Organisation du noyau

by Glycoghélène✨

Coucouuuu les Poussins 🐣 !!!!!!

Bienvenue dans la merveilleuse matière qu'est la biocell ✨ Sachez que je suis extrêmement heureuse d'être l'une de vos tutrice de biocell pour cette année, c'était mon rêve de P1 et maintenant qu'il est réaliser je vais tout faire pour vous aider à mon tour dans cette année difficile.

Je vais vous demandez 2 petites choses : déjà n'ayez surtout pas d'a priori sur la biocell s'il vous plaiiiit. Je sais que c'est une matière que beaucoup déteste mais il n'y a vraiment pas de quoi. La biocell vous aime, elle demande peut-être juste un peu de patience mais surtout ne vous braquez pas tout de suite.

Deuxième petite chose que je vous demande c'est de ne pas me détester pour la longueur de cette fiche. J'ai essayer de faire un peu aéré, j'ai mis des gros pavés d'explications que vous pouvez sauter si ça vous aide pas et il y a plein d'illustrations donc je vous promet qu'en vrai ça va. Tout au long de votre parcours dans cette fiche, quand j'ai une petite explication ou un mémo je l'ai indiqué avec un Calcifer ou une petite flamme donc vous ne serez jamais seul, Calcifer aussi veut apprendre la biocell !! 🔥



Sommaire:

I - Notion de relation génotype-phénotype
- A. Etapes 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 térritoires chromosomiques

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

I - Notion de relation génotype-phénotype

A. Etapes de l'expression génique

Le génome, qu'est-ce que c'est ?
Le génome est l'ensemble des séquences d'ADN présent dans les chromosomes qui sont dans le noyaux. On l'appelle alors le génotype.

Tout d'abord, l'ADN s'exprime sous forme d'ARN par le processus de transcription. L'ensemble de ces ARN présents dans la cellule s'appelle le transcriptome.
Certains de ces ARN (⚠ pas tous !) agissent en tant qu'ARNs comme les ribozymes (=catalyseurs d'une réction chimique), d'autre en revanche, seront traduits en protéines : ce sont les ARN messagers.

Remarque:
Il y a un génome par cellule ! Toutes les cellules n'ont pas exactement le même pas génome. En effet, on observe de petites variations dûes aux différentes mutations. Mais dans l'ensemble, on considère quand même qu'il y a "à peu près" le même génome dans nos cellules.
En revanche, ⚠ à partir du même génome, toutes les cellules ne disposent pas du même transcriptome. Il s'agit de l'expression phénotypique du génome.
Et c'est également valable pour la traduction en protéine : à partir d'un même transcriptome, on obtient différentes compositions de protéines. L'ensemble des protéines présentes au sein d'une cellule s'appelle le protéome.



Tut'focus:
Mais à l'aide j'ai rien compris !!! Pas de panique c'est pas compliqué, en fait c'est tout bête.
Dans notre corps, on a plein de cellule mais elles n'ont pas toutes la même fonction #logique donc elle vont pas toutes exprimer la même chose. Par exemple, certaines cellules vont transcrire le gène responsable de la couleur des yeux alors que d'autre transcriront celui de la couleur des cheveux. En gros, chacun a sa mission donc chacun gère le gène pour cette mission.

Petit point grammaire : le "ome" est utilisé en biologie pour décrire l'ensemble des molécules d'une cellule ou d'un tissu. Maintenant, grâce à la technologie, nous pouvons connaître toutes les collections de ces molécules, c'est pouquoi on parle de "ome" ou de "omique".

Ainsi, on passe du génotype au phénotype par un programme transcriptionnel couplé à un programme traductionnel. C'est le principe de base de la biologie moléculaire. *Donc pas de panique si vous ne comprenez pas tout de suite, vous allez revoir tout ça en biomol avec vos incroyables tut ;)*

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite



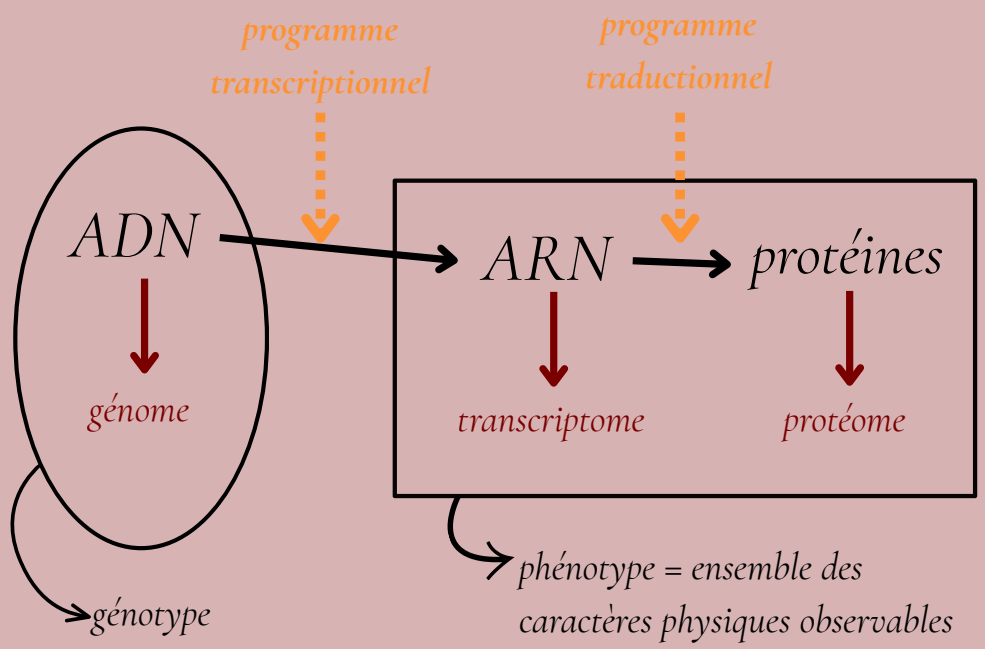
Tut'def :

gène *: unité fonctionnelle de l'ADN*
génome *: ensemble des gènes*
métabolome *: ensemble des métabolites*
lipidome *: ensemble des lipides*
transcriptome *: ensemble des ARN*
protéome *: ensemble des protéines*

Bon, en réalité, c'est faux : ce n'est pas vraiment comme ça que ça se passe dans la nature. En fait, ce n'est pas l'ADN seul qui définit le génotype mais l'ADN associé à des protéines : la fameuse chromatine. On ne parle alors plus de génome mais d'épigénome.

De même que toutes les cellules n'ont pas le même transcriptome, elles n'ont pas le même épigénome. Par contre ⚠ on se souvient qu'elles ont le même génome (presque) !! On parle alors d'épigénotype, l'épigénome étant l'ensemble de l'ADN associé à des protéines (c'est un peu l'ensemble de la chromatine).

Tut'récap :



Bon ça c'est la version simplifiée, mais on se souvient que ce n'est pas seulement l'ADN mais la chromatine qui définit le génome et qui donc permet le programme transcriptionnel.
Chromatine = ADN + protéines → épigénome et c'est tout ça qui forme le génotype.



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

B. Rappels sur l'expression des gènes

On se souvient de ce qu'on a vu précédemment : tous les gènes ne s'expriment pas, ce qui implique qu'ils ne sont pas transcrits en ARN donc il y a différents transcriptome en fonction du type cellulaire.

On va donc voir qu'il existe des gènes "ON" qui s'expriment, et des gènes "OFF" qui ne s'expriment pas dans cette cellule. J'insiste sur le fait que ce soit dans une cellule donnée : si le gène est OFF dans une cellule il peut très bien être ON dans une autre.



Mémo tut:

On se souvient que chaque cellule a son programme à elle car chacune a sa mission propre. Pour illustrer, il faut voir l'ensemble des cellules (du corps humain par exemple) comme une usine qui doit fonctionner. Pour cela, on trouve des ouvriers dans cette usine = les cellules (j'espère que vous suivez) et chacun de ces ouvriers a sa tâche à faire. Dans cette usine, on trouve des outils qui sont à disposition de tout le monde, donc tout le monde peut s'en servir mais les ouvrier ne les utiliserons que s'ils en ont besoin pour leur tâche. Donc ici les outils se sont les gènes, toutes les cellules les ont mais ne les utiliserons pas, ils seront alors OFF, comme si les cellules avaient laissé les outils sur l'étagère.

Lorsque les gènes sont "ON", ils 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).

Tut'focus :

Vous le reverrez en biomol, mais en gros l'ARN quand il vient d'être transcrit, il n'est pas encore prêt à être utilisé parce qu'il a des bouts qui ne servent "à rien" ou d'autre qui ne seront pas utile dans ce cas là donc on va les couper pour garder que ce qui nous intéresse. Et c'est ça l'épissage.



Une fois l'épissage terminé, L'ARN maintenant mature est transporté par des pores nucléaires vers le cytosol, où il sera traduit en protéine. La protéine suivra ensuite le transport vésiculaire. *(Super cours que vous verrez avec mon incroyable co-tut hihi ☆)*

On revient à nos gènes "ON" et "OFF" :

Mémo tut :

Pensez en anglais et ça sera trop facile : ON/OFF = allumer/éteindre et là on l'applique au gène :

- *gène ON = le gène s'exprime*
- *gène OFF = le gène ne s'exprime pas*



Le fait que certains gènes soit ON et d'autre OFF va dépendre du programme transcriptionnel qui est donc responsable du transcriptome.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

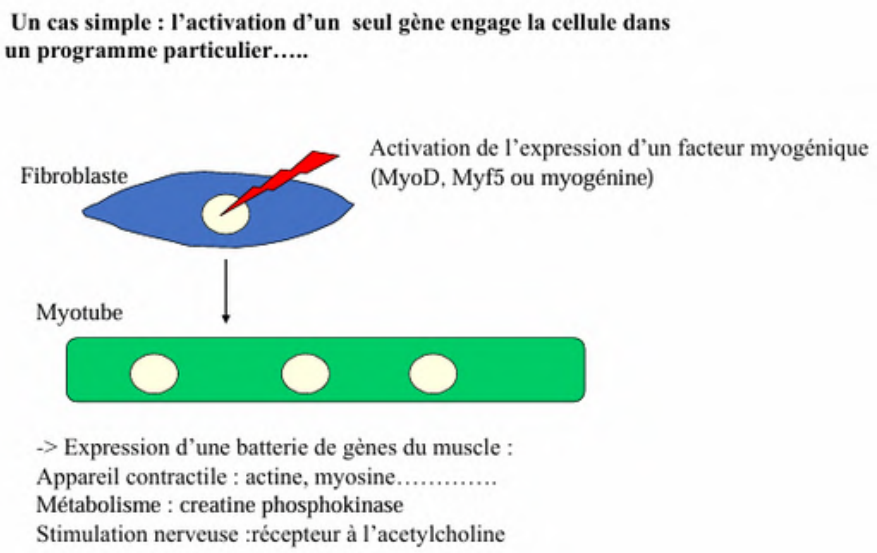
⚠ Attention : la décision pour une cellule d'activer ou pas ses gènes ne dépend pas que d'elle. En effet, elle se fait aider par des signaux qu'elle interprète !
Ils viennent de :

- l'extérieur de la cellule → signaux exogènes (exo = extérieur)
- l'intérieur de la cellule → signaux endogènes (endo = intérieur, 🔥le D de dedans)

On se trouve alors face à 2 cas de figure :

1- Cas simple : activation d'**un seul gène** dans la cellule → le programme transcriptionnel ne dépend alors que de ce seul gène.
On prend un fibroblaste (= cellule de tissu conjonctif) (vous verrez ça en histo avec vos super tut au S2 donc no panique) sur lequel on modifie l'expression d'une famille de gènes, des facteurs qui interviennent dant la différenciation musculaire (mais ça ne veut pas dire que le fibroblaste est une cellule musculaire, ⚠ on ne mélange pas tout).
Traduction : dans un fibroblaste, on va exprimer les gènes qui permettent à la cellule de se différencier en une cellule musculaire.
Comment ? Grâce à un facteur myogénique qui une fois activé fait que le fibroblaste va se transformer en myotube = cellule musculaire.
Cela entraine l'expression de toute une série d'autres gènes qui sont impliqués dans les fonctions du muscles :

- Appareil contractile : actine, myosine
- Métabolisme : créatine phosphokinase
- Stimulation nerveuse : récepteur à l'acétylcholine



Ici, vous voyez que le programme transcriptionnel ne dépend que d'un seul gène mais en réalité c'est souvent l'activation combinée de plusieurs gènes qui génère la diversité de programmes.

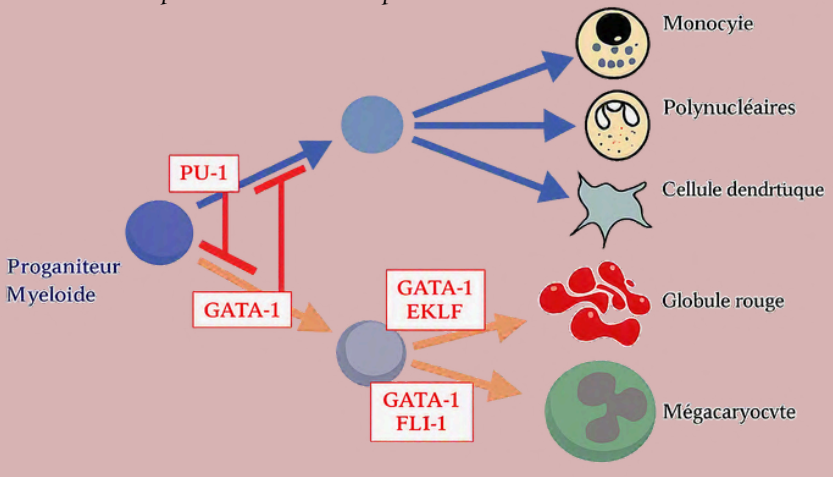
Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

2- Cas compliqué = la réalité : la différentiation des cellules souches hématopoïétiques → cellule hématopoïétique = cellule du sang → globule rouge

On prend des progéniteurs myéloïdes, il y a une ressemblance entre les cellules souches (CS) et les cellules progénitrices (Pr). Les CS hématopoïétiques donnent différentes lignées de Pr myéloïde. Ce qui est intéressant c'est qu'avant de donner des cellules totalement différenciées qui vont se trouver dans la circulation sanguine (ex: monocytes, polynucléaires, cellules dendritiques, globules rouges, mégacaryocytes), il va y avoir tout un chemin de programmations transcriptionnelles dépendant de facteurs de transcriptions uniques.

