

2022-2023

V.2024.1

# Biologie Moléculaire des Génomes

## Organisation, Maintien et Expression

### L3

Cours	Enseignant
Réplication & topologie (4h)	C Vélot
Stabilité / dynamique des génomes (2h)	D Gautheret
<b>Régulations transcriptionnelles (3h)</b>	"
Régulation par l'épissage (2h)	"
Traduction et NMD (3h)	"
Régulation par les ARN (2h)	"

# Régulations transcriptionnelles



(c) Daniel Kronauer

(Même génome)

From Daniel J. C. Kronauer: « Army Ants: Nature's Ultimate Social Hunters »  
(fourmis légionnaires)

# Régulations transcriptionnelles

## 1. Rappels L2

- ARN-Polymérase / complexes d'initiation
- Opéron lactose

## 2. Régulations eucaryotes

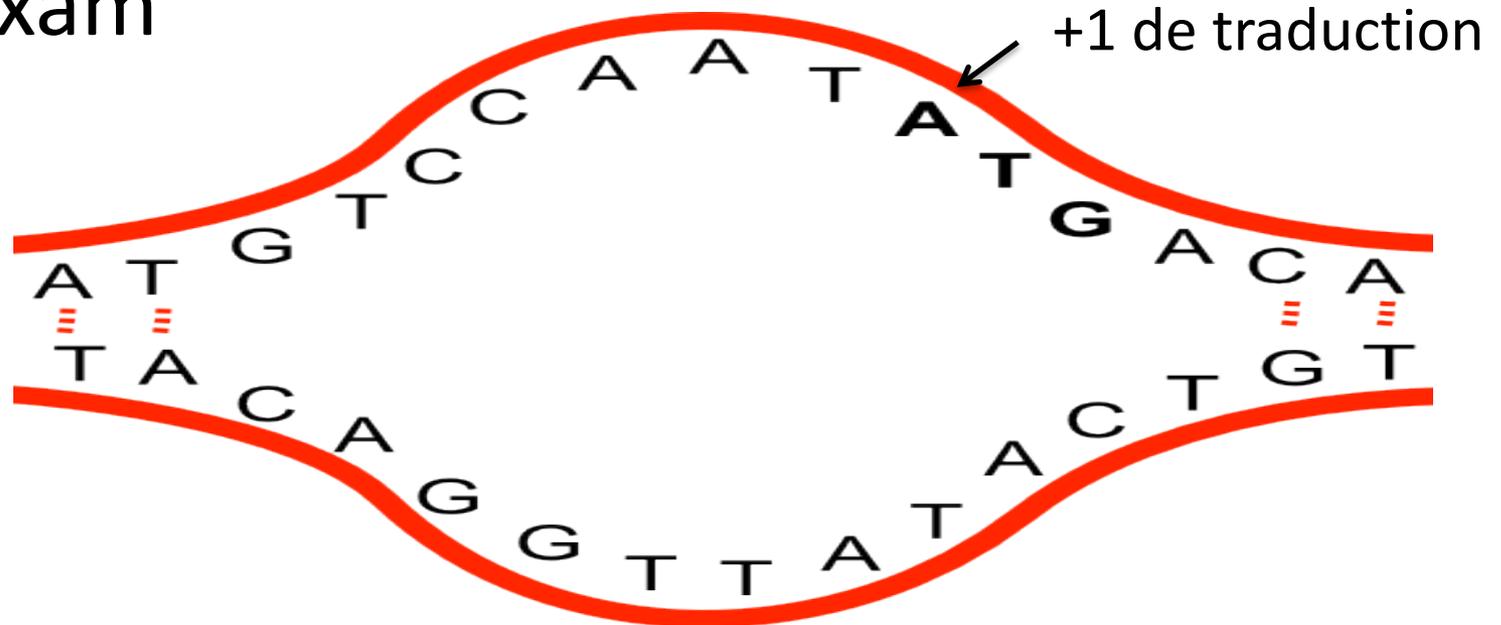
- Activateurs, represseurs, enhancers (Ex: Gal4)
- Signalisation
- Régulations chromatinienne / épigénétique

# 1. Rappels L2

- ARN polymérase et complexes d'initiation

# Sujet exam

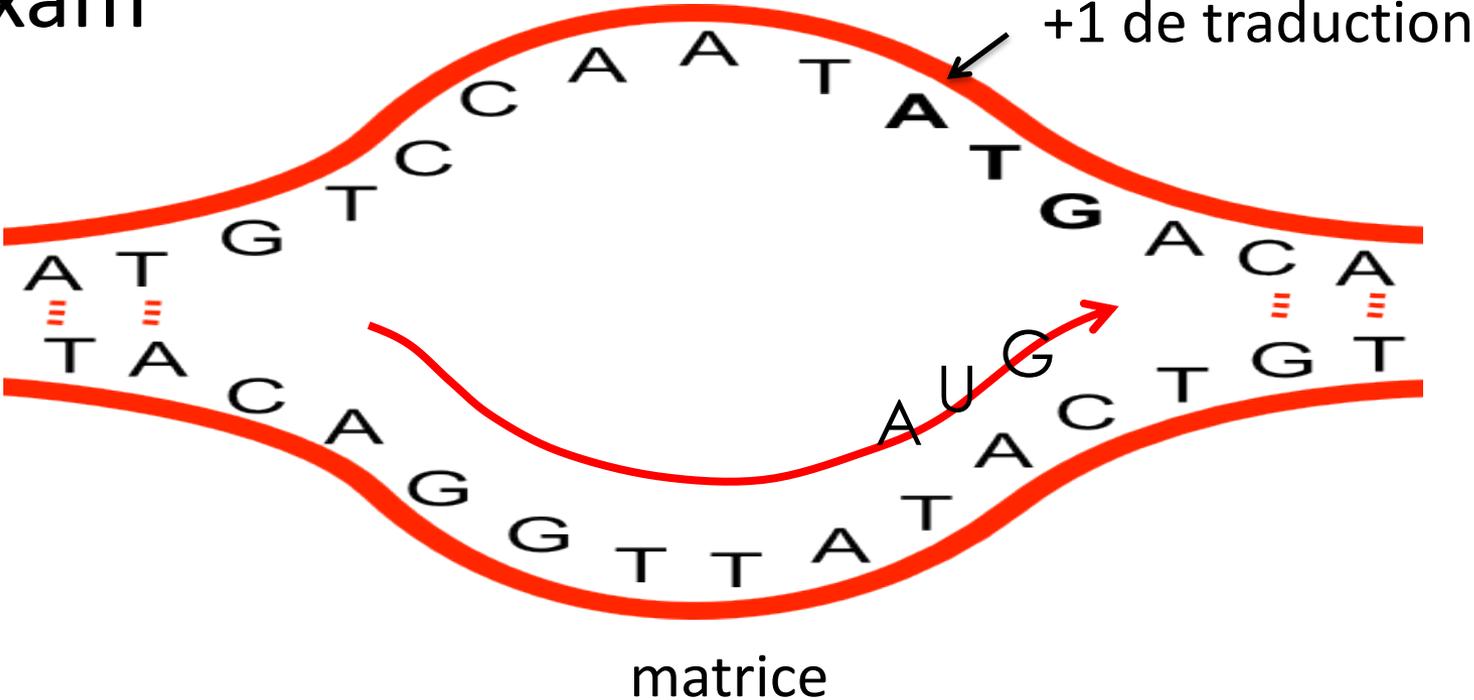
## L2



- Notez sur le dessin les extrémités 5' et 3' et le sens de chaque brin.
- Indiquez le brin « matrice »
- Dessinez un brin d'ARN transcrit occupant toute la partie non-appariée de la bulle, en donnant sa séquence.
- Indiquez les extrémités 5' et 3' de l'ARN et le sens de transcription.

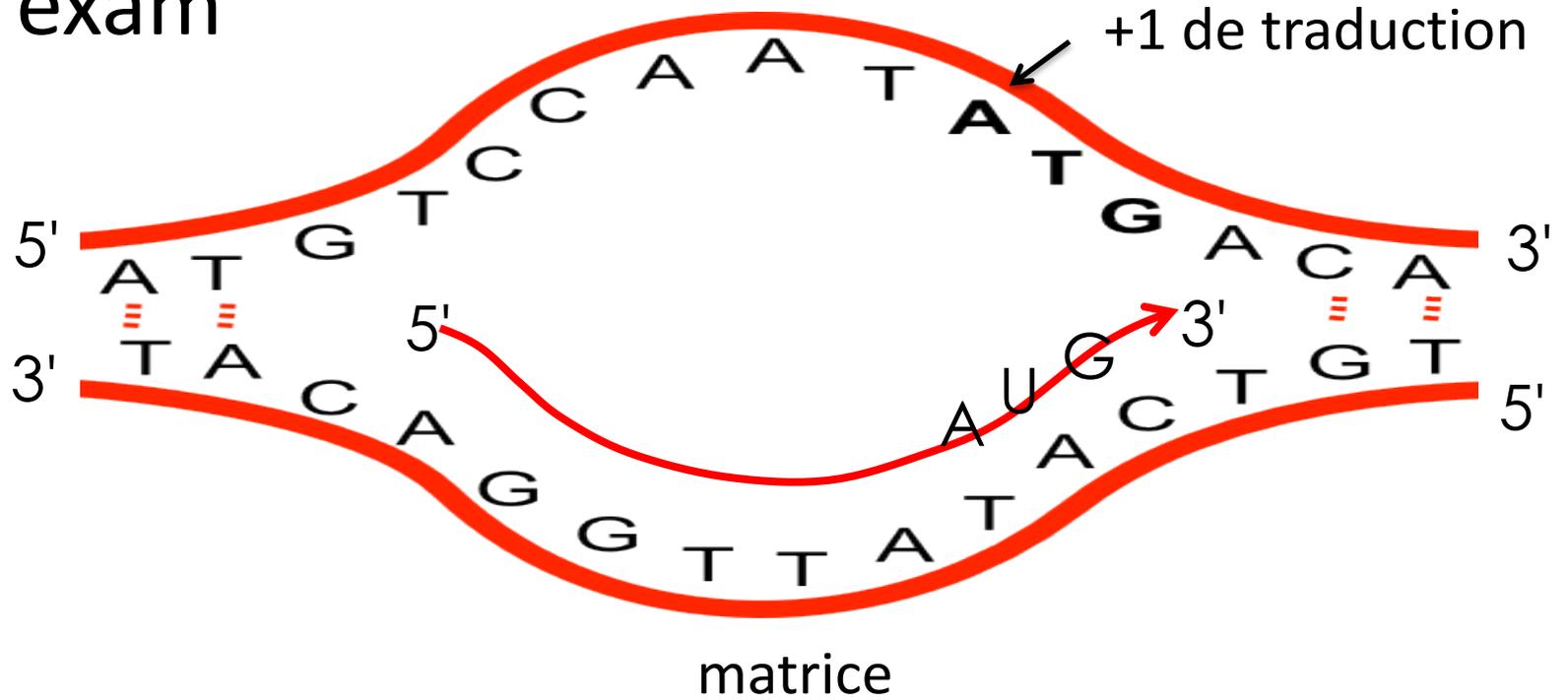
# Sujet exam

## L2

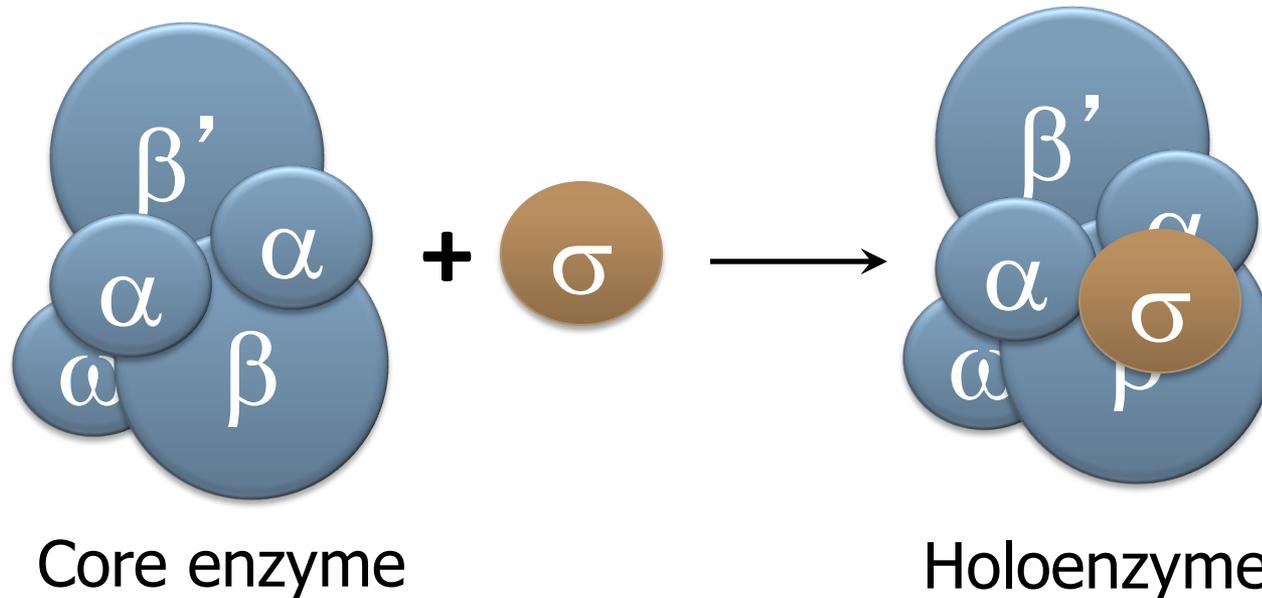


# Sujet exam

## L2



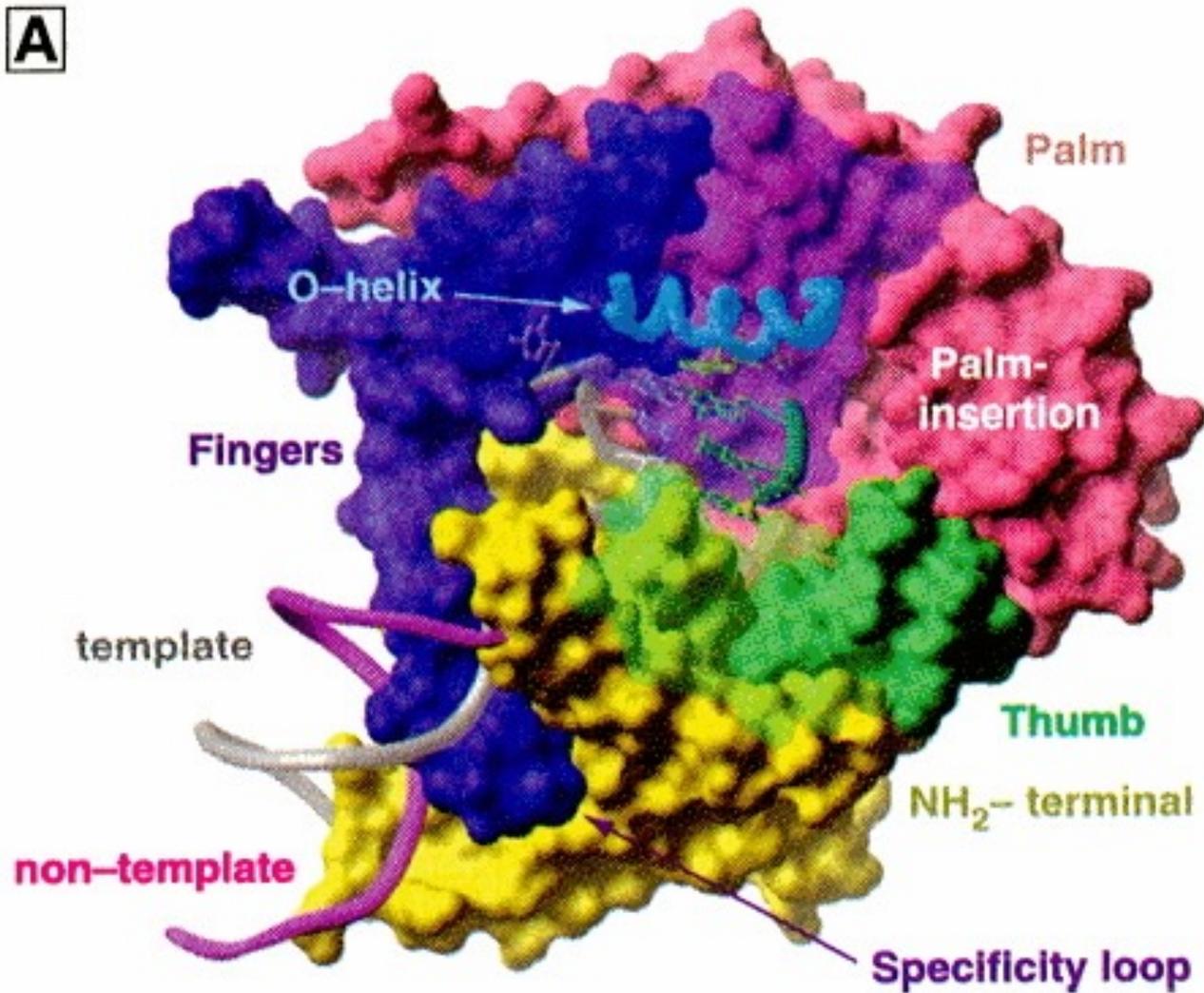
# Structure de l'ARN polymérase d'*E. coli*



	7000 molécules/cellule		
Principal (Core)	alpha	rpoA	36500 assemblage+interaction avec regulateurs
	beta	rpoB	151000 site catalytique
	beta'	rpoC	155000 site catalytique
Complet (Holo)	omega	rpoZ	11000 assemblage du core
	sigma	rpoD	70000 interaction avec promoteur

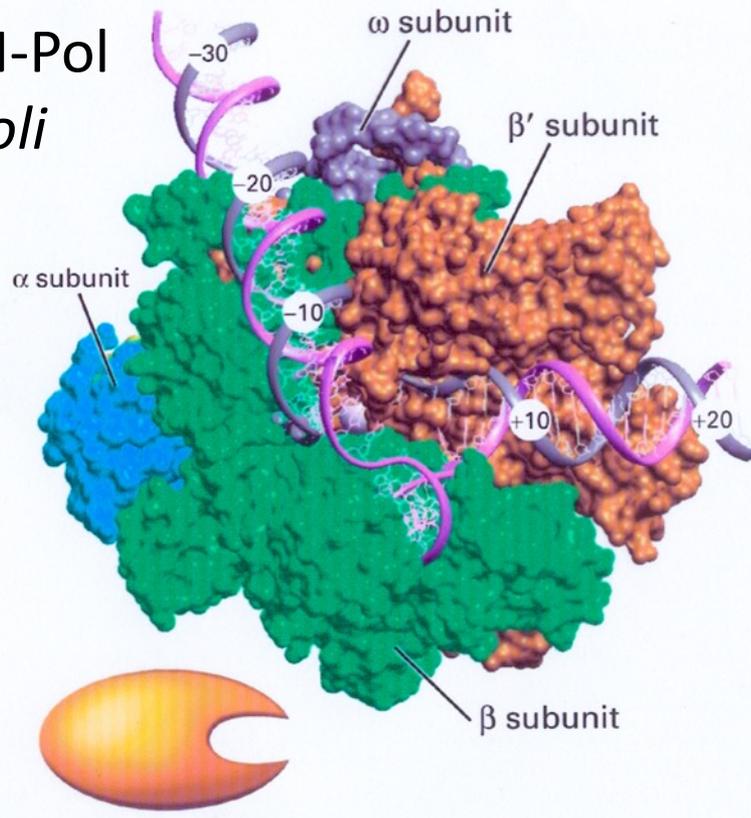
# La structure de l'ARN polymérase du phage T7

**A**

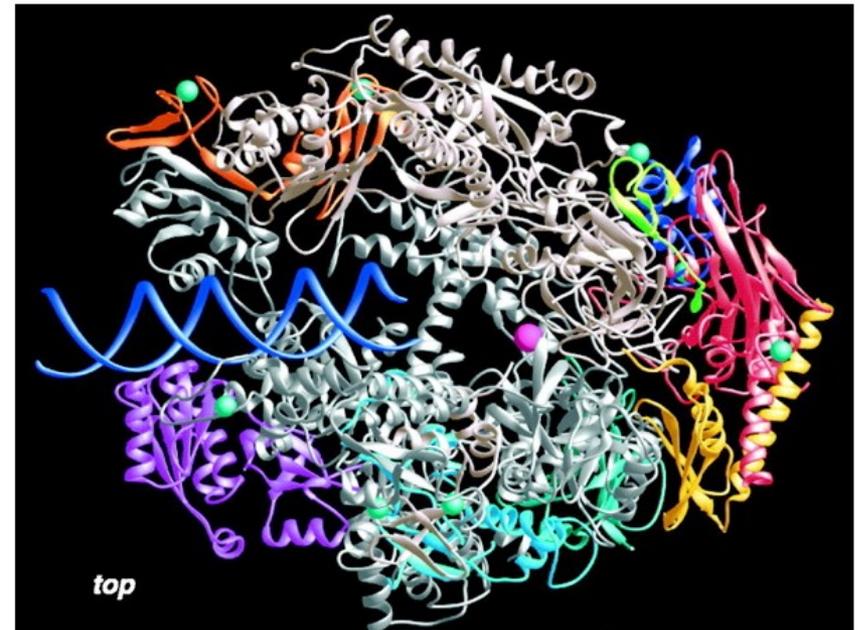


# Structure de l'ARN polymérase bactérienne et de l'ARN polymérase II de la levure *S. cerevisiae*

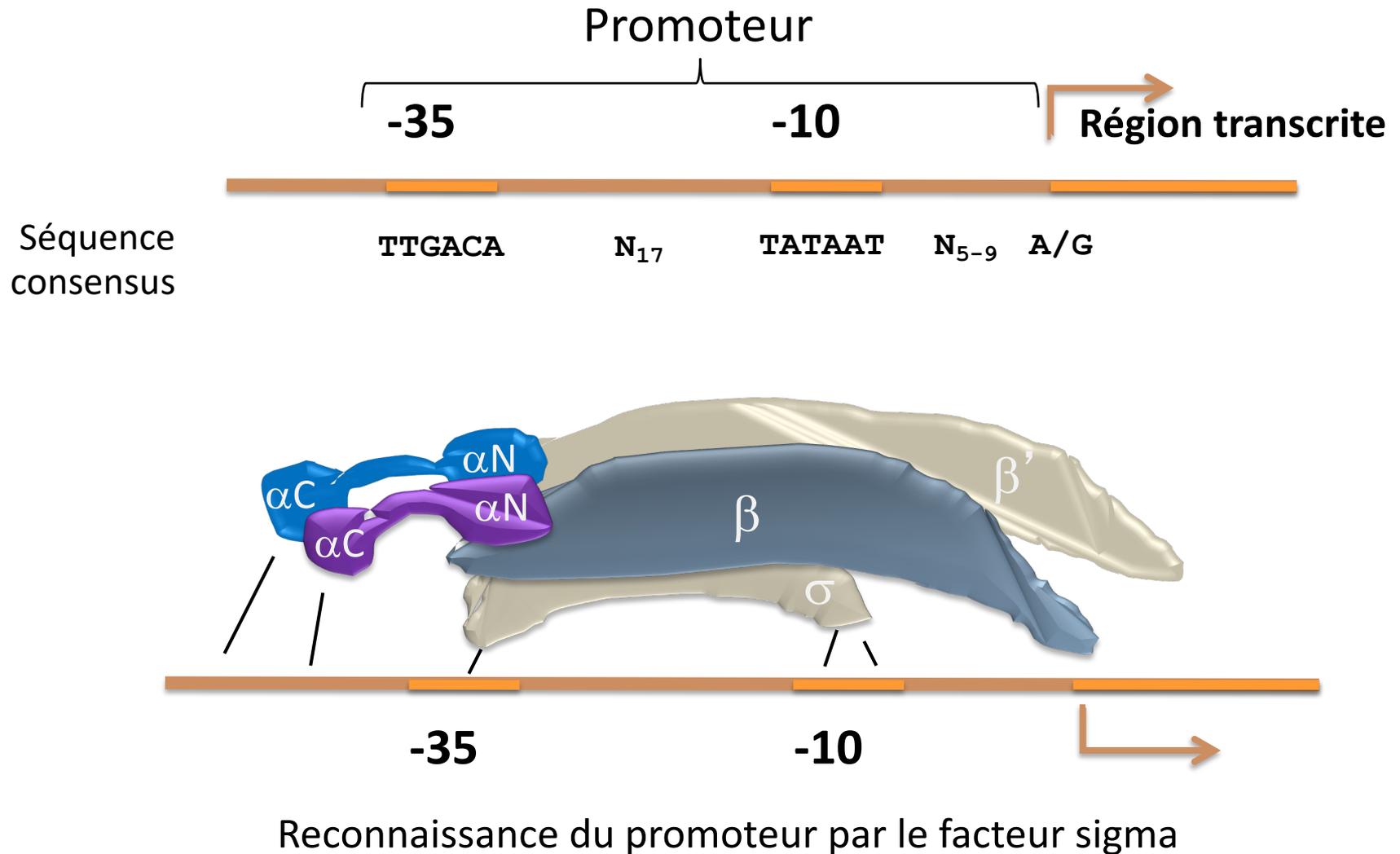
ARN-Pol  
*E. coli*



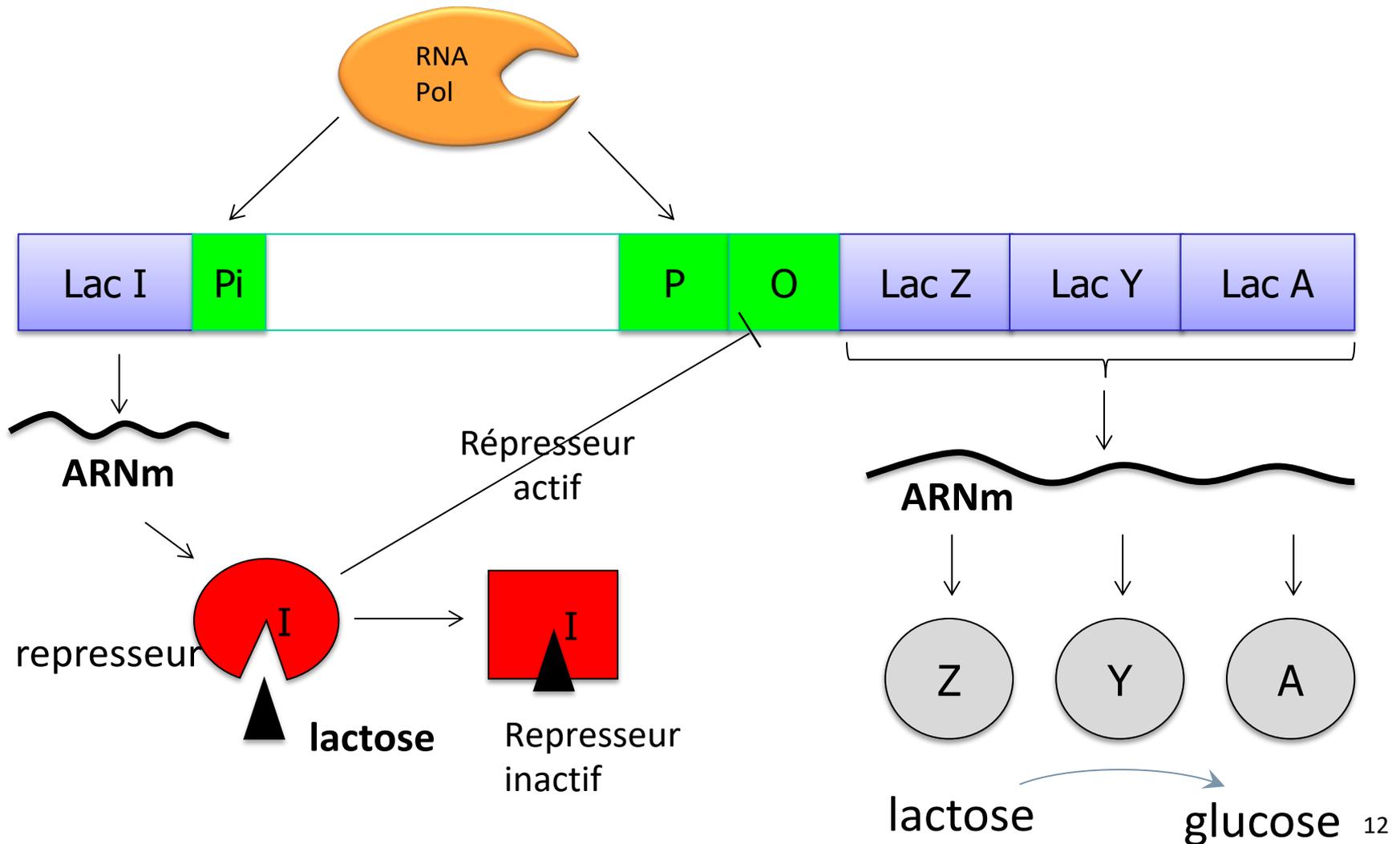
ARN-PolII  
*S. cerevisiae*



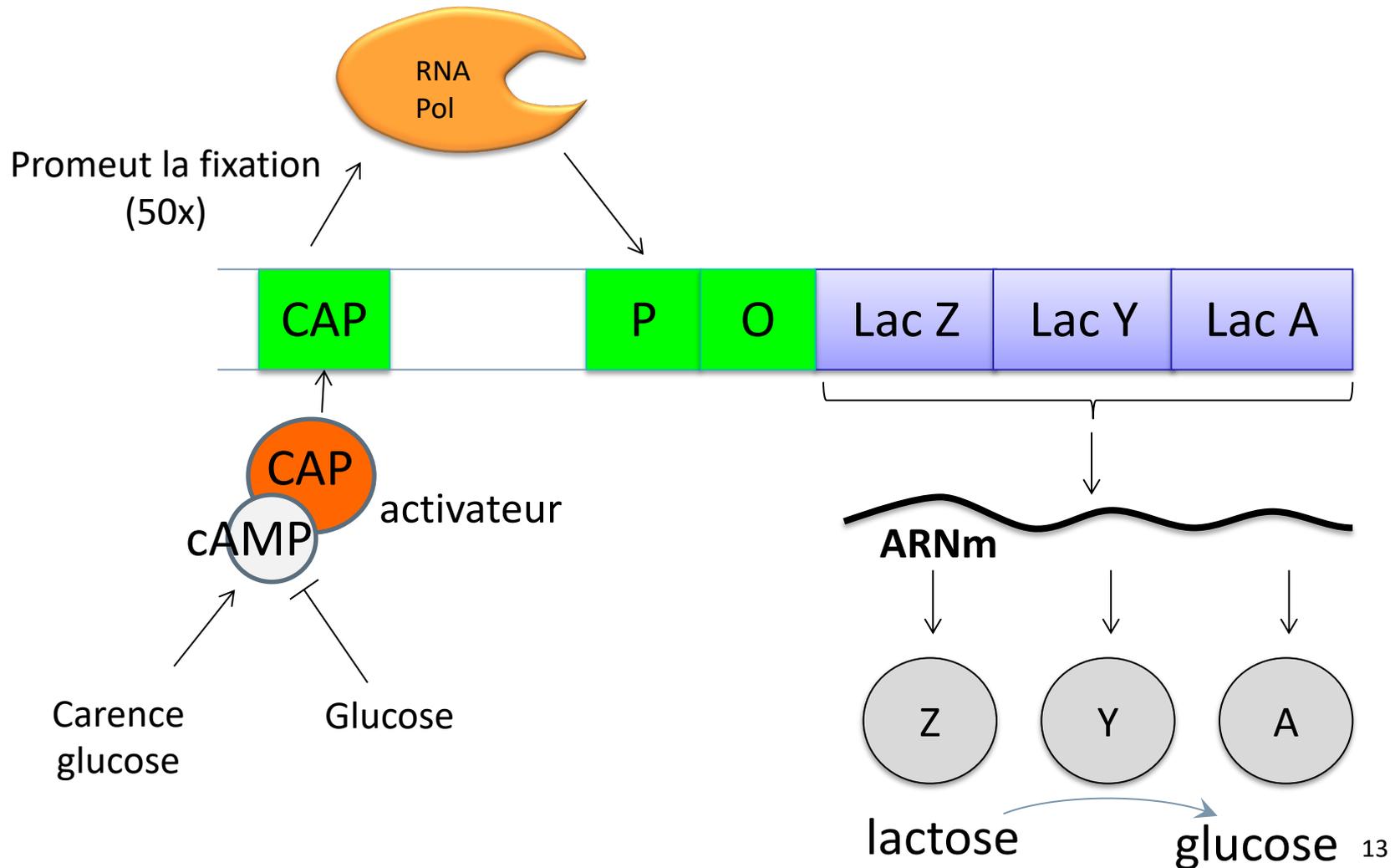
# Fixation de l'ARN-polymérase bactérienne sur une séquence promotrice



# L'opéron lactose: régulation négative en absence de lactose



# La régulation catabolique: régulation positive en absence de glucose

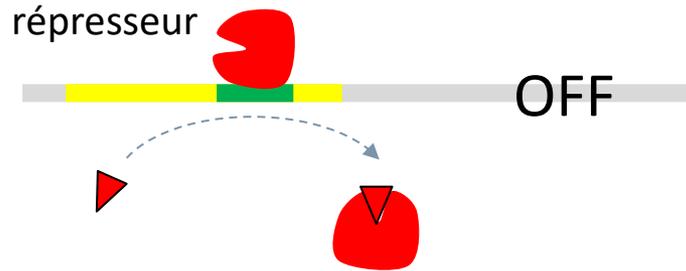


# 2 facteurs = 4 Schémas de régulation

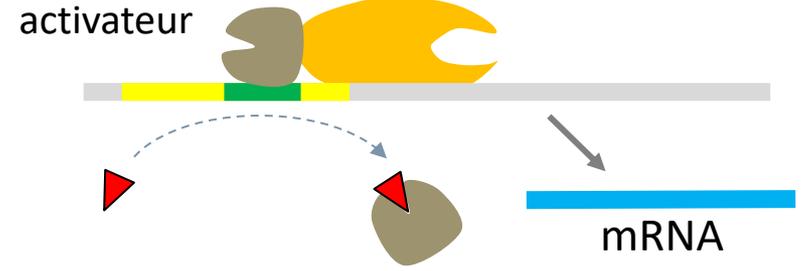
## Régulation négative

## Régulation positive

Le ligand décroche le facteur



En présence de ligand: gène allumé



En présence de ligand: gène éteint

Le ligand permet au facteur de se lier



En absence de ligand: gène allumé

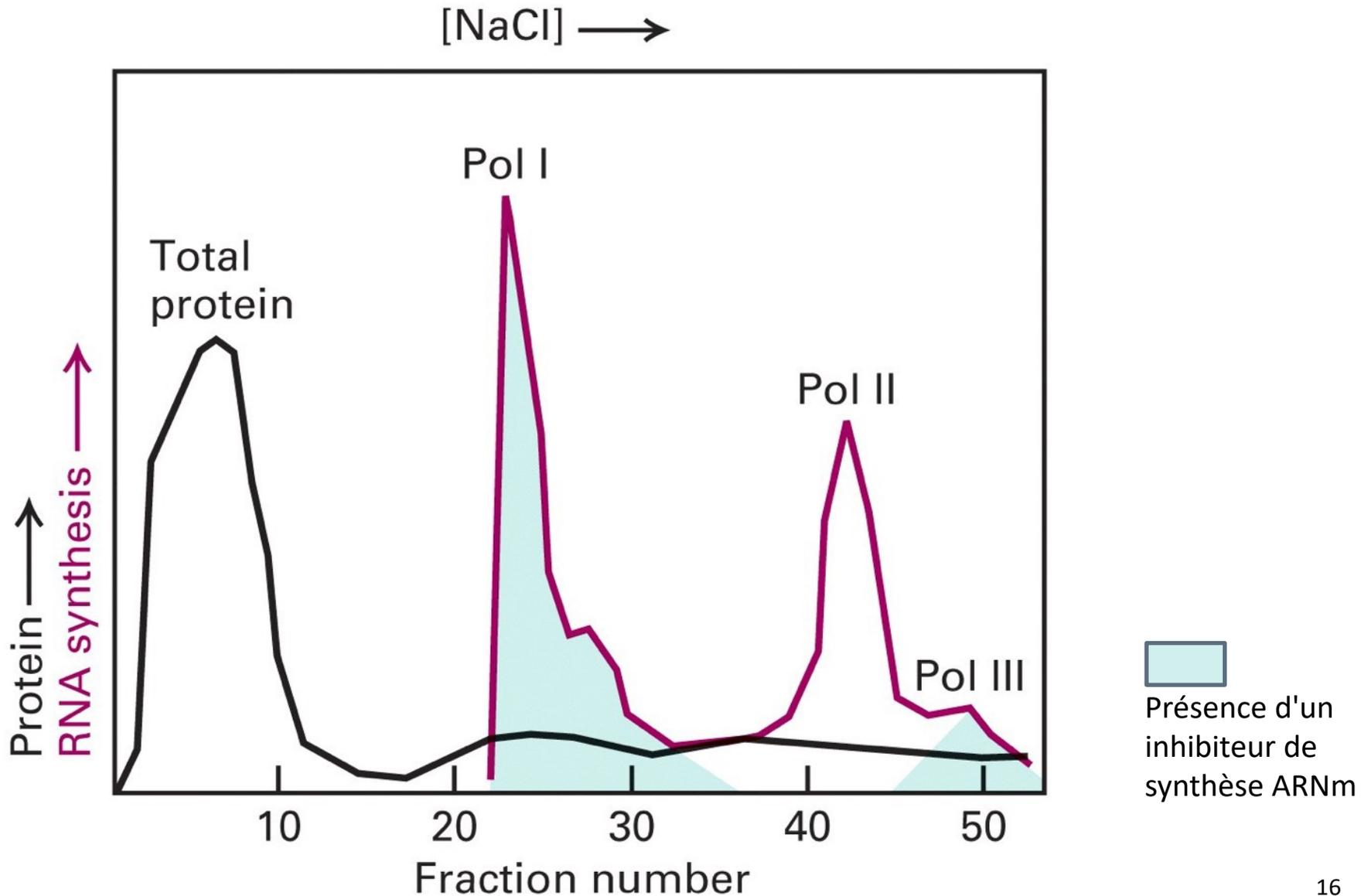


En absence de ligand: gène éteint

# 2. La régulation transcriptionnelle eucaryote

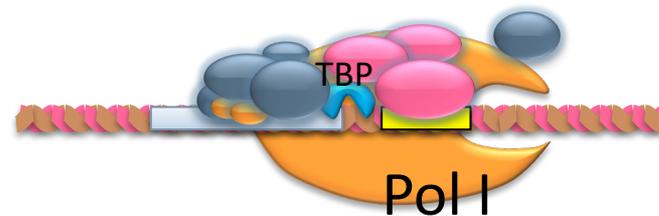
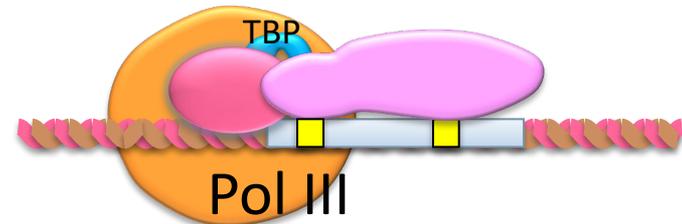
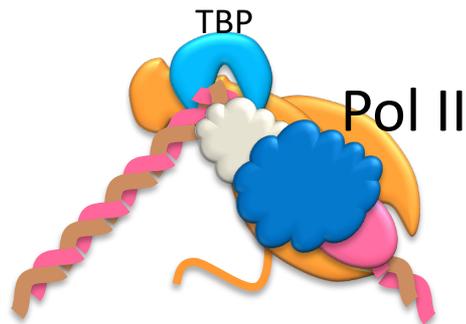
- 3 polymérase ARN
- Stratégies plus complexes que chez les procaryotes
  - Multiples activateurs / répresseurs à 2 domaines
  - Transport des protéines du cytoplasme vers le noyau
  - Modification/activation des protéines
  - ADN non nu: structure de la chromatine importante

# Les 3 ARN polymérase eucaryotes

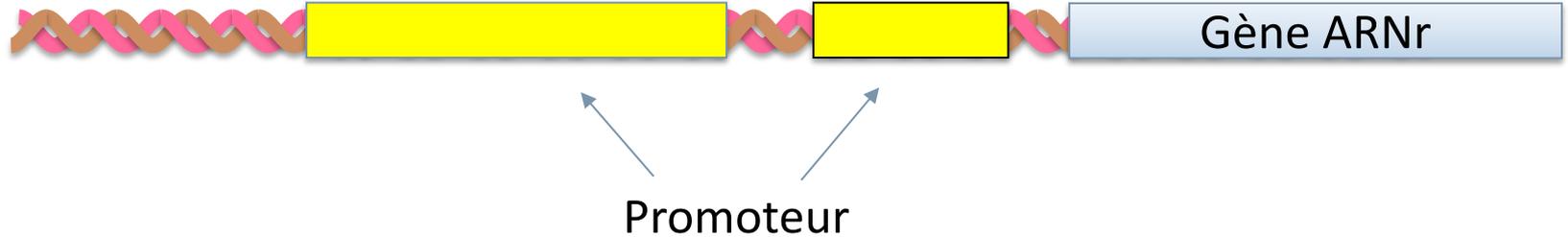


# Reconnaissance du promoteur chez les eucaryotes

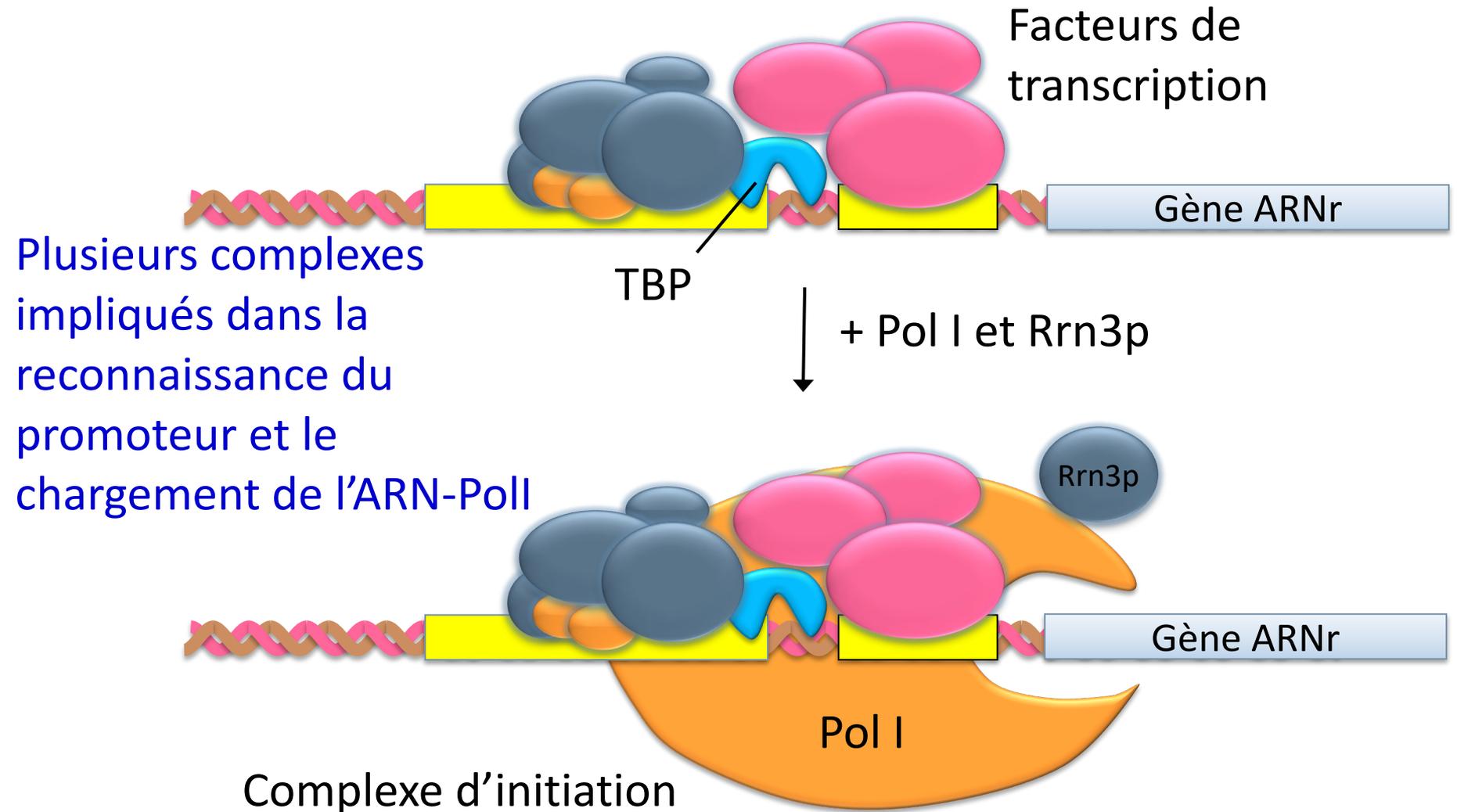
- Pas de recrutement direct de l'ARN polymérase sur le promoteur
- Reconnaissance des promoteurs par des facteurs de transcription



# Cas de l'ARN Polymérase I (synthèse des ARN ribosomiques)

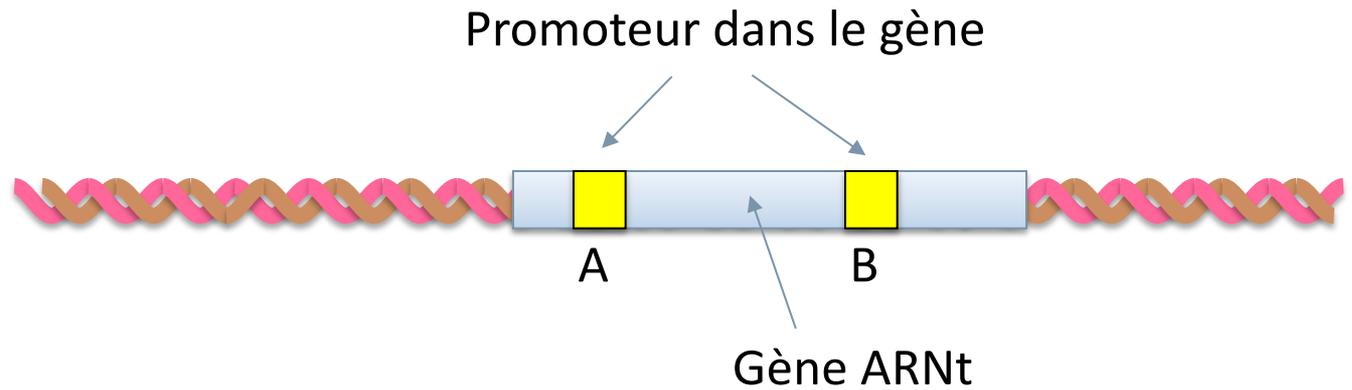


# Cas de l'ARN Polymérase I (synthèse des ARN ribosomiques)

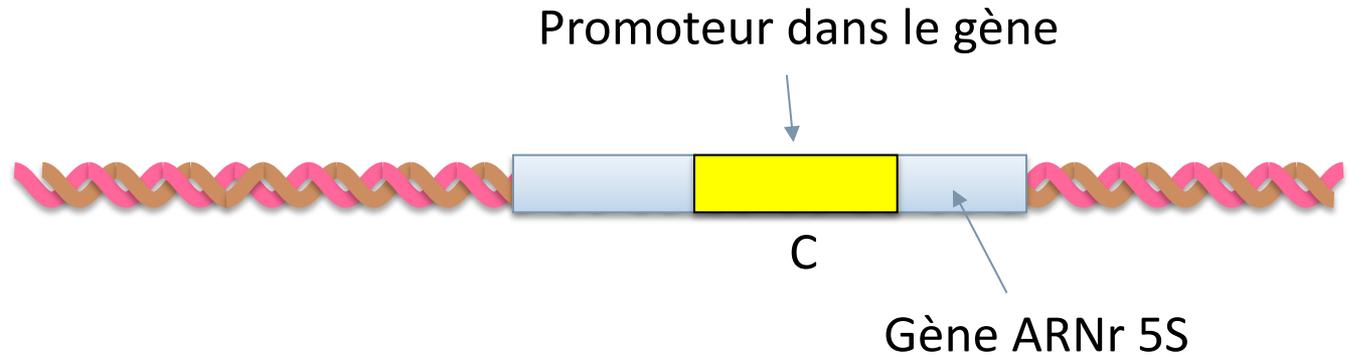


# Cas de l'ARN Polymérase III (synthèse des petits ARN: ARNt, ARN 5S,...)

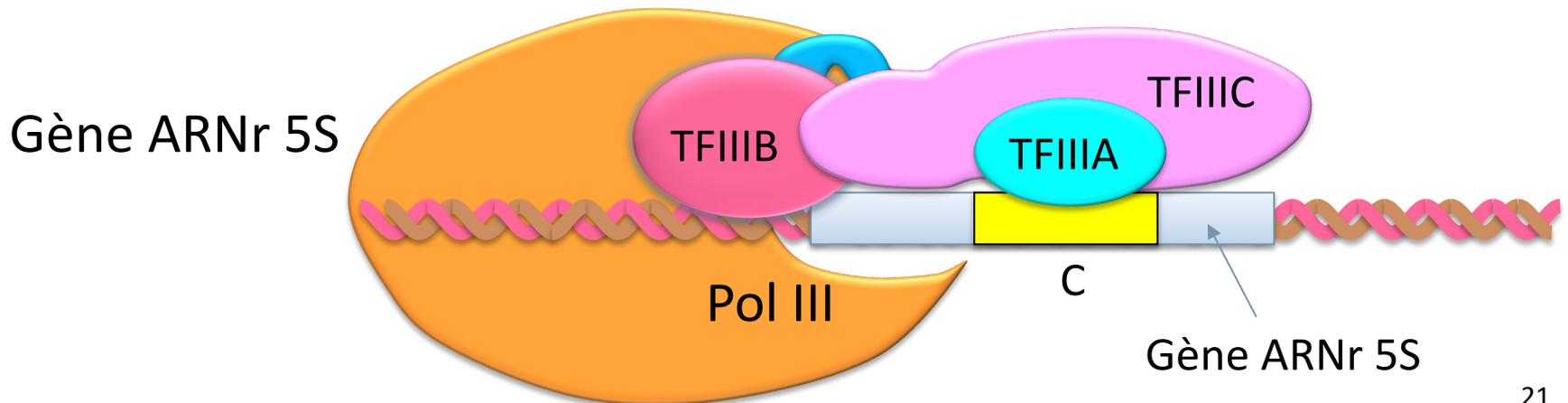
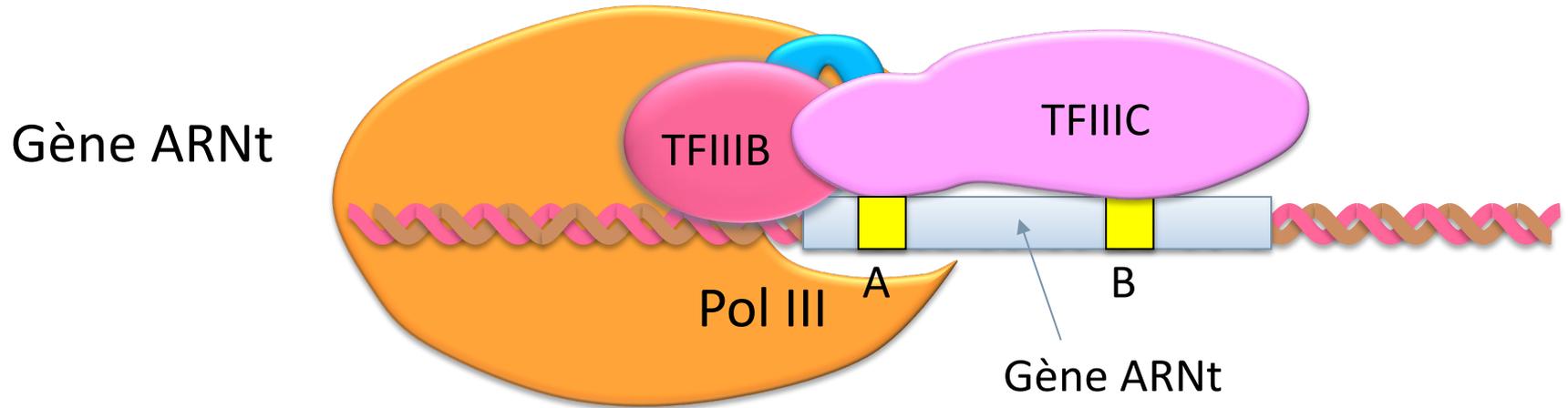
Gène ARNt



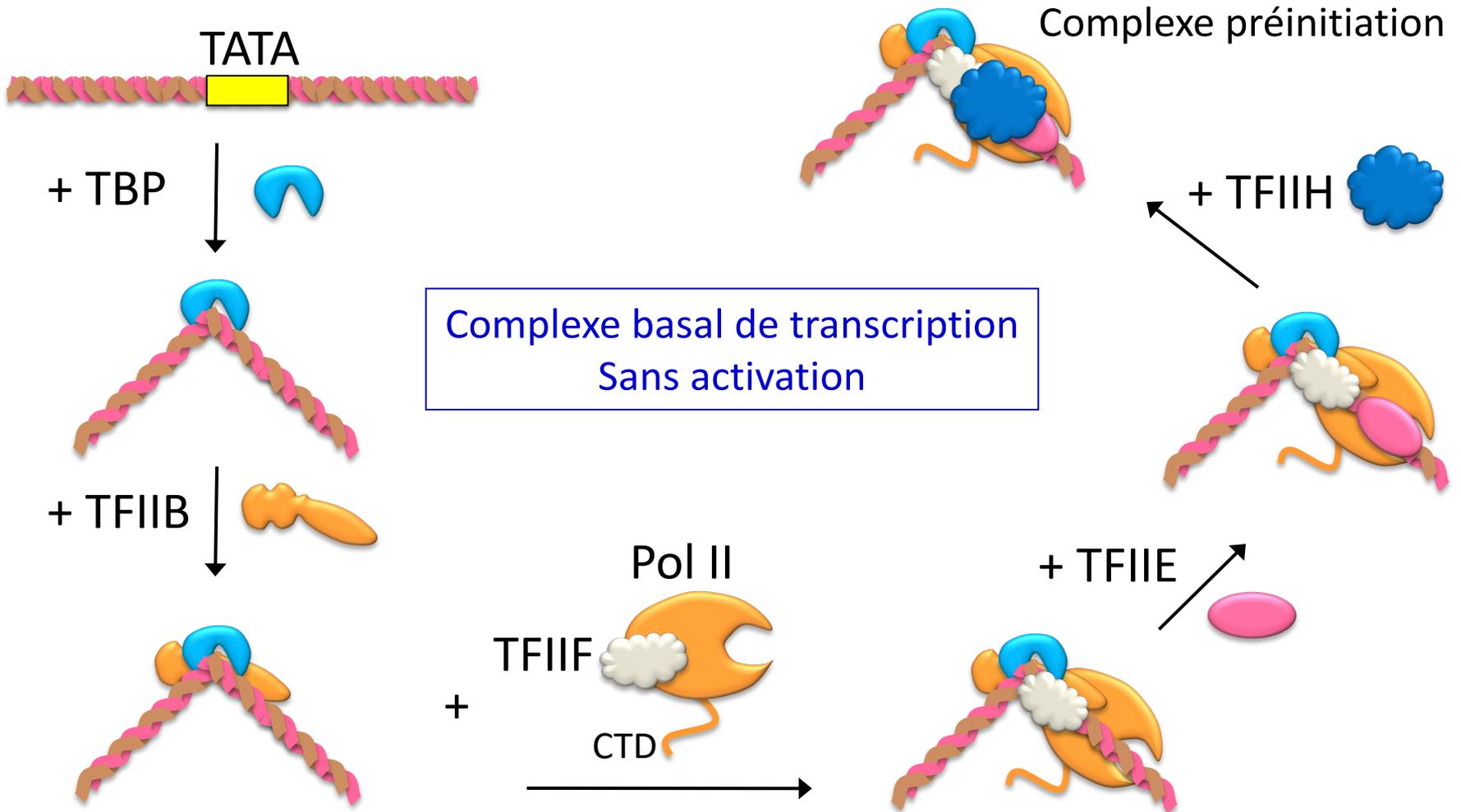
Gène ARNr 5S



# Cas de l'ARN Polymérase III (synthèse des petits ARN: ARNt, ARN 5S,...)



# Cas de l'ARN polymérase II (synthèse des mRNA)

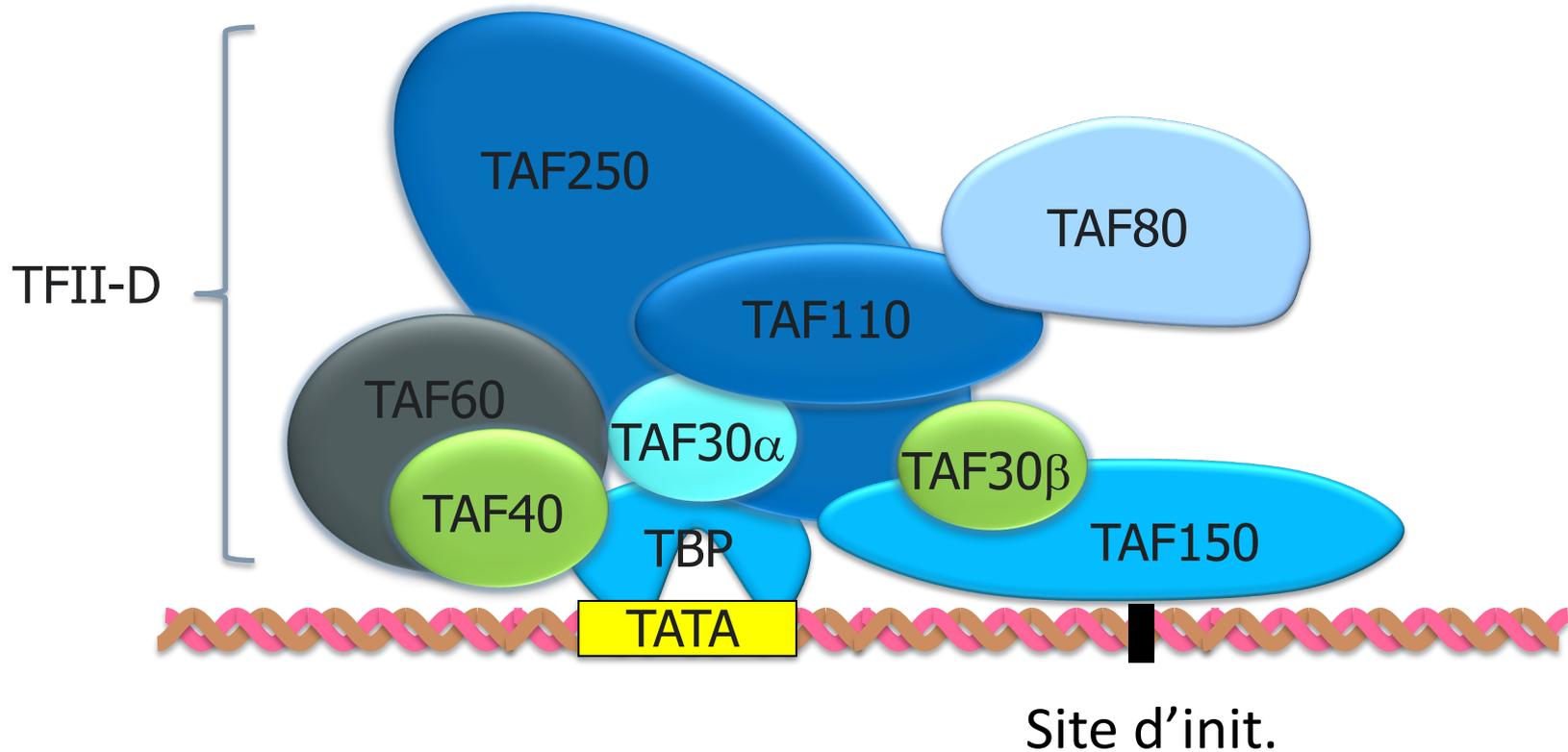


# activateurs, répresseurs, enhancers chez les eucaryotes

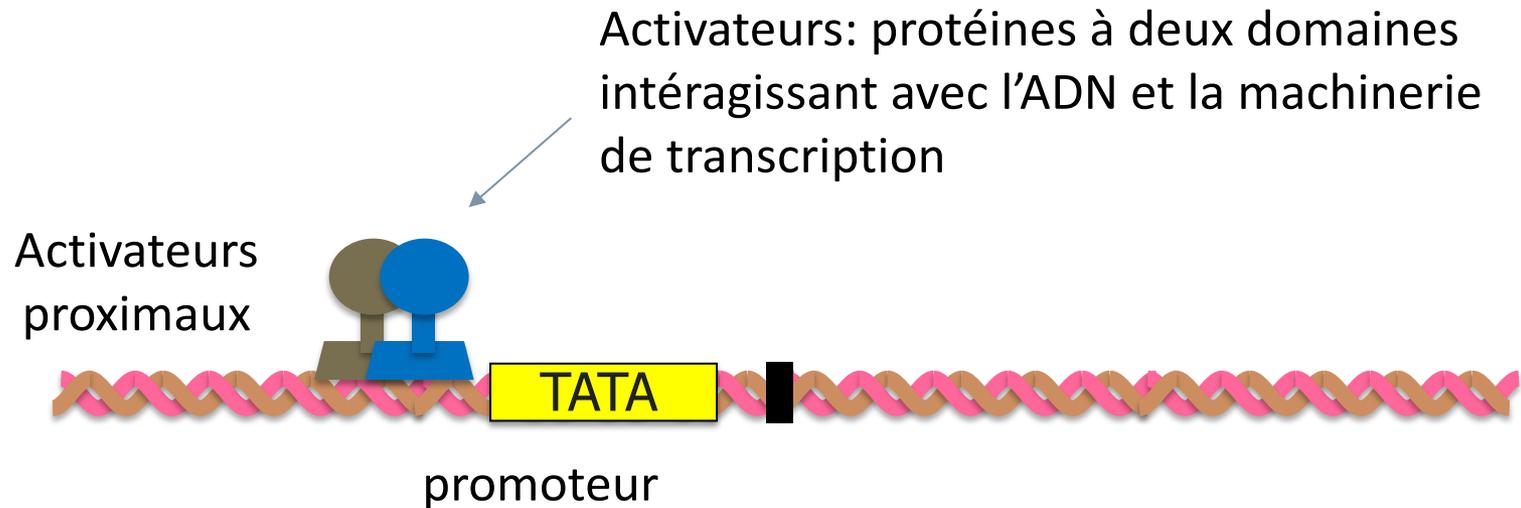
Voir TD7 nirA  
et annales

# Le complexe TFII-D: TBP ne se fixe pas seul!

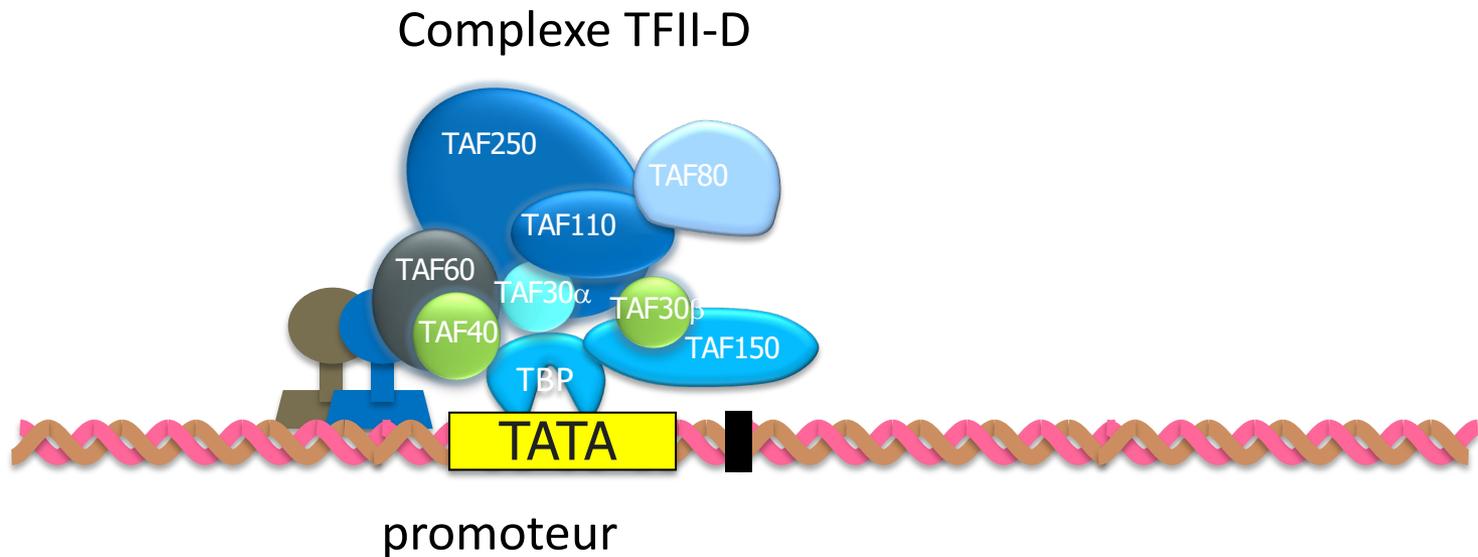
TAF: TBP Associated Factor



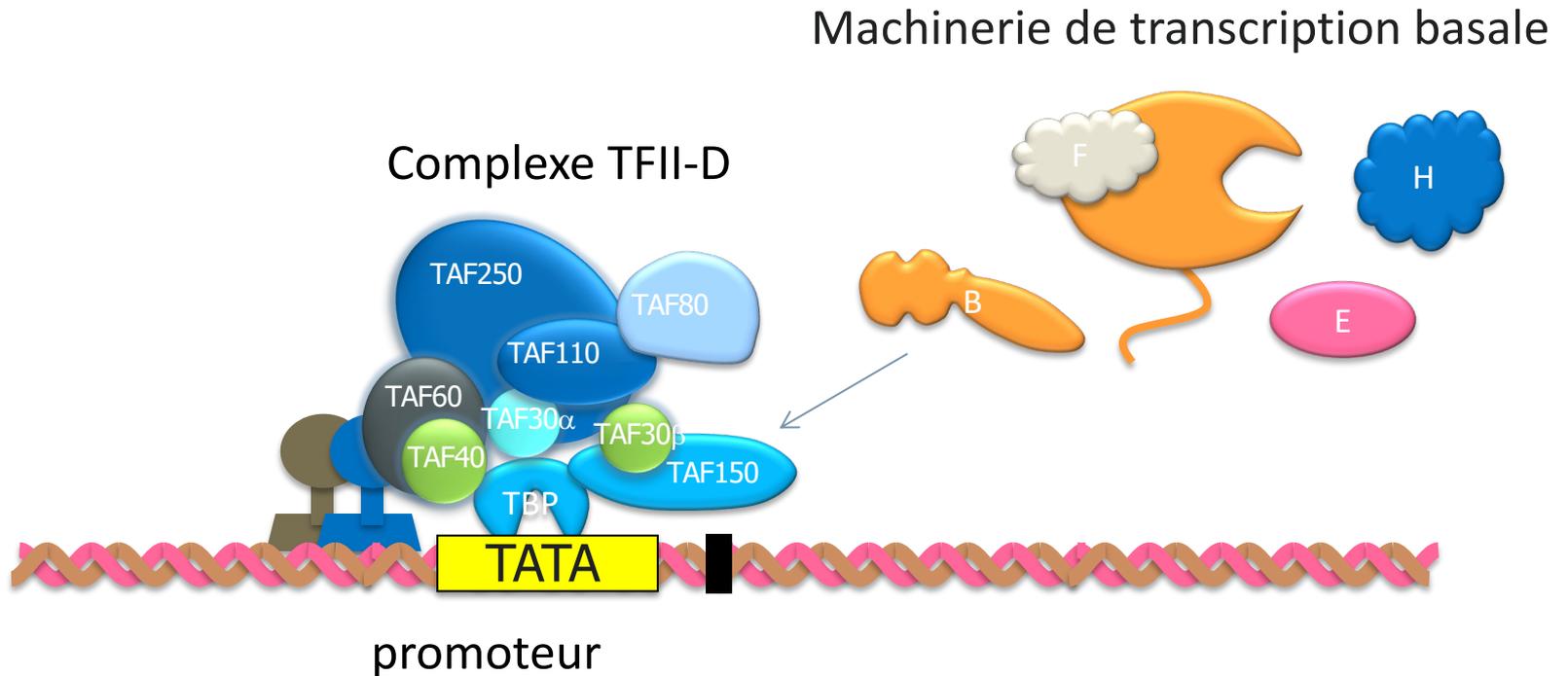
# Des activateurs de transcription reconnaissent des séquences du promoteur



# La présence d'activateurs est nécessaire pour le positionnement de TBP, via TFII-D

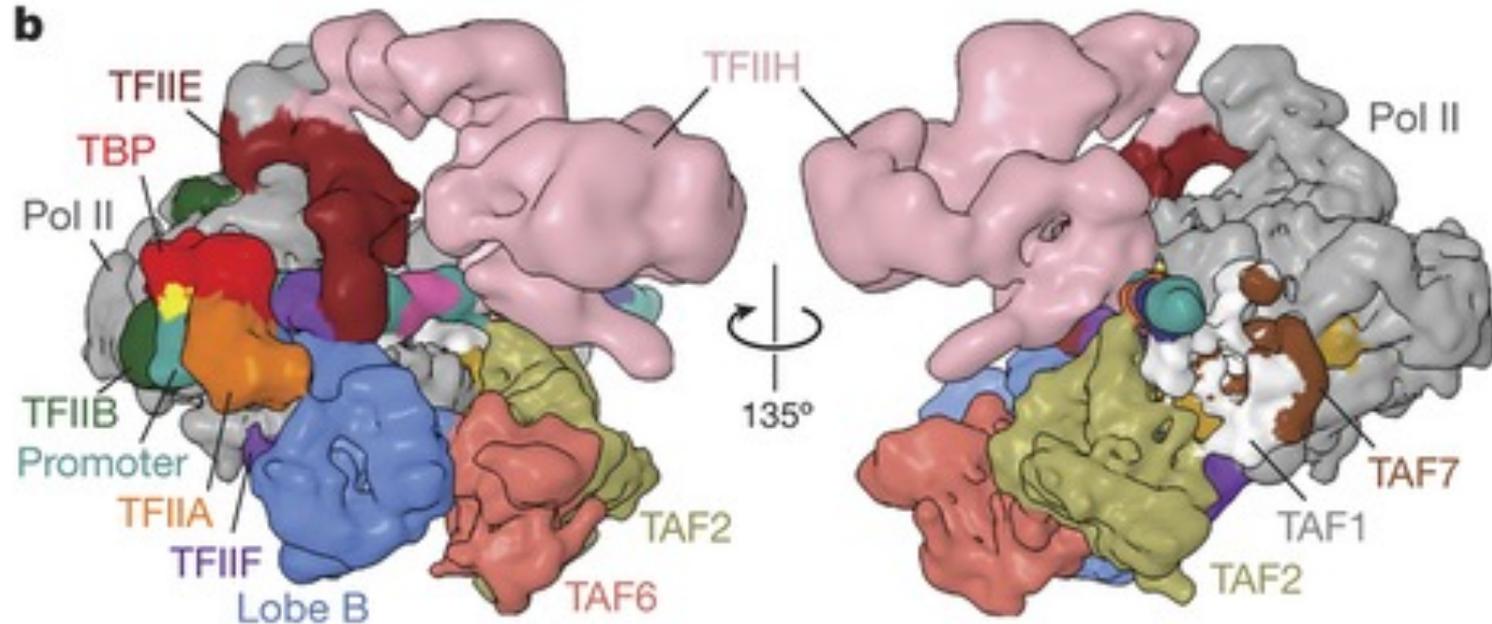


# TFII-D est nécessaire in vivo à l'activation de la transcription par l'ARN polymérase II



# Le PIC en cryo-microscopie (2016)

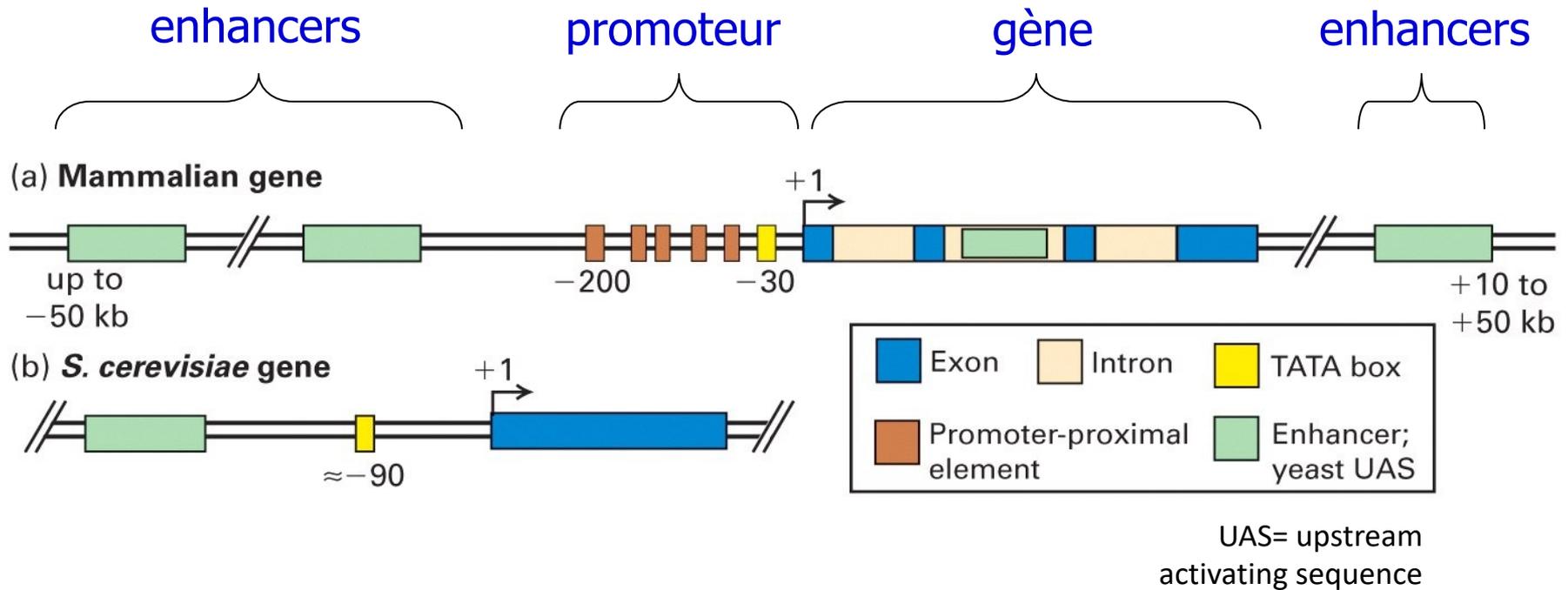
TFIID humain complexé aux autres TFII et l'ADN du promoteur



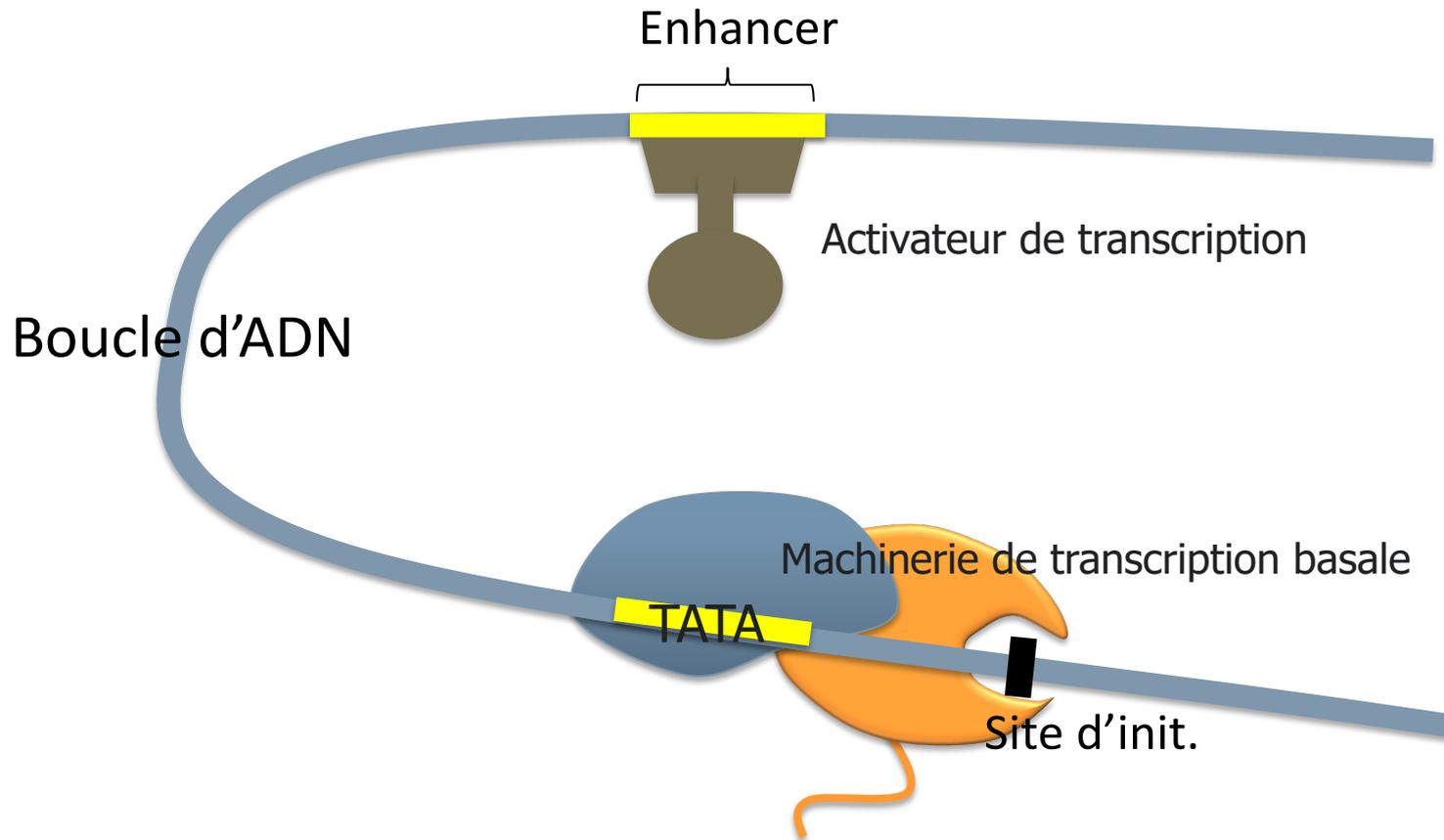
R K Louder *et al.* *Nature* 1–6 (2016) doi:10.1038/nature17394

# Proximal vs. Distal

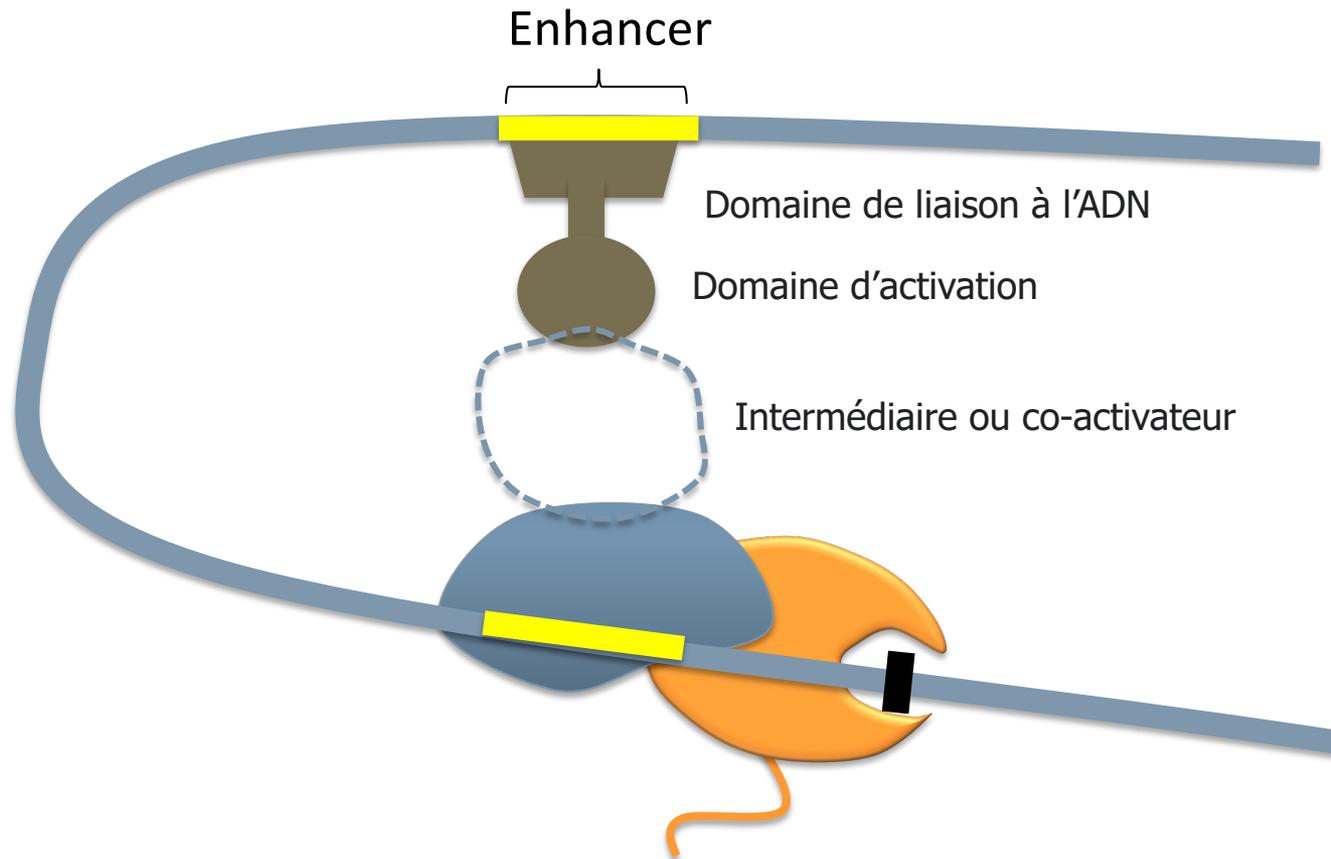
# Eléments de contrôle des promoteur utilisés par l'ARN polymérase II : éléments proximaux et distaux



