

Architecture nucléaire 3D et expression du génome

Y. Lahbib-Mansais, F. Mompart, H. Acloque, D. Robelin, M. Yerle-Bouissou

UMR1388 Génétique, Physiologie et Systèmes d'Elevage, INRA-ENVT-ENSAT, F-31326 Castanet-Tolosan, France

Contexte

Une étape importante a été franchie dans la connaissance des génomes grâce au développement des cartes génétiques et physiques des gènes et de leurs séquences régulatrices. Cependant, ceci demeure insuffisant pour comprendre la régulation **spatio-temporelle de l'expression des gènes, notamment par des mécanismes épigénétiques impliquant différents composants cellulaires**. De nombreuses études ont permis de mettre en évidence que le noyau est un compartiment dynamique très organisé et complexe (revue Bickmore and Van Steensel, Cell 2013), divisé en sous domaines qui ont tous une fonction spécifique et rassemblent certains facteurs biologiques.

Objectifs

Les projets développés visent à comprendre la relation fonctionnelle entre l'architecture nucléaire et l'expression des gènes, à mesurer les effets des modifications structurales et épigénétiques sur cette organisation.

Au travers de plusieurs modèles, nous étudions:

- ✓ **l'organisation nucléaire** des territoires chromosomiques, des centromères et des télomères (cellules immunitaires: lymphocytes, neutrophiles et macrophages, gamètes mâles)
- ✓ **les modifications spatiales de l'organisation nucléaire lors d'un processus d'activation cellulaire** (cellules immunitaires) ou en présence de **remaniements chromosomiques** (gamètes)
- ✓ la **corrélation** entre **position nucléaire** de gènes cibles et leur **niveau d'expression**.
- ✓ dans un même noyau, **l'environnement nucléaire des deux allèles** d'un gène à expression **mono-allélique** (empreinte parentale IGF2).
- ✓ **l'interaction** entre gènes portés par des chromosomes différents (ex cas de gènes soumis à empreinte).

