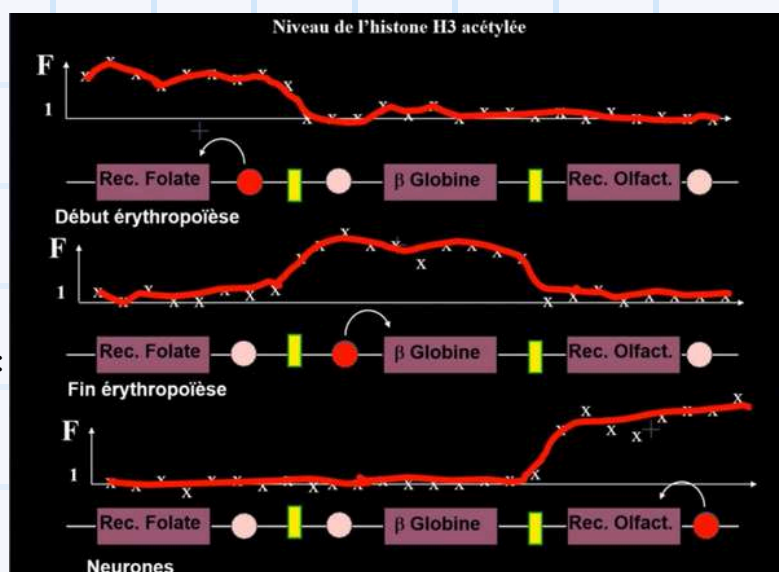
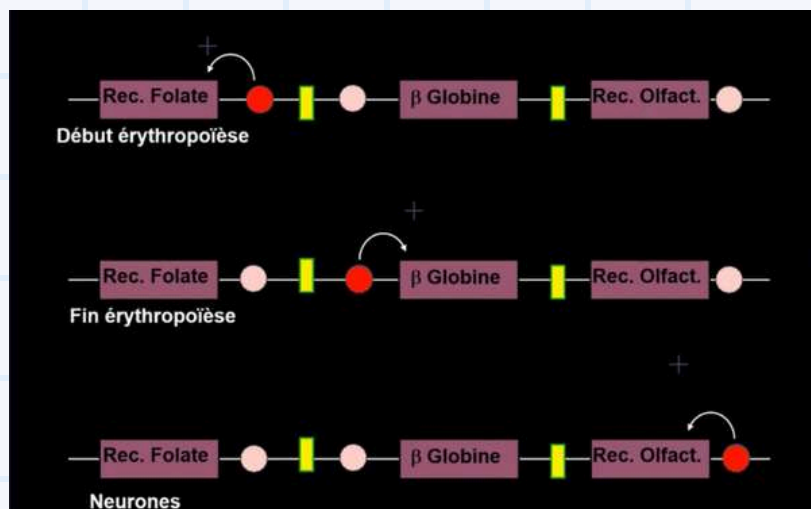
On utilise notre démarche d'immunoprécipitation et on utilise toute une série d'amorces PCR pour naviguer dans ce génome.

On a ici la **quantité d'histones H3 acétylées** représentées par le trait rouge.

+ le trait est haut → + le facteur d'enrichissement est élevé → + il y a d'acétylation

On se retrouve avec nos 3 situations d'avant:

1. Au début de l'érythropoïèse : beaucoup + d'**enrichissement** au niveau du gène exprimé (**récepteur folate**), qu'au niveau des 2 autres gènes → donc au début de l'érythropoïèse, il y a beaucoup d'histones H3 acétylées.



2. À la fin de l'érythropoïèse : on observe un **enrichissement** important au niveau du **gène β -globine**, comparé au gène folate où c'est minime → gène β -globine : +++ histone H3 acétylées

3. Dans un neurone : **enrichissement du gène récepteur olfactif** → +++ histone H3 acétylées. Les histones H3 au niveau des gènes récepteur folate et β -globine ne s'expriment pas donc pas d'enrichissements.

RÈGLES GÉNÉRALES → **IMPOR'TUT** :

- **Transcription active** :
 - chromatine **HYPER**acétylée
 - chromatine **méthylée en K4** (Lysine position 4 de l'histone H3)
- **Transcription inactive** :
 - chromatine **HYP**Oacétylée
 - chromatine **méthylée en K9** (Lysine position 9 de l'histone H3)

→ Il y a une **relation** entre **modifications post-traductionnelles** et le niveau de **transcription des gènes** !!!!!!!

Revenons à nos moutons aka nucléosomes.

On a vu qu'il fallait qu'ils soient modifiés pour que les gènes puissent être transcrits, car **si nucléosome**, l'**ARN polymérase ne peut pas lire l'ADN** → **PAS de transcription**.

Il y a donc des **facteurs de transcription associés à des co-activateurs** (ou répresseurs) pour modifier nos moutons, euuuuuuuh nucléosomes, ou plus précisément **modifier la chromatine et les histones**.

On a vu aussi que HAT et HDAC peuvent faire des modifications post-traductionnelles des histones ! Ces deux petites protéines vont **interagir avec les facteurs de transcription** :

- **HAT** (Histone AcétylTransférase) a le rôle de **co-activateur** = **favorise la transcription** → modifie structure locale de la chromatine en la rendant accessible à la transcription
- **HDAC** (Histone DésAcétylase) joue le rôle de **co-répresseur** = **défavorise la transcription** → modifie structure locale de la chromatine en favorisant l'apparition de nucléosome → pas de transcription

Comment l'info est lue par la cellule ? Comment est traduit le code histone par la cellule ????

Grâce à des protéines présentes dans le noyau, ce sont des protéines non-histones, activateurs ou répresseurs de la transcription. Elles reconnaissent spécifiquement les modifications post-traductionnelles des histones et permettent leurs actions.

C'est donc en **régulant l'interaction** entre les queues histones et ces protéines que le code histone pourra être traduit.

En gros, les modifications post-traductionnelles vont modifier l'interaction entre les protéines non-histones et le nucléosome (histone + ADN), donc le code histone pourra être lu.

Exemple de protéines non-histones qui traduisent le code histone :

Modifications post-traductionnelles	reconnues par	actions
Lysines acétylées	protéines à bromodomaines	recrutement de facteurs de transcription pour les zones hyperacétylées
H3K9 et H3K27 méthylées	protéines à chromodomaines : <ul style="list-style-type: none"> • HP1 pour K9 • Polycomb pour K27 	<ul style="list-style-type: none"> • HP1 forme hétérochromatine = pas de transcription → quand on méthyle K9 ou K27 on forme hétérochromatine
H4K20 diméthyllées	protéines à domaine Tudor 👓👓👓	réparation de l'ADN
H3S10 (sérine 10) phosphorylé	protéine à domaine "14-3-3"	facilite acétylation et activation de l'expression des gènes en réponse au stress

On se retrouve alors avec **3 types de protéines** qui permettent l'organisation de l'expression

"Writer" = Écrivaines	"Readers" = Lectrices ²	"Erasers" = Effaceuses
écrivent le code → responsable de smodifications. ex : HAT, HDM	lisent le code. Ex : protéine à domaine Tudor, chromodomaine, bromodomaine...	effacent le code , action inverse des writers. Ex : diméthylase

C'est tous ces types de protéines de fonction qui font que la séquence promotrice va être acétylée localement, et peut être soumise au remodelage de la chromatine.

B. La fibre nucléosomale

→ c'est le **deuxième niveau de compaction de la chromatine** après le nucléosome. C'est tout simplement des nucléosomes qui s'enroulent les uns avec les autres.

