

L'EXPRESSION DU GÉNOME

du noyau à l'organisme

Philippe Herbomel

Ouvrage publié avec le concours du
Ministère de la Recherche et de l'Espace
Délégation à l'Information Scientifique et Technique



ESTEM

Nos cellules ont toutes dans leur noyau les mêmes gènes, disséminés tout au long de leur génome, immense double hélice d'ADN. Leurs formes et leurs fonctions si variées d'un tissu à l'autre reflètent autant d'usages différenciés de ce génome, façonnés au cours de l'ontogenèse, et constamment modulés en réponse aux signaux que les cellules s'échangent continuellement. Cette question des voies de régulation de l'activité des gènes dans les cellules eucaryotes, qui conditionne l'émergence d'une biologie moléculaire du développement, n'a commencé à pouvoir être abordée que très récemment. En quinze ans elle a connu un développement explosif, où les spécialistes eux-mêmes ont du mal à se retrouver.

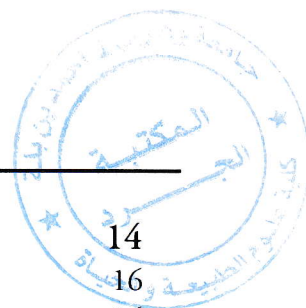
Philippe Herbomel, chercheur au CNRS, a travaillé sur ce thème depuis 1980 dans le département de biologie moléculaire de l'Institut Pasteur à Paris. Il propose ici une synthèse du foisonnement des données produites jusqu'en 1993, et des perspectives qu'elles laissent entrevoir.

Il y présente l'architecture du génome dans le noyau, la façon dont les protéines règlent la transcription des gènes en ARN messagers que le noyau adresse au cytoplasme, en quoi les mécanismes en jeu peuvent différer ou non de ceux élucidés auparavant chez la bactérie, et enfin ce qu'on peut entrevoir des réseaux de gènes qui orchestrent la différenciation cellulaire et l'ontogenèse. Au-delà des gènes pris individuellement, cet ouvrage invite aussi à percevoir de façon plus globale le fonctionnement des immenses génomes eucaryotes, beaucoup plus vastes que la somme des gènes qu'ils contiennent : comment les processus de mise en oeuvre, de perpétuation, et d'évolution du message génétique s'articulent, s'entrecroisent dans cet espace singulier qu'est le noyau de la cellule, et les qualités dynamiques qui font la cohérence de l'ensemble.

Cet ouvrage s'adresse aux étudiants de deuxième et troisième cycle, aux enseignants et chercheurs en biologie et médecine, et à tous ceux qu'intéresse le développement récent de la génétique moléculaire des organismes supérieurs.



Table des matières



Préface, par Jean-François Nicolas

14

Remerciements

16

Conventions d'écriture

16

Introduction

17

CHAPITRE 1

19

Différenciation cellulaire

et niveaux de régulation de l'expression des gènes

Différenciation et détermination

20

Prolifération cellulaire et stabilité de la détermination

21

au cours de la vie

Mémoire *en cis* et mémoire *en trans*

22

Diversité des types cellulaires ; nombre et qualité des gènes exprimés

23

Stabilité/instabilité de l'expression des fonctions différenciées

24

dans les cellules en culture

Du gène à la protéine ; maturation et export des ARN messagers

26

Niveaux de régulation de l'expression des gènes

28

Intensité de la spécificité tissulaire de la transcription

29

La fréquence de transcription des gènes

30

comme niveau majeur de la régulation

Régulation de la transcription et réarrangements du génome

31

CHAPITRE 2

Structure et dynamique du génome chez les eucaryotes

33

Les chromosomes

34

La taille du génome ; l'expansion des régions non codantes

34

Échanges génétiques entre régions similaires du génome ;