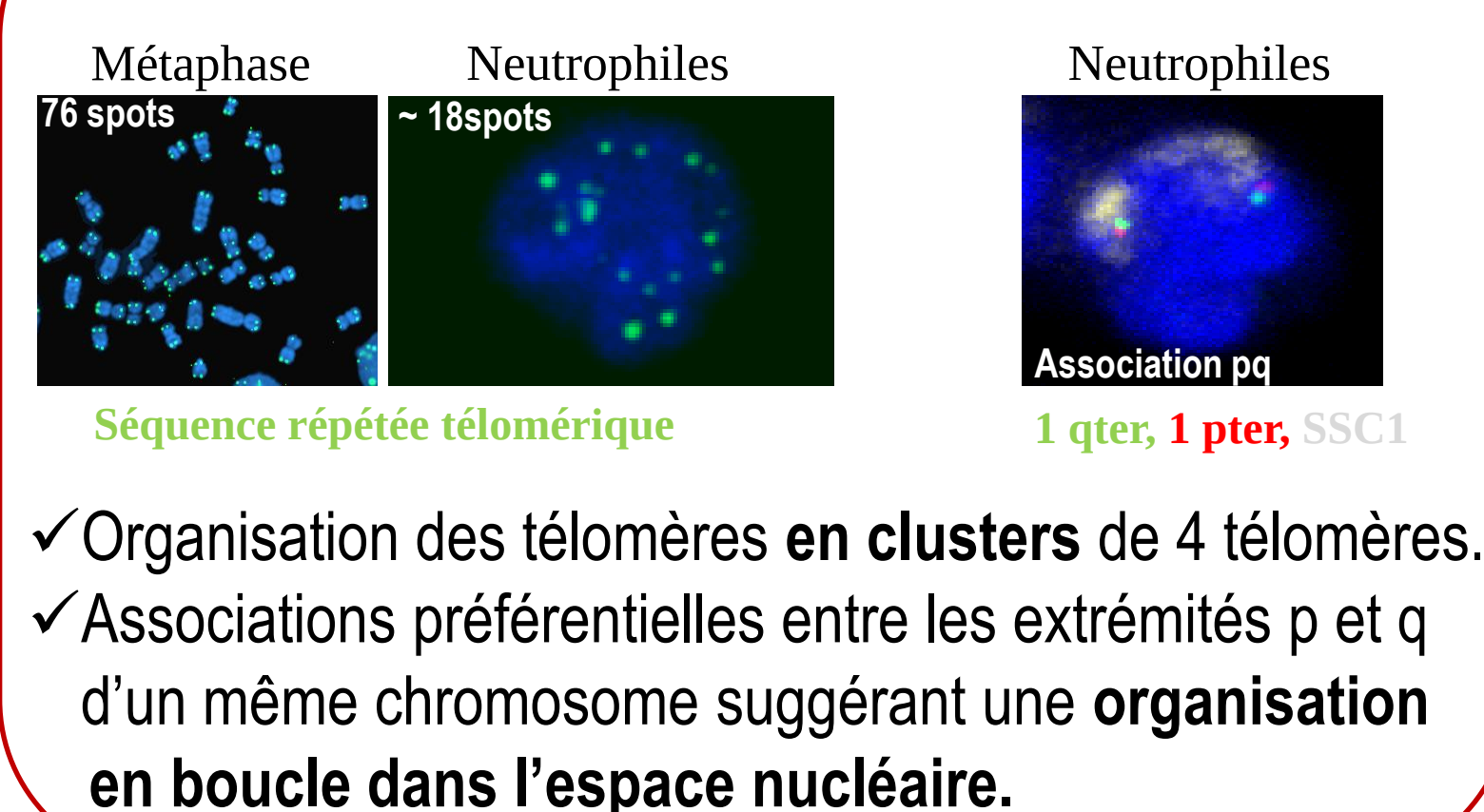
Résultats

Organisation des Territoires Chromosomiques, des télomères et des centromères

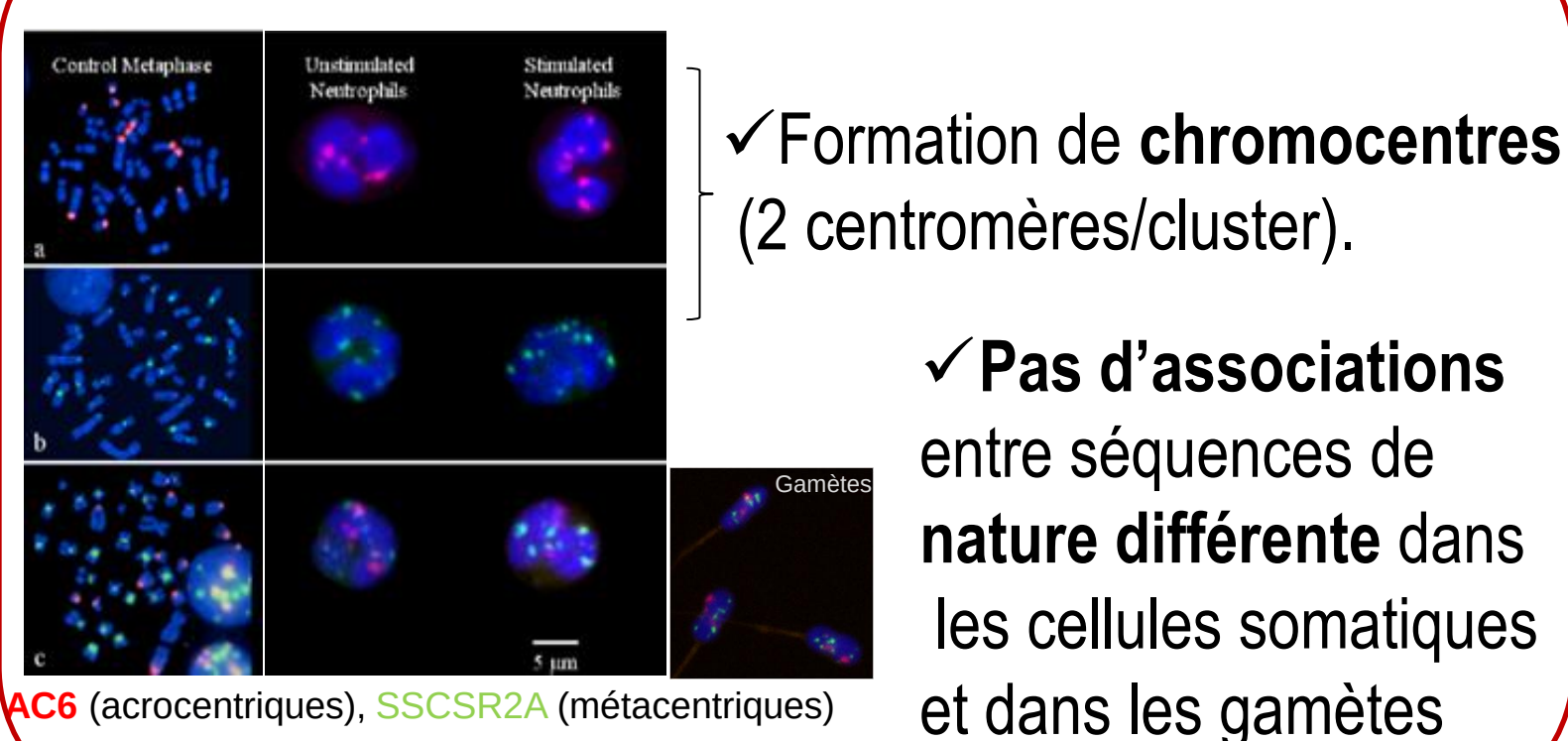
Territoires Chromosomiques



Télomères

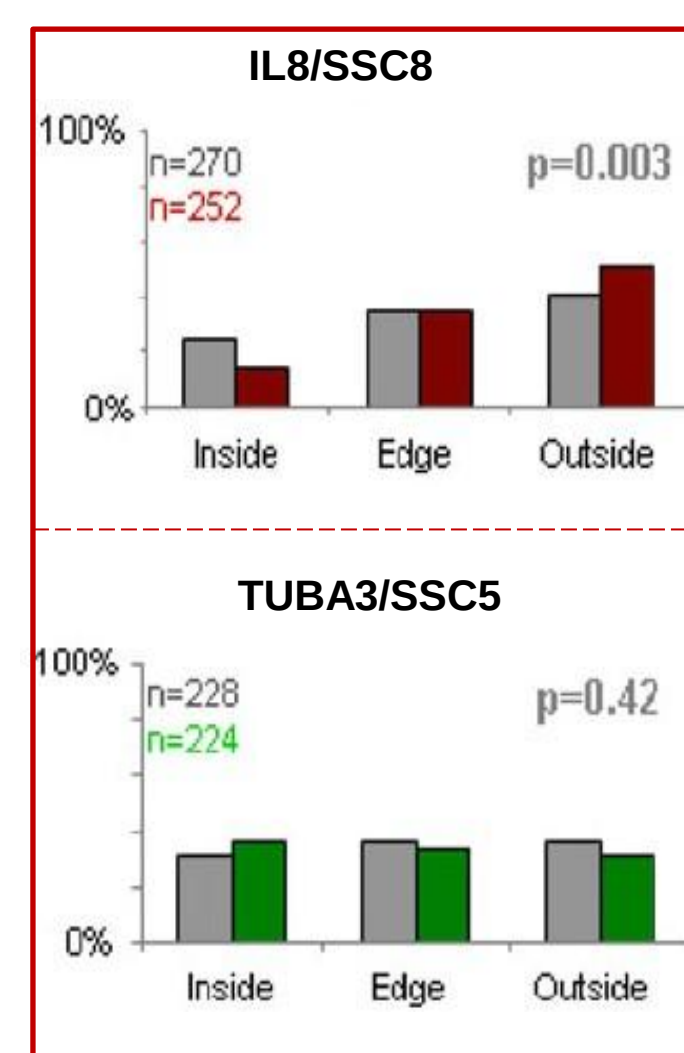


Centromères



Yerle-Bouissou et al Chromosome Research, 2009; Acloque et al PlosOne, 2013; Mompart et al BMC Cell Biology, 2013