Attention, il y a 2 niveau d'organisation de la fibre nucléosomale :

1. Le **nucléosome** en lui-même
2. l'**enroulement des nucléosomes** entre eux

Informa'TUT :

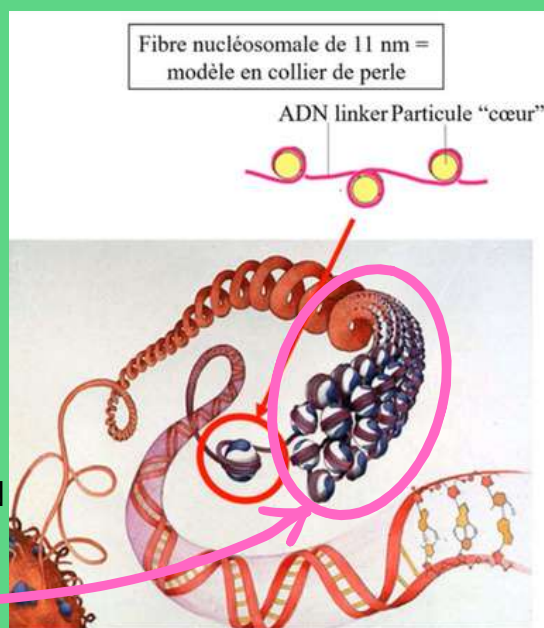
- structure encore **plus condensée**
- fibre de 30nm ≈ **3 nucléosomes enroulés = solénoïde**
- protéine H1 permet une **transition conformationnelle** vers une structure de 30 nm

TUT'Rappel :

H1 ne fait pas partie de l'octamère d'histone du nucléosome

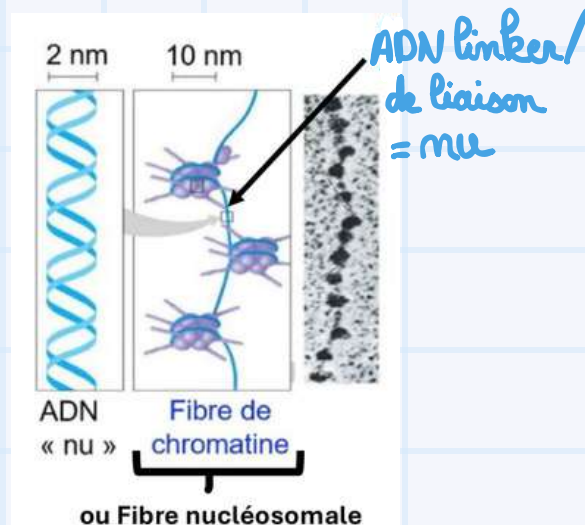
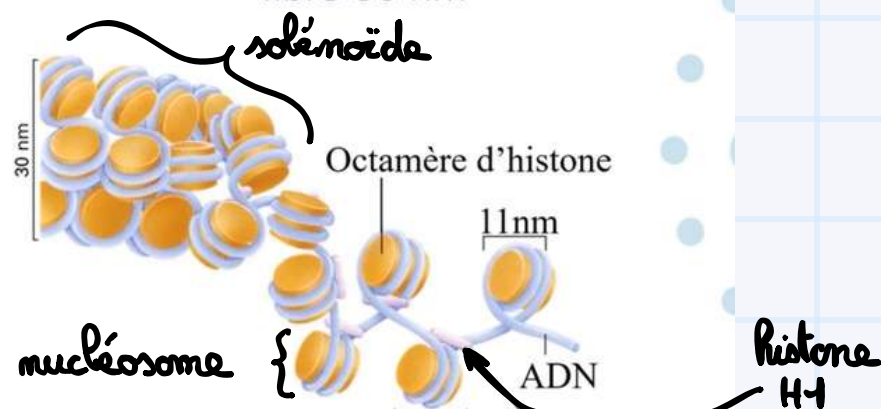
- correspond à une **conformation fermée** de l'ADN +++

fibre nucléosomale



la transition entre la fibre nucléosomale de 11nm (=nucléosome) et 30nm (=solénoïde) fait intervenir une nouvelle histone : **H1**

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



Cette fibre nucléosomale aka solénoïde peut être **soumise à des modifications locales**, on parle alors de **remodelage** :

Au niveau des promoteurs, il faut la plupart du temps modifier les nucléosomes pour la fixation des protéines régulatrices (→ facteur de transcription) (*c'est du rappel ça*)

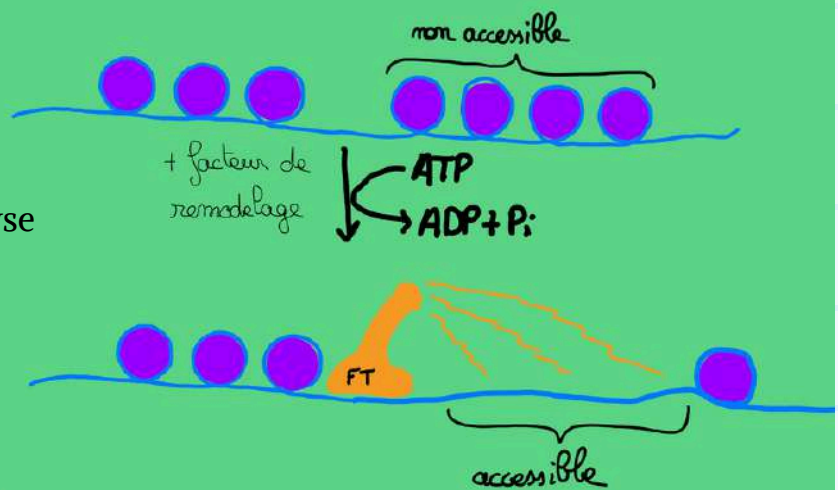
Pour modifier tout ça, on a besoin de **facteurs de remodelage** (FR) et qui rendent l'ADN accessible aux facteurs de transcription (FT). Ces FR consomment énormément d'énergie pour fonctionner.

→ ils vont créer des **zones sans nucléosomes** pour permettre la fixation des FT. Cela est rendu possible en hydrolysant l'ATP présent sur les domaines ATPases des nucléosomes.

Explica'TUT :

grâce au FR, le site non accessible (= transcription impossible) devient accessible (=transcription possible).
Tout cela est possible grâce à l'hydrolyse de l'ATP en ADP + P.

La **fixation de FT** est donc maintenant **possible**



C. Domaines et boucles

→ c'est le **3e niveau de compaction de la chromatine**. La fibre chromatidienne s'organise en boucles et domaines qui est une structure plus complexe à étudier.

On va voir le **niveau d'activité des gènes** :

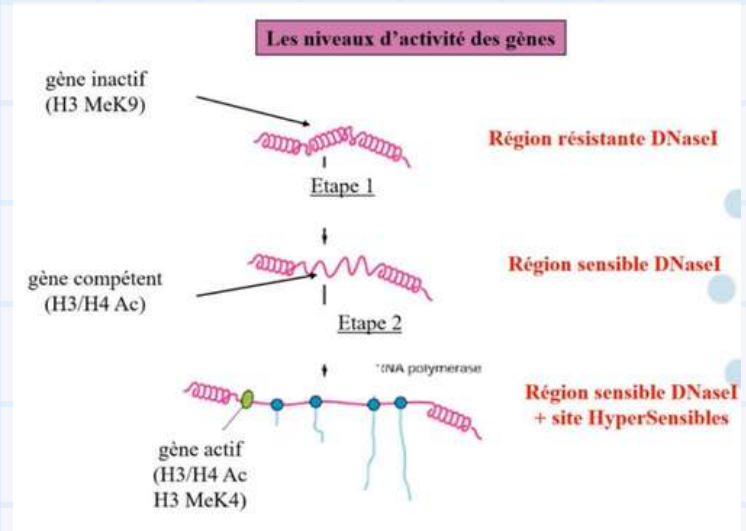
→ chacun des niveaux de structure de la chromatine correspond à des niveaux de transcription des gènes.

Niveau d'activité	gène compétent	gène ON	gène OFF
Transcription	inactive	active	inactive
Modifications importantes	acétylation H3/H4	acétylation H3/H4 + méthylation H3K4	méthylation H3K9

Sensibilité à la DNase	sensible	HYPERsensible	résistante → chromatine trop condensé
-------------------------------	----------	---------------	--

On voit donc que l'on passe par différentes étapes pour arriver à la transcription de notre gène : gène OFF → gène "compétent" → gène ON

DNase = enzyme capable de dégrader l'ADN



⚠️ C'est vraiment la **méthylation de K4 de H3** qui déclenche l'**activation du gène**, et la méthylation de K9 ou K27 induit l'interaction avec les protéines à chromodomains comme AP1 ou Polycomb et donc la mise en place de l'hétérochromatine = fermeture de la conformation. ⚠️

Les domaines co-régulés

Dans un domaine donné, les gènes peuvent être **co-régulés** = on parle de domaines de co-régulation.

qui dit co-régulation, dit niveau d'organisation propre aux domaines avec leur propre structure.

