



modélisation met en évidence une corrélation entre les irradiations et la réduction de la rigidité de la fibre qui est cohérente. Cependant, elle ne permet pas, actuellement, de traduire les altérations mécaniques en une succession d'événements moléculaires, comme les cassures directes double brin, les cassures induites par des espèces oxydantes (générées dans la solution), ou la conformation de l'ADN.

### Conclusion

Cette étude [11] est la première observation en temps réel de la dégradation mécanique d'une fibre d'ADN sous rayonnement thérapeutique. Le protocole expérimental et la modélisation ouvrent la voie aux études fondamentales et cliniques des mécanismes de dégradation de l'ADN sous faisceaux ionisants en vue de l'amélioration des traitements des tumeurs par radiothérapie.

Le faible coût et l'intégration à grande échelle des dispositifs MEMS à base de silicium, tels que le SNT permettent d'entrevoir des traitements de

radiothérapie spécifiques pour chaque patient [12] (→).

Une biopsie réalisée chez le patient pourrait ainsi être mise en culture,

l'ADN extrait placé dans la lyse cellulaire puis irradié afin d'évaluer l'efficacité potentielle de l'irradiation. ♦

### Measure of the biomechanical degradation of a DNA fiber under the influence of therapeutic X-rays

#### REMERCIEMENTS

Ce travail collaboratif (LIMMS/CNRS-IIS UMI 2820) a été développé dans le cadre du projet SMMIL-E et a permis la conception et la réalisation des SNT. Les irradiations ont été conduites au centre de radiothérapie Oscar Lambret de Lille. Les études théoriques, comme le transfert de technologie SNT, ont été menées à l'IEMN UMR8520.

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Sonntag C. *The chemical basis of radiation biology*. London : Taylor and Francis, 1987.

2. Henle ES, Roots R, Holley WR, et al. DNA strand breakage is correlated with unaltered base release after gamma irradiation. *Radiat Res* 1995 ; 143 : 144-50.
3. Bernhard WA, Mroczka N, Barnes J. Combination is the dominant free radical process initiated in DNA by ionizing radiation: an overview based on solid-state EPR studies. *Int J Radiat Biol* 1994 ; 66 : 491-7.
4. Smith S, Cui Y, Bustamante C. Overstretching B-DNA: the elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules. *Science* 1996 ; 271 : 795-9.
5. Strick T, Allemand J, Bensimon D, et al. The elasticity of a single supercoiled DNA molecule. *Science* 1996 ; 271 : 1835-7.
6. Petersen KE. Silicon as a mechanical material. *Proc IEEE* 1982 ; 70 : 420-57.
7. Yamahata C, Collard D, Legrand B, et al. Silicon nanotweezers with subnanometer resolution for the micromanipulation of biomolecules. *J Microelectromech Sys* 2008 ; 17 : 623-31.
8. Tarhan MC, Lafitte N, Tauran Y, et al. A rapid and practical technique for real-time monitoring of biomolecular interactions using mechanical responses of macromolecules. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 28001.
9. Hashiguchi G, Goda T, Hosogi M, et al. DNA manipulation and retrieval from an aqueous solution with micromachined nanotweezers. *Anal Chem* 2003 ; 75 : 4347-50.
10. Tilmans HAC. Equivalent circuit representation of electromechanical transducers. I. Lumped parameter systems. *J Micromech Microeng* 1996 ; 6 : 157-76.
11. Perret G, Lacornerie T, Manca F, et al. Real-time mechanical characterization of DNA degradation under therapeutic X-rays and its theoretical modeling. *Microsystems Nanoengineering* 2016 ; 2 : 16062.
12. Foray N, Colin C, Bourguignon M. Radiosensibilité L'évidence d'un facteur individuel. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 397-403.