Des gènes sur exprimés se repositionnent dans l'espace nucléaire lors de l'activation des macrophages, alors que les gènes sous exprimés ne changent pas de position

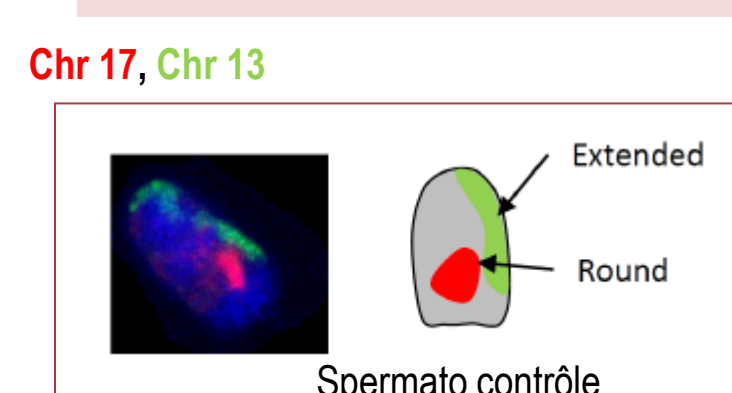


- ✓ **IL8** sur exprimé lors de l'activation des macrophages **se repositionne** à l'extérieur de son TC (p=0,0035).

