

1. Composition de l'ADN

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

C'est une molécule bicaténaire

Elle est organisée sous la forme d'une double hélice qui s'enroule vers la droite, c'est pourquoi on parle d'hélice dextre selon un modèle présenté en 1962 par Watson, Crick et Wilkins

Ces trois personnes ont présenté un modèle en fonction d'un certain nombre de caractéristiques, il s'agissait à la fois de généticiens, de cristallographes et de physiciens, les trois en mettant en commun leur travail ont pu établir un modèle qui est celui qui est toujours en vigueur aujourd'hui.

1.1 Structure de base

L'ADN est une macromolécule ou un polymère, qui est un polymère de nucléotides constitués de deux chaînes hélicoïdales antiparallèles. Elle est évidemment indispensable à la vie puisque c'est elle qui va contenir les informations nécessaires à la synthèse des protéines, que ce soit les protéines structurales ou que ce soit les protéines enzymatiques. Cet ADN résulte de la polymérisation de molécules plus simples qui sont ce qu'on appelle les nucléotides, les nucléotides étant constituées d'un sucre, un pentose qui sera dans le cas de l'ADN le désoxyribose, le ribose étant pour les molécules d'ARN. Ils sont aussi constitués d'une base qui est une base azotée dont il existe deux noyaux, les noyaux puriques et les noyaux pyrimidiques et sont aussi constitués d'un groupement phosphate. C'est donc l'association de ces trois éléments qui va constituer ce qu'on appelle un nucléotide. L'association sucre/base prend le nom de nucléoside, l'accrochage se faisant entre le 1' (1 prime) du pentose et l'atome d'azote n°1 de la base s'il s'agit d'une base pyrimidique ou de l'atome n°9 s'il s'agit d'une base purique. Ceci se faisant par une liaison chimique qui est une liaison N-glycosidique. L'association avec le phosphate prend alors le nom de nucléotide et l'ADN est donc un polymère de nucléoside 5'phosphate. D'un point de vue de nomenclature, il y a 4 bases possibles, qui vont constituer les molécules d'ADN : Adénine, Guanine, Cytosine, Thymine avec leurs abréviations A, G, C, T. Le sucre associé à cette base va donner un nucléoside, qui vont prendre le nom d'adénosine, de guanosine, de cytidine et de thymidine. Ces nucléosides peuvent s'associer avec des phosphates, 1 seul et on aura un mono-phosphate, deux phosphates et on aura un diphosphate ou 3 phosphates et on aura un nucléotide triphosphate. Si on prend le cas de la guanine (G), on a une guanosine qui sera une guanosine mono-phosphate si elle n'est liée qu'à un seul groupement phosphate et sera de la guanosine triphosphate si elle est associée à trois groupements phosphates. Base + sucre = Nucléoside Base + sucre + groupement phosphate = Nucléotide

1.2 Constituants Les constituants sont sucre, base et acide ortho-phosphorique (H₃PO₄)

1.2.1. L'acide ortho-phosphorique : H₃PO₄

L'acide ortho-phosphorique H₃PO₄ est un triacide. Deux des trois fonctions triacides vont être estérifiées par réaction d'estérification dans les molécules d'ADN et dans les molécules d'ARN. C'est aussi ce qu'on appelle un trialcool puisqu'il a aussi trois fonctions alcools, trois fonctions OH. 3 fonctions acides puisque quand on met en solution H₃PO₄, il peut se dissocier pour donner

H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , voire un phosphate inorganique qui est ce qu'on appelle un PO_4^{3-} et ceci en fonction du pH dans lequel se trouve cette substance qui va plus ou moins perdre ses protons.

1.2.2. Le 2-désoxy-D-ribose

C'est un sucre à 5 carbones qui sont numérotés de 1 à 5. La particularité qui différencie le ribose du désoxyribose, c'est tout simplement sur le carbone qui est en 2' un groupement H qui remplace un groupement OH que l'on retrouve au dans le cas du ribose.

1.2.3. Les quatre bases azotées

Dans ces bases azotées, d'une part il y a des bases à noyau pyrimidique dont il existe deux types, la thymine et la cytosine. Et d'autre part, il y a des bases à noyau dit purique (avec un noyau de type purine) avec deux éléments dans groupe qui sont d'une part l'Adénine et d'autre part la Guanine. Donc deux types de bases, noyau purique et noyau pyrimidique.

2. Structure primaire de l'ADN

Ces molécules d'ADN vont être constituées de ces deux nucléotides, qui vont être associés les uns avec les autres pour former une chaîne de nucléotide, cette chaîne de nucléotide étant la structure primaire de l'ADN. Chaque brin d'ADN va former une chaîne qui est d'abord monocaténaire. Va être formée l'association de désoxyribose nucléotide qui vont être unis entre le phosphate et le désoxyribose. Sur le poly, La liaison réunit le carbone en 3' (C3) et le carbone en 5' du sucre suivant. On a donc une liaison qui est une liaison dite phosphodiester, c'est une liaison ose. Alors que sur la molécule suivante, on a une liaison qui est une liaison ose, c-à-d avec le sucre, avec la base et qui est une liaison qui est une liaison de type bêta osidique. Donc on a deux types de liaisons, phosphodiester et bêta osidique (ici sur le carbone 1). Une base soit purique soit pyrimidique va se fixer sur les carbones de chaque désoxyribose sur le carbone qui est en 1'. Le nombre de désoxyribose ou de désoxynucléotide qui vont se succéder, évidemment c'est variable selon les molécules d'ADN cela dépend des espèces et ça peut atteindre plusieurs milliers voire dizaines de milliers chez certaines organismes. Ça c'est ce qu'on appelle la structure primaire, c'est simplement une succession de nucléotides les uns après les autres.

3. Structure secondaire = molécule bicaténaire

Ensuite, et c'est ce qu'on appelle la structure secondaire de l'ADN, deux molécules (qui sont monocaténaires), vont venir s'associer, c'est donc maintenant une chaîne qui est bicaténaire. En effet c'est l'association de deux brins qui va permettre la formation de cette hélice qui est donc constituée de deux brins qui vont être unis par l'intermédiaire de liaisons qui sont des liaisons de type hydrogène, associant une base purique à une base pyrimidique portée par l'autre chaîne. Page 8 du poly : Sur la gauche, on a une succession de sucres (on voit juste la base qui est représentée par l'adénine) et on aurait sur l'autre brin, une succession de désoxyribonucléotide qui vont ici porter en l'occurrence, une base qui est donc une thymine. Entre les deux, va se faire des liaisons qui sont des liaisons de type hydrogène permettant l'association entre l'adénine et la thymine d'une part et entre la cytidine et la guanosine d'autre part.