Explica'tut:

Oui je sais c'est pas forcément clair donc je vais reprendre.
Au début, on a les ***CS hématopoïétiques*** *qui peuvent donner* ***plusieurs types de progéniteurs*** *(dont les myéloïdes mais ça veut dire qu'il en existe d'autre type selon qu'elle cellule on veut obtenir). Ensuite, le* ***Pr myéloïde*** *va pouvoir lui* ***se différencier en deux types de cellules*** *en fonction de s'il exprime PU-1 ou GATA-1 puis rebelote : ces cellules vont pouvoir donner* ***différentes cellules différenciées*** *pour obtenir par exemple des globules rouges. Ce sont donc bien les* ***facteurs de transcriptions*** *(= PU-1 ou GATA-1…) qui vont guider vers la différenciation finale. On suit donc bien un chemin transcriptionnel. Si vous préférez c'est un peu comme dans des jeux où on vous donne plusieurs possibilités de suite et le choix dépendra des outils que vous avez en main ou de votre but.*



À partir d'un progéniteur myéloïde :
→ si on exprime le facteur de transcription PU-1 : la cellule se dirige vers la lignée monocytaire (monocyte, polynucléaire et cellules dendritique).
→ si on exprime le facteur de transcription GATA-1 : la cellule se dirige vers des cellules de lignée rouge (GR, mégacaryocyte).

⚠ petite subtilité : quand le facteur PU-1 active les gènes de la lignée monocytaire, il va en même temps inhiber l'expression des gènes de la lignée rouge donc inhiber GATA-1.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Et c'est réciproque ! GATA-1 inhibe les gènes pour la différenciation monocytaire et active ceux pour la lignée rouge.
Autrement dit : PU-1 est activateur du gène de la lignée monocytaire et inhibiteur du gène de la lignée rouge (et c'est l'inverse pour GATA-1).



Mémo'tut:
Pour retenir quel facteur de transcription correspond à quelle lignée, je me disais que GATA- commence par un G comme les Globules rouges donc GATA-1 active la différenction de la lignée rouge. Et après c'est par élimination que je me souvenais que PU-1 correspondait donc à la lignée monocytaire.

On voit qu'il y a aussi d'autres carrefours de différenciation, il y a donc une combinaison de facteurs de transcriptions pour aboutir à notre cellule totalement différenciée. Ainsi, si on obtient un monocyte, on parle de l'histoire de la cellule souche.
C'est ici que l'on voit l'importance de la diversité des programmes transcriptionnels dans la fonction des cellules et des tissus. C'est l'action combinée de plusieurs gènes qui génère la diversité des programmes.

En réalité, les choses sont encore plus compliquées que ça :
pour que le gène s'exprime ou ne s'exprime pas, ça ne va pas dépendre que des facteurs de transcription ou de sa séquence, mais va aussi dépendre de la structure de la chromatine !

Tut'rappel:
chromatine = ADN + protéines



Pour la faire courte : le gène s'exprime lorsque la chromatine est ouverte et ainsi accessible aux facteurs de transcription et le gène ne s'exprime pas lorsqu'elle est fermée et inaccessible aux facteurs de transcription.

On se rend bien compte alors que ce n'est pas le génome qui joue un rôle dans l'expression des gènes mais l'épigénome (ensemble ADN + protéines).
C'est la distinction entre les phénomènes génétiques et épigénétiques :

- lorsqu'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**

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

- lorsqu'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. Epigénétique car on se souvient qu'on parle d'épigénome lorsque la chromatine (ADN + protéine) rentre en jeu. Donc cela signifie que la chromatine est fermée ou ouverte pour influer sur la transcription.

Tut'récap :

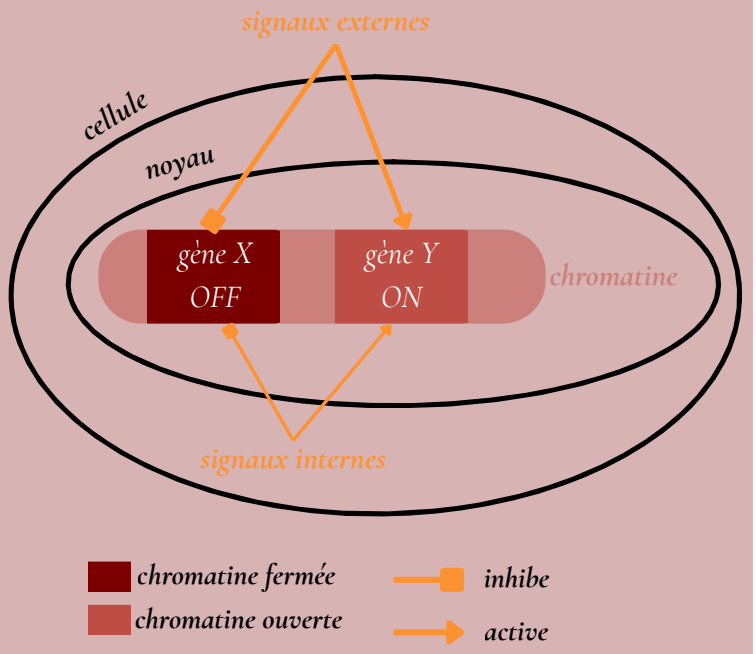
Le gène s'exprime quand :

- *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

⚠ Un gène ne s'exprime pas seul. Un gène est une séquence d'ADN qui peut être traduite en protéine (ce sont les gènes codants) mais pas toujours (gènes non codants). Un gène donne une information génétique sous forme d'ADN, d'ARN seul ou d'ARN donnant une protéine. Tout ça ce sont des gènes.

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. Le promoteur est l'origine et le début de la transcription. Il se trouve en amont du gène et c'est un endroit où l'ARN polymérase peut se fixer pour commencer la transcription (c'est son repère si vous préférez).

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Au niveau de ce promoteur, on va donc retrouver des séquences qui émettent des signaux pour attirer l'ARN polymérase. Il existe trois types de polymérase : I, II et III. La séquence promotrice qui attire l'ARN polymérase s'appelle la TATA box.

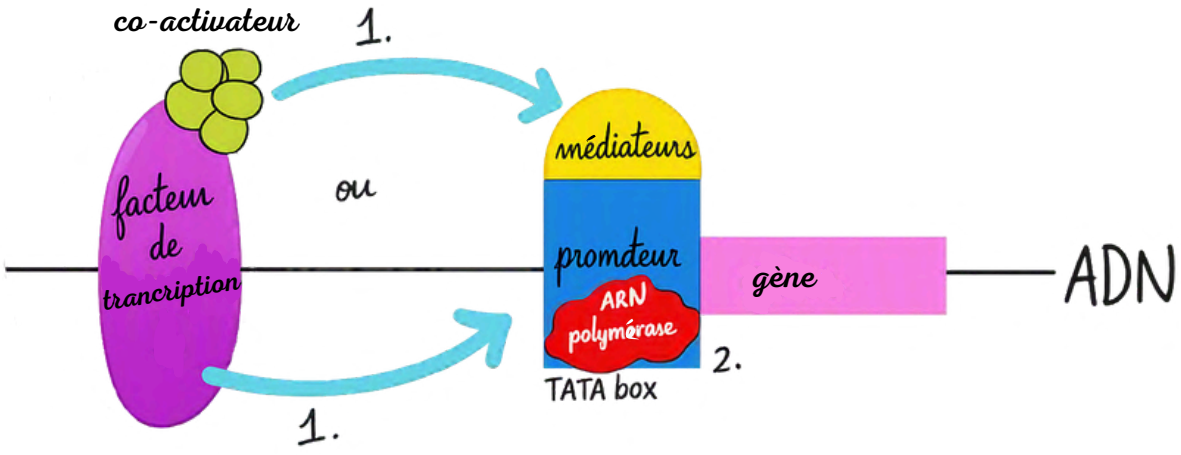


Tut'focus:
Alors là, c'est super important de se souvenir de la TATA box parce que ça tombe facilement en examen ⚠. Mais pour aller plus en détails, on l'appelle la "TATA box" parce que c'est une séquence qui enchaîne des thymines (T) et des adénines (A) ce qui nous donne une séquence TATA (pour la faire courte).

Cependant, l'ARN polymérase ne peut pas réaliser la transcription seule car ce n'est pas un complexe stable. C'est pourquoi, il lui faut des facteurs pour l'aider à se stabiliser en amont du gène : les facteurs de transcription.

Ces derniers agissent de différentes façons mais schématiques. Ils interagissent avec l'ADN de manière spécifique en amont du promoteur pour l'activer lui en particulier et pas les autres (puisque c'est spécifique vous suivez ?). Ils vont alors stabiliser l'ARNpolymérase, soit directement, soit grâce à des co-activateurs.

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 aussi appelés complexe médiateur.



promoteur : origine de la transcription

Ce sont des conditions nécessaires pour que le gène puisse s'exprimer. C'est ce qu'on appelle le contrôle proximal. Cependant, l'expression du gène ne dépend pas que de ça, il existe aussi un contrôle distal.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

B. Le contrôle distal

Le contrôle distal est composé de deux éléments :

- les enhancers : qui participent à l'activation du gène
- les silencers : qui participent à la répression du gène

Contrairement au promoteur (contrôle proximal), les enhancers et silencers (contrôle distal) sont de position variable par rapport au gène (en amont ou en aval / en 5' ou en 3' (vous reverrez ça en biomol no panique)). Ainsi, ils agissent à distance, leur action est dite orientation indépendante (ils agissent de tous les côtés, de partout, dans tous les sens).

La plupart du temps, les enhancers et silencers sont en CIS (ce qui veut dire qu'ils sont portés par la même molécule d'ADN). Mais parfois ils sont en TRANS (ils sont alors portés par deux molécules d'ADN différentes). On appelle ce phénomène, le phénomène de transvection, on l'observe très bien chez les drosophiles mais ce n'est pas encore démontré chez les humains.



Mémo'tut:

Bon, là je vois vos têtes avec vos petites méninges où tout s'embrouille, donc je vais vous filer 2 ou 3 mémo pour vous aider un peu (oui je sais c'est compliqué au début mais svp ne me détestez pas).

*Déjà, pour se souvenir quels éléments font partis du contrôle proximal ou distal, je me disais que **pro**moteur et **pro**ximal ça commence pareil. Et donc par élimination, enhencers et silencers c'est distal. J'espère que jusqu'ici tout va bien.*

Ensuite, pour se rappeller les rôles entre silencers et enhancers, c'est tout simple : silencers c'est comme silence donc ça réprime (désactive, l'empêche de s'exprimer) et donc enhancers ça active puisque c'est l'inverse.

Enfin, pour retenir CIS et TRANS, même si vous allez beaucoup le revoir en chimie, le mémo c'est que CIS ça sonne comme sisters et les soeurs sont toujours ensemble du même côté. Et donc par opposition, on a TRANS qui signifie que ce n'est pas du même côté.

Les enhancers et les silencers sont associés à des protéines, et se sont souvent les mêmes facteurs de transcription que nous retrouvons dans le contrôle proximal parce que l'action à distance des enhancers et silencers forme des boucles dans l'ADN. On observe donc une rencontre dans l'espace entre les enhancers/silencers et la structure de la chromatine qui les sépare.

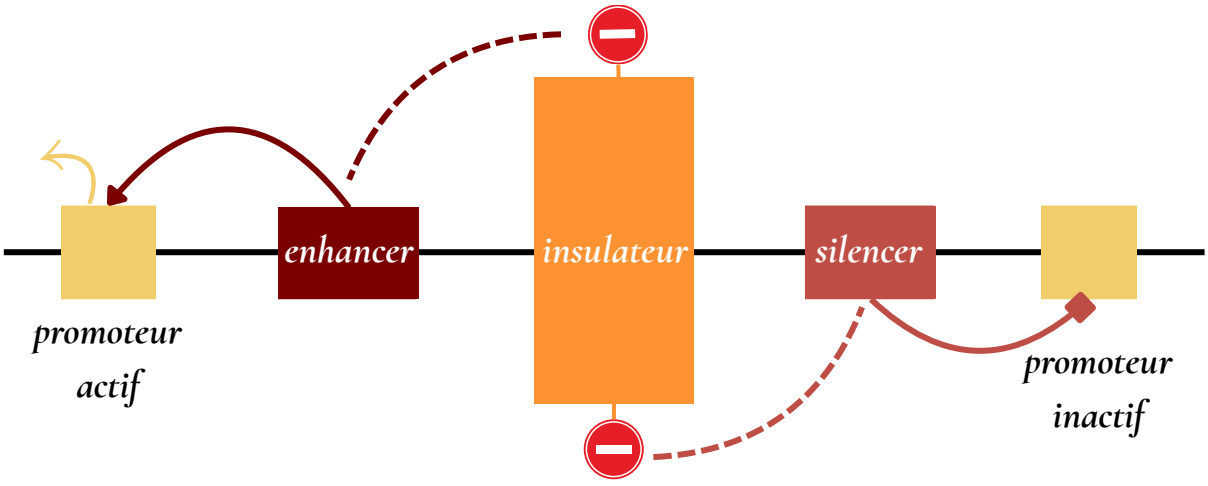
Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Etant donné qu'ils agissent à distance, on rencontre un problème : il faut absolument éviter la cacophonie génétique. En effet les enhancers/silencers émettent des signaux de tous les côtés puisqu'ils sont orientation indépendant (on se souvient), cependant il y a une multitude de gènes et on ne doit pas tous les activer ou réprimer en même temps.
Pour éviter cela, il existe des éléments régulateurs : les insulateurs. Leur rôle est de limiter le champ d'action des enhancers/silencers.

