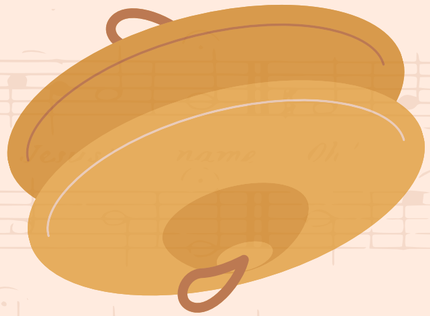


ORGANISATION DU NOYAU

by Glycoghélène







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 territoires chromosomiques

I- Notion de relation génotype-phénotype

A. Etapes de l'expression génique

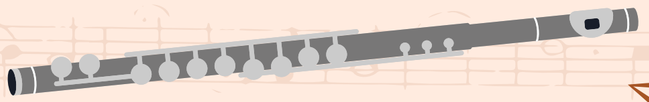
☆**Génome** = ensemble des séquences d'ADN présents dans les chromosomes

☆ ADN → Transcription → ARN → Traduction → Protéine

☆ **Transcriptome :** ensemble des ARNs

☆⚠Attention : UN SEUL génome par cellule mais pas le même transcriptome = **expression phénotypique du génome**

☆**Protéome** = ensemble des protéines → un seul protéome par cellule



☆"ome" = ensemble des molécules d'une cellule ou tissu



☆On passe du génotype au phénotype par programme transcriptionnel, couplé à un programme traductionnel

☆Ce n'est pas l'ADN seul qui définit le génotype mais l'**ADN associé à des protéines** = la **chromatine**

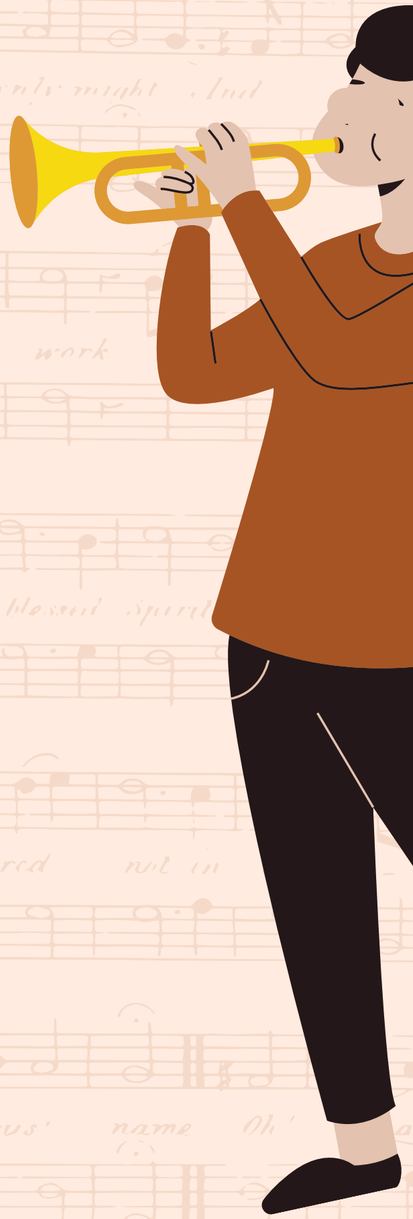


☆**Epigénome** = ensemble de l'ADN associé à des protéines

☆ Toutes les cellules n'ont pas le même épigénome

Tut'récap :





programme transcriptionnel

programme traductionnel

ADN

génome

génotype

ARN

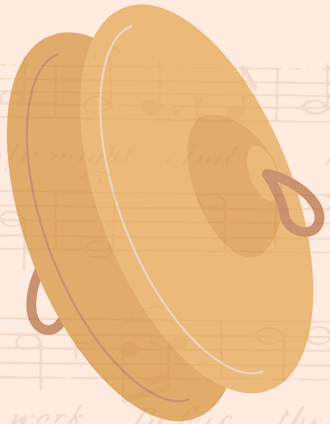
transcriptome

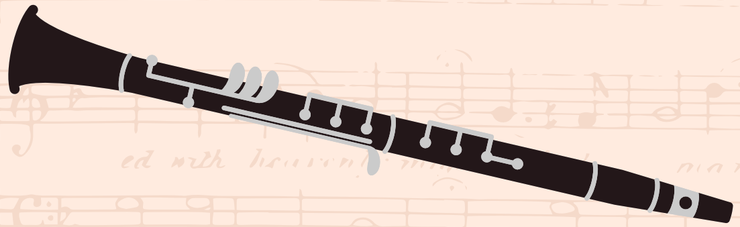
protéines

protéome

phénotype = ensemble des caractères physiques observables

B. L'expression des gènes

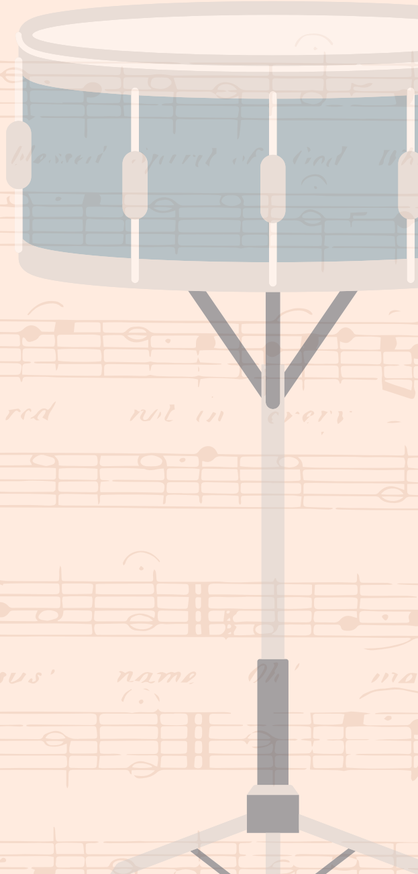




☆Il existe des gènes "ON" et des gènes "OFF" :

ON = s'exprime **OFF = ne s'exprime pas**

gène ON → transcrit en ARN → épissage → transporté vers le cytoplasme → traduit en protéine → transport vésiculaire



☆Si gène ON/OFF dépend du programme transcriptionnel



☆Décision ON/OFF dépend de **signaux exogène ou endogène**

2 cas de figure :



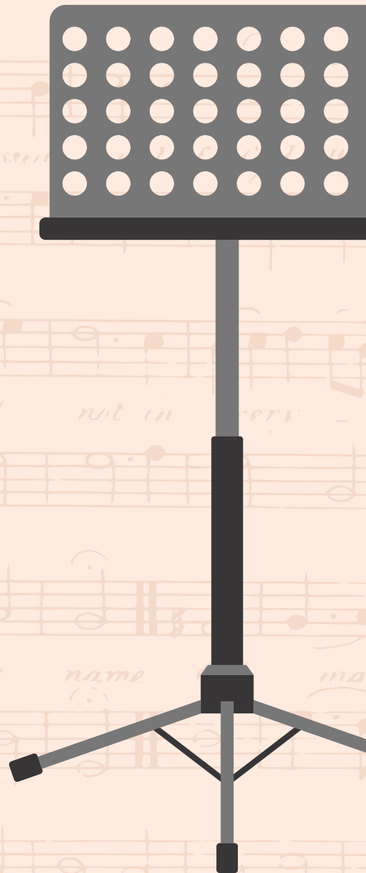
1 – Cas simple : activation d'un seul gène dans la cellule



☆Utilisation d'un fibroblaste dont on modifie l'expression d'une famille de gènes impliquée dans la différenciation musculaire.

☆On utilise un **facteur myogénique** qui permet au fibroblaste de se différencier en cellule musculaire = **un myotube.**

☆Résultats : expression de l'appareil contractile (actine, myosine), du métabolisme (créatine phosphokinase) et stimulation nerveuse (récepteur acétylcholine).

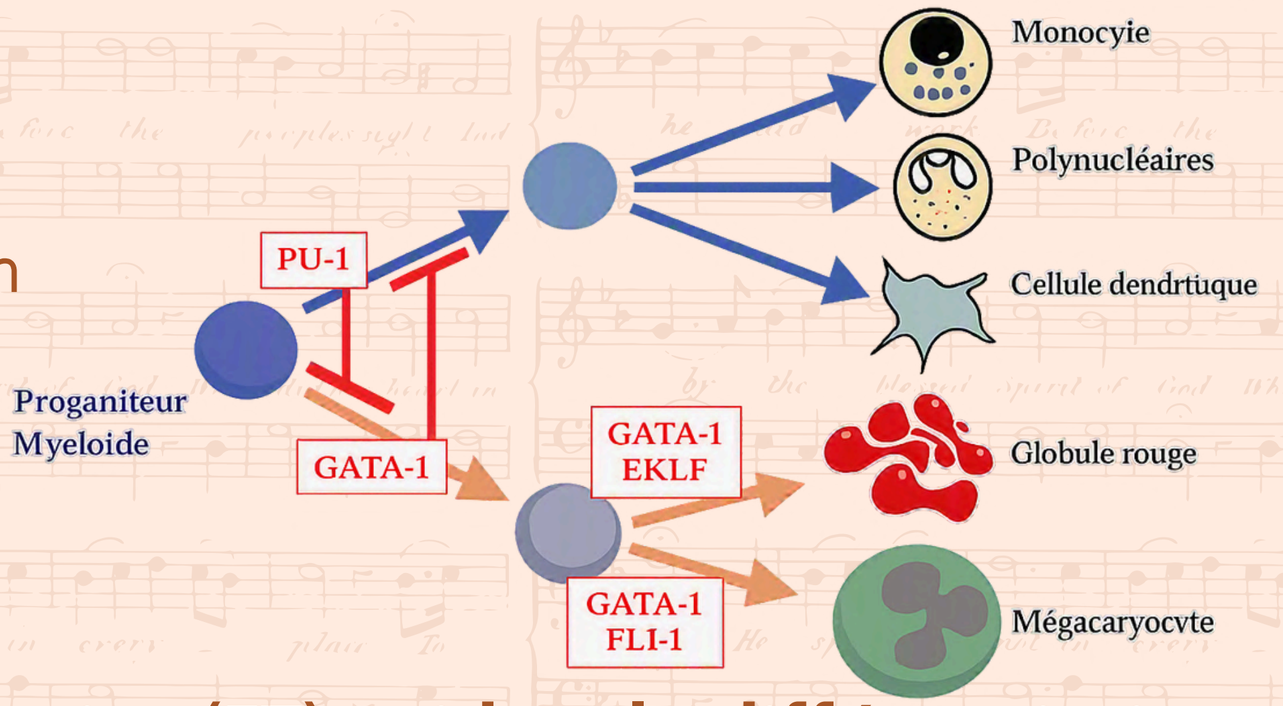


2- Cas compliqué : différenciation des cellules souches hématopoïétiques

☆Activation de plusieurs gènes (réalité) les cellules souches (CS) hématopoïétiques donnent plusieurs progéniteurs (Pr) dont les myéloïdes

☆Un Pr myéloïde peut se différencier en deux types de cellules selon s'il exprime PU-1 ou GATA-1

☆Ces cellules vont elles-mêmes donner différentes cellules différenciées et in fine des globules rouges



☆Conclusion : les **facteurs de transcription (FT) guident la différenciation** = chemin de programmation

☆Si PU-1 est exprimé, il inhibe GATA-1 et inversement

Il y a d'autres carrefours de différenciation = combinaison de FT. Ainsi, si on obtient une monocyte, on parle de l'histoire de la cellule souche.

