

Régulation „à long terme“ de l'expression Génétique : Epigénétique

A. Galmiche, 2013-2014

1. Notions Générales sur l'Épigénétique
2. Biochimie des Marques Epigénétiques
3. Développement, Différenciation et Etablissement des marques Epigénétiques
4. Perspectives Cliniques et Pathologiques

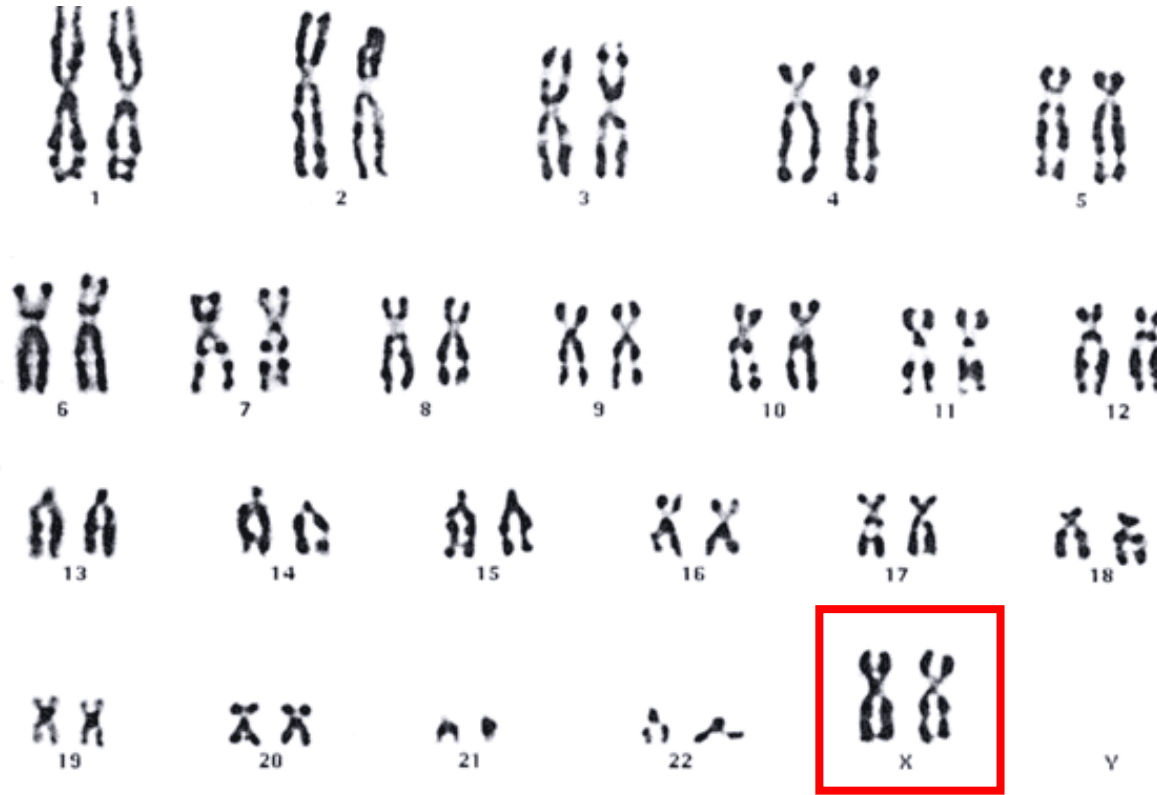
Epigénétique: définition(s)

Certains profils d'expression des gènes contrôlés et transmis en l'absence de mutations de l'ADN sur long terme... à travers mitose

Epigénétique est l'étude de ces variations de l'expression des gènes sur le long terme

... 3 situations pratiques où ce contrôle „stable“ est exercé: inactivation X, empreinte génomique, la différenciation cellulaire

1. Inactivation Chromosome X



Caryotype humain: 23 paires de chromosomes

Inactivation Chromosome X

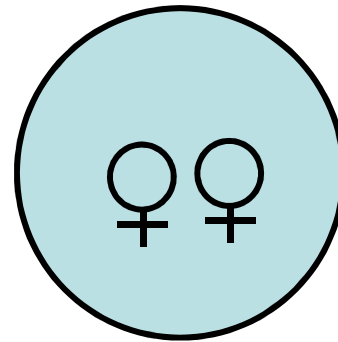
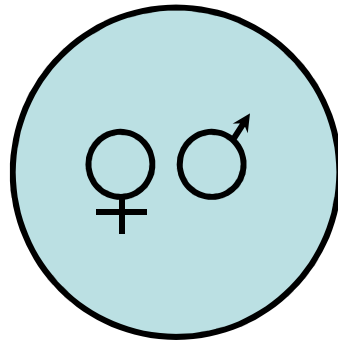
Homme: 46, XY

Femme: 46, XX mais l'un des X est transcriptionnellement inactif... les gènes portés par l'X sont ainsi exprimés de façon comparable entre hommes et femmes

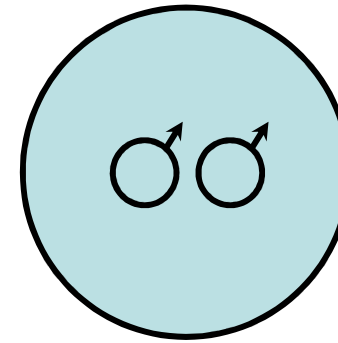
Pdt le développement embryonnaire, l'inactivation d'un des chromosomes X survient au hasard, puis transférée de façon stable aux cellules somatiques qui en descendent

2. L'empreinte génomique parentale

Ovocyte fécondé



Gynégénote



Androgénote

Mortalité embryonnaire

Expériences de transferts nucléaires montrent que des marques spécifiques sont appliquées aux génômes paternel / maternel !!!

Empreinte Parentale

Expression mono-allélique de certains gènes, suivant origine parentale: par ex., seul l'allèle IGF2 paternel est exprimé dans les tissus embryonnaires

Les gènes subissant cette empreinte tendent à être regroupés en certaines régions du chromosome

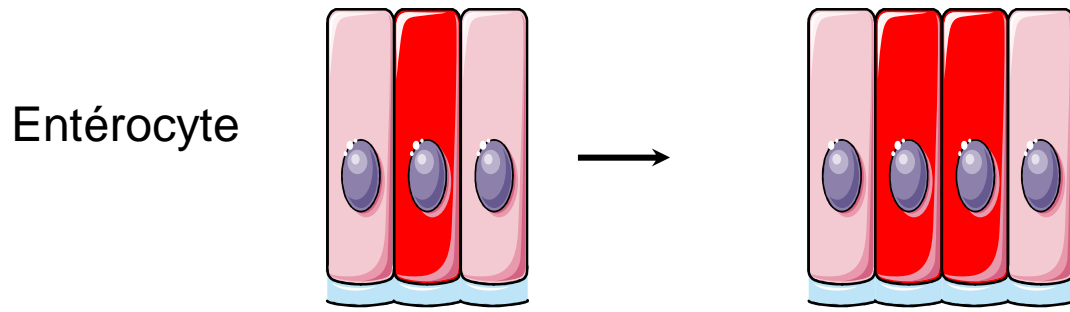
Là encore, marques stables, maintenues au fil du développement embryonnaire

3. Différenciation Cellulaire

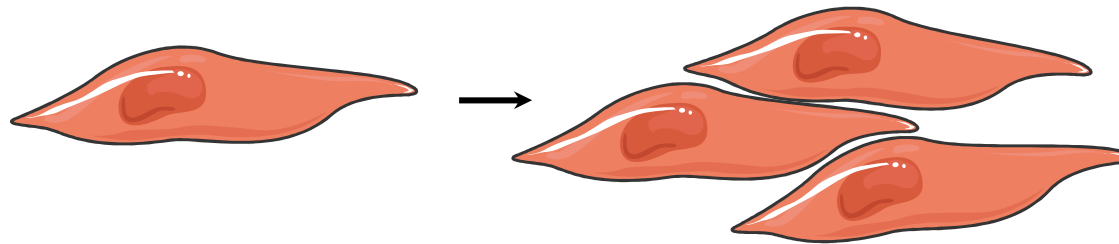
Toutes les cellules de l'organisme assument une fonction spécifique: état de différenciation en cellules épithéliales, neurones, fibroblastes, etc.

