

Communiqué de presse

Arrêt sur image: la transcription freine la mobilité d'un gène unique

L'organisation du génome humain dans le noyau joue un rôle essentiel dans la régulation de son expression. Depuis quelques années nos connaissances sur l'architecture nucléaire et l'agencement des chromosomes en conditions normales et pathologiques évoluent très rapidement, notamment grâce aux approches de biologie moléculaire. Ces techniques de pointe, permettent désormais d'obtenir des informations allant jusqu'à l'échelle de cellules uniques. Néanmoins l'observation en temps réel du comportement d'un gène isolé, tout en contrôlant sa fonction, n'était jusqu'alors pas possible. Une équipe de chercheurs du Centre de Biologie Intégrative¹ (CBI - CNRS / université Toulouse III – Paul Sabatier) et du Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS-CNRS) a récemment réussi à optimiser une technique d'étiquetage de l'ADN appelée ANCHOR, leur permettant de suivre pour la première fois, la transcription² d'un gène isolé en cellules humaines. Ces travaux font l'objet d'une publication dans le *Biophysical Journal* le 3 octobre 2017.

La technique d'étiquetage ANCHOR profite du système de ségrégation des chromosomes bactériens appelé ParB/parS. parS est une séquence d'ADN courte spécifiquement reconnue par la protéine ParB. Insérée à proximité immédiate d'un gène cible dans les cellules humaines, cette séquence bactérienne devient l'unique partenaire de ParB dans la cellule. Il est alors possible de localiser précisément le gène d'intérêt par simple transfection de protéines ParB fluorescentes. Le système ANCHOR, breveté par l'équipe³ et initialement utilisé pour étudier le comportement de la chromatine au cours de la recombinaison homologue chez la levure⁴, s'adapte à tout type de cellules eucaryotes et offre des nombreuses applications pour l'analyse des fonctions du génome. La société NeoVirTech SAS⁵, spin-off du laboratoire hébergé à l'Institut des Technologies Avancées du Vivant (ITAV, USR3039), exploite d'ailleurs déjà cette technologie dans le but de développer des virus autofluorescents pour le criblage de molécules à activités antivirales de nouvelle génération.

Le système ANCHOR, combiné au système MS2/MCP⁶ (permettant l'étiquetage de l'ARN messenger par un mécanisme similaire), a permis d'observer et de comparer les mouvements du gène étiqueté, avant et après activation de la transcription. Le comportement dynamique du gène, marqué par une protéine fluorescente rouge, a pu être analysé en conditions physiologiques par vidéo-microscopie. Alors que la stimulation de son activité transcriptionnelle par l'estradiol est contrôlée par l'apparition d'ARN messenger quant à lui marqué par une protéine fluorescente verte.

Les résultats de l'analyse quantitative de ces travaux, publiés dans le *Biophysical Journal*, révèlent tout d'abord que le mouvement du gène étiqueté se trouve confiné, quelques minutes à peine après l'initiation de la transcription. De manière surprenante, avant d'être transcrit, le gène d'intérêt semble plutôt soumis à une diffusion libre, très variable d'une cellule à une autre même en phase G1 du cycle cellulaire. Or, jusqu'alors la chromatine des chromosomes était supposée suivre une diffusion contrainte comme chez la levure. Indépendamment de la mobilité initiale, le mouvement du gène est freiné dès son activation par l'ARN polymérase 2 et le recrutement concomitant de nombreux cofacteurs. La forme active de la polymérase est connue pour s'établir en amas plutôt statiques, ce qui est parfaitement

¹ Le CBI regroupe cinq unités mixtes de recherche CNRS / Université Toulouse III – Paul Sabatier : Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote (LBME), Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaire (LMGM), Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire du Contrôle de la Prolifération (LBCMCP), Centre de Biologie du Développement (CBD) et le Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA).

² Première étape du processus qui permet de passer de l'ADN à la protéine.

