

Epigénétique

Introduction

« ...pourquoi toutes les cellules d'un organisme ne sont-elles pas identiques ... » Alors qu'elles ont toutes les mêmes gènes.

Deux périodes successives récentes dans l'étude des génomes :

- Génomique
 - Structure de l'ADN (1953)
 - Séquençage du génome humain (2000-2001)
- Post-génomique
 - Depuis 2000-2001 jusqu'à maintenant.

Concept datant d'Aristote (384-322 av. J.-C.) : Hypothèses de l'épigénèse et du préformisme.

Définition de l'épigénétique moderne en 1942 par Conrad H. Waddington.

Au XXI^{ème} siècle, la définition la plus courante de l'épigénétique est « l'étude des changements héréditaires dans la fonction des gènes, ayant lieu sans altération de la séquence ADN ».

Le **mécanismes épigénétiques** sont **réversibles** et **ne changent pas la séquence ADN**.

Définitions

- **Génétique**

Science de l'hérédité

La génétique étudie les caractères héréditaires des individus, leur transmission au fil des générations et leurs polymorphismes. L'étude de cette transmission héréditaire qui permis l'établissement des lois de Mendel.

- **Epigénétique**

Ensemble des modifications, transmissibles d'une génération à l'autre, de l'expression des gènes, sans altération des séquences nucléotidiques.

Définition historique (Socrate, Waddington,...)

Epigénétique , épigénésique : adjectif singulier invariant en genre relatif à l'épigenèse. Doctrine selon laquelle l'être vivant n'est pas présent au début de la formation de l'être vivant lors de l'embryogenèse.

- **Génotype**

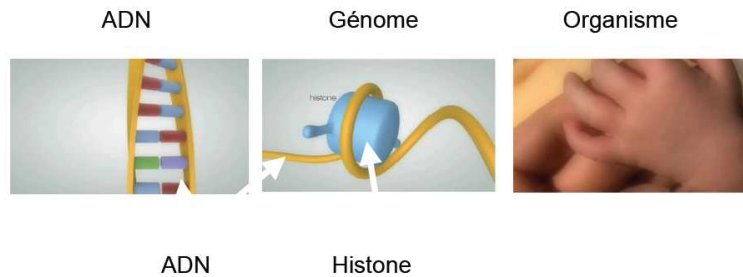
Le génotype est l'ensemble de la composition génétique (information génétique) d'un individu.

- **Epigénotype**

Ensemble de modifications ou, mécanismes, qui ne modifie pas la séquence ADN d'un organisme mais est capable de modifier de manière réversible et adaptative une partie de l'expression de son génotype encore définit par phénotype.

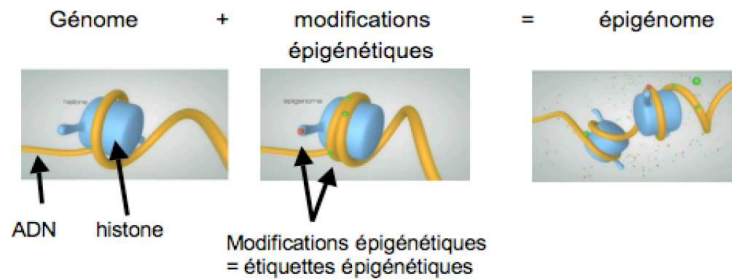
- **Génome**

Le génome est l'ensemble du matériel génétique d'un individu ou d'une espèce codé dans son ADN (exception Virus à ARN). Il contient toute l'information nécessaire à la fabrication d'un organisme.