Cet appariement est exclusif, on ne peut avoir que une association adénine/thymine et cytidine/guanosine. Ceci est dû au fait que la forme que prennent ces molécules dans l'espace fait qu'il y a une complémentarité de forme permettant ainsi à des liaisons de se faire. C'est pour cela, d'ailleurs, qu'entre l'adénine et la thymine, il y a aussi deux possibilités de liaisons hydrogène (voir poly p8). Tandis que dans le cas de la liaison dû à la structure même des bases cytosine et guanine, il y a trois liaisons qui peuvent se faire, là encore c'est dû essentiellement à des raisons stériques, à des problèmes d'encombrement, des raisons de place qui font que dans un cas, il peut y avoir deux liaisons hydrogène tandis que dans d'autres cas il peut y en avoir trois. Il faut imaginer la molécule d'ADN comme étant quelque chose qui pourrait être rectiligne, une sorte d'échelle dont les montants seraient la succession de sucres, les nucléotides donc et les barreaux de cette échelle seraient constitués par les liaisons hydrogènes entre les bases. On va voir sur chacun de ces brins que la polymérisation va se faire selon un certain ordre et effectivement, les deux brins étant orientés un vers 3'5' et l'autre étant orienté dans l'autre sens et c'est pour cela qu'on parle d'une chaîne qui est antiparallèle puisque les deux brins vont avoir des orientations inverses, avec des successions qui sont des successions dans les molécules qui vont se faire dans l'ordre inverse.

Donc ça, c'est la structure secondaire, c'est simplement la constitution d'une molécule qui est cette fois-ci bicaténaire avec des liaisons de type hydrogène entre les bases constituant les nucléotides.

4. Structure tertiaire ou tridimensionnelle

La troisième étape de structuration de la molécule d'ADN, c'est la structure tertiaire appelée aussi la structure tridimensionnelle. On vient de voir que la molécule d'ADN est formée de deux brins hélicoïdaux, antiparallèles, enroulés autour d'un axe commun et qui forment une double hélice. Chaque brin étant sous forme d'une hélice, si on a une molécule double brin, on va avoir une double hélice.

5. Les différentes formes de l'ADN

L'ADN peut prendre plusieurs formes. La forme la plus courante est la forme B. Dans la forme B de l'ADN, les arrêtes qui vont être créées par les groupements phosphates vont définir à l'intérieur même de cette molécule, deux sillons, ce qu'on appelle le petit sillon et le grand sillon. La présence de ces deux sillons va avoir une certaine influence, en particulier au moment de la fixation d'un certain nombre de protéines sur cette molécule. Qui dit hélice, dit pas de l'hélice. Et on le voit dans une molécule de type B, le pas de l'hélice est constitué par la succession de 10 bases, 10 paires de bases qui vont se succéder et permettre la réalisation d'un tour d'hélice. Ce tour d'hélice correspond à un pas d'hélice qui fait à 3.4 nanomètres avec dix paires de bases. Chacune des bases étant distantes de 0.34 nanomètres.

Quand on prend les deux extrémités de cette hélice (voir poly p9), le diamètre de cette molécule est de 2 nanomètres pour une longueur qui est variable selon les espèces et l'endroit où on retrouve ces molécules d'ADN. Par exemple, si on prend le cas d'une bactérie de type *Escherichia coli* ? L'ADN mesure plus d'1 mm de long alors que dans un spz, si on mettait bout à bout toutes les molécules d'ADN des 23 chromosomes que l'on y trouve, on aurait une longueur de l'ordre de 1 mètre de long, avec un nombre de bases beaucoup plus considérable. On dit que la double hélice est droite, dextre, tout simplement parce qu'elle s'enroule vers la droite. On verra certaines molécules qui peuvent

s'enrouler vers la gauche et donner lieu à d'autres types de molécules d'ADN. On a vu qu'on parlait de molécules avec des brins antiparallèles, cela s'explique de la façon suivante. On a vu que sur un des brins, la séquence allait être un groupement phosphate, ensuite le carbone 3', du sucre désoxyribose puis du carbone 5' ensuite du désoxyribose puis le phosphate (voir poly p7), puisque dans l'enchaînement, les bases n'interviennent pas car elles sont légèrement décalées. On voit que sur un brin, on a phosphate, 3', du sucre, 5', du désoxyribose puis de nouveau un phosphate et donc cela va donner cet ordre-là qui va se répéter. Evidemment, les molécules étant complémentaires, sur l'autre brin, on va avoir une direction qui va être opposé.

On aura dans chaque molécule d'ADN, un brin qui est orienté 3' vers 5' et un brin complémentaire qui lui est orienté de façon antiparallèle c-à-d de 5' vers 3'. Bilan : C'était la structure tridimensionnelle qui est la structure de base de la molécule d'ADN. Evidemment, dans les cellules, les molécules d'ADN ne sont pas sous cette forme mais associées à de très nombreuses autres molécules et en particulier associées à des protéines. On vient de voir le schéma classique de la molécule d'ADN qui est la molécule d'ADN de type B mais l'ADN peut revêtir des formes très différentes dans les cellules eucaryotes. La plus fréquente, la plus stable dans les conditions physiologiques normales est la forme B. Ce type de conformation est observé dans les cellules, dans les solutions aqueuses, c'est la forme la plus proche de la structure moyenne de l'ADN dans les conditions physiologiques. C-à-d, avoir 10 paires de bases, un pas de l'hélice de 3.4 nanomètres avec un petit sillon et un grand sillon. Mais il existe d'autres formes de molécules d'ADN. En particulier ce qu'on appelle de l'ADN de type A. Cet ADN de type A est aussi en double hélice de type dextre, c-à-d qu'il s'enroule à droite mais avec un nombre de paires de bases plus important puisqu'il y a 11 paires de bases par tour. (voir tableau du poly p10) Cela va avoir un effet sur le pas de l'hélice et évidemment avoir un effet sur la hauteur qu'il existe entre chacun de ces éléments. Le pas de l'hélice dans le cas de l'ADN de type A est plus court. Cela est essentiellement dû à la façon dont les bases sont inclinées et des différentes possibilités d'inclinaison des bases dans les molécules d'ADN.

Alors, il y a de l'ADN-A, de l'ADN-B mais il existe encore d'autres formes de type d'ADN. En particulier de l'ADN-C qui est très voisine de l'ADN-B. Mais dans l'ADN-C, on ne retrouve que 9 paires de bases par tour avec un pas de l'hélice, qui lui aussi est un peu plus court, de 3.3 nanomètres.

Il y a de l'ADN de type de synthèse, on peut fabriquer ce qu'on appelle de l'ADN-D. ADN-D : il n'a que 8 paires de bases et on ne le retrouve pas naturellement. C'est un ADN qui est uniquement de type ADN de synthèse.

Enfin, il existe des ADN d'organisation un peu différente. On retrouve de l'ADN-T dans certains virus qui ont un nombre variable, extrêmement réduit parfois, de paires de bases.

