

Résumé – Régulation du génome

I. Introduction

Le transcriptome est l'intermédiaire entre les gènes et leur expression, c'est l'ensemble des ARN.

- L'ensemble des protéines s'appelle le **protéome** ;
- Toutes nos cellules possèdent le même génome donc :

C'est la régulation de l'expression des gènes qui permet d'avoir différents tissus cellulaires au sein d'un même organisme (tissu musculaire, tissu nerveux, épiderme, etc.).

- La régulation est **essentiellement transcriptionnelle chez les eucaryotes**, même si les protéines sont également soumises à une sorte de contrôle qualité ;
- Le transcriptome représente **l'ensemble des gènes actifs à un moment donné, dans un tissu donné et dans des conditions données.**

II. Régulation transcriptionnelle

A. Opéron lactose

- Notion importante chez les procaryotes : un opéron est **unité d'ADN fonctionnelle** qui regroupe différents gènes sous la dépendance d'un **même promoteur** ;

- Observations faites chez les bactéries qui s'adaptent à leur milieu nutritif : **les bactéries avaient acquis la capacité de cliver le lactose pour générer du glucose et ainsi se développer de nouveau lorsqu'on les privait de glucose au départ** ;
- Découverte de l'opéron lactose.

3 gènes sous la dépendance d'un même promoteur : LacZ et 2 gènes pour l'entrée et la sortie de glucose. En amont, on trouve le gène LacI qui code pour une protéine répressive (bloque le promoteur et donc l'opéron).

Pour activer le promoteur → Pas de protéine répressive, et CAP doit avoir lié l'AMPc et être fixé au promoteur :

- 1) Présence de glucose et absence de lactose → Pas besoin de transcription ;
 - 2) Présence de lactose mais pas de glucose → Séquestration du répresseur et formation de cAMP → Expression de LacZ et production de béta-galactosidase ;
 - 3) Glucose et lactose sont présents → Séquestration du répresseur mais pas de formation de cAMP car on utilise directement le glucose.
- Régulation en fonction de l'environnement.

Il y aura alors la formation ou non de cAMP, qui est l'une des deux conditions nécessaires à la transcription de l'opéron lactose. L'autre condition étant la séquestration du répresseur par le lactose lui-même.

B. Promoteur

1. Structure du promoteur

- Facteur cis → Séquences situées sur le **même brin** d'ADN, en amont du gène. Elles sont **identiques pour toutes les cellules** ;
- **Facteurs protéiques trans** → séquences dans une autre région du génome. Leur expression est **différente selon le type cellulaire** ;

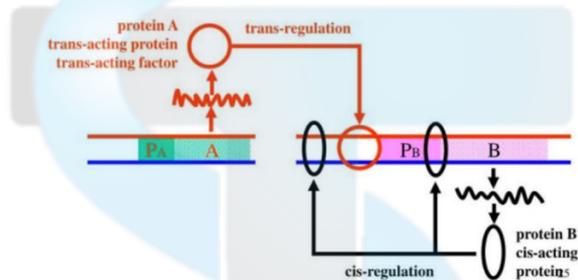


Schéma de la régulation d'un gène B.

- Un gène peut aussi s'auto-réguler, on parle de **boucle de rétrocontrôle**.

Différentes régions dans un promoteur :

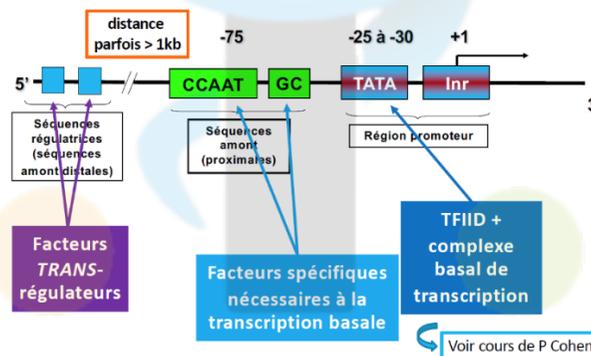


Schéma des différentes régions d'un promoteur = séquences régulatrices.