Les gènes ne sont pas **pas régulés de manière indépendante** +++ . Ex: insulateur protège plusieurs gènes des enhancers/silencers.

Même si les gènes sont **transcrits de manière indépendante** (*bien faire la différence entre transcrits et régulés !!!!!*), ils peuvent être co-régulés.

Il doit y avoir une **structure au-delà du nucléosome pouvant condenser** et rendre tout le matériel génétique fonctionnel.

Observation d'un chromosome métaphasique en microscopie électronique (ME).

On voit bien cette **partie fibreuse** qui correspond à la **matrice** (noir foncé) et des **boucles d'ADN** (gris autour). Ces boucles d'ADN sortent de la matrice centrale.



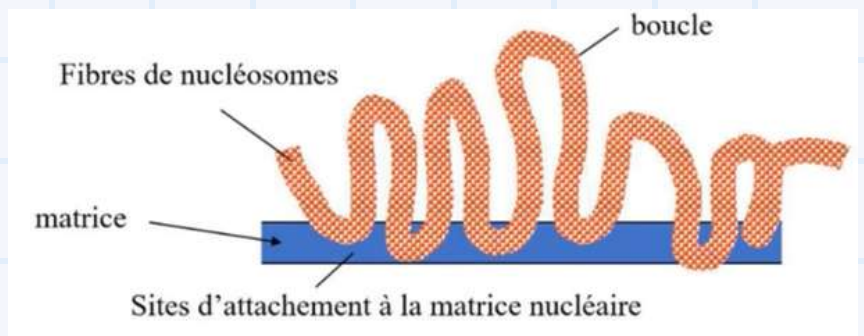
Ces domaines de co-régulation correspondent à ces fameuses boucles ! On a une **relation structure-fonction** : les gènes co-régulés appartiennent à la même boucle !

ici on a une image en métaphase mais ça se passe aussi comme ça en interphase.

Schématiquement :

- en orange : la fibre nucléosomale
- en bleu : la matrice nucléaire

→ la fibre nucléosomale forme des **boucles** et vient se rattacher à la matrice nucléaire. Ainsi, **une boucle = un domaine**.



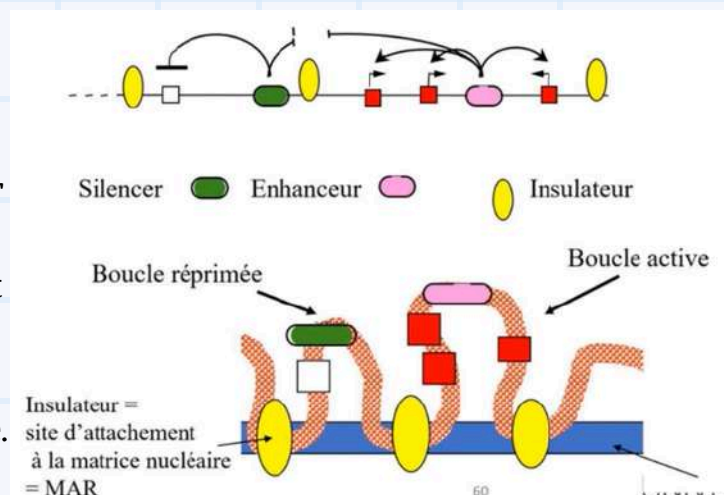
Composition de la matrice nucléaire :

Lamina nucléaire	Protéines du nucléosqulette	Complexe nucléoprotéique
filament intermédiaire, organise le génome en boucle de chromatine	actine, lamine, A/C, NuMa	

Que se passe-t-il au niveau de nos domaines ?

La **matrice isole des domaines** qui correspondent aux boucles. Chaque **boucle renferme des gènes** qui sont **soit exprimés, soit réprimés** du fait de leur proximité avec enhancers/silencers.

Au niveau, des **insulateurs** (séparent physiquement les boucles, et empêchent aux silencers/enhancers d'activer/réprimer les gènes des boucles d'à côté), il y a des **sites d'attachement à la matrice nucléaire**.



Ainsi, il peut y avoir une boucle activée par un enhancer, et juste à côté, une boucle réprimée par un silencer, les deux étant séparées par un insulateur.

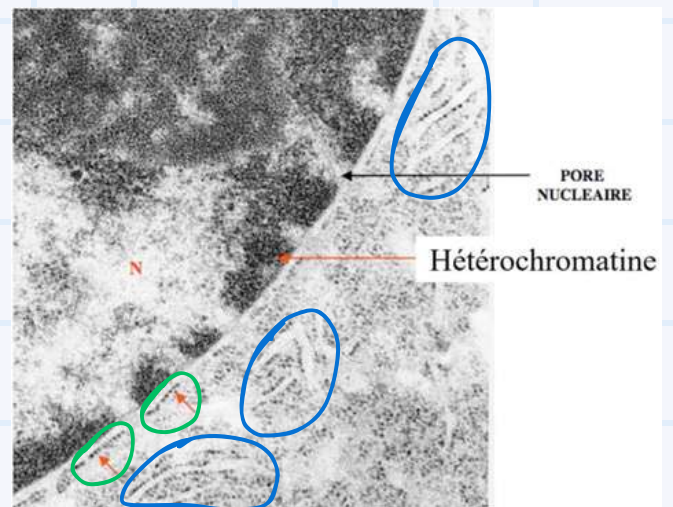
D. L'hétérochromatine (tintintintiiiiiiiiiiiiin)

→ c'est le **dernier niveau de compaction (très condensé) de la chromatine**. Cet état est lié à différentes étapes du cycle cellulaire. On la retrouve principalement en mitose, permettant une bonne séparation (ségrégation) des chromosomes sans perte de gènes.

On a ici une image en ME, d'un noyau d'un hépatocyte (cellule du foie) d'un rat :

À gauche, on voit une zone sombre avec des zones délimitées par une double membrane (=enveloppe nucléaire): c'est le **cadran du noyau**.

À droite, on reconnaît le réticulum endoplasmique granuleux (REG) avec les ribosomes associés à certains ribosomes libres. (*Vous inquiétez pas si vous ne savez pas ce que c'est, mon autre cours portera sur ça 😊*)



Il y a une continuité entre le REG et l'enveloppe nucléaire parce que les ribosomes sont localisés sur la membrane externe de l'enveloppe nucléaire (*en gros, la membrane de l'enveloppe nucléaire présente une partie interne (dans le noyau) et une partie externe (face au cytoplasme). et bien les ribosomes sont sur la face externe*)

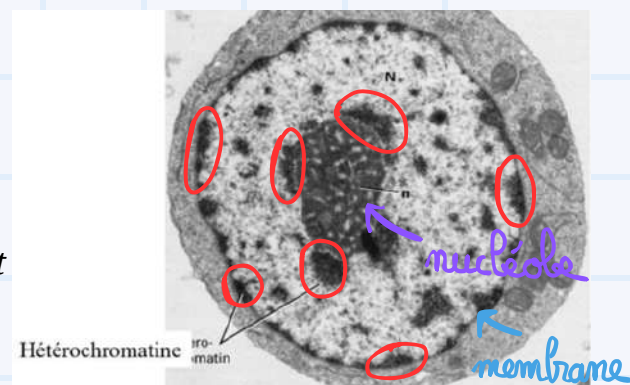
Grâce à une coloration particulière, on voit à l'intérieur du noyau des **zones extrêmement denses** (noires) aux électrons. + c'est condensé, + c'est dense. Les zones noires correspondent à l'**hétérochromatine** (essentiellement localisée aux abords de l'enveloppe nucléaire (*en gros elle tapisse la face interne*)).

Cette fois, il y a une discontinuité de l'enveloppe nucléaire, correspondant aux **pores nucléaires**. Ce sont des sortes de canaux correspondant à une interruption de la double membrane (*permettant de laisser passer l'ARN par exemple !*)

→ il y a un **échange dans les deux sens** qui s'y effectue entre le noyau et le cytoplasme.

L'**hétérochromatine** = forme extrême de chromatine **HYPÉRcondensée**, facilement visible en ME dans le noyau en interphase. (*HYPÉRcondensée car la chromatine est déjà elle-même condensée*)

→ **hétérochromatine** essentiellement lié à la membrane et au nucléole (partie liquide dans le noyau)



Impor'TUT :

L'hétérochromatine est une forme extrêmement condensée de la chromatine ! Les gènes localisés dedans sont très peu voir pas actifs. Ces zones sont extrêmement importantes pour l'organisation globale du noyau

L'effet de position (???????????)

