



**HAL**  
open science

## Analyse tridimensionnelle de la chromatine en fonction de l'expression des gènes au cours du développement preimplantatoire chez les mammifères

Martine Chebrou, Nathalie Daniel, Nathalie Peynot, Ludivine Laffont, Sylvie Ruffini, Pierre Adenot, Véronique Duranthon, Nathalie N. Beaujean Bobineau, Amélie Bonnet-Garnier

### ► To cite this version:

Martine Chebrou, Nathalie Daniel, Nathalie Peynot, Ludivine Laffont, Sylvie Ruffini, et al.. Analyse tridimensionnelle de la chromatine en fonction de l'expression des gènes au cours du développement preimplantatoire chez les mammifères. 4. Journée d'Animation Scientifique du réseau épPhase, May 2018, Nouzilly, France. 2018. hal-02788842

**HAL Id: hal-02788842**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02788842v1>**

Submitted on 5 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

CHEBROUT Martine<sup>1</sup>, DANIEL Nathalie<sup>1</sup>, PEYNOT Nathalie<sup>1</sup>, LAFFONT Ludivine<sup>1</sup>, RUFFINI Sylvie<sup>1</sup>, ADENOT Pierre<sup>1</sup>, DURANTHON Véronique<sup>1</sup>, BEAUJEAN Nathalie<sup>1,2</sup> et BONNET-GARNIER Amélie<sup>\*,1</sup>

1) UMR BDR, INRA, ENVA, Université Paris Saclay, 78350 Jouy en Josas, France.  
2) adresse actuelle: INSERM U1208, INRA USC1361, Stem Cell and Brain Research Institute, 69675 Bron, France.

## Introduction

La distribution des modifications post-traductionnelles d'histones a été largement étudiée chez la souris au cours du développement préimplantatoire (revue dans Beaujean 2014). Toutefois les données sur d'autres mammifères où l'activation du génome est plus tardive comme le lapin et le bovin sont parcellaires. Les marques les plus étudiées chez ces espèces ont été H3K9me3 (Pichugin et al., 2010; Reis e Silva et al., 2011) et H3K27me3 (Breton et al., 2010) -associées à l'hétérochromatine- ou H3K9ac (Boskovic et al., 2012) et H3K4me3 (Brero et al., 2009; Popken et al., 2014) -associées à l'euchromatine.

Chez la souris, une réorganisation de l'hétérochromatine constitutive, associée à la mise en route majeure du génome embryonnaire (EGA), a lieu entre les stades 2 et 4-cellules (Aguirre-Lavin et al., 2012) et nécessite la transcription des séquences satellites majeures (Probst et al., 2010). Nous avons récemment montré qu'une telle réorganisation des séquences péri-centromériques a aussi lieu chez le lapin (Bonnet-Garnier et al., 2018).

## Résultats

## Objectifs

Chez le lapin et le bovin, comparer l'organisation en 3D avant et après l'EGA de certaines marques d'histones et des séquences répétées péri-centromériques en lien avec leur transcription.

## Matériel et Méthodes

Immunodétection de HP1beta et des modifications post-traductionnelles d'histones suivantes : H3K9me3, H3K27me3, H4K20me3, H3K4me3 et H3K9ac. L'ADN a été contre-coloré au DAPI.

Localisation en 3D chez le lapin des séquences répétées péri-centromériques (Rsat I/II) par DNA-FISH et la transcription de ces séquences par RNA-FISH en utilisant des sondes fluorescentes spécifiques de ces séquences.

Les images ont été acquises avec un microscope confocal Zeiss LSM700 (plateforme MIMA2).

Les histones H3 (tri-méthylées sur les lysines 9 et 27) et H4 (tri-méthylée en lysine 20) forment chez le lapin des amas (têtes de flèche, Fig. 1) intensément marqués en IF après l'EGA comme chez la souris.

Organisation des séquences péri-centromériques de lapin (Rsat I en vert et Rsat II en rouge, DNA-FISH Fig. 2)

- relâchée aux stades 1 et 2-cellules (étoile)
- en paquet à partir du stade 4-cellules (flèche)

Transcription de ces séquences (RNA-FISH, Fig. 2)

- Au stade 1-cellule :  
Rsat I majoritairement présent dans le PN mâle  
Rsat II majoritairement dans le PN femelle.
- Baisse progressive du signal des stades 2-cellules à 8-cellules:
- Seulement Rsat I aux stades 4-cellules et 8-cellules.