Dans certaines situations, l'ADN peut ne pas s'enrouler vers la droite mais s'enrouler vers la gauche, c'est ce qu'on va appeler l'ADN-Z. ADN-Z : la liaison qui est la liaison qui relie la base au sucre, qu'on appelle la liaison glycosyle, peut adopter deux configurations. (voir poly p11) On peut avoir soit une orientation de type SYN et la base est dans l'alignement du sucre, soit une orientation sous forme ANTI et il y a un décalage entre la base et le sucre. Dans l'ADN qui est l'ADN en hélice droite, c-à-d l'ADN-B le plus commun, les liaisons sont de type ANTI, c-à-d décalées par rapport à l'axe des sucres. Tandis que dans les hélices de type gauche, certaines bases, et en particulier des

cytosines seront sous forme ANTI avec un décalage. Alors que des bases de type guanine seront sous forme d'inclinaison de type SYN. Il va y avoir dans cette molécule d'ADN-Z, certains nucléotides qui seront avec des bases sous forme SYN et d'autres sous forme ANTI. Ceci, tout simplement, à cause de cette différence d'orientation de la base qui va provoquer non plus un enroulement sur la droite mais un enroulement sur la gauche, d'où l'apparition d'une hélice gauche. Non seulement, cela va prendre l'allure d'une hélice gauche, mais l'allure générale de la molécule va être sous forme de zigzags d'où l'appellation d'ADN-Z. Cette forme d'ADN-Z, on la retrouve dans les cellules eucaryotes de façon naturelle avec une fonction qui n'est pas encore bien connue. On s'est rendu compte que les deux formes pouvaient exister en même temps. Et il semblerait que ces deux formes soient réversibles, que ce soit sous l'effet d'actions d'enzymes qui sont capables de transformer cette orientation SYN en ANTI, l'ADN-B pourrait de transformer en ADN-Z sans qu'on sache la véritable fonction de cet ADN-Z et surtout à quoi elle peut servir. Donc il y a possibilité de ces deux formes, sachant que la plus commune et la plus stable est l'ADN de type B.

Depuis plusieurs années, on a mis en évidence de l'ADN qui n'est pas double brin, mais triple brin avec une séquence nucléotidique susceptible de venir se positionner dans le grand sillon de l'ADN. Pour l'ADN de type B, il a été observé la possibilité de liaison avec une troisième molécule d'acide nucléique ou troisième chaîne avec formation de liaisons de type hydrogène qui vont s'établir entre les bases.

Alors, les molécules d'ADN sont donc constituées de double brins, les deux brins de cette molécule d'ADN sont susceptibles de se dissocier et de se réassocier aussi rapidement. Ceci est dû au fait qu'entre les deux chaînes monocaténaires, il existe des liaisons de type hydrogène donc des liaisons faibles et qui peuvent se séparer assez facilement. On a pu montrer qu'en chauffant de l'ADN jusqu'à une température de l'ordre d'une centaine de degrés, les deux chaînes sont susceptibles de se séparer. Physiquement, les deux brins vont se séparer, il va y avoir rupture des liaisons de type hydrogène et c'est un phénomène réversible si on laisse la température descendre doucement. Si on refroidit brutalement, les deux chaînes ne vont pas se réassocier mais à l'inverse, si on refroidit doucement, les bases vont se retrouver les unes avec les autres et être capables de reformer les liaisons hydrogènes entre les deux. Cette capacité de dénaturation de l'ADN mais aussi cette capacitation de renaturation, c-à-d de se ré-hybrider, de refaire une molécule double est utilisée dans les techniques d'hybridations moléculaires qui est une pratique fondamentale utilisée dans de nombreuses techniques en particulier de biologie moléculaire. C'est une propriété extrêmement importante qui est que en chauffant, on arrive à séparer les deux brins, et ces deux brins peuvent se réassocier si la température baisse doucement. Par contre, si on le fait brutalement, on va provoquer une impossibilité de réassociation des deux molécules.

Chromosomes

On va maintenant voir comment avec cette molécule double brin, qui fait 2 nanomètres de diamètre sur plusieurs centimètres, dizaines de centimètres de longueur peut tenir dans un noyau. On verra que c'est dû au fait que la molécule d'ADN va simplement s'associer avec des protéines lui permettant de se condenser. Compte-tenu de la longueur totale de la molécule d'ADN et de la taille de la cellule (et en particulier du noyau), il est absolument nécessaire qu'il y ait un phénomène d'empaquetage de la molécule d'ADN pour la faire rentrer dans un noyau. Et en effet, dans le noyau

l'ADN n'est pas tel qu'on l'a précédemment vu sur le schéma du poly, c-à-d sous cette fameuse fibre de deux nanomètres mais il est compacté grâce à l'association de protéines qui sont des protéines spécialisées, qui sont ce qu'on appelle les histones. Ce phénomène de compaction de l'ADN est un phénomène indispensable pour permettre à toute l'information génétique de se trouver dans un volume relativement réduit.

1. Condensation de l'ADN

Cet empaquetage, cet assemblage se fait immédiatement après la réplication, c-à-d qu'au fur et à mesure que l'ADN est dupliqué, il est immédiatement empaqueté, associé à ces protéines histones pour éviter qu'il n'occupe un volume trop important. Cela se fait immédiatement, la réplication va évidemment nécessiter par ailleurs le désassemblage, pour que les machineries de réplication ou de transcription puisse lire les molécules d'ADN qui sont empaquetées, il va falloir préalablement qu'elle décroche au moins sur une certaine distance, les molécules d'ADN de leur association avec les protéines. Evidemment, ceci va se faire de façon coordonnée entre les machineries de réplication et de transcription et évidemment l'ADN lui-même qui va se réassocier immédiatement.

1.1. Les histones

- Les histones de type H2, H3, H4

Les histones sont des protéines de taille relativement petite puisque ce sont des molécules qui sont environ de 100 à 200 acides aminés, avec une masse molaire d'environ 10 à 15 kDalton. Ceci est vrai pour un premier groupe d'histones qui sont ce qu'on appelle les histones non-nucléosomiques, qui sont les histones H2, H3 et H4. Ces trois histones sont des molécules petites, de 100 à 200 acides aminés, elles sont particulièrement riches en acides aminés chargés positivement, c-à-d riches en arginine et en lysine. C'est très important puisque cette association avec l'ADN va se faire parce que, lui, est chargé négativement. L'ADN étant chargé négativement, ces protéines étant plutôt chargées positivement grâce au nombre d'acides aminés qui sont eux même positifs, va favoriser l'interaction entre ces protéines et les molécules d'ADN.

Le nombre d'histone que l'on va trouver dans les cellules est extrêmement important, on va trouver plusieurs dizaines de millions d'histone dans un seul noyau. Ce sont des structures qui, au cours de l'évolution, sont apparues très précocement puisqu'on en retrouve chez les archaebactéries. Dès ce stade de l'évolution, on retrouve des protéines de type histone, et non seulement on les retrouve d'un point de vue évolutif il y a fort longtemps, mais en plus, lorsque l'on compare les structures de certaines histones entre deux espèces du monde vivant, on s'est rendu compte que dans certains cas, il y avait très peu de différences. Effectivement, si on prend le cas de l'histone H4 et qu'on en fait sa séquence dans une part des cellules de thymus de veau, donc de mammifère et qu'on regarde la même histone H4 dans une cellule végétale comme le petit pois par exemple, on s'est rendu compte que sur les 102 acides aminés que constituaient cette histone H4, il n'y avait que deux acides aminés de différents. Le fait qu'il y ait une très grande conservation dans la séquence, une homogénéité dans les séquences entre une cellule de végétal et une cellule de mammifère, explique, en partie en tout cas, l'importance que peuvent avoir ces protéines qui ont été maintenues tout au long de l'évolution car on sait que quand quelque chose ne sert pas vraiment, au cours de l'évolution, il finit par disparaître (dans les théories de type évolutionniste, évidemment).

- Les histones de type H1

Elles sont plus volumineuses que les précédentes histones avec un poids moléculaire de 21 kD.