Ce qui a permis de comprendre cette structure est un phénomène génétique particulier qui à première vu semble très éloigné de l'hétérochromatine. On va parler de l'**effet de position**.

Défini'TUT :

Effet de position = l'activité d'un gène dépend de son contexte chromosomique

→ On a tendance à prendre un gène isolément de manière idéale mais en réalité le gène existe dans un **contexte chromosomique** (sa localisation par exemple, car sa localisation peut influencer son expression).

Études d'une expérience historique

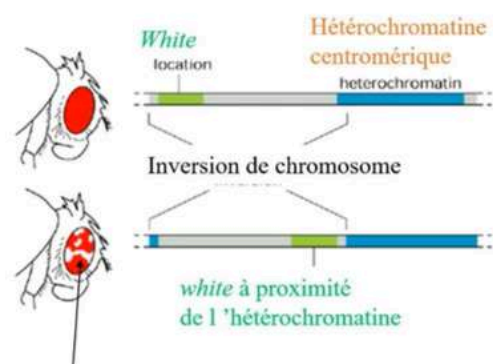
Début XXe siècle, les généticiens génèrent des mutants par irradiation. On y retrouve les drosophiles (*#coucouuulebacSVT*). Les drosophiles ont normalement les yeux rouges, MAIS chez ces **mutants**, ils avaient des **yeux variégués** (=zones rouges et zones blanches dans leurs yeux). On a appelé ça une variégation de l'expression du gène White.

Ce **gène White code pour donner les yeux rouges** à la drosophile (et lorsqu'il ne s'exprime pas il donne des yeux blancs. (*les généticiens ont l'habitude d'appeler les gènes par le phénotype muté, d'où gène White pour yeux rouges*))

On a alors étudié la structure des chromosomes au niveau de ce gène. Résultat : ce n'est pas une simple mutation mais une **inversion chromosomique** → le bras du chromosome s'est inversé et a **modifié le contexte chromosomique du gène**.

On voit qu'avant l'irradiation, le gène White est loin de l'hétérochromatine (donc il s'exprime). Mais suite à l'inversion, le gène se retrouve proche de l'hétérochromatine (donc il ne s'exprime plus).

Un effet de position « historique » : Position Effect Variegation = PEV



Variégation du gène white

Mais attention, cette inversion n'a pas lieu dans toutes les cellules, expliquant cette variéation. On parle donc bien de **variéation de l'effet de position** → une balance entre des cellules avec gène ON et des cellules avec gène OFF.

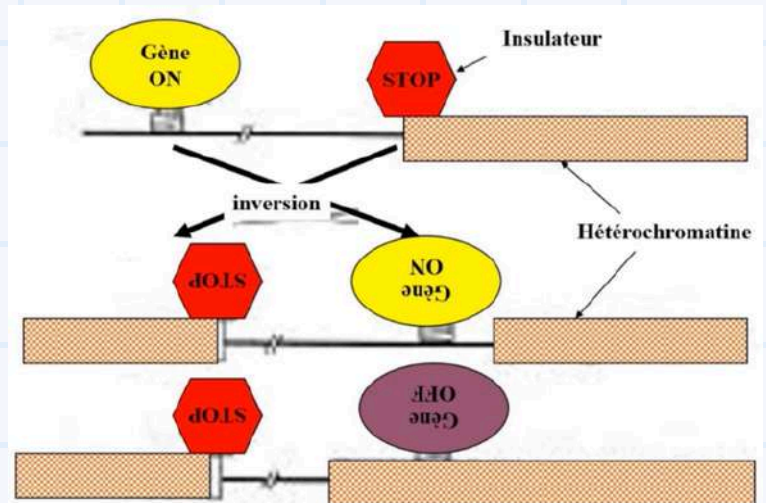
Schématiquement :

En haut : Situation normale → gène White loin de l'hétérochromatine, il est donc ON, les yeux sont **rouges**.

→ on voit l'insulateur (STOP) qui stoppe l'expansion de l'hétérochromatine, permettant l'**expression de White**.

En bas : Situation d'inversion → le gène White se retrouve proche de

L'hétérochromatine et l'insulateur est désormais après le gène, permettant l'expansion de l'hétérochromatine, et de **recouvrir le gène White** (=réprimé)



Ainsi, on retrouve ce genre de situation dans certaines cellules, alors que dans d'autres non, d'où la variéation !

Maintenant les chercheurs partent de drosophiles avec le gènes White variégué, et cherchent d'autres mutations suppressives :

En haut : Effet de position variégué normal

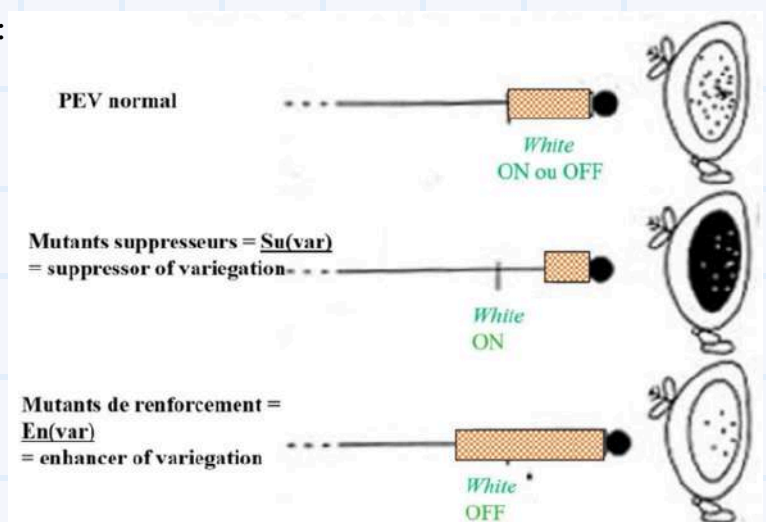
→ gène White est recouvert d'hétérochromatine donc le gène ne s'exprime pas = **yeux blanc**

Au milieu : on maintient des mutants suppresseurs de variéation = **Su(var)**

→ ils rétablissent une expression normale du gène White → **œil rouge**

En bas : Les chercheurs ont trouvé des mutants qui font l'inverse, on les appelle les **mutants de renforcement**. Ici, ils

maintiennent la variéation = **En(var)** → rendent la variéation encore plus importantes → œil encore plus blanc



Parlons maintenant des protéines issues des gènes En(var) et Su(var)

Les chromosomes c'est comme un plat de spaghettis : quand tous est dans l'assiette on ne peut pas en manger car tout est emmêlé. Donc tu prends ta meilleure fourchette pour manger tes spaghettis et démêler tout ça (*gare à ceux qui coupent leurs spaghettis* 🍴)



→ les spaghettis emmêlés représentent l'**hétérochromatine** = chromatine repressive/condensée

→ les spaghettis démêlés représentent la chromatine active/ouverte = **euchromatine**

Le rôle de notre fourchette est exactement ce que font les protéines En(var) et Su(var)

En(var)	Su(var)
<ul style="list-style-type: none"> • + ouverture chromatine • protéines de l'euchromatine → active pour le transcription. On retrouve des FT, HAT... 	<ul style="list-style-type: none"> • + hétérochromatine • protéines de l'hétérochromatine comme HP1, Su(var)3-9, Histones désacétylases

TUT'Rappel :

généticiens appellent les gènes par le phénotype muté

Les gènes En(var) et Su(var) contrôlent l'état de condensation de l'hétérochromatine. Si on regarde le produits de ces gènes, on retrouve les éléments constitutifs de l'ADN.

TUT'Récap :

	Gènes à l'état sauvage	Gènes mutés...	...Conséquences de la mutation
Su(var)	favorise propagation de l'hétérochromatine → <u>augmentation</u> de la variéation	<u>suppression variéation</u> par mutation gain de fonction + désactivation hétérochromatine	hétérochromatine se propage peu → <u>œil moins blanc</u> que cas classique
En(var)	favorise propagation euchromatine → <u>diminution</u> variéation	<u>augmentation variéation</u> par mutation enhancer + désactivation euchromatine	hétérochromatine se propage → <u>œil encore plus blanc</u> que cas classique

Comment l'hétérochromatine se propage-t-elle ?