- Les séquences cis-régulatrices distales sont aussi appelées **éléments de réponse** ;
- Une **séquence activatrice** est un **enhancer**, une **séquence inhibitrice** est un **silencer**.

La régulation transcriptionnelle dépend de la nature des facteurs trans qui lient les séquences cis distales en réponse à des stimuli externes spécifiques au tissu.

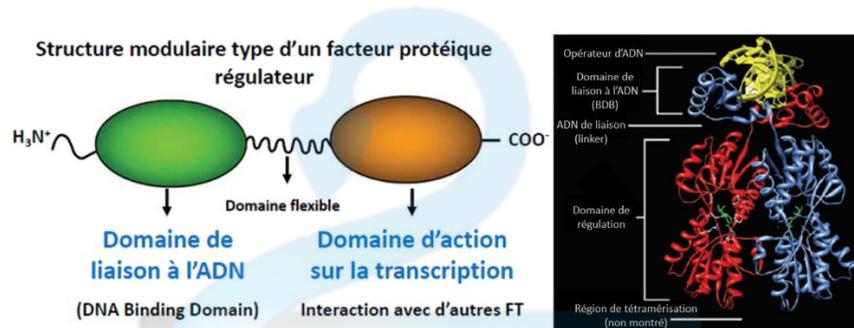
La conformation créée par la liaison des facteurs généraux de transcription plus des facteurs *trans* au promoteur distal conduit au recrutement du médiateur, qui va positionner l'ARN polymérase exactement au niveau du site d'initiation de la transcription.

C'est la combinaison spatiale des facteurs basaux et des facteurs trans de transcription qui permettent de bien positionner le médiateur et l'ARN polymérase, et donc au final de démarrer la transcription au bon endroit.

2. Facteurs trans-régulateurs

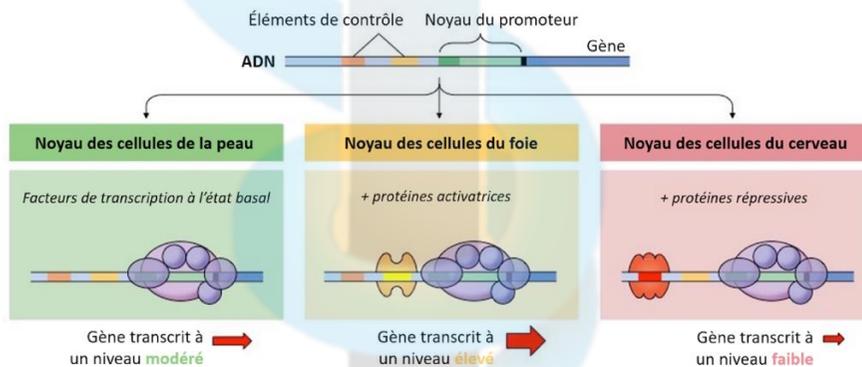
- Protéines synthétisées et activées dans un tissu donné à un moment donné ;
- 2 domaines fonctionnels : un **domaine de liaison à l'ADN (DNA Binding Domain : DBD)** et un **domaine de transactivation (TAD)** ;
- Les principaux DBD sont : Les **dimères de zinc finger**, les **dimères de Leucine Zipper** et les **protéines à homéodomains**.

⚠ Les structures des différents DBD sont à connaître.



Exemple de facteur trans régulateur sous forme de dimère.

Les protéines agissent généralement par encombrement stérique.



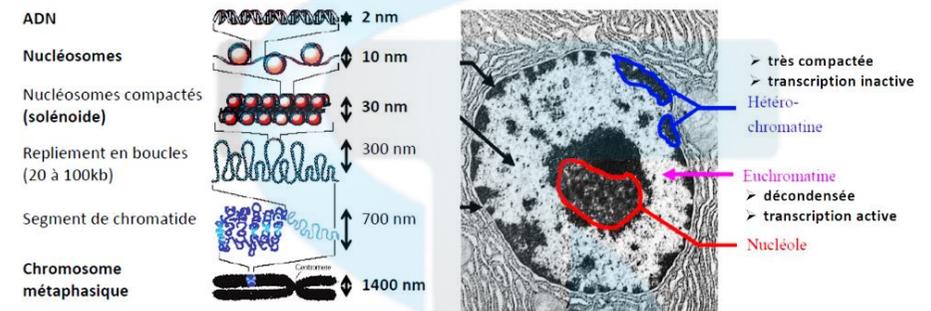
Exemple de régulation tissu spécifique de l'expression des gènes.

3. Protéine p53

- Facteur de transcription suppresseur de tumeur capable de se fixer sur les promoteurs de plusieurs gènes. Il est actif sous forme de tétramère ;
- Il reconnaît une séquence répétée du promoteur riche en Arginine et en Tyrosine ;

- Tous les gènes régulés par p53 portent cette séquence → Intérêt en séquençage ;
- Il induit l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose dans les cas où les dommages sont trop importants.

C. Épigenétique de l'ADN



L'épigénétisme : repères de taille (à gauche) et de localisation (à droite).

1. Compactions

- La compaction de la chromatine est importante dans la régulation des gènes. Cette compaction permet ou non l'accès des facteurs de transcription à leurs gènes cibles ;
- 2 zones : l'**hétérochromatine**, très compactée où la transcription est moins active et l'**euchromatine**, zone peu compactée où la transcription est très active ;
- Le nucléole est une zone dans le noyau cellulaire où la transcription est très active. C'est dans cette zone que sont synthétisés les **ARNr**.

2. Codes des histones

C'est la modification des histones qui va permettre la compaction de la chromatine.

L'acétylation va permettre la décondensation tandis que la méthylation va plutôt permettre la condensation de l'ADN.

Il y a donc **intégration de « marques » (= modifications) épigénétiques activatrices et inhibitrices** par les histones.

C'est le mélange des deux qui permet une **régulation fine** du code des histones.

Sur une même histone nous pourrions retrouver des marques activatrices et inhibitrices d'épigénétique.

	<u>Transcription active</u>	<u>Transcription inactive</u>
État de la chromatine	Ouverte (euchromatine)	Condensée (hétérochromatine)
Acétylation des histones	Histones acétylées	Histones désacétylées et méthylées
Méthylation de l'ADN au niveau des îlots CpG	Faible méthylation	Forte méthylation

D. Empreinte parentale

Il existe une empreinte parentale qui sort de cette hérédité mendélienne, elle est liée à une **méthylation différentielle** de certaines régions du génome du père et de la mère. Cela conduira à la répression stable d'une des copies du gène.

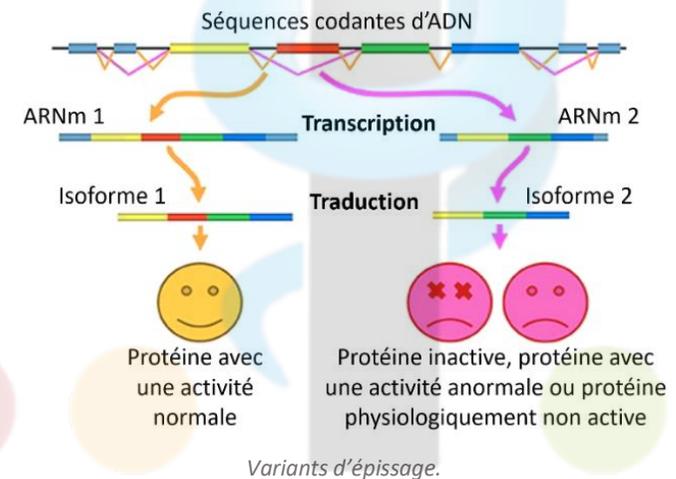
E. Transduction du signal

Il existe des **signaux extracellulaires** qui vont permettre la régulation de l'expression des gènes. **Les facteurs de transcription sont régulés par des signaux de l'environnement cellulaire.**

III. Régulation post-transcriptionnelle

A. L'épissage

- Retrait des introns pour obtenir une succession d'exons codants ;
- Chaque intron possède un **site donneur d'épissage** au début (nucléotides GT) et un **site accepteur d'épissage** à la fin (nucléotides AG), ainsi qu'un site de branchement avec une adénosine A. On les appelle **sites de splicing** ;
- Un même pré-ARN-messager pourra donner lieu à différents ARN messagers : c'est ce qu'on appelle **l'épissage alternatif**.



