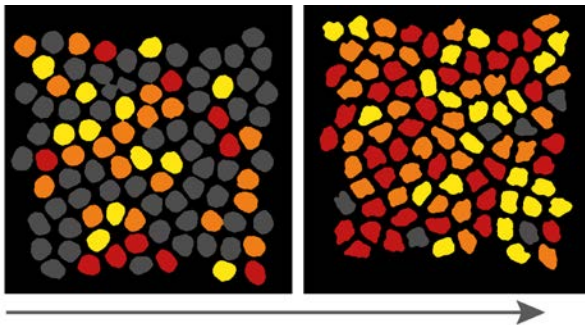


Le bruit des cellules: un mécanisme, deux modèles

Dans les cellules, la lecture de l'information génétique ne se fait pas continûment, mais de manière stochastique et intermittente. Ce phénomène, appelé bruit d'expression, joue un rôle clé dans des nombreuses situations en biologie. Il est responsable du rebond de la charge virale lorsque la trithérapie VIH est arrêtée mais il est aussi incontournable lors du développement embryonnaire. Dans ces deux articles, publiés conjointement dans la revue *Nature Communications*, les scientifiques ont utilisé le marquage de l'ARN messager et un traitement mathématique novateur pour montrer que la modulation du bruit d'expression dans les cellules infectées avec le VIH et dans les embryons de drosophile utilise un mécanisme commun, la pause proximale au promoteur de l'ARN polymérase Pol II.



©Mounia Lagha et Virginia Pimmett

Modèle drosophile : En utilisant l'embryon de drosophile comme organisme modèle, il est possible de suivre l'allumage des gènes en temps réel dans des embryons vivants. Ce réveil du génome s'opère de manière discontinue, car la transcription requiert l'assemblage de nombreux acteurs dont l'action est centralisée au niveau d'une séquence d'ADN particulière appelée promoteur. Pour déterminer la contribution des séquences du promoteur à la dynamique de la transcription, les scientifiques ont combiné des manipulations génétiques à de l'imagerie quantitative pour révéler les différents états des promoteurs et leur cinétique *in vivo*.

Ainsi, ils ont pu mettre en évidence que les promoteurs dits "à boîte TATA" sont actifs très précocement et opéraient via une simple transition entre un état inactif et un état permissif (actif), où une polymérase initie environ toutes les 10 secondes. Pour les promoteurs dits "à motif INR" (Initiateur), actifs plus tardivement, un état inactif supplémentaire existe, celui de la pause de la polymérase. Ces multiples états des promoteurs suggèrent un contrôle de leur activité à différentes échelles temporelles. Dans le contexte d'un embryon en développement rapide, comme lors des étapes des clivages embryonnaires chez les vertébrés et invertébrés, ce contrôle multi-échelle pourrait contribuer à la robustesse de l'expression génique lors du réveil du génome zygotique.

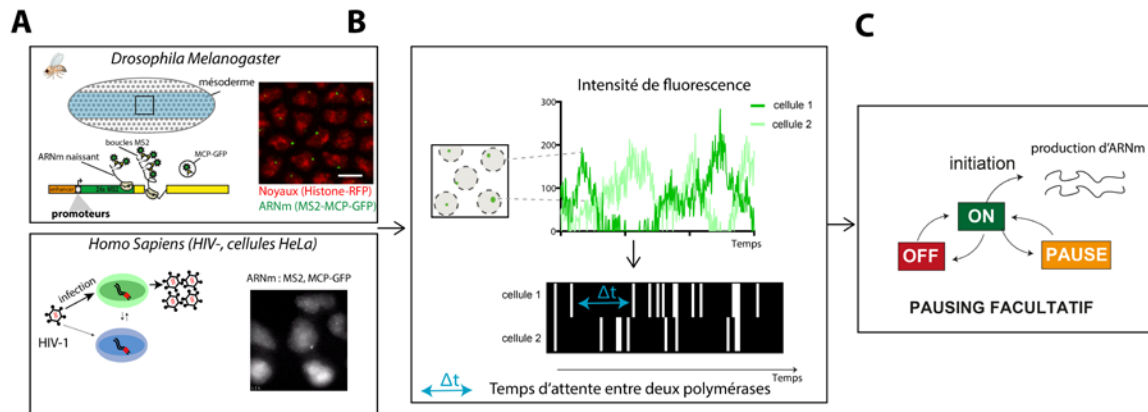
Modèle HIV : Chez les patients infectés par le HIV, il n'est pour l'instant pas possible d'éliminer le virus et les personnes doivent suivre un traitement à vie. L'éradication du virus est impossible à cause de formes latentes du virus, dans lesquelles une cellule infectée n'exprime pas le génome viral et reste indétectable par le système immunitaire. Cependant, ces virus latents peuvent occasionnellement se réveiller et relancer la propagation virale. C'est ce qui produit des rebonds viraux chez les patients qui arrêtent leur thérapie antivirale. Les mécanismes qui permettent le réveil viral dans les cellules latentes font l'objet de nombreuses études. Un des mécanismes principaux qui limite la transcription dans les cellules latentes est l'arrêt des ARN polymérase à proximité du promoteur viral. En effet, cet arrêt, aussi appelé pause, bloque l'entrée de nouvelles polymérase et inhibe ainsi l'expression du virus.