Importance de la diversité des programmes transcriptionnels



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

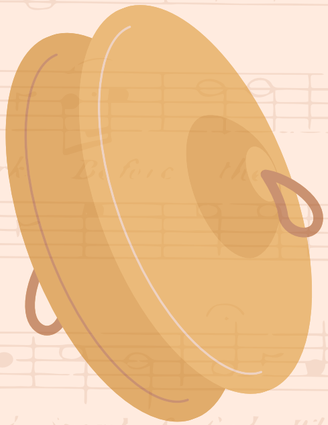
☆L'expression des gènes ne dépend pas que des FT mais aussi de la structure de la chromatine

☆chromatine **ouverte** (accessible aux FT) : le gène s'exprime
☆chromatine **fermée** (inaccessible aux FT) : le gène ne s'exprime pas

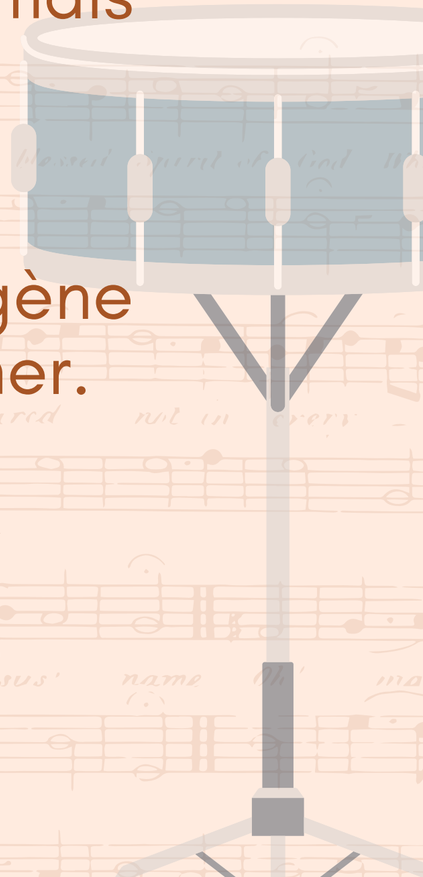
☆**L'épigénome joue un rôle dans l'expression des gènes**



Distinction entre phénomènes génétiques et épigénétiques :



☆régulation **génétique** = le signal active le gène mais lorsqu'il disparaît le gène ne s'exprime plus.
Le signal a modifié l'expression du gène.

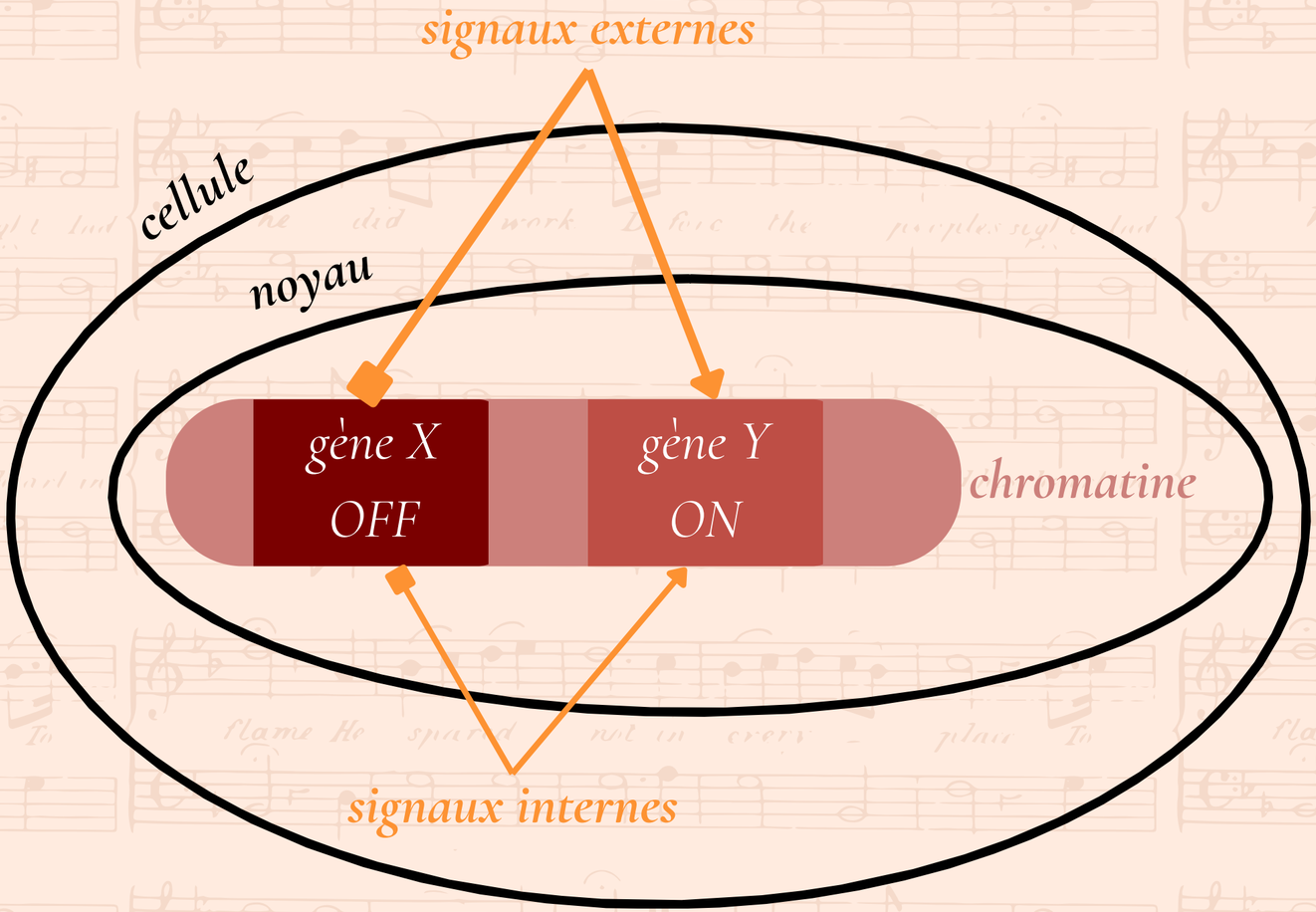


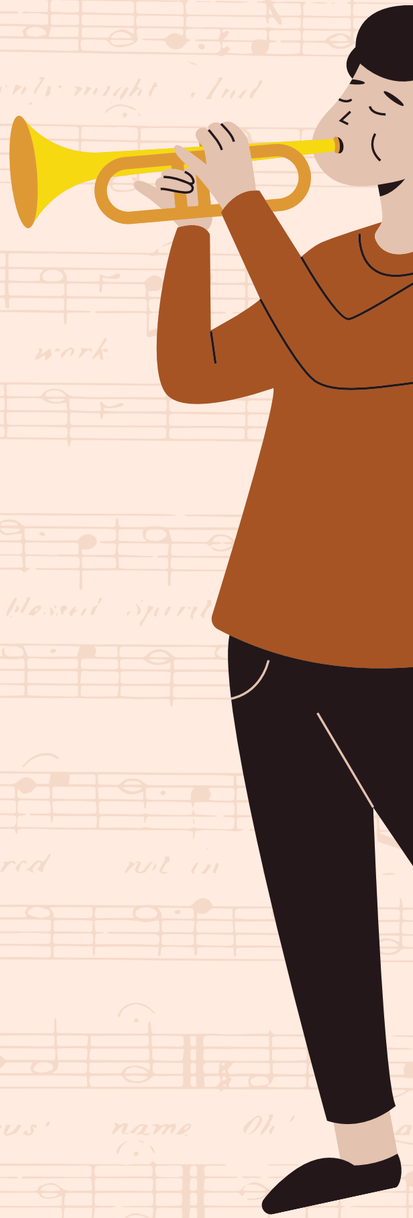


☆régulation **épigénétique** = le signal active le gène mais lorsqu'il disparaît le gène continue de s'exprimer.
Un signal exogène à la cellule a activé le gène.



Tut'récap :





chromatine fermée

chromatine ouverte

inhibe

active



QCM TIME



QCM 1 : A propos de l'expression des gènes, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Toutes les cellules ont le même génome, transcriptome et protéome
B) Pour passer du génotype au phénotype, il y a d'abord un programme traductionnel puis transcriptionnel
C) Ce n'est pas le génome qui joue un rôle dans l'expression des gènes mais l'épigénome
D) On parle de régulation épigénétique lorsqu'un signal modifie l'expression d'un gène
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses



QCM TIME



QCM 1 : A propos de l'expression des gènes, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Toutes les cellules ont le même génome, transcriptome et protéome
B) Pour passer du génotype au phénotype, il y a d'abord un programme traductionnel puis transcriptionnel
C) Ce n'est pas le génome qui joue un rôle dans l'expression des gènes mais l'épigénome
D) On parle de régulation épigénétique lorsqu'un signal modifie l'expression d'un gène
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

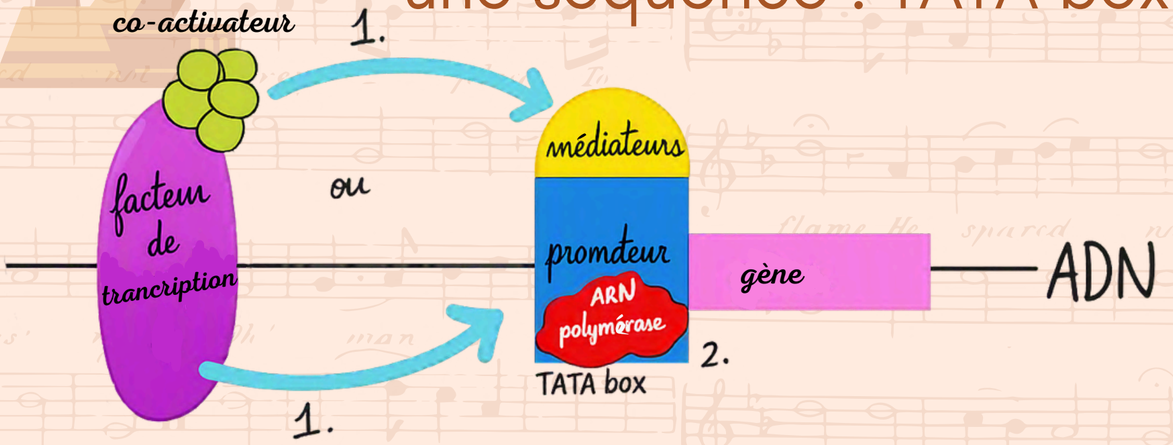
II- Notion de régulation de l'expression des gènes

☆Un gène ne s'exprime pas seul, il donne une information génétique sous forme d'ADN → ARN → protéine. Il peut être traduit mais pas toujours.

☆Pour qu'un gène s'exprime, il est contrôlé par des séquences en amonts qui le régule : **le contrôle proximal et distal**

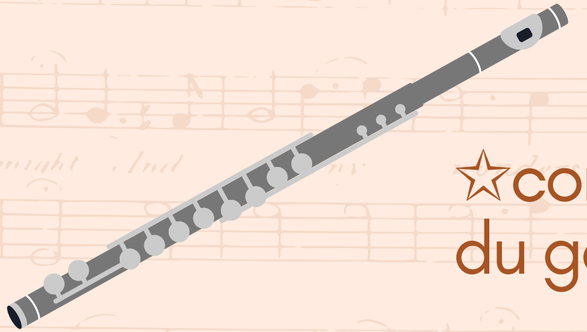
A. Le controle proximal

☆**Promoteur** = origine et le début de la transcription. C'est un endroit où l'ARN polymérase peut se fixer. Il est caractérisé par une séquence : TATA box → séquence promotrice attirant l'ARN polymérase



☆besoin de FT pour stabiliser l'ARN polymérase directement ou grâce à des co-activateurs : formation de ponts stabilisateurs entre le FT et les co-activateurs ou avec des médiateurs localisés sur le promoteur.

promoteur : origine de la transcription



B. Le controle distal

☆composé de deux éléments : **enhancers** (activation du gène) et **silencers** (répression du gène)

☆de position variable (avant ou après) = agit à distance

☆action **orientation indépendante**

☆souvent, les enhancers/silencers sont en **CIS** mais peuvent être en **TRANS** = <u>phénomène de transvection</u>

☆les enhancers et silencers sont associés à des protéines =FT

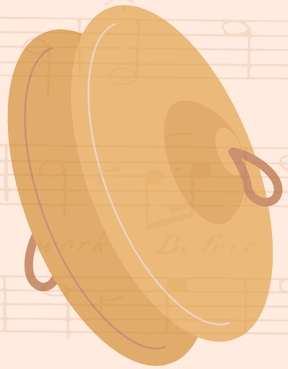
☆ existence d'**insulateurs** pour réguler le contrôle distal

☆il évitent la cacophonie génétique



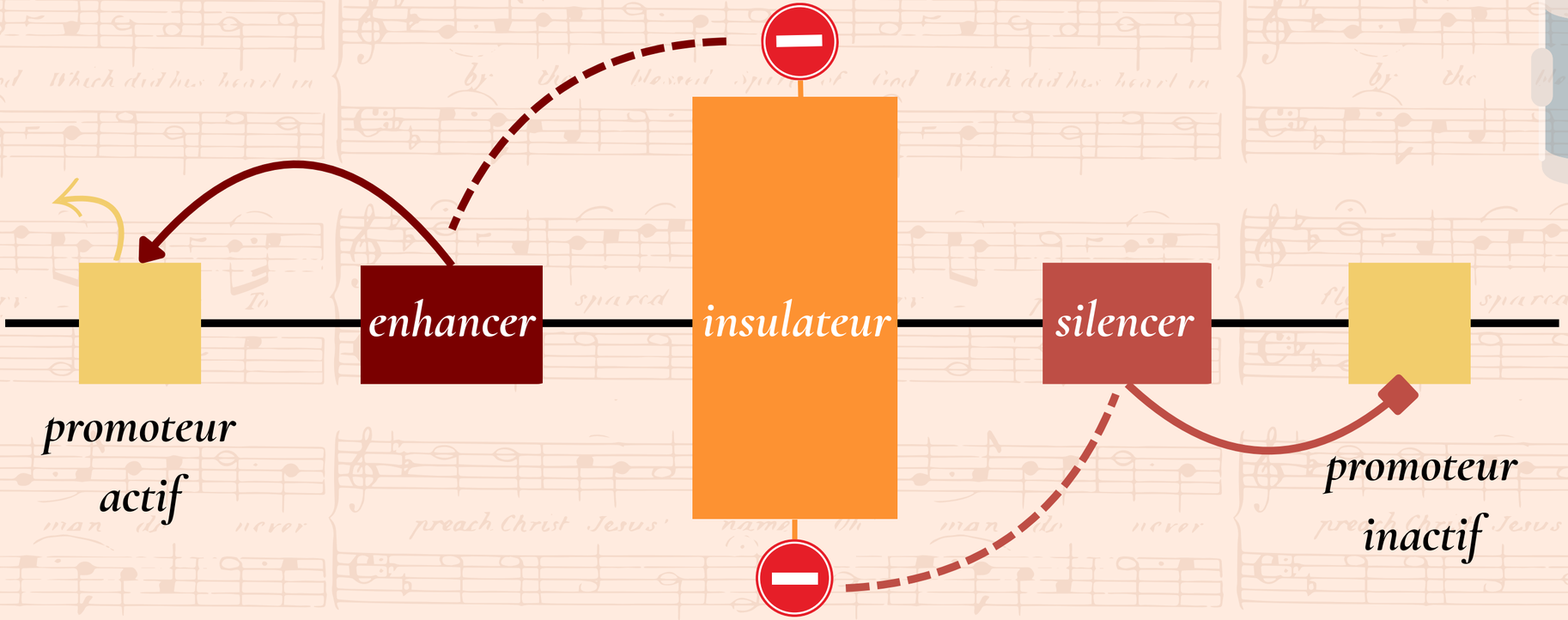


C. Le controle de la transcription par les insulateurs

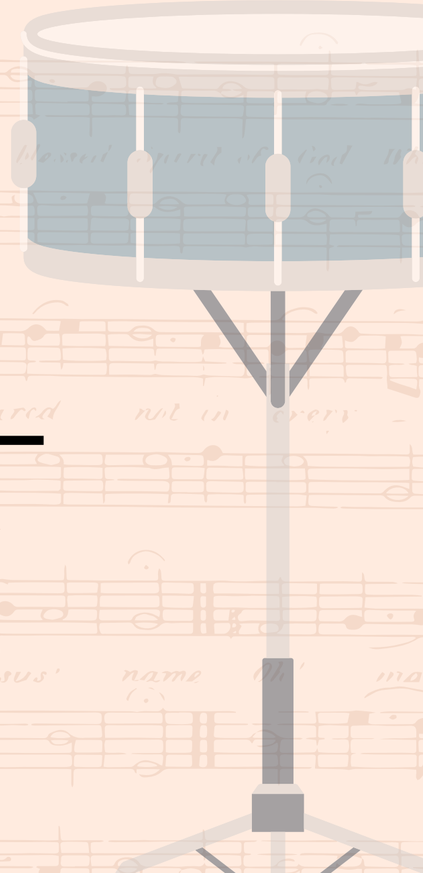




☆Insulateurs = petites séquences d'ADN **empêchant l'activation ou la répression des gènes <u>sans affecter la fonctionnalité</u>** de l'enhancer ou du silencer

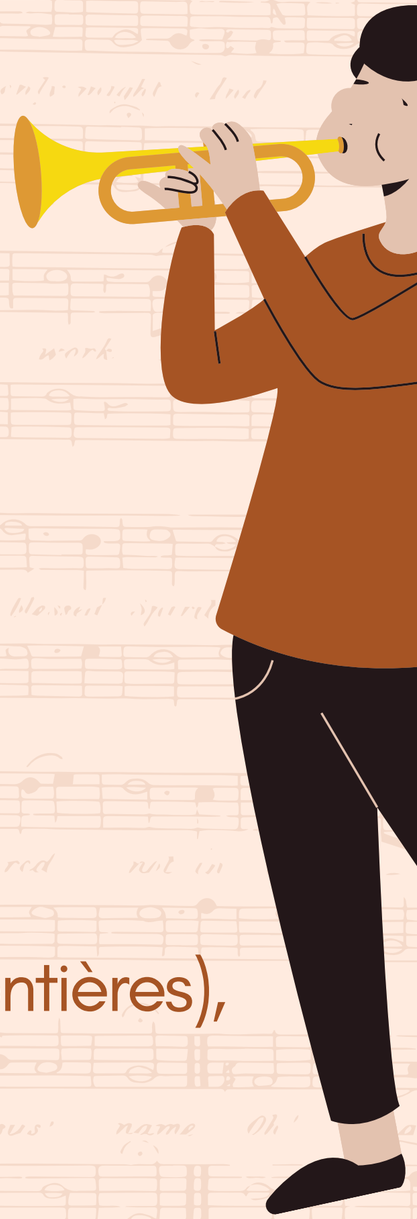






Tut'récap :





☆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.