## NOUVELLE

### Quatre petits jours pour définir la taille adulte

Juliane Glaser, Deborah Bourc'his

Épigénétique et reproduction chez les mammifères, Paris sciences et lettres, section recherche, CNRS, Inserm, Institut Curie, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France. [deborah.bourchis@curie.fr](mailto:deborah.bourchis@curie.fr)

► Chez les mammifères, certains gènes font fi des règles mendéliennes et ne sont exprimés qu'en une seule « dose », à partir de l'allèle maternel ou paternel. Ce phénomène, connu sous le nom d'empreinte parentale, résulte de la très grande divergence des profils de méthylation transmis par l'ovocyte et le spermatozoïde [1, 2] (→).

Ces différences sont généralement effacées dans l'embryon après

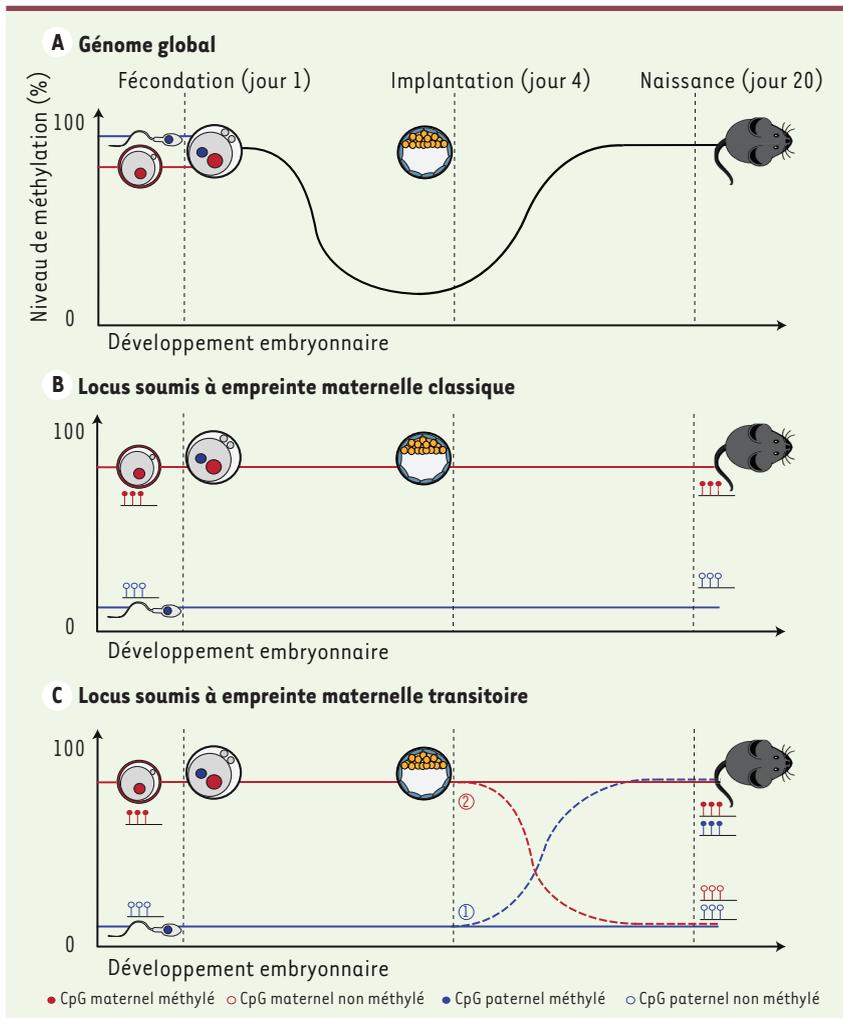
(→) Voir la Synthèse de C. Proudhon et D. Bourc'his, *m/s* n° 5, mai 2010, page 497

fécondation, sauf pour les régions soumises à empreinte, qui ont la capacité exceptionnelle de conserver une mémoire parentale [3] (Figure 1A et B). L'empreinte gamétique maternelle, qui dépend de marques de méthylation héritées de l'ovocyte, a un rôle dominant sur le contrôle de la centaine de gènes soumis à empreinte (GSE) répertoriés chez la souris et chez l'homme. D'un point de vue fonctionnel, la dose mono-allélique des GSE est déterminante pour le développement *in utero*, notamment via les

échanges entre la mère et le fœtus, mais également après la naissance, pour le développement du cerveau et les fonctions métaboliques [4].

