

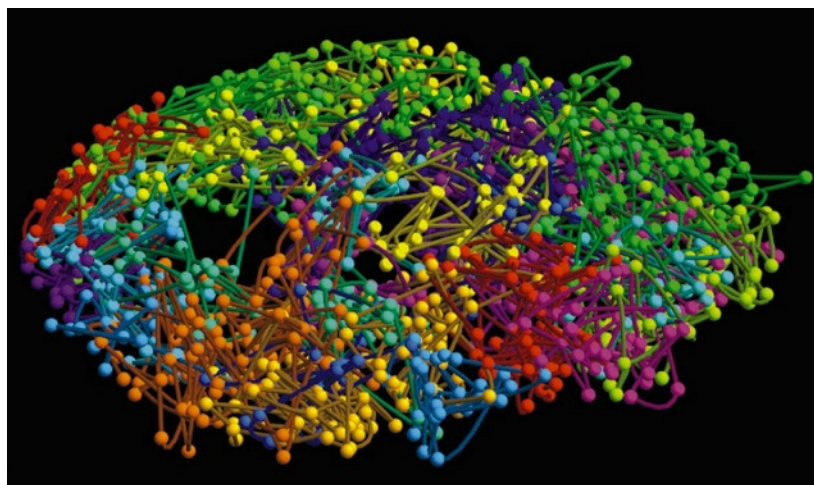
> La plupart des personnes qui travaillent sur le repliement du génome gardent à portée de main un objet long et flexible: un morceau de fil, un tube en plastique. Lorsque vous êtes bloqué sur un problème difficile, vous sortez cet objet et jouez avec. Un jour, Suhas Rao et moi faisons passer les écouteurs 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 1 000 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 1 100 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.

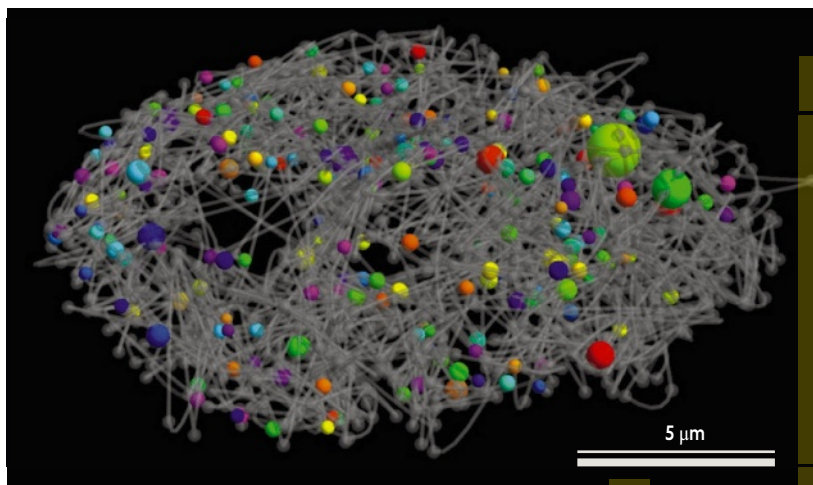
Le modèle était de la pure spéculation. Il reposait sur de nombreuses hypothèses pour lesquelles nous n'avions pas la moindre preuve directe, comme l'idée que la cohésine glissait le long de l'ADN. Nous avions peur d'être partis dans un délire. Mais en nous plongeant dans la littérature sur la cohésine, 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



Bruneau et ses collègues ont montré qu'en interférant avec CTCF, on affaiblissait considérablement les boucles. Au Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL), François Spitz et ses collègues ont obtenu un résultat similaire en éliminant une protéine connue pour déposer la cohésine sur l'ADN. À l'Institut néerlandais du cancer, l'équipe de Benjamin Rowland a observé que la suppression d'un facteur qui retire la cohésine de l'ADN conduisait à des boucles plus grandes, sans doute parce que la cohésine avait alors la possibilité de glisser plus longtemps. Et, dans notre laboratoire, Suhas Rao a montré qu'en dégradant la cohésine elle-même, on éliminait en quelques minutes toutes les boucles associées.

Mais nous rêvions tous d'une confirmation directe: voir l'extrusion en action. C'est ce qu'ont fait, en avril 2018, Cees Dekker, de l'université de technologie de Delft, aux Pays-Bas, et ses collègues. En utilisant la condensine de la levure – un complexe protéique très proche de la cohésine –, ils ont réalisé un film que nombre de chercheurs du domaine n'oublieront jamais. La condensine atterrit sur un ruban d'ADN, formant un petit nodule d'ADN qui grandit et se développe jusqu'à ce que le spectateur comprenne ce qu'il est vraiment: une boucle extrudée.