36

crossing-over et conversion génique

Fluidité du génome et répétition

39

L'ADN satellite et les mécanismes de *turnover génomique*

Minisatellites hypervariables

42

Évolution concertée des groupes de gènes répétés en série

42

Glissement et microrépétition

42

Dissémination des séquences *LINE* et *SINE*

dans les génomes eucaryotes par rétrotransposition

42

Modelage et diversification des gènes eucaryotes

47

par les processus de turnover génomique

Pseudogènes

48

Quand le vide appelle le vide

49

Le spectre de la recombinaison entre éléments répétés dispersés

51

et son exorcisme : le RIPping	
Les pseudogènes comme mutagènes de leurs parents fonctionnels	52
L'évolution cohésive des familles multigéniques par <i>molecular drive</i>	52
CHAPITRE 3	55
Les formes de l'ADN ; interaction avec les protéines	
Régularité et variations de la forme de la double hélice	57
La flexibilité de la molécule d'ADN	58
Le surenroulement	59
Tension de surenroulement ; notion de surenroulement contraint	60
Forme tridimensionnelle de l'ADN surenroulé	61
Le surenroulement négatif facilite l'ouverture de la double hélice et l'émergence de structures non-B	62
La forme Z	63
La forme H	64
Extrusion de cruciformes	66
Autres facteurs de stabilisation des structures non-B : effet des métaux et du pH	66
Les topoisomérases	67
Principes des interactions ADN/protéines	69
Fixation non séquence-spécifique à l'ADN	70
Les protéines séquence-spécifiques	70
Variation de l'affinité apparente d'une interaction	72
ADN/protéine en fonction de la force ionique	
Adaptation mutuelle des conformations de la protéine et de l'ADN	73
La notion de <i>séquence consensus</i>	74
Fixation de protéines oligomériques à l'ADN	75
Dimères symétriques et séquences palindromiques	
Oligomères et <i>répétitions directes</i>	
Interactions entre protéines fixées à l'ADN	77
Fixation de protéines en des sites proches : coopérativité et empêchement stérique	
Interaction directe de protéines fixées en des sites éloignés : coût énergétique des déformations requises de l'ADN	
Probabilité de rencontre de deux points éloignés d'une molécule d'ADN	
Effets croisés du surenroulement de l'ADN et des interactions entre protéines fixées en des sites distants	
Boucles induites par la courbure de l'ADN autour de protéines	
Détection des interactions entre les protéines et l'ADN <i>in vivo</i>	82
Footprinting <i>in vitro</i>	
Footprinting <i>in vivo</i>	
Immuno-repérage systématique des sites de fixation d'une protéine spécifique <i>in vivo</i>	
CHAPITRE 4	87
Architecture du génome dans le noyau	
Les phases du cycle cellulaire	88

L'enveloppe nucléaire	89
La membrane nucléaire	
La lamina	
Les pores nucléaires	
La chromatine	93
Les nucléosomes	93
Au-delà du nucléosome : l'histone H1 et les fibres chromatinienues	95
Facteur de compaction du génome et niveaux de condensation	97
Domaines fonctionnels des histones	98
Isoformes	99
La matrice nucléaire et les boucles chromosomiques	100
Le squelette chromosomal	
Les SAR	
Le réseau matriciel	
La chromatine active	105
Les chromosomes en écouvillon	106
Les chromosomes polytènes de la Drosophile	108
Euchromatine et hétérochromatine	109
Domaines de sensibilité accrue à la DNase I	109
Signification de la sensibilité générale à la DNase I des gènes exprimés	112
Domaines DNase I-sensibles	113
et sites d'attachement du génome à la matrice nucléaire	
Autres types de bornes de domaines chromosomiques	115
Remaniements de la chromatine associés au processus de transcription	116
Topoisomérase I et ondes de surenroulement induites par la transcription	116
Association des protéines HMG 14 et 17 aux régions transcrites	118
Acétylation des histones	119
Transcription de l'ADN nucléosomal par l'ARN polymérase	119
 CHAPITRE 5	 123
La transcription des gènes et sa régulation : le modèle bactérien	
Le processus de démarrage de la transcription	124
Courbure de l'ADN et transferts d'énergie	129
Le facteur sigma et le cycle de transcription	130
L'élongation et la terminaison	130
Importance de l'affinité générale de l'ARN polymérase pour l'ADN	132
D'autres facteurs sigma	133
Régulation de la fréquence de transcription des gènes	134
Les classiques : trois exemples de régulation	135
Répression d'un opéron catabolique en absence de son substrat	
Répression d'un opéron anabolique en présence de son produit	
Activation du catabolisme des autres sucres en absence de glucose	
Sites et modes de fixation des protéines régulatrices à l'ADN	136
L'effet des ligands allostériques	140