C. Le contrôle de la transcription par les insultateurs

Ainsi, les insulateurs ou éléments de frontières (c'est son autre nom) sont des petites séquences d'ADN très caractérisées qui empêchent l'activation ou la répression sans affecter la fonctionnalité de l'enhancer ou du silencer.
C'est tout bête, lorsque l'on observe un promoteur qui régule un gène, il est sous la dépendance des enhancers et silencers.

- S'il est affecté par un enhancers → alors il est actif
- S'il est affecté par un silencers → alors il est inactif



On comprend tout très bien avec le schéma. On voit bien que les enhancers et silencers agissent de tous les côtés, mais ils sont bloqués par l'insulateur d'un côté pour pas qu'ils touchent aux autres promoteurs. Ainsi la cacophonie génétique est évitée, tous les gènes ne sont pas exprimés ou réprimés . De plus, on voit bien que l'insulateur ne bloque pas leur action mais empêche leur orientation.



Mémo-tut:

Si vous voulez un peu plus vous imager la situation, pour bien comprendre l'impacte de l'insulateur sur la fonction des silencers et enhancers : vous pouvez vous dire que les enhancers et silencers sont des boules à facettes qui rayonnent de partout pour activer ou réprimer des gènes et que l'insulateur est comme un gros mur ou bouclier qui empêche les rayons de se disperser partout.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'récap :



Un gène s'exprime en fonction :

- *contrôle proximal = son promoteur*
- *de son environnement = les facteurs de transcription, chromatine ouverte/fermée*
- *contrôle distal = des enhancers et silencers*

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

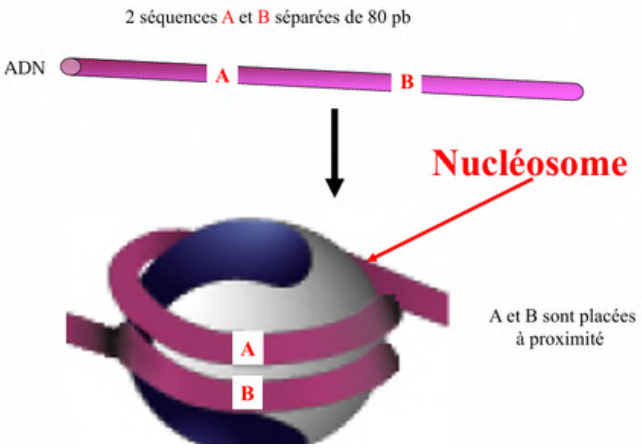
III - Structure de la chromatine



Tut'rappel:

chromatine = ADN + protéines

Lorsque l'on prend une cellule humaine et que l'on aligne l'ADN en entier bout à bout, on se rend alors compte que l'ensemble du génome humain fait à peu près 2m de long. Cependant, il est contenu dans un noyau d'une dizaine de microns, on comprend donc qu'il doit être extrêmement compacté pour rentrer dedans. Il est alors condensé plusieurs milliers de fois. Il y a donc plusieurs niveaux de compaction car on ne peut pas autant compacter l'ADN en une seule fois, on suit plusieurs étapes.



Prenons deux séquences A et B, séparées par 80 paires de bases (pb). On voit alors sur le schéma de la bande qu'elles sont loin l'une de l'autre. Maintenant, si on les associe à un nucléosome ces deux séquences sont proches l'une de l'autre comme on le voit sur le deuxième schéma. Le fait qu'on observe se rapprochement témoigne de la condensation de l'ADN.

On estime une condensation de l'ADN d'un facteur 7 sur l'ensemble du génome grâce au nucléosome.
Le nucléosome représente le premier niveaux de compaction. Il correspond à des protéines sur lequel l'ADN s'enroule deux fois.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'mémo :

Alors je sais que cette histoire de nucléosome ça vous paraît obscure mais pour ça mon vieux avait un super mémo que je vous remets ici (bonus : vous allez avoir sa tête).
Donc en fait, il faut voir le nucléosome comme un rouleau de PQ (le carton), et le PQ c'est l'ADN. Le PQ s'enroule autour du carton pour prendre moins de place que s'il était déroulé.

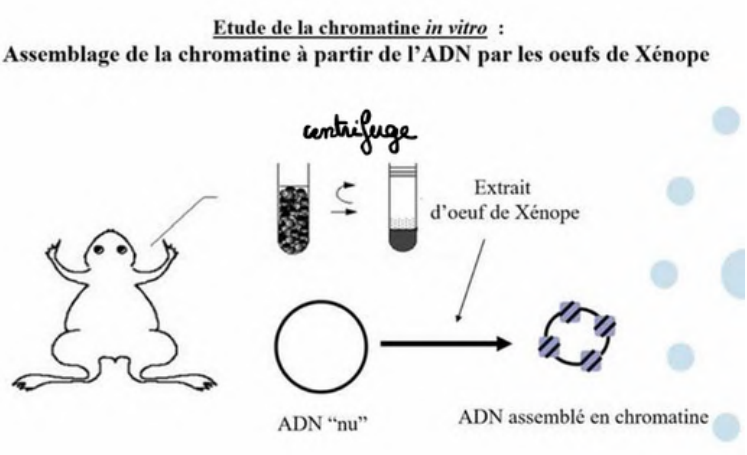
PQ = ADN
carton = nucléosome → *PQ s'enroule 2 fois autour du carton*



Expérience en laboratoire :
On utilise des œufs de xénope (une petite grenouille 🐸) pour étudier la chromatine.

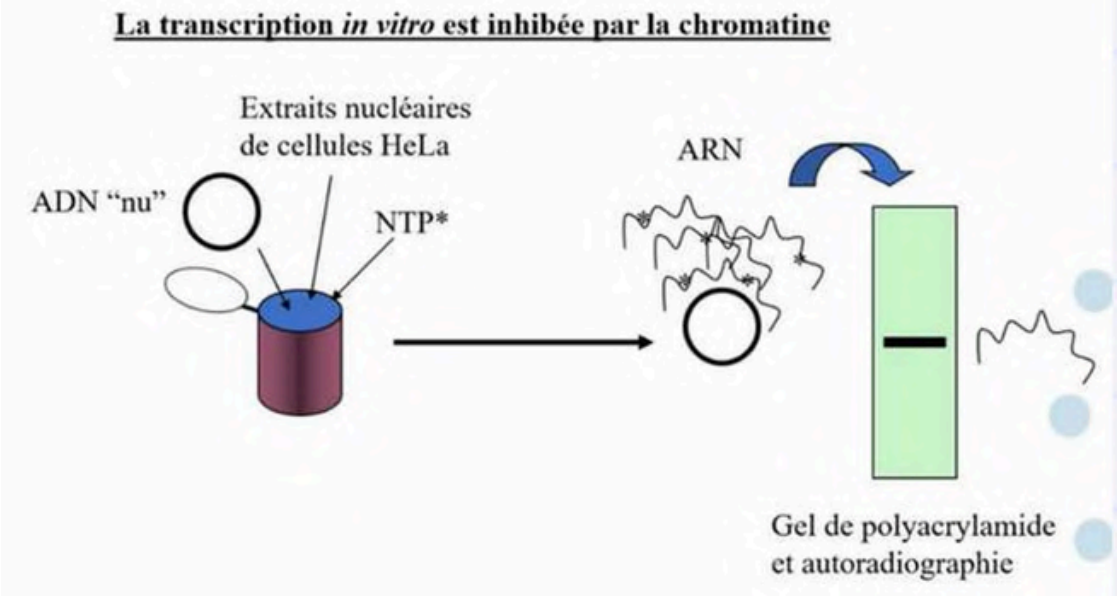
1. On centrifuge les œufs (ça les casse) pour obtenir un concentrat d'extrait d'œufs qui constitue une source d'activités biologiques nécessaires à la production de chromatine.
2. L'extrait d'œuf obtenu est mis en contact avec de l'ADN nu (sans protéines associées), et cet ADN nu va s'assembler en chromatine.

Ainsi on peut étudier la chromatine, sa structure et ses propriétés.



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Ensuite, on réalise une expérience pour voir si le gène peut être transcrit lorsque l'on a de la chromatine car cela représente la première étape de l'histoire d'un gène.
On utilise pour cela un ADN nu provenant des noyaux de cellules cancéreuses humaines. On ajoute des nucléotides isotopes radioactifs pour la transcription afin de les observer facilement grâce à l'autoradiographie.
On utilise également du gel polyacrylamide. L'ADN va migrer en fonction de sa taille et de sa forme.
→ Conclusion : ADN nu a été transcrit en ARN



En revanche, 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 (l'ADN est associé à des protéines donc ça fait un gros patté = impossible à observer)
La raison ? : Il n'y a pas eu de transcription
→ Conclusion : l'ADN ne se transcrit pas lorsqu'il est sous forme de chromatine

On a alors 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 sauf que si c'est possible !

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 (parce que si tout est bien compacté on en perd pas des bout par-ci par-là).
Cependant, la chromatine est défavorable à la transcription parce qu'elle empêche tous les éléments de la transcription (ARN polymérase, facteurs de transcription...) de se fixer sur l'ADN. En fait, ces éléments ne peuvent pas accéder à leur site d'action car l'ADN est caché par la structure condensé de la chromatine.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'mémo :

Il faut voir l'ADN comme une feuille de papier et les éléments de transcription comme des stylos. Lorsque vous voulez écrire, votre feuille est à plat et lisse (= état décondensé). Mais si maintenant votre feuille est en boule, toute chiffonnée (= état condensé = chromatine), vous pouvez pas écrire parce que vous pouvez pas mettre votre stylo.
Donc la chromatine = structure condensée donc transcription impossbile



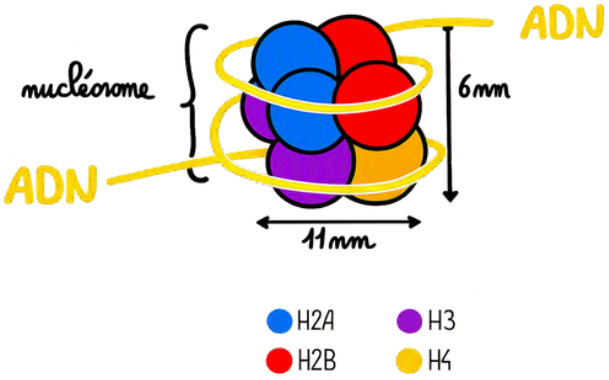
Maintenant, on va essayer de comprendre comment on peut débloquer ce processus de transcription au niveau de la chromatine et pour cela, on va s'intéresser à la structure du nucléosome.

A. Le nucléosome

Donc, on retient bien que le premier niveau d'organisation de la chromatine : c'est le nucléosome.

On assimile le nucléosome à un petit disque ou cylindre de 6 nm de hauteur pour 11 nm de diamètre. Il est composé :

- d'ADN : environ 146 paires de bases. Il s'enroule 2 fois autour d'un nucléosome.



- d'un octamère d'histones : c'est un assemblage de 8 molécules d'histones qui vont par paires, on a donc 4 paires d'histones pour former un nucléosome.
  → les dimères (paires) d'histones sont 2x H2A + 2x H2B + 2x H3 + 2x H4
  l'octamère d'histone a un poids de 108 kDa (kilo Dalton).
- 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/nu).

La cellule synthétise elle-même les constituants de base des nucléosomes.



Tut'focus :

*Les histones sont de petites protéines **basiques** donc elles sont riches en acides aminés chargés positivement. Les histones s'associent ensemble et l'ADN qui est chargé négativement s'enroulent autour d'eux (ça fait 10 fois qu'on le dit, j'espère que vous avez retenu). Pourquoi ça fonctionne ? Tout simplement parce que les opposés s'attirent.*
J'ai un petit mémo bonus pour vous, pour retenir qui est basique ou acide et positif / négatif.
*L'**ADN** est **Acide** parce que les 2 commencent par un A et les protéines sont basiques parce que **protéines** ça sonne un peu comme les potes et les potes c'est la **base** et c'est trop cool donc **positif**.*

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Le nucléosome a des propriétés d'autoassemblage ce qui permet aux histones qui se correspondent (H2A avec H2A) de s'assembler tout seuls (trop cool). Et ainsi le nucléosome se forme. Cependant, ils reçoivent quand même de l'aide des chaperons. Ils ont comme rôle d'augmenter l'efficacité et de s'assurer que tout est fait dans le bon ordre.

L'assemblage des histones : comme on l'a déjà dit, les 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 chaperonnes. Il faut les voir plutôt comme des guides pour permettre l'assemblage en octamère et surtout dans le bon ordre :

1. les chaperons s'associent en premier avec les dimères d'histones H3/H4
2. ensuite la même étape se répète avec les dimères d'histones H2A/H2B

Par contre attention ⚠ : tous les nucléosomes ne sont pas identiques car sinon on aurait un monotonie du génome et donc une abscence d'information particulière. On retrouve bien une structure nucléosomale commune mais il existe de nombreuses variantes et modifications à tous les niveaux.

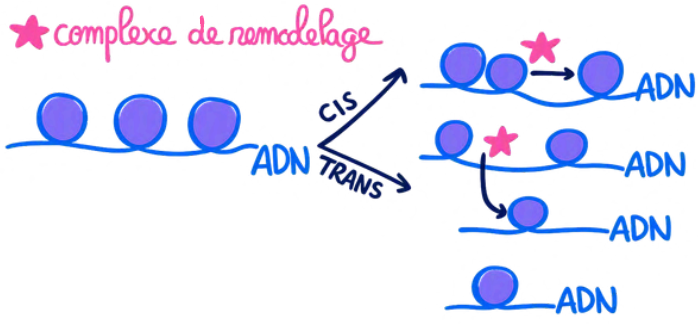
En effet, la cellule peut modifier/moduler le nucléosome selon ses besoins (expression/répression des gènes). On trouve ainsi 3 voies possibles pour modifier les nucléosomes.

1. Le complexe de remodelage

On peut, tout d'abord, modifier un nucléosome en changeant sa position sur le brin d'ADN (si on veut par exemple exprimer un gène, mais qu'il y a un nucléosome au niveau du gène, on le déplace plus loin pour que le gène soit "nu" et ainsi accessible).
Il y a donc des complexes protéiques : ce sont des complexes de remodelage qui vont pouvoir déplacer un ou plusieurs nucléosome selon les besoins.

