

Chapitre II

STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE DES CHROMOSOMES

2.1. Structure et organisation de la chromatine

2.1.1. Composition de la chromatine

2.1.1.1. Les histones

A) Les histones de la particule cœur

Les histones de la particule cœur, H3, H4, H2A et H2B sont de petites protéines basiques très conservées au cours de l'évolution. La région la plus conservée de ces histones est leur domaine central structuré composé du "motif histone fold" qui comprend trois hélices séparées par deux boucles. En revanche, les extrémités N-terminales de ces histones sont plus variables et sont dépourvues de structure secondaire. Ces extrémités sont particulièrement riches en résidus lysine et arginine et donc très basiques. Elles sont la cible de nombreuses modifications post-traductionnelles pouvant affecter leurs charges mais aussi l'accessibilité à l'ADN et les interactions protéines/protéines avec le nucléosome.

-Il est important de noter que d'autres protéines impliquées dans les interactions avec l'ADN présentent ce type de "motif histone fold".

B) Les histones internucléosomales

Les histones internucléosomales sont les protéines qui s'associent à la région d'ADN de liaison entre deux nucléosomes. Contrairement aux histones de la particule cœur, elles sont peu conservées parmi les espèces. Chez les eucaryotes supérieurs, elles sont composées de trois domaines: un domaine globulaire central non polaire, essentiel pour les interactions avec l'ADN, et deux extrémités N- et C- terminales non structurées, hautement basiques, et soumises à des modifications post-traductionnelles. Les histones internucléosomales joueraient un rôle dans l'espacement des unités nucléosomales et dans la compaction de l'ADN au sein du nucléosome en créant une région d'interaction entre les nucléosomes adjacents.

2.1.1.2. Le nucléosome

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le **nucléosome** qui est composé d'ADN et d'histones. Il constitue le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau. Il est composé d'une particule cœur et une région de liaison (ou région internucléosomale) qui relie les particules cœurs adjacentes.

La particule cœur, dont la structure est très conservée parmi les espèces, est composée de 146 pb d'ADN enroulées selon environ 1,7 tour autour d'un octamère protéique comprenant deux exemplaires de chacune des histones H3, H4, H2A et H2B.

La longueur de la région d'ADN internucléosomale varie selon l'espèce et le type cellulaire.

C'est au niveau de cette région que les histones internucléosomales également variables, sont incorporées. Ainsi, la longueur d'ADN caractéristique d'un nucléosome peut varier selon les espèces entre 160 et 241 pb.

Des analyses ont révélé d'une part, l'enroulement de l'ADN autour de l'octamère d'histones et d'autre part, les interactions entre histones/ADN et histones/histones par leur "motif histone fold" selon une configuration en poignée de mains.