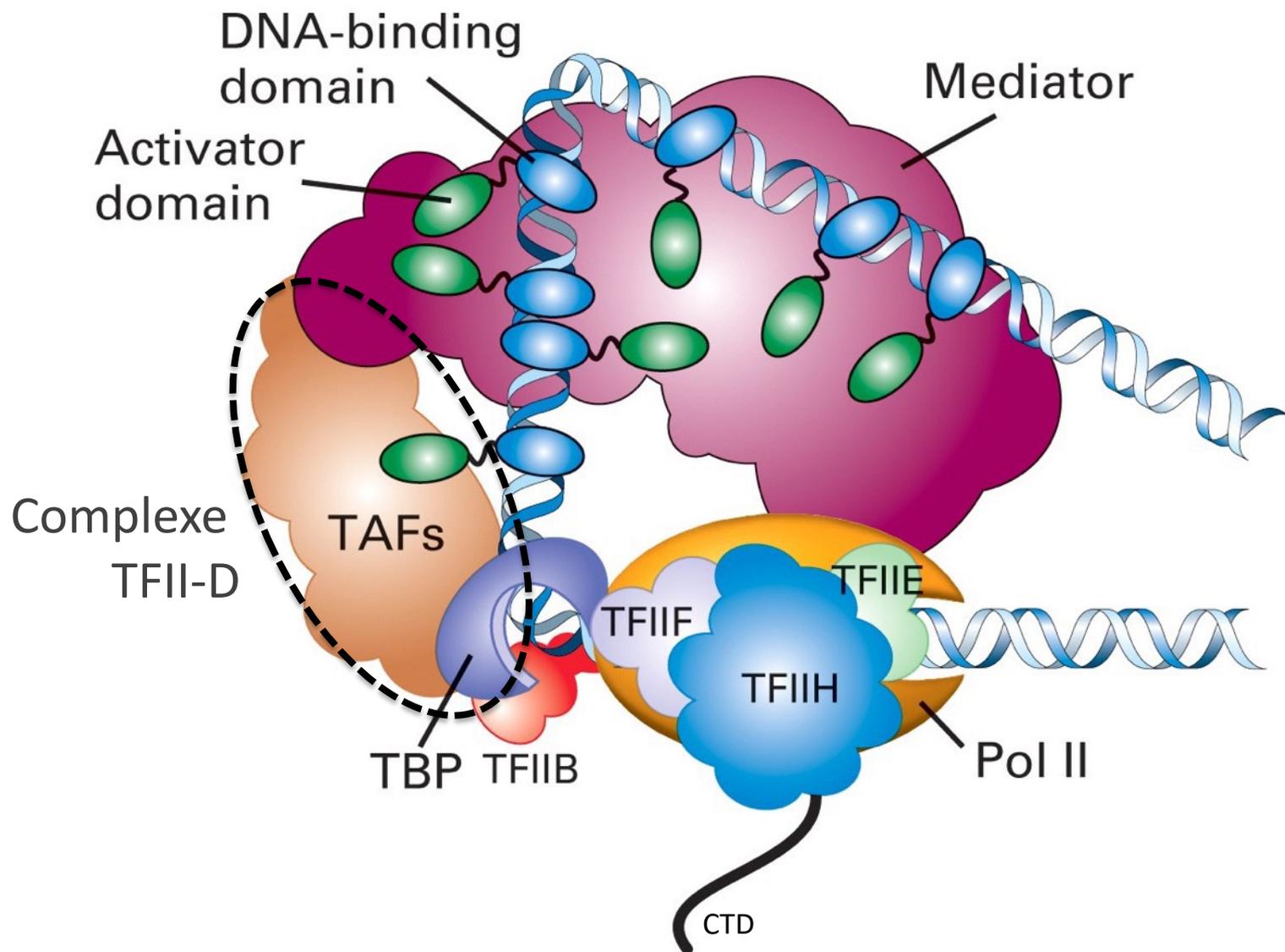
# Les activateurs de transcription se fixent aussi sur les enhancers



# Action via un autre co-activateur

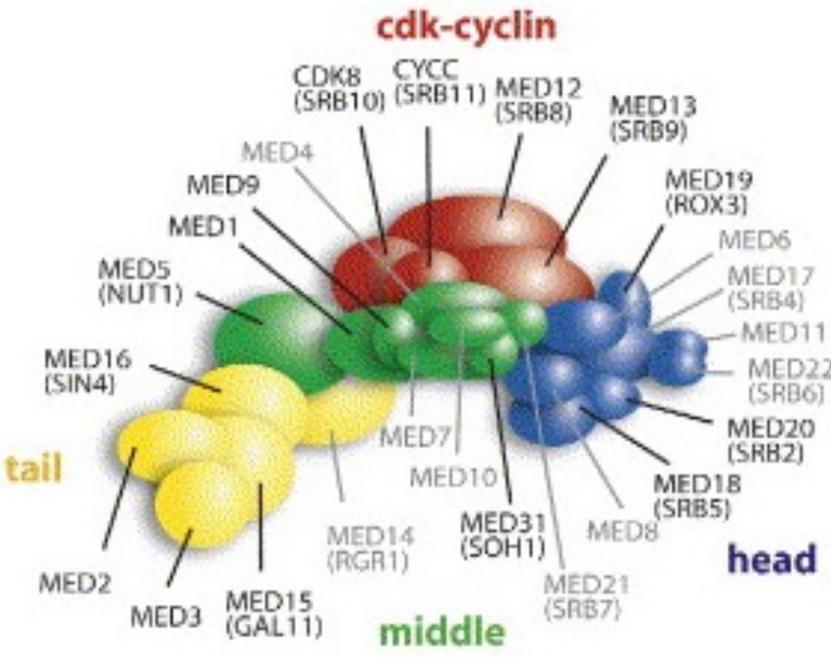
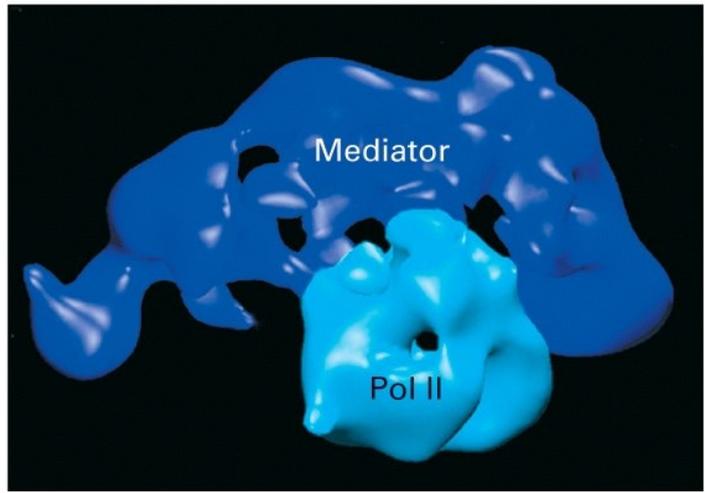


# Le médiateur : autre intermédiaire nécessaire à l'activation de la transcription (par les enhancers)

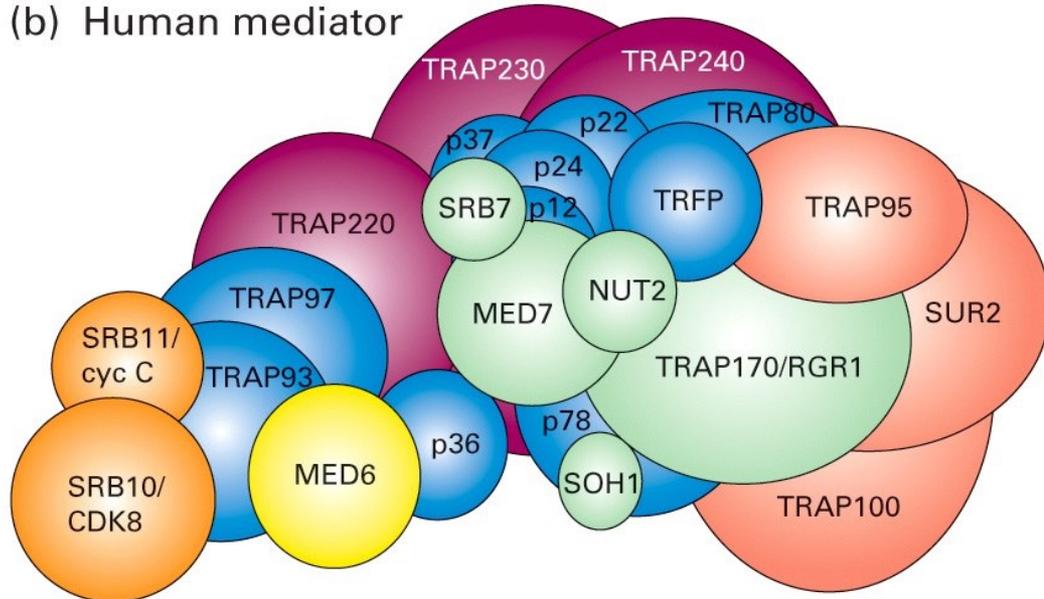


# Structure du médiateur

(a) Yeast mediator-Pol II complex



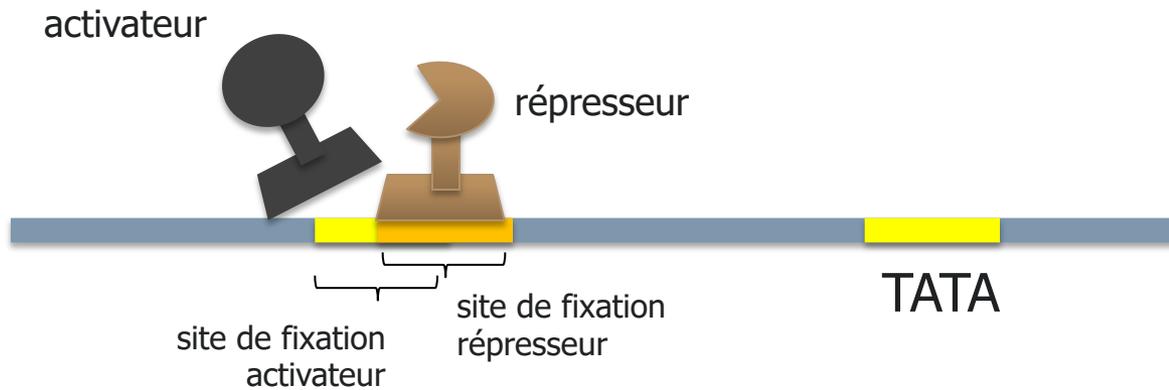
(b) Human mediator



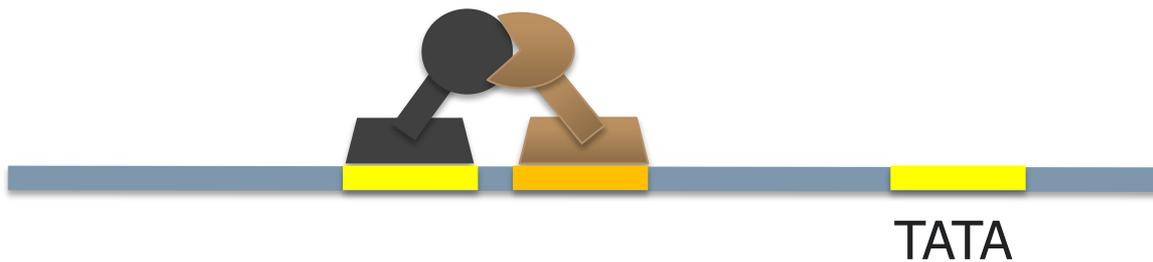
c) Médiateur de la levure *S. cerevisiae*

(Levure: 25 sous-unités, humain: 26)

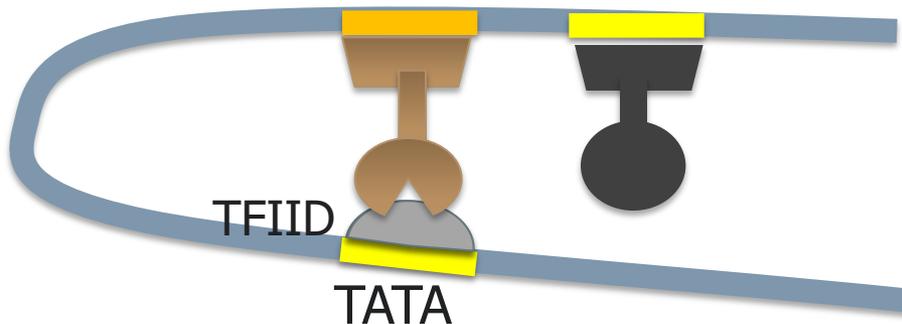
# Fonctionnement des répresseurs



Fixation compétitive avec un activateur



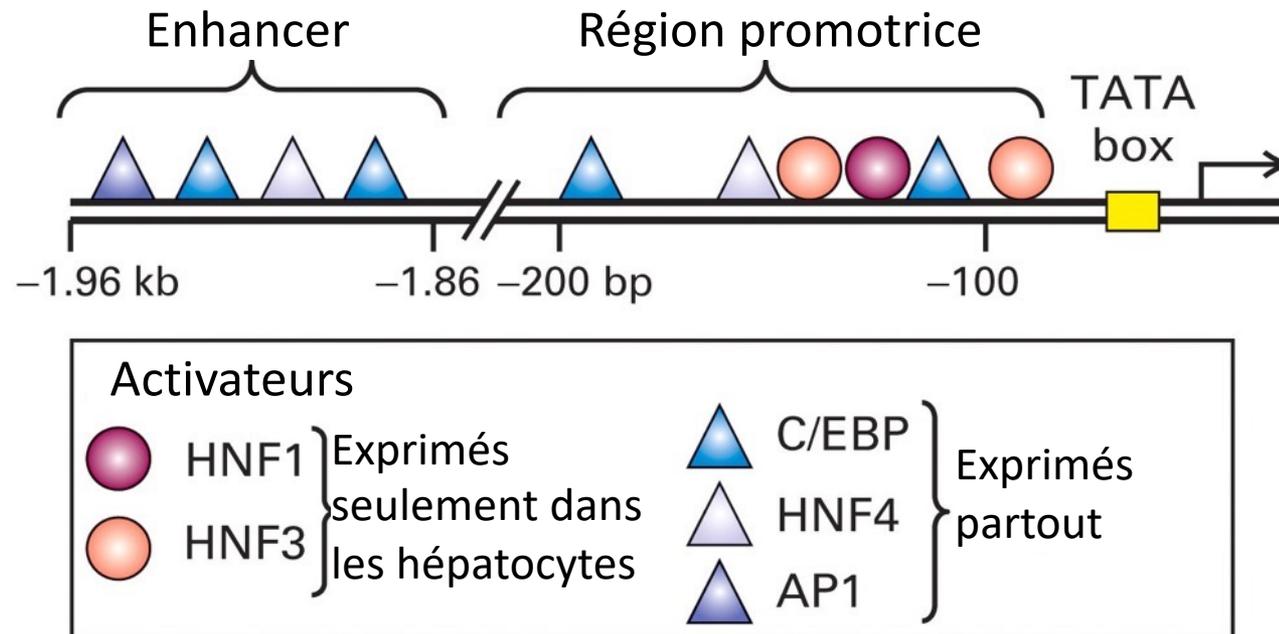
Interaction avec domaine d'activation d'un activateur fixé



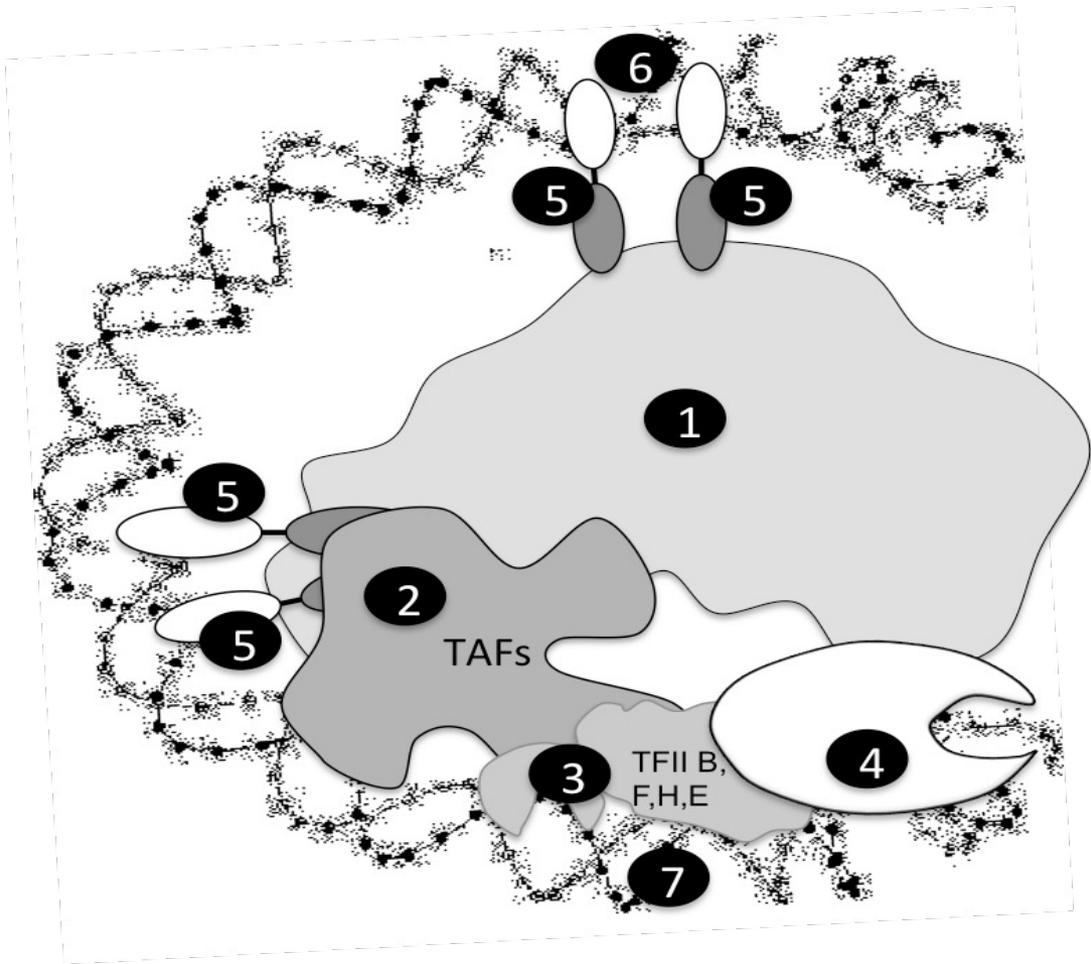
Interaction avec coactivateur ou PIC

# Comment exprimer des gènes exprimés dans certains organes et pas dans d'autres ?

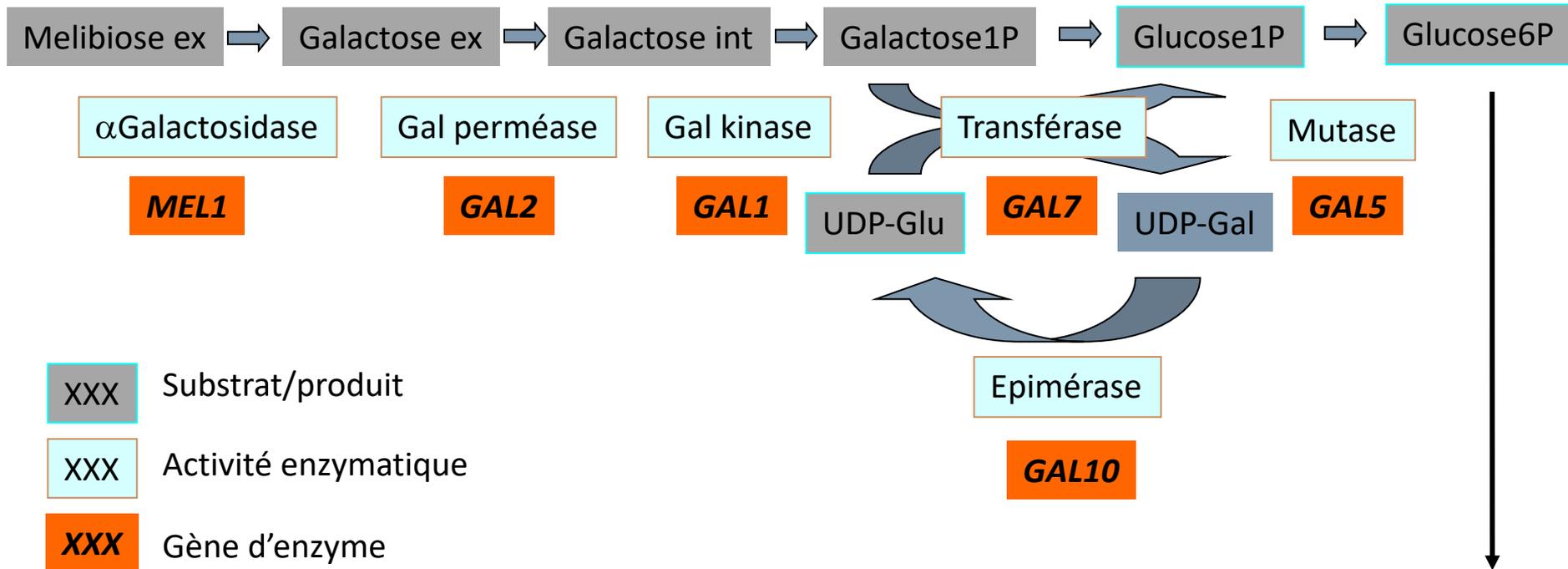
Exemple d'activateurs se fixant sur la région proximale



- Dans les hépatocytes: expression de HNF1 et HNF3, fixation sur promoteur, activation de la transcription
- Dans les autres cellules: certains activateurs se fixent mais sont insuffisants en absence de HNF1 et HNF3 sur le promoteur



# Systeme Galactose chez la levure



Inducteur: galactose  
Répresseur: glucose

**glycolyse**

# Sélection de mutants (gal-) incapables d'utiliser le galactose comme source de carbone

Mutations récessives

7 groupes de complémentation:

*gal1*, *gal2*, *gal3*, *gal4*, *gal5*, *gal7*, *gal10*

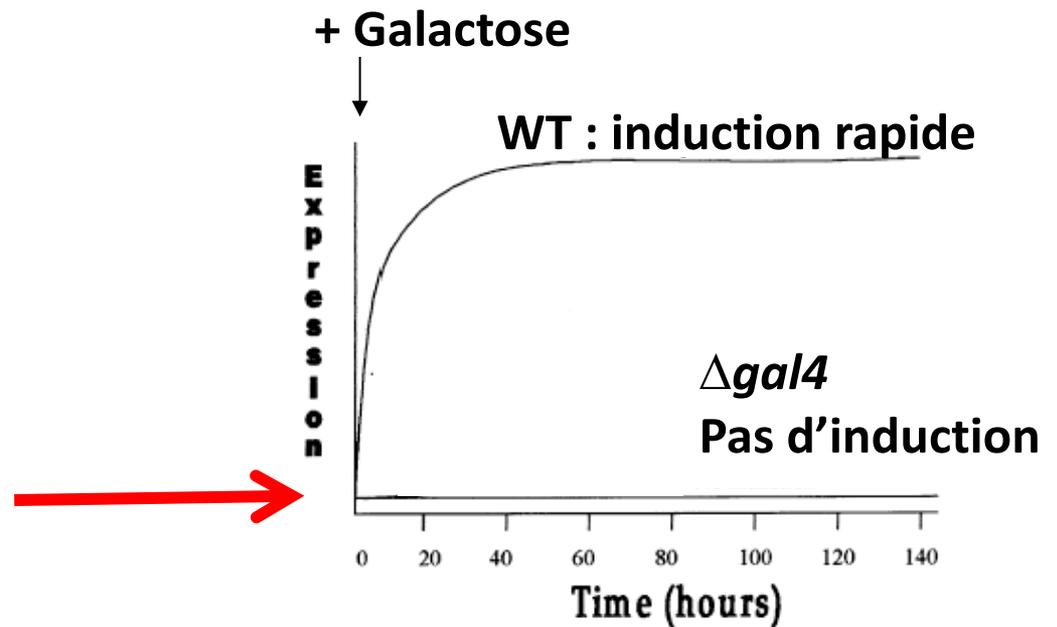
*gal1*, *gal2*, *gal5*, *gal7*, *gal10* sont spécifiques d'une activité enzymatique

Donc, que font *gal3* et *gal4*?

(et un autre gène non enzymatique découvert indépendamment: *gal80*)

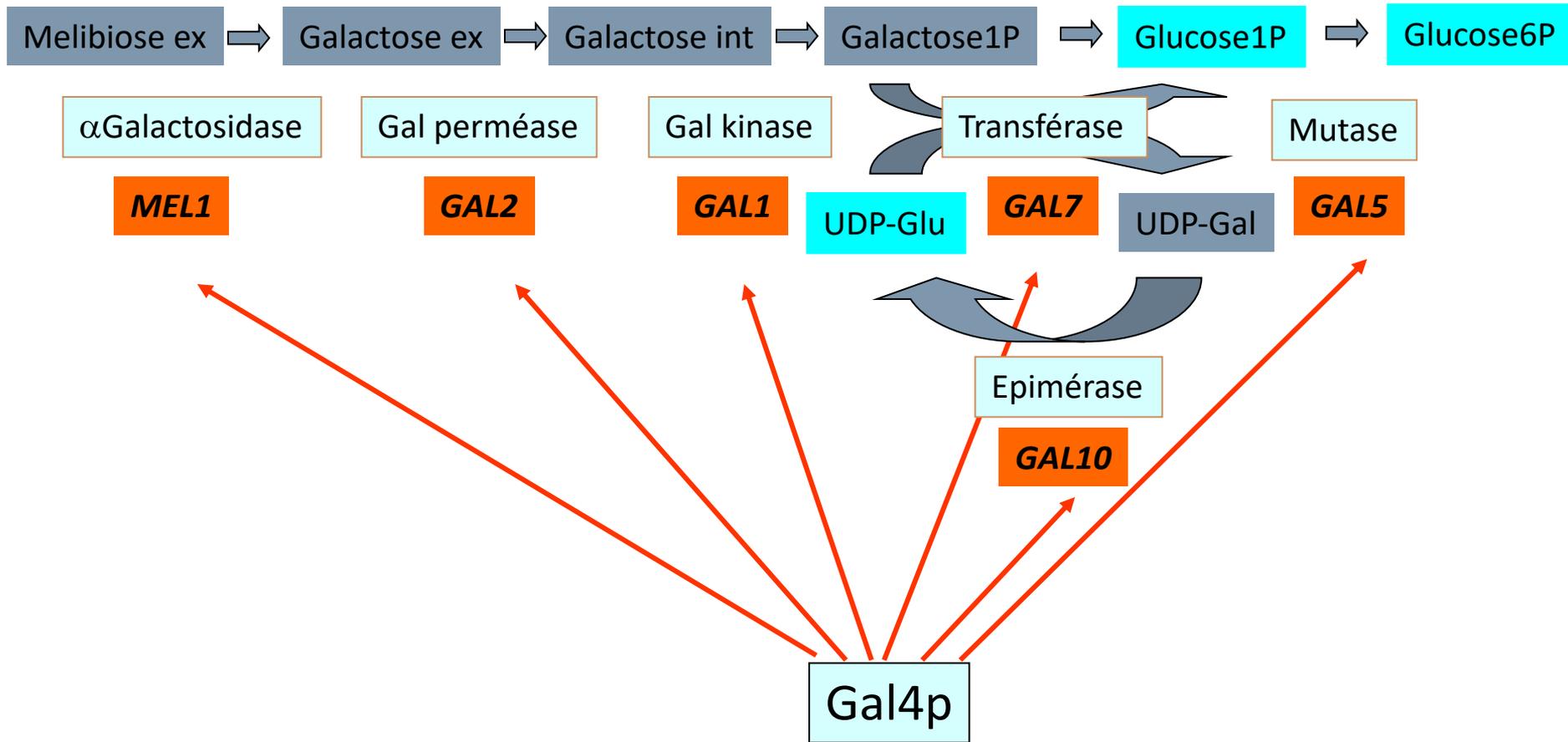
# Que fait gal4?