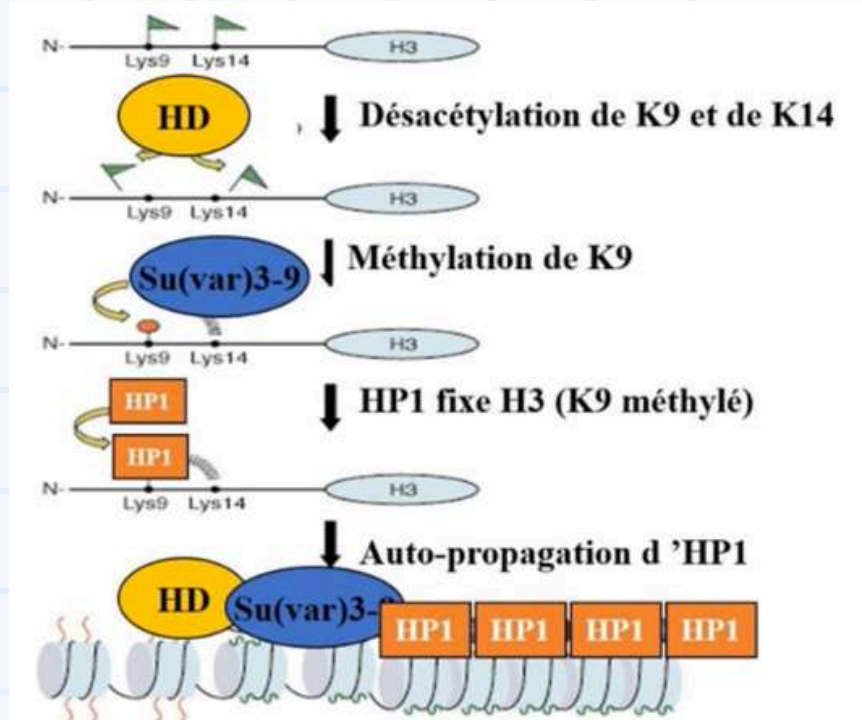
Ce sont des **enzymes** qui vont modifier la chromatine pour aboutir à l'hétérochromatine. La plupart des événements vont avoir lieu au niveau de l'histone H3 dans l'objectif de **fixer HP1**. Plusieurs étapes :

1. L'histone H3 étant acétylée, il faut **désacétyler** la lysine 9 et 14 grâce aux HDAC.

2. Puis, la protéine Su(var)3-9 va **méthyliser** la lysine 9 de l'histone H3.

3. Cela permet ainsi de **fixer HP1**, qui s'associe alors à la lysine 9 méthylée. HP1 étant un reader → peut lire modif post-traductionnelles. Rappel : HP1 est une protéine à chromodomaine.

4. HP1 va de nouveau **recruter Su(var)3-9** permettant ainsi la propagation de l'hétérochromatine avec plein de HP1

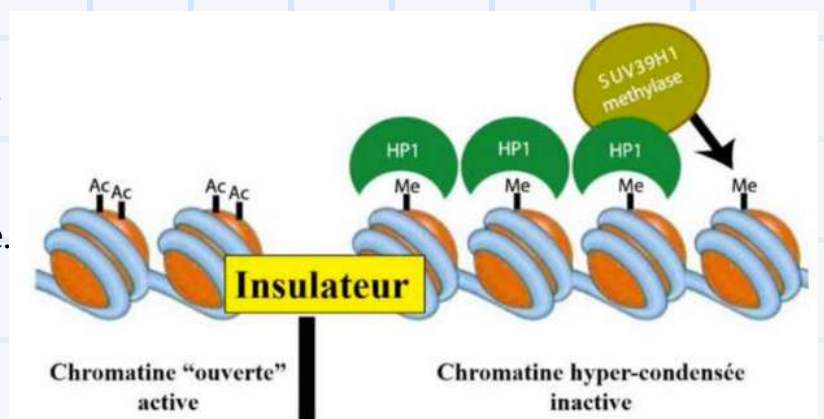


Dans l'effet de position, il n'y a plus d'insulateurs → gène White peut être envahi par l'hétérochromatine = blocage transcription.

Dans la vie réelle, dans notre génome, on peut le schématiser ainsi :

des zones avec de la chromatine ouverte = **euchromatine** → **gènes actifs**

Des insulateurs qui isolent des zones d'euchromatine et d'hétérochromatine. Rappel : les insulateurs sont fixés à la matrice nucléaires **délimitant les domaines et boucles**.

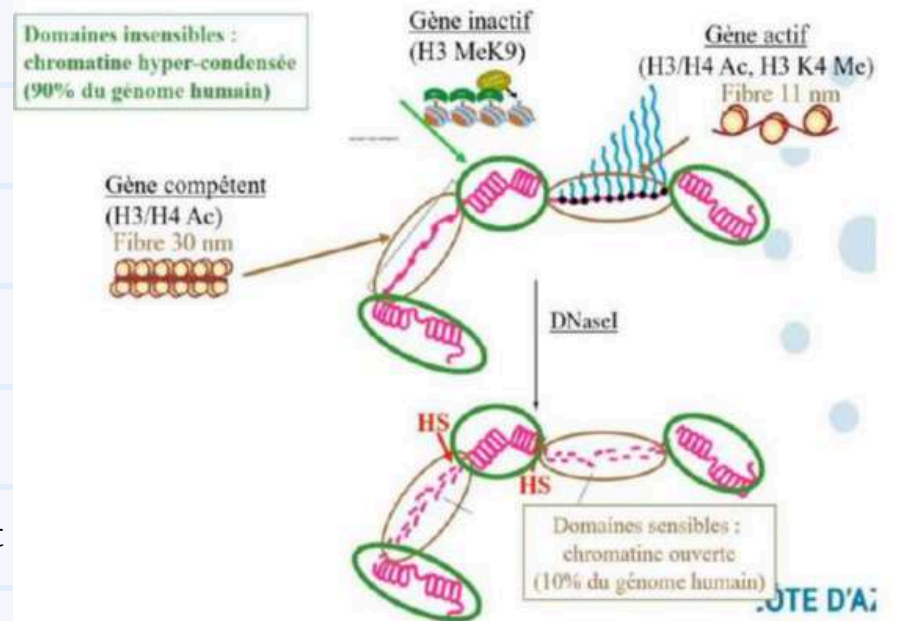


des zones d'hétérochromatine **hyper-condensées associées à HP1**.

Revenons à nos différents niveaux d'activités des gènes.

→ on retrouve dans le génome une série de domaines, avec **3 niveaux d'expression des gènes** :

- **zones résistantes (OFF)**: résistante à la DNaseI → il ne se passe **rien**.
- **zones avec des gènes compétents** : on commence à ouvrir la chromatine, mais elle n'est **pas transcrite**. Souvent associés à la fibre de 30 nm (=solénoïde) et avec des histones
- **zones actives (ON)**: comportant H3K4 méthylées → souvent **transcrites**



Informa'TUT :

domaines insensibles → chromatine **hyper-condensée** = 90% du génome
 domaines sensibles → chromatine **ouverte** = 10% du génome

Quel rôle joue la condensation dans la différenciation ?

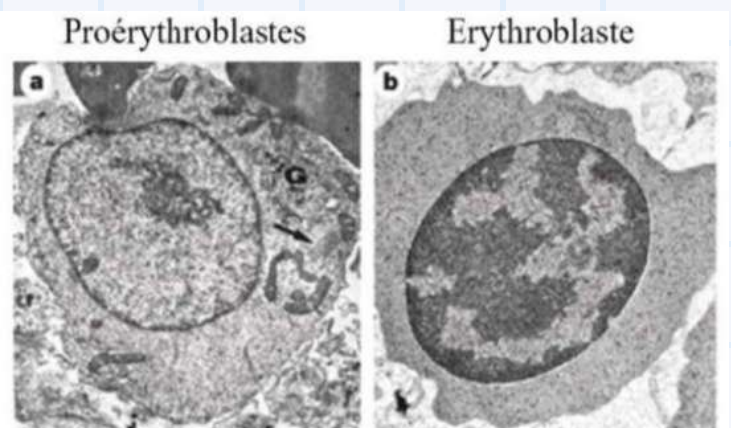
La condensation joue un rôle **essentielle dans la différenciation** ! En effet, lors de la différenciation, on observe un **pic d'hétérochromatine**.

