médecine/sciences 2001 ; 17 : 768-70

L'isolateur gypsy module l'organisation spatiale de la chromatine en fonction de l'état transcriptionnel des cellules

Différentes études ont permis d'identifier chez la drosophile et, plus récemment, chez les vertébrés, de nouvelles séquences d'ADN impliquées dans le contrôle de l'expression génique. Ces séquences, appelées isolateurs, ont pour propriété principale de limiter les interactions entre les promoteurs et leurs éléments régulateurs tels que les *enhancers (m/s 2001, n° 1, p. 86)*. Le mécanisme d'action des isolateurs est mal connu. Ces séquences pourraient agir sur la transcription, soit comme de simples barrières en bloquant la progression de protéines régulatrices le long de la chromatine, soit en modifiant l'organisation ou la structure des fibres de chromatine. Les séquences isolatrices sont généralement associées à des sites d'hypersensibilité à la DNase I et séparent des zones de chromatine actives et inactives. De plus, certains isolateurs sont capables de protéger les transgènes des effets de position dus à l'intégration [1-3].

Une étude présentée dans *Molecular Cell* en novembre 2000 par Gerasimova *et al.* [4] montre que l'isolateur gypsy est à l'origine de réorganisations spatiales de la chromatine qui sont corrélées avec l'état transcriptionnel de la cellule. L'élément isolateur gypsy est une séquence de 350 paires de bases découverte dans le génome du rétrotransposon gypsy chez la drosophile. Cette séquence forme un complexe avec plusieurs protéines dont deux ont été identifiées. La protéine su(Hw) *(suppressor of Hairy-Wing)* contient 12 motifs en doigt de zinc et se fixe directement à la séquence isolatrice gypsy tandis que la protéine mod(mdg4) *(modifier of mdg4)* se fixe sur la protéine su(Hw). L'isolateur gypsy est capable de protéger certains transgènes des effets de position et bloque les interactions de divers promoteurs avec leurs *enhancers* [5, 6].

Le marquage fluorescent des protéines su(Hw) et mod(mdg4) a permis de montrer que plus de 500 copies des complexes mod(mdg4)/su(Hw) sont présentes sur les chromosomes polytènes des glandes salivaires de la drosophile*. De manière surprenante, les mêmes expériences réalisées cette fois pendant l'interphase ne révèlent plus que 20 à 25 sites de fixation de mod(mdg4)/su(Hw) dans le noyau [7]. L'analyse tri-dimensionnelle de la répartition de ces sites indique que leur distribution n'est pas aléatoire puisque 75 % d'entre eux sont situés à la périphérie du noyau, à proximité de la membrane nucléaire. Ces données suggèrent que les multiples complexes formés par la fixation à l'ADN de mod(mdg4) et su(Hw) au niveau de la séquence gypsy se regroupent à l'interphase pour ne plus former que 25 super-complexes composés de l'agrégation de plusieurs unités mod(mdg4)/su(Hw)/gypsy. Ce regroupement se ferait *via* les interactions entre les protéines mod (mdg4) et su(Hw) et aurait pour conséquence le rattachement des fibres de chromatine à la membrane nucléaire et leur réorganisation en domaines fonctionnels distincts *(figure 1)*.

Plusieurs expériences réalisées dans des cellules de disques imaginaux de larves de drosophile, valident ce modèle. Lorsque l'on introduit artificiellement un élément gypsy dans une séquence génique localisée au hasard dans le noyau, cette séquence est significativement déplacée vers la périphérie où sa position coïncide alors avec celle des complexes mod(mdg4)/su(Hw). De la même façon, on observe que l'introduction d'une séquence gypsy au sein de deux séquences géniques distinctes et localisées séparément dans le noyau, provoque leur rapprochement en un site de localisation unique. Ce rapprochement n'a pas lieu si on utilise des cellules mutées qui n'expriment pas la protéine su(Hw).