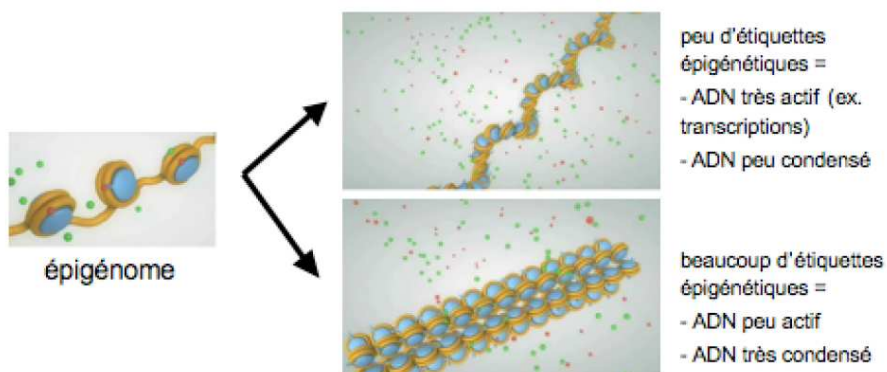
- **Épigénome**

L'épigénome est l'état épigénétique de la cellule. Il rassemble l'ensemble des modifications capables de moduler l'expression et/ou l'activité des produits issus des gènes.



L'activité de l'épigénome est régulée par des **étiquettes épigénétiques** permettant de moduler la structure de la chromatine et l'activité des gènes.

En fonction de la nature chimique et du nombre de ces étiquettes épigénétiques, la chromatine sera plus ou moins compacte permettant ainsi l'expression ou l'absence d'expression du ou des gènes.



Le génome contient toutes les informations génétiques (ou programmes), nécessaires à la fabrication d'un organisme mais cette information n'est pas utilisée partout et tout le temps.

Dans les cellules différenciées, seulement 10 à 20% des gènes sont actifs. Divers ensembles de gènes permettent par exemple à des cellules du muscle (ex: myoblastes) d'être différentes des cellules du cerveau (ex: neurones).

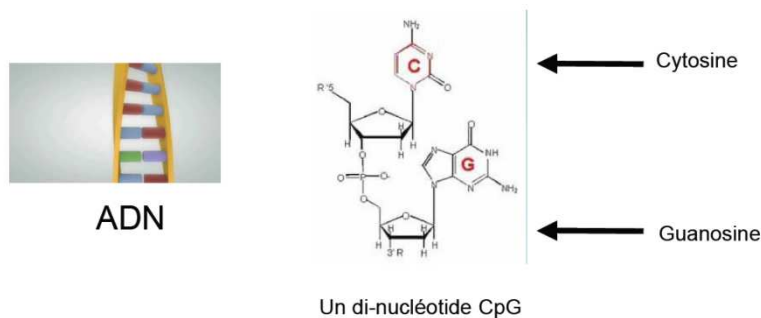
ADN et Histones

- ⇒ Les deux cibles majeures des mécanismes de l'épigénétique sont **l'ADN et les Histones**
- ⇒ Plusieurs types de modifications :
 - Sur l'ADN : **Méthylations** uniquement
 - Sur les Histones : **Acétylations, Méthylations, Phosphorylations**

ADN

La méthylation de l'ADN, tout comme la modification des histones, change spécifiquement la manière dont les gènes sont exprimés. Ceci a conduit à la théorie selon laquelle il existe un code épigénétique, en plus du code génétique, qui sert à modifier les instructions de base.

La méthylation de l'ADN des mammifères s'effectue au niveau d'une Cytosine (C) précédant une Guanine (G). L'alternance d'un résidu Cytosine et d'une Guanosine définit un di-nucléotide **CpG**.

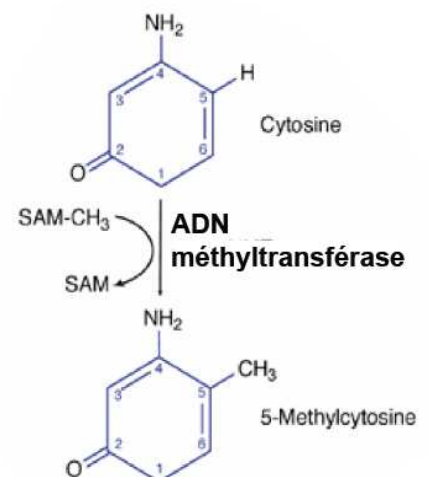


Il existe dans le génome des séquences courtes, enrichies en CpG, que l'on désigne sous le terme d'îlots CpG de taille supérieure à 500 paires de bases. Près de la moitié des gènes de l'Homme contiennent des îlots CpG.

Les îlots CpG sont majoritairement présents sur les régions 5' régulatrices (séquences promotrices) de 40 à 50% des gènes de mammifères. Il existe environ 29000 îlots CpG dans le génome humain et leur contenu en CG est > 55%.