On peut modifier la position des nucléosomes de différentes façons :

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



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

2. Les variants d'histones



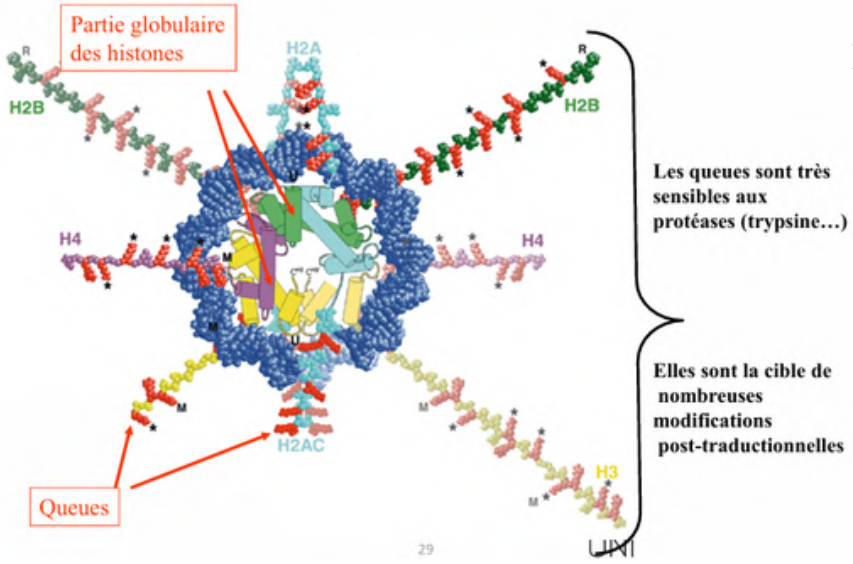
Tut'rappel :
Un nucléosome est composé d'un octamère d'histones (donc 8 histones) qui sont les suivatns :
2 H2A, 2 H2B, 2 H3, 2 H4

Comme on l'a dit, il existe les histones : H2A, H2B, H3 et H4, ce sont des histones de base. Ils sont codés par plusieurs gènes ce qui permet d'aboutir à plusieurs variants. On aura donc des propriétés particulières pour chaque H2A, H2B et H3. On observe une complexité d'organisation.
⚠ gros warning !! : H4 n'est codé que par un seul gène ainsi 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 :

- de H2A : H2AX, H2AZ, macroH2A,
- de H3 : H3.1, H3.3, CenpA

On va maintenant observer l'organisation des histones dans le nucléosome par cristallographie.



Les histones sont constitués :

- d'une partie globulaire au centre
- d'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 sont 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.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Les queues sont très sensibles aux protéases comme la trypsine, on l'utilise alors pour étudier le comportement des nucléosomes sans les queues.



Tut'info :

Vous verrez ça plus en détails en bioch mais les protéases sont des enzymes dont le rôle est de dégrader les protéines.

Tut'récap :

Têtes globulaires centrales	Queues N-terminale périphériques
• se regroupent au centre • possèdent de nombreux acides aminés basiques (chargés positivement comme la lysine et l'arginine → l'ADN étant négatif donc acide, il y a une forte interaction entre les têtes et l'ADN (il s'y enroule autour) : les opposés s'attirent.	• 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, ils font toujours parti des histones donc toujours basiques) • sont la cible des modifications post-traductionnelles • sont sensibles aux protéases (ils sont à l'extérieur donc non protégés et en plus ils sont non structurées



3. Les modifications post-traductionnelles

Chaque nucléosome est unique car comme dit précédemment, les nucléosomes subissent des modifications post-traductionnelles différentes.



Tut'def :

Modification post-traductionnelle : modification que subit une protéine après avoir été synthétisée par le ribosome.

Ces modifications sont 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 (vous reverrez ça en bioch 🦉), on retrouve :

- acétylation
- méthylation
- phosphorylation
- ADP-ribolysation
- ubiquitinylation

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'explique :

Rapido, on trouve littéralement la fonction dans son nom, une fois qu'on connait les abréviations. Si vous voulez, quand on met "tion" à la fin ça veut dire qu'on ajoute l'élément qui précède le "tion" à notre molécule (le plus souvent). Donc sur ce schéma : acétylation signifie que l'enzyme ajoute des acétyles, méthylation : ajout de méthyle etc…

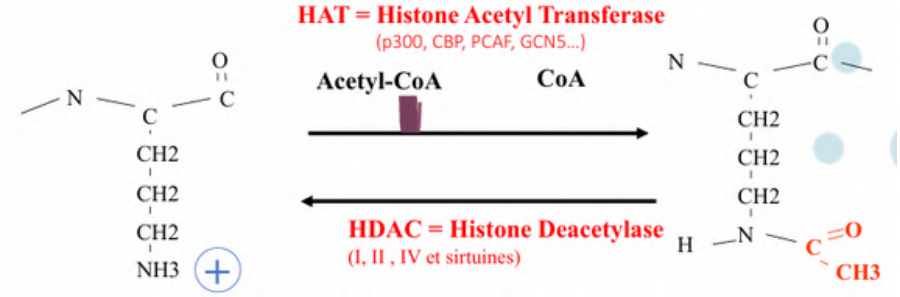


Toutes ces modifications ne sont pas faites au hasard, elles ont un rôle particulier pour la fonction de la cellule.

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

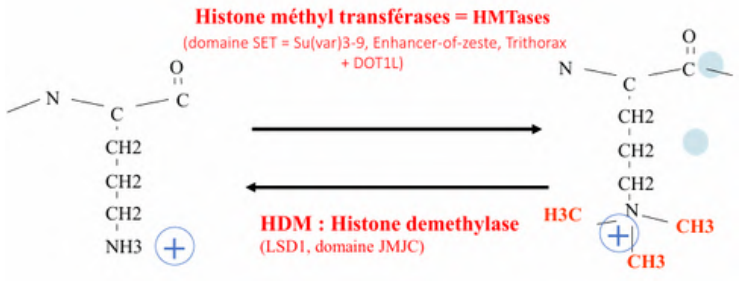


Désacétylation : réaction inverse réalisée par HDAC (=Histone DésAcetyl Transférase). Elle va enlever l'acétyle. Il y a plusieurs HDAC en fonction de la localisation, fonction et type cellulaire.

Exemple de la méthylation (sur lysine ou arginine) :

Méthylation : les HMT (Histone Méthyl Transférase) catalysent cette réaction. Cette enzyme permet d'ajouter jusqu'à 3 méthyles (soit il y en a pas, soit 1, soit 2, soit 3 sur la même lysine ou 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 localisation de la lysine méthylée, l'enzyme utilisée sera différente et la fonction de l'histone sera aussi différente.



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'warning :

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

Déméthylation : réaction inverse, catalysée par la HDM (= Histone DéMéthylase).

Maintenant qu'on a vu les modifications, comment elles sont faites, nous allons voir comment elles sontre traduites afin que la cellule récupère les informations contenues. Souvenez-vous qu'on a dit que les modifications post-traductionnelles ont pour but de modifier la fonction des histones.

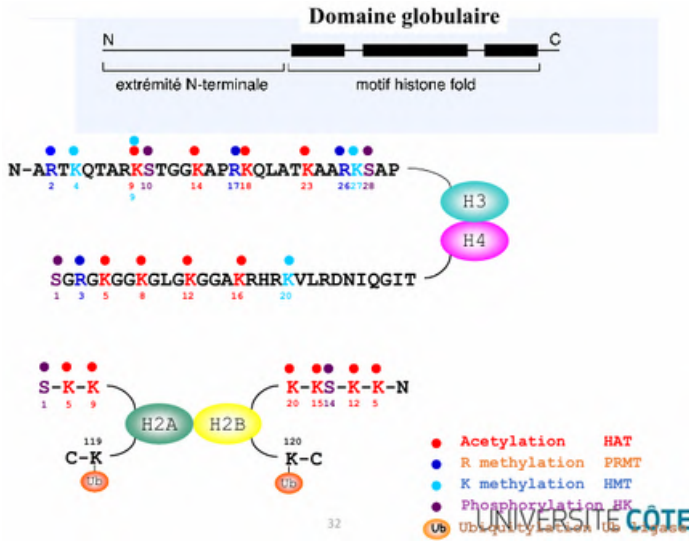
Le code histone

Alors là ⚠, on va parler du code histone. Pour la faire courte, c'est le même principe que le code génétique mais faut faire attention parce que ce n'est pas le même code ! Celui-là est spécifique aux histones (d'où le nom), il permet de lire les modifications post-traductionnelles.

Tut'récap :

Donc si on reprend : la diversité des modifications post-traductionnelles des histones constitue un code : le code histone. Ce code :

- *se rajoute au code génétique*
- *est 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. Donc en fait, quand on parle de modifications alternatives ça veut tout simplement dire que pour un même acide aminé on a plusieurs possibilités de modifications post-traductionelles, par contre on ne pourra avoir qu'une seule version alternative.

Selon les 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".

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

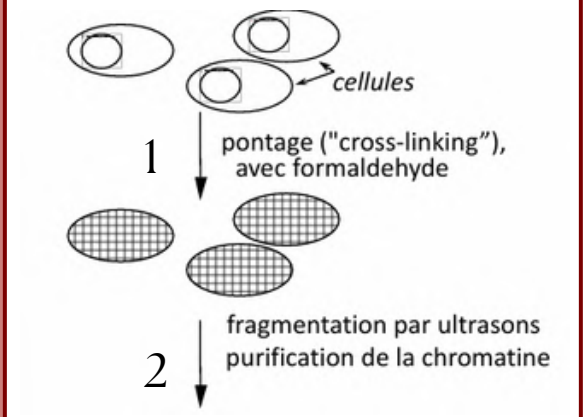
Tut'récap :

- *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 un gène donné (ON → AUG) ou réprimer tel gène (OFF → UAA), détermine l'expression de l'information génétique.*

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 : les modifications diffèrent en fonction de l'acide aminée sur lequel elles ont lieu et en fonction de la position de cet acide aminé dans la queue de l'histone.
Aussi, tous les histones ne sont pas modifiés post-traductionnellement comme sur le schéma, chacun a ses spécificités, ses modifications qui lui sont propres.
L'étude du code histone est utile pour le dévelloppement de nouveaux agents thérapeutiques.

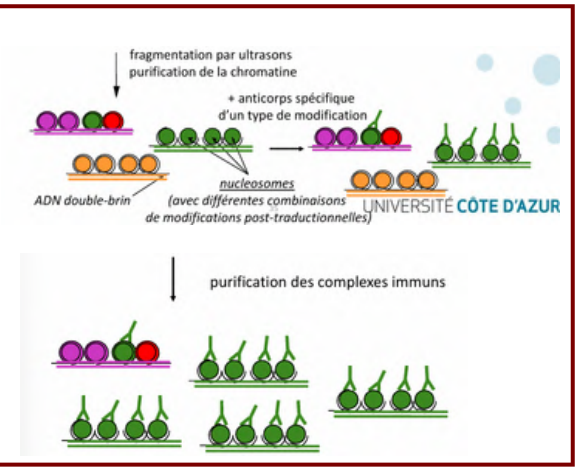
Technique de l'immunoprécipitation de chromatine
But : étudier le code de la chromatine à l'aide d'agents spécifiques pour le lire.

1. figer la cellule dans un état : faciliter la purification de facteurs sans dénaturation. La celulle meurt : pontage/crosslink avec la foraldéhyde (entre ADN et protéines et entre protéines)
2. préparation des extraits grâce à des ultrasons. Fragmentation de la cellule et de la chromatine et purification de la chromatine



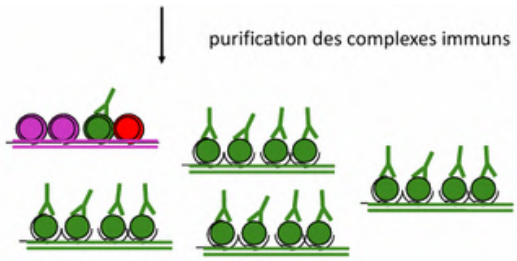
A présent, on veut connaître la couleur de nucléosome, on produit donc des anticorps spécifiques d'un type de modification post-traductionnelle des histones (ex : anticorps spécifiques à la méthylation). A chaque modification correspond une couleur.

3. On incube les fragments de chromatine avec ces anticorps : association d'anticorps reconnaissants 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

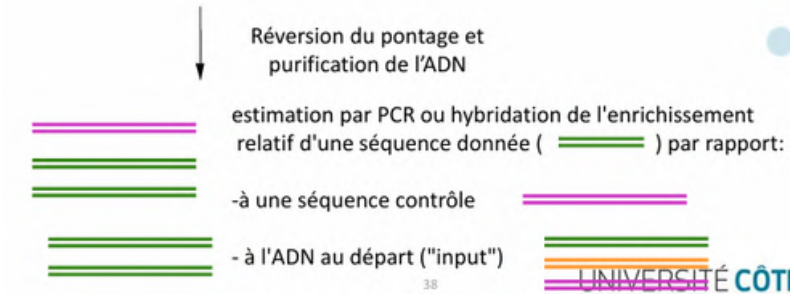


Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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



On renverse donc le pontage et on purifie la partie ADN : l'ADN associé à la chromatine qui porte cette modification

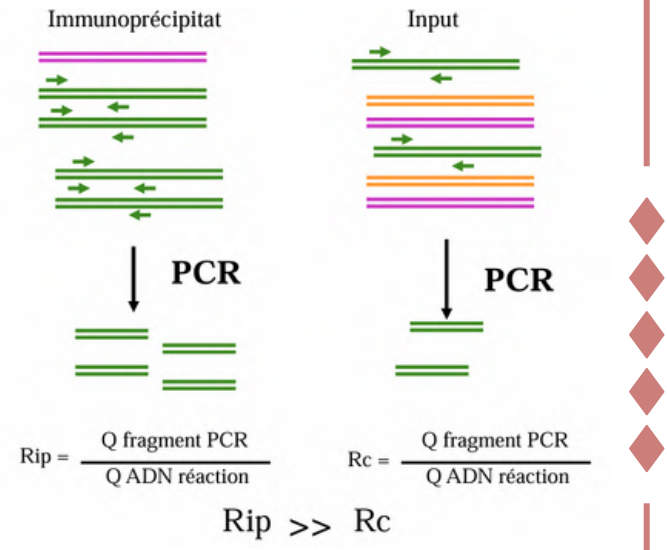


Il existe plusieurs méthodes pour compter le nombre de molécules d'ADN vert. Ici on s'intéresse à la technique PCR. Ça consiste à <u>amplifier la séquence d'intérêt d'ADN</u> et on fait la même chose avec une séquence contrôle, et pour l'<u>ADN de départ</u> avant immunoprécipitation : c'est à dire l'input.