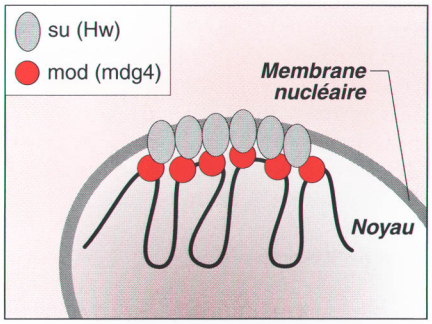

Figure 1. ***Schéma hypothétique de l'organisation des complexes mod(mdg4)/su(Hw)/gypsy dans les noyaux de cellules interphasiques.*** *Les lignes noires schématisent la chromatine et la ligne gris foncée représente la lamina nucléaire. Les cercles rouges et les ovales gris indiquent respectivement les protéines su(Hw) et mod(mdg4).*

* *Le phénomène de polyténie a été principalement décrit dans les cellules des glandes salivaires de la larve de drosophile. A l'interphase mitotique, les chromosomes homologues restent appariés et leur ADN se réplique sans division cellulaire ni même nucléaire. Les répliques ne se séparent pas et les centromères fusionnent formant ainsi des chromosomes « géants » dont la structure chromatinienne est aisément observable en microscopie.*

Enfin les auteurs montrent que l'organisation des fibres de chromatines *via* les super-complexes mod (mdg4)/su(Hw)/gypsy est liée à l'état transcriptionnel des cellules. Chez la drosophile, le choc thermique a pour conséquence d'importants changements de l'état transcriptionnel. Un petit nombre de gènes, les gènes *heat-shock*, est activé tandis que l'expression du reste du génome est réprimée. Si l'on soumet des cellules de disques imaginaux de larves de drosophile à un choc thermique de 20 minutes à 37 °C, on observe la dissociation des super-complexes mod(mdg4)/su(Hw)/gypsy et la délocalisation des séquences d'ADN associées à ces complexes. Certaines séquences qui se trouvaient très proches l'une de l'autre avant le choc thermique se retrouvent séparées et des séquences qui étaient situées à la périphérie sont déplacées vers le centre du noyau. Ces observations suggèrent que le choc thermique entraîne une réorganisation de la chromatine *via* la dissociation des complexes isolateurs gypsy et que cette altération de la structure de la chromatine corrèle avec un changement brutal dans le processus de transcription. Cela permet de formuler l'hypothèse selon laquelle les séquences gypsy, et plus généralement les séquences isolatrices, pourraient être impliquées dans le contrôle de l'expression des gènes à travers la modulation de l'organisation spatiale de la chromatine.

Deux études récentes parues dans *Science* en janvier 2001 [8, 9] complètent et confirment le modèle proposé par Gerasimova *et al*. Ces deux travaux suggèrent fortement que l'action de la séquence gypsy sur les séquences *enhancers* passe par la formation de boucles de chromatine *via* les complexes ADN/protéines mod(mdg4)/su(Hw)/gypsy. Les deux équipes ont étudié, par des approches très similaires, les effets de la séquence isolatrice gypsy sur différentes combinaisons de séquences *enhancer* et de promoteurs impliqués dans le développement de l'embryon de la drosophile. Ils montrent ainsi que l'activité isolatrice des séquences gypsy dépend de leur position sur le génome. (1) Si on place l'élément gypsy entre deux séquences *enhancers* situées en amont d'un gène donné, seule l'action de la séquence *enhancer* placée en amont de gypsy sera bloquée. En d'autres termes, l'isolateur gypsy n'agit que s'il est placé entre la séquence *enhancer* et le promoteur. Le complexe formé entre gypsy et les