DES BOUCLES ET DES MALADIES

Aujourd'hui, à mesure que les mécanismes de formation des boucles et leurs règles se précisent, l'importance de ces structures pour la santé et la compréhension des maladies devient de plus en plus claire. Par exemple, Frederick Alt, de l'université Harvard, et ses collègues ont commencé à expliciter leur rôle dans la production d'anticorps. Votre organisme produit des anticorps contre des agents pathogènes qu'il n'a jamais rencontrés auparavant en coupant et collant des fragments de gènes d'anticorps. L'équipe de Frederick Alt a montré que ce processus s'appuie sur l'extrusion de boucles: de

multiples boucles délimitées par CTCF se forment, puis sont éliminées.

L'équipe de Stefan Mundlos, de l'institut Max-Planck de génétique moléculaire à Berlin, a montré que la modification d'un seul motif de liaison à CTCF chez la souris entraîne des malformations des pattes. De même, les mains d'humains présentant une mutation similaire ont des malformations semblables. Et Rafael Casellas, des Instituts américains de la santé (NIH), a montré que la perturbation des motifs de liaison à CTCF dans un plasmocytome de souris – une forme de cancer – pouvait ralentir de 40% la croissance de la tumeur.

Cependant, à mesure que la notion d'extrusion de boucles s'est imposée, des théories plus fondamentales sur le rôle des boucles dans la régulation des gènes se sont effondrées. Pendant des décennies, les biologistes avaient vu ces structures comme des interrupteurs: lorsqu'une boucle rapprochait une séquence stimulatrice et un promoteur, le gène correspondant s'activait. On pensait donc que supprimer la cohésine des cellules déréglerait l'expression des gènes en modifiant le niveau d'activité de milliers d'entre eux. Comme prévu, l'expression de nombreux gènes a changé. Mais les changements sont restés assez faibles. Les boucles – du moins celles formées par extrusion – ne sont donc finalement pas des interrupteurs binaires. Elles semblent plutôt fonctionner comme des boutons qui augmentent ou diminuent un peu l'activité des gènes, ajustant avec précision l'approvisionnement d'une cellule en différentes protéines.

En d'autres termes, notre vision était trop simpliste. Peut-être même que la régulation des gènes n'est qu'un accessoire des boucles et que leur fonction principale reste à découvrir... Comme tout explorateur en territoire inconnu, nous avons besoin de cartes plus précises. Dans le cadre du projet *Encode* (Encyclopédie des éléments de l'ADN) des NIH, Yijun Ruan et moi-même travaillons avec nos collègues à la création du premier atlas des boucles du génome humain en les cartographiant dans les tissus humains. Nos équipes et nombre d'autres se sont aussi réunies au sein du consortium 4D Nucleome, qui développe de nouvelles méthodes pour s'attaquer à ces problèmes. Et Olga Dudchenko, chercheuse en postdoctorat au laboratoire, a créé le DNA Zoo – un consortium de laboratoires universitaires, de zoos et d'aquariums du monde entier qui rassemble les génomes de centaines d'espèces et retrace l'évolution des boucles dans l'arbre du vivant.

Pour les chercheurs, la fin d'une histoire scientifique est toujours le début d'une autre. Il y a deux milliards d'années, avant l'émergence du noyau cellulaire, le processus d'extrusion de l'ADN est apparu. Pourquoi? Qui sait, répondre à cette question permettra peut-être de boucler la boucle. ■

BIBLIOGRAPHIE

J.-H. Su et al., **Genome-scale imaging of the 3D organization and transcriptional activity of chromatin**, *Cell*, vol. 182, pp. 1641-1659, 2020.

M. Ganji et al., **Real-time imaging of DNA loop extrusion by condensin**, *Science*, vol. 360, pp. 102-105, 2018.

A. L. Sanborn et al., **Chromatin extrusion explains key features of loop and domain formation in wild-type and engineered genomes**, *PNAS*, vol. 112(47), pp. E6456-E6465, 2015.

S. S. P. Rao et al., **A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping**, *Cell*, vol. 159(7), pp. 1665-1680, 2014.

T. Misteli, **La vie agitée du génome**, *Pour la Science*, n°403, mai 2011.

K. E. Cullen et al., **Interaction between transcription regulatory regions of prolactin chromatin**, *Science*, vol. 261, pp. 2003-2006, 1993.