Les mutants de délétion  $\Delta gal4$  ne sont pas inductibles par le galactose et sont déficients dans toutes les activités enzymatiques.

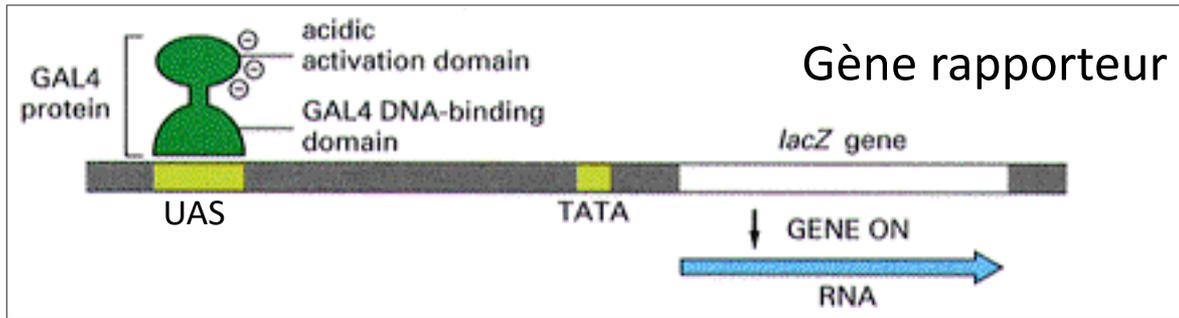


**Fig. 2.** Schematic representation of *GAL* gene expression in yeast strains of different genetic background in response to galactose as a function of time.

# Explication la plus simple: Gal4p est un régulateur positif de MEL1, GAL2, GAL1, GAL7, GAL5 et GAL10

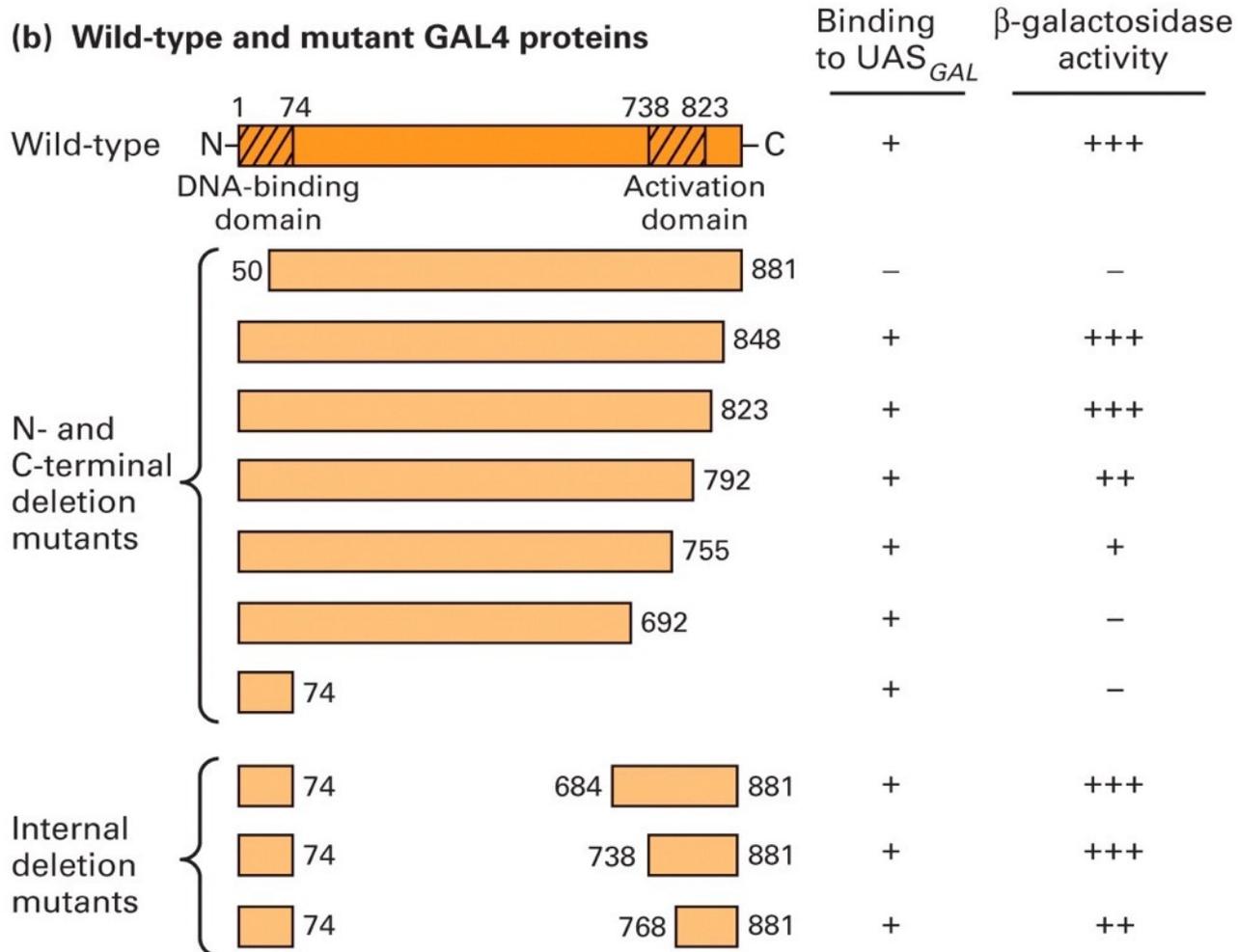


# Analyse de la fonction des domaines protéiques de Gal4p



## (b) Wild-type and mutant GAL4 proteins

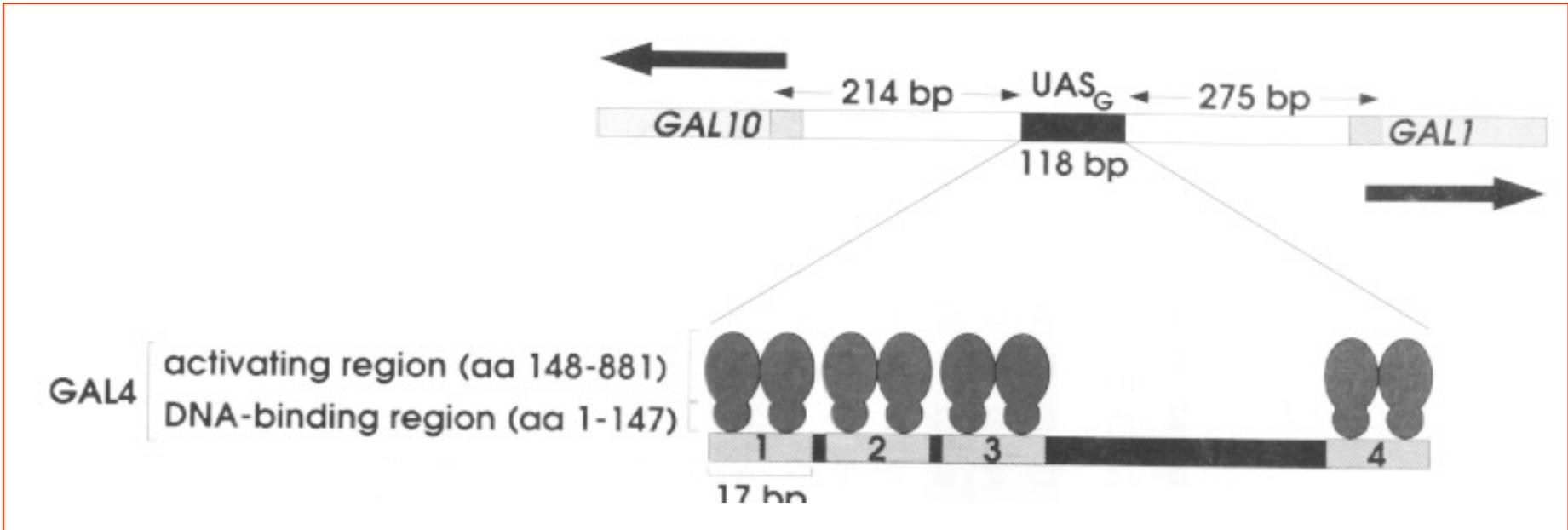
Diverses protéines mutantes



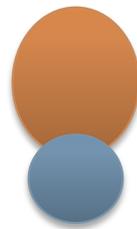
Des expériences de mutagenèse identifient une région:

# Upstream Activation Sequence (UAS<sub>GAL</sub>)

UASg: effet dans les deux sens sur deux gènes différents:



Gal4p:



← Domaine d'activation de la transcription

← Domaine de liaison à UASgal

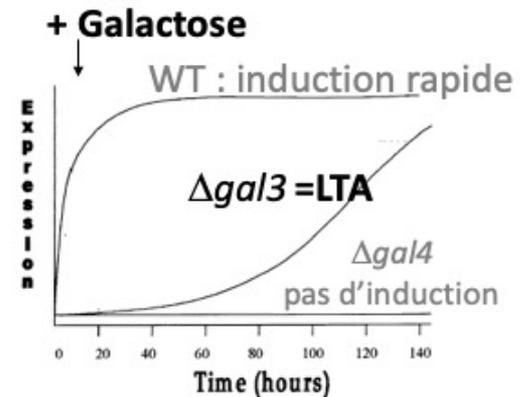
Mais comment expliquer l'induction par le galactose?

## Les autres mutants de régulation

gal80<sup>C</sup>: l'absence de Gal80p rend l'expression des gènes GAL constitutive

gal4<sup>C</sup>: mutations ponctuelles dans le gène *GAL4*. La protéine Gal4p active l'expression des gènes GAL, même en absence de galactose

$\Delta gal3$ : phénotype particulier : LTA (Long Term Adaptation) = induction ralentie



+ microscopie avec Gal3/Gal80 marqués à la GFP:

Gal3p est dans le cytoplasme, Gal80p est dans le noyau et dans le cytoplasme

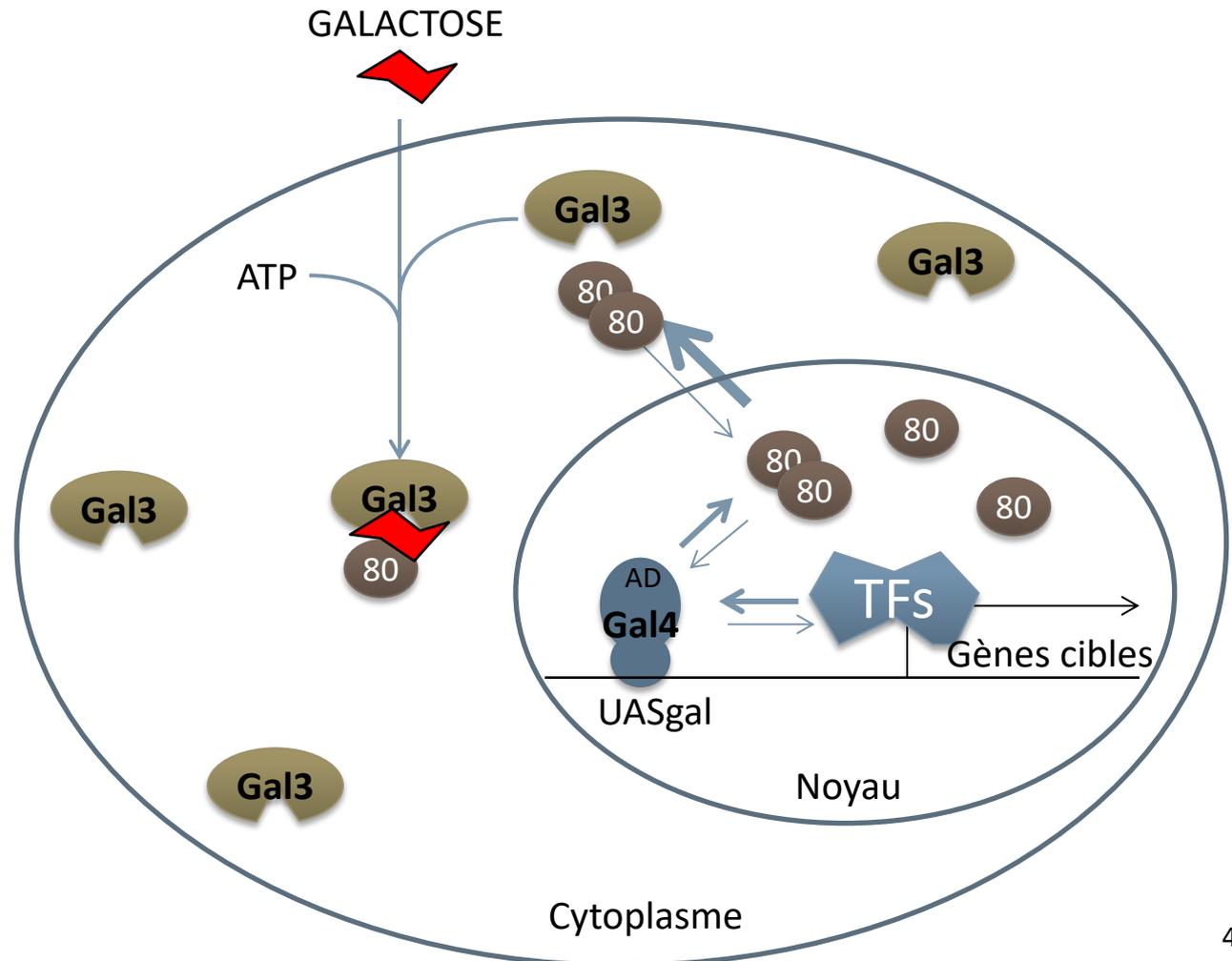
# En présence de galactose, séquestration de Gal80p dans le cytoplasme, réduisant la fixation de Gal80p sur Gal4p

Gal80p est un répresseur de Gal4p

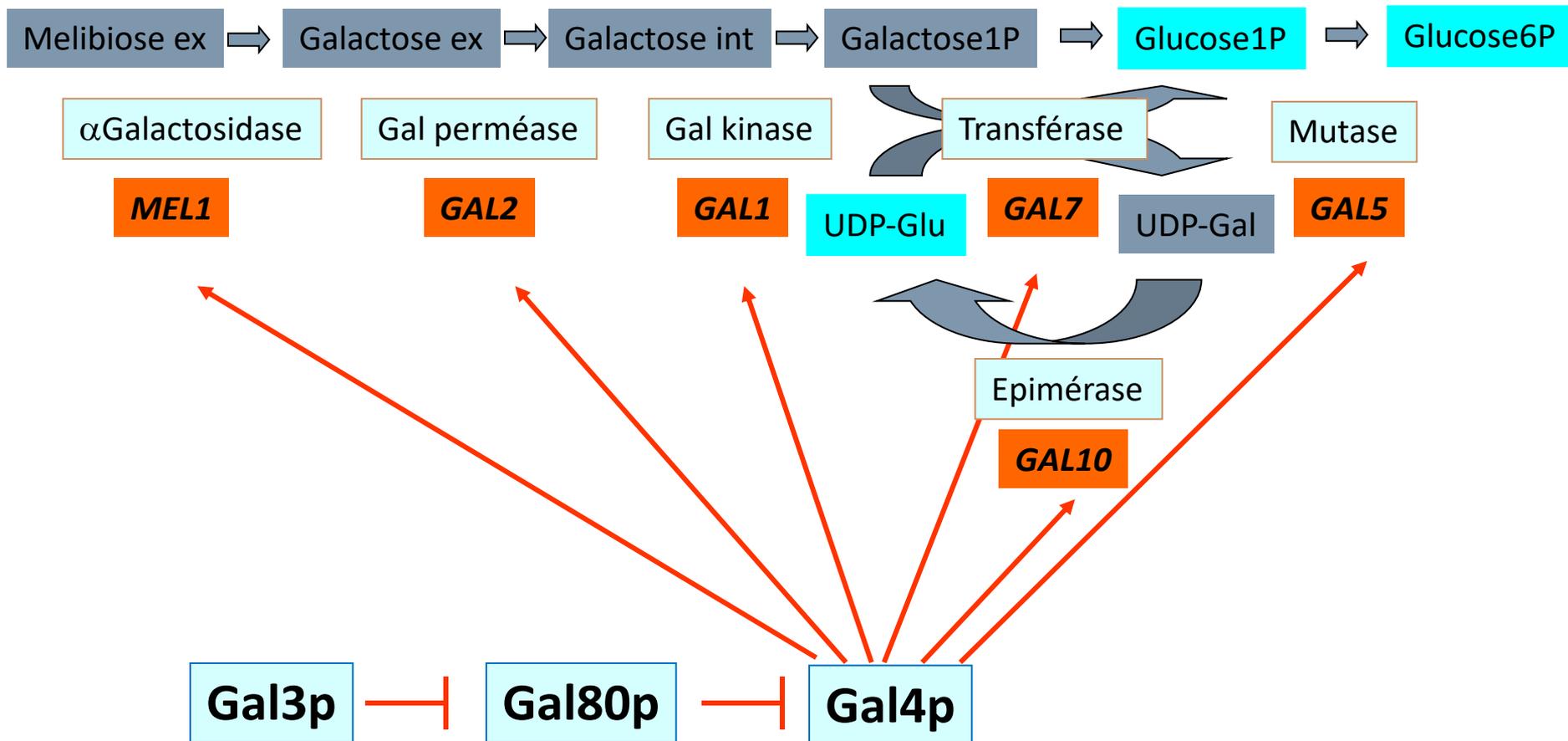
En présence de galactose, Gal3p interagit avec Gal80p dans le cytoplasme.

Comme Gal80p est séquestrée dans le cytoplasme, sa concentration dans le noyau diminue.

Gal80p n'exerce plus son action inhibitrice



# Système galactose chez la levure: résumé

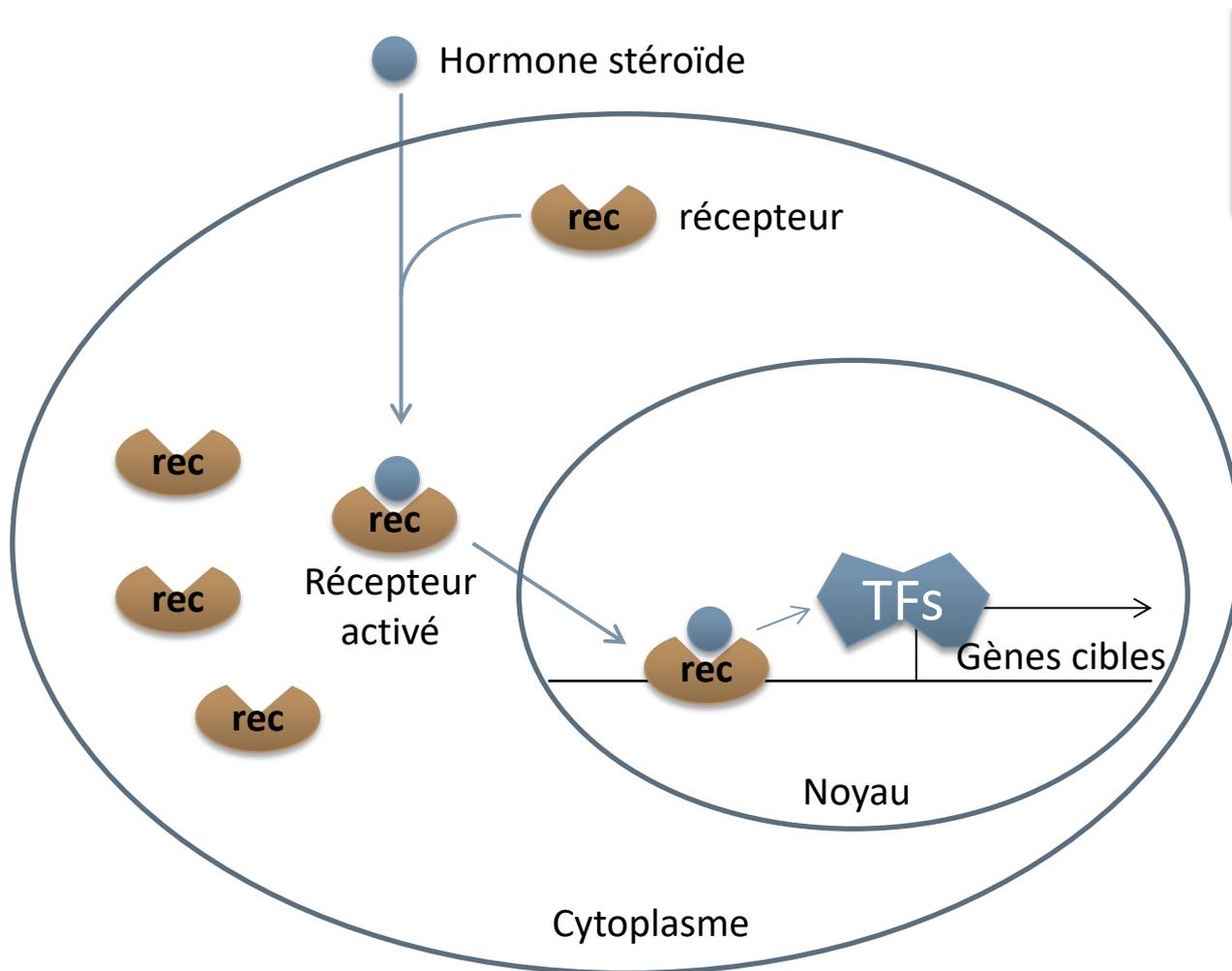


- Présence d'inducteur: Gal3p activée séquestre Gal80p dans le cytoplasme et Gal4p active la transcription des gènes GAL1, GAL2, GAL5, GAL7, GAL10
- Absence d'inducteur: Gal3p est inactif. Gal80p masque le domaine d'activation de Gal4p

## 2. La régulation transcriptionnelle eucaryote

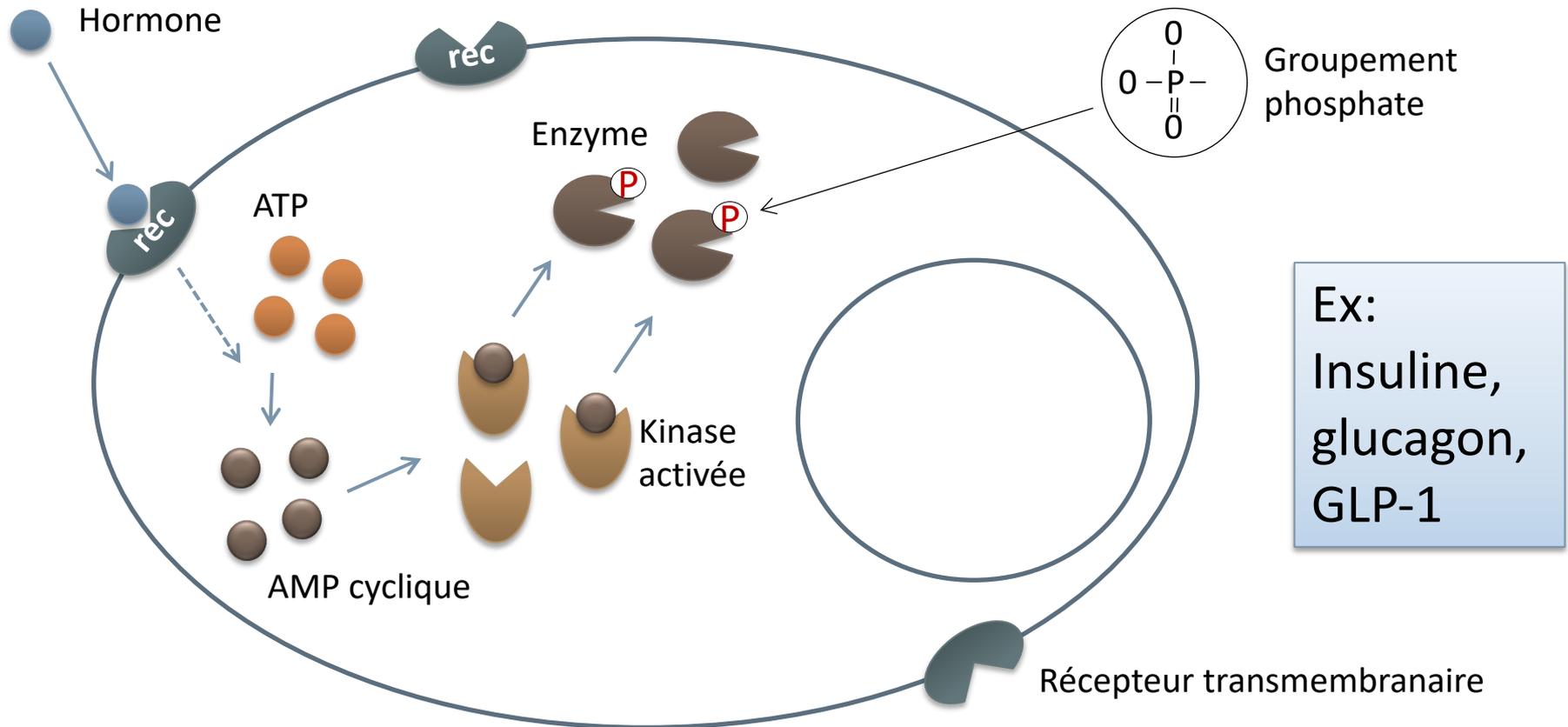
- A. Systèmes activateurs, répresseurs, enhancers
- B. Régulation par voies de signalisation

# Les hormones stéroïdiennes: activation de récepteurs par fixation de l'hormone



Ex:  
testostérone,  
oestrogènes

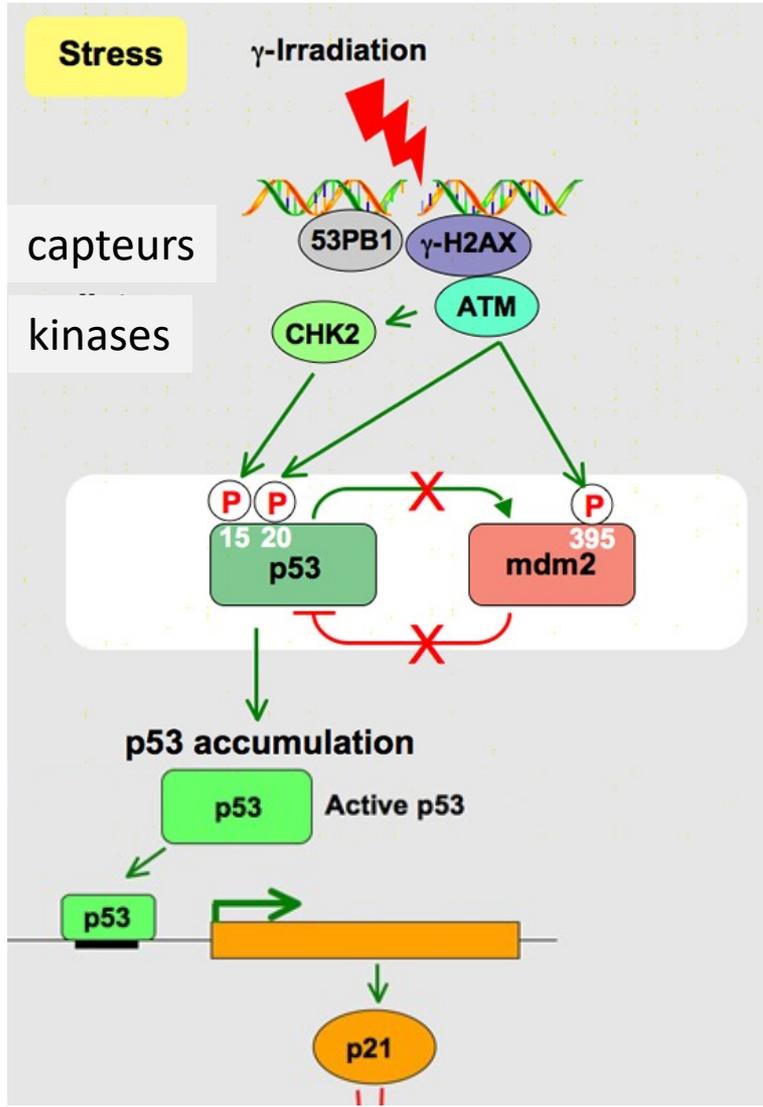
# Hormones incapables de rentrer dans la cellule: transduction du signal



On parle de « messagers secondaires » pour les protéines qui transmettent l'information dans la cellule. L'effet final peut être la transcription d'un gène cible, mais pas toujours (ici: cas du glucagon, enzyme activée).