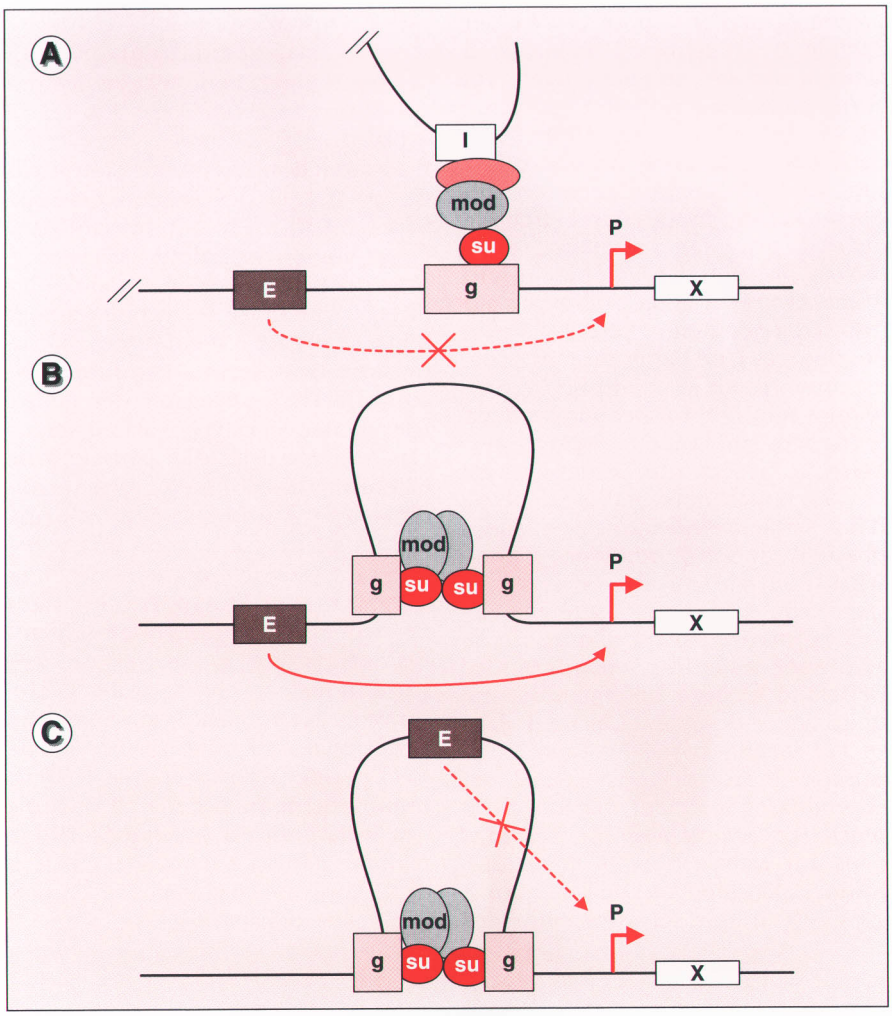

Figure 2. ***Modèle hypothétique d'action des isolateurs gypsy. A.*** *Si l'isolateur gypsy (g) est placé entre la séquence* enhancer *(E) et le promoteur (P), le complexe formé entre gypsy et les protéines mod(mdg4) (mod, ovales gris) et su(Hw) (su, cercles rouges) pourrait bloquer l'action de la séquence* enhancer *sur le gène, soit seul, soit en se liant à un autre complexe isolateur/protéine.* ***B.*** *Si deux copies de gypsy sont insérées en tandem entre un* enhancer *et son promoteur, les deux complexes protéiques mod/su ainsi formés interagissent préférentiellement entre eux. La boucle réalisée déplacerait la séquence* enhancer *et, en la rapprochant de son promoteur, permettrait l'activation de ce dernier.* ***C.*** *Si l'élément gypsy est inséré de part et d'autre d'une séquence* enhancer, *les deux complexes mod/su/gypsy se lient ensemble et bloquent l'action de la séquence* enhancer *en l'enfermant dans une boucle isolante. Les lignes noires schématisent la chromatine. Les séquences ADN sont indiquées par des rectangles : isolateur* ***(I)****; isolateur gypsy* ***(g)****; séquence* enhancer ***(E)****; séquence génique (****X****). La séquence promotrice* ***(P)*** *est indiquée par une flèche rouge. Les cercles rouges et les ovales gris indiquent respectivement les protéines su(Hw)(****su****) et mod(mdg4)****(mod)****. L'ovale rose symbolise une protéine pouvant se lier à une séquence isolatrice* ***(I)****.*