Donc, on a deux groupes d'histones H1 volumineuse d'une part et d'autre part les H2, H3, H4. Toutes ces histones ont quelques particularités, les gènes qui codent pour les histones ne comportent pas de séquences qui sont ce qu'on appelle des introns et par ailleurs les gènes qui codent pour les histones codent pour des ARNm qui ont une autre particularité, c'est de ne pas être polyadénylés. Les ARNm, lorsqu'ils sont fabriqués, leur sont accrochés, entre autre pour les protéger, ce qu'on appelle une queue poly-A, une polyadénylation. Ceci est vrai pour la très grande majorité des ARNm, dans le cas des histones, il n'y a pas ce phénomène de polyadénylation. On a vu qu'il faut énormément d'histones dans un noyau, nécessairement, ils vont devoir être transcrits en très grand nombre.

Les gènes codant pour les histones vont avoir une autre particularité, c'est que ces gènes sont répétés, c-à-d qu'il y a dans le génome plusieurs endroits codant pour ces histones. Evidemment, non seulement, les gènes sont répétés mais ils vont être transcrits et ceci de façon coordonnée avec le cycle cellulaire, c-à-d, qu'il va y avoir transcription puis traduction d'histones au moment où cela est le plus nécessaire, et c'est évidemment au moment de la phase S. Ces histones sont aussi susceptibles de se fixer sur des récepteurs pour ces histones qui sont présents dans l'enveloppe nucléaire, et on reverra que cela a son importance dans l'organisation même du nucléoplasme, et donc de ce qu'il y a à l'intérieur du noyau. Alors on a dit, plusieurs copies de gènes histones dans les cellules, on verra que ces histones sont modifiées après leur synthèse, et en particulier l'histone H1 mais c'est valable aussi pour les histones H2A (parmi les histones H2, il y a deux types, les histones H2A et H2B), et les H4. Alors H1, H2A et H4 vont subir des modifications de type acétylation, ce sont des histones qui sont susceptibles d'être acétylées et on verra que cela a une grande importance dans la façon dont va être régulée la compaction de l'ADN dans les cellules. Ce n'est pas la seule modification que peuvent subir ces protéines, en effet, l'histone H1 est, elle, susceptible, en plus de son acétylation, d'être phosphorylée.

La phosphorylation de l'histone H1 est l'un des tout premiers phénomènes à se produire pour l'entrée en mitose des cellules puisque c'est cette phosphorylation des histones H1 qui va être un des éléments précurseurs de la condensation de l'ADN. Evidemment, toutes ces modifications sont des modifications réversibles : acétylation, désacétylation, phosphorylation, déphosphorylation en fonction des groupes. Ces histones sont organisées selon deux groupes, d'une part des histones qu'on appelle nucléosomiques qui interviennent dans la constitution de petits cylindres qu'on appelle des nucléosomes. Vont intervenir dans la formation de ce cylindre les histones H2A, H2B, H3 et H4. Ces histones vont être regroupées sous la forme de ce qu'on appelle un octamère, c-à-d de l'association de 8 éléments, 2 fois H2A, 2 fois H2B, 2 fois H3 et 2 fois H4. L'association de ces histones va permettre la formation d'un cylindre (représenté en p12 du poly) qui a environ 11 nanomètres de diamètre pour 6 nanomètres de hauteur et qui est donc un cylindre constitué de 8 molécules, c'est pour cela qu'on appelle ça des histones nucléosomiques puisqu'elles entrent dans la constitution du nucléosome. D'autre part, il y a une histone qui est non-nucléosomique qui est l'histone H1, qui, elle, n'entre pas dans la constitution du nucléosome. Elle va permettre de rapprocher des nucléosomes pour permettre une certaine forme d'agrégation de cellules nucléosomes.

1.2. Le complexe

ADN-histones Autour du nucléosome, il va y avoir enroulement d'une molécule d'ADN, elle va entourer le nucléosome sur une longueur de 142 paires de bases et faire deux tours, donc la double hélice va entourer deux fois ce nucléosome. Ensuite, il va y avoir un segment qui est non-enroulé autour du nucléosome puis de nouveau une zone qui va permettre l'enroulement autour d'un nucléosome. La molécule d'ADN, la molécule double brin, la fameuse fibre de 2 nanomètre va s'enrouler très régulièrement sur ces nucléosomes. Donc le nucléosome et la portion d'ADN qui va lui être associé vont représenter l'unité structurale de ce qu'on va appeler généralement, la chromatine. Cet ADN va se lier assez fortement à ses nucléosomes mais il pourra s'en décrocher au moment de la lecture que ce soit pour la réplication ou la transcription. L'association entre ces cylindres et l'ADN, pour un ADN donné, se situe toujours au même endroit, c-à-d que cela ne se fait pas n'importe où sur la molécule d'ADN, il y a vraiment des séquences qui sont des séquences de 142 paires de bases qui sont dédiées à cet enroulement autour du nucléosome.

Parallèlement à ces histones nucléosomiques, on a une histone (H1) qui, elle, va servir à lier en réalité deux nucléosomes pour permettre le rapprochement de deux nucléosomes puis trois puis quatre et ainsi permettre un début de compactage. L'ADN s'associe avec des nucléosomes et lorsqu'on regarde les préparations d'ADN interfascique, c-à-d en dehors de la mitose, on peut observer en microscopie électronique deux types de structure. D'une part, ce qui va constituer ce qu'on appelle la fibre nucléosomique qui est donc constituée d'une molécule d'ADN double brin, l'ensemble formant ce qu'on appelle un chapelet dont le diamètre est maintenant de 11 nanomètres. Les nucléosomes sont séparés par de courts segments d'ADN d'environ une quarantaine de paires de bases, c'est variable selon les molécules d'ADN et selon les espèces, cela va de 20 à 60 paires de bases et en générale, cela fait un peu plus d'une dizaine de nanomètres. Attention, la partie qui entoure le nucléosome est la même chez tous les eucaryotes, la longueur qui entoure le nucléosome est toujours la même chez toutes les espèces, ce qui varie par contre, c'est la distance entre deux nucléosomes. D'autre part, ces nucléosomes sont susceptibles de venir s'agréger les uns avec les autres pour former des solénoïdes. C-à-d, que les nucléosomes vont se rapprocher en particulier grâce à la phosphorylation, grâce aux modifications de l'histone H1 et permettre la formation de structures plus compactes et qui sont associées grâce à l'histone H1. Il est évident que dans le cas précédent c-à-d dans la fibre nucléosomique qui fait 11 nanomètres, le taux de compaction n'est pas très important et la réplication et la transcription peuvent avoir lieu, il n'est pas difficile pour la machinerie de réplication, de transcription de dérouler cette partie de l'ADN, celle qui est entourée autour des nucléosomes et de faire son travail.

Alors que dans le cas de la fibre de 30 nanomètres, qui est, elle, constituée par ces solénoïdes, les machineries ne peuvent plus accéder ou beaucoup plus difficilement à la molécule d'ADN, de sorte que dans un cas on va avoir de l'ADN actif, c-à-d qu'il peut être lu par les machineries soit de transcription soit de réplication. Alors que dans l'autre cas, on a une molécule d'ADN qui est non-actif dans la mesure où les machineries ne peuvent pas lire cette molécule. Il est évidemment très important de comprendre que le degré de compaction est variable dans la vie d'une cellule, que cela va se faire en fonction des besoins de la cellule. C'est-à-dire que quand le taux de transcription va être nécessairement élevé, il va y avoir le taux de compaction qui va diminuer. A l'inverse, quand elle aura moins besoin de réplication ou pas du tout de réplication ni de transcription, le taux de compaction pourra augmenter. Ceci est évidemment variable et nous verrons que ceci est dû

essentiellement à des modifications chimiques qui sont réversibles, ce sont les fameuses acétylations. Les mécanismes d'acétylation, désacétylation interviennent énormément dans ce phénomène de compaction. On vient de voir que l'ADN dans une cellule est associé de manière permanente à des histones, par contre on verra qu'il s'associera de façon intermittente avec d'autres protéines qui sont toutes les protéines des machineries de réplication, de transcription, l'association ne va se faire qu'au moment de la réplication ou que au moment où l'ADN sera transcrit. C'est le cas des ADN polymérases, tandis que dans le cas des histones il y a une association qui est permanente. La chromatine ou la molécule d'ADN non-active, la fibre de 30 nm va être capable de faire des plis pour obtenir une molécule qui va se compacter encore plus, qui va être ce qu'on appelle la molécule de 300 nm. Cette molécule de 300 nm étant capable elle-même de faire des replis pour former un brin de ce qu'on va appeler le noyau des branches de ce qu'on appelle le chromosome métaphasique, une branche fait 700 nm. (Voir p13 du poly) on peut voir un chromosome observé en ME constitué de deux chromatides, chacune des chromatides correspond à une fibre de 700 nm elle-même provenant d'une compaction d'une molécule qui avait 300 nm, etc. Ceci étant essentiellement dû à des réactions chimiques convertibles. Pour lequel, on va obtenir le degré de compaction maximal, celui qu'on peut observer uniquement en métaphase, c'est donc ce qu'on appelle le chromosome métaphasique.

2. Le chromosome métaphasique

Il peut être vu au moment où les chromosomes vont être séparés, lors de la mitose. On rappelle que le génome nucléaire humain est constitué de 23 paires de chromosomes, 22 paires d'autosomes qui sont évidemment identiques au sein d'une même paire et 1 paire de chromosomes sexuels. C'est surtout au moment de la métaphase que l'on peut observer ces 23 paires de chromosomes car c'est à ce moment-là que la compaction va être maximale, compaction qui est rendue nécessaire pour permettre de séparer le matériel génétique dans les deux cellules filles et ceci en quantité équivalente. Si on devait séparer de la chromatine non-condensée de façon équitable dans les deux cellules, ce serait impossible et donc il y a ce phénomène de condensation extrêmement important qui permet la formation des chromosomes et on va se retrouver avec des molécules individualisées pouvant être séparées physiquement beaucoup plus facilement. Cet aspect du chromosome métaphasique est caractéristique, il va comporter plusieurs régions, 3 principales, d'une part une région qu'on appelle le centromère et les deux extrémités qui sont ce qu'on appelle les télomères. 3 régions principales : les deux extrémités ou télomères et la région centromérique. (Voir poly p14).

2.1. Le centromère

C'est une région qui correspond à un étranglement du chromosome qui est aussi ce qu'on appelle une constriction primaire. Il va séparer le segment chromosomique en deux bras qui vont avoir une longueur égale. Certains chromosomes peuvent posséder aussi ce qu'on appelle des constriction secondaires qui vont essentiellement être faites d'hétérochromatine. Ce centromère est une structure qui correspond aussi à ce qu'on appelle une constriction primaire, c'est une structure tout à fait particulière du chromosome puisqu'il va servir essentiellement à la ségrégation des chromatides lors de la division cellulaire. Ce centromère va être le point de fixation du chromosome par les différents microtubules et en particulier les microtubules kinétochoriens. Pour un chromosome donné, il est évident que ce centromère est localisé sur un endroit qui est précis, qui est toujours le même, tout

simplement parce qu'il correspond à une séquence bien définie de l'ADN. Ça ne se fait pas n'importe où, ça se fait sur un endroit qui est spécifique à chaque paire de chromosome et il est constitué d'hétérochromatine constitutive. Suivant les chromosomes, le centromère sera localisé à différents endroits. Il sera dans le cas des chromosomes métacentriques, il sera en position médiane, il sera au milieu. Dans les chromosomes acrocentriques, il sera légèrement déplacé, et on aura une position de type sub-médiane.

Enfin, dans les chromosomes télocentriques, le centromère est quasiment à l'extrémité. Il n'est pas confondu avec le télomère mais quasiment au télomère, à tel point que l'on ne peut pas voir de bras court. Au niveau du centromère, se trouve tout simplement un complexe qui est donc le fameux complexe centromère-kinétochore. On rappelle que ce complexe est un complexe très structuré avec un enchevêtrement de deux entités d'une part les protéines qui vont constituer les kinétochores et d'autre part des séquences spécifiques de l'ADN. Auxquelles, il faut ajouter des protéines qui sont spécifiques, qui sont les protéines centromériques, des CENP qui vont permettre l'association entre les protéines constituant les kinétochores et ensuite les microtubules et l'ADN lui-même. Il existe toute une famille de protéines de type centromérique qui permettent de s'associer et de façon spécifique à ces régions de l'ADN qui correspond à l'ADN dit centromérique. Évidemment, ce complexe Centromère-Kinétochore est impliqué dans les aspects fondamentaux de la vie des cellules puisque le centromère est le dernier endroit où les chromatides sœurs restent appariées avant leur séparation. Ce sont les dernières séquences qui vont être répliquées au cours de la phase S, ces régions centromériques ont la particularité d'être les dernières à être répliquées. C'est évidemment l'endroit où les microtubules vont se fixer. C'est aussi l'endroit où un certain nombre de moteurs, qui sont responsables de la montée vers le pôle des chromatides, vont être localisés. Ces régions centromériques sont des régions qui sont particulièrement importantes pour toutes les raisons qu'on vient d'évoquer. On verra que le chromatide, l'ADN qui le compose est l'hétérochromatine centromérique qui est différente de l'hétérochromatine qu'on peut retrouver ailleurs dans le génome. En effet, les nucléosomes dans ces régions, sont différents des nucléosomes qu'on peut retrouver ailleurs sur la fibre nucléosomique. En effet, ils contiennent un certain nombre de protéines qui sont les fameuses CENP (protéines centromériques) qui sont donc des protéines spécifiques que l'on ne retrouve qu'au niveau des centromères.

Ces protéines sont des histones un peu particulières dont il existe environ 8 membres à ce jour connus, des protéines centromériques qui sont constitutives, qui vont être présentes en permanence et d'autres qui ne seront associées à cette région que de façon transitoire, de façon épisodique au centromère. En plus de ces protéines centromériques qui sont vraiment spécifiques à cette région de l'ADN, il existe des protéines internes aux centromères, qui sont ce qu'on appelle des INCENP (protéines internes du centromère). Certaines de ces INCENP vont avoir un rôle en particulier très important d'assurer les zones de cohésions lors des appariements que peuvent faire les chromatides. En plus de ces CENP, les protéines centromériques, il existe d'autres protéines associées au centromère les INCENP qui vont avoir un rôle dans les fonctions d'appariement des chromatides pendant les phénomènes de division. En ce qui concerne le centromère chez l'Homme, qui a donc une structure évidemment particulière, l'ADN centromérique humain est beaucoup plus complexe que dans n'importe quelle autre espèce. Il a une longueur qui est de 1 à 10 millions de paires de bases, il correspond à de l'ADN spécifique qui est de l'ADN satellite. En particulier, il existe de l'ADN qui est de l'ADN satellite de type alpha ou alphaoïde qui représente une quantité non-

négligeable du génome puisqu'il correspond à environ 5 % des génomes. S'il n'y avait pas cet ADN spécifique au centromère, les centromères ne pourraient pas se constituer avec évidemment toutes les causes et les effets que cela pourrait produire. Cet ADN centromérique est constitué de motifs qui sont des motifs d'environ 170 paires de bases qui sont relativement bien conservé au cours de l'évolution, ces séquences en tout cas, mais aussi bien structuré entre eux en particulier par association avec une protéine qui est la protéine de type CENP-B. A l'intérieur de ces motifs qui se répètent, il y a des séquences elles-mêmes répétitives d'environ 17 paires de bases qui constituent des CENP-Box et qui vont interagir spécifiquement avec ces fameuses protéines qui sont ces fameuses protéines de type B.

2.2. Les télomères

L'autre région extrêmement importante, c'est l'extrémité des chromosomes, c'est ce qu'on appelle les télomères. Les télomères correspondent aux extrémités des chromosomes. Pour un chromosome métaphasique comme celui en page 22 du poly, on en a quatre : deux extrémités par chromatide. Ces télomères correspondent à des portions de l'ADN qui sont hautement répétitives, qui sont non-codantes, qui ne codent pas pour des protéines et qui sont donc situées à l'extrémité de chacune des molécules d'ADN. A chaque fois qu'une molécule d'ADN, dans une cellule eucaryote, va être répliquée, pendant la phase S, il se trouve que l'enzyme chargée de ce phénomène, qui est l'ADN polymérase, va être incapable copier la toute fin de cette molécule d'ADN et donc, ne va pas pouvoir copier les derniers nucléotides. Ceci va tout simplement provoquer, à l'extrémité des chromosomes, une absence de nucléotide. D'une manière générale, le segment qui va être répliqué va être plus court l'original, et ceci à chaque division cellulaire. Au bout du compte, et à chaque division cellulaire, les chromosomes vont se raccourcir, ils vont perdre une partie de leur extrémité et il est évident que quand cette perte de molécule d'ADN qui n'est pas codante mais qui va, si ça empiète sur des régions qui finissent par être codantes dans le génome, va aboutir à la mort cellulaire et c'est d'ailleurs, cette perte d'information génétique, au cours de la vie des cellules et au fur et à mesure de leur division qui explique au moins partiellement ce qu'on appelle la sénescence ? ou le vieillissement des cellules et qui conduit à leur mort, c'est tout simplement par raccourcissement de ces extrémités au fur et à mesure de la vie des cellules. On a vu que ces télomères sont constitués de séquences répétitives d'ADN qui ont une fonction très importante qui est de protéger les extrémités des chromosomes. Ces régions évitent que les extrémités ne soient considérées comme des endroits de rupture du double brin, et ceci pourrait engendrer tout simplement d'éventuelles soudures des chromosomes par les télomères respectifs.

S'il n'y avait pas ces télomères avec la formation d'un repli et d'une boucle comme sur le schéma, les extrémités des chromosomes seraient susceptibles de venir d'accrocher et donc provoquer des soudures de molécules d'ADN ; donc elles sont particulièrement importantes pour la protection des chromosomes. La longueur de ces télomères est variable, elle varie de 5 à 20 milles paires de bases, c'est aux alentours normalement de 15 kilo Bases et la longueur de ces télomères va résulter d'un équilibre entre un raccourcissement qui a lieu à chaque mitose à un ré-allongement par des enzymes qui sont des enzymes spécifiques qu'on appelle des télomérases. Il va y avoir à chaque mitose un raccourcissement et ceci de façon absolument naturelle qui est dû à la façon dont sont répliquées ces extrémités et éventuellement à un réarrangement par des enzymes que sont les télomérases. Les télomères, sont constitués d'une répétition de motifs qui sont constituées de 6 paires de bases (c'est

variable là encore de l'ordre de 5 à 8, d'une manière générale, c'est de l'ordre de 6) qui est le même chez tous les vertébrés et qui est cette séquence TTAGGG qui va se répéter un nombre de fois extrêmement important. Sur le brin orienté 5'3', on a une séquence TTAGGG et évidemment, le brin qui est en face, qui est le brin complémentaire, il est constitué de son complémentaire c-à-d AATCCC. Ce qui fait qu'on va avoir sur les chromosomes un brin qui va être riche en G et un brin qui va être riche en C, celui d'en face. Sur le brin riche en G, systématiquement, il va dépasser l'autre brin d'une quinzaine de nucléotides. (Voir p22 du poly) A l'extrême extrémité, de chaque molécule, il y a une partie qui va être monocaténaire, et c'est cette partie monocaténaire qui peut éventuellement se refermer pour former cette structure qui est une structure en épingle à cheveux. Cela forme une boucle, de manière à protéger l'extrémité des chromosomes qui sinon pourraient attaquer par des enzymes. Ces télomères sont très importants non seulement pour la protection mais c'est par ces extrémités aussi que vont être liés les molécules d'ADN à l'enveloppe nucléaire. Ils vont participer à la formation de compartiments à l'intérieur du noyau et ceci tout simplement par la liaison que vont faire ces molécules avec l'enveloppe nucléaire, du coup, cela constitue des compartiments au sein même de la matrice nucléaire. Par ailleurs, ces régions télomériques agissent aussi sur la transcription car ils sont susceptibles de piéger un certain nombre de facteurs de transcription.

Chez l'Homme, la longueur des télomères est contrôlée par une enzyme qu'on appelle la télomérase. Ces télomérases sont évidemment importantes puisqu'elles vont permettre la reconstitution de l'extrémité des chromosomes. Chez la majorité des cellules eucaryotes, des organismes eucaryotes multicellulaires, en principe ces télomérases ne sont quasiment pas actives si ce n'est dans les cellules germinales mais aussi très actives dans toutes les cellules qui sont les cellules souches. A l'inverse, dans les autres cellules somatiques, d'une manière générale, les télomérases ont une activité extrêmement réduite et du coup, lorsqu'à chaque division, il va y avoir perte de morceaux de l'extrémité, à force, le télomère va devenir de plus en plus court, il ne va plus jouer son rôle protecteur et tout simplement, la cellule va interpréter ce message avec cette très courte portion télomérique comme une corruption de son ADN et va provoquer une entrée en phénomène de sénescence et finalement stopper la croissance de la cellule et la cellule va finir par mourir. Ces télomérases sont des enzymes un peu particulières, puisque le problème majeur qu'on va rencontrer lors de la réplication de l'ADN, c'est l'élimination potentielle de l'amorce de l'ARN. On verra au moment de la réplication, qu'il y a sur un des brins la formation d'ARN et à un moment donné cette amorce va être enlevée, ceci va provoquer un raccourcissement de l'ADN et ce à chaque cycle de réplication. Pour pallier à ce phénomène, la protection des chromosomes chez les eucaryotes va être assurée par cette enzyme qui est la télomérase qui est codée par un gène qui est le gène TERT (pour Télomérase Inverse Transcriptase). Cette enzyme a une particularité, c'est qu'elle contient en son sein, un petit ARN et c'est cet ARN qui va lui servir de matrice. En effet, sur l'extrémité d'un chromosome, l'enzyme ne va plus avoir de matrice pour permettre la réplication, elle ne va plus savoir quoi mettre à l'extrémité puisqu'on a vu que sur l'extrémité, il y avait une absence, une partie qui était monocaténaire donc forcément l'enzyme n'a pas de matrice (on sait que la réplication se fait par copie d'une matrice sur le brin en face).