La différenciation cellulaire est un processus **stable**: un fibroblaste se divise en fibroblastes, une cellule épithéliale tend à se diviser en cellules épithéliales...“Mémoire cellulaire“

La Différenciation Cellulaire est un état stable et conféré par une cellule à sa descendance



Cellule musculaire



La Différenciation Cellulaire

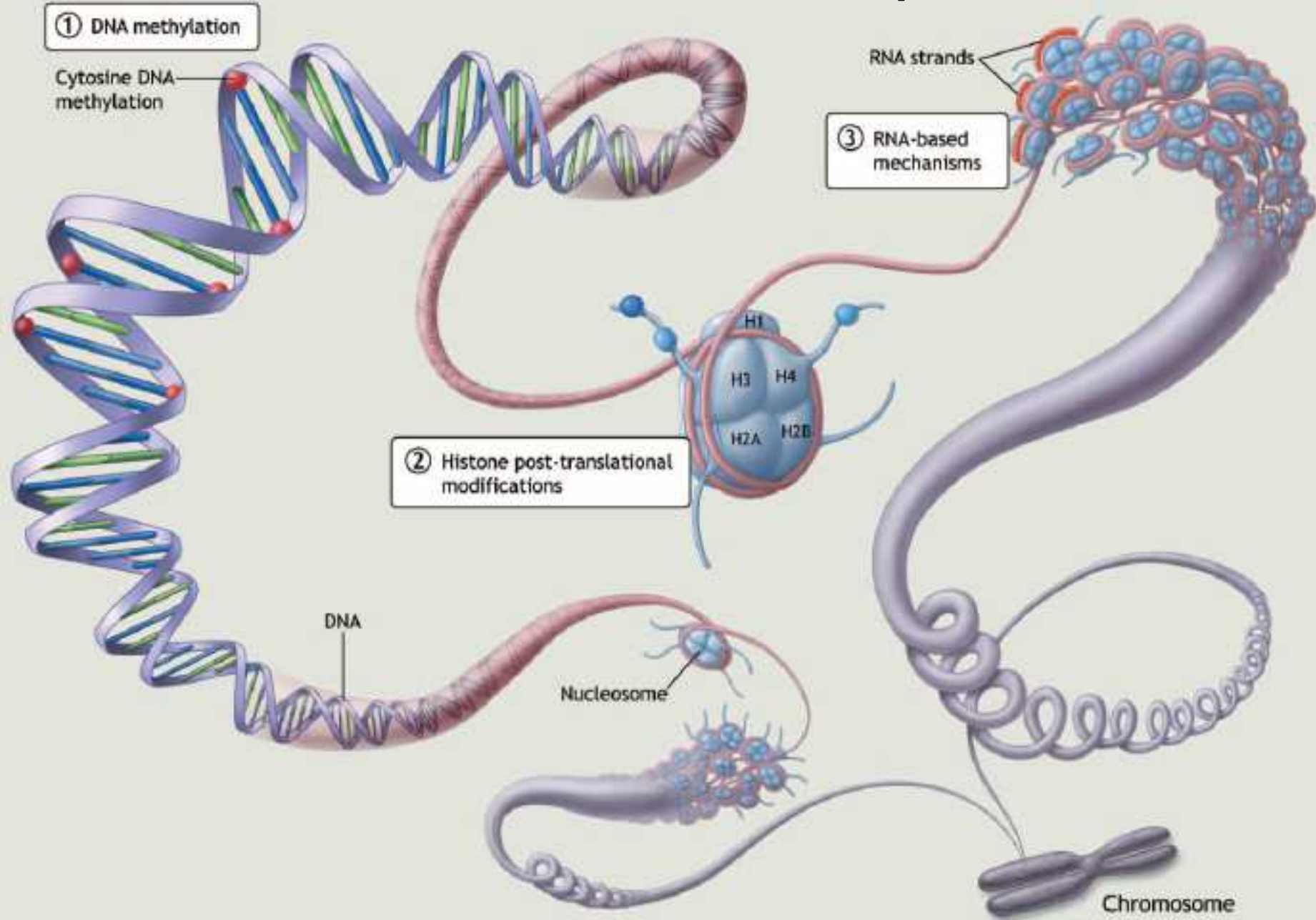
Un même génotype, mais des phénotypes différents, transmis de façon stable au fil des mitoses....

La différenciation est typiquement un processus épigénétique

La différenciation s'accompagne d'une restriction progressive du répertoire des gènes qui peuvent être exprimés

1. Notions Générales sur l'Épigénétique
2. Biochimie des Marques Epigénétiques
 1. méthylation CpG
 2. Le code histone
 3. Role des ARNs
3. Développement, Différenciation et Etablissement des marques Epigénétiques
4. Perspectives Cliniques et Pathologiques

Mécanismes Biochimiques



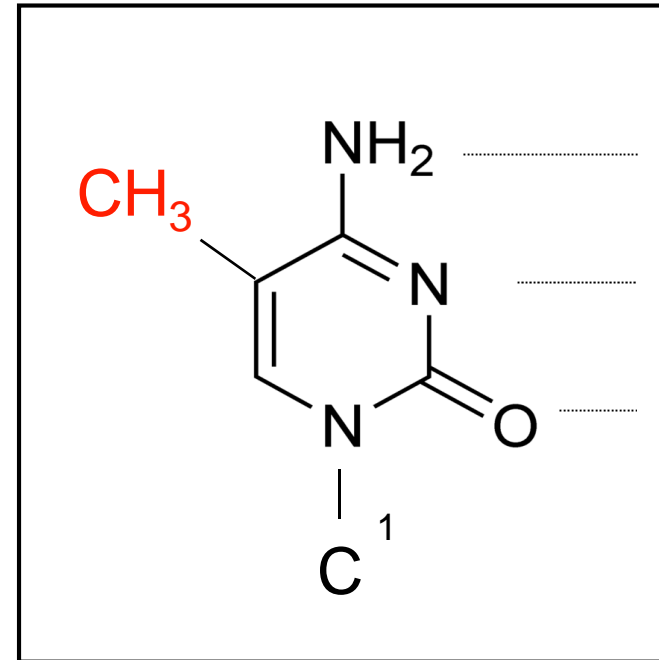
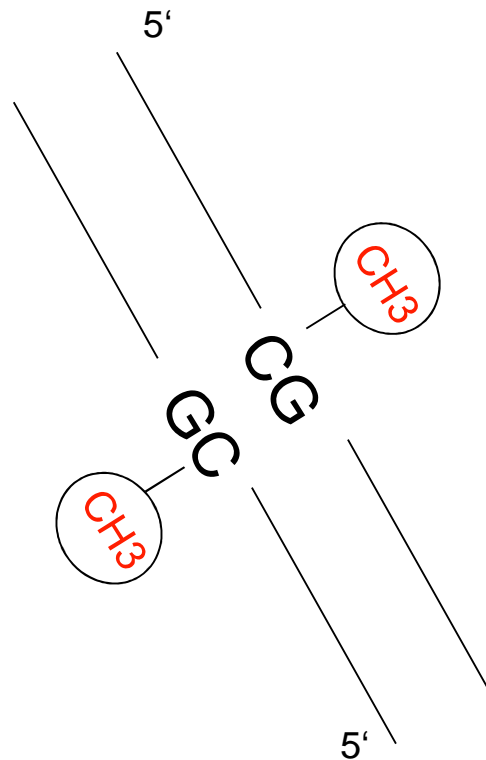
1. Méthylation de la Cytosine