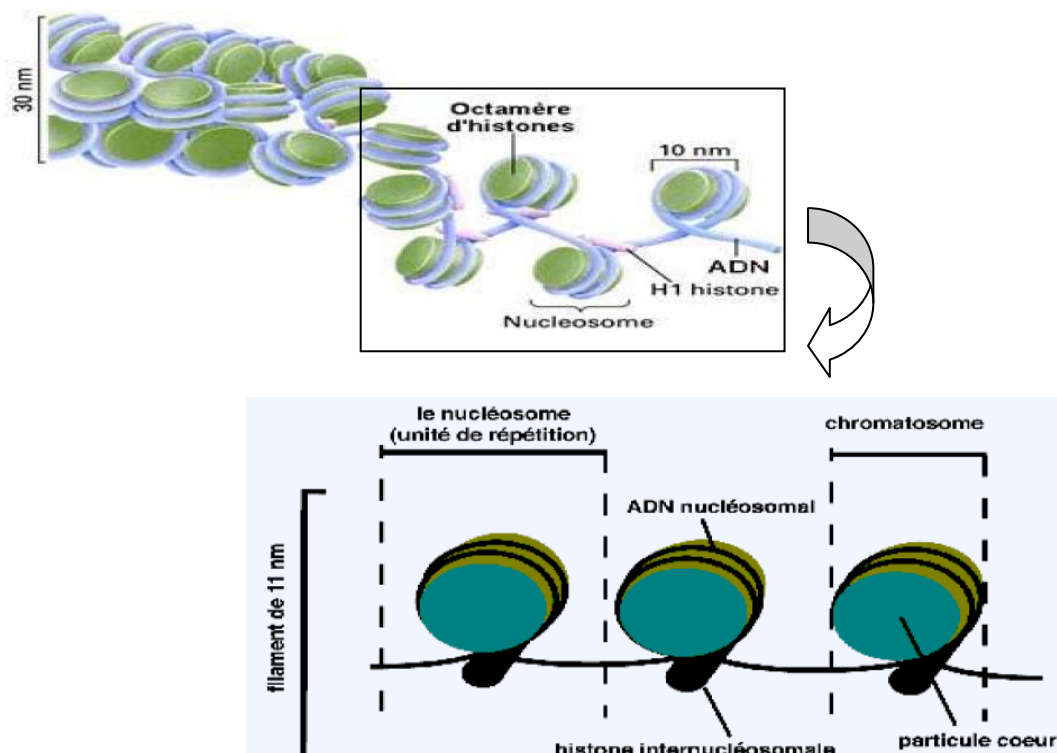


Fig.01. Représentation schématique de nucléosome.

2.1.2. Structure de la chromatine

L'**hétérochromatine** est une structure observable de l'ADN, une condensation de la chromatine que l'on distingue de l'euchromatine qui est la structure observable non condensée. Les gènes présents dans cette zone ne peuvent être transcrits. L'observation simple de la condensation de la chromatine peut se faire par des colorations de l'ADN notamment avec du DAPI.

L'hétérochromatine est localisée principalement en périphérie du noyau et du nucléole (alors que l'euchromatine est répartie à l'intérieur du nucléoplasme). Du fait de sa condensation l'ADN y est peu transcrit. Formée de fibres B de 200 à 300 Å (20 à 30 nm) de diamètre, l'ADN y est « enroulé » autour d'histones qui sont schématiquement *hypoacétylés* et *hyperméthylés* par rapport aux histones correspondant à l'euchromatine.

On distingue :

- **l'hétérochromatine constitutive**, correspondant à des portions de chromosomes apparemment inactives dans toutes les cellules et porteuses de séquences répétitives, dont les plus grandes parties se trouvent à proximité des centromères et télomères. Ces régions sont généralement répliquées tardivement ;
- **l'hétérochromatine facultative**, correspondant à des portions de l'hétérochromatine variables. Selon le type de cellule, telle ou telle portion est condensée, et de ce fait inactivée. De même pour une même cellule, une même portion d'hétérochromatine peut être condensée ou non, selon l'état de différenciation de celle-ci. En effet, dans certaines conditions particulières de son développement, l'hétérochromatine peut perdre son état condensé et ainsi permettre l'activation de la transcription

2.1.3. Niveaux de compactions de la chromatine

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le nucléosome .Cette structure est ensuite régulièrement répétée pour former le nucléofilament qui peut, lui-même, adopter des niveaux d'organisation plus compacts, le niveau de condensation le plus élevé étant atteint au sein du chromosome métaphasique. Au sein du noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires fonctionnels.

Au delà des nucléosomes, la chromatine présente des niveaux d'organisation supérieurs encore peu caractérisés. Le nucléofilament se compacte pour former la fibre de 30 nm qui s'organise en boucles de 150 à 200 kpb (250 nm pendant l'interphase) pour atteindre un niveau de compaction maximum dans le chromosome métaphasique (850 nm).

L'ADN possède plusieurs degrés de compaction dans le noyau interphasique :

Le premier niveau de compaction : les nucléosomes

Ce sont des structures ayant la forme d'un cylindre de 10 nm de diamètre, formées de petites protéines appelées histones nucléosomiques qui sont chargées positivement, ce qui facilite leur fixation à l'ADN (qui est chargé négativement). Il s'agit d'un octamère (H2A, H2B, H3 et H4) x2. L'ADN fait 2 tours (=146 paires de bases) autour de chaque cylindre. Les nucléosomes sont séparés par un court segment d'ADN de taille variable 0 à 60-80 pb. La chaîne d'ADN ressemble alors à un collier de perles le nucléofilament ou **la fibre F10** qui peut, lui adopter des niveaux d'organisation plus compacts.

Le deuxième niveau de compaction : la fibre F30

Les nucléosomes sont associés par 6 par une autre histone, l'histone H1, pour former des "solénoïdes". L'histone H1 se lie à l'ADN à sa sortie du nucléosomes. Les molécules d'histone

H1 sont reliées entre elles par des liaisons peptidiques. Elles sont responsables de la constitution des fibres de chromatine de 30nm de diamètre.