Cette PCR peut être rendue <u>quantitative</u>. Elle pourra alors être comparée à la PCR par 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 <u>anticoprs spécifiques</u>
- l'input : solution de départ, <u>avant immunoprécipitaion</u>



Grâce à la PCR, on a l'<u>estimation de la quantité</u> 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

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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 au départ.
Le facteur d'enrichissement : F = Rip / Rc

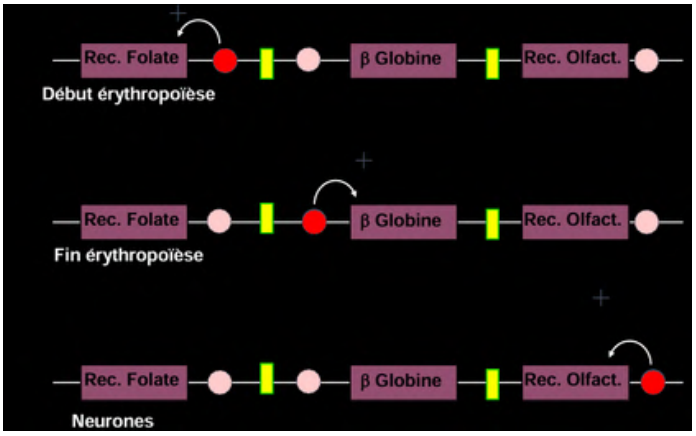


Tut'récap :

Je pense qu'un gros récap s'impose parce que j'imagine que vous n'avez pas tout compris. Je vais essayer de vous faire une version synthétique du concept et vous relirez tranquillement, ça va bien se passer.

Donc pour la faire courte, on veut étudier les histones et savoir quelles modifications post-traductionelles ils ont subit et en quelle quantité. Pour cela, on utilise la technique de l'immunoprécipitation. Le concept est pas trop compliqué : on a produit des anticorps qui sont spécifiques à certaines modifications qui nous intéresse et ils vont venir se fixer dessus pour les marquer. Ensuite on a purifier notre échantillon pour en fait ne garder que les bout qui contenait les séquences d'intérêt (marquées par les anticorps). Puis par PCR, on amplifie les séquences pour que ça soit quantifiable (parce que si on a une trop petite quantité on y arrive pas). Et enfin avec nos jolies petites formules on calcule 2 facteurs : Rip et Rc qui nous permettent de connaître la quantité de fragments d'intérêt par rapport à nos solutions étudier. Enfin on calcule le facteur d'enrichissement, qui compare nos deux facteurs Rip et Rc. Alors si Rip est bien plus grand que Rc on voit bien que le facteur d'enrichissement sera grand donc on pourra dire qu'il y a une présence en grande quantité de la modification post-traductionelle histone d'intérêt.

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

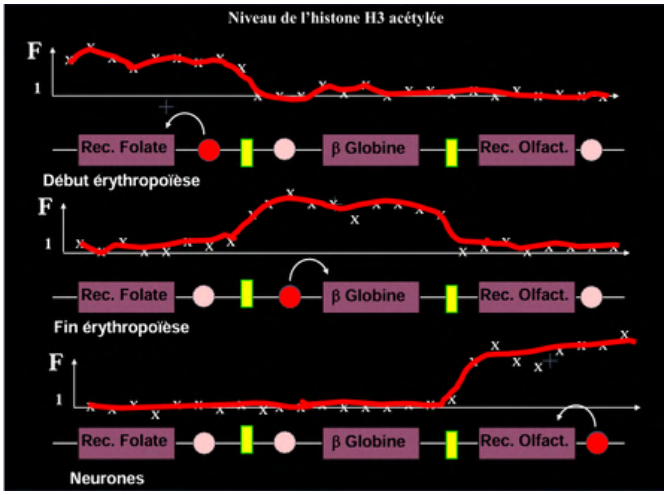
→ on étudie la structure de la chromatine dans ces 3 régions, dans 3 types cellulaires :

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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 ß-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 ß-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.

⚠ Par contre, ces gènes ne s'expriment pas dans les mêmes cellules, il ne faut pas tout confondre.

On utilise notre démarche d'immunoprécipitation en utilisant toute une série d'amorces PCR pour naviguer tout le long de ce génome.



On a ici la quantité d'histones H3 acétylés représentée par le trait rouge. Plus la courbe est haute alors plus le facteur d'enrichissement est élevé donc plus il y a d'acétylation.

On se retrouve avec nos 3 situations d'avant:

1. Au début de l'érythropoïèse : beaucoup plus d'enrichissement au niveau du gène exprimé (récepteur folate), qu'au niveau des 2 autres gènes. Ainsi au début de l'érythropoïèse, il y a beaucoup d'histones H3 acétylés.
2. À la fin de l'érythropoïèse : on observe un enrichissement important au niveau du gène ß-globine, comparé au gène folate où c'est minime. Ce qui veut dire qu'au niveau du gène ß-globine, on retrouve beaucoup d'histone H3 acétylés.
3. Dans un neurone : enrichissement du gène récepteur olfactif donc présence d'histones H3 acétylés. Les histones H3 au niveau des gènes récepteur folate et ß-globine ne s'expriment pas donc pas d'enrichissements.

Import'tut : les règles générales

- *Transcription active : → chromatine HYPERacétylée*
  → chromatine méthylée en K4 (Lysine position 4 de l'histone H3)
- *Transcription inactive : → chromatine HYPOacétylée*
  → chromatine méthylée en K9 (Lysine position 9 de l'histone H3)

⚠ *Il y a une relation entre les modifications post-traductionnelles et le niveau de transcription des gènes.*

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite



Tut'mémo :

Alors moi pour me souvenir si c'est K4 ou K9 qui méthylée active ou inactive, je me disais que le 4 correspond à un A : le A de Active. On obtient alors que K4 Active et donc K9 inactive.

On a vu qu'il fallait que les nucléosomes soient modifiés pour que les gènes puissent être transcris : on se souvient que s'il y a un nucléosome alors l'ARN polymérase ne peut pas lire l'ADN donc PAS de transcription. Il y a donc des facteurs de transcription associés à des co-activateurs (ou répresseurs) pour modifier nos nucléosomes, ou plus précisément modifier la chromatine et les histones.

On a aussi vu 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 la structure locale de la chromatine en favorisant l'apparition de nucléosomes donc pas de transcription si on a bien suivi.

A présent, nous allons voir comment l'information est lue par la cellule, comment la cellule traduit le code histone parce que c'est pas tout de faire des modifications, il faut pouvoir les lire après. Et ça c'est le travail de protéines présentes dans le noyau, ce sont des protéines non-histones, activateurs ou répresseurs de la transcription. Elles reconnaissent spécifiquement les modifications post-traductionelles 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 .
Pour la faire courte : les modifications post-traductionnelles vont modifier l'intéraction entre les protéines non-histones et le nucléosome (histone + ADN), ainsi le code histone pourra être lu.



Tut'warning :

⚠ Alors là, big tableau en approche !! Je suis désolée, même si j'adore les mémos j'en ai pas trouvé beaucoup pour ce tableau de la mort donc essayez soit de vous en faire soit de mémoriser comme vous pouvez. A force de lire et relire ça rentre je trouve mais bon voilà, toutes mes excuses et bon courage ! Promis si je trouve des mémos entre temps, je vous les donnerai, ils sont indiqués par une petite flamme 🔥 (pour notre cher Calcifer).
Par contre pour le petit tableau juste après qui suivra, là c'est pas compliqué, si vous parler un tout petit peu anglais, la fonction sera littéralement dans le nom.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Modifications post-traductionelles	Reconnues par	Actions
Lysines acétylées	Protéines à bromodomaines	Recrutement de facteurs de transcription pour les zones hyperacétylées
H3K9 et H3K27 méthylées	Protéines à chromodomaines : • HP1 pour K9 • Polycomb pour K27 (🔥on abrège chromosome par K donc les chromodomaines vont avec les K)	HP1 forme hétérochromatine = pas de transcription : quand on méthyle K9 ou K27 on forme de l'hétérochromatine
H4K20 diméthyllée (🔥4 et 20 ça donne l'heure 4h20 et c'est une heure à laquelle on dort (Tudor))	Protéines à domaine Tudor	Réparation de l'ADN (🔥quand on dors, on régénère notre corps)
H3S10 (sérine 10) phosphorylé	Protéines à domaine "14-3-3"	Facilite l'acéthylation et l'activation de l'expression des gènes en réponse au stress

(🔥la modif est sur une sérine (S) donc S de stress et le nom de la protéine on dirait un numéro de secours)

On trouve alors 3 types de protéines qui permettnet l'organisation de l'expression du code histone :

"Writers" = Ecrivaines	"Readers" = Lectrices	"Erasers" = Effaceuses
Ecrivent le code : responsablent des modifications ex : HAT, HDM	Lisent le code ex : protéine à domaine Tudor, chromodomaine, bromodomaine	Effacent le code : action inverse des writers ex : diméthylase

C'est l'ensemble de ces types de protéines de fonction qui fait que localement la séquence promotrice sera acétylée et éventuellement soumise au remodelage de la chromatine pour finalement permettre au gène d'être ON.

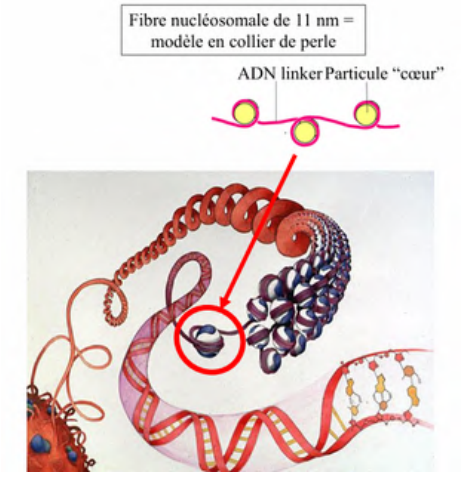
Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

B. La fibre nucléosomale

La fibre nucléosomale représente le deuxième niveau de compaction de la chromatine après le nucléosome. Ce sont des nucléosomes qui s'enroulent les uns avec les autres.

Cependant ⚠, il y a 2 niveaux d'organisation de la fibre nucléosomale :

1. Le nucléosome en lui-même, fibre de 11 nm. Ce sont des nucléosomes reliés entre eux par de l'ADN linker, c'est le modèle du collier de perles.
2. L'enroulement des nucléosomes entre eux, fibre de 30nm. Sa structure est moins bien connue si ce n'est que ce sont des structures plus condensées de la chromatine.

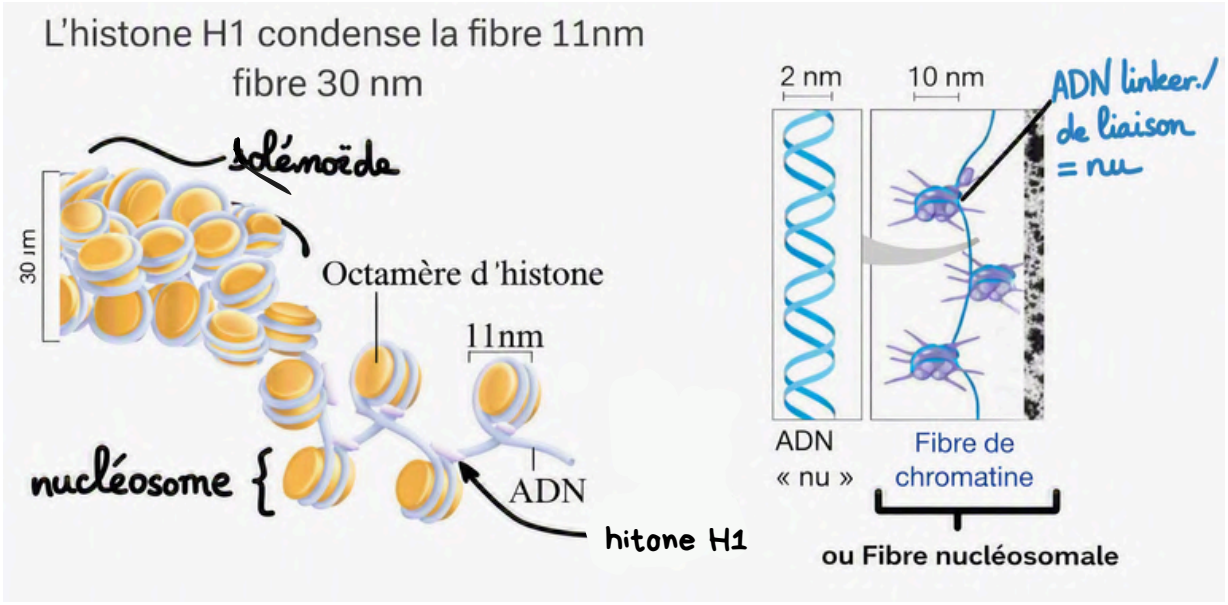


Donc on retient que la fibre nucléosomale est :

- une structure encore plus condensée
- une fibre de 30 nm, ce qui correspond à 3 nucléosomes enroulés : solénoïde
- C'est la protéine H1 qui permet une transition conformationnelle vers une structure de 30 nm
- une conformation fermée de l'ADN

Tut'warning :

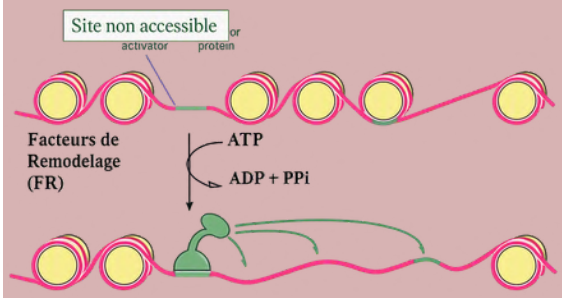
⚠ *Faites attention, l'histone H1 dont on n'a pas encore parlé ne fait pas partie du nucléosome. C'est une protéine à part qui permet de réaliser la transition entre la fibre nucléosomale de 11 nm (donc du nucléosome) et de 30 nm (le solénoïde).*



Cette fibre nucléosomale, plus précisément solénoïde peut être soumise à des modifications locales appelées : remodelage.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Au niveau des promoteurs, il faut la plupart du temps modifier les nucléosomes pour la fixation des protéines régulatrices comme les facteurs de transcription (on s'en souvient).
Pour modifier tout ça, on a besoin de facteurs de remodelage qui rendent l'ADN accessible aux facteurs de transcription. Ces facteurs de remodelage consomment énormément d'énergie pour fonctionner.
Leur rôle est de créer des zones sans nucléosomes pour permettre la fixation des facteurs de transcription. Cela est rendu possible en hydrolysant l'ATP présent sur les domaines ATPases des nucléosomes.