En utilisant une méthode qui permet de visualiser les ARN viraux dans les cellules vivantes avec une sensibilité de l'ordre de la molécule unique, les scientifiques ont analysé la transcription du génome viral dans des conditions qui miment celles des cellules latentes. De manière surprenante, ces cellules montrent de brefs pulses de transcription séparés par de longues périodes d'inactivité de plusieurs heures. Les scientifiques montrent que, contrairement à ce que l'on pensait précédemment, la pause des ARN à proximité du promoteur viral est un événement stochastique et relativement rare (1/20 à 1/200 des polymérase font cet arrêt). Ainsi, lorsqu'une polymérase arrêtée se débloque, ce qui se produit de temps en temps de manière aléatoire, tout un convoi de nouvelles polymérase peut transcrire le génome viral avant qu'une polymérase ne s'arrête à nouveau. Ceci suffit à produire suffisamment de composants viraux pour infecter de nouvelles cellules et débiter un nouveau cycle infectieux.

Les mathématiques décodent le bruit des cellules

Les scientifiques ont basé le traitement mathématique de ces deux modèles sur une même méthode. Cette méthode génère une carte complète de positions des polymérase (telle une image de toutes les voitures sur une autoroute) pour chaque site de transcription. Ensuite, elle utilise des solutions exactes de ce qu'on appelle en mathématiques un « problème inverse » pour remonter aux taux de transition entre les états moléculaires du promoteur et quantifier ainsi la probabilité et la durée des pauses.

Ainsi, par l'analyse de deux systèmes expérimentaux très différents et l'utilisation d'un traitement mathématique des images "rendant visible l'invisible", les scientifiques démontrent que la pause de la RNA polymérase est facultative et stochastique, contribuant ainsi à l'intermittence de l'expression génétique.



© Mounia Lagha, Edouard Bertrand et Ovidiu Radulescu

Légende :

A-Imagerie de la production d'ARNm dans des cellules vivantes. Les deux études utilisent le système MS2/MCP qui permet de marquer les ARNm (contenant les boucles MS2) par leur liaison avec une RNA binding protéine, la MCP, couplée à de la GFP. Par cette amplification du signal, il est possible de visualiser la synthèse des ARN et de savoir où, quand et avec quelle 'force' la transcription s'opère dans des cellules vivantes. L'étude de Pimmitt et al., utilise ce système dans des embryons de Drosophile vivants pour analyser l'impact des séquences promotrices sur la dynamique de la transcription. L'étude de Tantale et al., elle, utilise ce même système d'amplification du signal pour visualiser la transcription du virus HIV dans des cellules humaines infectées de manière latente.

B-Déconvolution du signal pour placer les événements d'initiation de la transcription au cours du temps. Le signal fluorescent émanant de chaque noyau est constitué par plusieurs ARN naissants, produits par plusieurs polymérase, initiées chacune à un temps t . Afin de déterminer ces moments précis où chaque polymérase initie la transcription, les chercheurs ont mis en place une méthode innovante de machine learning.

C-Modélisation des étapes cinétiques limitant la transcription. L'analyse statistique des intervalles de temps entre les événements d'initiation de la transcription permet d'estimer le nombre d'étapes limitantes et de déterminer quel modèle de transcription correspond aux données expérimentales. Ainsi, les scientifiques ont démontré que certains promoteurs opèrent par une simple régulation entre un état permissif et un état inactif, tandis que d'autres requièrent une régulation par trois étapes cinétiques clés. C'est le cas des promoteurs régulés par la pause de la polymérase (promoteurs du développement et promoteur HIV). Cependant et contrairement au modèle de pause établi, les données suggèrent un nouveau modèle de pause, un état de pause non

obligatoire, que seules une partie des polymérase subissent, de manière peu fréquente.

Pour en savoir plus :

Reference des articles au format Pubmed (nous n'avons pas encore les DOI)

Pimmett V*, Dejean M*, Fernandez C, Trullo A, Bertrand A, Radulescu O and Lagha M# (2021)

Quantitative imaging of transcription in living *Drosophila* embryos reveals the impact of core promoter motifs on promoter state dynamics.

(In Press @Nature Communications).

Katjana Tantale#, Encar Garcia-Oliver#, Marie-Cécile Robert, Adèle L'Hostis, Yueyuxiao Yang, Nikolay Tsanov Rachel Topno, Thierry Gostan, Alja Kozulic-Pirher., Meenakshi Basu, Vera Slaninova, Jean-Christophe Andrau¹, Florian Mueller, Eugenia Basyuk*; Ovidiu Radulescu*; Edouard Bertrand*

Stochastic pausing at latent HIV-1 promoters generates transcriptional bursting

(In Press @Nature Communications).

Contact chercheurs :

Mounia Lagha (DR2, CNRS)

Eventuellement compte(s) twitter : @drosoigmm

Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, Univ Montpellier, CNRS, Montpellier, France

mounia.lagha@igmm.cnrs.fr

<http://laghalab.com>

Edouard Bertrand (DR1, CNRS)

Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, Univ Montpellier, CNRS, Montpellier, France

Present address, Institut de Génétique Humaine, Univ Montpellier, CNRS, Montpellier, France

edouard.bertrand@igh.cnrs.fr

Phone: +33 434359921

<https://www.igh.cnrs.fr/en/research/departments/genetics-development/biologie-cellulaire-de-larn>

Ovidiu Radulescu

Professeur Université de Montpellier

Email : ovidiu.radulescu@umontpellier.fr

<https://systems-biology-lphi.cnrs.fr/>

Téléphone : 04 67 14 92 21

twitter : @RadulescuOvidi1

Laboratory of Pathogen Host Interactions (CNRS, Université de Montpellier)

Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier