« L'importance fonctionnelle des interactions ADN – protéines »

On se limitera au cas des cellules eucaryotes.

Introduction :

- Définir les termes du sujet :
  - ADN : polymère de nucléotides, support de l'information génétique,
  - Protéine : polymère d'acides aminés, à rôles multiples dans la cellule,
  - Interaction : action ou influence réciproque entre deux objets dans le langage courant, ici au sens (physique) de liaison entre les deux catégories de molécules qui a des conséquences fonctionnelles.

- Délimiter le sujet et amener la problématique :

Les cellules eucaryotes sont caractérisées par la présence d'un noyau, qui contient le génome nucléaire sous forme de chromatine : l'ADN est associé à des protéines. Le bon fonctionnement de la cellule repose sur l'intégrité, et donc la **stabilité** de l'information génétique contenue dans la cellule.

L'ADN contient en effet l'information permettant la synthèse des protéines qui interviennent dans les différents aspects de la vie cellulaire : on parle d'**expression** de l'information génétique, processus qui met en jeu des protéines.

Enfin, l'information génétique est la même dans toutes les cellules somatiques d'un organisme pluricellulaire, cellules qui proviennent d'une cellule-œuf grâce à de nombreuses divisions cellulaires – des mitoses – au cours desquelles il y a donc **transmission** de l'information génétique. Ces mitoses sont caractérisées notamment par la présence d'un fuseau de division constitué de protéines, structure indispensable à leur bon déroulement.

- Problématique :

En quoi les interactions ADN-protéines permettent-elles la stabilité et l'expression de l'information génétique ?

Comment contribuent-elles à la transmission de l'information génétique de la cellule-œuf à l'ensemble des cellules somatiques de l'organisme pluricellulaire ?

- Annonce du plan

I. Interactions ADN – protéines et stabilité de l'information génétique

1. La structure de l'ADN autorise des interactions avec des protéines

- Arguments :

Travaux de Rosalind Franklin (diffraction aux RX) + données de Chargaff (A=T, C=G) → Watson et Crick proposent le modèle en double hélice

- Double hélice, grand / petit sillons → accessibilité aux protéines ; charges – portées par les groupements phosphate des liaisons phosphodiester (polyanion) → aptitude à établir des liaisons ioniques (avec protéines basiques)

[Schéma de la structure de la molécule d'ADN en détaillant le groupement phosphate pour montrer polyanion]

2. La chromatine est constituée d'ADN et de protéines associées

- Arguments :

- Coloration Feulgen en MO : chromatine interphasique et chromosomes mitotiques sont le même matériel dans des états de condensation différents.

- Analyse chimique de la chromatine à partir de noyaux purifiés : chromatine = ADN + protéines, les protéines les plus abondantes sont des histones, protéines basiques riches en LYS et ARG (a. a. à radicaux chargés +)
- Images de MET du noyau interphasique : hétérochromatine très dense / euchromatine diffuse, il existe différents niveaux de condensation de la chromatine interphasique
- Images MET fort G <u>après décondensation de chromatine</u> (donc structure non native) : fibre nucléosomique ; digestion ménagée → les « perles », ou nucléosomes, sont constituées d'un noyau d'histones + 146 pb d'ADN

• Structure nucléosome, fibre nucléosomique (Ø 11 nm ; compaction x6), fibre chromatinienne (Ø 30 nm ; compaction x40), boucles (0,1-0,3 µm de long) → différents états de condensation en lien avec les protéines.

[Schémas fibre nucléosomique et fibre chromatinienne]

3. Les protéines contribuent à la stabilité de l'information génétique lors de son stockage

- La compaction de l'ADN grâce aux histones limite l'accès d'autres protéines à la molécule et contribue à sa protection.
- Des modifications des bases azotées sont possibles hors réplication mais limitées (tautomérie des bases empêchée par l'état bicaténaire, mais agents mutagènes peuvent modifier des bases, ex UV et dimères de thymine – cf cours de BCPST2). Des mécanismes de réparation faisant intervenir des protéines existent.

On pourrait ajouter que des interactions avec des protéines sont mises en jeu dans la diversification du génome :

- *complexe synaptonémal/bivalents et brassages intrachromosomiques en prophase I de méiose,*
- *transposons*

Bilan :

- une structure spatiale de l'ADN qui permet des interactions avec des protéines,
- des interactions ici indépendantes de la séquence nucléotidique : non spécifiques,
- des interactions qui assurent la conservation de l'information génétique lors de son stockage,
- des interactions qui déterminent un niveau de condensation.

Transition :

Le niveau de condensation est un paramètre important de l'accessibilité de l'ADN aux protéines, donc de l'expression de l'IG : quelles sont précisément les interactions ADN – protéines qui interviennent dans cette expression de l'IG ?

II. <u>Interactions ADN – protéines et expression de l'information génétique</u>

1. Les états de condensation de la chromatine déterminent les régions exprimées

• <u>Arguments :</u>

- Hétérochromatine / euchromatine variables d'une cellule à l'autre (ex : corpuscule de Barr)
- ADNase non spécifique → 10 % ADN dégradé, donc peu condensé et en cours de transcription
- Liens entre patron d'acétylation/méthylation des histones et transcriptome : cas du gène FLC chez A. thaliana
- Liens entre patron de méthylation des îlots CG et expression ou non des gènes codant les Ig (spz / plasmocytes)

• Remodelage chromatine par glissement des nucléosomes / par modification des histones des nucléosomes/ par modification de l'ADN lié aux nucléosomes

- Modifications région N-terminales histones : phosphorylation → état condensé inactif, acétylation → état décondensé actif, méthylation → état condensé / décondensé selon le cas), grâce à acétyltransférases, désacétylases….
- Modification ADN par méthylation (hétérochromatine) / déméthylation (gènes actifs) d'îlots CG du promoteur
- Modifications pouvant être induites par des facteurs environnementaux, transmissibles aux cellules filles par mitose ou méiose : notion d'épigénétique

2. *Des protéines indispensables à la transcription d'une région de l'ADN en ARNm*

- L'ARNpol se lie spécifiquement à un site promoteur, en amont de la séquence transcrite
- Séquences consensus spécifiquement reconnues dans les promoteurs des Eucaryotes (argument : effet des mutations ponctuelles sur le taux de transcription) : TATA box (-30 pb), CAAT box (-75 pb), GC box (–90 pb)
- Nécessité de facteurs généraux de transcription TFII qui se lient au promoteur puis permettent la fixation de l'ARNpol
- Les facteurs de transcription possèdent des domaines de fixation à l'ADN (domaines en doigts de zinc, hélice boucle hélice ou fermeture à glissière de leucine)
- Modalités : assemblage dans un ordre précis au niveau de la TATA box du promoteur → complexe d'initiation
- Les étapes de la transcription : initiation, élongation, terminaison

[Schémas organisation du promoteur des Eucaryotes, un ex de domaine de fixation à l'ADN d'un facteur de transcription, bulle de transcription]

3. *Des protéines qui régulent l'expression des gènes*

- Des facteurs spécifiques de transcription possédant des domaines de liaison à l'ADN (les mêmes que pour les facteurs généraux) se fixent sur des séquences enhancer ou silencer et interagissent avec le complexe d'initiation de la transcription en recrutant des co-facteurs, cette interaction favorise ou gêne la liaison de l'ARNpol au complexe d'initiation et augmente ou diminue le taux de transcription
- Cas des récepteurs aux hormones stéroïdes : ils se lient à des séquences spécifiques de l'ADN (HRE) et activent la transcription de gènes cible. De plus ils recrutent des acétyle transférases modifiant les histones (→ remodelage de la chromatine).

[Schémas interaction séquences enhancer/facteurs trans et complexe d'initiation, contrôle expression par une hormone stéroïde]

Bilan :

- des interactions ici spécifiques (reconnaissance de séquences de nucléotides),
- des interactions particulièrement nombreuses : les cellules eucaryotes sont caractérisées par l'aspect dynamique de la chromatine qu'elles contiennent.

Transition :

Cet aspect dynamique intervient également dans la condensation de la chromatine en chromosomes lors de la mitose : quelles sont précisément les interactions ADN – protéines qui interviennent dans la transmission de l'IG d'une cellule-mère aux cellules-filles ?