Tut'focus :

Grâce aux facteurs de remodelage (on les confond pas avec les facteurs de transcription), le site non accessible à la transcription devient accessible. Cela se réalise grâce à l'hydrolyse (coupure) de l'ATP en ADP + P .
La fixation des facteurs de transcription est ainsi possible.

C. Domaines et boucles

On arrive alors au 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 les niveaux d'activité des gènes :
→ chacun des niveaux de structure de la chromatine correspond à des niveaux de transcription des gènes.

Niveau d'activité	Gène OFF	Gène compétent	Gène ON
Transcription	Inactive	Inactive	Active
Modifications importantes	Méthylation H3K9	Acétylation H3 / H4	Acétylation H3 / H4 + méthylation H3K4
Sensibilité à la DNAse	Résistante : chromatine trop condensée	Sensible	Hypersensible

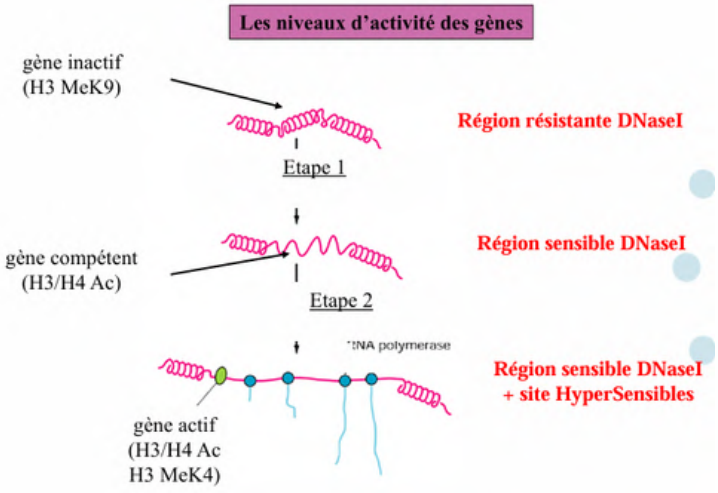
Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'mémo :

⚠Si vous faites bien attention, vous remarquez que l'on passe par différentes étapes pour arriver à la transcription d'un gène : il est d'abord OFF puis compétent puis ON.
Pour retenir quelles sont les modifications j'avais quelques petits mémo :

- *déjà on voit une progression entre compétent et ON donc pour ON on reprend les modifications du gène compétent et on ajoute un méthylation en H3K4 et c'est K4 parce que le 4 ressemble au A de actif.*
- *ce qui permet de faire la différence avec le méthylation du gène OFF qui est en H3K9*

Petite info : la DNAse est une enzyme capable de dégrader l'ADN. C'est logique qu'elle ne dégrade pas les gènes OFF car ils sont trop condensés donc inaccessible : ça leur fait une sorte de carapasse si vous voulez.



⚠ 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 chromodomaines comme HP1 ou Polycomb et donc la mise en place de l'hétérochromatine : fermeture de la conformation. Le gène est inactif.

Les domaines co-régulés

Dans un même domaine, les gènes peuvent être co-régulés : on parle alors de domaine de régulation. Ce qui signifie que les domaines ont leur propre niveau d'organistion avec leur propre strcture.

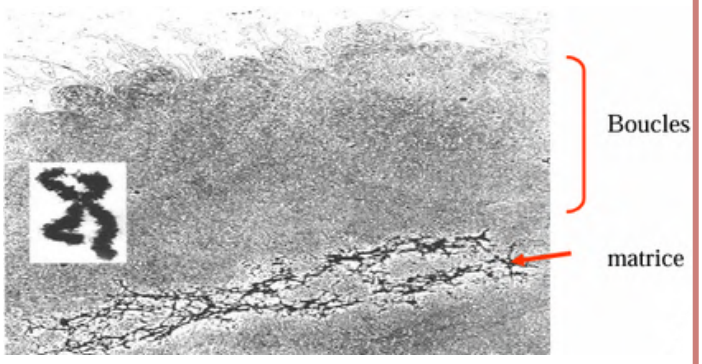
Les gènes ne sont pas pas régulés de manière indépendante. En effet, on se souvient des insulateurs qui protègent plusieurs gènes des enhancers et silencers. Même si les gènes sont transcrits de manière indépendante. C'est super important de bien faire la différence entre transcrit et régulé :
Transcrit : c'est vraiment lorsque l'on va prendre notre ADN et le transcrire en ARN pour qu'il soit exprimé.
Régulé : c'est plus avant la transcription, c'est pour savoir si le gène doit être ON ou OFF.
On comprend donc que transcrit c'est vraiment indépendant parce qu'on se focalise sur un gène particulier; par contre la régulation est plus générale pour exprimer plusieurs gènes à la fois. Ainsi les gènes peuvent être co-régulés.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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)

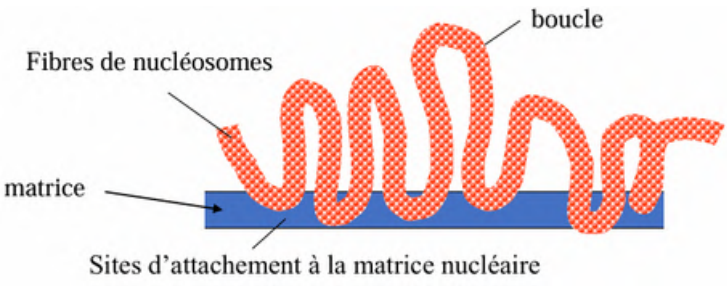
On voit bien cette partie fibreuse qui correspond à la matrice et des boucles d'ADN. Ces boucles d'ADN sortent de la matrice centrale. Les domaines de co-régulation correspondent à ces fameuses boucles. On a une relation structure-fonction : les gènes co-régulés appartiennent à la même boucle.



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

Schématiquement ça donne ça :

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



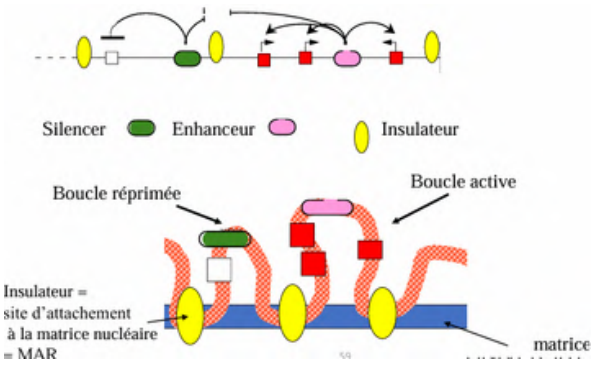
→ la fibre nucléosomale forme des des boucles qui viennet s'attacher à la matrice nucléaire. Ainsi, une boucle c'est un domaine.

Composition de la matrice nucléaire :

Lamina nucléaire	Protéines du nucléosquelette	Complexe nucléoprotéique
• diverse en fonction des cellules • filament intermédiaire • organise le génome en boucles de chromatine	• actine • lamine • A/C • NuMa	

Comment ça se passe au niveau des 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 des enhancers ou silencers.



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

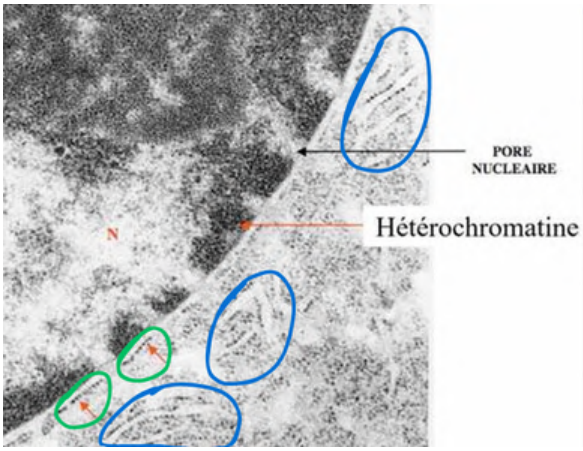
Au niveau des insulateurs qui séparent physiquement les boucles, et empêchent les silencers et enhancers d'activer ou de réprimer les gènes des boucles d'à côté, il y a des sites d'attachement à la matrice nucléaire.
Ainsi, on peut trouver une boucle activée par un enhancer, et juste à côté, une boucle réprimée par un silencer, les deux étant séparées par un insulateur.

D. L'hétérochromatine

On arrive enfin au dernier niveau de compaction (très condensé) de la chromatine. Cet état est lié à différentes étapes du cycle cellulaire (cycle que vous verrez avec ma super co-tut ♡). On la retrouve principalement en mitose, permettant une bonne séparation (ségrégation) des chromosomes sans perte de gènes.

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

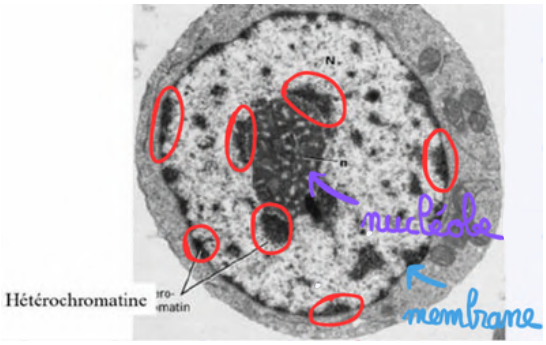
À droite, on reconnaît le réticulum endoplasmique granuleux (REG) avec les ribosomes associés à certains ribosomes libres.



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 fait, la membrane de l'enveloppe nucléaire présente une partie interne dans le noyau et une partie externe face au cytoplasme. On trouve alors les ribosomes sur la face externe.

Grâce à une coloration particulière, on voit à l'intérieur du noyau des zones extrêmement denses (noires) aux électrons. Plus c'est condensé, plus c'est dense. Les zones noires correspondent à l'hétérochromatine qui est essentiellement localisée aux abords de l'enveloppe nucléaire, elle en tapisse la face interne.
Cette fois, il y a une discontinuité de l'enveloppe nucléaire, correspondant aux pores nucléaires. Ce sont des sortent de canaux correspondant à une interruption de la double membrane permettant de laisser passer l'ARN par exemple. On observe ainsi un échange dans les deux sens qui s'effectue entre le noyau et le cytoplasme.

L'hétérochromatine est une forme extrême de chromatine HYPERcondensée, facilement visible en ME dans le noyau en interphase. (HYPERcondensée car la chromatine est déjà elle-même condensée)
L'hétérochromatine est essentiellement lié à la membrane et au nucléole (partie liquide dans le noyau).



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Tut'focus :

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

L'effet de position

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

Tut'def :

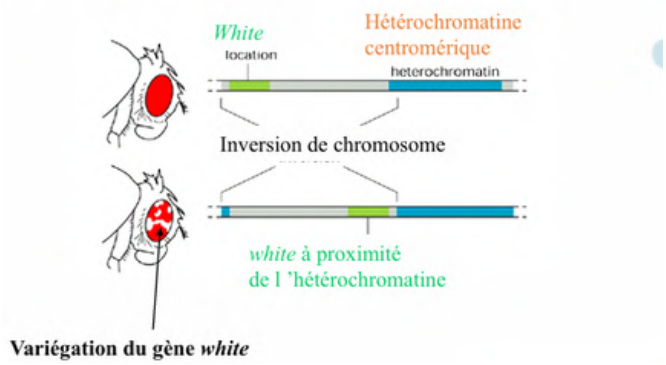
Effet de position : l'activité d'un gène dépend de son contexte chromosomique

On a tendance à prendre un gène isolément de manière idéale mais en réalité le gène existe dans un contexte chromosomique comme 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 (ceux qui avaient SVT vous savez de quoi on parle #trauma). Les drosophiles ont normalement les yeux rouges, mais ces mutants avaient des yeux variégués avec zones rouges et des 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.

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



Variégation du gène *white*

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.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

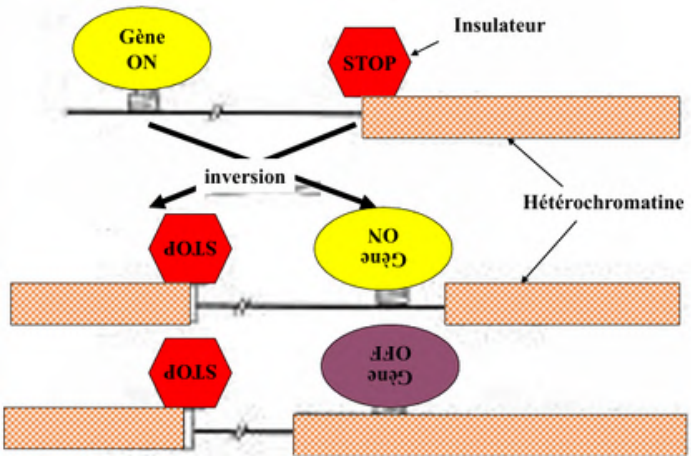
Tut'focus:
On voit qu'avant l'irradiation, le gène White est loin de l'hétérochromatine donc il s'exprime. Mais suite à l'inversion, le gène se retrouve proche de l'hétérochromatine et alors il ne s'exprime plus.