1. ESE ou ISE

- Permettent la fixation de protéines SR et favorisent l'épissage ;
- Certains **ESE seront plus ou moins forts, c'est à dire que l'affinité du site pour la protéine SR sera plus ou moins importante.**

2. ESS ou ISS

- Permettent la fixation de protéines empêchant le recrutement du spliceosome.

B. Edition de l'ARN

L'édition de l'ARN après la transcription va également permettre la régulation.

1. Modifications de base : exemple du gène de l'apolipoprotéine B

Ce gène donne des isoformes différents en fonction du tissu. Dans le foie, la protéine sera complète avec 2 domaines (on l'appelle ApoB100). Cependant, dans l'intestin, il y a une modification d'une base de l'ARN par **désamination oxydative**, entraînant la production d'un codon STOP prématuré (on l'appelle ApoB48).

C. ARN non codants

Un **ARN non codant** simple ou double brin **interfère** avec un ARNm spécifique, conduisant à sa **dégradation** et/ou à la **diminution de sa traduction** en protéine.

1. Les ARNi

- ARN simple ou double brin qui induisent la dégradation ou la diminution de la traduction d'un ARNm spécifique,
- 2 classes :

- les ARNsi : double brin, d'origine exogène ;
- les ARNmi : simple brin, d'origine endogène. Ils ont une structure particulière appelée **harpin**.

2. Les miARN

- Transcrits en **pré-miARN non matures** ayant la capacité de s'hybrider sur eux-mêmes et de créer une **structure en épingle à cheveux** ;
- **Clivage pour obtenir un miARN mature** ;
- 3 mécanismes d'action :
 - hybridation par complémentarité parfaite à l'ARNm cible créant une structure double brin entraînant son **clivage et sa dégradation** ;
 - complémentarité non-parfaite (généralement sur la 3'UTR) entraînant l'élimination de la queue poly-A, c'est la **dé-adenylation** ;
 - **blocage de la traduction**.

3. Les lncARN

- Agissent comme facilitateurs de plusieurs manières :
 - en permettant **l'interaction entre deux protéines**, on parle **d'effet allostérique** ;
 - servent d'échafaudage pour amener des facteurs de transcription, c'est l'effet **scaffold** ;
 - se fixent directement sur l'ADN ;
- Le lncARN **Xist** permet d'inactiver un chromosome X chez la femme en recrutant des histones désacétylases. C'est la **lyonisation de l'X**.

D. Régulation traductionnelle : la voie mTor

- Les protéines eIF recrutent la petite sous-unité du ribosome pour l'initiation de la traduction, notamment **eIF4E** ;

- eIF4E est sequestrée par 4EBP1 sauf quand elle est phosphorylée.

La régulation de l'initiation de la traduction se fait donc au niveau de la phosphorylation de 4E-BP1 qui séquestre eIF4E.

1. Voie mTor de régulation de l'initiation de la traduction

- Beaucoup de facteurs vont activer la voie mTor pour initier la traduction ;
- mTor permet de phosphoryler 4E-BP1 et donc de libérer eIF4E.

2. Chimiothérapies contre la voie mTOR

- La **rapamycine** permet d'inhiber mTor et donc de bloquer la traduction dans les cellules cancéreuses.

E. Régulation traductionnelle : métabolisme du fer

- La pathologie liée à un excès de fer est appelée **hémochromatose** ;
- Dans nos cellules, le fer en excès est stocké grâce à une protéine, la **ferritine**. Dans le cas où l'on manque de fer, celui-ci va rentrer dans les cellules grâce à la **transferrine** ;
- La régulation du fer est traductionnelle et basée sur la **structure secondaire d'ARNm** qui vont former des **séquences de réponses au fer IRE**. Les IRE vont fixer des IRP (appelée aconitase) ;
- Lorsqu'il n'y a pas de fer, les protéines IRP vont se fixer sur les IRE ;
- Lorsqu'il y a du fer : l'affinité de l'IRP pour le fer est forte et cela va entraîner le déplacement et la libération des IRE.