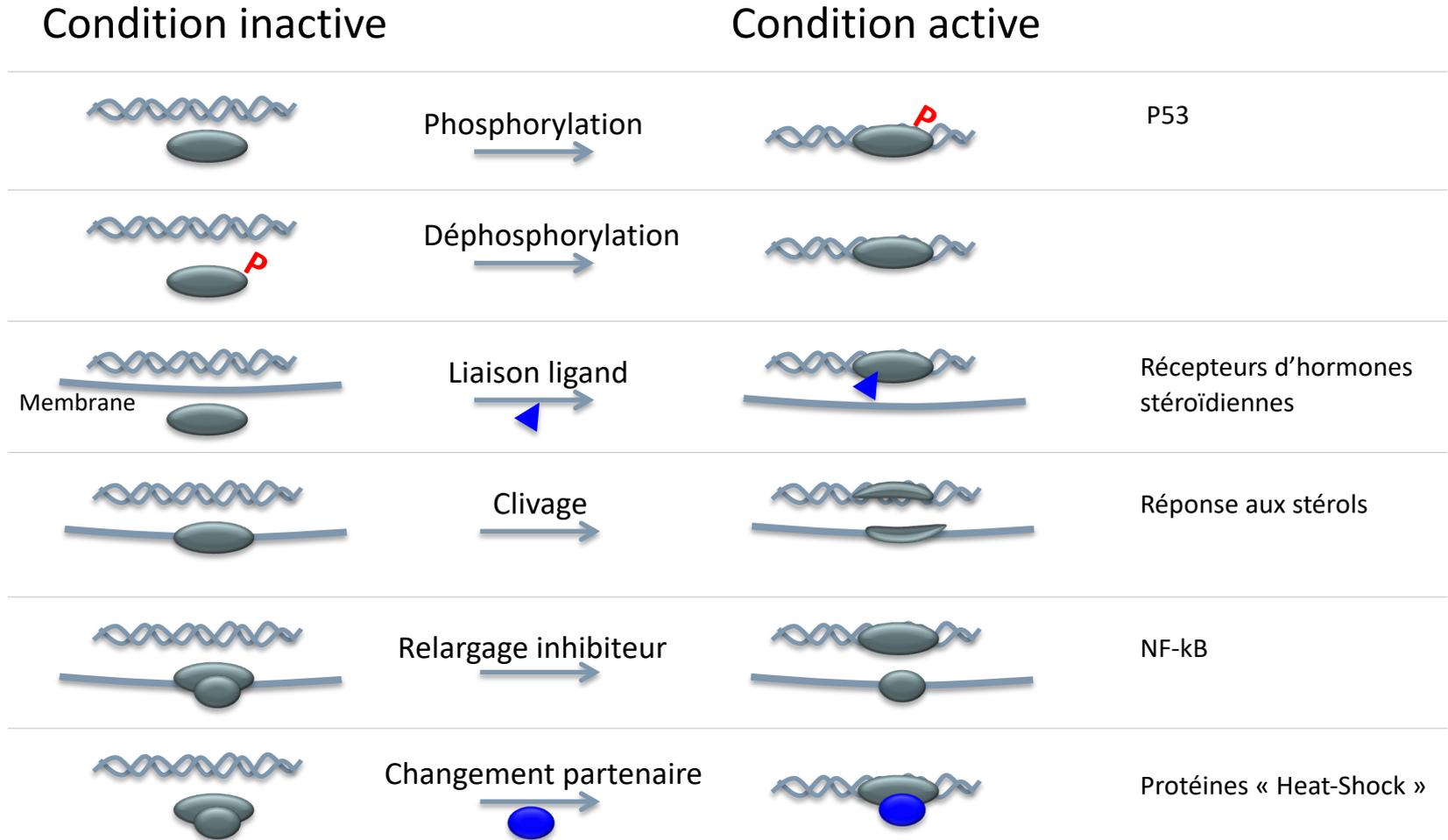
# Autre exemple de voie de signalisation: la voie P53

Voir TD P53



Source: the TP53 web site, Thierry Soussi

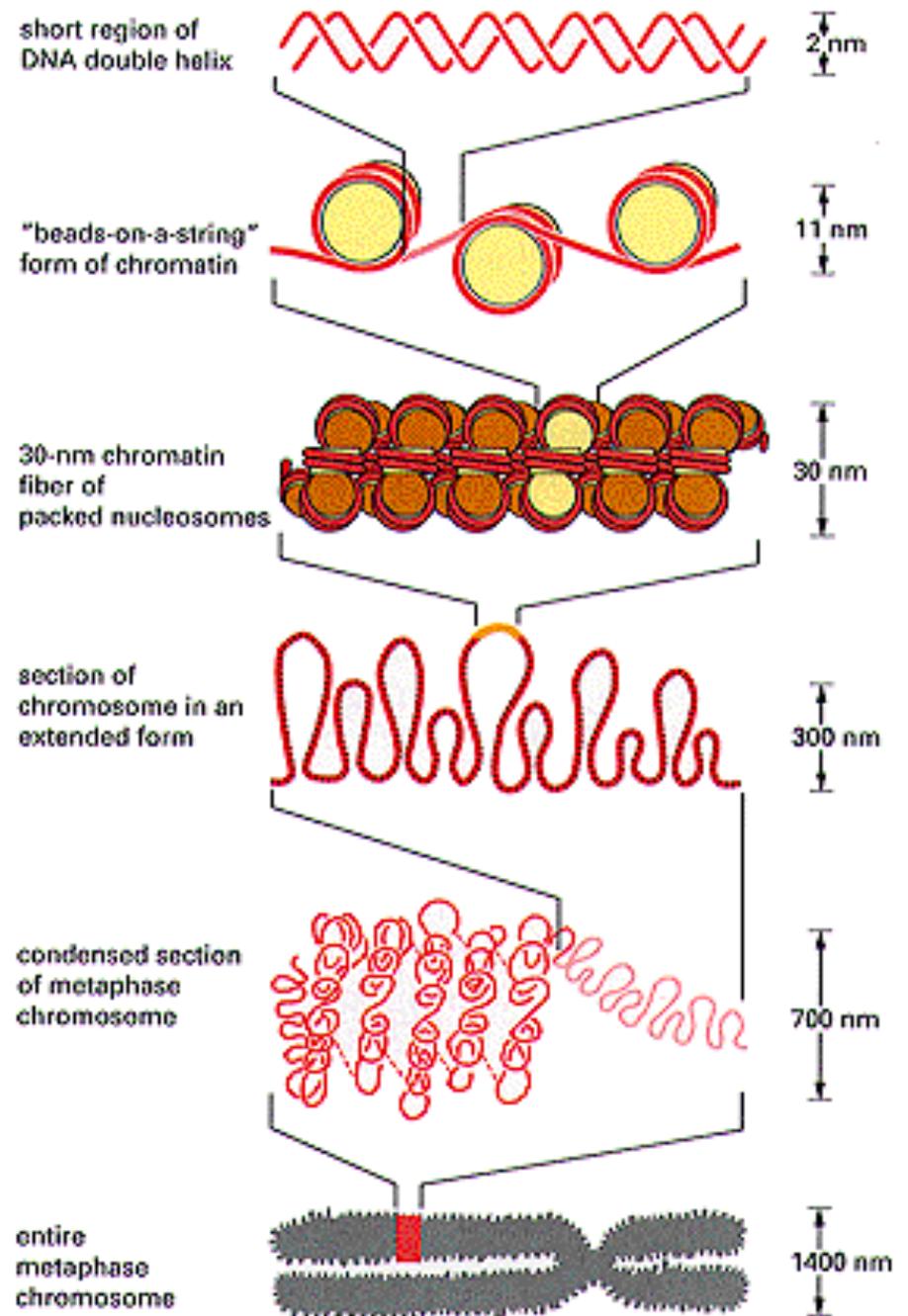
# Toutes les stratégies de régulation transcriptionnelle par modification des facteurs de transcription



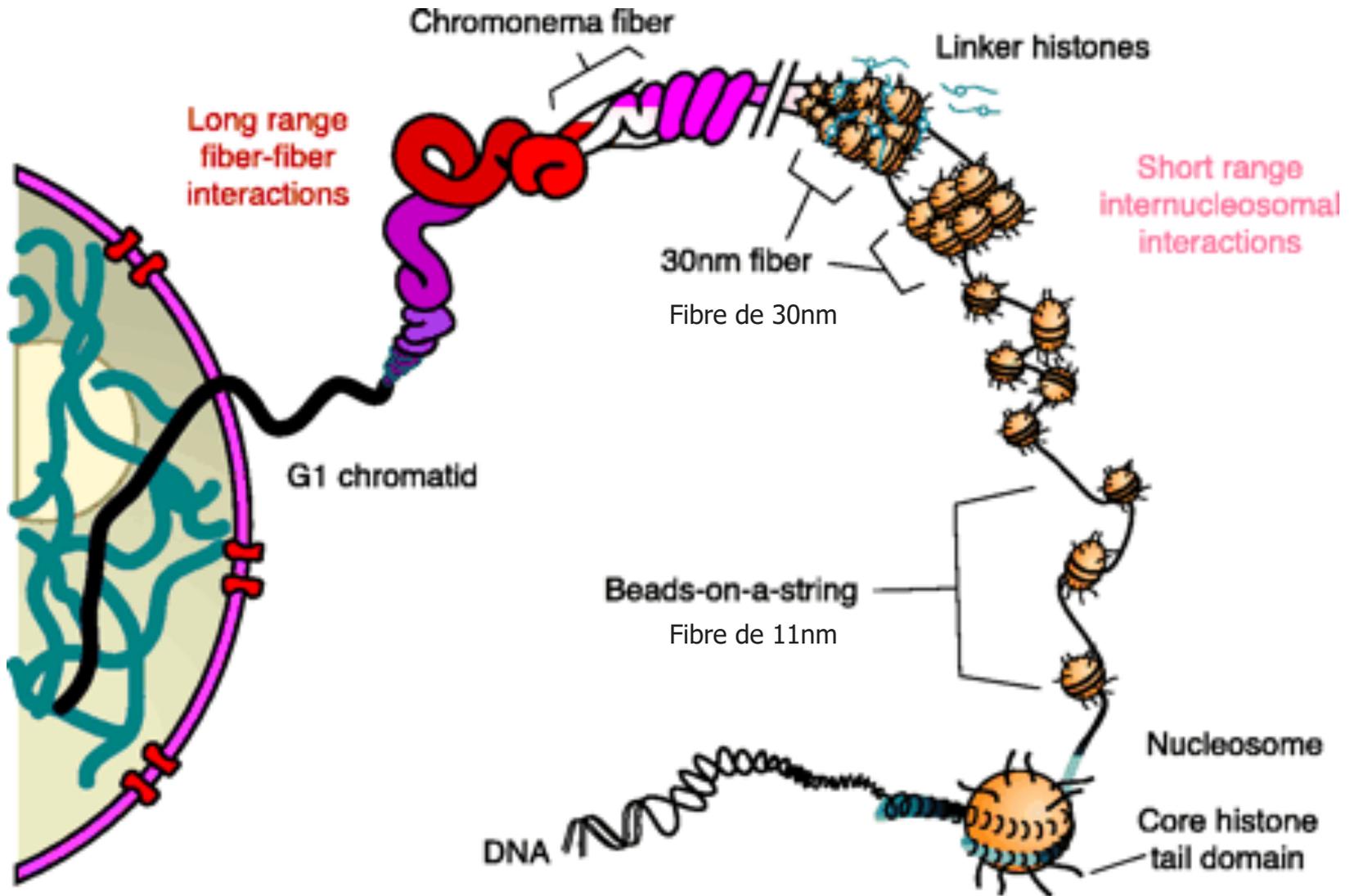
## 2. La régulation transcriptionnelle eucaryote

- A. Systèmes activateurs, répresseurs, enhancers
- B. Régulation par voies de signalisation
- C. La régulation de l'accès à la chromatine

# Niveaux d'organisation de la chromatine

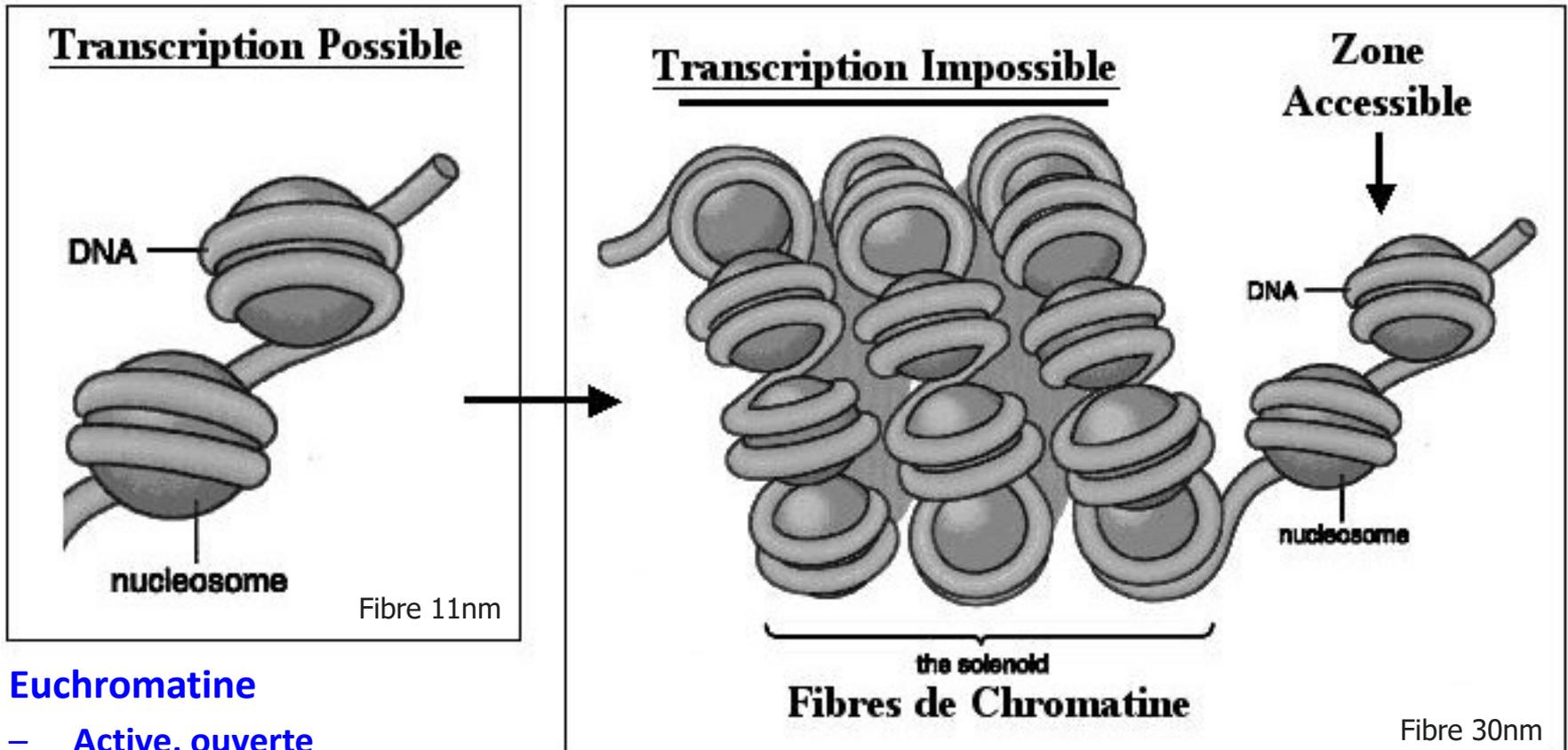


# Compaction de la chromatine



# Formation des fibres de chromatine

**Il Existe Plusieurs Niveaux de Compaction de l'ADN  
Correspondant à des Niveaux d'Activité Transcriptionnelle Différents**



## Euchromatine

- Active, ouverte

## Hétérochromatine

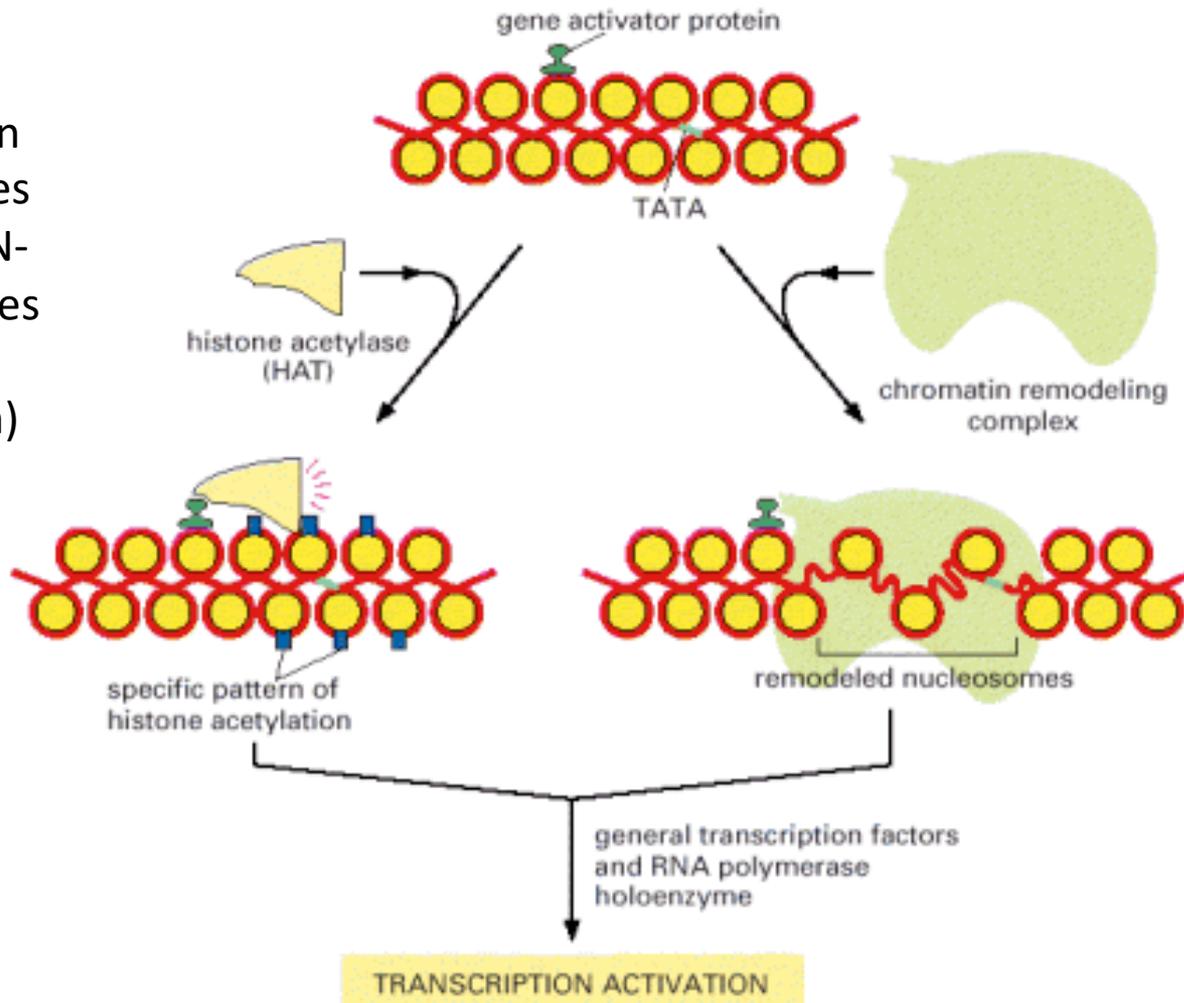
- Inactive, condensée

# Les changements de forme de la chromatine

Les activateurs peuvent aussi favoriser l'initiation de la transcription en changeant la structure de la chromatine : augmentation de l'accessibilité de l'ARN-polymérase aux promoteurs.

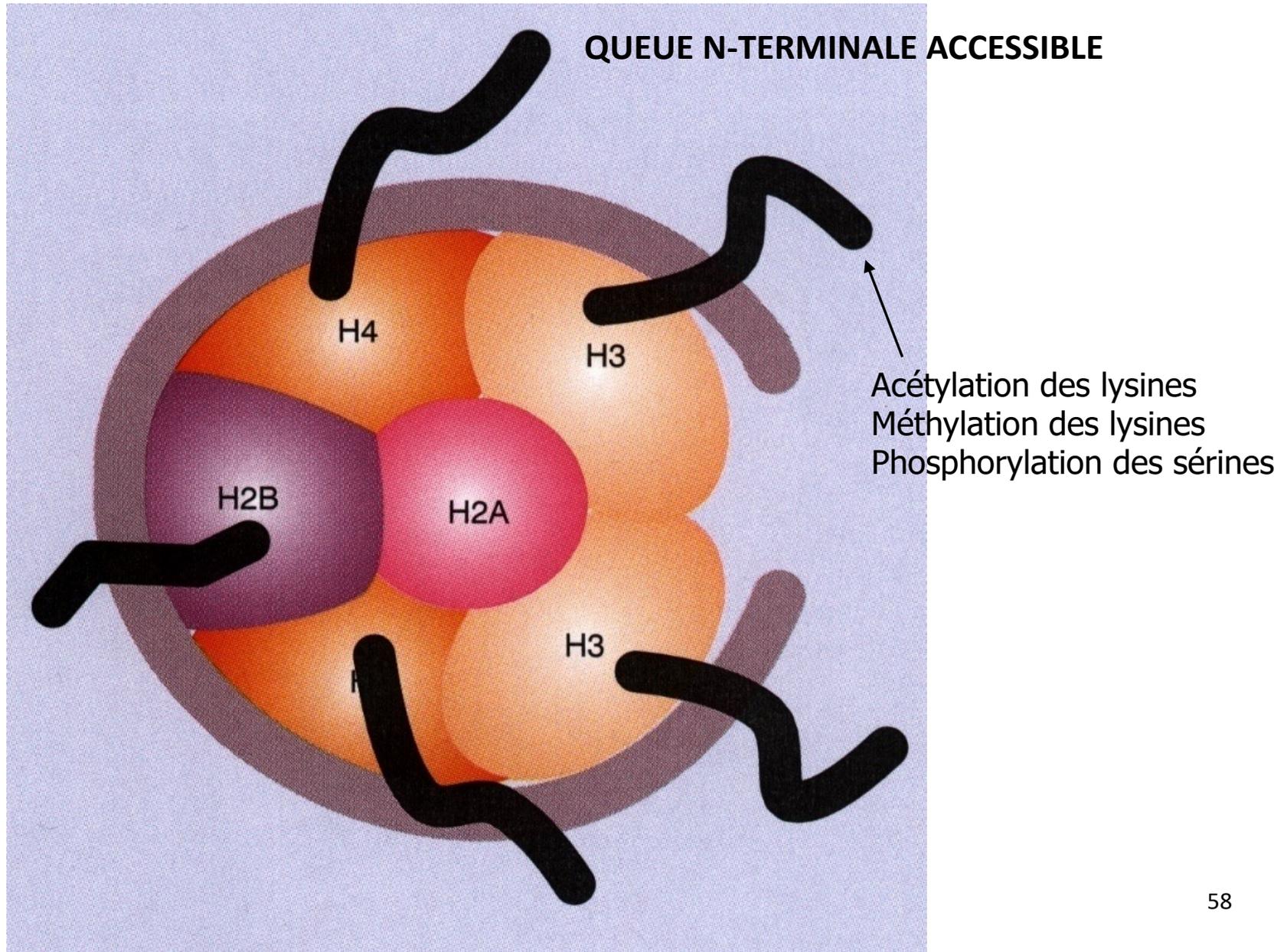
Modification covalente des extrémités N-terminales des histones (acétylation)

Remodelage de la chromatine



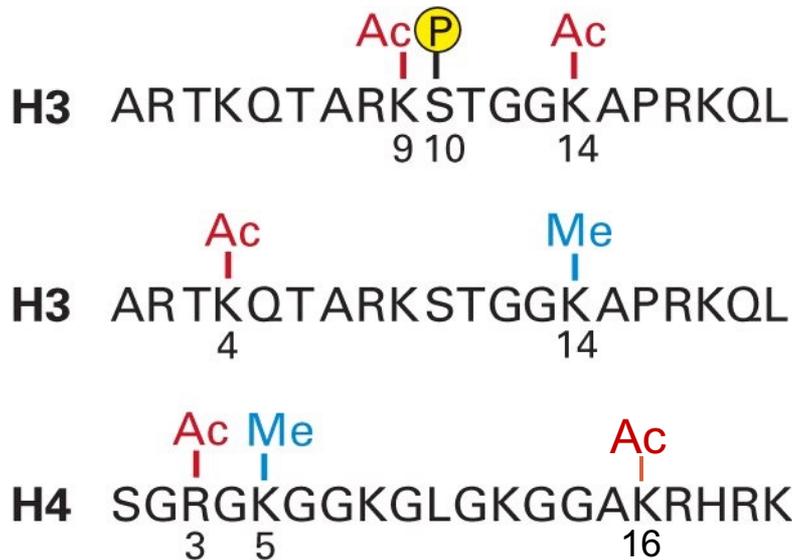
Acétylation des histones  
(et autres modifications covalentes des  
histones)

# Structure d'un octamère d'histones

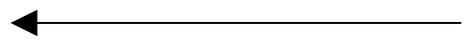
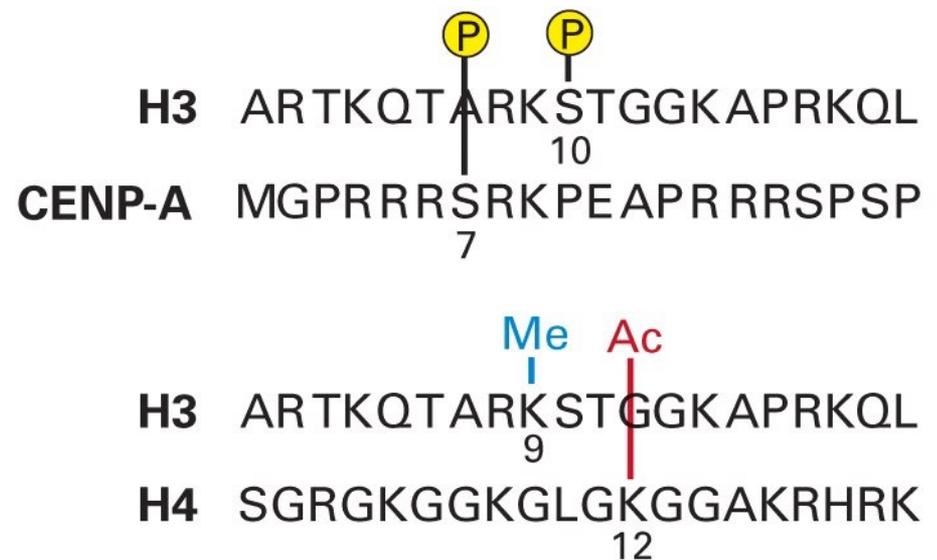