L'état de méthylation des îlots CpG situés sur les promoteurs est un des éléments régulateurs majeurs de l'expression des gènes souvent associée à une inhibition de l'expression. Une minorité de ces îlots est méthylée à l'état normal.

La réaction de méthylation de l'ADN s'effectue en **position C5 de la cytosine** par l'action de l'ADN méthyltransférase en présence de S-Adénosyl Méthionine (ou SAM), qui se comporte comme un donneur de groupement méthyle.



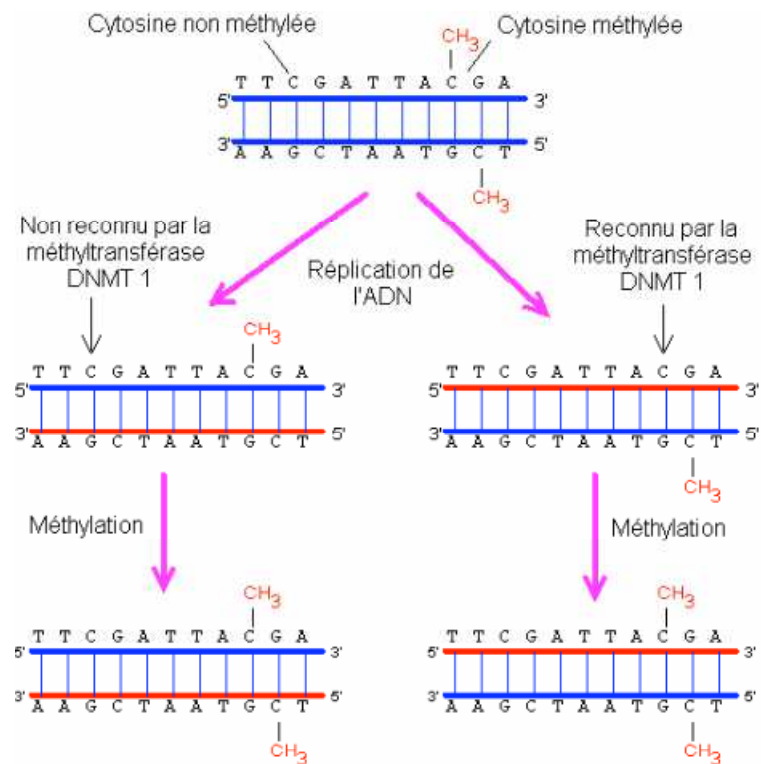
Il existe plusieurs enzymes ADN méthyltransférase (DNMT) chez les mammifères avec des fonctions très spécifiques.

- **Fonction N°1 : Maintient des profils de méthylation au cours des divisions cellulaires**

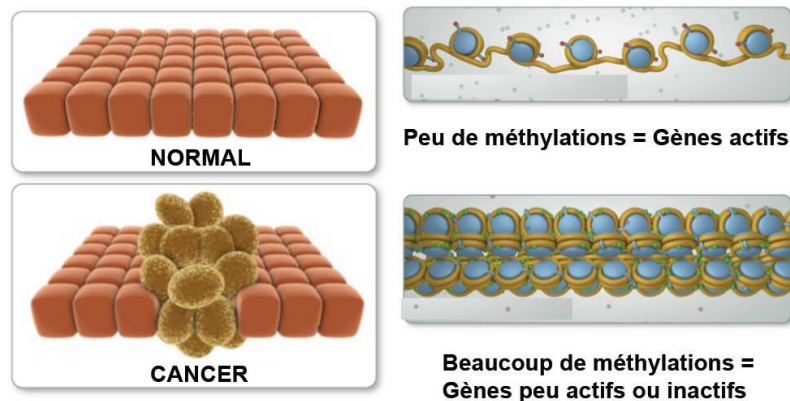
Enzyme : La **DNMT 1** ou **DNMT de maintenance**

Cette DNMT ne peut méthyler que l'ADN hemiméthylé, permettant ainsi de maintenir le profil de méthylation après les divisions cellulaires.

Mécanisme dépendant de DNMT1



La sur-expression expérimentale de DNMT1 dans des cellules en cultures induit la transformation cellulaire.