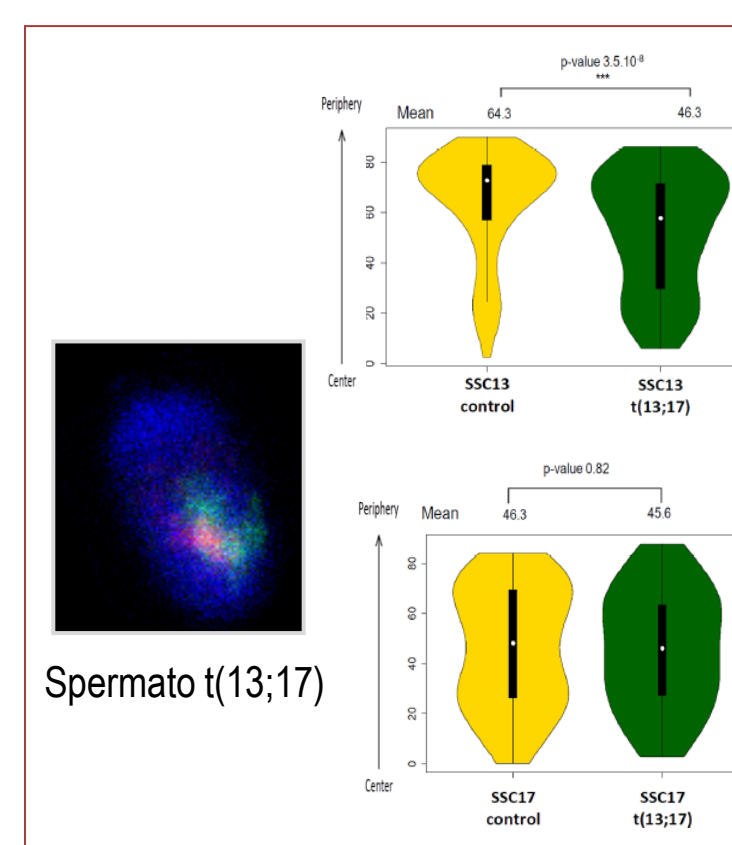
- ✓ par contre, **TUBA3** sous exprimé **ne change pas** de position

Solinha et al, Chromosoma, 2011

La translocation Roberstosienne t(13;17) affecte la morphologie et la localisation des territoires chromosomiques 13 et 17 dans les spermatozoïdes



- ✓ Animaux contrôles: **chr 13** forme **très allongée** et situé à la **périphérie** du noyau spermatique, alors que **chr 17** forme **ronde** et situé au **centre**