Mais attention, cette inversion n'a pas lieu dans toutes les cellules (on n'oublie pas qu'on observe une seule cellule à la fois), expliquant cette variégation. On parle donc bien de variégation 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.

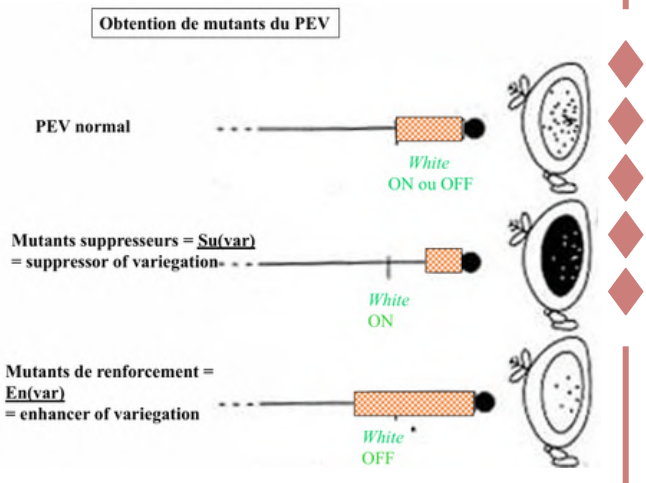


En bas : Situation d'inversion : le gène White se retrouve proche de l'hétérochromatine et l'insulateur est désormais après le gène, permettant l'expansion de l'hétérochromatine qui va recouvrir le gène White et ainsi le réprimer.

Ainsi, on retrouve ce genre de situation dans certaines cellules, alors que dans d'autres non, d'où la variégation. C'est ce qui créer ces tâches de deux couleurs différentes.

Maintenant les chercheurs partent de drosophiles avec le gène 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 blancs.
Au milieu : on maintient des mutants suppresseurs de variégation = Su(var) : ils rétablissent une expression normale du gène White → yeux rouges



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

En bas : Les chercheurs ont trouvé des mutants qui font l'inverse, on les appelle les mutants de renforcement. Ici, ils maintiennent la variégation : En(var) : ils rendent la variégation encore plus importantes : œil encore plus blanc



Tut'focus:

Alors je sais que cette partie c'est pas forcément super méga clair mais en gros si vous voulez :
Su(var) : est un supresseur de variégation (dans cette situation), c'est à dire qu'il annule l'effet originel. Donc pour la faire courte, vous pouvez vous dire qu'avec Su(var), on se retrouve avec l'inverse de ce qu'on avait avant.
En(var) : est un mutant de renforcement, donc il va accentuer l'effet qui est déjà en place. Ici il va donc accentuer le blanc mais si le gène était rouge (dans une situation sans mutant) alors il aurait accentué le rouge.

Parlons maintenant des protéines issues des gènes En(var) et Su(var).
Les chromosomes faut les voir comme un plat de spaghettis : quand tout 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 donc une chromatine répressive/condensée
→ les spaghettis démêlés représentent la chromatine active/ouverte : euchromatine

En(var)	Su(var)
• augmente l'ouverture de la chromatine • protéines de l'euchromatine : active pour la transcription. On retrouve des facteurs de transcription, HAT...	• augmente l'hétérochromatine • protéines de l'hétérochromatine comme HP1, Su(var)3-9, HDAT

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

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

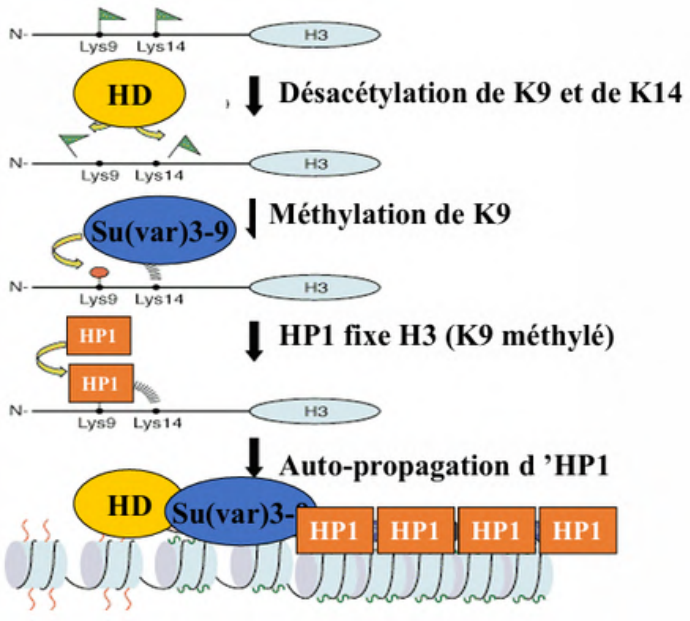
Tut'récap:

	Gènes à l'état sauvage	Gènes mutés	Conséquences de la mutation
Su(var)	favorise la propagation de l'hétérochromatine : augmentation de la variégation	suppression de la variégation par mutation gain de fonction : désactivation de l'hétérochromatine	l'hétérochromatine se propage peu : oeil moins blanc que dans le cas classique
Envar	favorise la propagation d'euchromatine : diminution de la variégation	augmentation de la variégation par mutation des enhancer + désactivation de l'euchromatine	l'hétérochromatine se propage : oeil encore plus blanc que dans le cas classique

La propagation de l'hétérochromatine

L'hétérochromatine se propage grâce à des enzymes qui vont modifier la chromatine pour aboutir à l'hétérochromatine. La plupart des évènements vont avoir lieu au niveau de l'histone H3 dans l'objectif de fixer HP1.
Cela se fait en 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 méthyler 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 les modif post-traductionnelles. Rappel : HP1 est une protéine à chromodomaine.



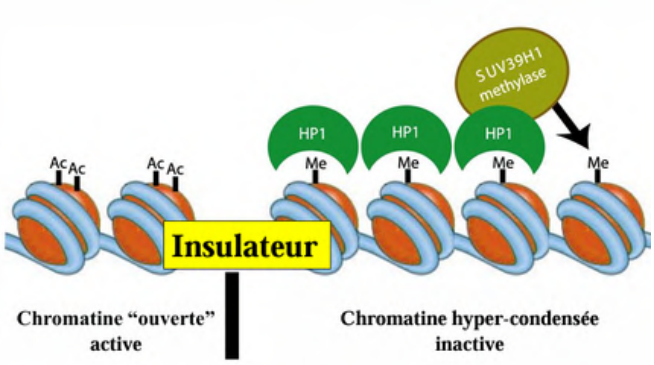
4. HP1 va de nouveau recruter Su(var)3-9 permettant ainsi la propagation de l'hétérochromatine avec plein de HP1

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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

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

- des zones avec de la chromatine ouverte : euchromatine, les gènes sont actifs
- Des insulateurs qui isolent des zones d'euchromatine et d'hétérochromatine.



Rappel : les insulateurs sont fixés à la matrice nucléaire délimitant les domaines et boucles.

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

Si on revient à nos différents niveaux d'activité des gènes, on trouve dans le génome une série de domaines, avec 3 niveaux d'expression des gènes :

- zones résistantes (OFF): résistante à la DNAse : 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



Tut'focus:

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

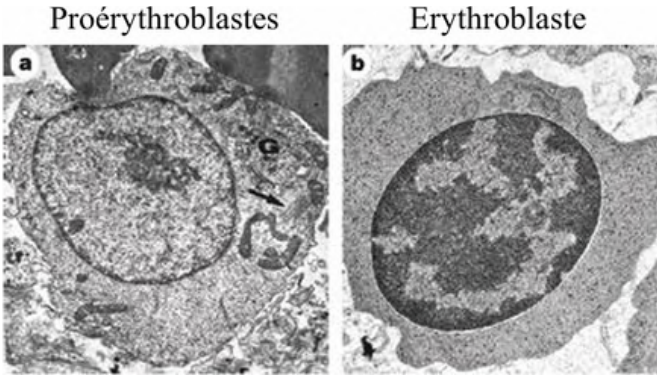
Donc là vous remarquez un truc de dingue : la quasi totalité du génome ne s'exprime pas (vous le reverrez en génétique normalement).

Le rôle de 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.
Au début de la 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, ceux qui nous intéressent.

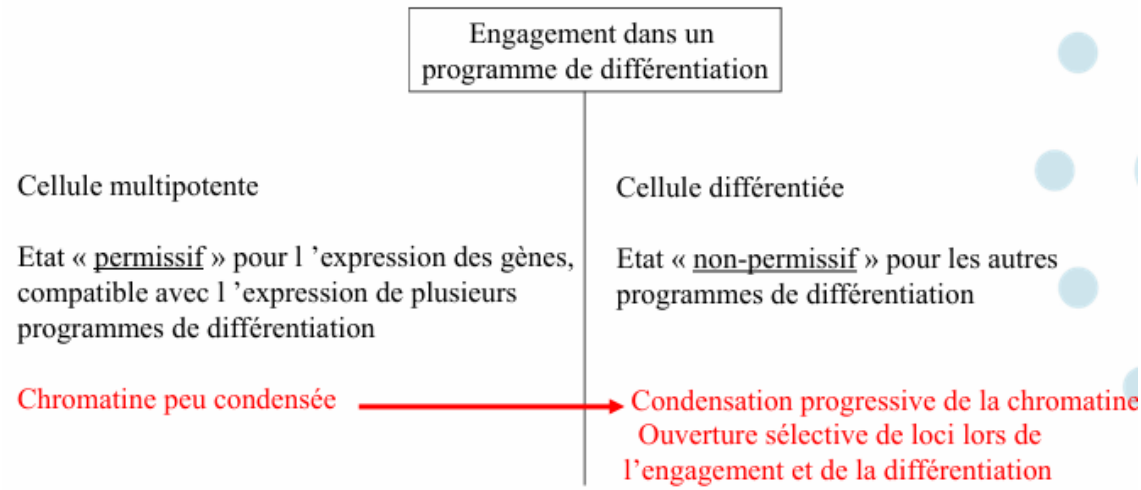
Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

Exemple : cellules hématopoïétiques :
À gauche : proérythroblaste = cellule progénitrice d'érythroblaste (bébé érythroblaste si vous préférez)
→ 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, les gènes s'expriment, pour un grand nombre de gènes vers un état non permissif, les gènes sont réprimés.
- on passe d'une chromatine peu condensée : expression des gènes, à des zones étendues d'hétérochromatine au fur et à mesure que la différenciation se fait.



E. Corps nucléaire et territoires chromosomiques

Encore un autre niveau d'organisation que sont les corps 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.

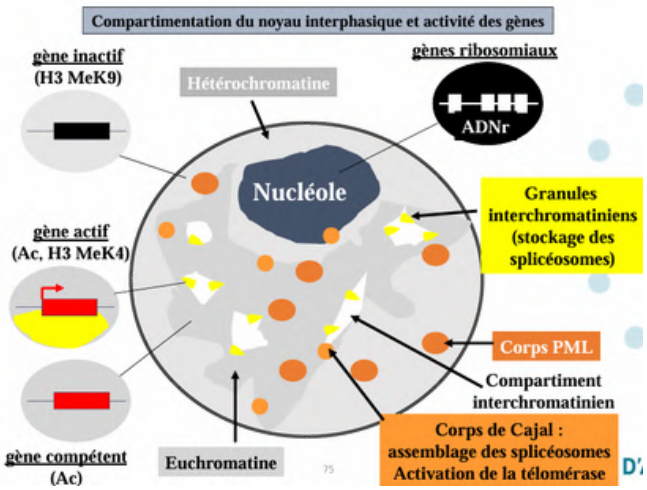
Cependant, on peut se poser un question : est-ce que la localisation nucléaire des chromosomes est importante pour le programme transcriptionnel ?

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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

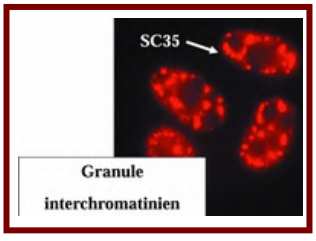
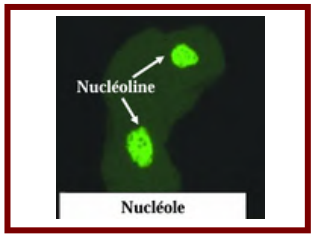
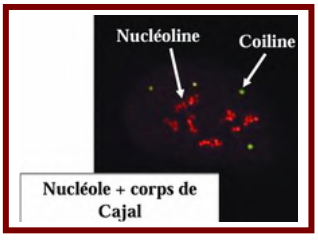
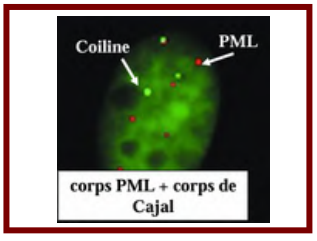
Nous allors donc voir ce qu'on trouve dans le noyau :

- 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.