→ **début** différenciation : programme transcriptionnel = chromatine **relativement ouverte**.

→ plus on avance dans la différenciation, **moins il y a de transcription** et donc **plus** il y a d'**hétérochromatine**, afin d'exprimer les gènes uniquement importants !

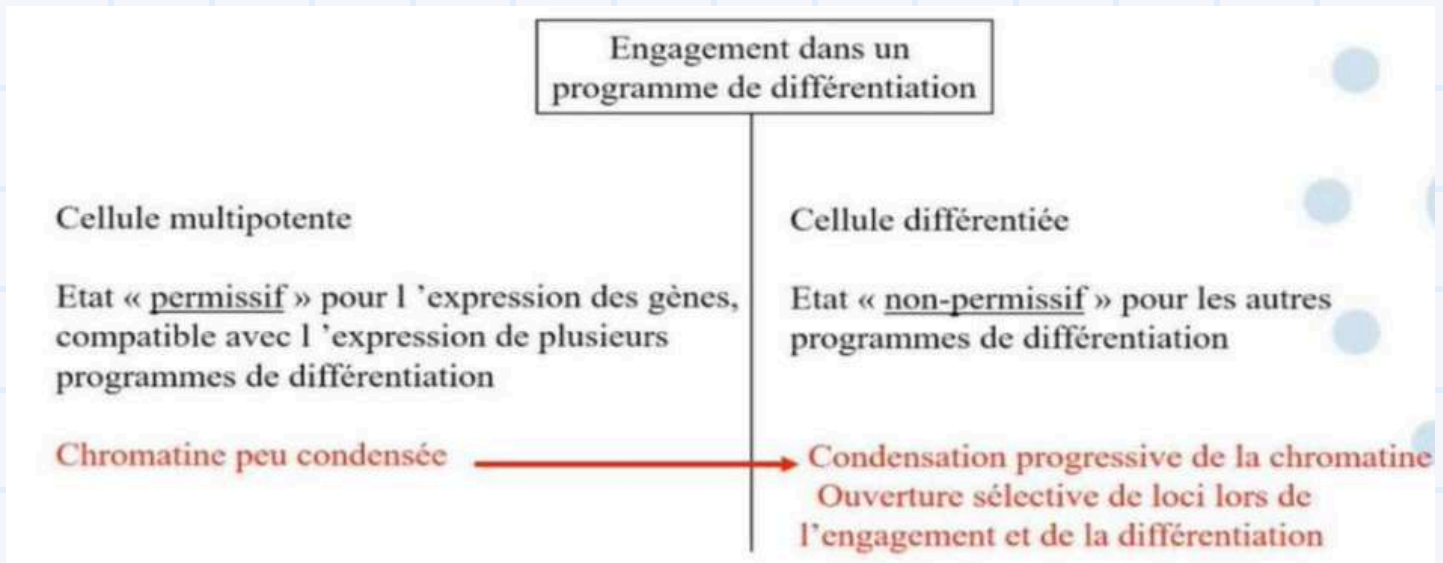
Exemple : Cellules hématopoïétiques

À gauche : proérythroblaste = cellule progénitrice d'érythroblaste (*bébé érythroblaste si vous voulez*) → chromatine **ouverte** (peu dense aux électrons).
 À droite : érythroblaste → hétérochromatine **hyper-condensée**
 → la différenciation a permis la condensation de la chromatine



Par exemple, on engage une cellule **multipotente** (peu différenciée) dans un programme de différenciation pour devenir une cellule différenciée, on observe que :

- on passe d'un **état permissif** (=gènes s'expriment) pour l'expression d'un grand nombre de gène vers un **état non permissif** (=gènes réprimés)
- on passe d'une **chromatine peu condensée** (-> expression gènes) à des zones **étendues d'hétérochromatine** au fur et à mesure que la différenciation se fait.



E. Corps nucléaires et territoires chromosomiques

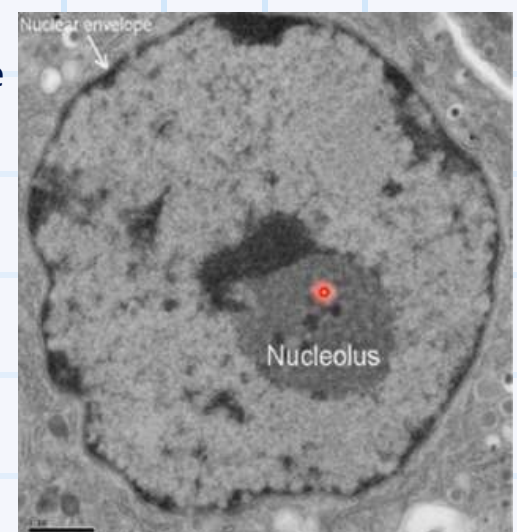
Encore un autre **niveau d'organisation** que sont les cops nucléaires et territoires chromosomiques.

On rappelle que le noyau est composé d'**hétérochromatine** et d'**euchromatine**, mais on retrouve aussi d'autres éléments non délimités par une membrane, notamment le **nucléole**. Le nucléole est un corps nucléaire bien visible en ME.

La question qui se pose c'est est-ce que la localisation nucléaire (= localisation des chromosomes) est importante pour le programme transcriptionnel ?

Ce qu'il faut bien avoir en tête est que le noyau est une sorte de sac dans lequel on retrouve plein de choses (organites, chromosomes...). Le noyau et le nucléoplasme (=intérieur du noyau) sont extrêmement bien **structurés**.

Voyons maintenant ce que l'on retrouve dans le noyau !



• le nucléole = **synthétise les pré-ribosomes**, c'est un domaine nucléaire dynamique, son activité reflète un **équilibre** entre le niveau de synthèse des ARNs ribosomiques et la croissance à la prolifération cellulaire. La petite et grande sous-unité du ribosome sont ensuite exportées dans le cytosol pour la traduction

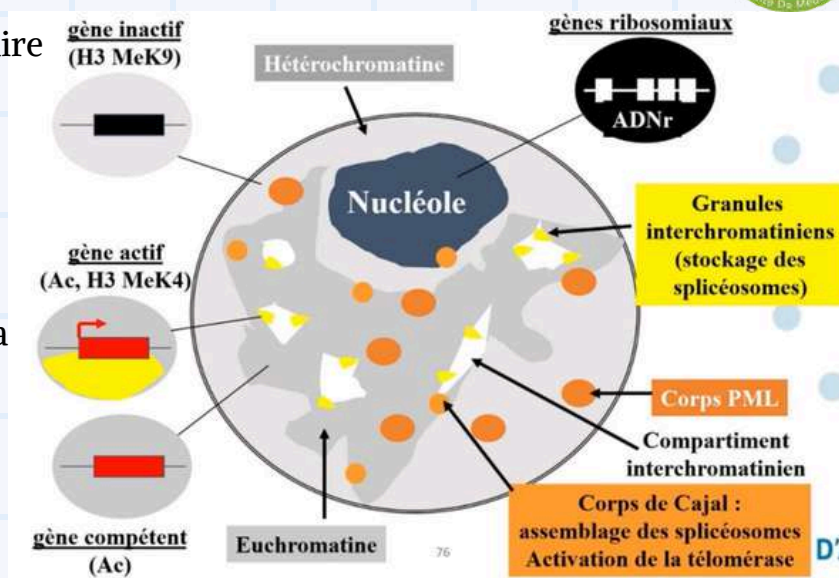
• l'hétérochromatine **tapisse la périphérie** du noyau

• les **corps nucléaires** :

- les corps PML
- les granules inter-chromatiniens = zone de **stockage de facteurs d'épissage** (=splicéosome)
- les corps de Cajal permettant l'**assemblage des splicéosomes** et l'activation d'enzymes utilisant l'ARN (comme par exemple la télomérase)

• les gènes **actifs** à proximité des granules inter-chromatiniens , à la surface des zones plus condensés