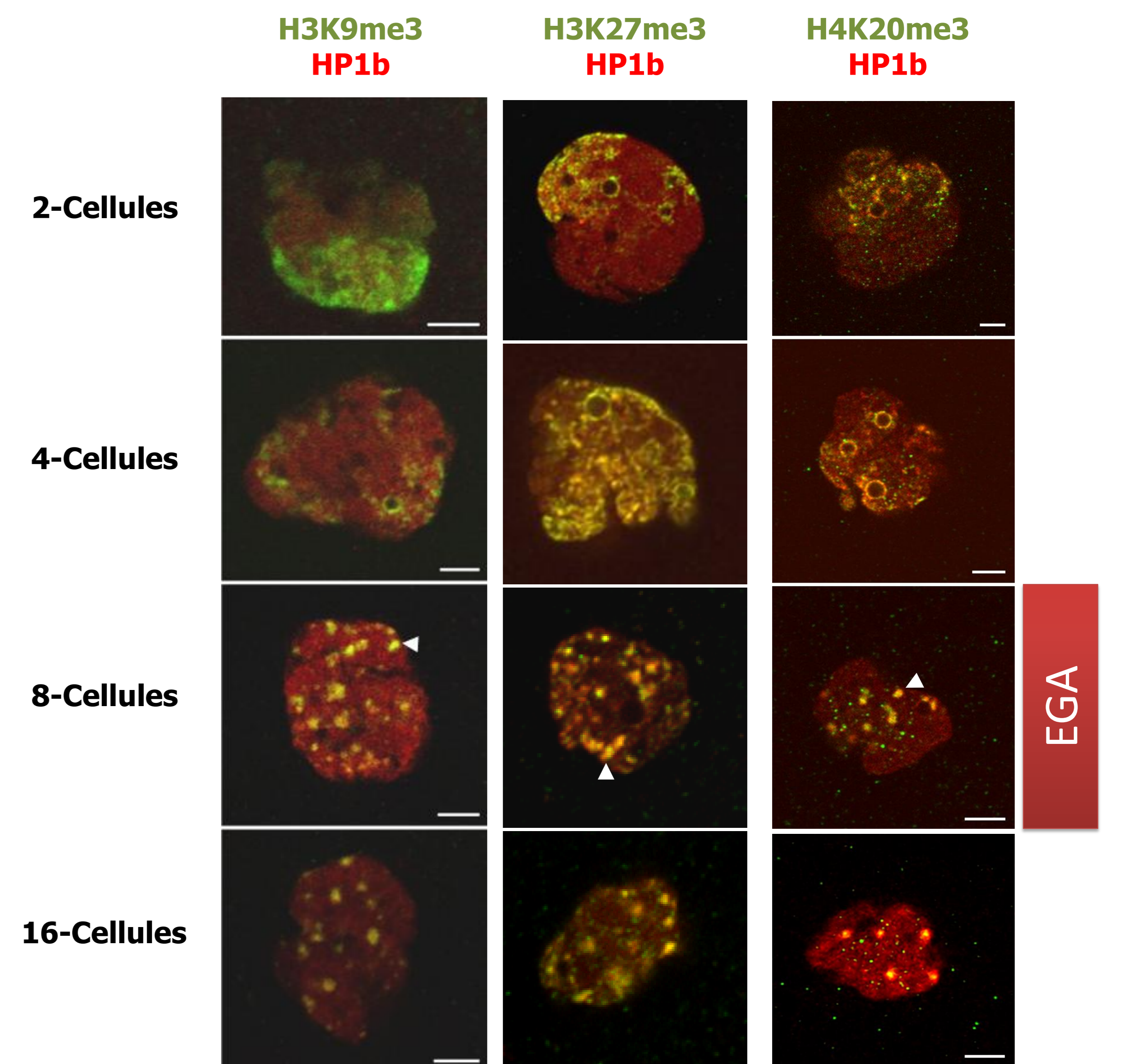


Figure 1: Agrégation de marques d'histones associées à l'hétérochromatine après l'EGA chez le lapin