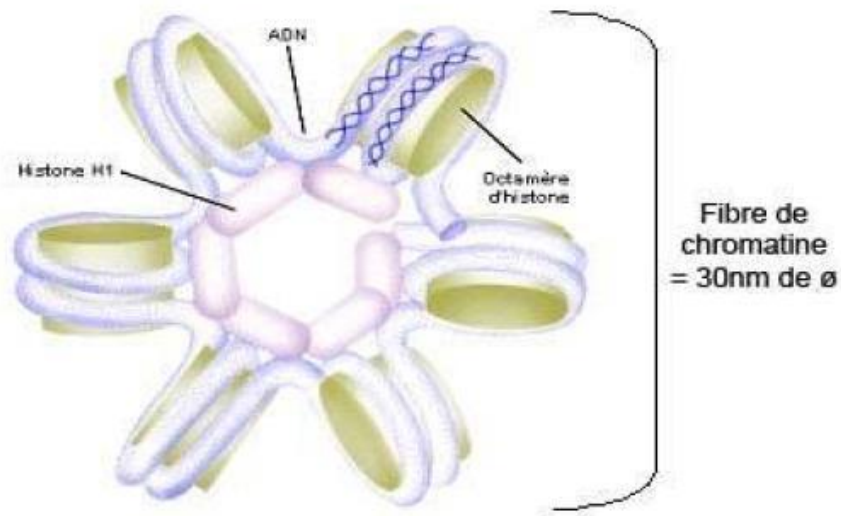


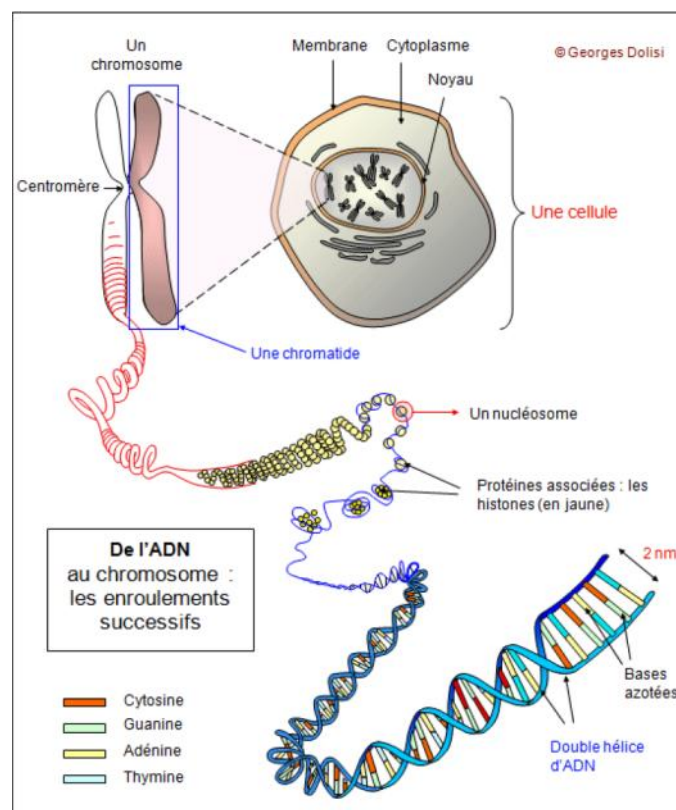
Fig.02. Représentation schématique de solénoïde.

Le troisième niveau de compaction : les boucles d'ADN

Les fibres de 30 nm forment des boucles des quelques mégabases qui s'attachent à une armature protéique flexible.

Le dernier niveau de compaction : le chromosome métaphasique

La forme de compaction ultime est observée au niveau du chromosome métaphasique.



2.1.3. Structure du chromosome

Un chromosome (du grec ancien : kroma=couleur et soma=corps, élément). Dans sa définition la plus scientifiquement, un chromosome correspond à une structure totalement condensée de chromatine. Dans cette définition, le chromosome est seulement présent pendant la mitose, plus précisément pendant la métaphase où il prend le nom de chromosome métaphasique, et se trouve en dehors du noyau (car ce dernier n'existe plus). Néanmoins il n'est pas incohérent de parler de chromosome pour les autres phases de la mitose, mais l'on parlera alors de chromosome mitotique au sens large.

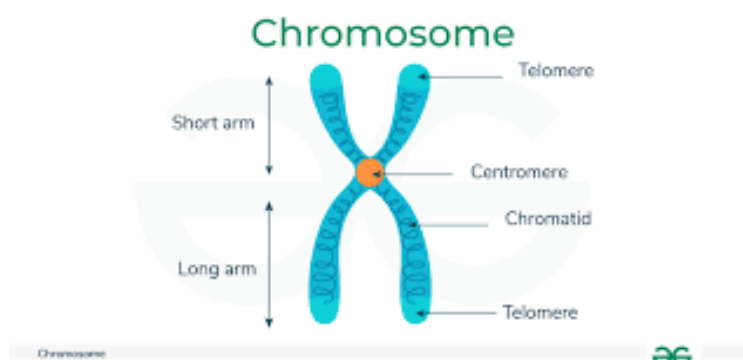


Fig.03. Représentation schématique de chromosome métaphasique.

2.1.3.1. Structure chromosomique

Après la réplication de l'ADN pendant l'interphase du cycle cellulaire, les chromosomes sont composés de deux chromatides identiques, attachés au niveau du centromère et aux extrémités de chaque chromatide se trouvent les télomères.

A) Les centromères

Le centromère est **la région de contact** des deux chromatides d'un chromosome. Il existe deux types de centromères :

- Les centromères des chromosomes monocentriques** sont des centromères « **régionaux** », occupant une région précise au sein d'un chromosome. Ils sont généralement visibles sous la forme d'une constriction sur le chromosome métaphasique. La taille de cette région varie d'une espèce à l'autre : de 125 pb chez *S. cerevisiae* jusqu'à plusieurs mégabases pour les centromères humains. On ne compte normalement qu'un centromère régional par chromosome (d'où le terme « monocentrique »), mais des réarrangements chromosomiques peuvent conduire à deux centromères sur un même chromosome (on parle alors de chromosome *dicentrique*) ;
- Les centromères des chromosomes holocentriques** s'étendent sur toute la longueur des chromosomes. Peu fréquents chez les espèces couramment étudiées (à l'exception de *C.*

elegans), jamais observés chez les Vertébrés, les chromosomes holocentriques sont néanmoins répandus chez les protozoaires, plusieurs phylums d'invertébrés et quelques plantes.

*La composition en ADN

Les séquences des régions centromériques **RCs** sont très variables d'une espèce à l'autre. Le centromère le plus simple, celui de *Saccharomyces cerevisiae*, s'étend sur environ 125 pb et est composé de trois éléments fonctionnels CDE I, II et III (*Centromere DNA Element*), les éléments I et III étant conservés sur les seize chromosomes alors que l'élément II a une séquence variable, unique sur chaque chromosome. Contrairement à ce centromère dit « **ponctuel** », la plupart des eucaryotes possèdent des centromères dit « **régionaux** ». Ces régions sont composées d'ADN répété en tandem ; la séquence et la taille de l'unité de répétition ainsi que le nombre de répétitions sont variables entre les espèces.

Chez les mammifères, l'ADN répété centromérique est principalement de l'ADN α -satellite (aussi appelé *alphoid DNA* en anglais), dont le motif unitaire (monomère) fait 171 pb. Ces monomères sont organisés en motifs répétés d'ordre supérieur (*higher order repeat* ou *HOR*), alignés de manière ininterrompue dans la même orientation sur des distances allant de 100 kb à 4 Mb.

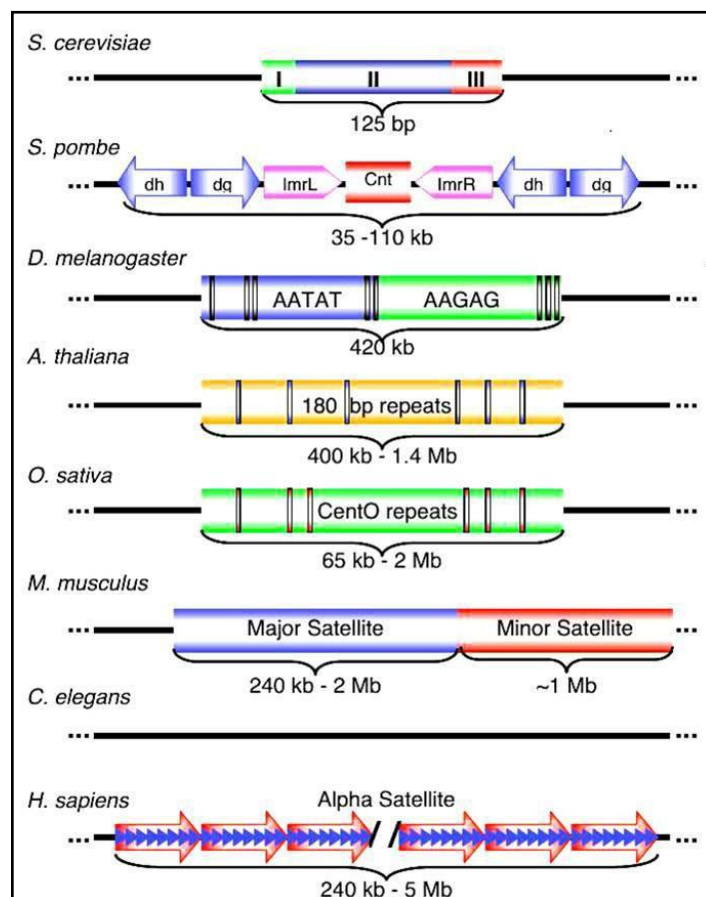


Fig. 07 : Organisation des RCs entre les espèces.

***Chromatine centromérique**

Les RCs constituent, avec les télomères, l'hétérochromatine constitutive caractérisée par des marques d'histones répressives telles que H3K9me3, H3K27me3 et H4K20me3, et par un fort taux de méthylation de l'ADN ainsi que par leur réplication tardive. Les centromères de toutes les espèces sont caractérisés par la présence du variant de l'histone H3 CenpA (parfois nommé CenH3), très conservée et qui se trouve exclusivement au niveau de ces centromères. Cette dernière caractéristique est nécessaire et suffisante à la formation du centromère ; c'est pourquoi elle est considérée comme définissant le centromère, à défaut d'un consensus de séquences d'ADN.(Fig.8).

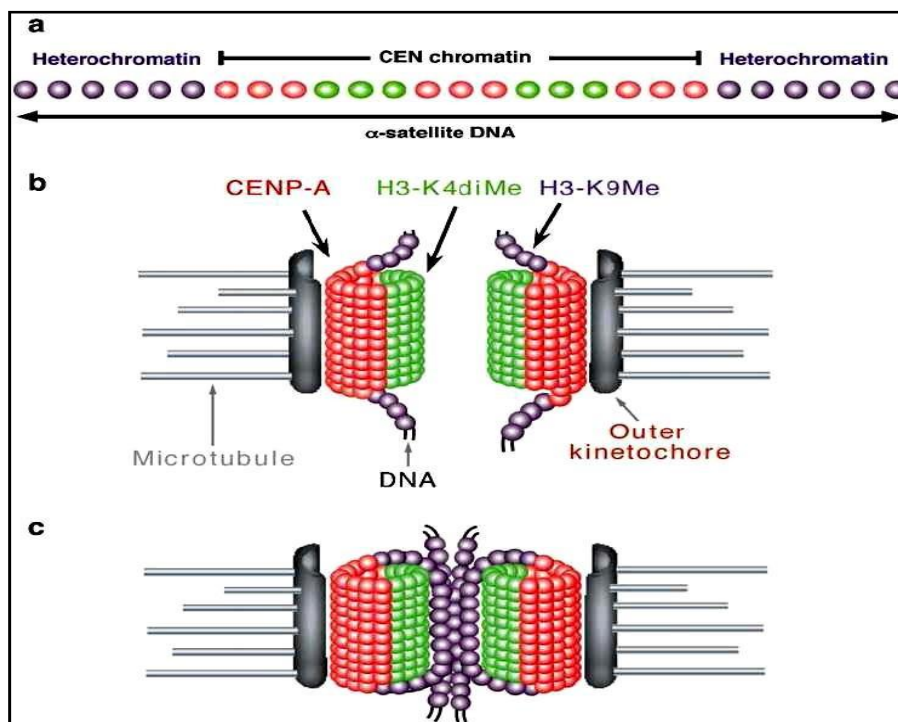


Fig. 08 : Modèle de structure secondaire de la chromatine centromérique.