Méthylation de l'ADN sur cytosine

Ce type de modification est concentré au niveau de zones particulières, les îlots CpG, présents dans le promoteur de nombreux gènes

Méthylation tend à réprimer l'expression des gènes concernés

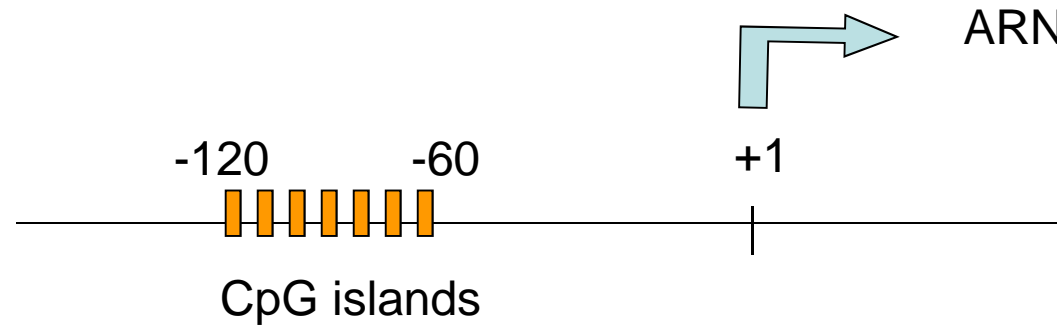
Méthyl-Cytosine



Methyl groupe ajouté en position 5 sur Cytosine,
n'interfère donc pas avec ponts hydrogènes / stabilité dble hélice

Ilôts CpG

dinucléotides CpG, présents dans promoteur de 60% des gènes chez l'homme



Mécanismes Moléculaires de l'Épigénétique

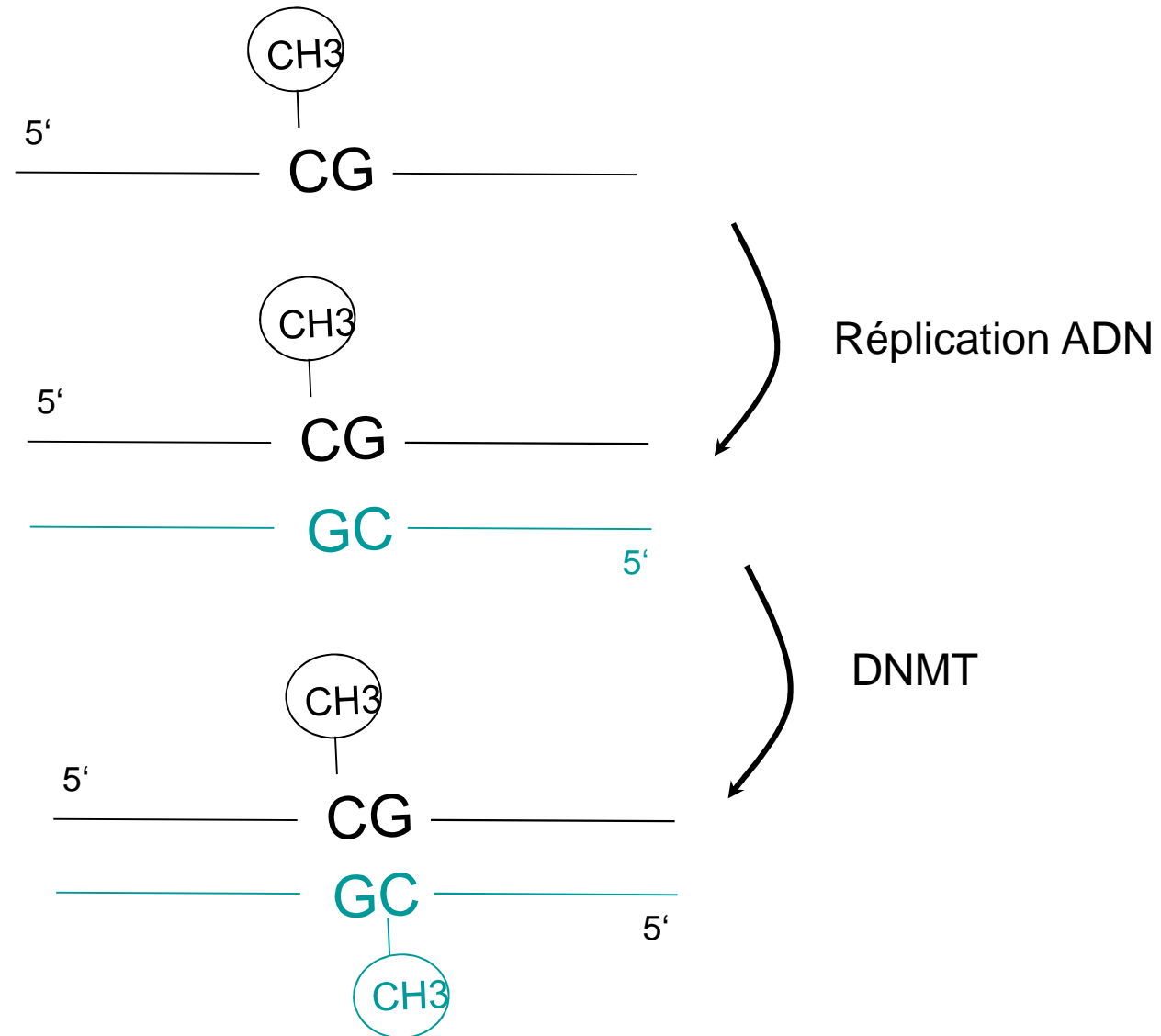
I. Méthylation de la Cytosine

Méthylation répliquée suivant processus semi-conservatif

DNA methyl-transferases (DNMT)

DNMT responsable maintenance méthylation: présente au niveau fourches de réplication / spécifique de l'ADN hémi-méthylé

Réplication semi-conservative de la Methylation



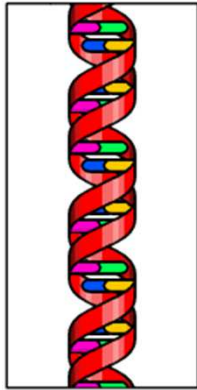
2. Le „code histone“

Dans le noyau, l'ADN est présent sous forme de chromatine, associé à des protéines: les histones

