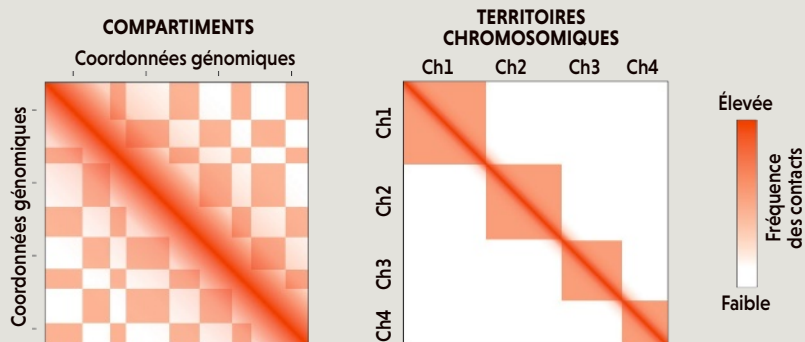




L'organisation de la chromatine aux différentes échelles (à gauche) apparaît lorsque l'on cartographie la fréquence des contacts entre les différentes régions du génome (à droite).

inversion ou délétion, surviennent au niveau des régions frontières des TAD. Cela a pour effet d'entraîner des défauts d'isolement entre les gènes. Ainsi, des séquences stimulatrices localisées dans le TAD voisin peuvent communiquer et activer de manière erronée des gènes dans des tissus où ils sont normalement éteints. C'est par exemple le cas de gènes du développement directement impliqués dans des malformations des membres (syndrome F, polydactylie...), des défauts neurologiques ou des dysplasies. De même, des réarrangements chromosomiques peuvent entraîner l'activation de gènes nommés « proto-oncogènes », normalement éteints dans les cellules et susceptibles de conduire à la transformation des cellules et à l'apparition de tumeurs. Il est donc primordial de prendre en compte l'organisation 3D du génome pour expliquer les nombreux défauts cellulaires liés à la dérégulation des gènes.

De façon plus générale, grâce à tous ces travaux, on comprend bien mieux l'organisation 3D des génomes. Néanmoins, des questions primordiales demeurent : quels mécanismes précis définissent la taille et les bordures des TAD ? Quel est leur rôle dans la régulation des fonctions du génome ? Enfin, sera-t-il possible de prédire, dans un type cellulaire donné, la régulation de son expression génique en connaissant la séquence de l'ADN et son organisation tridimensionnelle ? Les recherches dans ce domaine révéleront sans doute de nouvelles surprises...

**FRÉDÉRIC BANTIGNIES
ET GIACOMO CAVALLI**

directeurs de recherche au CNRS,
Institut de génétique humaine
(CNRS, université de Montpellier)

➤ toujours l'un vers l'autre et vers la boucle. Cette « règle de convergence » expliquait comment les histones évitaient les boucles : il leur suffisait de déterminer dans quelle direction le motif de liaison à CTCF pointait. En revanche, le fait que l'orientation des motifs ne soit pas aléatoire défiait notre entendement.

Pour mettre les choses en perspective, grossissons à nouveau le génome un million de fois. Les motifs mesurent à présent chacun 5 millimètres de long et sont séparés par 1 kilomètre de nouille génomique. Et pourtant, comme guidés par une boussole magique, ceux situés aux extrémités d'une boucle pointent toujours l'un vers l'autre. Comme tout bon tour de magie, la règle de convergence semblait impossible. De plus, elle contredisait l'idée que l'on avait alors de la façon dont les boucles se forment.

À l'époque, presque tout le monde – y compris nous-mêmes – pensait qu'elles apparaissaient par diffusion. Dans cette hypothèse, une protéine nécessaire à la formation d'une boucle se lie à une extrémité d'un segment d'ADN. Une autre fait de même à l'autre extrémité. Comme à son habitude, l'ADN se tortille. Si finalement sa danse réunit les deux protéines, elles forment un lien physique, créant ainsi une

Presque tout le monde pensait que les boucles apparaissaient par diffusion

boucle. Le problème est que la chaîne d'ADN a tellement de place pour s'agiter que, si le modèle de diffusion est correct, l'orientation relative des motifs de liaison à CTCF n'a plus d'importance. Or, pourtant, on assistait à une convergence. Et de fait, au cours de l'année, deux équipes, l'une dirigée par Suzana Hadjur, de l'University College de Londres, et l'autre par Yijun Ruan, du laboratoire Jackson, aux États-Unis, avaient confirmé la règle de convergence avec leurs propres données. La règle était là pour rester, et les boucles ne se formaient donc pas par diffusion. Comment apparaissaient-elles alors ? Et quels étaient les rôles de CTCF et de la cohésine ? Décontenancés, nous avons commencé à jouer avec les câbles de nos écouteurs.

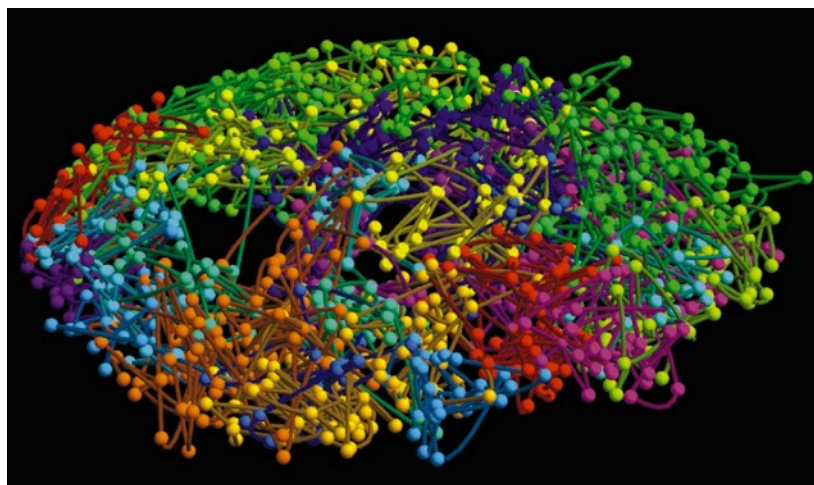
> La plupart des personnes qui travaillent sur le repliement du génome gardent à portée de main un objet long et flexible : un morceau de fil, un tube en plastique. Lorsque vous êtes bloqué sur un problème difficile, vous sortez cet objet et jouez avec. Un jour, Suhas Rao et moi faisons passer les écouteurs d'un côté à l'autre pour explorer les modèles possibles de formation de boucles, quand soudain, nous avons compris que la réponse était non pas dans nos écouteurs, mais sur nos sacs à dos.

UNE BOUCLE DE SANGLE QUI FAIT DES BOUCLES

Prenez la boucle de sangle qui en ajuste la longueur des bretelles. Elle est plus ou moins constituée de deux anneaux attachés l'un à l'autre. La sangle entre dans le premier et sort dans le second. Pour régler sa longueur, vous en tirez une partie à travers l'un des anneaux et commencez à former une boucle. Vous pouvez l'agrandir tant que vous ne butez pas sur l'extrémité de la sangle.

Et si les paires d'anneaux de cohésine fonctionnaient comme des boucles de sangle ? Au début, elles s'attacheraient n'importe où sur le génome, l'ADN entrant par un anneau et sortant par l'autre. Mais ensuite, les deux anneaux glisseraient dans des directions opposées, extrudant au fur et à mesure une boucle. Mais ils ne glisseraient pas indéfiniment. L'un d'eux finirait par s'approcher d'un site où une molécule de CTCF est liée. Avec un motif de liaison à CTCF pointant vers l'anneau, celui-ci s'arrêterait au contact. Mais avec un motif en sens inverse, la cohésine l'ignorerait et continuerait de glisser. Le deuxième anneau glisserait de la même manière jusqu'à un motif de liaison à CTCF orienté vers l'intérieur, ce qui terminerait la boucle.

Si les anneaux de cohésine fonctionnaient réellement de cette manière, alors les boucles ne se formeraient qu'entre des paires de motifs de liaison à CTCF obéissant à la règle de convergence. Nous avons vite compris que ce processus d'extrusion apporterait un avantage crucial aux cellules. Si les boucles apparaissaient par diffusion, elles s'entremêlèrent facilement, conduisant les chromosomes à former des nœuds et à



Cartographier à la fois l'organisation du génome et l'expression des gènes dans l'espace 3D du noyau d'une même cellule humaine, c'est la nouvelle étape que vient de franchir l'équipe de Xiaowei Zhuang, à l'université Harvard. Grâce à une technique d'imagerie à haut débit et haute résolution, les chercheurs ont détecté en même temps la position de quelque 1000 régions du génome (à gauche, où chaque couleur se rapporte à un chromosome, et à droite en gris) et la trace de l'expression de quelque 1100 gènes localisés dans ces régions (à droite, où chaque sphère repère l'expression d'un gène, et sa taille, l'intensité de cette expression).

s'enchevêtrer. Cela compliquerait le fonctionnement des gènes et empêcherait les chromosomes de se séparer lors de la division cellulaire. En revanche, les boucles produites par extrusion ne forment pas de nœuds ou d'enchevêtrements – à l'instar des bretelles de votre sac à dos.

Le modèle était de la pure spéculation. Il reposait sur de nombreuses hypothèses pour lesquelles nous n'avions pas la moindre preuve directe, comme l'idée que la cohésine glissait le long de l'ADN. Nous avions peur d'être partis dans un délire. Mais en nous plongeant dans la littérature sur la cohésine, nous avons appris que Kim Nasmyth lui-même avait proposé en 2001 que la cohésine puisse extruder l'ADN.

Adrian Sanborn a alors effectué des simulations détaillées qui rendaient compte avec précision des données de nos cartes. Et lorsque Suhas Rao a effectué des expériences sur de l'ADN réel, la position des boucles changeait exactement de la manière prédite par le modèle d'Adrian Sanborn : la suppression d'un motif de liaison à CTCF impliquait dans la formation d'une boucle éliminait celle-ci ; l'inversion de l'orientation d'un motif faisait de même et entraînait la formation d'une boucle de l'autre côté ; l'ajout d'un motif de liaison à CTCF produisait aussi une nouvelle boucle – tant qu'il pointait dans la bonne direction ; enfin, il était possible d'ajouter et de supprimer des boucles à volonté.

Le domaine était en ébullition. Fin 2015, à quelques semaines d'intervalle, trois équipes dont la nôtre ont publié des articles montrant que ce type de chirurgie 3D du génome fonctionne. De même, trois équipes – celle de Leonid Mirny, à l'institut de technologie du Massachusetts, la nôtre et deux chercheurs de l'université Emory, Michael Nichols et Victor Corces – ont argumenté que la règle de convergence favorise un modèle dans lequel les boucles se forment par extrusion. La communauté scientifique commençait enfin à démêler l'écheveau.

Les progrès se sont poursuivis à un rythme effréné. Aux instituts Gladstone, Benoit

La fonction principale des boucles reste peut-être à découvrir