#### L'empreinte parentale peut exister sous différentes formes

Dans le cas de l'empreinte parentale classique, telle qu'on la connaît depuis sa découverte dans les années 1980 [5, 6], les marques de méthylation différentielles parentales sont maintenues invariablement tout au long de la vie



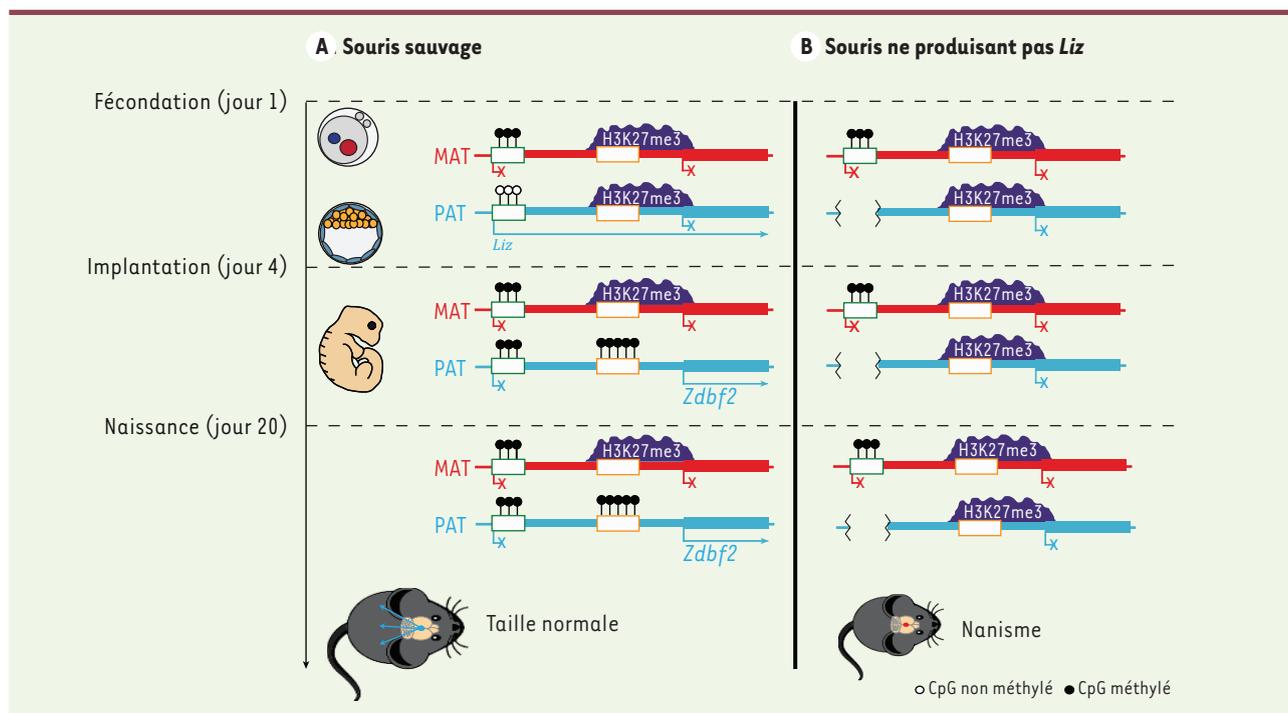
**Figure 1. Dynamique de méthylation de l'ADN au cours du développement embryonnaire.** À l'échelle globale du génome (A), les profils de méthylation de l'ADN hérités des gamètes sont remodelés par une phase de déméthylation puis de « re-méthylation », établissant les profils de méthylation somatique au moment de l'implantation. Les régions soumises à empreinte maternelle maintiennent les profils de méthylation hérités de l'ovocyte, toute la vie (B), ou seulement pendant le développement préimplantatoire (C). L'empreinte transitoire est annihilée soit par une perte de méthylation sur l'allèle maternel (cas 1), soit par un gain de méthylation sur l'allèle paternel (cas 2) au moment de l'implantation.