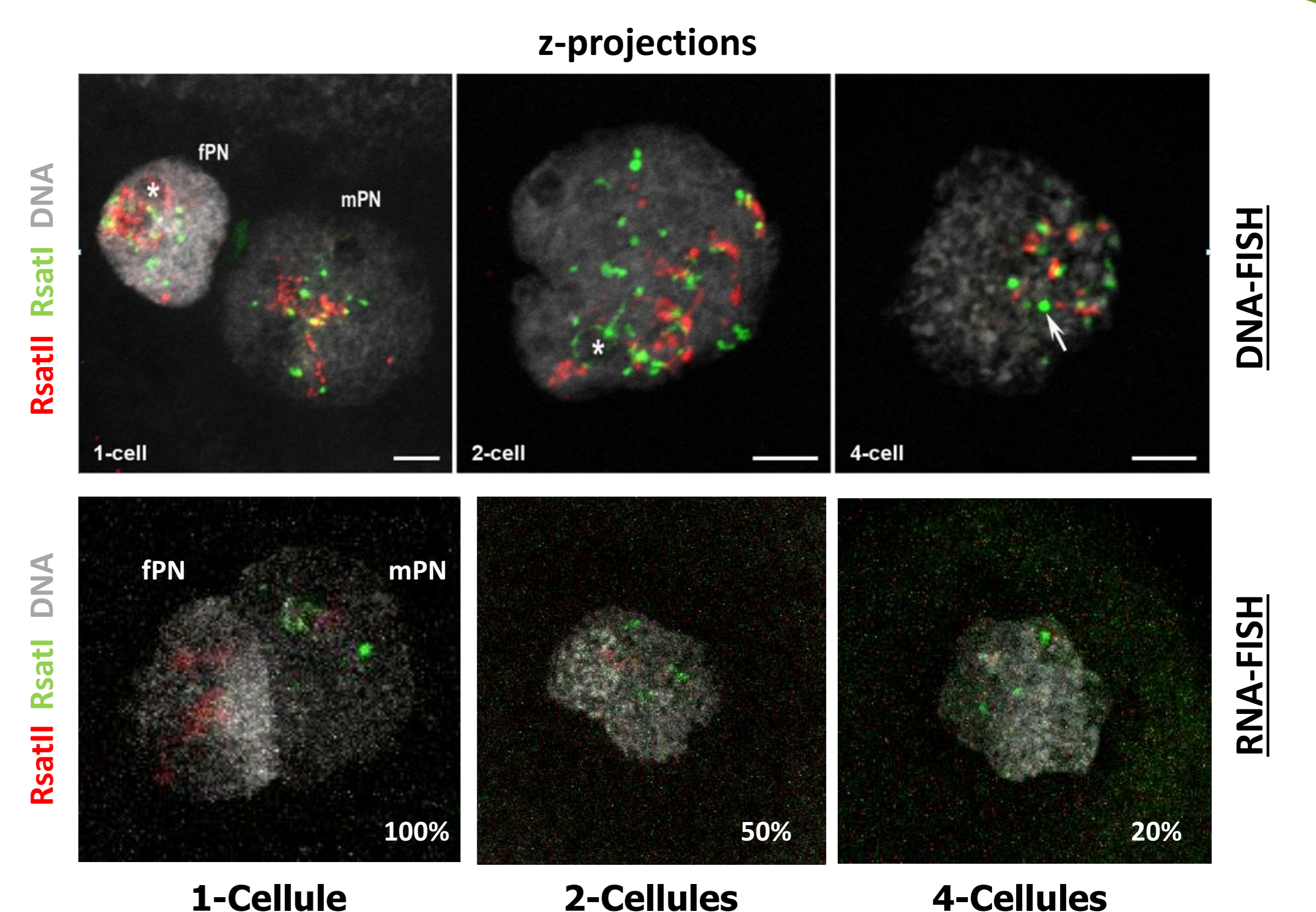


Figure 2: Transcription des séquences péri-centromériques accompagnant leur agrégation progressive avant l'EGA chez le lapin