QCM TIME

QCM 2 : A propos de la régulation de l'expression des gènes, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

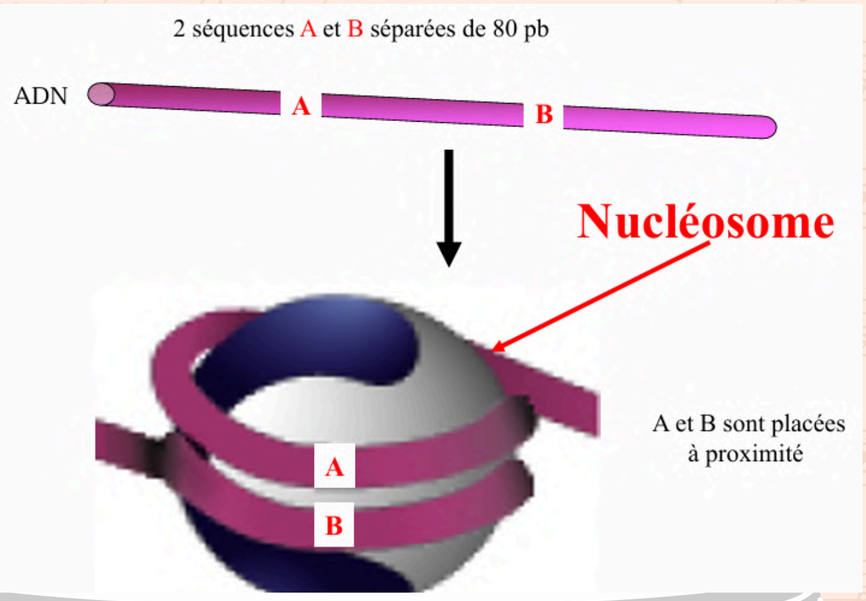
A) Le contrôle proximal est constitué d'enhancers et silencers
B) Le contrôle distal est constitué d'enhancers et silencers
C) L'action des enhancers est dite orientation indépendante
D) L'insulateur inactive les enhancers et silencers
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

QCM TIME

QCM 2 : A propos de la régulation de l'expression des gènes, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Le contrôle proximal est constitué d'enhancers et silencers
B) Le contrôle distal est constitué d'enhancers et silencers
C) L'action des enhancers est dite orientation indépendante
D) L'insulateur inactive les enhancers et silencers
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

III- Structure de la chromatine



☆Si on étend l'ADN, il mesure environ 2m : donc il est **<u>extrêmement</u>** compacté dans la cellule

☆Il y a **plusieurs niveaux de compaction**

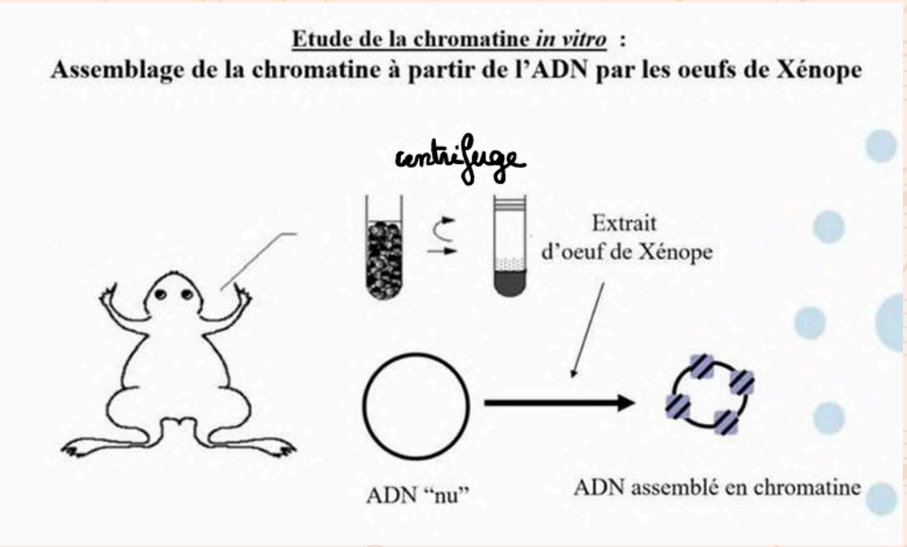
☆Les deux séquences A et B sont séparés par 80 paries de bases (pb)

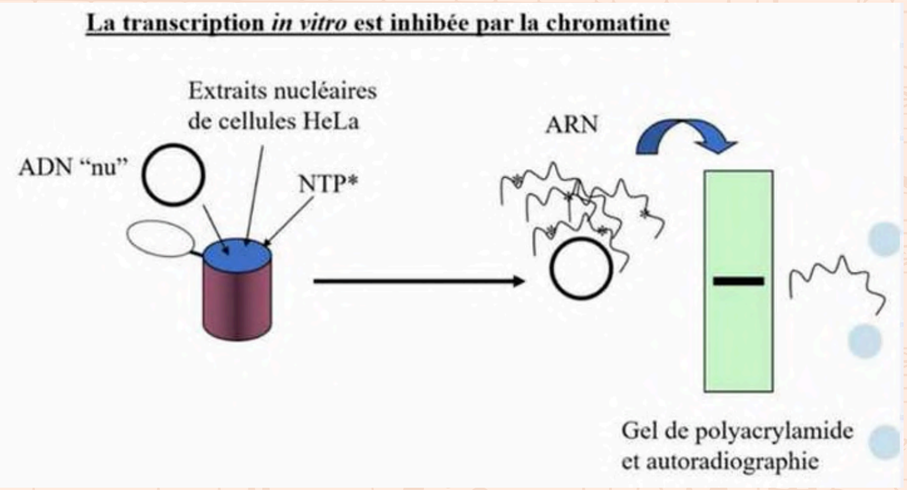
☆Les séquences sont éloignées l'une de l'autre mais proche dans le nucléosome

☆La condensation de l'ADN est estimé à un **facteur 7**

☆**Nucléosome** = 1er niveau de compaction = ADN enroulé **2 fois** autour de protéines

Expérience en laboratoire



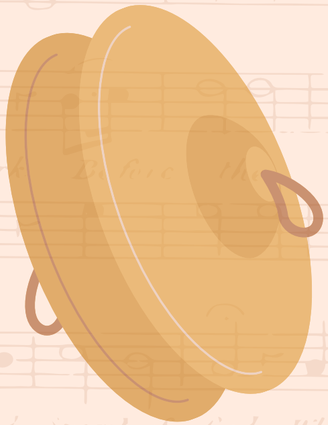


On travaille sur des œufs de xénope
☆On les centrifuge pour obtenir un concentrat d'extrait d'œufs. Il est ensuite mis en contact avec de l'ADN nu qui va s'assembler en chromatine qu'on peut maintenant étudier.

☆Pour voir si le gène peut être transcrit lorsque l'on a de la chromatine, on utilise de l'ADN nu provenant de cellules cancéreuses auquel on ajoute des nucléotides radioactifs et du gel polyacrylamide afin de suivre la transcription. L'ADN migre en fonction de sa taille par autoradiographie.

☆Conclusion : l'ADN nu a été transcrit en ARN par contre quand l'ADN est assemblé en chromatine, il n'y a pas de transcription.

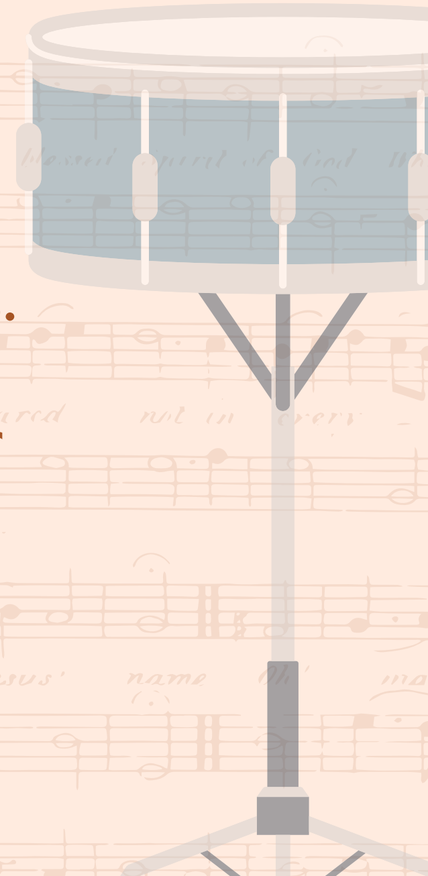
On a un problème chef !



☆On vient de voir que l'ADN ne se transcrit que lorsqu'il est nu or il est sous forme de chromatine dans nos cellules...

☆La chromatine est très importante car elle permet la **bonne ségrégation des gènes** lors de la mitose. Mais elle est embêtante pour la transcription : les éléments de la transcription ne peuvent pas se fixer à l'ADN

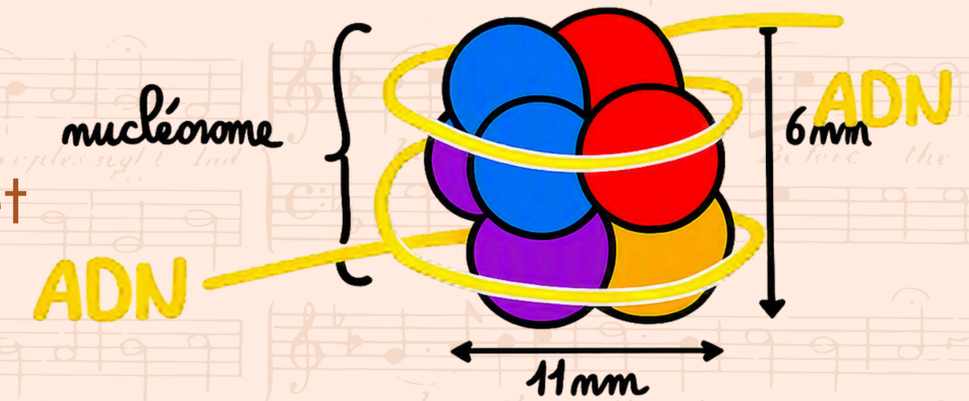




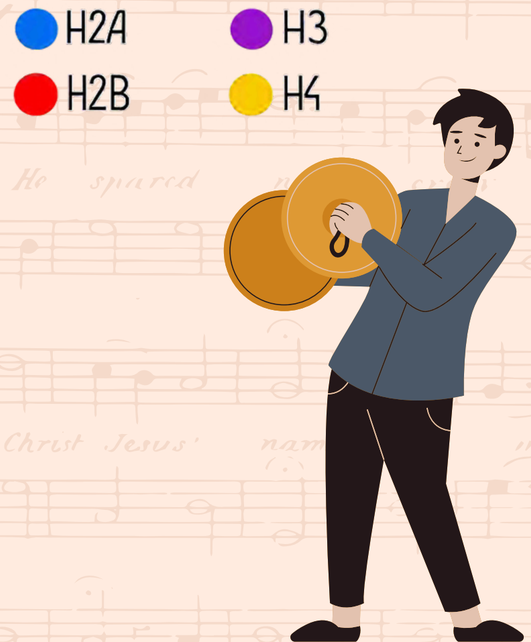
A. Le nucléosome

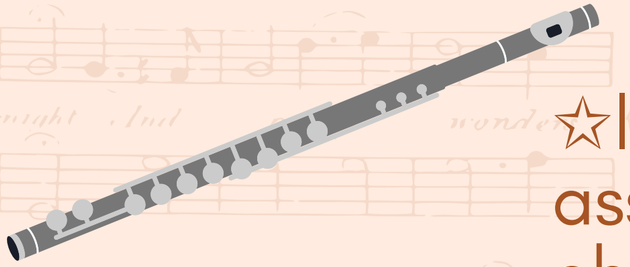
☆1er niveau d'organisation de la chromatine

☆petit cylindre : 6nm de hauteur et 11nm de diamètre



Il est composé :
☆d'ADN : 146 pb, enroulé 2 fois autour du nucléosome
☆d'un octamère d'histones = 4 paires de protéines = 8 histones
☆4 dimères d'histones : 2x H2A + 2x H2B + 2x H3 + 2x H4 = 108kDa
☆ADN reliant 2 nucléosomes = ADN linker ou ADN de liaison





☆le nucléosome a des propriétés d'auto-assemblage mais les protéines chaperonnes augmentent l'efficacité

☆l'assemblage se fait spontanément mais dans un ordre bien précis :

1. les dimères d'histones H3/H4
2. les dimères d'histones H2A/H2B



☆Tous les nucléosomes ne sont pas identiques même s'il y a une structure nucléosomale commune

☆La cellule peut modifier les nucléosomes selon ses besoins

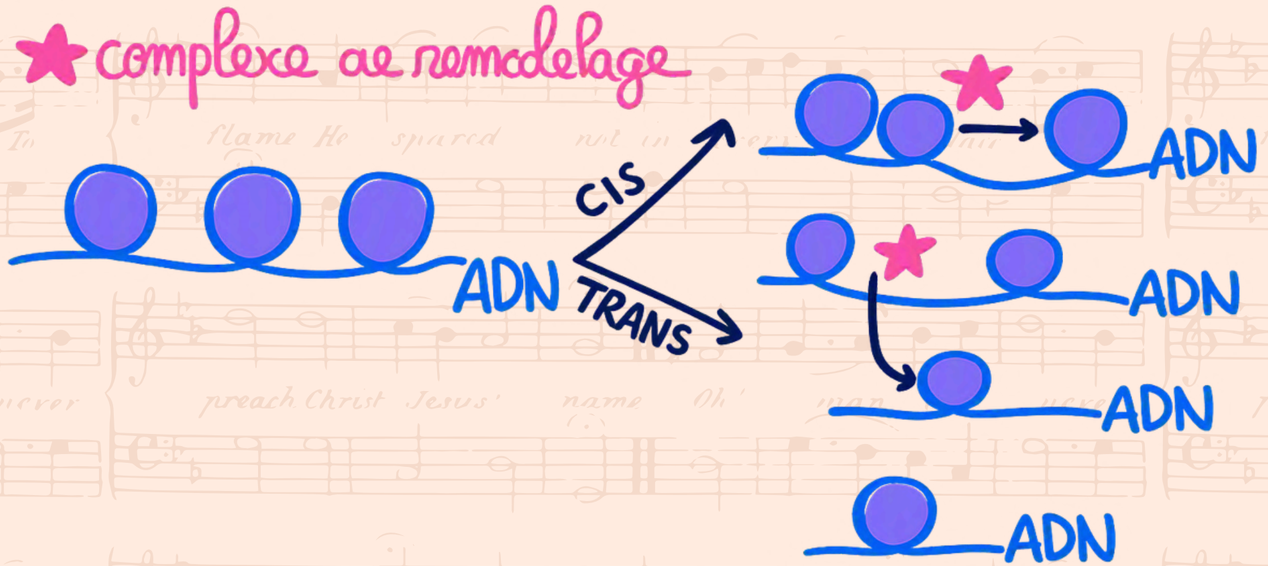


Le complexe de remodelage

☆On peut modifier un nucléosome en changeant sa position grâce au complexe de remodelage. En bougeant un nucléosome on libère de l'ADN nu.

☆On déplace de 2 manière :

- en CIS = déplacement sur le même brin d'ADN
- en TRANS = déplacement sur l'autre brin d'ADN



Les variants d'histones



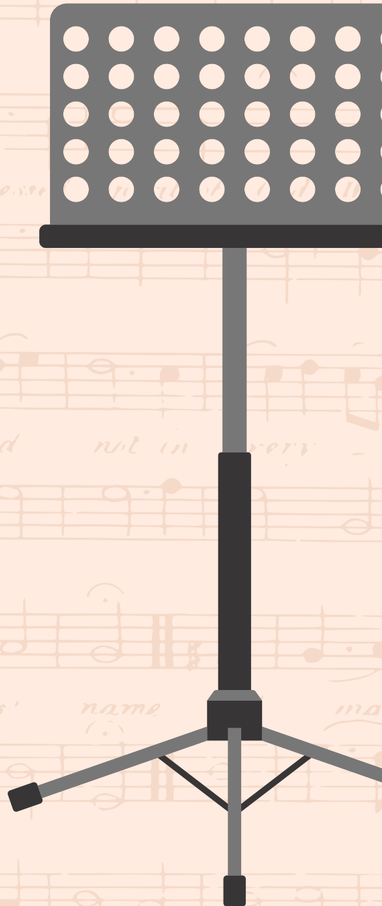
☆Les histones de base H2A, H2B, H3 et H4 sont codés par plusieurs gènes → variants histones

☆⚠H4 n'est codé que par un seul gène → ne possède pas de variants.



☆Chaque variant a une fonctoin particulière

☆Les histones sont modifiés post-traductionnellement

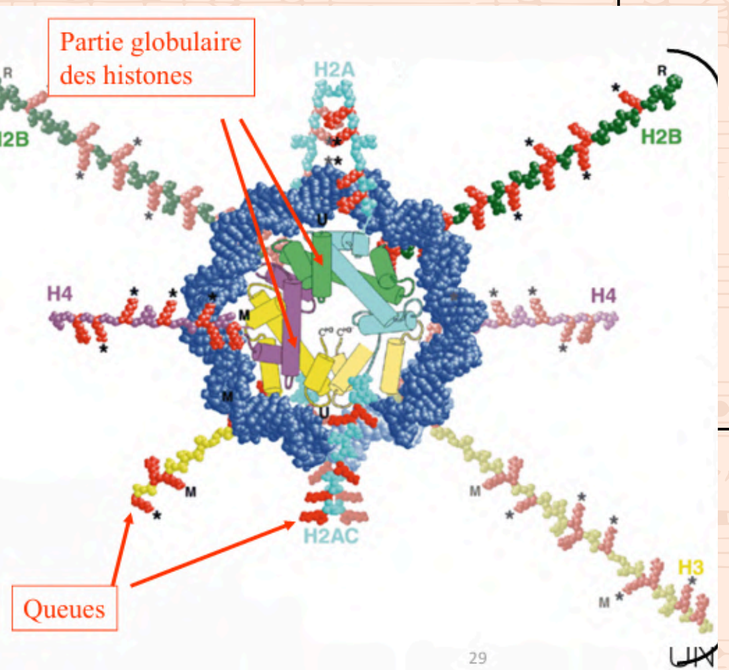


Exemple de variants :

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

Organisation des histones dans le nucléosome

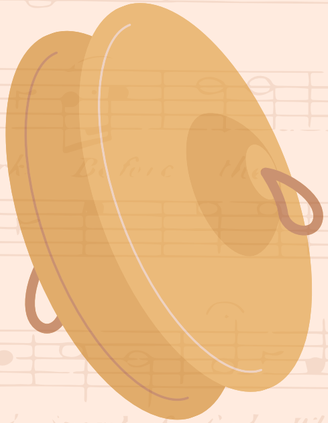
Têtes globulaires centrales	Queues N-terminale périphériques
• se regroupent au centre • possèdent de nombreux acides aminés basiques (chargés positivement comme la lysine et l'arginine → l'ADN étant négatif donc acide, il y a une forte interaction entre les têtes et l'ADN (il s'y enroule autour) : les oppsoés s'attirents.	• 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





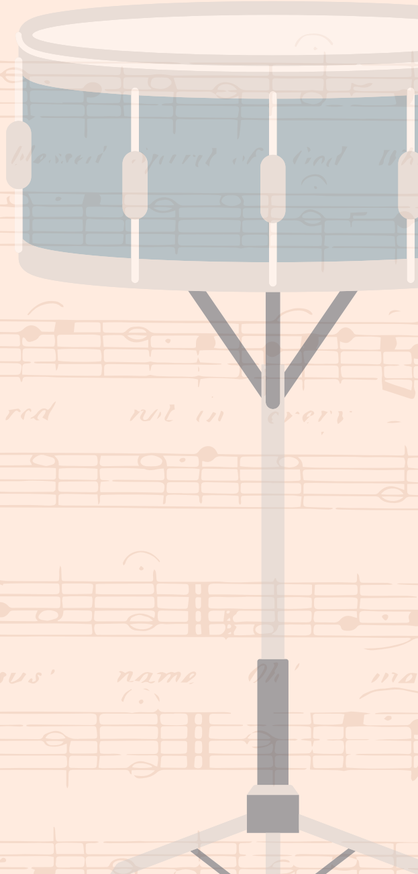
Les modifications post-traductionnelles





☆Chaque nucléosome est **unique** grâce aux modifications post-traducitionnelles

☆Ces modifications sont effectuées par des enzymes spécialisées



☆Types de modifications : **acétylation**, **méthylation**, phosphorylation, ADP-ribolysation, ubiquitinylation



☆Ces modifications ont un rôle particulier pour la fonction de la cellule

Exemple :

1. Acétylation / Désacétylation

Acétylation :
☆réalisée par HAT = Histone AcétylTransférase, associée à une co-enzyme : Acétyl-CoA
☆groupement acétyl est transféré sur NH3 de la lysine (de la queue N-terminale)
Désacétylation :
☆réalisée par HDAC = Histone DésACétylase
☆réaction inverse à l'acétylation = enlève l'acétyl

2. Méthylation / Déméthylation

Méthylation :
☆réalisée par HMT = Histone MéthylTransférase
☆peut ajouter 1 à 3 méthyl = propriétés différentes ☆selon le nombre de méthyl sur NH3, selon le nombre et la position de la lysine méthylée, l'enzyme et la fonction de l'histone seront différents
Déméthylation :
☆réalisée par HDM = Histone DéMéthylase
☆réaction inverse : enlève méthyl

QCM TIME

QCM 3 : A propos du nucléosome, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Le nucléosome est constitué de 8 paires de protéine qu'on appelle octamère
B) Les modifications post-traductionnelles se font au niveau des têtes globulaires des histones
C) L'ADN s'enroule 3 fois autout du nucléosome
D) Les histones de bases qui composent les nucléosomes sont H1, H2A, H2B, H3 et H4
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

QCM TIME

QCM 3 : A propos du nucléosome, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Le nucléosome est constitué de 8 paires de protéine qu'on appelle octamère

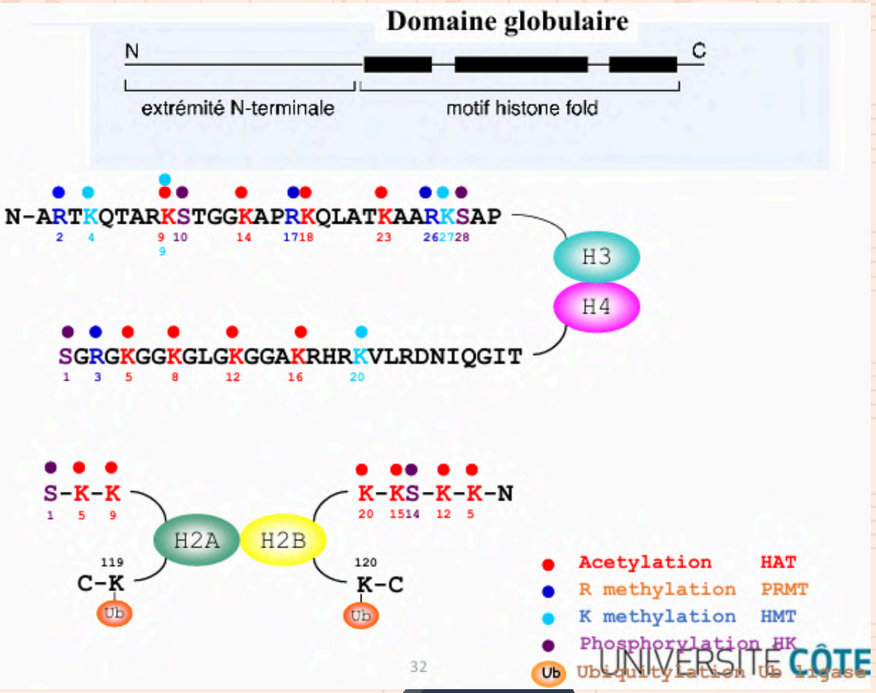
B) Les modifications post-traductionnelles se font au niveau des têtes globulaires des histones

C) L'ADN s'enroule 3 fois autout du nucléosome

D) Les histones de bases qui composent les nucléosomes sont H1, H2A, H2B, H3 et H4

E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

Le code histone





☆Il permet de **lire les modifications post-traductionnelles**

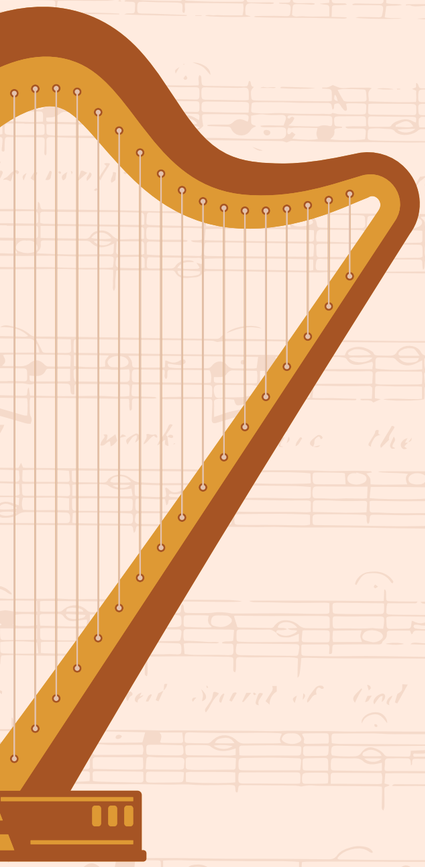
☆Il se rajoute au code génétique et est facilement modifiable.

☆Les queues N-terminales sont composées d'AA. Sur le schéma, les points correspondent aux modifications post-traductionnelles.

☆Tous les histones ne sont pas forcément modifiées et certaines modifications sont alternatives.

☆Selon le type de modifications, on a une information qui sera décodée par la cellule.

Tut'récap :



☆Code histone= modifications post-traductionnelles + utilisation de différents variants d'histone. Ce code histone se superpose au code génétique.

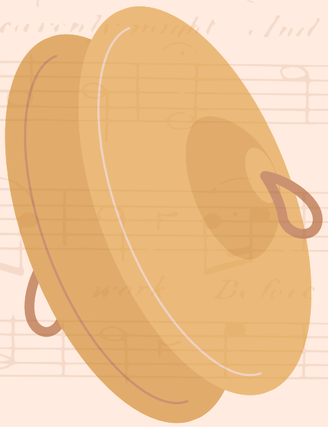
☆code génétique = informations nécessaires à la cellule pour exprimer un gène donné (ON → AUG) ou réprimer tel gène (OFF → UAA), détermine l'expression de linformation génétique.

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

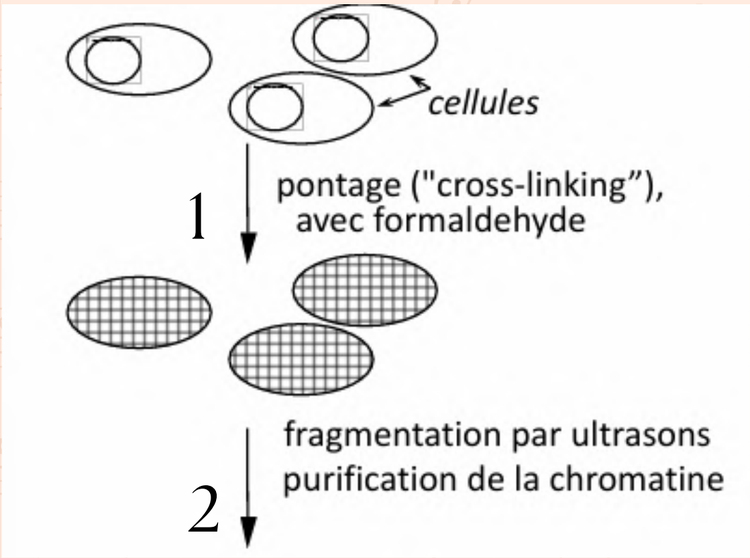
☆code génétique = **universel**
☆code histone = **variable**



Technique de l'immunoprécipitation de chromatine

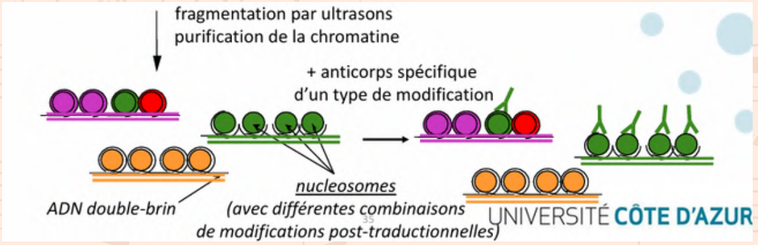


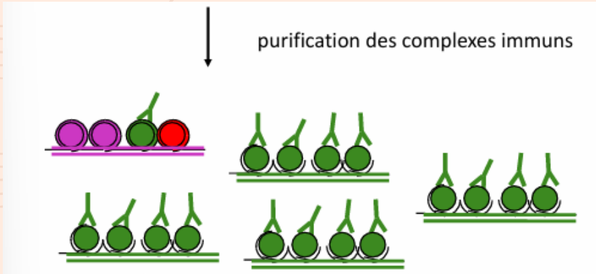
1. <u>figer la cellule</u> dans un état : faciliter la purification de facteurs sans dénaturation. La celulle meurt : pontage/crosslink avec la foraldéhyde (entre ADN et protéines et entre protéines)
2. <u>préparation des extraits</u> grâce à des ultrasons. Fragmentation de la cellule et de la chromatine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

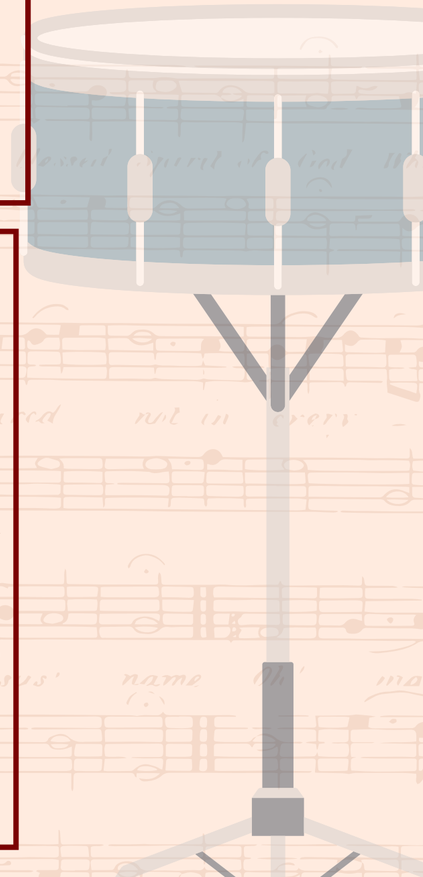




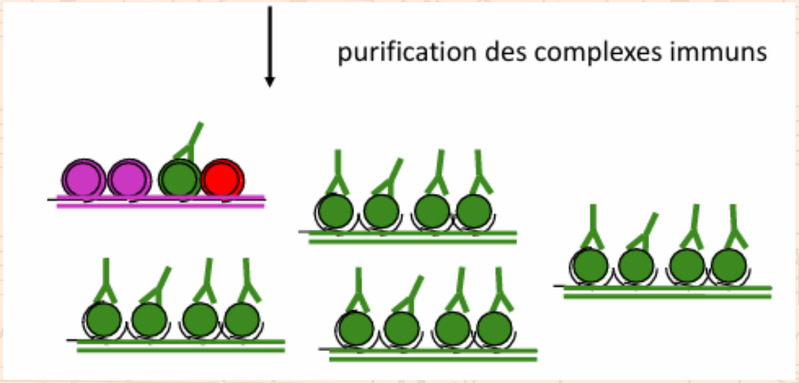
3. On incube les fragments de chromatine avec ces anticorps : association d'anticorps reconnaissants des modifications de nucléosomes verts
4. On augmente ensuite les fragments de chromatine contenant ces modifications (ici vert) reconnues par les anticorps spécifiques par purification du complexe immun