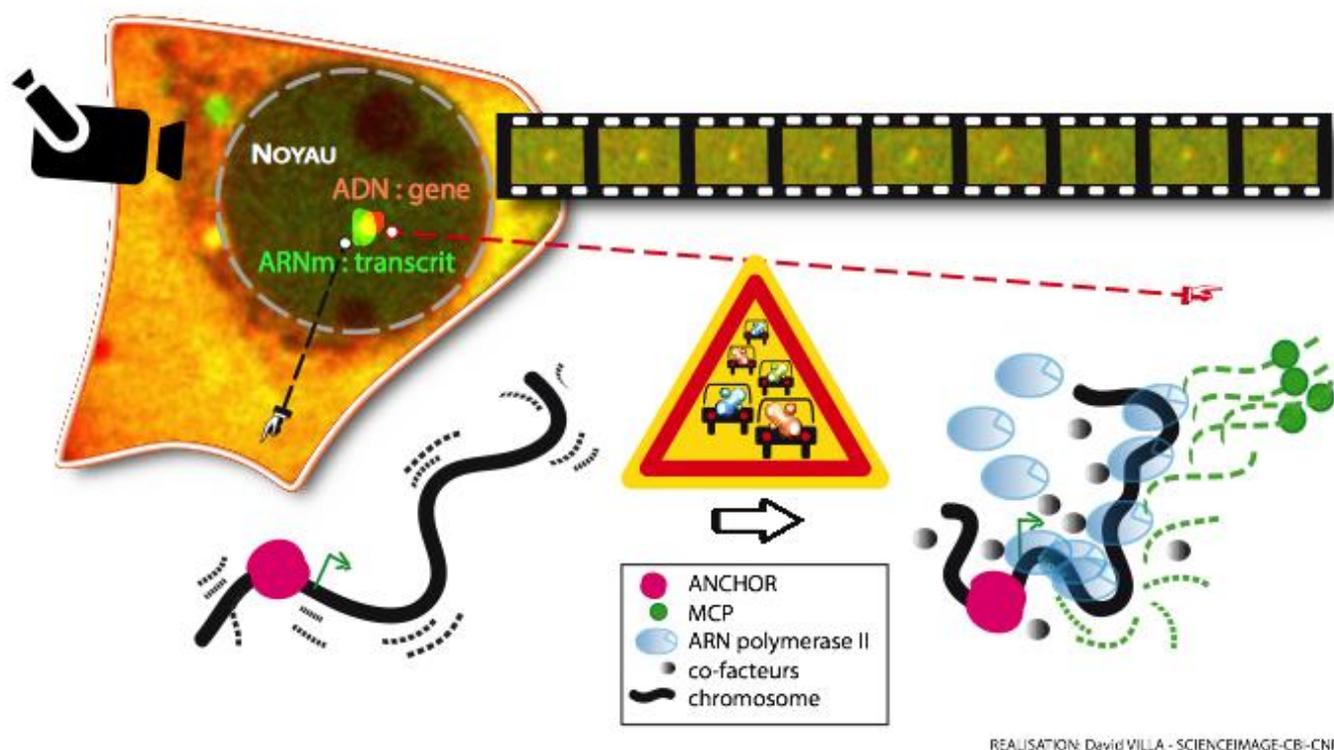
³ K. BYSTRICKY, F. GALLARDO, D. LANE, and N. DUBARRY. 2012. Constructs and Method for Regulating Gene Expression or for Detecting and Controlling a Dna Locus in Eukaryotes. WO/2012/127047, déposé par le CNRS.

⁴ Saad, H., F. Gallardo, M. Dalvai, N. Tanguy-le-Gac, D. Lane, and K. Bystricky. 2014. DNA Dynamics during Early Double-Strand Break Processing Revealed by Non-Intrusive Imaging of Living Cells. *PLoS Genet.* 10: e1004187

⁵ www.neovirtech.com

⁶ Bertrand, E., P.S. Chartrand, S.M. Shenoy, R.H. Singer, and R.M. Long. 1998. Localization of ASH1 mRNA particles in living yeast. *Mol Cell.* 2: 437–445

cohérent avec l'idée que le gène soit enfermé dans une cage de protéines lors de sa transcription. A l'intérieur de cette cage, le gène a plus de chance d'entrer en contact avec ses éléments régulateurs. A terme, ceci pourrait composer la signature d'un gène actif et permettre le criblage de nouvelles molécules pharmacologiques agissant sur la transcription. Cette étude ouvre de nombreuses pistes pour mieux comprendre la physique des chromosomes *in situ*.



En direct, un gène et son messager vu dans une cellule humaine vivante. Image d'une cellule cancéreuse mammaire exprimant une protéine fluorescente rouge (OR/ParB) qui s'accumule sur l'ADN du gène de la Cycline D1 et une protéine fluorescente verte (MCP-GFP) qui marque l'ARN messager produit. Les deux signaux sont suivis par vidéomicroscopie en temps réel. Représentation schématique de la fibre chromatinienne au niveau du gène de la Cycline D1 avant et après initiation de la transcription par recrutement des enzymes nécessaires à la synthèse du messager.

Contacts

Chercheuse : Kerstin Bystricky, Professeure à l'université Toulouse III - Paul Sabatier,
kerstin.bystricky@ibcg.biotoul.fr

Presse université Toulouse III – Paul Sabatier : Virginie Fernandez, virginie.fernandez@univ-tlse3.fr
/ 06 88 34 49 98

Bibliographie

Germier, T., S. Kocanova, N. Walther, A. Bancaud, H.A. Shaban, H. Sellou, A. Zaccaria Politi, J. Ellenberg, F. Gallardo, and K. Bystricky. 2017. **Real-time chromatin dynamics at the single gene level during transcription activation.** bioRxiv.