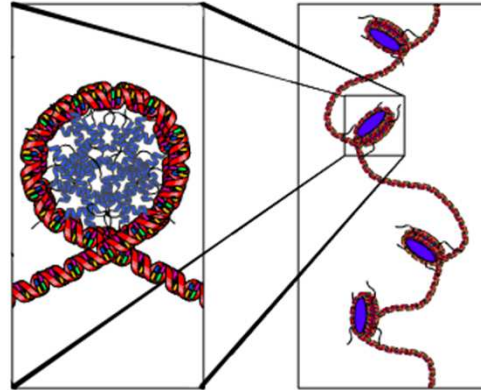
Différents niveaux de condensation de l'ADN, qui conditionnent l'expression des gènes

Organisation de l'ADN dans le noyau

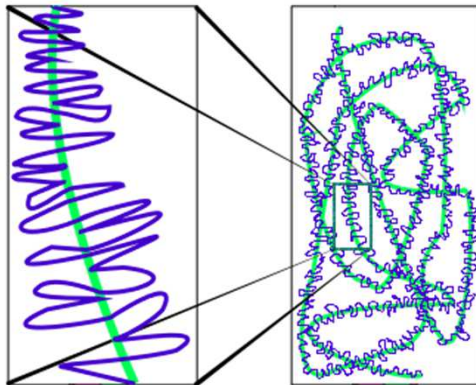
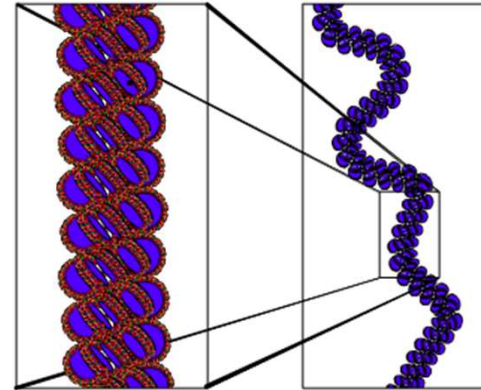
1. ADN