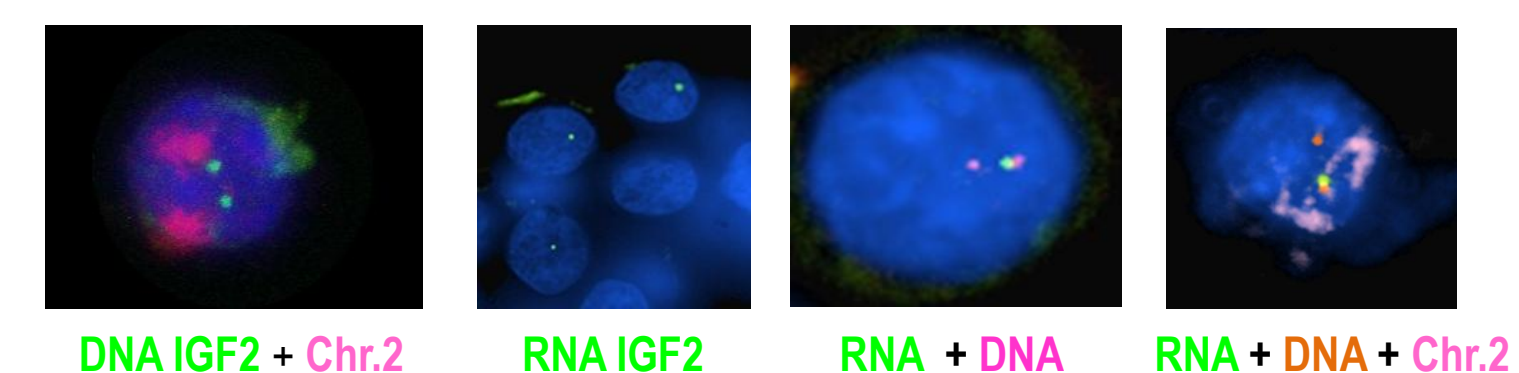


- ✓ Animaux porteurs de t(13;17): chr 13 **adopte la forme et la position** du chr 17.

Acloque et al PlosOne, 2013

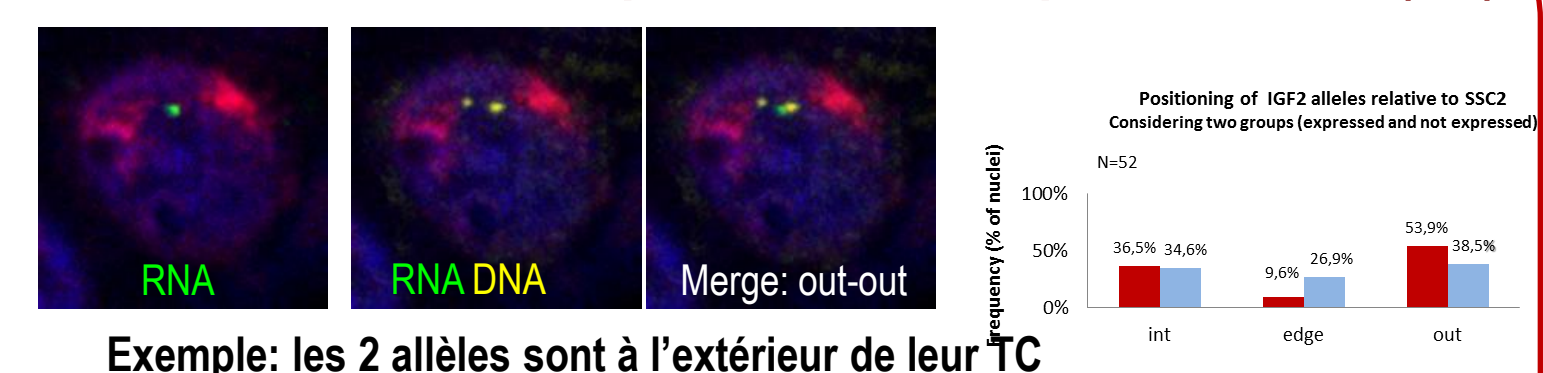
Position nucléaire d'allèles exprimés/non exprimés Modèle de l'empreinte parentale (IGF2)

Statut d'empreinte IGF2 (foie stade fœtal 90 j)