Mode d'action des répresseurs	140
L'activation par la protéine CAP	142
Diversité des dispositifs d'activation	144
L'opéron arabinose [181]	
Coopération de l'activateur MalT et de la protéine CAP au promoteur MalKp	
Les trois opérateurs de l'opéron lactose	148
Activation à distance des promoteurs reconnus grâce à sigma ⁵⁴	151
Deux phases dans l'activation d'une série d'opérons, mettant en jeu respectivement l'affinité spécifique et l'affinité générale de l'activateur pour l'ADN	
CHAPITRE 6	155
La transcription chez les eucaryotes	
Trois ARN polymérases	156
Un décortilage <i>in vitro</i> difficile	158
L'ARN polymérase I et les gènes ribosomiaux	159
Les gènes transcrits par la polymérase III	160
TFIIIC et l'invasion du génome par les SINE	
Les gènes qui codent pour les protéines	162
Le motif <i>TATA</i>	
Complexe engagé (<i>committed complex</i>)	
et complexe de prédémarrage (<i>preinitiation complex</i>)	
Les autres cofacteurs généraux de l'ARN polymérase II	165
Passage du complexe fermé au complexe ouvert	
Le cycle de phosphorylation de l'ARN polymérase II	
Généralisation aux autres promoteurs de classe II	
Les gènes U1-U6 : une passerelle entre les gènes de classe II et III	
L'élongation du transcrit et sa terminaison	170
Régulation par embourbement de la polymérase	
Régulation par terminaison prématurée	
La maturation des ARN messagers	173
L'épissage de l'ARN	174
Sélectivité/souplesse des associations de jonctions d'épissage	176
Un gène, plusieurs ARNm	176
L'export des ARNm	178
Régulation de la stabilité des ARN messagers dans le cytoplasme	178
Variation de la longueur du polyA :	
un contrôle nucléaire de la stabilité cytoplasmique des ARNm ? [257a]	
CHAPITRE 7	181
Des traces dans la chromatine...	
Sites hypersensibles aux nucléases et transcription	182
Nature moléculaire des sites hypersensibles	183
Singularités conformationnelles	
Assemblées de protéines non-histones	
Origine de l'hypersensibilité, et de ses variations en fonction de l'activité génique	
La combinatoire des sites hypersensibles	186

La vitellogénine II de poulet (VTGII)	
Le gène du lysozyme de poulet	
Un domaine plurigénique : le locus β -globine chez l'homme	
Le locus albumine/ α -fœtoprotéine chez la souris	
Quelques conclusions	
Relation des sites hypersensibles avec la sensibilité générale des domaines géniques actifs	193
CHAPITRE 8	197
Génétique inverse	
Une génétique cellulaire pour les organismes multicellulaires ?	198
De la génétique des virus à la génétique inverse	198
Naissance de la <i>génétique inverse</i> :	199
introduction de gènes clonés dans les cellules en culture	
Expression transitoire et expression stable des gènes transfectés	200
Expression à long terme après intégration dans le génome cellulaire	201
Résultats des expériences de transfection de cellules en culture :	203
des succès qualitatifs	
Le devenir de l'ADN transfecté	205
La question du nombre de copies actives par cellule	206
Les mystères de l'expression stable après intégration dans le génome cellulaire	206
Détecter et comparer les niveaux d'expression des gènes introduits dans les cellules	207
Les régions régulatrices coïncident avec des sites HS dans la chromatine : promoteurs et augmenteurs	208
Additivité, redondance, synergie	209
Généralité de la synergie	210
Trois types de modèles pour l'effet augmenteur	212
Nécessité d'un fondement universel pour la synergie, au-delà des affinités électives	215
Une cible centrale, multiacceptrice	216
Nombre de sites d'interaction sur la cible multiacceptrice ; contraintes stériques	217
Conditions de la synergie fondée sur la fixation coopérative à la cible X	218
Effets croisés entre coopérativités de fixation à l'ADN et à la cible X	219
Contraintes de distance le long de l'ADN :	219
fondement du groupage des motifs élémentaires en régions régulatrices	
Régulation des synergies	220
Souris transgéniques	221
Le gène de l'élastase	
Le couple α -fœtoprotéine/albumine	
Le locus β -globine humain	
Les <i>LCR</i> : un nouveau type de région régulatrice ?	225
Effet des SAR sur l'expression stable dans les cellules en culture	228