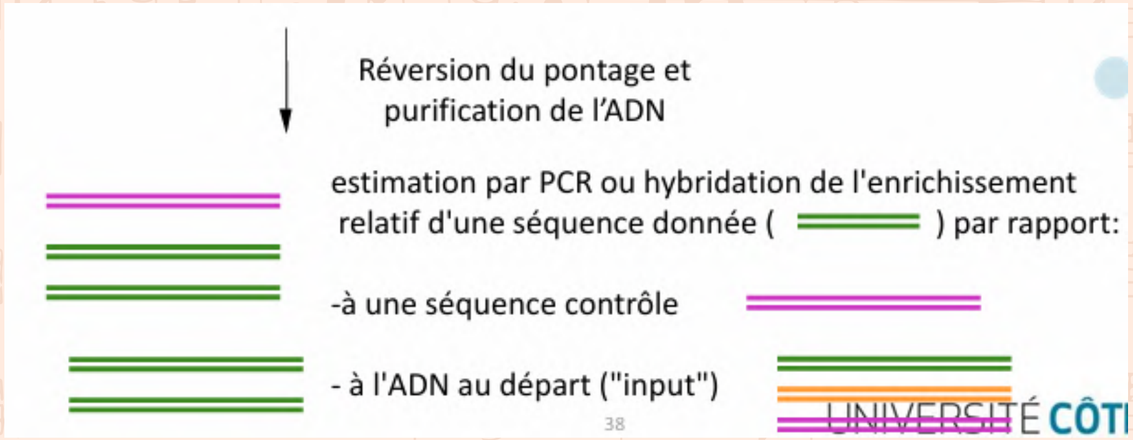




Cependant, on ne visualise toujours pas ces fragments de chromatine et leur proportion par rapport au reste de la chromatine → il faut alors <u>calculer le degré d'enrichissement</u> afin de donner une réponse sur la présence de cette modification sur telle ou telle séquence d'ADN



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



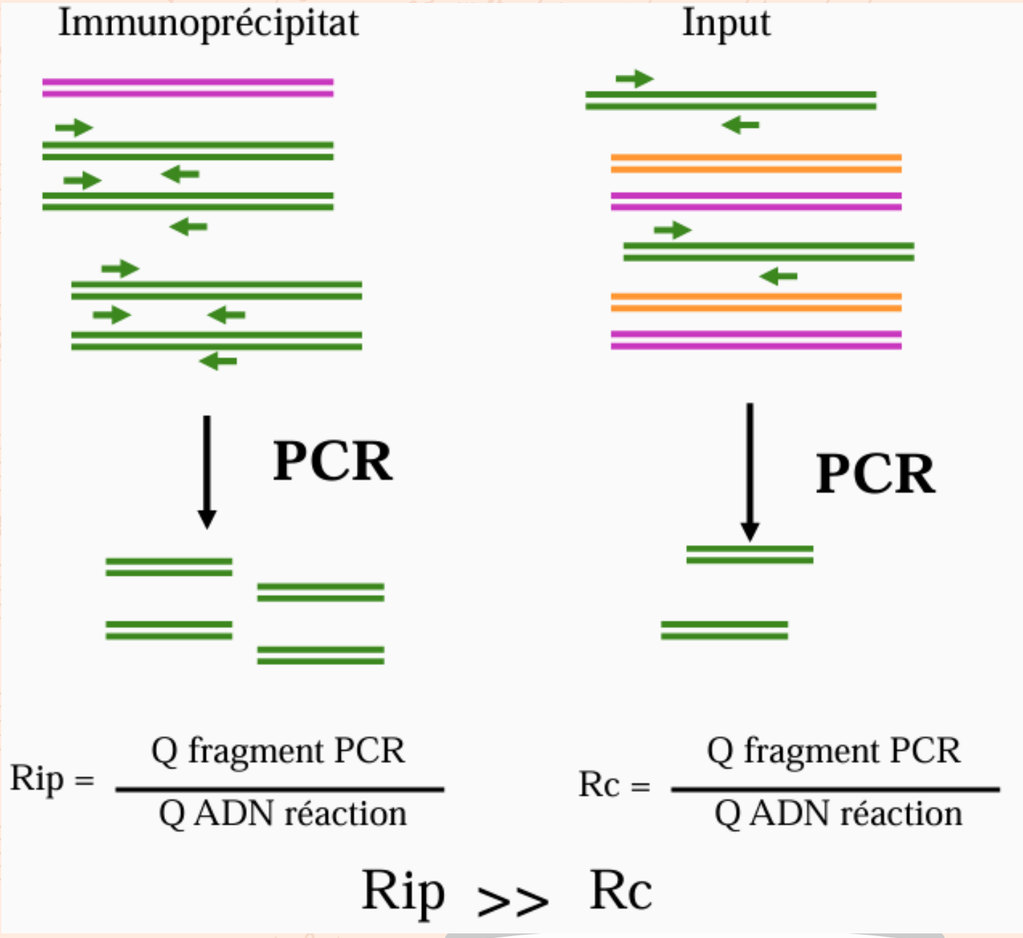


Technique PCR

☆On a deux réactions à étudier :

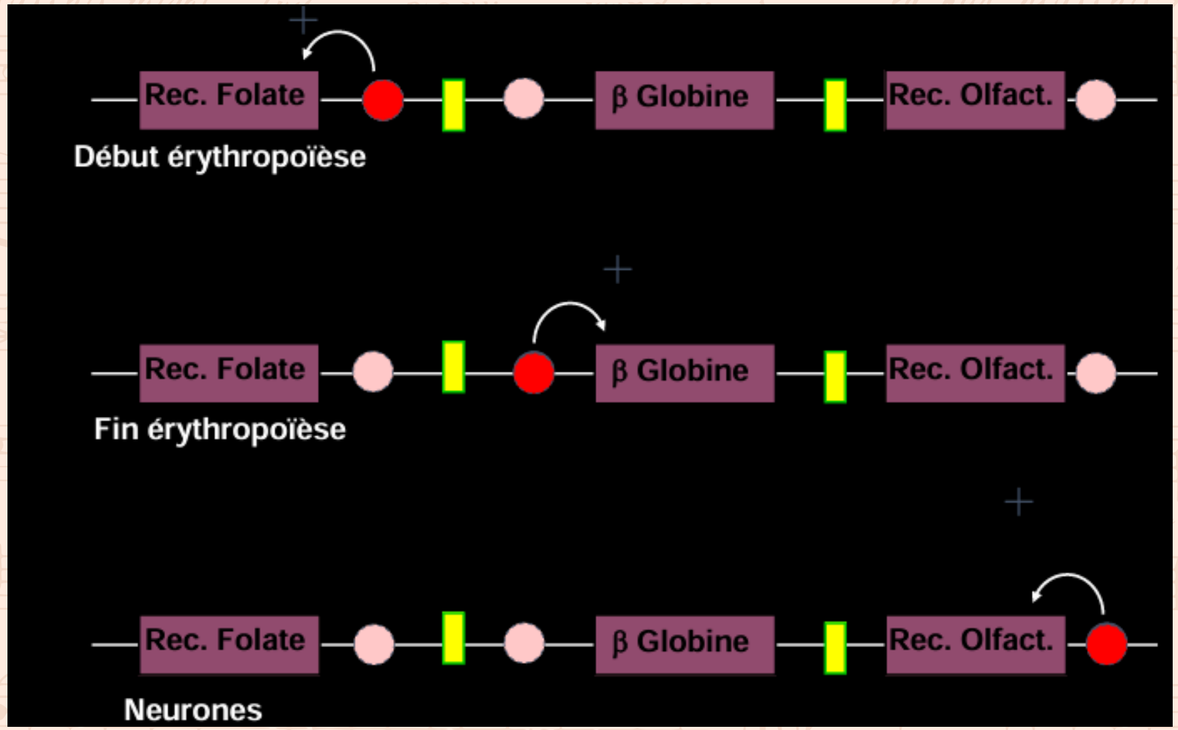
- l'immunoprécipitat : solution test fixée par les <u>anticoprs spécifiques</u>
- l'input : solution de départ, <u>avant immunoprécipitaion</u>