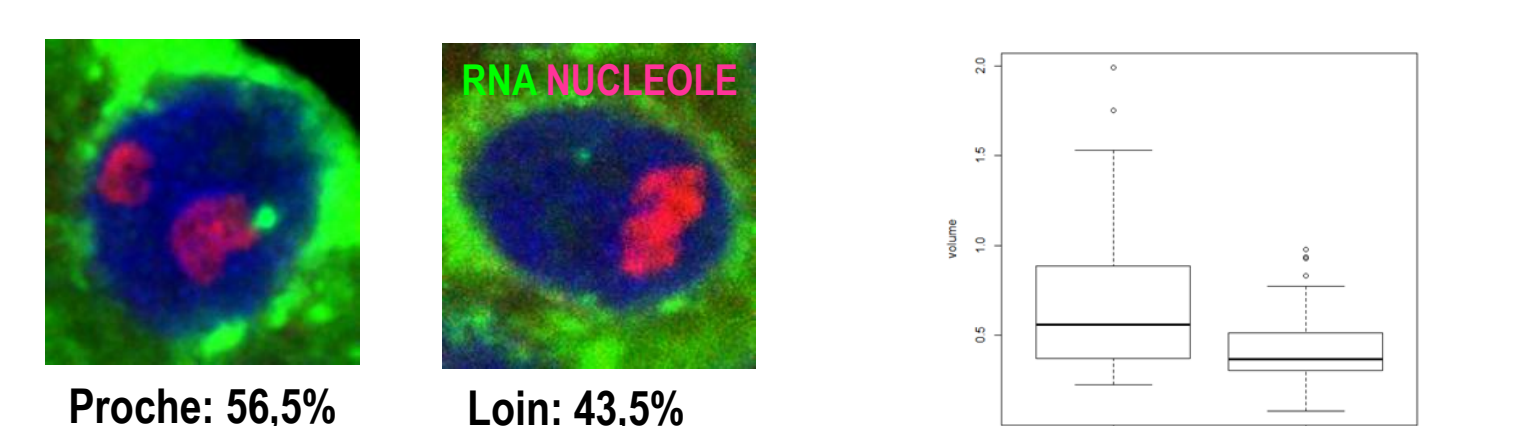
- ✓ IGF2: expression mono allélique

Position des allèles exprimés et non exprimés / chr 2 (TC)



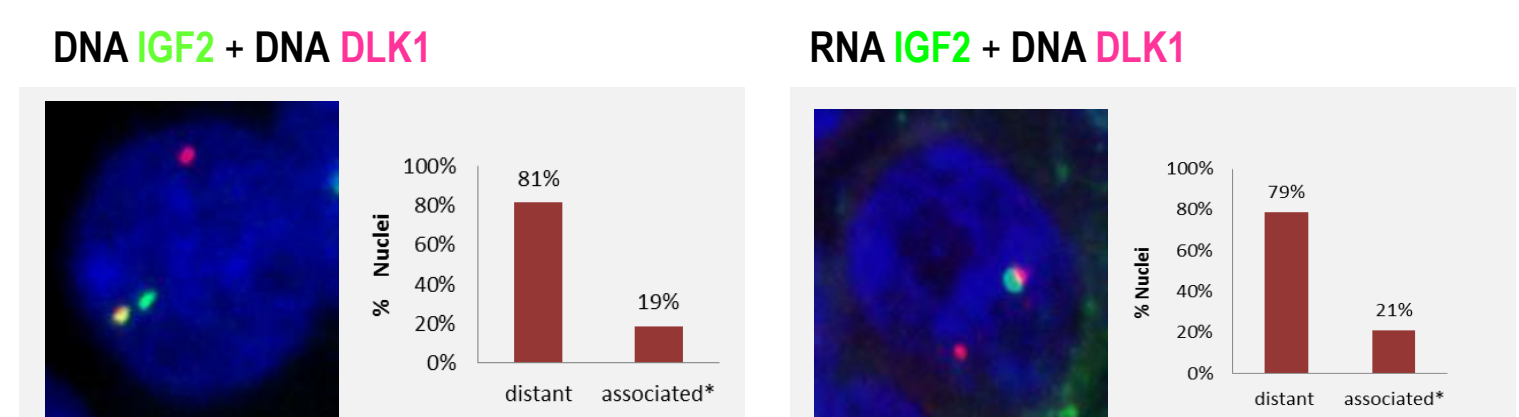
- ✓ **Pas de position spécifique** d'un des 2 allèles

Expression IGF2 / Nucléole (position, volume)



- ✓ Expression d'IGF2 **plus importante** près du **nucléole**

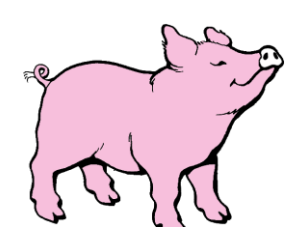
Interaction entre gènes: IGF2 / DLK1



- ✓ Interaction IGF2-DLK1 dans ~20% des noyaux
- ✓ Implication **préférentielle** de l'allèle **exprimé** d'IGF2