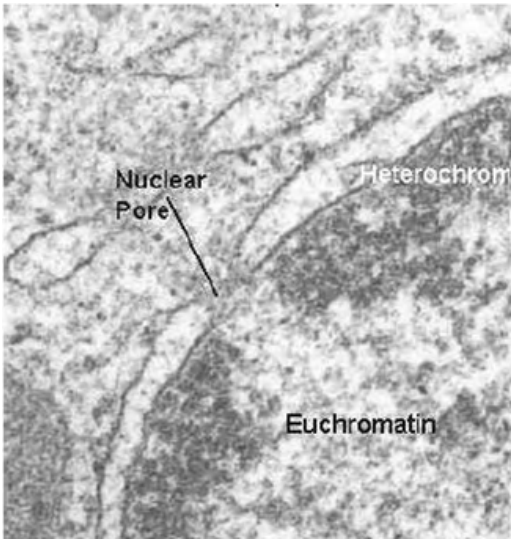
- l'hétérochromatine tapisse la périphérie du noyau
- les corps nucléaires :
  - les corps PML
  - les granules inter-chromatiniens = zone de stockage de facteurs d'épissage (=splicéosome) (les granules sont des sortes de petites poches si vous voulez)
  - les corps de Cajal permettant l'assemblage des 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 condensées
- les gènes compétents sont localisés dans l'euchromatine

Chacun des corps a des marqueurs spécifiques pour être observé :

			
Granules inter-chromatiniens	Nucléole	Corps de Cajal	Corps PML
protéine riche en sérine et arginine : SC35	nucléoline (nucléole=nucléoline 🔥)	coiline (corps/coiline 🔥)	protéine PML (protéine/coprs PML 🔥)

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

La localisation des gènes inactifs



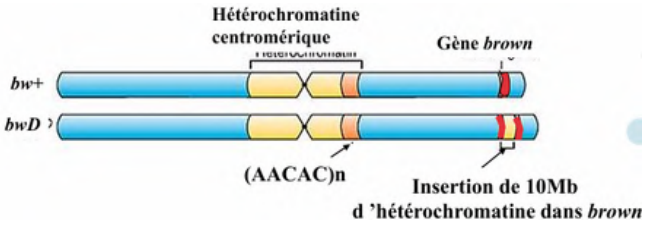
Sur cette photo en ME on peut voir :

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

On a vu que les gènes inactifs (donc 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 l'hétérochromatine s'interrompt au niveau des pores nucléaires permettant ainsi de laisser passer les éléments venant ou sortant du noyau.

Les expériences chez la drosophile (le retour mdr) 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 mais son corps ici). On a donc ce gène qui est soumis à un effet de position, qui est donc variégué, mais qui est dominant.



Il ne s'agit pas ici d'une inversion mais d'une insertion de 10 mégabases d'hétérochromatine provenant du centromère (c'est la partie qui relie les deux bras du chromosome). Cette insertion se fait en plein milieu du gène Brown.

Tut'légende:

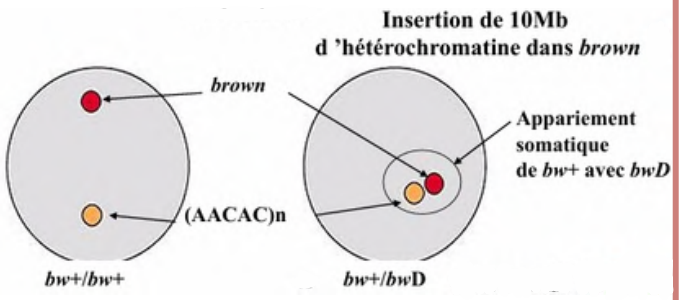
- *gène Brown+ = gène sauvage*
- *gène Brown D = gène Brown avec l'insertion de 10 mégabases*



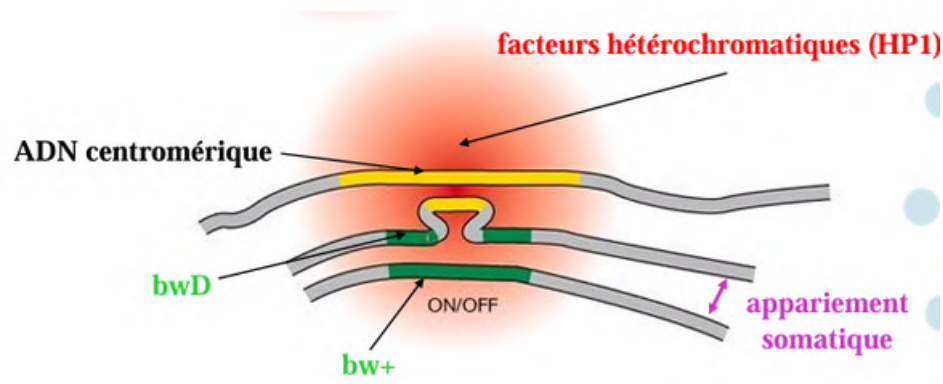
Les chercheurs ont effectué par microscopie des marquages de cellules de drosophile sauvage parentale (Brown+/Brown+) avec une mutation dominante (Brown+/BrownD). Ils ont utilisé des marqueurs qui correspondent respectivement à la séquence centromérique et au gène Brown.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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.



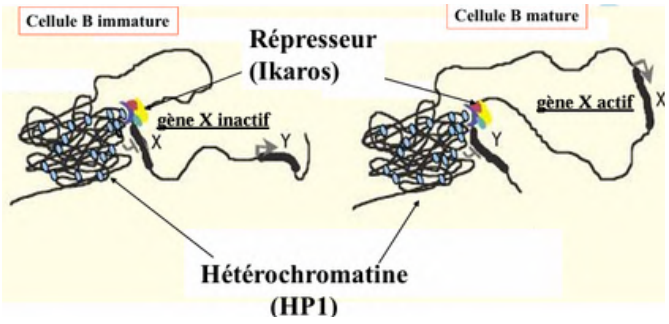
Tut'focus:
A cause de l'appariement somatique des deux chromosomes, le gène normal va être entraîné vers l'hétérochromatine, donc le gène normal ne s'exprime pas, parce que sa localisation nucléaire est modifiée du fait de son allèle.



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

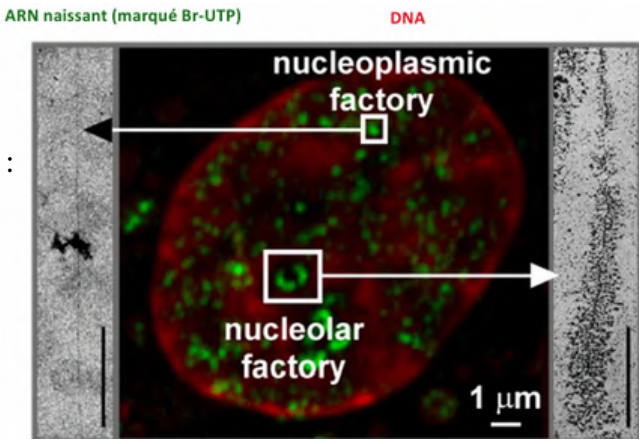
Ce concept est généralisable. En effet, on a réussi à montrer que le même phénomène de répression survenait pour des facteurs intervenant dans la différenciation des lymphocytes chez la souris et l'Homme
→ ce sont les facteurs Ikaros.



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.

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 qui sont plutôt localisés à l'intérieur du noyau, là où il y a l'euchromatine

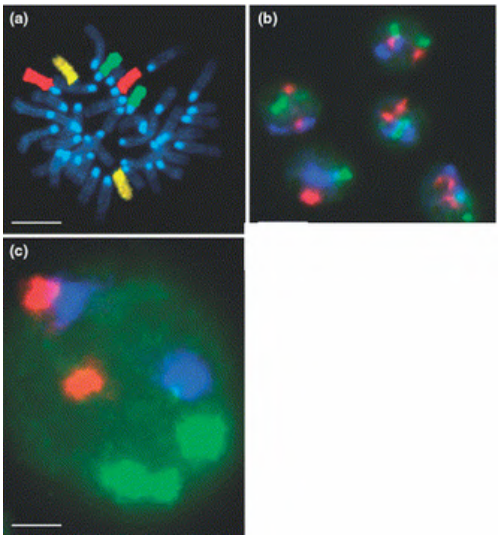
- centre du noyau : gènes actifs
- périphérie : territories chromosomiques

Tut'récap:
En périphérie : il y a l'hétérochromatine donc les gènes sont inactifs
Au centre du noyau : on trouve de l'euchromatine ainsi les gènes sont actifs



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.

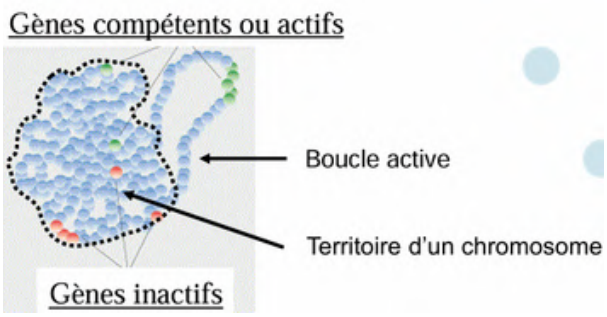


Ici chaque couleur représente un chromosome, donc les homologues sont de la même couleur.
On appelle cette technique le "Chromosome Painting".

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 ensembles, bleus ensemble...
Ainsi chaque chromosome occupe un espace spécifique dans le noyau : ce sont les territoires chromosomiques.

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

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 et domaines des gènes compétents ou actifs sont à la périphérie des territoires chromosomiques.





Tut'récap:

	Gènes actifs	Gènes inactifs
Chromatine	euchromatine	hétérochromatine
Localisation dans le noyau	centre	périphérie
Térritoires chromosomiques	extérieur	intérieur

Ça y est, c'est finiiiiii !!!!!!

Bravo à vous chers P1 d'être arrivés jusqu'au bout de cette fiche pas forcément facile au début mais je suis très fière de vous et Calcifer aussi 🫶 si vous avez le moindre soucis n'hésitez pas !
Maintenant après l'effort le réconfort ! Prenez-vous un petit gouter, installez-vous confortablement et place au DEDIIIII hihii :

☆ Ma toute première dédi est pour ma maman qui m'a tellement soutenue cette année, entre ces petits plats, les jeux de sociétés et venir chez moi la veille des exams pour pas que je sois seule…c'est vraiment la meilleure. En vrai on pouvait se demander qui passer la P1 : moi ou elle tellement elle était plus stressée que moi mdrr.

☆ Ma deuxième dédi du coup c'est pour mon papa qui m'a beaucoup aidé aussi, notamment en m'aideant à faire les trajet entre la maison et Nice, il est trop fort !

☆ Dédi à mon grand-frère, même si on se chamaille H24, je l'aime de tout mon coeur (lui dite pas, il va devenir insupportable) et il m'a beaucoup aidé moralement cette année. J'ai jamais vu quelqu'un d'aussi fière et content de la réussite de sa petite soeur ♡

☆Dédi à mon meilleur ami Emilien, on se connait depuis la primaire et on s'est jamais lâché même quand je suis partie dans un autre lycée. C'est le meilleur des meilleurs amis ! Sérieux, qui peut dire que son meilleur ami cale tout son edt pour rentrer à la maison sur le sien pour qu'on fasse le trajet ensemble et me changer les idées même si ça le fait poirauter 3h ?

Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite

☆Dédi à ma meilleure amie Nell, même si on s'est prise la tête cette année, on s'en sort quand même et on rigole trop bien ensemble. Par contre j'ai rarement vu 2 personnes aussi peu douées ensemble, à chaque fois qu'on essaie de faire un truc ça tourne à la catastrophe ! D'ailleurs vous pouvez la remerciez pour avoir eu Calcifer sur cette fiche parce que c'est elle qui m'a fait regarder le Château ambulant (allez le voir ou le revoir il est trop bien et il fait trop du bien au moral).

☆Dédi à Kiara, cette fille est juste incroyable. Je vous souhaite rencontrer une personne comme elle en P1, que vous aurez hâte de retrouver en TD (c'est littéralement parce que je la voyais que j'y aller) et qui sera plus entouthiaste pour vos résultats que pour les siens. Dédi à nos déjeuner dans le tram à cause de ces TD en question, dédi à nos soirées série/plateau repas après les EB et dédi à ses idées loufoques mais géniales. Merciiii

☆Dédi à Yousra, on s'est retrouvée en P1 et c'est l'une des plus belles choses de cette année. Merci pour notre BUV privée, on s'est bien marrée et bien révisé grâce à ça. C'est l'une des personnes les plus authentiques que je connaisse et j'ai hâte de réviser encore avec elle.

☆Dédi énormissime à la meilleure des marraines ever aka Ophrane. Elle a était tellement incroyable, je suis pas sûre que j'aurais aussi bien réussi mon année sans elle. Elle a toujours était là même quand elle m'engueler pour la centième fois d'avoir confiance en moi et d'oser la déranger parce que je ne la dérange jamais. Elle m'a tellement émotionnellement, je sais pas comment la remercier, à part la suivre jusqu'a l'EHPAD ♡

☆Dédi à Stan qui sera un jour l'un des meilleurs pharmaciens et dédi à nos rebus à la fin des épreuves des EB sur nos brouillons alors qu'on est au bord du malaise tellement il faisait chaud.

☆Dédi à Rayan, à notre colloque pendant la TTR 2, ce mec cuisine trop bien, vraiment l'un des meilleurs deal de ma vie. T'as intérêt à passer en P2 si non gare à toi et sorry pour ton anniv décidemment il m'arrive toujours un truc ce jour là mais tkt l'année pro sera la bonne ;)

☆ Dédi à Basile qui m'a accompagné en présentiel tout le S1 à me régaler avec ses aventures foireuses même s'il m'a laché au S2. Tu vas tout défoncer cette année !

Et enfin va venir le tour de mes dédis aux jumelles avec les histoires les plus improbables qui puissent arriver à des personnes et surtout le cumule de toutes ces histoires totalement véridiques :

☆Dédi d'abord à Maissa puisque je t'ai rencontré la première. Dédi à nos session révisions psycho chaotique parce qu'on s'est rendue compte qu'on ne connaissait rien la veille de l'exam mais c'est okay. Dédi à nos débats philosophiques sur les cours et à toutes ces péripéties qui lui arrivent et qui régalent quand on a pas de vie. Elle sera la future meilleure tut d'embryo du tut !!!

☆Dédi à Inès et ses aventures encore plus folles que celles de sa soeur : il lui arrive vraiment tout. C'est un peu triste à dire mais si vous pensez qu'il vous arrive que des trucs pourris allez la voir et ça vous ferea relativiser. Elle est trop forte, dans tous les sens du terme et me fait beaucoup trop rire d'ailleurs.

C'est (enfin) fini les dédis polur aujourd'hui ! Toutes les personnes que je n'ai pas encore cité, ne vous inquiétez pas, votre tour viendra 😉 ! Bon courage !!



Le tutorat est gratuit (c'est incroyable) ! Toute vente ou reproduction est interdite