### Le locus *Zdbf2* chez la souris : un modèle intrigant d'empreinte parentale transitoire

Le gène *Zdbf2* (zinc finger DBF-type containing 2), localisé sur le chromosome 1 chez la souris, et sur le 2 chez l'homme, n'est exprimé qu'à partir de l'allèle paternel, majoritairement dans le cerveau, et plus fortement dans l'axe hypothalamo-hypophysaire. Dans l'embryon préimplantatoire, *Zdbf2* est transcrit sous une forme alternative plus longue, appelée *Liz* (long isoform of *Zdbf2*), dont le promoteur est régulé par empreinte maternelle transitoire [9]. La transcription de *Liz* dans l'embryon est associée à l'acquisition d'une marque de méthylation secondaire, déposée sur son chemin, en amont du promoteur canonique de *Zdbf2*. Cette marque n'apparaît que sur l'allèle paternel, puisque sur l'allèle maternel, *Liz* est réprimé par la méthylation héritée de l'ovocyte. De manière intéressante, alors que *Liz* disparaît définitivement au moment de l'implantation, la marque épigénétique qu'il a laissée sur son passage est stable pour le reste de la vie somatique [9] (Figure 2A). De plus, cette marque est associée à l'activation du promoteur canonique de *Zdbf2* exclusivement à partir de l'allèle paternel. Le locus *Zdbf2* est ainsi sujet à une empreinte inhabituellement dynamique : sous influence d'une empreinte maternelle pendant les premiers jours de développement, une

et dans tous les tissus. Cependant, notre laboratoire a récemment identifié une forme d'empreinte dite « transitoire » qui échappe à ce dogme [7]. Les empreintes classique et transitoire sont indistinctes pendant les premiers jours de développement embryonnaire, mais elles divergent au moment de l'implantation de l'embryon dans l'utérus. Contrairement à l'empreinte maternelle classique, où les profils de méthylation hérités de l'ovocyte persistent (Figure 1B), les différences parentales sont nivelées dans le cas de l'empreinte transitoire, soit par perte de méthylation maternelle, soit par gain de méthylation paternelle (Figure 1C). Dans ce dernier cas, le phénomène est particulièrement intrigant : les gènes concernés ne s'expriment (en une seule copie) que pendant une très courte

période (de 4 jours chez la souris à 7 jours chez l'homme), avant d'être mis définitivement sous silence. Quel est le rôle de l'empreinte transitoire ? Est-ce que les gènes concernés, exprimés de manière éphémère dans l'embryon, ont un rôle immédiat sur le développement précoce ? Pourraient-ils avoir un effet sur le plus long terme ? L'empreinte transitoire soulève ainsi la question très actuelle de la programmation des phénotypes adultes dès les premiers jours de l'embryon. Notre équipe s'est intéressée à cette problématique et a récemment publié un article dans la revue *Nature Genetics* démontrant de manière formelle l'influence d'événements épigénétiques précoces sur la physiologie adulte, et cela en prenant pour modèle le locus *Zdbf2* soumis à empreinte parentale transitoire [8].



**Figure 2. *Liz* programme la taille adulte dans l'embryon préimplantatoire.** En conditions normales (**A**), du fait de la méthylation maternelle sur son promoteur (rectangle vert), *Liz* est exprimé exclusivement à partir de l'allèle paternel. Sa transcription permet l'acquisition, dans l'embryon post-implantatoire, d'une marque de méthylation secondaire (rectangle orange) en *cis*, qui permet de dissoudre un bloc de répression par la marque H3K27me3 (violet). Ces événements sont requis pour permettre l'expression paternelle de *Zdbf2* dans le cerveau. Chez les souris mutantes pour *Liz* (**B**), la marque de méthylation secondaire n'est pas établie, l'expression paternelle de *Zdbf2* reste inhibée par H3K27me3 et les souris concernées sont de plus petite taille. MAT : allèle maternel ; PAT : allèle paternel.

empreinte paternelle somatique prend le relais au bout d'une semaine et perdure tout au long de la vie. Ce mode complexe de régulation pose la question du rôle de l'expression fugace de *Liz* sur la régulation à long terme du locus, *via* le dépôt d'une signature qui, elle, est indélébile.

### ***Liz*, un « interrupteur épigénétique » dans l'embryon préimplantatoire**

Afin d'élucider le rôle de *Liz* chez la souris, nous avons supprimé sa transcription *in vivo* par la méthode d'édition CRISPR-Cas9 [10]. En l'absence de *Liz*, les embryons sont incapables d'acquiescer la marque de méthylation somatique en amont du promoteur de *Zdbf2* et, plus tard au cours de la vie, d'activer l'expression de *Zdbf2* dans le cerveau, alors que sa séquence génétique est parfaitement intacte (Figure 2B). En accord avec le statut d'empreinte de *Liz*, ce défaut n'est observé que lors de la transmission paternelle de la délétion de *Liz* ; la trans-

mission maternelle de la délétion est muette, puisque l'allèle maternel de *Liz* est normalement silencieux. L'utilisation parallèle de cellules souches embryonnaires (ES) en culture nous a permis de comprendre le mécanisme moléculaire par lequel *Liz* agit : la région en amont du promoteur de *Zdbf2* est occupée par défaut par un bloc de marques chromatiniennes répressives de triméthylation de la lysine K27 de l'histone H3 (H3K27me3) déposée par le complexe polycomb<sup>1</sup> [11]. La méthylation de l'ADN et celle de H3K27 sont connues pour leur relation antagoniste [11]. La méthylation de l'ADN déposée par *Liz* permet ainsi de dissoudre localement cette chape répressive dans l'embryon précoce : ceci est indispensable pour libérer le promoteur de *Zdbf2*, amorçant de manière préemptive son expression en vie post-natale (Figure 2).

<sup>1</sup> Les protéines du groupe polycomb (PcG) assurent le dépôt de la méthylation de l'histone H3(K27) sur les promoteurs inactifs.

*Liz* apparaît ainsi comme un « interrupteur épigénétique », essentiel à la programmation de l'activation du gène *Zdbf2* dans le cerveau adulte et ce, dès les quatre premiers jours de développement de l'embryon.

### **Programmation irréversible de la taille adulte dans l'embryon préimplantatoire**

Dans l'embryon, *Liz* orchestre le remplacement de marques polycomb (méthylation d'histones) par des marques de méthylation de l'ADN, ce qui est nécessaire à l'activation de *Zdbf2*. Mais quelle est la signification biologique d'un tel ballet épigénétique ? Bien qu'exprimé exclusivement dans l'embryon précoce, *Liz* n'a aucun effet sur celui-ci : les embryons dans lesquels *Liz* est muté sont viables, se développent normalement et ne présentent aucun défaut. De même, les souris adultes dérivées des embryons mutés pour *Liz* sont parfaitement viables et fertiles.

Ces souris présentent cependant, dès la naissance, un défaut de croissance hautement pénétrant. Ce phénotype de petite taille concerne tous les organes. Il culmine à l'âge de deux semaines, avec une réduction d'environ 20 % du poids, et est maintenu chez la souris adulte [8]. L'expression éphémère de *Liz* dans l'embryon est donc nécessaire pour programmer à long terme le potentiel de croissance post-natal.

### Conclusions/Perspectives

L'étude fonctionnelle du transcrit *Liz*, soumis à empreinte transitoire, fournit une des très rares démonstrations formelles de l'existence d'une programmation épigénétique précoce de la physiologie adulte. En l'absence de *Liz* dans l'embryon, *Zdbf2* ne peut être activé dans le cerveau après la naissance et les souris présentent une forme de nanisme. Nos travaux en cours visent à tester si, à l'inverse, une double dose de *Zdbf2* pourrait conduire à un phénotype de gigantisme. La fonction de la protéine ZDBF2 est inconnue, mais un rôle dans le contrôle endocriné de la croissance est suspecté car *Zdbf2* est

fortement exprimé dans l'axe hypothalamo-hypophysaire. En conclusion, *Zdbf2* est un gène stimulateur de croissance post-natale dont l'expression est épigénétiquement programmée dès les premiers jours de développement. Compte-tenu de la conservation de l'empreinte transitoire du locus *Zdbf2* chez l'homme, il est tentant de prévoir que des perturbations de ce locus dans les gamètes ou l'embryon, par des voies génétiques ou environnementales (techniques d'assistance médicale à la procréation ou régimes maternels sub-optimaux) pourraient avoir un impact sur la détermination de la taille dans les populations humaines. ♦