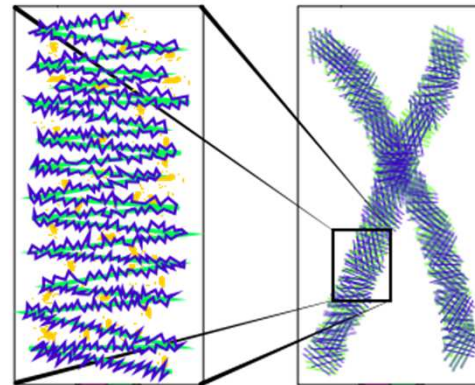
2. Fibre 11 nm



3. Fibre 30 nm



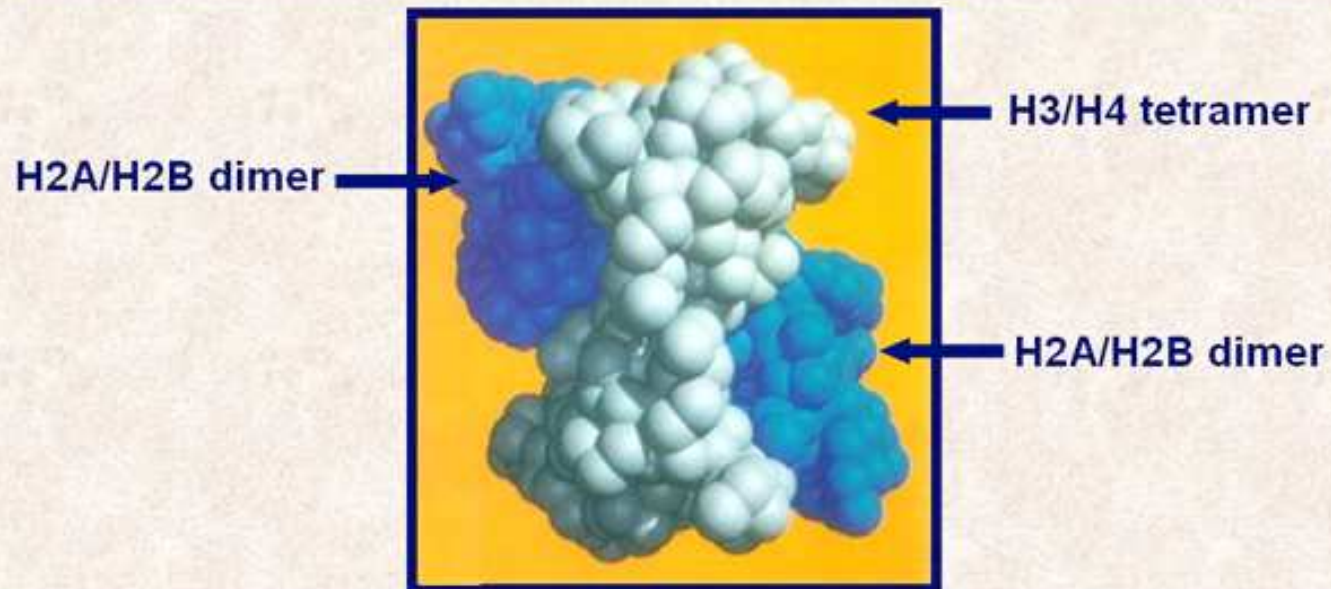
4. Chromatine interphase



5. Chromosome métaphasique

Nucléosome

(2) H2A/H2B dimers + (1) H3/H4 tetramer = Histone octamer

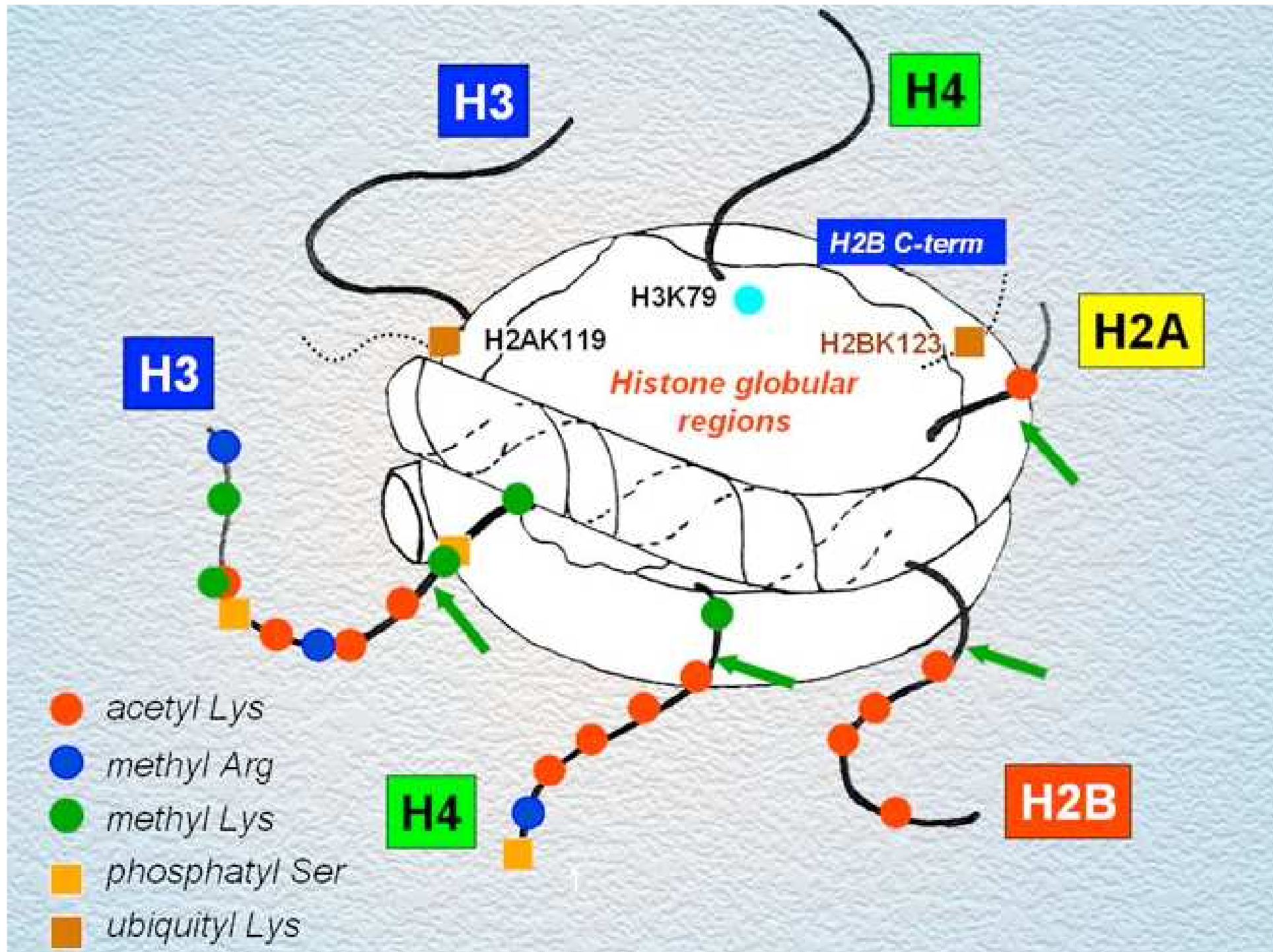


Histone octamer + 147 bp DNA = nucleosome core

Le „Code Histone“

Variants d'histones

Modifications post-traductionnelles des histones: méthylation, acétylation, phosphorylation, ubiquitylation... Essentiellement au niveau de la queue N-terminale des histones



Le „Code Histone“

Table 2 | Recommended histone markers with known function to define reference epigenomes

Histone modification	Function
H3K9ac, H4K16ac and H3K4me	Transcriptional 'ON' states
H3K9me and H3K27me	Transcriptional 'OFF' states
H3K36me	Elongation; primary transcripts
H3K9me and HP1	Chromosome organization
H4K20me and H2BS14ph	Stress/damage response

Le „Code Histone“

La combinaison des variants et des modifications post-traductionnelles des histones définit

- Ouverture de la chromatine (et donc accessibilité aux facteurs de transcription)
- Interaction avec protéines régulatrices de la transcription possédant des domaines d'interaction Spécifiques
- formation d'autres marques, comme méthylation de l'ADN

Transmission du „Code Histone“ à travers la Mitose ?

Un problème de biologie fondamentale mal connu...

Lors de la mitose, la plupart des protéines régulant l'organisation de l'ADN en chromatine se dissocient d'avec les chromosomes - ensuite réassociation progressive dans les cellules filles

3. ARN régulateurs

XIC (X Inactivation Center), région nécessaire et suffisante sur le chromosome X pour l'inactivation

Deux ARN non codant dans cette région

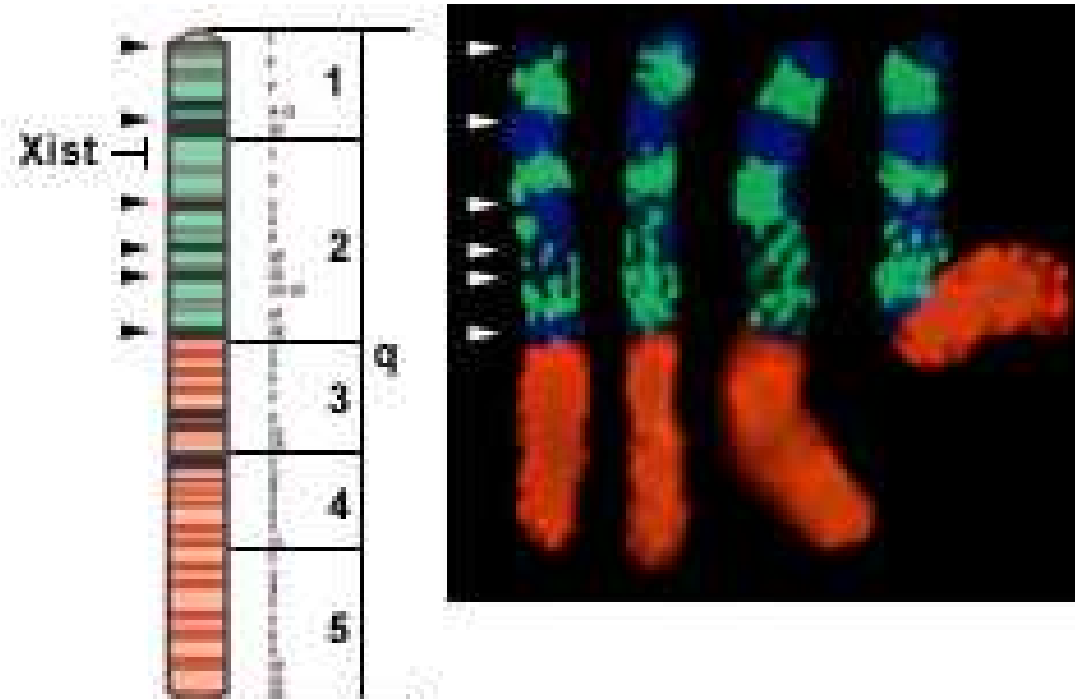
Locus Xist et inactivation de l'X

Xist (X Inactive Specific Transcript) joue un rôle essentiel dans l'inactivation du chromosome X

Xist est transcrit uniquement à partir du chromosome X inactif

Xist recouvre le chromosome X destiné à être inactivé

Locus Xist et inactivation de l'X



ARN mature de Xist est présent en grandes qtés au niveau du chromosome X inactif: « habillage » du chromosome