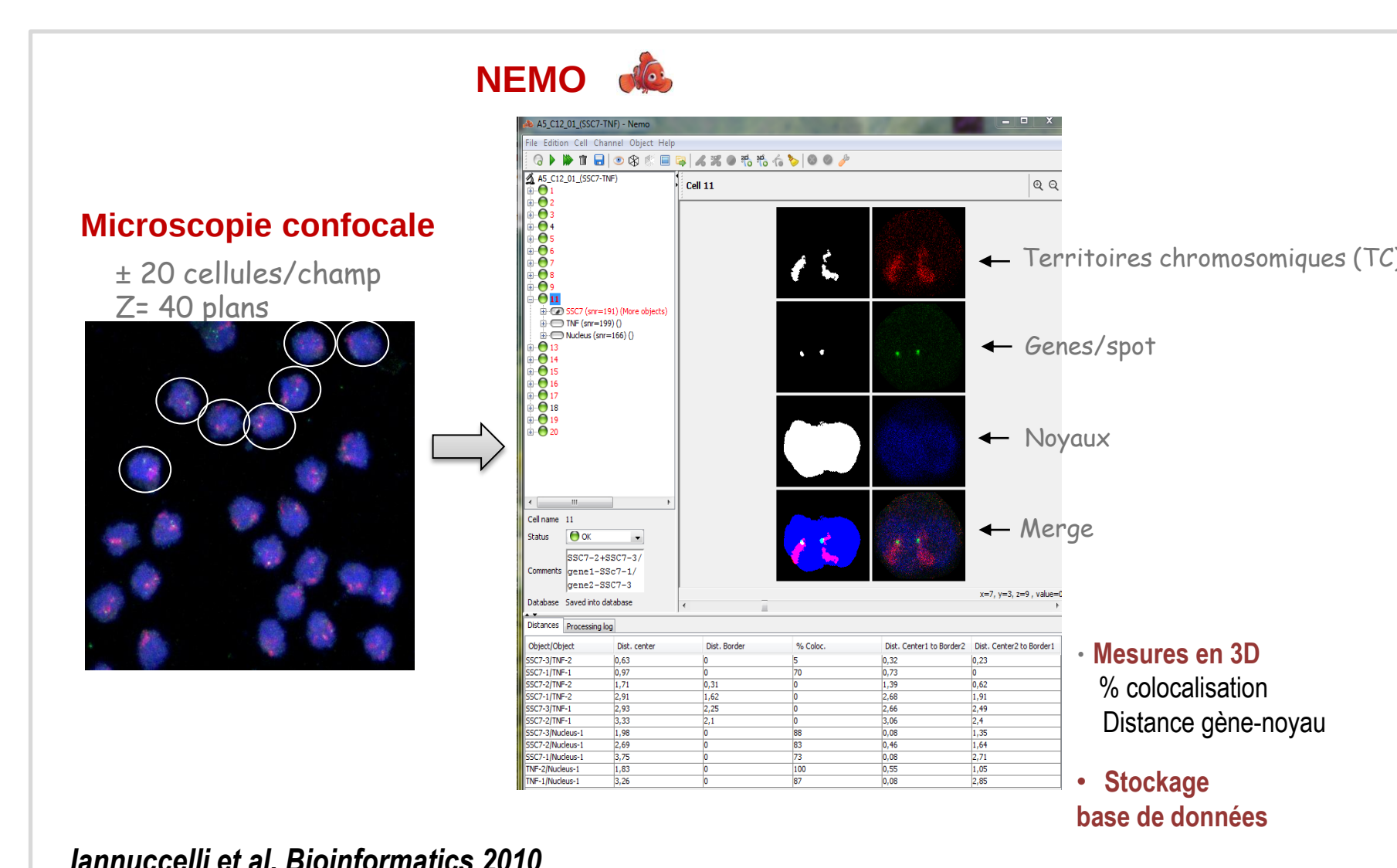
Lahbib-Mansais et al (manuscrit en préparation)

Méthodologie



- **Sondes:**
 - Peintures chromosomiques
 - Banque de BACs (CRB GADIE, INRA Jouy-en-Josas, France)
 - Outils de génération automatique de sondes (GlintFish, Thomas Faraut)
- **Hybridation In Situ en Fluorescence:**
 - 3D-DNAFISH (Gènes, Territoires Chromosomiques (TC))
 - 3D-RNA FISH (ARN naissants)

Combinaison 3D-RNA/DNA FISH
- **Microscopie confocale** (Plateforme Imagerie TRI-Toulouse)
- **Analyse d'images en 3D** (logiciel **NEMO**): Segmentation d'objets, mesures de distances en 3D entre les objets.



Financements: *Projet GENANIMAL, Projet européen SABRE (WP2), Projets Dept GA: « IGF2 interact » et « Archimac ».*