protéines mod et su pourrait bloquer l'action de la séquence *enhancer* en agissant soit seul, soit en se liant à un autre complexe isolateur/protéine *(figure 2A)*. (2) Paradoxalement, si deux copies de gypsy au lieu d'une sont insérées en tandem entre un *enhancer* et son promoteur, l'effet bloquant de gypsy sur la séquence *enhancer* est annulé. Le remplacement d'une des deux copies de gypsy par une séquence neutre restaure l'effet de blocage. Une explication possible est que les deux complexes protéiques mod/su, formés sur les deux séquences en tandem gypsy, interagissent préférentiellement entre eux. La boucle ainsi réalisée déplacerait la séquence *enhancer* et, en la rapprochant de son promoteur, permettrait l'activation de ce dernier *(figure 2B)*. 3) Si l'on insère un élément gypsy de part et d'autre d'une séquence *enhancer*, on augmente l'effet de blocage obtenu avec une seule copie de gypsy. On peut dans ce cas imaginer que les deux complexes mod/su/gypsy se lient ensemble et bloquent l'action de la séquence *enhancer* en l'enfermant dans une boucle isolante *(figure 2C)*. Enfin, l'effet bloquant de la séquence gypsy est annulé dans les embryons qui n'expriment pas la protéine mod(mdg4), démontrant que son activité requiert bien la présence des protéines du complexe mod/su/gypsy.

Il apparaît donc, au moins dans le cas de gypsy, que les séquences isolatrices jouent un rôle important dans l'organisation spatiale de la chromatine, permettant ainsi de moduler les interactions entre les promoteurs et leurs séquences régulatrices. Cette organisation serait dynamique et contrôlerait l'expression des gènes. Des éléments de type isolateurs associés à une activité d'organisation de la chromatine ont été caractérisés dans une grande variété d'organismes allant des insectes aux vertébrés. De plus des données récentes indiquent que des mutations dans des séquences insulatrices, modifiant les effets de position de ces séquences sur leur gène cible, seraient responsables de maladies génétiques *(m/s 2001, n° 1, p. 86)*. Ceci permet de penser que la fonction d'organisation de la chromatine des isolateurs est impliquée d'une manière générale dans la régulation de l'expression des gènes et ce probablement dans toutes les espèces.

1. Bell AC, Felsenfeld. Stopped at the border: boundaries and insulators. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 191-198.
2. Bell AC, West AG, Felsenfeld G. Insulators and boundaries: versatile regulatory elements in the eukaryotic genome. *Science* 2001; 291: 447-50.
3. Bulger M, Groudine M. Looping versus linking : toward a model for long-distance gene activation. *Genes Dev* 1999; 13: 2465-77.
4. Gerasimova TI, Byrd K, Corces VG. A chromatin insulator determines the nuclear localization of DNA. *Molecular Cell* 2000; 6: 1025-35.
5. Cai HN, Levine M. Modulation of enhancer-promoter interactions by insulators in the Drosophila embryo. *Nature* 1995; 376: 533-6.
6. Cai HN, Levine M. The gypsy insulator can function as a promoter-specific silencer in the Drosophila embryo. *EMBO J* 1997; 16: 1732-41.
7. Gerasimova TI, Corces VG. Polycomb and trithorax group proteins mediate the function of a chromatin insulator. *Cell* 1998; 92: 511-21.
8.Cai HN, Shen P. Effects of cis arrangement of chromatin insulators on enhancer-blocking activity. *Science* 2001; 291: 493-5.
9.Muravyova E, Golovnin A, Gracheva E, *et al.* Loss of insulator activity by paired Su(Hw) chromatin insulators. *Science* 2001; 291: 495-7.

Marie-Pierre Simon

Cnrs UMR 6543, Centre A.-Lacassagne, 33, avenue de Valombrose, 06189 Nice Cedex, France.