• les gènes **compétents** localisés dans l'euchromatine



Chacun de des corps vont avoir des marqueurs spécifiques

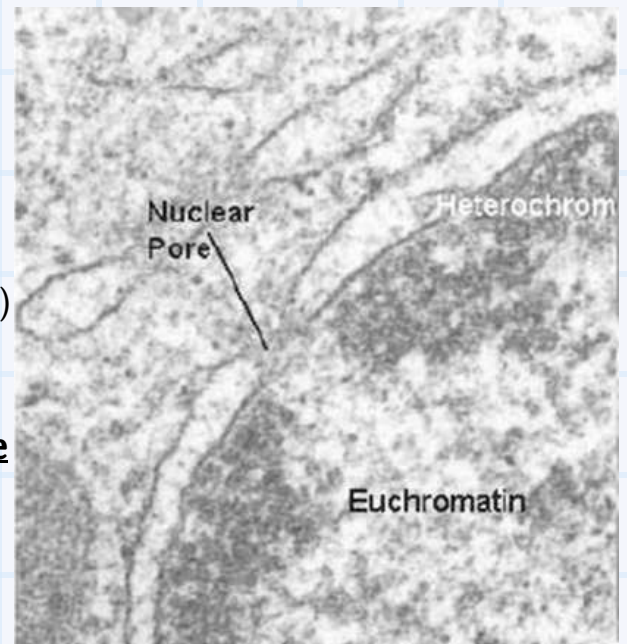
	<p>SC35</p> <p>Granule interchromatinien</p>	<p>Nucléoline</p> <p>Nucléole</p>	
	<p>Nucléoline</p> <p>Coiline</p> <p>Nucléole + corps de Cajal</p>	<p>Coiline</p> <p>PML</p> <p>corps PML + corps de Cajal</p>	
Granules inter-chromatiniens	Nucléole	Corps de Cajal	Corps PML
protéine riche en sérine et arginine : SC35	nucléoline (nucléole=nucléoline facile à retenir)	coilin (mnémocoilins/coilins)	protéine PML (protéine/corps PML pas d'erreurs là)

On va maintenant voir où sont localisés les gènes inactifs.

Sur cette photo en ME on peut voir :

- la double enveloppe nucléaire
- l'euchromatine
- l'hétérochromatine

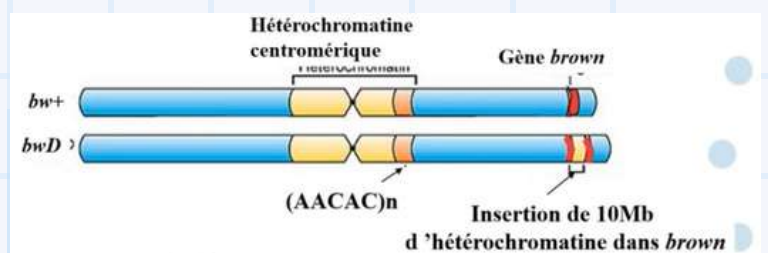
On a vu que les gènes **inactifs** (=qui sont réprimés) sont localisés dans l'**hétérochromatine**. Or l'hétérochromatine est localisée en périphérie du noyau. Donc les gènes inactifs sont **à la périphérie du noyau**. De plus, on voit sur l'image que s'interrompt au niveau des pores nucléaires (*permettant de laisser passer les éléments venant ou sortant du noyau*).



Les *expériences chez la drosophile* ont permis de déterminer que la **position d'un gène** dans le noyau, indépendamment de son contexte, est **essentielle pour son expression**.

Ce concept est né de l'étude d'un mutant particulier d'effet de position du **gène Brown** : la **couleur de la drosophile** (pas les yeux). On a donc ce gène qui est soumis à un effet de position, qui est donc varié, mais qui est dominant.

Il ne s'agit pas ici d'une inversion mais d'une **insertion de 10 mégabases** d'hétérochromatine (*énorme*) provenant du centromère (=partie qui relie les deux bras de chromosomes). Cette insertion se fait un plein milieu du gène Brown.

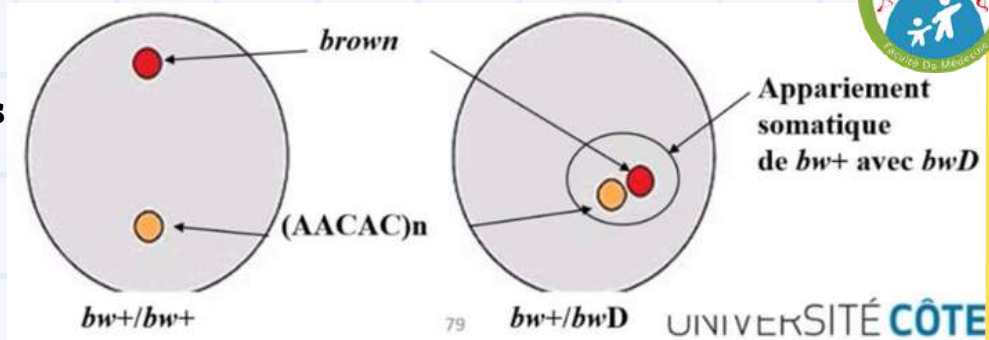


TUT'Récap :

gène **Brown+** = sauvage
gène **Brown D** = gène Brown + insertion

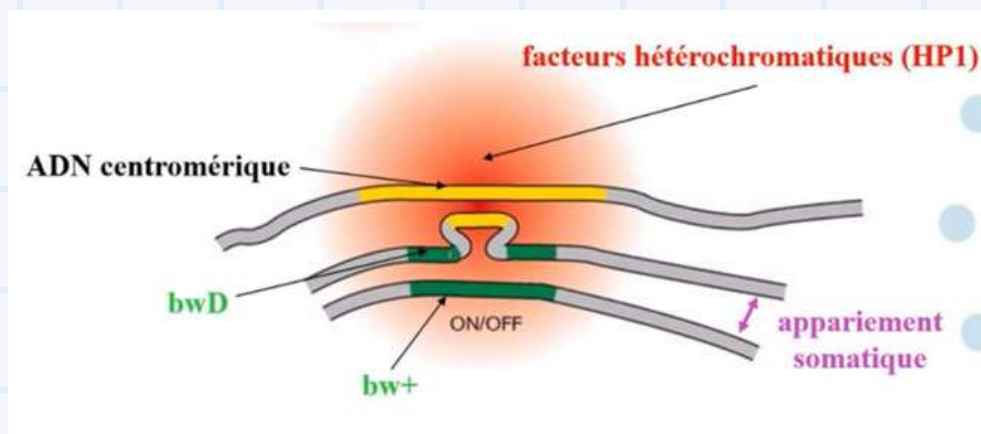
Les chercheurs ont effectués par microscopie des marquages de cellules de drosophile sauvage parentale (Brown+/Brown+) avec une mutation dominante (Brown+/BrownD). Ils ont utilisé des marqueurs qui correspondent respectivement à la séquence centromérique et au gène Brown.

On peut voir ici, que dans une cellule normale, les **deux gènes Brown+** sont localisés à **distance du centromère** en interphase, alors que dans le gène mutant Brown D, le même gène normal va se retrouver associé à l'hétérochromatine.



Explica'TUT :

L'appariement somatique des deux chromosomes, le gène normal va être **entraîné vers l'hétérochromatine**, donc le gène normal ne s'exprime pas, parce que sa localisation nucléaire est modifiée du fait de son allèle

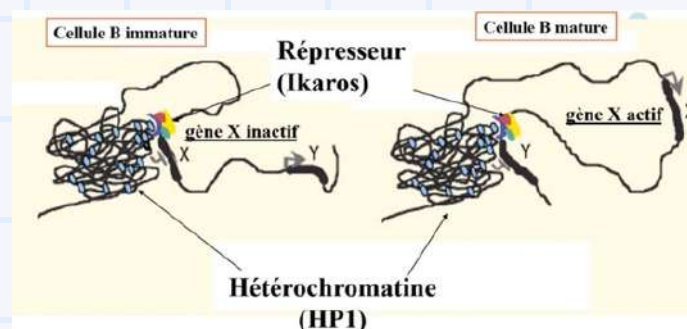


À cause de l'appariement somatique de ces deux chromosomes homologues, l'**allèle normal** va être entraîné par l'insertion de ces 10 Mb sur l'autre allèle vers l'hétérochromatine du centromère, donc même le gène normal ne s'exprime pas, juste parce que sa localisation nucléaire est modifiée du fait de l'allèle mutant qui l'a entraîné vers l'hétérochromatine
→ il se retrouve alors à proximité de **facteurs hétérochromatiques** (HP1...) entraînant sa compaction et donc sa répression.

Le positionnement spatial d'un gène est une information de régulation +++

La régulation de l'expression des gènes ne s'effectue pas de manière identique quel que soit leur localisation dans le nucléoplasme

Ce concept est généralisable. En effet, on a réussi à montrer que le même phénomène de répression survenait pour des facteurs intervenant dans la différenciation des lymphocytes chez la souris et l'Homme
→ ce sont les facteurs Ikaros.



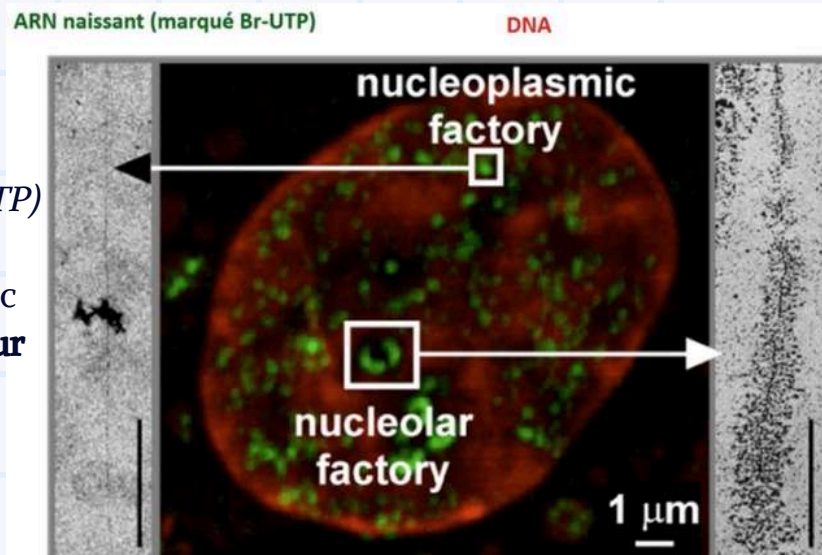
Au cours de la maturation, de la différenciation des cellules B, ces gènes Ikaros vont entraîner les gènes inactifs vers l'hétérochromatine pour stabiliser cet état de différenciation et de programme transcriptionnel.

On va maintenant voir la localisation des gènes actifs

On peut visualiser les gènes **actifs** en microscopie en faisant des marquages avec des précurseurs de transcription (ex : ribonucléotide UTP marqué Br-UTP)

On voit en vert les gènes transcrits donc actifs, et sont plutôt **localisés à l'intérieur du noyau**, là où il y a l'**euchromatine**

- centre du noyau : gènes actifs
- périphérie : territoires chromosomiques



TUT'Récap :

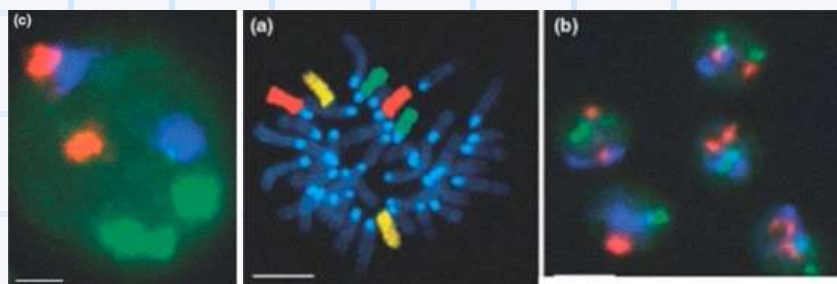
En périphérie → hétérochromatine → gènes inactifs
Milieu/centre du noyau → euchromatine → gènes actifs

C'est quoi les territoires chromosomiques ?

→ c'est encore un **niveau supérieur d'organisation** des chromosomes

On a pu les mettre en évidence grâce à des expériences d'immunolocalisation (FISH) dans le noyau des chromosomes.

Ici chaque couleur représente un chromosome, donc les homologues sont de la même couleur. On appelle cette technique le "Chromosome Painting".

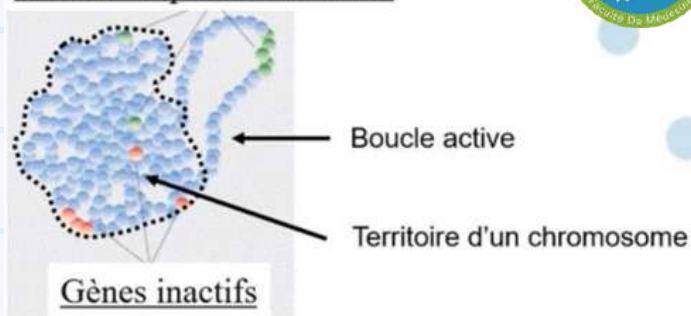


On peut identifier les chromosomes en métaphase, mais ce qui est intéressant c'est en interphase. En effet, en interphase, les couleurs ne sont pas mélangées : homologues verts ensemble, bleus ensemble...

→ chaque chromosome **occupe un espace spécifique** dans le noyau = **territoires chromosomiques**.

Le tutorat est GRATUIT ! Toute vente ou reproduction est INTERDITE 🚫

Gènes compétents ou actifs



Si on s'attarde sur les **gènes actifs**, on observe qu'il y a une ouverture à la surface d'un territoire chromosomique qu'on appelle "**boucle active**" où sont présents transitoirement les gènes. Les boucles/domaines des gènes compétents ou actifs sont **à la périphérie** des territoires chromosomiques.

! TUT'WARNING !

	gènes actifs	gènes inactifs
chromatine	euchromatine	hétérochromatine
localisation noyau	centre	périphérie
territoires chromosomiques	extérieur	intérieur

FIIIIIIIIIIIIN !!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!

DéiiiiiiiiisTime (omg mes premières dédis, j'en rêvais depuiiiiiiiiis la TTR1 l'année dernière 😊🥰)

Ma première dédis va à mon binôme de P1, j'appelle Clara Lebeau. Elle a toujours été là pour moi dans les moments durs comme dans les heureux. Sans elle, je n'aurai jamais pu tenir et je lui dois mon année. En plus on regardait "Gossip Girl" ✨ et "Only Murders In The Building" ensemble à chaque repas (on était en coloc #colocdeP1). ❤️❤️

Dédis à moi aussi d'avoir réussi cette année parce que j'ai quand même travaillé dur #ripmadettesdesommeil 🥰👏

Dédis à ma famille qui ont été là pour moi (surtout pour m'amener les courses et parfois faire le ménage). 🥰

Dédis à mes besties qui me soutenaient à travers le téléphone parce qu'on se voyait jamais (attention la liste est longue... oui j'ai beaucoup de meilleurs amis et alors ?) : Julien, Arthur L, Vincent, Arthur C, Aline, Capucine, Pierre, Gauthier, Moon, Elie, Loane, Léane, Anaëlle, Milena, Anna, Émilie, Léa, Cameron (c'est pas mon bestie lui), Kadya... et j'en oublie sûrement... ❤️❤️❤️

Dédis à mes nouveaux TUT'friends : Emna, Emma, Claudia, Iwan, Sandro... et d'autres avec qui je vais trop bien m'entendre ❤️❤️❤️

Dédis à mes marraines : Carla, Clem, Marie-Lou, Camilia, Léna (qui fait médecine dans l'armée). ❤️

Dédis à Taylor Swift aka Taytay ou Mother qui m'a aidé, soutenu à travers ses musiques (branché vous Taylor Swift), merci pour "You're On Your Own, Kid" à 2 :05min qui me motivait le jour de l'examen classant (je l'écoutais vraiment en boucle) + les édits Tiktok de Taylor qui me motivait (me demandez pas pourquoi je suis obsédé par elle) 📺❤️

Dédis au Tutorat, je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir fait confiance !!!!!!!!!❤️❤️❤️

Dédis à Vivi notre super coloc, qui était toujours là pour nous remonter le moral et nous changer les idées 🥰

Et enfin dédis à toi néo-P1 ! déjà que tu es là à la TUT'Rentrée, c'rdt déjà énorme. Ne lâche rien, n'abandonne pas, crois en toi et surtout en ton rêve, et tu ne pourras qu'avancer !

Le tutorat est GRATUIT ! Toute vente ou reproduction est INTERDITE 🚫