1. La ferritine

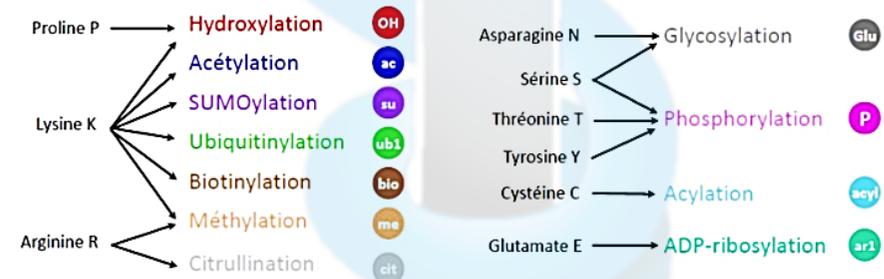
Elle possède dans sa partie 5'UTR un IRE. Si l'IRP est présent, il n'y aura pas de traduction. Or s'il y a **beaucoup de fer**, l'IRP fixe le fer et est déplacé permettant au ribosome d'**initier la traduction**.

2. La transferrine

L'IRE se situe en 3'UTR. Peu de fer signifie que les IRP sont fixés sur les IRE situés en 3'UTR qui vont **stabiliser l'ARNm**. Lorsqu'il y a beaucoup de fer, les IRP ne pourront plus se fixer et les IRE se retrouvent riches en régions AU = motifs qui vont **déstabiliser l'ARNm**.

IV. Modifications post-traductionnelles des protéines

- Ces modifications sont généralement apportées par des enzymes ;
- Elles permettent une régulation fine de la fonction des protéines et de la signalisation cellulaire.



Modifications post-traductionnelles.

A. La phosphorylation

1. Les AA concernés

- **Sérine, thréonine et tyrosine** ;
- Les enzymes transférant un groupement phosphate sont appelées les **kinases**. La **tyrosine kinase** représente 17 % du total ;
- Les enzymes enlevant un groupement phosphate sont appelées les **phosphatases**.

B. L'hydroxylation

- **Proline et lysine ;**
- **HIF1 α** est un **facteur de transcription** qui va être **activé en cas d'hypoxie** :
 - il possède différents domaines : un domaine et liaison à l'ADN, un domaine de transactivation et un domaine de dimérisation ;
 - il y a également un **domaine de dégradation** contenant des prolines : si ces **prolines sont hydroxylées**, HIF1 α va être **dégradé**. Ainsi, une cellule possédant beaucoup d'oxygène va avoir une activation des **prolines hydroxylases** et cela conduit à **l'inactivation de HIF1 α** ;
 - s'il il y a peu d'O₂, il y a nécessité d'**activer HIF1 α** . Ainsi, s'il y a peu d'oxygène il n'y aura **pas d'hydroxylation** de ces prolines.

C. La glycosylation

- **Asparagine ou sérine ;**
- La spécificité des groupes sanguins A,B et O réside dans la manière de glycosyler chaque protéine en fonction des enzymes que l'individu va exprimer.