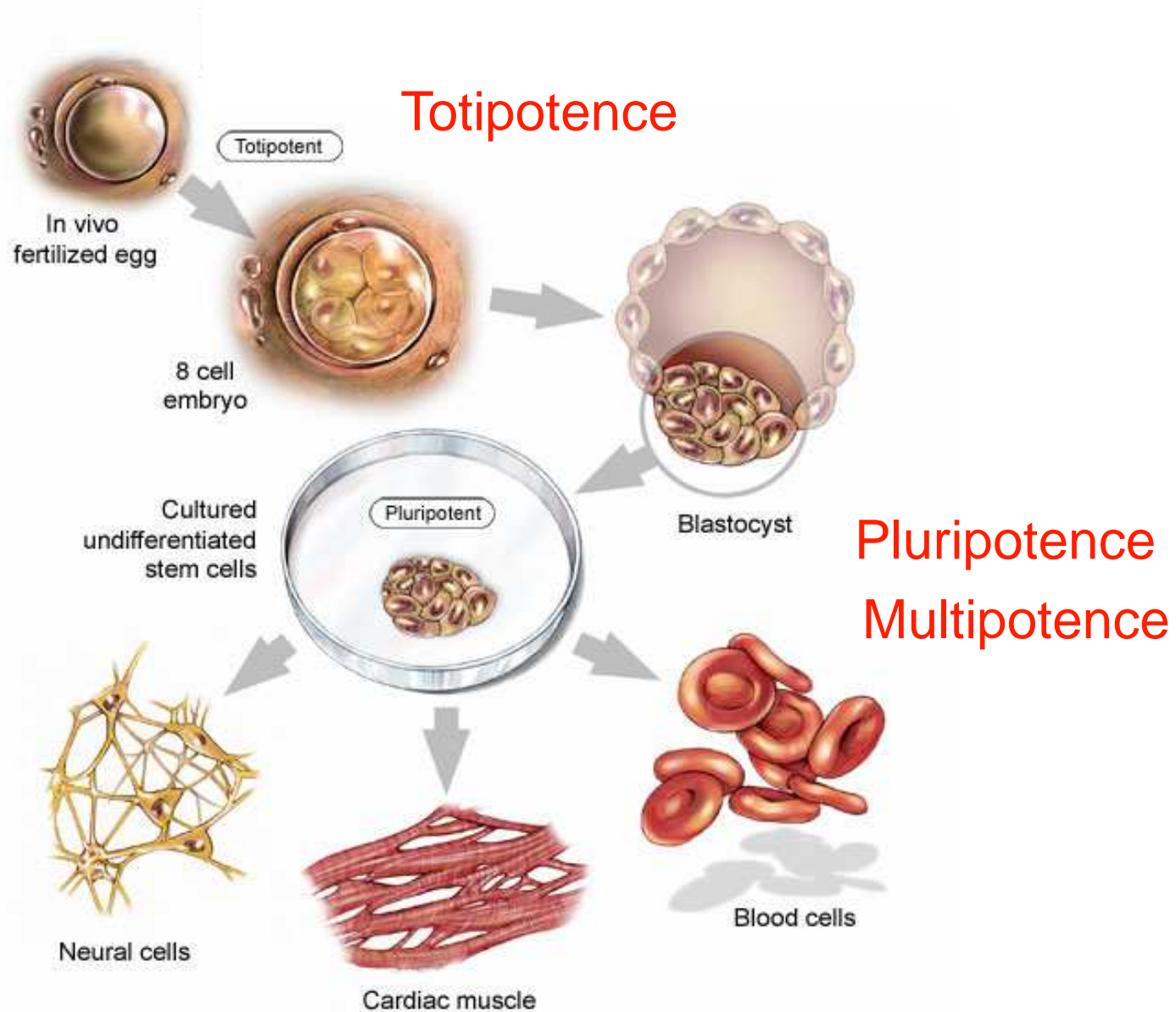
1. Notions Generales sur l'Epigenetique
2. Biochimie des Marques Epigenetiques
3. Développement, Différenciation cellulaire et Etablissement des marques Epigénétiques
4. Perspectives Cliniques et Pathologiques

Développement et Différenciation Cellulaire

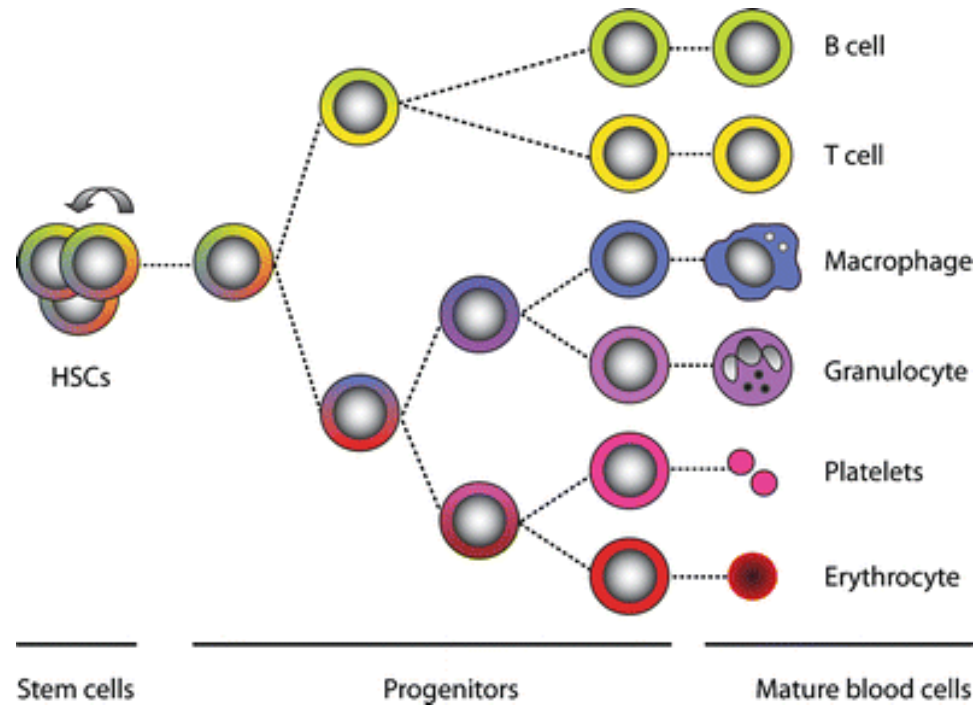
Le développement embryonnaire est un processus marqué par l'importance des évènements de différenciation cellulaire

Cellules Souches : cellules indifférenciées capables d'engendrer des cellules qui se spécialisent et / ou de se renouveler à l'identique
Cellules toti-potentes, pluri-potentes, puis multi-potentes

Cellule souches et Differentiation Cellulaire



Cellules Souches Hématopoïétiques



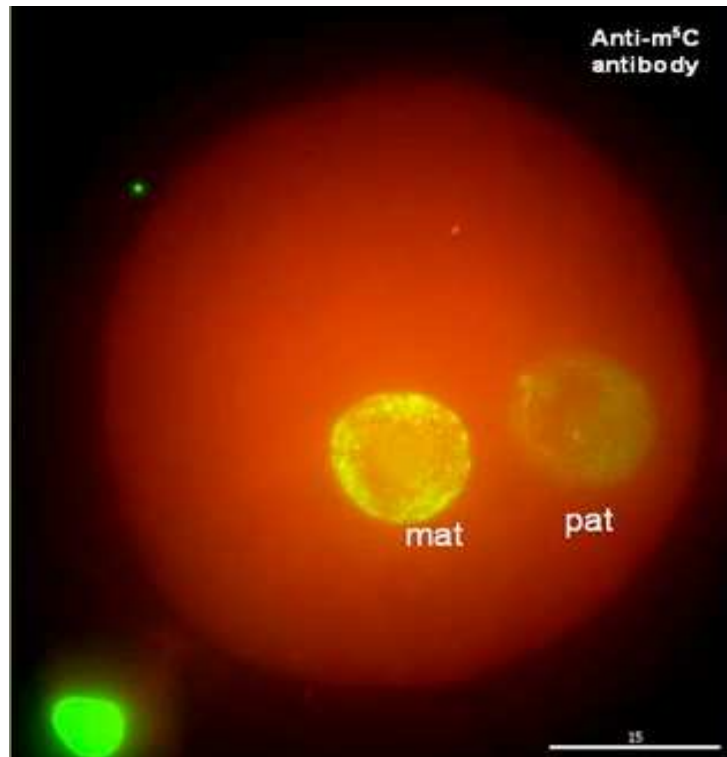
Cellules Souches Hématopoïétiques, multipotentes

Etablissement des Marques Epigénétiques au cours du Développement Embryonnaire

Pour l'essentiel, les marques épigénétiques (méthylation ADN) sont établies *in utero* (ce qui correspond à la période pendant laquelle s'établit l'essentiel de la différenciation cellulaire)