Comme ici, il n'y a plus cette information, la télomérase est un système particulier puisqu'elle a en son sein une molécule d'ARN et elle va être capable de mettre en face de cette molécule d'ARN des nucléotides qui vont bien et permettre ainsi le prolongement de ce brin de l'ARN. Donc, en fait,

c'est un système enzymatique qui est un système de type inverse transcriptase (comme ce que l'on peut retrouver codé par certains virus) qui permet de copier de l'ARN pour faire de l'ADN. Cet ARN va agir comme un moule permettant l'ajout de répétition à l'extrémité 3' et ceci par des cycles répétés d'élongation puis de translocation et permettre ainsi la synthèse d'ARN face à cette fameuse matrice qui elle, est une matrice d'ARN. Il y a donc synthèse, puis translocation, puis de part en part le brin va être ajouté et synthétisé. C'est cette répétition qui constitue ce qu'on appelle le télomère. Cette télomérase va faire le brin qui est riche en G et il va y avoir besoin de compléter, au moins sur une certaine distance, de fabriquer le brin qui va lui être riche en C. La télomérase prolonge le brin riche en G, évidemment, il va falloir que dans un second temps, un complémentaire riche en C vienne s'installer et ceci se ferait grâce à l'intervention d'une primase qui interviendrait avec d'abord une amorce d'ARN puis un ADN polymérase qui va allonger la chaîne puisque vous reverrez que sur ce brin-là, l'ADN polymérase ne fonctionnant plus dans un sens, elle ne peut le faire que s'il y a d'abord une amorce d'ARN. Cette activité des télomérases est très réduite ou quasiment nulle dans les cellules normales ou dans les cellules que l'on peut cultiver. Du coup, après plusieurs réplifications, les chromosomes vont perdre leurs télomères et devenir instables. A l'inverse, et c'est un des phénomènes qui a été observé dans les cellules cancéreuses.

On a observé une augmentation accrue de l'activité télomérasique. Normalement, cette activité est réprimée, c-à-d qu'il n'y a pas de synthèse de télomérase ou en très faible quantité, c'est vrai que dans une cellule normale, une cellule somatique des organismes multicellulaires, c'est ce qui provoque le raccourcissement et finalement le vieillissement des cellules. Il existe un certain nombre de pathologies, (le cancer), qui sont liés à une suractivité télomérasique, il y a aussi des maladies du vieillissement et en particulier une maladie qu'on appelle la progéria ? qui est caractérisée par un vieillissement précoce, on a observé au cours de cette pathologie un raccourcissement télomérique qui était excessif, du coup les cellules vieillissaient plus rapidement que dans un organisme non-atteint par cette pathologie, les organes se détérioraient assez vite et évidemment, ils vont se détériorer d'autant plus vite que les cellules qui les constituent vont elles-mêmes mourir par un phénomène de sénescence. Ce n'est pas uniquement dans les maladies du vieillissement qu'on a pu observer cela, on a aussi observé cela dans certains types de pathologies cardio-vasculaires, en particulier chez les hommes. On a pu observer qu'il y avait dans certains types de pathologies cardio-vasculaires, un raccourcissement plus important des télomères et que ce raccourcissement pouvait servir de marqueur comme pathologie cardio-vasculaire. Enfin, dans la plupart des cancers, il y a production de télomérases en grande quantité, en général, ceci se fait à des stades relativement tardifs de la maladie et la cancérogénèse débutant par une érosion relativement importante des télomères.

Cela commence d'abord par une érosion importante, en cours de phénomènes cancéreux, et ce n'est que dans un deuxième temps qu'à ce moment-là, l'activité des enzymes télomérasiques va être augmentée et va provoquer un ré-allongement de ces télomères et provoquer ce qu'on peut observer dans des cellules cancéreuses qui sont des cellules qui se divisent et finalement ne meurent jamais ou très peu. Il existe non seulement des modifications de l'expression de ces télomérases dans certaines pathologies, il peut y avoir, et on a observé des pathologies qui étaient liées cette fois-ci à des mutations dans le gène codant pour les télomérases, une maladie qui est une dyskératose congénitale qui associe une absence de formation des globules rouges et qui se traduit par des anomalies en particulier au niveau des muqueuses de la bouche, des ongles et de la peau qui est

donc dû à essentiellement une mutation dans les gènes codant pour les télomérases. On retrouve des mutations ailleurs, d'autres types de pathologies, en particulier dans certaines fibroses pulmonaires, on a pu observer, avec une fréquence non-négligeable puisque 10 % des fibroses pulmonaires sont dues à des mutations qui sont situées dans le gène codant pour les télomérases. On a vu qu'il existe un des critères de vieillissement cellulaire est le raccourcissement des télomères. On a pu observer, de façon expérimentale que des souris qui sur-expriment une activité télomérasique, donc artificiellement, on provoque une suractivité de ces enzymes chez des souris, des souris transgéniques, on a pu montrer que la durée de vie de ces souris étaient augmentées. Il y a eu un phénomène qu'on n'a pas su expliquer au début : la première brebis mammifère à avoir été clonée (Dolly) est décédée de vieillesse, jeune.

Pourquoi ? Parce que dans le clonage de cette brebis, ils ont au moment du clonage pris un ovule, ils ont retiré le noyau de cet ovule et ont mis à l'intérieur de cet ovule, le noyau d'une cellule qui était une cellule qui venait du sein, une cellule mammaire d'une brebis déjà âgée. Ils ont pris ce noyau d'une cellule somatique de sein, une cellule mammaire, ils l'ont mis dans l'ovule, ils ont bien sûr mis des choses autour de cet ovule pour qu'il se développe, cet ovule a été implanté dans l'utérus d'une autre brebis, le développement a eu lieu avec une information génétique qui était identique à la brebis de donneuse de la cellule mammaire. Il se trouve que cette brebis a subi un développement tout à fait normal, elle est née tout à fait normalement, elle a grandi mais elle est morte jeune avec un certain nombre de caractéristique de brebis âgée.

A l'époque, on n'a pas su pourquoi, ce n'est qu'après qu'on s'est rendu compte qu'en prenant un noyau dans une cellule somatique d'une brebis qui était âgée, ses télomères étaient déjà plus court que dans une cellule œuf qui provient de la fécondation, et donc elle avait déjà des télomères qui étaient raccourcis, ces télomères n'ont fait que se raccourcir et au final, cette brebis qui est née est morte de vieillesse, alors qu'elle n'avait que quelques mois, c'était directement lié à ce raccourcissement des télomères qui avait vieilli tout à fait naturellement dans le noyau de la cellule qui avait été prélevé sur la brebis adulte.