☆Le facteur d'enrichissement :
F = Rip / Rc





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

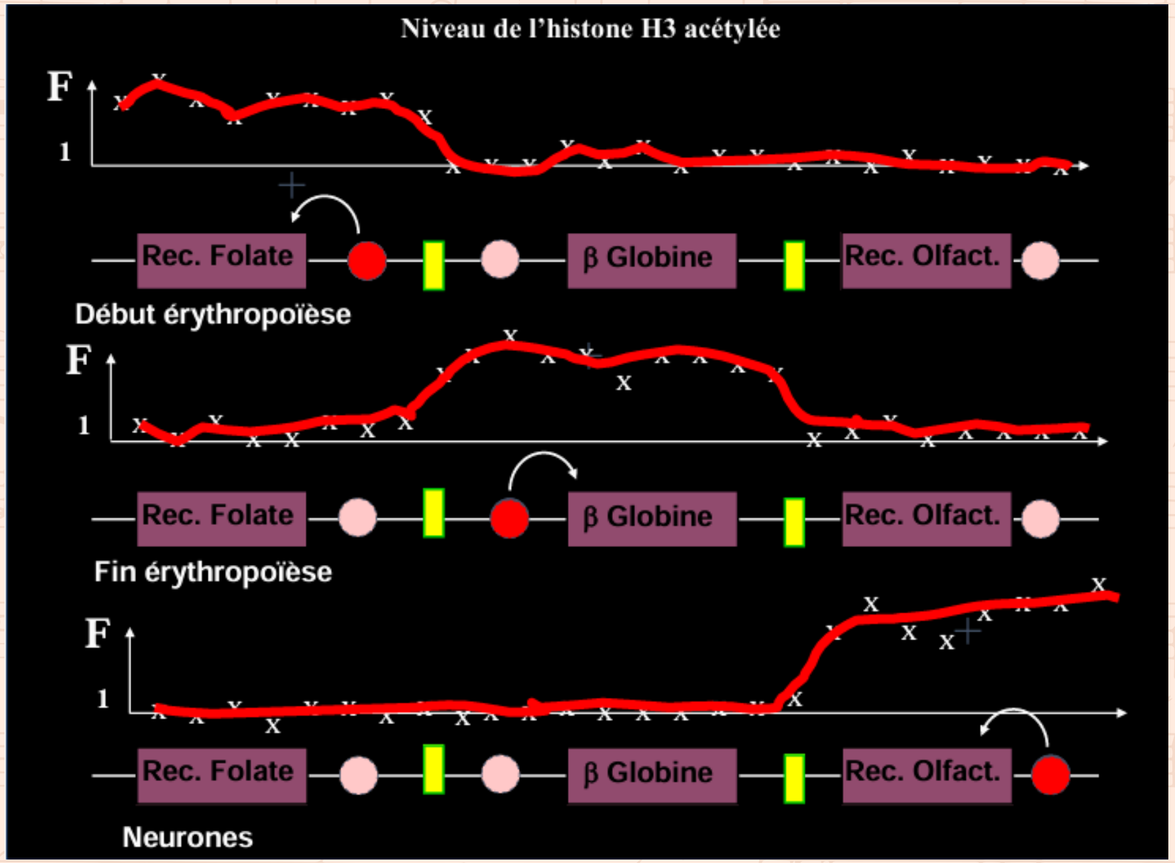


☆On voit ici 3 gènes avec des éléments de régulation à distance pour réguler de manière tissulaire spécifique l'expression des gènes.

☆3 gènes : récepteur, ß-globine, récepteur olfactif
début érythropoïèse : récepteur folate exprimé : activé par enhancer + insulateur bloque expression ß globine et récepteur olfactif (car pas besoin).

fin érythropoïèse : expression ß-globine : activé par enhancer + insulateur bloque récepteurs folate et olfactif
Dans un neurone : récepteur olfactif exprimé par enhancer + insulateur bloque gènes de l'érythropoïèse

☆ces gènes ne s'expriment pas dans la même cellule



☆La quantité d'histones H3 acétylées : + la courbe est haute + le facteur d'enrichissement est élevé donc plus il y a d'acétylation.

<u>au début de l'érythropoïèse</u> : enrichissement du récepteur folate par rapport aux autres gènes : acétylation

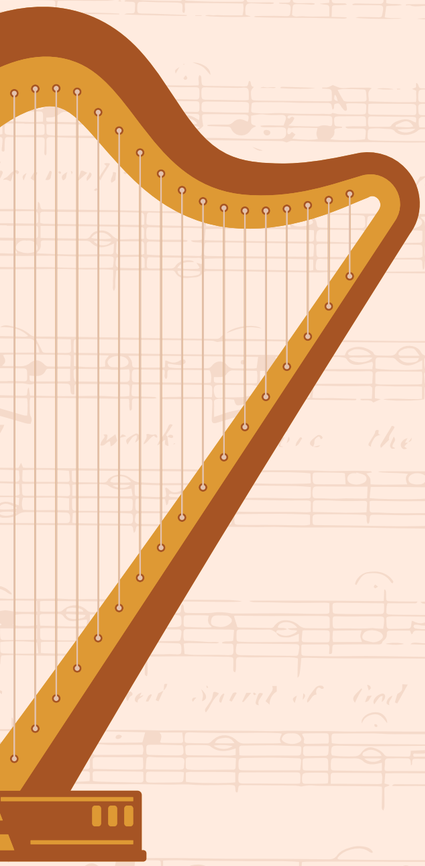
<u>fin d'érythropoïèse</u> : enrichissement du gène ß-globine par rapport aux 2 autres : histones H3 acétylées

<u>dans un neurone</u> : enrichissement du récepteur olfactif par rapport aux autres : histones H3 acétylées





Import'tut : les règles générales





☆Transcription active :
→ chromatine HYPERacétylée
→ chromatine méthylée en K4

☆Transcription inactive :
→ chromatine HYPOacétylée
→ chromatine méthylée en K9

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



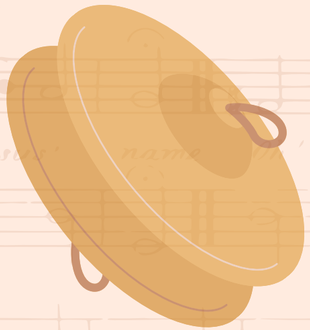
☆Le nucléosome doit être **modifié pour transcrire un gène** :
si nucléosome → ARN polymérase ne peut pas lire l'ADN
→ pas de transcription

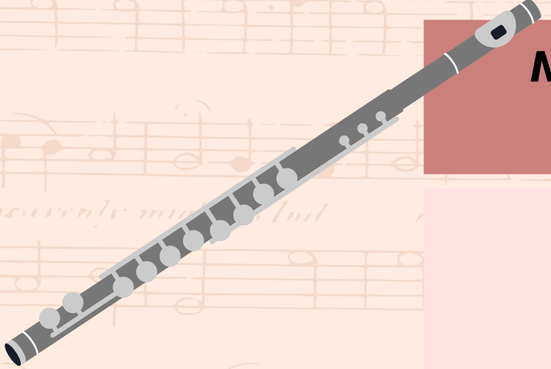
☆FT + co-activateurs modifient la chromatine et les histones : HAT et HDAC sont responsables des modifications post-traductionnelles, donc ils intéragissent avec les FT

- HAT = role de co-activateur : favorise la transcription
- HDAC = rôle de co-répresseur : défavorise la transcription



☆Cela va être lu par des protéines non-histones présentes dans le noyau, reconnaissant spécifiquement les modifications post-traductionnelles
☆C'est en régulant l'interaction entre les queues histones et ces protéines que le code histone pourra être traduit.



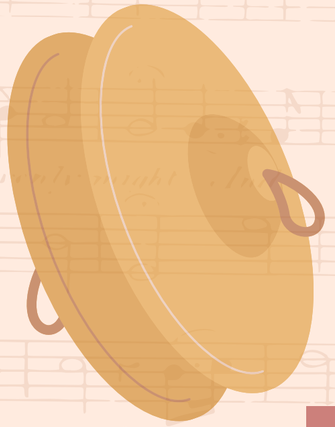


Modifications post-traductionelles	Reconnues par	Actions
Lysines acétylées	Protéines à bromodomaines	Recrutement de facteurs de transcription pour les zones hyperacétylées
H3K9 et H3K27 méthylées	Protéines à chromodomaines : • HP1 pour K9 • Polycomb pour K27 (🔥 on abrège chromosome par K donc les chromodomaines 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





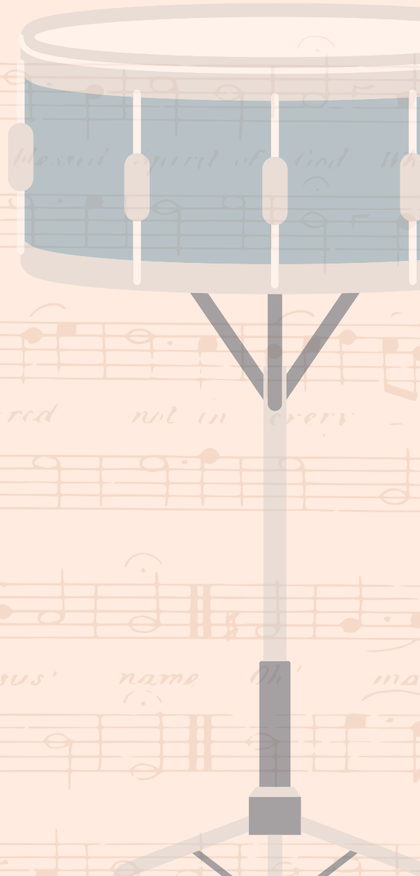
(🔥 la modif est sur une sérine (S) donc S de stress et le nom de la protéine on dirait un numéro de secours)



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

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





QCM TIME

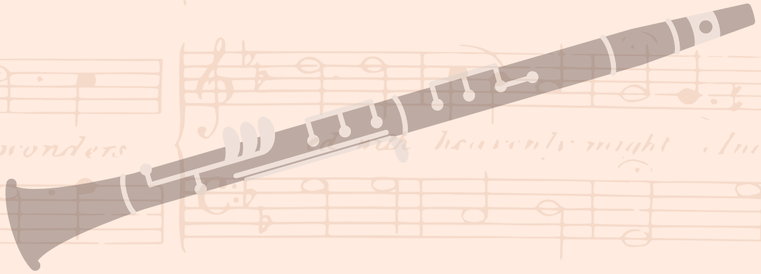
QCM 4 : A propos du nucléosome, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Le code histone est universel
B) C'est en régulant l'interaction entre les queues histones et ces protéines que le code histone peut être traduit
C) La transcription est active quand la chromatine est hyperacétylée ou qu'il y a une méthylation en K9
D) Les protéines à chromodomaines réparent l'ADN
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses

QCM TIME

QCM 4 : A propos du nucléosome, indiquez la (les) proposition(s) exacte(s) :

A) Le code histone est universel
B) C'est en régulant l'interaction entre les queues histones et ces protéines que le code histone peut être traduit
C) La transcription est active quand la chromatine est hyperacétylée ou qu'il y a une méthylation en K9
D) Les protéines à chromodomaines réparent l'ADN
E) Les proposition A, B, C, D sont fausses





A SUIVRE...

MERCI !