III. <u>Interactions ADN – protéines et transmission de l'information génétique</u>

1. *L'interaction de protéines avec l'ADN détermine la réplication de l'information génétique*

- <u>Arguments :</u>
- Hypothèse de W et C : réplication semi-conservative, mais nécessité de rompre des liaisons H → intervention d'enzymes ?
- Observation en MET d'ADN en phase S de l'interphase : plusieurs yeux de réplication par chromosome eucaryote → il y a séparation des deux brins de la molécule d'ADN lors de la réplication.

- Réplication : pendant la phase S de l'interphase, semi-conservative et bidirectionnelle
- Les différentes étapes de la réplication :
  - Ouverture de la molécule par une enzyme (hélicase) au niveau de plusieurs sites origine de la réplication pour les chromosomes eucaryotes

- L'ADN pol catalyse la polymérisation de désoxyribonucléotides à partir d'une amorce d'ARN (synthétisée par une autre enzyme) dans le sens 5' – 3' (et couplage : hydrolyse liaison P – P finance la polymérisation)
- Elongation continue sur le brin direct, discontinue avec de nombreuses amorces d'ARN sur l'autre brin → fragments d'Okasaki qui seront ensuite liés entre eux par d'autres enzymes.

- Fidélité de la réplication : $1/10^9$ grâce à l'activité auto-correctrice de l'ADN pol.

[Schéma fourche de réplication]

2. L'interaction de protéines avec l'ADN permet la compaction de la chromatine en chromosomes lors de la mitose

- Condensation de la chromatine en chromosomes : compaction x 10 000 pour le chromosome métaphasique,
- Condensation déclenchée par la phosphorylation des histones H1 et H3 en début de mitose, déphosphorylation en fin de mitose et retour à la forme décondensée.
- Chromosome métaphasique = forme compacte aisée à répartir de manière équitable et sans altérer le matériel génétique.

[Schéma chromosome métaphasique avec kinétochores]

3. L'interaction de protéines avec l'ADN permet la répartition équitable de l'IG lors de la mitose

- <u>Arguments :</u> utilisation colchicine qui inhibe polymérisation MT et bloque la mitose.

- Interaction chromosome métaphasique / fuseau mitotique : permise par les protéines du kinétochore (localisées au niveau des séquences CEN) sur lesquelles se fixent les microtubules kinétochoriens lors de la prémétaphase,
- *Pouvait être mentionné : rôle des cohésines dans la liaison aux MT et la cohésion entre chromatides – cf DS 5*
- Les microtubules kinétochoriens permettent le placement des chromosomes dans le plan équatorial lors de la métaphase.
- Lors de l'anaphase la dépolymérisation des microtubules kinétochoriens permet la migration des chromatides vers les pôles de la cellule et la formation de deux lots identiques de chromatides.
- Les lamines ont des séquences de liaison aux chromosomes, ce qui facilite la reconstitution de l'enveloppe nucléaire autour de ceux-ci lors de la télophase.

[Schémas prémétaphase / métaphase / anaphase]

Bilan :

Des interactions spécifiques et non spécifiques permettent de produire deux molécules d'ADN identiques et de les transmettre l'une d'entre elles à chacune des deux cellules-filles.

<u>Conclusion :</u>

Il existe deux types d'interactions : spécifiques et non spécifiques. Ces interactions reposent sur les caractéristiques structurales de l'ADN et des protéines, qui déterminent l'aptitude de ces molécules à établir des liaisons entre elles, et ont des conséquences fonctionnelles fondamentales, puisqu'elles interviennent dans les différents aspects que revêt la fonction de l'ADN :

- sa stabilité en tant que support de l'information génétique,
- son expression, variable d'une cellule à l'autre et donc contrôlée,
- sa transmission de manière conforme à l'ensemble des cellules de l'organisme.

Ainsi, l'intégrité et les fonctions de cette molécule sont étroitement liés à la présence de protéines aux fonctions variées.

Or… La présence de ces protéines dépend de l'expression de l'ADN ! Cela soulève la question de l'histoire évolutive des processus reposant sur les interactions entre ces molécules… Les ARN pourraient être une solution à cette question (ribozymes).