# Modification des queues d'histones (acétylation, méthylation, phosphorylation)

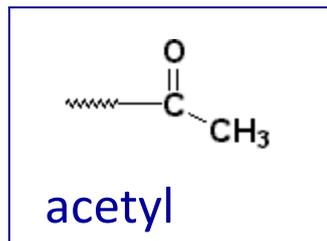
**Euchromatin (active/open)**



**Heterochromatin (inactive/condensed)**

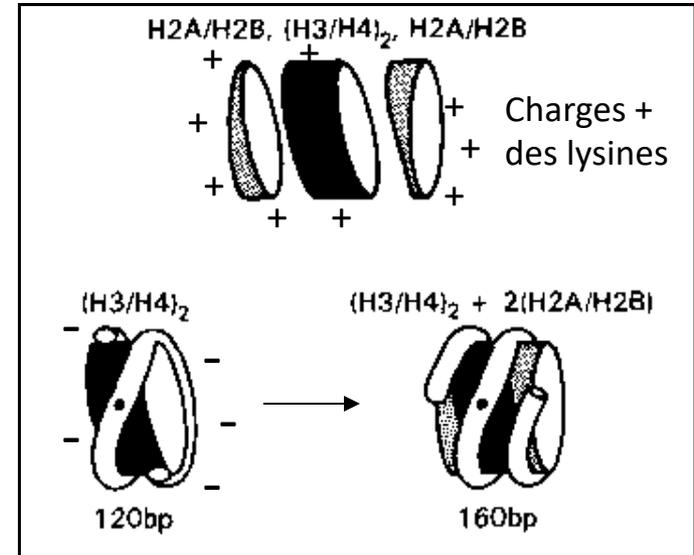
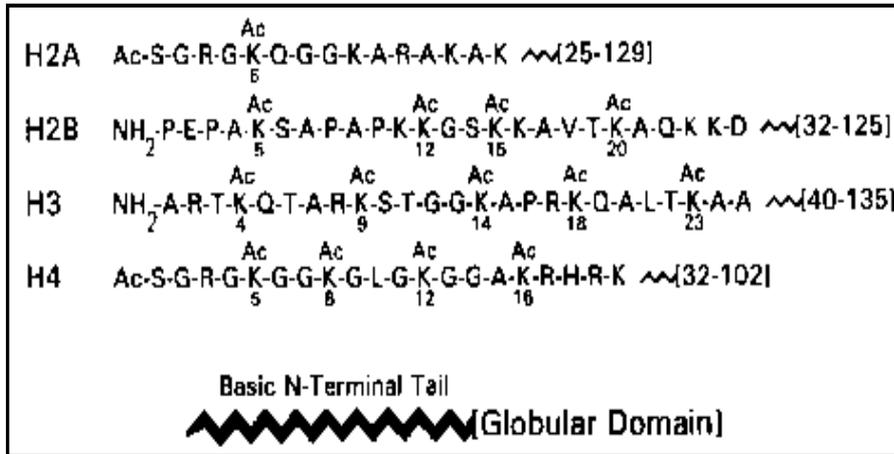


Acétylation, méthylation, déphosphorylation

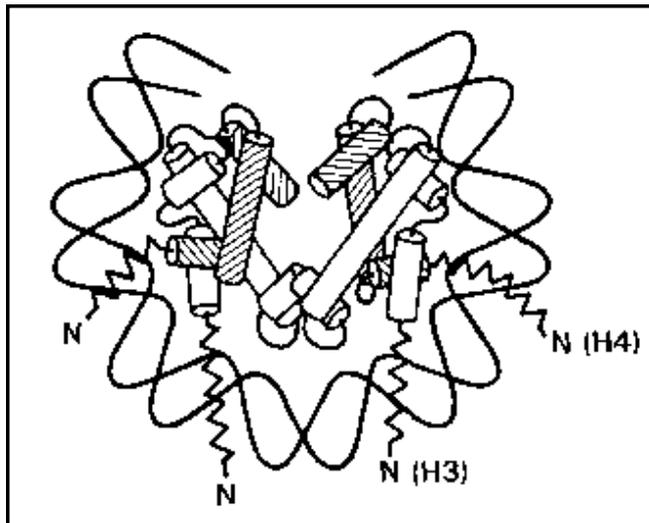


Déacétylation, déméthylation, phosphorylation

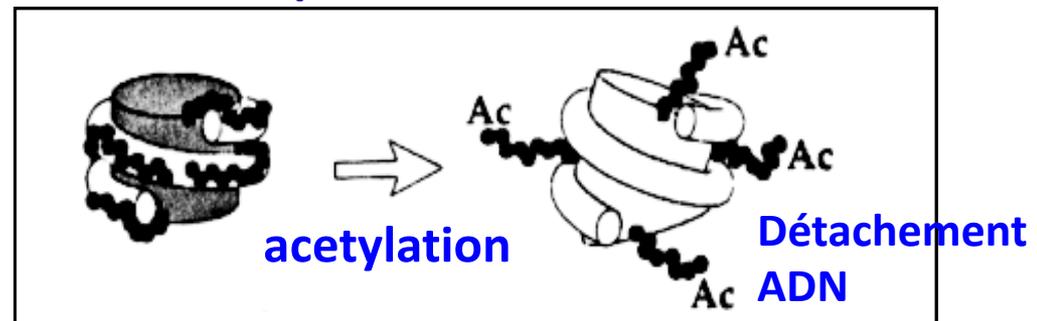
# Acétylation des histones



Interaction histone-histone via ADN



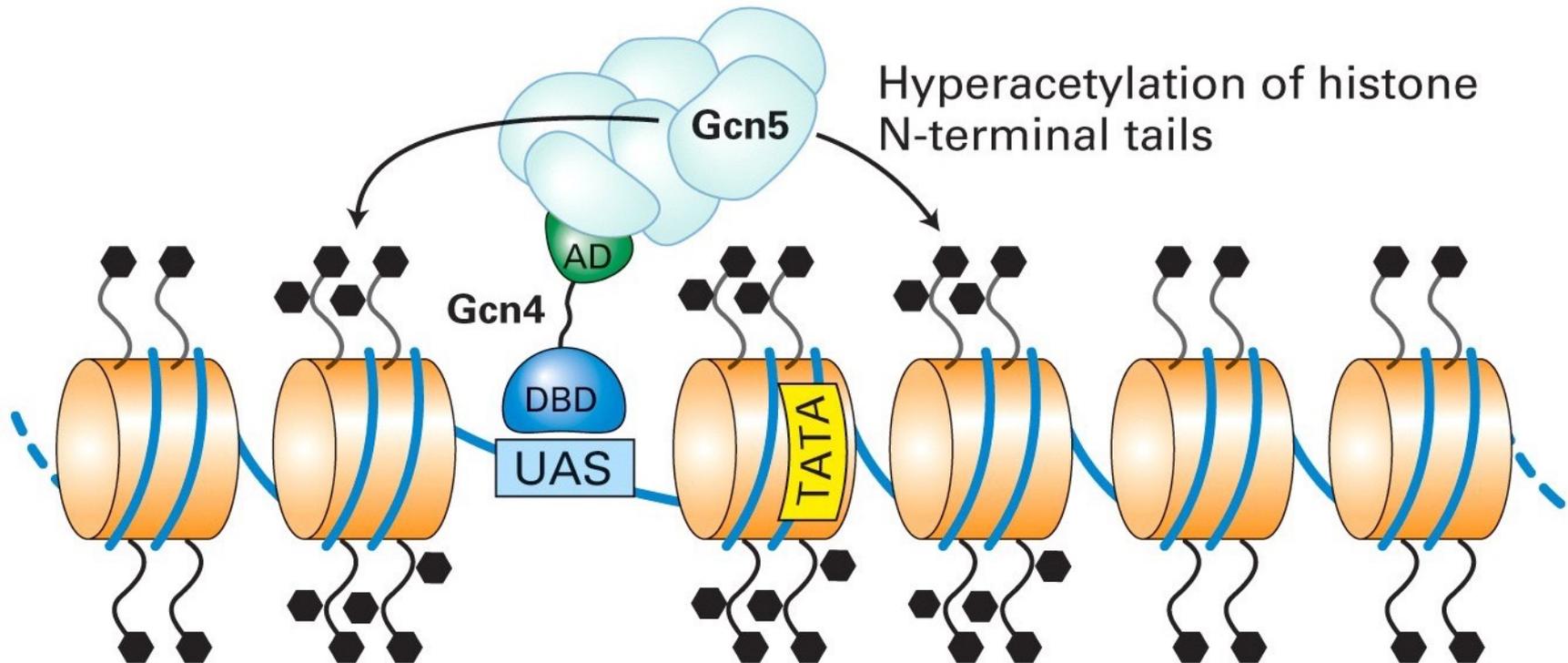
Interaction queue histone-ADN



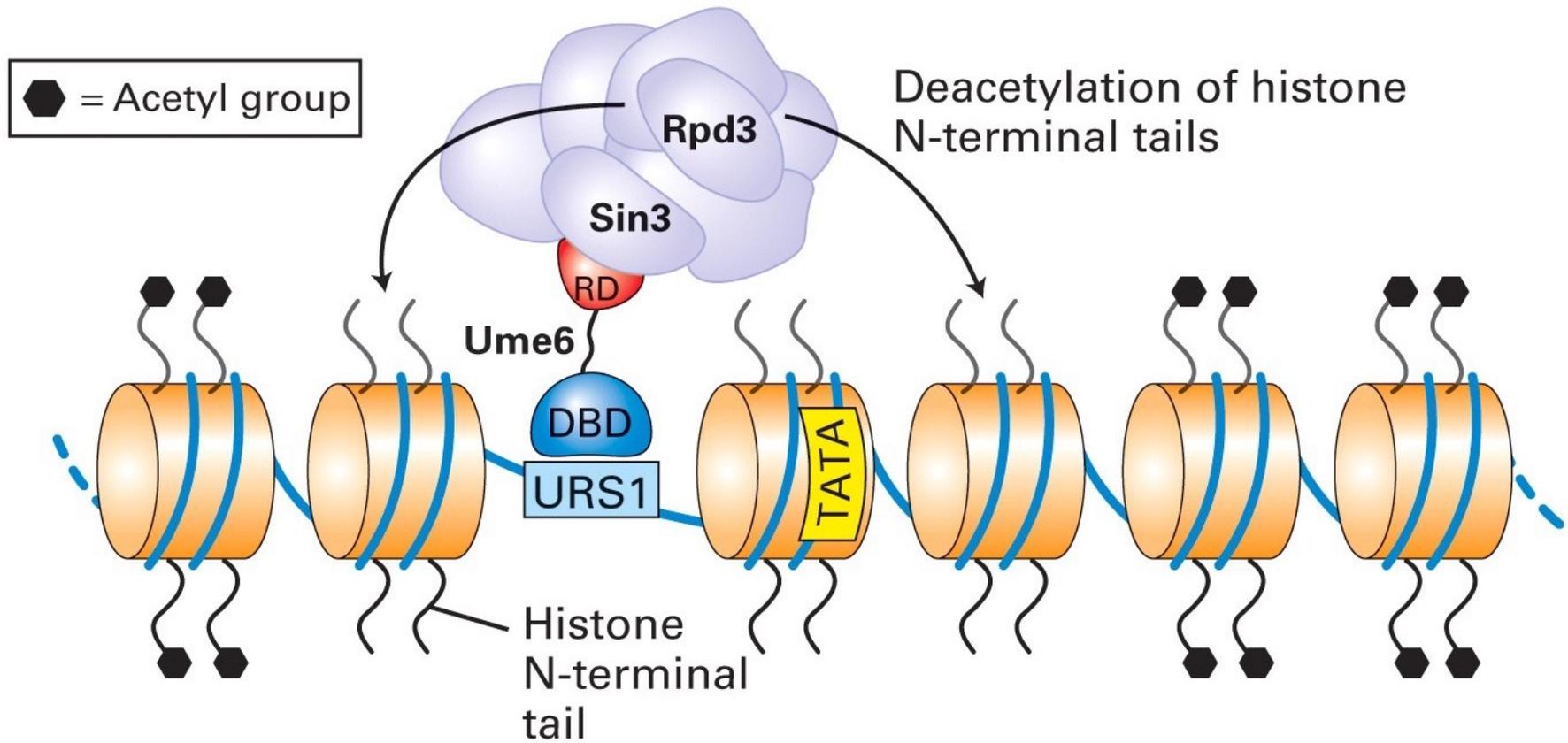
# Les Histone Acetylases (HAT)

- Les Histone-acétylases (HAT) n'interagissent pas avec l'ADN.
- Elles sont dirigées vers les histones via les facteurs de transcription ou autres
- Elles peuvent alors agir sur les histones et acétyler des lysines dans la queue N-terminale des histones.

# Hyperacétylation des histones par recrutement d'histone-acétylases (HAT) via un activateur de transcription



# Déacétylation des histones par recrutement d'histone-déacétylases (HDACs) via un répresseur de transcription



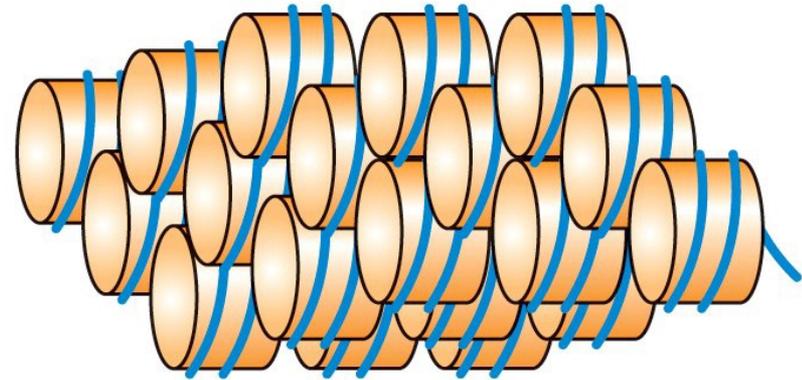
(URS: upstream repressor sequence)

# Remodelage de la chromatine

- Le remodelage : repositionnement des nucléosomes donnant accès à une région d'ADN
  - Non covalent
  - Energie-dépendant (besoin d'ATP)
  - Exemple chez la levure: gènes du cycle cellulaire

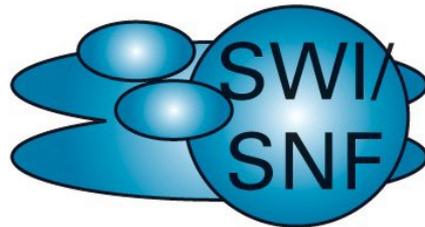
# D'abord fixation de SWI5 puis SWI/SNF

Condensed chromatin

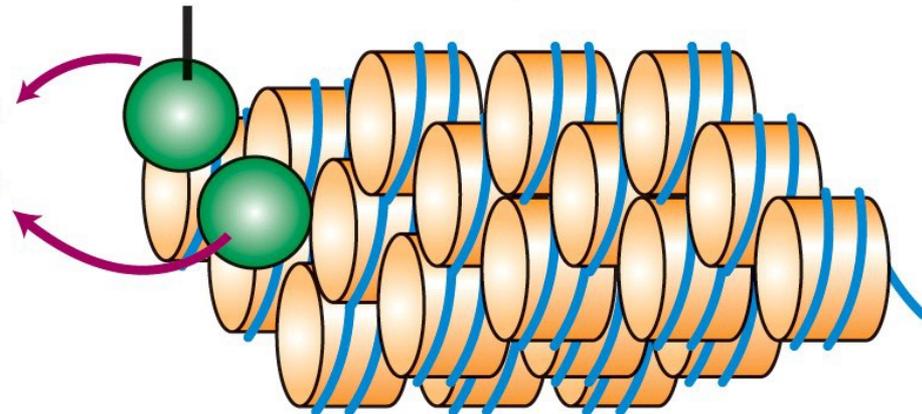


Transcription activateur

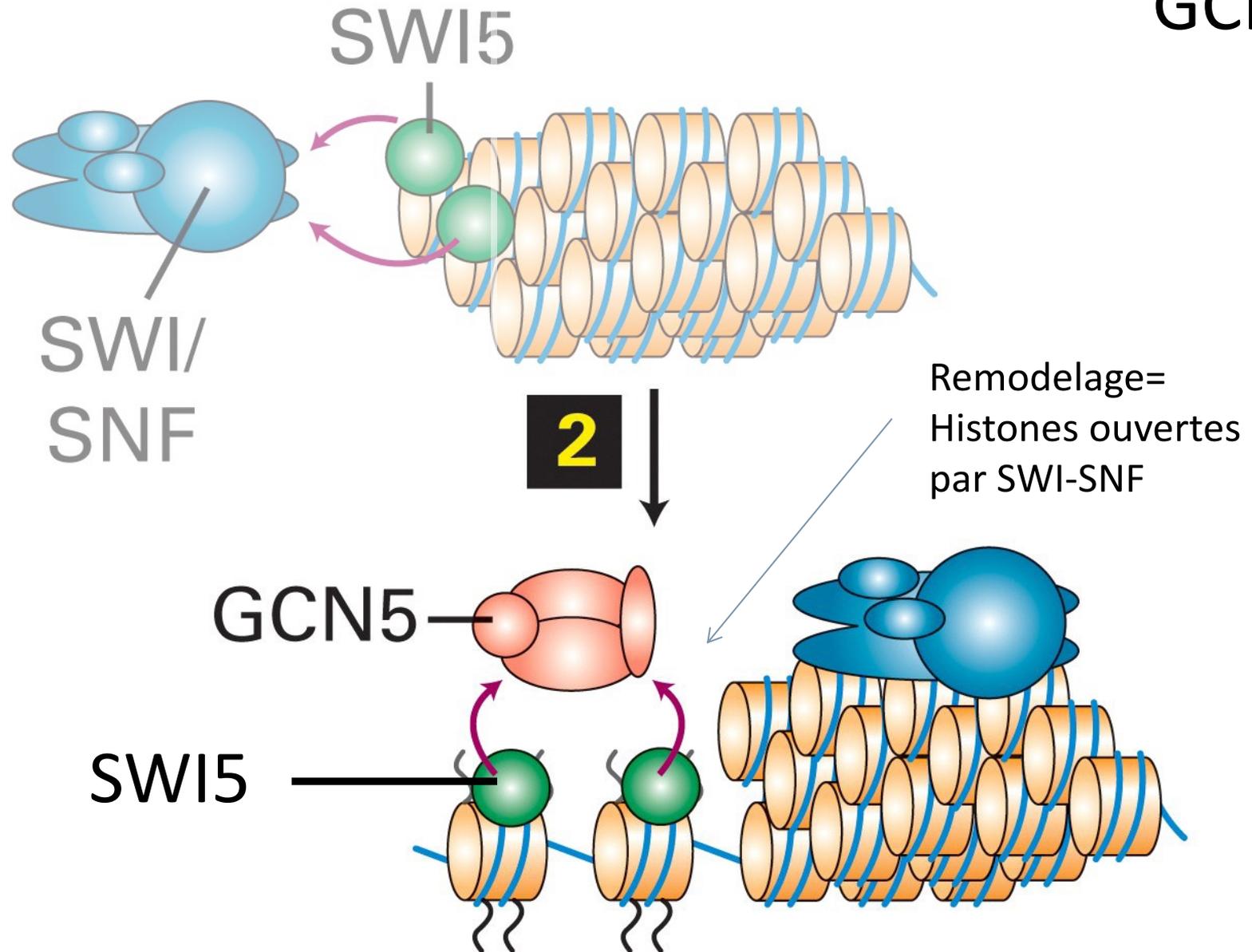
SWI5

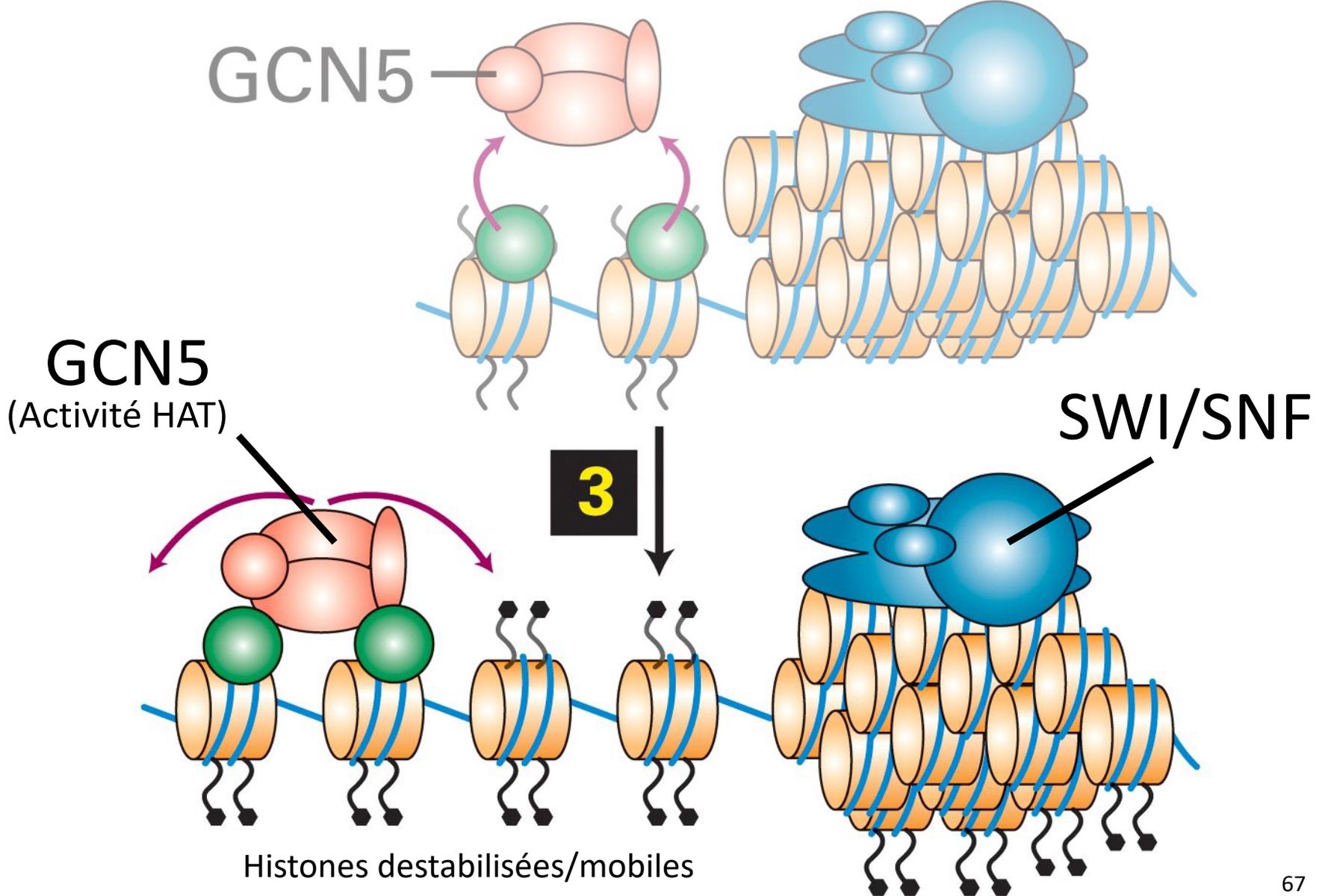


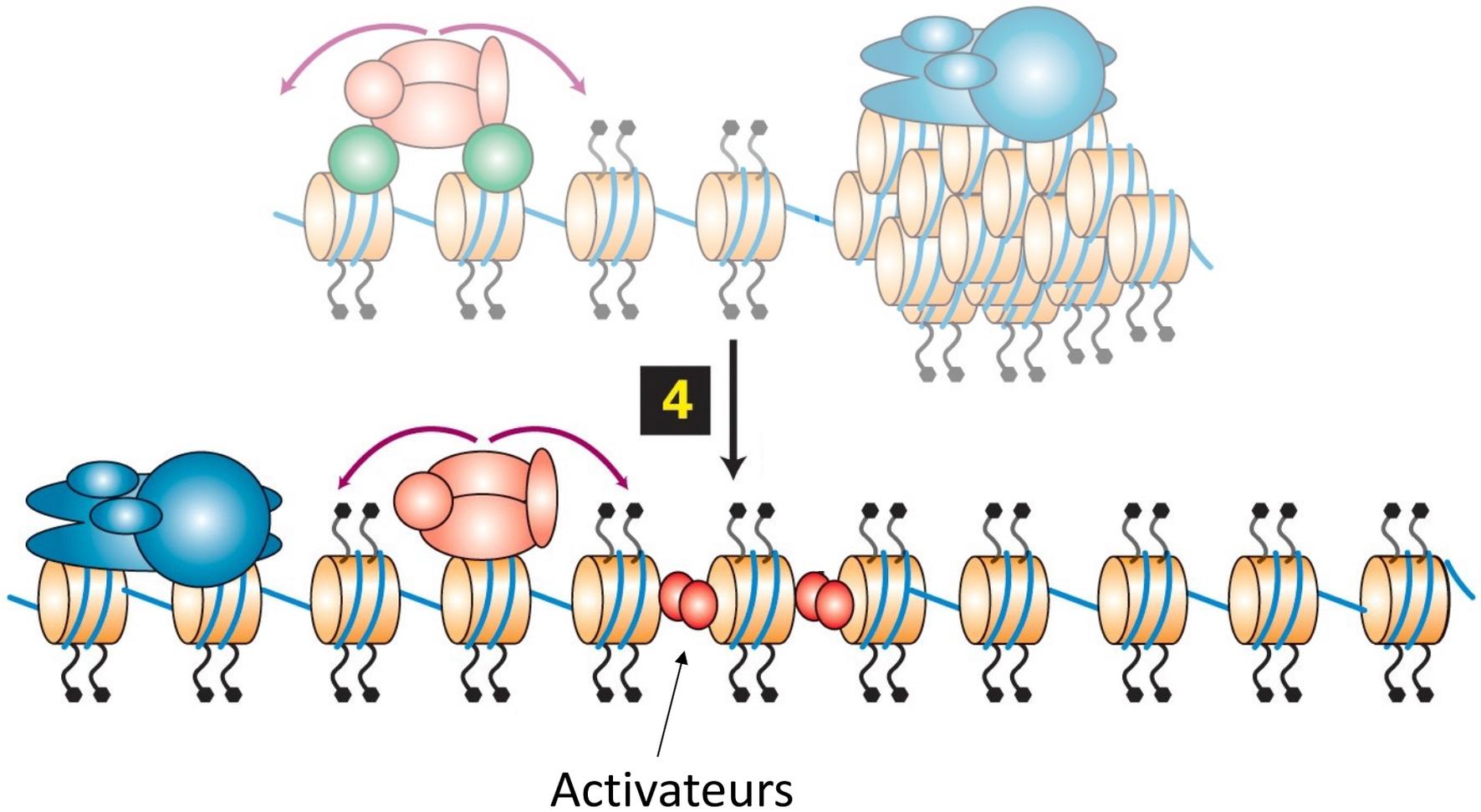
complexe de remodelage  
(10-12 protéines)  
Activité ATPase