### Four little days to define adult height

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

- Smith ZD, Chan MM, Mikkelsen TS, et al. A unique regulatory phase of DNA methylation in the early mammalian embryo. *Nature* 2012 ; 484 : 339-44.
- Proudhon C, Bourc'his D. Évolution de l'empreinte parentale chez les mammifères : quelle ménagerie ! *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 497-503.
- Duffie R, Bourc'his D. Parental epigenetic asymmetry in mammals. *Curr Top Dev Biol* 2013 ; 104 : 293-328.
- Peters J. The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view. *Nat Rev Genet* 2014 ; 15 : 517-30.
- Mcgrath J. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 1984 ; 37 : 179-83.
- Barton SC, Surani MA, Norris M. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 1984 ; 311 : 374-6.
- Proudhon C, Duffie R, Ajjan S et al. Protection against de novo methylation is instrumental in maintaining parent-of-origin methylation inherited from the gametes. *Mol Cell* 2012 ; 47 : 909-20.
- Greenberg MVC, Glaser J, Borsos M, et al. Transient transcription in the early embryo sets an epigenetic state that programs postnatal growth. *Nat Genet* 2017 ; 49 : 110-8.
- Duffie R, Ajjan S, Greenberg MV, et al. The Gpr1/Zdbf2 locus provides new paradigms for transient and dynamic genomic imprinting in mammals. *Genes Dev* 2014 ; 28 : 463-78.
- Wang H Yang H, Shivalila CS, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 2013 ; 153 : 910-8.
- Piunti A, Shilatifard A. Epigenetic balance of gene expression by polycomb and COMPASS families. *Science* 2016 ; 352 : aad9780.
- Brinkman AB, Gu H, Bartels SJJ, et al. Sequential ChIP-bisulfite sequencing enables direct genome-scale investigation of chromatin and DNA methylation cross-talk. *Genom Res* 2012 ; 22 : 1128-38.

## NOUVELLE

### La face cachée du poumon : une usine à plaquettes et une réserve de progéniteurs sanguins

Emma Lefrançais, Mark Roberts Looney

#### La circulation pulmonaire est une usine à plaquettes

Les plaquettes sont des cellules dépourvues de noyau qui circulent dans le sang et participent activement à la coagulation, à l'intégrité vasculaire et à l'immunité. En moyenne, 150 à 400 milliards de plaquettes par litre de sang circulent chez l'homme (1 000 milliards chez la souris). La durée de vie de ces cellules étant de quelques jours, cent

milliards de plaquettes sont produites quotidiennement afin de maintenir un niveau sanguin constant. Ces plaquettes proviennent de larges cellules appelées mégacaryocytes, qui ont été décrites pour la première fois en 1890 par Howell [1, 2] (→).

Si le rôle du mégacaryocyte dans la formation des plaquettes proposé

(→) Voir la Nouvelle de N. Debili et W. Vainchenker, *m/s* n° 5, mai 2008, page 467

Université de Californie, San Francisco HSE  
1355A – 513 Parnassus Ave, San Francisco,  
CA-94143-0130, États-Unis.  
[emma.lefrançais@ipbs.fr](mailto:emma.lefrançais@ipbs.fr)

par Wright, en 1906, a été rapidement admis [3], les questions du mécanisme et du lieu de leur production sont restées plus controversées. Les mégacaryocytes se développent dans la moelle osseuse, et l'on suppose que la production des plaquettes, aussi appelée thrombopoïèse, s'y produit également [4] (→).

(→) Voir la synthèse de L. Lebreton et al., *m/s* n° 3, mars 2016, page 290