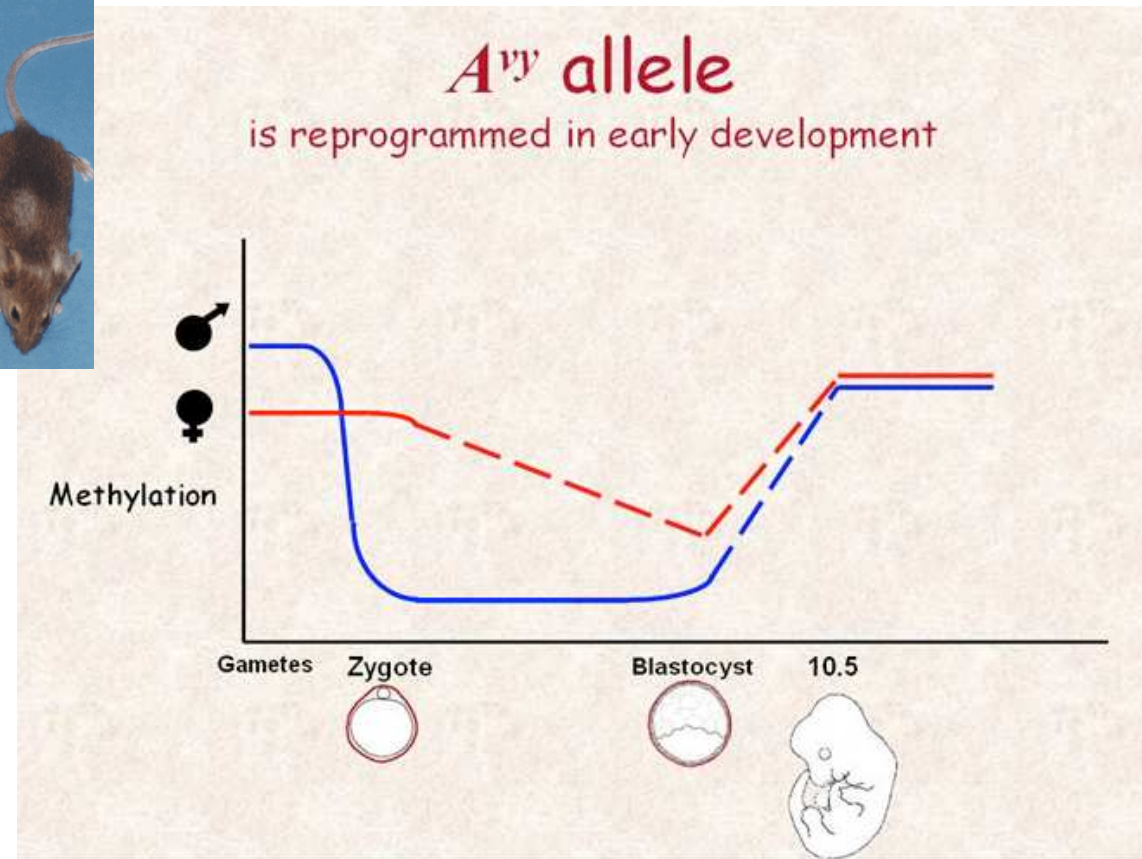
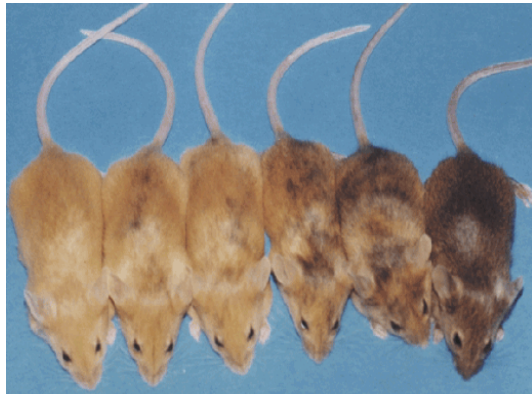
Les marques épigénétiques sont présentes au niveau des gamètes, puis effacées au moment de la fertilisation... Elles sont ensuite graduellement réétablies au fil du développement embryonnaire...

Demethylation du pronucleus paternel dans le devpt embryonnaire de la souris: stade 1 cellule



Reprogrammation du
génomme dans l'œuf
fécondé !!!

Methylation différentielle du locus Agouti provenant des souris male / femelle au cours du developpement



1. Notions Generales sur l'Épigénétique
2. Biochimie des Marques Epigénétiques
3. Développement, Différenciation cellulaire et Etablissement des marques Epigénétiques
4. Perspectives Cliniques et Pathologiques

Epigénétique en pathologie Humaine

Anomalies du développement

Cancer

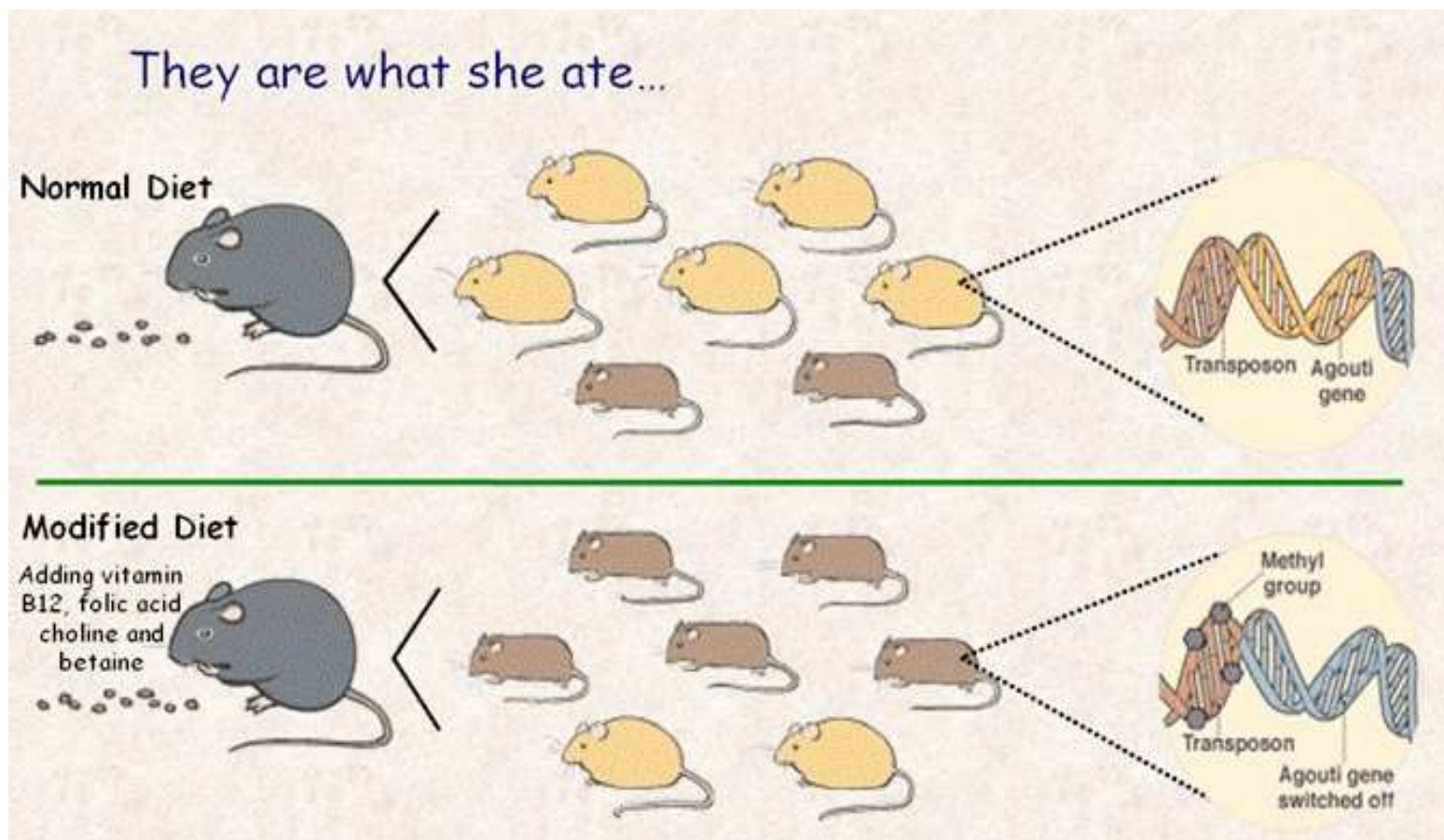
Cellules souches et médecine réparatrice