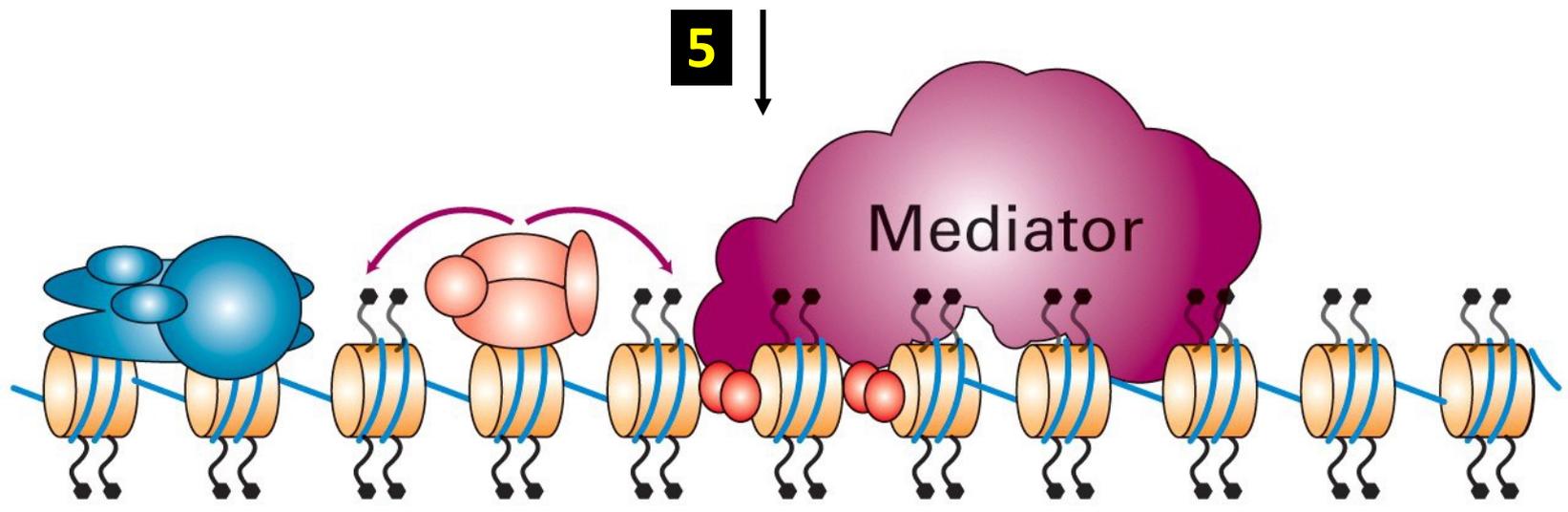
# Remodelage couplé avec recrutement de GCN5



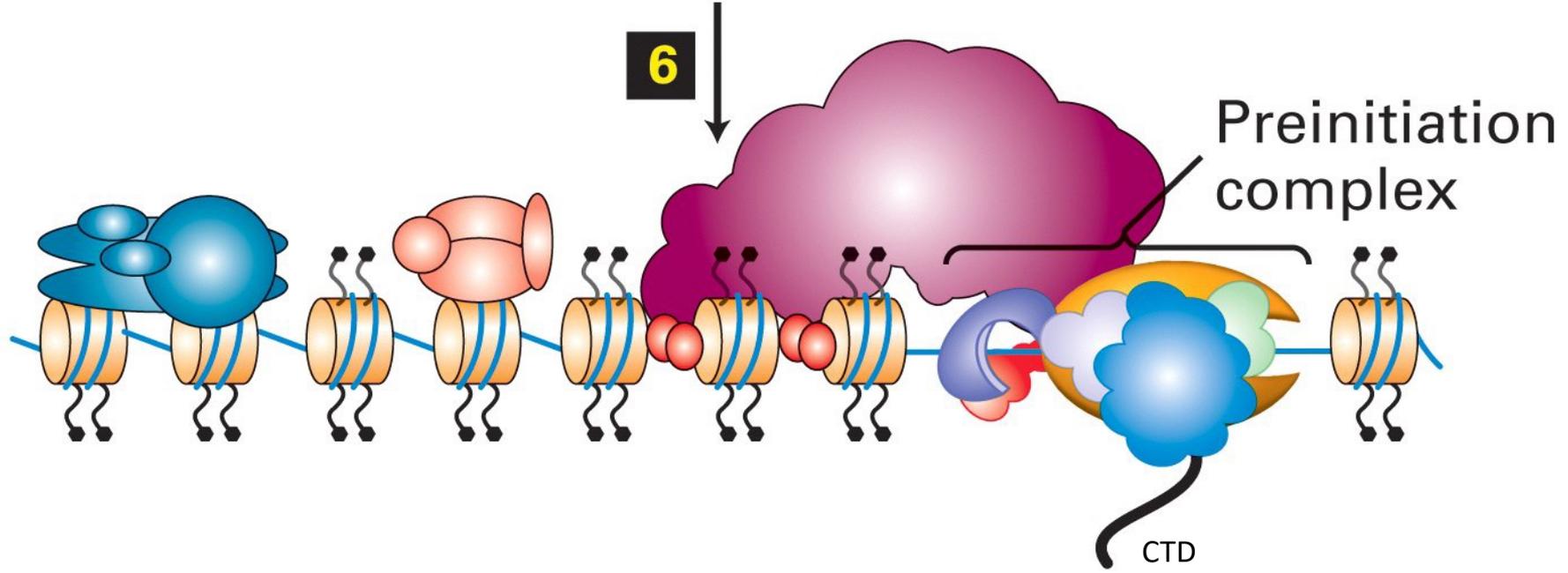


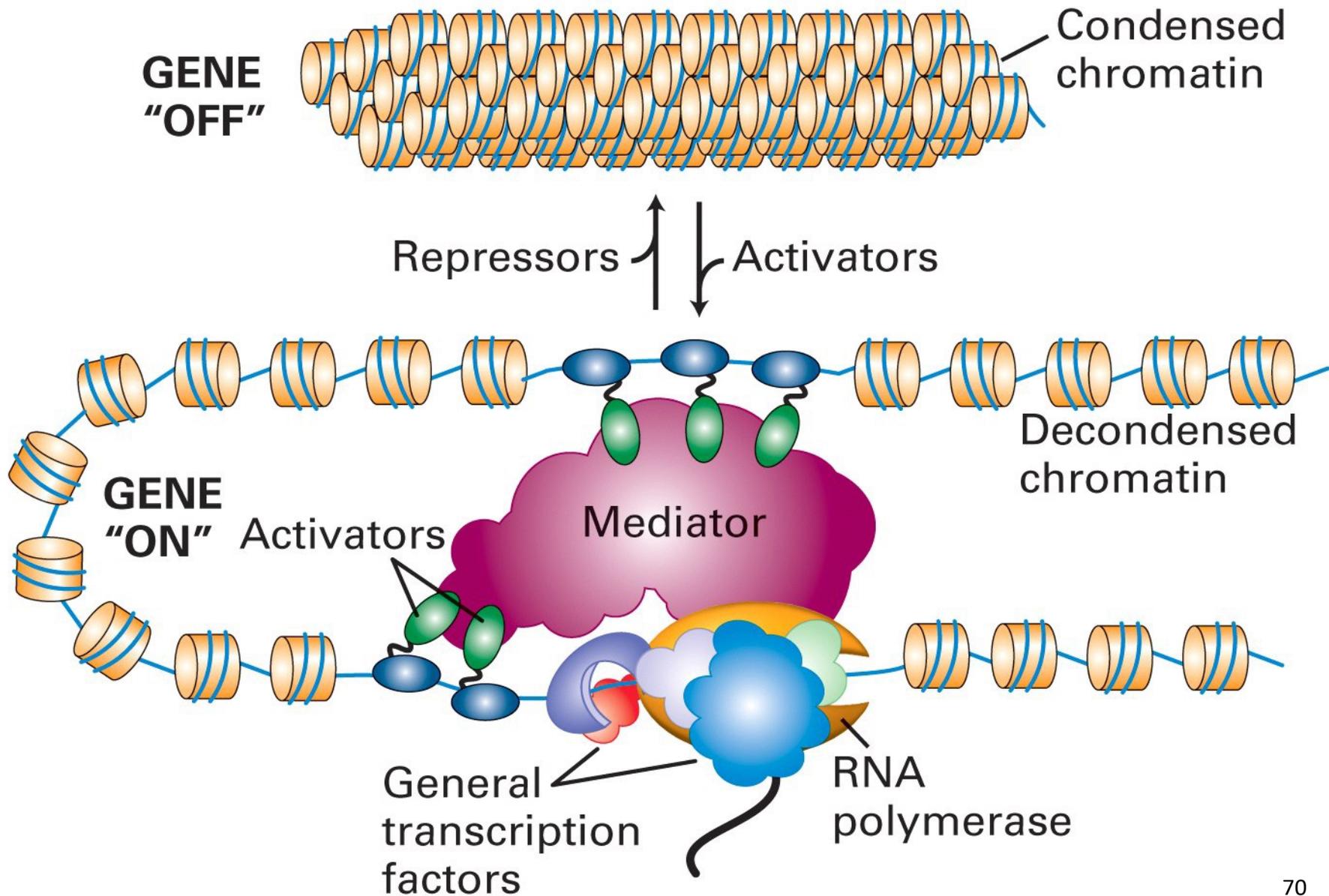


5

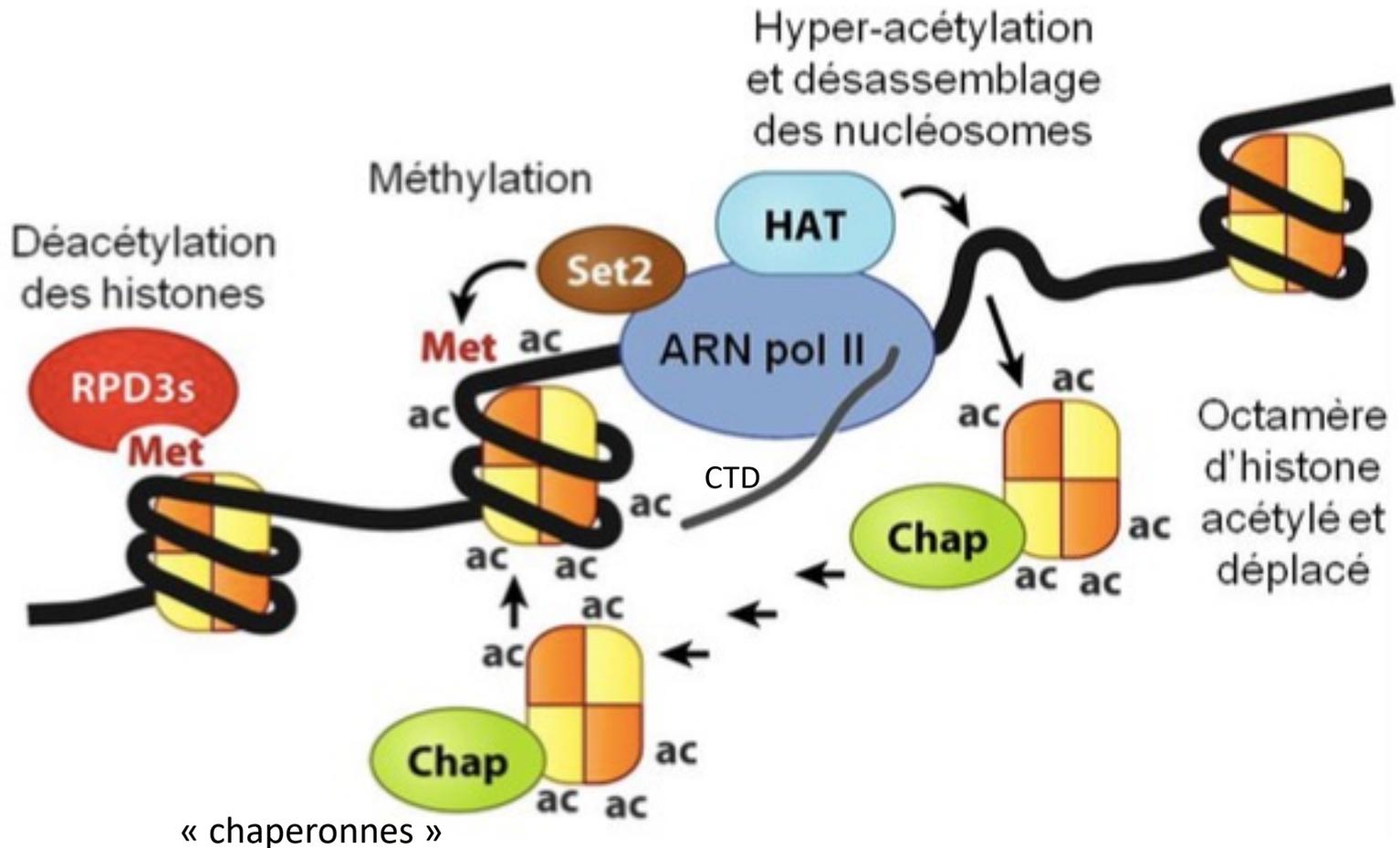


6





# Chromatine pendant l'élongation



# Histone *writers, erasers, readers*

*Jenuwein & Allis, 2001*

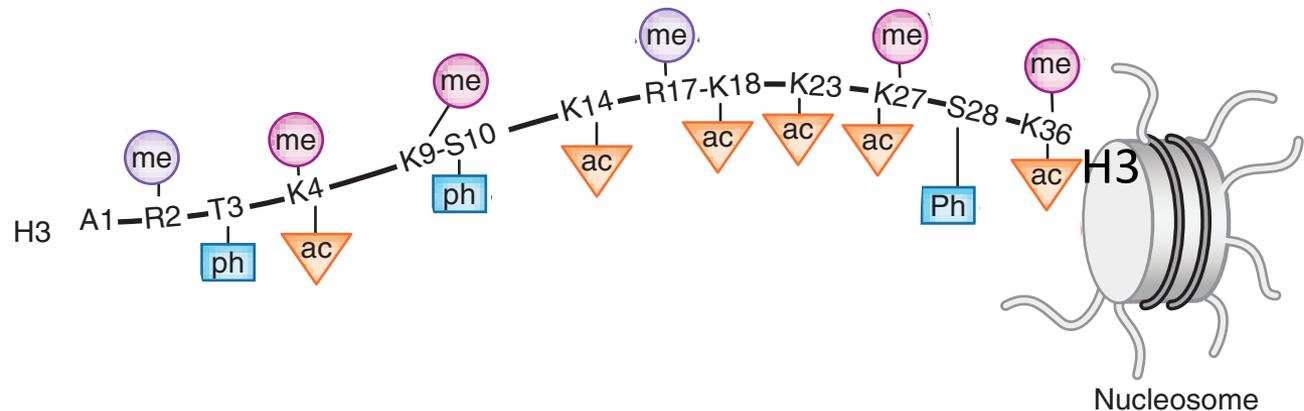
Métaphore:

- *Writer*: « écrit » les marques d'histone (par ex. HAT)
- *Eraser*: « efface » les marques d'histones (par ex. HDAC).
- *Reader*: tous les facteurs qui reconnaissent les marques

# Les marques d'histones forment un code épigénétique\*

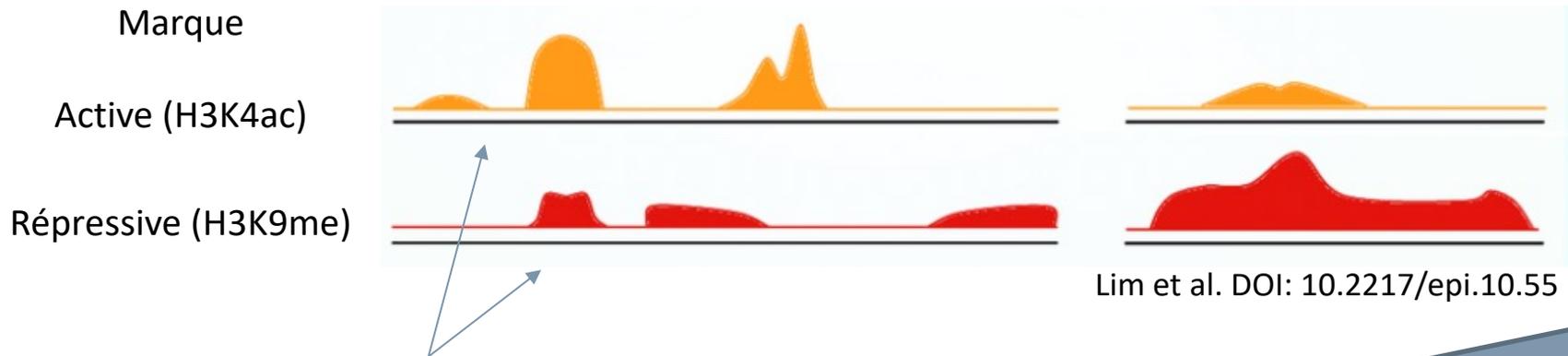
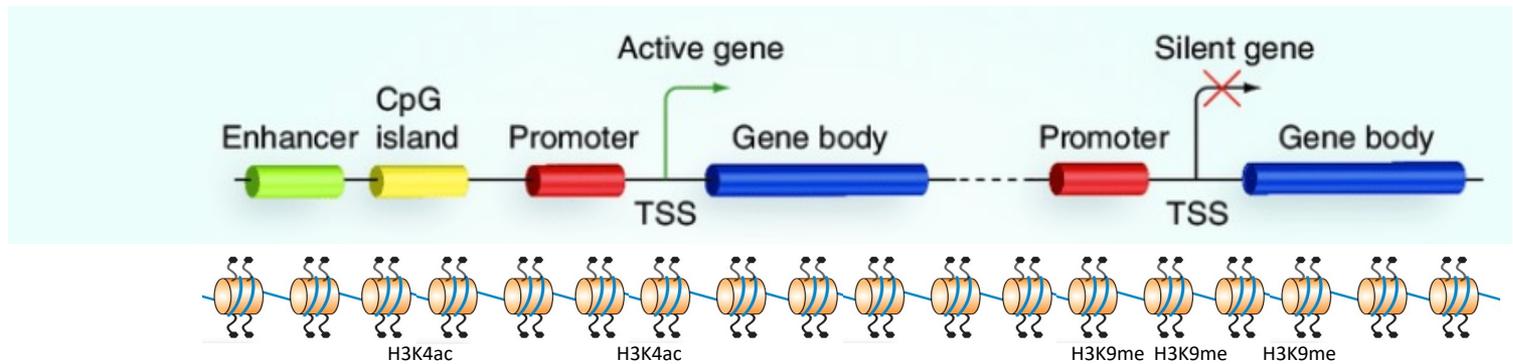
*Strahl & Allis, 2000*

- Les marques définissent un code d'expression/répression tout au long du génome
- Ce code est distinct du code génétique: épigénétique



\*« *epi* » (grec) = « au dessus »

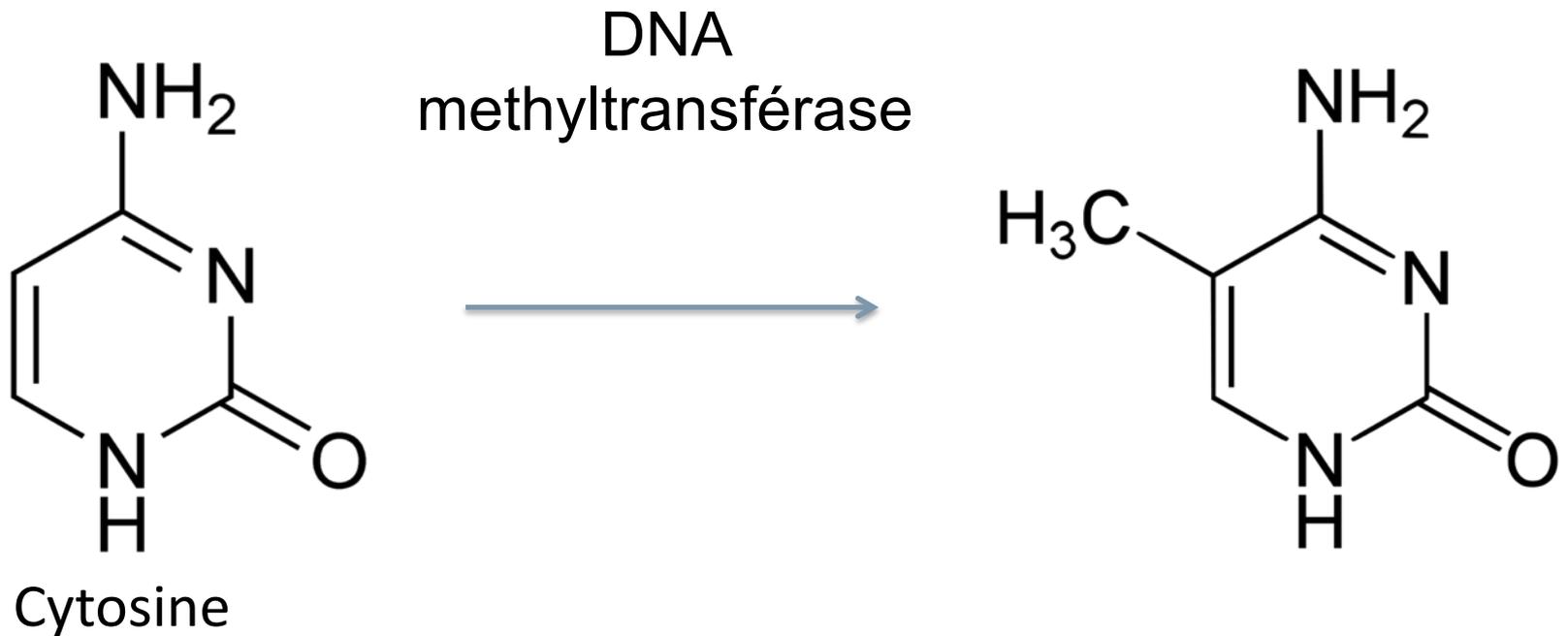
# Par immunoprecipitation de chromatine (ChIP), on peut visualiser le "code d'histone" sur l'ADN



Résultat de 2 expériences de ChIP  
Pour 2 marques d'histone (il y en a des dizaines)

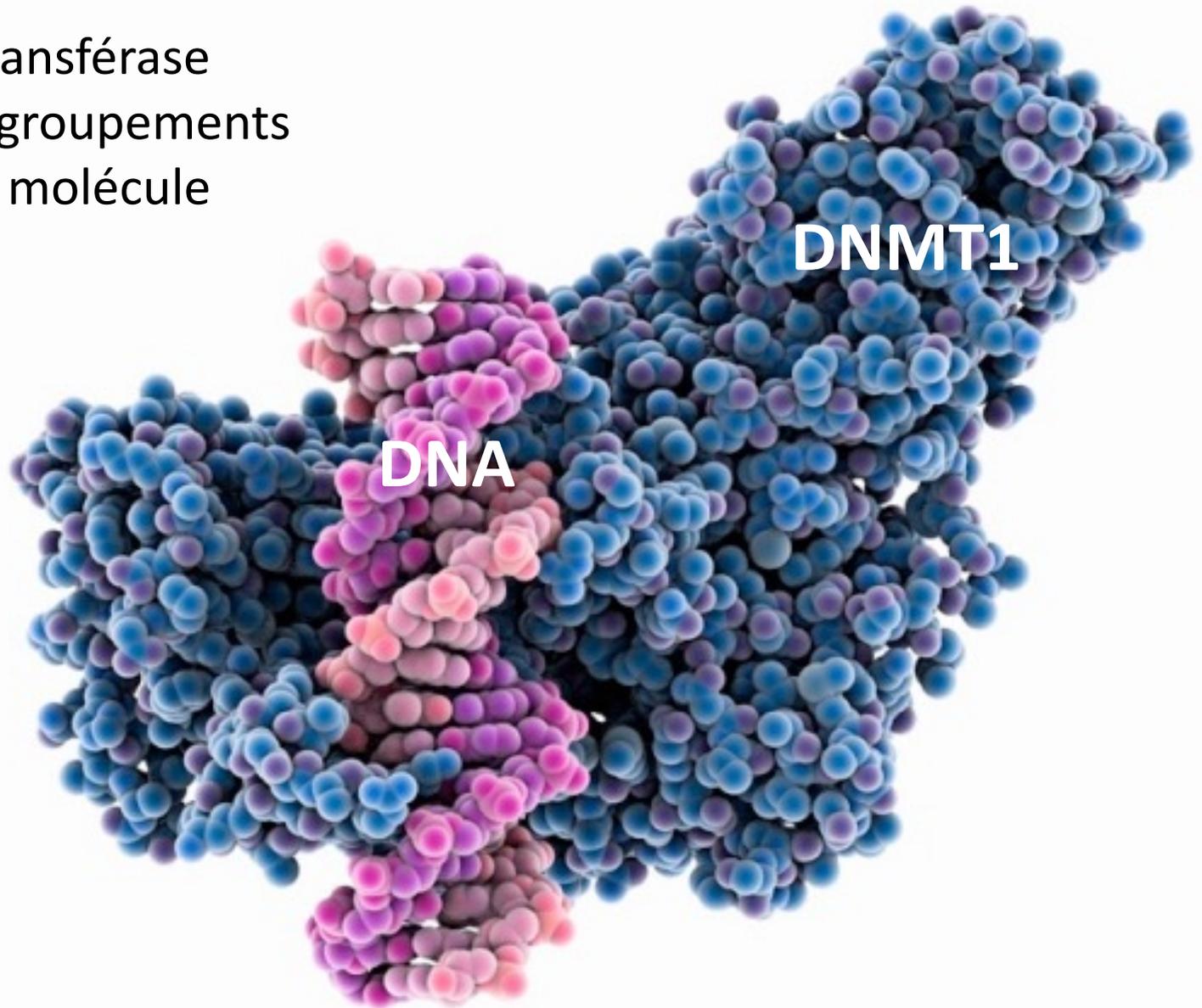
Voir TD "Aspergillus"

# Autre marque épigénétique: méthylation de l'ADN



Principal mécanisme: méthylation des cytosines  
(chez tous les eucaryotes)

Une méthyltransférase  
ajoutant des groupements  
méthyl à une molécule  
d'ADN



# Variations de la méthylation

- Chez les eucaryotes, lorsque le promoteur d'un gène est méthylé, le gène en aval est *en général* réprimé.
- L'exposition aux carcinogènes, le régime alimentaire modifient la méthylation
- Les cancers modifient profondément la méthylation
- Au cours du vieillissement, on observe généralement:
  - un gain de méthylation aux promoteurs
  - une perte de méthylation ailleurs

- Donc, code épigénétique =
  - Marque d'histones
  - Méthylation de l'ADN

Le code épigénétique peut-il être transmis?

# Epigénétique et transmission

- Sur la chromatine lors de la réplication :
  - Présence d'histone-writers/erasers: reproduisent les marques sur la nouvelle chromatine
  - Présence de DNMT1: reproduit les méthylations du brin complémentaire
- Donc le code est héritable
- Mais, contrairement au code génétique, celui-ci peut-être acquis pendant la vie de la cellule.

# Méthylation, épigénétique et buzz

The image shows two overlapping screenshots. The background is a screenshot of a **Biological Psychiatry** article page. The article title is "Holocaust exposure induced intergenerational effects on *FKBP5* methylation". The authors listed are Rachel Yehuda, PhD, Nikolaos P. Daskalakis, MD, PhD, Linda M. Bierer, MD, Heather N. Bader, BS, Torsten Klengel, MD, Florian Holsboer, MD, PhD, and Elisabeth B. Binder, MD, PhD. The article was published online on August 12, 2015. Overlaid on top of this is a screenshot of a **Slate** article in French. The title is "Le traumatisme de l'Holocauste se transmet génétiquement". The article is dated 23.08.2015 - 15 h 05.

- L'épigénétique permet en théorie la transmission de caractères acquis (à la Lamarck)
- Rare chez l'animal (remise à zero des marques épigénétiques dans l'embryon)

The image is a screenshot of a **nature** news article. The article title is "A dad's diet affects his sperm – and his sons' health". The subtitle is "Mouse fathers who ate high-fat foods and human fathers with high body-mass index have male offspring with metabolic disorders." The article is by Julian Nowogrodzki and is dated 05 June 2024. Below the text is a photograph of several sperm cells, showing their heads and long tails, against a blue background.