***Paradoxe du centromère**

Le rôle joué par le centromère dans l'assemblage du kinétochore et la division cellulaire est très conservé au cours de l'évolution, alors que la séquence d'ADN est très divergente entre les espèces. Cela semble paradoxal, car en général, la conservation de la fonction d'un locus au cours de l'évolution est corrélée avec la conservation de sa séquence. Cette singularité est connue sous le nom de paradoxe du centromère. En revanche deux caractéristiques sont conservées au cours de l'évolution: d'une part, on trouve un variant spécifique de l'histone H3 (CenpA chez l'homme) au niveau de tous les centromères. D'autre part, le caractère répété et riche en A/T des séquences est présent chez quasiment tous les eucaryotes.

La conservation du caractère répété des séquences au cours de l'évolution pose la question de son rôle dans le fonctionnement du centromère. Des études portant sur des chromosomes humains anormaux, caractérisés par une relocalisation du centromère, montrent que de nouveaux centromères peuvent se former sur des régions dépourvues de séquences répétées, mais présentant néanmoins une séquence riche en A/T ; ces structures sont appelées néo-centromères. Ces observations montrent que le centromère peut être fonctionnel sans la présence d'ADN répété ; cette caractéristique n'est donc, apparemment, pas nécessaire.

B/ les télomères

Le télomère est l'extrémité d'un chromosome dans une cellule eucaryote. Il ne code pas pour une information précise mais intervient dans la stabilité du chromosome et dans les processus de vieillissement cellulaire. Les télomères servent à protéger les chromosomes et participent à l'intégrité du patrimoine génétique.

***Structure d'un télomère**

La structure des télomères est relativement bien conservée chez les eucaryotes et est composée, hormis quelques exceptions, de courtes répétitions doubles brin en tandem de 6 à 8 nucléotides, riches en G, se terminant par une extrémité 3' sortante simple brin. Chez les mammifères, et notamment chez l'homme, la séquence télomérique est composée de répétitions (TTAGGG)_n. Le nombre de répétitions est variable en fonction des espèces. La taille des télomères est de 10 à 15 kilo-bases (kb) chez l'homme et de 20 à 50 kb chez la souris. Ce nombre peut également varier selon le type cellulaire et d'un chromosome à l'autre dans le même organisme. Le brin riche en G (et dépourvu de C), encore appelé brin G, forme une extrémité simple brin 3' sortante dont la longueur est estimée de 130 à 210 bases chez l'homme. Cette extrémité peut envahir la partie double brin pour former une structure en lasso appelée boucle-t (t-loop). L'extrémité 3' sortante est alors appariée avec le brin C et déplace le brin G en une boucle de déplacement (D-loop). Cette configuration particulière pourrait participer à la protection des extrémités chromosomiques en masquant la terminaison du télomère (**figure 09**).

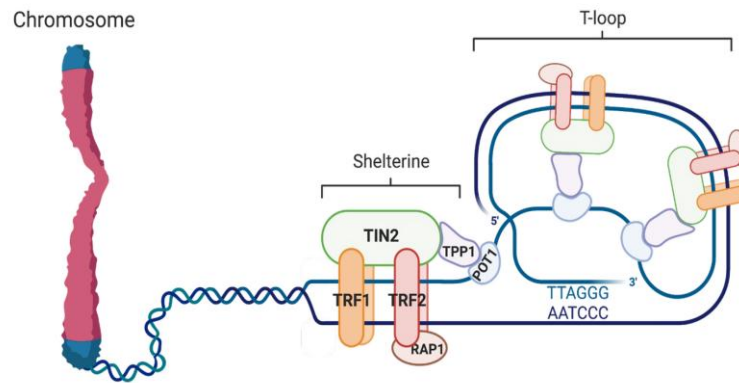


Fig.09: Représentation schématique de la structure des télomères.

***Complexe télosome (Shelterin)**

Le complexe protéique spécialisé associé au télomère chez les mammifères s'appelle télosome. Il est formé de six protéines: TRF1 (Telomeric Repeat Binding Factor1), TRF2 (Telomeric Repeat Binding Factor 2), POT1 (Protection Of Telomere 1), TIN2 (TRF1 Interacting factor2), TPP1 (Tri Peptidyl Peptidase1) et RAP1 (Repressor Activator Protein1). Ces protéines peuvent se lier à l'ADN télomérique double brin ou à l'extrémité 3' sortante simple brin. La région double brin est reconnue spécifiquement par TRF1 et TRF2, deux protéines de la même famille qui se distinguent par leur domaine amino-terminal (acide pour TRF1, basique pour TRF2). L'ADN simple brin est reconnu par TPP1 et POT1. Les éléments du télosome peuvent former des complexes en absence d'ADN télomérique et dessous complexes ont également été identifiés dans des extraits cellulaires (figure 09). Le télosome intervient dans la régulation de la longueur des télomères par la télomérase et dans la protection des extrémités télomériques contre les systèmes de signalisation et de réparation des dommages à l'ADN.