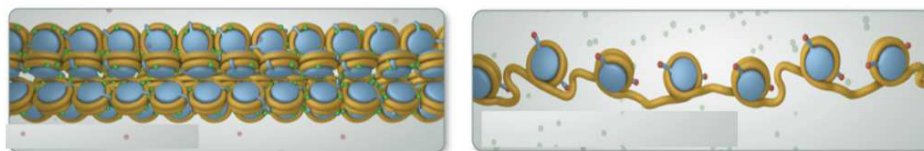


Les cellules humaines en culture présentent un taux de mutations spontanées de 2.10^{-7} / gène / division cellulaire.

Taux trop faible pour expliquer l'apparition des cancers qui nécessitent d'autres mécanismes.

Dans plusieurs types de cancers, il a été observé une réduction globale du taux de méthyl-cytosines dans le génome par rapport au tissu normal.

De nombreux gènes impliqués dans la prolifération cellulaire et les cancers présentent des défauts de méthylations.



Hyper-méthylation :

- Maintien de la croissance cellulaire et des divisions cellulaires sous contrôles.
- Possibilité de mort cellulaire programmée.
- Possibilité de réparations de l'ADN.

Hypo-méthylation :

- Activation des gènes promoteurs de la croissance.
- Instabilité chromosomique : l'ADN très actif est plus facilement remanié, dupliqué, délété ou transloqué.
- Perte d'empreinte génomique parentale (voir plus loin).

L'hyperméthylation de certaines séquences augmente leur fréquence de mutations de près de 100 fois. Ces mutations sont la conséquence du changement de la 5-méthyl-cytosine qui peut se désaminer (perte de la fonction amine) spontanément en thymine.

Les systèmes de réparations de la cellule ne reconnaissent pas ces mutations et ne peuvent les corriger. Ainsi, même si les modifications épigénétiques ne modifient pas directement les séquences ADN, leurs conséquences peuvent tout de même conduire à leur modification.

- **Fonction N°2 : Méthylations de novo**

Soit méthylation des séquences régulatrices des gènes (promoteurs) avec comme effet une inhibition de l'expression du gène (transcription) :

- Par inhibition de la fixation de facteurs de transcription
- Par recrutement d'autres protéines de haute affinité pour l'ADN méthylé : MeCP qui bloquent l'accès à l'ADN par effet d'encombrement stérique

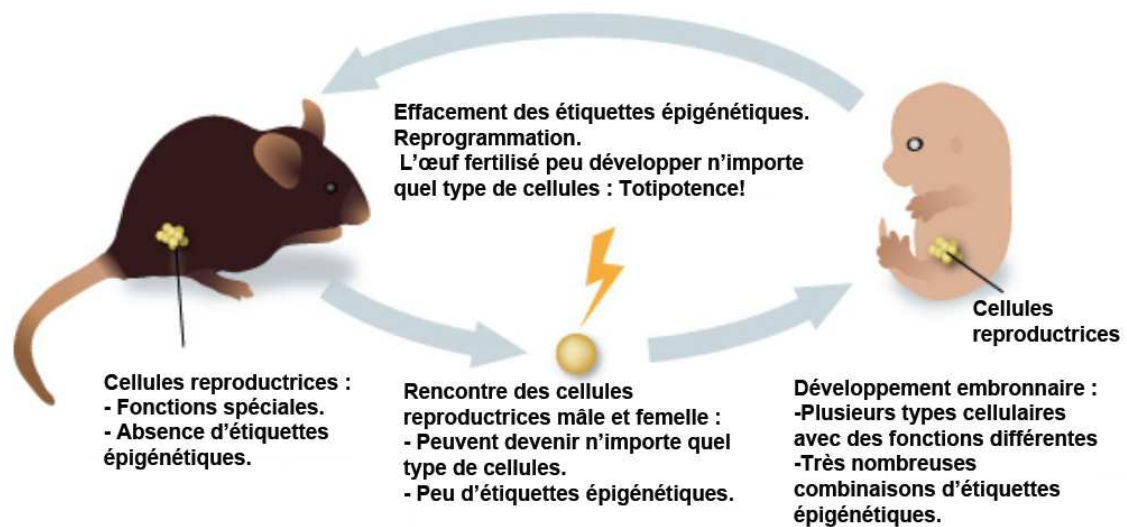
Soit méthylation des séquences centromériques ou séquences « satellites ».