La chromatine

Alors, cette molécule d'ADN dont nous venons de parler, elle est capable de se condenser. D'une manière générale, dans un noyau, les molécules d'ADN sont organisées sous forme de chromatine. A l'intérieur de l'enveloppe nucléaire et en dehors d'une structure dont nous reparlerons qui est le nucléole, on peut distinguer un certain nombre de structure et en particulier, on peut voir les fameuses fibres nucléosomiques.

Ces fibres nucléosomiques dont évidemment des régions plus ou moins condensées, plus ou moins dispersées dans le noyau et correspondent à des degrés d'empaquetage de l'ADN qui est évidemment différent. On peut les isoler ces fibres contenues dans l'enveloppe nucléaire par centrifugation. Il faut préalablement solubiliser l'enveloppe nucléaire, mais une fois qu'on la solubilisée, on se débarrasse des membranes qui la constituent et on récupère le matériel génétique sous forme de fibres.

Et on peut ainsi assez facilement étudier à la fois la composition mais aussi les interactions de l'ADN avec un certain nombre de protéines. On s'est rendu compte que dans un noyau, il y avait de

très nombreuses protéines et on estime qu'environ la moitié des protéines que l'on retrouve dans le noyau sont associées à l'ADN et que ce sont des histones. Evidemment, il y a un large excès de protéines, on estime qu'il y a deux fois plus de protéines que d'ADN dans un noyau.

L'essentiel du génome dans un noyau de cellules eucaryotes, plus de 80% d'ailleurs est empaqueté dans ces fameuses structures fibrillaires. Toutes ces fibres vont constituer ce qu'on appelle la chromatine. Chromatine et fibres, toutes ces fibres ne vont pas présenter la même accessibilité en particulier aux machineries de réplication et de transcription mais aussi aux enzymes qui peuvent être les cellulases ?1 :20 :11 donc il va y avoir des modifications des structures, des interactions des molécules d'ADN avec les protéines qui leur sont associées, et en particulier aux moments de phénomènes majeurs comme la réplication et la transcription.

D'une manière générale, la chromatine est constituée par des molécules d'ADN qui sont organisées fibres nucléosomiques plus ou moins condensées. En générale, cette chromatine se répartit dans l'ensemble du nucléoplasme, généralement, plutôt en périphérie du noyau et plutôt côté enveloppe nucléaire. La chromatine a en général le même aspect dans les noyaux des cellules appartenant au même type cellulaire. Par contre, cela varie énormément d'un type cellulaire à un autre et cela peut varier en fonction de l'état d'activité de la cellule et en particulier si elle est cours de division. Ce qui veut dire que l'aspect de la chromatine est différent dans les cellules.

Les chromatines peuvent prendre plusieurs formes, soit sous forme de motte assez volumineuses, soit sous la forme de mottes de petite taille et qui sont réparties un peu partout dans le nucléoplasme. On peut aussi avoir de la chromatine sous forme de granulation extrêmement fine dans les noyaux ou encore, suivant les interactions que peuvent avoir ces protéines avec les molécules d'ADN, sous forme de réseaux, sous forme de mailles qui sont plus ou moins fines. Cette différence d'aspect de la chromatine est due à la présence de facteurs qui sont des facteurs d'assemblage de la chromatine, en particulier il existe des molécules de type chaperonne qui vont faciliter la formation de la particule nucléosomale sans qu'elle fasse partie du nucléosome qui n'est constitué que d'histones. Il est évident que dans le nucléosome, il y ait des histones mais pour la fabrication de ces nucléosomes, vont intervenir des facteurs extérieurs qui sont en particulier ce qu'on appelle des protéines chaperonnes.

Il y a parmi certains facteurs qu'on peut trouver, des facteurs d'assemblage de la chromatine comme le facteur FAC1 ou CAF1 pour Chromatine Assemblage Factor de type 1, qui est capable d'interagir avec les histones, en particulier H1 et H4 lorsqu'elles sont acétylées pour former une molécule un peu plus complexe, et ceci est extrêmement important pour l'organisation de la chromatine. Alors il y existe des facteurs de remodelage, des enzymes qui vont soit permettre aux histones de se lier les unes avec les autres soit même les facteurs qui vont modifier les histones elles-mêmes. Cela veut dire que dans le noyau, il existe un certain nombre de facteur susceptibles de modifier les histones pour permettre d'intervenir sur différentes étapes de la maturation de la chromatine et de permettre aussi de maintenir une certaine intégrité à la chromatine. Parmi les différents facteurs, on en distingue en réalité deux grandes familles, des facteurs qui nécessitent de l'énergie pour fonctionner, en particulier qui nécessitent de l'ATP, ce sont des facteurs dits de remodelage de la chromatine qui vont être constitués par des complexes qui sont constitués de plusieurs protéines donc des complexes multi-protéique. Et d'autre part, il existe des enzymes qui sont capables de modifier de façon post-traductionnelle des histones, c'est le cas de deux enzymes

en particulier qui sont l'enzyme HAT pour Histone AcétylTransférase et l'autre enzyme qui est l'HDAC pour Histone DésAcylase. Donc il y a d'une part des facteurs qui nécessitent de l'ATP qui vont intervenir sur le remodelage de la chromatine et d'autre part, des enzymes qui vont être capables de modifier les histones elles-mêmes comme la molécule HAT et la molécule HDAC.

Évidemment, l'aspect de la chromatine va évidemment varier avec la nature de la cellule, le type cellulaire mais évidemment au cours de la vie de la cellule va être modifiée en fonction de son activité. Si la cellule a besoin de faire beaucoup de transcription, elle va avoir tendance à avoir une chromatine qui va être sous forme décondensée, en tout cas au maximum décondensé pour permettre les phénomènes de transcription. À l'inverse, une cellule qui serait au repos et qui n'aurait pas besoin de beaucoup de transcription, va elle, plutôt, grâce à ses différents facteurs, maintenir une chromatine qui est plutôt sous forme condensée. D'une manière générale, lorsque la cellule est au repos, la chromatine est compactée et tout simplement pour maintenir une quantité d'ADN importante dans la cellule.

Alors, le compactage de la chromatine présente un autre intérêt qui est lui-même d'empêcher la transcription. C-à-d que le fait que des enzymes sont susceptibles de compacter fortement la chromatine va abouti à empêcher la transcription en bloquant l'accessibilité aux facteurs de transcription qui vont favoriser les phénomènes de transcription. Ces enzymes, en particulier les HAT et les molécules de type HDAC vont être capables d'intervenir sur la compaction, forcer la compaction de la chromatine et ceci va empêcher les facteurs de transcription d'intervenir. Ça a un rôle fondamental dans la régulation. On le verra dans la transcription, il y a des facteurs qui favorisent la transcription, d'autres qui sont des facteurs qui auront tendance à réprimer la transcription mais il y a aussi un autre phénomène qui régule la transcription et qui est tout aussi important, c'est justement le degré de compaction de la chromatine qui lui est dû à des enzymes qui n'ont évidemment rien à voir avec la transcription elle-même mais qui ont un rôle sur l'organisation de la chromatine.

Source

<https://www.ebiologie.fr/cours/s/128/structure-de-l-adn>