***Réplication des extrémités télomériques et télomérase**

Du fait de l'incapacité de l'ADN polymérase classique à répliquer l'ADN linéaire complètement, l'extrémité des chromosomes eucaryotes est confrontée à une perte de matériel génétique à chaque cycle de réplication. En effet, lors de la réplication semi-conservative de l'ADN, le brin retardé (brin suiveur) est synthétisé de façon discontinue par l'intermédiaire de fragments d'Okazaki. Chaque fragment d'Okazaki est initié par une amorce ARN qui est ensuite détruite, remplacée par de l'ADN et liguée. En revanche, l'amorce la plus distale ne peut pas être remplacée sur un ADN linéaire, ce qui a pour conséquence une délétion de quelques bases de matériel génétique terminal à chaque cycle réplcatif (figure 10).

Toute fois chez l'homme, la perte télomérique à chaque cycle réplicatif est d'environ 100 à 200pb, c'est-à-dire beaucoup plus importante que la taille d'une amorce ARN. Par ailleurs, la réplication du brin avancé (meneur) est complète, mais génère un double brin à bout franc. Or, il a été observé la présence d'un brin 3' sortant à toutes les extrémités télomériques. Ces deux observations nous ont fait émettre l'hypothèse d'un mécanisme post-réplicatif, faisant intervenir une activité nucléase 5' qui génère une nouvelle extrémité 3' sortante par résection du brin C. Ce mécanisme est régulé par les protéines du télosome, qui contrôlent la détermination stricte du nucléotide terminal, et expliquerait ainsi l'attrition (érosion) plus rapide des télomères (**figure 10**).

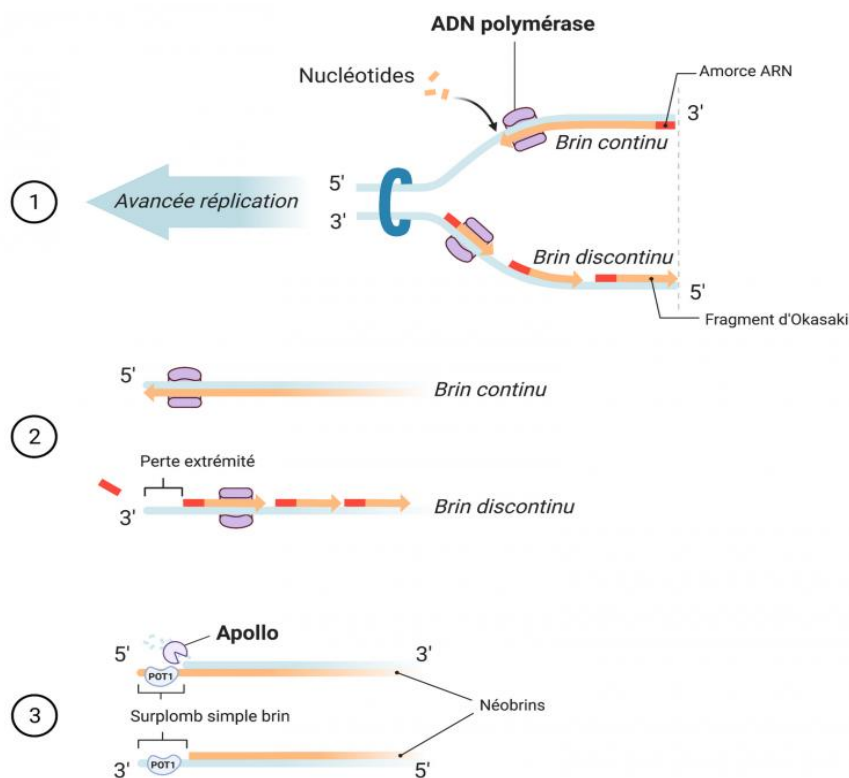


Fig.10: Modèle actuel du mécanisme de réplication des télomères