Epigénétique et développement embryonnaire

Folates et vitB12 sont impliqués dans le métabolisme des maillons monocarbonés (méthyl), donc établissement et maintenance de méthylation ADN

Pdt le développement embryonnaire, l'apport alimentaire de la mère doit être suffisant pour que les marques épigénétiques du fœtus soient correctement établies

Alimentation et développement embryonnaire



L'apport alimentaire en folate et vitB12 conditionne l'expression du locus Agouti chez la souris gestante

Epigénétique et Développement Embryonnaire

Les carences en folates / vitB12 pendant la grossesse sont à l'origine de malformations neurales, cardiaques et cranio-faciales

L'apport alimentaire en folate et vitB12 doit être augmenté au cours de la grossesse

Methylation et Cancers

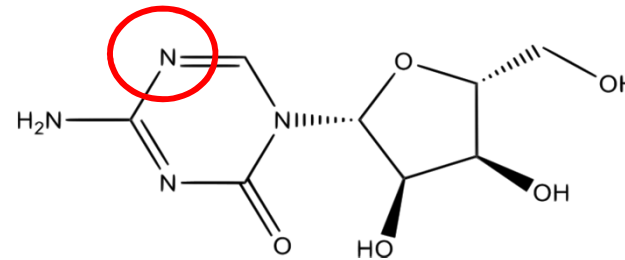
Les cellules cancéreuses sont marquées par la présence de nombreuses anomalies de leur différenciation

... de nombreux gènes impliqués dans la régulation de la croissance possèdent des promoteurs méthylés

Globalement, hypométhylation notée dans génôme des cellules cancéreuses, avec en parallèle, hyperméthylation îlots CpG en amont de certains gènes suppresseurs de tumeurs

Méthylation et Traitements anti-Cancéreux

5-Azacytidine

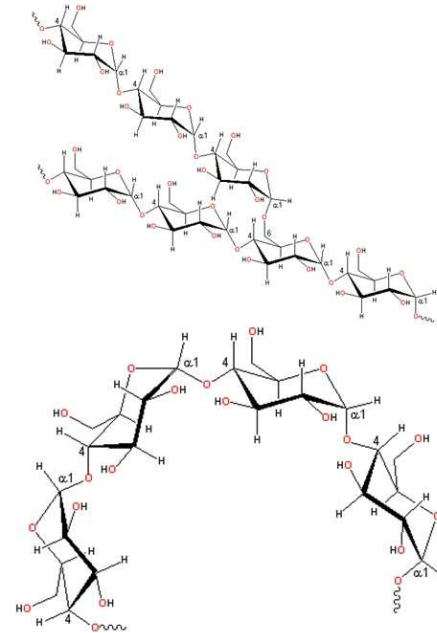
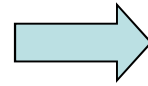


Ce nucléotide, une fois incorporé dans l'ADN, ne peut pas être méthylé.
De surcroît, bloque l'effet de DNMT / maintenance de la methylation

Traitement syndromes myélodysplasiques

Alimentation & Cancers

Apport alimentaire en Fibres et cancer du Colon



Les fibres alimentaires sont métabolisées au niveau colique par la flore bactérienne

Epigénétique et les Liens Alimentation - Cancers

Fermentation des fibres alimentaires par les bactéries produit des acides gras à chaînes courtes (AGCC), comme le Butyrate

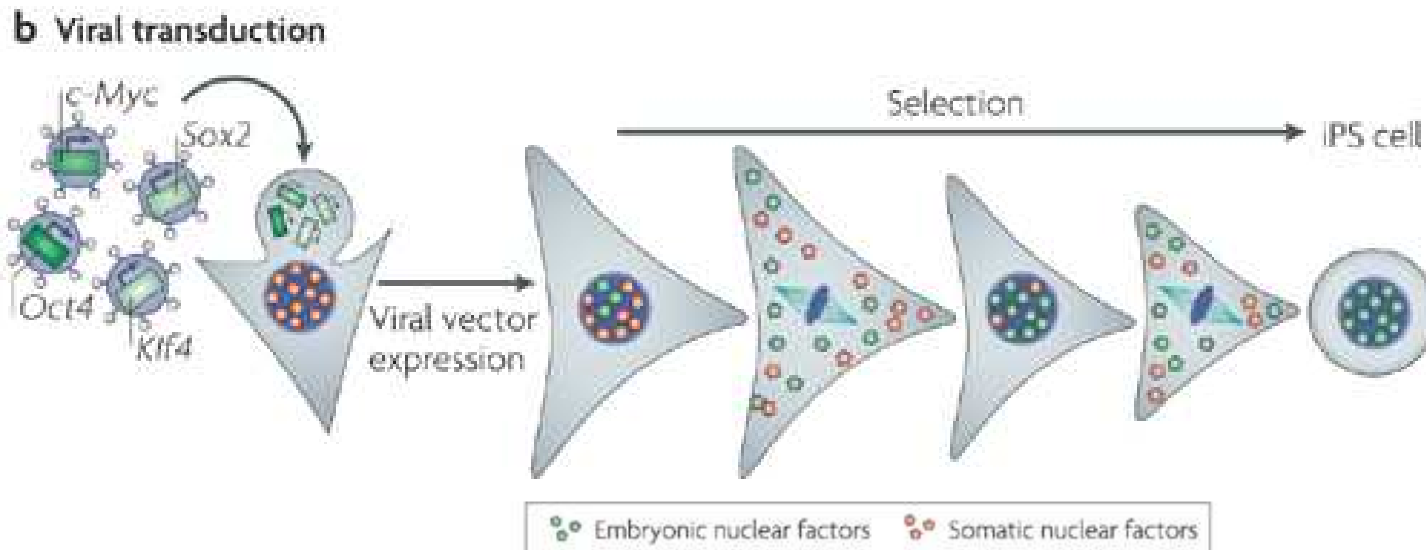
AGCC sont des inhibiteurs puissants des histone déacétylases (HDAC), et cet effet est probablement à l'origine de leurs effets de prévention sur la carcinogenèse colique

Perspectives: les cellules souches et Médecine Reparatrice

Reprogrammer une cellule pour lui donner la capacité à régénérer un organe déficient

Par exemple, reprogrammer kératinocytes pour produire neurones ou cardiomyocytes chez patients avec maladie de Parkinson ou insuffisance cardiaque

Reprogrammer les Marques Epigénétiques: les cellules souches pluripotentes induites, ou iPS



Reprogrammation des cellules différenciées ?

Conclusion

Importance de la régulation épigénétique de l'expression des gènes, en physiologie et en pathologie