D. La méthylation

- **Lysine ou arginine.**

V. Dégradation des protéines

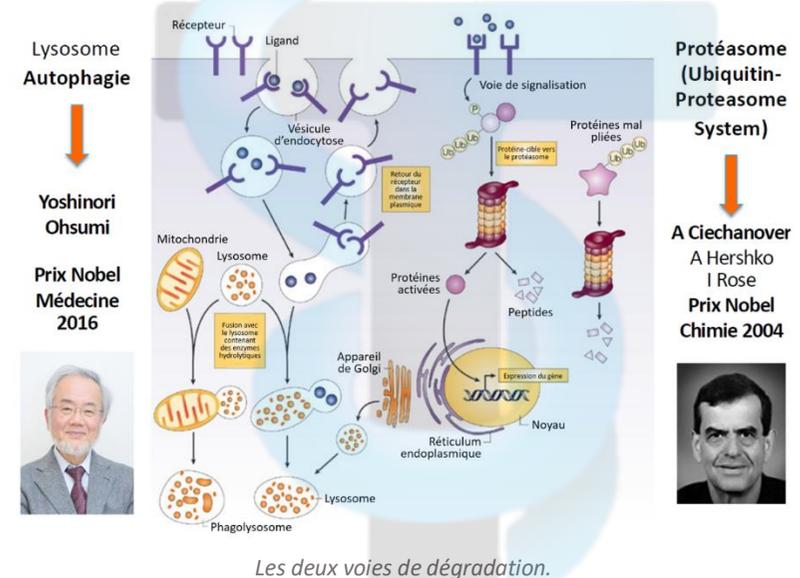
A. Généralités

Les protéines ont une **demi-vie** liée à leur séquence.

Le but est de renouveler les protéines intracellulaires, d'empêcher les protéines qui ont des altérations de persister, d'éliminer les protéines qui sont mal repliées ou anormales et contrôler la signalisation à l'intérieur de la cellule.

2 voies de dégradation :

- Le lysosome qui dégrade la plupart des macromolécules biologiques comme des protéines ou des mitochondries ;
- Le protéasome.



L'ubiquitine est une petite protéine dont le rôle est d'établir une liaison amide avec le COOH C-term de la glycine terminale et un NH₂ de la protéine substrat.

Il y a plusieurs types d'ubiquitinations :

- La **mono-ubiquitination** : une seule ubiquitine se lie à la protéine ;
- La **multi-monoubiquitination** : plusieurs ubiquitines se lient à la protéine dans des régions différentes ;

- La **poly-ubiquitination** : plusieurs ubiquitines se lient les unes sur les autres sur une seule région de la protéine.

La **poly-ubiquitination** entraîne une **dégradation** de la protéine poly-ubiquitylée par le **protéasome**.

Il y a 3 étapes successives réversibles (par la déubiquitinase) :

- 1) Activation d'une molécule d'ubiquitine puis transfert de cette ubiquitine sur E1 ;
- 2) Transfert de l'ubiquitine de E1 sur E2;
- 3) E2 interagit avec E3 ce qui permet le transfert de l'ubiquitine sur une des Lysines de la protéine cible.

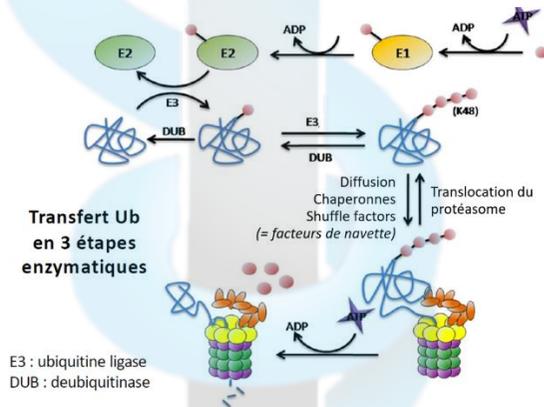


Schéma du mécanisme de multi-ubiquitination.

Une fois la protéine **poly-ubiquitylée**, elle est reconnue par la coiffe du protéasome qui la digèrera en pleins de petits peptides.

Le **protéasome** sert à :

- La **signalisation intracellulaire** (ex : dégrader un récepteur à la membrane pour stopper un signal) ;
- La dégradation des protéines mal repliées ;
- Le recyclage des AA ;

- Contrôle de la localisation sub-cellulaire ;
- Contrôle temporelle au cours du développement.

B. Voie p53

La protéine p53 a la particularité d'activer **MDM2** qui est une **ubiquitine ligase** qui va réguler sa propre stabilité.

Lorsqu'il n'y a pas de dommages de l'ADN, **MDM2** sera beaucoup transcrit et va poly **ubiquityler p53** et **entraîner sa dégradation**. Dans une cellule normale nous ne retrouvons **pas de p53 stable** puisqu'il est transcrit mais aussitôt dégradé.

Lorsqu'il y a des dommages de l'ADN : la protéine **ARF** va **séquestrer MDM2**. Cela permet à p53 de ne plus être dégradé et d'être stabilisé pour aller transcrire les autres gènes.