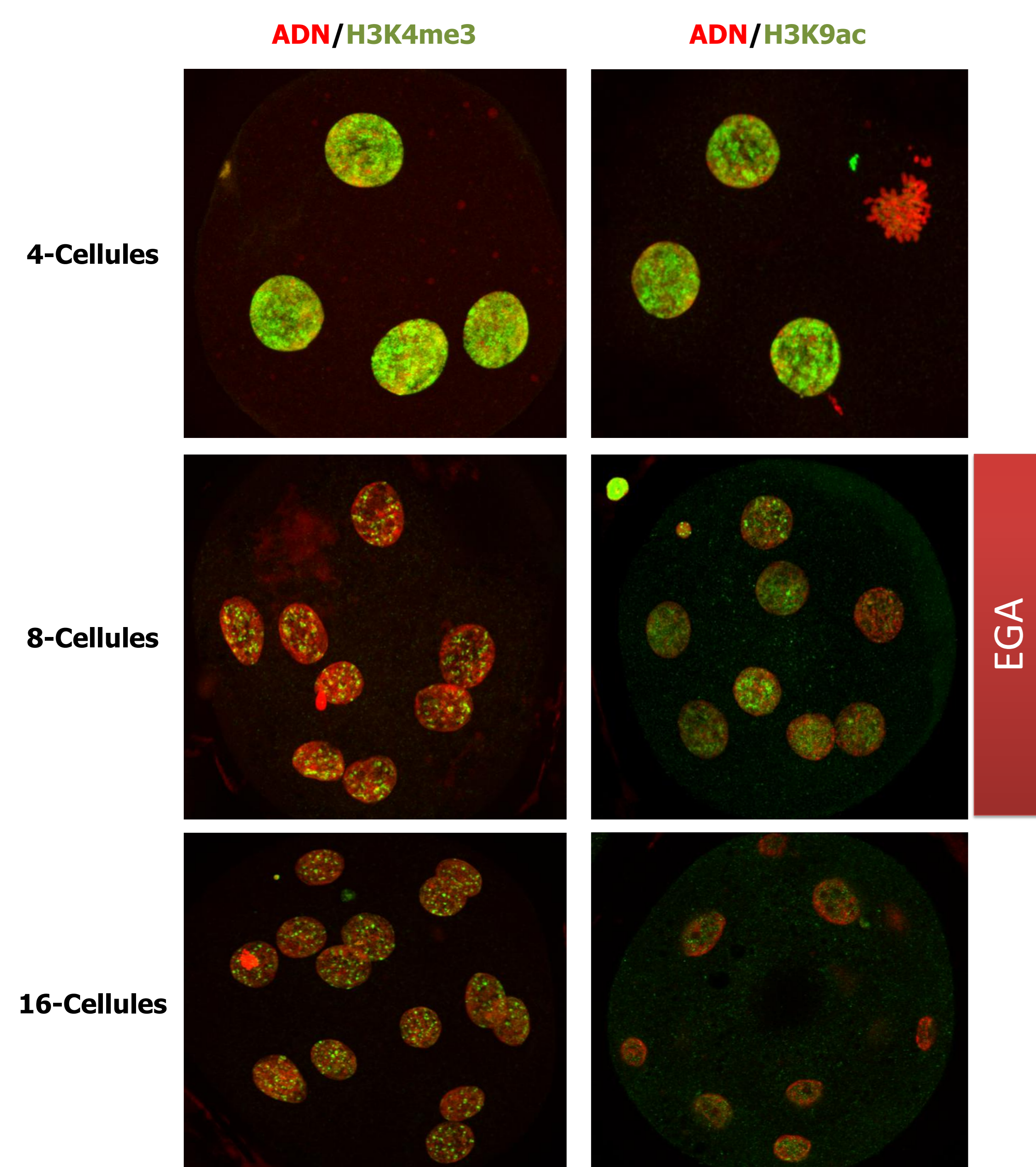


Figure 3: Agrégation de marques d'histones associées à l'euchromatine après l'EGA chez le bovin

## Conclusion

La répartition des histones modifiées (H3K4me3 et H3K9ac, vert en Fig. 3) passe chez le bovin d'un état diffus (4-cellules) à un état regroupé en amas (8 et 16-cellules) alors que chez la souris ces marques sont diffuses quelque soit le stade.

Chez le lapin nous montrons une réorganisation (formation d'amas) des marques d'histones spécifiques de l'hétérochromatine après l'EGA précédée par une agrégation des séquences péri-centromériques. Ceci est concomitant avec l'arrêt de leur transcription comme chez la souris. Chez le bovin, une réorganisation de l'hétérochromatine a aussi été montrée mais les séquences péri-centromériques n'ont pas été étudiées. Ainsi reste à déterminer chez le lapin et le bovin si leur transcription avant l'EGA est indispensable à la poursuite du développement comme cela a été démontré chez la souris.

Fait nouveau, nous montrons chez le bovin que les marques associées à l'euchromatine se réorganisent aussi alors qu'une transcription massive de l'embryon a lieu.

Une investigation de la distribution de ces marques chez le lapin et le bovin (où l'EGA est plus tardive) devrait nous permettre de dissocier les modifications dues aux réplifications successives de celles nécessaire à la régulation fine de la transcription de l'embryon.