Enzymes : Les **DNMT 3 a et b**

Ces DNMT peuvent méthyler des séquences sans avoir à les copier sur des méthylations préexistantes.

Méthylations *de novo* = Implications dans le développement et les cancers

Exemple : Méthylations de novo et développement



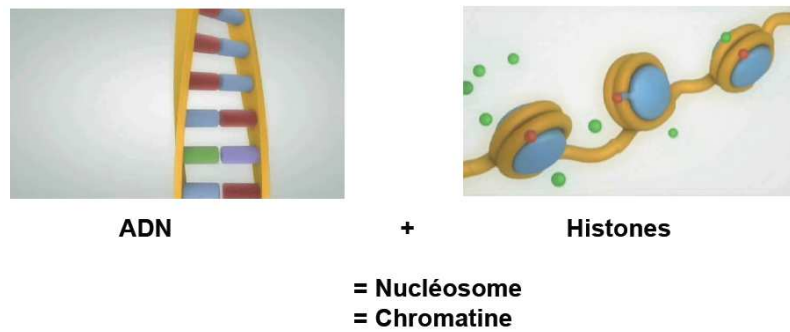
Effacement complet des méthyles sur les chromosomes des cellules germinales.

La reméthylation des cellules germinales se fait :

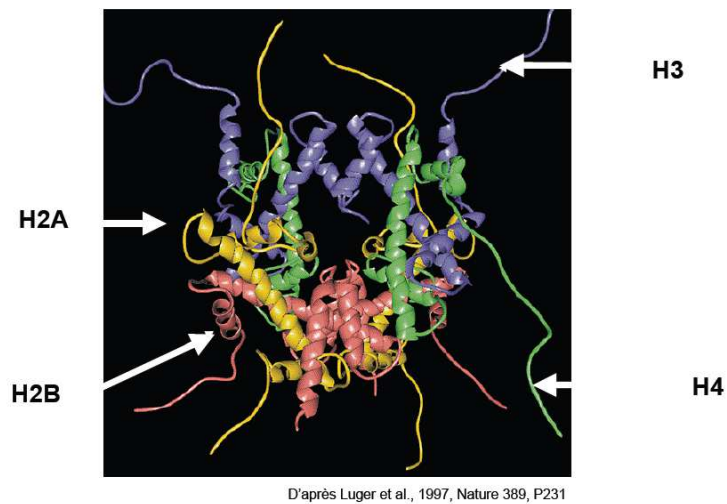
- dans l'embryon pour les filles
- au moment de la puberté chez le garçon

Histones

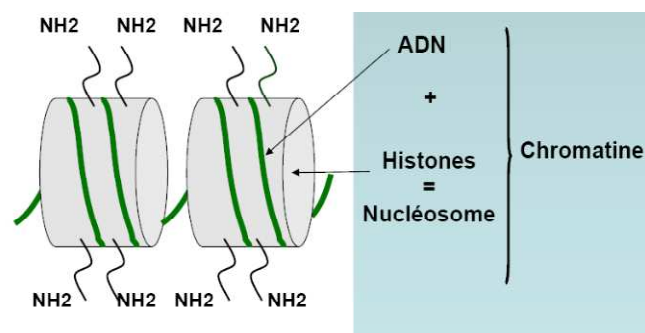
Les Histones permettent l'enroulement de l'ADN et la structuration dynamique du nucléosome.



Le Nucléosome est formé d'un Octamère d'Histones =
2 Histones H2A + 2 Histones H2B + 2 Histones H3 + 2 Histones H4



Les **extrémités N-terminales** des histones sont dépourvues de structure secondaire et comportent de nombreux résidus amino-acides basiques.



Chez les mammifères, **les étiquettes épigénétiques s'appliquent sur ces extrémités.**

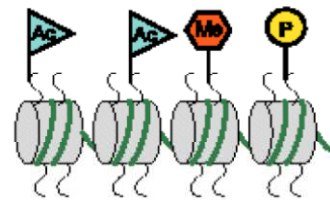
Plusieurs modifications sur les Histones sont possibles

Modifications	Principaux acides aminés modifiés	Enzymes	Règle générale
Acétylation	Lysines	Histone Acétyl Transférase (HAT) / Histone Déacétylase (HDAC)	Favorise l'expression des gènes
Méthylation	Lysines/Arginines	Histone Méthyltransférase (HMT) (<i>mono-, di ou encore tri-méthylées</i>)	Sur histone : favorise ou inhibe l'expression des gènes Sur ADN : inhibe l'expression des gènes
Phosphorylation	Sérines/Tyrosines	Kinases / Phosphatases	Fonction inconnue en épigénétique

Le code histone

Ac = Acétylation
Me = Méthylation
P = Phosphorylation

LE CODE HISTONE

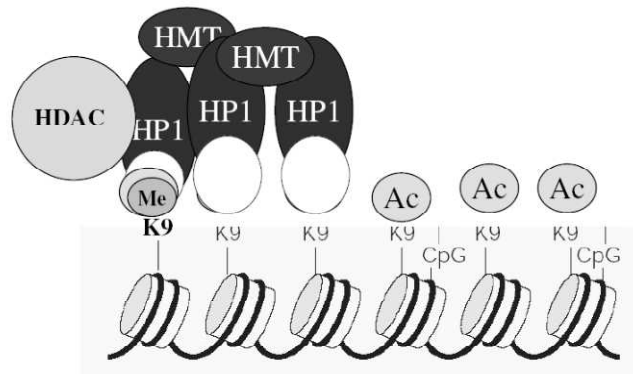


Il existe différentes classes de méthyltransférases possédant des spécificités pour certains résidus.

Les Histones dé-méthylases peuvent catalyser l'enlèvement des résidus méthyls sur les Lysines di- ou tri-méthylées :

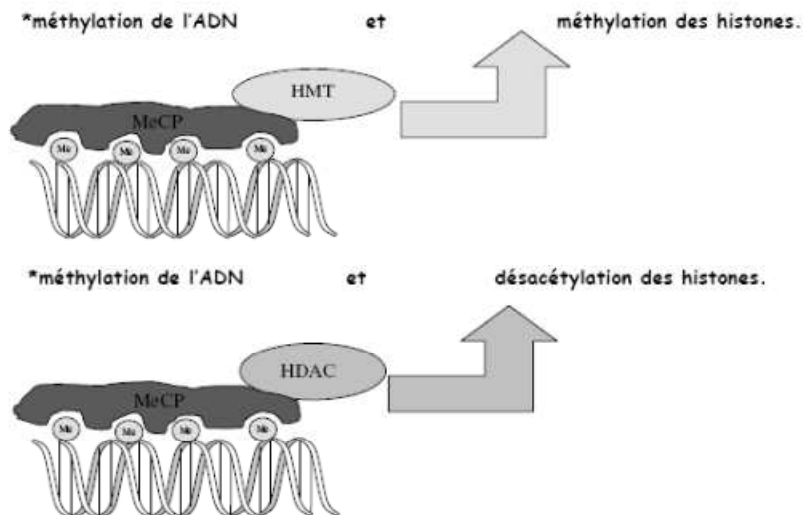
- Soit directement
- Soit après transformation de la méthylarginine en citrulline

Exemple d'inhibition de l'expression de gènes par méthylation d'Histone



Dans cet exemple, l'histone H3 méthylée sur K (9) permet la liaison de HP1 : une protéine de très haute affinité pour les Histones méthylées. HP1 est capable de s'associer avec HMT mais également à d'autres HP1 par homopolymérisation sur la chromatine. On peut également retrouver dans ce complexe HDAC. Le bilan net de cette association est la répression de l'expression du gène.

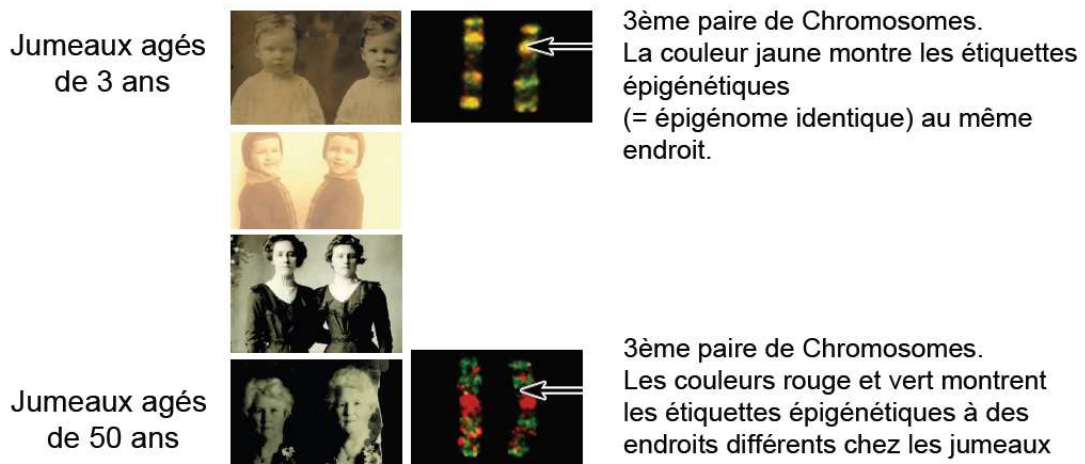
Des liens fonctionnels existent entre les mécanismes de méthylation de l'ADN et de modifications des Histones.



Fonctions de l'épigénétique

Jumeaux

A l'échelle mondiale, le taux de naissance de jumeaux monozygotes est de 1 pour 250. Le génome est déterminé pour toute la durée de la vie mais pas l'épigénome. Il est possible de suivre les variations de l'épigénome chez des jumeaux en visualisant par exemple les méthyles sur les chromosomes avec des anticorps.

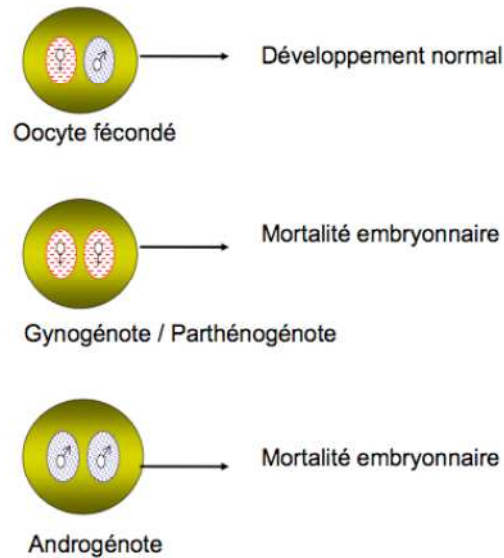


Développement

L'empreinte génomique parentale

Définition : Un gène est soumis à empreinte lorsque l'expression de ce gène dépend de son origine parentale (maternelle ou paternelle).

Expériences de transplantation nucléaire chez la Souris



Un gène peut être soumis à empreinte seulement dans un tissu particulier (par exemple uniquement dans le placenta) ou à un moment particulier (par exemple au cours du développement embryonnaire).

Chez l'Homme des cas de pathologies associées à des altérations de l'épigénotype : le syndrome de Beckwith-Wiedemann

Syndrome de Beckwith-Wiedemann :

- Associé à une perte de régulation épigénétique sur-expression du gène *Igf2* (localisé sur le chromosome 11) codant pour le facteur de croissance IGF-2
- Incidence de 1 cas pour 13700 naissances
- Croissance excessive de certains tissus
- Langue volumineuse (macroglossie : A)
- Gros organes internes (viscéromégalie : B)
- Prédispose au développement de tumeurs embryonnaires (tumeur de Wilms)

Cancer

Les enzymes qui modifient les histones se comportent différemment au fur et à mesure que progressent les tumeurs de la prostate.

Des observations récentes indiquent qu'il serait possible d'utiliser l'observation des modifications globales épigénétiques des Histones comme indicateur dans le pronostic du cancer ou son évolution : Profilage épigénétique des cancers.

Coupe de tissu prostatique cancéreux marqué avec un anticorps dirigé contre un acide aminé méthylé appartenant à la protéine histone H4

